



Title	視床下部内神経性ヒスタミン遊離と日内リズム
Author(s)	望月, 貴年
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38960">https://hdl.handle.net/11094/38960</a>
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">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >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	もちづき たかとし 望 月 貴 年
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 1 2 5 6 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 6 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学研究科生理系専攻
学 位 論 文 名	視床下部内神経性ヒスタミン遊離と日内リズム
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 倉智 嘉久 (副査) 教 授 津本 忠治 教 授 遠山 正彌

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### [目的]

哺乳類の脳にはヒスタミン神経系の存在することがヒスチジン脱炭酸酵素 (HDC) およびヒスタミン抗体を用いた免疫組織化学的手法で証明されている。ヒスタミン神経系の細胞体は視床下部後部の結節乳頭核 (TM) に局限して存在し、その線維を脳内の広範な部位へと投射している。このような形態学的な特徴からヒスタミン神経系は、睡眠-覚醒、神経内分泌など、脳全体の基礎的な活動を調節するような機能を持つと考えられているが、遊離機構に関する詳細な検討や、生理機能と関連した遊離動態の検討はほとんどされていない。近年、透析膜を用いて脳内の限定された部位を灌流するマイクロダイアリシス法が開発され、多くの神経伝達物質の遊離動態の解明に応用されている。そこで本研究では、この手法と HPLC-蛍光検出法を組み合わせ、脳内神経性ヒスタミンの *in vivo* における遊離動態の解明を試みた。

#### [方法ならびに成績]

1) ウィスター系雄性ラットにウレタン麻酔下で透析膜をヒスタミン神経線維の最も密に存在する視床下部前部 (AHy) に刺入し、人工脳脊髄液 (CSF) を毎分  $1\mu\text{l}$  の流速で灌流した。この条件での透析膜を介してのヒスタミンの回収率は  $39.2 \pm 1.8\%$  であった。また TM には双極電極を刺入し、複相 50Hz、パルス幅 0.1ms の矩形波で 20 分間電気刺激した。実験終了後、組織学的手法により透析膜と電極の先端位置を確認した。サンプルは刺入 160 分後より 20 分毎に採取し、ヒスタミン量を HPLC-蛍光検出法で測定した。

サンプリング開始後 1 時間の AHy におけるヒスタミン遊離量 (基礎遊離) は平均  $0.09 \pm 0.01\text{ pmol}/20\text{ 分}$  であった。TM を 100 および  $200\mu\text{A}$  で電気刺激すると、基礎遊離のそれぞれ 133%, 166% に増加した。また  $\text{K}^+$  を 100mM 含む CSF で AHy を灌流すると、遊離は 188% に有意に増加した。一方、CSF から  $\text{Ca}^{2+}$  を除去すると、電気刺激や高  $\text{K}^+$  刺激に応答した遊離増加は著しく抑制された。また、CSF に電位依存性  $\text{Na}^+$  チャンネルの遮断薬であるテトロドトキシン ( $1\mu\text{M}$ ) を加えると、基礎遊離は速やかに消失した。以上の結果はヒスタミンが神経終末より遊離されたものであることを示す。次に、HDC の特異的阻害薬である  $\alpha$ -フルオロメチルヒスチジンを腹腔内に  $100\text{mg}/\text{kg}$  投与すると、ヒスタミン遊離は投与後 2 時間でコントロールの 30% に減少した。このことは AHy のヒスタミンが肥満細胞などの非神経性プールと比べ代謝回転の速い神経性のプールより遊離することを示している。また、神経終末部に存在し神経性ヒスタミンの代謝回転をシナプス前調節する  $\text{H}_3$ -受容体の特異的阻害薬であるチオペラミドを腹

腔内に5 mg/kg 投与すると、ヒスタミン遊離は1時間以内にコントロールの300%に増加し、この遊離増加はその後も約2時間持続した。この遊離増強効果はTMやAHyへの脱分極刺激よりも強力であり、H<sub>3</sub>-受容体が神経性ヒスタミンの主要な遊離調節機構であることを示唆している。

2) 12:12時間の明暗サイクル下(明期; 08:00-20:00)で飼育したラットを、ペントバルビタール麻酔下に、ガイドカニューレをAHyの2 mm 上部に植え込んだ。術後は防音箱内のケージに移し、2-5日間行動量を記録しながら日内リズムが回復するのを確認した。実験当日ケージ内の餌を全て取り除いて、軽いエーテル麻酔下に透析膜をAHyに刺入し毎分1  $\mu$ lの流速で灌流し、刺入後1時間より30分ずつサンプルを採取した。

AHyにおけるヒスタミン遊離は、明期前半(08:00-14:00)に最も低く、明期後半より徐々に増加し、暗期中は高レベルで持続し、暗期の終了とともに元のレベルに戻った。この推移は同時に測定した行動量の変化と相関していた。暗期における遊離の平均は $0.20 \pm 0.02$  pmol/30分であり、明期( $0.12 \pm 0.01$  pmol)に比べ有意に増加していた。透析膜の回収率よりAHyにおける細胞外ヒスタミン濃度は明期が10.2 nM、暗期が17.0 nMであると算出された。以上のことより神経性ヒスタミンの遊離は、明暗サイクルと同期して増減することが分かった。

#### [総括]

ラットAHyにおけるヒスタミンはそのほとんど全てが神経終末より遊離されたものである。また、遊離には明暗サイクルと同期した日内リズムが存在する。脳内ヒスタミンの涸渇あるいは受容体の遮断で覚醒脳波の減少や、ACTH分泌の日内リズムが平坦化するというこれまでの知見と合わせて考えると、ヒスタミン神経系が、睡眠-覚醒、神経内分泌など、日内リズムと関係した脳全体の活動を調節する機能を持つことが示された。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は、脳内ヒスタミンの遊離動態を微小透析法により検討し、ヒスタミン神経系の生理的意義の解明を試みたものである。ヒスタミンは肥満細胞、血管内皮細胞などにも存在するため、神経細胞由来のものと非神経性のものとを区別することはこれまで困難であり、そのためにヒスタミン神経系の果たす役割の研究はなかなか進展しなかった。しかし本研究によって、微小透析法を用いて観察された視床下部からのヒスタミン遊離は脱分極性刺激によりCa<sup>2+</sup>依存性に増加し、また速やかな代謝回転を持つなど、神経伝達物質遊離の特徴を持つことを明らかにし、この手法により神経性ヒスタミンの遊離動態が検討できることを証明した。次に無麻酔、非拘束条件で微小透析実験を行い、ヒスタミンの遊離が自発運動量の時間的推移に一致して増減する典型的な概日リズムを示すことを明らかにした。このリズムは常暗条件でも観察されたことより、視交叉上核を中心とした体内時計機構と関連して起こるものであることを示した。

以上のように本研究は、脳内ヒスタミンの機能を研究する上での新しいアプローチ法を開発し、ヒスタミン神経系が生体の日内リズムの発現や維持に重要な機能を持つことを示したことにより、学位授与に値すると評価する。