

第15回 日本ヒスタミン学会

講演要旨集

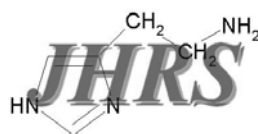
会長：山内 広平

(岩手医科大学内科学講座 呼吸器・アレルギー・膠原病内科分野)

2011.10.21(FRI)/22(SAT)

盛岡グランドホテル





第 15 回 日本ヒスタミン学会

—ヒスタミン研究の進歩を求めて—

日 時：2011 年 10 月 21 日(金) 13:50～16:50

22 日(土) 9:00～

会 場：盛岡グランドホテル（岩手県盛岡市愛宕下 1-10）

学会場：地下 1 階「飛龍の間」

理事会・懇親会会場：「祥雲の間」

演者控室・P C 確認：地下 1 階「羽衣」

会 長：山内 広平

（岩手医科大学医学部内科学講座呼吸器・アレルギー・膠原病内科分野）

主 催：日本ヒスタミン学会

後 援：日本薬理学会、日本薬学会、岩手県医師会、盛岡市医師会、
岩手医科大学医師会

※薬剤師研修センター認定学術集会

第 15 回日本ヒスタミン学会 事務局

岩手医科大学医学部 内科学講座 呼吸器・アレルギー・膠原病内科分野

〒020-8505 岩手県盛岡市内丸 19-1

TEL&FAX：019-651-3918

E-mail：kadowaki@iwate-med.ac.jp

大会ホームページ URL：http://iwate-med.respir-dept.jp/15th-meeting/

平成 23 年度 日本ヒスタミン学会役員名簿 (敬称略)

会 長：	福 井 裕 行	(徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部)
監 事：	亀 井 千 晃	(安田女子大学薬学部)
	大和谷 厚	(大阪大学大学院医学研究科保健学)
幹 事：	赤 木 正 明	(徳島文理大学薬学部薬理学)
(五十音順)	伊 藤 千 裕	(東北大学大学院医学系研究科)
	稲 垣 直 樹	(岐阜薬科大学薬理学)
	大 石 了 三	(九州大学病院薬剤部)
	大 津 浩	(東北大学大学院工学研究科応用量子医工学)
	大 野 勲	(東北薬科大学病態生理学講座)
	大 森 健 守	(横浜薬科大学薬理学)
	小 澤 光一郎	(広島大学大学院医歯薬学研究科治療薬効学)
	小野寺 憲 治	(横浜薬科大学薬理学・薬物治療学)
	金 丸 みつ子	(昭和大学医学部)
	川 内 秀 之	(島根大学医学部耳鼻咽喉科)
	川 崎 博 己	(岡山大学大学院医歯薬学総合研究科臨床薬学)
	河 野 茂 勝	(京都薬科大学薬理学)
	櫻 井 映 子	(いわき明星大学薬学部薬学科)
	櫻 田 忍	(東北薬科大学機能形態学)
	笹 栗 靖 之	(産業医科大学第二病理学)
	高 橋 英 夫	(近畿大学医学部薬理学教室)
	竹 村 基 彦	(兵庫医科大学薬理学)
	田 代 学	(東北大学サイクロترون核医学)
	田 中 智 之	(岡山大学大学院医歯薬学総合研究科免疫医薬品化学分野)
	西 堀 正 洋	(岡山大学大学院医歯薬学総合研究科薬理学)
	服 部 裕 一	(富山大学大学院医学薬学研究部分子医科薬理学)
	樋 口 宗 史	(新潟大学医歯学総合研究科・分子細胞医学・薬理学教室)
	菱 沼 滋	(明治薬科大学薬効学)
	秀 道 弘	(広島大学大学院医歯薬学総合研究科皮膚科学)
	平 澤 典 保	(東北大学大学院薬学研究科生活習慣病治療薬学分野)
	本 間 生 夫	(昭和大学医学部第二生理学)
	前 山 一 隆	(愛媛大学医学部薬理学)
	見 尾 光 庸	(就実大学薬学部薬効解析学)
	森 秀 治	(就実大学薬学部応用薬学)
	谷 内 一 彦	(東北大学大学院医学系研究科機能薬理学)
	山 内 広 平	(岩手医科大学医学部内科学講座 呼吸器・アレルギー・膠原病内科)
	吉 松 博 信	(大分大学医学部第一内科学)

はじめに

第 15 回日本ヒスタミン学会

会 長 山内 広平

(岩手医科大学医学部内科学講座

呼吸器・アレルギー・膠原病内科分野 教授)



2011 年 10 月 21～22 日の 2 日間、盛岡グランドホテルにおいて、第 15 回日本ヒスタミン学会を主催する運びとなりました。

私は気管支喘息の臨床に関わってきており、ヒト HDC のクローニングに関わって以来ヒスタミンの研究会に参加してきております。

ヒスタミンは気管支喘息における気道平滑筋収縮に関与すると考えられた最初の化学伝達物質であります。最初にヒスタミンの気道収縮作用を報告したのは 1910 年 Dale と Laidlaw でした。彼らはモルモットを抗原で感作し、その後に抗原暴露をした際にみられる気道収縮反応と同様の反応を、ヒスタミンを静脈注射することにより惹起できることを報告しました。その後モルモット気道がヒスタミンの収縮作用に最も敏感であり、20 世紀を通じて、抗原誘発喘息の動物モデルとしてモルモットが広く研究に用いられるようになったのです。加えて IgE 及び肥満細胞表面上の高親和性 IgE レセプターが同定され、抗原感作と肥満細胞からのヒスタミンを代表とする化学伝達物質の遊離の概念が結合しました。このような歴史的背景より、気管支喘息において抗原誘発による気道攣縮が代表例である即時型アレルギー反応においてヒスタミンは重要な化学伝達物質であるとの認識は確固たるものとなったのでした。

現在 H₁ ブロッカーはアレルギー性鼻炎の第一選択薬であり、最近、抗 IgE 抗体が難治性喘息の救世主となっています。

ヒスタミンの作用は中枢神経系から免疫系や分泌系、更に炎症性メディエーターとして多彩であり、思いがけないヒスタミンの作用が発見されています。

本学会においては、皆さんの発表演題を聞くのを楽しみにするとともに、演題について活発な討論を期待しております。

盛岡の地で、実りある会が開かれることを念じております。

最後になりましたが、本学会にご支援いただいた製薬会社に感謝いたします。

平成 23 年 10 月 吉日

会場案内図

④ 国道4号上り(南下)の場合
左折すると岩泉・龍泉洞方面へ向かう交差点(手前左に★ENEOS)を直進すると下り坂になります。坂を下りきった所の信号がある交差点を左折してください。

盛岡グランドホテル

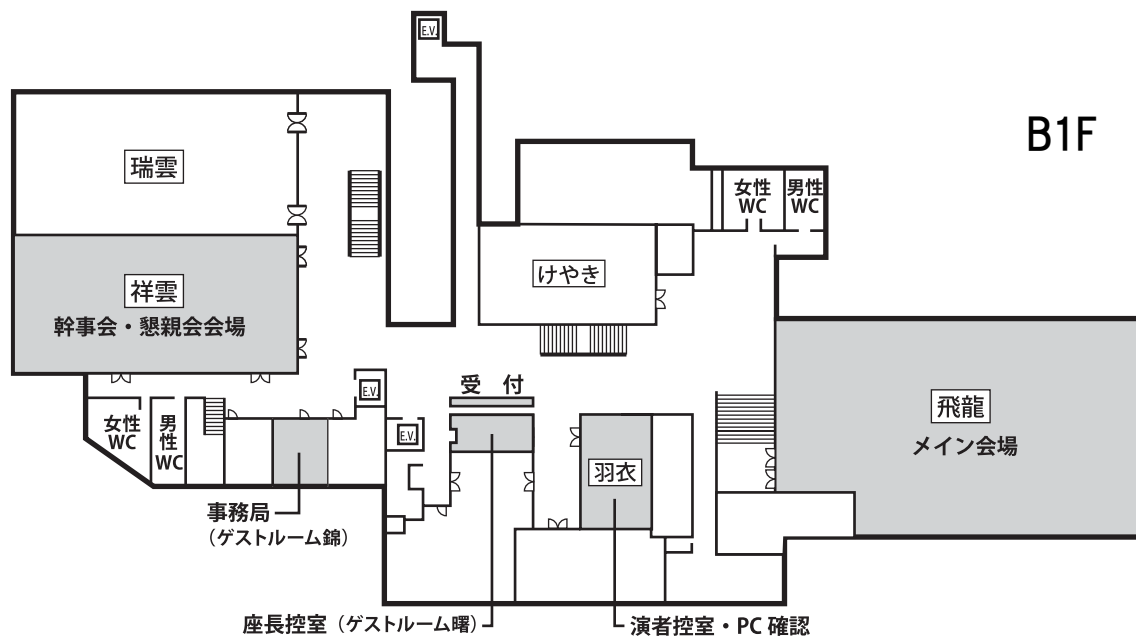
〒020-8501 盛岡市愛宕下1-10
☎(019)625-2111(代表) <http://www.m-grand.jp>

道路案内

[周辺詳細・駐車場]は裏面をご参照下さい。



会場平面図



お知らせとお願い

参加者の皆様へ

1. 受付

10月21日（金）13:30より受付を行います。参加登録をされていない方は受付で参加費12,000円をお支払いください。学生の方は必ず学生証をご提示ください。

※学会場への入場の際は、必ず参加章をご着用ください。

注：事前にお振込み頂いた方は、参加費をお支払い頂く必要はございません。

2. 参加章・講演要旨集

講演要旨集と参加章（参加費領収書兼用）、懇親会費領収書を当日受付で配布しますので、お受け取り下さい。

3. ランチョンセミナー

ランチョンセミナーは10月22日（土）の12:10～13:10、盛岡グランドホテル地下1階「飛龍の間」にて行います。

4. 懇親会

10月22日（土）17:30より、盛岡グランドホテル地下1階「祥雲の間」にて行います。事前参加登録をされていない方は、参加費（5,000円）をお支払いの上、ご参加ください。

5. 幹事会

幹事会は10月22日（土）12:10より地下1階「祥雲の間」にて行います。

6. その他

1. クローク

1Fホテルフロントをクロークとしてご利用できます。貴重品はお預かりできませんので、あらかじめご了承ください。また、万が一の盗難や破損事故が発生した場合には、学会事務局は責任を負いかねます。

2. 撮影

カメラ、ビデオ等による会場内におけるスライドの撮影はご遠慮ください。

3. マスコミ、プレスなどによる取材

取材を希望される場合には、事前に事務局にお知らせください。

4. 日本薬剤師研修センター認定の受講シールについて

受講シールが必要な方は当日受付にて申請してください。研修者名簿に、所属・氏名を記入の上、シールをお受け取りください。

受講単位は、1日目（10/21）参加…2単位、2日目（10/22）参加…4単位です。

発表者・座長への御案内

本学会における発表は、パソコンとプロジェクターを用いた発表に限ります。音声の使用はできません。発表に際しましては、原則として発表者ご自身のパソコンをお持ち込みいただきます。発表1時間以上前までに受付をお済ませください。

Windows版のパワーポイント 2000/XP/2003/2007 で作成された発表データを持ちこまれる場合に限り、発表データのみをUSBメモリあるいはCD-Rにてお持ち込みいただき、事務局で用意したノートパソコン(OS はWindows XPです)を使用してご講演いただくことが可能です。データのみをお持ち込みいただく場合には、事前に事務局までご連絡ください。

患者の個人情報に抵触する可能性のある内容は、患者あるいはその代理人からインフォームド・コンセントを得た上で、患者の個人情報が特定されないよう十分留意して発表してください。

発表時間は、

一般演題……………講演時間 12 分、質疑応答 8 分

ミニシンポジウム…講演時間 15 分、質疑応答 5 分

となっております。座長ならびに発表者はプログラムにある講演時間を厳守してください。

演者の方は、

講演用の PowerPoint の原稿をチェックするための講師控え室を用意しております。

地下1階「羽衣の間」にお越しください。

日 程 表

会場：盛岡グランドホテル 地下1階

10月21日(金)		10月22日(土)	
飛龍の間		飛龍の間	祥雲の間
9:00		8:30～ 受付開始	
		9:00～10:00 セッションⅢ 「ヒスタミン受容体機能」 一般演題 9～11	
		10:00～10:10 休憩	
		10:10～11:10 セッションⅣ 「中枢神経系Ⅱ」 一般演題 12～14	
		11:10～11:20 休憩	
		11:20～12:00 教育講演	
		12:00～12:10 休憩	
		12:10～13:10 ランチョンセミナー	
		13:10～13:20 休憩	
		13:20～14:20 招請講演	
14:00	13:50～ 開会の辞 14:00～15:20 セッションⅠ 「アレルギー・炎症」 一般演題 1～4	14:20～14:30 休憩	「ヒスタミン研究の最近の進歩： 中枢ヒスタミン神経系を中心に」 座長：西堀 正洋 講師：谷内 一彦
		14:30～16:10 ミニシンポジウム 「炎症・アレルギーを巡る 最近のトピックス」 座長：赤木 正明・大津 浩	
		16:10～16:20 休憩	
		16:20～17:05 特別講演	
		17:05～17:20 閉会の辞 次期会長挨拶	
15:00	15:20～15:30 休憩 15:30～16:50 セッションⅡ 「中枢神経系Ⅰ」 一般演題 5～8		12:10～12:40 幹 事 会
16:00			「鼻アレルギー診療における抗ヒスタミン薬の 意義と注意点」 共催：グラクソ・スミスクライン(株) 座長：小野寺 憲治 講師：松原 篤
17:00			「Translational approaches towards the identification of a histamine H3 receptor antagonist and its' clinical evaluation for the symptomatic treatment of allergic rhinitis」 座長：谷内 一彦 講師：Nicholas Carruthers Ph.D.
18:00			「疾患感受性遺伝子の発現抑制による アレルギー疾患治療戦略」 座長：山内 広平 講師：福井 裕行
19:00			17:20～17:30 休憩・移動 17:30～19:30 懇 親 会 (和田賞表彰式)
19:30			

プログラム

10月21日（金）

13:30 受付開始
13:50 開会の挨拶 会長 山内 広平（岩手医科大学）

セッションⅠ [アレルギー・炎症]

座長：大和谷 厚（大阪大学大学院 医学系研究科）
櫻 田 忍（東北薬科大学 機能形態学教室）

- 14:00～14:20 1. 結膜アレルギーにおけるヒスタミンの関与：他覚所見の評価系、
ならびにヒスタミンH₁受容体発現の評価系の確立
○ 福島 敦樹¹⁾、石田 わか¹⁾、角 環¹⁾、福田 憲¹⁾、椎 大介²⁾、
今井 順也²⁾
1)高知大学医学部眼科学講座、2)参天製薬株式会社
- 14:20～14:40 2. グルココルチコイド受容体を介した精神的ストレスによる喘息病態の悪化
○ 奥山 香織、山崎 直樹、河野 資、大河原 雄一、高柳 元明、
大野 勲
東北薬科大学 病態生理学教室
- 14:40～15:00 3. 後発酵茶の抗アレルギー成分の探索
○ 赤木 正明¹⁾、赤木 玲子²⁾、稲垣 昌宣²⁾、宮本 智文³⁾、
松原 主典⁴⁾、佐藤 芳範⁵⁾
1)徳島文理大・薬、2)安田女子大・薬、3)九州大院・薬、
4)広島大院・教育、5)バイオアクティブおかやま
- 15:00～15:20 4. ヒトヒスタミンH₁受容体遺伝子発現メカニズムの解明
○ 寺尾 拓馬¹⁾、水口 博之¹⁾、池田 光広¹⁾、北村 嘉章²⁾、
武田 憲昭²⁾、福井 裕行¹⁾
1)徳島大院・ヘルスバイオサイエンス研究部・分子情報薬理学
2)徳島大院・ヘルスバイオサイエンス研究部・耳鼻咽喉科学
- 15:20～15:30 休 憩

セッションⅡ [中枢神経系Ⅰ]

座長： 大野 勲（東北薬科大学）

伊藤 順子（横浜薬科大学 健康薬学科）

15:30～15:50 5. うま味溶液がラット内側視索前野ヒスタミン遊離へ及ぼす影響

○ 石塚 智子¹⁾、裕 哲崇²⁾、唐島 道崇³⁾、室谷 知孝⁴⁾、
大和谷 厚³⁾、大浦 清¹⁾

1) 大阪歯科大学歯学部薬理学講座、2) 朝日大学歯学部口腔生理学講座、
3) 大阪大学大学院医学系研究科保健学専攻、⁴⁾ 神戸大学医学部

15:50～16:10 6. ヒスタミンH₁受容体欠損マウスにおける視床下部ヒスタミン遊離と時計遺伝子の概日リズム

○ 唐島 道崇、山本 浩一、藤野 圭介)、菊谷 奈央、大和谷 厚
大阪大学大学院 医学系研究科 保健学専攻

16:10～16:30 7. Histidine Decarboxylase 抗体を用いたマウス、ラットの視床下部ヒスタミン神経細胞の分布の比較

○ 森脇 千夏^{1,2)}、千葉 政一¹⁾、北村 裕和³⁾、伊那 啓輔³⁾、
魏会 興¹⁾、藤倉 義久³⁾、吉松 博信¹⁾

1) 大分大学医学部総合内科学第一
2) 中村学園大学短期大学部
3) 大分大学医学部解剖学

16:30～16:50 8. H₃受容体アゴニストによる視床下部ヒスタミン含量減少と覚せい剤誘発かみ行動増強は負に相関する

○ 北中 純一¹⁾、北中 順恵¹⁾、F. Scott Hall²⁾、George R. Uhl²⁾、
立田 知大³⁾、守田 嘉男⁴⁾、田中 康一⁵⁾、西山 信好⁵⁾、
竹村 基彦¹⁾

1) 兵庫医科大学薬理学講座、2) NIDA-IRP, NIH、3) 揖保川病院（兵庫）、
4) 梅花女子大学看護学部、5) 兵庫医療大学薬学部医療薬学科薬理学

16:50 1日目 終了

10月22日(土)

8:30

受付開始

セッションⅢ [ヒスタミン受容体機能]

座長：川内 秀之（島根大学医学部）

9:00～9:20

9. 肥満細胞の脱顆粒とサイトカイン産生に及ぼすH₁受容体拮抗薬の作用

○ 清水 香奈子、青井 典明、清水 保彦、川内、秀之

島根大学医学部耳鼻咽喉科

9:20～9:40

10. マウスアトピー性皮膚炎モデルにおけるヒスタミンH₁及びH₄受容体拮抗薬の併用による治療効果

○ 大澤 雄亮、平澤 典保

東北大学大学院薬学研究科 生活習慣病治療薬学分野

9:40～10:00

11. インスリン分泌β細胞におけるヒスタミン3型受容体の発現と機能

○ 中村 正帆¹⁾、吉川 雄朗¹⁾、野口 直哉²⁾、大杉 真也¹⁾、
笠島 敦子³⁾、笹野 公伸³⁾、谷内 一彦¹⁾

1) 東北大学大学院医学系研究科機能薬理学分野

2) 東北大学大学院医学系研究科耳鼻咽喉・頭頸部外科学分野

3) 東北大学附属病院病理部

10:00～10:10

休憩

セッションⅣ [中枢神経系Ⅱ]

座長：竹村 基彦（兵庫医科大学 薬理学）

10:10～10:30

12. 正常ヒトアストロサイトによるヒスタミン取り込み機構の解明

○ 長沼 史登、吉川 雄朗、中村 正帆、井筒 敏恵、谷内 一彦

東北大学大学院医学系研究科機能薬理学分野

10:30～10:50

13. ヒスタミン神経系を介した摂食調節におけるセロトニン5-HT受容体の関与の可能性

○ 室谷 知孝^{1,2)}、五十川 侑加¹⁾、唐島 道崇¹⁾、石塚 智子^{1,3)}、
戸田 達史²⁾、大和谷 厚¹⁾

1) 大阪大・医・医用物理工学、2) 神戸大・医・分子脳科学/神経内科学、

3) 大阪歯科大・歯・薬理学

10:50~11:10 **14. Locomotor activity and anxiogenic-like behaviors are increased by Histamine H3 receptors antagonists**

○ Attayeb Mohsen, Fumito Naganuma, Tadahito Nakamura, Katsuhiko Shibuya, Takeo Yoshikawa, Nobuyuki Okamura, and Kazuhiko Yanai

Department of Pharmacology, Tohoku University Graduate School of Medicine

11:10~11:20 休 憩

11:20～12:00 **教育講演** 座長：西堀 正洋(岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科)

「ヒスタミン研究の最近の進歩：中枢ヒスタミン神経系を中心に」

谷内 一彦（東北大学大学院医学系研究科 機能薬理学分野）

12:00~12:10 休 憩

12:10~13:10 ランチョンセミナー 座長：小野寺 憲治（横浜薬科大学）

共催：グラクソ・スミスクライン(株)

「鼻アレルギー診療における抗ヒスタミン薬の意義と注意点」

松原 篤 (弘前大学耳鼻咽喉科)

13:10~13:20 休 憩

13:20～14:20 **招請講演** 座長：谷内 一彦（東北大学大学院医学系研究科）

「Translational approaches towards the identification of a histamine H₃ receptor antagonist and its' clinical evaluation for the symptomatic treatment of allergic rhinitis」

Nicholas Carruthers

(Johnson & Johnson Pharmaceutical Research & Development L.L.C.)

14:20~14:30 休 憩

ミニシンポジウム

座長： 赤木 正明（徳島文理大学薬学部）

大津 浩（東北大学大学院工学研究科）

〔 炎症・アレルギーを巡る最近のトピックス 〕

14:30～14:50 **M-1 金属アレルギーの新たなアプローチ：金属溶出の制御**

○平澤 典保

東北大学大学院薬学研究科

14:50～15:10 **M-2 アレルギー性接触皮膚炎におけるヒスタミンの作用**

○清家 正博

相模女子大学短期大学部食物栄養学科

15:10～15:30 **M-3 OCT3（ヒスタミントランスポーター）ノックアウトマウスを用いての拘束ストレス応答のプロテオーム解析**

○小笠原 正人¹⁾、尾谷 三枝子²⁾、佐野 圭二²⁾、笠原 恵美子³⁾、
前山 一隆¹⁾、山内 広平⁴⁾

1) 愛媛大・医・統合生体情報学講座薬理学分野

2) 神戸学院大・薬・生命薬学部門

3) 大阪市立大・医・生化学分子病態学

4) 岩手医科大・医・呼吸器・アレルギー・膠原病内科

15:30～15:50 **M-4 マスト細胞の成熟過程におけるヒスタミンの機能**

○田中 智之

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科

15:50～16:10 **M-5 マスト細胞研究のツールとしての胎仔肝臓由来細胞の有用性**

○福石 信之、赤木 正明

徳島文理大学薬学部薬理学教室

16:10～16:20 **休 憩**

16:20~17:05 **特別講演** 座長：山内 広平（岩手医科大学医学部）

「疾患感受性遺伝子の発現抑制によるアレルギー疾患治療戦略」

福井 裕行 (徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部分子情報薬理学分野)

17:05 閉会の辞・次期会長挨拶

17:20 終了・移動

17:30~19:30 **懇親会**

セッション I

[アレルギー・炎症]

一般演題 1～4

1. 結膜アレルギーにおけるヒスタミンの関与：他覚所見の評価系、ならびにヒスタミンH₁受容体発現の評価系の確立

○福島 敦樹¹⁾、石田 わか¹⁾、角 環¹⁾、福田 憲¹⁾、椎 大介²⁾、今井 順也²⁾
1)高知大学医学部眼科学講座、2)参天製薬株式会社

【目的】アレルギー性結膜炎の他覚所見は主に充血と浮腫である。アレルギー性結膜炎はⅠ型アレルギーにより誘発される。アレルギー性結膜炎の症状発現には、種々の分子の中でも、ヒスタミンが重要な働きを果たす。そこで、ヒスタミンにより誘発される結膜炎の他覚所見を評価する系とヒスタミンH₁受容体発現を評価する系を確立することを目的とした。

【方法】1) 充血の評価：モルモットにヒスタミンを点眼し結膜炎を惹起した。ヒスタミン点眼後、結膜画像を経時的にデジタルカメラで撮影し、評価エリアを設定し、Image J ソフトを用い充血を2値化し、ピクセル値として比較した。また、結膜炎惹起前のピクセル値を100%とし、相対値として評価した。

2) 浮腫の評価：上記の系に加え、ヒスタミン点眼の30分前にエバンスブルーを静脈注射した。ヒスタミン点眼10分前に抗ヒスタミン作用を持つレボカバスチン塩酸塩を点眼する群と点眼しない群の2群に分けた。ヒスタミン点眼後、経時的にデジタルカメラで撮影し、ImageJ ソフトを用い青色成分を抽出し、ピクセル値として表した。ヒスタミン点眼後30分で結膜を採取し、漏出しているエバンスブルー量を測定した。

3) ヒスタミンH₁受容体発現の評価：マウスをスギ花粉で全身感作し、21日後にエバンスブルーを静脈注射し、その直後にスギ花粉を点眼して結膜炎を誘導した。スギ花粉点眼30分後に結膜を採取し、エバンスブルー漏出量を測定した。ヒスタミンH₁受容体発現を評価するため、スギ花粉点眼3時間30分後に結膜を採取し、定量的PCR法でヒスタミンH₁受容体mRNA発現レベルを評価した。いずれの実験でも、スギ花粉点眼30分前に抗ヒスタミン作用を持つレボカバスチン塩酸塩を点眼する群と点眼しない群の2群に分けた。

【結果】1) 充血の評価：ヒスタミン点眼により肉眼的にも明らかな充血を認めた。デジタル画像を解析した結果、ピクセル絶対値、ピクセル相対値ともにヒスタミン点眼後1分で有意に上昇し、ヒスタミン点眼5分後にプラトーに達した。

2) 浮腫の評価：ヒスタミン点眼によりエバンスブルーの結膜への漏出を認めた。レボカバスチン塩酸塩の事前点眼によりエバンスブルーの結膜への漏出は明らかに抑制されていた。画像解析による検討では、レボカバスチン塩酸塩点眼群はヒスタミン点眼5分後よりエバンスブルー漏出量が有意に低かった。ヒスタミン点眼30分後に採取し抽出したエバンスブルー量と画像解析によるピクセル値は相関係数0.9以上の正の相関を認めた。

3) ヒスタミンH₁受容体発現の評価：スギ花粉により結膜炎を惹起するとエバンスブルーの有意な漏出を認めた。ヒスタミンH₁受容体mRNA発現も上昇傾向にあった。レボカバスチン塩酸塩点眼により、エバンスブルー漏出もヒスタミンH₁受容体mRNA発現も有意に抑制された。

【考察】ヒスタミンにより誘発される結膜炎の他覚所見ならびに、結膜におけるヒスタミンH₁受容体mRNA発現を評価できる系を確立した。ヒスタミンにより誘発される結膜他覚所見、とくに結膜充血は患者においても定量的に評価できる可能性が示唆された。抗ヒスタミン点眼薬投与によりヒスタミンH₁受容体mRNA発現の抑制が確認できたことから、抗ヒスタミン点眼薬も初期療法の治療薬として有効である可能性が示唆された。

2. グルココルチコイド受容体を介した精神的ストレスによる喘息病態の悪化

○奥山 香織、山崎 直樹、河野 資、大河原 雄一、高柳 元明、大野 勲
東北薬科大学 病態生理学教室

【目的】気管支喘息は、炎症細胞(好酸球や肥満細胞)の気道集積と活性化を特徴とする慢性炎症性気道疾患である。この炎症性反応を制御しているのが2型ヘルパーTリンパ球(Th2)より産生されるIL-4、IL-5、IL-13などのTh2サイトカインである。また、Th1より産生されるIFN- γ などのTh1サイトカインはTh2反応に拮抗する。近年ストレス性喘息の増加が懸念されているが、精神的ストレスによる喘息増悪の機序は不明である。一方、精神的ストレスによる視床下部-下垂体-副腎皮質(HPA)系の活性化により分泌されるglucocorticoid (GC)は、獲得免疫の成立過程において免疫応答バランスをTh2優位にすることが報告されている。そこで、精神的ストレスによりHPA系の活性化を介し増加したGCが喘息悪化に関与していると仮説を立て検討した。

【方法】拘束ストレス及び強制水泳ストレスを用いた精神的ストレス誘発性喘息モデルマウスを作成した。ストレス負荷および非負荷直後の血漿中GC濃度を測定した。GC受容体拮抗薬(RU-486)は、各ストレス負荷の1時間前に皮下投与した。抗原吸入後、気道過敏性を測定し、気管支肺胞洗浄液(BALF)中の炎症細胞数の算定により気道炎症を評価した。また、BALF中のサイトカイン量を測定した。

【結果】ストレス非負荷群に比較し、ストレス負荷群では、血漿中GC濃度が有意に高値を示した。また、気道過敏性亢進の増大と、BALF中の炎症細胞の有意な増加が見られた。さらに、BALF中のIL-13の有意な増加および、IFN- γ /IL-4比の有意な低下が見られた。GC受容体拮抗薬の投与は、ストレスによる気道過敏性亢進増大、炎症細胞増加および、IL-13増加、IFN- γ /IL-4比の低下を有意に抑制した。

【考察】精神的ストレスによる喘息悪化の機序の一つに、HPA系の活性化を介し分泌が亢進したGCによるTh2反応亢進が関与することが示唆された。

3. 後発酵茶の抗アレルギー成分の探索

○赤木 正明¹、赤木 玲子²、稲垣 昌宣²、宮本 智文³、松原 主典⁴、
佐藤 芳範⁵

1) 徳島文理大・薬、2) 安田女子大・薬、3) 九州大院・薬、4) 広島大院・教育、
5) バイオアクティブおかやま

【目的】茶葉が含有する成分に多彩な生理活性を有するものがあるとの報告があり、緑茶が健康食品として注目されている。岡山県美作市の特産品のひとつである「玄徳茶」は、茶葉を加熱処理後、嫌気的条件下に微生物発酵させた後発酵茶に分類され、中国の秘境でも少量生産されている黒茶に類似している。緑茶で報告されている生理活性の他に、黒茶には伝承的に多くの生理機能があると云われているが、科学的には未知な部分が多く残されている。本研究では、「玄徳茶」の生理活性を明らかにし、その有効成分の同定を行うことを目的とし、抗アレルギー作用に注目して以下の実験を行った。

【方法】後発酵茶「玄徳茶」を 50%メタノール抽出後、抽出液を水と酢酸エチルで分画した。水相はさらに n-ブタノールで抽出し、n-ブタノール相と水相を得た。酢酸エチル相と n-ブタノール相は、それぞれ Diaion HP カラムに吸着させ、水、30%メタノール、70%メタノール、100%メタノールで溶出し、各分画を得た。さらに、各分画は、LH-20 カラムに通し、クロロホルムとメタノールの 1 : 1 溶媒で溶出し、4〜5 分画を得た。各分画の精製度は、その都度 TLC で確認を行った。生理活性測定のために、各分画は、減圧濃縮後真空乾燥を行い、秤量した。抗アレルギー作用は、ラット腹腔肥満細胞からの compound 48/80 (48/80) によるヒスタミン遊離を指標にして、種々な濃度の各分画で 15 分間前処置後の抑制効果で検討した。TLC で単一スポットになった分画は、negative ion FABMS および ¹H-NMR により構造決定を行った。

【結果・考察】ヒスタミン遊離抑制作用の検討には、すべての分画は、最終濃度 5 μ g/mL 及び 10 μ g/mL で使用し、比較検討を行った。その結果、50%メタノールエキスにはほとんど抑制活性はなかったが、さらに抽出した酢酸エチルエキス (TS-2) 及び n-ブタノールエキス (TS-3) は、濃度依存的に肥満細胞からの 48/80 1 μ g/ml により誘発されたヒスタミン遊離を強く抑制した。しかし、水エキスには抑制活性はなく、逆にヒスタミン遊離を増強した。TS-2 を吸着カラムによりさらに分画すると、水溶出部 (TS-21) と 100%メタノール溶出部 (TS-24) に抑制活性がみられた。同様に TS-3 を分画すると、どの分画にも抑制活性が観察されたが、70%メタノール溶出部 (TS-33) に最も強い活性がみられた。TS-21 について、さらにゲルろ過を行うと、第 2 分画 (TS-212) から活性がみられ、その強さはしだいに強くなり、最後の第 5 分画 (TS-215) がもっとも強い抑制活性を示した。TS-33 も同様にゲルろ過を行うと、第 1 分画 (TS-331)、第 3 分画 (TS-333)、第 4 分画 (TS-334) に抑制活性がみられた。分画した TS-211、TS-212、TS-213、TS-214、TS-215 と TS-331、TS-332、TS-333、TS-334 を TLC で解析したところ、TS-213 及び TS-214 分画に単一の濃いスポットが観察されたので、構造解析を行ったところ、既知物質のピロガロールと没食子酸であることが判明した。これら以上に抑制活性が強い分画が残されているので、現在はさらに分画を続けているところである。

4. ヒトヒスタミンH₁受容体遺伝子発現メカニズムの解明

○寺尾拓馬¹⁾、水口博之¹⁾、池田光広¹⁾、北村嘉章²⁾、武田憲昭²⁾、福井裕行¹⁾

1)徳島大院・ヘルスバイオサイエンス研究部・分子情報薬理学

2)徳島大院・ヘルスバイオサイエンス研究部・耳鼻咽喉科学

【目的】多因子疾患の治療のために、疾患感受性遺伝子の異常発現を是正する新規治療薬の開発が強く期待される。アレルギー疾患において、いくつかの遺伝子が疾患感受性候補遺伝子として提案されているが、証明が進んでいない。即時型アレルギーの主要反応はヒスタミンH₁受容体(H₁R)を介して引き起こされる。H₁Rを介するシグナル量は受容体の発現レベルに依存することから、H₁Rはシグナル伝達の律速分子であると考えられる。我々は、鼻過敏症モデルラットを用いた実験において、抗ヒスタミン薬の早期からの投与は症状改善を引き起こし、同時にH₁R遺伝子の発現亢進を抑制することを見出した。また、花粉症患者に抗ヒスタミン薬による初期療法を行い、症状改善の程度及び鼻粘膜H₁R mRNAレベルの低下を検討したところ、両者の有意な改善及び低下と相関関係が認められた。以上の結果より、H₁R遺伝子はアレルギー疾患感受性遺伝子であり、その遺伝子発現調節に影響を及ぼす薬物は有効な抗アレルギー薬になる可能性が示唆された。

一方、苦参は豆科のクララの根由来の抗アレルギー性生薬であるが、その抗アレルギー作用に対する科学的検証はこれまで行われていなかった。我々は、苦参熱水抽出液が、鼻過敏症モデルラットにおいて、症状を軽減すると共に発作刺激誘導に伴うH₁R遺伝子発現亢進を有意に抑制することを見出した。また、この抽出液よりH₁R遺伝子発現亢進に対する抑制活性を指標に抗アレルギー成分を単離し、(-)-maackiainが同定された。そこで、今回我々は(-)-maackiainによるH₁R遺伝子発現亢進の抑制機構を明らかにするために、H₁R遺伝子発現調節機構について検討した。

【方法】培養細胞を用いて、刺激に伴うH₁R mRNA発現量の上昇に対する種々の阻害薬の影響をReal time RT-PCR法により検討した。次に、H₁R遺伝子発現調節への関与が示唆されたPKCδについて、発現ベクターの遺伝子導入による過剰発現及びsiRNAの導入による遺伝子ノックダウンに伴うH₁R mRNA発現量への影響について検討した。また、PKCδ及びこれと同様にH₁R遺伝子発現調節への関与が示唆されたERK1/2について、刺激に伴うリン酸化レベルの上昇に対する阻害薬及び(-)-maackiainの影響をWestern blot法により検討した。

【結果】ヒスタミン刺激によりH₁R mRNA発現量が上昇し、PKCδの阻害薬であるrottlerin、MEK1/2の阻害薬であるU0126、PARP-1の阻害薬であるDPQによりこの上昇が有意に抑えられた。また、ヒスタミン刺激によるH₁R mRNA発現量の上昇は、PKCδの過剰発現により促進され、一方でPKCδの遺伝子ノックダウンにより抑制された。ヒスタミン刺激によりERK1/2のリン酸化レベルが上昇し、rottlerinによりこの上昇が抑えられた。(-)-maackiainはヒスタミン刺激に伴うPKCδのTyr311のリン酸化を有意に抑制した。

【考察】本研究から、ヒスタミン刺激によるH₁R遺伝子発現亢進にPKCδ、MEK-ERK経路及びPARP-1の活性が関与することが明らかとなった。また、(-)-maackiainを始めとするPKCδを標的とする薬物は有効な抗アレルギー薬になることが考えられた。H₁R遺伝子発現調節機構の解明は、アレルギー疾患感受性遺伝子であるH₁R遺伝子発現亢進を抑制する抗アレルギー薬の抑制機構を明らかにする上で重要であることが強く示唆された。

セッションⅡ

〔 中枢神経系Ⅰ 〕

一般演題 5～8

5. うま味溶液がラット内側視索前野ヒスタミン遊離へ及ぼす影響

○石塚 智子¹⁾、碓 哲崇²⁾、唐島 道崇³⁾、室谷 知孝⁴⁾、大和谷 厚³⁾、大浦 清¹⁾

1)大阪歯科大学歯学部薬理学講座、2)朝日大学歯学部口腔生理学講座、

3)大阪大学大学院医学系研究科保健学専攻、4)神戸大学医学部

【目的】

近年、L-グルタミン酸ナトリウムなどのうま味物質が中枢を介して様々な生理機能を発揮することが明らかになりつつあり、機能的磁気共鳴画像装置を用いた実験では 0.06M L-グルタミン酸ナトリウム溶液をラットに胃内投与すると、内側視索前野や視床下部背内側核などの視床下部の複数の部位の脳活動が特異的に上昇することが示されている。したがって、うま味による生理機能の発現にはこれらの脳部位の関与が推測されるものの、どの神経伝達物質が関与しているのかについて詳細は不明である。

脳内ヒスタミン神経系は摂食調節や睡眠覚醒などの視床下部を介するさまざまな生理機能の調節に関与している。われわれはこれまでに、摂食行動や味覚情報によってヒスタミン神経系の活性が変化することを示しており、ヒスタミン神経系の活性がうま味によっても影響される可能性が考えられる。そこで、本研究ではうま味溶液によるラット内側視索前野におけるヒスタミン遊離動態の変化を *in vivo* マイクロダイアリス法を用いて神経化学的に検討した。

【方法】

前日から 24 時間絶食させたウィスター系雄性ラットをウレタンにて麻酔し、ダイアリスプローブを内側視索前野に刺入した。プローブにはリンゲル液を流速 1 μ l/min で灌流した。基礎遊離を 1 時間測定後、ラットの口腔内にシリンジを用いてうま味溶液である 0.06M L-グルタミン酸ナトリウム溶液または 0.1M L-グルタミン酸カリウム溶液を流速 1ml/min で 2 分間注入し、刺激 2 時間後までサンプルの回収を行った。また、うま味物質の消化管刺激による影響を調べるため、別群のラットを用いて各うま味溶液 (1ml/min/kg) をチューブを介して 10 分間胃内に直接投与し、同様の実験を行った。さらに、迷走神経の関与を検討するため、ダイアリス直前にラットを開腹し、食道の両側を走行している迷走神経を胃の真上付近で切断したラットにうま味溶液を胃内投与したときのヒスタミン遊離についても観察した。

【結果および考察】

両者のうま味溶液を口腔内に注入しても、対照群である蒸留水注入の場合と同様に内側視索前野におけるヒスタミン遊離に変化は認められなかった。それに対し、両者のうま味溶液を胃内投与するとヒスタミン遊離に有意な減少が見られた。蒸留水の胃内投与によってはヒスタミン遊離は変化しなかった。さらに、開腹のみを行った偽手術群では naïve なラットと同様にうま味溶液で有意なヒスタミン遊離の低下が認められたが、迷走神経切断を行ったラットではヒスタミン遊離低下の反応が消失していた。以上の結果より、うま味溶液中に含まれる L-グルタミン酸は胃内に存在するグルタミン酸受容体に作用し、迷走神経から中枢への上行性入力を通じて内側視索前野のヒスタミン活性を変化させている可能性が示唆された。

【謝辞】

本研究はうま味研究会の援助によって行われた。

6. ヒスタミンH₁受容体欠損マウスにおける視床下部ヒスタミン遊離と時計遺伝子の概日リズム

○唐島 道崇、山本 浩一、藤野 圭介)、菊谷 奈央、大和谷 厚
大阪大学大学院 医学系研究科 保健学専攻

【目的】

ヒスタミン神経系は視床下部結節乳頭核に局在する細胞体から脳全体に神経線維を投射しており、ヒスタミンH₁受容体を介して睡眠覚醒や自発運動など概日リズムを持つ生理反応に関与すると考えられている。視床下部でのヒスタミン遊離量は活動期に高く、休息期に低くなる概日リズムが見られることが知られているが、脳内ヒスタミンの概日リズム調節における役割については明らかではない。そこで、覚醒維持に深く関与しているH₁受容体に注目し、先天的にH₁受容体を欠損させたマウス(H₁R-KO)の視床下部ヒスタミン遊離がどのような概日リズムを有しているかについてマイクロダイアリシス法を用いて測定し、自発行動量との関連について検討した。さらに*Per2*と*Bmal1* mRNAの発現量を測定し、視交叉上核における体内時計遺伝子の発現変化におけるH₁受容体の役割についても検討した。

【方法】

H₁R-KOマウスと、対照としてC57BL/6系雄性マウス(WT)を用い、視床下部にマイクロダイアリシスプローブを留置し、12時間毎に明期と暗期が変わる明暗サイクルの下、マウスが自由に行動できる状態でプローブに人工脳脊髄液を流速1.0μl/minで灌流した。その後、灌流液中のヒスタミンをHPLC蛍光法により定量した。さらに明暗および常暗サイクルにおいてマウスの自発的行動量を計測し、常暗サイクルのものにおいてはフリーラン周期を測定した。また、主観的暗期開始から2、8、14、20時間の時点でマウスの視交叉上核を含む領域を摘出し、この組織中の*mPer2*、*mBmal1*遺伝子のmRNA発現量をRT-PCR法で解析した。

【結果】

視床下部ヒスタミンは、WTでは暗期に遊離が増加、明期開始にかけて再び減少を始めたのに対し、H₁R-KOでは同様の変化が見られたものの最大値と最小値の差は小さかった。自発行動量においてもWTと比較してH₁R-KOにおいては活動期と休息期の行動量の差が小さかった。さらに、*mPer2*、*mBmal1* mRNAの発現量においては、WTマウスではそれぞれの時計遺伝子で明確な概日リズムが見られていたものが、H₁R-KOマウスでは明暗サイクルに対する発現量の規則性が乱れて発現量がほぼ一定であるとの結果が得られた。

【考察】

これらの結果を総合すると、視床下部ヒスタミン遊離量や自発行動量、時計遺伝子発現の変化には概日リズムが見られ、この概日リズムの調節にH₁受容体に関与し、調節機構が欠損しているH₁R-KOマウスではヒスタミン遊離量、自発行動量、時計遺伝子発現のダイナミックレンジが減少していた。

7. 「Histidine Decarboxylase 抗体を用いたマウス、ラットの視床下部 ヒスタミン神経細胞の分布の比較」

○森脇 千夏^{1, 2)}、千葉 政一¹⁾、北村 裕和³⁾、伊那 啓輔³⁾、魏会 興¹⁾、
藤倉 義久³⁾、吉松 博信¹⁾

1) 大分大学医学部総合内科学第一

2) 中村学園大学短期大学部

3) 大分大学医学部解剖学

【目的】

中枢ヒスタミン神経は、食欲と脂肪蓄積を減少させて食行動に影響を及ぼす摂食抑制の因子であるが、覚醒睡眠や日内リズム、記憶学習などの多くの脳機能に関係している。また、種々の侵襲に対しては防御的に働く神経可塑性において重要な役割を果たしていることが報告されている。脳内におけるヒスタミン神経細胞の分布については、Watanabe (1984)、Inakagki (1990) ら他によってラット乳頭核領域 (TMN) において E1-E5 の細胞グループで合成されていることが報告されており、多くの研究がこの論文に基づいて検討されている。しかしながら、動物間でのヒスタミン神経細胞の分布については、差があることが報告されており、マウスにおけるヒスタミン神経細胞は、明確な分布が不明である。本研究は、マウスにおける視床下部ヒスタミン神経細胞の分布について、視交叉から尾側にかけて Histidine Decarboxylase (HDC) に対する抗体を用いて検索したので報告する。

【材料と方法】

動物は C57BL/6 マウス (雄性、8 週齢) を用い、普通食 (AIN93G) を給餌した。対照とし Wister ラット (雄性、8 週齢) を用いた。動物を深麻酔下にて 4%paraformaldehyde で灌流固定し、脳を取り出して同固定液にて 24 時間固定した。上昇系列アルコールにて脱水、パラフィン包埋し、10 μ m 連続切片とした。一次抗体は polyclonal Rabbit Anti HDC 抗体 (PROGEN Biotechnik GmbH, Heidelberg) を用い、二次抗体は HRP 標識 Envision 抗 Rabbit IgG (DAKO) を使用し、DAB で発色し、光学顕微鏡にて観察・撮影した。

【結果・考察】

マウスにおけるヒスタミン神経細胞は、視床下部 TMN 領域に加えて、背側視床下部、視交叉上核、第三脳室周囲から腹側部視床下部にかけてみられた。ラットの所見との大きな相違は、視床下部 TMN 領域における E4 がマウスで認められず、E5 が広範囲に分布していた事であり、ヒスタミン神経の分布が動物種で異なる事が示唆された。

脳内ヒスタミン神経細胞と脳機能の関連を明らかにするためには、動物間の違いによる細胞の分布も考慮し検討を行う必要がある。

8. H₃受容体アゴニストによる視床下部ヒスタミン含量減少と覚せい剤誘発かみ行動増強は負に相関する

○北中 純一¹⁾、北中 順恵¹⁾、F. Scott Hall²⁾、George R. Uhl²⁾、立田 知大³⁾、
守田 嘉男⁴⁾、田中 康一⁵⁾、西山 信好⁵⁾、竹村 基彦¹⁾

1)兵庫医科大学薬理学講座、2)NIDA-IRP, NIH、3)揖保川病院（兵庫）、

4)梅花女子大学看護学部、5)兵庫医療大学薬学部医療薬学科薬理学

【目的】覚せい剤（METH）連続または過剰投与により陽性症状、退薬時に陰性症状が発現することが知られている。陽性症状は幻覚、妄想や過運動、現実的（あるいは非現実的）刺激に対する過剰反応ならびに常同行動が知られ、陰性症状としては、無気力、うつ様症状や不安、社会からの隔絶感などが認められる。慢性投与により覚せい剤精神病へ移行する。常同行動は、自傷や他者を傷つけるなど反社会的行動に繋がることもあり、治療が必要である。マウスに高用量（10 mg/kg）のMETHを単回投与すると常同行動が発現する。常同行動発現様式はヒトの場合に類似しており、常同行動を示すマウスは覚せい剤精神病あるいは妄想型統合失調症のモデル動物と考えられている。本研究では、常同行動発現パターンを制御する神経系を調べる目的でマウスを用いてMETHを単回投与し、脳ヒスタミン神経系を刺激する薬物を処置することでその行動変化を検討した。マウスに対してH₃受容体アゴニストを前投与したのちMETH投与して、視床下部ヒスタミン含量と常同行動発現パターンとの関連を調べた。

【方法】実験は兵庫医科大学動物実験委員会の審査を経て実施承認を受けた。ICR系雄性マウス（10-12週齢、日本エスエルシー株式会社）を一週間以上研究施設で飼育した後実験に供した。常同行動の評価（反復かぎ行動、かみ行動、首振り、旋回を常同行動として記録した）、運動量測定（室町機械製Animex Auto MK-110）、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）はすべて既報に従って実施した。全ての実験においてマウスは一度のみ測定機器に暴露した。H₃受容体アゴニスト（(R)-α-methylhistamine, imetit, immepip）の前投与は1時間とし、METH投与後1時間の行動を観察した。観察終了後視床下部を取り出しヒスタミンと代謝物（N^ε-メチルヒスタミン）含量をHPLCで定量した。

【結果】(1)10 mg/kgのMETHを投与後1時間以内に認められたマウスの常同行動パターンは、噛み行動が優勢(82.1%)だった。(2)METH投与1時間後のマウス視床下部ではヒスタミン含量は有意に増加し、3あるいは10 mg/kgの(R)-α-methylhistamineを腹腔内に前投与した場合METHによるヒスタミン含量増加は認められなかった。代謝物はMETHのみで増加傾向（有意ではない）だったが、(R)-α-methylhistamine前投与で生理食塩水前投与群に比べ有意に減少した。(3)(R)-α-methylhistamine単独では視床下部ヒスタミン（および代謝物）含量に変化はなかった。(4)(R)-α-methylhistamine前投与でMETHによる常同かみ行動は有意に増加し、常同かぎ行動は有意に減少した。(5)個々のマウスデータをプロットしたとき視床下部ヒスタミン含量とMETH誘発常同かみ行動観察頻度および反復かぎ行動観察頻度との間にはそれぞれ有意な負の相関（-0.918, P<0.0001）および有意な正の相関（0.833, P<0.0001）が認められた。(6)10 mg/kgのimetitあるいはimmepip前投与は(R)-α-methylhistamine前投与の場合と類似の結果だった。

【考察】METHによる常同かみ行動の発生頻度制御には、脳ヒスタミン神経系が関与している可能性を示唆している。

セッションⅢ

【 ヒスタミン受容体機能 】

一般演題 9～11

9. 肥満細胞の脱顆粒とサイトカイン産生に及ぼす H_1 受容体拮抗薬の作用

○清水 香奈子、青井 典明、清水 保彦、川内、秀之

島根大学医学部耳鼻咽喉科

【目的】

H_1 受容体拮抗薬の薬理作用については H_1 受容体に対する拮抗作用の他に、種々の免疫学的修飾作用が報告されている。今回、 H_1 受容体拮抗薬である Carebastine、Epinastine、Fexofenadine を用いて、マウス骨髄由来肥満細胞（BMMC）の脱顆粒、およびサイトカイン産生に及ぼす影響について検討した。

【方法】

被検薬物として中枢作用が少ない非鎮静性といわれる H_1 受容体拮抗薬である Carebastine、Epinastine、Fexofenadine を使用した。肥満細胞は、8 週齢 Balb/c 雌マウス的大腿骨より分離し、10%WEHI-3 conditioned medium にて 6 週間培養し、フローサイトメリーにて肥満細胞の受容体である c-Kit に PE を結合させ、Fc ϵ RI に対する抗マウスモノクローナル抗体に FITC を結合させ多重染色し、ホワードスキッターとライトスキッターにてダブルポジティブで肥満細胞が 95%以上の純度であることを確認した。BMMCs (5X10⁵ cell/ml) に抗 DNP-IgE を加えて 1 時間後 wash し、DNP-HSA と Carebastine、Epinastine、Fexofenadine を添加して β -Hexosaminidase を脱顆粒させた。遠心後上清を分離し、ペレットに 1% Triton X を加え、上清とペレットに p-nitrophenyl-N-acetyl- β -D-glucosaminide を加えて 37°C で 30 分後、グリシンバッファーを加えプレートリーダーにて 405 ナノメートルで吸光度を測定した。上清とペレットの割合で脱顆粒率を算出し、トリプルケートで平均値 SD、SE を出した。次に BMMCs (2X10⁶ cell/ml) に抗 DNP-IgE を加えて 1 時間後 wash し、DNP-HSA と Carebastine、Epinastine、Fexofenadine を添加し、crosslinking を行った。48 時間後の培養上清中の IL-5、IL-13、TNF- α の濃度を ELISA にて測定した。Student's *t* test にて検定を行った。

【結果】

Carebastine は、BMMC の脱顆粒を有効血中濃度で有意に抑制した。Epinastine は BMMC の脱顆粒を有効血中濃度の 1/10 の濃度でも有意に抑制した。Fexofenadine は BMMC の脱顆粒を有効血中濃度の 10 倍の濃度でのみ有意に抑制した。Carebastine は、BMMC からの IL-5、IL-13、TNF- α を有効血中濃度の 1/10 の濃度でも有意に抑制した。Epinastine は、BMMC からの IL-5、IL-13、TNF- α を有効血中濃度の 1/10 の濃度でも有意に抑制した。Fexofenadine は、BMMC からの IL-5、IL-13、TNF- α を有効血中濃度の 10 倍の濃度でのみ有意に抑制した。

【考察】

Carebastine、Epinastine、Fexofenadine は H_1 受容体に antagonistic に作用し即時相を抑えるだけでなく、肥満細胞の脱顆粒を抑制し、即時相を抑制する可能が示唆された。肥満細胞から IL-5、IL-13、TNF- α などのサイトカインを抑制し、好酸球性の炎症を抑え遅発相を抑制する可能性が示唆された。今後 H_1 受容体 KO マウスを用いての検討を考えている。

10. マウスアトピー性皮膚炎モデルにおけるヒスタミン H₁ 及び H₄ 受容体拮抗薬の併用による治療効果

○大澤 雄亮、平澤 典保

東北大学大学院薬学研究科 生活習慣病治療薬学分野

【目的】 アトピー性皮膚炎治療にヒスタミン H₁ 受容体拮抗薬として抗ヒスタミン薬が処方されるが、抗アレルギー・抗炎症効果、掻痒に対する効果はいずれも十分とは言えない。今回、我々は慢性アレルギー性皮膚炎モデルを作製し、H₁ 受容体拮抗薬に加えて H₄ 受容体拮抗薬を併用した場合の治療効果について検証した。

【方法】 NC/Nga マウス腹部に picryl chloride (PiCl) を塗布し、その 1 週間後から週 1 回 PiCl を背部及び耳介皮膚に PiCl を塗布することで慢性アレルギー性皮膚炎を作製した。薬物は慢性皮膚炎が完成した 5 週目から最終評価の 10 週目まで 1 日おきに経口投与した。また、H₁ 及び H₄ 受容体拮抗薬の作用機序解析として、骨髄細胞由来肥満細胞またはマウス表皮細胞株 PAM212 を用いてその薬理作用を解析した。

【結果】 慢性アレルギー性皮膚炎作製 5 週目において、血漿中ヒスタミン及び皮膚組織中 HDC mRNA レベルは有意に上昇し、このとき、H₁ 受容体拮抗薬であるオロパタジンまたは H₄ 受容体拮抗薬である JNJ7777120 をそれぞれ単回投与すると scratching counts は減少した。さらにこれらを併用することで十分な抑制効果が示された。その後、最終評価 10 週目まで薬物を反復投与した結果、皮膚炎症状スコア、皮膚組織中サイトカインレベル、浸潤肥満細胞数はオロパタジン及び JNJ7777120 の併用によって有意な改善効果を示し、ステロイド薬であるプレドニゾロンに匹敵する薬効を示した。さらに、骨髄由来肥満細胞において DNP-IgE 刺激による TARC 及び MDC 産生に対して H₄ 受容体拮抗薬は用量依存的な抑制効果を示し、PAM212 細胞におけるヒスタミン刺激による Semaphorin3A mRNA レベルの減少は H₁ 受容体拮抗薬で用量依存的に回復した。

【考察】 今回の結果により、アトピー性皮膚炎モデルにおいて H₁ 受容体に加え H₄ 受容体も阻害することにより相乗的な有効性が示された。H₁ 受容体は血管透過性亢進と掻痒制御因子である semaphorin3A 発現低下を、H₄ 受容体は炎症性細胞の遊走と TARC 及び MDC 産生、さらに直接的な掻痒惹起の関与が示唆され、これらの経路を抑制することでステロイド薬と同等以上の薬効が示されたと考えられる。

11. インスリン分泌 β 細胞におけるヒスタミン3型受容体の発現と機能

○中村 正帆¹⁾、吉川 雄朗¹⁾、野口 直哉²⁾、大杉 真也¹⁾、笠島 敦子³⁾、
笹野 公伸³⁾、谷内 一彦¹⁾

1) 東北大学大学院医学系研究科機能薬理学分野

2) 東北大学大学院医学系研究科耳鼻咽喉・頭頸部外科学分野

3) 東北大学附属病院病理部

【目的】ヒスタミンが視床下部のヒスタミン受容体に作用して食欲を調節することが報告され、肥満等のエネルギー代謝疾患の治療標的としてヒスタミン受容体が注目されている。一方、肝臓・筋肉・ β 細胞といった末梢エネルギー代謝関連臓器におけるヒスタミンの機能は不明のままであった。 β 細胞には種々のGタンパク質共役型受容体(GPCR)が発現し、インスリン分泌などの β 細胞機能に重要な役割を果たしており、これらの受容体を標的とした糖尿病治療薬が既に市販されている。同じくGPCRであるヒスタミン受容体が β 細胞に発現していれば、インスリン分泌などの β 細胞機能を調節している可能性があると考えられた。そこで今回我々は、 β 細胞におけるヒスタミン受容体の役割について検討した。

【方法】【結果】

1) まずRT-PCR法とwestern blotを用いて、マウス β ランゲルハンス島およびマウス β 細胞由来の細胞株であるMIN6細胞におけるヒスタミン受容体の発現を調べたところ、両者とも抑制性のGiタンパク質に共役するヒスタミンH₃受容体(H₃R)が発現していることが明らかとなった。さらに免疫組織学的染色を用いてヒト β ランゲルハンス島 β 細胞にもH₃Rが発現していることを確認した。2) 次に、MIN6細胞でブドウ糖刺激インスリン分泌(glucose induced insulin secretion, GIIS)におけるH₃Rの役割について、H₃R agonistであるimetitを用いて検討した。2.8mMブドウ糖刺激による基礎分泌においては対照群とimetit投与群で差は認められなかった。一方、16.7mMブドウ糖刺激を行うと、imetit投与群で有意にインスリン分泌が低下することが認められた。また、imetitは濃度依存的にGIISを抑制することも明らかとなった。このimetitによるインスリン分泌抑制はG_i蛋白質阻害剤である百日咳毒素処理により消失することから、H₃Rからの細胞内シグナルがインスリン分泌機構を抑制していると考えられた。3) 更にH₃Rシグナルがインスリン分泌機構のどの部位に作用するかを検討した。インスリン分泌には、細胞内に取り込まれたブドウ糖からATPが産生され、その結果細胞内Ca²⁺濃度が上昇し、それに引き続きインスリン顆粒の開口放出が起こることが必要である。そこで、ブドウ糖刺激後のATP増加に対してH₃Rシグナルが及ぼす影響について検討したが、対照群とimetit群で細胞内ATP濃度に差はなかった。20mM KCl刺激に誘発されて細胞内Ca²⁺濃度が上昇しインスリン顆粒の開口放出されるが、20mM KCl刺激時のインスリン分泌はimetit群で有意に減少した。しかし、20mM KCl刺激時の細胞内Ca²⁺濃度は両群とも同程度であった。更に16.7mMブドウ糖刺激においても、細胞内Ca²⁺濃度は対照群とimetit群に。従ってH₃Rシグナルはブドウ糖刺激から細胞内Ca²⁺濃度上昇までの経路には関与せず、インスリン顆粒の開口放出を抑制すると考えられた。4) 最後にMIN6の細胞増殖にH₃Rが与える影響について、BrdUの取込量を指標に検討したところ、インスリン刺激時のBrdU取込量がimetit投与により有意に抑制された。これによりH₃RシグナルがMIN6細胞の増殖に抑制的に作用することが示唆された。

【考察】以上の結果から β 細胞にはH₃Rが発現しており、インスリン顆粒の開口放出を抑制してGIISを低下させること、また β 細胞増殖を抑制することが示唆された。H₃Rはインスリン分泌に関わる新規の糖尿病の治療対象になる可能性があると考えられる。

セッションⅣ

〔 中枢神経系Ⅱ 〕

一般演題 12～14

12. 正常ヒトアストロサイトによるヒスタミン取り込み機構の解明

○長沼 史登、吉川 雄朗、中村 正帆、井筒 敏恵、谷内 一彦

東北大学大学院医学系研究科機能薬理学分野

【目的】シナプス間隙に放出された神経伝達物質は、過剰な神経活動を避けるために近傍に存在するニューロンやアストロサイトによって速やかに取り込まれ、除去される事が知られている。神経伝達物質であるヒスタミンは、睡眠や記憶などの生理機能や、アルツハイマー病などの病態との関与が報告されているにも関わらず、どのようなメカニズムでシナプス間隙から除去されるかについては不明な点が多い。実際これまでに、ラットを用いた研究でアストロサイトがヒスタミン取り込み能を持つ事が報告されているのみで、その取り込み機構やヒトアストロサイトのヒスタミン取り込み能については不明のままであった。そこで今回我々は、正常ヒトアストロサイトを用いて、そのヒスタミン取り込み能を評価するとともに、その取込機構について検討を行った。

【方法・結果】まず、ヒトアストロサイトのヒスタミン取り込み能について評価するために、 $[^3\text{H}]$ ヒスタミンを用いた取り込み実験を行った。 $[^3\text{H}]$ ヒスタミンを2分間から60分間培地に添加し、その取り込み量を検討したところ、20分まではほぼ直線的に取り込み量が増加し、およそ40分で飽和することが明らかとなった。次に、 $100\ \mu\text{M}$ から $4\ \text{mM}$ までのヒスタミンを培地中に10分間添加し、ヒスタミン取り込み量を測定したところ、ヒトアストロサイトは濃度依存的にヒスタミンを取り込む事、およびその K_m 値および V_{max} 値は $3.477 \pm 1.264\ \text{mM}$ と $54.13 \pm 11.30\ \text{nmol/mg protein/min}$ である事が明らかとなった。ヒトアストロサイトのヒスタミン輸送に対する K_m 値および V_{max} 値は共に高い値を示した事から、low-affinity かつ high-capacity なトランスポーターがヒスタミン取り込み機能を担っている事が示唆された。次に、ヒトアストロサイトのヒスタミン取り込みが細胞外の Na^+ 濃度あるいは Cl^- 濃度依存的に行われるかどうかについて検討した。細胞外液中の Na^+ あるいは Cl^- をそれぞれ N-methyl-D-glucamine または sodium gluconate に置換し、ヒスタミン取り込み量を測定したが、取り込み量に変化は見られなかった。また、これまでに Na^+/Cl^- 非依存的な Organic Cation Transporter-2 (OCT-2)、Organic Cation Transporter-3 (OCT-3)、Plasma Membrane Monoamine Transporter (PMAT) の3つがヒスタミントランスポーターとして報告されている事から、これらがこのヒスタミン取り込みに関与している可能性が高いと考えられた。そこで、OCT-2の基質である Tetraethylammonium を用いてそのヒスタミン取り込みの抑制効果について検討したが、その効果は認められなかった。一方、OCT-3、PMATに阻害作用を有する Decynium22によりヒスタミン取り込み量は1割程度にまで減少した。しかし、RT-PCR法を用いて mRNA 量を評価したところ、OCT-3の発現は確認できず、PMAT発現量のみが非常に高い事が明らかとなった。最後に PMAT に対する siRNA を用いて、PMATの機能について特異的に検討したところ、PMATのノックダウンによりヒスタミン取り込み量は3割程度にまで減少する事が明らかとなった。

【考察】以上の結果からヒトアストロサイトはヒスタミン取り込み能を持つ事が明らかとなり、この取り込みは PMAT が重要な役割を果たしている事が確認された。そのため、ヒトアストロサイトは PMAT を介してヒスタミンを取り込み、脳内のヒスタミン濃度調節に重要な働きをしている可能性が示唆された。今後さらに PMAT の機能、ヒスタミン濃度調節のメカニズムが明らかとなれば、ヒスタミンの関与する新たな病態の解明やその治療ターゲットの発見につながると考えられる。

13. ヒスタミン神経系を介した摂食調節におけるセロトニン 5-HT 受容体の関与の可能性

○室谷 知孝^{1,2)}、五十川 侑加¹⁾、唐島 道崇¹⁾、石塚 智子^{1,3)}、戸田 達史²⁾、
大和谷 厚¹⁾

1)大阪大・医・医用物理工学、2)神戸大・医・分子脳科学/神経内科学、

3)大阪歯科大・歯・薬理学³⁾

【目的】

統合失調症の治療薬には主に D₂ 受容体関連薬物が用いられるが、これらは統合失調症に特徴的な症状を緩和する一方で、錐体外路症状の出現やプロラクチン値の上昇、あるいは食欲減退など様々な副作用を呈するという問題がある。近年、非定型 D₂ 受容体拮抗薬や D₂ 受容体部分作動薬の登場により、錐体外路症状やプロラクチン値上昇は軽減されてはいるものの、投薬に随伴する食欲減退は依然として高い割合で報告されている。我々はこれまでに、統合失調症治療薬による食欲減退に脳内ヒスタミン遊離の上昇が関与する可能性を示した。今回それに関してさらなる興味深い結果が得られたので報告する。

【方法】

実験には 8 週齢の C57/BL6 系 (WT) および H₁ 受容体欠損 (KO) 雄性マウスを用いた。マウスを個別にメタボリックケージに収容し暗期開始から 3 時間だけ飼料を与え摂食量を測定した。経日的な摂食量が安定したのを確認した後、暗期直前に非定型 D₂ 受容体拮抗薬 risperidone または D₂ 受容体部分作動薬 aripiprazole をマウスの腹腔内に投与し、3 時間の摂食量を測定した。また別群の WT および KO マウスを用い、これらの薬物を投与した際のヒスタミン遊離の変化を *in vivo* マイクロダイアリシス法にて検討した。マウスを前日より絶食しウレタンにて麻酔した後、視床下部にダイアリシスプローブを刺入した。プローブには人工脳脊髄液を流速 0.8μl/min にて灌流し、25 分ごとにサンプルを回収した。基礎遊離を測定した後、それぞれの薬物を腹腔内に投与し、投与 3 時間後までのサンプルを回収した。サンプル中のヒスタミンは HPLC 蛍光法にて定量した。さらに種々の選択的 5-HT 受容体拮抗薬を用いて同様の実験を行い、ヒスタミン遊離の変化に関与する受容体を検索した。

【結果】

WT マウスにおいて risperidone (0.5mg/kg) および aripiprazole (1mg/kg) の投与により摂食量が投与前と比べ有意に減少した。またこれらの薬物の投与により、脳内ヒスタミン遊離が基礎遊離と比較して有意にかつ用量依存的に上昇した。さらに選択的 5-HT_{2A} 受容体拮抗薬である volinanserin (0.5、1mg/kg) および ketanserin (5、10mg/kg)、または選択的 5-HT_{2B,2C} 受容体拮抗薬である SB206553 (2.5、5mg/kg) の投与により同様にヒスタミン遊離が上昇した。一方で KO マウスでは、risperidone および aripiprazole を投与した群にて WT マウスでの結果と同様に投与後のヒスタミン遊離が有意に上昇したものの、摂食量についてはいずれの薬物を投与した群においても変化は認められなかった。

【考察】

今回の結果より、WT マウスでは risperidone および aripiprazole により摂食量が減少し、またこれらの薬物によりヒスタミン遊離が上昇することが示された。一方で KO マウスでは、risperidone および aripiprazole によりヒスタミン遊離は上昇するものの、摂食量は減少しないことが示された。これらの結果より risperidone や aripiprazole によりヒスタミン遊離が上昇し、それが H₁ 受容体を介して食欲を減退させる可能性が示された。さらに WT マウスにて volinanserin、ketanserin および SB206553 により治療薬と同様にヒスタミン遊離が上昇したことから、5-HT_{2A,2B,2C} 受容体が治療薬によるヒスタミン遊離の調節に関与する可能性が示された。

14. Locomotor activity and anxiogenic-like behaviors are increased by Histamine H3 receptors antagonists

○ Attayeb Mohsen, Fumito Naganuma, Tadahiko Nakamura, Katsuhiko Shibuya,

Takeo Yoshikawa, Nobuyuki Okamura, and Kazuhiko Yanai

Department of Pharmacology, Tohoku University Graduate School of Medicine

Aim: to find out the effect of H3 blockade using new H3 antagonists JNJ-10181457 and JNJ-5207852 on the anxiogenic-like behaviors and locomotor activity.

Methods: Using elevated zero maze (EZM) and open field tests, anxiogenic and locomotor activity in mice was examined. Thirty male C57/6J mice were divided into 3 groups (n=10); saline, JNJ-1018145 (10 mg/kg) and JNJ-5207852 (10 mg/kg). The trial 1 of EZM was conducted without any treatment and the trial 2 was started on the next day at 30 min after the intraperitoneal injection of saline or H3 antagonists. The trial duration of EZM was 5 min and open quadrant time was measured. Following the measurement of EZM, the same groups were examined using an open field at 30 min after the treatments.

Results: The elevated zero maze open quadrant time decreased significantly in H3 antagonists-treated groups when compared to the saline group ($p<0.005$). The H3 antagonists-treated groups spent less time in the central area of open field when compared to the saline group ($p<0.0005$). The number of rearing for H3 antagonists-treated groups was increased significantly when compared to saline group ($p<0.05$). for locomotor activity The total distance, Average speed, beams crossed all increased significantly in antagonist treated groups.

Discussion: Histamine acts as a neurotransmitter in the central nervous system, some of the histamine functions are mediated through H3 receptors. These data suggest that the single treatment of H3 antagonists may increase locomotor activity and have anxiogenic-like effects similar to those of caffeine and amphetamine which can also stimulate the wakefulness.

教育講演

ヒスタミン研究の最近の進歩：中枢ヒスタミン神経系を中心に

谷内 一彦（東北大学大学院医学系研究科 機能薬理学分野）

ランチョンセミナー

鼻アレルギー診療における抗ヒスタミン薬の意義と注意点

松原 篤（弘前大学耳鼻咽喉科）

招請講演

Translational approaches towards the identification of a histamine H₃ receptor antagonist and its' clinical evaluation for the symptomatic treatment of allergic rhinitis

Nicholas Carruthers

(Johnson & Johnson Pharmaceutical Research & Development L.L.C.)

ヒスタミン研究の最近の進歩：中枢ヒスタミン神経系を中心に

谷内 一彦 東北大学大学院医学系研究科機能薬理学分野

ヒスタミンは、肥満細胞、胃の ECL 細胞、マクロファージ、ミクログリアなどに存在して、平滑筋収縮、血管透過性、胃酸分泌、好酸球機能など多くの末梢性生理機能に関係している。またヒスタミンは中枢神経において覚醒アミンとして特に重要な役割を果たしている。ヒスタミン神経系は、視床下部後部の結節乳頭核に histidine decarboxylase (HDC) を発現する細胞体を持ち、そこからバリコシティーを有する神経線維を、脳のほぼ全ての領域に投射している。最近、カルノシン (β-アラニルヒスチジン)、カルシニン (β-アラニルヒスタミン)、ヒスタミン、ヒスチジンの関係が注目されており、ヒスタミン神経は HDC によるヒスタミン合成以外に、カルノシン (β-アラニルヒスチジン) を分解するカルノシナーゼを含有し、効率よくカルノシンからヒスタミンを合成できる。

我々はヒスタミン神経系に促進的な機能として覚醒、自発運動量促進、学習記憶の増強、抑制的機能として食餌摂取量の抑制、痙攣抑制、ストレスによる興奮抑制があることを提唱している。ヒスタミン神経系に関する研究は日本人が多く、先駆的業績を上げているが、その重要性は十分には理解されていない。我々は現在、主に以下の研究を中心に行っている（発表論文参照）。1）ヒトにおけるヒスタミン神経系 PET 研究。2）マウス・ラットを用いたヒスタミン神経系研究。3）腓島におけるヒスタミン受容体の発現と機能研究。4）ヒスタミン再取り込み機構に関する研究。本講演では我々の研究を含めてヒスタミン研究の最近の進歩を概説する。

1. Yanai K, et al. Positron emission tomography evaluation of sedative properties of antihistamines. *Exp Opin Drug Saf* 2011;10(4): 613-622
2. Xu A, et al. Roles of hypothalamic subgroup histamine and orexin neurons on behavioral responses to sleep deprivation induced by the treadmill method in adolescent rats. *J Pharmacol Sci* 2010; 114(4): 444-453
3. Zhang D, et al. Next-day residual sedative effect after nighttime administration of an OTC antihistamine sleepaid, diphenhydramine, measured by positron emission tomography. *J Clin Psychopharmacol* 2010; 30(6): 694-701
4. Okuda T, et al. Methamphetamine- and 3,4-methylenedioxymethamphetamine-induced behavioral changes in histamine H3-receptor knockout mice. *J Pharmacol Sci* 2009;111(2):167-174
5. Nishino S, et al. Decreased CSF histamine in narcolepsy with and without low CSF hypocretin-1 in comparison to healthy controls. *Sleep* 2009; 32(2): 175-180
6. Yoshizawa M, et al. Increased brain histamine H1 receptor binding in patients with anorexia nervosa. *Biol Psychiatry* 2009; 65(4): 329-335

鼻アレルギー診療における抗ヒスタミン薬の意義と注意点

松原 篤

弘前大学耳鼻咽喉科

アレルギー性鼻炎はくしゃみ、鼻漏、鼻づまりを主訴とし、生活の質（QOL）を大きく障害する疾患である。アレルギー性鼻炎の治療には、抗ヒスタミン薬、抗ロイコトリエン薬、鼻噴霧用ステロイド薬などが使用されており、その中でも抗ヒスタミン薬は以前からもっとも広く使用されている薬剤である。

抗ヒスタミン薬は、第1世代のものと第2世代のものに分けられる。古典的な第1世代抗ヒスタミン薬は、アレルギー性疾患の治療に大きな役割を果たしたが、一方で眠気や口渇などの副作用が強いことが問題であった。これに対して第2世代抗ヒスタミン薬は、これらの副作用を軽減させるべく開発された薬剤で、1983年に販売開始となったケトチフェンフマル酸塩をはじめとして、数多くの薬剤が販売されている。このうち初期に開発された薬剤は副作用の軽減はいまだに充分とはいえないものもあり、より副作用の少ない薬剤として1994年に販売されたエピナスチン塩酸塩以下、エバスチン、セチリジン塩酸塩、ベボタスチンベシル酸塩、フェキソフェナジン塩酸塩、オロパタジン塩酸塩、ロラタジン、レボセチリジン塩酸塩の第2世代抗ヒスタミン薬の後期のものが現在のアレルギー性鼻炎治療の主力となっている。

アレルギー性鼻炎の治療における第2世代抗ヒスタミン薬の役割は非常に大きい。鼻アレルギー診療ガイドライン2009年版では、通年性アレルギー性鼻炎の軽症および中等症以上のくしゃみ・鼻漏型に第2世代抗ヒスタミン薬の使用が勧められている。また、花粉症においては病型や重症度を問わず第2世代抗ヒスタミン薬の使用が推奨されている。我々が2001年に東北6県で行ったアンケート調査でも、アレルギー性鼻炎患者の治療薬として第2世代抗ヒスタミン薬が最も多く使用されており、鼻噴霧用ステロイド薬を大きく上まっていた。なかでもフェキソフェナジン塩酸塩、エピナスチン塩酸塩などの中枢抑制作用の極めて少ないものの使用が多かった。治療効果ではくしゃみ、鼻漏、鼻づまりの有意な改善が認められ、それに伴いQOLの改善も認められた。

QOLの調査法としては、奥田らにより作成された日本アレルギー性鼻炎標準QOL調査票（JRQLQ）がある。これを用いて通年性アレルギー性鼻炎を対象に第2世代抗ヒスタミン薬の治療効果を検討したところ、鼻症状の改善とともに日常生活や睡眠、身体および精神生活などの項目で有意な改善が認められた。このように、アレルギー性鼻炎治療における第2世代抗ヒスタミン薬の意義は、患者の症状の軽快とQOL向上にあるといっても過言ではない。十分な治療効果を上げるには、患者が薬をきちんと飲まなければならないのは当然である。第2世代抗ヒスタミン薬はいずれも1日1～2回に設定されているが、では、1日1回の薬剤の方が、2回のものよりコンプライアンスは良いのだろうか？我々が、通年性アレルギー性鼻炎を対象として調査を行ったところ、投与回数が1日1回と2回の間での服薬コンプライアンスには有意な差は認められなかった。しかし、若年者では服薬コンプライアンスが下がる傾向があり、また、女性は朝に飲み忘れが多く男性は夜に飲み忘れが多い。服薬コンプライアンスを上げるために、このような傾向にも注意を払い患者に併せた薬剤の選択と適切な服薬指導を行う必要があることに留意すべきである。

アレルギー性鼻炎の患者が経口処方薬に求める条件は、第一に症状が良くなることと第二に重い副作用がないことであり、服薬回数が少ないことや薬価が安い事はそれほど重要な事ではない。このような患者のニーズを把握して適切な薬剤の選択を行うことが患者の満足する治療につながると考えている。

Translational approaches towards the identification of a histamine H₃ receptor antagonist and its' clinical evaluation for the symptomatic treatment of allergic rhinitis

Nicholas I. Carruthers

Johnson & Johnson Pharmaceutical Research & Development L.L.C

Histamine H₃ receptors are inhibitory auto/hetero-receptors expressed both in the CNS and the periphery and play a role in the regulation and release of several neurotransmitters. Receptor activation by histamine results in the inhibition of neurotransmitter release. Allergic rhinitis is associated with the release of histamine from several cell types, most notably mast cells and, although many of the symptoms of allergic rhinitis can be treated by histamine H₁ antagonists, nasal congestion persists. In the nasal mucosa activation of H₃ receptors by histamine results in a reduction of norepinephrine outflow which contributes to nasal congestion. This rationale has prompted the preclinical evaluation of histamine H₃ antagonists to reverse the effects of nasal blockage elicited by histamine release.

The characterization of JNJ-39220675, a potent and selective histamine H₃ antagonist, in several preclinical models was described. Initially the correlations between plasma concentration, brain concentration, receptor occupancy and neurotransmitter release were established using the techniques of ex-vivo autoradiography, in vivo microdialysis and positron emission tomography. These studies provided the ability to establish the required receptor occupancy for efficacy in models of wakefulness, cognition and attention and the overall ability to correlate plasma concentration with efficacy in a range of preclinical models.

Finally data for the ability of JNJ-39220675 to prevent or reduce nasal congestion resulting from ragweed exposure in an Environmental Exposure Chamber was presented. The compound demonstrated favorable effects both on an objective measurement of nasal congestion as measured via acoustic rhinometry and on subjective measurements of congestion. JNJ-39220675 was safe and well tolerated.

Johnson & Johnson Pharmaceutical Research & Development L.L.C., 3210 Merryfield Row, San Diego, CA 92121, U.S.A. Email- ncarruth@its.jnj.com

ミニシンポジウム

[炎症・アレルギーを巡る最近のトピックス]

M-1 金属アレルギーの新たなアプローチ：金属溶出の制御

平澤 典保（東北大学大学院薬学研究科）

M-2 アレルギー性接触皮膚炎におけるヒスタミンの作用

清家 正博（相模女子大学短期大学部食物栄養学科）

M-3 OCT3（ヒスタミントランスポーター）ノックアウト マウスを用いての拘束ストレス応答のプロテオーム解析

小笠原 正人（愛媛大・医・統合生体情報学講座薬理学分野）

M-4 マスト細胞の成熟過程におけるヒスタミンの機能

田中 智之（岡山大学大学院医歯薬学総合研究科）

M-5 マスト細胞研究のツールとしての胎仔肝臓由来細胞の有用性

福石 信之（徳島文理大学薬学部薬理学教室）

金属アレルギーの新たなアプローチ：金属溶出の制御

平澤 典保 東北大学大学院薬学研究科

【目的】 近年、金属製の装飾品を身につけることが日常的に行なわれ、また高齢者人口の増加に伴い、金属製の人工臓器を体内に設置する患者も増えていることと関連して、金属アレルギー患者が増加している。金属に対する感作、および金属アレルギーの誘発には、まず体外あるいは体内で金属が溶出されることが必要であるが、生体内での金属溶出機序はほとんど解析されていない。また、人工臓器埋入時には細菌感染による手術部の化膿・炎症が生じる場合があり、医用金属材料からの Ni イオンの溶出を評価し、炎症時での変化を明らかにすることは極めて重要である。本研究は、生体内での金属溶出機構を解明するとともに、その抑制方法を提案することを目的とし、生体レベル並びに細胞レベルでの金属溶出評価系を確立し、金属溶出機序について解析した。

【方法】 各種の金属線 (Ni; ϕ 0.8 mm \times 5 mm、SUS616L; ϕ 1.0 mm \times 5 mm) を C57BL/6 マウスの背部皮下に埋入し、その直後に lipopolysaccharide (LPS)(1 μ g) を Ni 線の近傍に皮下注射して炎症反応を誘発した。一定期間後、周囲組織中の Ni 濃度を Newport Green DCF を用いた蛍光光度法により、あるいは ICP-MS により測定した。また、マウスマクロファージ様細胞株 RAW264 細胞を Ni plate (5 mm \times 5 mm) 上に播種し (1 \times 10⁵ cells/ml、0.2 ml)、各種薬物存在下あるいは非存在下で LPS (1 μ g/ml) で刺激した時の培養上清中の Ni 濃度を測定した。

【結果・考察】 マウス背部皮下に Ni 線を埋入すると組織中の Ni 濃度は増大し、本モデルにより Ni 溶出を定量的に解析することが可能であった。また Ni 溶出により血管透過性が亢進するが、これにはヒスタミンとプロスタグランジンの関与が示唆された。LPS (1 μ g) を注射して Ni 線の周囲で炎症反応を誘発すると、Ni 線からの Ni 溶出量は有意に増大した。この炎症反応による Ni 溶出の促進は stainless SUS316L でも認められた。このように生体内での金属線からの Ni の溶出は周囲の炎症反応により促進することが明らかになった。

次に、LPS による Ni 溶出の促進が in vitro でも認められるか、マクロファージ様細胞株である RAW264 細胞を用いて検討した。RAW264 細胞を Ni plate 上に播種すると Ni 溶出は促進され、この溶出作用は LPS 刺激によりさらに促進された。この LPS による Ni 溶出の促進作用は Ni plate と RAW264 細胞が接着した条件下でのみ認められたことから、RAW264 細胞と Ni plate との接着面で Ni 溶出が生じ、LPS 刺激によりこの微小環境での酸性化が増加している可能性が示唆された。そこで RAW264 細胞による Ni 溶出のメカニズムを明らかにするため、リソソーム阻害薬 chloroquine、Na⁺/H⁺ exchanger (NHE) 阻害薬 amiloride、vacuolar-type (H⁺)-ATPase (V-ATPase) 阻害薬 bafilomycin A₁ の各薬物を添加し、LPS 非存在下及び LPS 存在下における Ni 溶出に対する効果を解析した。その結果、LPS 非存在下では chloroquine および bafilomycin A₁ により Ni 溶出は抑制される傾向を示した。また、LPS 存在下ではいずれの薬物も Ni 溶出促進を有意に抑制した。以上の結果から、マクロファージは金属表面ではこれを異物と認識してプロトンを含むリソソームのエキソサイトーシスにより、また LPS で活性化するとリソソームの放出に加え細胞膜の V-ATPase や NHE が活性化され、細胞外への H⁺放出をさらに増大させて Ni 溶出を促進することが示唆された。

以上の結果から、炎症細胞の活性化により金属溶出が促進することが明らかになり、薬物によりこれを制御できれば、金属アレルギーを治療することが可能になると考えられる。

アレルギー性接触皮膚炎におけるヒスタミンの作用

清家 正博 相模女子大学短期大学部食物栄養学科

日常的によくみられるアトピー性皮膚炎や蕁麻疹などの皮膚アレルギー疾患にはヒスタミン H₁ 受容体拮抗剤が治療薬としてさかんに使用されているが、皮膚アレルギー疾患に対するヒスタミンの作用については十分には解明されていない。マウスの皮膚に 2,4,6-trinitro-chlorobenzene などのハプテンを塗布し感作を成立させた後に、同じハプテンで惹起するとマウスは contact hypersensitivity や delayed-type hypersensitivity を起こす。そのマウスの皮膚にハプテンをさらに繰り返し塗布すると、皮膚病変部は Th1 サイトカインから Th2 サイトカイン優位へと徐々に変化し、マウスは表皮の肥厚と真皮への稠密な炎症細胞浸潤を特徴とする慢性湿疹病変を呈する。血中の IgE 量も上昇し、慢性アレルギー性接触皮膚炎を発症する。慢性アレルギー性接触皮膚炎はアトピー性皮膚炎に類似した病態と考えられ、本発表ではヒスタミンの慢性アレルギー性接触皮膚炎への関与について検討する。

ヒスタミン欠如マウスにハプテンを反復塗布した研究から、マウスの慢性アレルギー性接触皮膚炎においてヒスタミンは皮膚への肥満細胞や CD4 (+) 細胞の浸潤と表皮肥厚を促し、湿疹病変を増悪させることが明らかになった。ヒスタミンは搔破行動にも関与しており、搔破行動の激化と皮膚知覚神経の伝導路である脊髄後角における c-Fos (+) 細胞数や substance P 量の増加が認められた。

H₁ 受容体拮抗剤の投与により、慢性アレルギー性接触皮膚炎では皮膚病変部の肥満細胞数、IL-4 や IFN- γ 量が減少し、湿疹病変が改善した。脊髄後角における c-Fos (+) 細胞数や substance P 量が減少し、搔破行動の軽減も認められた。

H₄ 受容体拮抗剤を投与すると、慢性アレルギー性接触皮膚炎では Th1 サイトカインである IFN- γ や IL-12 量が増加する傾向にあるものの、肥満細胞と好酸球の浸潤と IL-4 や IL-5 からなる優位である Th2 サイトカイン量が減少し、病変部が改善するとともに血中の IgE 量も減少した。ヒスタミン欠如マウスに H₄ 受容体作動剤を投与すると、逆に Th1 サイトカイン量は減少するものの、肥満細胞と好酸球の浸潤と Th2 サイトカイン量が増加し、病変部が増悪するとともに血中の IgE 量も増加した。

ヒスタミンは H₁ と H₄ 受容体を介して慢性アレルギー性接触皮膚炎を増悪させることが明らかになり、アトピー性皮膚炎などの皮膚アレルギー疾患への H₁ 受容体拮抗剤投与の有効性が確認されたとともに新たに H₄ 受容体拮抗剤投与が有望である可能性が示唆される。

OCT3（ヒスタミントランスポーター）ノックアウトマウスを用いての 拘束ストレス応答のプロテオーム解析

○ 小笠原 正人¹⁾、尾谷 三枝子²⁾、佐野 圭二²⁾、笠原 恵美子³⁾、
前山 一隆¹⁾、山内 広平⁴⁾

- 1) 愛媛大・医・統合生体情報学講座薬理学分野
- 2) 神戸学院大・薬・生命薬学部門
- 3) 大阪市立大・医・生化学分子病態学
- 4) 岩手医科大・医・呼吸器・アレルギー・膠原病内科

〔背景〕ヒスタミンは気管支喘息、花粉症などのアレルギー反応を引き起こす重要なメディエーターであると同時に T 細胞免疫系の調節因子でもある。気管支喘息の原因として精神的ストレスもその誘因となり、拘束ストレス負荷における免疫反応を修飾している。第 14 回ヒスタミン学会においてわれわれは、ヒスタミントランスポーターの機能をもつ有機カチオントランスポーター3 (Orct3) の欠損マウスを用い、脳血管障害のマウスモデルを作成し解析した。ヒスタミンが障害部位の大きさに関係し、保護作用があることを示した。この保護作用の分子基盤としては制御性 T 細胞の関わりを明らかにした。そこでこのマウスの特徴としてストレス全般に対する反応が異なると考え、最初の取り組みとして拘束ストレスにおけるストレス応答の原因分子を網羅的に解析することは重要であると考えプロテオーム解析を行った。

〔方法〕Orct3 遺伝子欠損 (KO) マウスおよび WT マウスを用い、4 時間の拘束ストレス負荷の前後における脾臓、及び肺の組織を抽出し、2 次元電気泳動 (pH4-7) で分離後、ゲルイメージを prody same spot で比較し、プロテオーム解析を行った。

〔結果〕ストレス負荷後、KO マウスでは脾臓の大きさが有意に小さくなることを見出した。そこで脾臓、及び肺の組織を摘出し、二次元電気泳動にて、WT マウス、および KO マウスの蛋白質発現の変動を検討した。56 個の蛋白質に注目し、時間飛行型質量分析装置 (ABI) で 44 個の蛋白質の同定ができた。ストレス負荷がなくても脾臓において WT マウス、KO マウスで発現が異なるものが 5 個同定され、T 細胞レセプターのシグナルに関与することが示唆されている Coronin 1A, Prohibitin が含まれていた。また肺では細胞分裂に関与する myosin-14 の発現が KO マウスでは低下していた。ストレス負荷にて WT マウス、KO マウスとも共通に発現の変化が認められる蛋白質 8 個、変化が異なるものが 4 個認められた。

〔結語〕このマウスを用いて、脳虚血モデル、LPS 負荷 ARDS モデルでの以前の検討では KO マウスでは脳虚血モデルでは梗塞部位が小さくなる一方、ARDS モデルでは有意な死亡率を示し、ヒスタミンの病態に対しての多様な役割が示唆されている。このプロテオーム解析により、さまざまな病態に対するヒスタミンによるストレス応答の調節に対する分子基盤の網羅的な解析を示すことができた。今後プロテオーム解析を用いて、さまざまなストレス誘因の疾患モデルに対するアプローチを行っていく予定である。

マスト細胞の成熟過程におけるヒスタミンの機能

田中 智之 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科

【目的】ヒスタミンは多彩な生理現象に関与することが知られるが、生体内ではヒスチジン脱炭酸酵素 (HDC) によりその産生が制御されている。HDC 欠損マウスでは即時型アレルギー応答が消失することから、即時型アレルギー応答におけるヒスタミンの重要性が確認されたが、一方で組織のマスト細胞の顆粒における著しい内容物の減少が見いだされ、マスト細胞の顆粒成熟の過程においてヒスタミンが何らかの促進的な役割を果たす可能性が示唆された¹⁻³。そこで本研究では、マスト細胞の成熟過程における HDC あるいはヒスタミンの機能を明らかにすることを目的として、以下の検討を行った。

【方法・結果】HDC 欠損マウス由来腹腔マスト細胞では、顆粒染色性や顆粒内プロテアーゼ活性の顕著な低下が認められた。一方で、IL-3 存在下長期間骨髓細胞を培養することにより得られる未成熟マスト細胞モデル(BMMC)では、HDC 欠損の影響は認められなかった。BMMC を線維芽細胞株と stem cell factor (SCF)存在下共培養することによりマスト細胞の成熟を模倣するモデル⁴を用いたところ、成熟過程でヒスタミン合成の誘導が認められた。共培養により野生型では顆粒の成熟が進行するのに対して、HDC 欠損型マスト細胞では殆ど変化が認められなかった。共培養系にヒスタミン、あるいはヒスタミン H₄ 受容体アゴニストを添加することにより、HDC 欠損型マスト細胞の顆粒成熟の異常は部分的に回復した。しかしながら、H₄ 受容体欠損マウスの腹腔マスト細胞の顆粒形成の異常は軽微なものであった。一方、マスト細胞欠損マウスの腹腔に BMMC を移植する再構成モデルでは、移植後 5 週間で野生型 BMMC が腹腔マスト細胞に近い性質を獲得するのに対して、HDC 欠損型 BMMC は移植後もその顆粒は未成熟なままであった。

【考察】本研究により、マスト細胞の成熟過程ではヒスタミン合成の誘導が起こり、そのオートクライン作用により顆粒成熟が促進されることが示唆された。SCF や IL-3、一部の IgE クローン、酪酸といったマスト細胞の分化、成熟を促進する刺激は、いずれもヒスタミン合成を一過性に誘導することが知られている。局所のヒスタミン合成を阻害することにより、長期的にマスト細胞の機能（特に顆粒内容物を介する作用）を減弱させることができるかもしれない。顆粒成熟におけるヒスタミンの作用機序についてはまだ不明であり、さらなる検討が必要である。

- 1 Ohtsu, H. et al. Mice lacking histidine decarboxylase exhibit abnormal mast cells. *FEBS Lett.* 502, 53-56, 2001.
- 2 Ohtsu, H. et al. Plasma extravasation induced by dietary supplemented histamine in histamine-free mice. *Eur. J. Immunol.* 32, 1698-1708, 2002.
- 3 Makabe-Kobayashi, Y. et al. The control effect of histamine on body temperature and respiratory function in IgE-dependent systemic anaphylaxis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 110, 298-303, 2002.
- 4 Takano, H. et al. Establishment of the culture model system that reflects the process of terminal differentiation of connective tissue-type mast cells. *FEBS Lett.* 582, 1444-1450, 2008.

マスト細胞研究のツールとしての胎仔肝臓由来細胞の有用性

○福石 信之、赤木 正明

徳島文理大学薬学部薬理学教室

【目的】

生体内や細胞における各種蛋白質の機能は、コンベンショナルノックアウト法やコンディショナルノックアウト法によりノックアウト (KO) 動物の作成を行い、詳細に解析する事により明らかに出来る場合が多い。一方、これら KO 法により作成されたホモ接合体が胎生致死を示す場合は、ターゲットタンパク質の機能や挙動を明らかにすることが困難となる。我々は胎仔肝よりマスト細胞 (FLMC) を作成し、骨髄由来マスト細胞 (BMMC) との比較検討を行うことで、胎生致死を示す KO 個体から標的遺伝子を欠損させたマスト細胞を得るための基礎的な検討を行った。

【方法】

C57BL/6 の胎仔より肝臓を摘出し、胎仔肝細胞懸濁液を作成した。基本培養液として 10% FBS、1% non-essential amino acid、1% penicillin-streptomycin 添加 RPMI1640 (以下、RPMI) を作成した。10% pokeweed mitogen-conditioned splenocytes-cultured supernatant 添加 RPMI にて 10 日間培養した後、同培養液、もしくは 5 ng/mL interleukin-3 (IL-3) および 50 ng/mL stem cell factor (SCF) 添加 RPMI にてさらに 10 日間培養した。その後、50 ng/mL SCF 添加もしくは非添加の 5 ng/mL IL-3 添加 RPMI でさらに 14 日間以上培養した。細胞生存率の測定、および細胞表面の c-Kit、Fc ϵ RI 発現の測定を行うと共に、培養後期の細胞を IgE 感作し、抗原刺激による脱顆粒を β -hexosaminidase 遊離率およびヒスタミン遊離率として算出した。さらに、細胞のヒスタミン含量を、HPLC を用いた蛍光法により測定すると共に、RT-PCR 法および western blot 法により mast cell protease (MMCPs) の発現を確認した。

【結果】

BMMC の生存率は培養 10 週目まで 95%以上を示すことが知られているが、FLMC の生存率は培養 6 週目以降は 95%を維持できなかった。BMMC では、培養 2 週目でおおよそ、70%、3 週目以降はおおよそ 90%の細胞が Fc ϵ RI⁺ c-Kit⁺ (double positive) を示した。FLMC では、培養 2 週目に c-Kit⁺細胞が 95%以上を占めるようになった。その後、Fc ϵ RI⁺細胞が徐々に増加し始め、培養 7 週目に double positive を示す細胞が 90%以上になった。

BMMC および FLMC の細胞中の histamine 含量は、BMMC も FLMC もおおよそ 0.8 pg/cell であり、報告されている結合識型マスト細胞とほぼ同程度の値であった。また、IgE 感作・抗原暴露による脱顆粒率についても BMMC と FLMC は同程度であった。MMCP の mRNA 発現パターンには相違は認められなかったものの、タンパク質の発現には若干の相違が認められた。

【考察】

FLMC は生存維持の培養日数および Fc ϵ RI および c-Kit の表面発現の時間的経過が BMMC と異なっていた。しかし、IgE 依存性脱顆粒などの機能にほとんど相違はなく、FLMC はマスト細胞のモデル細胞として使用する事が可能であると思われた。このことより、胎生致死を示す KO 胎児から FLMC を調製する事で、マスト細胞における各種タンパク質の機能を解析することが可能であると思われた。

特別講演

疾患感受性遺伝子の発現抑制による アレルギー疾患治療戦略

福井 裕行

(徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部分子情報薬理学分野)

疾患感受性遺伝子の発現抑制によるアレルギー疾患治療戦略

福井 裕行 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部分子情報薬理学分野

ヒスタミン H₁ 受容体は即時型アレルギー反応を仲介し、アレルギー疾患の主要症状に関与する。そして、抗ヒスタミン薬（ヒスタミン H₁ 受容体拮抗薬）はアレルギー疾患の主要治療薬である。

ヒスタミン H₁ 受容体の機能はヒスタミンシグナルを細胞内に伝達することである。しかし、ヒスタミン H₁ 受容体には発現量を増減させる機能があり、その増減がシグナルの増減を引き起こす。受容体発現量を減少させる機構は多くの受容体に普遍的に備わった機構であるが、ヒスタミン H₁ 受容体は、他の受容体とは異なり、受容体刺激により遺伝子発現の亢進を介して受容体をアップレギュレーションさせる機能を持つ。

アレルギー疾患は難治性多因子疾患であり、疾患感受性遺伝子の亢進の抑制により症状を改善させる治療戦略が強く期待されている。そして、種々の疾患感受性遺伝子が報告されている。

ヒスタミン H₁ 受容体遺伝子に発現亢進機構が備わっていることから、アレルギー疾患感受性遺伝子の候補であると考えられた。トルエン 2,4-ジイソシアン酸の感作による疾患モデルラットを用いる研究、および花粉症における臨床研究により、鼻炎症状とヒスタミン H₁ 受容体遺伝子発現亢進が送還することを明らかにし、ヒスタミン H₁ 受容体遺伝子がアレルギー疾患感受性遺伝子であることが強く示唆された。

「アレルギー疾患診断・治療ガイドライン」の「重症度に応じた花粉症に対する治療法の選択」において、花粉飛散の前から抗ヒスタミン薬の投与を開始する、初期療法が推奨されている。この治療法の薬理学的根拠は不明であった。疾患モデルラットによる研究、および花粉症における臨床研究により、抗ヒスタミン薬の初期療法は症状改善とそれに相関したヒスタミン H₁ 受容体発現の抑制が見いだされた。そして、抗ヒスタミン薬のアレルギー疾患の治療における薬理機構は受容体遮断によるヒスタミン H₁ 受容体遺伝子発現抑制であることが強く示唆された。

ヒスタミン H₁ 受容体遺伝子発現を抑制させる薬物は新規アレルギー疾患治療薬としての可能性が考えられる。抗アレルギー作用の伝承をもつ天然物医薬の中で、小青竜湯、乳酸菌、緑茶、つくし、桑葉、苦参などにヒスタミン H₁ 受容体遺伝子発現抑制作用が見いだされた。そして、天然物由来化学物質のエピガロカテキンガレート、アピゲニン、マーキアインがヒスタミン H₁ 受容体遺伝子発現抑制物質として同定された。

ヒスタミン H₁ 受容体刺激によるヒスタミン H₁ 受容体遺伝子発現亢進機構を解明したところ、プロテインキナーゼ C- δ (PKC δ)、MEK、ERK、PARP-1 の細胞内シグナルを経て、AP-1、ETS-1、および Ku70・Ku86 複合体による受容体遺伝子プロモーター活性の調節機構が明らかとなった。そして、マーキアインの薬理機構は PKC δ の活性抑制であることが明らかとなった。

アレルギー疾患モデルラットによる研究、および花粉症の臨床研究において、ヒスタミン H₁ 受容体遺伝子発現亢進が IL-4、IL-5、およびヒスチジン脱炭酸酵素の遺伝子発現亢進と相関するすることを見出した。この結果により、ヒスタミン H₁ 受容体遺伝子を含むいくつかの遺伝子がアレルギー疾患感受性遺伝子群を形成することが考えられる。そして、抗ヒスタミン薬はこの遺伝子群の発現を抑制することにより薬効を発現している可能性が考えられる。