Biological Features of the Skin of the Pika, *Ochotona rufescens* *rufescens* — Concentration of Histamine in the Skin —

Yukio KODAMA, Takeo SAKAI, Katsushi NAITOU*,
and Shigetomo HORIUCHI **

Department of Veterinary Hygiene, College of Agriculture and Veterinary Medicine, Nihon University, Kameino, Fujisawa-shi, Kanagawa 252, * Division of Toxicology, National Institute of Hygienic Sciences, Biological Safety Research Center, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158, and ** Hamamatsu Seigiken Research, 95-10 Aoi-cho, Hamamatsu-shi, Shizuoka 433, Japan

(Received 23 January 1990/ Accepted 28 March 1990)

The quantity of histamine and the number of mast cells in the skin of the pika were measured and compared with rabbits, guinea pigs and rats. The ranking of regional histamine levels in the skin of the pika was: perianal region > abdomen > interscapular region = back > lumbus > head > auricle, and the average value of the 7 regions was 22.6 $\mu\text{g/g}$. The level of histamine in the 6 regions, except the auricle, was 2 ~ 5 times that of rabbits and guinea pigs. In the auricle of each of the 4 kinds of animal (pika, rabbit, guinea pig and rat), the levels were almost identical. With respect to histamine levels, those in the pika resembled those in rats. The number of mast cells in the skin of the pika was less than in rats, and was greater than that in rabbits and guinea pigs. The average value was 9.9/mm².

ナキウサギ *Ochotona rufescens rufescens* の 皮膚の生物学的特性

— 皮膚のヒスタミン量 —

児玉幸夫・酒井健夫・内藤克司*・堀内茂友**

日本大学農獣医学部獣医学科獣医衛生学研究室

*国立衛生試験所安全性生物試験研究センター毒性部

**生物科学技術研究所

ナキウサギ *Ochotona rufescens rufescens* は、新しい実験動物としての可能性について各種の検討がなされており、これまでにナキウサギのもつ各種特性が報告 [1~6, 12] されてきた。我々も、ナキウサギの皮膚構造 [7] を検討し、また皮膚の一次刺激性試験 [8] も行った。皮膚一次刺激性試験では、日本白色在来種ウサギと比較して、同一の刺激条件下では、ナキウサギはウサギに比べて高い反応を示すことを報告した。

今回は皮膚一次刺激性試験に関連して、皮膚の炎症反応の要因のひとつである皮膚中のヒスタミンおよび肥満

細胞数について、ナキウサギとウサギ、モルモットおよびラットと比較したので報告する。

材料および方法

1. 供試動物：ナキウサギは実験動物中央研究所より分与され、あるいは自家繁殖して得た、17~31週齢、体重202~342gの雄6匹を使用した。ウサギは静岡県農林試験場より購入した日本白色在来種（クリーン動物）で、体重2.7~3.1kgの雄6匹を用いた。モルモットは日本エス

エルシー株式会社より購入したハートレー系（クリーン動物）で、体重405～495gの雄10匹を用いた。ラットは日本エスエルシー株式会社より購入したS. D.系（SPF）で、体重297～344gの雄10匹を用いた。

これらの動物は、いずれも導入後1～2週間にわたり、室温 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$ 、換気はオールフレッシュで18回/時、人工照明で12時間のセミバリアーシステムの飼育室で、馴化飼育した。全身症状および皮膚に異常が認められず、臨床的に健康な動物を実験に供した。いずれの動物にも飼料（ナキウサギ：CLEA 177：クレア製、ウサギおよびモルモット：GC-4：オリエンタル製、ラット：MF；オリエンタル製）および水道水を自由に摂取させた。

2. 皮膚中のヒスタミンの定量：動物は、いずれもエーテル麻酔後、頸動脈より放血、致死させた。次いで頭部、肩甲間部、背部中央部、腰部、肛門周囲、腹部中央部および耳介の7局所の被毛を電気バリカンで剪毛し、いずれの動物ともそれらの各局所の皮膚を採取した。採取した皮膚片は直ちに重量を測定し、速やかに氷冷却した。ヒスタミンの測定はAnton & Sayreの方法[9]に従い、島津製作所製蛍光分光光度計RF-510を用いて、励起波長358nm、測定波長446nmで測定した。本実験のヒスタミンの回収率は58～70%（平均64%）であった。なおヒスタミンの回収率は、一般に脳などの場合は70～75%であるが、今回用いた皮膚はそのhomogenizeが

容易ではないことから、やや回収率が低くなったものと思われた。

3. 皮膚中の肥満細胞数の測定：皮膚中のヒスタミンの測定のために採取した皮膚片の一部を10%緩衝ホルマリン液を用いて固定し、その後常法に従いパラフィンブロックを作製し、皮膚面に対して直角に薄切した。皮膚切片標本は0.05%トルイジンブルー（pH 7）で単染色[13]し、Object Micrometer [14]を用いて、皮膚表面の1mm²中の、細胞内顆粒がトルイジンブルーによってメタクロマジーをおこしている細胞数を測定した。

成 績

1. 皮膚のヒスタミン量：Fig. 1に各動物の皮膚中のヒスタミン量の測定結果を示した。

ナキウサギ6匹の皮膚のヒスタミン量は、湿組織1g中、頭部では17μg、肩甲間部および背部中央部では23μg、腰部では20μg、肛門周囲では最も高く35μg、腹部中央部では25μg、耳介では最も低く15μgであった。これら皮膚7局所の平均ヒスタミン量は22.6μgであった。頭部～肛門周囲までの背部縦断面では、肩甲間部と背部中央部のヒスタミン量がやや高く、肛門周囲が最も高かった。

ナキウサギのヒスタミン量は、ウサギおよびモルモットと比較すると、耳介を除きいずれも約2～5倍統計学

Fig. 1. Concentration of histamine at various locations of skin of pika, rabbit, guinea pig and rat

Fig. 2. Number of mast cells at various locations of skin of pika, rabbit, guinea pig and rat

的に有意に高かった。なおウサギおよびモルモットの皮膚ヒスタミン量は肛門周囲を除いて、ほぼ同様の値を示した。ナキウサギとラットを比較すると、肛門周囲と腹部中央部では、ナキウサギが高く、その他の5局所(頭部、肩甲間部、背部中央部、腰部および耳介)ではラットが高かった。耳介のヒスタミン量はナキウサギが最も小さく $15\mu\text{g}$ で、ラットが最も大きく $21\mu\text{g}$ であったが、動物種間に大きな差はみられなかった。

2. 皮膚組織中の肥満細胞数: 各動物の皮膚の肥満細胞の測定結果を Fig. 2 に、またトルイジンブルー単染色したものを Figs. 3 ~ 6 に示した。

皮膚 1mm^2 中の肥満細胞数は、ナキウサギでは、頭部は10.0個、肩甲間部は11.3個、背部中央部は7.0個、腰部は11.7個、肛門周囲は9.3個であった。腹部中央部は5.3個と最も少なく、耳介は15.0個と最も多かった。ナキウサギ皮膚の7局所の平均肥満細胞数は9.9個であった。

ナキウサギの肥満細胞数は皮膚7局所すべてでウサギおよびモルモットの約5~15倍多かった。すなわちウサギおよびモルモットの肥満細胞数が最も多いものはウサギの背部中央部の1.6個で、その他の皮膚局所では1個

以下であった。一方、ラットの肥満細胞数は、7局所の皮膚とも、ナキウサギ、ウサギ、モルモットに比較して極めて多く、特に耳介は最も多く、 1mm^2 あたり63.7個であり、7局所の平均肥満細胞数は38.9個であった。ナキウサギと比較してラットの皮膚各局所のマストセル数は約3~4倍多かった。

考 察

各種実験動物における皮膚のヒスタミン量については、山崎 [10] および大谷田ら [11] が報告している。それによると、ウサギでは $0.4\sim 30\mu\text{g/g}$ 、モルモットでは $1.27\sim 19\mu\text{g/g}$ そしてラットでは $7\sim 65\mu\text{g/g}$ の範囲である。今回我々が行ったナキウサギ、ウサギ、モルモットおよびラットの皮膚のヒスタミン量はそれらの値と比較すると、ウサギ(皮膚7局所の平均値 $9.1\mu\text{g/g}$)、モルモット($7.7\mu\text{g/g}$)、ラット($23.7\mu\text{g/g}$)とも、いずれもこれらの範囲内であった。ナキウサギ皮膚のヒスタミン量については、既存の報告はなく、今回の結果から、ナキウサギの皮膚中のヒスタミン量は、ウサギやモルモットのヒスタミン量より多く、むしろラットのヒス

タミン量に近いものであった。ナキウサギとウサギのヒスタミン量の差は、両動物の背部皮膚に10%酢酸および0.1N水酸化ナトリウムを塗布した実験[8]で、ナキウサギがウサギより発赤・浮腫が極めて強く出現していることから首肯される。

皮膚ヒスタミン含量は、動物種によって大きな差があること[11]が知られており、マウス、ラット、ネコでは多く、ウサギ、モルモットでは少ない。このことからナキウサギはヒスタミンが多い動物種に属するものと判断された。また皮膚ヒスタミン量は、皮膚各所によって含有量に差があること[11]が知られており、イヌでは、体部13局所のうち、耳介が最も多く、背部や四肢端が少なく、ヒトでも胸部、腹部が少なく、眼けん、口唇付近が多い。今回のナキウサギ皮膚各局所のヒスタミン量も、同様に差が認められた。すなわちナキウサギでは肛門周囲が最もヒスタミン量が多く、腹部中央部がこれに次ぎ、耳介がもっとも少なかった。これらのナキウサギ皮膚のヒスタミン量は、肛門周囲を除いて皮膚の厚さ[7]の順位に一致していた。

ウサギ、モルモットで行われる皮膚一次刺激性試験あるいはパッチテスト等で用いられる局所(肩甲間部、背部中央部、腰部等)のナキウサギのヒスタミン量は、今回の実験で皮膚7局所における中間的な値であった。これらの部のヒスタミン量に大きな差はないことから、発赤・浮腫等の反応の強弱に差がないことが推察される。

我々はすでに、ナキウサギの肥満細胞は皮膚の真皮乳頭層に多く存在すること、しかもナキウサギの肥満細胞はウサギ、モルモットに比べてその数が多いことを報告[7]している。今回の実験結果から、ナキウサギ、ウサギおよびモルモットの皮膚各所のヒスタミン量は、それらの真皮に存在する肥満細胞数とほぼ一致すると考えられた。さらにラットの皮膚でもヒスタミン量と肥満細胞数は相関する傾向を示した。皮膚7局所における肥満細胞数は、ウサギおよびモルモットでは極めて少なく、ラットでは多い結果を得、ナキウサギでは、皮膚7局所とも、肥満細胞数はそれらの動物の中間的な値を示したが、ラットよりはむしろウサギ、モルモットの値に近かった。ナキウサギでは肥満細胞数がラットより少ないにもかかわらず、ヒスタミン量はラットに近い値を示していることから、ナキウサギの肥満細胞からのヒスタミンリリース量が多い可能性が示唆された。

要 約

ナキウサギの皮膚の各局所におけるヒスタミン量を測

定し、ウサギ、モルモットおよびラットと比較した。ナキウサギの皮膚の平均ヒスタミン量は、22.6 $\mu\text{g/g}$ であったが、各局所のヒスタミン量は肛門周囲>腹部中央部>背部中央部=肩甲間部>腰部>頭部>耳介の順となった。ナキウサギの耳介を除く6局所の皮膚におけるヒスタミン量は、ウサギおよびモルモットの約2~5倍と高かったが、ラットとは肛門周囲を除く皮膚6局所のヒスタミン量はほぼ同様であった。耳介のヒスタミン量は、ナキウサギとウサギ、モルモット、ラットの間に大差はみられなかった。ナキウサギの皮膚のヒスタミン量は、ウサギよりラットに近かった。ヒスタミン定量と同時に測定したナキウサギの皮膚組織中の肥満細胞数は平均9.9個/ mm^2 で、皮膚7局所ともにラットより少なく、ウサギやモルモットより多かった。

文 献

- [1] Nishimura, H., Shiota, K., Uwabe, C., and Nomura, T. (1986). Joint Study on the Teratogenic Sensitivity of the Pika (*Ochotona rufescens rufescens*). *Exp. Anim.*, **35**, 387-408.
- [2] 山中聖敬・松崎哲也・斎藤宗男. (1983). ナキウサギ, スンクス, ミラルディア, マウス, ラットの消化管の長さおよび重量. *実験動物*, **32**, 47-49.
- [3] 横田正幸・鈴木平治郎・畑 俊明・坂本匡一・武田植人. (1983). ナキウサギの視覚器および聴覚器について. *実験動物*, **32**, 159-165.
- [4] Kuromaru, M., Hayakawa, T., Seki, M., and Gyo, K. (1984). Morphological Characteristics of Intestinal Mucosa in the Afghan Pika (*Ochotona rufescens rufescens*). *Exp. Anim.*, **33**, 509-518.
- [5] Suzuki, S., Ago, A., Nishinakagawa, H., and Otsuka, H. (1985). Fine Structure of the Mandibular Gland in Pika (*Ochotona rufescens rufescens*). *Exp. Anim.*, **34**, 267-276.
- [6] Suzuki, S., Ago, A., Mifune, H., Mouri, S., and Nishida, T. (1987). Fine Structure of the Parotid Gland in the Pika and the Volcano Rabbit. *Exp. Anim.*, **36**, 399-407.
- [7] Sakai, T., Yamada, S., Taniguti, Y., Kodama, S., Horiuti, S., and Nomura, T. (1987). Biological Features of the Pika, *Ochotona rufescens rufescens*: Histological Structure and Enzymatic Histochemical Reactivity. *Exp. Anim.*, **36**, 125-133.
- [8] Sakai, T., Kodama, Y., Yamamoto, H., Horiuti, S., and Nomura, T. (1989). Primary Irritant Reactions in the Skin of the Pika, *Ochotona rufescens rufescens*. *Exp. Anim.*, **38**, 297-303.
- [9] Anton, A. H. and Sayre, D. F. (1969). A Modified Fluorometric Procedure for Tissue Histamine and its Distribution in Various Animals. *J. of Pharm and Exp. Therap.*, **166**, 285-292.
- [10] 山崎英正(1975). ヒスタミンの分布. 生体アミン, pp. 142-155, 山崎英正・吉田 博編, 医歯薬出版, 東京.
- [11] 大和田 厚・和田 博・渡辺建彦・杉山勝三・山崎英正・佐伯清美 (1977). ヒスタミン, アミノ酸代謝と生体アミン, 生化学実験講座11, pp. 823-879, 社団法人日本生化学会編, 東京化学同人, 東京.

[12]

児玉幸夫・酒井健夫・内藤克司・堀内茂友（1990）. ナ
キウサギにおける実験的胃潰瘍の形成. 実験動物, **39**,
35-41.

[13]

影山圭三・渡辺陽之輔（1978）. 病理標本の作り方, pp.
143-145, 影山圭三・渡辺陽之輔監修, 医学書院, 東京.

[14]

金井 泉・金井正光（1975）. 血液一般検査法, VI 25-VI
27, 臨床検査法提要, 金井 泉・金井正光編著, 金原出
版, 東京.

Explanation of Figures

Fig. 3. The dorsal skin of a pika

Toluidine
blue stain×100

Fig. 4. The dorsal skin of a rabbit

Toluidine
blue stain×100

Fig. 5. The dosal skin of a guinea pig

Toluidine
blue stain×100

Fig. 6. The dosal skin of a rat

Toluidine blue
stain×100