ウサギ循環系に対する Gonyautoxins と Tetrodotoxin の作用の比較

(昭和 59 年 3 月 26 日受理)

勝田新一郎^{*1} 田場典治^{*2} 知見憲次^{*2}

Comparative Study on the Actions of Gonyautoxins and Tetrodotoxin on the Cardiovascular Function of Rabbits

Shin-ichiro KATSUDA^{*1}, Noriji TABA^{*2} and Kenji CHIMI^{*2}

(^{*1}Department of Physiology, Division II, Kobe University,
School of Medicine: 7-5-1, Kusunoki-cho, Chuo-ku, Kobe, Japan;

^{*2}Department of Animal Management, Kobe University,
School of Agriculture: 1-1, Rokkodai-cho, Nada-ku, Kobe, Japan)

The purpose of this study was to investigate toxic actions of gonyautoxins (GTXs), the major component of paralytic shellfish poison in Japan, on cardiovascular function and to compare the actions with those of tetrodotoxin (TTX). Circulatory effects of these toxins were assessed by means of electrocardiogram (ECG) and arterial pressure (AP) measurements in anesthetized intact rabbits. The ECG was measured with A-B lead and AP was measured in the aortic arch with a catheter-transducer system. The intravenous administration of GTXs or TTX produced hypotension. The latency of the hypotension due to GTXs was shorter than that due to TTX. In the ECG, GTXs induced sinus tachycardia, atrioventricular and intraventricular conduction defects which were prone to initiate paroxysmal ventricular tachycardia, fibrillation and flutter at large doses, while TTX caused sinus bradycardia and atrioventricular block only. However, the cardiovascular actions of GTXs were more transient than those of TTX.

(Received March 26, 1984)

Key words: 麻痺性貝毒 paralytic shellfish poison; テトロドトキシシン tetrodotoxin; ゴニオトキシシン群 gonyautoxins; ウサギ rabbit; 心電図 electrocardiogram; 心拍数 heart rate; 血圧 blood pressure

緒 言

麻痺性貝毒 paralytic shellfish poison (PSP) は、ホタテガイ、ムラサキイガイ、ハマグリなどの二枚貝に含まれている低分子の自然毒である。このものは、もともと植物プランクトン *Gonyaulax spp.* によって産生された毒物で、これを摂取した貝の中腸腺に蓄積されたものである¹⁾。その毒力はフグ毒 tetrodotoxin (TTX) に

匹敵し、シアン化ナトリウムの 1,000 倍にも相当するといわれている¹⁾。

PSP の成分として、現在, saxitoxin (STX), neosaxitoxin (neoSTX) 及び Gonyautoxin 群 (GTXs) が認められている¹⁾。さらに, GTX 群は GTX₁ から GTX₇ までの 7 種類に細分されている。日本における PSP の主成分は GTX 群であり, STX 及び neoSTX は微量成分に過ぎない^{1), 2)}。

PSP によるヒトの中毒症状は、その名のごとく、口唇、舌、四肢などのしびれ、知覚麻痺及び運動麻痺であり、重症の場合、呼吸困難や意識混濁が現われ死亡する

^{*1} 神戸大学医学部第二生理学教室：神戸市中央区楠町 7-5-1

^{*2} 神戸大学農学部家畜管理学教室：神戸市灘区六甲台町 1-1

という^{3)~5)}. PSP によるこれらの中毒症状は, TTX によるそれと酷似しているといわれている^{3)~6)}.

GTX 群の薬理作用については, STX^{3), 5), 7), 8)}と同様に神経細胞膜のナトリウムチャンネルを閉鎖して活動電位の発生を抑制し, 興奮伝導を阻害することが報告されている⁹⁾. さらに, その薬理作用についても TTX と酷似しているといわれており^{3), 5), 7)}, この点について Kao¹⁰⁾は, 両者に含まれるグアニジル基のナトリウムイオン透過性の阻害作用に原因があるのではないかと推定している.

しかしながら, GTX 群の循環機能に対する作用はまだ明らかでない. また, GTX 群中毒と TTX 中毒の識別は, その中毒症状の観察からでは困難である. そこで, 本実験では, それらの循環系に対する薬理作用における共通点及び相違点を明らかにすることを試みた. GTX 群及び TTX をそれぞれウサギに投与し, 心電図, 心拍数及び血圧を指標にして, 両者の循環機能に対する作用を比較検討した.

材料及び方法

1. GTX 群及び TTX 検液の調製

1) GTX 群検液

昭和55年6月に岩手県大船渡湾で採取した毒化ホタテガイの中腸腺から, 前報¹¹⁾と同様の方法によって PSP を抽出, 精製した. これについて, GTX₁, GTX₂ 及び GTX₃ が含まれていることをロ紙電気泳動法によって確認したうえで, 0.01 N 塩酸で溶解し, ddY 系マウスを用いてその毒力を検定⁹⁾したあと, 50.0 MU/ml (1 MU は体重 20 g のマウスを15分間で殺す毒量) に調製して検液とした.

2) TTX 検液

Tetrodotoxin 結晶製剤 (三共) をクエン酸ナトリウムを buffer にして水溶液とし, GTX 群と同様に ddY 系マウスを使用して毒力を検定⁹⁾したあと, 45.0 MU/ml (1 MU は体重 20 g のマウスを30分間で殺す毒量) に調製した.

2. 手術操作

実験動物は, 体重 2.0~3.5 kg の正常な日本白色種ウサギ52匹を雌雄の別なく使用した.

Pentobarbital sodium (Somnopentyl) 27.5 mg/kg をリンゲル液で 2~3 倍に希釈して耳静脈内に注射し, 麻酔下でウサギを背位に固定した. 血圧測定には左鎖骨下動脈を選んだ. 左鎖骨下縁に沿い, 約 2.0 cm の皮膚切開を施して被検動脈を露出した. ついで, 小鉗をもって被検動脈壁を斜に半分まで切開し, リンゲル液を満たした血圧測定用大口径カテーテルを, 切り口からその先端が大動脈弓に達するまで静かにそう入した. なお, 血液凝固阻止剤として heparin をカテーテル内に注入するとともに, 循環血液内にも投与 (500 U/kg) した.

3. 実験操作

被検毒物の投与は, GTX 群については 3.0, 5.0 及び 7.0 MU/kg を, TTX については 3.0, 5.0, 7.0, 11.3 及び 18.0 MU/kg をそれぞれ一定速度の耳静脈内への注射で行った.

心電図の記録は, 動物の頸部及び胸部に針電極を刺入し, A-B 誘導法によって, 毒物投与前15分から投与後60分の間に行った. 電極より導出した電位変化を, 増幅器を介してオシロスコープで観察しながら, 電磁オシログラフによって適宜記録した.

血圧は, 毒物投与の15分前から投与後60分の75分にかけて記録した. カテーテルの他端に接続したトランスデューサによって被検動脈の血圧を検出し, 増幅器, オシロスコープを介して平均血圧 (各心拍周期における最高血圧と最低血圧の平均値) をペンレコーダで連続的に記録した.

こうして得られた心電図の R-R または S-S 間隔を計測して心拍数を算出し, また, 血圧曲線からは潜時, 最大下降度及び回復時間を計測し, それぞれについて考察を加えた.

結 果

1. 心臓に対する作用

1) GTX 群

心電図が正常であることを確かめたあと, 毒物を静脈内に注射して心電図の連続検査を行った. Fig. 1 に, GTX 群の投与前並びに投与後に21匹の動物で得られた心電図の中から代表的なものを一例ずつ示した. また, Table 1 には, GTX 群投与に対する心拍数の変化を示した.

GTX 群 3.0 MU/kg 量を静脈注射すると, Fig. 1, B に示したように, P-R 及び QRS 間隔の延長がみられたが, 投与後3分を経過すると, 完全に投与前の波形に回復した. しかし, この場合, 心拍数にはほとんど変化を認めなかった. 5.0 MU/kg では, 投与後 8~15 秒で 3.0 MU/kg 投与時と同様に P-R 及び QRS 間隔の延長が現われた (Fig. 1, C). また, 心拍数が Table 1 に示したように増加し, そのために P 波は先行する T 波に重畳することが観察された.

7.0 MU/kg 投与時では, 投与後 5~12 秒で, Fig. 1, D に示したような発作性心室性頻拍が出現した. 11 例中 7 例においては, この頻拍はさらに心室細動及び心室粗動に移行し (Fig. 1, E), うち 5 例は急性心不全によって投与後 15 分以内に死亡した. 11 例中残りの 6 例においては, 心電図はその後, 5.0 MU/kg 投与の場合と同様の波形を呈し, ついで, P 波と T 波の重畳が徐々に分離して投与前の波形に回復した.

2) TTX

Fig. 2 に, 31 匹の動物に TTX を投与した際に得られた心電図の典型例を示した. また, それに伴う心拍数

Fig. 1. Typical recordings of the electrocardiogram (ECG) in response to GTXs

GTXs were administered intravenously in doses of 3.0, 5.0 and 7.0 MU/kg, respectively. The ECGs were recorded by A-B lead in intact four rabbits.

A, control; B, prolongation of P-R and QRS intervals (3.0 MU/kg); C, sinus tachycardia with prolonged P-R and QRS intervals (5.0 MU/kg). The P wave was seen before completion of the T wave of the preceding cycle. D, paroxysmal ventricular tachycardia (7.0 MU/kg); E, ventricular fibrillation and flutter (7.0 MU/kg).

Table 1. Effects of GTXs on Heart Rate (HR) and Mean Arterial Pressure (MAP)

Dose (MU/kg)	Maximum HR change (%) [*]	Maximum MAP fall (%) ^{**}
3.0	99.4±1.4	9.9±6.4
5.0	108.2±2.4	23.0±8.7
7.0	112.3±2.4	58.6±13.9

* Mean±S.D., HR before the administration of GTXs was taken as 100.0%

** Mean±S.D., MAP before the administration of GTXs was taken as 100.0%.

の変化を Table 2 に示した。3.0 及び 5.0 MU/kg の投与では、心電図及び心拍数に著明な影響は認められない。7.0 及び 11.3 MU/kg では、投与後 30~60 秒で洞性徐脈 (Fig. 2, B) の出現がみられた。よって、心拍数

Fig. 2. Typical recordings of the ECG in response to TTX

TTX were administered intravenously in doses of 3.0, 5.0, 7.0, 11.3 and 18.0 MU/kg, respectively. The ECGs were recorded by A-B lead in intact two rabbits.

A, control; B, sinus bradycardia (11.3 MU/kg); C, second degree atrioventricular block (18.0 MU/kg).

Table 2. Effects of TTX on Heart Rate (HR) and Mean Arterial Pressure (MAP)

Dose (MU/kg)	Maximum HR change (%) [*]	Maximum MAP fall (%) ^{**}
3.0	99.8±0.9	6.9±1.6
5.0	95.5±3.0	17.5±6.7
7.0	90.6±3.1	33.1±3.5
11.3	85.7±3.7	45.3±3.5
18.0	78.6±2.6	61.8±3.9

* Mean±S.D., HR before the administration of TTX was taken as 100.0%.

** Mean±S.D., MAP before the administration of TTX was taken as 100.0%.

は Table 2 に示したように減少を示した。

18.0 MU/kg の大量投与を行った場合は、8 例中 4 例が呼吸困難を起こし、うち 3 例は死亡した。心電図には著しい洞性徐脈がみられ、また、第 2 度の房室ブロック (Fig. 2, C) が出現したものもあった。しかしながら、死亡例も含めて GTX 群で観察されたような発作性心室性頻拍、心室細動及び心室粗動などは認められなかった。

2. 血圧に対する作用

1) GTX 群

Fig. 3 に 3.0, 5.0 及び 7.0 MU/kg の GTX 群投

Fig. 3. Mean arterial pressure response to GTXs

GTXs were administered intravenously at the arrows in doses of 3.0 (A), 5.0 (B) and 7.0 MU/kg (C), respectively.

Fig. 4. Mean arterial pressure response to TTX

TTX were administered intravenously at the arrows in doses of 3.0 (A), 5.0 (B), 7.0 (C), 11.3 (D) and 18.0 MU/kg (E), respectively.

与に対する平均血圧の応答を示した。

また、Table 1 には投与前を 100% とした平均血圧の最大下降度の平均値と標準偏差を示した。3.0 MU/kg の投与では、平均血圧は軽度の下降を示したが、投与後 2~3 分で正常となった。5.0 MU/kg では、投与後 8~17 秒で平均血圧は下降を開始し、約 90 秒後に投与前の平均 23.0% の下降度を示した。その後、3~6 分で投与前の値にまで回復した。7.0 MU/kg を投与すると、平均血圧は 4~12 秒で急速に下降し、なかには一時的に 30 mmHg に低下した例もみられた。しかしながら回復は速やかで、投与後 10 分以内には正常値を示した。

2) TTX

Fig. 4 は TTX を 3.0, 5.0, 7.0, 11.3 及び 18.0 MU/kg を投与したときの平均血圧の応答を示したものであり、Table 2 は平均血圧の最大下降度の平均と標準偏差を百分率で示したものである。3.0 MU/kg の投与では、平均血圧はほとんど影響されないが、5.0 MU/kg 以上の投与では、投与量を増すのに平行して下降度と持続時間が増大した。とくに 18.0 MU/kg の投与では、著しい血圧下降 (36 mmHg まで低下) を示し、この状態は約 10 分間も持続した。毒物投与後、血圧下降が開始するまでの時間 (潜時) 及び回復時間も用量に依存する傾向を示した。潜時については 5.0 MU/kg 以上の投与に対し、それぞれ 24~33, 13~22, 11~18, 7~12 秒を示した。又、回復時間についても同じく、3~6, 6~10, 11~15 分であり、18.0 MU/kg の投与では約 60 分も要した。

考 察

PSP による中毒症状とその薬理作用は一般に TTX のそれに酷似している³⁻⁶⁾。本実験においても、GTX 群及び TTX はいずれも一過性の血圧下降作用を示した。しかしながら、心臓機能に対する作用においては、両者の間にいくつかの相違点がみられた。すなわち、TTX の投与では、洞性徐脈及び房室ブロック以外の病的な心電図所見はほとんど認められなかった。これに対し、GTX 群の投与では、洞性頻脈、房室ブロック及び心室内伝導障害が見られ、大量投与の場合、これらの不整脈は発作性心室性頻拍、心室細動及び心室粗動に移行した。また、毒物投与後、異常心電図及び血圧下降が起るまでの時間は、GTX 群投与の場合の方が短く、その時間は大量投与の場合を除き TTX の約 1/2 であった。このことは、ウサギの心臓-血管系が GTX 群に対する強い感受性を、TTX に比べて有することを示唆している。

TTX の降圧作用の機序についてはいくつかの報告¹²⁾⁻¹⁴⁾がある。それによると、TTX により交感神経の興奮伝導が抑制されるために、洞性徐脈並びに末梢血管拡張が起こり、これが原因となって血圧下降が現われるという。しかし、GTX 群による降圧作用の機序につい

てはまだ報告されていない。上述したように本実験において、GTX 群投与後 4~15 秒の短時間で病的な心電図や血圧下降が観察された。この時間は、血液の体循環に要する時間よりはるかに短いため、GTX 群は心臓に対して直接的な作用を有するかもしれない。その作用機序の詳細については今後の研究に期待せねばならないが、GTX 群投与は房室間及び心室内伝導障害を招来し、大量では、発作性心室性頻拍、心室細動及び心室粗動などの重篤な不整脈を誘起することには注目しておきたい。また、急速かつ一過性の血圧下降は、前述した重篤な不整脈により心臓のポンプ機能が一時的に失われ、心拍出量が著しく減少することが一因をなしていると思われる。この場合、平均血圧下降値の標準偏差が増大するが、これは重篤な不整脈の持続時間の差による心拍出量の増減が関与していると考えられる。

最近では、巻貝による麻痺性中毒の原因が TTX であるという報告¹⁵⁾もあり、今後 GTX 群や TTX が様々な魚介類より検出される可能性もある。麻痺性中毒が発生すると、その原因となる毒物が何であるかによってその対策にも相違が生じて来るので、毒物の同定は重要な意義を持っている。今のところ日本における麻痺性中毒の原因の大部分は GTX 群と TTX に限られている。毒物を同定する手段として、化学的及び生物学的手段があり、後者においてはマウスの腹腔内投与による中毒症状の観察及び致死時間の差が用いられている⁹⁾。毒物の抽出、精製過程では化学的手段によらねばならないが、本実験で用いた心電図検査も GTX 群、TTX のいずれであるかを生物学的に同定する一助になるかもしれない。

要 約

麻痺性貝毒の主成分である gonyautoxin 群 (GTXs) を毒化ホタテガイより抽出、精製し、これについて、心電図、心拍数及び血圧を指標にしてウサギ循環系に対する影響を検討した。また、tetrodotoxin (TTX) による循環機能に対する影響もあわせて検討を行った。

1) GTX 群あるいは TTX の静脈内投与は、いずれも一過性の血圧下降現象を誘起した。

2) GTX 群投与では、P-R 及び QRS 間隔の延長、発作性心室性頻拍、心室細動及び心室粗動などの病的な心電図所見が得られた。しかし、TTX 投与では、洞性徐脈、房室ブロック以外に著しい病的所見はみられなかった。

3) 毒物投与後、血圧下降や不整脈の起こるまでの時間は、用量依存性であるが、全体として GTX 群において短いことが観察された。

文 献

- 1) 野口玉雄, 橋本周久: 医学のあゆみ, **112**, 861~870 (1980).
- 2) 清水 譲: 化学と生物, **18**, 792~798 (1978).
- 3) Evans, M. H.: *Int. Rev. Neurobiol.*, **15**, 83~166 (1972).
- 4) Halstead, B. W.: "Poisonous and Venomous Marine Animals of the World" p. 1~996 (1965) V. S. Government Printing office, Washington, D. C.
- 5) Kao, C. Y.: *Pharmac. Rev.*, **18**, 997~1049 (1966).
- 6) 厚生省環境衛生局 (監修): 食品衛生検査指針 II 「食品別」 p. 232~244 (1978) 日本食品衛生協会.
- 7) Evans, M. H.: "In Proc. First Internat. Conf. on Toxic Dinoflagellate Blooms. LoCerro, V. R. ed" p. 337~345 (1975) Wakefield, New York.
- 8) Narahashi, T., Haas, H. G., Therrien, E. F.: *Science*, **157**, 1441~1442 (1967).
- 9) Narahashi, T.: "In Proc. First Internat. Conf. on Toxic Dinoflagellate Blooms. LoCerro, V. R. ed" p. 395~402 (1975) Wakefield, New York.
- 10) Kao, C. Y., Fuhrman, F. A.: *Toxicol.* **5**, 25~34 (1967).
- 11) 知見憲次, 奥田輝雄, 丸山武紀, 兼松 弘, 新谷 勘, 森田 茂, 山田明男: 食衛誌, **24**, 125~129 (1983).
- 12) Kao, C. Y., Nagasawa, J., Spiegelstein, M. Y., Cha, Y. N.: *J. Pharmac. Exp. Therap.* **178**, 110~121 (1971).
- 13) Feinstein, M. B., Paimre, M.: *Circ. Res.* **23**, 553~565 (1968).
- 14) Cheng, C. P. K., Cheng, K. K. and Wang, J. C. C.: *J. Pathol.*, **100**, 121~126 (1970).
- 15) 丸山純一, 野口玉雄, 銭重 均, 山崎公男, 橋本周久: 食衛誌, **24**, 465~468 (1983).