バイ貝 *Babylonia japonica* から単離された Surugatoxin の自律神経節遮断作用

平山 八彦, 杉原 邦夫, 脇川 耕一, 津山 伸吾

杉原 太助, 大隈 晴夫*, 郷木 和昭*

(興人東京研究所)

(昭和48年1月16日受付〔特〕)

バイ貝 *Babylonia japonica* による食中毒が1957年新潟県下で発生し中毒者の5例中3例が死亡し^{1,2)}, 次いで1965年には太平洋岸の静岡県沼津で同様の食中毒が現われ, 患者26例のうち1例の死亡をみた^{3,4)}. これらの中毒症状として, 新潟県では主に胃痛, 嘔吐, 下痢, 麻痺, 四肢の痙攣, 意識障害, 顎関緊急およびチアノーゼなどが見られており, 一方, 静岡県の例では主として視力障害, 瞳孔散大, 渴感, 言語障害, 麻痺, 呼吸困難, 血圧降下, 便秘, 排尿困難などが記載されている. このように両地における中毒症状の間には多少の相違が見られる. しかしながら何れの場合にも, その中毒原因食であるバイ貝の中腸腺 mid gut gland に toxic substance が多いことが報告されている.

さらに, バイ貝による中毒原因物質の化学的検索が進められてきた^{1,4)}が, Hashimoto とその協同作業⁵⁻⁷⁾は, このバイ貝の toxic substance を marine toxin の一つとして系統的な検索を行い, 日本沿岸各地におけるバイ貝の毒性について比較検討し, 特に静岡県沼津産のバイ貝に毒性が強いことを明らかにし, さらにその貝の中腸腺からの toxic substance についての詳細な分離精製を進めた. Gohgi ら (1972, 1973)^{8,11)}は沼津産のバイ貝から ivory shell toxin (IS-toxin) を分離した. また, Kosuge ら (1972)¹²⁾は同じバイ貝から indole および pteridine 骨格を有する新しい toxic substance を単離して surugatoxin と命名したが, これとは別に Gohgi ら (1973)¹¹⁾も同じバイ貝から分離した crude toxic substance 中から独自に surugatoxin を単離し, これを理化学的に追証した.

一方, Hirayama ら (1970, 1972)^{9,10)}は, Hashimoto ら⁵⁾ならびに Shibōta ら^{6,7)}の精製した toxic substance あるいは Gohgi ら⁸⁻¹¹⁾の単離した IS-toxin について薬理学的検索を行い, これらの物質が強力な自律神経節遮断作用を有すること, そしてその作用は交感ならびに副交感神経節の receptor sites に対する特異的な nicotinic blocking action であることを報告した. しかしながら, surugatoxin の薬理学的性質に関しては未だ明らかにされていないのが現況である.

〔そこで著者らは surugatoxin の薬理学的検索を行い, IS-toxin との比較検討を行ったので報告する.〕

実験材料と実験方法

1. Surugatoxin と IS-toxin

本実験に用いた surugatoxin (Kosuge ら, 1972; Gohgi ら, 1973)^{11,12)}は, 沼津産のバイ貝 (Fig. 1) から単離された分子式 $C_{25}H_{26}N_5O_{13}Br$, 分子量 684.4 で, Fig. 2 に示した化学構造に見られるごとく分子中に indole および pteridine 骨格を有する. 理化学的には水に難溶, 有機溶媒に不溶, 無色結晶性物質である.

また, 同じバイ貝から単離された IS-toxin は理化学的に surugatoxin とは異なる物質で, その分子式 $C_{22}H_{36}N_4O_{14}Br$, 分子量約 660 である. 理化学的には水に可溶, 有機溶媒に不溶, 淡黄色結晶性物質である¹¹⁾.

実験に際しては surugatoxin ならびに IS-toxin とともに本研究所の郷木らが単離したものをを用いた. 両 toxin とともに静脈, 動脈内投与時には saline に溶し, また, organ both での実験に際してはそれぞれの栄養液に溶解して用いた.

2. 実験方法

1) behavior の観察: 体重20g前後の雄性マウス (dd 系) とネコ (体重 2.2~2.5 kg, 雌雄) について, 本

* 興人発酵化成技術部

Fig. 1. The Japanese ivory shell, *Babylonia japonica* (measuring in cm).

Surugatoxin

($C_{25}H_{26}N_5O_{13}Br$; m.w.=684.4)

Fig. 2. Chemical structure of surugatoxin.

toxin 諸量の腹腔内 (i.p.), 静脈内 (i.v.), 経口 (p.o.) および皮下 (s.c.) 投与後の行動変化を観察した。

2) マウス瞳孔の観察: 本項の検索は *Gyermek* (1959)¹³⁾ の記載に準じて行い, dd 系雄性マウス (体重 20 ± 2 g) の 9~10 匹を 1 群として, IS-toxin あるいは surugatoxin の i.p. 投与群と, carbachol (CCh)

1.5 mg/kg s.c. 前処置後に両 toxin をそれぞれ i.p. 投与した場合の CCh との拮抗作用の有無を顕微鏡下で測定した瞳孔径を指標として, dose-response curve を求め比較検討した。さらにこれら toxin と同様な検索を scopolamine, atropine, あるいは tetraethylammonium, hexamethonium および mecamlamine などについても行い, これら薬物と surugatoxin ならびに IS-toxin の作用との比較検討を行った。

3) 腸壁内在神経叢に対する作用: 本項の検索には Wistar 系雄性ラット (体重 150 g 前後) および雄性モルモット (体重 200 g 前後) の摘出廻腸を用い, *Magnus* 法により腸管の自発運動あるいは nicotine による収縮運動を isotonic transducer (Shin-ei Denki) と strain amplifier (三栄測器, 6L4 型) を介してペンレコーダー (三栄測器 Rectigraph 8-S 型) に誘導記録し, surugatoxin の諸濃度下における nicotine, DMPP あるいは McN-A-343 などとの作用態度について検索し, 併せて hexamethonium (C_6) についても同様の検索を行い, 本 toxin の作用と比較観察した。

4) 平滑筋に対する作用の有無: *Bülbring* (1954)¹³⁾ 法に準じて, モルモット盲腸縦走紐 *taenia coli* を用い, その収縮運動を force-displacement transducer (日本光電, Model-SBIT) と strain amplifier (三栄測器, 6L4 型) を介してペンレコーダーに誘導記録し, これに対する本 toxin 濃度下での影響と, acetylcholine (ACh) による収縮反応に対する本 toxin の影響の有無につき観察した。

5) 神経接合部に対する作用の有無: 本項の検索は次の諸標本を用いて行った。

a) 麻酔ネコとウサギの神経筋標本: urethane 麻酔ネコ (体重 2.5 kg 前後, 雄性)。およびウサギ (体重 2.3~2.5 kg, 雄性) のおのおの 2~3 例を用い, 人工呼吸下でそれぞれ N. ischiadicus の電氣的刺激 (1 V, 0.5 msec, 1 cps) による M. gastrocnemius の収縮反応を F-D-transducer と strain amplifier を介してペンレコーダーに誘導記録し, これに対する toxin 諸量 i.v. 投与時の影響の有無につき, d-tubocurarine および succinylcholine i.v. 投与時の作用との比較検索を行った。

b) カエル摘出神経筋標本に対する作用の有無: 常法によるカエル (*Rana nigromaculata*) の神経筋標本

をリンゲル液の organ bath にセットし, N. ischidicus の電氣的刺激による M. gastrocnemius の収縮反応を 1) と同様に F-D-transducer を介してペンレコーダーに誘導記録し, これに対する本 toxin 諸濃度下での影響の有無を d-tubocurarine ならびに succinylcholine の作用と比較観察した.

c) モルモットの摘出横隔膜神経標本: 雄性モルモット (体重230~250 g) から摘出した横隔膜神経標本につき, *Bülbring* (1946)¹⁴⁾ の記載に準じて 95% O₂, 5% CO₂ 飽和 *Krebs* 液の organ bath にセットし, N. phrenicus の電氣的刺激 (1 V, 0.5 msec, 0.2 cps) による横隔膜筋収縮反応を 1) と同様に F-D-transducer と amplifier を介してペンレコーダーに誘導記録し, これに対する本 toxin 諸濃度下での影響の有無を d-tubocurarine の作用と比較観察した.

6) ネコ上頸部交感神経節一瞬膜標本に対する作用: 本項の検索には体重 2.4~3.2 kg の雄性ネコ25匹を用い, urethane 麻酔, 除脳 (encephale isolé; *Bremer*, 1936), 人工呼吸下で東京大学脳研究所型脳定位固定装置に背位に固定し, *Trendelenburg* (1955, 1956)^{16,17)} あるいはその変法 (*Murayama & Unna*, 1963)¹⁸⁾ の記載に準じて行い, Fig. 3 に示したように 1 側の上頸部交感神経節を露出し, 温 (37°C) mineral oil で被覆して, 次の諸項につき検索した.

Fig. 3. Diagram of the method for the nictitating membrane-superior cervical ganglion preparation of the cat.

Note; Pre G. Fibre: Preganglionic nerve, Gang.: Superior cervical ganglion, N.M.: Nictitating membrane, Post G. Fibre: Postganglionic nerve, SE₁, SE₂: Position of stimulating electrodes, RE₁, RE₂: Position of recording electrodes for the postganglionic external potential, to the N.M.: Drug injections to the nictitating membrane (*Trendelenburg* method, 1954, 1956), to the G.: Drug injections to the superior cervical ganglion (*Trendelenburg* method, 1954, 1956).

a) 節前または節後線維の電氣的刺激による瞬膜収縮反応: 中枢端を切離した節前線維と節後線維にそれぞれ銀塩化銀双極刺激電極を装着し (Fig. 3 SE₁, SE₂), 節前または節後線維の電氣的刺激 (0.5~5 V, 0.5 msec, 20 cps) による瞬膜収縮反応を force-displacement transducer (日本光電, Model-SBIT) と strain amplifier を介してペンレコーダーに誘導記録し, これに対する本 toxin 投与 (to the ganglion) 下での影響を観察した.

b) postganglionic external potential: 節前線維の電氣的刺激 (3 V, 0.1 msec) による postganglionic external potential を銀塩化銀双極誘導電極 (Fig. 3 RE₂) を介してオシロスコープ (三栄測器, UB-204) に誘導して連続写真撮影法で記録し, この potential に対する本 toxin 諸量投与 (to the ganglion) 下での影

響を比較検索した。

c) DMPP, candicine, noradrenaline ならびに McN-A-343 による瞬膜収縮反応に対する作用：薬物はすべて saline に溶解し, *Trendelenburg* (1955, 1956)^{16, 17)} の記載に準じ, toxin と薬物はそれぞれ全量 0.2 ml とし, lingual artery に挿入した polyethylene canula を介して行い, 上頸部交感神経節への局部注入 (to the ganglion) には Fig. 3 (1) と (3) の external carotid artery 部を clamp し, また, 瞬膜への局部注入には (to the nictitating membrane) には Fig. 3 (2) 部の artery を clamp して, toxin と noradrenaline を注入した。さらに静脈内投与は cephalic vein に挿入した polyethylene canula を介して行った (i.v.)。

d) また, これら瞬膜反応と併せて血圧 (femoral artery) を圧 transducer (Toyo-MEAS, LPU 0.5) を介してペンレコーダーに同時記録し, これに対する toxin ならびに薬物反応を比較観察した。

3. 薬物

薬物は acetylcholine chloride (ACh, 東京化成), carbachol, (CCh, K & K Lab.), atropine sulfate (E. Merck), candicine**, 4-(m-chlorophenylcarbomyloxy)-2-butynyltrimethylammonium chloride (McN-A-343, McNeil Lab.), 1, 1-dimethyl-4-phenylpiperazinium iodide (DMPP, K & K Lab.), tetraethylammonium chloride (TEA, K & K Lab.), hexamethonium bromide (C₆, K & K Lab.), 1, 2, 2, 6, 6-pentamethylpiperidine bitartrate (Pempidine, エーザイ), 3-methylamino-isocamphane (Mecamylamine, 明治製菓) および nicotine bitartate (半井化学) を用い, i.v. と to the ganglion 投与ではすべて saline に溶して投与し, organ bath での検索にはそれぞれ使用栄養液に溶解して用いた。

実 験 結 果

1. Behavior におよぼす影響

surugatoxin は 0.5~1.0 mg/kg i.p., 10~20 mg/kg p.o., 0.2~0.4 mg/kg i.v. および 20 mg/kg s.c. でマウスに対し歩行異常と自発運動抑制, 瞳孔散大作用を発現し, 5~10 mg/kg i.p. で散瞳作用は著明となり, さらに 20~40 mg/kg i.p. では呼吸抑制と tremor を催起する。また, ネコにおいて 0.15~0.2 mg/kg i.v. で自発運動抑制と瞳孔散大および瞬膜弛緩作用を現わす (Fig. 4)。

Fig. 4. Effects of surugatoxin on the behavior of the cat.

Note that the toxin, 100 μ g/kg i.v., caused a drowsiness, mydriasis and relaxation of the nictitating membrane in an unanesthetized cat 20 min after injection (cat 2.5 kg).

** candicine は東京大学農学部浦川教授よりサンプルの提供をうけた。

2. マウス瞳孔に対する作用の検索

本 toxin はマウスとネコに対し著明な瞳孔散大作用を惹起することはすでに述べたとおりであるが、このマウスの瞳孔径を指標とした Gyermek (1957)¹³⁾の方法に準じて、本 toxin の作用につき検索した。その結果、Fig. 5 に示したごとく surugatoxin 4 mg/kg i.p. 群で約 250 %, 8 mg/kg i.p. 群では瞳孔径は 200 μ 以上となり投与前の値に対比し 500 %に増大し、dose dependent に散瞳作用は著明となる。これに比較し IS-toxin では、0.2 mg/kg i.p. 群で 200 %, 0.4 mg/kg i.p. 群で 600 %と強い散瞳作用が現われた。一方、TEA は 40 mg/kg i.p. で 450 %, C_6 は 20 mg/kg で 350 %, pempidine 10 mg/kg i.p. で 450 %, さらに mecamlamine 2.5 mg/kg i.p. で 400 %とおおの散瞳作用が認められた。また、CCh 1.5 mg/kg s.c. 前処置群においては、surugatoxin および IS-toxin あるいは TEA, C_6 , pempidine, mecamlamine などの ganglion blocker では何れも散瞳作用は著明に抑制された。したがって、surugatoxin や IS-toxin 単独投与群における散瞳作用は、dose dependent に regression line は急な立上り勾配を示すのに対し、CCh 前処置後の両 toxin 投与群では共に regression line は著しく平坦となる。しかしながら、atropine あるいは scopolamine i.p. 単独投与群と CCh 前処置後の両薬物投与群における散瞳作用との間には regression line の勾配に有意差は認め難い (Fig. 5)。この点、IS-toxin と surugatoxin は atropine や scopolamine とは異り、むしろ TEA, C_6 , pempidine あるいは mecamlamine などと類似した CCh との拮抗作用が認められる。

Fig. 5. Regression line of the mydriatic effect of surugatoxin (S-toxin) and IS-toxin on mice before (open symbols) and after carbachol (crossed symbols). Dose plotted logarithmically (mg/kg i.p.).

3. 小腸壁神経叢に対する作用の検索

1) ラット摘出回腸: surugatoxin は 1×10^{-6} g/ml で自発運動に対し著明な作用なく、nicotine 1×10^{-5} g/ml あるいは DMPP 2×10^{-5} g/ml による前抑制とそれに続く運動亢進の何れの作用も抑制乃至は阻止する。しかしながら、McN-A-343 は 5×10^{-5} g/ml による収縮運動に対しては本 toxin は著明な影響をおよぼさない。これに比較し C_6 では 4×10^{-4} g/ml で nicotine による運動の前抑制と亢進の何れの作用も抑制する (Fig. 6)。

2) モルモット摘出回腸: 本 toxin は $1 \times 10^{-6} \sim 10^{-5}$ g/ml で腸の自発運動に認むべき作用なく、nicotine 1×10^{-5} g/ml による収縮反応を抑制乃至は阻止するが、本 toxin 1×10^{-8} g/ml 以下の濃度では著明な作用は認め難い (Fig. 7)。また、本 toxin は同濃度で DMPP による腸の収縮反応を抑制乃至は阻止するが、McN-A-343

Fig. 6. The inhibitory effects of surugatoxin (S-toxin) and hexamethonium on responses of the isolated rat ileum to nicotine.

Note that S-toxin is 40 times more potent C_6 regarding inhibitory effects on responses to nicotine.

Fig. 7. The inhibitory effects of surugatoxin (S-toxin) on contractile responses of the isolated guinea-pig ileum to nicotine.

Note that the toxin ($1 \times 10^{-7} \sim 10^{-5}$ g/ml) had no effect on the spontaneous movements, although responses to nicotine were abolished at the same concentration of the toxin.

による収縮反応に対しては認むべき作用は発現しない。

4. モルモットの *taenia coli* に対する作用の有無

本 toxin $1 \times 10^{-7} \sim 10^{-6}$ g/ml の濃度で平滑筋に対し収縮あるいは弛緩作用なく、また、ACh 1×10^{-7} g/ml による contractile response にも認むべき影響をおよぼさない (Fig. 8).

Fig. 8. Effects of surugatoxin (S-toxin) on the contractile response of guinea-pig taenia coli preparation to acetylcholine (ACh).

Note that the toxin (1×10^{-5} g/ml) has no effect on the responses to ACh.

Fig. 9. Effects of surugatoxin (S-toxin) on twitch responses of the gastrocnemius muscle (M. gast.) to electrical stimulation of the ischiadicus nerve in an anesthetized cat.

Note that the twitch responses to S-toxin ($200 \mu\text{g/kg}$ i.v.) are not affected (upper row), although the responses to succinylcholine (2 mg/kg i.v.) are abolished (lower row). The depressor responses of arterial blood pressure caused by S-toxin are shown (upper row), while by succinylcholine, the pressor responses are shown (lower row). Cat 2.7 kg.

5. 神経筋接合部に対する作用の有無

1) 麻酔ネコの神経筋標本: 本 toxin は血圧降下あるいは自律神経節遮断作用を発現する dose (0.1 mg/kg i.v.) の倍量すなわち 0.2 mg/kg i.v. で, 著明な血圧降下作用を発現するが, N. ischiadicus の電気刺激による M. gastrocnemius の収縮反応に対しては認むべき影響をおよぼさない。しかしながら, 同一標本において succinylcholine 2 mg/kg i.v. では血圧を上昇させ, 神経の電気刺激による筋収縮反応を抑制乃至は阻止する (Fig. 9)。

2) カエル摘出神経筋標本: toxin は $1 \times 10^{-6} \sim 10^{-5}$ g/ml で, N. ischiadicus の電気刺激による M. gastrocnemius の収縮反応に対し認むべき作用はない。同一標本において, succinylcholine は 2×10^{-6} g/ml でその筋収縮運動を阻止する。

3) ラット横隔膜神経標本: Fig. 10 に示したように, 本 toxin は $1 \times 10^{-6} \sim 10^{-5}$ g/ml で N. phrenicus の電気刺激による筋収縮反応に対し認むべき作用を現わさないが, d-tubocurarine 2×10^{-6} g/ml あるいは succinylcholine 3×10^{-6} g/ml の濃度で神経刺激による筋収縮反応を抑制乃至は阻止する (Fig. 10)。

6. ネコ上頸部交感神経節—瞬膜標本に対する作用

本項の検索結果は次のごとくである。

1) Fig. 11 に示したように, 上頸部交感神経節前線維の電気刺激による瞬膜収縮反応に対し, 本 toxin は

Fig. 10. The effects of surugatoxin (S-toxin) on the twitch responses of the isolated guinea-pig diaphragm muscle to electrical stimulation of the phrenic nerve.

Note that the twitch responses to S-toxin ($1 \times 10^{-6} \sim 10^{-5}$ g/ml) are not affected, although the responses to d-tubocurarine (2×10^{-6} g/ml) and succinylcholine (2×10^{-6} g/ml) are abolished.

Fig. 11. The inhibitory effects of surugatoxin (S-toxin) on contractile responses of the nictitating membrane (N.M.) produced by submaximal pre- and post-ganglionic stimulations in the anesthetized decapitated cat.

Note that the toxin (S-toxin 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$) decreases or abolishes contractile responses to pre-ganglionic stimulation, but does not alter response to post-ganglionic stimulation. Depressor response of the arterial blood pressure (B.P.) caused by S-toxin. Electrical stimulation for 3 sec at a rate of 20 cps. Cat 2.8 kg. The toxin were injected into the ganglion.

Fig. 12. Inhibitory effects of surugatoxin (S-toxin) on the post-ganglionic external potentials produced by preganglionic stimulation in the superior cervical sympathetic nerve of the cat.

Dose : moments of stimulation of preganglionic fibres with a single rectangular impulse of supramaximal strength, each 0.1 msec in length. (A), before injection of S-toxin (at 11:05); (B), 5 min after the injection of S-toxin 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ into the lingual artery (to the ganglion) (at 11:15); (C), 5 min after the second injection of S-toxin 40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ to the ganglion (at 13:30); (D), 5 min after injection of S-toxin 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ to the ganglion (at 18:30). This experiment was done on an anesthetized decapitated cat (δ 3.1 kg).

20~30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (to the ganglion) で軽度の抑制が、さらに 40~50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ では著明な血圧降下作用を発現し、また節前線維の電気刺激による瞬膜収縮反応を著明に抑制するか乃至は阻止する。しかしながら、節後線維の電気刺激による瞬膜収縮反応には認むべき影響をおよぼさない (Fig. 11).

2) 上頸部交感神経節前線維の電気刺激による節後線維の external potential に対し, 本 toxin は $20 \mu\text{g}/\text{kg}$ (to the ganglion) で軽度の抑制が見られ, $40 \mu\text{g}/\text{kg}$ では latency の延長と voltage の減少が現われ, $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ ではその external potential は著明に抑制されるか乃至は阻止される (Fig. 12).

3) DMPP $5 \mu\text{g}/\text{kg}$ (to the ganglion) による瞬膜収縮と血圧上昇作用に対し, 本 toxin は $40 \sim 50 \mu\text{g}/\text{kg}$ (to the ganglion) で抑制乃至は阻止作用を現わすが, その作用は toxin 投与後 30m 前後持続し, その後徐々に回復する (Fig. 13).

Fig. 13. Inhibitory effects of surugatoxin on contractile responses of nictitating membrane and the pressor responses of blood pressure to DMPP in an anesthetized decapitated cat.

Note that the toxin (S-toxin, $50 \mu\text{g}/\text{kg}$) reduces or eliminates responses of the contractions to DMPP. Depressor responses of blood pressure (B.P.) are caused by S-toxin. Cat δ 3.2 kg. All injections were given into the ganglion.

4) candicine $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ (to the ganglion) による瞬膜収縮と血圧上昇作用に対し, 本 toxin $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ (to the ganglion) で, 血圧上昇作用を抑制し, 瞬膜収縮反応を抑制乃至は阻止する (Fig. 14).

5) 本 toxin $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ (to the nictitating membrane) で, 節後線維の瞬膜収縮作用に著明な影響なく, また, noradrenaline $3 \mu\text{g}/\text{kg}$ (to the nictitating membrane) による瞬膜収縮と血圧上昇作用に対し, 本 toxin $50 \mu\text{g}/\text{kg}$ (to the nictitating membrane) はで瞬膜収縮反応には認むべき作用は発現しないが, 血圧上昇作用には抑制的に作用する (Fig. 15).

6) McN-A-343 の $5 \mu\text{g}/\text{kg}$ (to the ganglion) による瞬膜収縮反応に対し, 本 toxin は $40 \sim 50 \mu\text{g}/\text{kg}$

Fig. 14. Inhibitory effects of surugatoxin on contractile responses of the nictitating membrane and the pressor responses of blood pressure to candicine in an anesthetized decapitate cat.

Note that the toxin (S-toxin, $50 \mu\text{g}/\text{kg}$) reduces or eliminates responses of the contractions to candicine (Cand, $25 \mu\text{g}/\text{kg}$). Depressor responses of blood pressure (B.P.) are induced by S-toxin. Cat δ 3.1 kg. All injection were given into the ganglion.

Fig. 15. Effects of surugatoxin on contractile responses of the nictitating membrane to norepinephrine and post-ganglionic stimulation in an anesthetized decapitated cat.

Note that the toxin (S-toxin, 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$) has almost no effect on the contractile responses to norepinephrine (3 $\mu\text{g}/\text{kg}$) and to post-ganglionic stimulation in an anesthetized decapitated cat. Electrical stimulation for 3 sec at rate of 20 cps. Cat δ 2.6 kg. All injections were given into the nictitating membrane (to the N.M.).

Fig. 16. Effects of surugatoxin on contractile responses of the nictitating membrane to McN-A-343 in an anesthetized decapitated cat.

Note that the toxin (S-toxin, 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$) hardly affected the contractile responses to McN-A-343, although the toxin reduced or eliminated the contractile responses to DMPP (5 $\mu\text{g}/\text{kg}$) and to submaximal pre-ganglionic stimulation. Electrical stimulation are given for 3 sec at a rate of 20 cps. Cat δ 3 kg. All injections were given into the ganglion.

(to the ganglion) で認むべき影響はないが、同一標本で節前線維の電氣的刺激によるあるいは DMPP (to the ganglion) による瞬膜収縮作用は抑制乃至は阻止される (Fig. 16)。また、この McN-A-343 による瞬膜収縮反応は atropine 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (to the ganglion) 前処置で抑制乃至は阻止される。

7) さらに同様の標本において、C₆ は 150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (to the ganglion) で節前線維の電氣刺激による瞬膜収縮作用を抑制乃至は阻止する。また、C₆ は同 dose で DMPP (5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, to the ganglion) による瞬膜収縮反応を抑制乃至は阻止するが、McN-A-343 (5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, to the ganglion) による瞬膜収縮作用には認むべき影響をおよぼさない。

考 察

すでに述べたように、surugatoxin は p.o., i.p., i.v. あるいは s.c. の何れの投与法においても、マウスに対し自発運動抑制と歩行異常、瞳孔散大作用を惹起し、さらに多量では呼吸抑制と tremor を催起する。一方、ネコに対しては 2~4 mg/kg i.v. で自発運動抑制と瞳孔散大あるいは瞬膜弛緩作用を催起する。これらの surugatoxin による行動変化は、静岡県沼津産のバイ貝またはその抽出物の動物試験成績とも類似するものがあり⁴⁾、さらに、新潟県産の有毒性バイ貝の試験結果とも一部共通する所見^{1,2)} であるが、それらの報告中には瞬膜弛緩作用については明確に記載していない。しかしながら、toxic substance 投与後のネコの写真 (附図)¹⁾からは、

明らかに瞬膜弛緩作用を現わしていることが窺知され、この点、著者らの surugatoxin の検索成績と類似するものがあるが、残念ながら、著者らは新潟産の有毒性バイ貝からの toxic substance の入手ができないため、これと surugatoxin との薬理作用の比較検討ができない。

上述のごとき surugatoxin による動物の行動変化のうち、特に注目されるのは、瞳孔散大作用とネコの瞬膜弛緩作用である。このうち、マウスの瞳孔については、Hashimoto ら (1967)⁵⁾ は Purewka 法 (1932)¹⁹⁾ 法によりバイ貝由来の toxic substance の Bioassay を試みており、一方、Kosuge ら (1972)¹²⁾ はこの surugatoxin のマウスに対する散瞳作用から、薬理学的には atropine like action を有するのではないかと推定をしている。しかしながら、Purewka 法¹⁹⁾ は単にマウスの瞳孔径を marker としているために、詳細な薬理作用の推定は困難である。この点、Gyermek 法 (1959)¹³⁾ は ganglion blocking action と cholinolytic action との区別ができるとされており、本 toxin の薬理作用の検索には有力な方法の 1 つと考えられる。そこで著者らはこの Gyermek 法を用いて、本 toxin のマウス瞳孔に対する作用態度について検索したところ、surugatoxin は TEA, C₆, pempidine あるいは mecamlamine などと同様に CCh との拮抗作用を発現するが、atropine や scopolamine には CCh との拮抗作用は認められない。したがって、本 toxin のマウス瞳孔散大作用は、atropine のごとき cholinolytic action に由るものではなく、むしろ C₆ などの自律神経節遮断薬あるいは IS-toxin (Hirayama ら, 1970, 1972)^{8,9)} に見られるような ciliary ganglion の遮断作用に基づくものと解される。これらのことから、surugatoxin は神経節遮断作用を保有するものと推定される。

次に、surugatoxin の神経節以外の末梢部に対する作用の有無につき検索した結果、麻酔ネコの神経筋標本 (*in situ*) あるいはカエル摘出神経筋標本ならびにモルモット摘出横隔膜神経標本などの何れの神経筋接合部あるいは筋に対しても認むべき作用は発現しない。また、モルモットの taenia coli 標本に対しても、本 toxin は単独で或は ACh による contractile response に対しても認むべき影響をおよぼさない。さらに本 toxin はネコの上頸部交感神経—瞬膜標本における検索で、瞬膜方向に局部注入 (to the nictitating membrane) した場合にも瞬膜に何らの影響なく、しかも noradrenaline (to the nictitating membrane) による瞬膜収縮作用に対しても認むべき影響をおよぼさない。これらのことから、本 toxin は神経節以外の末梢神経、神経筋接合部ならびに筋に対しては作用しないものと考えられる。

ラット摘出小腸標本の検索において、nicotinic ganglion blocker である C₆ は 4×10^{-4} g/ml で、また surugatoxin は $1 \times 10^{-6} \sim 10^{-5}$ g/ml の濃度で nicotine²⁶⁾ による腸運動の前抑制とそれに続く亢進の何れも抑制乃至は阻止する。また、モルモットの摘出小腸において、nicotine あるいはそれと同様の nicotinic ganglion stimulant である DMPP^{20,21)} 存在下で見られる収縮反応は、本 toxin 1×10^{-6} g/ml 前処置で抑制乃至は阻止される。しかしながら、muscarinic ganglion stimulant である McN-A-343^{22,27)} による腸収縮反応に対しては、本 toxin は認むべき作用を発現しない。なお、この surugatoxin 存在下で見られる McN-A-343 による腸収縮反応は atropine により抑制乃至は阻止される。これらの事実は、surugatoxin が腸壁内在神経叢 inner plexus に対し nicotinic ganglion blocker としての作用を有することを示唆しており、しかもその力価は C₆ よりも強力であると考えられる。

さらに、ネコ上頸部交感神経—瞬膜標本における検索で、本 surugatoxin は $40 \sim 50 \mu\text{g/kg}$ (to the ganglion) あるいは $150 \mu\text{g/kg}$ i.v. で、節後線維の電気刺激あるいは上述のごとき noradrenaline (to the nictitating membrane) の瞬膜収縮作用には認むべき作用をおよぼさない。しかも、その神経節遮断作用は本 toxin 投与 (to the ganglion) 下で nicotinic ganglion stimulant である DMPP^{20,21)} あるいは candicine^{23,24)} 投与 (to the ganglion) による瞬膜収縮作用を抑制乃至は阻止するが、McN-A-343²²⁾ (to the ganglion) による瞬膜収縮作用には認むべき影響をおよぼさない。これらの事実から、本 toxin は交感神経節においても、小腸壁の inner plexus におけると同様に receptor sites に対する specific nicotinic blocker であるものと考えられる。

一方、本 surugatoxin ならびに IS-toxin 等の研究の発端となったバイ貝の食中毒、ことに静岡県沼津のヒトにおける中毒例に、瞳孔散大、視力障害、消化管運動障害、血圧降下、口渇、呼吸困難、麻痺等が見られている^{3,4)} が、これらの症状は自律神経遮断薬の臨床応用時にしばしばみられる所見 (坂本, 1959)²⁵⁾ である。さら

にバイ貝の食中毒患者に現われた排尿困難等の症状についても、本 surugatoxin (Hirayama ら、未発表) ならびに IS-toxin (Hirayama ら、1972; Taira ら、1972)^{9,10)} が交感神経節のみならず、副交感神経節に対しても specific nicotinic blocking action を発現することから、本 toxin ならびに IS-toxin 等の膀胱運動支配神経節に対する遮断作用に基く泌尿器系の運動障害によるものと考えられる。これらのことから、沼津産のバイ貝による食中毒の原因としては、貝の産生した IS-toxin ならびに surugatoxin 等の強力な自律神経節遮断物質に基因するとの解釈も可能であって、この点、本 surugatoxin が自律神経節に対し specific ganglionic blocking action を保有するとの著者らの薬理学的検索成績をある程度傍証するものと思われされる。

以上要するに surugatoxin は、特異的な自律神経遮断作用を有し、その作用は神経節の receptor sites に対する specific nicotinic inhibitor であるものと考えられる。しかもその力価はマウス瞳孔を指標とした Gyermek 法 (1959) によれば、TEA の約12倍、C₆ の約6倍、pempidine の約1.5倍強力であるが、mecamylamine よりも弱く (約1/2)、さらに IS-toxin と比較するとその力価は約1/30である。しかしながら、surugatoxin の自律神経遮断作用は C₆ の薬理作用と極めて類似しているものと思われされる。

結 論

バイ貝 *Babylonia japonica* から単離された surugatoxin の薬理学的検索を行い、併せて同じバイ貝から分離した IS-toxin の薬理作用との比較検討を行った。

1. surugatoxin はマウスに対し p.o., i.p., s.c., i.v. の何れの投与法においても、low dose で歩行異常、自発運動抑制あるいは瞳孔散大作用を起し、high dose では呼吸抑制あるいは tremor 等を惹起する。また本 toxin はネコに対し自発運動抑制と瞳孔散大あるいは瞬膜弛緩作用を催起する。

2. マウスの瞳孔を指標とした Gyermek 法 (1959) での検索において、本 toxin は atropine や scopolamine とは異り、むしろ TEA, C₆, pempidine あるいは mecamylamine 等の自律神経節遮断薬と類似した CCh との拮抗作用を発現する。

3. 諸種の神経筋ならびに平滑筋標本における検索で、本 toxin は神経筋接合部ならびに骨格筋あるいは平滑筋に対し認むべき作用を発現しない。

4. モルモットおよびラット摘出小腸標本における検索で、本 toxin は C₆ と同様に nicotine あるいは DMPP 存在下で惹起される モルモット小腸の収縮あるいはラット小腸の前抑制とそれに続く収縮の何れの反応も抑制乃至は阻止する。しかもその作用は C₆ よりも surugatoxin が強力である。しかしながら、本 toxin は McN-A-343 によるモルモット小腸の収縮反応に対しては認むべき影響をおよぼさない。したがって本 toxin は IS-toxin と同様に腸壁神経叢 inner plexus に対し nicotinic ganglionic blocker としての作用を保有するものと考えられる。

5. ネコ上頸部交感神経—瞬膜標本における検索で、本 toxin は 40~50 µg/kg (to the ganglion) あるいは 150 µg/kg (i.v.) で節前線維の電気刺激による瞬膜収縮反応ならびに postganglionic external potential に対し抑制乃至は阻止作用を発現するが、節後線維の電気刺激による瞬膜収縮反応に対しては認むべき作用を発現しない。また、本 toxin は to the nictitating membrane 投与で、noradrenaline (to the nictitating membrane) による瞬膜収縮作用に対し認むべき影響をおよぼさないが、血圧上昇作用に対しては抑制的に作用する。

6. 本 toxin (to the ganglion) は、DMPP あるいは candicine による瞬膜収縮作用を抑制乃至は阻止するが、McN-A-343 (to the ganglion) による瞬膜収縮反応に対しては認むべき影響をおよぼさない。これらのことから、本 surugatoxin は交感神経節に対しても IS-toxin (Hirayama et al. 1972) と同様に receptor sites に対する specific nicotinic blocker であるものと考えられる。

7. 本 toxin の神経節遮断作用の力価は、マウス瞳孔を指標とした Gyermek 法 (1959) によれば、TEA の約12倍、C₆ の約6倍、pempidine の約1.5倍の強さであるが、mecamylamine よりも弱く (約1/2)、さらに IS-toxin と比較すると本 toxin の力価は約1/30である。

8. 以上の実験結果から、本 surugatoxin は特異的な自律神経遮断作用を有し、その作用は神経節の rece-

ptor sites に対する specific nicotinic blocker であると考えられる。しかもその力価は C_6 よりも強いが, mecamylamine よりやや弱く, IS-toxin の力価の約1/30である。しかしながら, surugatoxin の自律神経節遮断作用は C_6 の薬理作用と極めて類似しているものと思われる。

謝 辞

稿を終るにのぞみ, Japanese ivory shell 由来の toxin に関する研究の機会を与えて戴いた東京大学農学部 浦川紀元教授, 貴重なサンプルを提供して下さった東京大学農学部 橋本芳郎教授ならびに NcM-A-343 を提供して下さった McNeil Laboratory Inc. の Dr. M. F. Ralston に深甚なる謝意を表する。

また, 本研究を進めるに当り, 御助言を賜った本研究所の中村徳郎所長に厚く御礼を申し上げるとともに終始実験に御協力いただいた岩村美千子嬢と足田重太郎君に感謝する。

文 献

- 1) 関口忠吉, 横山政徳, 西野栄作, 末谷武士, 新保政実: 新潟衛研業報, 第59輯, 1 (1960).
- 2) 町田正平: 食衛誌, 6, 87 (1965).
- 3) 静岡県衛生部公衆衛生課: 第6回食品衛生獣医務研究発表会資料 (1966).
- 4) 静岡県衛生部公衆衛生課: 食品衛生研究, 16, 982 (1966).
- 5) Hashimoto, Y., Miyasawa, K., Kamiya, H. and Shibōta, M.: Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 33, 661 (1967).
- 6) Shibōta, M. and Hashimoto, S.: Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 36, 115 (1970).
- 7) Shibōta, M. and Hashimoto, Y.: Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 36, 115 (1971).
- 8) Hirayama, H., Gohgi, K., Urakawa, N. and Ikeda, M.: Japan. J. Pharmacol., 20, 312 (1970).
- 9) Hirayama, H., Sugihara, K., Wakigawa, K., Tsuyama, S., Sugihara, T., Ohkuma, H. and Gohgi, K.: Japan. J. Pharmacol., 22, Suppl. 33 (1972).
- 10) Taira, N., Iwatsuki, K., Hashimoto, K. and Hirayama, H.: Tohoku J. exp. Med., 107, 191 (1972).
- 11) Gohgi, K. et al.: To be published in Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. (1973).
- 12) Kosuge, T., Zenda, H., Ochiai, A., Masaki, N., Noguchi, M., Kimura, S. and Narita, H.: Tetrahedron Letters No. 25, 2545 (1972).
- 13) Gyermek, L.: J. Pharmacol. exp. Ther., 127, 313 (1959).
- 14) Bülbring, E.: J. Physiol., 125, 302 (1954).
- 15) Bülbring, E.: Br. J. Pharmacol., 1, 38 (1946).
- 16) Trendelenburg, U.: J. Physiol., 129, 337 (1955).
- 17) Trendelenburg, U.: Br. J. Pharmacol., 11, 74 (1956).
- 18) Murayama, S. and Unna, K. R.: J. Pharmac. exp. Ther., 140, 183 (1963).
- 19) Purewka, P.: Arch. exp. Path. Pharmacol., 168, 309 (1932).
- 20) Chen, G., Portman, R. and Wickel, A.: J. Pharmacol. exp. Ther., 103, 330 (1951).
- 21) Chen, G., Portman, R. and Wickel, A.: Arch. int. Pharmacodyn. Thé., 96, 291 (1953).
- 22) Rosakowski, A. P.: J. Pharmacol. exp. Ther., 132, 156 (1961).
- 23) Urakawa, N., Hayama, T., Deguchi, T. and Ohkubo, Y.: Japan. J. Pharmacol., 9, 41 (1959).
- 24) Deguchi, T., Urakawa, N., Hayama, T. and Ohkubo, Y.: Japan. J. Pharmacol., 13, 143 (1963).
- 25) 坂本秀夫: 自律神経遮断剤の臨床, 医学書院 (1959).
- 26) 島田正一, 柳谷岩雄: 日薬理誌, 58, 497 (1962).
- 27) Smith, J. C.: J. Pharmacol. exp. Ther., 153, 266 (1966).

ABSTRACT

Hachihiko HIRAYAMA, Kunio SUGIHARA, Kohichi WAKIGAWA, Shingo TSUYAMA, Taisuke SUGIHARA, Haruo OHKUMA and Kazuaki GOHGI. Research Laboratories of Tokyo, Kohjin Co. Ltd., Hachiōji, Tokyo. *A ganglion-blocking action of surugatoxin from the Japanese ivory shell (Babylonia japonica).* Folia pharmacol. japon. **69**, 583~597 (1973).

Pharmacological properties of the surugatoxin from Japanese ivory shell (*Babylonia japonica*) (Kosuge et al. 1972, Gohgi et al. 1973) were studied, and its properties were compared with those of IS-toxin (Hirayama et al. 1970, 1972, Gohgi et al. 1973) isolated from the same shell. Surugatoxin (0.15~0.2 mg/kg i.v.) reduced spontaneous movement, causing a drowsiness, mydriasis and relaxation of nictitating membrane in cats. The toxin had no effects either on the neuromuscular junctions or on the striated and smooth muscles. Contractile responses of the guinea-pig ileum preparations to nicotine (1×10^{-7} g/ml) were observed, and the responses to nicotine were abolished by hexamethonium (C_6 , 4×10^{-4} g/ml). Surugatoxin, on the other hand, at a concentration of $1 \times 10^{-7} \sim 1 \times 10^{-6}$ g/ml reduced or eliminated the responses to nicotine and to 1,1-dimethyl-4-phenylpiperazium iodide (DMPP, 1×10^{-6} g/ml), but the contractile responses due to 4-(*m*-chlorophenyl-carbonyloxy)-2-butynyltrimethylammonium chloride (McN-A-343, 1×10^{-5} g/ml) were scarcely effected by the toxin at the same concentrations. The toxin was assumed to have a ganglionic blocking action in the inner plexus of the intestine. Accordingly, effect of the toxin on the superior cervical sympathetic ganglion of cats was studied using the *Trendelenburg* method (1954, 1956). Surugatoxin injected into the femoral vein (150~200 μ g/kg) or the lingual artery (40~50 μ g/kg, to the ganglion) decreased or abolished the contractile responses of the nictitating membrane and the post-ganglionic external potentials to an electrical stimulation of the pre-ganglionic nerve. Surugatoxin did not however, alter responses to the post-ganglionic nerve stimulation. Injection of surugatoxin (40~50 μ g/kg, to the ganglion) reduced or eliminated contractions of the nictitating membrane due to 2 μ g/kg of DMPP (to the ganglion), a nicotinic ganglionic stimulant (Chen et al. 1951, 1953) and to 25 μ g/kg of candicine, a ganglionic stimulant (Urakawa et al. 1959, Deguchi et al. 1963), while the contractions due to 2.5~5 μ g/kg of McN-A-343 (to the ganglion), a muscarinic stimulant (Raszkowski, 1961) were scarcely effected by the toxin with the same dose. When 40~50 μ g/kg of surugatoxin was administered (to the nictitating membrane), it affected neither the responses of nictitating membrane nor the pressor responses of systemic blood pressure induced by norepinephrine (5 μ g/kg, to the nictitating membrane). The potency of surugatoxin, determined in a manner similar to that described by Gyermek (1957) was about 6 times as strong as that of hexamethonium. It is suggested, that the mode of ganglioplegic action of the surugatoxin is similar to that of IS-toxin (Hirayama et al. 1972), which may be due to an inhibitory action on the nicotinic ganglionic receptors in the inner plexus of the intestine and in the superior cervical nerve. Surugatoxin may be a specific inhibitor on the nicotinic ganglionic receptors in autonomic ganglia.