

令和 2 年 6 月 11 日現在

機関番号：33916

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09879

研究課題名(和文) SIADHによる慢性低ナトリウム血症の中樞神経系への影響の解明と新規治療薬の開発

研究課題名(英文) Elucidation of effects of chronic hyponatremia associated with SIADH on the central nervous system and development of novel therapeutic agents

研究代表者

梶村 益久 (Sugimura, Yoshihisa)

藤田医科大学・医学部・教授

研究者番号：50456670

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：低ナトリウム(Na)血症は、頻度が高い電解質異常である。低Na血症の主たる原因は抗利尿ホルモン不適切症候群(SIADH)である。近年、比較的軽度の低Na血症がQOLの低下、生命予後の悪化と関連することが知られているが、その詳細は不明な点が多い。本研究で、病態を解析するため、持続かつ安定した慢性低Na血症を呈すSIADHマウスモデルの作成に成功した。本マウスを用いて網羅的行動解析を行い、SIADHに伴う慢性低Na血症が、記憶障害、不安様行動に関与することが示された。さらに組織学的検討によって、脳の部位的に神経細胞の興奮異常が起こっており、行動異常と関連する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、軽度であっても慢性的な低ナトリウム(Na)血症は、QOLの低下や死亡率の高さと関連していることが示されている。しかし、これらの機序は未だ解明されていない。ADH不適切分泌症候群(SIADH)は低Na血症の主な原因である。本研究で、持続的な低Na血症を呈する慢性SIADHマウスモデルを開発した。行動解析によって、認知機能障害、特にワーキングメモリ障害が認められ、慢性的な低Na血症が記憶障害に寄与していることが示唆された。本研究の結果より、無症状に見える比較的軽度な慢性低Na血症の症例でも、注意深く血清Na濃度を正常化させることによってQOLが改善する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Hyponatremia is a common electrolyte disorder. Syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone (SIADH) is a primary cause of hyponatremia. Recently, chronic hyponatremia, even mild, has shown to be associated with poor quality of life and high mortality. The mechanism by which hyponatremia contributes to those symptoms, however, remains to be elucidated. Appropriate animal models are crucial for investigating the pathophysiology of SIADH. In this study, we developed a mouse model of chronic SIADH in which stable and sustained hyponatremia. Behavioral analyses demonstrated cognitive impairment, especially working memory impairment, in chronic SIADH mice, which was partially restored after correcting hyponatremia. Our results suggest that chronic hyponatremia contributed to their memory impairment.

研究分野：内分泌学

キーワード：ADH不適切分泌症候群 低ナトリウム血症 SIADHマウスモデル 記憶障害

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

低ナトリウム(Na)血症は、電解質異常症の中で最も頻度が高い疾患である。血清 Na 濃度 135 mEq/L 未満の低 Na 血症が、急性期病院で 22.8%、プライマリーケアのクリニックで 4.3%の患者に認められたと報告されている。

低 Na 血症の主たる原因疾患は、抗利尿ホルモン不適合分泌症候群 (SIADH) である。従来慢性低 Na 血症は無症状と考えられていた。従来、急性の低 Na 血症は脳浮腫を生じるため、重篤な神経症状を来して命にかかわることもあるのに対し、慢性低 Na 血症では低浸透圧に対する脳細胞の体積調節適応機構により脳浮腫がなく神経症状はほとんどないと考えられてきた。しかし、最近、軽度の慢性低 Na 血症の無症候性と考えられる症例患者において注意機能の低下などの認知機能障害、歩行時のバランス障害などの神経症状が認められ、転倒、骨折のリスクが増加し、Quality of life (QOL) の低下及び生命予後の悪化などの疫学的調査結果が報告されてきた (Renneboog B et al. Am J Med, 2006)。

しかし、低 Na 血症の原因疾患である副腎不全、心不全、肝硬変、癌などの中枢神経系の影響も考えられ、また、慢性低 Na 血症動物モデルでの検討はほとんど報告されておらず、慢性低 Na 血症自体の中枢神経系への影響は不明であった。申請者は、低 Na 血症の原因の約 50%を占めると考えられている SIADH でかつ低 Na 血症の程度が異なるモデルを開発し、慢性低 Na 血症のラットは一見無症状に見えるが、歩行解析装置を用いて検討した結果、失調性歩行を呈すること、文脈恐怖条件付け試験などを用いて検討した結果、記憶障害を生じることを見出した (Fujisawa H et al. J Am Soc Nephrol, 2016)。また、申請者は、SIADH による慢性低 Na 血症が骨粗鬆症を引き起こすことを明らかにした。

低 Na 血症は高齢者で頻度が高く、超高齢社会において認知症、転倒は QOL、生命予後の悪化と関連する重要問題である。しかしながら、未だ慢性で、比較的軽度な低 Na 血症の中枢神経障害、神経認知に関する障害は明らかになっていない。

2. 研究の目的

本研究で、低 Na 血症の中枢神経障害をより明らかにし、その分子病態機序を解明する。また、低 Na 血症の治療が困難な場合も多く、血清 Na 濃度の急速な上昇は浸透圧性脱髄を起こす。本研究では血清 Na 濃度補正とは異なる、病態機序の理解に基づいた、SIADH に伴う中枢神経症状を改善させる新たな治療法の開発について検討する。

本研究で、まずは SIADH 慢性低 Na 血症マウスモデルの作成を行う。従来 SIADH 動物モデルは、犬、ラットで検討されていることがほとんどであった。最近米国 Dr. Verbalis らによって開発されたラットモデルを用いた研究が一般的に報告されている。我々も SIADH ラットモデルを用いて、慢性低 Na 血症の中枢神経症状、神経精神学的病態について検討している。今回、本研究で安定し持続した慢性低 Na 血症を呈する SIADH マウスモデルの開発を行う。その大きな理由は、ある特定の遺伝子の病態への関与を検討する *in vivo* の手段として有用な遺伝子改変動物作成にはマウスが使用しやすいこと、またマウス用の神経精神機能を検討するプラットフォームが充実していることによる。

さらに、SIADH 慢性低 Na 血症マウスモデルを用いて、行動解析バッテリーを行うことにより、慢性低 Na 血症の、中枢神経症状、神経精神学的症状を含めた症状への影響を検討する。この検討により今まで明らかにならなかった慢性低 Na 血症の影響が明らかになることが期待される。

3. 研究の方法

1) SIADH 慢性低 Na 血症マウスモデル動物の作成 ; B6 マウスに浸透圧ミニポンプを用いてバゾプレシンのアナログ製剤 dDAVP の持続皮下投与と液体食投与によって低 Na 血症を誘導した。また、飲水量測定、メタボリックケージで採尿を行った。また採血を行い、血液、尿の生化学的検査を施行し、モデルマウスがヒトの SIADH の Na 代謝の特徴を呈しているか検討した。

2) SIADH 慢性低 Na 血症マウスモデル動物の行動解析

1) のマウスモデルを用い、各種行動解析を行った。

- ・認知・記憶機能の行動解析のため、T 字迷路試験、Fear Conditioning 試験。
- ・不安様行動の解析のため、明暗試験、オープンフィールドテスト。
- ・うつ様行動の解析のため、ポーソルト強制水泳試験、尾懸垂試験。
- ・運動能力解析のため、ローターロッド試験。

また慢性低 Na 血症から血清 Na 濃度を補正正常化することによって神経精神学的症状などの影響を検討した。また、個体数を増やし、再現性確認とともに、統計学的検討を行った。

3) SIADH 慢性低 Na 血症マウスモデル動物の組織学的検討

慢性低 Na 血症マウスにおいて免疫組織学的、神経細胞、グリアの観察を行った。

4. 研究成果

1) SIADH 慢性低 Na 血症マウスモデル動物の作成 ;

8 週齢雄 C57BL/6J マウス に投与する dDAVP 濃度を調整、および液体食量を調整することによ

り、血清 Na 濃度 120 台 mEq/L 台、血漿浸透圧 260mOsm/kg H₂O 程度で安定した慢性低 Na 血症の作成に成功した。また血清 Na 濃度正常のコントロール群に比べ、血中尿酸値は低値で、尿中 Na 排泄量の亢進が認められ、血液、尿の生化学的検査結果はヒトの SIADH の診断基準と合致するものであった。また dDAVP 投与開始 1 週間は一旦体重減少が認められたが、その後体重はコントロール群とほぼ同様になり、脱水はなく順調に成長していることが確認された。以上より、長期間、安定した低 Na 血症を呈する慢性 SIADH マウスモデルの開発に成功したと考えられた。またこの血清 Na 濃度 120 台の低 Na 血症は実地臨床でもよく遭遇する濃度であり、今後 SIADH の病態について検討するのに、有用な SIADH 慢性低 Na 血症モデルが開発できたと考えられる。

2) SIADH 慢性低 Na 血症モデル動物の行動解析 ; 1 のマウスモデルを用い、T 字迷路試験、Fear Conditioning 試験を行った結果、慢性低 Na 血症動物で記憶障害が示唆された。また、明暗試験、オープンフィールドテスト、ポーソルト強制水泳試験、尾懸垂試験、ローターロッド試験などを行い、神経精神学的症状、協調運動異常について所見を得た。また、慢性低 Na 血症から血清 Na 濃度を正常化することによって神経精神学的症状などの回復傾向が認められた。さらに個体数を増やし、再現性確認とともに、統計学的検討を行った結果、再現性をもって認知機能の低下、つまり T 字迷路試験により有意な作業記憶の障害、および Fear Conditioning 試験により文脈恐怖記憶の有意な低下傾向が明らかとなった。また dDAVP 投与を中止することによって、血清 Na 濃度は正常範囲に補正されるが、その Na 濃度補正後の T 字迷路試験で有意に作業記憶の改善が認められた。以上より、血清 Na 濃度が 120 mEq/L 台で安定した慢性低 Na 血症を呈する SIADH マウスモデルを開発することができた。また、このモデルマウスを用いて、慢性低 Na 血症が記憶障害、特に有意な作業記憶障害を引き起こすこと、さらに低 Na 血症を改善させることにより記憶障害が改善されることを見出した。

3) 組織学的検討 ; 慢性低 Na 血症マウスにおいてグリアの観察を行い、アストロサイトの活性が変化している可能性が示唆された。また神経細胞の興奮異常が部位特異的に起こっている可能性が示唆された。

以上より、本研究によって、従来報告されていなかった、持続、安定した慢性低 Na 血症を呈す SIADH マウスモデルの作成に成功した。また本マウスを用いて網羅的行動解析を行うことによって、SIADH に伴う慢性低 Na 血症が記憶障害、不安様行動に関与することが示された。さらに組織学的検討によって、脳の部位特異的に神経細胞の興奮異常が起こっており、行動異常と関連する可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 梶村益久
2. 発表標題 低ナトリウム血症についての最近の知見 副腎機能低下症の知見を含めて
3. 学会等名 第5回内分泌生涯教育講習会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Chronic Hyponatremia Causes Neurologic and Psychologic Impairments Haruki Fujisawa, Hiroyuki Mizoguchi, Hideyuki Takeuchi, Yukio Komatsu, Atsushi Suzuki, Yoshihisa Sugimura
2. 発表標題 Chronic Hyponatremia Causes Neurologic and Psychologic Impairments
3. 学会等名 第10回武田科学振興財団薬科学シンポジウム（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 梶村益久
2. 発表標題 「間脳下垂体機能障害の診断と治療の手引きUpdateと今後の展開 バソプレシン分泌低下症（中枢性尿崩症）と過剰症（SIADH）」
3. 学会等名 第30回間脳下垂体腫瘍学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計8件

1. 著者名 梶村益久	4. 発行年 2018年
2. 出版社 診断と治療社	5. 総ページ数 2
3. 書名 内分泌代謝科専門医研修ガイドブック 低ナトリウム血症	

1. 著者名 藤沢治樹、梶村益久	4. 発行年 2018年
2. 出版社 日本臨牀社	5. 総ページ数 5
3. 書名 心不全（第2版）上 - 最新の基礎・臨床研究の進歩 - 血液生化学検査 バソプレシン	

1. 著者名 梶村益久	4. 発行年 2018年
2. 出版社 金芳堂	5. 総ページ数 4
3. 書名 内分泌・脂質・尿酸 コンサルタント 低ナトリウム血症をみたらどのように診断し治療しますか	

1. 著者名 梶村益久	4. 発行年 2018年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 1
3. 書名 週刊医学界新聞 慢性低ナトリウム血症の症状に注意を QOL低下および生命予後悪化との関連について	

1. 著者名 藤沢治樹、梶村益久	4. 発行年 2019年
2. 出版社 科学評論社	5. 総ページ数 4
3. 書名 内分泌・糖尿病・代謝内科 薬剤性低ナトリウム血症	

1. 著者名 梶村益久	4. 発行年 2020年
2. 出版社 南江堂	5. 総ページ数 1
3. 書名 臨床病態学改訂第5版 不適切ADH分泌症候群	

1. 著者名 梶村益久	4. 発行年 2020年
2. 出版社 今日の診断指針 第8版	5. 総ページ数 2
3. 書名 ADH分泌不適合症状群 SIADH	

1. 著者名 有馬寛、梶村益久	4. 発行年 2019年
2. 出版社 日本内分泌学会	5. 総ページ数 3
3. 書名 平成30年度厚生労働科学研究費補助金難治性疾患等政策研究事業 間脳下垂体機能障害に関する調査研究 間脳下垂体機能障害の診断と治療の手引き（平成30年度改訂）	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	岩間 信太郎 (Iwama Shintaro) (00733536)	名古屋大学・医学部附属病院・病院講師 (13901)	