615-092.19 : 547.781.5

# Histamine 遊離物質にたいする抵抗性の誘導と交叉耐性に関する研究

岡山大学医学部薬理学教室（主任：山崎英正教授）

古　元　重　光

〔昭和45年3月27日受稿〕

## 緒　言

Histamine（以下 hist. と略す）遊離物質の多くは肥満細胞に作用して，細胞内顆粒の崩壊と hist. 遊離をおこす．その結果組織の貯蔵 hist. は減損する．Sinomenine（以下 sinom.）の比較的大量を繰返し注射されたラットは皮膚 hist. の80～90%を喪失し，のちに注射された sinom. による浮腫はおこりにくくなる（Irino, 1958）．また sinom. の大量を静注して強い血圧下降をおこしたイヌでは2回目の sinom. 注射はほとんど血圧下降および，血漿中の hist. の増加をきたさない（Mayeda, 1953）．Compound 48/80（以下48/80）についても同様の観察が Paton (1951), Feldberg and Talesnik (1953), Riley and West (1955 a, b) らにより報告されており，このような急速耐性の発現は一般には遊離に利用されるべき組織 hist. の枯渇によるものと理解されている．しかし，Halpern ら（1958）は dextran を数回注射して hist. 遊離をおこしたラットが ovomucoid には耐性を示したが，48/80 にはなお反応を示すこと，Marshall and Hanna (1958) は polyvinylpyrrolidone（以下 PVP）の2回目注射に反応しなくなつたイヌが48/80には反応するという事実を報告しているところからみて，急速耐性の発現には hist. 貯蔵の枯渇以外の機構の存在も考えられる．

Slomka and Goth（1956）はイヌに 48/80 を血圧を下げないような微量からはじめて，増量しながら反復静注してゆくと，最後に48/80のショック用量を注射しても反応しない状態の生ずることを報告している．そして，その間に血圧下降反応も血漿中の hist. の増加もみとめなかつたという．この成績はその後 Marshall and Hanna（1958）によつて追試確認されている．教室の Mayeda（1953）は sinom. の hist. 遊離作用に自然耐性のイヌが存在することを記載したが，最近 Endo and Yamasaki（1969）はこれらのイヌは48/80にも交叉耐性を示すが，PVP または Tween には反応する事実を報告した．

著者はこの Slomka and Goth（1956）の方法を用い，今回 sinom. 抵抗犬の誘導に成功したので，この抵抗性が 48/80, PVP, Tween のいずれと交叉性を示すか，PVP と Tween についても hist. 減損なしに抵抗性の誘導が可能かどうか，そのような抵抗性が peptone ショックまたはアナフィラキシーショックに如何なる影響を与えるかなどについて検討した．

## 実験材料および方法

**実験動物**　成熟した7～15 kg の雑種犬（雌雄とも）を使用した．麻酔は最初 pentobarbital sodium 35 mg/kg 静注でおこない，以後適宜用量を追加して長時間維持するようにした．

**Histamine 遊離物質の反復投与**　Sinom., 48/80, PVP および Tween 20 の4種の hist. 遊離物質を抵抗性誘導の目的でイヌに反復静注した．これらの薬物は生理食塩水に溶解し，血圧にまつたく影響をあたえない微量からはじめ，一定の時間間隔をおいて漸次増量しながら反復，股静脈内に注射し，最後に普通のイヌにショックをおこす用量（sinom. 2.5mg, 48/80 0.75mg, Tween 30mg, PVP 500mg, いずれも per kg, PVP は液量 20ml, ほかは 1ml とした）を注射して反応の如何をしらべた．最初の注射用量や増量のしかた，注射回数，注射総量などについては個々の遊離物質の実験成績のところでのべるが，漸増各注射は2～3分をかけてなるべく緩徐におこない，最後の反応テストのためのショック用量の注射では PVP は全量を60～150秒，その他の薬物は5秒で静注した．誘導のための各注射の時間間隔ははじめの小量注射の場合は10分前後としたが用量の増すにつれて，適宜延長し20～30分とした．ショック用量の注射によつても血圧下降反応および

血漿中に hist. の増加をみとめなかつた場合，その遊離物質にたいして抵抗の状態にあるものとした．こうして特定の hist. 遊離物質にたいして抵抗性がえられた場合，ほかの遊離物質の大量を静注し，あるいはあらかじめ感作したイヌについて以上の方法によつて抵抗状態をつくつたのち，牛血清抗原の静注によりアナフィラキシーショックを誘発して，交叉耐性の有無を検べた．

**イヌのアナフィラキシーショックの誘発**

牛血清を 5 ml づつ伏在静脈と，背部皮下に注射して1回法で感作した．21～25日後に抗原血清 2 ml /kg を再注射しアナフィラキシー反応を誘発した．

**動脈血圧測定** 左頸動脈から水銀マノメーターを介して kymographion に記録した．

**血漿 Histamine 含量の測定** 股動脈より3.8% sod. citrate 0.5 ml を含む注射器に動脈血 4.5 ml を採取し氷冷して 1500×*g*，20分間遠沈，血漿を分離した後，Code (1937) の方法によつて hist. を抽出し，モルモット腸管を用いて測定した．通常採血は注射開始前3分，誘導注射中およびショック用量注射後2～3分，その他別の薬物のショックテスト注射後2～3分および10～12分におこなつた．

**皮膚 Histamine の *in vitro* 遊離実験** 腹部の皮膚を白線から約 4 cm はなした両側対称の位置で，注射開始前と抵抗性に達したあとに各 2cm×5cm の大きさで切除した．採取した皮膚片は脂肪組織を除き冷却生理食塩水で洗滌した後，1mm×3mm の大きさに鋭利な鋏でできるだけすみやかに細切し，冷たい Krebs-Ringer 液で洗い，150mg づつに分けて Warburg manometer の主室にいれる．ガス相を $O_2$，Krebs-Ringer 液をメジウムとし，37°C，10分 pre-incubate した後，hist. 遊離物質の所定量を側室から加えて30分間作用させ，hist. 遊離率をもとめた．

**皮内反応** Sinom. 3%，48/80 0.1%，PVP10%，Tween 20 10%および対照として溶媒0.9% NaCl の各々 0.05 ml を注射開始40分前および抵抗性誘導完了の直後に胸部の左右両側に対称的に皮内注射し，膨隆する部分の長短径を測定し，一定時間後の値の平均値をもつて反応性を比較した．

**使用薬物** Sinomenine hydrochloride (結晶) は塩野義研究所より，compound 48/80 は Burroughs Wellcome & Co. (U.S.A.) Inc., Tuckahoe, New York, より，polyvinylpyrrolidone (平均分子量 40,000) は小野薬品よりそれぞれの好意により提供されたもの．Tween 20 は和光純薬，peptone "Whitte" は Bayer 社製を用いた．抗原牛血清は分離後凍結保存して用いた．

## 実 験 成 績

### A. Histamine 遊離物質にたいする抵抗性の誘導

#### 1. Sinomenine 抵抗性の誘導

無処置の麻酔犬に sinom. 2.5 mg/kg を単独静注すると20～30秒の潜伏時間の後に84%以上の下降率を示す著しい血圧下降反応が急激に起りショック状態になり，その回復には1時間以上を要した．この際血漿 hist. 含量は静注2分後には 1.87～3.45 μg/ml におよぶ著明な上昇を示した．ただし，その回復は割合はやく，動脈血圧が依然ショック状態にある注射30分後には 0.15～0.29 μg/ml の値にまで回復した．このようなイヌにその動脈血圧が復旧または復旧に近く回復したのち，sinom. の同量またはその2倍用量を静注しても，動脈血圧はもはやほとんど下降反応を示さず，血漿 hist. の上昇もみられず，いわゆる tachyphylaxis (急速耐性) の状態がみとめられた．以上の所見は Mayeda (1953) の記載とまつたく一致している．

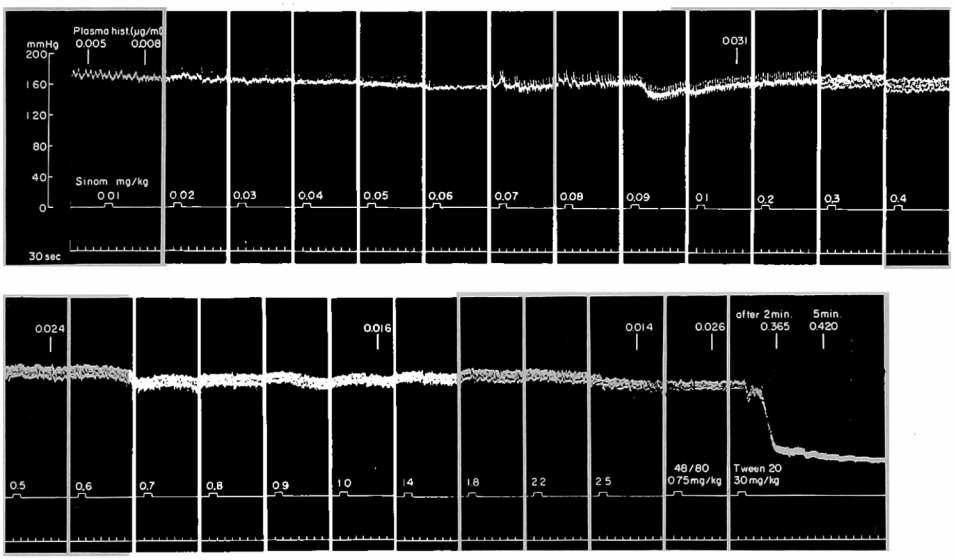
別の1群のイヌに (第1図参照) sinom. の血圧下降反応をまつたく起さない微量 0.01 mg/kg からはじめ，10分間隔をあけて 0.01 mg/kg 増しに用量をふやしながら 0.09mg/kg まで静注を繰りかえし，そのあと間隔を20～30分にのばして 0.1mg/kg から 0.1mg/kg 増しに用量を増加し 1.8～2.2 mg/kg にいたるまで，22回の静注をおこなつた．このような sinom. の漸増反復注射は合計23頭のイヌについて試みたが，場合によつては注射の後半に増量の段階を多少とばして16～20回注射で 2.2 mg/kg におわつたものもある．その間の sinom. 注射総量は 8.14～12.03 mg/kg であつた．

その間，動脈血圧は23例中1例だけ漸次下降し初圧の25%に下つたが，他の22例は最終注射時まで初圧を維持しており，また各注射後の動脈血圧下降はほとんどなく，注射2分後に採血してしらべた血漿 hist. にも認むべき増加はなかつた．さらにまた，後述するように，皮膚 hist. 含量についても，注射開始前の値にくらべて有意の変化をみなかつた (第3表)．

このようなイヌに前述の無処置犬でショックをおこした sinom. 2.5 mg/kg を急速に静注したが，全く血圧下降反応はなく，血漿 hist. 含量もほとんど増加せず (第1図)，数例のイヌでそのあと試みた

第1図. Sinomenine の反復靜注による抵抗性の誘導. イヌ動脈血圧と血漿 hist. 含量. 12.2 kg, ♂, pentobarbital 麻酔.

Sinom. の 0.01 mg/kg から 2.2 mg/kg まで漸増22回（総注射量 11.3 mg/kg）靜注後に, sinom. および 48/80 のショック用量（それぞれ 2.5 mg/kg, 0.75 mg/kg）の靜注に完全な抵抗性を示している. しかし, Tween 20 のショック用量（30 mg/kg）では著明な血圧下降と血漿 hist. 含量の増加がおきている.




5mg/kg 注射にたいしても同様の強固な抵抗状態がみとめられた.

教室の Mayeda (1953) および Endo and Yamasaki (1969) によると sinom. および 48/80 に先天性（または自然）耐性のイヌが雑種犬中に 14～21 %存在するといわれている. 上述の実験で sinom. 抵抗状態の誘導された23例のイヌのうちにもそのような先天性耐性のものが含まれている可能性を否定はできないが, 23例の全例に抵抗性の誘導をおこなうことに成功したことは, 自然耐性とは明らかに区別されるべきである.

Sinom. 抵抗性の誘導されたイヌのうち, 10頭について 2.5 mg/kg のテスト注射後, 別々に24時間, 48時間および 4 日後に再度同量の靜注にたいする血圧下降反応を検したところ, いずれも抵抗性で, 4 日後の注射に抵抗性であった 1 例にさらに 9 日を経過して（抵抗性の確立から13日目）, 3 回目の 2.5 mg/kg 靜注をおこなつたが依然反応を認められなかつた. この例が偶々先天性耐性であつたかどうかは明らかにできないが, この結果からみて上記の方法によつて誘導された反応状態はかなり長時間持続することがわかる.

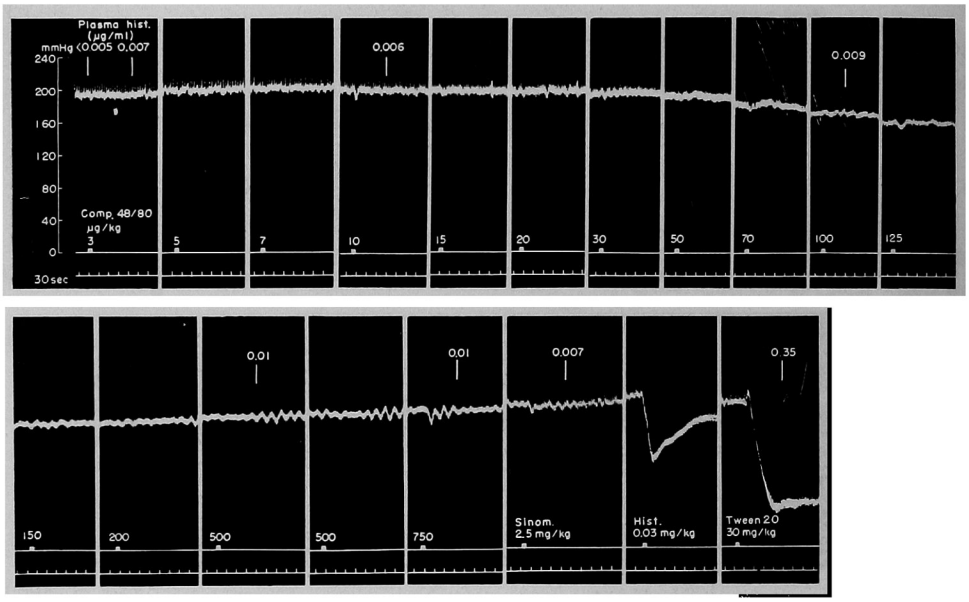
この sinom. 抵抗性誘導実験における著者の失敗例の経験では, 他の薬物の場合も同様であるが, 少量範囲の靜注を充分に繰り返えし, しかも注射はなるべく緩徐におこない, また注射間隔は短かすぎぬよう, 大体10分以上とすることが肝腎であつた.

### 2. 48/80 抵抗性の誘導

48/80 0.75 mg/kg を無処置のイヌに単独靜注すると sinom. 2.5 mg/kg 靜注の場合と同様の強いショックが20～30秒後に突然みられる. 血漿中 hist. 含量は靜注 2 分後に 1.2μg/ml に上昇した. いまこの 48/80 を 1 頭のイヌに血圧下降を起さない微量 2～3 μg/kg から開始し, 20～40分間隔をあけて第 2 図に示したように 500μg/kg まで段階的に用量を増しつつ緩徐な靜注を繰り返すと, ついに上記のショック用量 750μg/kg の靜注によつても血圧下降反応を示さず, また血漿 hist. 含量の増加も認めない 48/80 抵抗の状態をつくることができた. 前処置注射回数15回, 総注射量 1785 μg/kg であつた.

この実験はすでに Slomka and Goth (1956) が報告した成績を確認したもので, 上の例のほかにもう

第2図. Compound 48/80 の反復靜注による抵抗性の誘導. イヌ動脈血圧と血漿 hist. 含量. 8.2 kg, ♂, pentobarbital 麻酔.
48/80 の 3 μg/kg から 500 μg/kg まで漸増して15回（総注射量 1.78 mg/kg）靜注後に, 48/80 および sinom. のショック用量の靜注に完全な抵抗性を示している. しかし, hist. には正常の血圧下降反応を示し, また Tween 20 のショック用量にたいしても著明な血圧下降および血漿 hist. 含量の増加を示している.




2例の実験を追加するにとどめた. それらの2例では, 用量スケジュールは前の例と原則的には同じだが, 1例16回注射, 総注射量 1304 μg/kg, 他は14回, 1279 μg/kg の前処置で, そのあとのテスト用量はそれぞれ, 1000 μg および 750 μg/kg であつたが, いずれにも血圧下降反応を示さず, 血漿 hist. の増加もほとんどなかつた. 合計3例中1例のイヌに前処置用量が大きい場合呼吸数の増加のほか胸および上腹部の皮膚に軽度の発赤がみられた.

### 3. PVP 抵抗性の誘導

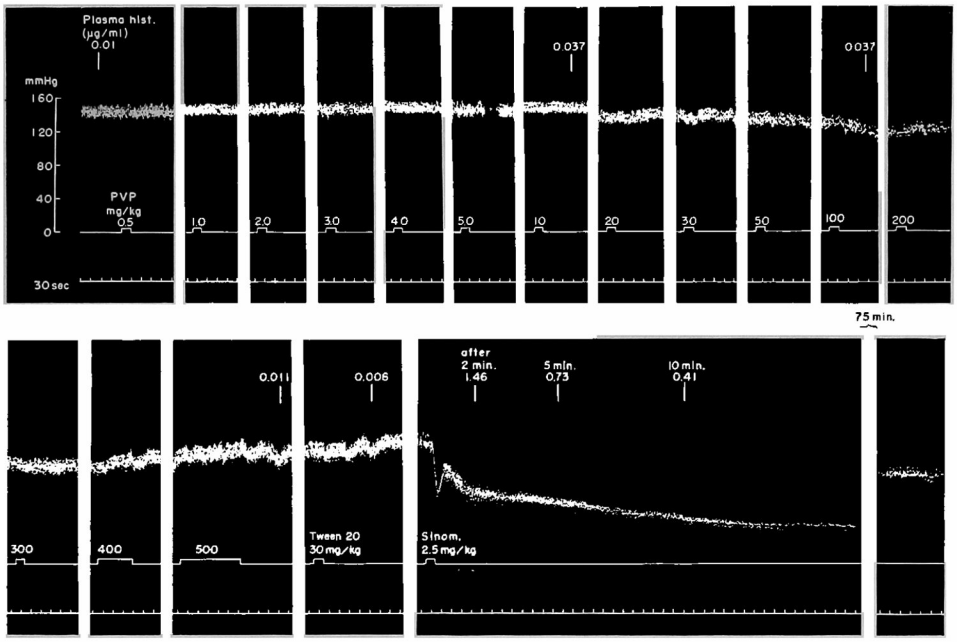
PVP 500 mg/kg 靜注は無処置麻酔犬に注射開始 1.5分ころから動脈血圧下降がはじまり, 30分内の最低血圧は70～80%下降に達した. 5頭の別のイヌに血圧下降を示さない少量 0.5mg/kg から始め, およそ15分間隔をあけて第3図に例示したように10 mg/kg までを増量しながら靜注したのち, 30分間休み, さらに 15 mg/kg からはじめて段階的に 400 mg/kg まで増量しながら靜注を繰り返すと, 上述のショック用量 500 mg/kg にたいし血圧下降反応および血漿 hist. 増加の反応を全く示さぬ状態が獲得できた. この実験は5例のイヌで結果が確認されたが, 用量スケジュールは個々に多少の相違があり, 前処置注射回数 14～22回, 総注射量は 1126～1604 mg/kg であつた.

前処置漸増注射中5例のうち3例に PVP 注射総量が 17 mg/kg 前後に達したころに頸部から始まり, 胸, 腹部に波及する蕁麻疹様の紅斑があらわれた. この紅斑はごく一過性で30分ほどで消褪し, それ以後の注射では再びみられることはなかつた. この紅斑が皮膚 hist. の遊離に関係があるかどうか明かでないが, PVP 反復投与のイヌでは他の遊離物質の場合にくらべて, ショック用量テスト後に測定した皮膚 hist. 含量の減少度がやや多く, 平均17%程度の減少がうかがわれる. PVP による抵抗性誘導注射では血圧が軽度に下降傾向を示した例もあつた. しかし, 誘導注射中に血漿 hist. の増加をみとめた例はない.

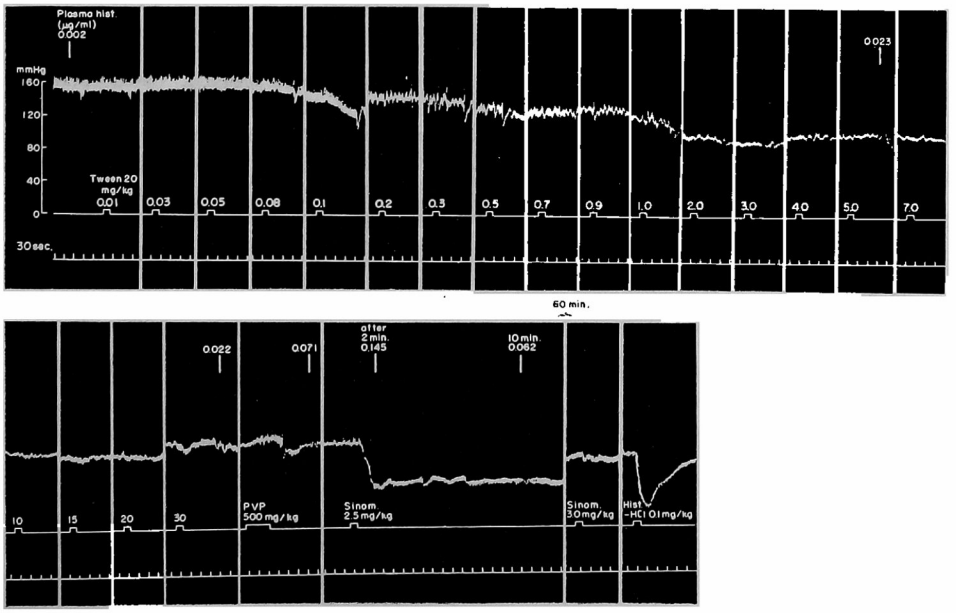
### 4. Tween 20 抵抗性の誘導

Tween 20 の 30mg/kg 靜注は無処置麻酔犬に70%以上の下降率を示す深い動脈血圧低下をきたし, その状態は1時間以上持続した. いま血圧に影響のない少量の 0.01 mg/kg から始め, 20～30分づつの間隔で, 第4図および第5図に示したように段階的に少しづつ増量しながら靜注を繰り返してゆくと,

第3図. Polyvinylpyrrolidone (PVP) の反復靜注による抵抗性の誘導. イヌ動脈血圧と血漿 hist. 含量. 12.1 kg, ♀, pentobarbital 麻酔.
PVP の 0.5mg/kg から 400mg/kg まで漸増14回（総注射量 1126mg/kg）靜注後に, PVP および Tween 20 のショック用量（それぞれ 500mg/kg, 30mg/kg）の靜注に完全な抵抗性を示している. しかし, sinom. のショック用量では著明な血圧下降および血漿 hist. 含量の増加がみられる.




第4図. Tween 20 の反復靜注による抵抗性の誘導. イヌ動脈血圧と血漿 hist. 含量. 10.2 kg, ♂, pentobarbital 麻酔.
Tween 20 の 0.01 mg/kg から 20 mg/kg まで漸増19回（総注射量 69.8 mg/kg）靜注後に, Tween 20 および PVP のショック用量の靜注に完全な抵抗性を示している. しかし, sinom. のショック用量には依然強度の反応を示し, また, hist. の血圧下降作用にも正常の反応がみられる. この例では, 第5回目注射のころから軽度ながら徐々に血圧の低下がおきた.



そのあと正常犬なら著しい血圧下降を示した 30 mg /kg 用量の急速静注にたいして反応を示さず，また血漿中の hist. 含量の増加などの変化もみられぬ Tween 抵抗性の状態がえられた．この実験は4例のイヌで確認し，テスト注射前の注射回数13～21回，総注射量は 61.6～69.9 mg/kg であつた．

Tween の場合も PVP の場合のように漸増誘導注射の比較的はやい時期，すなわち注射総量 0.2～2.9 mg/kg 前後のころに頸部にはじまり胸，腹部におよぶ PVP の場合と同じような蕁麻疹様発赤があらわれ，30～50分続いたのち消褪し，以後の注射ではおこらなかつた．このような紅斑は4例のすべてにみとめられた．Tween 20 の上記誘導注射中に動脈血圧が軽度ながら初圧よりは下つてくる傾向を示したものが多い．しかし，注射用量の増加されるにかかわらず，一定度（たとえば20～25％）以上に下降のすすむことはなく，却つて回復に向つた例もある．しかし，その間の注射で血漿中のhist. 含量の増加はみられたとしても極く僅かであつた．

**B. 交叉耐性に関する実験**

上述の実験において，sinom., 48/80, PVP および Tween 20 の4種の hist. 遊離物質がいずれも，それらの漸増静注方法によつて当該化合物のショック用量にたいして完全に抵抗性の状態に達せられる事実が供覧された．そこで，そのような抵抗性獲得のイヌの他の遊離物質のショック量にたいする反応もしらべた．

その成績は第1表および第2表にまとめてある．

第1表にみるように，sinom. 抵抗性の誘導されたイヌでは，48/80 にたいしても完全に抵抗性で，そのショック用量 0.75mg/kg 静注にたいして全3例とも血圧および血漿 hist. 含量に変化をきたさなかつた．しかし，Tween 20, PVP のショック用量を静注すると正常犬と大差ない強度の血圧下降反応と同時に血漿 hist. の著明な増加がみとめられた．また Witte peptone のショック量 300 mg/kg (Mayeda, 1954) の静注も同様に強度の血圧下降を示した．あらかじめ牛血清で感作したイヌ4頭について sinom. 抵抗の状態にしたのち，抗原血清の誘発注射をおこなつた結果も同様で，やはり強度のショックと血漿 hist. の増加を防止する効果はみられなかつた．これらの実験のうち peptone ショックの3例において，血漿 hist. の上昇度が血圧下降度の割合に少ないのがやや異様だが，しかし，強いショック反応のみられたのは事実である．以上の実験結果は，sinom. 抵抗性は 48/80 と交叉耐性を示すが，Tween 20, PVP, peptone およびアナフィラキシー反応とは交叉耐性を示さぬことを明らかにした．

48/80 の反復注射によつてこの化合物の作用に完全に抵抗性となつたイヌ3頭について，sinom. のショック用量の反応をしらべた結果，反応がみられず両者の抵抗性の交叉性は 48/80 によつても同様に誘導されることがわかつた．

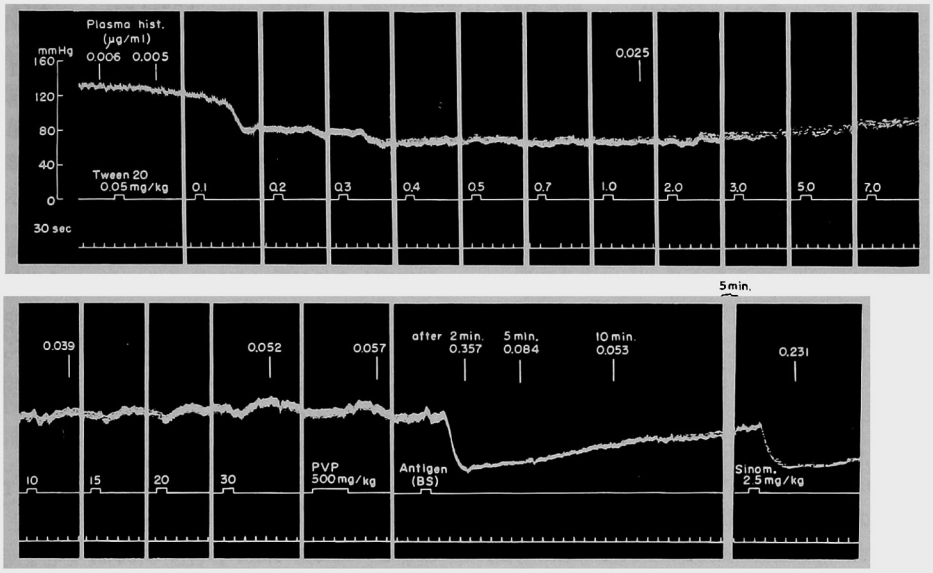
第2表は PVP および Tween 20 の漸増注射で，それぞれに抵抗性を誘導されたイヌについて，PVP, Tween および sinom. のショック用量の反応をしらべた結果である．表でわかるように，PVP で誘導

第1表 Sinomenine に抵抗性となったイヌの血漿 histamine 濃度と動脈血圧 (mean±S.E.)
48/80, Tween 20, PVP のショック用量およびアナフィラキシー抗原(感作犬)の作用.

| 例数 | Sinom. 前処置 注射回数 総注射量 * (per kg) | 誘発注射 (per kg) | 血漿 Histamine 濃度 (μg/ml) 誘発注射 前 | 2—3分後 | 10—12分後 | 動脈血圧 (mmHg) 誘発注射 前 | 後30分 最低圧 | 下降率 (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 3 | 18—22回 11.8—12.4mg | 48/80, 0.75mg | 0.006±0.002 | 0.008±0.003 | 0.006±0.001 | 132 ±5.3 | 132 ±5.3 | 0 |
| 3 | 19—23回 11.8—13.9mg | Tween 20, 30mg | 0.004±0.001 | 0.433±0.097 | 0.210±0.097 | 136 ±10 | 42 ±6.1 | 69 |
| 3 | 17—21回 12.3—13.0mg | PVP, 500mg | 0.018±0.003 | 0.221±0.051 | 0.262±0.031 | 135 ±11 | 42 ±4.4 | 69 |
| 3 | 19—21回 11.9—14.5mg | Peptone, 300mg | 0.014±0.005 | 0.117±0.017 | 0.041±0.013 | 140 ±11 | 31 ±5.9 | 78 |
| 4 | 18—23回 10.6—13.9mg | 牛血清** 2 ml | 0.017±0.006 | 1.097±0.344 | 0.213±0.099 | 133 ±21 | 16 ±6.5 | 88 |

* この欄の注射回数および総注射量は最後の sinom. 反応テスト注射用量 2.5mg/kg を含む.
** 牛血清感作の21—25日後.

第5図. Tween 20 抵抗犬におけるアナフィラキシーショック. 動脈血圧と血漿 hist. 含量. 牛血清感作 22日後, 10.3 kg, ♂, pentobarbital 麻酔.
Tween 20, 0.05 mg/kg から 20 mg/kg まで漸増15回（総注射量 65.2 mg/kg）靜注後, Tween 20 および PVP のショック用量には完全な抵抗性を示したが, アナフィラキシー抗原では著明な血圧下降と血漿 hist. 含量の増加がみとめられた. そのあと sinom. のショック用量にも反応がみられている.




第2表　PVP または Tween 20に抵抗性となったイヌの血漿 histamine 濃度と動脈血圧（mean±S. E.）. Tween 20, PVP および sinomenine のショック用量の作用.

| | 例数 | 前処置注射 回数, 総注射量* (per kg) | 誘発注射 (per kg) | 血漿 Histamine 濃度 (μg/ml) 誘発注射 前 | 2—3分後 | 10—12分後 | 動脈血圧 (mmHg) 誘発注射 前 | 後30分最低圧 | 下降率 (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| PVP抵抗犬 | 4 | PVP 15—23回 1665—2104 mg | Tween 20, 30 mg | 0.013±0.004 | 0.005±0.003 | —— | 122±8.0 | 124±9.5 | 0 |
| | 4 | PVP 15—23回 1665—2104 mg | Sinom. 2.5 mg | 0.007±0.002 | 0.817±0.241 | 0.292±0.082 | 122±13 | 33±4.9 | 73 |
| Tween 20抵抗犬 | 4 | Tween 20, 16—20回 95.3—99.9 mg | PVP 500 mg | 0.030±0.009 | 0.106±0.051 | —— | 107±4.0 | 100±7.7 | 7.2 |
| | 3 | Tween 20, 14—22回 91.6—95.6 mg | Sinom. 2.5 mg | 0.027±0.009 | 0.843±0.200 | 0.256±0.071 | 102±4.2 | 37±9.0 | 64 |

*　この欄の注射回数および総注射量は最後の反応テスト注射用量を含む.

した PVP 抵抗性のイヌは sinom. には反応するが Tween 20 には抵抗性を示し, Tween 20で誘導された Tween 抵抗性のイヌは sinom. によく反応し, PVP には抵抗性であることが示された. すなわち, Tween 20 と PVP の間には交叉耐性が生じうるが, sinom. との間には交叉性はない. 以上のほか, 第5図に示した実験例が示すように Tween と PVP に抵抗性のイヌにおいてもアナフィラキシーショックは依然発現した.

### C. 皮膚 Histamine 含量

上記の hist. 遊離物質の反復注射による抵抗性の誘導開始前と誘導完了直後にそれぞれ腹部の左右対称部から切除した皮膚の hist. 含量を比較すると, 第3表の左寄りの欄に示したように, 抵抗性誘導注

第3表 Sinomenine, PVP および Tween 20に抵抗性になる前と抵抗性になったあとのイヌの皮膚 histamine 含量ならびにそれらの皮膚からの sinomenine, 48/80, Tween 20 および PVP の *in vitro* histamine 遊離. (mean±S. E.)

| 例数 | 誘導抵抗犬の種類 | 皮膚 Histamine 含量 (μg/g) | *in vitro* Histamine 遊離率 (%) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 自然遊離 | Sinomenine 0.1 mg/ml | 48/80 20 μg/ml | Tween 20 0.4mg/ml | PVP 6 mg/ml |
| 6 | 抵抗性前 | 6.3±1.0 | 5.4±0.80 | 41±4.5 | 31±3.4 | 40±3.5 | 26±1.1 |
| 4 | Sinom. 抵抗 | 5.7±1.6 | 6.5±3.3 | 10±3.3 | 11±4.1 | 33±5.2 | 26±3.7 |
| 4 | PVP 抵抗 | 5.0±0.82 | 9.2±0.96 | 23±11 | 17±6.3 | 11±1.2 | 9.4±0.55 |
| 4 | Tween 20 抵抗 | 6.0±0.91 | 6.4±4.3 | 37±3.5 | 23±5.1 | 9.6±2.5 | 6.6±3.7 |

射開始前の平均値 6.3 μg/g にくらべると，抵抗性の獲得後では sinom. の場合 5.7μg/g で 8.8%減，PVP では 5.0 μg/g で17%減，Tween 20 の場合は 6.0 μg/g で 5%減となつている．例数が少ないので減少率の少ない Tween と sinom. による減少がそれぞれ有意であるかどうかを断定できないが，わずかの減少はあるように思われる．

**D. Sinomenine, PVP および Tween 20 抵抗性のイヌの皮膚からの *in vitro* Histamine 遊離**

Sinom, PVP および Tween 20 の反復漸増注射後，それぞれの遊離物質の大量静注に抵抗性となつたイヌの皮膚切片について，それら化合物および 48/80 による *in vitro* hist. 遊離をしらべた成績が第3表に示してある．この表の数値から sinom. および48/80 による遊離率が，sinom. 抵抗犬の皮膚では PVP および Tween 抵抗犬の皮膚よりも少なく，一方PVP および Tween による遊離率が PVP および Tween 抵抗犬より得た皮膚では sinom. 抵抗犬の皮膚より格段に少ないのがわかる．抵抗性誘導の注射前の対照皮膚からの遊離はどの化合物によつても著明におきている．PVP および Tween 抵抗犬の皮膚からの sinom. や 48/80 による遊離率が対照皮膚からの遊離率より幾分低いが，その理由については，現在のところ説明は困難である．

**E. 皮内反応**

Sinom. 3%，48/80 0.1%，PVP 10%および Tween 20 10%のそれぞれを含む 0.9% NaCl 溶液と何も含まない 0.9% NaCl の各液 0.05 ml を毛を刈つたイヌの腹部の皮内に，抵抗性誘導注射開始前40分および誘導完了直後に左右にわけて対称的に注射した．注射後5分と30分に膨隆した部分の長径と短径を測定し，それらの積の平均値をもつて皮膚反応の程度を比較した．

成績は第4表に示したように，対照における反応強度を標準としてみた場合，皮内反応の個体差を考慮するにしても，sinom. 抵抗のイヌでは sinom. お

第4表 Sinomenine, PVP および Tween 20に抵抗性になる前と抵抗性になった後の皮膚反応. Sinomenine, 48/80, PVP および Tween 20の皮内注射 (注射液量 0.05ml)

| 例数 | 誘導抵抗犬の種類 | 皮内注射後の時間 | 皮内注射 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Sinom. 3 % | 48/80 0.1 % | PVP 10 % | Tween 20 10 % |
| 6 | 抵抗性前 | 5 | ++ | ++ | + | + |
| | | 30 | +++ | ++ | +++ | ++++ |
| 3 | Sinom. 抵抗 | 5 | ± | ± | + | + |
| | | 30 | ± | ± | ++ | ++++ |
| 3 | PVP 抵抗 | 5 | + | + | ± | ± |
| | | 30 | +++ | +++ | ++ | ++ |
| 3 | Tween 20抵抗 | 5 | ± | ± | ± | ± |
| | | 30 | ± | ± | ± | ± |

±, 0.85% NaCl 注射対照の1—1.5倍 ; +, 1.5—2倍 ; ++, 2—3倍 ; +++, 3—4倍 ; ++++, 4倍以上.

よび 48/80 の反応が対照はもちろん，PVP 抵抗犬の皮膚に注射した場合よりも明らかに弱まつており，これに反し，PVP 抵抗のイヌの皮膚では PVP や Tween の反応が，対照犬および sinom. 抵抗犬の皮膚に注射した場合よりたしかに弱い．ただ Tween 20 抵抗となつたイヌの皮膚だけ Tween 20 と PVP の注射が弱いだけでなく，sinom. および 48/80 の注射の反応も同様に殆んどあらわれなかつたのは，奇妙である．この理由についても現在はつきりした説明は出来ないが，Tween 20 抵抗性誘導注射の途中では，まえに述べたように胸腹部皮膚に蕁麻疹様紅斑が全例にみとめられたことが関係あるのかもしれない．

## 考　察

Compound 48/80, sinomenine などの大量投与後強い血圧下降反応を示したイヌが，それらの二度目の投与にたいして反応を著しく減弱する現象については，遊離に利用される hist 貯蔵の枯渇によるというのが普通に考えられている原因であるが，かならずしもこのような説明では理解できない現象がある．著者らの研究室で，Endo and Yamasaki (1969) は sinom. および 48/80 の両 hist. 遊離物質に先天性耐性のイヌを21%の割合で見付けたが，それらのイヌは正常犬と同じように組織 hist. をもつており，また PVP および Tween 20 にたいしては正常犬同様の反応を示した．文献によれば Marshall and Hanna (1958), Halpern (1956) は 48/80 の投与により，この遊離物質に反応しなくなつたイヌが PVP には反応することを認め，両遊離物質の作用には交叉耐性のないことをのべ，Halpern (1960) は PVP と Tween 20 の間には交叉性があるが，それらと 48/80 や 1935 L との間にはそれがないと記録している．PVP の反復投与は急速に反応の不応状態をきたし，以後のショック用量にたえる事実は知られている (Halpern 1956; Hecht and Weese, 1943; Loubatières, 1948; Perlmutt, Parkins and Vars, 1953) が，最初の注射の24時間後には反応能力は回復するという．hist. を失つた肥満細胞がそのような短い時間内に反応能力を回復できないことはよく知られているので，この場合の抵抗性の成立は肥満細胞の hist. 枯渇のためとは考えにくい．

著者は今回，Slomka and Goth (1956) が 48/80 にたいする抵抗性を誘導した方法に倣つて sinom., PVP および Tween 20 につき用量を漸次増加しながら静注を繰りかえす方法により，これらの hist 遊離物質にたいして，正常犬ではショックをおこしうるそれら物質の大量にも全く反応しないような抵抗性をもつたイヌをつくるのに成功した．それらのイヌは，多数回に亘る注射の間に，Tween 20 の若干例以外は，動脈血圧の下降を示さず，また血漿 hist. 含量にも注目されるような上昇をきたさずに経過したことや，誘導前にくらべて皮膚の hist. 含量も最低 5% (Tween 20)，最高17% (PVP) の減少がみられた程度であつたから，これらの遊離物質を大量注射した場合とはちがつて，肥満細胞の hist. 貯蔵に障害をほとんど与えていないものとみてよいであろう．このような抵抗性をえたイヌについて，各遊離物質のショック用量を投与した結果は，48/80 と sinom. との間，PVP と Tween 20 との間に交叉耐性の成立すること，しかし，48/80-sinom. 抵抗性と PVP-Tween 20 抵抗性との間には交叉性のないことを，血圧下降反応ばかりでなく血漿 hist. 上昇反応の面からも確認した．この結果は，48/80 反応と Tween, PVP 反応との非交叉性をのべている Halpern (1960) の見解と一致するものであるが，今回の実験は氏らと異なり，hist. 貯蔵をほとんど減少させないままにして実験したものであるから，より高度の信頼性のある結果であるといえよう．

今回の実験では，さらにイヌの皮内にそれらの遊離物質を注射して作つた発疹の反応においても，同様の抵抗性の交叉性が認められることを供覧できた．また同様の関係が，摘出皮膚片からの *in vitro* hist. 遊離についても認められた．すなわち，48/80 と sinom. のいずれかで誘導された抵抗犬の皮膚からは，これら遊離物質による hist. 遊離は弱く，これに反し，PVP または Tween 20 が高率の hist. 遊離をきたすこと，また逆に PVP および Tween 20 抵抗犬の皮膚からの hist. 遊離はそれら化合物では弱く，sinom. または 48/80 によつて正常犬なみに強く遊離される事実を認めた．

教室の西山 (1959) はイヌの牛血清アナフイラキシーショックが，sinom. の大量 3 mg/kg 静注前処置後ではかなり軽減されることを報告した．しかし，PVP および Tween 20 前処置のアナフイラキシーへの影響については，報告者の成績は必ずしも一致していない．たとえば，Duricic ら (1959) は PVP の反復注射によつて血液 hist. の上昇をきたさなくなつた感作犬が依然強いアナフィラキシーショックをおこしたといい，Vukobratovic (1959) も 1935 L

第5表 Compound 48/80, Sinomenine, PVP および Tween 20 の性質の比較

| | 48/80, Sinomenine | PVP, Tween 20 |
|---|---|---|
| Hist. 遊離の速度 | 迅速（爆発的） | 緩慢 |
| 種属特異性 | 諸種動物 | イヌ属に特異的 |
| 臓器特異性 | 48/80：肝<br>Sinom.：肝および皮膚 | 皮膚 |
| 肥満細胞作用点 | 細胞膜表面 | 不明 |
| 化学的分類 | 塩基 | 高分子 |

の大量投与後それに抵抗性になつたイヌにおいて同様の結果をえている．一方，これにたいし，Cirstea and Suhaciu (1961) は PVP 処置犬で馬血清抗原の場合はアナフィラキシーショックは減衰しないが，卵白抗原の場合は減衰したという．また Halpern (1960) は PVP および Tween 20 前処置後アナフィラキシーショックの抑制を認めたという．今回の実験で，sinom. および Tween 20 の漸増反復注射によつてそれぞれに完全に抵抗性をえたイヌで，牛血清アナフィラキシーショックは依然強く発現し，とくに抑制をうけたという結果はみられなかつた．この結果は sinom. 大量注射後にアナフィラキシー抑制を認めたという西山 (1959) の成績と一致しないが，西山の場合には，大量の sinom. 1回静注前処置により多量の hist.（肝18～19%，皮膚28～48%）の遊離喪失がおきているのに，今回の方法による抵抗犬では hist. の実質的な喪失はないためであろう．

Mayeda (1953) は sinom. の大量静注後 Witte peptone の血圧下降，血液 hist. 上昇作用が強く抑制されたことを報告している．今回の著者の sinom. 抵抗犬では Witte peptone の血圧下降作用がとくに減弱したという所見はない．この違いも Mayeda の場合，大量の sinom. による組織 hist. の喪失が関係しているものとみてよかろう．結局アナフィラキシーおよび peptone によるショック反応は 48/80-sinom, PVP-Tween 20 の各抵抗性と交叉性をもたないとみるべきであろう．

以上の成績からみて，48/80 と sinom. 一方 PVP と Tween 20 の二つの遊離物質のグループはその hist. 遊離作用機構において相違があるものと考えられる．この2群の遊離物質につき判明している作用上の特徴は第5表に示したようで，諸性質において，sinom. と 48/80, PVP と Tween の間には共通性があることがわかる．このことは当然作用機構のうえでの共通性と非共通性を示すものとして，抵抗性の交叉，非交叉の区別を一応理解できる．

それでは，その抵抗性の発生機構はどうかということになると，それらによる hist. 遊離機構の判明しない現在その論考は困難である．可能性のある一つの推論は，肥満細胞膜における遊離物質にたいする receptors の逐次封塞による不活性化である．最近，著者ら (Tasaka, Sugiyama, Komoto and Yamasaki, 1970) は 48/80, sinom. などの塩基性遊離物質の作用点が肥満細胞の膜の表面にあることを microelectrophoresis によつて確めた．PVP と Tween 20 についてはまだ研究がないが，その可能性は濃い．他の推論として，その作用発現に要求される共役要素の中和による不活性化である．Goth (1966) はラットの *in vivo* または組織肥満細胞からは hist. を遊離する dextran が分離肥満細胞には作用せず，脳の acetone powder かまたは皮膚に存在する組織因子を加えると脱顆粒または hist. 遊離作用を呈することから，組織の肥満細胞にはその表面に dextran との反応に必須の物質が含まれていると考えている．このような因子が反復投与される hist. 遊離物質によつて中和されて失われる可能性も考えられる．一方，hist. 遊離物質の作用過程に酵素系の活性化が含まれるという見方は，種々の形において唱えられている．この場合の活性化要素のあるものが，Mongar and Schild (1962) が抗原抗体反応後に活性化されると説く蛋白分解酵素のように活性化後の寿命が短いものである場合，反復投与される遊離物質によつて逐次徐々に前段階のストックを消滅にみちびく可能性が考えられる．ただし，これらの推論は上記 receptor 説にくらべてやや論拠が乏しい．

Hist. 遊離物質の作用にたいする抵抗性の誘導，抵抗性の交叉性，非交叉性について観察された上記の知見は，遊離物質作用の種属特異性，臓器特異性の問題とともに，hist. 遊離機構に含まれる過程の多面性を示すもので，やがて重要な研究の足場とな

るであろう.

## 総　括

1. Histamine 遊離物質 sinomenine, compound 48/80, polyvinylpyrrolidone (PVP) および Tween 20 を pentobarbital 麻酔犬の静脈内に，それぞれ動脈血圧に変動を与えない微量から僅かづつ階段的に増量しながら，一定時間間隔で反復注射を重ねてゆくと，当該遊離物質のショック用量にたいして完全に抵抗性の状態に達せさせることができた．その間に血漿 hist. の増加はほとんどみられなかつた．これらの抵抗犬は hist. の血圧下降作用にたいしては正常麻酔犬と同様の感受性を示した.

2. このような抵抗性については，sinom. と 48/80 の間，PVP と Tween の間に交叉耐性が認められた．しかし，sinom-48/80 抵抗犬は PVP および Tween に，PVP-Tween 抵抗犬は sinom. および 48/80 に正常犬と同様に反応を示した.

3. これらの hist. 遊離物質にたいする抵抗犬の皮内反応においても，血圧反応および血漿 hist. 上昇反応と同様に耐性の交叉性および非交叉性が証明されたのみならず，切除皮膚からの *in vitro* hist. 遊離の難易についても同様の関係が認められた.

4. Peptone ショックおよびアナフィラキシーショックはこれら2つの型の抵抗犬のいずれにおいても抑制されずに発現した.

5. これらの抵抗性の発現機序について考察し，化学構造の相違する一群の遊離物質が肥満細胞における特定の作用点を共有することを推論した.

この研究は文部省科研，総合研究「生体アミンの貯蔵と遊離機構に関する研究」（代表者山崎英正教授）の分担課題，「肥満細胞からの Histamine の遊離機構」の一部としてなされたものである.

稿を終えるに臨み御指導と御校閲を頂いた山崎英正教授に深謝し，御援助を頂いた田坂賢二講師，佐伯清美助手，遠藤晃市助手と杉山勝三助手に感謝する.

本研究の一部は昭和42年6月4日，第31回日本薬理学会近畿部会（大阪府立大学農学部）において報告した.

## 文　献

1) Cirstea, M. and Suhaciu, G.: J. Physiol. (Paris), 53, 781 (1961)
2) Code, C. F.: J. Physiol. 89, 257 (1937)
3) Duricic, I., Savic, V., Spuzic, I. and Savic, V.: Acta med. jugoslav. 13, 399 (1959), cit. Giertz, H. and Hahn, F.: Heffter's Hdb. exp. Pharmac. 18, No. 1, 514 (1966)
4) Endo, K. and Yamasaki, H.: Acta Med. Okayama 23, 589 (1969)
5) Feldberg, W. and Talesnik, J.: J. Physiol. 120, 550 (1953)
6) Goth, A.: Mechanisms of Release of Biogenic Amines. (ed. U. S. von Euler, S. Rosell and B. Uvnäs) p. 371, Pergamon Press, Oxford, London, Edinburgh (1966)
7) Halpern, B. N.: Ciba Foundation Symposium on Histamine, p. 92, J. & A. Churchill Ltd., London (1956)
8) Halpern, B. N.: Fundamentals of Modern Allergy, p. 27, McGraw-Hill Book Co., New York, Toronto, London (1960)
9) Halpern, B. N., Liacopoulos-Briot, M. and Liacopoulos, P.: C. r. Séanc. Soc. Biol. 152, 285 (1958)
10) Hecht, G. and Weese, H.: Münch. med. Wschr. 90, 11 (1943)
11) Irino, S.: Acta Med. Okayama 12, 93 (1958)
12) Loubatières, A.: C. r. Séanc. Soc. Biol. 142, 1304 (1948)
13) Marshall, L. H. and Hanna, C. H.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 97, 587 (1958)
14) Mayeda, H.: Jap. J. Pharmac. 3, 62 (1953)
15) Mayeda, H.: Jap. J. Pharmac. 3, 73 (1954)
16) Mongar, J. L. and Schild, H. O.: Physiol. Rev. 42, 226 (1962)
17) 西山良策：岡山医会誌 71, 115 (1959)
18) Nishiyama, R., Tasaka, K. and Irino, S.: Acta Med. Okayama 11, 133 (1957)
19) Paton, W. D. M.: Br. J. Pharmac. 6, 499 (1951)
20) Perlmutt, J. H., Parkins, W. M. and Vars, H. M.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 83, 146 (1953)

21) Riley, J. F. and West, G. B.: Archs int. Pharmacodyn. Thér. 102, 304 (1955a)
22) Riley, J. F. and West, G. B.: J. Path. Bact. 69, 269 (1955b)
23) Slomka, M. B. and Goth, A.: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 93, 30 (1956)
24) Tasaka, K., Sugiyama, K., Komoto, S. and Yamasaki, H.: Proc. Japan Acad. 46, 311 (1970)
25) Vukobratovic, S.: Acta med. jugoslav. 13, 393 (1959), cit. Giertz, H. and Hahn, F.: Heffter's Hdb. exp. Pharmac. 18, No. 1, 515 (1966)
26) Yamasaki, H., Endo, K. and Saeki, K.: Acta Med. Okayama 23, 453 (1969)

## Studies on the Induced-Resistance and Cross-Tolerance to Some Histamine Releasers

By

Shigemitsu KOMOTO

Department of Pharmacology, Okayama University Medical School, Okayama
(Director: Prof. H. Yamasaki)

When histamine releasers such as sinomenine, compound 48/80, PVP and Tween 20 were given intravenously by a series of injections in the scheduled doses increasing very gradually from a minute amount, dogs were made resistant against the shock doses of respective releaser while there were no significant changes both in the arterial blood pressure and in the plasma histamine level, i. e. no evidence of histamine release during the procedure. These resistant dogs responded well to intravenous injection of histamine as in the normal dog. The dogs made resistant to compound 48/80 were found also to be resistant to sinomenine and *vice versa* (cross tolerance). A cross-tolerance was also noticed between PVP- and Tween 20-resistant dogs. However, the dogs resistant to sinomenine and to 48/80 reacted to both PVP and Tween 20 as normal dogs. And the same was held in the converse. Similar findings were also seen in the skin reaction and in the histamine release from the chopped skin by these histamine releasers. In neither of these two groups of the resistant dogs, anaphylactic shock and peptone shock were inhibited. The mechanisms leading to a resistance against a certain releaser by repeating the injections of it were discussed and it was assumed that a family of histamine releasers of different chemical structures possibly share a common site of action on the surface of mast cell membrane.

Author