

# 犬肝臓の細胞内顆粒 Histamine と生体内 投与薬物によるその遊離

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

犬の肝臓を食塩水中ですりつぶし遠心した部分について研究を行っていた Trethewie (1938)<sup>1)</sup> は、その上清液中に含まれる更に強い遠心によつて沈澱させうる細胞屑の中に Histamine (以下 Hist.) が含有されていることを発見した。近年 Schneider (1948)<sup>2)</sup>, Schneider & Hogeboom (1951)<sup>3)</sup> やその他の研究者により組織分割に関する精巧な分離方法の発展をみるに到り、Hist. の細胞内分布について更に精細な研究ができるようになった。かくて、Copenhaver ら (1953)<sup>4)</sup> は犬の肝臓 Homogenate を分割遠心することによつて Hist. の細胞内分布及びアナフィラキシーにおける Homogenate 諸分割からの Hist. の減損状態について報告し、ついで Hagen (1954)<sup>5)</sup>, Grossberg & Garcia-Arocha (1954)<sup>6)</sup>, Mongar & Schild (1956)<sup>7)</sup>, MacIntosh (1956)<sup>8)</sup> らによつて細胞内顆粒からの Hist. 遊離及びその遊離の機序に関する幾つかの報告がなされた。これらの研究者は Schneider らのいう Mitochondria 分割の顆粒即ち "large granules" が細胞内 Hist. の主要な存在部位であるという意見にはほぼ一致しているようにみえる。

一方 Riley とその共同研究者<sup>9)</sup> たちによつて肥満細胞と Hist. の間の密接な関係が証明され、Hist. が肥満細胞顆粒中に局在することが示唆されたが、犬の肝臓にはこの肥満細胞が多いところからみて、Mota ら (1954)<sup>10)</sup> はこの Homogenate の所謂 Mitochondria 分割は肥満細胞顆粒を多量に含むものではないかと考えている。

細胞内に含まれる Hist. の化学的物質乃至その他の要因による遊離の機序については、多くの研究にかかわらず、まだ確実なことは僅かしか判っていない。この研究の困難は Hist. 含有構造への要因の働きに影響する介在条件の複雑さがかなりの原因

をなしていると思われる。私は化学的物質の Hist. 遊離の機序の問題を、より単純化された細胞内顆粒を対象として研究しようとした。

この論文では先づ Copenhaver ら<sup>4)</sup> 及び Hagen<sup>5)</sup> が行つたように、犬肝臓 Homogenate の遠心分割の Hist. 分布について再検し、Mitochondria 分割中の Hist. と肥満細胞顆粒の豊富な存在とを知ることができた。そして、Sinomenine 及び Peptone の二つの Hist. 遊離物質によつて、この分割の Hist. の遊離が著明であることを認めることができた。この結果は、Schneider の Mitochondria 分割が、この組織についてはより単純化された Hist. 含有構造である肥満細胞顆粒を対象とするという見解のもとに利用できることを示したものである。

## 実験材料及び方法

**肝臓 Homogenate の遠心分割** 体重 7~12 kg の成熟犬を Urethane 1g/kg 及び Morphine 10 mg/kg 皮下注射又は Pentobarbital-Na 30 mg/kg 静注により麻酔したのち肝臓の葉片を 3g の試料を得るに充分なだけ摘出する。摘出肝は直ちに Tyrode 液で血液を充分洗い流し、鉗で細切し、その 3g を正確にとり 0.25 M 蔗糖液 3cc を加え Potter-Elvehjem のガラス Homogenizer で 3 分間すりつぶしたのち 10 容の蔗糖液に懸濁して Homogenate をつくる。この Homogenate 10 cc を Schneider の方法で三つの分割に遠心分離した。即ち第 1 の分割は主として未破壊細胞、細胞核、赤血球等を含む Debris & Nuclei 分割で、Homogenate を 600×g, 10 分間遠心して得られる。この沈澱分割は更に蔗糖液を加えて再懸濁再遠心を 2 回行い、他の分割成分を洗い出す。第 2 の分割は Mitochondria 分割で、上の Debris & Nuclei 分割を分離後の上清液を合わせて 8,500×g, 10 分間遠心して得られる。このものも更に蔗糖液を加え再懸濁遠心を行う。第 3 の分

劃は Microsomes & Supernatant 劃で, Mitochondria 劃を分離後の上清液である。肝摘出後の操作はすべて 0~5°C で行つた。以上の如くして分離した各劃が Hist. 定量に供された。

**薬物投与前後の肝臓サンプルの採取** Hist. 遊離物質 Sinomenine 及び Peptone 静注前の肝臓サンプルは左端葉から、注射30分後は右端葉からともに 3g のサンプルに充分な程度の大ききで切除した。はじめのサンプル切除後は腸鉗子でもつて止血した。薬物によるショックの程度を知るために実験中水銀マンオメーターに連結した股動脈血圧が記録された。この方法で薬物を注射しない場合 2 回の採取サンプルの Hist. 含量に相違のないことが、教室の Mayeda (1954)<sup>11)</sup> 及び Nishiyama ら (1957)<sup>12)</sup> により確かめられている。Copenhaver ら<sup>4)</sup> はアナフィラキシーの影響をみた同様の実験で Hist. 遊離によるショックを軽減するために Phenergan の前処置を行つているが、この薬物のみにより約 10% の Hist. 減損を認めている。又抗 Hist. 剤が Hist. 遊離に影響するという Yamasaki & Tasaka (1957)<sup>13)</sup> の報告もあるので、私は今回その使用を避けた。採取したサンプルは直ちに Tyrode 液で洗滌後 homogenize するまでの短時間氷冷した。Sinomenine hydrochloride は塩野義研究所の好意による結晶を用い、Peptone は Witte 製及び一部 Difco 製 Proteose-Peptone を用いた。

**Histamine の定量と同定** Homogenate 及び遠心各劃被検液の 10 cc に N-HCl 1 cc を加え、沸騰浴中に 5 分間浸し、N-NaOH で中和後適宜蒸溜水にて稀釈し、0.05 µg/cc の Atropine sulfate を含む 10 cc Tyrode 液 Bath 中でモルモット下部回腸条片を用いて定量した。Hist. の同定には被検液による腸管の収縮高が, Mepyramine により同効 Hist. によるものと同程度の抑制をうけ、反応回復の速度が同じであることの確認によつた。今回の実験における Hist. 当量測定値はこの方法によつて Hist. として同定できた。

他の実験方法については本文中でのべる。

## 実験成績

### 1. Mitochondria 劃の肥満細胞顆粒

Mota ら (1954)<sup>10)</sup> は犬肝臓の Mitochondria 劃を Ehrlich's thionin を用いて染色し、この劃には "very small round metachromatic particles" として見える肥満細胞顆粒が多く含まれていると述べている。私も上記 Schneider 法<sup>2)</sup> で劃遠心した三つの劃について普通及び位相差顕微鏡的観察を行い、特に Mitochondria 劃について精査した。Mitochondria 劃の Janus green 超生体染色では淡青色球状の Mitochondria を認めたが、この染色では肥満細胞顆粒の区別は明瞭でない。そこでこの劃の 0.25 M 蔗糖懸濁液塗沫標本を 1% に塩基性醋酸鉛を含む 50% Alcohol 液で 15 分間固定後水洗し、0.1% Toluidine blue 水溶液で 30 分間染色し、普通顕微鏡で観察した。又同時に犬肝臓のスタンプ標本について同様の固定染色を行い両者を比較した。Mitochondria 劃の塗沫標本では淡青色の微細細胞分屑に混じて小球状の metachromatic の顆粒が多量に存在するのが認められた。この顆粒はスタンプ標本で認められた肝肥満細胞の細胞膜の損傷によつて細胞周辺に脱出している顆粒とその形、大きさ及び metachromatic の色調からみて全く差異のないものであることが認められた (Fig. 1 及び Fig. 2)。

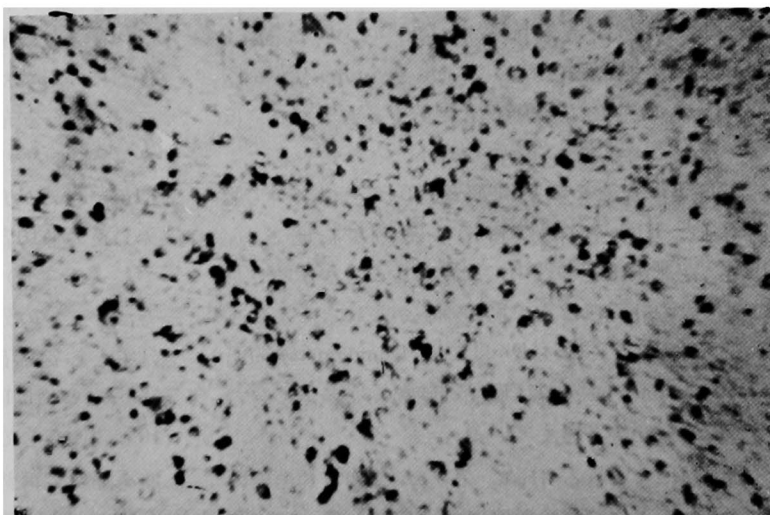


Fig. 1. Mitochondrial fraction of 0.25 M sucrose homogenate from a normal dog liver. Abundant metachromatically stained granules can be seen. Fixation: 1% basic lead acetate in 50% ethanol. Staining: 0.1% toluidine blue (aqueous solution). ×2000.

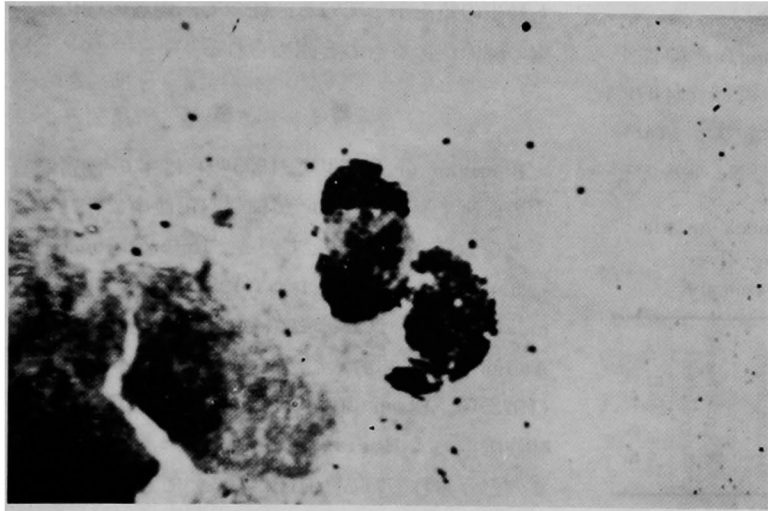


Fig. 2. Two disrupted mast cells disseminating metachromatic granules. Stamp preparation from a normal dog liver. Fixation, staining and magnification are the same as in Fig. 1.

2. Histamine の細胞内分布

0.25 M 蔗糖液に懸濁した犬肝臓の Homogenate より得た三つの分割の Hist. 分布は Table 1 に示すとおりである。各分割は勿論厳密には均質ではないがその主な構成成分でもつて示したものである。

Table 1. Histamine distribution in the dog liver. Average of sixteen determinations.

	Histamine ( $\mu\text{g/g}$ fresh tissue)	% of total histamine
Homogenate	59.3 $\pm$ 11.0*	100
Debris & nuclei	8.5 $\pm$ 3.1	15.6 $\pm$ 2.3
Mitochondria	26.8 $\pm$ 6.3	49.5 $\pm$ 3.1
Microsomes & supernatant	16.8 $\pm$ 4.8	31.2 $\pm$ 3.5
Reconstructed homogenate	52.1 $\pm$ 11.4	96.5 $\pm$ 3.4

\*Standard deviation

肝臓組織 Hist. の約 1/6 が Debris & Nuclei 分割に、約 1/2 が Mitochondria 分割に、更に残りの約 1/3 が Microsomes を含む上清分割中に認められた。Homogenate を作成するときに Mitochondria 分割の肥満細胞顆粒の一部は破壊され、その Hist. は上清分割中に移行するであろうし、又一部は Debris & Nuclei 分割中の未破壊細胞内に残るであろうから、実際にはこの Mitochondria 分割中の Hist. は恐らく細胞が破壊される前の粗大顆粒に含まれる Hist. の占める割合よりも少いであろう。

3. Histamine の細胞内分布に及ぼす Sinomenine 及び Peptone の影響

麻酔犬に Sinomenine 3 mg/kg 又は Peptone 150~500 mg/kg を静注し、注射前及び30分後に摘出した肝臓の Whole homogenate 及び三つの分割の Hist. 含量を測定しその減損状態を検らべた。Sinomenine 3 mg/kg 静注による Whole homogenate からの Hist. 減損率は5例の実験で 9.4~16.0% (平均13%) であつたが、各分割からの減損率は多くの例では Whole homogenate におけるそれとく

らべて著明な差は認められなかつた (Table 2)。但

Table 2. Influence of sinomenine shock on histamine distribution in the dog liver. Sinomenine hydrochloride 3 mg/kg intravenously.

Exp. no.	Whole homogenate	Debris-nuclei	Mitochondria	Microsomes-supernatant	Max. fall of B. P. (%)
1. Hist. lost ( $\mu\text{g/g}$ )	8.0	1.2	5.0	1.6	70
% Decrease	14.3	13.6	16.7	10.0	
2. Hist. lost ( $\mu\text{g/g}$ )	8.2	1.7	3.8	2.5	73
% Decrease	12.8	12.9	11.9	11.2	
3. Hist. lost ( $\mu\text{g/g}$ )	6.0	0.9	3.0	1.8	66
% Decrease	16.0	16.7	15.4	16.7	
4. Hist. lost ( $\mu\text{g/g}$ )	6.2	0.5	4.8	1.0	56
% Decrease	9.4	5.2	15.3	4.7	
5. Hist. lost ( $\mu\text{g/g}$ )	6.0	1.1	3.2	1.5	35
% Decrease	14.3	15.3	16.2	11.1	
Av. Hist. lost ( $\mu\text{g/g}$ )	6.9	1.1	3.9	1.7	60
% Decrease	13.0	13.9	14.3	10.4	

し、犬 No. 4 では Mitochondria 分割からの減損率が他の分割にくらべて明らかに大であつた。しかし、Mitochondria 分割の Hist. 含量が比較的多いため、実際に失われた Hist. 量の平均 3.9  $\mu\text{g/g}$  は Whole homogenate のそれ (6.9  $\mu\text{g/g}$ ) の 57% に

相当し、他の分割に比して遙かに大きい。

別の犬6頭に Peptone 150~500 mg/kg 静注を行った。これらの場合に Hist. 減損率は全体的に Sinomenine 静注の場合より幾分大であつた (Table 3)。各分割からの Hist. 減損率は犬 No. 5 をのぞ

Table 3. Influence of peptone shock on histamine distribution in the dog liver. Peptone 150-500 mg/kg intravenously.

Exp. no.	Whole homogenate	Debris-nuclei	Mitochondria	Microsomes-supernatant	Max. fall of B. P. (%)
1. Hist. lost ( $\mu\text{g/g}$ )	6.4	1.6	2.6	2.1	28
% Decrease	13.8	23.2	12.8	12.1	
2. Hist. lost ( $\mu\text{g/g}$ )	9.0	3.0	3.0	3.2	70
% Decrease	18.8	28.6	13.3	22.2	
3. Hist. lost ( $\mu\text{g/g}$ )	12.0	3.6	4.5	3.6	46
% Decrease	18.2	28.6	13.6	18.6	
4. Hist. lost ( $\mu\text{g/g}$ )	11.8	2.3	4.5	3.9	57
% Decrease	19.3	22.8	14.0	24.8	
5. Hist. lost ( $\mu\text{g/g}$ )	17.8	3.0	10.4	3.0	100
% Decrease	42.1	46.9	52.7	23.6	
6. Hist. lost ( $\mu\text{g/g}$ )	9.7	1.2	4.0	3.9	51
% Decrease	21.0	21.1	17.2	24.2	
Av. Hist. lost ( $\mu\text{g/g}$ )	11.1	2.4	4.8	3.3	58
% Decrease	22.6	27.6	19.1	20.8	

Remarks: No. 1-3: Witte peptone 150 mg/kg, No. 4: 300 mg/kg, No. 5: 500mg/kg, No. 6: Difco peptone 300 mg/kg.

けば特に Mitochondria 分割が多いということはなく、むしろ他の例では Debris & Nuclei 分割からの遊離率の方が幾分大きいという結果がみられた。しかし、それにもかかわらずこの場合でも遊離 Hist. 量の大きさはやはり Mitochondria 分割がもつとも多い。

尚、Hist. 減損率と血圧下降の程度の間には、個々の例では必ずしも厳密な平行関係をみることはできなかつたが、Witte Peptone 500 mg/kg 静注し注射後数分で死亡した例 (Table 3 の No. 5) では Hist. 減損率は他の例に比して多く、肝 Hist. の  $1/2$  近くが失われており、一方、同 Peptone 150 mg/kg 投与の Table 3 の No. 1 犬では血圧下降の軽度であると同時に Hist. 遊離率並に遊離量

も最少の値を示している。従つて、両者の間には一定の関係があるものと認められる。

## 考 察

Blaschko ら (1953<sup>14</sup>, 1955<sup>15</sup>) は牛の副腎髄質中の血圧上昇性 Amine が細胞内顆粒中に存在することを数年前に見出している。Enterochromaffine system 中の細胞を Clara (1928)<sup>16</sup> は "basigranular" とよんだが、その顆粒の染色性はそれが Amine の担体であることを示唆しており、Verne (1922)<sup>17</sup>, Lison (1931)<sup>18</sup> によつて頭足類の後部唾液腺中の 5-Hydroxytryptamine も顆粒中に存在するとみられている。Hist. についても, Trethewie (1938)<sup>19</sup> によつて犬の肝臓中の彼が Cell debris と呼んだ顆粒中に包蔵されていることが示された。この所見は Hagen (1954)<sup>5</sup> 及び Copenhagen ら (1953)<sup>4</sup> によつて遠心分割法により確かめられた。Hagen は蔗糖液 Homogenate の氏のいう Large granule fraction に、また Copenhagen らは Mitochondrial fraction に特に多く含まれるとのべているが、これらの分割の表現の相違は本質的な局在部位の相違を示すものではない。ともかく、このように重要な生体内 Hist. の細胞内存在がともに顆粒中にあるということは、それらの貯蔵様式に関して興味深い。

私の今回の実験においても Copenhagen らの成績と殆んど一致し、Schneider の Mitochondria 分割には最も多量の、約50%の Hist. の存在を確認した。実際 Debris & Nuclei 分割及び Microsomes & Supernatant 分割にも、それらを合計すれば Mitochondria 分割中の含量に相当する程度の Hist. を見出したが、既述のように理想的な Homogenate の調製が困難なことにより、未破壊の細胞や他方顆粒の破壊をも生じうることからみて、実際には分割中の主体をなす顆粒中の Hist. の含量ははるかに多量であるものと考えられる。従つて、この特定の顆粒以外の Hist. 担体を別に考えることはさほど大きな意味はないように思われる。

Copenhagen らは肝細胞の Mitochondria の中に Hist. の存在を認めるとのべているが、私の染色標本における所見ではこの分割には均等な顆粒のみが存在するものではないことが明らかで、少なくとも Janus green で生染された Mitochondria と Toluidine blue で特異な Metachromasia を示した粒状顆粒とは別個のものであろう。これら顆粒のうち後者は、

全く同じ条件で染色された肝臓肥満細胞のスタンプレ本での顆粒と区別できない形態及び色調を示すところから、恐らく肥満細胞の顆粒であると判断してよいように思う。最近 Smith & Lewis (1957)<sup>19)</sup> は肥満細胞の精巧な電顕像を示し、粗大顆粒のほかに Mitochondria 及び Endoplasmic reticulum を識別している。私の上述の所見は、Thionin 染色で同じく犬肝臓 Homogenate のこの分割中に metachromatic の顆粒を認めた Mota ら<sup>10)</sup> の所見と一致するものである。Blaschko, Hagen & Welch (1955)<sup>15)</sup> は副腎髄質 Homogenate の粗大顆粒分割を更に超遠心し二層に分離した結果、血圧上昇性 Amine は暗褐色の底層に含まれることを認めている。犬肝臓の均質でない粗大顆粒分割についても同様の分離は可能なはずで、恐らくこの操作によつて肥満細胞顆粒を他の混合物からより充分に分離することは可能であろう。

Copenhaver ら<sup>4)</sup> は能動性及び受身のアナフィラキシーをおこした犬肝臓からの Hist. の最大減少が Mitochondria 分割からみられることを報告している。この所見にたいして氏は、Haurowitz & Crampton (1951)<sup>20)</sup>, Fields & Libby (1952)<sup>21)</sup>, が radio labelled antigen を感作兔に注射した場合に肝臓 Mitochondria へ急速に incorporate するという所見にもとずき、Mitochondria が抗体の局在部位であつて、適合抗原が急速に Mitochondria へ侵入し、そこで抗原・抗体反応が行われ、その部位からの Hist. 遊離をおこすという解釈をとつている。しかし、肝臓 Hist. の局在が Mitochondria でなくて肥満細胞顆粒であると考えれば、肝細胞の Mitochondria における抗原・抗体反応の結果が肥満細胞顆粒に及ぶ連鎖過程はそれほど単純ではあるまい。Copenhaver ら<sup>4)</sup> 及び Mongar & Schild (1956)<sup>7)</sup> は感作動物組織の Homogenate に抗原を添加しても Hist. 遊離がおきないことを報告しているが、Copenhaver らのいうように抗原・抗体反応が Hist. の局在する Mitochondria においておこなわれるという構想では却つて理解しにくい。

犬の肝臓から Peptone が Hist. 遊離を行うことは Dragstedt & Mead (1937)<sup>22)</sup> の報告以来知られており、又 Sinomenine についても Mayeda (1954)<sup>11)</sup>, Nishiyama, Tasaka & Irino (1957)<sup>12)</sup> によつて知られている。今回の私の実験の結果もこれらの物質の投与後明らかに肝臓 Homogenate の Hist. 減少を確認した。そしてこれらの場合どの例

でも、Mitochondria 分割からの Hist. 減損量が他の分割からのそれにくらべて大きいことを示した。しかし、Homogenate の三つの分割からの Hist. の減損率については少数の例をのぞけば両薬物の場合とも、必ずしも Mitochondria 分割からのものが最大とはいえなかつた。これと同様のことは Copenhaver らのアナフィラキシーにおける実験データを計算しても認められる。他の分割中において減損する Hist. も Mitochondria 分割の顆粒(恐らく肥満細胞顆粒)と同じものであることは、分割 Hist. についての既述の説明によつて理解できるわけである。従つてこの実験の結果はこれらの Hist. 遊離物質による犬肝臓の Hist. 遊離は Mitochondria 分割に主として含有され、おそらく肥満細胞顆粒における Hist. の減損を意味するものと解釈してさしつかえあるまい。西山 (1959)<sup>23)</sup> は Sinomenine によつて肝 Hist. 減損状態におかれた感作犬では、抗原による Hist. の減損が少ないことをみとめておる。又 Mayeda (1953)<sup>24)</sup> は Sinomenine と Peptone の間に Cross refractoriness の成立を報告している。いずれもこれらの作用物質によつて遊離される Hist. の源泉が共通するものであることを示すものである。

## 総 括

1. 犬肝臓の 0.25 M 蔗糖液 Homogenate の分割遠心分離を行い、Mitochondria 分割中に Histamine と肥満細胞顆粒の豊富に含まれることを認めた。
2. Histamine 遊離物質 Sinomenine 及び Peptone を静注した犬肝臓の Homogenate における Histamine の減損は Mitochondria 分割において最大であつた。
3. 犬肝臓の Mitochondria 分割における Histamine は肥満細胞顆粒に含まれているものと考える。

本論文の要旨は昭和33年6月8日第15回日本薬理学会近畿部会(神戸)で発表した。

本研究は文部省科学研究費の補助によつて行つた。

## 引 用 文 献

- 1) Trethewie, E. R.: *Aust. J. exp. Biol. med. Sci.* **16**, 225 (1938)
- 2) Schneider, W. C.: *J. biol. Chem.* **176**, 259 (1948)
- 3) Schneider, W. C. and Hogeboom, J. H.: *Cancer Res.* **11**, 1 (1951)
- 4) Copenhaver, J. H., Nagler, M. E. and Goth, A.: *J. Pharmacol.* **109**, 401 (1953)
- 5) Hagen, P.: *Brit. J. Pharmacol.* **9**, 100 (1954)
- 6) Grossberg, A. L. and Garcia-Arocha, H.: *Science* **120**, 762 (1954)
- 7) Mongar, J. L. and Schild, H. O.: *J. Physiol.* **131**, 207 (1956)
- 8) MacIntosh, F. C.: *Histamine, Ciba Foundation Symposium* p. 20, Churchill, London (1956)
- 9) Riley, J. F.: *Pharmacol. Rev.* **7**, 267 (1955)
- 10) Mota, I., Beraldo, W. T., Ferri, A. G. and Junqueira, L. C. U.: *Nature, Lond.* **174**, 698 (1954)
- 11) Mayeda, H.: *Jap. J. Pharmacol.* **3**, 73 (1954)
- 12) Nishiyama, R., Tasaka, K. and Irino, S.: *Acta Med. Okayama* **11**, 133 (1957)
- 13) Yamasaki, H. and Tasaka, K.: *Ibid.* **11**, 290 (1957)
- 14) Blaschko, H., and Welch, A. D.: *Arch exp. Path. Pharmacol.* **219**, 17 (1953)
- 15) Blaschko, H., Hagen, P. and Welch, A. D.: *J. Physiol.* **129**, 27 (1955)
- 16) Clara, M.: *Arch. ital. Anat. Embriol.* **25**, 1 (1928)
- 17) Verne, J.: *C. R. Ass. Anat.* **17**, 309 (1922)
- 18) Lison, L.: *Arch Biol, Paris* **41**, 343 (1931)
- 19) Smith, D. E. and Lewis, Y. S.: *J. Biophys. Biochem. Cytol.* **3**, 9 (1957)
- 20) Haurowitz, F., Crampton, C. F. and Sowinski, R.: *Fed. Proc.* **10**, 560 (1951)
- 21) Fields, M. and Libby, R. L.: *J. Immunol.* **69**, 581 (1952)
- 22) Dragstedt, C. A. and Mead, F. B.: *J. Pharmacol.* **59**, 429 (1937)
- 23) 西山良策: *岡山医会誌*, **71**, 115 (1959)
- 24) Mayeda, H.: *Jap. J. Pharmacol.* **3**, 62 (1953)

## Intracellular Distribution of Histamine in Dog's Liver and Its Release by Intravenously Injected Drugs

By

Kei JINZENJI

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

0.25 M sucrose homogenate of dog's liver was fractionated by differential centrifugation as described by Schneider. About half of histamine of the whole homogenate was found in the mitochondrial fraction. Smears were made from each fractions, fixed in 1 per cent basic lead acetate in 50 per cent alcohol and stained with 0.1 per cent aqueous solution of toluidine blue. Microscopic observation showed that the mitochondrial fraction contains a large amount of very small round metachromatic particles, which are indistinguishable from extruded granules outside of the mast cells similarly stained in the stamp preparation from the liver slice. These observations confirm the finding of Mota and his co-workers and this fact in all probability indicates that the higher histamine concentration of the mitochondrial fraction of dog's liver might be due to contamination with mast cell granules. Intravenous administration of 3 mg/kg sinomenine or 150 to 500 mg/kg peptone into dogs resulted in a significant release of histamine from the mitochondrial fraction with some variable loss from other subcellular fraction.