有毒鱗翅類毒針毛に関する研究

第3報 アオイラガ毒棘・毒針毛の形態と毒素、 とくに発痛物質について

川本文彦

名古屋大学医学部医動物学教室 (〒466 名古屋市昭和区鶴舞町 65)

(受領: 1977年12月27日)

Studies on the venomous spicules and spines of moth caterpillars

III. Scanning electron microscopic examination of spines and spicules of the slug moth caterpillar, *Parasa consocia*, and some properties of pain-producing substances in their venoms

Fumihiko KAWAMOTO

Department of Medical Zoology, Nagoya University
School of Medicine, Showa-ku, Nagoya 466

はじめに

日本産の有毒鱗翅類のうち、疫学的に問題とされる昆虫は、前報 (Kawamoto *et al.*, 1978; 川本, 1978) で述べたドクガ類の他にイラガ類があげられる。なかでもとくに重要な種類は、イラガ *Cnidocampa flavescens*, クロシタアオイラガ *Parasa sinica*, アオイラガ *Parasa consocia* の3種とされ、これらの幼虫との接触によって生じる皮膚炎は、ドクガ類毒針毛の場合とは異なり、非常に激しい疼痛を伴った膨疹形成が主症状とされている (加納, 1967; 1973)。

その有毒毛はいずれも毒棘 (spine) として知られる虫体の肉質突起であるが、*Parasa* 属の幼虫ではこの毒棘の他に、ドクガ類毒針毛に極めて類似した形態を有する短毛 (毒針毛, spicule) が知られている (Maschwitz and Kloft, 1971)。この短毛は、終齢幼虫の第8・9腹節に出現し、営繭時には繭の外側に付着しているため、繭を素手で扱った場合には疼痛と皮膚炎が生じる。また、この疼痛は短毛を抜き去ることにより、かなり軽減するので、これが真の毒針毛なのか、あるいは単に機械的刺激を与えるのみなのかについては明確にされていない。

イラガ類の毒棘についても、その毒成分の本体は全く判明していないのが現状であり、わずかに小林 (1956)

により、蟻酸を主体とした有機酸、糖ならびにタンパク質の存在が報告されたにすぎない。また、加納 (1967; 1973) は、その皮膚炎の症状からアセチルコリン (Ach)、セロトニン (Ser)、キニンなどの発痛物質の存在を推測したが、その実証はなされていない。

著者は、前報 (川本, 1978) で述べたドクガ *Euproctis subflava* 毒素に引続き、アオイラガの毒棘と毒針毛の形態とその毒素、とくにその発痛作用について調査したのでその結果について報告する。

材料と方法

1. 供試昆虫

1975年から1977年にかけて、名古屋市瑞穂区内の桜に生息していたアオイラガの終齢幼虫を採集し、供試昆虫とした。

2. 走査型電子顕微鏡観察 (SEM)

2.5%のグルタルアルデヒド溶液で固定したのち、アルコール系列で脱水、金・炭素の2重蒸着を行い、日本電子製 JEM-S1 にて観察した。

3. 抽出物の作製と活性物質の分離

-70°C に凍結保存しておいた幼虫から、毒棘は鋭利な刃物で切り取り、毒針毛はピンセットで採取した。抽出方法と活性物質の分離は前報 (川本, 1978) に従って行ったが、材料としては0.5gの毒棘および50mgの毒

針毛を用い、後者は2.5mlのリン酸緩衝生理食塩水(0.15 M phosphate buffered saline, pH 7.2, PBS)により抽出した。また、Sephadex G-100カラムクロマトグラフィーの流速は毎時2.25 ml とし、1.5 ml ごとに分取した。

タンパク質の定量は、Lowry *et al.* (1951) の方法によった。また、一部は 280 nm の吸光度を測定して行った。

4. 各種の薬理的試験

皮膚テスト、腸管収縮試験、血管透過性試験などの薬理的試験は、いずれも前報(川本, 1978)に従って行ったが、新たにマウスに対する影響および発痛性の一試験法として、犬の上精巣神経に見出された polymodal receptor (Kumazawa and Mizumura, 1977b; 水村・熊沢, 1977) の反応について検討した。すなわちペントバルビタール Na で麻酔した犬を背位に固定し、前腹部側方で開腹したのちに上精巣神経を露出しこの神経を oil pool 内に入れ、10 ml の供試液を加えて神経インパルスを1秒ごとに計数してペンレコーダーに描記させた。

実験結果

1. 毒棘と毒針毛の SEM

アオイラガの終齢幼虫は、Fig. 1(a) に示すように中胸から第8腹節にかけて亜背線部の各環節に瘤状突起(Fig. 1(b))が存在し、毒棘の叢生部を形成している。第1腹節上の叢生部(Fig. 1(a)1)は他のものと異なり、中央に5～8本の黒褐色棒状突起が認められ、その周辺に毒棘が散在していた(Fig. 1(d), (e))。毒棘の先端部は黒色の針状を呈しているが、その最先端部には、従来の光顕観察結果(Weidner, 1937; Maschwitz and Kloft, 1971)で述べられているような開口部は見出されなかった(Fig. 1, p. 195 参照)。

Fig. 2(a), (b) は Fig. 1(a)3 に示した第8・9腹節上の黒色瘤起の SEM 像で、長さが約1mm 前後のドクガ類毒針毛に極めて類似した形態を有する毒針毛(Fig. 1(c))が林立している。ドクガ毒針毛(Kawamoto *et al.*, 1978)の場合とは逆に、先端部が上方に向い、分岐棘は盃状体側に存在することが観察される(Fig. 2(b), (d))。先端部は小形のふた状の構造物で被われており(Fig. 2(c))、ドクガ毒針毛先端部と同じく開口は認められなかったが、分岐棘の中央に凹みが観察された(Fig. 2(e))。この凹みが開口しているか否かについては SEM では明確にされなかったが、毒針毛が離脱した盃状体に毒針毛との連結部と思われる中空の構造が認められ(Fig. 2(d))、ドクガ毒針毛の場合と同様に、cuticle で被われていない開口連結部の存在が示唆された。また、

営繭後には、この毒針毛は繭の外側に埋めこまれているのが観察された(Fig. 2(f), p. 196 参照)。

以上の結果から、アオイラガのドクガ型毒針毛の生成過程はドクガ毒針毛の生成過程(Kawamoto *et al.*, 1978)に類似したものと想像され、この毒針毛中にも trichogen cell で合成された毒素が存在すると思われる。そこで、毒棘および毒針毛の抽出物を作製し、それらの薬理的作用の有無を中心に調査した。

2. 粗毒の一般的性状

1) マウスに対する影響

毒棘および毒針毛から得た粗毒のマウスに対する影響を調査した。すなわち、おのおの0.05ml の粗毒をマウス尾静脈に注入したところ、なき声とともに注射部位を盛んに咬もうとする行動が認められた。数分後には、丸くうずくまり、震え、立毛などの全身症状と角膜の白濁が顕著であった。いずれも数時間後には回復し、致死性も現在のところ認められていない。

また、後肢皮下に接種した場合には、後肢の麻痺が数時間持続した。対照の PBS やヒスタミン(His)の接種ではこのような症状は認められず、粗毒中に含まれる何らかの因子に起因する反応のようであった。

2) スクラッチ法による皮膚テスト

マウスに対する影響の調査結果から、毒棘および毒針毛の粗毒中にかなり激しい薬理作用を有する因子の存在が示唆されたので、粗毒を HM および LM 分画に分離後、おのおの分画について皮膚テストを行った(Table 1)。

表から明らかなように、いずれの分画も皮膚テストは陽性を示し、毒棘・毒針毛ともにその粗毒と HM 分画には極めて強い発痛性を有するのが認められた。毒棘抽出物の LM 分画にも発痛性のあることが観察されたが、毒針毛の LM 分画にははっきりした発痛性は認められなかった。

毒棘 LM 分画による疼痛の発現は1～2分後にみられ、数十分から1～2時間後には完全に消失した。これに対して、毒棘 HM 分画の場合には、1～5分経過したのち、激しい痛みが脈拍運動に伴って繰り返され、いわゆる recurrent pain(猪木, 1977)を呈した。この疼痛はかなり長時間持続して消失するものの、1～2日後の触刺激により再び出現した。毒針毛 HM 分画もこれと同様な経過を示したが、毒棘の断続的疼痛発現性に対して、持続的な刺痛様の痛みが感じられ、毒棘の場合とは多少異なっているようであった。

紅斑形成・膨疹形成などの活性もすべての分画に認められ、とくに HM 分画を用いた場合、紅斑は膨疹の消退後も2～3日間持続した。

Table 1 Results of skin scratch reactions with extracts of venomous spines and spicules of *P. consocia**

Person No. (Sex, Age)	Spine						Spicule					
	HM**			LM			HM			LM		
	R***	W	P	R	W	P	R	W	P	R	W	P
1 (M, 29)		nd****		++	++	-		nd			nd	
2 (M, 30)	++	++	+++	++	++	+	++	++	++	+	-	±
3 (M, 35)	++	++	+++	+++	+++	++	++	+	+++	++	++	±
4 (F, 29)		nd			nd		++	+	±	++	-	-
5 (F, 34)	++	+++	+++	++	±	+	++	+	++	+	±	±
6 (F, 48)	++	+	++	++	+	++		nd			nd	

* Observations were made for 3 days after application of test fluids. Reactions were graded as negative (-), not definite (±) and positive (+) to strongly positive (+++).

** HM and LM indicate fractions of high molecular weight more than 15,000 and low molecular weight, respectively, separated with a single hollow fiber concentrator.

*** R, redness or erythema; W, wheal or edema; P, pain

**** nd, not done

Fig. 3 Thin-layer chromatography of crude venoms derived from spines (Spn) and spicules (Spc)

Solvent system, Bu: A. a: H₂O (4: 1: 5); developer, ninhydrine. Ser, serotonin; His, histamine.

以上の結果は、毒棘抽出物中に高分子物質と低分子物質とからなる発痛物質が存在することを示唆した。また、ドクガ型の毒針毛も単に機械的刺激を与えるのみならず、毒素を含む真の毒針毛として皮膚炎の起生性を有することを示した。

3) 薄層クロマトグラフィー

薄層クロマトグラフィーの結果を Fig. 3 に示す。毒棘および毒針毛から得た抽出物は、ともに7分画のニンヒドリン陽性分画を含有し、I₂ 反応ではさらに2分画 (R_f=0.78, 0.83) が得られた。既知の chemical mediator のうち、Ach, His, Ser の R_f 値および発色性と比較した結果、His の存在が確認された。

毒棘・毒針毛を磨砕後、直ちに100°C、3分の熱処理を行って抽出しても、Ach, Ser は全く検出されなかった。

3. 発痛物質の分離とその薬理的作用について

毒棘および毒針毛中に発痛物質と His の存在が示唆

されたので、カラムクロマトグラフィーによりこれらの分別を行い、得られた分画について各種の薬理的作用を調査した。

1) カラムクロマトグラフィーによる分離と皮膚テスト

Fig. 4 は毒棘 HM 分画の Sephadex G-100カラムクロマトグラムを示し、2つの大きなピーク (HM-I, HM-II) と小さなピーク (HM-III) の3つに分離できた。毒針毛 HM 分画では、Fig. 5 に示すように3つのピーク (HM-I, II, III) に分離され、HM-I および HM-II は、毒棘の HM-I, HM-II と同一の位置に溶出された。

既知の分子量を持つ3種のタンパク質 (bovine serum albumin, BSA; casein, CA; trypsin, TR) を同一カラムに展開し、それらの溶出位置から上記の各分画の分子量を計算すると、HM-I は10万以上、HM-II は約6万、毒棘 HM-III は24,000前後、毒針毛 HM-III は33,000前後であった。

各分画ごとに皮膚テストを行ったところ、すべての分画について紅斑形成が認められたが、毒棘、毒針毛ともに HM-I および HM-III に強く、HM-I を用いた場合には膨疹形成もみられた。発痛性は毒棘、毒針毛ともに HM-II に観察された。

次に、LM 分画に発痛性が認められた毒棘抽出物を Sephadex G-50カラムクロマトグラフィーで分別したところ (Fig. 6), void volume の次に溶出された大きなピーク (LM-I) に発痛性を認めた。この分画は280 nm における吸収を欠いているのでトリプトファンやチロシン・フェニルアラニンをほとんど含有しない分子量数千の polypeptide と思われた。また、第21分画から第26

Fig. 4 Gel filtration of HM fraction from spines in a Sephadex G-100 column (0.9×28 cm) equilibrated with 0.05M phosphate buffer (pH 7.2)

Fractions of 1.5 ml were collected at a flow rate of 2.25 ml/hr. VOID, void volume; BSA, bovine serum albumin; CA, casein; TR, trypsin. Activities: W, wheal; P, pain; C, ileum contraction; PI, permeability increase; R, redness.

Fig. 5 Gel filtration of HM fraction from spicules in a Sephadex G-100 column (0.9×28 cm)

The experimental conditions and abbreviations were the same as in Fig. 4.

分画にかけて紅斑形成性の強い分画 (LM-II) が得られた。この LM-II の溶出位置が His と同一であること、薄層クロマトグラフィーにより LM-II に His が検出されたことなどから、LM-II を用いた場合に認められ

Fig. 6 Gel filtration of LM fraction from spines in a Sephadex G-50 column (1.6×38 cm) equilibrated with 0.05 M phosphate buffer (pH 7.2)

Fractions of 3 ml were collected at a flow rate of 4.5 ml/hr. Note that Emax of the No. 28 fraction was at 298 nm. HIS, histamine.

た皮膚反応陽性結果は His に起因するものと考えられる。

2) 摘出腸管収縮試験

予備試験により、毒棘および毒針毛の抽出物がモルモットの回腸を収縮させることが判明して、ドクガの場合 (川本, 1978) と同じく、His と高分子の収縮物質の存在が予測されたため、以下の点について調査した。

a) HM 分画: Fig. 7 は、毒棘 HM 分画のモルモット回腸収縮試験の結果を示す。収縮のパターンは、用いた腸管により差があるものの、His と比較するとかなり遅延して収縮が始まり、収縮がピークに達したのちに、急激な弛緩と収縮が繰り返された。この間に、腸管内に残存していた内容物は徐々に放出された。

上記の自動運動を伴った収縮は洗浄後も20～60分間持続し、腸管内容物が完全に放出されるまで著明な自動運動が認められた。また、この収縮活性には diphenhydramine (DH), atropine (AT) の添加による影響は認められず、その後の毒素添加に対しては強い tachyphylaxis を生じ、全く反応しないかあるいは自動運動のみが観察された。

この HM 分画を Sephadex G-100で分離後、得られた分画ごとに収縮活性を調査した (Fig. 8, 9)。Fig. 8 から明らかなように、第9分画に lag-time の長いゆるやかな収縮が観察された。この収縮は、洗浄後に弛緩す

Fig. 7 Effect of HM fraction from spines on the guinea pig ileum

Doses indicated are in μg per 15 ml bath for histamine (H), and in ml per bath for HM fraction. Note that longer time to onset and longer duration of contraction are seen in reactions by HM fraction than those by histamine. The effect of HM fraction is not reduced by addition of diphenhydramine (DH, 2 μg /bath) and atropine (AT, 2 μg /bath). Severe tachyphylaxis occurs by further additions of HM fraction.

るまでかなりの時間を要したが、自動運動の増大や内容物の放出はほとんど認められなかった。次いで、第10分画を加えたところ、Fig. 7に認められたような収縮パターンが得られた。洗浄後も速やかに弛緩せず、内容物の放出・自動運動の増大などが観察され、以後の分画の添加に対して tachyphylaxis を生じた。

上記の順序とは逆に、第15分画から収縮試験を行ったところ、Fig. 9に示すように第13分画によって小さな自

Fig. 8 Contraction activity on the isolated guinea pig ileum of the eluates obtained by Sephadex G-100 column-chromatography of HM fraction from the spines

Doses are 0.5 μg histamine (H) per 20 ml bath and 0.4 ml of each fraction per bath. Note that two types of contraction curves are seen at the Nos. 9 and 10 fractions.

動運動を伴った収縮が認められ、第12分画で収縮がピークに達したのちは以後の分画の添加に対して tachyphylaxis を生じ、第9分画に対しても全く反応しなかった。

これらの結果は、毒棘 HM-II の中に2種類の収縮活性物質 (HM-IIa, IIb) が存在することを示唆するものである。

次に、毒針毛 HM 分画の有する収縮活性について調査したところ、毒棘 HM 分画の場合とほぼ同様な結果が得られた。そこで、Sephadex G-100カラムにより分別し、得られた分画について収縮試験を行った (Fig. 10)。図から明らかなように、第10分画に強い活性が認められ、

Fig. 9 Contraction activity of the eluates obtained by Sephadex G-100 column-chromatography of spine HM fraction, when applied in the reverse order from the No. 13 to No. 9 fraction. Doses are 0.4 ml per 20 ml bath. Note that contraction activity of the No. 9 fraction disappeared thoroughly, being followed by tachyphylaxis.

Fig. 10 Contraction of guinea pig ileum with the eluates obtained by Sephadex G-100 column-chromatography of HM fraction from the spicules. Doses are $5 \mu\text{g}$ per 20 ml bath in histamine (H) and 0.5 ml per bath in each fraction. Severe tachyphylaxis occurs after the application of the No. 10 fraction.

Fig. 11 Ileum contraction by LM fraction from the spines (a) and the distribution of this activity in Sephadex G-50 column-chromatogram (b, c). Doses indicated are in ml per 15 ml bath for LM fraction and 0.4 ml per bath in the eluates.

以後の分画に対しては tachyphylaxis を生じた。しかし、毒棘の場合とは異なり、洗浄後の弛緩速度はかなり早く、自動運動や腸管内容物の放出作用も比較的穏やかであり、毒棘の同一分画 (HM-IIb) と異なる作用を示す物質を有するようであった。また、毒棘の第9分画 (HM-IIa) に一致するような収縮活性も得られていない。

b) LM 分画: LM 分画については、毒棘に由来するものについてのみ調査した (Fig. 11)。Fig. 11(a) は LM 分画の収縮活性を示し、HM 分画に比較すると、かなり早く収縮が始まり、最大収縮後は小さな自動運動を伴ってやや弛緩した。洗浄後は速やかに弛緩し、自動運動の増大や内容物の放出作用は全く認められず、tachyphylaxis も生じなかった。

この分画には His が含まれていることがこれまでの調査から判明していたので、この活性が His に起因す

るものか否かを確かめるために、Sephadex G-50カラムクロマトグラフィーで得られた各分画について検討した。その結果、LM 分画中の収縮活性は2つに分離され、1つ (Fig. 11(b)) は前述の発痛物質 LM-I に一致し、他の1つ (Fig. 11(c)) は LM-II に一致した。後者は、His による収縮活性と同一のものと考えられた。

3) 血管透過性試験

毒棘抽出物から上記の両カラムクロマトグラフィーによって得られた各分画の血管透過性に及ぼす影響について調査したところ、HM-I~III, LM-I, II のいずれにも昇進作用が認められた (Fig. 12)。とくに、HM-II, HM-III および LM-I は強い活性を示した。

4) 犬の polymodal receptor に対する影響

polymodal receptor は、皮膚や筋肉および内臓領域に存在し、熱刺激や化学的、機械的刺激のいずれにも応

Fig. 12 Effect of each fraction from the spines on extravasation of Evans blue in guinea pig skin
HMs are the eluates from Sephadex G-100 column and LMs are those from Sephadex G-50 column. PBS, phosphate buffered saline.

じる受容器として知られ、痛みに対しても反応するものと考えられている (Kumazawa and Mizumura, 1977a). そこで、犬の上精巣神経に見出された polymodal receptor (Kumazawa and Mizumura, 1977b; 水村・熊沢, 1977) を用いて、毒棘 HM-II の作用について調査した (Fig. 13).

対照の発痛物質としてブラディキニン (BK) を投与したところ、15秒後から反応が認められ (Fig. 13, A), 洗浄後は速やかに消失した (Fig. 13, B). 次に、HM-II を投与したところ、約100秒経過したのちに反応が始まり、小さな山を描きながら増大した (Fig. 13, B~D). 洗浄後も30分以上にわたり反応が持続し (Fig. 13, E~F) 低下せず、むしろ洗浄後はやや増大するようであった (Fig. 13, E).

これらの結果は、腸管収縮活性に認められた特性、すなわち反応開始時間が長いこと、収縮—弛緩の繰り返し、洗浄後の自動運動の増大などと極めて類似した作用であると思われる。また、皮膚に対する発痛性の発現とその経過とも合致するようであった。

考 察

従来の光顕観察結果の多くは、Heterogeneidae, Megalopygidae, Saturniidae などの鱗翅類の毒棘の尖端部に開口の存在を報告している (Weidner, 1937; Maschwitz and Kloft, 1971など). また、これらの毒棘による被害は、皮膚が毒棘に接触した瞬間に毒液がこの開口部から注射されて生じるものと思われてきた。しかし、今回の SEM の観察結果では、毒棘および毒針毛の尖端部にそのような開口は全く認められなかった。また、死虫体の毒棘を皮膚面に軽く接触させるだけでも生体と

Fig. 13 Responses of the polymodal receptor in the testis of dog to HM-II from the spines

The vertical scale indicates the rate of discharge (impulses/sec); the time scale appears at the lower left.

A. $10 \mu\text{g}$ ($1 \mu\text{g}/\text{ml}$ in bath) bradykinin (BK). This response disappeared within 2 min (B) after washing (W).

B. 0.2 ml of *Parasa* venom (PV, HM-II; fraction Nos. 9 and 10). Continuous responses are indicated in B-D. Note that longer time to onset is seen than that in BK.

E and F. Responses remained after several washings. E, 12 min; F, 26 min. Note that increase of response is observed after washing with PV (D-E).

接触した場合と同様の皮膚反応がみられ (未発表), 毒液が開口から注射されるとは考え難い。恐らくは、接触時に毒棘先端が折れ、ほとんど同時に毒棘内部にある毒液が皮内に注入されるものと思われる。その際に、接触による機械的刺激も加わるものと考えられるが、毒液に含まれる低分子の発痛物質 LM-I, 次いで HM-II によって、電撃的疼痛が発現するのであろう。

毒針毛による被害も、機械的刺激よりはむしろ刺傷時に皮膚内にもれた毒素による化学的刺激を受けることによって発現するものと思われる。分岐棘の中央に存在する凹みが開口しているか否かについて SEM では明確にできなかった。今後、透過型電顕によりその形成過程と毒素の分泌様式などについて明らかにしたい。

毒棘に含まれる毒素について、小林 (1956) はイラガ毒素の抽出を行い、蟻酸・糖・タンパク質の存在を報告し、His の存在を否定している。発痛性については何も

ふれていないが、著者ら（川本・熊田，未発表）の実験結果では、イラガ LM 分画中にも His と発痛物質を認め、本報告とほぼ同様な結果を得ている。

イラガの他には、Megalopygidae (Foot, 1922; Valle *et al.*, 1954; Ardao *et al.*, 1966; Picarelli and Valle, 1971), Saturniidae (Welsh and Batty, 1963; Arocha-Piñango and Layrisse, 1969; Picarelli and Valle, 1971) などの毒棘から得た粗毒の性状について報告がある。とくに Megalopygidae では、*M. urens* の粗毒から溶血活性、タンパク分解酵素、ヒアルロニダーゼなどが見出され (Ardao *et al.*, 1966), Picarelli and Valle (1971) は、*Megalopyge* sp. から tachyphylaxis を伴う回腸収縮活性、血管透過性の昂進作用、血圧降下作用を有するタンパク毒素を分離したことについて報告しており、アオイラガの毒素との類似性に興味を持たれる。しかしながら、上記の両報告とも発痛性については全くふれておらず、発痛物質の本体も不明のままである。わずかに Welsh and Batty (1963) が *Automeris* sp. の毒棘に発痛物質の 1 つである Ser を見出したにすぎない。

他の昆虫毒素のうち、キニン類と同定されたもの以外には、ミツバチ *Apis mellifera* 毒の主成分である melittin が発痛性・腸管収縮性・血管透過性の昂進などの強い作用を有することが知られている (Herbermann, 1971)。また、同じくミツバチ毒に含まれる phospholipase A には、発痛性は無いものの、血管透過性の昂進作用と回腸収縮活性があり (Herbermann, 1957, 1971)、後者は本報告で述べた HM-II の収縮パターンに極めて類似したパターンを示すもののようであった。すなわち、His に比較するとかなり遅延して収縮が開始され、最大収縮後も収縮一弛緩が繰り返し生じること、あるいは強い tachyphylaxis が認められることなどである。しかし、本報告で述べた腸管内容物の放出作用や洗浄後の自動運動の著しい増大については、phospholipase A を含め、既知の収縮活性物質が類似の作用を示したという報告は全く見当らず、これらの作用はアオイラガ毒素に特有のものと思われる。

この HM-II は、同じ *Parasa* 属のクロシタアオイラガにも見出され (川本・熊田，未発表)、かつドクガの HM-II, HM-III (川本, 1978) とは異なるので、*Parasa* 属特有の発痛物質と考えられる。さらに、毒棘 HM-II には 2 種の収縮活性物質 (HM-IIa, IIb) の存在が示唆されたが、毒針毛の HM-II には IIa が認められず、発痛作用も毒棘の場合とやや異なっているため、これらの活性物質の相違について今後明らかにしたい。

LM-I については、その収縮作用や発痛性の発現など

から、melittin のように直接生体に作用するものと想像される。また、収縮試験で tachyphylaxis が認められないこと、分子量が数千の polypeptide であること、および強い血管透過性昂進作用を有することなどの性状は、BK や各種キニン類にみられる諸特性に一致する。以上の理由から、LM-I はこれらの生理活性物質に類似した物質のように思われる。

本報告では、アオイラガ毒素の血圧に対する影響について検討していないが、マウスに静注した場合に観察された全身症状は、粗毒に含有されている His のみの作用では説明が不可能であり、恐らくは HM 分画または LM-I のいずれかが循環器に作用したものと考えられる。上述の melittin, 各種キニン, phospholipase A などはいずれも血圧に対して強く作用することも知られているので、今後この点についても明らかにしたい。また、ドクガ毒素に認められたような酵素活性も、アオイラガ毒素からは現在のところ見出されていない (未発表) が、諸々の生化学的検定法を用いて各種酵素活性の有無について検討したい。

摘 要

アオイラガの毒棘と毒針毛の微細構造を走査電顕によって観察し、抽出した毒素の発痛性・腸管収縮性・血管透過性などの薬理的作用について調査した。

1. 毒棘・毒針毛ともに、その先端部に開口が認められず、従来の光顕観察結果とは異なる成績を得た。また、毒針毛とその盂状体の超微形態を明らかにした。
2. 薄層クロマトグラフィー・カラムクロマトグラフィーを用いた抽出毒素に関する検査結果から、毒棘および毒針毛にヒスタミンが含まれていることを明らかにした。
3. 毒棘抽出物から高分子の発痛物質 (HM-II) と低分子発痛物質 (LM-I) を分離した。HM-II は犬の上精巣神経の polymodal receptor にも強く作用し、モルモットの回腸を強く収縮させた。LM-I には腸管収縮性・血管透過性の昂進などの作用が認められ、280 nm に吸収を持たない polypeptide と思われた。
4. 毒針毛の毒素として、ヒスタミンの他に発痛性・腸管収縮性を有するタンパク質 (HM-II) が分離され、この毒毛による皮膚炎は単に機械的刺激のみならず、化学的刺激によっても生起されることを示した。

稿を終えるにあたり、御指導と御鞭撻、ならびに本稿の御校閲を賜った名古屋大学医学部 熊田信夫教授、須藤千春助手に深謝する。また、御指導を賜った重井達朗教授、石川直久博士、発痛性についての御教示と快く実験の御協力をいただいた熊沢孝朗講師、水村和枝助

手、貴重な御助言をいただいた東京医科歯科大学 加納六郎教授、ならびに実験に御協力いただいた水野さほ子技官、鈴村志保事務官、川上敏興氏に感謝の意を表する。

引用文献

- Ardao, M. I., C. Sosa-Perdomo and M. G. Pelaton (1966) : Venom of the *Megalopyge urens* (Berg) caterpillar. *Nature*, **209**(5028) : 1139-1140.
- Arocha-Piñango, C. L. and M. Layrisse (1969) : Fibrinolysis produced by contact with a caterpillar. *Lancet*, **2**(7599) : 810-812.
- Foot, N. C. (1922) : Pathology of the dermatitis caused by *Megalopyge opercularis*, a Texan caterpillar. *J. Exp. Med.*, **35**(5) : 737-753.
- Herbermann, E. (1957) : Beiträge zur Pharmakologie von Phospholipase A. *Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.*, **230**(6) : 538-546.
- Herbermann, E. (1971) : Chemistry, pharmacology, and toxicology of bee, wasp, and hornet venoms. In *Venomous Animals and Their Venoms*, W. Bücherl and E. E. Buckley, eds., Vol. III, pp. 61-93, Academic Press, New York.
- 猪木令三 (1977) : 発痛物質. 代謝, **14**(2) : 15-24.
- 加納六郎 (1967) : 有毒鱗翅類について. 衛生動物, **18**(2・3) : 170-171.
- 加納六郎 (1973) : 節足動物毒研究の進歩. 皮膚臨床, **15**(8) : 503-514.
- Kawamoto, F., C. Suto and N. Kumada (1978) : Studies on the venomous spicules and spines of moth caterpillars. I. Fine structure and development of the venomous spicules of the *Euproctis* caterpillars. *Jap. J. Med. Sci. Biol.*, **31**, in press.
- 川本文彦 (1978) : 有毒鱗翅類毒針毛に関する研究 第2報. ドクガ毒針毛の毒素について. 衛生動物, **29** : 175-183.
- Kumazawa, T. and K. Mizumura (1977a) : Thin-fiber receptors responding to mechanical, chemical, and thermal stimulation in the skeletal muscle of the dog. *J. Physiol.*, **273**(1) : 179-194.
- Kumazawa, T. and K. Mizumura (1977b) : The polymodal receptors in the testis of dog. *Brain Res.*, **136**(3) : 553-558.
- 小林瑞穂 (1956) : 有毒鱗翅目昆虫の研究 V イラ蛾 (*Cnidocampa flavescens*) に就いて. 岐阜医大紀要, **3**(4) : 270-279.
- Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr and R. J. Randall (1951) : Protein measurement with the Folin reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**(1) : 265-275.
- Maschwitz, U. W. J. and W. Kloft (1971) : Morphology and function of the venom apparatus of insects—bees, wasps, ants, and caterpillars. In *Venomous Animals and Their Venoms*, W.

Bücherl and E. E. Buckley, eds., Vol. III, pp. 1-60, Academic Press, New York.

水村和枝, 熊沢孝朗 (1977) : Multi-unit 記録による 蟻丸の polymodal receptor の反応. 第24回中部生理談話会予稿集, p. 32.

Picarelli, Z. P. and J. R. Valle (1971) : Pharmacological studies on caterpillar venoms. In *Venomous Animals and Their Venoms*, W. Bücherl and E. E. Buckley, eds., Vol. III, pp. 103-119, Academic Press, New York.

Valle, J. R., Z. P. Picarelli and J. L. Prado (1954) : Histamine content and pharmacological properties of crude extracts from setae of urticating caterpillars. *Arch. Int. Pharmacodyn.*, **98**(3) : 324-334.

Weidner, H. (1937) : Beiträge zu einer Monographie der Raupen mit Gifthaaren. *Z. Angew. Entomol.*, **23** : 433-484.

Welsh, J. H. and C. Batty (1963) : 5-Hydroxytryptamine content of some arthropod venoms and venom-containing parts. *Toxicon*, **1**(4) : 165-173.

Summary

Scanning electron microscopy revealed that the spines of the slug moth caterpillar, *Parasa consocia* had no opening at the pointed ends, differing from the results reported by many investigators based on light microscopic observations. Fine structure of the spicules and their sockets on the 8th and 9th dorsal segments of the last instar larva was also described.

PBS extracts from the spines and spicules were fractionated by a single hollow fiber concentrator (SHFC). The inner fluid in SHFC, containing substances with molecular weights higher than 15,000 (HM) was further fractionated through a Sephadex G-100 column, while the outer fluid containing lower molecular substances (LM) was fractionated through a Sephadex G-50 column.

1. Injection of crude venom from the spines and spicules into the tail vein of mice made them squeak and bite at the injected area due probably to local pains, followed by crouching posture and shiver for a few hours. Paralysis was observed at their hind legs when injected with the venom subcutaneously.

2. Thin-layer chromatography revealed the presence of histamine in both the venoms from the spines and spicules.

3. HMs and LMs separated from the crude venoms of the spines and spicules exhibited positive skin reactions in man by scratch method: Erythema and edema or wheal were the common symptoms produced by all of these fractions tested. Severe recurrent pains were produced

by the HMs a few minutes after application. The pains were relieved within several hours, but contact stimuli to the applied area of the skin produced the recurrent pains for a few days. Though the LM from the spine venom also showed pain-producing activity, it differed from the HMs in its rapid action and shorter duration.

4. Each of the HMs from the spine and spicule venoms was separated into 3 fractions (HM-I-III), by column chromatography: HM-Is had a wheal producing activity in the skin test. HM-IIs had activities to produce severe pain and to contract smooth muscle of the isolated guinea pig ileum. The contraction induced by the two HM-IIs differed from that by histamine in that the former took longer time before the onset and showed longer duration of the contraction after several washes with Tyrode's solution; it also differed from the contraction caused by bradykinin in that the former showed tachyphylaxis. More-

over, self-movement of the ileum was increased during or after the contraction and it continued till the intra-ileac contents were thoroughly ejected. Contraction activity of the spine HM-II might be due to two substances, HM-IIa and HM-IIb. Stimulating effect of the spine HM-II on the polymodal receptor of dog testis was kept longer than that of bradykinin. Vascular permeability in guinea pig skin was also increased by the spine HM-I-III.

5. The LM from the spines was found to contain two active substances; one was histamine and the other was protein or polypeptide (LM-I) with a molecular weight of several thousands. LM-I possessed activities such as pain-producing, ileum-contracting without tachyphylaxis, and vascular permeability-increasing. From these results, it was suggested that LM-I might be a kinin-like substance.

Fig. 1 Light microscopy (a-c) and scanning electron microscopy (SEM) (d-e) of *P. consocia*

- (a) A last-instar larva ($\times 3.2$)
- (b) Spines indicated by circle No.2 in (a) ($\times 60$)
- (c) A spicule removed from the cluster at circle No. 3 in (a) ($\times 110$)
- (d) and (e) SEM of spines located at the 1st abdominal segment (circle No. 1). Note that no holes are observable at the pointed ends of spines (arrows). (d, $\times 55$; e, $\times 180$)

Fig. 2 SEM of spicules

- (a) and (b) Lower magnification of the cluster of barbed spicules indicated by circle No. 3 in Fig. 1(a). Note that papillae (p) are seen under the spicules. (a, $\times 150$; b, $\times 140$)
- (c) Higher magnification of the distal ends of spicules. Note that there is no opening at their ends. ($\times 2,000$)
- (d) Proximal ends of spicules and papillae. Note that openings are seen in the papillae (arrows). ($\times 850$)
- (e) Proximal end of a spicule. Note that a hole-like structure is seen (arrow). ($\times 1,700$)
- (f) Spicules observed on the surface of cocoon. ($\times 80$)

Fig. 1

Fig. 2