

# 犬の皮膚細切組織による薬物の Histamine 遊離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)

田 坂 賢 二

[昭和32年10月12日受稿]

## 結 言

Paton & Schachter<sup>1)</sup> は強力 Histamine (以下 Hist. と略記) 遊離物質 48/80 を無麻酔犬に投与した場合に紅斑, 痒痒, 蕁麻疹, 顔面浮腫の如き一連の症状の発現することを報告している。Sinomenine (以下 Sinom. と略記) が臨床上屢々これと類似の副作用症状をきたすことが古くから知られているが<sup>2)3)</sup>, 最近西山<sup>4)</sup> は無麻酔犬にこの物質を投与して 48/80 についてみられたのと同様の症状のおきるのを観察している。この薬物は前田<sup>5)</sup> により強力な Hist. 遊離作用をもつことが明らかにされたものである。このような事実は所謂薬物 Allergy 乃至特異質とよばれるものに於てみられる皮膚反応が上述の症状群と類似しているところからみて, 感受性の強い人の皮膚に斯る反応を発現する類の薬物が Hist. 遊離作用をもつ可能性を予想させるものである。

Curare が諸種の動物組織から Hist. を遊離することは Alam ら<sup>6)</sup>, Ambache & Barsoum<sup>7)</sup> によつて夙に知られたが, この事実は又人の皮膚についても認められておる<sup>8)9)</sup>。Eichler & Speda<sup>10)</sup> は Morphine が猫の血液 Hist. 値を上昇させることを報告したが, その後 Morphine 及び他のアヘン Alkaloids (Codeine, Papaverine, Thebaine, Apomorphine) が皮膚及びその他の臓器から Hist. を遊離することを Nasmyth & Stewart<sup>11)</sup> 及び Feldberg & Paton<sup>12)</sup> が認めている。Burstein & Parrot<sup>13)</sup> は Atropine が犬の肝臓から Hist. を遊離することを報告し又猫の皮膚灌流実験におい

て Pethidine, Atropine, Quinine, Prisco, Neocarsenobenzol 及び一部の胆汁酸塩がこの順の強さで Hist. 遊離を行うことを Schachter<sup>14)</sup> が観察している。

ところで Curare<sup>15~17)</sup>, アヘン Alkaloids<sup>15~17)</sup>, Atropine<sup>15~17)</sup>, Quinine<sup>16)17)</sup>, Arsenobenzol<sup>16)17)</sup>, Pethidine<sup>18)</sup>, Prisco<sup>19)</sup> が全身投与後に上記の型の皮膚反応をよぶことのあるのは既に知られている事実である。

このような既知の事実は日常臨床的に使用されている多数の薬物について, 既述のもの以外にも皮膚反応をみるものが多い事実に鑑み, 広く治療に用いられる薬物についての Hist. 遊離能の有無を検索することの必要を感じさせるのである。

皮膚 Hist. 遊離の観察には Feldberg & Paton<sup>12)</sup>, Schachter<sup>14)</sup> らの皮膚灌流法が優れていると思われるが, 多数の種類の薬物についての作用を比較検討するにはこの方法はかなり繁雑である。私は以下のべる若干の基礎的な実験によつて犬の皮膚細切組織を用い, 一定の条件下に薬液を作用させることにより遊離される Hist. を定量的に測定し, それら薬物の Hist. 遊離能を比較しうることを確かめたので, この方法を用いて临床上使用される重要な薬物の可及的多数についてこの作用を検索してみた。この方法によつて認められた皮膚 Hist. 遊離作用の強弱は, これらの薬物が吸収されたのちにこの作用を発現する程度を直ちにそのまま示すものとはいえないが, この方法によつて Hist. 遊離作用を示した薬物については一定の条件下に於ては本作用の発現をみる可能性が示唆されるものと思う。

殊に皮膚に直接、接触乃至適用された場合に局所 Hist. 遊離を行う可能性についてはかなり期待しうる推定の基礎となりうるものと信ずる。

この実験はモルモット肺細切組織についての上村<sup>20)</sup>の同様の実験と平行して行われたもので、これらの成績の一部は山崎らと連名で予報された<sup>21)22)</sup>。

### 実験材料及び方法

#### 実験材料

1. 皮膚 皮膚 Hist. 含量は部位的にかなり相違があることが知られている。Feldberg & Miles<sup>23)</sup>、久米<sup>22)</sup>によると耳、眼瞼、口唇、乳暈、外陰部はその含量高く、軀幹皮膚は一般に低いことが知られている。今回の実験目的には Hist. 含量になるべの均等で、しかも豊富な材料のえられることが望まれたので、比較的 Hist. 含量に変化の少ない軀幹部皮膚について実測してみたところ Table 1 のよう

Table 1. Histamine content of dog skin ( $\mu\text{g}$  per g wet tissue).

Region	Dog			Average
	No. 1	No. 2	No. 3	
Abdomen	8.7	15.3	15.5	13.2
Back	8.7	14.7	14.5	12.9
Breast	10.7	14.7	16.3	13.9
Hip	8.0	13.3	14.5	11.9
Thigh (inner side)	8.0	13.3	16.3	12.2

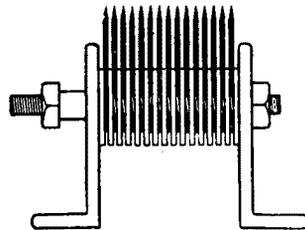
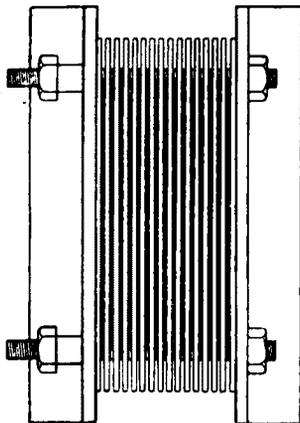


Fig. 1. Chopper for skin tissue.

Left: plan, right: end elevation. Somewhat diagrammatic.

であつた。このうち背部及び胸部皮膚は下組織との結合が固く剝離する場合に損傷の恐れがあるので、実験には皮下組織の鬆粗な側腹及び大腿内側部のものを用いることにした。

2. 使用薬物 標準 Hist. には塩酸 Histamine (和光), Sinom. は塩酸 Sinomenine 結晶を用いた。後者は塩野義研究所の好意により提供されたものである。Hist. 遊離の検索に供した多数の薬物は局方薬についてはそれを用い、その他のものは Merck 製又はそれに準ずる可及的純品を用いた。但し, Irgapyrin, Butazolidine は藤沢薬工, Aminopyrylon は日本新薬, 塩酸 Dibenamine は住友化工, の好意に負うものである。

#### 実験方法

1. 皮膚細切法 この目的にフェザー安全剃刀片刃を Fig. 1 のように、各刃間に一定厚みの金属板を介入して平行に固定した細切器を考案して使用した。金属板の厚みを加減することにより刃尖の間隔を 0.7 mm と 1.0 mm に調節できるようにした。

4~5 kg の犬を Urethane 麻酔後、側腹及び大腿内側皮膚を電気バリカンで除毛し、ブラッシで軽く水洗後、デルマトグラフ鉛筆で四方形の四頂点にマークし、それよりもやや広い目に鋏で切開し、メスで皮下組織からなるべく牽引力を加えないようにして剝離する。皮膚は Tyrode 液で洗つて血液を除き、更に皮下組織を充分に除去し

たのち、コルク板上に表皮を上面にして、もとの宏さにのばして外縁を多数のピンでゆるみなく固定する。これに上述の細切器をあて、一挙に切断すれば多数の皮膚条片がえられる。この細切皮膚片を Tyrode 液で湿した濾紙上にひろげ、有蓋シャーレ中におき乾燥を防ぎ、以下のべる実験の用に供する。

2. 組織からの Histamine 拡散方法 細切組織片から媒液への Hist. 拡散を行わせる場合に、組織表面に接触する媒液が常に更新するようにすることは、Hist. 拡散速度を円滑にするためのみでなく、組織表面の薬物濃度を均一にする上にも頗る重要である。この目的には組織片と媒液をいれた試験管を 37°C 恒温液槽の中を電動力によつて毎分 100 回、5 cm 行程で水平往復する架台にかけて揺る方法を用いた。更にこの場合、試験管は平底とし、直径 4 mm のガラス玉 1 個をその中にいれ、液の攪拌効果をあげるようにした (Fig. 2)。

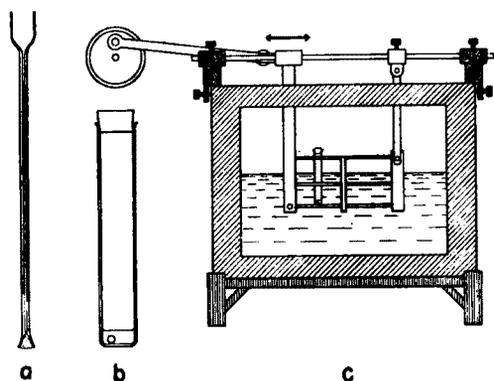


Fig. 2. (a) Filter tip of Monger-Schild's pipette for withdrawing liquid from a suspension of tissue pieces. The filter pad consists of teased cotton-wood. (b) Flat-bottomed glass tube (dia. 18mm, depth 100 mm) with a glass bead for stirring drug solution. (c) Constant temperature bath (35×50×55 cm) with a shaking frame.

このガラス玉使用は媒液への組織からの Hist. 自然遊離の促進にくらべて、薬物の Hist. 遊離を促がす効果に一層有用であることが上村<sup>20)</sup>の実験で知られている。これらの装置については上村<sup>20)</sup>が別報したのでここでは記述を簡単にした。

媒液は Tyrode 液又は 0.9% 食塩水を用い、1 試験管にその 1 cc と組織片の 150 mg をいれた。上記の保湿シャーレ中に用意した細切皮膚組織は Bang の Torsion balance で迅速に秤量した 150 mg づつの数組に分け、実験用媒液にいれるまでは上述の有蓋シャーレ内に保湿しておく。

3. Histamine 拡散と媒液の採取 上村<sup>20)</sup>と同様に、Mongar & Schild<sup>24)</sup>の考案した 5 cc ホールピペットを使用した。このピペットは先端が漏斗状にひろげられ、この部にかかるく棉花の少量が詰められたもので、上記細切組織をのこして媒液を吸いだす目的のものである。しかし、この方法で吸いとつた媒液中には微細な組織細屑の混入があるので更に濾紙でもつて濾過する様にした。

4. 媒液及び組織中の Histamine 含量の測定法 拡散 Hist. を含む媒液、及びそれをのぞいた残存組織をガラス棒でつぶしたのち 2 cc の新しい媒液を加え、別の試験管にうつした液はともに沸騰浴中で 3 分間加温し、細菌及び Histaminase 作用を阻止した上、蒸発水分を補正したのち、10 cc Tyrode 液槽 (0.05  $\mu\text{g}/\text{cc}$  の硫酸 Atropine 含有) 中のモルモット下部回腸条片による Hist. 定量に供した。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 (3 分間煮沸したもの) を標準 Hist. 注入の場合に同時に注加するようにし、定量誤差を避けるようにした。被検液による腸管収縮高が同効の Hist. によるそれと同程度に Neantergan によつて抑制されることをもつて Hist. 作用の同定としたが、今回の実験におけるすべての場合、この方法では被検液中の収縮作用物質を Hist. とみなすことが出来た。被検薬物中ある種のものではその遊離する Hist. 量の作用の割合に腸管にたいして Hist. 作用を抑制する作用の強いものがあり、Hist. 定量の困難のものがあつたが、それらの被検薬物については今回の報告から除外することにした。薬物作用時の Hist. 遊離率の算出法は後述する。

## 実験成績

### A. 実験条件の検討及び *in vitro* Histamine 遊離に関する基礎的実験

1. 自然遊離速度、特に組織片の厚さとの関係 薬物不含の Tyrode 液を媒液とし、上述の

方法で攪拌操作を加える場合、媒液中への Hist. の拡散（自然遊離）がみられる。その遊離の割合を時間的に検したのが Fig. 3 である。この実験では横軸に示した時間毎に媒

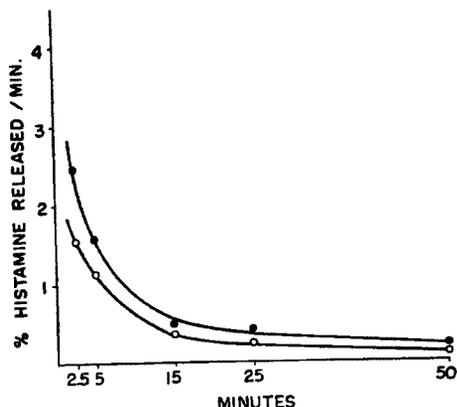


Fig. 3. Rate of spontaneous release of histamine from chopped dog skin in Tyrode solution at 37°C. •: 0.7 mm, ○: 1 mm thick skin pieces.

液を吸いだし、新しい媒液と交換した。この図の曲線の各プロットの値は前のプロット以後の媒液についての遊離率〔(Hist. 遊離量)/(組織にのこる Hist. 量+全遊離 Hist. 量)×100〕の毎分平均値で示されている。自然遊離は初期ほど速度が速く、第3図の実験例では1 mm 厚さの組織では最初の15分間に50分間の55%, 0.7 mm 厚さのものでは60%の遊離が行われている。全体としての自然遊離は薄切片の方がやや大きい。0.9%食塩水媒液の場合にも殆ど同様の曲線がえられた。

薬物による Hist. 遊離率を測定するには、自然遊離のなるべく少ない状態の材料の使用が適しているので、この実験の結果にもとづき、以後の実験には最初15分間薬物不含の媒液で初期の大きな自然遊離を行わせたのちの組織を使用することにした。

## 2. 薬物の Histamine 遊離速度と組織片の厚さとの関係

Sinom. 1%を溶解した Tyrode 液での Hist. 遊離について、上と同様の方法で（但し、15分間上記の自然遊離をすませた組織を用い）時間的に測定した成績が Fig. 4 に示されている。この場合の Hist. 遊離は上述の

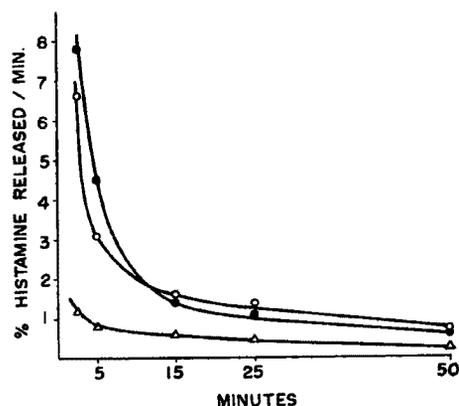


Fig. 4. Rate of release of histamine by  $10^{-2}$  sinomenine hydrochloride from chopped and whole dog skin tissues at 37°C. •: 0.7 mm, ○: 1 mm thick chopped pieces, △: not chopped pieces of dog skin. (150 mg each in 1 cc of Tyrode solution)

自然遊離の場合よりもはるかに大きい、やはり遊離速度の時間的關係は類似している。この例では 0.7 mm 厚さの組織片で50分間の遊離は組織総 Hist. 量の70%, 1 mm 厚さのもので67%, 細切しない同じ重量の組織片では僅かに14%で、切片の薄いものが、遊離量は大きい。いずれの場合でも50分以後の遊離は僅少である。0.9%食塩水媒液においてもこの関係は大体類似していた。

## 3. 薬物の Histamine 遊離効果と温度との関係

Hist. 遊離物質の濃度を増加すると遊離率が増加する。Sinom. (Tyrode 媒液) について、その関係を時間的に示したのが Fig. 5 である。この例は特に Sinom. の効果著しいものである。

## 4. Histamine 遊離と温度との関係

1% Sinom. (Tyrode 媒液) の Hist. 遊離及び媒液中での自然遊離を 20°, 37°, 45°C 及び 60°C 浴槽中で行わせ時間的にその経過を定量的に検した。この実験では浴槽の關係で既述の攪拌装置をもちいず、試験管内に挿入したガラス毛細管から気泡を通じて攪拌効果を与えるようにした。Fig. 6 がその成績である。温度の上昇するにつれて両遊離とも増加するが、45°C までの間は自然遊離の僅少な増加に比らべて Sinom. による遊離の増大

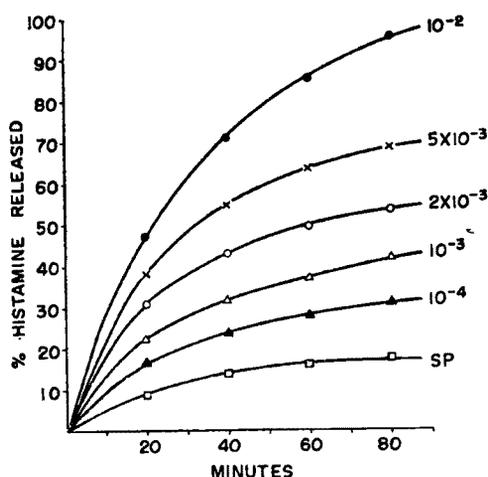


Fig. 5. Time course of histamine release by different concentrations of sinomenine hydrochloride in Tyrode solution at 37°C. Points on each curve were obtained from one sample of chopped skin tissue by successive replacements of the releaser solution. SP: spontaneous release.

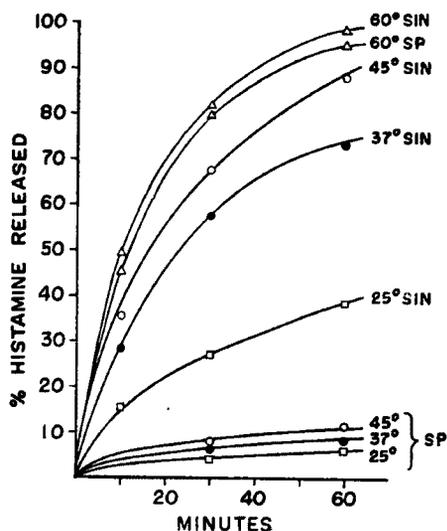


Fig. 6. Effect of temperature on the release of histamine from chopped dog skin in Tyrode solution. SIN: release of histamine by  $10^{-2}$  sinomenine hydrochloride, SP: spontaneous release of histamine.

の仕方は格段に大きい。しかし、60°Cに達すると自然遊離が突然増加し、Sinom. の場合と曲線は殆んど一致するまでに接近し、且つ60分までに殆んど組織含有 Hist. の全量を遊離した。この温度では恐らく組織 Hist. の

細胞内保持構造の破壊がおきることが考えられる。

### 5. Histamine 遊離と媒液 pH との関係

媒液の pH が Hist. 自然遊離及び薬物によるその遊離に如何なる影響を与えるかに就て検索した。Michaelis の等張 Veronal-Acetate 緩衝液を媒液として pH 2 ~ 9 附近までの範囲に互り 0.2% Sinom. による遊離と該当 pH の媒液への自然遊離について検らべた成績は Fig. 7 に示した如くである。この実験は60分間の遊離によるもの

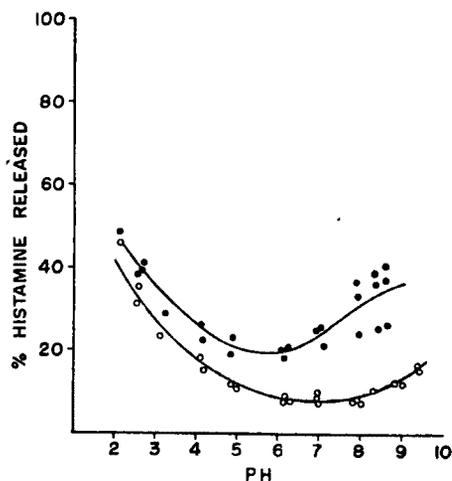


Fig. 7. Effect of pH on the release of histamine from chopped dog skin at 37°C. •: by  $2 \times 10^{-2}$  sinomenine hydrochloride, ○: spontaneous release. (Michaelis' isotonic veronal-acetate buffer).

である。薬液及び媒液の pH はその都度ガラス電極で測定された。pH 6 ~ 8 間では自然遊離率は不変だが、それよりも酸性側又はアルカリ性側では増加している。Sinom. 作用時の遊離率もこれと似た変化の曲線を示しているが、自然遊離率を控除した遊離率は pH 6 以上のアルカリ性側では漸次増加し、酸性側では減少の傾向がみられる。Sinom. はプロット以上のアルカリ性では析出する。

この成績は Sinom. という特別な塩基性化合物についてのものであつて、他の薬物特に非塩基性のものに直ちに適用しうるとは考えられぬ。しかし、その作用が pH の影響を

蒙る可能性は否定しえない。又自然遊離が pH によつて変化する事実は薬物不含の媒液中での自然遊離率をそのまま薬物による遊離率の計算の基礎とすることに誤謬の生ずる場合のあることを教えるものである。私が今回の実験で Tyrode 液 (pH 8) 及び 0.9% 食塩水液 (pH 6.2) でえた 60 分間の自然遊離率は前者  $8.4 \pm 2.9$  (17 例平均), 後者  $7.8 \pm 3.4$  (26 例平均) であつたが、これらの値を上記緩衝液の該当 pH のそれと比較するに有意差は認められない。従つて、この緩衝液における自然遊離率の変化はその成分によるものではなくて pH にのみ関係すると考えられるので、pH がこの範囲をこえる薬液を用いた場合の自然遊離率はその組織についてえた薬物不含の媒液中での実測自然遊離率に Fig. 7 の曲線によりもとめられる薬物 pH に該当する係数を乗ずることによつて計算することができる。

以上の基礎実験の結果にもとづき、薬物の Hist. 遊離率測定実験条件は次の規格によることにした。1) 温度  $37^{\circ}\text{C}$ 、2) ガラス玉使用、1 分間 100 回動揺、3) 組織片の厚さ 0.7 mm、最初の 15 分間の自然遊離をすませたものを使用、4) 作用時間 60 分、5) 薬物濃度 0.2% 及び 1.0%。

薬物による Hist. 遊離率 =

$$\left( \frac{C_t}{C_t + C_{r1}} - \frac{C_s}{C_s + C_{r2}} \right) \times 100\%$$

$C_t$  薬物作用時の総遊離量

$C_s$  : 同期間の自然遊離量

$C_{r1}, C_{r2}$  組織に残存する Hist. 量

但し、薬液 pH 6~8 範囲外の場合の  $C_s/C_s + C_{r2}$  は Tyrode 又は 0.9% 食塩水媒液中での実測値に該当 pH の係数を乗じて算出した。

上式によつてえた数値が負の符号をもつものは薬物作用時の Hist. 遊離率が、当該 pH における自然遊離率以下であることを示すものである。このような負の数値の比較的大きい薬物に就ては、

自然遊離に対する抑制率 =

$$\left( \frac{C_t - C_s}{C_s} \right) \times 100\% \text{ (負符号)}$$

をももとして附記した。但し、 $C_s$  の数値は  $C_t$  と同じ pH における  $C_s/C_s + C_{r2}$  から算出されたものである。

#### B. 諸種薬物による Histamine の遊離

Quinine 及び他二、三の Quinoline 誘導体、Pyrazolone 誘導体、Acetanilide 誘導体、Salicylates、アヘン Alkaloids、局所麻酔薬、催眠薬、胆汁酸塩、自律神経毒、化学療法薬、下剤、皮膚薬その他同計 78 種類の、その多くは臨床的に用いられる、薬物について上述の方法により犬の細切皮膚組織からの *in vitro* Hist. 遊離作用を定量的に検索した。媒液には Tyrode 液と 0.9% 食塩水を用いた。Alkaloids 塩では Tyrode 液に溶解しにくいものがあつたためでもあるが、媒液の pH によつて Hist. 遊離率に相違するものがあるので、この点についての観察を行うのも一つの目的であつた。実験成績は Table 2 に示した如くであるが、これらの pH で溶解しにくい薬物がかなりあり、著しく溶解し難いものはアラビヤゴム等量を加え、あるいは Alcohol に溶解した後媒液中に懸濁させる方法を用いた。Alcohol 自身一定度の Hist. 遊離能を有するので後者の方法によつた場合の成績の判定には含有 Alcohol 濃度による遊離を考慮した。溶解度の概略は表の濁濁 (Turbid.) 欄の符号によつて示されている。

Pethidine 及び Atropine は Schachter<sup>14)</sup> の皮膚灌流法ではかなり著明な Hist. 遊離を行うことが認められておるが、この化合物はモルモット腸管に強度の抑制作用を与えるので今回の実験方法ではその遊離する Hist. の検出は不能であつた。このような若干の薬物は一応検査されたがこの報告から除外した。Papaverine, Apomorphine, Methylhexabital-Na などにも Hist. 作用抑制作用がかなり著明にみられたが、標準 Hist. の液槽内適用に際して被検液中に含まれると同量の薬物を同時適用する今回の方法では一応 Hist. 遊離率

の推定値をうることができた。

Table 2 にみるように先づ Alkaloids では Quinine, Quinidine, Cinchonine, Cinchonidine, Optochin などの Cupreine 誘導体に強力な Hist. 遊離作用がみられる。それらの構造の一部である Quinoline 自体にも強力な作用がある。これらの物質の Hist. 遊離作用は Sinom. よりも強力である。特に Quinine の作用が著しく両媒液のいずれに於ても 0.2% で組織含有 Hist. の殆んど全量 (90%以上) が遊離された。この種薬物の Hist. 遊離作用は食塩水媒液よりも Tyrode 液媒液中の方が、溶解度の著しく低下しない限り、強大であつた。このような所見は Sinom. の場合と同様で、既述の如く pH の影響の大きいことを示している。

アヘン Alkaloids では Ethylmorphine の作用が極わだつて著明であつた。しかし、Morphine, Codeine, Dihydrocodeine, Thebaine, Apomorphine ならびに Papaverine, Narcotine にもそれよりは軽度だがこの作用が認められた。後 2 者が食塩水中で認められた作用を Tyrode 液であらわしえなくなつたのは溶解度の減弱によるものと考えられる。

Alkaloids 中興味ある知見は局所麻酔薬の殆どに Hist. 遊離作用の認められたことである。即ち、Dibucaine, Tropicocaine, Beteucaine のいずれもがかなりこの作用著しく、殊に Dibucaine は最も作用が大きい。Procaine は食塩水媒液ではその作用を示さなかつたが、Tyrode 液中では明らかに遊離作用を示した。唯、Cocaine のみは両媒液中とも Hist. 遊離作用をあらわさず、却つて自然遊離を抑制した。Cocaine は他の局所麻酔薬に比べて使用濃度ではかなり酸性反応を呈する点でも違つている。

催眠薬に属する被検薬物では Chloral hydrate に明らかな遊離作用が認められた。Barbital, Pyrabital, Phenobarbital, Methylhexabital にも遊離の傾向が認められたが、軽微であつた。Diphenylhydantoine は臨床上発疹のほかにも特異な歯肉肥厚の副作用をみる点

で特に注意されたが、Tyrode 液中では難溶のためか遊離は僅少であつた。

胆汁酸塩では Chol 酸, Taurochol 酸及び Desoxychol 酸塩が何れも強力な Hist. 遊離を示した。このうち Desoxychol 酸塩は 0.2% に於て他の 2 者に比し格段に強力な遊離を示しており、これに対し Dehydrochol 酸塩は Hist. 遊離を全く行わなかつた。Desoxychol 酸が極めて強力な溶血作用をもつのに対し Dehydrochol 酸は胆汁酸中でこの作用最も微弱な事実<sup>25), 26)</sup>と照してみると、胆汁酸塩の Hist. 遊離作用が溶血作用と機序に於て共通するものがあることが示唆される。

Pyrazolone 誘導体では Antipyrine, Aminopyrine, Butazolidine・Na 及び Aminopropylone に何れも軽度の Hist. 遊離作用が認められた。しかし、Aminopyrine と Butazolidine・Na の合剤及びその製剤 Irgapyrine のこの作用はその各成分に比べて著しく強力となつた。Aminopyrine と Aminopropylone 合剤についてもその傾向を Tyrode 液媒液中に於て認めることができた。Acetanilide, Phenacetine 及び Lactophenine については Hist. 遊離作用を検出しえなかつたが溶解しがたいためかも知れない。

Salicyl 酸誘導体では Na・salicylate, Salicylamide, PAS・Na には作用を認められなかつたが、Salicyl 酸及び Acetylsalicyl 酸は酸性の状態では自然遊離に対する著明な抑制効果を示した。

自律神経毒では Dibenamine と Priscol に Hist. 遊離作用がかなり著明に認められた。上村<sup>20)</sup>のモルモット肺細切組織による実験では Dibenamine は食塩水媒液中では遊離を行わず、反対に自然遊離を抑制している。又 Priscol に Hist. 遊離作用を認めていない。従つてこの両化合物の作用にはモルモット肺と犬の皮膚との間にかかなり差異がある。

化学療法剤では Neocarsenobenzol, Sulfamine, Acetosulfamine に僅かの遊離作用がみられるが、Penicillin と Dihydrostreptomycin (ともに pH 6) にはこの作用が認められなかつた。







Emetine はこれらに比してかなりはつきりした Hist. 遊離を示したが、この化合物は同様の条件 (pH 3.9) でモルモット肺 (上村<sup>20)</sup>) ではむしろ自然遊離を抑制している。

下剤では Aloin と Jalapa resin に遊離作用がみられた。特に後者にその作用が著明であつた。

Table 2 に示した薬物のうちその他のもので明瞭な Hist. 遊離作用の認められたものは Ethylalcohol, Acetone, 昇汞, Phenol, Thymol, Amylresorcinol, 芥子油, Ichthammol, Chenopodium 油, Cantharidine など、Amylresorcinol, Cantharidine をのぞく他のものはモルモット肺<sup>20)</sup>でもその作用が認められておる。Peptone (Witte) にも軽度ではあるが作用が認められた。

今回の犬の皮膚細切組織による実験成績は上述の二、三の相違をのぞけばモルモット肺について上村が認めた所見とその傾向に於て一致したが、概して Hist. 遊離作用の認められた薬物についてみるにその Hist. 遊離率はモルモット肺の場合より大きい。皮膚組織からの遊離はモルモット肺よりも容易であるように思われる。

## 考 察

犬の皮膚細切組織からの *in vitro* Hist. 遊離はその組織片の厚さ、薬物濃度のほか温度及び pH に関連することが基礎実験によつて示された。温度の影響については 60°C 以上では自然遊離の急激な増加をきたし、組織 Hist. の殆どが遊離される事実から、Hist. 保持構造の破壊を生ずるものとみられるが、45°C 以下では温度上昇により自然遊離の増加に比らべ、薬物 (Sinom.) による Hist. 遊離の増加は著明であつた。この現象は単に膜透過過程の変化によるのみとは考え難く、おそらく Hist. の細胞内結合の離解の増加をも考慮しなければなるまいと思う。pH の影響は自然遊離そのものに対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。既に若干の研究<sup>27-29)</sup> の示唆するように異常

pH による膜構造の変化がこの原因として重要なものと考えられるが、膜の変化以外に細胞内 Hist. 結合構造に対する作用も同時に考慮に置かねばならないものと思う。薬物の Hist. 遊離作用に対する pH の影響は自然遊離にみられる変化と関連することはいうまでもないが、薬物固有の Hist. 遊離作用は必しもそれと平行しない。Sinom. について観察されたところではアルカリ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。このことは恐らく、アルカリ側ではこの薬物の多くが塩基分子として細胞内に透入し易い条件の醸成されるためであろうと考えられる。このことはキナ Alkaloids、一部の局所麻酔薬 (Procaine · HCl) についても生理食塩水媒液の場合よりも Tyrode 媒液中では固有の Hist. 遊離作用の増大する事実の示すように、塩基性化合物に共通する現象であるということから理解される。これらの観察された事実はモルモット肺に於ても略々同様に認められてをり、詳細な考察が上村<sup>20)</sup>によつてなされているので茲ではこれらの諸点については重複を避けてこれ以上の考察は省略することにする。

薬理学的性質の相違する多くの薬物が実験的過敏症にみられるところとかなり似た、共通した症状群を起すという事実は既に古くから臨床的に知られているところである。このことはこの種の薬物反応を薬物 Allergy の呼称のもとに、Allergy の概念に包含しようとする傾向にある。しかしながら、これらの薬物による反応が生体内における抗原・抗体反応によつておこる生体反応過程を必しも示していない点に、それらの症状が Allergy に起因するという考え方の理論的な困難があることを認めなければならない。たとえば、これらの化合物の中にははじめての接触に際して屢々反応を示すものがある。又反応を示す人体にそれら薬物に対する抗体は殆ど証明されていない<sup>30)31)</sup>。非蛋白性の物質特に単純化学的物質が抗原性をもちうることは蛋白分子への特殊の化学的グループを導入した場合に蛋

白の抗原性を阻害せず導入化学的グループの性質に関して血清学的な特異性を賦与することができるという実験的な事実によつて知られている。Jod 化<sup>32)</sup>、Nitro 化<sup>33)</sup>や Diazo 化<sup>34)</sup>のような蛋白の化学的操作はこのような実験に用いられて、このことの可能性を示している。これらの実験では化学的物質は Hapten 又は部分抗原 (Partial antigens) の概念に於て考えられ、薬物が反復組織と接触する場合に薬物又はその部分が組織蛋白と結合することによつて複合体抗原 (Conjugated antigens または Antigenic conjugates) を生成するという仮説を導き、かかる複合体抗原は結合蛋白によつて抗原性をえ、薬物又はその一部によつて抗原としての特異性を賦与されるものと考えられている。しかし、上述のように既往に薬物との接触を重ねた経験の無い場合に於ても屢々反応をみることもあり、又未だ抗体の被働性転嫁 (Passive transfer) は一般的に認められていないという事実<sup>34)35)36)</sup>、はこのような仮説がかかる薬物反応をひろく Allergy の概念のもとに理解させるのにはいまだ困難をのこしているところである。このような過敏症的反応を呈する薬物の多くものに Hist. 遊離能を認められたことはこれら薬物の人体における過敏性反応が薬物の事前の感作を必須のものとしないうで発生しうる場合に就ての Allergy 説の理論的な困難を補足しうるものと思ふ。

Landsteiner らの化学的物質の抗原性についての実験の多くは臨床的には重要性の少ないものについて行われたが、Mulinos<sup>37)</sup>が Antipyrine 蛋白複合体について、Wedum<sup>38)</sup>が Sulfonamide 蛋白複合体でもつて Landsteiner らと同様の成績を収めるにいたり、この概念が臨床上の薬物 Allergy の基本的な理論として一般的に認められるようになっていふ。臨床薬物 Allergy を起しやすいとされている薬物は極めて多数に上つている。このうち著名なもので今回の実験に用いられたものは Quinine, Quinidine, Antipyrine, Aminopyrine, Butazolidine, Acetylsalicyl 酸,

Barbiturates, Procaine その他の局所麻酔薬, Sulfonamides, Arsenobenzols, Penicillin, Phenolphthalein などである。Penicillin, Acetylsalicyl 酸, Phenolphthalein を除く他のものは今回の実験成績では大小の程度で Hist. 遊離作用を認めえられたものである。今回の実験知見はこれらの薬物による Allergy 反応の一部に程度の大小は別として薬物自体の Hist. 遊離作用によるものが含まれる可能性を示唆するものである。しかしながら薬物 Allergy とみられる臨床症状はかなり多様であつて必しも Hist. の作用として説明しえないものがある。それらに関しての Hist. の意義は現在における Hist. の作用に関する知識の段階では重要視しえないものとみななければならない。

薬物 Allergy とみられる反応が特定の人にのみ発現するということについての疑問は、また薬物による Hist. 遊離に関してもおこりうる疑問である。前田<sup>5)</sup>によると Sinom. の同じ用量を静注した犬に於てもあるものは極めて激烈な Shock を起したのにかかわらず、一部の犬では殆んど反応の認められないものがあつたという。従つて、薬物による Allergy 様症状の発現に個性的差異の著しいことはこれら反応における Hist. 遊離の関与を否定する理由にはならない。このような個性差のみられる理由については組織 Hist. の安定化又はその遊離に関する物理化学的機序についての知識が更に進歩しない限り説明が困難である。しかし、既述のように皮膚からの Hist. 遊離はモルモット肺からのそれに比らべて容易な傾向がみられたことは皮膚が Hist. に対して頗る鋭敏な臓器であるという事実とともに、薬物の Allergy 様反応が皮膚に好発する理由を一部説明するものであろう。

ここで Hist. 遊離作用のしられた薬物の多数のものは 48/80<sup>39)</sup>、Sinom.<sup>5)</sup> 一定の Amidine 類<sup>4)</sup>のようなその薬理作用の主体が遊離 Hist. によるとみられるものとは異り、Hist. 遊離作用はそれらの主要薬理作用に対して附随的なものである。しかし、芥子油、

Cantharidine, Ichthammol, Chenopodium 油, Alcohol, Phenol, HgCl<sub>2</sub>, Alkylresorcinol の如き局所刺激剤による局所反応については Hist. 遊離の意義は比較的大きいものと考えられる。Erspamer<sup>41)</sup> らが Jalapa resin 及びヒマシ油による瀉下作用が抗 Hist. 剤により抑制されたとのべているところをみると Jalapa resin のこの作用は腸運動の亢進をよび、下剤としての作用に意味をもつ可能性が想像される。Ethylmorphine が眼科においてその点眼によつておきる刺激症状後角膜浸潤、前房出血の吸収をはかるのに利用されているのはおそらくこのものの強力な Hist. 遊離作用の故であろうと想像される。Sinom. の主要薬理作用はこのものの強力な Hist. 遊離によるものとみられる<sup>5)</sup> が、この薬物の神経痛及びリウマチへの治療効果はこの作用によつて局所 Hist. の減損されることが鎮痛<sup>42)</sup>、消炎作用<sup>43)</sup>を結果するのが、重要な機序ではないかとみられている<sup>43)46)</sup>。Irgapyrine の同様の効果についても一部この説明を適用できるかと思ふ<sup>43)</sup>。Cocaine 以外の局所麻酔薬の多くに何れも強力な Hist. 遊離作用を認められたが、Hist. 遊離物質 Sinomenine 及び 48/80 にこの局所麻酔作用<sup>44)</sup>を認める事実、及び Hist. と末梢知覚との関連に関する佐貫<sup>42)</sup>の研究からみて局所麻酔作用とこれら薬物の Hist. 遊離作用との関係は更に追究の興味をそそるものがある。教室の山崎、入野<sup>43)</sup>は Salicyl 酸 Na, Aminopyrine がラットで Dextran による Anaphylactoid 浮腫及び Hist. 遊離を抑制することを認めてをり、齊藤<sup>45)</sup>はラットで Sinom. の皮内注射によつておきる Hist. 遊離の徴候とみられる皮膚血管透過性の増加及び Granulopexy がこれらによつて抑制されるのを観察している。今回の実験で認めた Salicyl 酸及び Acetylsalicyl 酸の Hist. の自然遊離抑制効果はおそらくそれらの所見と関係するもので、これら薬物の消炎効果について重要な意味をもつものではないかと思われる。

## 総 括

1. 薬物の有する皮膚 Hist. に対する遊離能を検知し、且つその作用の強度を比較する目的で、細切した犬の皮膚を用いる *in vitro* Hist. 遊離の定量的実験方法を考案し、その実験条件について吟味した。

2. 等間隔に固定された平行刃をもつた細切器によつて一定の厚さに刻まれた犬の腹部皮膚細片が大部分の自然遊離されるべき Hist. を Tyrode 液中で除かれたのち、試験されるべき薬物溶液を含む試験管中で 37°C、一定時間ガラス玉とともに振動され、薬液中に拡散した Hist. 及び組織残部 Hist. が定量された。

3. この方法によつて測定される薬物の Hist. 遊離の効果は、組織片の厚さ、温度及び pH に関係した。組織片の薄いものは薬物による遊離ならびに自然遊離速度がともに速やかであつた。45°C までの温度の上昇は自然遊離よりも薬物による遊離を著明に促進した。しかし、60°C では急激に自然遊離の増加を来し 60分以内に殆ど全組織 Hist. を拡散した。等張緩衝液で pH 6~8 の間では自然遊離は最も少く、pH がそれよりも酸性側及びアルカリ側に遠ざかるほど増加した。Alkaloid 塩の Hist. 遊離作用はアルカリ側で自然遊離の増加以上の割合で強く増加した。その細胞内透入が塩基の形で行われやすいことを示唆するものである。

4. Tyrode 液及び 0.9% 食塩水媒液で、37°C、60 分間作用の条件のもとで試験された、78 種の医薬物のうち比較的著明な Hist. 遊離作用を認められたものは次の如きものである。

Sinomenine, Quinine, Quinidine, Cinchonidine, Optochine, Quinoline, Ethylmorphine, Thebaine, Dibucaine, Tropicocaine, Beta-eucaine (以上 HCl 塩); Na·cholate, Na-taurocholate, Na·desoxycholate; Irgapyrine, Dibenamine, Prisco, Jalapa resin, Ethylalcohol, Acetone, HgCl<sub>2</sub>, Phenol, Thymol,

Alkylresorcinol, Oil of sinapis, Ichthammol,  
Oil of chenopodium.

尚又 Salicylic acid, Acetylsalicylic acid 及  
び Cocaine·HCl は酸性条件で組織からの  
Hist. 自然遊離を抑制した。

これらの薬物による Hist. 遊離の割合は犬

の皮膚からの方がモルモット肺組織(上村<sup>20</sup>)  
からのそれよりも一般に高率であつた。

5. 以上の実験成績にもとずき薬物の Hist.  
遊離作用と所謂薬物 Allergy ならびに既知  
の薬理作用との関連について考察した。

本研究は文部省科学研究費の補助をえた。

### 文 献

- 1) Paton, W. D. M. and Schachter, M. · Brit. J. Pharmacol. 6, 509 (1951)
- 2) 石割仁三郎：東京医事新誌, No. 2242, 1693 (1921)
- 3) 高折茂：中外医事新報, No. 996, 1106 (1921)
- 4) Nishiyama, R. : Acta Med. Okayama, 10, 164 (1956)
- 5) Mayeda, H. . Jap. J. Pharmacol. 3, 62 (1953), 3, 73 (1954)
- 6) Alam, M., Anrep, G. V., Barsoum, G. S., Talaat, M. and Wieninger, E. : J. Physiol. 95, 148 (1939)
- 7) Ambache, N. and Barsoum, G. S. : J. Physiol. 96, 139 (1939)
- 8) Comroe, J. H. Jr. and Dripps, R. D. : Anesthesiology, 7, 260 (1946)
- 9) Grob, D., Lilienthal, J. L. Jr. and Harvey, A. M. . Bull. Johns Hopk. Hosp. 80, 299 (1947)
- 10) Eichler, O. and Speda, G. : Arch. exp. Path. Pharmacol. 195, 152 (1940)
- 11) Nasmyth, P. A. and Stewart, H. C. : J. Physiol. 111, 19P (1949)
- 12) Feldberg, W. and Paton, W. D. M. · J. Physiol. 114, 490 (1951)
- 13) Burstein, M. and Parrot, J. L. . C. R. Soc. Biol., Paris 143, 251 (1949)
- 14) Schachter, M. : Brit. J. Pharmacol. 7, 646 (1952)
- 15) Bennett, A. E. : J. Amer. med. Ass. 114, 322 (1940)
- 16) Sollmann, T. : A Manual of Pharmacology, Saunders, London and Philadelphia (1948)
- 17) Sutton, R. L. and Sutton, R. L. Jr. : Diseases of the Skin. Mosby, St. Louis (1939)
- 18) Butler, E. Blanche : Brit. med. J. 2, 715 (1951)
- 19) Lindquist, J. : Acta med. scand. 113, 83 (1943)
- 20) 上村之雄：日本薬理学雑誌, 53, 836 (1957)
- 21) 山崎英正, 上村之雄, 田坂賢二：同誌, 50, 160 § (1954)
- 22) 山崎英正, 他：同誌, 51, 124 § (1955)
- 23) Feldberg, W. and Mile, A. · J. Physiol. 120, 205 (1953)
- 24) Mongar, J. L. and Schild, H. O. : Brit. J. Pharmacol. 8, 103 (1953)
- 25) Shimizu, T. : Chemie und Physiologie der Gallensäuren, Muramoto, Okayama (1935)
- 26) Gillert, E. : Z. ges. exp. Med. 52, 779 (1926)
- 27) Danielli, J. F. and Davson, H. : The Permeability of Natural Membranes p. 57—72, Cambridge Univ. Press, London (1952)
- 28) Danielli, J. F. and Kitching, J. A. : Recent Developments in Cell Physiology p. 1—14, Academic Press, New York (1954)
- 29) 丹野楯彦：細胞化学シンポジウム, 3, 93 (1954)
- 30) Carr, E. A. Jr. · Pharmacol. Rev. 6, 365 (1954)
- 31) Alexander, H. L. : Reactions with Drug Therapy, Saunders, Philadelphia and London (1955)
- 32) Obermayer, F. and Pick, E. P. : Wien. klin. Wschr. 19, 327 (1909)
- 33) Mutsaers, W. and Gregorie, P. E. : C. R. Soc. Biol., Paris 123, 144 (1936)
- 34) Landsteiner, K. : The Specificity of Serological Reactions. Harvard Univ. Press, Cambridge, Mass. (1945)
- 35) Zinsser, H. and Bayne-Johnes, S. : A Textbook of Bacteriology, Appleton-Century, New York, and London (1939)
- 36) Sodemann, W. A. : Pathologic Physiology. Mechanism of Disease, Saunders, Philadel-

- phia and London (1950)
- 37) Mulinos, M. G. and Schlesinger, E. : Proc. Soc. exp. Biol., N. Y. **35**, 305 (1936)
- 38) Wedum, A. G. . J. Infect. Dis. **70**, 173(1942)
- 39) Dewa, P. B., Wnuck, A. L., Fanelli, R. V., Light, A. E., Tornaben, J. A., Norton, S., Ellis, C. H. and De Beer, E. J. : J. Pharmacol. **107**, 1 (1953)
- 40) MacIntosh, F. C. and Paton, W. D. M. . J. Physiol. **109**, 190 (1949)
- 41) Erspamer, V. and Paolini, H. : Arch. int. Pharmacodyn. **77**, 415 (1948)
- 42) Sanuki, K. : Jap. J. Pharmacol. **6**, 69 (1957)
- 43) 山崎英正, 入野昭三・基礎医学最近の進歩, 薬理篇, pp. 253—274, 医歯薬出版 (1956)
- 44) 大野博之・未発表.
- 45) 齊藤昭昭・日本薬理学雑誌, **53**, 224 § (1957)
- 46) 山崎英正 : リウマチの臨床, 第1集, pp. 221—250, 南江堂 (1957)

## A Quantitative Study of Histamine Release by Chemical Substances Using Chopped Skin Tissue of the Dog

By

Kenji TAsAKA

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

With a view to explore and make a comparative study of various drugs as regards their activity in liberating skin histamine a quantitative determination method of *in vitro* histamine release from chopped dog skin has been devised and a study on the conditions influencing histamine release has been carried out.

Abdominal skin was removed from dog and cut in a fixed thickness by a chopper of my own contrivance, consisting of razor blades placed at given spaces and after eliminating the majority of histamine spontaneously diffused out by immersing in Tyrode solution, the skin pieces were shaken in a glass tube containing drug solution to be tested along with a glass bead for one hour at 37°C, and then the histamine content diffusing out in the drug solution and residual histamine in the tissue were determined separately.

The histamine releasing activity of drugs depends on the thickness of tissue pieces, temperature, and pH of the solution. In the case of thinner tissue pieces the rate of histamine release either by releaser solution or of spontaneous release proved to be greater. Below 45°C, the rise in temperature enhanced the release by a releaser more markedly than spontaneous release. At 60°C, however, all histamine in tissues diffused out within 60 minutes in the Tyrode solution not containing releaser.

In the isotonic buffer solution of pH 6-8 spontaneous release proved to be least, while at the pH either more acidic or basic the rate of release increased. On the alkaline side the effect of releaser of alkaloid salt increased to a greater degree than spontaneous release. This fact suggests that the penetration of alkaloids into the cell wall takes place readily in the form of base.

When the tissue is acted upon by the Tyrode solution or by 0.9% saline solution of 78 drugs tested, at 37°C for 60 minutes, these listed in the following released histamine from chopped skin rather markedly : Sinomenine, quinine, quinidine, cinchonine, cinchonidine, optochine, quinoline, ethylmorphine, thebaine, dibucaine, tropacocaine, betaucaine, sod. cholate, sod. taurocholate, sod. desoxycholate, Irgapyrine, dibenamine, Friscol, jalapa resin, ethyl-

alcohol, acetone.  $\text{HgCl}_2$ , phenol, thymol, alkylresorcinol, oil of sinapis, oil of chenopodium and ichthammol.

On the other hand, salicylic acid, acetylsalicylic acid and cocaine  $\cdot$  HCl, under acidic condition, rather suppressed spontaneous release of histamine.

The rates of histamine release from dog skin shown by these drugs were found on the whole to be higher than those obtained by Kamimura (Folia pharmacol. japon. 53, 836, 1957) of our laboratory using guinea-pig lung tissues.

On the basis of these findings, the significance of histamine release in relation to symptoms of the so-called drug allergy or in the known pharmacological actions of certain drugs were discussed.

---