

平成 30 年 5 月 24 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K18389

研究課題名(和文) 中枢神経疾患におけるヒスタミン代謝酵素の機能解明と阻害剤開発

研究課題名(英文) Importance of histamine metabolizing enzyme in the brain

研究代表者

吉川 雄朗 (Yoshikawa, Takeo)

東北大学・医学系研究科・准教授

研究者番号：70506633

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ヒスタミンは脳内で神経伝達物質として様々な脳機能に関わることが知られていません。私は脳内にあるヒスタミン代謝酵素の役割について実験を行い、この酵素がヒスタミン濃度調節に非常に重要であること、また脳機能の維持にも関わっていることを明らかにしました。また多くの神経疾患でヒスタミン濃度が減少していることから、ヒスタミン代謝酵素の作用を阻害すれば、ヒスタミン濃度が上昇し、神経疾患治療に用いられる可能性が考えられます。そこで新たな阻害剤を見出すべく実験を行い、いくつかの候補化合物を得ました。これらの化合物から優れた薬剤が得られることを期待して、更に研究を進めたいと考えています。

研究成果の概要(英文)：Histamine acts as a neurotransmitter in the central nervous system. In this study, I examined the importance of a histamine metabolizing enzyme for brain functions. I revealed the essential role of this enzyme in the regulation of brain histamine and the contribution to brain functions such as sleep-wake cycle and aggression. Previous reports showed that brain histamine concentration was decreased in various brain diseases. Thus, I tried to develop new inhibitors against the histamine metabolizing enzyme to increase brain histamine concentration. I have confirmed that several compounds have sufficient inhibitory effects on the histamine metabolizing enzyme.

研究分野：神経薬理学

キーワード：ヒスタミン

### 1. 研究開始当初の背景

ヒスタミンは脳内で神経伝達物質として機能している。視床下部に神経体を持つヒスタミン神経細胞は脳全体にその神経線維を投射し、睡眠覚醒サイクルの制御や学習・記憶、ストレス応答などの生理機能を制御している。齧歯類を用いた実験では、脳内ヒスタミン系を抑制することで、記憶能低下や不安様行動など数多くの行動異常が観察される。従って、脳内ヒスタミン濃度を増加させることは脳機能の改善につながる可能性が十分考えられる。神経伝達物質の濃度を増加させる際に、そのクリアランス系を制御することは、フルボキサミンやドネペジルが広く用いられていることから、極めて有効であると考えられる。しかし、脳内ヒスタミンの除去機構は未解明のままで、ヒスタミン神経研究の大きな課題として残されていた。

### 2. 研究の目的

我々はヒスタミン代謝酵素である histamine N-methyltransferase (HNMT) に着目した。近年、HNMT 遺伝子の塩基多型と中枢神経疾患との関連が報告されているが、神経疾患における HNMT の役割については不明のままである。そこで本研究では疾患モデル動物において HNMT を欠損させ、神経疾患の病態における HNMT の役割を明確にする。また多くの中枢神経疾患においてヒスタミン濃度の低下が生じていることから、HNMT 阻害剤はヒスタミン濃度増加をもたらす中枢神経疾患治療薬として使用できる可能性が考えられる。しかし、代表的な HNMT 阻害剤である SKF91488 は中枢移行性がなく、脳内のヒスタミン濃度を調節することは不可能であった。また Metoprine など中枢移行性を有する HNMT 阻害剤は、HNMT に対する選択性が低いことが課題であった。そこで中枢移行性の高く、特異性の高い新規 HNMT 阻害剤を探索し、新規治療薬の開発へとつなげていきたいと考えた。

### 3. 研究の方法

本研究では中枢神経疾患における HNMT の役割を明らかにすること、および中枢移行性 HNMT 阻害剤を見出すことを目的としている。

#### (1) 病態モデルマウスを用いた HNMT の機能解析

パーキンソン病のモデルマウスにおいて HNMT を欠損させ、免疫組織学的解析、生理学的解析、行動薬理的解析を行い、各種病態における HNMT およびヒスタミン系の役割を明確に示す。

#### (2) 中枢移行性 HNMT 阻害剤の探索

申請者は蛍光強度を指標にした HNMT 阻害剤のスクリーニングシステムを確立しており、本学の創薬・探索臨床研究コアセンターのサポートを受け、ヒット化合物を見出す。

その後、薬理的解析にて化合物の評価を行う。

### 4. 研究成果

#### (1) 病態モデルマウスを用いた HNMT の機能解析

代表的なパーキンソン病モデルマウスである 6OHDA 投与マウスを用いて解析を行った。野生型マウスおよび HNMT ノックアウトマウスに 6OHDA を投与し、その表現型を解析した。アポモルフィンによる rotational behavior を評価したところ、野生型マウスと比較し、HNMT ノックアウトマウスでは回転速度が異なっていることが明らかとなった。そのため、HNMT ノックアウトマウスにおける脳内ヒスタミン濃度上昇はパーキンソン病の症状に寄与している可能性も考えられた。

#### (2) 中枢移行性 HNMT 阻害剤の探索

まず東北大学のコアライブラリーを用いて一次スクリーニングを行った。まず阻害活性の認められた 150 化合物ほどを選定した。その後、再現性の確認された 50 化合物を更に選択し HPLC を用いた 2 次スクリーニングを行った。その結果、既存薬である SKF91488 よりも低い IC<sub>50</sub> を持つ化合物が見出された (図 1)。

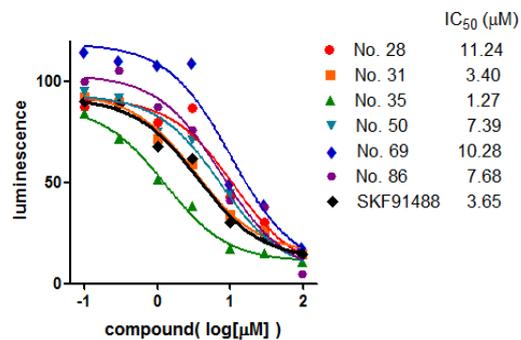


図 1 : スクリーニングにて見出された HNMT 阻害剤の IC<sub>50</sub> 値

これらの化合物をマウスに腹腔内投与し、脳内ヒスタミン濃度について評価を行った。まず脳ホモジェネートを作製して、ヒスタミン含量およびヒスタミン代謝産物である 1-メチルヒスタミン量を HPLC 法を用いて測定した。その結果、化合物 X により、ヒスタミン濃度が増加し、1-メチルヒスタミンが減少することが明らかとなった。細胞外ヒスタミン量についても in vivo microdialysis 法を用いて測定したところ、化合物 X により細胞外ヒスタミン量が増加することも示された。従って、化合物 X は中枢移行性を有する新規 HNMT 阻害剤であると考えられた。今後、この化合物を用いて特異性の確認を行うとともに、阻害活性や薬物動態を改善したリード化合物を見出していきたいと考えている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 11 件)

- 1) Karpati A, Yoshikawa T\*, Nakamura T, Iida T, Matsuzawa T, Kitano H, Harada R, Yanai K. Histamine elicits glutamate release from cultured astrocytes. *J Pharmacol Sci* 2018 doi: 10.1016/j.jphs.2018.05.002 査読有 (in press) (\*: corresponding author)
- 2) Matsuzawa T, Yoshikawa T\*, Iida T, Kárpáti A, Kitano H, Harada R, Nakamura T, Sugawara A, Yamaguchi Y, Yanai K. Heparan sulfate in pancreatic  $\beta$ -cells contributes to normal glucose homeostasis by regulating insulin secretion. *Biochem Biophys Res Commun* 499: 688-695, 2018 (\*: corresponding author) doi: 10.1016/j.bbrc.2018.03.213 査読有
- 3) Aoki S, Saito-Hakoda A, Yoshikawa T, Shimizu K, Kisu K, Takagi K, Mizumoto S, Yamada S, Kuppervelt T, Yokoyama A, Matusaka T, Sato H, Ito S, Sugawara A. The reduction of heparan sulphate in the glomerular basement membrane does not augment urinary albumin excretion. *Nephrol Dial Transplant* 33:26-33, 2018 doi: 10.1093/ndt/gfx218 査読有
- 4) Naganuma F, Nakamura T, Yoshikawa T\*, Iida T, Miura Y, Kárpáti A, Matsuzawa T, Yanai A, Mogi A, Mochizuki T, Okamura N, Yanai K. Histamine N-methyltransferase regulates aggression and the sleep-wake cycle. *Sci Rep* 7: 15899, 2017 (\*: corresponding author) doi: 10.1038/s41598-017-16019-8 査読有
- 5) Inoue S, Takahara S, Yoshikawa T, Niihori T, Yanai K, Matsubara Y, Aoki Y. Activated Braf induces esophageal dilation and gastric epithelial hyperplasia in mice. *Hum Mol Genet*. 26: 4715-4727, 2017 doi: 10.1093/hmg/ddx354. 査読有
- 6) Yanai K, Yoshikawa T\*, Yanai A, Nakamura T, Iida T, Leurs R, Tashiro M. The clinical pharmacology of non-sedating antihistamines. *Pharmacol Ther.* 178: 148-156, 2017 (\*: corresponding author) doi: 10.1016/j.pharmthera.2017.04.004 査読無
- 7) Kishimoto Y, Asakawa S, Sato T, Takano T, Nakajyo T, Mizuno N, Segawa R, Yoshikawa T, Hiratsuka M, Yanai K, Ohtsu H, Hirasawa N. Induced histamine regulates Ni elution from an implanted Ni wire in mice by downregulating neutrophil migration. *Exp Dermatol*. 26: 868-874, 2017 doi: 10.1111/exd.13315 査読有
- 8) Yoshikawa T\* and Yanai K. Histamine

clearance through polyspecific transporters in the brain. *Handbook Exp Pharmacol* 241: 173-187, 2017 (\*: corresponding author) doi: 10.1007/164\_2016\_13 査読無

- 9) Miura Y, Yoshikawa T\*, Naganuma F, Nakamura T, Iida T, Kárpáti A, Matsuzawa T, Mogi A, Harada R, Yanai K. Characterization of murine polyspecific monoamine transporters. *FEBS Open Bio* 7: 237-248, 2017 (\*: corresponding author) doi: 10.1002/2211-5463.12183 査読有
- 10) Iida T, Yoshikawa T\*, Kárpáti A, Matsuzawa T, Kitano H, Mogi A, Harada R, Naganuma F, Nakamura T, Yanai K. JNJ10181457, a histamine H3 receptor inverse agonist, regulates in vivo microglial functions and improves depression-like behaviours in mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 488: 534-540, 2017 (\*: corresponding author) doi: 10.1016/j.bbrc.2017.05.081 査読有
- 11) Harada R, Furumoto S, Yoshikawa T, Ishikawa Y, Shibuya K, Okamura N, Ishiwata K, Iwata R, Yanai K. Synthesis and Characterization of 18F-Interleukin-8 Using a Cell-Free Translation System and 4-18F-Fluoro-L-Proline *J Nucl Med* 57: 634-639, 2016 doi: 10.2967/jnumed.115.162602 査読有

[学会発表] (計 19 件)

- 1) 飯田智光、吉川雄朗、谷内一彦、ヒスタミン 3 型受容体インバーサゴニストはミクログリア機能を抑制しうつ様行動を改善する、第 21 回日本ヒスタミン学会、2017 年
- 2) 吉川雄朗、飯田智光、長沼史登、中村正帆、岡村信行、谷内一彦、脳内ヒスタミン神経系の過剰な興奮は H2 受容体を介してマウスの攻撃性を増加させる、第 39 回日本生物学的精神医学会・第 47 回日本神経精神薬理学会合同年会、2017 年
- 3) 中村 正帆、吉川 雄朗、岡村 信行、ヒスタミン-N-メチルトランスフェラーゼの in vivo 機能解析、第 68 回日本薬理学会北部会、2017 年
- 4) 吉川雄朗、茂木明日香、松澤拓郎、三浦大和、中村正帆、谷内一彦、骨格筋におけるヘパラン硫酸の役割について、第 68 回日本薬理学会北部会、2017 年
- 5) 民井亨、中村正帆、吉川雄朗、長沼史登、飯田智光、Karpati Aniko、松澤拓郎、北野陽菜、山内正憲、岡村信行、谷内一彦、吸入麻酔薬の意識消失作用におけるヒスタミン受容体の役割、第 68 回日本薬理学会北部会、2017 年
- 6) 吉川雄朗、脳に効くヒスチジン摂取、第 60 回日本神経化学学会、2017 年
- 7) 飯田智光、吉川雄朗、中村正帆、

谷内一彦、ミクログリア機能におけるヒスタミンの重要性、第 40 回日本神経科学大会、2017 年

8) 吉川雄朗、三浦大和、茂木明日香、谷内一彦、マウス OCT2、OCT3、PMAT の機能解析、第 12 回トランスポーター研究会、2017 年

9) T Nakamura, T Matsuzawa, M Mogilevskaya, A Mogi, T Yoshikawa, F Naganuma, N Okamura, K Yanai, THE EFFECT OF H3 RECEPTOR ANTAGONIST ON NEUROPATHIC PAIN、Histamine 2017、2017 年

10) 吉川雄朗、松澤拓郎、茂木明日香、Maria Mogilevskaya、中村正帆、谷内一彦、神経障害性疼痛に対するヒスタミン H3 受容体拮抗薬の効果、第 90 回日本薬理学会年会、2017 年

11) 吉川雄朗、谷内一彦、新規遺伝子ノックアウトマウスを用いた脳内ヒスタミンクリアランス系の解明、第 90 回日本薬理学会年会、2017 年

12) Aniko Karpati、吉川雄朗、中村正帆、長沼史登、飯田智光、谷内一彦、Histamine induced gliotransmitter release from cortical rat astrocytes、第 90 回日本薬理学会年会、2017 年

13) 民井亨、中村正帆、吉川雄朗、長沼史登、飯田智光、Karpati Aniko、松澤拓郎、北野陽奈、岡村信行、谷内一彦、デスフルラン麻酔におけるヒスタミン受容体の役割、第 90 回日本薬理学会年会、2017 年

14) 松澤拓郎、吉川雄朗、中村正帆、谷内一彦、膵β細胞におけるヘパラン硫酸はインスリン分泌や糖の恒常性維持に重要である、第 90 回日本薬理学会年会、2017 年

15) Takeo Yoshikawa, Fumito Naganuma, Tadahiko Nakamura, Takatoshi Mochizuki, Tomomitsu Iida, Aniko Karpati, Takuro Matsuzawa, Kazuhiko Yana, Importance of histamine N-methyltransferase in brain functions、第 39 回日本神経科学大会、2016 年

16) Aniko Karpati, Takeo Yoshikawa, Tadahiko Nakamura, Fumito Naganuma, Tomomitsu Iida, Yamato Miura, Kazuhiko Yanai, Astrocytes elevate glutamate release in response to histamine、第 39 回日本神経科学大会、2016 年

17) 松澤拓郎、Mogilevskaya Maria、吉川雄朗、中村正帆、谷内一彦、神経障害性疼痛におけるヒスタミン 3 型受容体の役割について、第 67 回日本薬理学会北部会、2016 年

18) Tadahiko Nakamura, Takeo Yoshikawa, Fumito Naganuma, Tomomitsu Iida, Aniko Karpati, Toru Tamii, Nobuyuki Okamura, Kazuhiko Yanai, Electroencephalogram of HIKO mice under isoflurane anesthesia. European Histamine Research Society 45th annual meeting、2016 年

19) Fumito Naganuma, Takeo Yoshikawa, Tadahiko Nakamura, Kazuhiko Yanai, Histamine N-methyltransferase is important for the normal sleep-wake cycles and aggression through the regulation of brain histamine concentration. 30th CINP world congress of neuropsychopharmacology、2016 年

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

吉川 雄朗 (Yoshikawa Takeo)

東北大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：70506633

(2)研究分担者

なし ( )

研究者番号：

(3)連携研究者

なし ( )

研究者番号：

(4)研究協力者

なし ( )