

犬肝臓の細胞内顆粒からの *in vitro* Histamine 遊離に関する研究

岡山大学医学部薬理学教室 (主任：山崎英正教授)

秦 泉 寺 圭

〔昭和34年8月1日受稿〕

緒 言

Riley & West¹⁾ は組織の Histamine (以下 Hist.) 含量とその肥満細胞数の密度との間に量的相関のあることを報告し、ついで諸種の方法によつてこの細胞が Hist. を貯蔵することについての証拠を集積した^{2),3)}。Schayer⁴⁾ は 2-C¹⁴ L-Histidine を *in vitro* のラット肥満細胞に加え、この細胞内に radioactive Hist. の蓄積するのを認め、Hist. がこの細胞内で生成されることを証明した。消化管⁵⁾ と皮膚⁶⁾ のように肥満細胞以外の部分における Hist. の存在も知られてはいるが、これらの Hist. は化学的物質によつて遊離され難い⁵⁾⁻⁷⁾。血小板と白血球の Hist. 含量はすべての種属については著明といえない。遊離の容易な Hist. が肥満細胞に含まれ、全身的には主要な Hist. の部分を占めているということは特に興味深い^{2),3)}。

Copenhaver ら⁸⁾、Hagen⁹⁾、Mongar & Schild¹⁰⁾、Grossberg & Garcia-Arocha¹¹⁾、MacIntosh¹²⁾ の組織分劃遠心法による研究は、Hist. が主に細胞内粗大顆粒分劃に含まれることを示した。私は Schneider 法による分劃遠心によつて犬の肝臓 Homogenate 中の Hist. の多量がいわゆる Mitochondria 分劃に含まれることを前の報告¹³⁾ で確認し、更にこの分劃中には多量の肥満細胞顆粒の存在することを認めた。私のこの所見は Mota ら¹⁵⁾ のさきに報告した意見と一致するもので、Hist. の肥満細胞内存在が顆粒内にあることを示すものである。この顆粒はその好塩基性と metachromatic の染色性からこの細胞の他の成分である Mucopolysaccharide 多硫酸化合物の存在を示すが、Köksal¹⁶⁾ はマウス皮下組織のこの顆粒から非凝固性物質 (Heparin) を抽出した。Hist. 遊離物質または抗原・抗体反応の適用下に Hist. 遊離のおきる場合に、肥満細胞

の崩壊性変化のほかはこの顆粒の塩基性染色性の喪失と脱顆粒が伴つてみられることは、これらの Hist. 遊離要約が顆粒に対して変化を与えることを示すものである。

Hist. の細胞内存在様式については蛋白または Lipo 蛋白との鞏固な結合が初期の研究者たち¹⁷⁾⁻¹⁹⁾ によつて唱えられた。この説は Trypsin¹⁷⁾ あるいは Lysolecithine¹⁹⁾ の Hist. 遊離作用の機構に関する知見によつて発展したものであつた。しかし、その後鞏固な化学的結合を離断するには不充分と思われる操作によつても Hist. 遊離のおきるという事実の発見^{11),20)} により、また指摘された Protease Fibrinolysin の Hist. 遊離作用の確証がない^{22),23)} ことから批判をうけ、むしろ細胞内の酸性基をもつ物質との Ion 結合のような離解の容易な結合様式を想像するものが多くなつてきた²³⁾。しかし、既知の種々の Hist. 遊離物質の多様な化学的特性や Hist. 遊離態度の相違からみて、それらが肥満細胞を侵襲し、更に顆粒の Hist. を遊離する機序を単純な様式のみでもつて説明しうるものとは思えない。

Mongar & Schild は感作モルモット肺からの *in vitro* の抗原・抗体反応による Hist. 遊離がある種の酵素賦活を介して行われることを認めたが^{24),25)}、Homogenate の場合には抗原適用による Hist. 遊離はおきなかつた¹⁰⁾。Homogenate のアナフィラキシー性 *in vitro* Hist. 遊離は犬の肝臓についてもおきないことをそれ以前に Copenhaver ら⁸⁾ が示している。Mongar & Schild²⁵⁾ は化学的 Hist. 遊離物質によるモルモット肺からの Hist. 遊離はアナフィラキシーの場合と異なり、酸素欠乏及び代謝阻害剤の抑制作用を蒙らないというが、Compound 48/80 によるラットの肥満細胞の崩壊が一定の代謝阻害剤により抑制をうけるという報告が

ある^{26)~28)}。教室の山本²⁸⁾も Sinomenine のラット皮膚からの *in vitro* Hist. 遊離について酸素欠乏と酵素阻害剤による抑制を認めている。Uvnäs^{27), 28)}らは 48/80 のラットの肥満細胞崩壊作用は、この物質が細胞膜に存在する lytic な酵素を不活性にしている物質を除去するという作用機序によると述べ、膜酵素の存在とその意義を指摘した。これらの物質についてもアナフィラキシーの場合と同様に顆粒 Hist. の遊離に細胞の完全な構造の維持が必要であるか、あるいは細胞内形質の存在がどのような影響をもっているかが興味をもたれる。細胞膜と顆粒膜との性質の相違についてもまだ明らかでない。

このような現状からみて、化学的物質の Hist. 遊離作用を肥満細胞顆粒を対象として追究し、細胞構造の保たれた細切組織とこの関係を比較することは、これら物質の Hist. 遊離機序に関する知見を拡大する上に役立つものと考えられる。私はこの研究では前報の知見にもとづいて犬の肝臓の Mitochondria 分割を肥満細胞顆粒分割と考え、これに含まれる Hist. の *in vitro* 遊離についての諸問題を研究した。

実験材料及び方法

細胞内顆粒からの Histamine 遊離の実験方法
Urethane 麻酔後瀉血致死させた 5~10 kg の犬の肝臓から既述¹³⁾ 操作によつて 0.25M 蔗糖液 Homogenate をつくり、細胞内顆粒 (Mitochondria 分割) を Schneider¹⁴⁾ の方法で冷凍遠心分離した。この場合各遠心管は生肝 1g に相当する Homogenate よりの顆粒分割を含むようにした。これに Tyrode 液又は Michaelis の等滲圧 Veronal-acetate 一定 pH 緩衝液 2 cc を加えて顆粒分割の懸濁液をつくる。この懸濁液について直ちに一定時間実験に必要な温度の恒温槽の中で所定の操作を加えたのち、冷凍 (0~5°C) 遠心 (8,500×g) し、顆粒を上清液と完全に分離した。この各々が Hist. 定量に供され、後述の計算法によつて遊離率を求めた。顆粒分割への薬物の適用は薬物含有上記媒液の使用によつた。分割顆粒の再懸濁液中における Hist. の自然遊離速度は pH 8, 37°C 1 時間で両媒液の場合とも約 10%, 同 0°C 1 時間で約 5% であつた。尚蔗糖液 0.25, 0.3 及び 0.88M 中の Mitochondria 分割懸濁液を 0°C, 24 時間保存した場合の自然遊離はそれぞれ 8.2, 7.2 及び 6.6% であつた。

細胞組織からの Histamine 遊離の実験方法
同様にして取りだした肝臓を西洋剃刀で厚さ約 1 mm の薄板状に切つたものを 1 mm 間隔に平行固定したバレー型安全剃刀刃をもつた細切器³⁷⁾ で基盤の目状に切り、多数の約 1 mm 角の細切切片をつくつた。Tyrode 液で洗つたのちその 300 mg 宛を Bang の Torsion balance で秤量し、これを Tyrode 液又は上記緩衝液又は被検薬物を含むこれら媒液 2 cc とともに攪拌効果をよくする目的の直径 4 mm のガラス玉のはいつている平底試験管の中に入れ、37°C の恒温槽中で毎分 100 往復、5 cm 行程で一定時間動揺させ、組織に含まれている Hist. の媒液中への拡散を行わせた。この操作後媒液は Mongar & Schild³⁰⁾、上村³¹⁾ の記載したピペットで取出し濾過したのち Hist. の抽出定量に供した。Tyrode 媒液における細切肝組織の 37°C 1 時間の自然遊離は最大 2% で、顆粒分割からの遊離にくらべてはるかに少なかつた。

Histamine 定量及び遊離率の計算法
遊離 Hist. 又は残存 Hist. を含む液に N-HCl 1 cc を加え沸騰水中に約 5 分間入れ Hist. を抽出し、N-NaOH で中和後蒸留水で適当に希釈し、0.05 µg/cc の硫酸アトロピンを含む 10 cc Tyrode 液中でモルモット下部回腸条片によつて定量した。薬物含有媒液中の Hist. 定量に際しては、液槽中に注加される被検液中に含まれると同量の薬物に前記の処置を加えたものを標準 Hist. と同時に注加して、定量誤差を避けるようにした。この実験におけるモルモット腸管収縮物質は既述の Mepyramine テストにより Hist. として同定された。又犬肝臓の上記抽出液について弱酸性 Cation 交換樹脂 Duolite CS-101 (100-150 mesh) を用い近藤³²⁾ の方法で Free Hist. を分離した測定値は原抽出液のその 98% を示した。薬物による *in vitro* の Hist. 遊離率は次式で計算された。

$$\text{Hist. 遊離率}(\%) = \left(\frac{Ct}{Ct + Cr_1} - \frac{Cs}{Cs + Cr_2} \right) \times 100.$$

Ct: 薬液作用期間中の Hist. 総遊離量, Cs: その期間における Hist. 自然遊離量, Cr₁, Cr₂: 上のそれぞれに該当する残存 Hist. 量。

Hist. 定値はすべて塩基重量であらわした。

Histamine 遊離物質の Heparin との結合性の測定
MacIntosh³³⁾ の方法に準拠した。容量 30 cc の試験管に 0.005% Toluidine blue 水溶液

(0.2% NaCl 及び 0.01 N-HCl を含む) 5 cc と Heparin (0.2% NaCl 水に溶かした 0.01% 溶液) の種々の量 (0.02, 0.04, 0.06,0.16, 0.18, 0.2 mg) をいれ, 更に 0.2% NaCl 水を加えて全量 10 cc とする. これをよく混和してから石油 Ether 10 cc を加え密栓して 30 秒間強く振盪し, Heparin と色素の複合物を石油 Ether に移行させる. 2 層の分離が完全に行われたとき水溶液の相を注意深くピペットで取出し, 褐色フィルター (No. 610) を用い光電比色計でその透過率を測定した.

Fig. 6 は添加 Heparin 量と透過率 (%) の関係曲線を示したものである. 図でみる如く Heparin 0.12 mg 及び 0.14 mg を加えたときの透過率はそれぞれ 59% 及び 68% である. 諸種の塩基性 Hist. 遊離物質を Heparin 0.14 mg に加えて上と同じ方法で分離した水溶液の透過率を測定し, 透過率が丁度 59% を示すような遊離物質の量を求める. 即ちこの量は Heparin 0.02 mg と結合すると考えられる薬物の量である.

溶血作用の比較実験法 犬の静脈血に 3% Sod. citrate 加生理的食塩水を 1/4 量混じ, 1500 r. p. m. 15 分間遠心し, 更に生理的食塩水で 3 回洗って血清を除去したのち 2% 赤血球浮遊液をつくる. この赤血球浮遊液 1 cc と予め生理的食塩水で倍数希釈した薬液の同量とを混じ, 37°C 2 時間保温したのち溶血状態を観察した. 肉眼的に明らかに溶血をおこし始めた濃度を比較値とした.

実験成績

1. 細胞内顆粒からの薬物による Histamine 遊離と薬物濃度及び作用時間の関係

諸種薬物について顆粒分割 Hist. の遊離能を検らべるにあたって比較標準とする濃度及び作用時間を決定する必要がある. この目的に一応 Sinomenine を基準としてえらんだ. 実験には Tyrode 液を媒液として 37°C 30 分及び 1 時間の自然遊離及び Sinomenine による遊離を測定した. Fig. 1 はその成績を示したもので, 自然遊離も Sinomenine を加えた場合の遊離もともにその速度は初期に大きく 1 時間後はかなり緩慢となつている. Hist. の遊離は薬物の濃度に関係している. この実験の結果からみて Sinomenine の作用を比較の基準とする場合, 濃度 6 mM, 37°C, 作用時間 1 時間の遊離をえらぶのが適当であろうと考えた. 37°C 1 時間での自然遊離率は約 10% である. 尚, 媒液を pH 8 の Veronal-

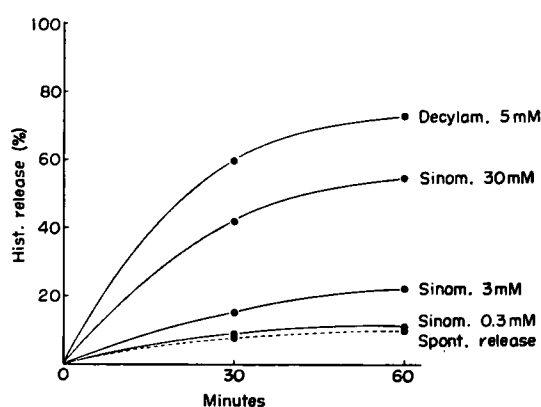


Fig. 1. Histamine release by sinomenine and decylamine from intracellular particles of dog's liver. (Tyrode, 37°C).

acetate 緩衝液として用いた場合の成績も Tyrode 媒液の場合と同様であつた.

2. 細胞内顆粒からの Histamine 遊離と温度の関係

pH 8 の Veronal-acetate 緩衝液を媒液として顆粒分割からの Sinomenine による Hist. 遊離及びその自然遊離の割合を 0°, 25°, 37°, 45° 及び 60°C, 作用時間 30 分及び 1 時間の条件で測定した.

自然遊離及び Sinomenine による遊離は温度の上昇とともに増大した. の場合 0°C より 37°C までの自然遊離の僅かの増大に対して Sinomenine を加えた場合の遊離の増加ははるかに著明であつた. しかし, 45°C になると自然遊離が急に増大し, 自然遊離を除外した薬物自身による遊離は 37° の場合にくらべてむしろ減少した. 60°C では薬物の作用なしでも 1 時間内に殆んど大部分の Hist. が遊離された (Fig. 2 及び Fig. 3). Fig. 4 は自然遊離を控除し

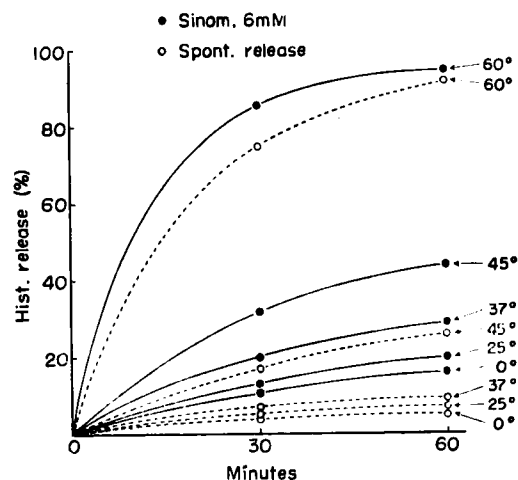


Fig. 2. Effect of temperature on histamine release from intracellular particles of dog's liver. Veronal-acetate buffer, pH 8 (1).

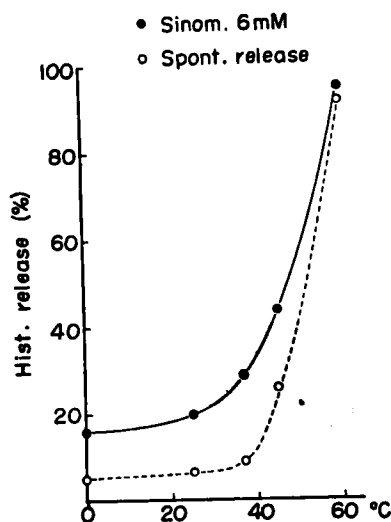


Fig. 3. Effect of temperature on histamine release from intracellular particles of dog's liver. Veronal-acetate buffer, pH 8, 60 min. (2).

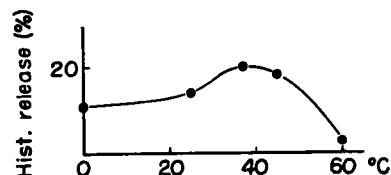


Fig. 4. Effect of temperature on histamine release from intracellular particles of dog's liver (3). Release due to sinomenine in excess of spontaneous release. Taken from Fig. 3.

た Sinomenine のみによる遊離率と温度の関係を示してある。この図で 37°C の遊離率がピークを示しているところをみるとこの遊離に酵素作用の関与を思わせる。しかし、0°C における遊離のかなりみられ

る点に別個の機序をも考えさせられる。

そこで Sinomenine 以外に Decylamine, Sod. cholate, Toluidine blue, Dibucaine, HgCl_2 , Saponin 及び Tween 20 についても 37° と 0°C における Hist. 遊離を比較してみたところ Table 1

Table 1. Histamine release from intracellular particles of dog's liver. Comparison of the release per 60min. at 0° and 37°C.

Releasers	Conc.	pH	Hist. release (%)		b/a
			37° (a)	0° (b)	
Sinomenine-HCl	6 mM	8	29	19	0.67
Decylamine-HCl	"	"	62	57	0.93
Sod. cholate	"	"	26	13	0.49
Toluidine blue	"	"	43	7.7	0.18
Dibucaine-HCl	"	7	57	55	0.95
HgCl_2	"	5.5	58	40	0.69
Saponin	0.1%	8	39	18	0.46
Tween 20	0.2%	"	24	23	0.98

に示したように、いずれも 37°C におけるよりは少くないけれども 0°C でも大小の差で遊離が認められた。これらのうち Toluidine blue のように 0°C の遊離が 37°C にくらべ著しく僅少なのもあつたが、Decylamine, Dibucaine 及び Tween 20 ではこの温度差による遊離の差がさほど著明でなかつた。遊離物質によるこの相違は、細胞顆粒からの Hist. 遊離機序を考える上に重要であると思う。

3. 細胞内顆粒からの Histamine 遊離と pH の関係

pH の異なる Veronal-acetate 緩衝液を媒液とし

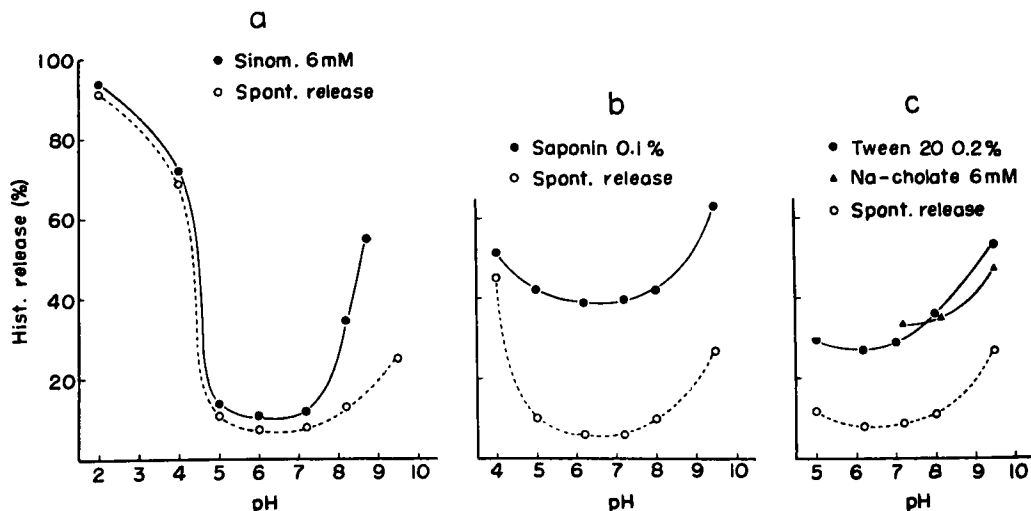


Fig. 5. Effect of pH on histamine release from intracellular particles of dog's liver. Veronal-acetate buffer, 37°C, 60 min.

た, Sinomenine, Saponin, Tween 20 及び Sod. cholate の 37°C 1 時間作用による細胞内顆粒からの Hist. 遊離及びこれらに対応する自然遊離は Fig. 5 に示す如くである。

自然遊離は pH 5~7 の付近では低く, pH 6 付近で遊離率は 5~9% であつた。pH 5 より酸性側では自然遊離は急に増大し, pH 2 では殆んど大部分の顆粒内 Hist. が遊離した。又 pH 7 よりアルカリ側に移るに従い自然遊離は漸次増大し pH 9.5 では約 1/4 量の Hist. が遊離した。

Sinomenine 6 mM を加えた場合の遊離は pH 5~7 では自然遊離よりも僅かに多い程度だが, それよりもアルカリ側では自然遊離の増加よりもはるかに急速に増大した。従つて, 自然遊離を含め Sinomenine 固有の Hist. 遊離はアルカリ側において増大することになる。これに反し, pH 4 以下では自然遊離以上に薬物による遊離の増加は認められなかつた (Fig. 5 a), pH 9 以上では Sinomenine は析出した。

Saponin 及び Tween 20 では pH 5~9.5 の範囲では薬物による遊離曲線と自然遊離のそれとは略々平行し, 薬物による遊離が pH により著明な影響をうけるということはなかつた (Fig. 5 b 及び Fig. 5 c)。Sod. cholate については酸性側での検索は析出のためできなかつたが, pH 7~9.5 の間ではやはり固有の遊離率に変化を認めえなかつた (Fig. 5 c)。

Sinomenine 及び Sod. cholate による以上の成績は上村³¹⁾ がモルモット肺の細切組織について観察した成績と一致している。Sinomenine でみられた媒液 pH の増大による Hist. 遊離の増加はその塩基の遊離の大きさに関係するものと思われるが, これに対して pH の影響をうけなかつた Saponin, Tween 20 及び Sod. cholate がいずれも表面活性の性質を有する物質である点は Hist. 遊離機序に相違のあることを示唆している。この実験の結果は薬物の Hist. 遊離効果の測定には, pH の規定及び当該 pH における自然遊離の関係を看過してはならないことを示すものである。

4. 諸種薬物による細胞内顆粒及び細切組織からの Histamine 遊離の比較

Table 2 に示す如き諸種薬物について pH 8 の Veronal-acetate 緩衝液を媒液として細胞内顆粒及び細切組織からの 37°C 1 時間における Hist. 遊離を測定した。但し pH 8 で不溶の薬物に限り適宜

pH を下げて用いた。薬物の濃度は分子量不明のものを除き 6 mM とした。ここで検らべた薬物のうち Hist. 遊離の認められなかつた Aminopyrine, Sod. salicylate 及び Morphine を除く他のものはいずれも顆粒分割に対して Hist. 遊離をきたし, しかも二, 三のものを除けば Sinomenine 以上に強い効力を示した。表には顆粒分割 Hist. に対する遊離率の大きさの順に薬物を配列してある。

Table 2. Histamine release from intracellular particles and chopped tissue of dog's liver. Veronal-acetate buffer, 37°C, 60 min.

Releasers	Conc.	pH	Hist. release (%)		p/c
			Intracel. particles (p)	Chopped tissue (c)	
Dibucaine-HCl	6 mM	7	68	48	1.4
Decylamine-HCl	"	8	62	59	1.0
HgCl ₂	"	5.5	58	34	1.7
Quinine-HCl	"	7	53		
Tutocaine-HCl	"	8	51	21	2.4
Ethylmorphine-HCl	"	"	47	18	2.6
Toluidine blue	"	"	43	18	2.4
Procaine-HCl	"	"	40		
Saponin	0.1%	"	39	20	2.0
Tropacocaine-HCl	6 mM	"	39		
Sod. cholate	"	"	37	5.9	6.3
Compound 48/80	0.1%	"	32	12	2.7
Sinomenine-HCl	6 mM	"	27	5.7	4.7
Tween 20	0.2%	"	24	4.3	5.6
Cocaine-HCl	6 mM	"	24	4.4	5.4
Xylocaine-HCl	"	"	24		
Aminopyrine	"	"	0.4		
Sod. salicylate	"	"	0.4		
Morphine-HCl	"	7	0		

これらのうち Decylamine, HgCl₂, Quinine, Ethylmorphine, Toluidine blue, Saponin, Sod. cholate, Compound 48/80 及び Tween 20 については *in vitro* 又は *in vitro* Hist. 遊離作用が既に知られているが^{(12), (31), (34)}, その他の6種の薬物は局所麻酔薬であり, それらがいずれもかなり強い Hist. 遊離能を示していることは注意すべきである。これら局所麻酔薬の Hist. 遊離能と従来の試験法による麻酔効力との間には必ずしも厳密には平

行性は認められない。しかし、麻酔力の比較的強大な Dibucaine, 次いで Tutocaine の Hist. 遊離能が大きいことは一応注意すべきである。

これら薬物は肝細胞組織からも Hist. 遊離を示した。しかしその遊離率はいずれの薬物についても顆粒分割からのそれにくらべて小さい。このことは細胞内顆粒が Hist. の主要な存在部位であるということをも前提として容易に理解できるものである。細胞内顆粒からの遊離にくらべて細胞組織からのその減少の程度は薬物によつてかなりの相違があり、Dibucaine, Decylamine 及び HgCl₂ では減少の程度が少なく、Sod. cholate, Sinomenine, Cocaine 及び Tween 20 ではその差が大きい。しかし全体的にみてこの比率は遊離率の大きさとも大体平行しているので、必ずしも薬物固有の性質に帰すべきではないように思われる。表にのせたもののほか Polyvinylpyrrolidone 1, 3.5 及び 7% 及びラット血清から Bordet³⁵⁾ の方法 (寒天末を 0.75% 食塩水に 0.5% の割合に加温溶解し、冷後この液の 1 分を新鮮ラット血清 5 分に加え、37°C 2 時間保温後遠心した上清を原液として用いる) で作つた Anaphylatoxin 2~5% 液についても検らべたが、顆粒分割及び細胞組織のいずれからも Hist. 遊離を認めえなかつた。

5. 細胞内顆粒及び細胞組織からの Histamine 遊離に及ぼす二、三薬物及び酸素欠乏の影響

a. 抗 Histamine 剤の影響

Yamasaki & Tasaka³⁶⁾, 田坂³⁷⁾ は犬の皮膚細胞組織からの Sinomenine 及び Anaphylatoxin による Hist. 遊離にたいし Benadryl 又は Neoantergan が稀濃度では抑制的に、高濃度では協力的に作用することを報告している。そこで細胞内顆粒からの Sinomenine による Hist. 遊離について併用した Benadryl の諸濃度の影響を検らべた。媒液は Tyrode 液、37°C 1 時間作用の条件で実験を行つた。Hist. 定量を行うべき被検液からの Benadryl の分離は田坂³⁷⁾ の用いた方法によつた。

Table 3 に示す如く Benadryl 4.4 mM (0.1%) が Sinomenine 6 mM と存在するときは Sinomenine の細胞内顆粒からの Hist. 遊離は 2 倍以上に増加した。Benadryl 0.44 mM の共存でも Sinomenine の Hist. 遊離は僅かに増強するのがみられた。0.044 mM 以下 0.00044 mM までの Benadryl 濃度では Sinomenine の Hist. 遊離は何等影響を蒙

Table 3. Effect of benadryl on histamine release from intracellular particles and chopped tissue of dog's liver.

Concentration		Hist. release (%)		
Intracellular particles				
Sinomenine	Benadryl	(Exp. 53)	(Exp. 54)	Average
6 mM		25	23	24
"	+ 4.4 mM	58	57	58
"	+ 0.44 "	28	26	27
"	+ 0.044 "	25	23	24
"	+ 0.0044 "	25	23	24
"	+ 0.00044 "	25	23	24
	4.4 "	55	53	54
	0.44 "	6	4	5
	0.044 "	0	0	0
Chopped tissue				
Sinomenine	Benadryl	(Exp. 51)	(Exp. 52)	Average
14 mM		9	11	10
"	+ 4.4 mM	44	53	49
"	+ 0.44 "	10	13	12
"	+ 0.044 "	9	11	10
"	+ 0.0044 "	9	11	10
"	+ 0.00044 "	9	11	10
	4.4 "	8	10	9
	0.44 "	0	0	0
	0.044 "	0	0	0

らなかつた。Benadryl 0.44~4.4 mM では単独で Hist. 遊離がみられ、特に 4.4 mM の場合その遊離は Sinomenine 6 mM の作用をはるかに凌ぐ強力なものであつたから、高濃度の Benadryl の Sinomenine とのこの協力作用は容易に理解できる。このことは田坂^{36), 37)} が犬の細胞組織からの Sinomenine による Hist. 遊離について報告したところと一致する。しかし 0.044 mM (0.001%) 以下の濃度については Sinomenine による遊離を抑制しなかつた点が田坂の成績とちがつている (Table 3 上欄)。

細胞組織を用いて同じ実験を繰返した成績にやはり顆粒分割の場合と同じ傾向を示した。Benadryl 高濃度ではそれ自身 Hist. 遊離を促進した。しかし、同じ濃度ではこの遊離促進効果は顆粒分割の場合にくらべて軽度であつた (Table 3 下欄)。

b. Guaiazulene, Sod. salicylate 及び Cortisone の影響

Guaiazulene が *in vitro* の化学的物質または感受組織の抗原による Hist. 遊離を抑制することを山崎ら³⁸⁾ が報告している。又 Sod. salicylate の Hist. 遊離抑制作用についても既に数氏の報告があり、Mongar & Schild²⁵⁾, 山崎, 内田³⁹⁾ は *in vitro* においてもこの作用を認めている。ここでは前の実験と同じ条件（但し媒液には Veronal-acetate 緩衝液使用）で、Sinomenine 又は Tween 20 の Hist. 遊離に及ぼす両薬物の影響を諸種濃度について検らばた。

その結果、Table 4 にみる如く、Guaiazulene 0.5 ~ 5.0 mM (0.01~1.0%) はその濃度に比例して Sinomenine 及び Tween 20 の細胞内顆粒及び細切組織の Hist. 遊離作用を増強し、0.05 mM では増減いずれの影響も与えなかつた。Guaiazulene 単独 50 mM はそれ自身 Hist. 遊離作用を示した。この物質がこのような比較的高濃度で Hist. 遊離をきたすことは山崎ら³⁸⁾ がモルモット肺細切組織につい

Table 4. Effect of guaiazulene and sodium salicylate of histamine release from intracellular particles and chopped tissue of dog's liver.

Inhibitors	Hist. release (%)	
	Intracel. particles	Chopped tissue
Guaiazulene	Sinom. 6 mM	Sinom. 14 mM
0	26	15
50 mM	45	27
5 "	35	22 (pH 8)
0.5 "	30	17
0.05 "	27	15
Guaiazulene	Tween 20 0.2%	
0	30	
50 mM	48	
5 "	42	(pH 8)
0.5 "	33	
0.05 "	30	
Sod. salicylate	Sinom. 14 mM	Sinom. 28 mM
0	22	8.8
60 mM	28	13
6 "	15	7.5 (pH 7.3)
0.6 "	18	8.8
0.06 "	22	8.8

て認めているが、肺では 0.05~0.5 mM 範囲で Sinomenine 又は抗原による Hist. 遊離を抑制しているので、今回の犬肝臓組織における Guaiazulene の作用は低濃度の抑制作用を欠ぐ点でモルモット肺の場合と趣を異にしている。

Cortisone の Hist. 遊離抑制作用は主として *in vivo* の実験で認められている^{40), 41)}。細胞内顆粒からの Sinomenine 6 mM 及び Toluidine blue 6 mM による Hist. 遊離に対する Cortisone 0.1~0.001 % の影響を検らべてみたが全くその影響を認めることができなかった。

Sod. salicylate はこれに反して 0.6 及び 6 mM 濃度で顆粒分割及び細切組織のいずれにおいても Sinomenine による Hist. 遊離を明らかに抑制した。しかし、60 mM では却つて遊離の促進をきたした (Table 4)。この抑制作用の所見はモルモット肺細切組織における山崎, 内田³⁹⁾ の成績と一致する。

c. Uranil nitrate の影響

Uranil nitrate は Barron, Muntz & Gasvoda⁴²⁾ により細胞膜酵素に作用する代謝抑制薬として知られている。Junqueira & Beiguelman²⁶⁾ はこのもの

Table 5. Effect of uranil nitrate* on histamine release from intracellular particles and chopped tissue of dog's liver.

*) 1 mM in pH 5.8 Veronal-acetate buffer.

Releasers	Conc.	pH	Hist. release (%)			
			Control		Uranil nit. treated	
			Control	Uranil nit. treated	Control	Uranil nit. treated
			Chopped tissue			
			(Exp. 63)		(Exp. 67)	
Decylamine-HCl	1 mM	8	32	21	27	19
Sinomenine-HCl	14 "	"	25	17	27	20
Saponin	0.1%	"	25	25	33	33
Toluidine blue	6m M	"	28	28	29	29
HgCl ₂	3 "	5.5	27	29	24	26
Dibucaine-HCl	1 "	7	23	23	21	21
			Intracellular particles			
			(Exp. 65)		(Exp. 66)	
Decylamine-HCl	0.5mM	8	29	28	24	26
Sinomenine-HCl	6 "	"	35	36	29	31
Saponin	0.1%	"	39	40	35	36
Toluidine blue	3 mM	"	43	45	36	34
HgCl ₂	"	5.5	54	56	40	38

が Compound 48/80 の肥満細胞顆粒の脱出を抑制するのを認め、48/80 の作用に細胞膜作用を推定している。山本²⁹⁾ はラット皮膚からの Sinomenine 及び Decylamine による Hist. 遊離が Uranil nitrate によつて抑制され、特に Decylamine によるその抑制が著しいのを認めている。

そこで、肝細胞内顆粒ならびに細切組織について Veronal-acetate 緩衝液中で Uranil nitrate 1 mM を 37°C 15分作用 (pH 5.8) したのち媒液を交換し、Sinomenine, Decylamine その他二、三 Hist. 遊離物質添加による Hist. 遊離を測定した (pH 8)。その結果は Table 5 に示すように Decylamine 及び Sinomenine による細切組織からの Hist. 遊離はいずれも Uranil nitrate によつて明らかに抑制された。しかし、細胞内顆粒からのそれは影響をうけなかつた。また Saponin, Toluidine blue, HgCl₂ 及び Dibucaine による細胞内顆粒及び細切組織からの Hist. 遊離はいずれも Uranil nitrate による影響をうけなかつた。

d. 酸素欠乏の影響

Mongar & Schild²⁵⁾ はモルモット肺の *in vitro* アナフィラキシー Hist. 遊離が酸素欠乏及び代謝抑制薬で抑制されるが、Compound 48/80 又は Octylamine による Hist. 遊離はそれらの条件で却つて増強することを認め、前者の Hist. 遊離機序には酸素需要酵素過程の含まれることを推論している。Junqueira & Beiguelman²⁶⁾, Högberg & Uvnäs²⁷⁾ は肥満細胞の Compound 48/80 による崩壊がある種の代謝抑制剤によつて抑制されるが、酸素欠乏はその崩壊作用を阻止しないと述べている。最近山本²⁹⁾ はラット細切皮膚からの Sinomenine による Hist. 遊離が酸素欠乏の場合明らかに抑制されるのをみている。しかし、Decylamine の場合には却つて増強されるという。ここでは犬肝臓の細胞内顆粒及び細切組織からの諸種化合物による Hist. 遊離について酸素欠乏の影響を検らべた。

試験管にいった肝細胞内顆粒又は細切組織を予め N₂ ガスを通した Veronal-acetate 緩衝液に浮遊させゴム栓で密栓し、注射針を通して気相を N₂ ガス又は O₂ ガスあるいは空気と置換したのち Hist. 遊離物質を注入し、37°C 1 時間の Hist. 遊離を測定した。

その成績は Table 6 に示した如く、9 種の遊離物質のうち Decylamine の作用のみ顆粒及び細切組織の両者について酸素欠乏下に著明な増強が認めら

Table 6. Effect of oxygen lack on histamine release from intracellular particles and chopped tissue of dog' liver. Veronal-acetate buffer pH 8, *) Tyrode.

Releasers	Hist. release (%)			
	Conc.	Air	O ₂	N ₂
Intracellular particles				
Sinomenine-HCl	6 mM		30	43
"	" *		36	45
Decylamine-HCl	0.5 mM		19	33
"	" *		19	39
Saponin	0.1%*		36	37
Chopped tissue				
Sinomenine-HCl	14 mM	17	17	17
"	"	17		17
"	"	31		31
"	" *		12	18
Decylamine-HCl	0.5 mM	12		24
"	"		6.2	19
"	" *		8.3	22
Saponin	0.1%	24		24
"	"		28	28
"	" *		26	27
Sod. cholate	12 mM	43		43
Dibucaine-HCl	5 "	83		83
Tutocaine-HCl	7 "	19		19
Ethylmorphine-HCl	5 "	17		17
Toluidine blue	7 "	33		33
Tween 20	0.5%	31		31

れた。顆粒分割に対する Sinomenine の作用にも僅かに同様の影響の傾向がみられるが、細切組織については全くそれをみない。他の遊離物質 Saponin, Sod. cholate, Tutocaine, Ethylmorphine, Toluidine blue 及び Tween 20 については酸素の有無によつて Hist. 遊離は影響をうけなかつた。この実験の結果は Decylamine に関しては山本²⁹⁾ がラットの皮膚で得た成績と一致したが、Sinomenine の効果が酸素欠乏状態で抑制されるという氏の知見は今回の実験対象についてはみとめえなかつた。

6. 細切組織及び細胞内顆粒からの *in vitro* アナフィラキシーにおける Histamine 遊離

新鮮牛血清 5 cc を股静脈内に、同時に 5 cc 背部皮下に注射し 1 回法により犬を感作した。約 3 週間後採血し血清を分離後 Uhlenhuth 氏法で沈降反応を検らべたのち、摘出肝臓の細切組織及び細胞内顆

Table 7. Effect of antigen on histamine release from chopped tissue and intracellular particles of sensitized dog's liver.

Dilution of antigen serum	Hist. release (%)			
	Chopped tissue		Intracellular particles	
1: 10	6.2	5.1	0	0
1: 20	6.0	4.8	0	0
1: 50	4.7	4.0	0	0
1: 100	1.2	0.8	0	0
1: 500	0	0	0	0

粒に Tyrode 液で稀釈した牛血清を加え 37°C 1 時間における Hist. 遊離を測定した。細切組織では *in vitro* アナフィラキシーによる Hist. 遊離が認められたが、細胞内顆粒からのそれはみられなかった (Table 7)。

7. 塩基性 Histamine 遊離物質の Heparin 結合能

Hist. の肥満細胞内存在の様式に関しては種々の推論が行われているが、単純な物理化学的侵襲によつてその遊離が認められるところから、比較的分離しやすい結合様式が考えられ、Heparin あるいは他の酸基とのイオン結合は可能性の多い様式の一つとして重要視されている²³⁾。多数の Hist. 遊離物質が塩基であることもイオン交換による Hist. 遊離機序の見地からこの推論の根拠となつている。塩基性色素 Toluidine blue が強力な Hist. 遊離作用をもつことはまえに示した如くである。

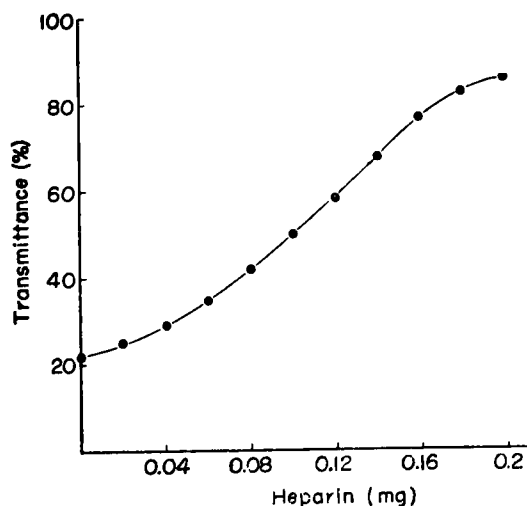


Fig. 6. Concentration of residual toluidine blue after treatment with heparin. Abscissa: mg of heparin added to 10 cc of 0.0025% toluidine blue solution.

そこで、塩基性 Hist. 遊離物質についてそれらの Hist. 遊離能と Heparin との結合力の強弱との関係を既述の方法 (Fig. 6) でしらべてみた。その結果は Table 8 のように、Heparin 結合能は Compound 48/80, Toluidine blue がもつとも強大で、Dibucaine, Decylamine がこれについて強い。Quinine, Tropacocaine やや弱く、Sinomenine, Cocaine, Tutocaine, Procaine は大部弱い。Morphine になるとずっと弱い。尚以上の薬物以外に検した Tween 20, Saponin 及び Sod. cholate では Heparin 色素複合物を石油 Ether が取除くことができなかった。

Table 8. Histamine release and heparin combining power

Releasers	Conc. equipotent in combining heparin		% Hist. release in 6mM from intracel. particles
	mM	mg/cc	
Compound 48/80		0.002	32 ^a
Toluidine blue	0.008	0.0025	43
Dibucaine-HCl	0.026	0.01	57
Decylamine-HCl	0.05	0.01	62 ^b
Quinine-HCl	0.9	0.35	53
Tropacocaine-HCl	3.7	1.05	39
Sinomenine-HCl	5.5	2.0	27
Cocaine-HCl	5.6	1.9	24
Tutocaine-HCl	6.3	1.8	51
Procaine-HCl	7.7	2.1	40
Morphine-HCl	>11	>4	0

^{a)} 0.1%, ^{b)} 6mM=0.1%.

この結果は細胞内顆粒からの Hist. 遊離率の強度順と必ずしも一致しないものがあるが、全体的にみると両性質の間にある程度のあることを否定はできない。

8. Histamine 遊離物質の溶血作用及び表面活性

Hist. 遊離物質のなかにはその表面活性が肥満細胞または細胞内顆粒膜に対して lytic に作用する可能性をもつものがある。この性質の強弱を血球でもつて検らべてみた。Table 9 のように Saponin の溶血作用はもつとも強く 10 万倍稀釈まで溶血作用を示し次いで Decylamine, Tween 20, HgCl₂ もかなり強い溶血作用を示した。Dibucaine, Sod. cholate 及び Quinine には弱いながら溶血作用を認めるが、Sinomenine, Tutocaine, Tropacocaine, Cocaine, Procaine, Morphine, Aminopyrine, Sod. salicylate

Table 9. Hemolytic action of histamine releasers on dog's erythrocytes.

Releasers	Maximum dilution to cause hemolysis
Saponin	100000
Decylamine-HCl	50000
Tween 20	25000
HgCl ₂	25000
Dibucaine-HCl	2500
Sod. cholate	1000
Quinine-HCl	250
Sinomenine-HCl	<100
Tutocaine-HCl	<100
Cocaine-HCl	<100
Tropacocaine-HCl	<100
Procaine-HCl	<100
Sod. salicylate	<100
Morphine-HCl	<100
Aminopyrine	<100

はいずれも 100 倍稀釈においても溶血作用を認めなかった。

du Nouy の Tensimeter によつて表面活性を測定した成績は Table 10 に示した如くで Saponin と HgCl₂ を除けばその活性は溶血作用の順位と近似している。上の 2 物質の血球膜傷害作用は他の要約を含むところが大きいものとみられる。

Table 10. Surface tension of histamine releasers at 15°C (du Nouy's method).

Releasers	Conc.	dynes/cm
Decylamine-HCl	6 mM	37.68
Tween 20	0.2%	40.04
Sod. cholate	6 mM	48.52
Dibucaine-HCl	"	58.41
Saponin	0.1%	64.06
Quinine-HCl	6 mM	67.36
HgCl ₂	"	68.10
Sinomenine-HCl	"	71.60
Distilled water		73.49

考 察

犬肝臓の細胞内粗大顆粒からの *in vitro* Hist. 遊離効果は薬物の濃度、作用時間、温度及び媒液の pH に関係した。60°C では自然遊離の急激な増加をきたし組織 Hist. の殆んどが遊離されるので、この温度では Hist. 保持構造の破壊を生ずるもの

とみられる。0°C より 37°C までは温度の上昇による自然遊離の増加にくらべて Sinomenine による Hist. 遊離の増加が著明であつた。しかし、Sinomenine をも含めて種々の Hist. 遊離物質は 0°C においても Hist. を遊離したので、それらによる遊離にはむしろ酵素作用以外の機序が重要視される。Decylamine, Dibucaine, Sod. cholate 及び Tween 20 のように 0°C と 37°C で遊離率の近似したものがいずれも表面活性のつよいものであることは注意すべきである。これに反して Toluidine blue は 0°C では Hist. 遊離が著しく抑制された。Sinomenine にも多少この傾向がある。pH の影響は自然遊離そのものにたいしてもかなり著しく、酸性及びアルカリ側で遊離の促進がみられた。薬物の Hist. 遊離作用にたいする pH の影響は自然遊離にみられる変化と関連することは勿論であるが、Sinomenine についてはアルカリ性側におけるこの薬物固有の作用の増加は自然遊離の増加よりも著しいアルカリ性側ではこの薬物が塩基分子として顆粒膜に透入しやすいことを示している。このような所見は上村³¹⁾ (モルモット肺細切組織)、田坂⁴³⁾ (犬皮膚細切組織) 及び MacIntosh¹²⁾ (犬肝臓細胞内顆粒) が塩基性 Hist. 遊離物質で経験したところと一致する。Saponin, Tween 20 及び Sod. cholate では pH によるこのような影響はみられない。

さきに上村³¹⁾ 及び田坂⁴³⁾ が細切組織について著明な Hist. 遊離能を認めた多くの物質は今回の肝臓細胞内顆粒にたいしても同様の作用を示したが、そのほか Dibucaine, Tutocaine, Procaine, Tropacocaine, Cocaine 及び Xylocaine の如き局所麻酔に Hist. 遊離能が認められ、その作用がある程度局所麻酔効力の強さと関連したことは末梢知覚と Hist. の関連を指摘した Sanuki⁴⁴⁾、大野⁴⁵⁾⁴⁶⁾、山崎⁴⁷⁾⁴⁸⁾ の研究に論拠を与えるものと思う。

同じ薬物濃度で顆粒分割と、細胞の保たれた細切組織との Hist. 遊離率を比較した結果は、大小の程度の差はあるが、前者における遊離が容易に行われることを示した。このことは、Hist. の自然遊離が顆粒分割では細切組織の場合よりもやはり大きいという事実の示すように、結合 Hist. と薬物をへだてる境界の量的な差異からも説明されるが、遊離率のこの違いが Sod. cholate や Tween 20 では少く Decylamine や Dibucaine では大きいという差異をみたのは透入過程における薬物と壁障構造の物理化学的干渉の程度の差異をも暗示している。

感作犬の肝臓細切組織は抗原の添加によつて Hist. を遊離したが、顆粒分割に加えた抗原にはこの作用を認めることができなかった。この知見は Grossberg ら¹¹⁾、Mongar & Schild¹⁰⁾ の所見と一致し、アナフィラキシー性 Hist. 遊離には細胞の保全状態における他の細胞内要素の必要を示すもので、おそらく抗原・抗体反応によつて Mongar ら²⁵⁾ の唱えた酵素の賦活が顆粒外で行われるものと思われる。しかし、ここで試験された化学的な Hist. 遊離物質についてはこのような現象はみられなかったため、この意味ではそれらの作用には顆粒以外の細胞要素を特に必要とするものではないといえる。

しかし、このことはこれらの化学的物質の Hist. 遊離に酵素過程が含まれないという意味にはならない。山本²⁹⁾ はラットの細切皮膚からの Sinomenine による *in vitro* Hist. 遊離が O₂ 欠乏によつて減少するほか Iodoacetate, KCN により著しく抑制を受けるのを認めており、Junqueira & Beiguelman²⁶⁾ は 48/80 の肥満細胞崩壊作用が *p*-Cl-Hg-benzoate, *o*-Iodosobenzoate, Iodoacetate の如き SH ブロック剤によつて抑制されるといい、Uvnäs²⁷⁾²⁸⁾ は 48/80 の肥満細胞崩壊作用が pH 7.5 附近にピークをもつことを示している。これらは Sinomenine と 48/80 の Hist. 遊離作用に酵素過程の含まれることを示唆している。しかし、これらの実験はいずれもラットの組織を対象としたものであつて、種属によつて Hist. 遊離物質の作用に著しい相違のあることを考慮しなければならない。モルモット肺からの Hist. 遊離について Mongar & Schild²⁵⁾ は 48/80 の作用は O₂ 欠乏によつて却つて促進されるといい、山本²⁹⁾ も Sinomenine の Hist. 遊離に減少は認められぬという。私の肝臓細切組織及び分割顆粒についても Sinomenine 及び他の多数の物質の Hist. 遊離作用は O₂ 欠乏により修飾をうけなかった。従つて Sinomenine 又は 48/80 の Hist. 遊離における酵素的過程は種属によつて程度の差をもつものであろう。

被検化合物のうち Decylamine のみがその Hist. 遊離作用が犬肝臓細切組織及び顆粒のいずれにおいても O₂ 欠乏によつて明らかに増進されるのをみた。この現象は山本²⁹⁾ がこのものによるラット皮膚からの Hist. 遊離について、また Mongar & Schild²⁵⁾ がモルモット肺からの Octylamine による遊離について認めているのとよく一致する。この意味は充分明らかでないが、エネルギー需要と相反するこの作

用は物理化学的構造の崩壊促進の過程を暗示するものがある。膜酵素阻害剤 Uranyl nitrate が Decylamine の肝臓細切組織からの Hist. 遊離を抑制した所見は、山本²⁹⁾ がラット皮膚で認めたものと同様であるが、この物質の Decylamine 作用への干渉の詳細については更に検討の必要がある。この Uranyl nitrate は Sinomenine の同様の作用をも抑制しているが、Decylamine 及び Sinomenine の細胞内顆粒からの Hist. 遊離には抑制を示していない。この所見は細胞膜と顆粒膜との間に一定の相違のあることを示すものともみられるが、また細胞膜のみに作用点をもつものか否かについての疑問もないではない。

Hist. の顆粒内における存在様式について Heparin, ATP または RNA の如きとの Ion 結合を推論した仮説²³⁾ がある。この仮説の一つの論拠は特異的な Hist. 遊離物質の多くが塩基性物質であることである。私は今回の実験で多くの塩基性 Hist. 遊離物質の Heparin との結合力を測定した結果、その力価がある程度顆粒 Hist. にたいする遊離能と関連するのを認めることができた。被検遊離物質のかなりのものは犬の赤血球にたいして溶血能を示した。その強度は表面活性と必ずしも平行しないので、血球膜への化学的侵襲に意味づけられるものであろう。この溶血作用の強い物質には Decylamine, HgCl₂, Dibucaine のような Hist. 遊離能のつよいものがある。しかし、Saponin, Tween 20 のように溶血能の強い割合に Hist. 遊離作用のさほど強烈でないものもあるので、この作用が顆粒膜について並行的にみられるかどうかは疑わしい。唯、Decylamine, Dibucaine のように Heparin 結合能及び溶血作用のいずれもが相当に具備された物質に強い Hist. 遊離能がみとめられることからみると、これらの物質は顆粒 Hist. の遊離機序に重要なものと考えたくなる。

抗 Hist. 剤が犬の細切皮膚から高濃度で Hist. を遊離し、稀濃度では他の物質による Hist. 遊離を抑制するのを Yamasaki & Tasaka³⁶⁾ が報告している。Guaiazulene についてもモルモット肺細切組織について山崎³⁸⁾ が同様の作用を認めている。また最近山崎、内田³⁹⁾ は Salicylates その他の解熱薬や他の一定化合物が一定稀釈濃度でモルモット肺組織からのアナフィラキシーならびに化学的物質による *in vitro* Hist. 遊離を抑制することを報告した。しかし、私の実験では Benadryl, Guaiazulene

及び Sod. salicylate の 3 者中 Sod. salicylate のみが稀濃度で犬肝臓細切組織ならびに顆粒からの Hist. 遊離を抑制したのみであつた。しかし、これらのいずれもが比較的高濃度においてこれらの対象からの Sinomenine または Tween 20 による Hist. 遊離を明らかに増強した点は上述の諸氏の知見と同様であつた。これらの実験において顆粒からの Hist. 遊離が細胞からのそれと同じ歩調を示したことは細胞膜と顆粒膜の間に、Uranil nitrate にたいする反応の相違にもかかわらず、それらの薬物の作用を通じてみた場合に化学的な構成の類似性を暗示するものがある。

総 括

1. 犬の肝臓の細胞内粗大顆粒からの *in vitro* Histamine 遊離を諸種条件下で測定し、細切組織からの遊離と比較した。

2. 細胞内顆粒からの Histamine 遊離は薬物 (Histamine 遊離物質) の濃度、作用時間、温度及び媒液の pH に関係した。37°C におけるよりは少いけれども 0°C においてもそれらのすべてにより Histamine 遊離を認めた。Sinomenine の如き塩基性遊離物質の作用はアルカリ側で増大した。

3. pH 7~8 濃度 6 mM で Dibucaine-HCl, Decylamine-HCl, HgCl₂, Quinine-HCl, Tutocaine-HCl は顆粒 Histamine の 50% 以上を遊離した。同じ条件で, Ethylmorphine-HCl, Toluidine blue, Procaine-HCl, Saponin (0.1%), Tropicocaine-HCl, Sodium cholate, Compound 48/80 (0.1%), Sino-

menine-HCl, Tween 20 (0.2%), Cocaine-HCl, Xylocaine-HCl に記載した順序の強さでかなりの遊離作用が認められた。

4. これら物質の細切組織からの Histamine 遊離は顆粒からの遊離にくらべて種々の程度で減少した。

5. Sodium salicylate は他の物質による顆粒ならびに細切組織からの Histamine 遊離を抑制した。抗 Histamine 剤 (Benadryl) 及び Guaiazulene にはこの作用はみられず、却つて高濃度では遊離を促進した。

6. 細切組織からの Sinomenine 及び Decylamine による Histamine 遊離は Uranil nitrate により抑制されたが、顆粒からの遊離は抑制されなかつた。

7. 酸素欠乏は顆粒及び細切組織の Decylamine による Histamine 遊離作用をともに促進したが、他の遊離物質の作用に著明な影響を与えなかつた。

8. *in vitro* アナフィラキシーの Histamine 遊離は細切組織ではみとめられたが、細胞内顆粒ではみられなかつた。

9. 塩基性遊離物質の Histamine 遊離能と Heparin 結合能との間にある程度の関係がみとめられた。しかし、遊離物質の表面活性乃至溶血作用の強度と Histamine 遊離作用との間には必ずしも並行関係はみとめられなかつた。

この論文の要旨は昭和33年6月18日第15回日本薬理学会近畿部会(神戸)で発表した。

この研究は文部省科学研究費の補助で行つた。

引 用 文 献

- 1) Riley, J. F. and West, G. B.: J. Physiol. 120, 528 (1953)
- 2) Riley, J. F.: Pharmacol. Rev. 7, 267 (1955)
- 3) Riley, J. F.: The Mast Cells, Livingstone, Edinburgh (1959)
- 4) Schayer, R. W.: Amer. J. Physiol. 186, 199 (1956)
- 5) Mota, I., Beraldo, W. T., Ferri, A. G. and Junqueira, L. C. U.: Histamine, Ciba Found. Symp., p. 47, Churchill, London (1956)
- 6) Perri, W. L. M.: Ibid. p. 242 (1956)
- 7) 上村之雄: 日薬理誌, 53, 680 (1957)
- 8) Copenhaver, J. H., Nagler, M. E. and Goth, A.: J. Pharmacol. 109, 401 (1953)
- 9) Hagen, P.: Brit. J. Pharmacol. 9, 100 (1954)
- 10) Mongar, J. L. and Schild, H.: J. Physiol. 126, 44P (1954); 131, 207 (1956)
- 11) Grossberg, A. L. and Garcia-Arocha, H.: Science 120, 762 (1954)
- 12) MacIntosh, F. C.: Histamine, Ciba Found. Symp. p. 20, Churchill, London (1956)
- 13) 秦泉寺 圭: 岡山医会誌, 71, (9, II), 6167, (1959)
- 14) Schneider, W. C. and Hogeboom, J. H.: Cancer Res. 11, 1 (1951)
- 15) Mota, I., Beraldo, W. T., Ferri, A. G. and Junqueira, L. C. U.: Nature, Lond. 174, 698

- (1954)
- 16) Köksal, M.: *Ibid.* 172, 733 (1953)
- 17) Rocha e Silva, M.: *Brit. Med. J.* 1, 779 (1952)
- 18) Ungar, G.: *Lancet* 1, 708 (1947)
- 19) Feldberg, W. and Kellaway, C. H.: *J. Physiol.* 94, 187 (1938)
- 20) McIntire, F. C., Wite, F. B. and Sproull, M.: *Arch. Biochem.* 29, 376 (1950)
- 21) McIntire, F. C.: *Histamine, Ciba Found. Symp.* p. 420, p. 443, Churchill, London (1956)
- 22) Mongar, J. L.: *Ibid.* p. 44 (1956)
- 23) Paton, W. D. M.: *Pharmacol. Rev.* 9, 269 (1957)
- 24) Mongar, J. L. and Schild, H.: *Nature, Lond.* 176, 163 (1955)
- 25) Mongar, J. L. and Schild, H.: *J. Physiol.* 135, 301 (1957); 135, 320 (1957); 140, 272 (1958)
- 26) Junqueira, L. C. U. and Beiguelman, B.: *Texas Rep. Biol. Med.* 13, 69 (1955)
- 27) Högborg, B. and Uvnäs, B.: *Acta physiol. scand.* 41, 345 (1957)
- 28) Uvnäs, B.: *J. Pharm.* 10, 1 (1958)
- 29) 山本 孝: *日薬理誌*, 55, 23 § (1959)
- 30) Mongar, J. L. and Schild, H.: *Brit. J. Pharmacol.* 8, 103 (1953)
- 31) 上村之雄: *日薬理誌*, 53, 836 (1957)
- 32) 近藤和二: *日薬理誌*, 54, 1221 (1958)
- 33) MacIntosh, F. C.: *Biochem. J.* 35, 776 (1941)
- 34) Nishiyama, R., Tasaka, K. and Irino, S.: *Acta Med. Okayama* 11, 133 (1957)
- 35) Bordet, J.: *C. R. Soc. Biol., Paris* 74, 225 (1913)
- 36) Yamasaki, H. and Tasaka, K.: *Acta Med. Okayama* 11, 290 (1957)
- 37) 田坂賢二: *日薬理誌*, 53, 1029 (1957)
- 38) 山崎英正, 入野昭三, 宇田昭夫, 内田可亮, 大野博之, 齊藤詔昭, 近藤和二, 秦泉寺 圭, 山本 孝: *日薬理誌*, 54, 362 (1958)
- 39) 山崎英正, 内田可亮: 第32回日本薬理学会総会記事 (1959)
- 40) Irino, S.: *Acta Med. Okayama* 12, 93 (1958)
- 41) 近藤和二: *岡山医会誌*, 71 (6, II), (1959)
- 42) Barron, E. S. G., Muntz, J. A. and Gasvoda, B.: *J. Gen. Physiol.* 32, 163 (1948)
- 43) 田坂賢二: *岡山医会誌*, 69, 2853 (1957)
- 44) Sanuki, K.: *Jap. J. Pharmacol.* 9, 69 (1957)
- 45) 大野博之: *日薬理誌*, 55, 109 (1959)
- 46) 大野博之: *日薬理誌*, 55, 126 (1959)
- 47) 山崎英正: *リウマチの臨床* (三木威勇治編) p. 221, 南江堂 (1957)
- 48) 山崎英正: *日薬理誌* 54, 93 § (1958)

Histamine Release from Intracellular Particles of Dog's Liver

By

Kei JINZENJI

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

In vitro histamine release from intracellular large granules of the dog liver was determined and compared with that from the chopped tissue. The histamine release from the large granules depended on the concentration, duration of action, temperature and pH of histamine liberators. Histamine was released by all the liberators tested even at 0°C less than at 37°C. The action of basic liberators such as sinomenine increased with increasing alkalinity of medium.

Dibucaine hydrochloride, decylamine hydrochloride, HgCl₂, quinine hydrochloride and

tutocaine hydrochloride at pH 7—8 and 6mM concentration released over 50 per cent of histamine from the large granules. Under the same conditions ethylmorphine hydrochloride, toluidine blue, procaine hydrochloride, saponin (0.1 per cent), tropacocaine hydrochloride, sodium cholate, Compound 48/80 (0.1 per cent), sinomenine hydrochloride, Tween 20 (0.2 per cent), cocaine hydrochloride and xylocaine hydrochloride revealed the histamine liberating action in the descending order named. Histamine release from the granules by these substances was larger in variable degrees as compared with that from the chopped tissue.

Sodium salicylate inhibited the release from the granules and chopped liver by other substances, while diphenhydramine and guaiazulen did not reveal such an inhibitory action but rather accelerated the release though slightly. The histamine release from the chopped tissue by sinomenine and decylamine was inhibited by uranyl nitrate, but it was not the same from the large granules. The lack of oxygen accelerated the histamine release by decylamine from both the granules and chopped tissues, but did not reveal any significant effect on the action of other liberators. In *in vitro* anaphylaxis histamine release occurred in the chopped tissue but not in the granules. As far as basic liberators are concerned, there seemed to be some correlation between the histamine release ability and the heparin combining power. However, the surface activity or the hemolytic power of liberators and the histamine release ability was not to be necessarily in parallel with each other in degree.

Interpreting the intracellular large granules as the granules of mast cells and in the light of the above findings the author discussed the respective mode of action of the liberators on mast cells and on their granules.
