

主論文の要旨

**Chronic hyponatremia causes neurological and  
psychological impairments in rats**

〔慢性低ナトリウム血症はラットにおいて神経心理学的異常をきたす〕

名古屋大学大学院医学系研究科 分子総合医学専攻  
病態内科学講座 糖尿病・内分泌内科学分野

(指導：有馬 寛 准教授)

藤沢 治樹

## 【緒言】

低ナトリウム (Na) 血症は、最も頻度が高い電解質異常症である。慢性低 Na 血症は、脳が低 Na 血症に対し適応することができるため、長年、無症状であると考えられてきたが、近年の臨床研究により、慢性低 Na 血症が注意機能障害や歩行障害等の中枢神経症状と関連があり、患者の Quality of life 低下の一因となっていることが明らかとなってきた。しかし、慢性低 Na 血症を来す、心不全、肝不全、副腎不全、悪性腫瘍等の疾患それ自体が神経症状を生じるため、慢性低 Na 血症自体が神経症状を生じるかは明らかになっていない。

低 Na 血症の状態においては、脳細胞外の浸透圧が低下し、当初は浸透圧勾配に従って細胞内に水が流入し、細胞は膨張する。その後、脳細胞は浸透圧物質を水とともに細胞外に排出し、細胞内容を保とうとする。このような低浸透圧に対する適応の結果、慢性低 Na 血症の状態においては脳の容積は正常化する。主要な興奮性神経伝達物質であるグルタミン酸 (Glu) はこのような浸透圧物質の一つであるため、低浸透圧に対する適応の際に、細胞内から細胞外に排出される。そのため、慢性低 Na 血症モデルラット脳の Glu 含有量はコントロールと比較して 40%低下していることが明らかとなっており、慢性低 Na 血症が神経伝達に影響を与えていることが推測される。しかしながら、慢性低 Na 血症の神経系への影響に関する統合的研究は少ない。そこで本研究は、慢性低 Na 血症モデルラットを作成し、慢性低 Na 血症の中枢神経系への影響を統合的に研究することを目的とした。

## 【方法】

6-7 週齢雄 Sprague-Dawley ラットに 1-deamino-8-D-arginine vasopressin (dDAVP) を持続注入し、液体食で 7 日以上飼育することで慢性低 Na 血症モデルラットを作製した。それらの慢性低 Na 血症モデルラットは、dDAVP を 0.3 ng/h で注入する moderate hyponatremia 群と、0.7 ng/h で注入する severe hyponatremia 群の 2 つの群を作製した。同様に生理食塩水を持続注入し、液体食で飼育した血清 Na 濃度正常ラットをコントロール群とした。慢性低 Na 血症モデルラットで脳浮腫を生じていないこと確認するため、MRI を用いて apparent diffusion coefficient (ADC) を測定し、コントロール群と比較した。歩行異常の詳細は CatWalk と呼ばれる歩行解析装置で評価し、活動性はオープンフィールドテストで解析した。また、新規物体探索試験および文脈恐怖条件付け試験を用いて記憶・学習の解析を行った。さらに、海馬 CA1 野の細胞外電位を *in vivo* で記録することにより、慢性低 Na 血症のシナプス基礎伝達 (Input-Output curve) や記憶の基盤と考えられる長期増強 (LTP) への影響を検討した。また、ラット海馬の CA1 領域において、*in vivo* microdialysis により、細胞外 Glu 濃度の測定を行った。加えて、低濃度 Na 培地において初代培養マウスアストロサイトの L-[<sup>3</sup>H]-Glu の取り込み能を測定した。Glu の取り込みは主にアストロサイトの Glu トランスポーター (GLT-1, GLAST) に依存しており、それらの発現量について、初代培養マウスアストロサイトの mRNA 発現量およびラット海馬の膜分画にお

けるタンパク量をコントロール群と低 Na 群で比較した。さらに、慢性低 Na 血症の神経細胞に対する直接的な効果を調べるため、低濃度 Na 培地で培養した初代培養マウス神経細胞において、抗マンガンスーパーオキシドジスムターゼ染色によるミトコンドリア分布および ATP 産生能を評価した。また、慢性低 Na 血症を補正することにより行動異常が回復するか否かを調べるため、コントロール群と V2 受容体拮抗薬である tolvaptan を用いて低 Na 血症を補正した群で行動解析を行った。

## 【結果】

慢性低 Na 群とコントロール群間で ADC 値に有意差は認めず、慢性低 Na 血症モデルラットでは脳浮腫は生じていないと考えられた(Figure 1)。歩行解析により、低 Na 群ではコントロール群と比較し、歩幅が短くなる、左右の後脚間の距離が長くなる、“Duty Cycle”（足が接地している時間の割合）が長くなるなどの失調性歩行を呈することが明らかとなった(Figure 2)。また、活動性には変化がなかったものの、記憶は障害されていた(Figure 3)。これらの行動解析においては、moderate hyponatremia 群と severe hyponatremia 群間では有意差を認めなかった(Figure 2, 3)。海馬 CA1 野の細胞外電位記録により、低 Na 群では、シナプスの基礎伝達には有意差を認めなかったものの、LTP の誘発が抑制されていることが示された(Figure 4)。さらに、*in vivo* microdialysis により低 Na 群ラット海馬では細胞外 Glu 濃度が増加していることが示され(Figure 5)、アストロサイトの Glu 取り込み能は低下していた(Figure 6)。Glu トランスポーター (GLT-1, GLAST) については、初代培養アストロサイトの mRNA 発現量は低 Na 群で減少していたが、ラット海馬の膜分画タンパク量は両群間で有意差を認めなかった(Figure 6)。また、低 Na 培地で培養すると、神経細胞のミトコンドリアの分布異常（神経突起のミトコンドリアが減少する）や ATP 産生能が低下することが示された(Figure 7)。さらに、低 Na 補正群とコントロール群間で、歩行、記憶、行動量に有意差を認めなかった(Figure 8)。

## 【考察】

慢性低 Na 血症は歩行障害を来すこと、さらに海馬 CA3-CA1 シナプスの LTP の発現を抑制して記憶障害を生じることが示された。細胞外 Glu 濃度が高いと LTP の発現が抑制されることが報告されており、本研究で示された慢性低 Na 血症による細胞外 Glu 濃度の上昇が LTP 発現低下の原因と考えられた。また、慢性低 Na 血症はアストロサイトの Glu 取り込みを障害することにより細胞外 Glu 濃度を上昇させることが示されたが、Glu トランスポータータンパクの発現量には影響を与えなかった。Glu トランスポーターは細胞内外の Na 濃度勾配をエネルギー源としており、細胞外 Na 濃度の低下に伴う Na 濃度勾配の低下によるトランスポーター機能の低下が Glu 取り込み障害の原因と推測された。さらに、低 Na 血症は直接的に神経細胞障害を来すことも示された。また、低 Na 補正群とコントロール群間で、歩行、記憶、行動量に有意差を認めなかったことから、慢性低 Na 血症を補正することにより、行動異常が回

復することが示唆された。

### 【結論】

慢性低 Na 血症が歩行障害、記憶障害を生じることがラットモデルで明らかとなった。さらに、慢性低 Na 血症における記憶障害の機序として、海馬 CA1 野の LTP の誘発が抑制されていることが示された。また、アストロサイトの Glu 取り込み能の低下による細胞外 Glu 濃度の上昇が LTP の誘発抑制の原因と考えられた。さらに、慢性低 Na 血症を治療することにより、行動異常が回復することが示唆された。