

1型糖尿病を発症したHatano低回避系ラットの1例

太田亮, 青木聡子, 古谷真美, 斉藤義明, 瀬沼美華, 熊谷文明

1. はじめに

Hatanoラットは、シャトルボックス条件回避学習試験を指標に高回避系と低回避系に分離されたSprague-Dawley由来の近交系¹⁾である。秦野研究所においてはこれまでHatanoラットのコロニーから糖尿病を発症した例はなかったが、他施設においては、凍結保存胚から樹立したHatano低回避系ラットの雄1例に1型糖尿病を発症した例がある(麻布大学獣医学部 代田真理子ら未発表)。今回、我々は秦野研究所において多飲多尿を主徴としたHatano低回避系ラットの雄1例を発見し、病理組織学的検査を実施したので、文献的考察を加えて報告する。

2. 材料と方法

秦野研究所のHatanoラットは以下の繁殖計画に沿って系統を維持している。i)雌雄とも10週齢以上で兄妹交配させる。ii)分娩は2産までとする。iii)5~7ライン/系統を維持し、各ラインの交配は1~2ペア/ライン程度とする。iv)微生物モニタリングを年3回行う。

動物は、温度21~25℃、湿度40~75%、照明12時間(7時~19時点灯)に設定され、出入口扉にネズミ返しを取り付けた飼育室内で、ペパークリーン(日本エスエルシー)入りのプラスチック製平底ケージ(350w×400d×180h mm)を用いて群飼育した。動物には、飼料(CE-2, 日本クレア)および飲料水(秦野市水道水)を自由に摂取させた。動物実験は、「一般財団法人食品薬品安全センター秦野研究所 動物実験に関する指針(機関内規程)」を遵守して実施した(動物実験承認番号2240010A)。

今回、糖尿病を発症した雄1例については、

尿検査試験紙(アークレイ)を用いて尿検査を実施し、剖検時に多項目自動血球分析装置XT-2000iV(シスメックス)および自動分析装置JCA-BM6010G(日本電子)を使用して血液検査を実施した。また、糖尿病合併症の好発部位については顕微鏡用および電顕用の病理組織標本作製し、病理組織学的検査を実施した。

3. 結果

低回避系の雄1例(89日齢)は繁殖のため同系の雌1例と同居中であったが、飼育ケージの床敷が他のケージより濡れていたため、多飲多尿を疑い、尿検査を実施した。その結果、ブドウ糖(4+)を呈し、糖尿病が疑われた。同例はその後、体重が減少し、123日齢で右眼球に白濁が発現、尿検査で蛋白(2+)を示したため、133日齢で安楽死処置後に剖検した。なお、同居相手雌は妊娠が確認されたが、自然分娩で得られたF1児に糖尿病の症状を示す例はなかった。

剖検時の血液生化学的検査では顕著な高血糖とALP活性の上昇がみられたが、血液学的検査値に異常はなかった(表1)。また、剖検時の肉眼的観察では、左右眼球の白濁以外に十二指腸壁の肥厚が認められた。

病理組織学的検査では脾臓における脾島の萎縮およびリンパ球浸潤、眼球の水晶体線維変性、十二指腸の粘膜上皮過形成の他、腎臓では糸球体のメサンギウム基質の増加(写真1, 写真2)、グリコーゲン蓄積を示す遠位尿細管上皮細胞の空胞変性(写真3, 写真4)が観察された。なお、糖尿病合併症として知られている網膜および末梢神経障害は、認められなかった。

以上の臨床所見および病理組織学的所見から、

表1 血液検査

血液学的検査		血液生化学的検査			
WBC	$88.4 \times 10^2 / \mu\text{L}$	AST	89 IU/L	T-Bil	0.09 mg/dL
RBC	$792 \times 10^4 / \mu\text{L}$	ALT	87 IU/L	IP	5.4 mg/dL
HGB	15.9 g/dL	ALP	895 IU/L	TP	5.2 g/dL
HCT	45.6%	γ -GTP	5 IU/L	ALB	3.5 g/dL
PLT	$100.0 \times 10^4 / \mu\text{L}$	TC	115 mg/dL	A/G	2.06
NEUT	34.6%	TG	228 mg/dL	Na	137.1 mEq/mL
LYMP	60.9%	BUN	25.2 mg/dL	K	4.10 mEq/mL
MONO	4.3%	CRE	0.19 mg/dL	Cl	97.0 mEq/mL
EOS	0.2%	Glc	611 mg/dL		
RET	3.49%	Ca	9.4 mg/dL		

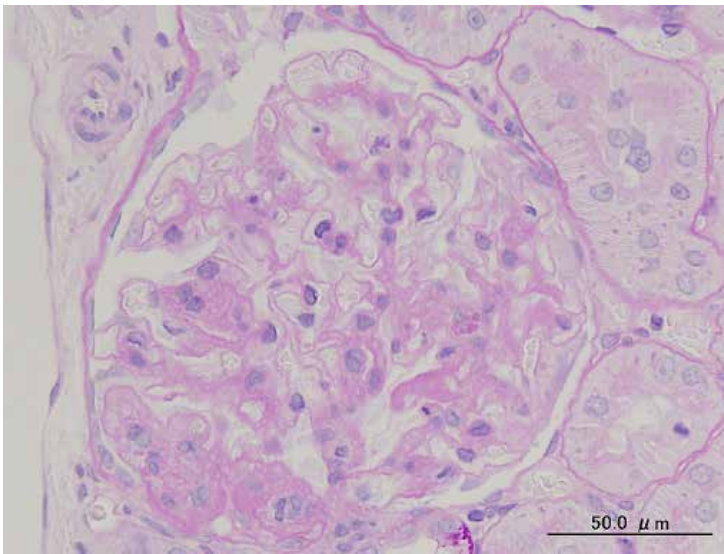


写真1 Increased mesangial matrix in the glomerulus (PAS staining).

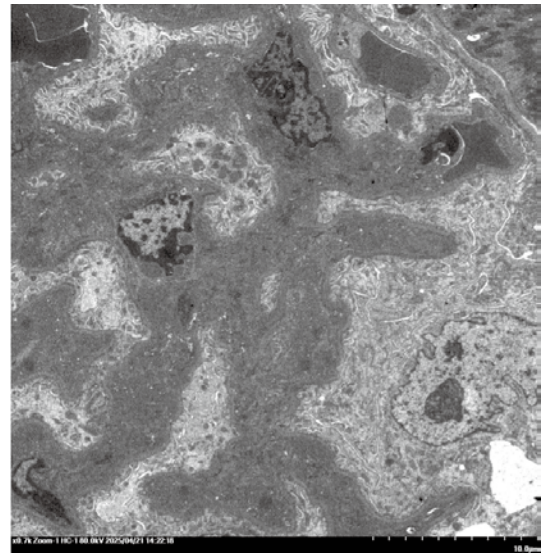


写真2 Electron micrograph of glomerulus showing mesangial matrix expansion.

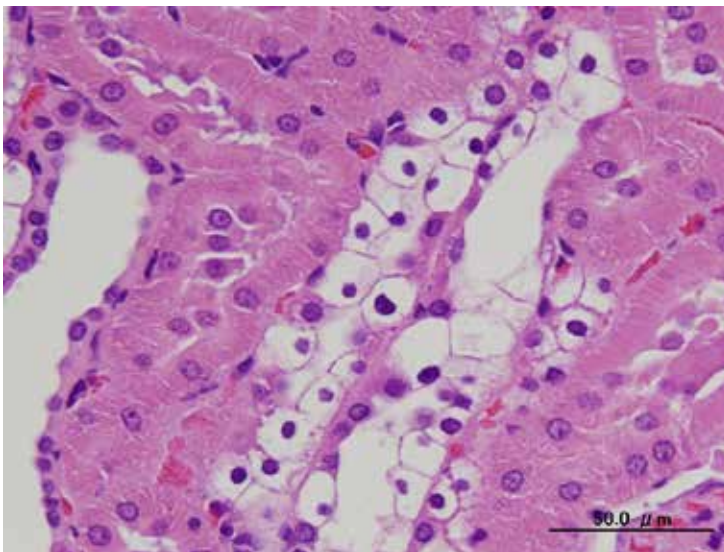


写真3 Vacuolation of distal tubular epithelial cells (HE staining).

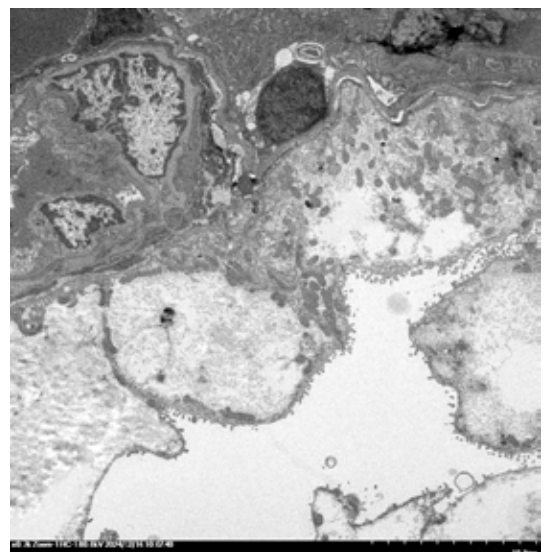


写真4 Electron micrograph of distal tubule showing accumulation of glycogen granules (Armanni-Ebstein lesion).

本症例は典型的な1型糖尿病と診断された。

4. 考察

今回、我々は秦野研究所において維持しているHatano低回避系ラットのコロニーから、1型糖尿病を発症した雄1例を経験した。Sprague-Dawleyラットにおける自然発生の1型糖尿病は非常に稀であるが、実験的にはストレプトゾトシンの投与によりラットやマウスに1型糖尿病を誘発させ、合併症や治療の研究に利用されている²⁾。また、自然発症型1型糖尿病モデルにはNODマウス、BBラット、LEW.1AR1-iddmラットなどがあり、糖尿病の病態や成因の究明に使用されている³⁾。

今回の症例にみられた血清ALP活性の上昇は、薬物誘導型1型糖尿病ラットやBBラットのような異なるタイプの1型糖尿病ラットの結果とも一致している^{4, 5)}。また、眼球の白濁も、ストレプトゾトシンなどの薬物誘導型1型糖尿病ラットでみられる糖尿病性白内障と同一の変化、すなわち、高血糖により糖が糖アルコールに還元され、糖アルコールが水晶体線維内に蓄積して膨化したものと考えられる⁶⁾。さらに病理組織学的検査においてみられた腎臓の糸球体におけるメサングウム基質の増加、遠位尿細管上皮内のグリコーゲン顆粒の蓄積は、持続的な高血糖に起因する病変と考えられるが、糸球体基底膜の肥厚や結節性病変といったヒト糖尿病性腎症に特徴的な所見は認められなかった。本症例で認められた十二指腸の変化については、ストレプトゾトシン誘発糖尿病モデルラットにおいて同様の報告⁷⁾はあるが、病理学的意義は不明である。

他施設においては、凍結保存胚から樹立したHatanoラットの雌1例に1型糖尿病の発症例がある。その症例は、137日齢の低回避系であり、病理組織学的検査において膵臓におけるインスリン免疫染色性の低下・消失、リンパ球浸潤の他、眼の水晶体線維が高度に変性し、腎臓の遠位尿細管に糖原変性、糸球体ではメサングウム基質の増加、頭部および四肢では浮腫が認められている。なお、この症例の血清中に間接蛍光抗体法による抗insulin自己抗体は検出されていない。

興味深いことに、同施設のHatanoラットの低回避系コロニーでは、41週齢の雄1例に免疫介在性糸球体腎炎が自然発生している⁷⁾。同例は尿検査でブドウ糖は陰性であったが、顕著な蛋白尿(500 mg/dL)を呈し、病理組織学的検査では免疫介在性糸球体腎炎を示した他、リンパ球性膵炎およびラ氏島の結節性過形成が認められ、血清中に膵臓成分に対する自己抗体が検出されている⁸⁾。

ヒトにおける1型糖尿病は、膵島β細胞が破壊される原因の約90%が自己免疫性、残り10%が特発性(原因不明)と言われ、遺伝的要因とウイルス感染などによる環境要因が複雑に関与して自己免疫反応を引き起こし、膵臓のβ細胞が徐々に破壊されてインスリンが減少すると考えられている。ラットにおいてもパルボウイルスの一種であるキルハムラットウイルスが糖尿病抵抗性BB/Worラットに自己免疫糖尿病を誘発させることが報告されている⁹⁾。

これまでHatanoラットにみられた1型糖尿病はいずれも低回避系であり、他の免疫介在性糸球体腎炎も低回避系にみられていることから、低回避系は高回避系に比べて自己免疫疾患への発症リスクが高いと推察される。

以上、Hatanoラットにみられた1型糖尿病について文献的考察を加えて報告したが、実験動物においては見逃しやすい症例であり、Hatanoラットのコロニーにおいても糖尿病の発症例を見逃していた可能性は高い。今後は、飼育ケージの床敷を注意深く観察し、糖尿病の発見に努めるとともに、1型糖尿病の新たな発症メカニズムの解明につなげていきたい。

5. 謝辞

Hatanoラットの糖尿病に関する情報をご提供いただいた代田真理子先生(麻布大学獣医学部)、および本原稿の病理組織学的所見に対して貴重なご助言をいただいた代田欣二先生(麻布大学獣医学部)に感謝の意を表します。

6. 文献

- 1) 太田 亮: 回避学習を指標に選抜育成されたHatano高および低回避ラット. 秦野研究所年報, 2020; 43:

- 7-17
- 2) 小島正美, 佐々木一之: 実験モデルとしてのストレプトゾトシン誘発糖尿病白内障の再検討. 日眼雑誌 93: 324-332
 - 3) Jörns A, Arndt T, Meyer zu Vilsendorf A, Klempnauer J, Wedekind D, Hedrich HJ, Marselli L, Marchetti P, Harada N, Nakaya Y, Wang GS, Scott FW, Gysemans C, Mathieu C, Lenzen S: Islet infiltration, cytokine expression and beta cell death in the NOD mouse, BB rat, Komeda rat, LEW.1AR1-iddm rat and humans with type 1 diabetes. *Diabetologia*. 2014; 57: 512-521
 - 4) Koyama I, Yakushijin M, Nakajima T, Hokari S, Kawai S, Oh-Ie K, Inoue I, Negishi K, Katayama S, Komoda T: Reduced alkaline phosphatase activity in diabetic rat bone: a re-evaluation. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*. 1998; 121: 417-423.
 - 5) 山田麻子, 五関・曾根正江: 自然発症糖尿病 WBN/Kob ラットにおけるアルカリフォスファターゼ. 日本食生活学会誌. 2017; 28: 119-123
 - 6) 高村佳弘: 糖尿病白内障に対するアプローチ. 日本白内障学会誌 2017; 29: 45-47
 - 7) Lerkdumnernkit N, Sricharoenvej S, Lanlua P, Niyomchan A, Baimai S, Chookliang A, Plaengrit K, Pianrumluk S, Manoonpol C: The effects of early diabetes on duodenal alterations in the rats. *Int J Morphol*. 2022; 40: 389-395
 - 8) Yasuno K, Sakashita H, Kobayashi R, Araki S, Saito R, Shirota M, Kamiie J, Shitora K: Membranous Glomerulonephropathy in a Hatano Low-avoidance Rat. *J Toxicol Pathol*. 2013; 26: 203-208
 - 9) Ellerman KE, Richards CA, Guberski DL, Shek WR, Like AA: Kilham rat triggers T-cell-dependent autoimmune diabetes in multiple strains of rat. *Diabetes*. 1996; 45:557-562