

氏 名	野口 和之			
学 位 の 種 類	博士（医学）			
学 位 記 番 号	博甲第 8255 号			
学位授与年月	平成 29 年 3 月 24 日			
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当			
審 査 研 究 科	人間総合科学研究科			
学 位 論 文 題 目	Study of Protective Effects of Histamine on the Pathophysiology of Heart and Kidney Dysfunctions (低分子アミン ヒスタミンの心腎機能障害に及ぼす保護的 効果についての検討)			
主 査	筑波大学教授	医学博士	玉岡 晃	
副 査	筑波大学教授	博士（医学）	竹越 一博	
副 査	筑波大学准教授	博士（医学）	上杉 憲子	
副 査	筑波大学講師	博士（理学）	塩見 健輔	

論文の内容の要旨

野口和之氏の博士学位論文は、ヒスタミンの心腎機能障害に及ぼす効果を検討し、ヒスタミンが H3 受容体を介して心腎関連の病態に保護的に作用することを明らかにし、ヒスタミンとその受容体が治療標的となる可能性を示したものである。その要旨は以下のとおりである。

近年、心血管病や慢性腎臓病の患者数が増加しており、これらの疾患は合併しやすく、互いの疾患のリスクファクターとなっていることが知られている。これらの疾患をつなぐものとして「心腎関連」という病態が注目を集めているが、その詳細な病態は現在まで明らかとなっていない。これらの背景を踏まえ、著者は、本論文全体の目的を、高血圧誘導性心不全モデルマウスを用いた心腎関連の疾患メカニズムを解明することであると述べている。

具体的な研究の手法として、まず第 1 章では、著者は C57BL/6J 系統、10-12 週齢のオスのマウスを用いて、高血圧心不全モデル（ANS モデル）を作製し、心不全病態の再現に加えて、同モデルの尿蛋白、腎機能、腎障害マーカーなどの解析により、ANS モデルが心腎関連と類似した病態を発現していることを明らかにしている。

続いて第 2 章では、著者は野生型マウスでの ANS モデルを用いて、血中物質、特に様々な病態の発症、進展に深く関与している生理活性物質である、アミンの変化についての半網羅的解析を、質量分析を用いて行っている。解析の結果、ANS モデルの血中において、低分子アミンの一つであるヒスタミンが、対照群と比較して 2 倍程度に上昇していることを突き止め、ヒスタミンが心腎関連病態におけるプレイヤーとなっている可能性を示している。

さらに第 3 章において、著者は生体内でヒスタミン合成酵素であるヒスチジン脱炭酸酵素（HDC）を欠失した HDC-ノックアウト（KO）マウスの ANS モデルを作成し、HDC を正常にもつマウスの ANS モデル

と比較検討を行うことで、ヒスタミンの存在の有無が ANS モデルの病態において保護的に作用するか、傷害的に作用するかを確認している。結果として、HDC-KO マウスでの ANS モデルで心臓・腎臓機能が増悪していることが判明し、ヒスタミンが ANS モデルの病態において保護的な作用を持つことを示している。

引き続き第4章では、著者は野生型マウスの ANS モデルにヒスタミンの各受容体サブタイプに特異的な H1 受容体阻害薬 Cetirizine・H2 受容体阻害薬 Ranitidine・H3 受容体阻害薬阻害薬 Carcinine を同時投与し、溶媒である生理食塩水投与群と病態を比較することで、各受容体が ANS モデルの心臓・腎臓障害に与える変化を検討している。この結果より、特に H3 受容体特異的阻害薬投与で著しい心・腎機能の低下を認めたことから、ANS モデルの病態において、ヒスタミンが果たす保護的作用の責任受容体が、H3 受容体であることを薬理学的実験で明らかとしている。

加えて第5章では、著者は H3 受容体特異的アゴニスト Immethridine を ANS モデルに同時投与することで、同アゴニストが溶媒である生理食塩水投与群の ANS モデルに比べ、心機能・腎機能の障害を抑制する効果を持つことを示し、心腎連関病態における H3 受容体の重要性をさらに強固なものとしている。

第6章においては、著者はこの H3 受容体の心腎連関病態に対する保護的な作用メカニズムを分子レベルで解明するために、培養細胞を用いて、細胞内遺伝子発現・タンパク合成・シグナル伝達の解析を行っている。マウス AT1 受容体を安定発現した HEK293T 細胞において、マウス H3 受容体を過剰発現させ、アンジオテンシン II と H3 受容体アゴニストを添加すると、AT1 受容体 MAPK シグナル経路下流の ERK のリン酸化が著明に亢進することを明らかにしている。このシグナル変化が病態にもたらす影響については、現状まだ議論・解釈の余地があるとのことであるが、異なる受容体が共発現することで機能を調節しているという着眼点は非常に興味深い。

さらに本研究の第7章では、著者は BiFC アッセイという蛍光イメージング手法を用いることで、AT1 受容体と H3 受容体が培養細胞上でヘテロ二量体を形成することを証明している。AT1 受容体に代表される G 蛋白共役型受容体 GPCR は、近年ホモ・ヘテロ二量体を形成・解除することで生体内で機能を調節している可能性が数例報告されているが、本研究において AT1 受容体とヒスタミン受容体という組み合わせのヘテロ二量体が新たに証明されたことは極めて興味深い所見である。

審査の結果の要旨

(批評)

著者は本研究により「心腎連関」病態の新規モデルマウスの創出し、それを用いて心・腎機能障害病態での血中ヒスタミンの増加、心腎病態の新たな治療ターゲットとしてのヒスタミン H3 受容体の可能性、新規 GPCR ヘテロ二量体形成など、新規の知見を明らかにしている。臓器組織切片による病理組織学的な解析、生体内での AT1 受容体と H3 受容体の存在様式、ANS モデルにおける経時的な血中ヒスタミンの定量や臓器内ヒスタミンの測定など、今後の課題も指摘されたが、本論文は心腎連関病態のメカニズム解明に貢献しており、優れた博士論文として評価された。

平成 29 年 1 月 11 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。