

学 位 論 文 題 名

Activation of Histamine H_3 Receptors Inhibits
Carrier-Mediated Norepinephrine Release in a
Human Model of Protracted Myocardial Ischemia

(人心筋虚血モデルにおけるノルエピネフリン放出に
関する研究－ヒスタミン H_3 受容体による抑制)

学位論文内容の要旨

ノルエピネフリンは循環器系の調節に必要不可欠である一方、過大な負荷は心血管に障害を及ぼすことが知られている。開心術時に使用する体外循環中には心筋の交感神経終末から放出されるノルエピネフリンの優位な上昇がみられる。また急性心筋梗塞の際のノルエピネフリンの多量の放出に関しては種々報告がなされ、単離心臓を用いた実験では虚血再灌流後の心室細動との相関も証明されており、過度のノルエピネフリン放出の抑制は循環器系の保護に重要であることが示唆されている。交感神経終末からのノルエピネフリン放出にはexocytotic releaseとcarrier-mediated release (以下CMR) がある。前者は生理的状态において神経終末の脱分極によるカルシウムイオンの流入によって起こることが知られている。また後者は虚血などの病的状態でATPが不足した際に起こり、神経終末でのノルエピネフリン及びナトリウムイオンの集積によって惹起されることが解明されている。しかしCMRではexocytotic releaseに比して多量のノルエピネフリン放出がみられるもののその放出、抑制に関する機序は充分解明されていない。

一方ヒスタミンは肥満細胞から放出され、炎症反応やアレルギー反応の媒介物質として知られている。その受容体には H_1 から H_3 までの分類がなされているが、最も新しく発見された H_3 受容体はヒスタミン放出を抑制するのみならず、神経終末からのカテコラミン放出を抑制することが解明された。しかし、人の心筋からの病的状態でのCMRによるノルエピネフリン放出に対する作用は未だ研究されていない。

そこで本研究では神経終末に存在しノルエピネフリンの放出を神経節前に抑制する H_3 受容体に着目し、人心筋におけるノルエピネフリンのCMRに対する H_3 受容体の抑制作用、特に神経終末へのナトリウムイオンの集積との関係、また心筋組織から虚血時に放出されるヒスタミンと H_3 受容体の活性化の機序を解明することを目的とした。

実験は人工心肺使用時に切除される右心耳の組織を用いた。実験の準備として心筋組織を約25mgに切り分け、それらの組織片が受けた機械的刺激を取り除くため、酸素

化したKrebs-Henseleit液（生理的状态）中で45分間安定化させた後実験を開始した。実験はまず37度の酸素化したKrebs-Henseleit液（生理的状态）で20分間各薬剤を組織に浸透させ、その後各薬剤を含んだ37度の生理的状态または虚血状态のKrebs-Henseleit液に10分から70分間浸漬した。そして浸出するノルエピネフリンをHPLC（液クロマトグラフィー）で、ヒスタミンを免疫定量キットで定量分析した。虚血状态はKrebs-Henseleit液の酸素及びグルコースを除くことで代換した。

ノルエピネフリン放出は虚血状态の時間経過とともに増大し70分では最大で生理的状态の7倍に達した。このノルエピネフリン放出はカルシウムイオンに影響されず、ノルエピネフリンuptake-1 carrierの阻害剤DMIで40%減少した。よってこのノルエピネフリン放出は病的状态で起こるCMRであることが示されたことから、以下の実験は70分の虚血状态を使用した。

このノルエピネフリン放出は Na^+/H^+ exchanger阻害剤EIPA及びHOE642によりそれぞれ40%、ナトリウムチャンネル阻害剤TTXにより35%減少し、逆にナトリウムチャンネル刺激剤aconitineによって40%増加したことよりこの人心筋虚血モデルにおける神経終末へのナトリウムイオンの集積には Na^+/H^+ exchanger及びナトリウムチャンネルが関与していることが考えられる。

H_3 受容体刺激剤imetitはNE放出を45%減少させ、 H_3 受容体刺激剤阻害剤thioperamide及びclobenpropitはimetitの作用を相殺した。よって人心筋からの病的状态でのCMRによるNE放出に対しても H_3 受容体は抑制作用をもつことが示唆される。

さらに H_3 受容体刺激剤阻害剤thioperamide及びclobenpropitはそれぞれ単独でNE放出を25%増加させ、虚血状态で浸出したヒスタミンは生理的状态に比して33%増加していることから、虚血状态においては心筋組織からより多量のヒスタミンが放出され H_3 受容体を活性化することにより過度のNE放出を抑制していると考えられる。

H_3 受容体のノルエピネフリンのCMRに対する作用機序を調べるため、 H_3 受容体刺激剤imetitと Na^+/H^+ exchanger阻害剤EIPA、HOE642、ナトリウムチャンネル阻害剤TTXを、それぞれ単独では有意にノルエピネフリン放出抑制作用を示さない低濃度で併用したところノルエピネフリン放出抑制作用を互いに50%に増強したことから、 H_3 受容体はナトリウムイオンの集積を抑制することによりノルエピネフリンのCMRを減少させることが想定される。

本研究では、人における心筋虚血時のCMRによる過大なノルエピネフリン放出に対する H_3 受容体の抑制作用が示され、また同時に人心筋虚血時には H_3 受容体を活性化してノルエピネフリン放出を抑制するだけのヒスタミンが放出されることが示唆された。本研究により、 H_3 受容体刺激剤は人心筋虚血時の過大なノルエピネフリン放出を抑制し、虚血再灌流後の不整脈や心不全の軽減に寄与することが考えられ、循環器領域の臨床での新たな薬剤治療の可能性が期待される。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 菅 野 盛 夫

副 査 教 授 安 田 慶 秀

副 査 教 授 吉 岡 充 弘

学 位 論 文 題 名

Activation of Histamine H₃ Receptors Inhibits Carrier-Mediated Norepinephrine Release in a Human Model of Prolonged Myocardial Ischemia

(人心筋虚血モデルにおけるノルエピネフリン放出に
関する研究－ヒスタミン H₃受容体による抑制)

虚血心筋部位では交感神経末端から norepinephrine(NE)の過度の放出が生じ、代謝亢進による心筋細胞障害や興奮性の変化による不整脈の発現など病態の悪化の原因となることが知られている。虚血部位における NE 放出の機序としては、細胞外 K⁺蓄積が惹起する交感神経末端の脱分極による細胞内 Ca²⁺増加を介して生じる神経分泌顆粒からの NE 放出(exocytosis)と遷延性虚血による神経末端内 Na⁺増加による Ca²⁺非依存性のアミン取り込み担体の逆回転による放出(carrier-mediated release:CMR)があげられている。虚血が原因となって惹起される過度の NE 放出の制御は、急性心筋梗塞や開心術時の心筋細胞保護の観点から重要と考えられている。申請者は、histamine 放出を抑制するのみならず神経終末からの catecholamine 放出を抑制する H₃受容体に注目して、ヒト心筋組織での CMR による NE 放出に対する H₃による制御の有無、および、その作用点を明らかにする目的で、ヒト遷延性心筋虚血モデルを用いて検討を加えたのが本研究である。実験には、冠動脈バイパス手術や弁置換手術時に得た心房筋標本(209例)を用い、遷延性虚血を模倣する無酸素、グルコース欠 Krebs-Henseleit 液中においた心房筋標本から遊離してくる NE 量を測定した。本研究では、1) ヒト心房筋標本の無酸素状態での NE 放出は CMR によって惹起されることを確認し、2) Na⁺/H⁺exchanger 阻害薬、Na チャネル阻害薬及び刺激薬を用いて Na⁺の集積と CMR の関係を検討して、神経末端における Na 蓄積が CMR の要因であることを示した後、3) H₃受容体刺激薬は CMR による NE 放出を抑制すること、そして、その作用は H₃受容体阻害薬によって遮断されることから受容体特異的作用であることを明らかにし、さらに、興味深いことに、4) H₃受容体阻害薬は単独で CMR による NE 放出を増加させることを見出し、無酸素状態では心筋組織から histamine(HA) 遊離が増加

していることを証明して、心筋中のマスト細胞から遊離する HA が交感神経末端に緊張性抑制を与えていると説明している。これらの結果から、 H_3 受容体は Na^+ の集積を抑制し CMR による NE 放出を減少させると結論している。

公開発表に際して、副査安田教授からは、NE 放出を抑制することの臨床的意義、 H_3 受容体の臨床応用への可能性について、副査吉岡教授からは、アミン輸送担体阻害薬の作用機序、HA の放出機序、アミン輸送担体阻害薬と Na^+/H^+ 交換系阻害薬との比較について、また、主査菅野教授から、 H_3 受容体の分布、その情報伝達系、exocytosis に対する作用等について質問があった。また、参加者から HA の心臓への作用、交感神経末端の B_2 受容体についての質問があった。申請者は、豊富な学識と自らの実験データに基づいて、これらの質問に概ね適切に解答した。本研究は、交感神経末端に存在する H_3 受容体がヒト心臓交感神経終末からの CMR による NE 放出に対して抑制作用を持つこと、さらに、虚血状態においては心筋組織からより多量の HA が放出され H_3 受容体を活性化することにより過度の NE 放出を抑制している可能性を示唆する新知見を明らかにし、心筋虚血における H_3 受容体刺激薬の臨床応用の可能性を示唆した。

審査委員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有すると判定した。