



# モルモット摘出腸管の運動に対するSaxitoxin群及びTetrodotoxinの影響

知見, 憲次  
三宅, 博  
北谷, 憲二郎  
田場, 典治

---

**(Citation)**

神戸大学農学部研究報告, 17(2):251-257

**(Issue Date)**

1987

**(Resource Type)**

departmental bulletin paper

**(Version)**

Version of Record

**(JaLCOI)**

<https://doi.org/10.24546/00225611>

**(URL)**

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/00225611>



# モルモット摘出腸管の運動に対する Saxitoxin 群及び Tetrodotoxin の影響

知見憲次\*・三宅 博\*・北谷憲二郎\*・田場典治\*

(昭和61年8月11日受理)

## EFFECTS OF SAXITOXINS OR TETRODOTOXIN ON THE MOVEMENT OF THE EXCISED SMALL INTESTINE OF A GUINEA PIG

Kenji CHIMI, Hiroshi MIYAKE, Kenjiro KITATANI and Noriji TABA

### Abstract

The main components of paralytic shellfish poison, extracted from "subesubemanjugani" collected at Kabira (Ishigaki Island), consisted of saxitoxin and neosaxitoxin. We examined effects of these toxins (STXs) on the movement of the excised ileum preparation of a guinea pig, and compared the effects with those of tetrodotoxin (TTX). The ileum preparation was placed in an organ-bath, perfused with the oxygenated Tyrode's solution at temperature of 37.0°C. The peristaltic movement was induced by increasing the inner pressure of the ileum canal due to infusion of the Tyrode's solution into the preparation. Changes in volume and length of the preparation due to the peristalsis were simultaneously measured by the method of Trendelenburg. On applying STXs (1.0 MU/ml) or TTX (1.0 MU/ml) to the preparation, the peristalsis disappeared. The isotonic contractions of the ileum induced by acetylcholine (ACh,  $1 \times 10^{-7}$  g/ml) were not inhibited by the pretreatment with STXs (1.0 MU/ml) or TTX (1.0 MU/ml), whereas the contractions induced by nicotine ( $1 \times 10^{-5}$  g/ml) were completely suppressed by the pretreatment with STXs (1.0 MU/ml) or TTX (1.0 MU/ml). The contractions of the preparation elicited by transmural electrical stimulation (90 V in intensity, 0.5 msec in duration and 40 Hz in frequency) were markedly inhibited by the pretreatment with STXs (1.0 MU/ml) or TTX (1.0 MU/ml). These results suggest that STXs might not act on the ACh receptor of the smooth muscle of the ileum but exert inhibitory effects on the release of ACh from the nerve ending.

### 緒 言

麻痺性貝毒 paralytic shellfish poison (PSP) には saxitoxin (STX), neosaxitoxin (neo STX) 及び gonyautoxins (GTX群) の3種がある。このうち、GTX群は、現在、さらに8種類に類別<sup>6)</sup>されている。

EVANS<sup>2)</sup> はSTXとGTX群の生理・薬理作用を検討し、両者の作用機序に差異のあることを報告している。一方、KAO<sup>4)</sup> はフグ毒 tetrodotoxin (TTX) とPSPの生理作用が全く酷似することを観察している。

さきに、著者ら<sup>1)</sup> は石垣島川平(沖縄県)で採集したスベスベマンジュガニ *A. floridus* からPSPを抽出、その主成分がSTXとneo STXであり、微量成分にGTX群が含まれていることを報告した。

そこで、今回はこの抽出毒物(以下STX群とする)とTTXを用いて、両者の生理作用を観察する一環として、モルモットの腸管運動におよぼす影響について検討した。常法に従い、モルモットから腸管を摘出、これについて、蠕動運動、ならびに acetylcholine (ACh) 刺激、nicotine 刺激及び経壁電気刺激の効果に対するSTX群とTTXの影響を検討した。

\* 家畜管理学研究室

## 材料及び方法

### 1. 実験材料

Hartley モルモット（雄性，体重300～450g）の腸管を実験に用いた。常法に従って，モルモットを撲殺，頸動脈より放血し，腹部を切開，回腸を摘出した。これを栄養液中に浸し付着している腸間膜を切除し，内容を栄養液で洗浄除去した。ついでこれより2～3cm長の腸片を切り取り，これを実験に供した。

### 2. 栄養液

栄養液にはタイロッド液を用いた。その組成は，NaCl 137 mM，KCl 2.7 mM，CaCl<sub>2</sub> 1.8 mM，NaHCO<sub>3</sub> 12.0 mM，NaHPO<sub>4</sub> 0.4 mM，MgCl<sub>2</sub> 1.0 mM，glucose 5.0 mMとした。

### 3. 使用薬物及び試薬

STX群<sup>1)</sup>は1984年石垣島川平（沖縄県）で採集したスベスベマンジュガニ *A. floridus* から抽出・精製したものでSTXとneo STXをともに含んでいる。このSTX群を，毒力検定<sup>5)</sup>の後，栄養液で希釈して実験に用いた。

TTXはTetrodotoxin, Crystalline 3 X（三共）を蒸留水で溶解，10 μg/mlのTTX液を作製し，用時，毒力の検定<sup>5)</sup>をした後栄養液で希釈して使用した。

その他の薬物としてはacetylcholine chloride（和光純薬），nicotine（和光純薬）の試薬特級を用いた。

### 4. 腸管の蠕動運動記録法

腸管蠕動運動に対するSTX群及びTTXの効果を検討するために，トレンデレンブルグ法<sup>12)</sup>に従って標本に蠕動運動を誘発し，これを記録した。36～37°Cの栄養液を満たした30ml容の二重円筒形ガラス製恒温槽（以下浴槽とする）の中に腸管片を置き，その口側端を糸で閉鎖した。その糸をトランスデューサーに連結，標本の長さの変化を，増幅器を介してペン書きオシログラフ上に記録できるようにした。

標本の尾側端は浴槽内のU字管に連結した。これをカニョーレを介して栄養液を入れたマリOTT瓶に接続し，液が腸内腔に通ずるようにした。瓶の上端口はタンブールを介してトランスデューサーに連結，腸内腔の容積変化を，同じく増幅器を介し，ペン書きオシログラフ上に記録できるようにした。

次に，マリOTT瓶を一定の高さに上昇させて腸内腔を栄養液で加圧，蠕動運動を誘発し，標本の正常な縦径・容積変化を1分間記録した。ついで，浴液をSTX群あるいはTTX含有浴液と交換，2分後に，再び，縦径・容積変化を記録した。浴液には下部より混合ガス（95%

O<sub>2</sub>，5%CO<sub>2</sub>）を常時供給した。

### 5. 摘出腸管の縦径運動記録法

ACh, nicotineの腸管収縮作用に対するSTX群，TTXの影響を検討するために，マグヌス法に従って標本の縦径運動を記録した。

マグヌス装置内の浴槽（10ml容）の温度を37°Cに保持，槽内の栄養液には混合ガス（95%O<sub>2</sub>，5%CO<sub>2</sub>）を常に一定量供給した。

標本的一端をミシン糸で浴槽底部に固定，他端をトランスデューサーに連結し，約60分間標本を放置し，環境に順応させた。その間，15分毎に浴液を交換した。

浴液にAChまたは nicotineを加え，発生する等張性収縮をトランスデューサーを介してペン書きオシログラフ上に記録した。ついで，液を交換し，STX群またはTTXを投与して標本を処理，これについて，再びACh，または nicotineを作用させ，それによる標本の反応を観測した。

### 6. 腸管経壁電気刺激法

摘出腸管電気刺激に対するSTX群，TTXの影響を検討した。マグヌス装置の浴槽内に栄養液を満たし，標本の下端を固定，上端はミシン糸でトランスデューサーに連結した。刺激は腸管内腔に挿入した白金線電極によって行い，リング状白金板不関電極（幅1cm）を腸管周囲に配置した。

浴槽内にSTX群またはTTXを投与し，電気刺激装置により，幅0.5 msec，強度90V，頻度40Hzの矩形波刺激を5秒間腸管に加えた。それによる等張性収縮の経過をトランスデューサーを介して，ペン書きオシログラフ上に記録した。

## 実験結果

### 1. 腸管蠕動運動に対するSTX群及びTTXの影響

摘出腸管について，トレンデレンブルグ法に従い，盲腸側より栄養液を流入させ内圧を加えると，縦走筋及び輪走筋が同時に反射的に収縮し，蠕動運動が発生する。この運動を容積変動と縦径変動とに分けて記録した。

Fig. 1 A及びCは正常な蠕動運動時における容積変動・縦径変動の記録である。両変動とも極めて律動的で大きな振幅を示しており，蠕動運動がいたって安定していることを示唆している。

Fig. 1 Bは，Fig. 1 Aにおけるのと同じ標本について，その浴液をSTX群（1.0 MU/ml）含有浴液と交換，2分後に腸内腔を加圧した時の記録である。また，Fig. 1 DはFig. 1 Cで用いた標本をTTX（1.0 MU/ml）含有浴液で処理し，2分後に蠕動運動を記録

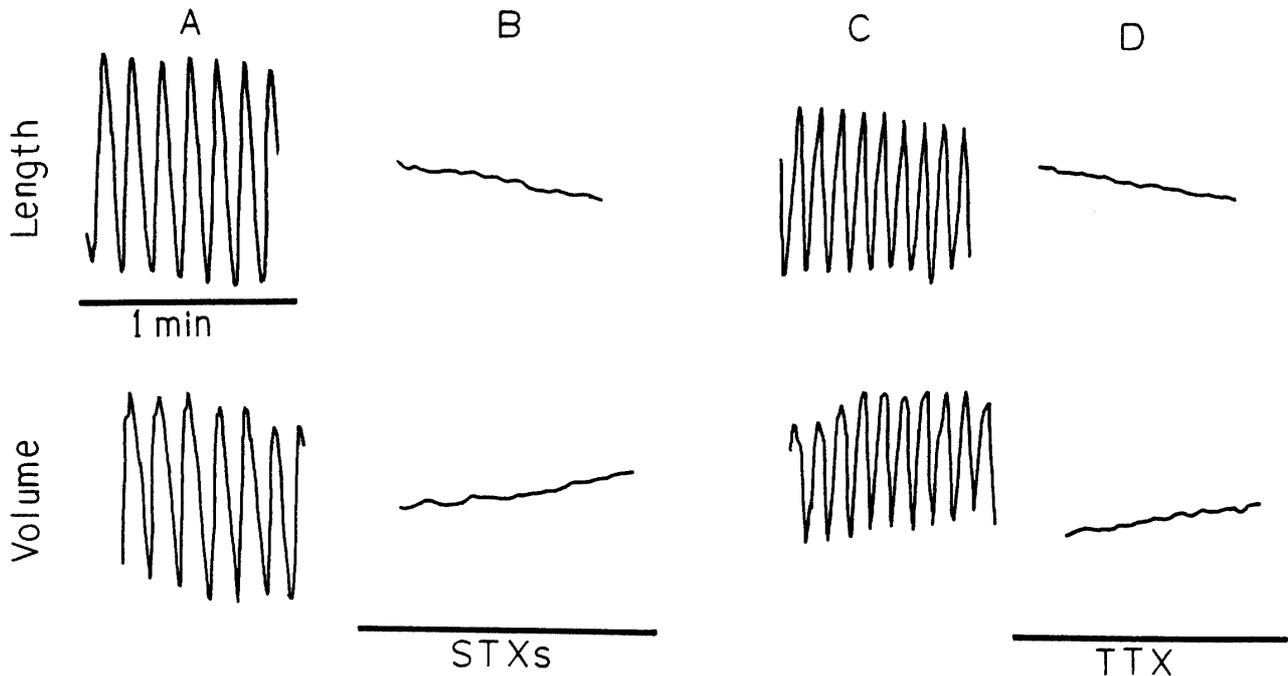


Fig. 1 Effects of saxitoxins (STXs) or tetrodotoxin (TTX) on the peristaltic movement of the excised guinea pig ileum.

The excised ileum preparation was placed in an organ-bath, perfused with the oxygenated Tyrode's solution at temperature of 37.0°C. Peristalsis was induced by increasing the inner pressure of the ileum canal due to infusion of the Tyrode's solution into the preparation. Changes in volume and length of the preparation were simultaneously recorded on a strip-chart. STXs (1.0 MU/ml) or TTX (1.0 MU/ml) were applied to the preparation at the bar marks. A: Control, B: STXs treatment, C: Control, D: TTX treatment.

したものである。

STX群,あるいはTTXで標本を処理すると,蠕動運動は容積変動・縦径変動とも完全に抑制された。

### 2. AChの腸管収縮作用に対するSTX群及びTTXの影響

摘出腸管を浴槽内に懸垂し,その浴液9.0 ml中にACh(終濃度  $1 \times 10^{-7}$  g/ml) 1.0 mlを投与,60秒間腸管にAChを作用させ,発生する収縮反応を記録した。ついで,浴液を3回交換して標本を洗浄し,3分後,再びAChを投与,それによる腸管収縮反応を記録し,これを対照とした。

ついで,浴液をSTX群(1.0 MU/ml)含有浴液と交換,3分後に前記同様にAChを作用させたところ,標本の収縮反応は対照と同等なものを示した(Fig. 2 A)。

Fig. 2 BはTTX(1.0 MU/ml)処理標本について同様な実験を行ったときの記録である。この結果から,STX群処理におけると同様にTTX処理においても,処理前後において収縮反応に差異は認められなかった。

### 3. Nicotineの腸管収縮作用に対するSTX群及びTTXの影響

浴槽内に懸垂した標本について,その浴液9 mlに  $1 \times 10^{-5}$  g/ml nicotine 1.0 mlを投与し,60秒間 nicotineを作用させた。その時発生する収縮反応を記録した後,ただちに浴液を3回交換し,標本を洗浄した。3分後に再度,浴液に nicotineを投与,発生する腸管反応を記録し,これを controlとした。

ついで,浴液をSTX群(1.0 MU/ml)含有浴液と交換し,標本をSTX群処理して,3分後に,前記と同様に nicotineを作用させたが,収縮反応は全く観察さ

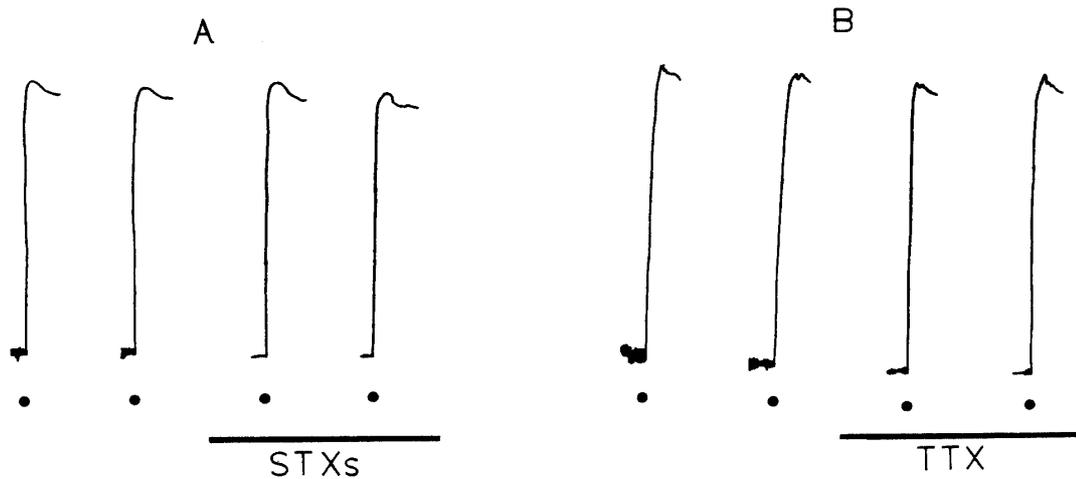


Fig. 2 Effects of STXs (A) or TTX (B) on the contractions of the excised guinea pig ileum induced by acetylcholine (ACh).

Each isotonic contraction of the ileum preparation was induced by applying ACh ( $1 \times 10^{-7}$  g/ml) to the preparation for 60 sec. The isotonic contractions were recorded before and after the treatment of the preparation with STXs (1.0 MU/ml) or TTX (1.0 MU/ml) of 3 min. The dots indicate the addition of ACh to the Tyrode's solution in the organbath. The bar marks represent the treatment of the preparation with STXs or TTX.

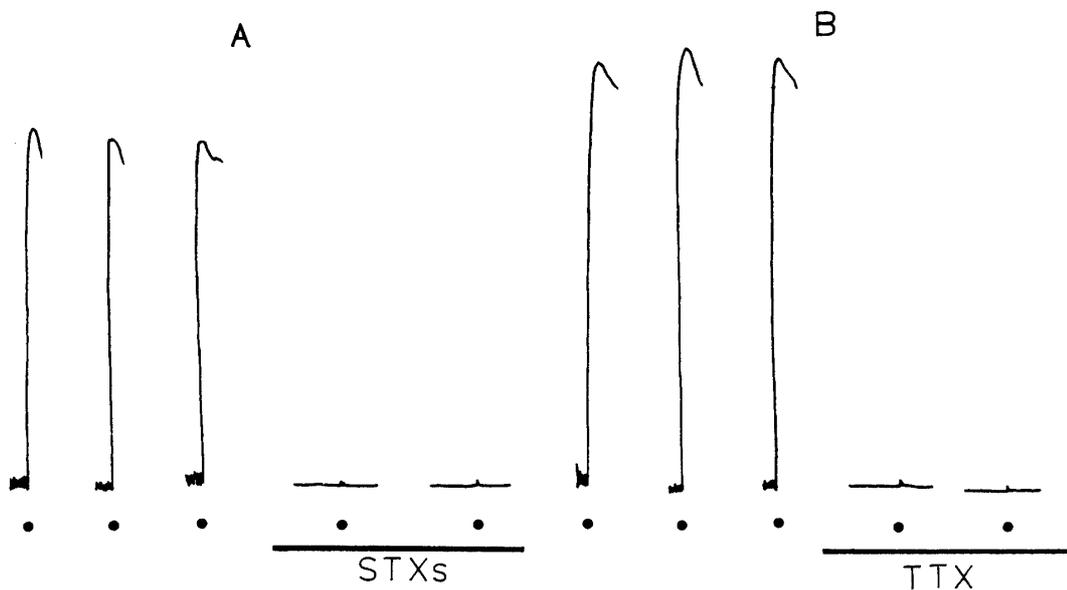


Fig. 3 Effects of STXs (A) or TTX (B) on the contractions of the excised guinea pig ileum induced by nicotine.

Each isotonic contraction of the ileum preparation was induced by applying nicotine ( $1 \times 10^{-5}$  g/ml) to the preparation for 60 sec. The isotonic contractions were recorded before and after the treatment of the preparation with STXs (1.0 MU/ml) or TTX (1.0 MU/ml) for 3 min. The dots indicate the addition of nicotine to the Tyrode's solution in the organ-bath. The bar marks represent the treatment of the preparation with STXs or TTX.

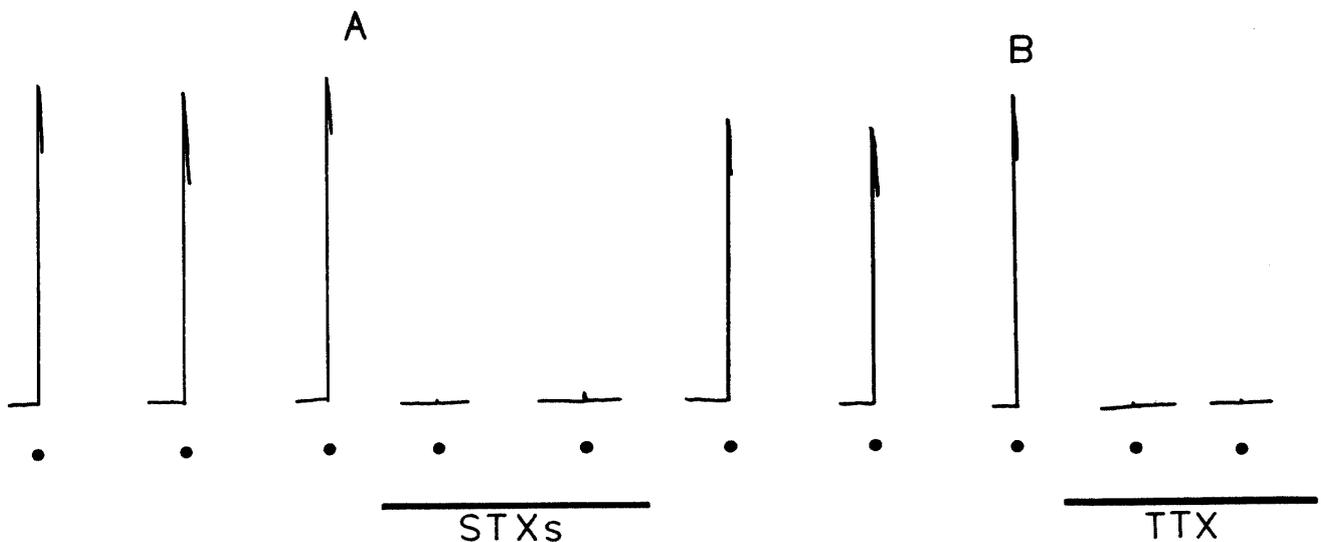


Fig. 4 Effects of STXs (A) or TTX (B) on the contractions of the excised guinea pig ileum in response to transmural electrical stimulation.

The transmural electrical stimulation (90 V in intensity, 0.5 msec in duration and 40 Hz in frequency) was applied to the ileum preparation at the dots. The isotonic contractions were recorded before and after the application of STXs (1.0 MU/ml) or TTX (1.0 MU/ml) to the preparation at the bar marks.

れなかった (Fig. 3 A)。

Fig. 3 Bは、前記と同様の方法で、1.0 MU/ml TTX処理標本について、nicotineに対する腸管反応を記録したものであるが、STX群処理におけると同様に、収縮反応は観察されなかった。

#### 4. 腸管経壁電気刺激に対するSTX群及びTTXの影響

腸管電気刺激法には field 刺激と経壁刺激<sup>13)</sup>の二つの方法がある。ここでは後者の経壁電気刺激法を用い、腸管の収縮反応を記録した (Fig. 4)。

図中の丸印の位置で、電気刺激 (幅0.5msec, 強度90 V, 頻度40Hz) を5秒間連続的に加えた。ついで、3分間標本を休息させた後、再び5秒間の連続刺激を加えた。この操作を数回繰返し、電気刺激に対する正常収縮反応を記録した。ついで、浴液を1.0 MU/ml STX群含有浴液と交換、3分後に刺激を加えたが、腸管の収縮は観察されなかった (Fig. 4 A)。

同様の方法で、1.0 MU/ml TTX処理前後に経壁電気刺激を行い、腸管の収縮反応を記録したが、Fig. 4 Bに見られるようにTTX処理後においても、収縮反応

は観察されなかった。

#### 考 察

腸管壁の内部には、漿膜下神経叢、Auerbach神経叢、Meissner神経叢及び粘膜神経叢の4種の神経叢が壁を構成する各筋層に存在している<sup>10)</sup>。このうち、副交感神経性のAuerbach神経叢は縦走筋と輪状筋には含まれた部分に位置している。その節後線維は、コリン作動性神経として神経叢内に存在し、平滑筋を直接支配している<sup>3)</sup>。

腸管の基本的運動として、蠕動、振子及び分節の3種の型がある。このうち、最も重要な運動が蠕動である。柳谷・大久保<sup>14)</sup>は、蠕動運動の発現に必要な要因は加圧ではなく、それによる腸輪状筋の伸展であると報告している。また、矢ヶ崎ら<sup>15)</sup>は腸壁伸展時にACh遊離の増加を認め、蠕動運動にAChが密接に関与することを推測している。

本実験で、トレンデレンブルグ法にて、発現させた蠕動運動はSTX群、またはTTXによって消失、あるいは著しく抑制された。この結果より、STX群、TTXは腸管壁内在神経叢よりのACh放出を抑制するか、あるいは筋のACh受容体に作用し、蠕動運動を消失させ

ると推察した。

しかしながら、STX群またはTTXで腸管を処理した後にAChを作用させたが、処理前後において収縮反応に差異を認めなかった。このことは、STX群、TTXは共にACh受容体と平滑筋に対して影響をおよぼさないことを示唆するものである。

モルモット回腸標本にnicotineを作用させると、副交感神経節のnicotine受容体が刺激され、節後線維末端よりAChが遊離し腸管が収縮するという<sup>13)</sup>。

本実験で、STX群ないしTTXを腸管に作用させた後、nicotineを投与したが、収縮反応は完全に抑制された。

このことは、これらの両薬物がいずれもnicotine受容体を阻害するか、あるいは神経節細胞とその神経線維に抑制的に作用する可能性を示唆している。

PATON<sup>11)</sup>は腸管に対し、経壁電気刺激を行うと、副交感神経節後線維が脱分極、神経終末よりAChが放出され、これが筋側ACh受容体に作用し、収縮を起こすと述べている。

本実験の経壁電気刺激実験において、STX群、またはTTX処理後に腸管収縮反応を観測しなかった。この実験結果より、両薬物は副交感神経線維の脱分極を抑制すると推察される。

以上の如く、本実験では、スベスベマンジウガニA. *floridus* から抽出したSTX群、ならびにTTXについてモルモット腸管平滑筋の収縮性に対する効果を検討した。

その結果、両薬物はトレンデレンブルグ法により発現する蠕動運動を完全に抑制すること、nicotineによる収縮反応を消失させること、AChによる収縮反応には影響をおよぼさないこと、また、経壁電気刺激による腸管収縮反応を抑制することを知った。

小倉ら<sup>7-9)</sup>は平滑筋に対するTTXの影響を詳細に検討し、TTXは平滑筋の神経要素に由来する反応のみを阻害し、受容体を含む筋要素に関連する反応には影響をおよぼさないと推察している。

本実験における諸成績から、STX群もTTX同様、モルモット腸管に対しては、平滑筋のACh受容体に作用するのではなく、神経節を含む神経要素に対して作用すると推察した。

## 要 約

石垣島川平(沖縄県)で採集したスベスベマンジウガニA. *floridus* より抽出したSTX, neoSTXを含むSTX群及びTTXについて、モルモット回腸標本の

運動に対する影響を比較検討した。

1. トレンデレンブルグ法により発現した腸管蠕動運動はSTX群(1.0 MU/ml)またはTTX(1.0 MU/ml)処理によって消失、あるいは著しく抑制された。

2. ACh(終濃度 $1 \times 10^{-7}$  g/ml)による腸管収縮反応は、STX群(1.0 MU/ml)ないしTTX(1.0 MU/ml)処理前後において差異を認めなかった。

3. Nicotine(終濃度 $1 \times 10^{-5}$  g/ml)による収縮反応は、STX群(1.0 MU/ml)処理によって完全に抑制された。また、TTX(1.0 MU/ml)処理についても、同様の所見が得られた。

4. 経壁電気刺激による腸管の収縮反応は、STX群(1.0 MU/ml)で処理すると完全に抑制された。また、TTX(1.0 MU/ml)も同様の効果を示した。

以上の結果から、STX群の回腸運動抑制作用は、平滑筋及びACh受容体の働きを阻害することによるのではなく、神経節を含む神経要素を抑制することによると推定した。

## 文 献

- 1) 知見憲次, 田場典治, 新谷 助: 神大農研報, 17, 143-147, 1986.
- 2) EVANS, M.H.: *Int. Rev. Neurobiol.*, 15, 83-166, 1972.
- 3) HILL, C.J.: *Phil. Trans R. Soc.*, 215, 355-361, 1972.
- 4) KAO, C.Y.: *Pharmac. Rev.*, 18, 997-1049, 1966
- 5) 厚生省環境衛生局監修: 食品衛生検査指針II, 240-244, 231-240, 日本食品衛生協会, 東京, 1978.
- 6) 野口玉雄: 有毒プランクトン, 88-101, 恒星社厚生閣, 東京, 1982.
- 7) OGURA, Y. and Y. MORI.: *European J. Pharmac.*, 3, 58-67, 1968.
- 8) OGURA, Y., Y. MORI and Y. WATANABE: *J. Pharmac. exp. Ther.*, 154, 456-462, 1966.
- 9) 小倉保己: 生体の科学, 9, 281-287, 1958.
- 10) 大賀 皓: 平滑筋の生理と薬理, 127-132, 南江堂, 東京, 1974.
- 11) PATON, W. D. M., E. S. VIZI and M. A. ZAR: *J. Physiol.*, 215, 819-848, 1971.
- 12) PERRY, W. L. M.: *Pharmacological Experiments on Isolated Preparation*, 80-81, E&S Livingstone Ltd., Edinburgh and

London, 1968.

13) 浦川紀元：平滑筋の薬物反応，269，文永堂，東京，1986.

14) 柳谷岩雄，大久保義夫：日本生理誌，17，77-81，1955.

15) 矢ヶ崎修，武脇 義，柳谷岩雄：日薬理誌，64，36，1968 .