

薬物による組織肥満細胞の崩壊に関する定量的研究

岡山大学医学部薬理学教室 (主任：山崎英正教授)

河本 昭 二 郎

[昭和33年7月2日受稿]

結 言

Heparin¹⁾ 及び Histamine²⁾ の主要な局在が組織肥満細胞にあることについては今日疑のないまでに証拠が蓄積している。近年 Asboe-Hansen³⁾ らはこの細胞が Heparin 様の先駆物質から Hyaluronic acid を生成分泌し、組織基礎物質の補給に関与するとのべており、又最近この細胞中における 5-Hydroxytryptamine (5-HT) の存在も指摘されている^{4,5)}。このようなこの細胞に関する生理学的の意義の主要性の認識は同時にその形態学的な研究によつても進展してきた。

Riley⁷⁾ は既知の Histamine 遊離物質がラットに投与された場合、肥満細胞に崩壊の変化をおこすことを発見した。この事実を私^{8,9)} はラット、マウス及び犬で他の Histamine 遊離物質についても確認した。この実験⁹⁾ で犬についての肥満細胞崩壊がその Histamine 遊離作用と臓器の種類について平行的であることを供覧した。

ラットの腸間膜は摘出組織の肥満細胞に対する薬物の影響を研究する目的に適している。Norton¹⁰⁾ は Histamine 遊離物質、Compound 48/80の異つた batch の効果を比較するのに、この組織細片を使用している。この組織細片の使用は薬物による肥満細胞の崩壊作用を graded response として表現できる可能性を示したところに興味を覚えた。しかし氏の記載したままの手技では人工的な崩壊率が不定に且つ比較的高率に出現するのを避け難いのに気付き、その一部を改良することによつてその欠点を除去する必要があつた。

今回の報告はこのラット腸間膜を用い *in vitro* 肥満細胞崩壊の定量的研究方法について記載し、この方法によつて検索した若干の薬物のこの細胞に対する崩壊作用とそれに及ぼす二、三の条件の影響についてのべる。

実験材料及び方法

100-200 g 体重の雄性白色ラットを Ether 麻酔

で殺し、直ちに開腹、腸間膜を小腸とともにその起始部から切り離して Ringer-Locke 液 (NaCl 0.9% KCl 0.042%, CaCl₂ 0.024%, NaHCO₃ 0.015% 及び glucose 0.1%) にとる。この液の中で腸間膜に張力の加わらぬよう注意して、鋭利な鉋で腸間膜を 8-10 箇のはぼ均等な小片に分ける (Norton はこの腸間膜の小片に区分する操作を腹腔内で 5分以内に手早く行うとのべているが、この方法では人工的崩壊が多い。Ringer-Locke 液中での操作は急ぐ必要はない)。以下次の操作による。

1) 37°C に保つた被検液通常 Ringer-Locke 液に溶解) に腸間膜小片を一定時間浸漬する (Norton は室温)。

2) 4% Formaldehyde を含む 0.5% Toluidine blue 水溶液に移し、40-50分間固定染色を行う。

3) 純 Alcohol を 10-15分づつ 3回通過さす (Norton は Acetone を用いているが、組織片がよぢれて結果がよくない)。

4) Xylene を通過し、Balsam で mount する。この場合、30-50 g の重量を加えておく。倍率150で腸間膜を5つの領域に区分し、次で各区分毎に倍率570で視野内の肥満細胞を時計の針の進む方向に12時の位置から10箇を数える。こうして1片の腸間膜で総数50箇を数えて、その崩壊細胞の百分率をもとめる。細胞に顆粒脱出を認めるものをすべて崩壊として計算した。1被検液につき1回の実験毎に組織片2箇を用い、同一の実験を4~5回繰り返えし、都合8~10組織片についての崩壊率平均値をもつてデータとした。

Norton は薬物を含まぬ Ringer-Locke 液に30分浸漬した対照で4-6%の崩壊率をえている。私の同方法追試の結果も約4%崩壊率を認めた。上記の改良法によると30分間浸漬で崩壊率は僅かに0.3±0.4%に過ぎなかつた (Table 1)。

実験成績

1. Compound 48/80 についての実験

Compound 48/80⁽¹¹⁾(*p*-Methoxyphenethylmethylamine と Formaldehyde の condensation product, Dr. E. de Beer, Wellcome Research Laboratories, Tuckahoe 7, New York より分譲さる) の 0, 0.4, 0.6, 0.8 及び 1.6 $\mu\text{g}/\text{cc}$ を含む Ringer-Locke 液に 15, 30, 60分間作用させた場合の崩壊率は Table 1 の如くである。作用時間30分の場合の濃度-作用曲線が Fig. 1 に示してある。薬物不含の場合の崩壊(人工的崩壊)率は, 30分までは $0.3 \pm 0.4\%$, 60分では $2.3 \pm 0.59\%$ で, Norton 法の 4-6% に比べ本法でははるかに僅少である。48/80による崩壊は

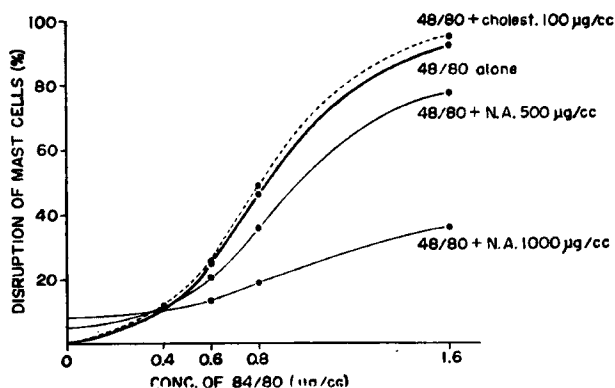


Fig. 1. Effect of Neoantergan and cholesterol on disruption of mast cells by 48/80 in Ringer-Locke's solution after 30 min. exposure.

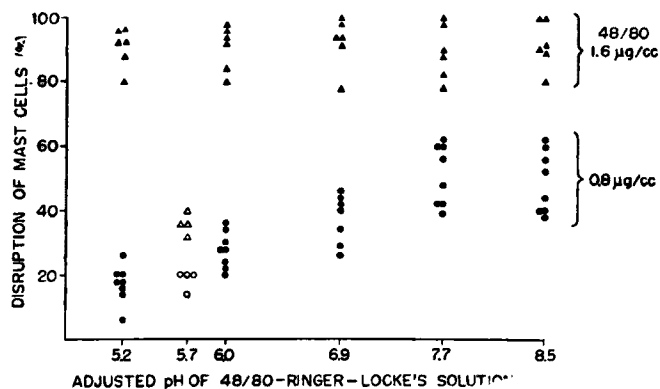


Fig. 2. Effect of pH on disruption of mast cells after 30 min. exposure to 48/80. Indicated pH of 48/80-Ringer-Locke's solution was adjusted with NaOH or HCl when necessary. Δ : 48/80 1.6 $\mu\text{g}/\text{cc}$ with Neoantergan 1000 $\mu\text{g}/\text{cc}$ at pH 5.7, \circ : 48/80 0.8 $\mu\text{g}/\text{cc}$ with Neoantergan 1000 $\mu\text{g}/\text{cc}$ at the same pH.

Table 1. Percentage disruption of mast cells after various length of exposure to 48/80 in Ringer-Locke's solution. Figures in parentheses denote pH.

Conc. of 48/80 ($\mu\text{g}/\text{cc}$)	Time of exposure (min.)		
	15	30	60
0 (7.5)	0.3 ± 0.41	0.3 ± 0.41	2.3 ± 0.59
0.2	0.4 ± 0.33	0.5 ± 0.5	3.3 ± 1.3
0.4	2.0 ± 1.0	8.0 ± 1.1	20.0 ± 2.0
0.6	13.7 ± 1.2	20.8 ± 1.6	32.3 ± 2.6
0.8 (7.7)	26.3 ± 2.8	47.3 ± 3.4	61.6 ± 4.4
1.6 (7.8)	77.3 ± 3.2	91.8 ± 2.6	97.5 ± 1.5

0.4 $\mu\text{g}/\text{cc}$ 以上で有意差をもつて認められ, 1.6 $\mu\text{g}/\text{cc}$

で, 60分間作用により殆ど全細胞が崩壊に達した。48/80 作用下に肥満細胞は膨化し, 細胞輪廓の平滑さを失い, 顆粒は metachromatic の色調に移行し, 崩壊の段階に進んだ。

48/80⁽¹²⁾ 及び Sinomenine⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾ の Histamine 遊離作用に pH が影響することが知られている。又 Junqueira ら⁽¹⁵⁾ は 48/80 (50 $\mu\text{g}/\text{cc}$) による肥満細胞の顆粒脱出が溶液の pH 6.26 以下ではおこらぬと報告している。Table 2 及び Fig. 2 は 48/80 の 0.8 及び 1.6 $\mu\text{g}/\text{cc}$ 濃度に

Table 2. Effect of pH on percentage disruption of mast cells by 48/80. pH adjustment of Ringer-Locke's solution was made by 1/10 N-NCl or -NaOH. 30 min. exposure.

pH	48/80	
	0.8 $\mu\text{g}/\text{cc}$	1.6 $\mu\text{g}/\text{cc}$
5.2	16.7 ± 1.9	90.7 ± 2.4
6.0	27.5 ± 2.2	90.7 ± 2.9
6.9	35.5 ± 2.8	92.3 ± 3.2
7.7	49.4 ± 3.8	89.3 ± 4.0
8.5	49.0 ± 2.8	92.0 ± 2.6

ついて pH の影響を観察した成績である。pH は 48/80-Ringer-Locke 液を 1/10 N-HCl 及び -NaOH で調整した。48/80 1.6 $\mu\text{g}/\text{cc}$ では pH

5.2-8.2の間に作用の有意差はみられぬが、0.8 $\mu\text{g}/\text{cc}$ では pH 6 以下では崩壊率の減少が明瞭である。

抗 Histamine 剤 Neoantergan 及び Benadryl が Histamine 遊離物質 Sinomenine 及び Anaphylatoxin の Histamine 遊離作用を抑制することを山崎、田坂¹⁶⁾ が報告している。Riley⁷⁾ は Diamidine、

Anaphylatoxin のラットにおける肥満細胞崩壊作用が Anthisan 投与後では抑制されたというが、Fawcett¹⁷⁾ は 48/80 のラット腹腔内注射による腸間膜肥満細胞崩壊を Mepyramine が阻止しなかつたという。そこで、48/80 の諸濃度に 100, 500 及び 1000 $\mu\text{g}/\text{cc}$ 濃度の Neoantergan maleate を加えて

Table 3. Effect of Neoantergan and cholesterol on percentage disruption of mast cells after exposure to 48/80 in Ringer-Locke's solution. 30 min. exposure. Figures in parentheses denote pH.

Conc. of 48/80 ($\mu\text{g}/\text{cc}$)	With Neoantergan			With cholesterol 0.1 mg/cc
	100 $\mu\text{g}/\text{cc}$	500 $\mu\text{g}/\text{cc}$	1000 $\mu\text{g}/\text{cc}$	
0	0	4.0 \pm 1.1	7.5 \pm 1.2	1.0 \pm 0.6
0.4	1.5 \pm 1.0	10.5 \pm 0.5	10.3 \pm 1.8	11.0 \pm 3.1
0.6	6.5 \pm 2.6	19.5 \pm 1.7	9.7 \pm 1.0	24.5 \pm 2.9
0.8	47.5 \pm 2.9	37.0 \pm 2.5 (6.3)	18.3 \pm 1.1 (5.7)	50.8 \pm 1.8
1.6	96.5 \pm 2.4	78.7 \pm 1.8 (6.3)	34.8 \pm 2.6 (5.7)	94.0 \pm 2.4

その影響を観察したとし、Table 3 及び Fig. 1 の成績をえた。この成績は Neoantergan 1000 $\mu\text{g}/\text{cc}$ が 48/80 の作用を抑制していることを示しているが、この場合溶液の pH は 5.7 に低下している (48/80-Ringer-Locke 液の pH は 0.4-1.6 $\mu\text{g}/\text{cc}$ で 7.6-7.8) ので、この pH における 48/80 のみの作用と比較しなければならない。Fig. 2 はこの吟味の結果、48/80 1.6 $\mu\text{g}/\text{cc}$ の作用に対し、Neoantergan の抑制は有意であることを示している。

2. Saponine についての実験

Saponine (Saponinum purum album, E. Merck) についての成績は Table 4 及び Fig. 3 に示した如くで、80 $\mu\text{g}/\text{cc}$ から 120 $\mu\text{g}/\text{cc}$ の間で急速に崩壊率の上昇がみられる。酸性側 pH では Saponine のこの効果にも若干の減弱がみられる。pH 5.7 における Saponine 120 μg +Neoantergan 1000 $\mu\text{g}/\text{cc}$ の効果と同 pH の Saponine 同濃度のそれと比較した結果、Neoantergan の僅かの抑制作用を認めた (Table 4)。

Saponine の肥満細胞崩壊作用は Cholesterol 100 $\mu\text{g}/\text{cc}$ 添加によつて殆ど完全に抑制された (Table 4 及び Fig. 3)。この Cholesterol の抑制効果は 48/80 及び低張液中の肥満細胞崩壊に対してはほとんど認められなかつた (Fig. 1 及び 4)。

3. 低張液についての実験

Ringer-Locke 液を蒸溜水で 1:1-1:8 の比率で稀

Table 4. Percentage disruption of mast cells after exposure to saponine in Ringer-Locke's solution and effect on it of Neoantergan and cholesterol. 30 min. exposure. Parenthesized figures denote pH.

Conc. of saponine ($\mu\text{g}/\text{cc}$)	Saponine only	With Neoant. 1000 $\mu\text{g}/\text{cc}$	With cholest. 0.1 mg/cc
40	3.5 \pm 1.0		
80	12.0 \pm 1.9		0.8 \pm 0.5
120	89.2 \pm 1.4 (7.5)		1.0 \pm 1.0
120	54.8 \pm 5.4 (5.7)	36.0 \pm 2.8 (5.7)	
160	95.7 \pm 2.1 (7.5)		0.2 \pm 0.9
160	89.5 \pm 3.4 (5.7)	82.8 \pm 3.5 (5.7)	
240	100.0 \pm 0 (7.5)		0.5 \pm 0.5
240	95.0 \pm 2.1 (5.7)	89.6 \pm 2.0 (5.7)	
320	100.0 \pm 0 (7.6)	96.0 \pm 0.8	5.2 \pm 1.4 (7.9)

釈した場合、1:2 以上の稀釈で崩壊率の増加がはじまり 1:8 では 30 分間に殆どの肥満細胞が崩壊した。この崩壊は pH 6.8 と 5.2 との比較では酸性側で若干少いことを示した。Neoantergan 1000 $\mu\text{g}/\text{cc}$ 及び Cholesterol 100 $\mu\text{g}/\text{cc}$ はこの低張による崩壊を抑

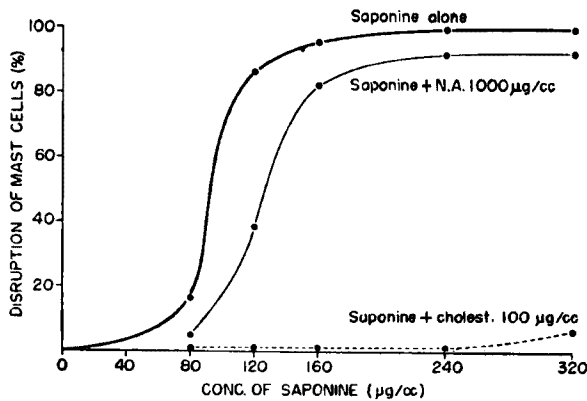


Fig. 3. Effect of Neoantergan and cholesterol on disruption of mast cells by saponine in Ringer-Locke's solution after 30 min. exposure.

Table 5. Percentage disruption of mast cells in low ionic strength with effect of Neoantergan and cholesterol. 30 min. exposure. Figures in parentheses denote pH.

R-L solution : water	Solution only	With Neoant. 1000 µg/cc	With cholesterol 0.1 mg/cc
1 1	0.2 ± 0.2	7.0 ± 1.2	0.5 ± 0.5
1 2	6.0 ± 1.1	17.0 ± 1.9	4.4 ± 1.8
1 3	16.0 ± 3.3	26.5 ± 1.7	19.5 ± 3.7
1 4	55.1 ± 1.7	52.5 ± 3.5	56.0 ± 2.2
1 6	87.0 ± 2.4	77.5 ± 3.5	88.0 ± 2.6
1 8	97.0 ± 1.3 (6.8)	84.5 ± 2.1 (5.2)	96.0 ± 1.4 (6.8)
1 8	86.0 ± 2.2 (5.2)	84.5 ± 2.1 (5.2)	96.0 ± 1.4 (6.8)

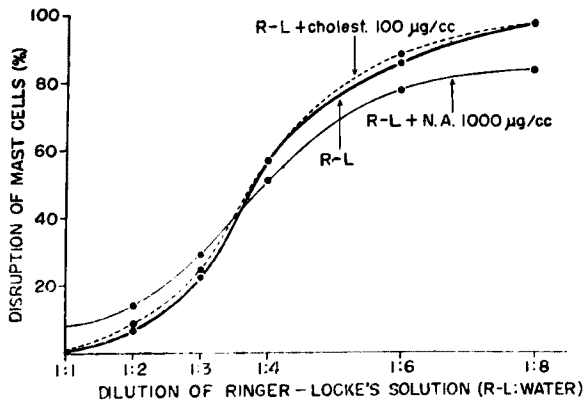


Fig. 4. Disruption of mast cells by dilution of Ringer-Locke's solution with effect of Neoantergan and cholesterol on it. 30 min. exposure

制しなかつた (Table 5 及び Fig. 4).

Ringer-Locke 液対蒸溜水の 1:1 及び 1:2 比 低張液中での 48/80 の肥満細胞崩壊作用を検したところ, 0.4-1.6 µg/cc 48/80 のすべ

Table 6. Effect of hypotonicity on percentage disruption of mast cells after exposure to 48/80. 30 min. exposure.

Conc. of 48/80 (µg/cc)	1 part R-L 1 part Water	1 part R-L 2 part Water
0	6.0 ± 1.5	16.0 ± 3.3
0.4	13.2 ± 2.1	36.5 ± 3.1
0.6	22.0 ± 4.2	60.5 ± 4.0
0.8	48.5 ± 3.9	81.5 ± 3.8
1.6	95.0 ± 3.1	98.5 ± 1.0

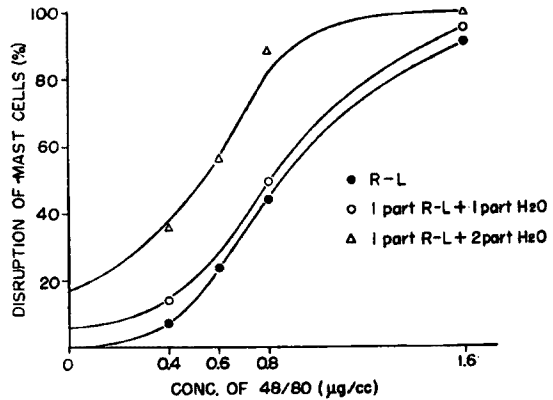


Fig. 5. Effect of diluting Ringer-Locke's solution on the disruption of mast cells by 48/80. 30 min. exposure.

での濃度に対し溶液の低張度の強さに比例する崩壊効果の増強を示した (Table 6 及び Fig. 5). この所見は Norton¹⁰⁾ の 48/80 の一定濃度 (0.4 µg/cc) による肥満細胞崩壊は Ringer-Locke 液の稀釈によつて弱まるという成績と一致しない。

4. Compound 48/80 の肥満細胞崩壊作用に及ぼす数種薬物の影響

48/80 の作用が Neoantergan の一定量によつて抑制されることを上に認めたので, 他の若干の薬物について抑制効果の有無を検討した, pH は Tannic acid 5.3 以外はすべて 7.7 に調節した. 成績は Table 7 に示した如くで, Tannic acid に強い抑制

Table 7. Effect of several substances on the percentage disruption of mast cells under exposure to Compound 48/80 for 30 min.

Substance ($\mu\text{g}/\text{cc}$)	Conc. of 48/80 ($\mu\text{g}/\text{cc}$)	pH (Adjusted)	Mean % disruption with S. E.
None	1.6	7.7	89 \pm 2.4
"	0.8	"	49 \pm 3.0
"	1.6	5.2	91 \pm 2.5
"	0.8	"	17 \pm 1.9
Calcium chloride (2100)	1.6	7.7	92 \pm 4.3
"	0.8	"	39 \pm 2.5
Ascorbic acid (5000)	1.6	"	95 \pm 2.1
"	0.8	"	59 \pm 4.4
Hesperidin (100)	1.6	"	98 \pm 0.8
"	0.8	"	90 \pm 3.6
Rutin (1000)	1.6	"	95 \pm 1.7
"	0.8	"	41 \pm 4.0
Hyaluronidase (100 V. R. U. /cc)	1.6	"	98 \pm 0.96
"	0.8	"	52 \pm 3.8
Procaine-HCl (1000)	1.6	"	82 \pm 2.9
"	0.8	"	37 \pm 3.0
Tannic acid (100)	1.6	5.2	0.5 \pm 0.5
"	0.8	"	0.5 \pm 0.5

作用のみられたのみで表示したほかの薬物の抑制的影響は全くみられなかつた。

5. 諸種 Histamine 遊離物質の肥満細胞崩壊作用

Sinomenine (塩酸塩)¹⁸⁾, *d*-Tubocurarine chlori-

de¹⁹⁾(Amerisol 武田), Sod. taurocholate,¹³⁾¹⁴⁾²⁰⁾ Sod. desoxycholate,¹³⁾¹⁴⁾²⁰⁾ Trypsin²¹⁻²³⁾(Tryptar)の既知の Histamine 遊離物質のほか、肥満細胞に影響を与えることの報告をみている Lycorine⁹⁾(塩酸塩), Hyaluronidase³⁾(Harodase 武田)及び強い

Table 8. Percentage disruption of mast cells by several substances in Ringer-Locke's solution. 30 min. exposure.

Substance	$\mu\text{g}/\text{cc}$	pH	Mean % disruption with S. E.
Sinomenine-HCl	1000	7.0	62 \pm 4.4
<i>d</i> -Tubocurarine chloride	"	"	18 \pm 2.8
Sodium desoxycholate	"	8.5	100 \pm 0
Sodium taurocholate	"	7.3	82 \pm 4.5
<i>n</i> -Octyl chloro resorcinol	100	8.3	78 \pm 5.5
"	10	"	25 \pm 2.9
Lycorine-HCl	1000	6.6	1.0 \pm 0.5
Hyaluronidase	200*	7.5	0 \pm 2.0
"	100*	"	2.0 \pm 2.0
Tryptar (Trypsin)	(1 : 400)	7.1	19 \pm 5.7
" "	(1 : 800)	"	16 \pm 1.7
" " (Medium alonet)	"	"	14 \pm 2.4

* V. R. U. /cc

† 0.9% NaCl+Sørensen's phosphate buffer (9 : 1)

表面活性を有する *n*-Octylchlororesorcinol²⁴⁾ について、この標本による肥満細胞崩壊作用を検索した。Table 8 はその成績で、Lycorine, Hyaluronidase 及び Trypsin 以外のものにいずれもこの作用が明瞭に認められ、特に Octylchlororesorcinol 及び胆汁酸塩の作用はこれらのもののうちで強力であつた。Sinomenine はラットの腹腔内に投与した場合、尿中 Histamine 排泄からみた *in vivo* Histamine 遊離作用は 48/80 のおよそ 1/100 の強さを示しており²⁵⁾、犬の動脈血圧下降作用は 48/80 の 1/4 程度の効力比で示されている²⁶⁾ のに対し、この標本における肥満細胞崩壊効力がおよそ 48/80 の 1/1000 であることは格段の微力といわねばならない。

考 察

Histamine の細胞外遊離の機序は近年初期に考えられていたような Protease activation により蛋白と Histamine との特殊の linkage の離断による²⁷⁾²⁸⁾ という特異的なものによつて劃一的に理解できない多様性を帯びてきたように思われる。組織の単純な磨砕、凍結後の融解、加熱、Acetone、重金属塩、lytic な物質の作用下にみられる Histamine 遊離¹²⁾⁻¹⁴⁾ はこの Amine の細胞内結合がかなり離開されやすいものであることを示している。このことは現在知られている Histamine 遊離能をもつた多くの化学的物質の作用態度にもその多様性を示唆するものがある。しかし、現在知られている限り Histamine 遊離物質がいずれも肥満細胞に対して一定の形態変化を与え、それを崩壊に導く作用を示すこと⁷⁾²⁹⁾⁻³²⁾ はそれら物質がこの細胞内から Histamine を遊離することを示唆するものであつて、この細胞に対する傷害作用という点においては相共通する段階をとることを教えている。最近アナフィラキシーにおけるこの細胞の崩壊の事実も知られている³³⁾。これらの事実は肥満細胞を崩壊に導く薬物乃至要因の作用態度の研究に重要な意味を覚えさせる。この方面の研究にはこの細胞におきる変化（現在までは主に形態変化について観察が行われている）と細胞崩壊をきたす作用に関する条件の検討との二つ方向が考えられる。

Norton¹⁰⁾ のラット腸間膜肥満細胞を用いる *in vitro* の実験方法は手技の上で一部改良を加えれば、この後の目的に頗る便利であることを私の今回の実験は示したものと思う。この実験で最も重要な条件は対照における自然の細胞崩壊を極度に少なくする点

にかかっている。今回の改良法はこの点で原法に比らべかなり進歩した。

Compound 48/80 の肥満細胞崩壊作用は濃度及び作用時間に関係し、用量-反応曲線は Sigmoid 曲線で示された。Saponine 及び低張液の作用曲線も同様である。この作用表現は更に ED₅₀ による薬物作用の強度比較や作用態度の解析に利用されうることを教える。

48/80 のこの細胞崩壊作用は酸性側 pH で減弱した。この知見は Junqueira^ら¹⁵⁾ の成績と一致するもので、同じく塩基性の遊離物質 Sinomenine¹³⁾¹⁴⁾ の Histamine 遊離が矢張同様であるところからみて重要である。この傾向は Saponine や低張液中における崩壊についても多少みられるので、単に basic な化合物のアルカリ側における lipophilic な性質の増加による¹³⁾¹⁴⁾ とのみはいえないように思われる。

Neoantergan は 48/80 の肥満細胞崩壊作用を明らかに抑制することを示したが、この作用は pH の低下とは区別される固有の作用によるものであることが判明した。抗 Histamine 剤は低濃度において Sinomenine 及び Anaphylatoxin による Histamine 遊離を抑制するが高濃度ではそれ自体 Histamine 遊離を行うという事実を認めた山崎、田坂¹⁶⁾ は抗 Histamine 剤のこれらの作用点は同一で、恐らく細胞膜又は細胞内 organella の膜ではないかと述べている。この抗 Histamine 剤による崩壊抑制は Saponine 崩壊に対してはずつと弱く、又低張液によるものには認められなかつたので、これらの場合の崩壊機序にはかなり相違があることが推察される。Cholesterol の著明な崩壊抑制作用が Saponine によるものだけにしか認められなかつたこともこれと同様に機序の相違を説明するものである。

この私の実験が Norton¹⁰⁾ の成績と著明な違いを示したのは、低張液中における 48/80 の作用についてである。Norton は Ringer-Locke 液を 2 倍に稀釈した低張液中で 48/80 の作用が減弱するという成績をえて、この所見は 48/80 作用下に細胞が細胞外に存在する ion を摂取するか又は透過しやすくなるため、この薬物の肥満細胞を膨化せしめ崩壊に導く作用の一機序を示唆するものであると説明しているが、私の成績ではこのような奇現象は認められず、低張液中での 48/80 の崩壊効果は薬物濃度の如何にかかわらず、低張崩壊と相加的に増加することを示した。従つて、私の所見では 48/80 の作用と低張の効果とは特殊な関連をもつものではないとみな

ければならない。

48/80の肥満細胞崩壊作用阻止の希望のもとに検らべた数種の薬物のうち Tannic acid のみに強い抑制効果が認められた。この結果が、しかし、basic な 48/80との化学的な干渉以外に細胞に対する作用上の拮抗をどの程度まで含むものであるかの問題を検討することがのこされている。

他の試験された Histamine 遊離物質についても肥満細胞崩壊は認められたが、胆汁酸塩, Octylchlororesorcinolのやうな表面活性のものに特にこの作用が著しく、又 Sinomenine のこの作用はそれが生体内に投与された場合の Histamine 遊離作用の割合⁽²⁶⁾からいえば 48/80に比らべて著しく微弱であつた。d-Tubocurarine⁷⁾ 及び Lycorine⁸⁾ はラット又はマウス生体内でかなり強く肥満細胞を崩壊するにかかわらず、*in vitro* の腸間膜標本ではこの作用が微弱か又はみられなかつた。Rocha e Silva⁽²¹⁾⁽²²⁾ が生体内で Histamine 遊離を認めた Trypsin もこの標本では肥満細胞を崩壊しなかつた。このような生体内外における Histamine 遊離物質の作用強度の相違は個々の物質の作用機序の相違を示唆するもので、物質の Histamine 遊離の機序の研究対象として *in vitro* の材料による方法に一定の限界のあることを教えるものである。

総 括

1. ラットの摘出腸間膜を用い *in vitro* で薬物の肥満細胞の崩壊作用を定量的に測定する目的で、

Norton⁽¹⁰⁾の手技を吟味、改良した。著者の方法では Ringer-Locke 液中での30分間の自然崩壊率を0.3と0.4とにとどめた。

2. Compound 48/80 及び Saponine の肥満細胞崩壊作用について Sigmoid 型の濃度-作用曲線をえた。Ringer-Locke 液の通減稀釈による低張液中の崩壊曲線も同型であつた。

3. これらのものによる肥満細胞の崩壊はpH5.2-8.5の間では酸性側で減弱した。

4. Neoantergan は 48/80の崩壊作用を抑制したが、Saponine 及び低張液による崩壊は抑制せず、Cholesterol は Saponine の作用のみを阻止した。

5. 低張 Ringer-Locke 液は 48/80の肥満細胞崩壊作用を相加的に増強した。

6. 数種の被検物質のうち Tannic acid のみが 48/80の崩壊作用を阻止した。

7. この標本では表面活性物質、胆汁酸塩及び Octylchlororesorcinol に強力な崩壊作用をみたが、Sinomenine, d-Tubocurarine 及び Lycorine では生体内 Histamine 遊離乃至本細胞崩壊作用の著明な割合に作用が微弱であつた。Hyaluronidase と Trypsin はこの崩壊作用を示さなかつた。

本論文の要旨は昭和30年11月19日第65回岡山医学会総会及び昭和31年10月28日第12回日本薬理学会近畿部会（宇治山田市）で発表した。

本研究は文部省科学研究費の補助で行われた。

引 用 文 献

- 1) Jorpes, J. E.: Heparin in the Treatment of Thrombosis. An Account of its Chemistry, Physiology and Application in Medicine. Oxford Univ. Press, London (1946)
- 2) Riley, J. F.: Pharmacol. Rev. **7**, 267 (1955)
- 3) Asboe-Hansen, G.: Internat. Rev. Cytol. **3**, 399 (1954)
- 4) Riley, J. F.: J. Physiol. **120**, 528 (1953)
- 5) Bhattacharya, B. D. and Lewis, G. P.: Brit. J. Pharmacol. **11**, 411 (1956)
- 6) Sjoerdsma, A., Waalkes, T. P. and Weissbach, H.: J. Pharmacol. **122**, 69A (1958)
- 7) Riley, J. F.: J. Path. Bact. **65**, 471 (1953)
- 8) 河本昭二郎: 岡山医学会雑誌 **70**, 3171 (1958)
- 9) 河本昭二郎: 同誌 **70**, No. 10 (1958) 印刷中
- 10) Norton, S.: Brit. J. Pharmacol. **9**, 494 (1954)
- 11) Baltzly, R., Buck, J. S., de Beer, E. J. and Webb, F. J.: J. Amer. chem. Soc. **71**, 1301 (1949)
- 12) Grossberg, A. L. and Garcia-Arocha, H.: Science **120**, 762 (1954)
- 13) 上村之雄: 日本薬理学雑誌 **53**, 836 (1957)
- 14) 田坂賢二: 岡山医学会雑誌 **69**, 2853 (1957)
- 15) Junqueira, L. C. U. and Beiguelman, B.: Texas Rep. Biol. Med. **13**, 69 (1955)
- 16) Yamasaki, H. and Tasaka, K.: Acta Med. Okayama **11**, 290 (1957)
- 17) Fawcett, D. W.: J. exp. Med. **100**, 217 (1954)

- 18) Mayeda, H.: Jap. J. Pharmacol. **3**, 62 (1953), **3**, 73 (1954)
- 19) MacIntosh, F.C. and Paton, W.D.M.: J. Physiol. **109**, 190 (1949)
- 20) Yamasaki, H., Tasaka, T., Akamatsu, O. and Ohkura, Y.: Jap. J. Pharmacol. **5**, 81 (1956)
- 21) Rocha e Silva, M.: Arch. exp. Path. Pharmacol. **194**, 335 (1940)
- 22) Rocha e Silva, M. and Graña, A.: Arch. Surg. **52**, 523, 713 (1946)
- 23) Trethewie, E.R.: Aust. J. exp. Biol. Med. Sc. **20**, 9, 49 (1942)
- 24) Yamasaki, H., Mannami, C. and Takaoka, T.: Jap. J. Pharmacol. **4**, 52 (1954)
- 25) 近藤和二: 日本薬理学雑誌 (1958) 印刷中
- 26) Nishiyama, R., Tasaka, K. and Irino, S.: Acta Med. Okayama **11**, 133 (1957)
- 27) Rocha e Silva, M.: J. Allergy **15**, 399 (1944)
- 28) Ungar, G.: Lancet **2**, 742(1952)
- 29) Paff, G.H. and Mergenthaler, D.: Anat. Rec. **121**, 579 (1955)
- 30) Norton, S. and de Beer, E. J.: Arch. int. Pharmacodyn. **102**, 352 (1955)
- 31) Smith, D. E. and Lewis, Y. S.: J. Biophysic. Bioch. Cytol. **3**, 9 (1957)
- 32) Irino, S.: Acta Med. Okayama **12**, 93 (1958)
- 33) Mota, I.: Brit. J. Pharmacol. **12**, 453 (1957)

Quantitative Studies of the Fragmentation of Tissue Mast Cells by the Drug

By

Shojiro KAWAMOTO

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

Using pieces of the mesenterium of rat the fragmentation of mast cells by drugs was examined quantitatively. In this experiment a modified technique of Norton's (1954), designed to keep fragmentation by artefact at minimum, was employed.

The concentration-action curves of compound 48/80 and saponine in Ringer-Locke solution and the fragmentation curve of serial dilution of Ringer-Locke solution alone, all proved to be of sigmoid type. In these instances the fragmentation of mast cells was diminished on the acidic side between pH 5.2 and 8.5. Neoantergan' inhibited the fragmentation of mast cells by compound 48/80, but it did not inhibit the fragmentation by saponine and hypotonicity. Cholesterol suppressed only the action of saponine. Diluting of Ringer-Locke solution strengthened additively the fragmentation of mast cells by 48/80. Of the several drugs tested only tannic acid prevented the action of 48/80.

With this preparation a strong fragmentation action on mast cells could be recognized in some surface active substances such as bile salts and chlorooctylresorcinol, but the action of sinomenine, *D*-tubocurarine and lycorine, that possess a strong *in vivo* action, was relatively weak. Hyaluronidase and trypsin did not show such an action.