

ハオコゼ刺棘のタンパク毒

中 川 秀 幸

徳島大学総合科学部

A Protein Toxin (Karatoxin-1) from the Redfin Velvetfish *Hypodytes rubripinnis*

HIDEYUKI NAKAGAWA

Department of Life Sciences, University of Tokushima, Tokushima 770-8502, Japan

ハオコゼ *Hypodytes rubripinnis* (図1) は体長5から8 cmの小型の魚で、浅瀬の海藻の中に潜って生活をしている。体色から海金魚とも呼ばれ、観賞用に飼育されるが、刺毒魚の仲間である。ハオコゼは背ビレに14本、腹ビレに2本、臀ビレに3本の刺棘を持っているので、これに刺されると激痛が走り指などは腫れ上がり、熱がでることもある。このため、ハオコゼによる刺傷の原因物質を見つけることは医学的ならびに生物学的にも重要な課題と考えられる。本研究では広島産ハオコゼの背ビレ毒棘からのタンパク毒の分離・精製と生物活性について、これまで得られた結果を報告する。¹⁻³⁾

1) 方法

1997年9月に広島県沿岸で採集したハオコゼ154個体から、各々背ビレを分離し生理食塩水でタンパク画分の抽出を行い、毒棘抽出標品(2 mg/個体)とした。毒棘糖タンパク質は粗標品をゲル濾過およびRP-HPLCあるいはアフィニティークロマトグラフィーにより分画・精製した。赤血球の凝集活性および溶血活性はウサギ赤血球を用いて測定し、マイトジェン活性および細胞毒性はそれぞれマウス脾細胞、マウス由来白血病細胞

(P388)を用いてMTTの取り込み量により測定した。肥満細胞の脱顆粒反応はラット腸間膜切片のトルイジンブルー染色により、光学顕微鏡下で観察した。なお、タンパク質含量の測定はBradford法により行った。

2) 治療

ハオコゼ刺傷の治療は、広島県深江の長坂壽訓医師(共同研究者)の処置例である(図2)。治療は、経験的に患者が受傷した際の刺棘による傷によって(毒の量を推定して)行った。例えば、足指の刺傷の場合、2%塩酸リドカインの筋肉内注射(1 ml)で痛みを和らげ、

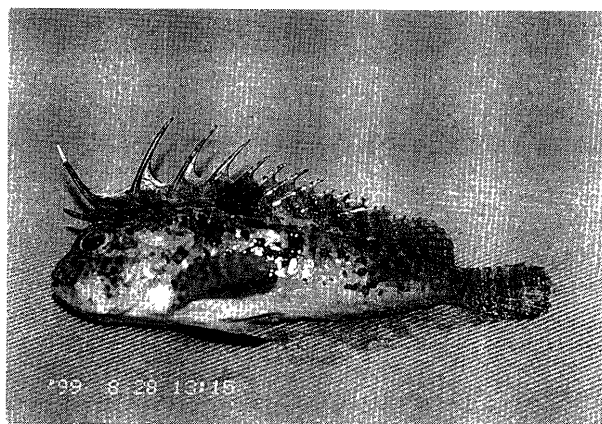
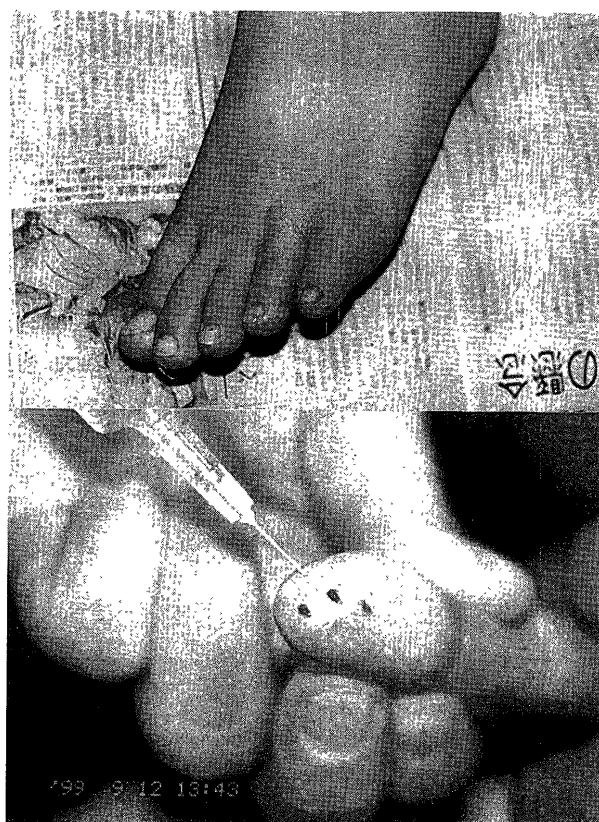
図1 ハオコゼ *Hypodytes rubripinnis*, 体長約10 cm

図2 ハオコゼによる足指の刺傷と指の治療

腫脹の程度などによりステロイドを含んだ外用薬や抗ヒスタミン薬を使用した。通常の刺傷ではこのような処置で症状は殆ど緩解した。重症例として、子どもの受傷時におけるショックにはステロイド (15 mg) 含有の補液あるいは塩酸ドブタミン (100 mg) の点滴静脈内注射を行った。長坂医院では毎年、海の生物による刺傷などの治療は6月から9月まで20数件を越え、殆ど応急処置であったが、入院の場合もあった。

3) 結果および考察

粗抽出標品はモルモット腸管平滑筋に対して収縮作用を示さず、ウサギ赤血球では凝集反応を起こさなかったが、弱い溶血反応を示した。ラット腸間膜肥満細胞の脱顆粒反応は Compound 48/80 ($1 \mu\text{g/ml}$) による反応に比べて弱く、粗標品の高濃度 (200 から $400 \mu\text{g/ml}$) において脱顆粒反応を引き起こした。このことから、刺傷による痛みはヒスタミン遊離以外の機構が示唆された。一方、粗標品は低濃度からマウス脾細胞に対してマイトジェン活性を示すが、高濃度では P388 に対して弱い細胞毒性も示した。そこで、粗標品をゲル濾過した結果、回収した画分 P-I と P-III はマイトジェン活性を示したが、P-II は活性を持たなかった。P-II は P388 に対して細胞毒性を持つことがわかったので、RP-HPLC で細胞障害性因子の精製を試みた。その結果、画分 II-1, II-2 および II-3 を回収したが、いずれの画分も細胞毒性を示さなかった。一方、粗標品を Phenyl-Sepharose CL-4B カラムで分画した吸着画分は細胞毒性を示したので、更に Concanavalin A Sepharose 4B カラムで分画を行った。回収した吸着画分は細胞毒性を持ち、native

PAGE では分子量 11 万の位置に単一のバンドを示した。³⁾ このマンノース含有の糖タンパク質を Karatoxin-1 と名付けた。Karatoxin-1 は N 末端アミノ酸がアスパラギン酸で、12 残基のアスパラギン酸まで分析された。

Karatoxin-1 の細胞毒性の作用機序についてはアポトーシスについて検討中である。一方、非吸着画分はマイトジェン活性を持ち、レクチンを含有することが示唆された。以上の結果から、ハオコゼ刺棘のレクチン画分は炎症性のタンパク毒である可能性が考えられ、Karatoxin-1 は炎症の増感因子としての可能性が示唆される。今後の課題として、培養細胞などにおける活性発現の解析や痛みに関する実験などが挙げられる。

謝 辞

本研究は、深江長坂医院の研究助成により実施された。

文 献

- 1) Nakagawa H, Yamaguchi C, Yamada H, Nagasaka K, Nagasaka T. Preliminary study on the venom of scorpionfish, *Hypodytes rubripinnis*. *Comp. Physiol. Biochem.* 1995; **12**: 339.
- 2) Satoh F, Nakagawa H, Yamada H, Nagasaka K, Nagasaka T, Araki Y, Tomihara Y, Nozaki M, Sakuraba H, Ohshima T, Hatakeyama T, Aoyagi H. Fishing for bioactive substances from scorpionfish and some sea urchins. *J. Natural Toxins* 2002; **11**: 297-304.
- 3) Nakagawa H, Satoh F, Kagota H, Hiraga K, Nagasaka K, Nagasaka T, Sakuraba H, Ohshima T. Isolation of a cytotoxic factor from the dorsal spines of the redfin velvetfish, *Hypodytes rubripinnis*. *J. Pharmacol. Sci.* 2003; **91**: Suppl. 130p.