

令和 6 年 5 月 18 日現在

機関番号：32651

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K15671

研究課題名（和文）肝細胞がんにおける体液・電解質異常の機序の解明

研究課題名（英文）Mechanisms of fluid and electrolyte abnormalities in hepatocellular carcinoma

研究代表者

木戸口 慧 (Kidoguchi, Satoshi)

東京慈恵会医科大学・医学部・助教

研究者番号：90896094

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：我々は浮腫や腹水といった体液・電解質異常をきたす典型的な悪性腫瘍である肝細胞がんにおいて、その体液・電解質異常の機序を同定すべく、ジエチルニトロサミンを用いた肝細胞がんモデルラットを作製した。結果、肝細胞がんモデルラットでは血液や尿とは独立して組織における相対的な水分・ナトリウム蓄積が起こっていることが明らかとなった。この組織における水分・ナトリウム蓄積には副腎からのアルドステロンの分泌亢進、筋肉におけるグルココルチコイド受容体の活性化、腎髄質における尿素集積などの体液保持機構の活性化が関与していることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の検討により、がんにおいては浮腫や腹水といった所見が出現する前の早期段階から組織における体液・電解質異常が起こっていることが明らかとなった。また、この組織局所における体液・電解質異常は多臓器における体液保持機構が関与していることも併せて明らかとなった。近年、組織における体液・電解質異常と高血圧を含めた心血管疾患との関連を示唆する報告もみられており、がん患者における心血管疾患発症はこの組織における体液・電解質異常を介して起こっている可能性が示唆され、「組織における体液・電解質異常」に対する治療介入ががん患者の心血管疾患を抑制するという可能性を示した意味で社会的意義が大きいと考えている。

研究成果の概要（英文）：We generated a rat model of hepatocellular carcinoma with diethylnitrosamine administration in order to identify the mechanism of fluid and electrolyte abnormalities in liver cancer, a typical cancer that shows fluid and electrolyte abnormalities such as edema and ascites. We have found that water and sodium content were comparatively increased in skin and muscle independent of plasma and urine in the rats with hepatocellular carcinoma. Water and sodium accumulation in these tissues were at least partially achieved with increased aldosterone secretion from adrenal glands, activation of glucocorticoid receptors in muscle, and accumulation of urea in the renal medulla, as parts of the activation of water conservation system.

研究分野：腎臓内科

キーワード：がん 体液・電解質異常

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

がんの患者数は世界的に増加しているが、治療薬の進歩に伴いがん患者の予後は改善しており、結果としてがんを克服した「がんサバイバー」と呼ばれる患者が増加している。

最近、がん患者においては心血管疾患のリスクが高いことが相次いで報告されており、いくつかのがんではがんそのものよりも心血管疾患による死亡率が高いとされている (Sturgeon et al. Eur Heart J 2019)。

高血圧症はがん患者の心血管疾患のリスク因子となることが知られ、高血圧症自体の有病率が高いことからがん患者における重要性は高い (Kidoguchi et al. Hypertension. 2021)。高血圧症自体が腎臓がんなどのいくつかのがん種のリスクを高めること (Kim et al. Hypertension 2020) やがんに対する治療薬が血圧上昇に寄与すること (Milan et al. Int J Cancer 2014) など高血圧症とがんには多面的に関連があることから、申請者はこれらの関係性について“Onco-Hypertension”という分野を提唱している。

肝細胞がんでは特に末期において腹水、浮腫などの体液・電解質異常を呈することが知られているがその機序は明らかとなっておらず、治療および予防法は確立されていない。

申請者らのグループはナトリウム摂取量が増加すると肝臓における尿素産生量が増加し、この尿素が腎臓において浸透圧物質として作用することで、尿中ナトリウム排泄に伴う尿量増加 (ナトリウム利尿) を抑制し、体液喪失を防ぐことを明らかにしている (Kitada et al. J Clin Invest 2017)。

尿素は肝臓で産生されることから肝細胞がんにより尿素の産生が抑制されるとこれに伴い体液・電解質異常が惹起される可能性がある。実際、肝細胞がんラットを用いた予備検討を行ったところ、皮膚・筋肉における水分量が有意に増加していたこと、これは尿中アルドステロン排泄量と相関することが明らかとなった。

生体内の体液・ナトリウムの過剰な蓄積は、高血圧や心血管疾患のリスク因子であることから肝細胞がんに伴う体液・電解質異常の機序同定は肝細胞がん患者の心血管イベントを抑制する上でも極めて重要であると考えられる。

2. 研究の目的

本研究は肝細胞がんラットにおける組織の水分・ナトリウム量増加の要因を精査することを目的として行った。

3. 研究の方法

4週齢の Wistar Kyoto rat に対して5週齢より肝毒性物質である Diethylnitrosamine を8週間にわたり投与し、肝細胞がんを誘導した。

これらのラットにおける組織の体液・電解質含有量を測定するとともに、尿素を含めた体液保持機構がどのように関与しているか精査を行った。

これらのラットにおける組織の体液・電解質異常にアルドステロンが果たす役割を調べるため、上記と同様に作製した肝細胞がんラットに塩分負荷およびアルドステロン拮抗薬の投与を行った。

4. 研究成果

肝細胞がんモデルラットでは血漿のAST, ALTなどの肝逸脱酵素の上昇を認めるなど肝機能障害を呈するとともに、組織学的にも多発のがん形成がみられることが実証された。

本モデルでは腹水は認めず、かつ血漿のアルブミン濃度は保たれていたことから比較的早期の肝細胞がんモデルであると考えられた。

これらの肝細胞がんモデルラットは健常ラットと比して体重が有意に少なく、皮膚および筋肉の重量も有意に少なかった。これらのラットでは水分、ナトリウム、カリウムいずれの含有量も有意に減少していたが、組織重量の減少の方が相対的に顕著であったが故に、組織乾燥重量当たりの水分、ナトリウム、カリウムの含有量は増加していることが明らかとなった(図1)。

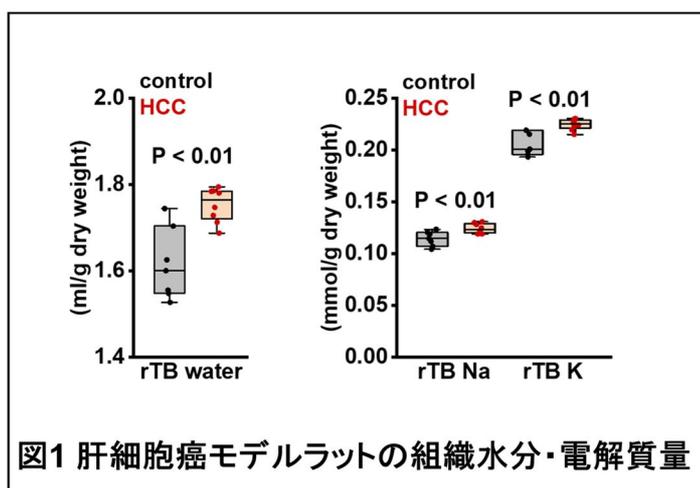


図1 肝細胞癌モデルラットの組織水分・電解質量

これらのラットにおける筋肉の解析を行った結果、筋肉の異化に携わっているグルココルチコイド受容体の活性化が認められたことから(図2)、これが筋肉の乾燥重量の減少に寄与するとともに、筋肉が異化亢進によって分解されることが水分・ナトリウムの供給量増加につながり、両者があいまった結果として組織重量当たりの水分・ナトリウム量増加に寄与している可能性が考えられた。

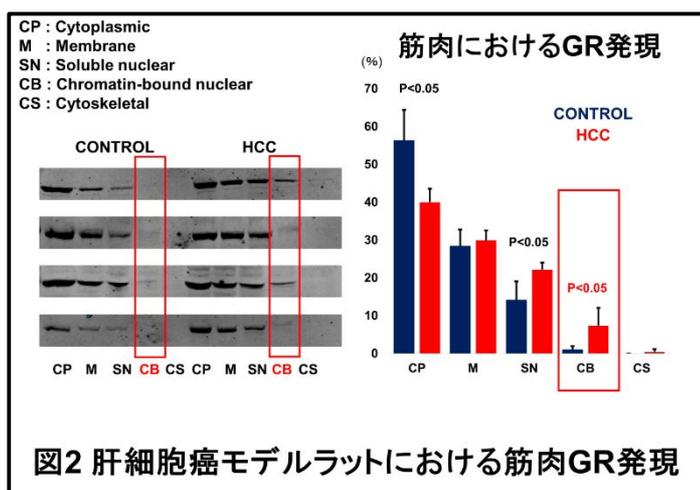


図2 肝細胞癌モデルラットにおける筋肉GR発現

肝細胞がんラットにおける尿中のアルドステロンを測定したところ、健常ラットと比して有意に上昇しており、これは組織における水分、ナトリウムの含有量と有意に相関することが明らかとなった（図3）。加えて肝細胞がんラットに7日間にわたり0.25%の食塩水を投与すると体内への水分の蓄積がみられ、体重が増加し、アルドステロン受容体拮抗薬であるスピロラク톤を投与するとその作用がキャンセルされることから組織における水分・ナトリウム蓄積にはアルドステロンの分泌亢進が寄与していることが考えられた。

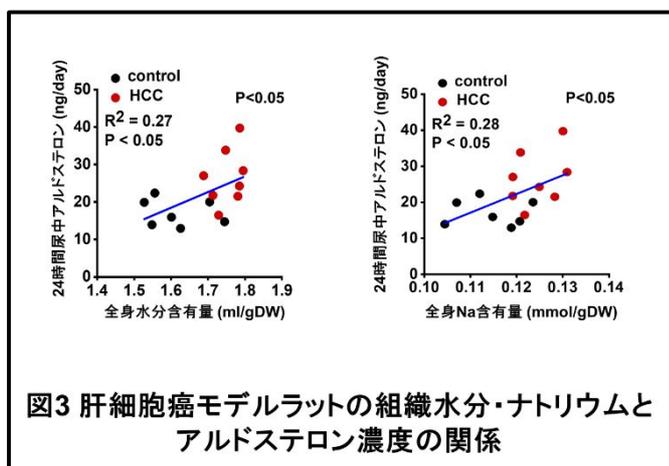


図3 肝細胞癌モデルラットの組織水分・ナトリウムとアルドステロン濃度の関係

これらのラットではDiethylnitrosamineの投与開始から2週間という早期の段階で尿量の増加が認められることから早期段階では体液喪失をきたしている可能性が想起された。

上述したように申請者らのグループはナトリウム摂取量増加時に尿素を用いた体液保持機構が活性化していることを報告していることから本モデルについても尿素の動態を精査した。肝細胞がんラットでは腎髄質の尿素トランスポーターの活性が有意に亢進した結果、尿素含有量が有意に増加していること、髄質の尿素含有量は組織における体液量と有意に相関していることから（図4）、肝細胞がんラットでは尿素を用いた体液保持機構が活性化しており、結果としてこれが組織における水分量増加に寄与している可能性が示唆された。

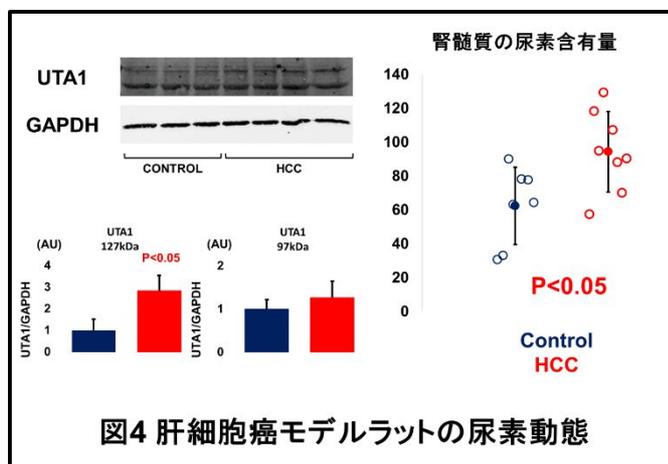


図4 肝細胞癌モデルラットの尿素動態

これらのラットの肝臓のメタボローム解析では尿素回路にかかわる因子に有意な傾向は認められず、尿素産生にかかわるMDH-1, ASAT, アルギナーゼといった酵素の活性にも変化は認められなかつ

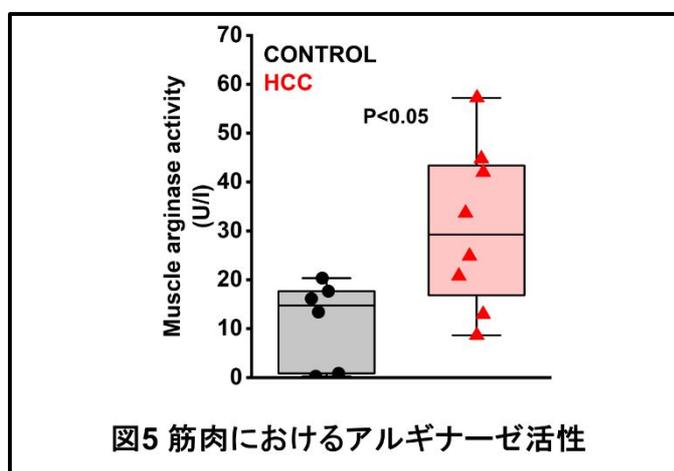
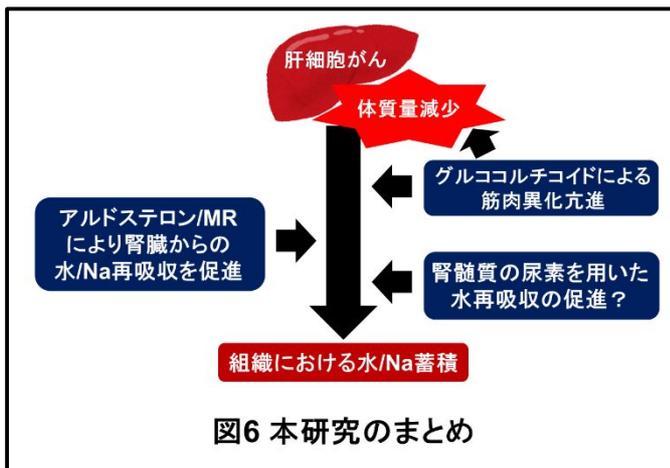


図5 筋肉におけるアルギナーゼ活性

た。一方筋肉におけるアルギナーゼの活性は有意に亢進しており（図5）、肝機能障害の結果、肝臓で産生できない分、代償的に筋肉での尿素産生が亢進し、これが腎髄質への集積を介して体液保持機構活性化、引いては組織水分量増加と関連している可能性が考えられた。

以上より、肝細胞がんラットでは組織における水分・ナトリウム蓄積をきたしており、これには副腎からのアルドステロンの分泌亢進、筋肉におけるグルココルチコイド受容体の活性化、腎髄質における尿素集積などの多臓器にわたる体液保持機構の活性化が関与しているものと考えられた（図6）。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Satoshi Kidoguchi, Kento Kitada, Kazuki Nakajima, Daisuke Nakano, Hiroyuki Ohsaki, Wararat Kittikuluth, Hideki Kobara, Tsutomu Masaki, Takashi Yokoo, Kazuo Takahashi, Jens Titze, Akira Nishiyama	4. 巻 289
2. 論文標題 Hepatocellular carcinoma induces body mass loss in parallel with osmolyte and water retention in rats	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Life Sciences	6. 最初と最後の頁 120192
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.lfs.2021.120192	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 木戸口 慧, 北田 研人, 中野 大介, 横尾 隆, 西山 成
2. 発表標題 肝細胞がんラットは、アルドステロン上昇を伴った皮膚水分およびナトリウム含量増加を示す
3. 学会等名 第64回日本腎臓学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木戸口 慧, 北田 研人, 中野 大介, 横尾 隆, 西山 成
2. 発表標題 肝細胞がんラットにおけるアルドステロン上昇は体液・ナトリウム喪失に対する代償機序としてはたらく
3. 学会等名 第43回日本高血圧学会総会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------