

- adenohypophysis. Proc Natl Acad Sci USA 92: 170-174, 1995.
4. Kohimura K, Tanaka J, Murakami Y, Kato Y: Effect of tetrahydrobiopterin on dopamine release from PC12 cells. Biomed Res (Tokyo) 20:141-144, 1999.

【2】抗利尿ホルモン (ADH) 分泌異常症

「抗利尿ホルモン (ADH) 分泌異常症」座長のまとめ

齊藤寿一 (自治医科大学内分泌代謝科)

ADH (AVP) 分泌異常症の研究では、その欠乏状態である尿崩症と過剰状態である ADH 分泌異常症候群 (SIADH) あるいは低ナトリウム血症について、本年度も臨床的および基礎的領域での進展がみられた。

1. 尿崩症

昨年度、当研究班が行なった全国疫学調査の結果、家族性中枢性尿崩症の9家系が発見された。大磯らはその臨床的特徴に検討を加え、うち血液の提供が得られた2家系の遺伝子を解析した。AVP の構造遺伝子は3つのエクソンにわかれており、その産物はシグナルペプチド、AVP、ニューロフィジンはおよびグリコプロテインの4つの部分からなるバゾプレシン前駆体 prepro-AVP であり患者白血球からゲノム DNA を抽出してその異常の部位を解析した。発見された家族性中枢性尿崩症はいずれも常染色体優性遺伝の形式で家系内の発症を示している。

家系1では母と女兒で何れも幼児期に発症し血漿 AVP 濃度は基礎値と水制限後の何れも低値を示した。シグナルペプチド C 末端のアラニンがスレオニンに置換する変異がみられた。家系2では1歳と2歳に発症した第三世代の患者2名において検討し2歳の患者では1日1,500ml に及ぶ多尿が見られるものの血漿 AVP (pg/ml) は基礎値 0.97、水制限後 1.51 と低値であるものの AVP 分泌能は維持されていた。AVP 遺伝子エクソン2の解析では GAG の3塩基欠損がみられニューロフィジン領域のグルタミン47の欠損であった。今回発見された遺伝子異常はシグナルペプチド C 末端の A-1T は世界で8例目、本邦で2例目であり、またニューロフィジン delE47は世界で5例目、本邦では2例目で本邦でもこの2か所に集積する傾向がみられている。これらの変異がバゾプレシン産生異常を招く機序の詳細を検討する目的でマウス下垂体腫瘍細胞 AtT-20 で AVP 前駆体のプロセッシングと分泌を調べるパルスチェイス実験を行なった。delE47 では Wild Type に比較してpro-AVP の半減期は延長しプロセッシングの障害が示され、またゴルジへの輸送にも障害があることが示された。また家族性中枢性尿崩症でみられる別の変異 G75S について培養 Neuro 2A 細胞で行なった発現実験では14日目から細胞活性の低下がみられ細胞の壊死性変化があることが示された。これらの成績は、家族性中枢性尿崩症の発症は AVP 遺伝子の異常に直接由来した AVP 生合成障害よりはむしろ変異 AVP 前駆体蛋白が小胞体に貯留する結果、細胞に緩徐な壊死がおこるといふ仮説を支持するものであった。疫学調査の結果では家族性中枢性尿崩症では特発性尿崩症患者とは異なって、下垂体後葉のT1—高信号が残存している例が比較的多くこのこともこの病態が緩徐な細胞壊死に由来していることを示唆している。

2. ADH 分泌異常症候群 (SIADH)

AVPの過剰状態では水の貯留と共に低ナトリウム血症が発生し患者の状態を悪化させる。斉藤らはAVPの抗利尿作用の発現部位である腎集合尿管のAVP感受性の水チャネル、アクアポリン(AQP)2について腎組織内での発現および尿中への排泄を指標として動物実験と臨床症例で検討している。今回は特に副腎皮質機能低下がもたらす水利尿不全にAVP-AQP2系がどの様に関わっているかを解明した。下垂体性副腎皮質機能低下症の患者では水利尿低下に由来する低ナトリウム血症がみられる。下垂体性副腎皮質機能低下症患者8名と対照健常者6名において水負荷試験を行なうと患者群では水利尿の低下がみられ、同時に尿中AQP2排泄は基礎値で健常者の2.5倍に達し、また水負荷後にも抑制は阻害されていた。基礎状態における血漿AVP濃度は下垂体性副腎皮質機能低下症においても健常者と差を認めず、糖質コルチコイド補充療法を行なうと、水利尿改善と共に、尿中AQP2排泄も低下した。これらの事実は副腎皮質機能低下状態における水利尿不全は、糖質コルチコイド欠乏状態におけるAQP2産生系の賦活化亢進に由来することを示唆している。ラットにおいて両側副腎摘出後には血漿浸透圧の低下と血中AVP濃度の上昇がみられ、また腎のAQP2はmRNAと蛋白質何れも発現の亢進がみられた。またAVPのV₂受容体拮抗剤を投与すると腎AQP2のmRNAと蛋白質とは何れも抑制され副腎皮質機能低下状態における水利尿不全がAQP2産生亢進に由来していることがラットの実験でも示された。従来から用いられてきたAVPの腎作用の指標は尿浸透圧のみであり、これは集合尿管のAVP感受性の他に糸球体濾過量や腎髄質浸透圧など多くの要因に支配されている。その点で尿中AQP2測定は腎のAVP反応性の指標として臨床的に有用度が高いと考えられる。

SIADHでは血漿AVP濃度に比較して抗利尿反応は低下しAVP escapeの現象を来す。その機序を解明する目的で、大磯らはラットにおいて液体食を投与して水摂取量を増し、同時に抗利尿ホルモン誘導体であるdDAVPを持続的に皮下に注入し実験的にSIADH動物を作成した。その結果、SIADHラットでは負荷後2日目までに尿量の増加と尿浸透圧の低下とがありAVP escapeの現象が確認された。それと平行して腎髄質のAQP2蛋白質の発現量は減少していた。一方、AVPのV₂受容体結合能は水負荷に伴う低ナトリウム血症の発症とともに低下し、またV₂受容体蛋白質のmRNAもこれと平行して低下した。これらの事実はSIADHにおけるescape現象がAVPのV₂受容体の抑制でおこること、それには体液量増大や血漿浸透圧低下などの要因が関与することが示唆された。

一方、木村らは低ナトリウム血症とSIADHの発症の実態を救命救急センターを併設する古川市立病院(宮城県古川市)の3か月にわたる観察から検討した。外来および入院患者の総検体の4.7%に134mEq/l以下の低ナトリウム血症がみられ129mEq/l以下の検体は1.1%に認められた。129mEq/l以下の低ナトリウム血症の57例ではSIADHは34例(60%)に認められ、高齢者が80%を占めた。これらのSIADHのうち25例では炎症性疾患などによりInterleukin-1やInterleukin-2の増加を招いた炎症性サイトカイン誘発によるAVP分泌亢

進があるものと考えられた。低ナトリウム血症が70歳代を頂値として高齢者に発生しやすいこと、その多くが炎症性疾患に伴うサイトカイン誘発性のSIADH と考えられることを報告した。

3. むすび

下垂体後葉ホルモン、AVP についての研究では全国の疫学調査をもとにした家族性中枢性尿崩症の遺伝子解析が行なわれ、今後この疾患の発症が仮説されている様な異種蛋白のAVP 産生細胞ない蓄積に由来するものであるかどうか、更に異なった遺伝子異常の検索と臨床症状との詳細な対比で検討することが求められる。また腎の AQP 2 発現と尿中 AQP 2 排泄は腎のAVP 作用の指標として臨床的に有用であり、他の多尿性疾患や低ナトリウム血症など間脳下垂体障害の病態解析に今後、対象を拡げての検討が求められる。その一貫として、特に中枢神経系疾患や炎症性疾患などのいわゆるサイトカイン由来のSIADH などの病態において、発症機序の明らかでない多くの低ナトリウム血症の検討に有用であろうと考えられる。

本邦における家族性中枢性尿崩症の遺伝子異常検索のまとめ

分担研究者	大磯ユタカ（名古屋大学第一内科）
研究協力者	長崎 弘（同）
	関谷佳代（同）
	石崎誠二（同）
	村瀬孝司（同）

【背景】

家族性中枢性尿崩症はバゾプレシン（AVP）遺伝子異常に起因する下垂体後葉からのAVP分泌不全により多飲、多尿を呈する疾患であり 1) 常染色体優性遺伝形式、及び 2) 幼少時発症、という2つの特徴を持つ疾患である。前年度からの問脳下垂体機能障害調査研究班の全国疫学調査において9家系の新たな家族性中枢性尿崩症が報告された。そのうち血液検体提供のあった2家系につき AVP 遺伝子解析による遺伝子診断を行い、その異常遺伝子の発現実験を行った。また、疫学調査から、下垂体の MRI 所見について特発性中枢性尿崩症との若干の異同を認めたので考察を加えた。

【対象】

研究班の全国調査で提出された家族性中枢性尿崩症の9家系はいずれも常染色体優性遺伝形式を示した。この中で旭川医科大学小児科と、社会保険中京病院小児科から、それぞれ家系 As、Ch の発症者及び非発症者の血液検体を提供を受けた。両家系共に幼児期発症であった（表1）。家系Asでは水制限試験で血漿AVPの上昇が全く認められなかったが、Ch-2 では 0.97 から 1.51 pg/ml と、わずかながらも分泌増を認めた。

【方法】

患者血液の白血球からゲノムDNAを抽出し、PCR-direct sequence により塩基配列を確認した。また同一家系内構成員については制限酵素解析により遺伝子変異の検索を行った。今回の変異を human AVPcDNA に組み込んで発現ベクター pRcRSV にサブクローニングしたコンストラクトを作製した。これらをマウス下垂体腫瘍細胞系 AtT-20 もしくはNeuro2A に、一過性及び安定性に導入して発現実験を行った。培地の AVP を RIA 法にて測定した。AVP前駆体蛋白のプロセッシング及び分泌を調べるため安定性発現細胞を用いてパルスチェイスを行い、免疫沈降、SDS-PAGEにより解析した。またバルプロ酸で分化誘導した Neuro2A cell を用いて異常 AVP 遺伝子の細胞毒性を検討した。

【結果】

遺伝子解析（表2）：家系Asでは既報のシグナルペプチドC末端のアラニンがスレオニンに置換する、A (-1) T 変異が認められた。家系 Ch の変異は遺伝子レベルでは新規のものだったがアミノ酸レベルでは既報のニューロフィジン（NP）領域のグルタミン酸47の1

アミノ酸欠失であった。A (-1) T 変異は世界では8例目、本邦では2例目となる。もうひとつのNPΔE47 変異も世界で5例目、本邦では2例目となり、本邦においてもこれら2カ所に集積する傾向が認められた。(図1)

一過性発現における AVP 分泌 : A (-1) T、ΔE47、他の家系で認められたG57Sの変異の一過性発現実験ではいずれも培地に分泌される AVP 免疫活性は wild - type (WT) に較べて著明に減少していた。

パルスチェイス解析 : ΔE47に由来する前駆体の細胞内半減期の延長、プロセッシング効率の低下、培地への移行の減少が認められた。

細胞毒性の検討 : G57Sを発現する Neuro2A cell では、WT に較べ、day14から有意な細胞活性の減少を示した。同時に DNA の laddering も検討したが、有意な変化は認められなかった。

MRI の T1 強調像における下垂体後葉の bright spot の検討 : 下垂体後葉の高信号は AVP を package している神経分泌顆粒に由来しており、その消長はAVP分泌動態と密接に相関し、特発性中枢性尿崩症においては、ほぼ全例が高信号を消失することが知られている。今回のアンケート調査結果からMRI検査の時期とAVP分泌能の対比を行った(表3)。9名の発端者のうち3名が後葉の高信号を示した。case 1 では発症後1年4ヶ月と比較的早い時期の画像であり水制限による AVP の上昇反応も比較的保持されていた。Case 5 では発症から4年後の画像で、水制限後の AVP 上昇はわずかであった。Case 8 では発症後20年以上経ってもまだ高信号が認められたが、水制限試験は実施されていなかった。

【考察】

これらの培養細胞系における発現実験の結果より、家族性中枢性尿崩症患者のAVP産生ニューロンにおいてAVP遺伝子変異に由来する変異AVP前駆体蛋白が小胞体に貯留する結果、細胞に緩徐な壊死がおこり、ある一定のレベルを下回った時点で尿崩症が発症すると考えられる。一方、変異前駆体蛋白の小胞体 - ゴルジ間の輸送障害は不完全であり、その一部は WT と同様に翻訳後プロセッシングを受けて分泌される可能性も示唆された。以上のことから高信号残存例においては、尿崩症発症後もなお残存する AVP 産生ニューロンが成熟AVPを少量ながらも合成、分泌し続けているという可能性が考えられた。

【結語】

家族性中枢性尿崩症患者では特発性中枢性尿崩症に比べてAVP 分泌能を少量ながらも保持する例が少なからずあると考えられ、今後MRIとAVP分泌刺激試験を関連づける調査が期待された。

今後さらに尿崩症家系の遺伝子診断の例数を増やして発症機序を解明するとともに、既報の家系の保因者である可能性を持つ乳児などを対象としたAVP遺伝子スクリーニングを積極的に行い、早期治療や遺伝相談などの臨床応用を進めたい。

表 1.

症例	発症年齢	血漿 AVP 基礎値(pg/ ml)	飲水制限後 AVP(pg/ ml)
As-1	幼児期	0.5	0.6
As-2	幼児期	0.5	0.6
Ch-1	4 y.o.	-	-
Ch-2	2 y.o.	0.97	1.51

表 2.

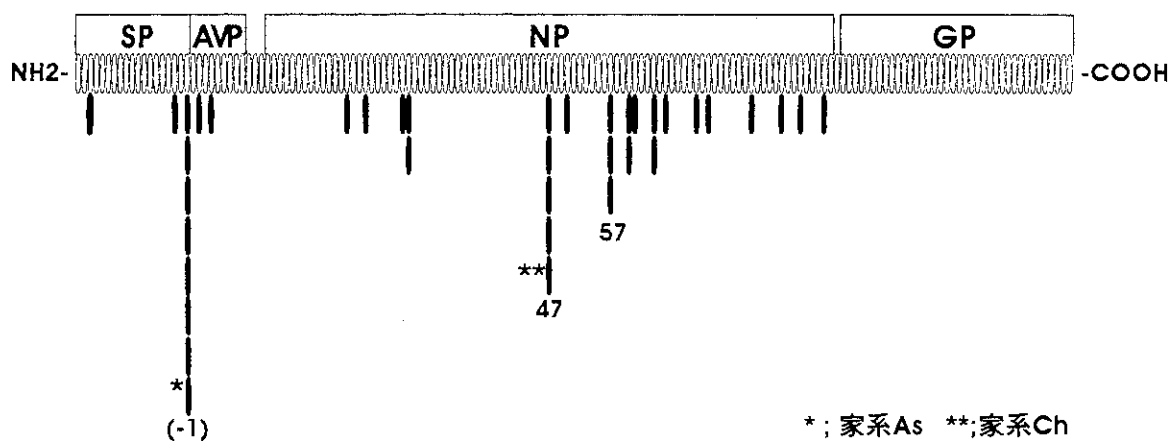
Family	exon	position	mutation	predicted change of amino acid
As	1	279	G to A	SP Ala (-1) Thr
Ch	2	1824-29	del GAG	NP Glu deletion

SP; signal peptide, NP; neurophysin. Nucleotide position is according to the report of Sausville.

表 3.

症例	MRI 高信号	検査時期 (発症後の期間)	尿量 (L/day)	水制限後血漿 AVP (pg/ml)	検査時年齢 (才)
1	+	1年4ヶ月	1.3	5.4	4
2	-	10年	7~10	0.4	18
3	未実施	5年	-	-	不詳
4	未実施	-	4.5	-	-
5	+	4年4ヶ月	2~3	0.6	10
6	-	13年	0.8	0.6	17
7	-	数十年	7	-	74
8	+	20年以上	5	0.5	28
9	-	12年	7~10	U.D.	17

図 1. AVP 前駆体 (prepro AVP) における変異の位置



*; 家系As **; 家系Ch

下垂体副腎系の障害にみられるバゾプレッシン (AVP) 依存性水利尿不全：患者およびモデル動物におけるアクアポリン-2(AQP-2) の解析

分担研究者 齊藤寿一（自治医科大学内分泌代謝科）
研究協力者 齋藤孝子（同）
石川三衛（同）

【背景】

アルギニンバゾプレッシン (AVP) は、腎集合尿細管に作用して水の再吸収を促進し、尿の濃縮を惹起する。集合尿細管の主細胞は水チャネルアクアポリン-2 (AQP-2) が細胞質内小胞に存在し、AVP の刺激に反応して、管腔側細胞膜上に移動して水の再吸収を司る¹⁾。AVP の刺激が解除されると、AQP-2 の大部分は再び細胞質内小胞上にもどる²⁾が、腎集合尿細管細胞のAQP-2 のうち、約3%が尿中に排泄される^{3) 4)}。我々はこの尿中に排泄される AQP-2 を RIA 法にて測定する系を確立した⁵⁾。これまで、多尿・水利尿不全を示す水代謝異常症患者において尿中 AQP-2 を測定し、尿中 AQP-2 排泄量が腎内 AQP-2 の動態を反映して、AVP 依存性の水代謝異常症の診断に有用なことを示してきた⁶⁾。

今回の研究では、水利尿不全に基づく低 Na 血症がみられる下垂体性副腎皮質機能低下症患者において尿中 AQP-2 排泄の動態を明らかにした。さらに糖質コルチコイド欠乏状態にみられる水利尿不全における AVP の果たす役割について、動物モデルを作製して腎内 AQP-2 発現を中心に検討した。

【方法】

1) 下垂体性副腎皮質機能低下症患者8例（男4例、女4例、55—75才）と健常者6名（男5名、女1名、22—25才）を対象に、急性経口水負荷試験（20 ml/kg）を施行した。患者群の血清コルチゾールは $3.1 \pm 0.8 \mu\text{g/dl}$ 、ACTH $10.3 \pm 1.6 \text{pg/ml}$ であり、血清ナトリウム値は $134.0 \pm 2.7 \text{mEq/l}$ 、血漿浸透圧 (Posm) は $275.3 \pm 6.9 \text{mOsm/kgH}_2\text{O}$ と低張であるにもかかわらず、血漿 AVP 濃度は $1.5 \pm 0.2 \text{pg/ml}$ と抑制されていなかった。急性水負荷試験は、早朝空腹時に水20ml/kgを30分間で飲水後、30分後に採尿、1時間ごとに採血して計4時間観察した。Posm、血漿 AVP 濃度、尿浸透圧 (Uosm)、尿クレアチニンおよび尿中 AQP-2 を測定した。また、下垂体性副腎皮質機能低下症患者8例においては、Hydrocortisone 20mgを補充後にも同様の水負荷試験を施行し、同様の項目について測定した。

2) 約250-300g の雄性 SD ラットを用いて、両側後腹膜切開法にて両側副腎を摘出し、ラット背部の皮下に浸透圧ポンプを埋め込んだ。糖質コルチコイド欠乏ラットでは aldosterone を $42 \text{ng}/100 \text{g/hr}$ で持続皮下投与し、対照ラットでは aldosterone $42 \text{ng}/100 \text{g/hr}$ と

dexamethasone 58ng/100g/hr を持続皮下投与した。両群のラットは手術後7-14日目に実験に供した。自由飲水下で24時間の尿を採取後、断頭にて血液を採取し、腎臓を摘出した。血液では血清 Na、血漿浸透圧、血漿 AVP 濃度を測定した。腎臓では AQP-2mRNA、AQP-2 蛋白、AVP 受容体結合能、AVP_{V2} 受容体 mRNA を検討した。尿では尿浸透圧を測定した。次に両群のラットにおいて急性経口水負荷（水 30ml/kg）を行い、20分おきに採尿、計3時間観察し、尿量及び尿浸透圧を測定した。また3日経過した後に、同ラットに同様の経口水負荷を行い、最大利尿が得られる1時間後に、断頭した。血液・腎臓を採取し、血清 Na、血漿浸透圧、血漿 AVP 濃度、腎内AQP-2mRNA、AQP-2 蛋白を検討した。また、両群ラットにおいて、AVP V₂ 受容体拮抗薬（5-dimethylamino-1{4-(2-methylbenzoylamino) benzoyl}-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzazepine hydrochloride, OPC-31260) 30mg/kg を経口的に投与し2時間経過した後に同様の経口水負荷を行い、腎臓を採取し、AQP-2 mRNA、AQP-2 蛋白を検討した。

【結果】

下垂体性副腎皮質機能低下症患者では尿排泄量は負荷水量の26.6%と明らかな水利尿不全を認めた。血漿 AVP 濃度は正常範囲内で健常者と有意差は認めないが、患者群では低血漿浸透圧に比して、相対的に高値であった。下垂体性副腎皮質機能低下症患者において水負荷試験施行時の尿中 AQP-2 排泄量を測定したところ、前値の尿中AQP-2 排泄は 381.3 ± 21.5 fmol/mg creatinine と健常者の2.5倍に達し、また水負荷後の排泄減少も軽微で、健常者と明らかな差異を認めた。下垂体性副腎皮質機能低下症の患者では、ハイドロコルチゾン投与後水利尿は正常化し、尿中 AQP-2 排泄の基礎値も水負荷試験時の最小値もそれぞれ健常者と同等のレベルまで低下した。

糖質コルチコイド欠乏ラットの血清 Na は対照ラット 150.8 ± 6.7 mEq/l に対し 139.3 ± 0.3 mEq/l と低値であった($n=6$, $P<0.05$)。糖質コルチコイド欠乏ラットの AQP-2 mRNA の発現は対照ラットの $152.8 \pm 6.7\%$ と有意に亢進していた ($n=4$, $P<0.05$)。AQP-2 蛋白も糖質コルチコイド欠乏ラットでは対照の $134.8 \pm 5.5\%$ と増加が認められた ($n=4$, $P<0.05$)。両ラットに経口水負荷を行うと、糖質コルチコイド欠乏ラットでは尿排泄率は $38.7 \pm 11.7\%$ にとどまり、著しい水利尿不全を認めた。水負荷後の最小尿浸透圧は、糖質コルチコイド欠乏ラットでは 379.4 ± 50.8 mOsm/kgH₂O であり、対照群の 138.0 ± 25.5 mOsm/kgH₂O に比べて有意の高値にとどまった ($p<0.05$)。自由飲水下における血漿 AVP 濃度は糖質コルチコイド欠乏ラットでは 2.6 ± 0.8 pg/ml と血漿浸透圧 (282.7 ± 3.3 mOsm/kgH₂O) に比べて相対的に高値であり、水負荷後も 1.4 ± 0.1 pg/ml と十分な抑制が得られなかった。腎内 AQP-2 mRNA発現の亢進は水負荷後も持続し、対照ラットの $148.8 \pm 5.0\%$ と有意に高値であった ($p<0.05$)。糖質コルチコイド欠乏ラットに予め AVP V₂ 受容体拮抗薬である OPC-31260 を2時間前に投与してから急性経口水負荷試験 (30ml/kg) を行うと、水利尿不全は消失し、亢進していた腎内 AQP-2mRNA および蛋白発現は完全に抑制された。腎髄質部の AVP 受容体結合実験では解離平衡定数 (Kd) は対照ラット 1.51×10^{-10} M、糖質コルチコイド欠乏ラッ

ト 1.75×10^{-10} Mと両群間に差違はみられなかった。また、最大受容体結合能 (Bmax) は対照ラット 8.45 pmol/mg protein に対し、糖質コルチコイド欠乏ラットでは 7.29 pmol/mg protein であり、両群に有意差をみとめなかった。AVP V₂ 受容体 mRNA 発現にも両群間で有意な差をみとめなかった。

【考察】

下垂体性副腎皮質機能低下症およびそのモデル動物である糖質コルチコイド欠乏ラットにおいて、血漿 AVP 濃度は血漿浸透圧に比べて相対的に高値を示した。急性水負荷試験から明らかのように著しい水利尿不全が存在した。糖質コルチコイド欠乏ラットに AVP V₂ 受容体拮抗薬 OPC-31260 を投与すると、水利尿が完全に正常化する事実から、この水利尿不全が AVP 依存性であることは明らかである。糖質コルチコイド欠乏ラットの腎内 AQP-2 発現は、対照ラットに比べて有意に亢進し、水負荷後も十分に抑制されなかった。この AQP-2mRNA の upregulation が AVP に依存することは、OPC-31260 投与の結果から支持される。集合尿管細胞内の AQP-2 の約3%が尿中に排泄されるので、下垂体性副腎皮質機能低下症における尿中 AQP-2 排泄の増加は腎内 AQP-2mRNA、蛋白発現の亢進を反映する所見と理解できる。また、ハイドロコチゾン投与により腎内 AQP-2mRNA 発現が正常化し(対照ラット)、下垂体性副腎皮質機能低下症の患者における尿中 AQP-2 排泄が健常者と同等まで低下することから、AVP 分泌亢進が糖質コルチコイド欠乏自身によることも明らかで、従来報告を支持している。

さらに、本研究では、糖質コルチコイド欠乏ラットにおける腎内 AQP-2mRNA の発現亢進が血漿 AVP 濃度から想定される AQP-2 の発現より明らかに強力であることを指摘した。糖質コルチコイド欠乏状態では、AVP に加えて何らかの腎内因子が AQP-2 発現亢進に関与する可能性が示唆される。

【文献】

1. Fushimi K, uchida S, Hara Y, et al: Cloning and expression of apical membrane water channel of rat kidney collecting tubule. *Nature* 361: 549-552, 1993.
2. Saito T, Ishikawa S, Sasaki S, et al: Alteration in water channel AQP-2 by removal of AVP stimulation in collecting duct cells of dehydrated rats. *Am J Physiol* 272: F183-F191, 1997.
3. Kanno K, Sasaki S, Ishikawa S, et al. Urinary excretion of aquaporin-2 in patients with diabetes insipidus. *N Engl J Med* 332: 1540-1545, 1995.
4. Rai T, Sekine K, Kanno K, et al: Urinary excretion of aquaporin-2 water channel protein in human and rat. *J Am Soc Nephrol* 8: 1357-1362, 1997.
5. Saito T, Ishikawa S, Sasaki S, et al: Urinary excretion of aquaporin-2 in the diagnosis of central diabetes insipidus. *J Clin Endocrinol Metab* 82: 1823-1827, 1997.
6. Saito T, Ishikawa S, Sasaki S, et al: Exaggerated urinary excretion of aquaporin-2 in the pathological state of impaired water excretion dependent upon arginine vasopressin. *J Clin Endocrinol Metab* 83: 4034-4040, 1998.

脳内浸透圧受容体についての検討

分担研究者	木村時久 (古川市立病院)
研究協力者	太田耕造 (同)
	庄司 優 (弘前大学臨床検査科)
	太田昌宏 (東北大学医学部第二内科)
	森 建文 (同)
	佐畑貴之 (同)

【背景】

水電解質バランスにおいて、渴感に伴う飲水と、AVP 分泌による尿量調節が重要な役割を果たしている。血漿浸透圧の上昇は脳内の浸透圧受容体にて感知されると考えられているが、その局在および機能についての詳細はいまだ明らかでない。

他方、人が舌で塩分を感じずる際、アミロライド感受性 Na チャンネルが重要である事¹⁾、また腎尿細管やマクラデンサにおいて Na-K-2Cl 共輸送体が NaCl 濃度を感知するのに重要な役割を果たしている事²⁾が報告されている。我々は血漿浸透圧の変化を感知する際、脳内において、このアミロライド感受性 Na チャンネルや Na-K-2Cl 共輸送体が関与している事を明らかにし、昨年の本班会議にて発表した。今回は、Na-K-2Cl 共輸送体が浸透圧の変化を感知する際、浸透圧刺激としての NaCl の重要性を明らかとするため以下の実験を行った。

【対象と方法】

体重 200 から 250g のオスSD ラットを用い、エーテル麻酔で Stereotaxis 下に ICV カニューラを側脳室に挿入、5日後に左大腿動静脈にカテーテルを挿入して翌日、無麻酔、無拘束下で実験を行った。

はじめに -15分の時点で Na-K-2Cl 共輸送体の拮抗剤である furosemide を 10 μ g/10 μ l 脳室内投与し、引き続き 0分より 700mOsm/kg の高張食塩水 (HS)、700mOsm/kg の高張糖液 (HG) およびコントロールとして300mOsm/kg の人工脊髄液 (Con) を 3.3 μ l/min で脳室内持続投与し、血圧、心拍数測定ならびに採血を行った。採血は一回 3ml を採取し同量の donor blood にて置換した。血液は遠心後、血漿浸透圧、血中 Na、K 濃度を測定、血中 Vasopressin (AVP) 濃度は Sep-pack にて抽出後、既報の RIA にて測定した。

【結果】

血圧、心拍数は Con では変化なかったが、HG 群および HS 群では血圧は有意に上昇、心拍数は有意に低下した。その変化は HS で有意に大きかった (Fig.1)。HG 群における血圧の上昇は脳室内への furosemide 投与にて影響されなかったが、HS 群における血圧上昇

は furosemide 投与にて有意に抑制された (Fig. 2, A)。

心拍数はHS 群でのみ有意に低下し、 furosemide 投与にてこの変化は抑制された (Fig. 2, B)。

血漿浸透圧はいずれの群においても有意な変化はなかった (Fig. 3, A)。一方、血中 AVP 濃度はHS、HG 群で有意に増加しその変化はHS で有意に大きかった (Fig. 3, B)。HG 群における血中 AVP 濃度の上昇は脳室内への furosemide 投与にて影響されなかったが、HS 群における血中 AVP 濃度の上昇は furosemide 投与にて有意に抑制された (Fig. 4)。

【考察】

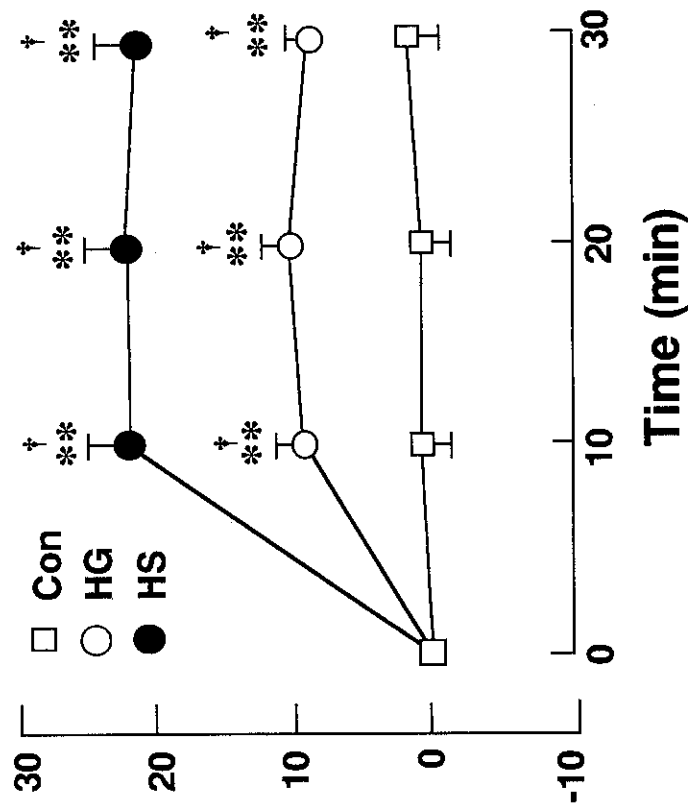
1940年代より、脳内に浸透圧受容体の存在が示唆され³⁾、近年、破壊実験等によりさらに詳細な局在が検討されている^{4, 5)}が、未だその正体は不明である。最近、Olietら⁶⁾により stretch inactivated cationic channel の、Jungら⁷⁾により脳内 aquaporin 4 の存在がそれぞれ報告され、脳内浸透圧受容機構において重要な役割を果たしている事が示唆されている。以前、我々は血漿浸透圧の上昇を感知し AVP 分泌を刺激する経路にアミロライド感受性 Na チャンネルおよび Na-K-2Cl 共輸送体が関与している事を昨年の本会議にて報告した。今回、furosemide の脳室内投与が高張食塩水刺激による AVP 分泌のみを抑制した事から、Na-K-2Cl 共輸送体を介する AVP 分泌は、浸透圧の変化ではなく、NaCl の上昇を特異的に感知して AVP 分泌に重要な役割を果たしている事が示唆された。

【文献】

1. Lindemann B: Sweet and salty: Transduction in taste. NIPS 10: 166-170, 1995.
2. Bell PD: Characteristics of membrane transport processes of macula densa cells. Clin Exp Pharmacol Physiol 24: 541-547, 1997.
3. Verney EB: The antidiuretic hormone and the factors which determine its release. Proc R Soc London Ser. B 135: 25-26, 1947.
4. Jewell PA, Verney EB: An experimental attempt to determine the site of the neurohypophyseal osmoreceptors in the dog. Trans R Soc London Ser. B 240: 197-324, 1957.
5. Johnson AK: Role of the periventricular tissue surrounding the anteroventral third ventricle (AV3V) in the regulation of body fluid homeostasis. Vasopressin. Shrier RW edited, New York, Raven. 1985.
6. Oliet SHR: Mechanosensitive channels transduce osmosensitivity in supraoptic neurons. Nature 364: 341-343, 1993.
7. Jung JS: Molecular characterization of an aquaporin cDNA from brain: candidate osmoreceptor and regulator of water balance. Proc Natl Acad Sci USA 91: 13052-13056, 1994.

Fig.1 (A)

Δ MABP (mmHg)



(B)

Δ HR (bpm)

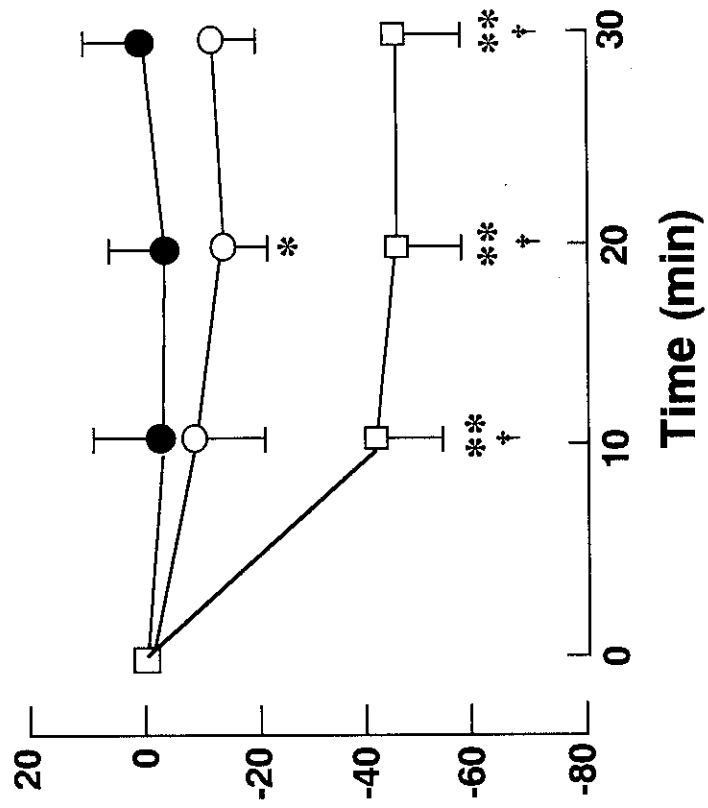


Fig.2 (A)

Δ MABP (mmHg)

(B)

Δ HR (bpm)

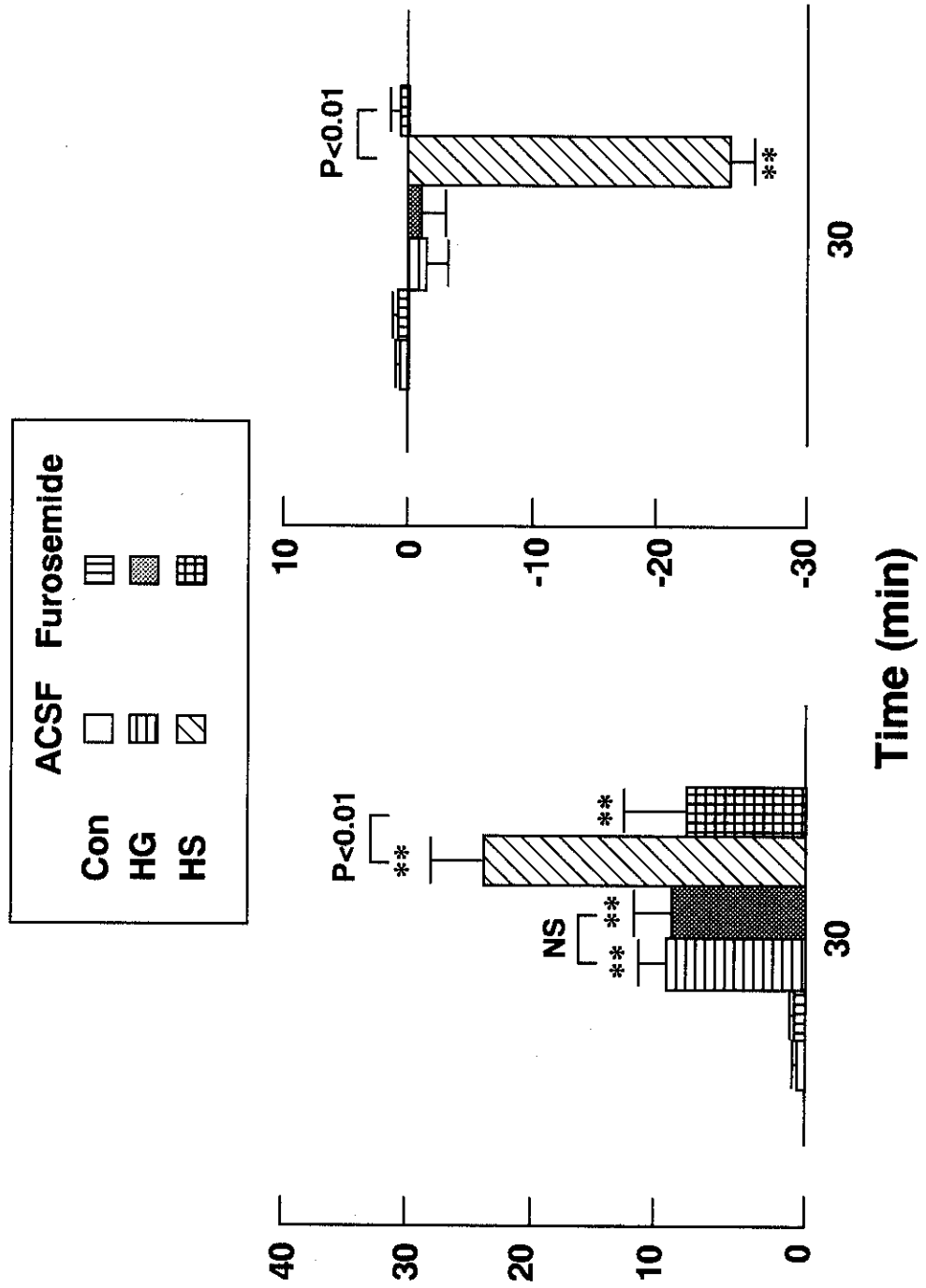
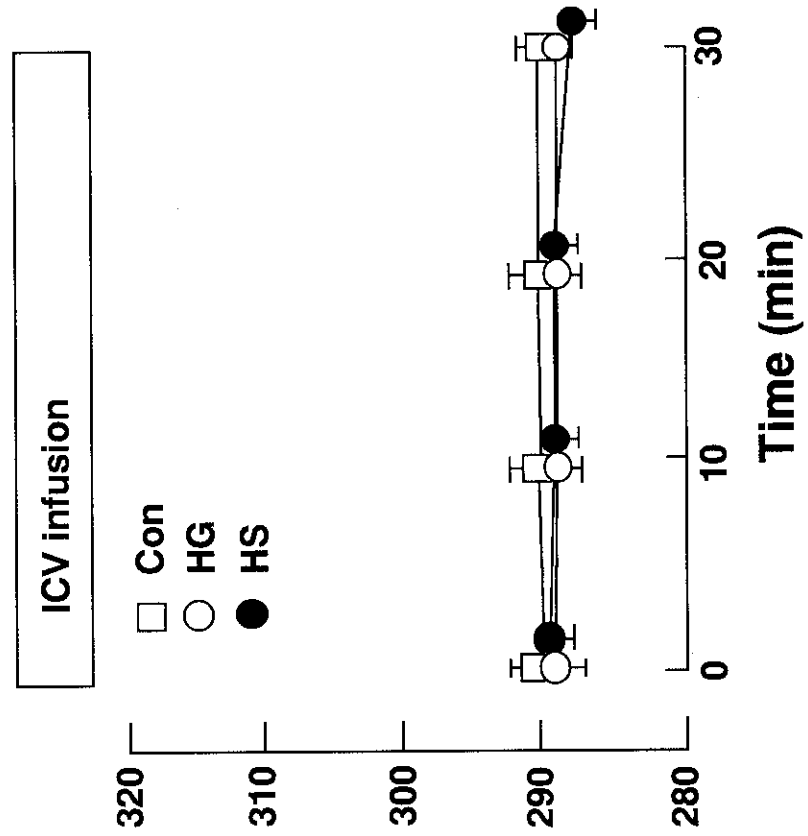


Fig.3 (A)

Posm (mOsm/kg)



(B)

PAVP (pg/ml)

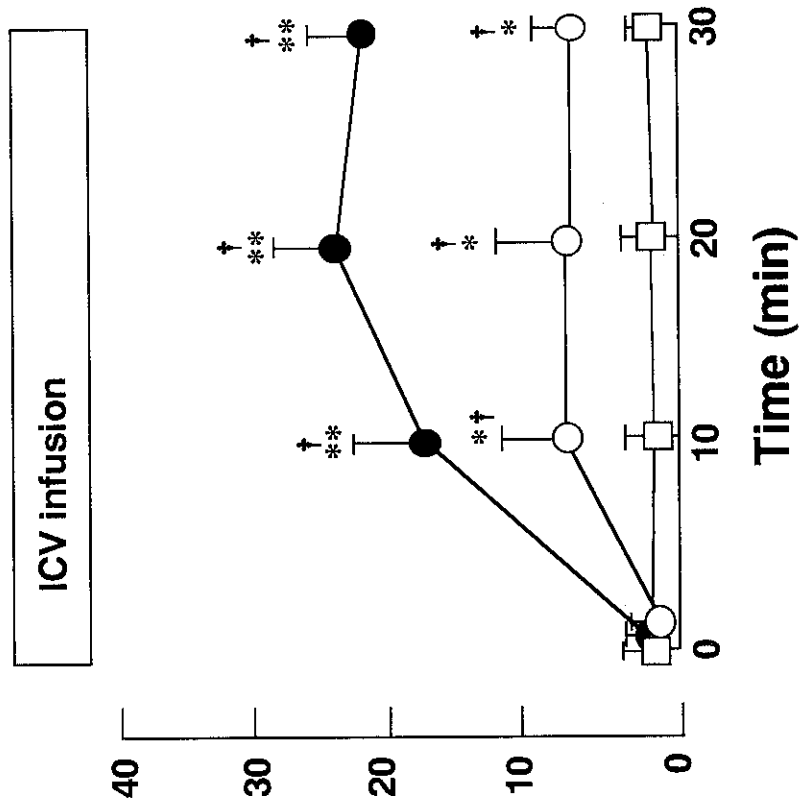
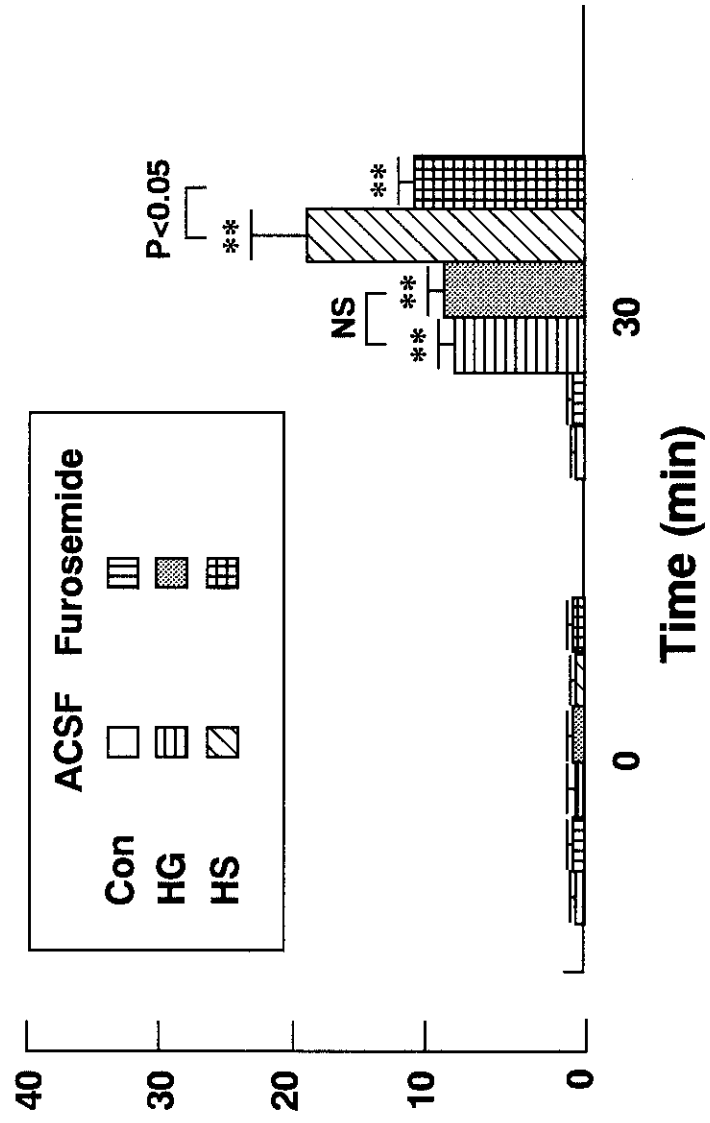


Fig.4

PAVP (pg/ml)



当院における低Na血症およびSIADHの頻度と原因疾患について

分担研究者 木村時久（古川市立病院内科）

研究協力者 太田耕造（古川市立病院内科）

太田昌宏（東北大学医学部第二内科）

【背景】

3年間における本臨床研究の目的は、第一に ADH 分泌異常による低 Na 血症や高 Na 血症の頻度とその原因治療を検討する事、第二に移植医療において重要な脳死状態における内分泌および水電解質代謝障害を明らかにする事である。本年度は ADH 分泌異常による低Na血症の頻度とその原因について検討した。

【対象と方法】

当院は宮城県北で唯一の救命救急センターを併設した病院である。今回は3ヶ月間に検査部で扱ったすべての外来および入院患者から得られた血清検体総数11,890を対象に低Na血症の頻度を検討した。さらに BUN、血清クレアチニン、血清尿酸、血清アルブミン、尿中 Na 排泄、尿浸透圧などの検査値を指標に SIADH と判定できる低 Na 血症の頻度を検討した。SIADH と診断した症例の一部についてその原因疾患と病態について詳細な検討を加えた。

【結果】

1. 血清 Na が 134mEq/l 以下の低 Na 血症は562検体に認められ、総検体の4.73%に相当した。血清 Na が 129mEq/l 以下の低Na血症に限定すると126検体となり、総検体の1.06%であった。さらに明かな臨床症状を呈するとされる 124mEq/l 以下の低 Na 血症は33検体で、総検体の0.28%に認められた。いずれの低 Na 血症分類においても BUN 上昇を伴っており低張性脱水症や腎不全などと診断された症例が約20%を占めており、BUN が正常または低値で SIADH や無症候性低 Na 血症などと診断された症例は約80%であった。

2. 129mEq/l 以下の低 Na 血症を呈した57症例に限定してより詳細に検討したところ、SIADH と診断される症例が34症例、約60%に認められた。その構成は男18例、女16例で年齢は60歳未満が6例、60歳代から90歳代までが28例と高齢者が約80%を占めていた。SIADHと診断された34症例の原因疾患は脳外傷、脳血管障害、髄膜炎、肺炎、肺結核、骨折、血管炎、成人発症スチル病、下垂体機能低下症などと多岐にわたっていた。このうちCRPの上昇とSIADHの発症が平行しており、Cytokine 起因性 SIADH と考えられた症例が25例認められた。

3. 典型的なSIADH症例を提示する。

症例1：ANCA 関連血管炎に伴う Cytokine 起因性SIADHと考えられた症例。

76歳の男性で発熱および全身痛を主訴に来院。血沈、CRP は高値で血尿および蛋白尿が認められた。腎機能は正常範囲だったが、低 Na 血症（123mEq/l）が認められた。血清尿

酸は 1.8mg/dl と低値で、脱水症状は無く、尿中 Na 濃度は低下しておらず (67mEq/l)、尿対血清浸透圧比は1以上 (463/263mOsm/kg) で、副腎および甲状腺機能の低下は無く、SIADH と診断した。血中 IL-6 濃度は 39pg/ml と高値であり、血漿 AVP は1.0pg/ml と低 Na 血症には不適切な正常範囲の値であった。P-ANCA が陽性で、入院後血便と急速な腎機能の低下が認められ、生検で大腸癌と半月体形成性腎炎と診断された。プレドニゾロンの投与により解熱し、血沈、CRP は低下して血清 Na は正常化した。

症例2：成人発症スチル病に伴う Cytokine 起因性 SIADH と考えられた症例。

61歳の男性で発熱および関節痛が主訴。血沈、CRP は亢進し、好中球主体の白血球増多が認められ、血清 ferritin は 2000ng/mlで発熱時に淡紅色の皮疹を認めた。低 Na 血症 (122mEq/l) が認められ、脱水症状は無く BUN および血清尿酸は低値。尿中 Na 濃度は低下しておらず (135mEq/l)、尿対血清浸透圧比は 1 以上、副腎および甲状腺機能の低下は無く SIADH と診断した。血漿 AVP は 1.6pg/ml であった。他の発熱性疾患を除外し、成人発症スチル病と診断してプレドニゾロンを投与した。7日目には CRP は正常化して低 Na 血症は消失した。

症例3：交通事故による脳挫傷および多発骨折に伴う SIADH と考えられた症例。

65歳の男性で、事故による右前頭葉の挫傷と四肢骨の骨折にて当院に入院された。入院時血清 Na は 140mEq/l であったが第9病日より傾眠および不穏が出現。血清 Na は 122mEq/l と低下が認められ、腎機能の低下は無く、脱水症状を認めず、尿中 Na 濃度は低下しておらず (52mEq/l)、尿浸透圧は 653mOsm/kg と高値。CRP は 1.3 mg/dl だった。SIADH による意識障害と診断し furosemide と高張食塩水を投与した。翌日には血清 Na は 128mEq/l となり傾眠および不穏は消失した。意識障害時の血漿 AVP は 2.1 pg/ml であった。

症例4：胆嚢炎に伴う Cytokine 起因性 SIADH と考えられた症例。

68歳の男性で主訴は発熱および嘔吐。大腿骨頸部骨折にて当院整形外科入院中に主訴生じ、胆石胆嚢炎として外科転科。抗生剤を投与されていたところ全身痙攣が生じた。血清 Na は 106mEq/l と高度の低 Na 血症が認められた。血沈、CRP は高値であったが、BUN、血清尿酸の上昇は無く、脱水症状を認めず、尿中 Na 濃度は高値で (144mEq/l)、尿浸透圧は 540mOsm/kg で、副腎および甲状腺機能の低下は無く、SIADH と診断した。血漿 AVPは 4.8 pg/ml であった。furosemide と高張食塩水を投与し4日目には血清 Na は 128mEq/l となり意識障害は消失した。しかし、胆嚢炎の治癒後も軽度の低 Na 血症 (129-131mEq/l) が続き、慢性型の SIADH を合併している可能性が考えられた。

症例5：下垂体腫瘍による二次性副腎機能低下症に起因する SIADH と考えられた症例。

71歳の女性で主訴は嘔吐、食思不振。腎細胞癌にて当院泌尿器科に入院した時の血清 Na は 140mEq/l、CRP は 0.2mg/dl、BUN 15、血清尿酸 6.0mg/dl であった。腎摘出術施行後から主訴出現。血清Naは 109mEq/l と高度の低Na血症が認められ CRP は 11.9mg/dl と高値で、BUN、血清尿酸は低下していた。脱水症状を認めず、SIADH と診断してfurosemide と高張食塩水を投与した。6日目には血清 Na は 123mEq/l となり主訴は軽減した。しかし、

CRP正常化後も低Na血症は続くため、原因検索をすすめたところ血中コーチゾル $2.1\mu\text{g/dl}$ 、尿中 17-OHCS 1.2mg/day と副腎皮質機能低下を認めた。頭部MRIにて下垂体および下垂体基部腫大を認めたため、下垂体腫瘍による二次性副腎皮質機能低下によるSIADHと診断した。Dexamethasone 0.25mg/day で補充療法を開始し、7日目には血清Naは 140mEq/l となり主訴は消失した。

症例6：薬剤性のSIADHと考えられた症例。

80歳の男性。縦隔腫瘍による上大静脈症候群として入院。入院時血清Naは 140mEq/l 、CRPは0.2、BUN22、血清尿酸 6.1mg/dl であった。Cisplatinを含む化学療法第三日目に食思不振と傾眠が出現。低Na血症(115mEq/l)が認められ、BUN、血清尿酸は低下していた。脱水症状を認めず、尿中Na濃度は高値で(133mEq/l)、尿浸透圧は 510Osm/kg で、副腎および甲状腺機能の低下は無く、SIADHと診断した。血漿AVPは 3.4pg/ml であった。Cisplatinを含む化学療法による薬剤性のSIADHと診断して水制限を行い血清Naは正常化した。以後の化学療法施行時には事前にDemeclocyclineを投与したことにより、血清Naの低下は軽度にとどまった。

【考察】

低Na血症を呈した検体はほとんどが60歳以上の高齢入院患者由来のものであった。従来、Flearらは入院患者における低Na血症の頻度は15.2%と高率であることを報告しており¹⁾今回当院での検討もこれに矛盾しない結果であった。しかし、従来の報告²⁾と比較して特徴的なことはSIADHが原因である比率が高いことであった。

さらにSIADHの原因疾患は多岐にわたっていたが、炎症性疾患に伴うCytokine起因性SIADHが7割以上を占めており、SIADHの主な原因病態となっていることが今回はじめて明らかになった。これには当院が救急疾患を多数扱う性格上、急性炎症性疾患が多い事も寄与していると考えられた。Cytokine起因性SIADHはInterleukin-1、TNF- α やInterleukin-6などによる不適切なAVP分泌刺激によって生じる事が1993年から94年にかけて明かにされた病態である^{3) 4) 5)}。これまでその発症機序が明確で無かった肺疾患や中枢神経疾患などによるSIADHの多くが、現在はこれらの炎症性CytokineによるAVP分泌によるものと考えられている。

【結論】

1. 11,890検体中4.73%にあたる562検体で低Na血症を認めた。低Na血症検体のほとんどが60歳以上の高齢入院患者由来のものであった。
2. 129mEq/l 以下の低Na血症の症例に限ると、SIADHによる症例が過半数を占め、70歳代をピークとする高齢患者が中心であった。
3. SIADHの原因疾患は多岐にわたっていたが、炎症性疾患に伴うCytokine起因性SIADHと考えられる症例が多数を占めていた。
4. これは当院が救急疾患を多数扱う性格上、急性炎症性疾患が多い事も寄与していると考えられた。