

氏名（本籍）	永島 裕介（栃木県）
学位の種類	博 士（農学）
学位記番号	博 甲 第 6940 号
学位授与年月日	平成26年 3月25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	生命環境科学研究科

学位論文題目 **Studies on Histamine Synthesis in Mouse Maternal Blood and Cultured Cells**
(マウス母体血中および培養細胞におけるヒスタミン合成に関する研究)

主査	筑波大学教授	農学博士	深水 昭吉
副査	筑波大学講師	博士（学術）	加香 孝一郎
副査	筑波大学講師	博士（農学）	石田 純治
副査	筑波大学准教授	博士（獣医学）	杉山 文博

論 文 の 要 旨

生体内には、核酸やタンパク質等の生体高分子の他に、アミノ酸やビタミンなど、高分子と協調して働く様々な低分子が存在する。低分子の中でもアミノ基を有するアミンは、他の官能基を有する物質と比較して、高い反応性と強力な生理活性を持つため、多くの生体制御に関与することが報告されている。近年のメタボロミクス技術の発展に伴い、これらの生理活性が体温、血圧、体液量の恒常性維持や、ウイルス等の異物の排除、損傷の修復など、全身レベルでの機能制御において中心的な役割を果たすことが明らかとなってきた。

哺乳類の妊娠期は、前述の生理活性アミンの変動が顕著であり、その量的バランスが妊娠期間の母体環境維持とそれに続く正常な分娩に貢献している。従ってこのバランスが破綻し、特定のアミンが蓄積あるいは欠乏すると、種々の妊娠時疾患を引き起こすことが予想される。妊娠高血圧症 (PIH) は妊娠時に代表的な疾患であり、妊娠後期の高血圧、タンパク尿、子宮内胎児発育遅延等を呈し、さらに重篤化すると母子ともに死に至る危険な合併症であるが、その発症メカニズムは不明である。そこで著者は、ヒト妊娠高血圧症のモデルマウスである妊娠高血圧マウス (PAH マウス) を用いて、量的に変動するアミンの探索、並びに同定されたアミンの PAH 病態に対する関与について検討した。

妊娠 19 日目の野生型マウスおよび PAH マウスの血漿を素材に、6-amino quinoline carbamate (AQC) 誘導体化法でサンプル中に含まれるアミンを蛍光標識後、HPLC を用いた分析により、量的に変動する物質の探索を行った。この結果、PAH マウス血漿中に野生型と比較して 3 倍程度高いピークを検出した。同物質を単離後、MALDI-QIT-TOF/MS 及び ^1H NMR に供した結果、目的成分は分子量が 111.3 で、構造内にイミダゾール環を有するヒスタミンであることが判明した。

ヒスタミンと PAH 病態との関連を詳細に解析するためには、ヒスタミンの厳密な定量が不可欠である。これまでの報告から、生体内でのヒスタミン合成は、ヒスチジンを基質としてヒスチジン脱炭酸酵素 (HDC) により触媒され、代謝系と連動して体内でのヒスタミン存在量を制御していることが知られている。そこで、ホルボールエステル刺激で HDC 遺伝子の発現を誘導した Jurkat 細胞を用い、細胞内低濃度領域でのヒスタミンの定量系を確立し、それを応用してマウス血漿中でのヒスタミンの絶対定量を試みた。10 ng/ml のホルボールエステルを添加することにより HDC を発現誘導したところ、細胞内のヒスタミン濃度は約 180 倍 (刺激なし: 4.3 pmol/mg protein、刺激あり: 787 pmol/mg protein) に増加した。細胞を用いた定量系が適切であることを確認した後、本手法をマウス血漿中のヒスタミン定量に応用した。その結果、PAH マウス血漿中のヒスタミンが WT マウス血漿と比較して、有意に増加していることを明らかにした。

審 査 の 要 旨

現在まで、様々な臨床研究が進められているが、妊娠高血圧症の病態発症・進展メカニズムは明らかになっていない。そのため、根本的な治療法も確立されておらず、降圧剤の投与や、安静を保つといった対症的療法に依存している。また、降圧薬の多くが妊娠中の投薬が禁忌とされているため、妊娠高血圧症の病態メカニズム解明は社会的課題だと言える。今回の妊娠高血圧症モデルマウスを用いた研究において、生理活性アミンであるヒスタミンが野生型マウスと比較して有意に濃度上昇しているという事実は新規の知見である。ヒト妊娠高血圧症とヒスタミンとの関連については、妊娠高血圧患者の血中では妊娠後期にヒスタミン濃度が高いこと、妊娠高血圧症患者の症状が高ヒスタミン血症で見られる症状に似ていることなどが報告されている。しかし、ヒスタミンと妊娠高血圧症との関連を示唆する報告はあるものの、両者の直接的な関係性について詳細に言及した報告は 1950 年代以降存在していない。この背景には、妊婦を対象とした研究であるため、踏み込んだ解析が困難であるという倫理的な問題があるのではないかと推測される。

以上のように、ヒスタミンが ① PAH 発症過程のどの時期に、どの部位で産生・代謝されるのか、また ② ヒスタミンが PAH のどの病態発症に関与するのかといった疑問を明らかにするまでには及ばなかったものの、今後 PAH マウスを用いた更なるヒスタミン作用の解析を進めることで、将来的にヒト妊娠高血圧症のメカニズム解明、引いてはその新たな治療法開発につながるものと期待される。

平成 26 年 1 月 23 日、学位論文審査委員会において、加香副査を除く審査委員全員の出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、(加香副査から預かった質問も含め) 関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。平成 26 年 1 月 27 日、加香副査に論文の審査及び最終試験に関する説明と報告を行い、了承いただいた。

よって、著者は博士(農学)の学位を受けるのに十分な資格を有する者として認める。