ブドウ球菌実験的感染症における Histamine の動態について

吉川 義 則

In vivo kinetic analysis of histamine content on
microbe-induced experimental inflammation in mice

Yoshinori YOSHIKAWA

緒 言

近年、炎症の解析は、その起因物質を中心として目ざましい進歩を示しており、Kinin, Bradykinin などの Peptide 系物質、また新しくは、Prostaglandin, 補体系によるこれらの炎症の Mediator の放出の促進などが興味を持たれている¹⁻¹⁰⁾。この中にあって Serotonin, Histamine, Catecholamine などの Amine 類もその多彩な薬理生理作用の観点より極めて大きな位置を占めている。なかでも Histamine には古くより炎症の Mediator として強い関心がよせられており、多くのことが知られている¹¹⁻²⁴⁾。Histamine は分子量111.15の Diamine であり生体内では、図1²⁵⁾に示すごとく、アミノ酸の1つである Histidine が Histidine decarboxylase により脱炭酸を受けて形成され、肥満細胞²⁹⁾、血小板などの中に貯蔵されている。これらの細胞が炎症巣に集合すると、Histamine は組織間へ放出され、そこで Diamine oxidase による酸化的脱アミノ反応、または Histamine methyltransferase によるメチル化により不活化される。この不活化経路は、動物の種類、臓器により異なり、ラットでは主として酸化経路により、マウス、イヌ、ネコではメチル化経路により不活化され、ヒト、モルモット、ウサギでは両者が同程度に寄与しているといわれている³⁰⁾。

そこで、口腔領域において重篤な感染症になりうる口腔底部炎症をマウスに *Staphylococcus aureus* を注入して実験的に作り、Histamine の動態について、その合成系の指標としては、Histidine decarboxylase (以後 HD C) の活性を、分解系の指標としては、メチル化経路不活化酵素である Histamine-N-methyltransferase (以

図1 ヒスタミン代謝過程図

後 HMT) の活性と酸化酵素である Diamine oxidase (以後 DAO) の活性を、また炎症巣の Free histamine content (以後 Hist. c.) をそれぞれ測定し、検討を加えた。

実 験 方 法

1. 実験炎症の作製

当教室で保存されている *Staphylococcus aureus* 209 P-JC 1株を用い、Coagulase 陽性であることを確認してのち、その一白金耳量を斜面寒天培地にて約20時間培養した。さらに、その一白金耳量を普通寒天平板培地にて再度約20時間培養して増菌し、生理食塩水 5.0 ml を加えて菌浮遊液を調製した。この菌数は毎回 $10^8 \sim 10^9$ 個/ml であった。実験群に対しては、この菌浮遊液の 0.1 ml を市販の体重約 20 g の dd 系オスマウスの口腔底部に注入して実験炎症を発症させ、対照群には、生理食塩水を同量注入した。

2. 試料の採取

5, 10, 20, 30 分, 1, 2, 4, 8 時間, 1, 2, 3, 5 日後にマウスを屠殺して、可及的速やかに口腔底部組織

愛知学院大学歯学部第2口腔外科学教室(主任:河合 幹教授)

The Second Department of Oro-Maxillo-Facial Surgery, School of Dentistry, Aichi-Gakuin University (Chief: Prof. Tsuyoshi Kawai)

受付日: 昭和54年9月12日

図2 螢光定量法によるヒスタミン測定法

図3 酵素学的定量法によるヒスタミン測定法

を取り出し、湿重量を測定し、下記する測定方法にて蛋白量、Hist. c., HDC 活性、HMT 活性、DAO 活性を測定し、実験群の一部は組織学的検索のためホルマリン固定を行った。

3. 試料の調製

1) 採取した口腔底部組織に0.25M磷酸ナトリウム緩衝液 pH 7.4, 1.0 ml を加え、ガラスホモジナイザーを用いてホモジネートを調製した。次いでホモジネート 400 μ l を用いて下記する螢光法にて Hist. c. を測定し、残りのホモジネートに 0.1% Triton X-100 を加えて再びホモジネートとし、ホモジネート 10 μ l にて蛋白量を測定し、100 μ l を用いて HDC 活性を測定した。また同様に採取した口腔底部組織に 0.1% Triton X-100 を含む 0.05M 磷酸ナトリウム緩衝液 pH 7.4, 1.0 ml を加えて、ホモジネートとし、22,000 $\times$ g にて冷却遠沈を行い、上清 420 μ l を用いて HMT 活性を測定した。

2) Staphylococcus aureus 自体の Histidine decarboxylase 活性について

前記と同様に調製した菌浮遊液 100 μ l に 0.05 M の 0.1% Triton X-100 含有磷酸ナトリウム緩衝液 pH 7.4, 1.0 ml を加えてホモジネートとし、ホモジネート 100 μ l を用いて HDC 活性を測定した。

3) Free histamine content と Histamine-N-methyltransferase 活性の局在について

菌注入5日目のマウスを用いて、口腔底部組織を摂取して、組織と膿瘍を可及的に分離して、Hist. c. と HMT 活性を測定した。

4. 測定方法

1) Free histamine content の測定

Hist. c. は、確実性を期すために下記の2方法により測定を行った。

a) 螢光定量法³²⁾(図2)

組織ホモジネート 400 μ l に 0.4 N 過塩素酸 1.0 ml を加えて5分間振とうし、3,000 rpm にて遠沈を5分間行い、上清 1.0 ml を取り、NaCl 375 mg, 5 N NaOH 125 μ l, n-Butanol 2.5 ml を加えて抽出を行った。この Butanol 層を 0.1 N NaOH (食塩飽和) 1.250 ml にて洗い、有機溶媒層 2.0 ml を取り、0.1 N HCl 1.125 ml, n-Heptane 3.750 ml を加えて抽出し、水層 1.0 ml に 1 N NaOH 200 μ l, 1% o-Phthal aldehyde 試薬 50 μ l を加え、室温にて4分間反応させる。その後 3 N NaCl 100 μ l を加えて反応を止め、Aminco-Bowman 螢光分光光度計にて励起波長 360 nm, 螢光波長 450 nm にて Hist. c. を測定した。

b) 酵素学的定量法³³⁻³⁵⁾

最初に、次に述べる方法により HMT 粗酵素液(以後 HMT prep.) の調製を行った。成熟モルモットの脳 6 匹分に 10 倍量の 0.25M Sucrose を加えてホモジネートとし、78,000 $\times$ g にて遠沈を30分間行い、上清に硫酸

図 4 ヒスチジンデカルボキシラーゼの測定法

アンモニウムを45%量加え、10,000×gにて20分間遠沈し、上清に硫酸アンモニウムを加えて70%量とし、さらに10,000×gにて10分間遠沈を行い、沈澱に0.01M磷酸ナトリウム緩衝液 pH 7.4, 25 ml を加えて、0.001M磷酸ナトリウム緩衝液 pH 7.4, 2 l にて約8時間ごとに3回の透析を行って HMT prep. を調製した。

次いで、前記と同じ方法で作製した口腔底炎症部から経時的に採取した口腔底部組織に図3のごとく0.05M磷酸ナトリウム緩衝液 pH 7.2, 0.2 ml, HMT prep. 0.1 ml, 0.25 μ Ci S-[methyl-³H]-adenosyl-L-methionine 50 μ l を加えて、37.0°C にて30分間インキュベートし、2 N NaOH (食塩飽和) 0.5 ml を加えて反応を止め、クロホルム 5.0 ml を加えて5分間抽出を行い、クロホルム層を4.0 ml バイアルに取り加温しながら窒素ガスを流して methyl histamine を乾燥させ、トルエン 4.65 ml, butyl-PBD 40 mg, エタノール 0.35 ml よりなるシンチレーターを加えて Bechman 社製液体シンチレーションカウンター LS-355 にて放射活性を測定し、内部標準法により Hist. c. を算出した。

2) Histidine decarboxylase 活性の測定³⁶⁾(図4)

組織ホモジネート 100 μ l に 1×10^{-5} M ピリドキサルリン酸 5 μ l, 3.4×10^{-7} M L-Histidine [¹⁴C(U)] 10 μ l を加え、シリコン栓をほどし、37.0°C にて120分間インキュベートし、3Mクエン酸 50 μ l を注入して反応を止め、室温にて Ethanolamine 100 μ l, 2-Methoxyethanol 200 μ l, エタノール 1.0 ml, 0.4% PPO 含有トルエン 5.0 ml 中に60分間放置して CO₂ をトラップさせ、さらに0.4% PPO 含有トルエンを5.0 ml 加えて、液体シンチレーションカウンターを用いて放射活性を測定した。

3) Histamine-N-methyltransferase 活性の測定³⁷⁾(図5)

上清 420 μ l に 0.05 M 磷酸ナトリウム緩衝液 pH 7.4,

図 5 ヒスタミン N-メチルトランスフェラーゼの測定法

図 6 ジアミノオキシダーゼの測定法

50 μ l, 1×10^{-5} M Histamine $\cdot$ 2HCl 10 μ l, 4.4×10^{-6} M S-[methyl-¹⁴C]-adenosyl-L-methionine 10 μ l, 3×10^{-5} M S-adenosyl-L-methionine 10 μ l を加えて 37.0°C にて30分間インキュベートし、0.5M硼酸緩衝液 pH 10.2, 500 μ l を加えて反応を止め、トルエン・イソアミルアルコール(1:1) 5.0 ml にて10分間抽出を行い、3,000 rpm で遠沈して、有機溶媒層 4.0 ml を 0.4% PPO 含有トルエン 10 ml, エタノール 1.0 ml 中に加えて、液体シンチレーションカウンターを用いて放射活性を測定した。

4) Diamine oxidase 活性の測定^{38,39)}(図6)

上清 100 μ l に 0.25M 磷酸ナトリウム緩衝液 pH 7.4, 1.450 ml, 1.9×10^{-6} M ¹⁴C-Putrescine 10 μ l を加えて、37.0°C にて4時間インキュベートし 1×10^{-5} M Amino-

図7 口腔底炎症部(マウス)のヒスチジンデカルボキシラーゼの活性値変動

図8 Staphylococcus aureus 自体のヒスチジンデカルボキシラーゼの活性値 (100 μ l : $10^{-7} \sim 10^{-8}$ 個)

guanidine bicarbonate 400 μ l を加えて反応を止め、さらに Sodium bicarbonate 250 mg, 10^{-3} N NaOH 40 μ l, 0.4% PPO 含有トルエン 10 ml を加えて抽出を行い、液体シンチレーションカウンターを用いて放射活性を測

定した。

5) 蛋白量の測定⁴⁰⁾

Lowry 法の Hartree 変法を応用して測定した。

なお、ウシ血清アルブミンを標準として用いた。

6) 組織学的検索

10%中性ホルマリンにて固定した組織は下顎骨を含むため脱灰後 Celloidin 包埋し、H-E 染色にて検鏡し、炎症の段階を判定した。

実験結果

1. Histidine decarboxylase 活性について(図7)

1) 菌注入直後より高い活性を示し、さらに1時間後では、菌注入直後の約1.8倍に活性が上昇 ($P < 0.01$), 2時間後まで高い活性を保ち、4時間以後に活性の下降が認められ、3日、5日目ではほぼ対照値レベルまで下降した。

2) 対照群の活性値は $(1.6 \pm 0.2) \times 10^4$ dpm/g 蛋白量と低いのでグラフには示さなかった。

3) 菌浮遊液のホモジネート 100 μ l で $3,389 \pm 687$ dpm ($n=20$) という活性値を得た。この値はマウス口腔底部正常組織 100 mg の約3倍の値である。また菌浮遊液希釈系列の活性測定によって図8のグラフが得られることから Staphylococcus aureus 209 P-JC 1株自体が HDC 活性を持っていることを確認した。

2. Free histamine content について(図9)

1) 菌注入直後より4時間後までは対照群との間に著

図9 口腔底炎症部(マウス)の遊離ヒスタミン量変動(蛍光定量法と酵素学的定量法の比較)

図10 口腔底炎症部(マウス)のヒスタミン N-メチルトランスフェラーゼの活性値変動

しい差は認められなかったが、8時間後では対照群の約1.4倍 ($P < 0.01$), 1日目では約1.4倍, 2~3日目では約1.7倍, 5日目では約1.8倍 ($P < 0.001$) という著しい Hist. c. の増加を認めた。

2) 酵素学的定量法によって蛍光定量法の結果が正し

いことを確認した。

3. Histamine-N-methyltransferase 活性について (図10)

菌注入直後より4時間後までは対照群との間に著しい差は認められなかったが、8時間後では対照群値の約

表 1 Hist. c. と HMT の局在について

	膿瘍	周囲組織
Hist. c.	3.3 ± 1.4 $\mu\text{g/g}$ 蛋白量	1.9 ± 0.8 $\mu\text{g/g}$ 蛋白量
HMT	488120 ± 152983 dpm/g 蛋白量	551986 ± 166290 dpm/g 蛋白量

(n=11)

写真 1

菌注入 2 時間後の組織像 (H-E 染色, $\times 10$)

写真 2

菌注入 2 時間後の組織像 (H-E 染色, $\times 25$)

写真 3

菌注入 8 時間後の組織像 (H-E 染色, $\times 10$)

写真 4

菌注入 8 時間後の組織像 (H-E 染色, $\times 50$)

写真 5

菌注入 3 日後の組織像 (H-E 染色, $\times 10$)

写真 6

菌注入 3 日後の組織像 (H-E 染色, $\times 25$)

1.6 倍, 1 日目では約 1.8 倍で最高値に達し, 3 日目では約 1.3 倍と少し下降し, 5 日目では約 1.7 倍と再度上昇を認めた ($P < 0.001$).

4. Free histamine content と Histamine-N-methyltransferase 活性の局在について (表 1)

Hist. c. が膿瘍周囲組織よりも膿瘍中に著しく高い ($P < 0.02$) という結果を得たが, HMT 活性に関しては, 膿瘍周囲組織と膿瘍中いずれにも偏向がみられなか

図 11 口腔底炎症部（マウス）における遊離ヒスタミン量 (Hist.), ヒスチジンデカルボキシラーゼ (HDC), ヒスタミン N-メチルトランスフェラーゼ (HMT) 活性値の変動の関係

った。

5. Diamine oxidase 活性について

今回の DAO 活性測定法では活性の変動は検出できなかった。

6. 病理組織学的結果 (写真 1～6)

菌注入 2 時間後より菌塊の周囲に炎症性細胞の浸潤を認め、時間を追ってその数は増し、8 時間後では菌塊を囲む炎症巣を認めるようになり、1 日目では明らかな菌塊は消失して膿瘍が形成され始め、3 日目では炎症巣の中心部に明らかな膿瘍形成を認め、さらに 5 日目では膿瘍の容積も増大して周囲組織を破壊しているのを認めた。

考 察

Histamine は、哺乳動物において種々有害刺激に対して反応することはよく知られている。かつて Histamine は炎症の Chemical mediator の 1 つとして、またアナフィラキシーショックなどのショック時に遊離されるものとして、また最近では、肥満細胞、好塩基球、免疫反応など広い領域で興味を持たれている。

これまでに報告された実験のおもなものをあげると、全身に行っているものとして、Lahiri らのラット、モルモットを用いた実験的熱傷に関する Histaminase content の変動についての実験⁴¹⁾、Biegański, Krajewska の

モルモットを用いたテレピン油とカラゲニン皮下注射による実験炎症における Plasma の Histaminase 活性と血液、肝臓中での Histamine 変動に関する実験²⁰⁾、Galvin らによるラットを用いた外傷性ショック時の Histidine decarboxylase 活性に関する実験²⁷⁾、Rai らによる雑種犬を用いた出血性ショック時の全身的 Histamine と Histaminase 活性に関する実験²¹⁾などがあり、局所的に行ったものとして、Kameswaran らによるラットを用いた線状切創の治癒と Plasma の Histaminase 活性と皮膚 Histamine 量についての実験¹⁸⁾、Raekallio のモルモットを用いたひっかけ創における皮膚 Histamine 量の測定を行った創の経時的変化に関する実験¹⁷⁾などがあげられるが、Histamine の合成系、分解系を含んで総合的に行われた実験が全くみられない。

そこで著者は口腔領域の立場からかつて行われていない口腔底部の実験的感染症における局所組織の Histamine の動態を合成系、分解系にわたって総合的に検索を行った。

1. Free histamine content に関して

生体試料中の Histamine を定量する方法として現在まで生物学的定量法、化学的定量法が報告され、後者の蛍光定量法の改良と酵素学的定量法の導入により最近ようやく信頼性のある測定ができるようになってきた。現在までに報告されたラットの各組織の Histamine 含有量の正常値^{32~34, 40)}は、蛍光定量法では、心臓では 5.2—

2.0 $\mu\text{g/g}$ 湿重量, 皮膚では 33.6—17.4 $\mu\text{g/g}$ 湿重量, 筋肉では 6.0—4.6 $\mu\text{g/g}$ 湿重量, 酵素学的定量法では, 心臓では 2.5—1.1 $\mu\text{g/g}$ 湿重量, 皮膚では 32.8—19.6 $\mu\text{g/g}$ 湿重量, 筋肉では 6.2—3.2 $\mu\text{g/g}$ 湿重量と報告され, 両方法で測定された値は非常に近似しているが, 酵素学的定量法のほうが蛍光定量法よりは特異性が高い方法であると思われる. 著者もこの2方法で測定し非常に近似した値を得た. 今回の実験の対照群であるマウスに生理食塩水を注入した口腔底部組織の Hist. c. をマウス口腔底部組織の正常 Hist. c. と考えると, 口腔底部組織はほとんど筋組織から構成されているので前記報告の筋組織の Hist. c. に対応させてみると非常に近似した値であることを確認した. さて本論に入って, 菌注入直後より4時間後までは, 病理組織学的に炎症性細胞浸潤が認められているにもかかわらず数分単位で出現する First mediator としての Hist. c. の変化は認められなかった. これは感染症においては, 他の実験炎症とは異なっており, 菌が注入されて4時間ぐらいの間は Hist. c. が増加しないと考えられ, 炎症巣が確立されたと思われる菌注入8時間後より5日目にかけて炎症巣内に Hist. c. の著しい増加を認めた. 菌注入3日目の Hist. c. は1日目あるいは2日目より有意差はないが軽度減少し, 再度5日目に増加した. これは病理組織像からもうかがえるが炎症の拡大により肥満細胞から遊離された Hist. c. の増加であると思われる.

2. Histidine decarboxylase 活性に関して

HDC は菌注入直後より高い活性を示し, さらに1時間後まで活性が上昇した. この場合 *Staphylococcus aureus* 自体の HDC 活性にマウスからの HDC 活性が加わったのか, あるいは, 菌の増菌による菌由来の HDC 活性の上昇によるという2つの可能性が考えられる. いずれにせよ極めて初期の HDC 活性の上昇は菌による持ち込みと考えられ, これによって Histamine の合成が進み, 炎症のトリガーとなることが考えられる. なお, この酵素活性の測定に際しては, 非特異的酵素である Aromatic amino acid decarboxylase の活性を測定する危険性があるが, この酵素の至適 pH は9で, 非常に高濃度の Histidine (10^{-2} — 10^{-1}M) を必要とするのに対し, 著者が行った HDC 活性測定法での磷酸ナトリウム緩衝液の pH は7.4であること, および Histidine 濃度が 10^{-2} — 10^{-1}M では基質による抑制のため HDC 活性測定がほとんど不可能であることを確認している (10^{-5}M の時の約6—11%). したがって上述の危険性は全くないものと考えられる.

3. Diamine oxidase 活性に関して

今回の実験では, DAO 活性の変動はとらえられなかった. この理由としては, 今回行った測定法が極端に感度が悪いのか(市販のブタ腎よりの精製酵素を用いても検出限界の活性を得るのに100 $\mu\text{g/ml}$ 反応液以上を要し

た), 基質による抑制のために DAO 活性の変動が検出できなかったのか, あるいは, 従来いわれているようにマウスにおける Histamine の不活化は HMT が主で, DAO はほとんど関与していないのかもしれない.

4. Histamine-N-methyltransferase 活性に関して

Hist. c. によく一致して HMT 活性の上昇を認めている. すなわち炎症巣内で Hist. c. が増加する菌注入8時間以後に HMT 活性が上昇し, 菌注入1日目で最高値に達し, 3日目まで全身的な蛋白合成能が低下すること起因するのかもしれないが, HMT 活性の低下を認め, Hist. c. が再上昇する5日目ではやはり HMT 活性の上昇を認めるので, 炎症巣から漏出する Histamine に対する防御の意味で HMT 活性の上昇が引き起こされているとも考えられる.

5. 口腔底炎の経過と Free histamine content, Histidine decarboxylase, Histamine-N-methyltransferase の関係について (図11)

菌注入直後より4時間後までは, Hist. c. は増加していないにもかかわらず, HDC 活性は上昇した. しかし, HMT 活性は上昇しなかった. これは生体の外来刺激に反応して, 生体中で活性化された HDC と外部から他動的に持ち込まれた HDC との間でみられる Histamine 合成に対する態度の相違かもしれないが, なお今後検討を要する. また, あるいは, Histamine が生合成されているにもかかわらず, Hist. c. が増加していないと考えた場合には, Histamine の物理的拡散や生体内物質との化学的結合, あるいは, HMT 以外の Histamine 分解系によるものかもしれない. また, 菌注入8時間以後の経過についてみると, HDC 活性は下降し, HMT 活性は上昇しているにもかかわらず Hist. c. が増加している. ところで, Histamine は膿瘍中に高く, HMT 活性は膿瘍と周囲組織に同程度存在する(表1). HMT の至適 pH は7.2—7.4 とかなり狭いにもかかわらず膿瘍中の pH はより酸性側に傾いていると考えられるので *in vivo* における膿瘍中での HMT 酵素活性はかなり低下していると予測される. このために膿瘍中では, Histamine がメチル化されないまま存在する可能性は高く, これが組織全体として測定した場合には高値を与える原因であろう.

HMT 活性の上昇は膿瘍中から周囲組織に持続的に漏出する Histamine を不活化するために引き起こされている可能性が示唆される. もしこの推論が肯定されるならば, 臨床的にみて膿瘍切開による排膿の意義は極めて大きいものと考えられる.

結 論

マウスの口腔底部に *Staphylococcus aureus* を注入して実験的に口腔底部感染症を発症させ, Histamine の動

態を知るために、経時的に菌注入5分後より5日目まで、組織中の Hist. c., 合成系の指標として HDC 活性、分解系の指標として HMT 活性を測定して以下の結論を得た。

1. HDC 活性は菌注入直後より高く、1時間後までさらに上昇し、2時間後まで高値を保ち4時間以後は下降する。Hist. c. は菌注入4時間まで著しい変化はなく、8時間以後より増加し、5日目まで高値を示す。HMT 活性は Hist. c. に一致して、菌注入4時間後まで著しい変化はなく、8時間後より上昇し、1日目で最高値に達して、5日目まで高値を保つ。

2. HDC は *Staphylococcus aureus* 自体によってマウスの生体内に持ち込まれ、マウスの Histidine を脱炭酸して Histamine を生合成するものと思われる。

3. 実験的感染症では、他の外傷、薬物による実験炎症のように局所的には数分単位で出現する First mediator としての Hist. c. の変化はなく、菌注入4時間以後に Hist. c. が増加して膿瘍中に蓄積されるものと思われる。

4. HMT 活性の上昇は、膿瘍中から周囲組織に持続的に漏出する Histamine を不活化するために引き起こされている可能性が示唆される。

稿を終えるに臨み、終始ご懇篤なるご指導、ご校閲を賜った河合幹教授ならびに本学生化学教室早川太郎教授に、そして終始、ご指示ならびにご鞭撻を頂いた山田祐敬講師、下郷和雄講師ならびに第2口腔外科学教室員各位に深謝いたします

なお本研究の一部は、昭和51年第21回日本口腔外科学会総会、昭和53年第32回日本口腔科学会総会において発表した。

引用文献

- 1) Gecse, A., et al.: Activation of bradykinin in system in acute inflammation induced by endogenous or exogenous amines. *Adv Exp Med Biol* 21: 391 1972.
- 2) Webster, M., et al.: Evidence for kinins, histamine and complement as mediators of the inflammatory response. *Protides Biol Fluids, Proc Colloq* 20: 371 1973.
- 3) Rocha e Silva, M.: *Inflammation Antiinflammatory Ther Proc Int Symp* Katona, G., Blengio, J. ed, Spectrum Pub Inc, New York, 1975, p 105.
- 4) Pedata, F., et al.: Histamine and kallikrein system in man. *Adv Exp Med Biol* 70: 229 1976.
- 5) Wilkinson, B.J., et al.: Activation of complement by cell surface components of *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun* 20: 388 1978.
- 6) Zurier, R.B.: *Mediators inflammation* Weissmann, G. ed, Plenum Pub Co, New York, 1974, p 163.
- 7) Gecse, A., et al.: The role of bradykinin in the inflammation of skin. *Protides Biol Fluids, Proc Colloq* 20: 351 1973.
- 8) Türker, M.N., Türker, R.K.: A study on the peripheral mediators of dental pain. *Experientia* 30: 932 1974.
- 9) Greaves, M.W., et al.: The mast cell: Interrelationships between histamine and prostaglandins. *Clinical and Experimental Dermatology* 1: 327 1976.
- 10) Vane, J.R.: *Adv Prostaglandin Thromboxane Res* Samuelsson, B., Paeletti, R. ed, Raven Press, New York, 1976, p 791.
- 11) Levy, D.A.: *Mediators inflammation* Weissmann, G. ed, Plenum Pub Co, New York, 1974, p 141.
- 12) Zeiger, R.S.: Histamine metabolism. *J Allerg Clin Immunol* 58: 172 1976.
- 13) Roth-Schechter, B.F.: *Clin Pharmacol Dent Pract.* Holroyd, S.V. ed, C.V. Mosby Co, St Louis, 1974, p 155.
- 14) 佐伯清美, 他: ヒスタミンの肉芽生成抑制作用. *医学のあゆみ* 92: 388 1975.
- 15) Dabrowski, R., et al.: The effects of histamine liberators and exogenous histamine on wound healing in rats. *Agents and Actions* 5: 311 1966.
- 16) Raekallio, J., Makinen, P.L.: Histamine content as vital reaction. *Zacchia* 3: 273 1966.
- 17) Raekallio, J.: Determination of the age of wounds by histochemical and biochemical methods. *Forens Sci* 1: 3 1972.
- 18) Kameswaran, L., et al.: Investigation of plasma histaminase activity in wound healing. *Ind J Physiol & Pharmac* 14: 285 1970.
- 19) Berg, S., et al.: Beziehungen zwischen Histamingehalt und Aktivität der Histidindecarboxylase im Bereich von Hautverletzungen. *Z Rechtsmedizin* 69: 26 1971.
- 20) Biegański, T., et al.: The histaminase activity of guinea-pigs plasma during experimental inflammation. *Agents and Actions* 4: 65 1974.
- 21) Rai, V., et al.: Systemic histamine & histaminase changes during haemorrhagic shock. *Indian J Exp Biol* 14: 187 1976.
- 22) Penttilä, A., et al.: The effect of freezing and thawing on histamine and 5-hydroxytryptamine of the rat skin. *Zacchia* 10: 483 1974.
- 23) Devereux, D.F., et al.: The effect of thermal burns on blood and plasma histamine levels in the rat and cat. *Proc West Pharmacol Soc*

- 18: 114 1975.
- 24) Capasso, F., et al.: Pharmacological mediators of various immunological and nonimmunological inflammatory reactions produced in the pleural cavity. *Agents and Actions* 5: 528 1975.
- 25) 日本生化学会編：生化学実験講座11 アミノ酸代謝と生体アミン下。第1版，東京化学同人，東京，1977，840頁。
- 26) Voigt, M.N., Eitenmiller, R.R.: Production of tyrosine and histidine decarboxylase by dairy-related bacteria. *J Food Prot* 40: 241 1977.
- 27) Galvin, M.J. Jr., et al.: Histidine decarboxylase activity in traumatic shock. *Proc Soc Exptl Biol Med* 146: 653 1974.
- 28) Reichard, S.M., et al.: Histidine decarboxylase activity in trauma-resistant rats. *Am J Physiol* 230: 1577 1976.
- 29) Goth, A., Johnson, A.R.: Current concepts on the secretory function of mast cells. *Life Sciences* 16: 1201 1975.
- 30) Schayer, R.W.: Catabolism of physiological quantities of histamine *in vivo*. *Physiol Rev* 39: 116 1959.
- 31) 江口敏雄：ブドウ球菌実験炎症における Corticosteroids の動向。口科誌 22: 76 1973.
- 32) Shore, P.A., et al.: A method for the fluorometric assay of histamine in tissues. *J Pharmacol Exp Ther* 127: 182 1959.
- 33) Snyder, S.H., et al.: A sensitive and specific enzymatic isotopic assay for tissue histamine. *J Pharmacol Exp Ther* 153: 544 1966.
- 34) Kobayashi, Y., Maudsley, D.V.: A single-isotope enzyme assay for histamine. *Anal Biochem* 66: 194 1975.
- 35) Beaven, M.A., et al.: Modification of the enzymatic isotopic assay of histamine and its application to measurement of histamine in tissues, serum and urine. *Clin Chim Acta* 37: 91 1972.
- 36) Ritchie, D.G., Levy, D.A.: A microassay for mammalian histidine decarboxylase. *Anal Biochem* 66: 194 1975.
- 37) Taylor, K.M., Snyder, S.H.: Isotopic microassay of histamine, histidine, histidine decarboxylase and histamine methyltransferase in brain tissue. *J Neurochem* 19: 1343 1972.
- 38) Okuyama, T., Kobayashi, Y.: Determination of diamine oxidase activity by liquid scintillation counting. *Arch Biochem and Biophys* 95: 242 1961.
- 39) Kobayashi, Y.: Blood levels of diamine oxidase as a test for pregnancy. *J Lab & Clin Med* 62: 699 1963.
- 40) Hartree, E.F.: Determination of protein. *Anal Biochem* 48: 422 1972.
- 41) Lahiri, S.C., et al.: Changes in histaminase content following experimental thermal injury. *Biochem Pharmacol* 20: 3225 1971.