

犬のアナフィラキシーに関する研究

第 2 編

抗 Histamine 剤による犬のアナフィラキシー における Histamine 遊離の抑制

岡山大学医学部薬理学教室 (主任：山崎英正教授)

西 山 良 策

[昭和 33 年 10 月 2 日受稿]

緒 言

Dragstedt & Gebauer-Fuelnegg (1932)¹⁾, Dragstedt & Mead (1936)²⁾ 及び Code (1939)³⁾ は犬のアナフィラキシー・ショック時に胸管リンパ及び血液の中に Histamine の遊離される事実を供覧した。アナフィラキシー・ショックの場合及び Histamine を静脈内注射した場合の血液内増量 Histamine の消失時間を比較研究した Dragstedt & Mead (1936)²⁾ 及びそれらの場合の血中 Histamine 濃度を定量比較した Code (1939)³⁾ はアナフィラキシー・ショック中に遊離される Histamine は量的にみてその場合に観察される循環系反応を十分に説明しうるものであると結論した。

犬のアナフィラキシー反応に肝臓のもつ第一義的な重要性を主張する実験的事実がかなりあげられている (Manwaring 1910⁴⁾, Vaegtlin & Bernheim 1911⁵⁾, Denecke 1914⁶⁾, Simonds & Brandes 1927⁷⁾, Ojars, Holmes & Dragstedt (1941)⁸⁾ は犬のアナフィラキシー・ショックの前後の肝臓 Histamine 含量を実測し、ショックによつて肝臓から失われる Histamine 量は 3.3 mg から 75.5 mg に及ぶことを認め、この用量の Histamine を投与した場合に認められる血圧下降効果 (Dragstedt & Mead 1936) と比較して、この肝臓からの Histamine 遊離量は観察されたアナフィラキシー・ショックの程度を説明しうるものであるとのべている。しかし他方、肝臓摘出を行つた犬でも 'Typical anaphylaxis' を観察できたという Water & Markowitz (1940)⁹⁾¹⁰⁾ の報告はこれらの諸家の見解と同調していない。Itoh (1933)¹¹⁾ もまた肝臓血行遮断及び消化管の全摘出後の犬で牛血清抗原再注射による血圧下降を報告している。しかし、犬のアナフィ

ラキシーにおいて肝臓以外の組織から Histamine が如何なる程度に遊離されるかについてはあまり研究されていない。

私は前の研究¹²⁾ で Benadryl が犬のアナフィラキシー・ショックの血圧下降に対し、Histamine の血圧下降に対するよりも一層強く拮抗するという事象を見出し、その理由を追究した結果、この抗 Histamine 剤が牛血清感作犬の血清抗体に対して抗原との結合力を弱め、沈降反応の発現を阻害する影響を与える事実を認めた。この知見は Benadryl の犬のアナフィラキシー抑制作用は血液中に遊離される Histamine の作用との拮抗の他に、抗原・抗体反応の段階において既に阻止的に働らきその結果おきるべき Histamine の遊離を妨げるという影響にもよるべきことを示唆するものである。

本編ではこの示唆に従つて、アナフィラキシーにおける血漿及び胸管リンパ中への Histamine 遊離ならびに肝臓、骨格筋及び皮膚の Histamine 含量の変化に対する Benadryl の影響を定量的に研究した。

実験材料及び方法

胸管リンパ及び血漿 Histamine 含量の測定：

胸管リンパ液については抗原再注射の前と後 0～15分、15～30分、30～45分、45～60分の各々15分間 Portion について Code 法¹³⁾ により抽出した。血液は抗原再注射前と注射後 2, 20, 45及び60分に大腿静脈から3.8% Sod. citrate 2.0 cc を含む注射器中へ8.0 cc を採取し直ちに遠沈して血漿を分離し、同じく Code 法によつて Histamine を抽出した。

肝臓、皮膚及び筋肉の Histamine 含量の測定：

抗原再注射の前及び30分後のこれら組織の Histamine 含量を実測した。肝臓は左右両葉から

それぞれ、注射前左側、後は右側の相対応する部分から、皮膚は大腿外側より、筋肉は *M. glutaecus maximus* から、いずれも 3g の材料を得るに必要なだけ切除した。摘出組織は生理食塩液でよく洗い、吸取紙で水を切り秤量した。皮膚材料では毛及び皮下組織を十分に除去した。2回の手術の間の止血には肝臓では腸鉗子を用い他の組織では出血血管の結紮を行い、充分注意した。これら組織の Histamine 抽出は Smith (1953)¹⁴⁾ の方法によつた。

臓器全体からの Histamine 遊離量を計算するために、定量用組織片をとつた後の肝臓は生理食塩液で濯流後圧迫してできるだけ血液を除き全重量を秤量した。Ojars ら⁸⁾ の実験によるとこの方法で測つた肝重量は正常犬の肝重量と体重比で著しい相違がないとみられるので、ショック前後の総 Histamine 含量の計算にはこの重量を供用することにした。皮膚では Rubner (1885)¹⁵⁾ の式により全身皮膚面積をもとめてそれより総重量を算出した。骨格筋からの Histamine 遊離はすべての例で認められなかつたので総重量の計算は不必要であつた。その他の実験方法は前編のとおりである。

実 験 成 績

1. アナフィラキシー・ショックにおける血漿及び胸管リンパ中の Histamine 濃度の消長

a. 無処置犬について

予備的実験として3頭の無処置感作麻酔犬につき抗原注射の前及び後2, 20及び45分の4回の採血血漿及び前及び後5分毎の採取胸管リンパについてモルモット腸管収縮作用強度の変化を検べた。

血漿の腸管収縮作用は抗原注射直後(2分後)既に著しく高まり、すべての例で注射前の強度の10倍前後に達した。この効果は時間とともに減弱したが45分後には1例をのぞきなお注射前のそれに復しなかつた。胸管リンパの腸管収縮作用は注射直後の5分間のものではまだ増加はみられず5~10分間のものに増加がはじまり、10~15分のもので注射前のものの15倍に達した。この回復も比較的早く40~45分後のものではいずれも抗原注射前のものと大差をみなかつた。これらの犬では同時に記録した血圧の、抗原注射後30分までに認めた最大下降率は80~89%であつた。

そこで、別の3頭について同様の実験を繰り返し、リンパ及び血漿の Histamine 含量を Code 法によつて定量してみた。この定量法ではサンプルを多く

Table 1. Histamine in the thoracic lymph and blood plasma before and during anaphylactic shock in dogs.

Time after injection of antigen	# 88, 8.0 kg ♂		# 89, 7.0 kg ♂		# 120, 8.0 kg ♀		Average	
	Lymph flow cc/15min.	Plasma hist. µg/cc	Lymph flow cc/15min.	Plasma hist. µg/cc	Lymph flow cc/15min.	Plasma hist. µg/cc	Lymph flow cc/15min.	Plasma hist. µg/cc
min. Before	7.5	0.044	3.9	0.037	8.4	0.059	6.6	0.074
0-15	25.5	1.540	8.0	1.350	13.5	2.020	15.7	1.637
15-30	16.5	0.606	6.6	1.010	dead		11.6	0.808
30-45	17.0	0.508	5.9	0.112			11.5	0.310
45-60	13.0		5.0	0.059			9.1	0.059
Ratio of 30 min. lymph flow before to after shock		5.6		3.7				4.7
Max. fall of B.P. within 30 min. (%)		87		90		100		92

*) Blood samples during shock were drawn 2, 20, 45 and 60 minutes after antigen injection.

要するので、リンパは15分間の Portion について測定した。

成績は Table 1 及び Fig. 1 に示した如くで、血漿 Histamine の増加は再注射直後に最高に達し 3 例平均で $1.9 \mu\text{g}/\text{cc}$ ($1.35 \sim 2.65 \mu\text{g}/\text{cc}$) (注射前の 33 倍)、15 分後にショック死した 1 例 #120 では 40 倍に近い上昇 ($2.65 \mu\text{g}/\text{cc}$) がみられた。増加の消退は比較的早く 1 例 #89 では 45 分後既に旧値に復したが、他の例では 60 分後の採血血漿で回復がみられた。リンパ Histamine 濃度は再注射後の 15 分間で平均 $1.64 \mu\text{g}/\text{cc}$ ($1.35 \sim 2.02 \mu\text{g}/\text{cc}$) (再注射前の約 35 倍) の最高値を示し 45~60 分間 Portion で注射前値に復している。

これらの場合における抗原再注射後 30 分までにお

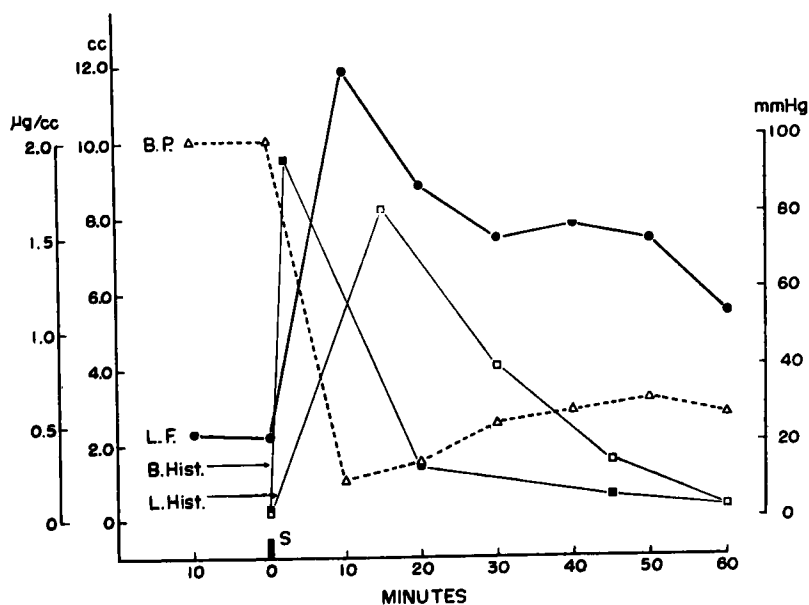


Fig. 1. Increase in histamine content of the blood plasma and thoracic lymph during the anaphylactic shock in dogs. Marked increase of the lymph flow from the thoracic duct and severe hypotension are also illustrated. B. Hist. : histamin in blood plasma ($\mu\text{g}/\text{cc}$); L. Hist. : histamine in lymph (15 min. portion) ($\mu\text{g}/\text{cc}$); B. P. : arterial blood pressure (mm Hg); L. F. : lymph flow from the thoracic duct in cc per 10 min. S : bovine serum injection. Average of 3 similar experiments presented in Table 1.

ける最大血圧降下度は平均 92 (87~100) % であつた。

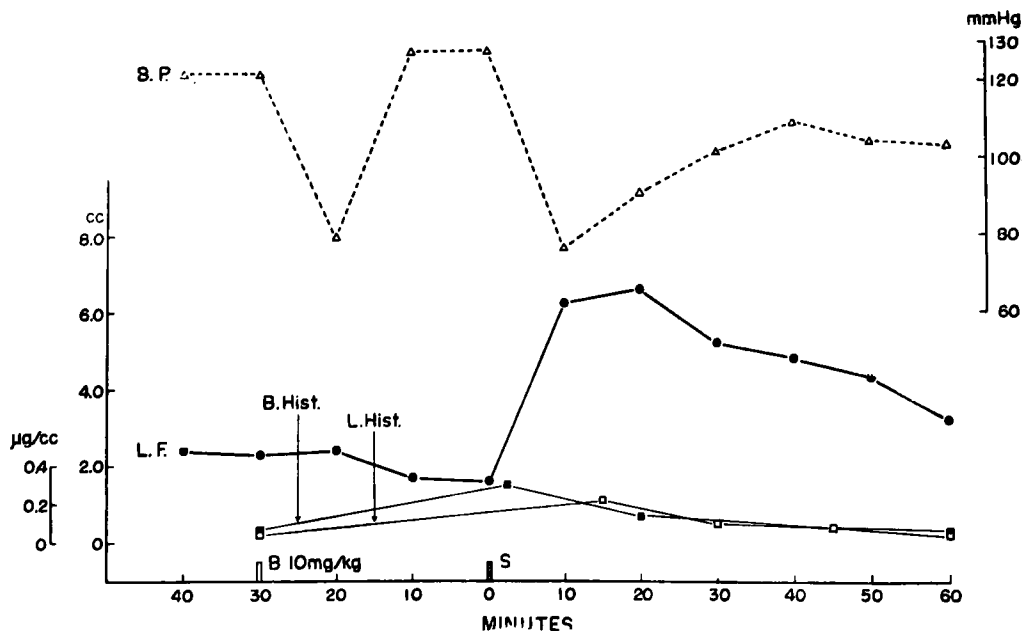


Fig. 2. Changes of histamine content of the blood plasma and thoracic lymph in the Benadryl-protected anaphylactic shock. Curves of the rate of lymph flow and the arterial blood pressure are accompanied. B : Benadryl hydrochloride. Other symbols are as in Fig. 1. Average of 3 similar experiments presented in Table 2.

Table 2. Histamine in the thoracic lymph and blood plasma before and during anaphylactic shock in dogs. Benadryl hydrochloride 10 mg/kg was injected intravenously 30 minutes before antigen.

Time after injection of antigen	# 103, 7.0 kg ♀		# 104, 10.5 kg ♂		# 105, 6.0 kg ♂		Average	
	Lymph flow	Plasma hist.	Lymph flow	Plasma hist.	Lymph flow	Plasma hist.	Lymph hist.	Plasma hist.
min.	cc/15min.	μg/cc	cc/15min.	μg/cc	cc/15min.	μg/cc	μg/cc	μg/cc
Before (A)*	4.8	0.059	7.6	0.044	8.7	0.059	7.0	0.051
" (B)*	4.0		5.9		6.9		5.9	
0-15	7.8	0.126	11.4	0.204	9.7	0.337	9.6	0.222
15-30	6.5	0.084	10.3	0.102	8.7	0.102	8.4	0.096
30-45	5.5	0.066	8.7	0.070	6.9	0.070	7.0	0.069
45-60	4.0	0.059	6.2	0.059	5.9	0.059	5.4	0.059
Ratio of max. lymph flow to A to B		3.0		2.9		2.1		2.7
Max. fall of B.P. within 30 min. (%)		3.6		3.7		2.6		3.3
		17		25		74		39

*) A : Before Benadryl, B : After Benadryl.

b. Benadryl 前処置犬について

抗原血清注射の30分前に Benadryl 10 mg/kg を静注した犬について得た成績は Table 2 及び Fig. 2 の如くである。血漿及びリンパの Histamine は無処置犬の場合の如く夫々2分後及び0~15分のもので最高に達したが、前者の最高は3例平均血漿では 0.3 μg/cc (0.204~0.471 μg/cc) (抗原注射前の4.5倍)、最も増加した#105犬でも7.8倍にすぎない。

リンパ Histamineの最高は平均0.22 μg/cc (0.126~0.337 μg/cc) (抗原注射前値の4.5倍)、最高増加例は同じく#105犬で約6倍である。即ち、無処置犬の場合に比べて平均増加は血漿及びリンパ Histamine とも 1/7~1/8 に過ぎない。Benadryl 前処置犬の抗原注射後の上昇 Histamine 値は血漿では20~45分間には回復、リンパにおいても30~45分間のものに殆んど回復がみられる。

これらの場合のアナフィラキシー血圧下降率も少く平均39 (17~74) %であった。

2. 肝臓、皮膚及び筋肉の Histamine の遊離

a. 無処置犬について

各組織の Histamine 含量には個体差が相当認められるが3例の犬のいずれも、ショック後の肝臓及び皮膚にはかなりの Histamine の減損がみられた。しかし筋肉からの遊離は全く認められなかつた。Table 3 はその成績で、肝臓からの組織g当りの Histamine 遊離率は3例平均53.8 (50~56) %で極めて大きく、臓器全体として平均6 mg (4.6~8.3 mg) の遊離である。全皮膚からの遊離は1 mg (0.5~1.33 mg) でその1/6だが、g当りの遊離率は28.9% (24.3~36.5%) で、肝臓からの遊離率の1/2をこえていることは注意すべき所見である。

これらの犬は平均90 (83~98) %の血圧下降を起している。

Table 3. Liver, skin and muscle histamine before and after anaphylactic shock in dogs.

Dog	Organ	Initial histamine	Post shock histamine	Difference	% hist. release	Hist. lost from whole organ	Max. fall of B. P. within 30 min.
I. 9.0 kg (# 90 ♂)	Liver	30.3	13.5	16.8	55.5	4.62	83
	Skin	7.4	4.7	2.7	36.5	1.25	
	Muscle	0.8	0.8	0	0	0	
	Total						
II. 8.0 kg (# 93 ♂)	Liver	30.7	13.5	17.2	56.0	5.16	98
	Skin	4.7	3.4	1.3	27.7	0.50	
	Muscle	1.6	1.6	0	0	0	
	Total						
III. 9.0 kg (# 94 ♀)	Liver	67.4	33.7	33.7	50.0	8.32	98
	Skin	11.5	8.7	2.8	24.3	1.33	
	Muscle	1.4	1.4	0	0	0	
	Total						
Average	Liver	42.8	20.2	32.6	53.8	6.03	90
	Skin	7.8	5.6	2.3	29.5	1.03	
	Muscle	1.3	1.3	0	0	0	
	Total						

b. Benadryl 前処置犬について

Table 4 に示された成績にみられるように肝臓及び皮膚からの Histamine 遊離は無処置犬の場合に

比して著しく少い。肝臓からの遊離率は3例平均で17.4% (14.8~22.3%), 全肝臓からの遊離量は平均2.2 mg (1.16~3.57 mg) で、無処置犬の場合

Table 4. Liver, skin and muscle histamine before and after anaphylactic shock in dogs injected with Benadryl hydrochloride 10 mg/kg 30 minutes before shock.

Dog	Organ	Initial histamine	Post shock histamine	Difference	% hist. release	Hist. lost from whole organ	Max. fall of B. P. within 30 min.
I. 7.0 kg (# 95 ♂)	Liver	57.9	49.2	8.7	15.0	1.90	6
	Skin	8.1	6.7	1.4	17.3	0.42	
	Muscle	3.4	3.4	0	0	0	
	Total						
II. 7.0 kg (# 96 ♂)	Liver	33.7	28.7	5.0	14.8	1.16	5
	Skin	5.4	4.7	0.7	13.0	0.25	
	Muscle	1.7	1.7	0	0	0	
	Total						
III. 9.5 kg (# 101 ♂)	Liver	60.6	47.1	13.5	22.3	3.57	57
	Skin	5.3	4.7	0.6	11.3	0.26	
	Muscle	2.0	2.0	0	0	0	
	Total						
Average	Liver	50.7	41.7	9.1	17.4	2.21	23
	Skin	6.3	5.4	0.9	13.9	0.31	
	Muscle	2.4	2.4	0	0	0	
	Total						

の約 $\frac{1}{3}$ である。皮膚からの遊離は遊離率14% (11.3~17.3%), 全身皮膚からの遊離は平均 0.3 mg (0.25~0.42 mg) でこれもまた無処置犬の場合の $\frac{1}{3}$ 前後である。これらの犬では血圧下降率は平均 22.8 (4.7~57) %であった。

考 察

犬のアナフィラキシー・ショックにおける血漿及び胸管リンパ中の Histamine 増量の事実は私の今回の実験においても確かめられ、充分ショックを起した3頭の平均では血漿 Histamine 含量はショック前に比らべ33倍、リンパ Histamine は35倍に上昇した。これらの Histamine 値は1時間以内に殆んど回復しているので持続性の短い事実もまた Dragstedt ら²⁾の所見に一致している。Benadryl 前処置後はアナフィラキシー血圧下降度と胸管リンパ催進の度がともに減弱したのと平行して血漿及びリンパの Histamine 含量の上昇度が減じ、その復旧時間も対照にくらべて短縮した。この所見は Benadryl で防備された犬でも抗原再注射後血中 Histamine は対照と同様に上昇したという Wells, Morris & Dragstedt (1946)¹⁶⁾の成績とは一致しない。しかし、私の成績では無防備の場合にくらべて血漿及びリンパ Histamine 値の増加は最高 $\frac{1}{7}$ ~ $\frac{1}{8}$ に過ぎないのでその差は極めて著明といわねばならない。個々の例についてみるとこの場合血圧下降及びリンパ流の増加の抑制度の割合からみて、これら体液 Histamine 含量の抑制はむしろ強度にすぎないものもある程である (Fig. 2)。この所見は Benadryl の抗アナフィラキシー作用が、少くとも血液中に遊離される Histamine との拮抗のみによるものではないことを明示しており、かつ Histamine 遊離そのものに対する著明な抑制作用に関するところが頗る大きいことを示唆するものである。

アナフィラキシー・ショックにより肝臓及び皮膚からの Histamine 遊離が認められたが筋肉からの遊離は検出できなかつた。肝臓 Histamine のショックによる減少は極めて著しく平均 g 当り54%, 肝臓全体として平均 6 mg に達している。この量は Ojars ら⁸⁾の実験例にくらべては少いが、肝重量の相違によるものではないかと思う。この実験で注意されねばならぬことは従来の実験者が看却していた皮膚からの Histamine 遊離もまたかなり大きいことで、遊離総量において肝臓からの遊離の $\frac{1}{6}$ に達し、而も g 当り遊離率は肝臓のその $\frac{1}{2}$ にも達してい

る。皮膚の Histamine-含量は肝臓のそれにくらべては少いが、人の場合とほぼ同程度 (Perry 1956)¹⁷⁾で 8 μ g/g 附近であるから、この遊離の割合は十分に局所血管反応を起し、血圧の下降にも少なからぬ意義をもつものとみななければならない。既述のように肝臓摘出乃至内臓除去後にも犬のアナフィラキシー発症を認めた Water & Markowitz⁹⁾¹⁰⁾及び Itoh¹¹⁾の報告はこのような肝臓以外の臓器特に皮膚からの著しい Histamine 遊離の事実によつても説明が可能で、肝臓のみが Histamine 遊離の場所でないのみならず又唯一のショック発現の原因であると考えられるわけにはゆかないと思われる。全身血管殊に皮膚血管の反応を考慮から除外することはできないからである。Benadryl によつてショックの防禦された犬では、しかし、これらの肝臓及び皮膚からの Histamine 減損 (遊離) は著明に抑制され、肝臓、皮膚とも無処置犬の場合のほぼ $\frac{1}{3}$ に過ぎなかつた。この抑制の割合は血漿及びリンパ中の Histamine 最大増加に対する抑制度にくらべては少いように見えるが、これらの体液への Histamine 遊離量についてはその総量を問題にしなければならない。

兎も角、以上の如く、Benadryl 防備下におけるアナフィラキシーでは組織 Histamine の遊離が著明に抑制されることは確実となつたが、この所見は前報¹²⁾で得た知見、即ち、この薬物がこの動物の流血中において沈降素に作用し、沈降反応の発現を著明に抑制するという事実を裏付けうるものとみることができるよう思う。しかし、山崎、田坂 (1957)¹⁸⁾は Benadryl 及び Neoantergan がラットの皮膚からの Sinomenine による Histamine 遊離を大量では促進するが 5 mg/kg 附近の用量では抑制することを報告しており、河本 (1958)¹⁹⁾は Compound 48/80 によるラット腸間膜肥満細胞の崩壊が Neoantergan によつて一部抑制される事を観察している。従つて、アナフィラキシーにおける Histamine 遊離の Benadryl による抑制が一部この薬物自身の細胞 (特に肥満細胞) に対する Histamine 遊離防禦作用にも負うことも一応考えに入れなければならない。又 Fig. 2 に示された成績にみるように血漿及びリンパ中への Histamine 遊離が著明に抑制されているにもかかわらず催リンパ及び血圧下降の抑制がその割合に少ない例のみられることは、これら体液中へ遊離される Histamine 以外の要因乃至活性物質の作用が催リンパ及び血圧下降に一部関与をすることを示唆するものとみることが出来る。

総 括

1) 犬の牛血清アナフィラキシー・ショックに際して血漿 Histamine は誘発注射前の33倍, 胸管リンパ Histamine は40倍に達する増量をきたした。

Benadryl 10 mg/kg 30分前投与の誘発注射では前者の最高増加は4.5倍, 後者のそれも4.5倍 (いずれも3例平均) に過ぎなかつた。

2) 同様無防備のショック時に肝臓の Histamine 含量は54%の減少, 総肝臓で6mgの遊離をきたしたほか, 皮膚の Histamine 含量は29%の減少, 総皮膚から1mgの遊離をきたした。骨格筋からの Histamine 遊離はみられなかつた。Benadryl で防禦された犬では肝臓からの Histamine 遊離は17.4%,

総肝臓で2.2mg, 皮膚からの遊離は14%, 総皮膚から0.3mgに過ぎなかつた (いずれも3例平均)。

3) 上の成績は Benadryl が犬のアナフィラキシーに際して抗原と抗体 (沈降素) の結合を阻碍する作用を有することを認めた前報¹²⁾ の知見を支持するものである。

本論文の要旨は昭和29年11月3日第2回日本薬理学会近畿西南合同部会 (徳島) 及び昭和30年4月2日第4回日本アレルギー学会総会 (京都) に於て発表した。

引 用 文 献

- 1) Dragstedt, C. A. and Gebauer-Fuelnegg, E. · Amer. J. Physiol. 102, 512 (1932)
- 2) Dragstedt, C. A. and Mead, F. B. : J. Pharmacol. 57, 419 (1936)
- 3) Code, C. F. Amer. J. Physiol. 127, 78 (1939)
- 4) Manwaring, W. H. : Z. Imm.-Forsch. 8, 1 (1910)
- 5) Voegtlin, C. and Bernheim, B. M. : J. Pharmacol. 2, 507 (1911)
- 6) Denecke, G. : Z. Imm.-Forsch. 20, 501 (1914)
- 7) Simonds, J. P. and Brandes, W. W. : J. Immunol. 13, 1 (1927)
- 8) Ojars, G., Holmes, C. A. and Dragstedt, C. A. : J. Pharmacol. 73, 33 (1941)
- 9) Waters, E. T. and Markowitz, J. · Amer. J. Physiol. 130, 379 (1940)
- 10) Waters, E. T., Markowitz, J. and Jaques, L. B. : Science 87, 582 (1938)
- 11) Itoh, K. · Arb. Med. Fakult. Okayama 4, 1 (1933)
- 12) 西山良策 : 岡山医学会雑誌, 71, 93 (1959)
- 13) Code, C. F. : J. Physiol. 89, 257 (1937)
- 14) Smith, A. N. : J. Physiol. 121, 517 (1953)
- 15) Rubner, M. · Z. Biol. 19, 535 (1885)
- 16) Wells, J. A., Morris H. C. and Dragstedt, C. A. : Proc. Soc. exp. Biol., N. Y. 61, 104 (1946)
- 17) Perry, W. L. M. : Ciba Symposium on Histamine, p. 242, Churchill, London (1956)
- 18) Yamasaki, H. and Tasaka, K. : Acta Med. Okayama 11, 290 (1957)
- 19) 河本昭二郎 : 岡山医学会雑誌, 70, 3187 (1958)

Studies on Canine Anaphylaxis

Part 2. Inhibition of Histamine Release by an Antihistamine in the Canine Anaphylaxis

By

Ryosaku NISHIYAMA

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

In the bovine serum anaphylaxis of the dog the histamine content in blood plasma was increased about 33 times and in the thoracic lymph 40 times that before reinjection. In the dogs injected with 10 mg/kg Benadryl 30 minutes prior to reinjection the maximum increase of the plasma histamine was only 4.5 times and that of lymph histamine also only 4.5 time (the average of three cases in each).

In the unprotected sensitized dogs the histamine content of the liver was reduced by 54 per cent and about 6 mg of histamine was depleted of the whole liver, and 29 per cent of the skin histamine and 1 mg histamine reduced from the whole skin, under a similar shock. Histamine release from the skeletal muscle could not be recognized in any dog. In Benadryl-protected dogs 17.4 per cent of histamine was released from the liver; 2.2 mg from the whole liver; 14 per cent from the skin; and 0.3 mg from the whole skin (the average of 3 cases in each).

These results support the contention that Benadryl inhibits the union of antibody (precipitin) and antigen in the dog in anaphylaxis as reported in the preceding part of this series of studies.
