



## カエル骨格筋の収縮性に対する麻痺性貝毒の影響

知見, 憲次  
田場, 典治  
新谷, イサオ

---

**(Citation)**

神戸大学農学部研究報告, 16(2):547-552

**(Issue Date)**

1985-01-31

**(Resource Type)**

departmental bulletin paper

**(Version)**

Version of Record

**(JaLCD0I)**

<https://doi.org/10.24546/00225577>

**(URL)**

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/00225577>



## カエル骨格筋の収縮性に対する麻痺性貝毒の影響

知見憲次\*・田場典治\*・新谷 勲\*\*

(昭和59年8月10日受理)

### EFFECTS OF PARALYTIC SHELLFISH POISON ON CONTRACTILITY OF FROG SKELETAL MUSCLE

Kenji CHIMI, Noriji TABA and Isao NIIYA

#### Abstract

In the present study, gonyautoxins (1.0, 5.0 or 10.0 MU/ml), tetrodotoxin (1.0, 5.0 or 10.0 MU/ml), and tubocurarine chloride (50  $\mu$ g/ml) were compared and investigated for effects on the contractility of skeletal muscle in frogs. Sartorius muscle of a frog, isolated from the body, was placed in a organ-bath filled with frog Ringer solution containing each concentration of the poison; the muscle preparation was then stimulated repeatedly; and isotonic contractions were recorded on smoked paper by an isotonic lever giving a magnification of fifteen-times. The electrical stimuli were 20 volt pulses of 0.5 msec duration and the rate of stimulation was 5 pulses per minute. As a result, some contraction curves were obtained, and the effects of poisons on these curves were examined. The height of isotonic contraction decreased rapidly with increasing concentration of the poison in the muscle treated with gonyautoxins or tetrodotoxin. In the muscle treated with tubocurarine chloride, however, contraction curves were not affected by its poison.

近年、我国において発生している食中毒の原因の一つに麻痺性貝毒 (Paralytic Shellfish Poison, 以下PSPと略記する) が報告<sup>1)</sup>され、食品衛生上のみならず漁業関係にとって重要な問題となっている。一般にPSPの薬理・生理作用は同様な急性麻痺を起すフグ毒のtetrodotoxin (TTX) に酷似していると考えられている。

NARAHASHI<sup>2)</sup>はPSPの主要成分として知られているSaxitoxin (STX) の作用機序について詳細な電気生理学的検討を行なっている。それによるとSTXとTTXは共に細胞興奮時におけるNaイオンの急激な細胞内流入を選択的に阻害して、活動電位の発生を抑制し、筋および神経における興奮伝達を防げるという。

しかしながら、KAO<sup>3)</sup>はSTXとTTXの作用機序に若干の相違を認めている。また、著者ら<sup>4)</sup>も我国におけるPSPの主成分であるgonyautoxins (GTXs) とT

TXの心臓機能に及ぼす影響を心電図学的に検討したところ、両者の間にかんがりの相違点のあることを確認している。

本実験では、神経-筋系に作用点を有し筋麻痺作用を持つとされている3種の毒物、GTXs, TTXおよびd-Tubocurarine : chloride (curare) について、カエル摘出縫工筋の収縮性に及ぼす影響を単収縮を連続記録して得られる疲労曲線を指標にして検討したので、その結果について報告する。

#### 実験方法

実験材料には体重200~300gの食用ガエルから切り出した縫工筋標本を用いた。この筋は、速動性の筋線維が筋の全長にわたって平行に走っているという特長を持つので、筋収縮についての生理学的または薬理学的実験を行なうのに適している。

実験に使用したGTXsはホタテガイの中腸腺より分離・精製し、GTX<sub>1</sub>、GTX<sub>2</sub>およびGTX<sub>3</sub>をともに含有

\* 家畜管理学研究室

\*\* (財) 日本食品油脂検査協会

していることを電気泳動法で確認<sup>1)</sup>したものである。このGTXsについて毒性試験<sup>11)</sup>を行なって毒力の検定をした後、これをリンゲル液にて1.0, 5.0および10.0 MU/mlに調製して実験に供した。ちなみに、PSPの1 MUは体重20 gのマウスを15分間で殺す毒量をいう。

TTXはテトロドトキシン(三共株式会社)1000  $\mu$ gを100 mlのリンゲル液で溶解したものを標準液(10  $\mu$ g/ml)として使用した。実験に際して、標準液の毒性試験<sup>11)</sup>を行ない、その毒量が45.5 MU/mlに相当することを確認した。この結果、実測値は0.22  $\mu$ gが1 MUに相当する理論値と一致した。なお、TTXの1 MUは体重20gのマウスを30分間で殺す毒量のことである。

Curareはd-Tubocurarine chloride(和光純薬工業)をリンゲル液で溶解して、50  $\mu$ g/mlの濃度に調製して使用した。

容量20mlの円筒形ガラス製水槽(organ-bath)の中に縫工筋標本を入れて下端を固定し、上端はミン糸を用いてヘーベルに連結し、室温下で等張性単収縮の経過をキモグラフィオンを用いて描記できるようにした。この場合、ヘーベルの倍率は5倍に設定した。

摘出した縫工筋標本をorgan-bath内に懸垂し、ついで各濃度に調製した被検毒物をそれぞれbath内に満たして、標本を浸漬した。これについて、電気刺激装置(3 F-31型、三栄測器)を用いて直接刺激を加え、単収縮曲線を常法<sup>4)</sup>により、煤煙紙上に抽記させた。刺激は電圧20 V、パルス幅0.5 msecの矩形波を1分間に5回の頻度で反復して与えた。また、対照実験はorgan bath内に被検毒物にかえてリンゲル液を満たし、他は前記と同様の方法を行なった。

## 実験成績

### 1. GTXsの影響

GTXs原液をリンゲル液で希釈し、1.0, 5.0および10 MU/mlの濃度になるように調製した。Fig. 1に、リンゲル液および各濃度に調製したGTXs液に浸漬した標本の反復刺激に対する単収縮高の経時的変化を示した。

(A)はリンゲル液浸漬標本より得られた曲線、すなわち対照実験における収縮曲線である。図にみるように、この曲線の高さの経時的変化はきわめて緩慢であり、刺激開始後45分を経過しても、なお標本は力強い収縮活動を持続していることがわかる。

(B)は1.0 MU/ml GTXs液に浸漬した標本における収縮高を示す単収縮が現われているが、収縮高はゆる

やかに減衰し、約30分後には完全に収縮が停止している。5.0 MU/ml GTXsに浸漬した標本においては、収縮曲線の勾配は(B)に比べてかなり急になり、時間経過に伴う収縮活動の減退が一段と促進されていることが認められる〔Fig. 1 (C)〕。10.0 MU/ml GTXs液で処理した標本の収縮曲線を(D)に示したが、曲線の勾配はさらに急峻となり、収縮活動は減退が著しく約10分後には停止している。

### 2. TTXの影響

Fig.2 (A)は1.0 MU/ml TTX液に浸漬した標本から記録した収縮曲線である。収縮高の減少は刺激開始直後から比較的ゆるやかであり、約40分後に至って収縮活動は停止している。(B)は5.0 MU/ml TTX液で処理した標本の収縮曲線であり、(A)に比べて曲線の勾配は急となり、収縮活動の減退が促進しているのが観察される。(C)は10.0 MU/ml TTX液で処理した標本より得られた収縮曲線であり、曲線の勾配はさらに急となり、TTXの濃度が大きくなるほど、収縮活動に与える影響が増大することをうかがわせている。

Fig.3はGTXsおよびTTXの濃度と収縮高の半減期(収縮高が刺激開始当初の最大収縮高の半分の大きさを示す時間)との関係を図示したものである。これより、同一濃度であれば、GTXsにおける半減期はTTXの場合に比べて短縮していることが認められる。

### 3. Curareの影響

Fig.4は50  $\mu$ g/mlという高濃度のcurare液に浸漬した標本における収縮曲線である。図に明らかのように、曲線は勾配が極めてゆるやかで、収縮高の経時変化は正常標本における変化〔Fig.1 (A)〕とほとんど同様な経過を示している。標本は比較的長時間収縮活動を持続しており、実験開始後約40分を経過しても、なお律動的な収縮を反復している。

## 考 察

PSPの神経-筋系におよぼす作用についてはEVANS<sup>2,3)</sup>の報告がある。しかし、筋実質に対する作用についての報告例は見あたらない。そこで著者らは、カエル骨格筋の収縮性に対するGTXs, TTXおよび curareの作用を観察した。

骨格筋の収縮活動が円滑に行なわれている場合、収縮の強さは収縮高となって表現される。一般に筋に一定の刺激を律動的に与えて単収縮を反復させた場合、収縮高は開始当初一定の高さとなるが、しばらくして減少傾向を示し、最後には零となる。このとき得られた収縮曲線

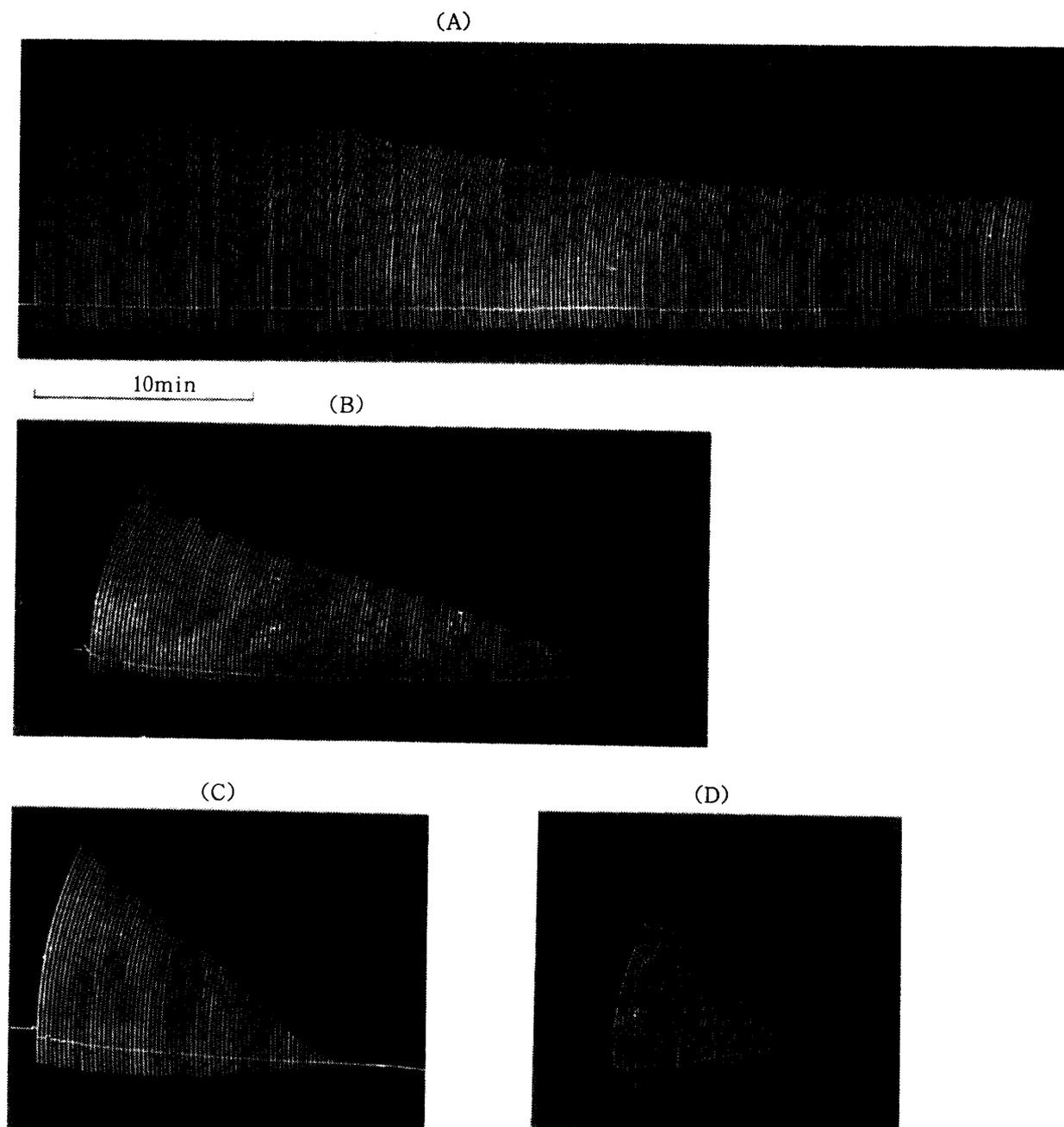


Fig.1. Effect of gonyautoxins (GTXs) on isotonic contraction of a frog sartorius muscle. The muscle was placed in a organbath filled with each concentration of GTXs-Ringer solution and stimulated at 12 sec intervals by direct stimuli (20 V, 0.5 msec duration). (A), in normal Ringer solution (control); (B), in 1.0 MU/ml GTXs-Ringer solution; (C), in 5.0 MU/ml GTXs-Ringer solution; (D), in 10.0 MU/ml GTXs-Ringer solution.

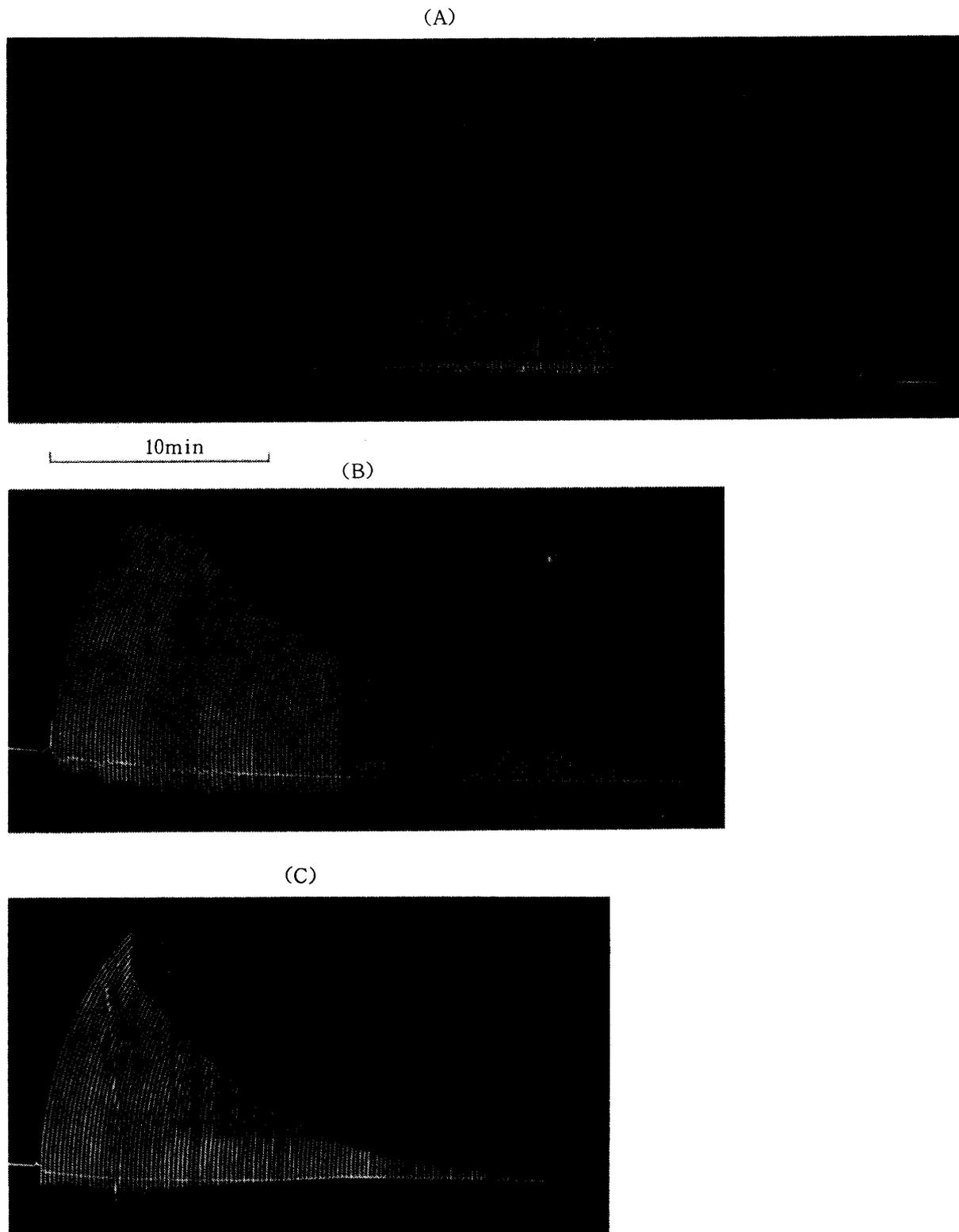


Fig.2. Effect of tetrodotoxin (TTX) on isotonic contraction of a frog sartorius muscle. The muscle was placed in a organ-bath filled with each concentration of TTX-Ringer solution and stimulated at 12 sec intervals by direct stimuli (20 V, 0.5 msec duration). (A), in 1.0 MU/ml TTX-Ringer solution; (B), in 5.0 MU/ml TTX-Ringer solution; (C), in 10.0 MU/ml TTX-Ringer solution.

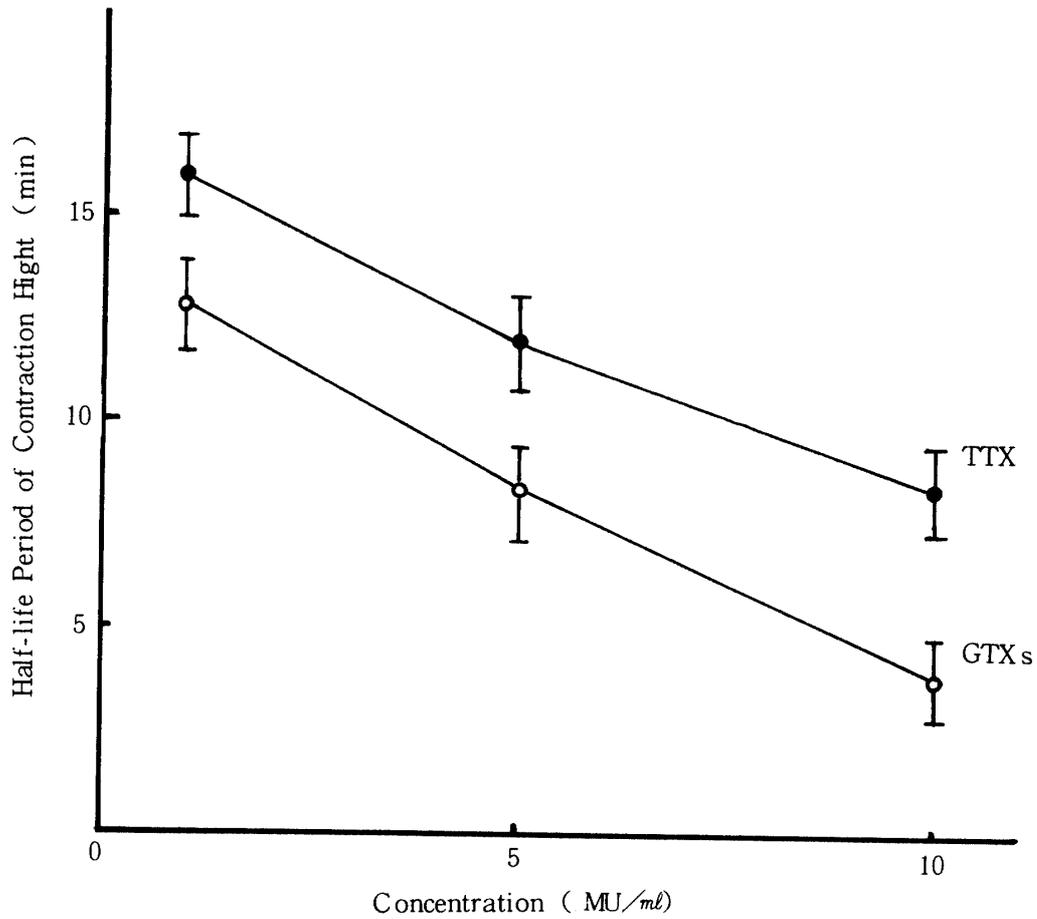


Fig.3. Relationship between the half-life period of contraction height and the concentration of GTXs or TTX on a frog sartorius muscle.



Fig.4. Effect of curare on isotonic contraction of a frog sartorius muscle.  
The muscle was placed in a organ-bath filled with 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$  curare-Ringer solution and stimulated at 12 sec intervals by direct stimuli (20 V, 0.5 msec)

を疲労曲線と呼ぶ。

本実験において、GTXs液浸漬標本について疲労曲線を描記したところ、GTXs濃度の増加に従って、筋活動持続時間が短縮することを観察した。また、収縮高の半減期はGTXs濃度が1.0, 5.0および10.0 MU/mlのとき、それぞれ12分48秒, 8分24秒そして3分40秒の平均値を示し、GTXs濃度の増加につれて半減期が短縮することを知った。このことから、GTXsは筋実質になんらかの影響を与え、その収縮性を阻害するように動くことが推測される。

一方、TTX液浸漬標本の疲労曲線も、GTXs液浸漬標本の曲線と同様の傾向を示し、濃度の増大と共に筋活動持続時間は短縮した。収縮高の半減期はTTX濃度1.0, 5.0および10.0 MU/mlのとき、それぞれ16分12秒, 12分そして9分24秒の平均値を示した。TTXについても、GTXs同様に骨格筋の筋実質に作用して、収縮性になんらかの影響を与えていることは明らかである。なお、同一濃度のGTXsとTTXにおける疲労曲線について、収縮高の半減期を比較すると、GTXs液浸漬標本の方がTTX液浸漬標本よりも短縮している。このことより、GTXsの方がより強く筋実質に作用しているものと推測される。

Narahashi<sup>8)</sup>によるとTTXとSTXは神経および筋肉の興奮膜のNa活性化機構を選択的に阻害し、活動電位の閾膜電位を上昇させると報告している。また、GTXsの興奮膜におよぼす作用は本質的にSTXと同様であるという報告<sup>9)</sup>もある。本実験において、GTXsが骨格筋の収縮性に対して抑制的作用を与えることを知った。この現象も、TTXおよびSTXにおけると同様、筋興奮膜のNa-channelが選択的にとざされ、その結果として活動電位の閾膜電位の上昇によるものと考えられる。ともあれ、GTXsは骨格筋実質に作用して収縮性を減退させる働きを有していることは明らかである。

## 要 約

麻痺性貝毒 gonyautoxins (GTXs), フグ毒 tetrodotoxin (TTX) および筋弛緩剤 curare について、カエル縫工筋標本の収縮性におよぼす影響を比較検討した。

1. 被検毒物はリンゲル液で希釈して所要の濃度に調製した。実験開始直前にカエル縫工筋 organ-bath 内

に懸垂し、被毒物を bath 内に加えて筋標本を浸漬した。これについて、一定の反復電気刺激を加え、単収縮曲線を常法に従って煤煙紙上に連続的に描記させ、収縮曲線を作成した。

2. 1.0, 5.0 および10.0 MU/mlのGTXs液に浸漬した筋標本においては、GTXs濃度が高くなるにつれて、収縮曲線の持続時間と収縮高の半減期が共に短縮した。これにより、GTXsが筋実質になんらかの作用を及ぼしていると推測した。

3. 1.0, 5.0および10.0 MU/mlのTTX液に浸漬した筋標本においても、GTXs液浸漬標本の場合に、濃度の増加とともに収縮持続時間および収縮高の半減期は反比例的に短縮した。このことから、筋実質がTTXに強く影響されることをうかがうことができた。

4. Curare については、50  $\mu\text{g}/\text{ml}$ というかなりの高濃度で実験を行なったが、正常標本と同様の収縮曲線を示し、筋実質に対する curare の影響は認められなかった。

## 文 献

- 1) 知見憲次・奥田輝雄・丸山武紀：食衛誌，24, 125-129, 1982.
- 2) EVANS, M. H. : *Br. J. Pharmac.* 36, 426-436, 1969.
- 3) EVANS, M. H. : *Br. J. Pharmac.* 40, 847-865, 1970.
- 4) 日本生理学会編：生理学実習書，276-296，南江堂，東京，1983.
- 5) KAO, C. Y. and F. A. FUHRMAN : *Toxicol.* 5, 25-34, 1967.
- 6) 勝田新一郎・田場典治・知見憲次：食衛誌，25, 329-333, 1984.
- 7) 真島英信：生理学，53-69，文光堂，東京，1979.
- 8) NARAHASHI T. : *Marine Pharmacology* 31, 1124-1132, 1972.
- 9) NARAHASHI, T. : *Environ. Lett.*, 9, 239-247, 1975.
- 10) 野口玉雄・橋本周久：医学のあゆみ，112, 861-870, 1980.
- 11) 厚生省環境衛生局編：食品衛生検査指針Ⅱ，232-240, 241-244，日本食品衛生協会，東京，1978.