

氏 名（本籍）	えん とう まさ とし 遠 藤 雅 俊
学位の種類	博 士（医 学）
学位記番号	医 博 第 1 5 1 9 号
学位授与年月日	平 成 1 1 年 3 月 2 5 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科 （博士課程）内科学系専攻
学位論文題目	ストレス反応における中枢ヒスタミン神経系の役割に関する研究

（主 査）

論文審査委員	教授 本 郷 道 夫	教授 佐 藤 光 源
	教授 糸 山 泰 人	

論文内容要旨

研究1では、慢性ストレスとしての activity stress 負荷時のラットのヒスタミン神経系の変化を調べた。activity stress は、ラットに1日1～2時間の摂食時間のみを許す摂食制限と残り23～24時間の activity wheel 回転従事により、摂食量の減少と回転運動量の異常増大を来とし、ついには死に至るストレスモデルである。摂食制限と多動というヒトにおける神経性食思不振症の身体的表現との類似点などより、activity stress がその動物モデルとなる可能性が考えられている。この activity stress を負荷し、多動と摂食抑制が起こったときの中枢ヒスタミン神経系の変化を見た。あわせて、短期 activity stress および急性ストレスとしての強制水泳ストレス負荷時の中枢ヒスタミン神経系の変化を調べ、ストレス負荷時の中枢ヒスタミン神経系の経時的な変化を推測した。これらの結果より、神経性食思不振症の発症機序と治療法の糸口を探ろうと試みた。

activity stress 負荷は、過回転運動が起こり始める前の4日目の短期 activity stress 群と、過回転運動が起こることの多い5日間以上の長期 activity stress 群とに分けた。測定項目として、ラット脳ヒスタミン含量、GABA 含量、H₁受容体、H₃受容体、および、HDC 活性である。

この結果、長期 activity stress では脳内ヒスタミン含量の増大、H₁受容体の減少などより、ヒスタミン神経系の抑制性の変化が示された。一方、短期 activity stress では、一部の脳部位のみでH₃受容体の減少を認めたものの強制水泳時のような全脳部位での明らかなH₃受容体の減少は認めなかったため完全な急性ストレスとは考えられず、また、H₁受容体、ヒスタミン含量にも変化を認めなかったため慢性ストレスとも考えられない。つまり、短期 activity stress は急性ストレスから慢性ストレスへの移行期と考えられた。このため、急性ストレスとしては別に強制水泳を行った。強制水泳ストレス負荷時には、その短期負荷で脳内ヒスタミン放出の亢進とH₃受容体の減少を認めたが、H₁受容体レベルとヒスタミン含量には変化を認めず、ヒスタミン神経系の亢進が示された。これらの所見より、急性ストレスでは、H₃受容体の減少を伴うヒスタミン神経系の亢進が起こり、これが慢性ストレスではH₃受容体レベルが前値近くに回復し、かつ、H₁受容体の減少によって結果的にヒスタミン神経系の伝達は抑制されることになる。つまり、activity stress による過回転運動時にはヒスタミン神経系の抑制性の変化が起こっていることが示された。

研究2では中枢ヒスタミン神経系を能動的かつ特異的に操作したときのストレス反応への影響を見る方法を導入するために、ヒスタミンH₁受容体アンチセンスオリゴヌクレオチド投与を行い、H₁受容体遺伝子発現の抑制を試み、それによる行動変化を観察し、その可能性を探求した。

アンチセンス ODN は脳室内に 5 日間持続投与し, locomotor activity, 飲水量を持続的に測定した。また, 持続投与後のラット脳を取り出し, H₁受容体結合量を測定, 対照群と比較検討した。この結果, アンチセンス ODN 投与ラットの脳 H₁受容体結合量は対照群と比較して有意に低値を示した。また本来, 暗期に多動多飲を示すラットの日内周期に乱れが見られ, 明期の行動飲水量の増大と暗期のその減少を認めた。これらのことより, ヒスタミン H₁受容体のアンチセンス ODN は H₁受容体を減少させ, ヒスタミン H₁受容体がラットの日内周期に関与していることが示された。

Activity stress 負荷時に認められた日内周期の乱れは, H₁受容体のアンチセンス投与時の変化, および H₁受容体ノックアウトマウスの変化と同じであった。よって, activity stress におけるヒスタミン神経系の変化は H₁受容体の減少であると考えられた。

アンチセンスはその特異性等の有用性が知られており, 今後ストレス研究への応用が期待されるが, 今回行った実験で認められた変化は H₁受容体ノックアウトマウスや古典的薬理学的方法で認められたものに比較して弱いものであり, 今後, ストレス研究に用いるためにはその投与方法についてのさらなる検討が必要と考えられた。

審査結果の要旨

神経性食欲不振症は、摂食制限と多動を特徴とする。一方、ラットに摂食制限と activity stress による強制運動負荷を行うと、摂食量のさらなる減量と運動量の異常増加が認められる。したがって、このようなラットは神経性食欲不振症研究のためのモデルになりうるとの発想から、多動と摂食抑制が起こったときの中枢ヒスタミン神経系の変化を観察した。さらに、中枢神経系におけるヒスタミンの特異的抑制による行動変化の観察から、中枢ヒスタミンの関与についての検討を目的として以下の検討を行った。

対象と方法 ラットを対象動物として、ストレス負荷として activity stress, 強制水泳ストレス負荷を行った。Activity stress は、4 日の短期 activity stress と 5 日間以上の長期 activity stress とに分けた。実験動物の脳ヒスタミン含量, GABA 含量, H₁ 受容体, H₂ 受容体, および, HDC 活性を観察した。

さらに、ヒスタミン H₁ 受容体アンチセンスオリゴヌクレオチド投与を行ない H₁ 受容体遺伝子発現の抑制時の行動変化を locomotor activity, 飲水量を介して観察し、また、脳 H₁ 受容体結合量を測定した。

結果 長期 activity stress では脳内ヒスタミン含量の増大, H₁ 受容体の減少が起こり、ヒスタミン神経系の抑制性の変化が示された。短期 activity stress では、一部の脳部位のみで H₂ 受容体の減少を認め、H₁ 受容体, ヒスタミン含量には変化を認めなかった。強制水泳ストレス負荷時には、脳内ヒスタミン放出の亢進と H₂ 受容体の減少を認めたが、H₁ 受容体レベルとヒスタミン含量には変化を認めなかった。すなわち、強制水泳による急性ストレスではヒスタミン神経系の亢進が起こり、慢性ストレスではヒスタミン神経系は抑制されると考えられた。つまり、activity stress による過回転運動時にはヒスタミン神経系に抑制性の変化が起こっていることが示された。

アンチセンスによる H₁ 受容体遺伝子発現の抑制は、脳 H₁ 受容体結合量を低下させた。行動面では、日内周期に乱れが見られ、明期の行動飲水量の増大と暗期の減少を認めた。すなわち、ヒスタミン H₁ 受容体アンチセンスは H₁ 受容体を減少させることから、ヒスタミン H₁ 受容体がラットの日内周期に関与していることが示された。

考案 以上のことから、神経性食欲不振症の病態においては中枢におけるヒスタミン神経系の抑制が関与している可能性が強く推測された。将来、神経性食欲不振症の治療にあたっては、この方面からのアプローチが有用になることが考えられた。

本研究は、ストレスによる行動変化を中枢ヒスタミンを指標に検討したもので、治療困難な神経性食欲不振症の治療の糸口をさぐるためには重要な研究であり、学位論文に値するものと判断した。