



Title	Cholinergic influence of K ⁺ -evoked release of endogenous histamine from rat hypothalamic slices in vitro.
Author(s)	小野, 次朗
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38415
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	小 野 次 朗
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 0 3 1 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 4 年 5 月 12 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 名	Cholinergic influence of K ⁺ -evoked release of endogenous histamine from rat hypothalamic slices <i>in vitro</i> . (ラット視床下部切片からの高カリウム刺激による <i>in vitro</i> での内因性ヒスタミン遊離に及ぼすコリン作働物質の影響)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 岡 田 伸 太 郎 (副査) 教 授 西 村 健 教 授 遠 山 正 彌

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

免疫組織化学的な手法により、中枢神経系におけるヒスタミン含有神経系は、細胞体が視床下部後部の結節乳頭核のみに局在し、脳内の広範な部位に線維を投射していることが明らかになっている。このような形態学的な特徴と、神経薬理学的なさまざまな実験結果を併せ考えると、脳内ヒスタミン神経系は個別的と言うよりむしろ脳全体の機能を調節していると思われる。われわれはこのヒスタミン神経系の生理的意義を解明する研究の一環として、ヒスタミン遊離に及ぼす種々の神経活性物質の作用とその制御機構を脳切片を用いた *in vitro* での組織灌流法と高感度 HPLC 法を用いて検討してきた。そして、既に興奮性アミノ酸が NMDA 受容体を介してヒスタミン遊離を増強し、反対に γ -アミノ酪酸が抑制することを見いだしている。一方、ヒスタミン神経系とアセチルコリン神経系は相互に機能的に関連しているとのデータが報告されており、本研究ではこの点を明らかにする目的で、コリン作働性物質のヒスタミン遊離に及ぼす作用を、ヒスタミン神経終末の最も豊富な視床下部を用い検討した。

[方 法]

実験にはウィスター雄性ラットを使用した。ペントバルビタール麻酔下に開胸し、左心室より酸素飽和し水冷した Krebs-Henseleit 液を灌流した後、脳を取り出し同液内で視床下部を切り出し、厚さ 400 μ m の切片を作成した。一部の実験ではヒスタミン神経の細胞体を含まない視床下部の前半部のみから切片を作成し用いた。作成した切片は、内容量 200 μ l のプラスチックチャンバーに移し、37°C に保温し、酸素飽和した Krebs-Henseleit 液を 250 μ l / 分の流速で灌流した。60 分間灌流してヒスタミン遊離が安定してから、5 分毎に灌流液を分画採取し、その中に含まれるヒスタミンを HPLC-蛍光法で定量した。分画採取開始後 25 分および 75 分に 25 mM カリウムを含む灌流液で 10 分間灌流し 2 回の脱分極刺激を与えた。第 2 回目の高カリウム刺激時にアセチルコリン関連物質を添加し、そのときのヒスタミン遊離増加量 (S2) を第 1 回目の刺激によるヒスタミン遊離増加量 (S1) で除した S2/S1 比を各物質のヒスタミン遊離への影響の指標とした。結果は平均 \pm 標準誤差で表し、non-parametric Wilcoxon により検定した。

[成績]

(1) ラット視床下部からの内因性ヒスタミン遊離

実験開始直後の視床下部からのヒスタミンの基礎遊離は 1.65 ± 0.14 pmoles/fraction ($n=9$) であり、実験終了まで漸減していった。2回目の高カリウム刺激時に何も添加しない時、つまり対照実験での $S2/S1$ 比は 0.72 ± 0.06 ($n=9$) であった。

(2) 高カリウム刺激による内因性ヒスタミン遊離に及ぼすコリン作働性物質の影響

アセチルコリン ($100 \mu\text{M}$) は有意にヒスタミン遊離を減少させ ($S2/S1=0.43 \pm 0.04$, $n=6$, $P<0.05$)、カルバコール ($100 \mu\text{M}$) も同様に減少させた ($S2/S1=0.53 \pm 0.05$, $n=9$, $P<0.05$)。アトロピン ($10 \mu\text{M}$) 存在下にアセチルコリンを作用させると、遊離は逆に増加した ($S2/S1=0.96 \pm 0.06$, $n=6$, $P<0.05$)。アトロピン単独では有意な影響は認められなかった。一方、ニコチン ($10 \mu\text{M}$) はヒスタミン遊離を増強し ($S2/S1=1.14 \pm 0.06$, $n=6$, $P<0.05$)、この作用はヘキサメトニウム ($10 \mu\text{M}$) の添加により消失した ($S2/S1=0.87 \pm 0.08$, $n=5$)。ヘキサメトニウム単独では有意な作用は認められなかった。

(3) 視床下部前半部を用いた実験

視床下部前半部からの高カリウム刺激によるヒスタミン遊離は、上述の視床下部全体を用いた実験での成績とほぼ同様であり対照実験での $S2/S1$ 比は 0.84 ± 0.07 ($n=6$) であった。またカルバコールによる減少 ($S2/S1=0.62 \pm 0.02$, $n=5$, $P<0.05$)、およびニコチンによる増加 ($S2/S1=1.15 \pm 0.09$, $n=5$, $P<0.05$) も同様に認められた。

[総括]

今回の実験において、高カリウム刺激による視床下部からの内因性ヒスタミン遊離は、アセチルコリンおよびムスカリン作働薬のカルバコールにより減少し、この作用はムスカリン遮断薬のアトロピンで拮抗され、アセチルコリンの場合はアトロピン存在下では逆に遊離を増強した。一方、ニコチンは遊離を増強しこの作用はニコチン遮断薬であるヘキサメトニウムにより拮抗された。つまり、コリン作働系はムスカリン受容体を介して抑制的に、そして、ニコチン受容体を介して促進的にヒスタミン遊離を調節していることが示された。さらに、ヒスタミン神経の細胞体が存在せず終末のみが含まれる視床下部前半部を用いた灌流実験でも、全く同じ結果が得られたことから、コリン作働性物質による遊離調節は神経終末において行われているものと推察される。

以上より、ラット視床下部における神経性ヒスタミンの遊離は、ヒスタミン神経終末の恐らくシナプス前膜に存在するムスカリンおよびニコチン受容体により、相反的に調節されていることが示された。

論文審査の結果の要旨

ヒスタミンは中枢神経系において、neurotransmitterあるいはneuromodulatorとして働いていると考えられている。ラットのヒスタミン含有神経系は、細胞体が結節乳頭核にのみ局在し、その神経終末は視床下部核をはじめとして脳内全体に広く分布している。

本論文では、ラット視床下部切片を材料とした *in vitro* 組織灌流法を用いて、コリン作働性物質の高カリウム刺激に対する内因性ヒスタミン遊離に及ぼす影響を検討している。実験結果から、ムスカリン系が抑制的に、ニコチン系が促進的に作用することが認められた。さらにヒスタミン神経の神経終末のみを含む視床下部前部の切片を用いた実験でも同様の結果を得た。従ってコリン作働性物質が、ヒスタミン神経終末においてヒスタミン遊離調節を行なっていることが示唆された。

今回得られた結果は、ヒスタミンの中枢神経系における機能を、コリン作働性物質との interaction という面から検討しており非常に有用であり、学位授与に相当する成果であると考えられる。