

主題3：オピオイド研究の進歩と問題点

3-1

κ -オピオイド受容体アゴニストの合理的設計と合成

○長瀬 博、早川 潤、河合孝治、川村邦昭、松浦博敏、田嶋知子、
竹澤優子、遠藤 孝

東レ（株）基礎研究所

1. はじめに

近年、オピオイド受容体に3つのタイプ μ 、 δ 、 κ が提唱され、それぞれのタイプの薬理作用が精力的に研究されるようになった。その中で κ 受容体は、U-50488Hが比較的早期に合成されたために δ 受容体よりも早く研究が進んできた。しかし、U-50488Hが κ 作動薬として認知されたことにより、この化合物の有する性質すべてが κ 作動薬の性質であるかのように思われている感がある。一方、U-50488Hには内因性オピオイド特有なN-末端であるチロシン-グリシンの部分構造（モルヒネに代表される古典的な非ペプチド性作動薬はその部分構造を有している）がないため、我々はこの化合物が真のオピオイドかどうか疑問をもってきた。このような背景下で我々は、ミネソタ大学において、メッセージアドレスの概念（図1）を見出し、 κ の拮抗薬であるnorBNIを合成した（図2）^{1) 2) 3)}。norBNIはオピオイド特有のN末端構造を有しており、 κ 拮抗薬活性、選択性も高い。そこで、このnorBNIを参考にして作動薬をデザインできれば、真の κ 作動薬が得られると考えた。以下にそのデザインと合成、薬理活性を示す。

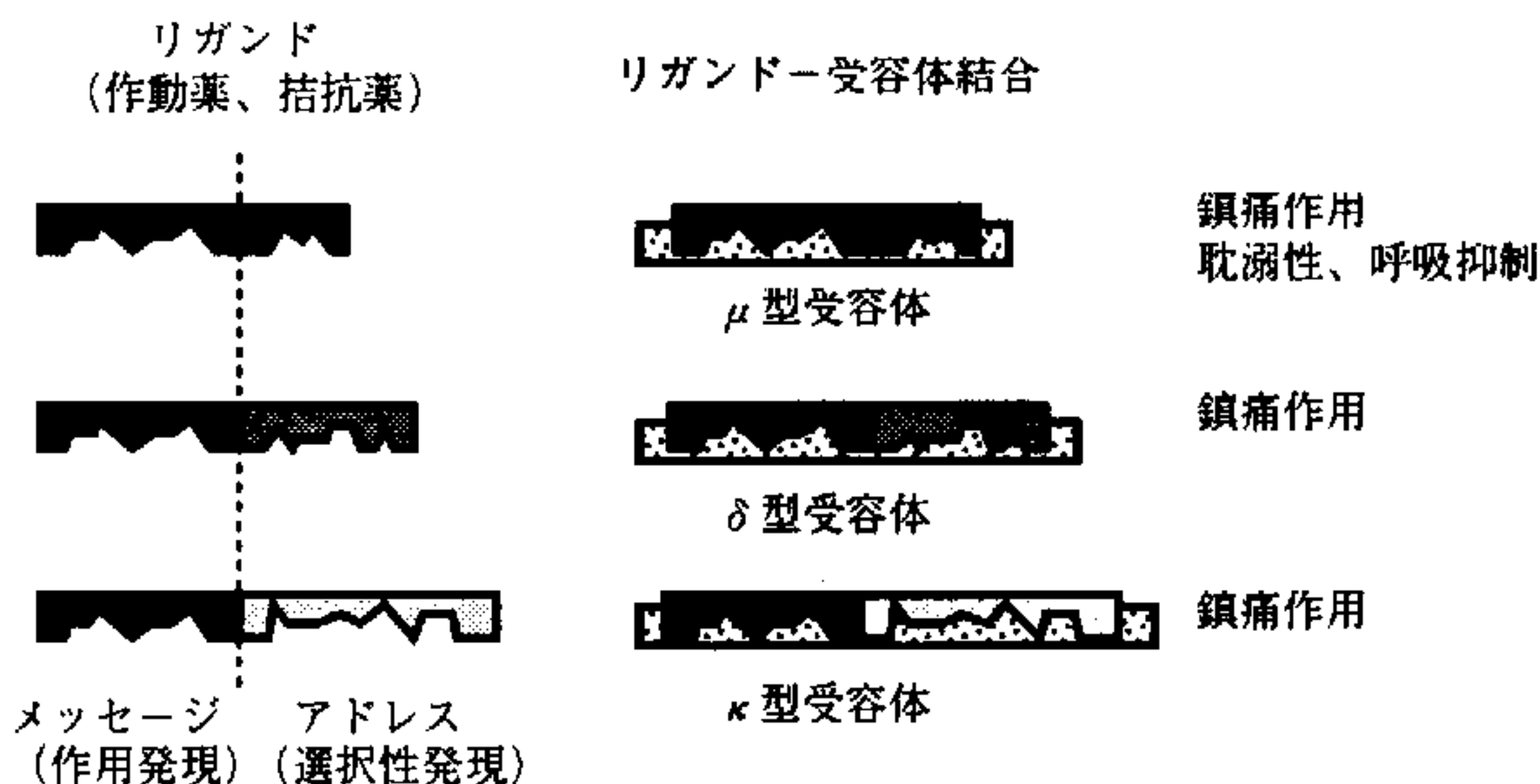


図1 "メッセージアドレス" 概念図 (Portoghese、長瀬)

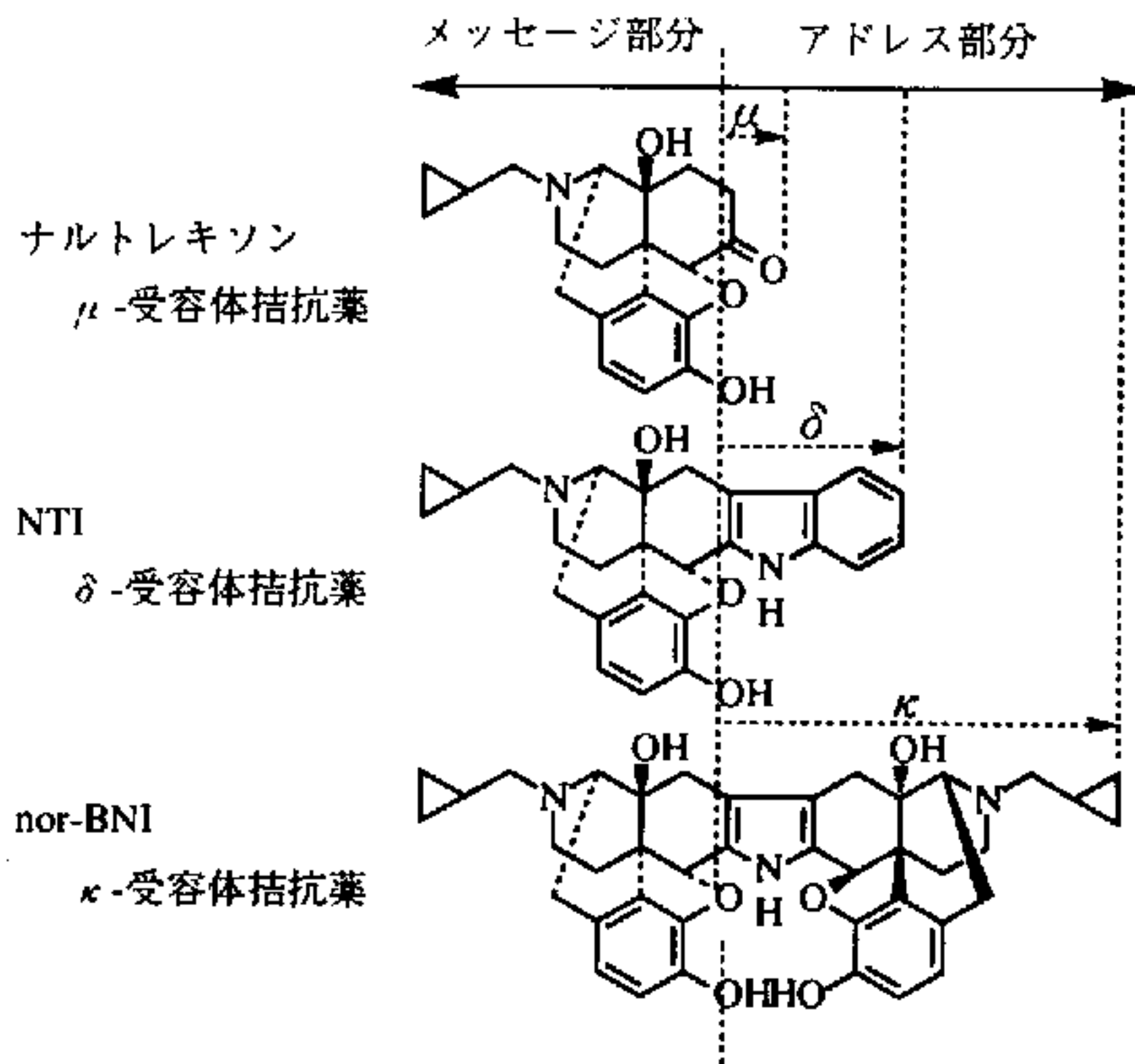
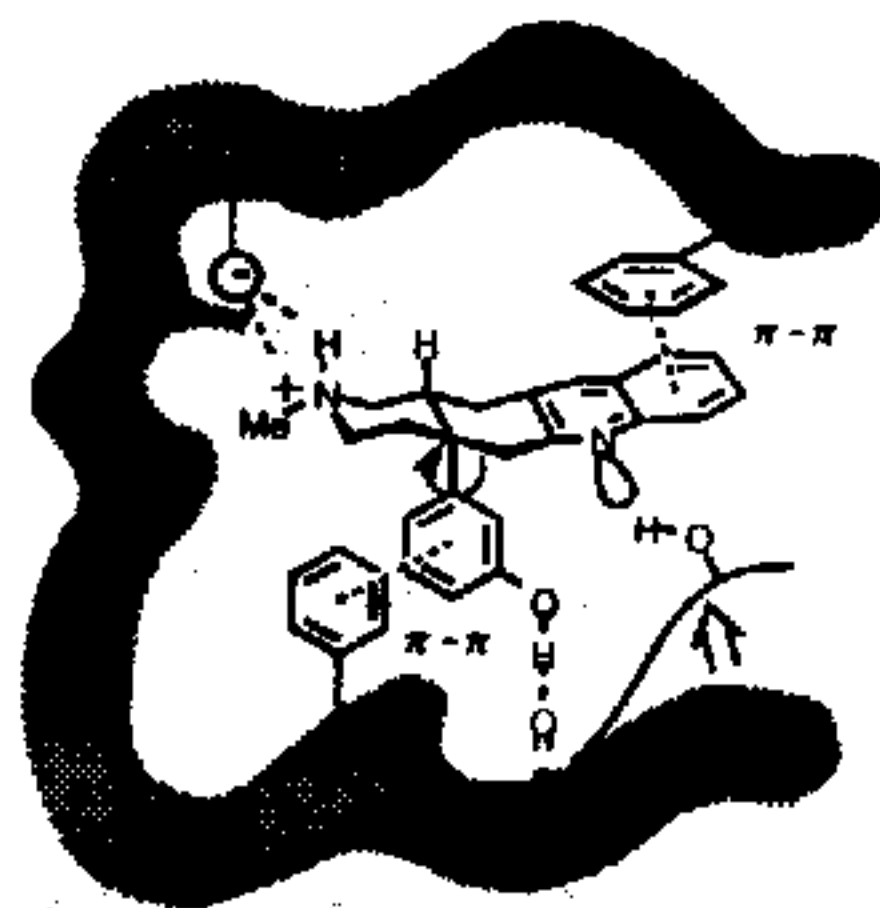


図2 合成した拮抗薬とメッセージアドレスの概念

2. 合理的設計

昨年の本討論会において非ペプチド性の δ 作動薬を δ 拮抗薬であるNTIからデザインするにあたり、作動薬と拮抗薬の構造上の違いに注目した。すなわち、拮抗薬はアクセサリー部位を有しているため、作動薬に比べ大きな構造を有している⁴⁾。そこでこのNTIからアクセサリー部位を除去することにより、 δ の作動薬をデザインし、TAN-67の合成に成功したことを報告している⁴⁾。前回はさらにオピオイド共通のファーマコフォー結合として図3に示すようなイオン結合、 $\pi-\pi$ 結合、フェノールの水酸基による水素結合に加え、キノリンの窒素原子と δ 受容体との水素結合も考慮した。



TAN-67
 δ -agonist

図3

今回、 κ 作動薬をデザインするにあたり、同様な方法を考慮することにした。すなわち、図4に示すようにnorBNIからアクセサリー部位を除去し、スリムな構造に

する方針を立てた。

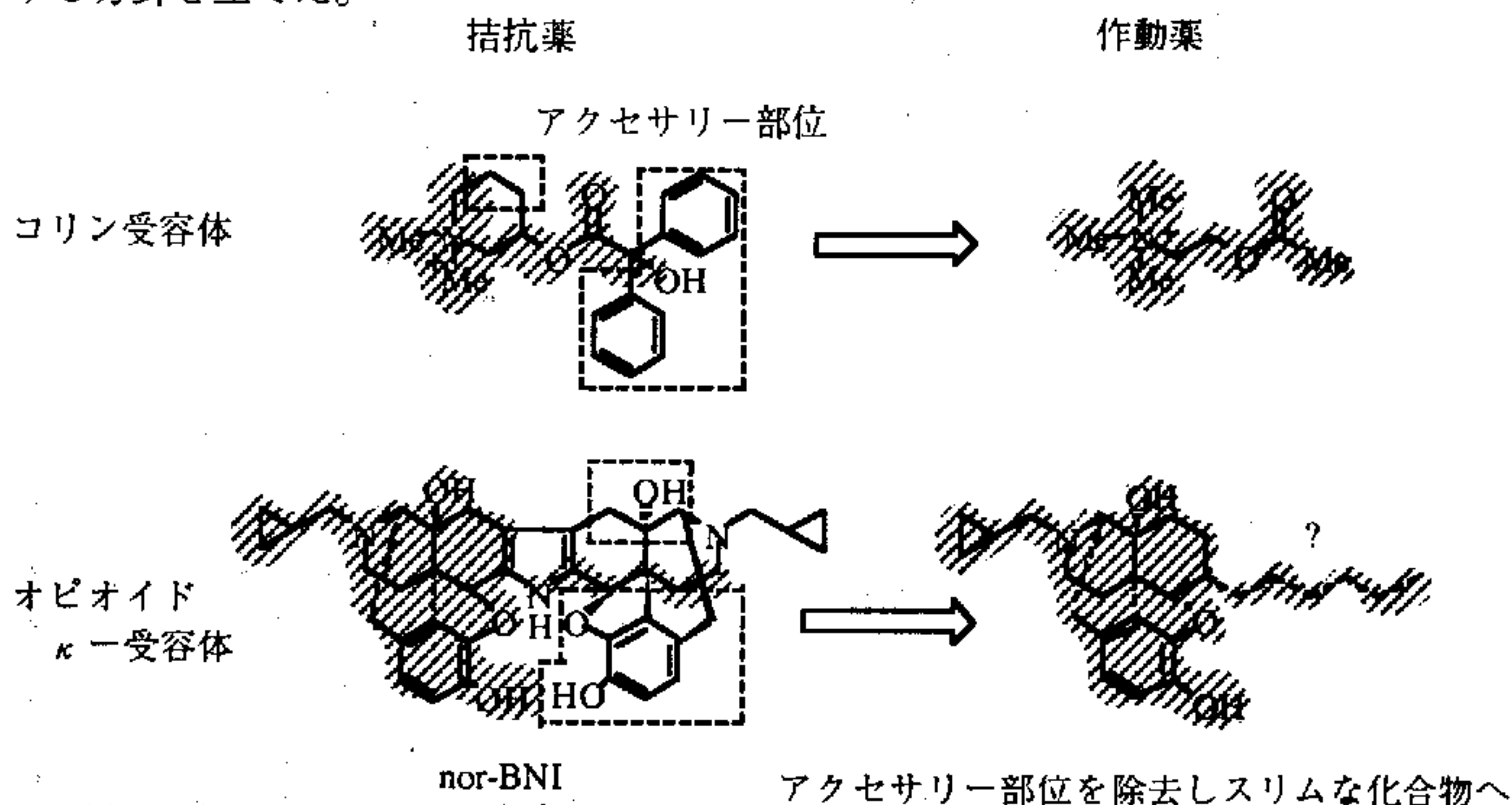


図4 κ 作動薬の合成デザイン (その1)

実際にはどこがアクセサリー部位に相当するか厳密に想像することは困難なので、考えられる部分を除去した化合物を数十個合成し、構造活性相関を検討した(図5)。

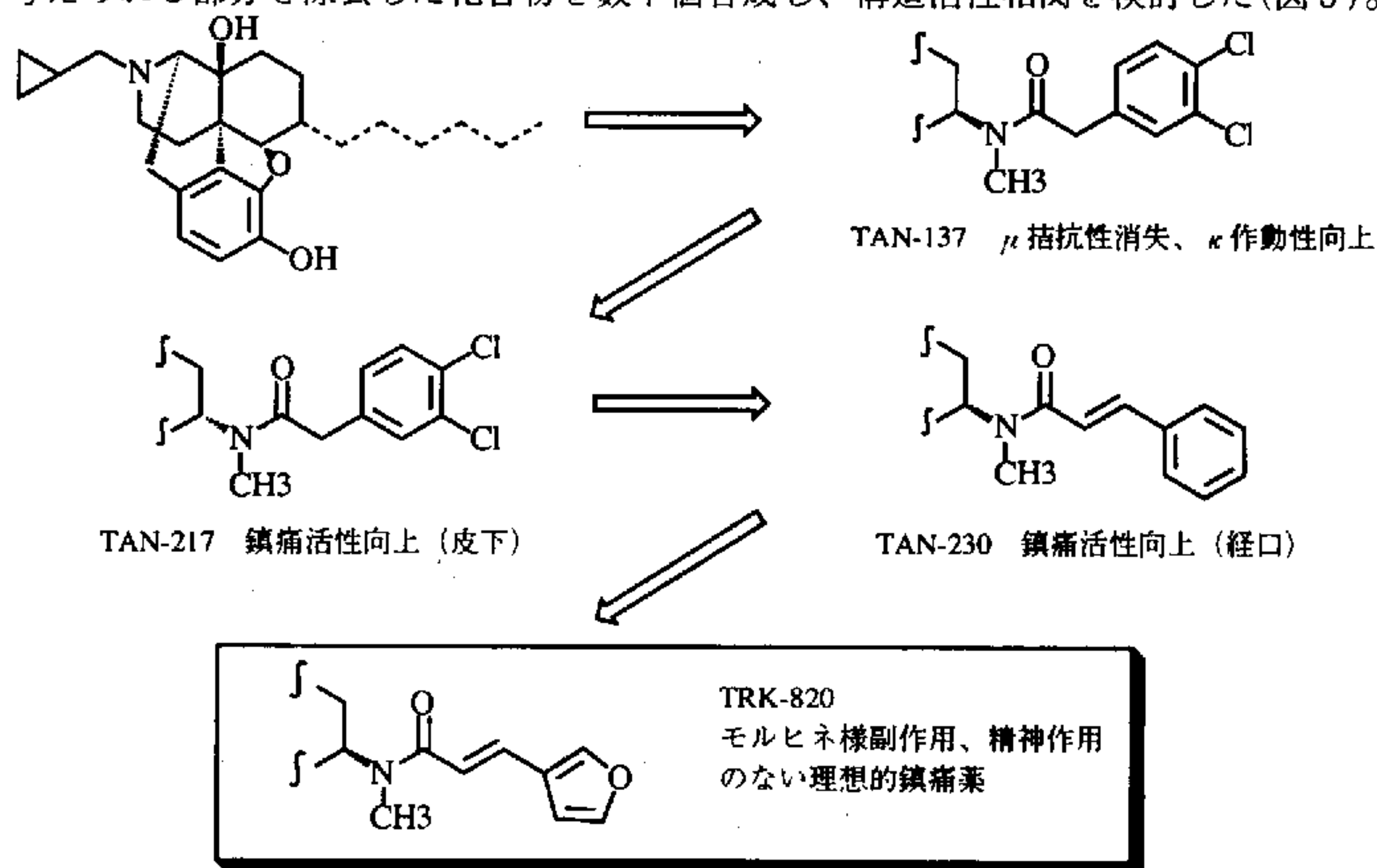


図5 κ 作動薬の合成デザイン

その際には、鎮痛活性、 κ 受容体選択性、副作用等を考慮し、最終的にはTRK-820という化合物に到達した。TRK-820の構造と他社の開発中の代表的な κ 作動薬の構造を図6に示した。

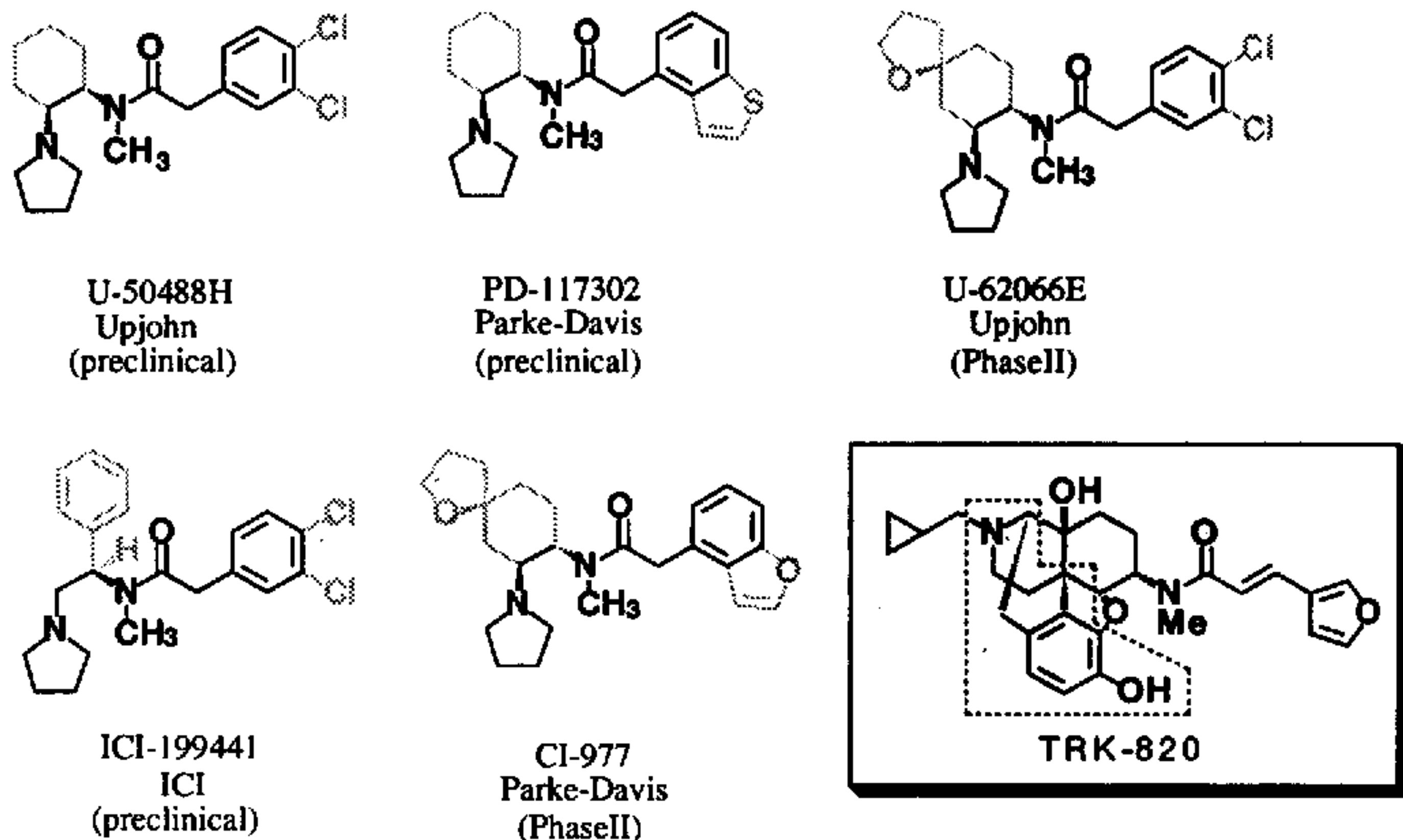


図6 代表的 κ 作動薬の構造

この図からわかるように、他社の化合物は太線の部分がU-50488Hの部分構造を有し、すべて類似の構造である。一方、TRK-820は独自の構造をもち、冒頭で述べた内因性オピオイドの部分構造であるチロシン-グリシン部分に生合成的に由来していると考えられる構造を有している（点線部分）。

3. 薬理作用

以上のようにしてデザインした化合物のマウスの輸精管を用いる実験においてアゴニスト活性、 $IC_{50} = 0.036$ nMを示し、ナロキソン、NTI、norBNIの拮抗作用はそれぞれ K_e 値、378 nM、276 nM、0.41 nMで、 $\mu/\kappa = 917$ 、 $\delta/\kappa = 670$ 倍であった。また、モルモット回腸による実験において $IC_{50} = 0.004$ nM、 $\mu/\kappa = 1000$ 倍を示し、高い κ 受容体選択性を有することが示された。

表1 MVD試験

Compounds	Naloxone	NTI	nor-BNI	κ -selectivity	
	(μ)	(δ)	(κ)	μ/κ	δ/κ
	Ke (nM)				
TRK-820	378	276	0.412	917	670
U-50488H	25.5	49.8	0.192	134	262
Morphine	2.41	8.01	21.7	0.11	0.37

種々の刺激を用いる疼痛モデルに対する鎮痛効果の試験で表2に示すような結果が得られた。いずれもモルヒネやU-50488Hより強い作用を示している。

表2 種々の刺激に対する鎮痛効果 (ED₅₀値; mg/kg, s.c.)

化合物	化学刺激		熱刺激		機械刺激	
	酢酸writhing マウス	尾部熱刺激 マウス	熱板刺激 マウス	尾部圧刺激 マウス	足肢圧刺激 ラット	
TRK-820	0.0044	0.12	0.14	0.009	0.25	
U-50488H	1.4	5.2	35.4	0.47	-	
Morphine	0.6	5.3	14.4	1.5	2.6	

4. 結論

以上のようにメッセージアドレスの概念とアクセサリ部位の考え方に基づき、 κ 受容体の作動薬をデザインし、既存の κ 作動薬であるU-50488Hと全く異なる構造を有し、内因性のオピオイドの特徴であるチロシン-グリシンの部分構造をもつ新規な作動薬の合成に成功した。我々の κ 作動薬は、選択性、活性共に既存の作動薬より優れ、鎮痛作用もモルヒネ、U-50488Hを凌いでいる。

引用文献

- 1) 「オピオイド」化学増刊、化学同人、120、151、1991年。
- 2) P. S. Portoghese, M. Sultana, H. Nagase, A. E. Takemori, J. Med. Chem., 31, 281 (1988).
- 3) 「創薬化学」Medicinal Chemistry、野崎正勝、長瀬博共著、化学同人、1995年。
- 4) 鎮痛薬・オピオイドペプチドシンポジウム講演要旨、1995年。

3-2 3-acetoxy-6 β -acetylthio-10-oxo-N-cyclopropylmethyl-dihydronormorphine (KT-95)の薬理作用について

○細木るみこ、新澤伸一、小池勝夫、鈴木勉、高柳一成
東邦大学薬学部薬理学教室

中枢や末梢において、その生物学的及び薬理的性質に基づき3種のアピオイド受容体サブタイプ、即ち μ 、 κ 及び δ 受容体の存在が知られている。最近になり、 κ -受容体アゴニストは身体依存性及び呼吸抑制作用の非常に少ない有用な鎮痛薬となり得ると考えられている (Cowan *et al.*, 1988)。

先にTakayanagiら(1990)は、(-)-3-acetyl-6 β -acetylthio-N-cyclopropylmethylnormorphine (KT-90)がモルヒネより約10倍強い効力を示すことを報告した。この化合物は κ -アゴニストであり、しかも μ -及び δ -受容体拮抗作用も持つことから副作用の少ない強力な鎮痛薬となり得る可能性が示された。Ketocyclazocineやethylketocyclazocineのような κ -受容体に選択的な薬物は一般的にbenzyl基のところにoxo基を持つことから κ -受容体との親和性に関与していると考え、我々のグループは、N-cyclopropylmethyl-(-)-6 β -acetylthiodihydronormorphineの10位にoxo基を導入した化合物である3-acetoxy-6 β -acetylthio-10-oxo-N-cyclopropylmethyl-dihydronormorphine (KT-95、Fig. 1)を新たに合成した(Sagara *et al.*, 1995)。そこでKT-95のアピオイド受容体に対する薬理学的特性について検討を試みた。

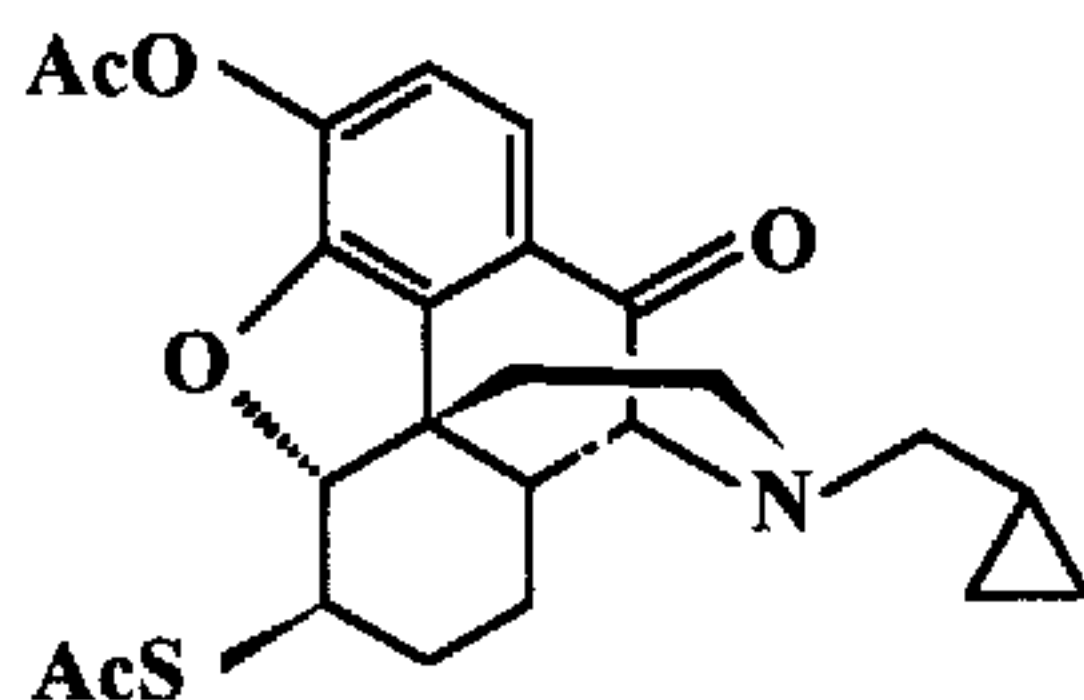


Fig. 1 KT-95の構造

【実験方法】

1. 機械的反応

体重250-300gの雌性Hartley系モルモットより回腸縦走筋、体重2-3kgの雄性白色家兎及び体重20-30gの雄性ddY系マウスより輸精管を摘出し、37°Cに保温し95%O₂+5%CO₂の混合ガスを通気したKrebs溶液で満たしたオルガン槽内に懸垂し、フィールド刺激を行った。生じたtwitch反応は、等尺性に記録した。

2. 結合実験

体重200-250gの雄性Wistar系ラットより小脳を除く全脳を摘出し、Cotman and Matthews (1971)の方法に従い粗シナプトソーム分画を調製した。放射性リガンドとして[³H]naloxone (μ-選択的リガンド)、[³H]U69593 (κ-選択的リガンド)及び[³H]DADLE (δ-選択的リガンド)を用い、置換曲線を求めた。

3. 鎮痛試験 (後肢加圧法)

体重200-250gの雄性Wistar系ラットを用いた。ラットに被験薬物を皮下投与(0.1ml/100g)し、足圧痛法(Randall and Selitto, 1957)により圧刺激鎮痛効果測定装置を用いて足蹠の疼痛閾値を測定することによりその鎮痛活性を得た。即ち、薬物投与30分前の疼痛閾値を1として、薬物投与30分後の疼痛閾値を算出し、鎮痛係数(Analgesic Index)とした。

【実験結果及び考察】

KT-95はモルモット回腸縦走筋において電気刺激によるtwitch反応を濃度依存的に抑制し、そのpD₂値は9.09±0.06であり、モルヒネの約17倍、KT-90の約4倍強い効力を示した(Fig. 2A)。そこで選択的なκ-受容体拮抗薬であるnorbinaltorphimine (norBNI)を用いて拮抗実験を行ったところ、KT-95の濃度作用曲線はnorBNIにより高濃度側へ濃度依存的に平行移動した(Fig. 2B)。その時のnorBNIのpA₂値は10.21であり、従来より報告されている数値とほぼ等しかった。家兎輸精管においても同様の結果が得られた。

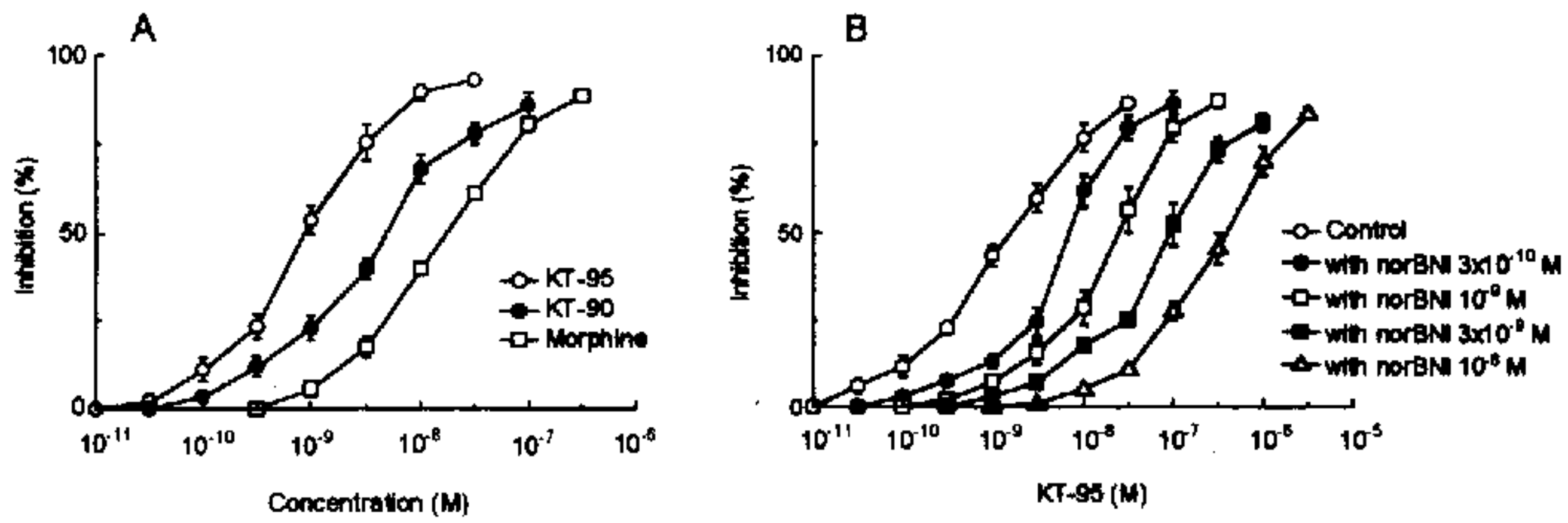


Fig. 2 モルモット回腸縦走筋のtwitch反応に対するKT-95、KT-90及びモルヒネの抑制作用(A)とKT-95の反応に対するnorBNIの拮抗作用(B)

結合実験において、KT-95は $[^3\text{H}]$ naloxoneや $[^3\text{H}]$ DADLEと比較し、 κ -選択的リガンドである $[^3\text{H}]$ U69593に対する pIC_{50} 値の方が大きいことから κ -受容体に対する親和性が最も強いことが示された(Table 1)。さらにKT-95の κ -受容体に対する親和性はモルヒネの約18倍、KT-90の約5倍強かった(Table 1)。この結果は、機械的反応から得られた結果に一致した。従って、KT-95は κ -受容体に対して強い親和性を持つことが示唆された。

Table 1 ラット脳粗シナプトソーム分画における $[^3\text{H}]$ ラベルリガンドの特異的結合に対する阻害作用 (pIC_{50} 値)

	$[^3\text{H}]$ Naloxone (μ)	$[^3\text{H}]$ DADLE (δ)	$[^3\text{H}]$ U69593 (κ)
KT-95	8.59 ± 0.01	8.56 ± 0.15	9.62 ± 0.21
KT-90	$8.99 \pm 0.22^{(a)}$	$8.54 \pm 0.17^{(a)}$	8.93 ± 0.11
Morphine	8.45 ± 0.15	7.20 ± 0.12	8.37 ± 0.17

(a): from Takayanagi *et al.*, 1990

一方、モルモット回腸縦走筋においてnorBNI存在下、KT-95はモルヒネの濃度作用曲線を右方へ平行移動させた。さらに結合

実験においてKT-95の μ -受容体に対する親和性が認められたことから、KT-95は μ -受容体拮抗薬としても作用することが示された。同様に、マウス輸精管においてロイシンエンケファリンの濃度作用曲線を右方へ平行移動させること、さらに結合実験において δ -受容体に対して親和性を持つことから(Table 1)、KT-95は δ -受容体拮抗作用も持つことが示された。

そこで、後肢加圧法によりKT-95の鎮痛効果を検討したところ、KT-95はモルヒネより約20倍強い効力を示し、その鎮痛作用はnorBNIの前投与により消失したことから、 κ -受容体を介して引き起こされることが明らかとなった。

さらに、KT-95の依存性形成について検討する目的で、被験薬物を5日間連続投与した後ナロキソンを投与し、その退薬症候についてジャンピング及び体重減少を指標としてモルヒネ及びKT-90と比較した。その結果、KT-90及びKT-95はジャンピング及び体重減少を起こさなかったのに対し、モルヒネはジャンピングを起こし、顕著な体重減少が認められた。従って、モルヒネとは異なりKT-95は身体依存性形成を起こさないことが示唆された。このことは、機械的反応及び結合実験による結果から、KT-95が κ -アゴニストであり、しかも依存性にかかわるとされている μ -受容体に対する拮抗作用を有すること、また一般的に κ -アゴニストが身体依存性を形成しないと考えられていること(Cowan *et al.*, 1988)からも明らかである。

以上のことから、KT-95は強力な κ -受容体アゴニストであり、しかも μ -及び δ -受容体拮抗作用をもつ薬物であることが示唆された。さらに、*in vivo*実験による結果から強い鎮痛作用をも有することが示され、KT-95は身体依存性等副作用の少ない鎮痛薬となり得る可能性が認められた。

【文 献】

- 1) A. Cowan, X.Z. Zhu, H.I. Mosberg & F. Porreca, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **246**, 950 (1988)
- 2) I. Takayanagi, N. Goromaru, K. Koike, F. Konno, T. Mori, M. Yoshida & K. Kanematsu, *Gen. Pharmacol.*, **21**, 541 (1990)
- 3) T. Sagara, S. Ozawa, E. Kushiya, K. Koike, I. Takayanagi & K. Kanematsu, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **5**, 1505 (1995)

3-3

侵害受容閾値低下モデルの下行性痛覚抑制系に 関与するオピオイド受容体

—修治附子の抗侵害受容作用機序からの考察—

○後藤和宏, 鈴木康之, 大宮雄司, 野口将道, 石毛 敦
(株) ツムラ・中央研究所

ハナトリカブト (*Aconitum carmichaeli* Debeaux) の塊根を加熱処理 (修治) することにより毒性の減弱を図った修治附子は、古来より、鎮痛や抗炎症、末梢循環改善作用などを期待して種々の漢方処方に配合されてきたと考えられる生薬である。修治附子の抗侵害受容作用が、環境温度変化ストレスである repeated cold stress (RCS) を負荷することにより、侵害受容閾値を低下させた動物で顕著となることについては Oyama ら (1) が報告しており、その作用は、下行性痛覚抑制系として働く serotonin (5-HT) ならびに noradrenaline (NA) 神経系の賦活を介して発現することが示唆されている。しかし、修治附子が下行性痛覚抑制系を発動させる機序をはじめとして、修治附子の抗侵害受容作用は何故 RCS 負荷動物で顕著になるのかなど、依然不明な点が多く残されていた。一方、修治附子を構成生薬の1つとする牛車腎気丸は、糖尿病患者の痛みに著効を示したとの報告が多い漢方処方である。糖尿病を発症した動物で圧刺激に対する侵害受容閾値が低下することはよく知られて

おり、その原因は μ_1 受容体の機能低下にあると考えられている (2-4)。本報告は、RCS 負荷あるいは糖尿病発症により侵害受容閾値が低下したモデル動物で、修治附子、牛車腎気丸の抗侵害受容作用機序を検討する中から見いだされた、下行性痛覚抑制系の発動における κ 受容体の役割が増している可能性を示したものである。

【実験方法】

実験には ddY 系雄性マウスあるいは SD 系雄性ラットを用いた。侵害受容閾値の測定には、マウスで尾圧法、ラットで後肢加圧法を用い、それぞれ 16 g/sec, 10 mmHg/sec の速度で加圧し、逃避反応が出現した閾値圧を指標とした。被検薬投与前に3回測定して得られた平均閾値圧を 100% として、被検薬投与後 0.5, 1, 1.5, 2 および 3 時間目の閾値圧の変化率より area of under curves (AUC) を算出した。

RCS 負荷動物は、16:30 より 4℃ で飼育を開始した動物の飼育環境温度を、10:00 から 16:30 の間 30 分毎に常温 (24

℃) と低温 (4 ℃) に変化させるストレスを3日間続けることにより作製した(5)。糖尿病の誘発には streptozotocin (STZ; 150 mg/kg, i.v.) を用い、STZ を投与して2週間以上経過した後、血糖値が400 mg/dl以上に達していたマウスを糖尿病群とした。

今回の検討に使用した修治附子は、附子を105℃で40分間修治した後に粉末化した製剤である(ツムラ修治ブシ末(調剤用))。また、牛車腎気丸として、ツムラ牛車腎気丸エキス顆粒(医療用)の未製剤化原末を用いた。

【実験結果】

1. RCS 負荷モデルにおける修治附子の抗侵害受容作用機序

RCS 負荷により動物の侵害受容閾値は30~40%低下した。RCS 負荷ラットで顕著となった修治附子(1 g/kg, p.o.)の抗侵害受容作用は、 α_2 受容体遮断薬である idazoxan (10 μ g, i.t.) あるいは 5-HT 受容体遮断薬である methysergide (30 μ g, i.t.) で減弱され、0.3 g/kg の修治附子投与(p.o.)で発現した侵害受容閾値の上昇は、dopamine D_2 受容体の遮断薬である pimozide (3 mg/kg, i.p.) あるいは dexamethasone (0.4 mg/kg, i.p.) の前処置により殆ど消失した。

2. 糖尿病モデルにおける修治附子と牛車腎気丸の抗侵害受容作用機序

糖尿病モデルマウスの侵害受容閾値は、対照としたクエン酸緩衝液投与マウスに比して約30%低下した。

Morphine と diclofenac の抗侵害受容作用が糖尿病動物で減弱したのに対し、修治附子と牛車腎気丸, lidocaine の作用は顕著となった。糖尿病マウスにおける牛車腎気丸(0.3 g/kg, p.o.)の侵害受容閾値上昇作用は、idazoxan (10 mg/kg, s.c.) あるいは methysergide (20 mg/kg, s.c.) の前処置により半減したが、dexamethasone (1 mg/kg, i.p.) 投与による抑制率は約4割であった。また、dopamine D_2 受容体の遮断薬である sulpiride (3 mg/kg, i.p.) の前処置も牛車腎気丸の抗侵害受容活性を半減させるに止まり、sulpiride の用量を10 mg/kg に増やしても更なる抑制率の増加は認められなかった。修治附子(0.1 g/kg, p.o.)の抗侵害受容作用は、sulpiride (3, 10 mg/kg, i.p.) により約6割、dexamethasone (1 mg/kg, i.p.) により約5割抑制された。

3. 修治附子の抗侵害受容作用に関する opiate 受容体

正常マウスで発現した修治附子(1 g/kg, p.o.)の抗侵害受容作用は、naloxone の投与(i.t.)により用量依存的に抑制されたが、完全に抑制するには同程度の抗侵害受容活性を示す morphine (4 mg/kg, p.o.) の作用を消失させる量の10~20倍(20 μ g)が必要であり、naloxone が μ 以外の opiate 受容体を遮断した影響を受けたとしか考えられなかった。そこで、糖尿病モデルマウスを用いて、修治附子(0.1 g/kg, p.o.)と牛車腎気丸(0.3 g/kg, p.o.)の抗侵害受容作用に対する δ 受

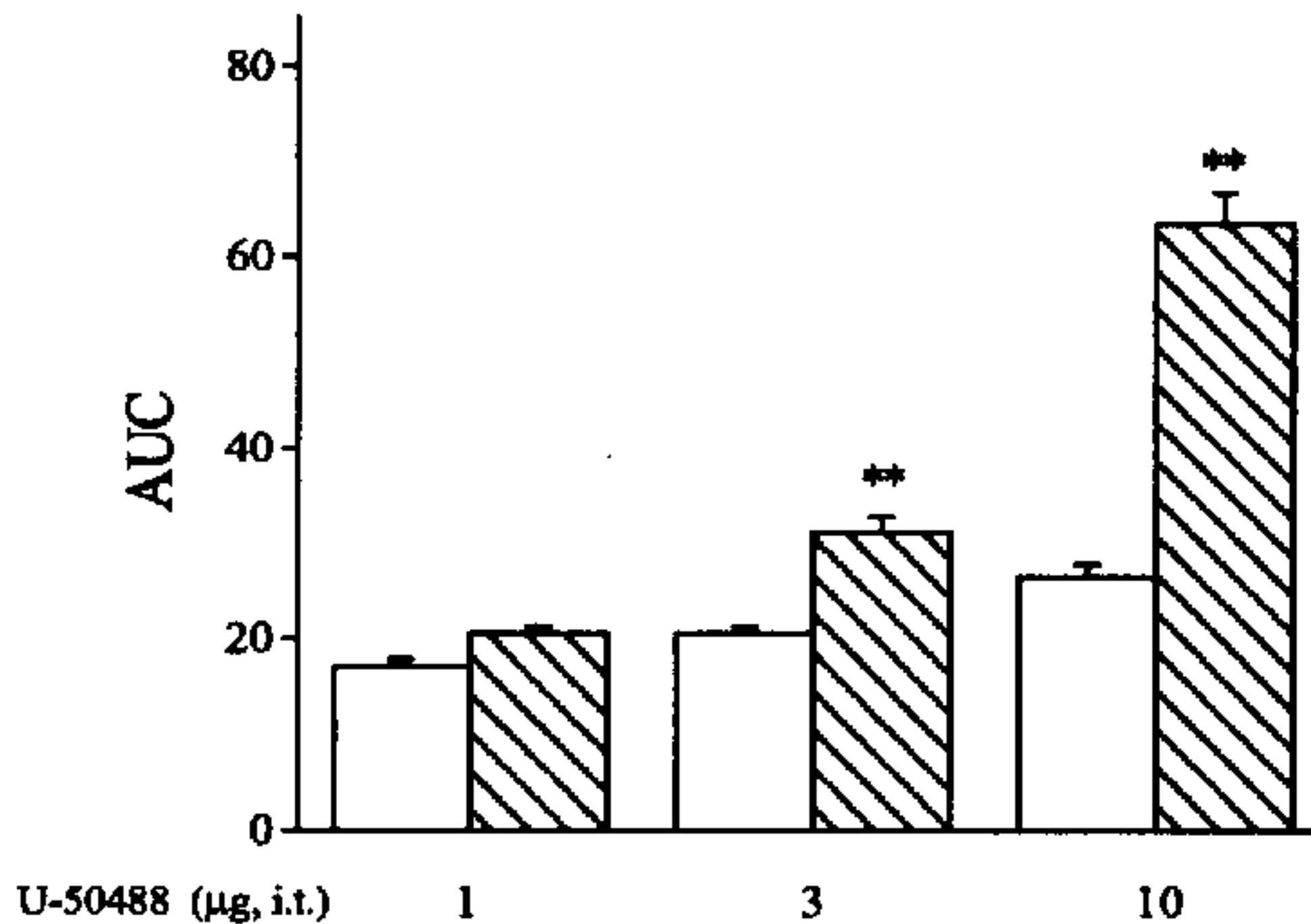


Fig. The antinociception induced by U-50488 administered intrathecally in both diabetic (hatched column) and non-diabetic mice (open column).

The antinociceptive effect was determined by the tail-pressure test.

容体遮断薬 naltrindole (10 mg/kg, s.c.) と κ 受容体遮断薬 nor-binaltorphimine (BNI; 10 mg/kg, s.c.) の影響を検討したところ、両者共に、naltrindole の影響を受けなかったが (0.1 mg/kg, s.c. の影響について現在検討中)、経口投与 2 時間前に処置した BNI により約 6 割の活性低下を示した。RCS 負荷マウスにおける修治附子 (0.3 g/kg, p.o.) の侵害受容閾値上昇作用は、BNI の前処置により修治附子の懸濁化に用いた 5% アラビアゴム溶液 (10 ml/kg, p.o.) 投与群と同程度にまで顕著に減弱された。

Dexamethasone (0.4 mg/kg, i.p.) は、正常ラットで発現した morphine (1 mg/kg, i.p.) の抗侵害受容作用に影響を及ぼさなかったが、RCS 負荷ラットにおける morphine の作用を約 6 割減弱させた。正常マウスで発現した morphine

(4 mg/kg, p.o.) の侵害受容閾値上昇作用は BNI (10 mg/kg, s.c.) 前処置の影響を受けなかったが、RCS 負荷マウスで認められた活性は BNI により半減した。また、RCS 負荷ラットで極めて顕著となった (AUC 増加率で 5.9 倍) κ 受容体刺激薬 U-50488 (3 mg/kg, s.c.) の抗侵害受容活性は、dexamethasone (0.4 mg/kg, i.p.) の前処置により消失した。侵害受容閾値低下モデルにおける U-50488 の抗侵害受容作用の増強は糖尿病モデル動物でも確認された。即ち、1 mg/kg (s.c.) の U-50488 が正常あるいは糖尿病マウスで示す活性の差は僅かであったが、U-50488 3 mg/kg (s.c.) によって糖尿病マウスで発現した侵害受容閾値上昇活性は正常マウスよりも明らかに強く、U-50488 の用量を 10 mg/kg (s.c.) に増やすとその差は一層顕著となった (AUC

増加率で2.2倍)。U-50488をi.t.投与した場合にも同様の、糖尿病マウスにおける抗侵害受容活性の増強が認められた(Fig.)。

【考 察】

武重を中心とする研究グループは、非経穴刺激で出現する侵害受容閾値上昇機構の、求心路脊髄内伝達物質がdynorphinである可能性と、遠心路(下行性痛覚抑制系)がdexamethasoneあるいはhaloperidolで遮断されることを示している(6-8)。非経穴刺激による下行性痛覚抑制系の活性化がdexamethasoneで阻止される機序は、視床下部弓状核前部から後部へのシナプス伝達を担うdopamineが遊離するためにACTHがシナプス前性に作用していることが必須であると説明されている(9)。

RCS負荷動物における修治附子の抗侵害受容活性は、pimozideあるいはdexamethasoneの前処置により消失したことから、その殆どが下行性痛覚抑制系の賦活に基づいて発現していると考えられた。糖尿病モデル動物で認められる修治附子と牛車腎気丸の抗侵害受容作用は、5~6割が下行性痛覚抑制系の賦活を介した反応と考えられた。また、 κ 受容体刺激に基づく抗侵害受容作用の発現に下行性痛覚抑制系が深く関わることは、RCS負荷動物においてU-50488の抗侵害受容作用がdexamethasoneの前処置で消失した事実によって裏付けられた。このことから、BNIを前処置す

ることにより得られた結果は、修治附子あるいは牛車腎気丸による下行性痛覚抑制系の賦活が、 κ 受容体を介して起きている可能性を強く示唆すると考えられた。修治附子に含有される物質が直接的に κ 受容体を刺激しているのか、dynorphinの遊離を介した反応であるかについては更なる検討が必要である。また、牛車腎気丸の抗侵害受容作用発現に修治附子が重要な役割を演じているとは考えられるものの、必ずしも修治附子を構成生薬とする全ての漢方処方抗侵害受容活性が糖尿病モデル動物で強くなるわけではなく、その機序解明も今後の課題として残されている。

RCS負荷により侵害受容閾値が低下した動物では、morphineの侵害受容閾値上昇作用における μ 受容体の役割が低下する一方で、新たにdexamethasoneで遮断される下行性痛覚抑制系が κ 受容体を介して機能し始めることが示唆された。 κ 受容体の機能亢進は、RCS負荷動物ばかりでなく糖尿病モデル動物でも起きており、少なくとも糖尿病マウスで認められるU-50488の抗侵害受容作用の増強には脊髄内における κ 受容体の変動が重要な影響を及ぼしていると考えられた。

検討に用いた2種の侵害受容閾値低下モデルで、修治附子の抗侵害受容作用が顕著となる主な原因は、下行性痛覚抑制系の発動における κ 受容体の役割が増しているためと考えられた。

【文 献】

- 1) Oyama T., Suzuki Y., Ikeda Y., Asami A., Omiya Y., Noguchi M., Ishige A. and Isono T.: In Oyama T. and Smith G. (Eds.), Pain and Kampo, Springer-Verlag, New York, 1994, pp.16-28
- 2) Kamei J., Ohhashi Y., Aoki T. and Kasuya Y.: Pharmacol. Biochem. Behav. 39, 541-544 (1991)
- 3) Kamei J., Ohhashi Y., Aoki T., Kawasima N. and Kasuya Y.: Brain Res. 571, 199-203 (1992)
- 4) Kamei J., Iwamoto Y., Misawa M., Nagase H. and Kasuya Y.: Life Sci. 55, PL121-126 (1994)
- 5) Satoh M.: In Oyama T. and Smith G. (Eds.), Pain and Kampo, Springer-Verlag, New York, 1994, pp.1-15
- 6) 羅 昌平, 菱田不美, 池田尚人, 西原 寛, 武重千冬: 昭医会誌 49, 295-301 (1989)
- 7) 佐藤孝雄, 宇佐美信乃, 武重千冬: 昭医会誌 43, 619-627 (1983)
- 8) 土屋真弓, 武重千冬: 昭医会誌 49, 338-350 (1989)
- 9) 土屋真弓, 武重千冬: 昭医会誌 50, 115-122 (1990)

3-4 侵害刺激抑制効果に対する dermorphin fragment analog の拮抗作用

○結城正幸¹、櫻田 忍²、佐藤卓美³、木皿憲佐¹
(東北薬大・薬理¹、機能形態²、第二薬剤³)

〔緒言〕

南米産のカエルである *phyllomedusa sauvagei* の皮膚から単離された dermorphin¹⁾ は、第2残基に D-Ala を持つオピオイドペプチドであり、この D-アミノ酸を含有することが強力な鎮痛活性の源であり、 μ レセプターに対し高親和性を有することが知られている。Dermorphin の代謝は Met- および Leu-enkephalin における代謝過程とは異なり aminopeptidase による Tyr の遊離はほとんど行われぬ。この heptapeptide は N 端 tetrapeptide (Tyr-D-Ala-Phe-Gly) に代謝され、この tetrapeptide は dermorphin の侵害刺激抑制作用の約 1/85 まで活性の低下を引き起こす^{2,3)} ので代謝の第一段階とされている。Dermorphin から N-tetrapeptide への生成過程までの研究報告によると、Gly-Tyr bond の開裂によって Tyr-D-Ala-Phe-Gly および Tyr-Pro-Ser-NH₂ の二つの peptide に分解し⁴⁾ さらに Tyr-Pro-Ser-NH₂ は酵素により急速に分解されることが報告されている。

dermorphin

Tyr-D-Ala-Phe-Gly-Tyr-Pro-Ser-NH₂

↓

Tyr-D-Ala-Phe-Gly + Tyr-Pro-Ser-NH₂

Dermorphin N 端 tetrapeptide である Tyr-D-Ala-Phe-Gly はオピオイド活性を引き起こす最小活性構造であるが、Tyr-Pro-Ser-NH₂ についての侵害刺激に対する反応性についてはまったく報告されていない。そこで今回、Tyr-Pro-Ser-NH₂ の Pro を D-Pro で置換した化合物を合成し種々の侵害刺激に対する morphine の侵害刺激抑制作用に対する Tyr-D-Pro-Ser-NH₂ の影響について検討した。

〔実験方法〕

実験には体重 22-24g の ddY 系雄性マウスを使用した。Morphine および Tyr-D-Pro-Ser-NH₂ 投与時又は併用時の侵害刺激抑制作用の測定は、ホルマリン法⁵⁾ と Capsaicin 法⁶⁾ を用いた。また capsaicin, substance P (SP) および N-methyl-D-aspartate (NMDA) の脊髄クモ膜下腔内 (i.t.) 投与により誘発される licking および biting 行動に対する morphine および Tyr-D-Pro-Ser-NH₂ の影響について検討した。

〔ホルマリン法〕 2% ホルマリン溶液をマウス右後肢足蹠皮下に 20 μ l/mouse の割合で素早く投与し、ホルマリン投与直後から 10 分間 (第一相) および 10-30 分の 20 分間 (第二相) における右後肢に対する licking および biting の持続時間を測定した。なお、薬物は第一相においてはホルマリン投与 5 分前、第二相においてはホルマリン投与 5 分後にそれぞれ投与した。

〔Capsaicin 法〕 Capsaicin 溶液 (1.6 μ g/20 μ l) をマウス右後肢足蹠内に 20 μ l/mouse の割合で投与し、capsaicin 投与肢に対する licking および biting 行動の持続時間を 5 分間測定した。

〔capsaicin, substance P および NMDA i.t. 投与による licking および biting に対する影響〕

Capsaicin (0.2nmol/5 μ l), SP (0.1nmol/5 μ l) および NMDA (0.4nmol/5 μ l) を 5 μ l/mouse の割合で i.t. 投与し、投与直後から起こる licking, biting および scratching の持続時間を測定した。なお、capsaicin i.t. 投与においては投与直後から 30 分間、SP および NMDA では 5 分間測定した。

Morphine 及び Tyr-D-Pro-Ser-NH₂ はリンゲル液に溶解し、i.t. 投与は Hylden & Wilcox⁷⁾ の方法に従い、capsaicin, SP および NMDA との混合液を同時に投与した。

〔実験結果〕

Tyr-D-Pro-SerNH₂ 単独 i.t. 投与による影響

Tyr-D-Pro-Ser-NH₂ i.t. 投与時の効果をホルマリン法において検討したところ、4, 40, 400, 4000, 40000 pmol i.t. 投与により第一相には影響がなく、第二相においては 40, 4000, 40000 pmol で有意な侵害刺激抑制作用が認められた (Fig 1)。特に、40000 pmol i.t. 投与では約 56% の侵害刺激抑制作用が認められた。この作用は naloxone 0.5mg/kg s.c. 投与の前処理で拮抗しなかった。一方、4 pmol i.t. 投与では Ringer 投与群と比較して licking time の上昇傾向が認められた。この傾向は capsaicin および Tyr-D-Pro-Ser-NH₂ 4 pmol 同時 i.t. 投与時にも認められた。

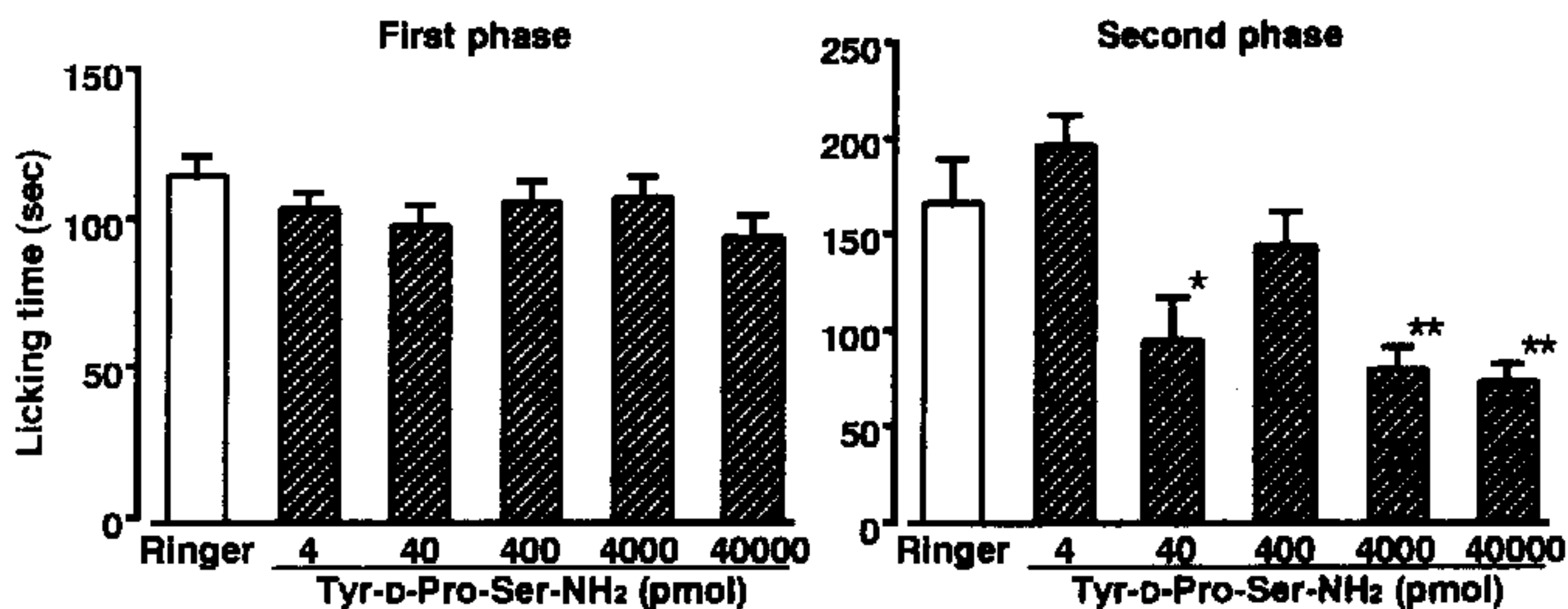


Fig 1 Effect of i.t. administered Tyr-D-Pro-Ser-NH₂ in the formalin test. P* < 0.05, P** < 0.01 when compared to control treated Ringer's solution.

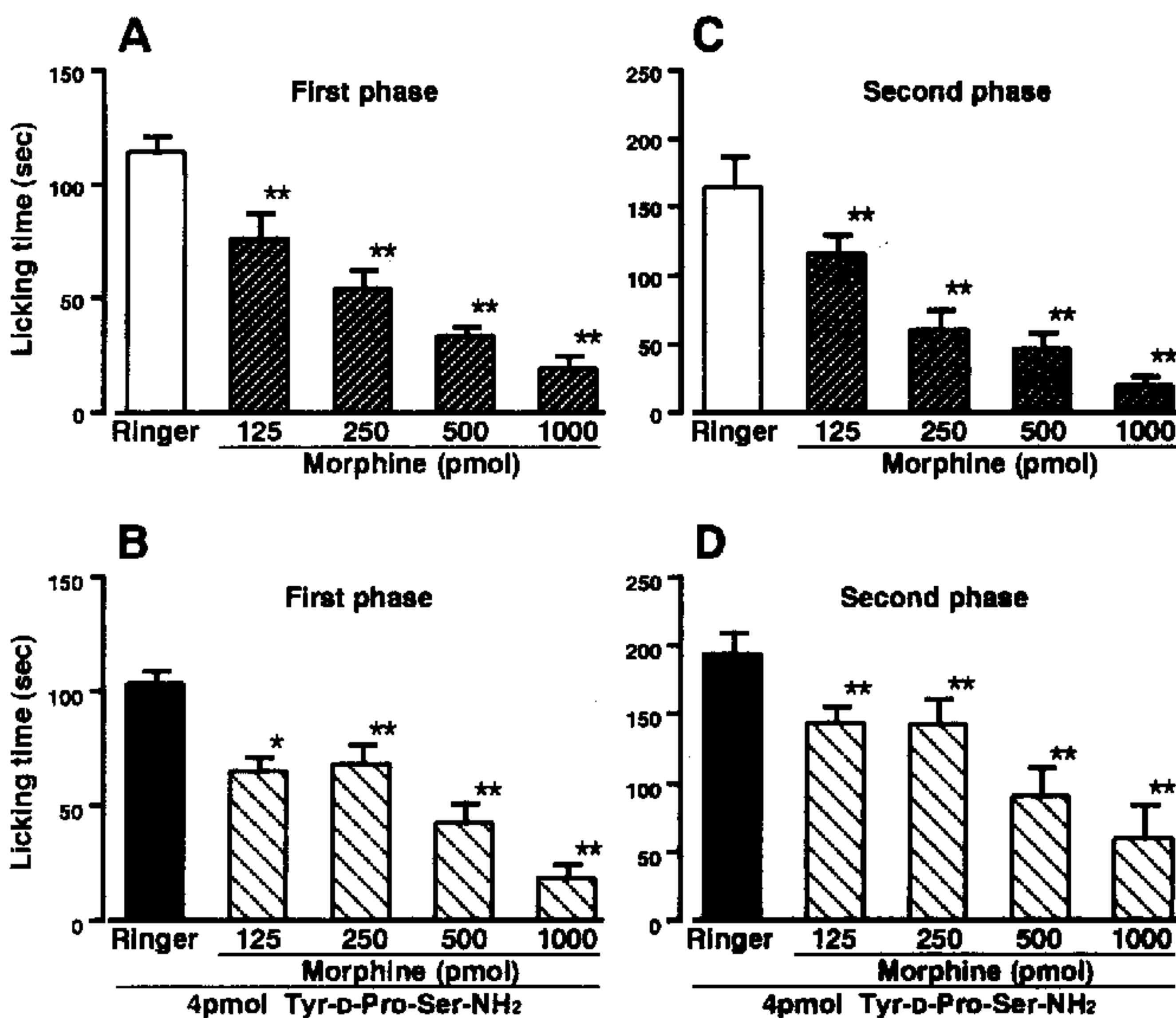


Fig 2 Effect of Tyr-D-Pro-Ser-NH₂ on antinociceptive activity produced by i.t. morphine. Tyr-D-Pro-Ser-NH₂ was co-administered i.t. with morphine. A and B : 2 % formalin was injected 5 min after i.t. morphine. C and D : 2 % formalin was injected 5 min prior i.t. morphine. P* < 0.05, P** < 0.01 when compared to control treated Ringer's solution.

MorphineおよびTyr-D-Pro-SerNH₂のi.t.併用時の影響

Morphineの侵害刺激抑制作用に対するTyr-D-Pro-Ser-NH₂の影響についてホルマリン法において検討したところ、morphine単独i.t.投与時のED₅₀値は一相および二相においてそれぞれ230(120.9-437.5)および205(112.7-372.8)pmolであった(Fig 2 A,C)。MorphineとTyr-D-Pro-Ser-NH₂ 4 pmolの併用により侵害刺激抑制作用の減弱が認められ、そのED₅₀値はそれぞれ300(169.0-532.6)および460(241.3-877.1)pmolであった(Fig 2 B,D)。特に、二相においてはTyr-D-Pro-Ser-NH₂併用により著しい侵害刺激抑制作用の減弱が認められた。また、capsaicin法においてmorphine単独i.t.投与時のED₅₀値は25(8.7-71.7)pmolであり、Tyr-D-Pro-Ser-NH₂ 0.5 pmol併用時では210(69.7-633.1)pmolであり、8.4倍のED₅₀値の上昇が認められた。

Capsaicin i.t.誘発性lickingおよびbiting行動に対するmorphine i.t.投与時の影響について検討したところED₅₀値は280(140.4-558.3)pmol、Tyr-D-Pro-Ser-NH₂ 4 pmol併用時では620(259.4-1481.9)pmolであり、約2.2倍のED₅₀値の上昇が認められた。しかし、SPおよびNMDA i.t.投与誘発性lickingおよびbiting行動において、Tyr-D-Pro-Ser-NH₂ 4 pmolによるmorphineの侵害刺激抑制作用に対する影響は認められなかった。

【考察】

Morphineの侵害刺激抑制作用機序の一つは、一次知覚神経終末からの痛み伝達物質の遊離抑制と二次知覚神経の興奮抑制が考えられている。本実験では侵害刺激としてホルマリンおよびcapsaicinを用い、ホルマリンおよびcapsaicin足蹠皮下投与により誘発されるlickingおよびbiting行動、さらにcapsaicin i.t.誘発性lickingおよびbiting行動はmorphineのi.t.投与によって用量依存的な侵害刺激抑制作用が認められた。この抑制作用はTyr-D-Pro-Ser-NH₂によって拮抗された。一方、SPおよびNMDA i.t.投与誘発性lickingおよびbiting行動はmorphineによって抑制されたが、この抑制作用はTyr-D-Pro-Ser-NH₂によってまったく拮抗されなかった。これらの実験結果から、Tyr-D-Pro-Ser-NH₂はmorphineの侵害刺激抑制作用機序の一つであるシナプス前部からの痛み伝達物質の遊離抑制作用に対して拮抗作用を有することが示唆された。

[参考文献]

- 1) Montecucchi, P.C., de Castiglione, R., Piani, S., Gozzini, L. and Erspamer, V. (1981) *Int.J.Pept. Protein Res.* 17, 275
- 2) Sato, T., Sakurada, S., Sakurada, T., Furuta, S., Chaki, K., Sasaki, Y. and Suzuki, K. (1987) *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 220,654
- 3) Sakurada, S., Watanabe, H., Sakurada, T., Kisara, K., Sasaki, Y. and Suzuki, K. (1992) *Eur.J.Pharmacol.* 211,75
- 4) Scalia, S., Salvadori, S., Marastoni, M., Borotolotti, F. and Tomatis, R. (1986) *Peptides.* 7,247
- 5) Sakurada, T., Katsumata, K., Yogo, H., Tan-No, K., Sakurada, S., Ohba, M. and Kisara, K. (1995) *Pain* 60,175
- 6) Sakurada, T., Katsumata, K., Tan-No, K., Sakurada, S. and Kisara, K. (1992) *Neuropharmacology* 31,1279
- 7) Hylden, J.L.K. and Wilcox, G.L. (1980) *Eur.J.Pharmacol.* 67,313

3-5

補体 C3a アゴニストの抗オピオイド作用

○吉川正明、高橋正和、Yunden Jinsmaa,
高橋正克*、淵上卓也*、金戸 洋*

(京都大・農・食品工学、*長崎大・薬・薬物)

カゼインペプトンからオピオイドペプチド β -casomorphin が単離されて以来、食品タンパク質や従来は生理活性ペプチドの前駆体とは見なされていなかったタンパク質からオピオイドペプチドが派生する例が多数見いだされている。我々はモルモット縦走筋神経叢標本を用いてオピオイドペプチドを探索する過程で、DAGOによる電気刺激収縮の抑制と拮抗する活性をしばしば認めた。このようなペプチドの最初の例は κ -カゼインのトリプシン消化物から得られた casoxin C (Tyr-Ile-Pro-Ile-Gln-Tyr-Val-Leu-Ser-Arg) であり¹⁾、また同様な性質を示すペプチド Gly-Tyr-Pro-Met-Tyr-Pro-Met-Pro-Arg を米アルブミンのペプシン消化物から単離し、oryzatensin と命名した²⁾。これらは μ -レセプターに対して弱い親和性を示すことから、当初オピオイドアンタゴニストであると考えたが、補体 C3a レセプターを介して抗オピオイド作用を示すことが最近判明した^{3,4)}。また、補体 C3a アゴニストは末梢のみならず中枢においても抗オピオイド作用を示すこともわかった。

方法

オピオイドおよび回腸収縮活性

モルモット回腸縦走筋神経叢標本を Krebs-Ringer 液中でマグヌス管に懸垂し、0.1Hz の周期で submaximal な収縮を誘起する電気刺激を与え、FD ピックアップにより収縮を検出した。回腸収縮活性は電気刺激非存在下で同様に測定した。

レセプターアッセイ

C3a レセプター結合試験には 10nM [¹²⁵I]-C3a とモルモット腹腔マクロファージを用いた。 μ -レセプター結合試験には 1 nM [³H]-DAGO とラット脳シナプトソーム膜を用いた。

鎮痛活性

ddy 系雄性マウス (体重 22-24g) を用い、morphine 5mg/kg の皮下投与後 15 分間隔で tail pinch 法によって測定した。抗オピオイド物質は morphine 投

与5分前に脳室内投与した。

抗健忘試験

訓練試行30分前のscopolamine投与(0.1 mg/kg, i.p.)、または訓練試行3日目の両側総頸動脈の10分間の遮断によってマウスに健忘を誘発し、抗オピオイド物質は訓練試行直後に脳室内投与した。24時間後にstep-through型装置を用いて学習効果の維持を判定した。

結果および考察

1. モルモット回腸縦走筋標本における抗オピオイドおよび収縮活性

casoxin C は低濃度ではDAGOの作用を一過性に抑制し、高濃度ではこの作用に回腸収縮が加わった複雑なパターンを示した(Fig. 1)。電気刺激非存在下ではcasoxin C は速い部分と遅い部分からなる2相性の回腸収縮活性を示

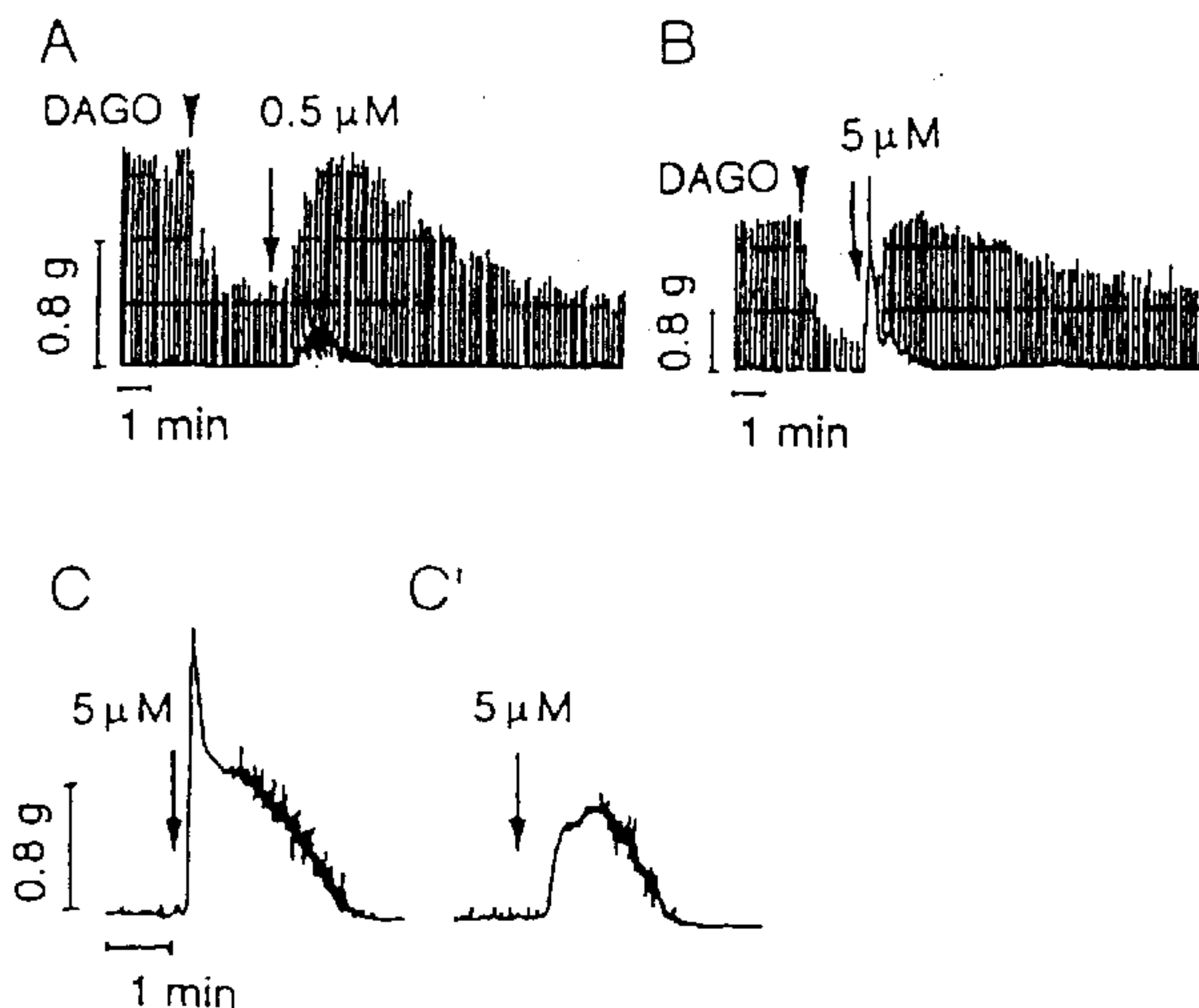


Fig. 1. The anti-opioid and contracting activities of casoxin C in the guinea-pig ileum. C' is the pattern of the same strip as C after washing.

Table I. Radioreceptor assays for C3a and μ -receptors

Peptides	IC ₅₀ (μ M)	
	C3a receptor	μ receptor
casoxin C	40	60
oryzatensin	44	39
C3a(1-77)	0.089	-
C3a(70-77)	59	-
C3a superagonist	0.22	-

した。速い収縮はpyrilamineによりブロックされることからhistamineの遊離とH1レセプターを介したものである。遅い収縮はaspirin、AH6809、およびatropineによってブロックされることから、prostaglandin EP1 およびmuscarinic acetylcholine レセプターの関与が示唆された。既知の生理活性ペプチドの中で類似の2相性の回腸収縮活性を示すものを探したところ補体C3aが同様な性質を有することがわかった。そこでC3aレセプターアッセイを行ったところ、casoxin C およびoryzatensinはいずれも親和性を示した(Table I)。一方、補体C3aは μ レセプターに対する親和性は示さない。

補体C3aはC3-convertaseの作用によって補体C3から派生する77残基のペプチドであり、そのC末端5残基が活性発現に最小限必要とされている⁵⁾。補体C3aとcasoxin C およびoryzatensinのC末端構造にはホモロジーがあり、疎水性残基-X1-Leu-X2-Argという共通構造が見られる。なお、補体系の活性化により生じたC3aは貪食細胞の活性化、血管透過性の昇進、炎症などを惹起することが知られている。

```

casoxin C:           Y I P I Q Y V L S R
oryzatensin:        G Y P M Y P L P R
                    1                               77
C3a:      S V Q L ----- A R A S H L G L A R
C3a superagonist: W W G K K Y R A S K L G L A R
(synthetic)

```

C3aレセプターには適当なアンタゴニストがないが、C3a(70-77) および casoxin C による回腸収縮はcross tachyphylaxis により互いに阻害されることから両活性は同一レセプターを介したものであると考えられる。遅い回腸収縮は抗オピオイド活性と密接に関連があり、C3aアゴニスト刺激により合成されたprostaglandin E2 がさらにacetylcholine の放出を促進し、これが μ -アゴニストによるacetylcholineの放出抑制と拮抗すると考えられる。なおC3aアゴニストはマウス輸精管では抗オピオイド作用は示さない。

2. C3aアゴニストの抗鎮痛作用

当初、casoxin C はオピオイドアンタゴニストであると考えられたので抗鎮痛作用を検討したところ、1 nmol/mouse の用量でmorphine、U-50,488Hの鎮痛作用を抑制したが、DTLETの鎮痛作用は抑制しなかった(Fig. 2)。同様な作用はoryzatensinにも認められた。その後これらはC3aアゴニストであることが判明したのでC3aそのものの作用を検討する必要性が生じた。C3aは入手困難なため、モル当りC3aの約50%の力価を持つ15残基の合成ペプチドC3a superagonistを用いて検討したところ、morphine の鎮痛作用を抑制した。これらはC3aアゴニストの中樞作用としては最初の例である。

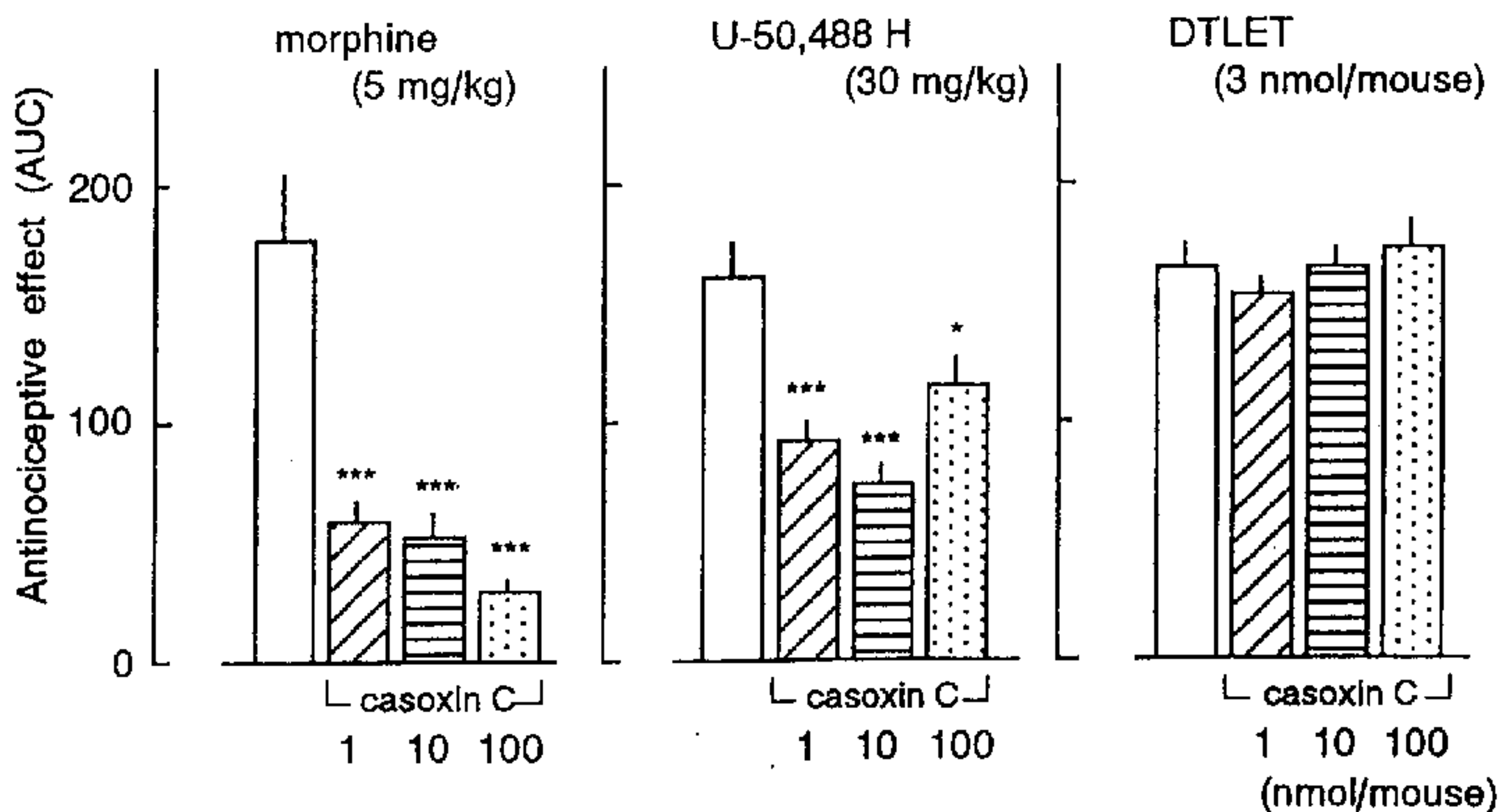


Fig. 2. Antagonistic effect of casoxin C on morphine-, U-50,488- and DTLET induced antinociception.
* $P < 0.05$, *** $p < 0.001$, vs control.

3. casoxin C の抗健忘作用

scopolamine 誘発健忘および脳虚血による健忘に対するcasoxin C の効果をマウスの一試行性step-through型受動的回避学習実験により検討したところ、いずれのモデル系においても10 nmol/mouse以上の用量を訓練試行直後に側脳室内投与することによって有意な改善が認められた(Fig. 3)。

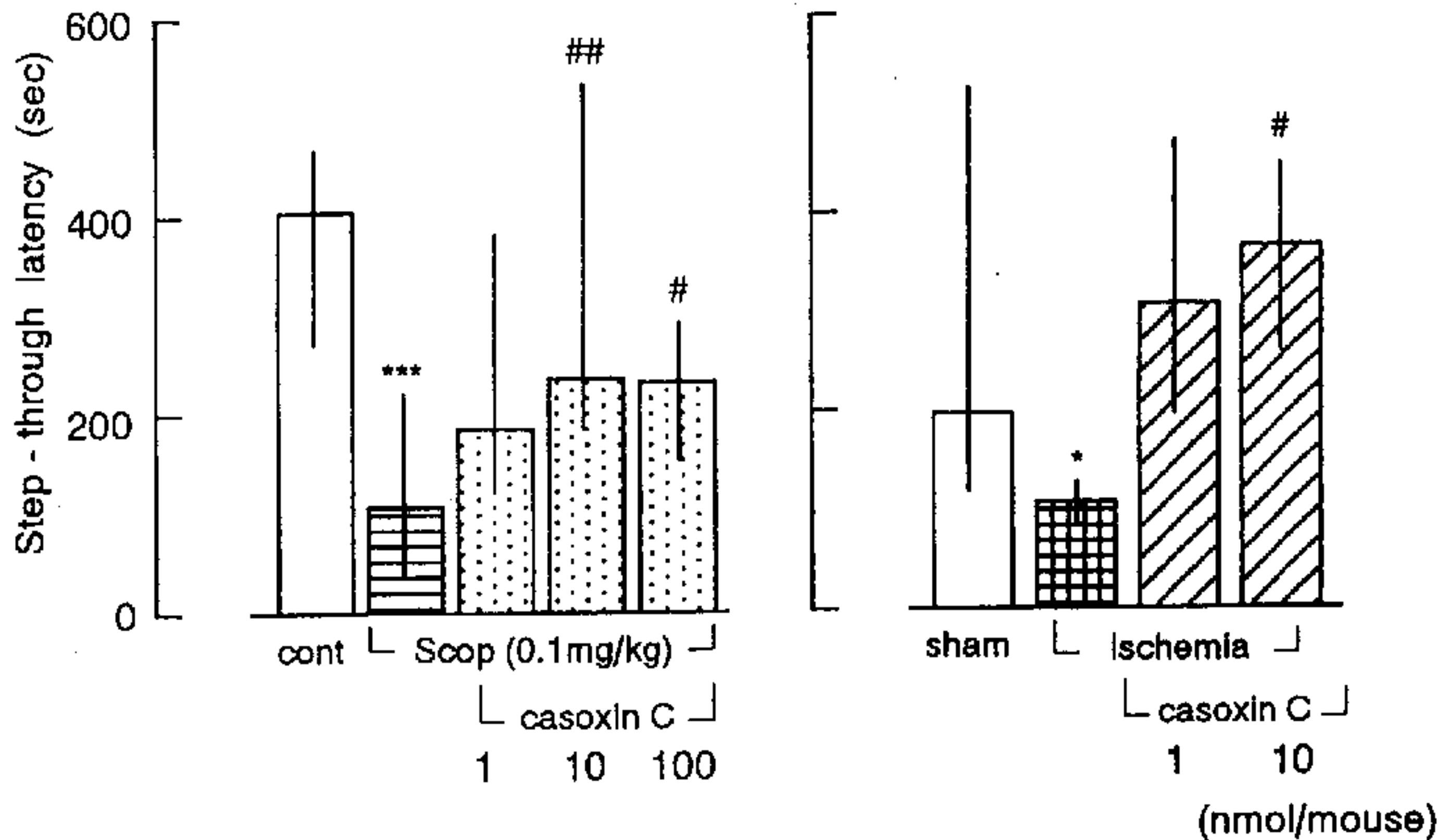


Fig.3. Antagonistic effect of casoxin C on scopolamine (Scop)- and ischemia-induced amnesia.

* $p < 0.05$, *** $P < 0.001$, vs control or sham

$p < 0.05$, ## $P < 0.01$, vs amnesic group.

文献

1. Chiba, H. et al., J. Dairy Res., **56**, 363-366 (1989)
2. Takahashi, M. et. al., Biochem. Mol. Biol. Int., **33**, 1151-1158 (1994)
3. Takahashi, M. et. al., Peptides, **17**, 5-12 (1996)
4. Takahashi, M. et. al., Peptides, in press
5. Hugli, T.E., Curr. Top. Microbiol. Immunol., **153**, 181-208 (1989)

3-6

ガラニン誘発記憶障害に対する κ -オピオイド受容体作動薬の改善作用

○鶴飼 良, 三浦正尊, 亀山 勉
名城大学薬学部薬品作用学教室

ガラニン (galanin; GAL) は, 29 ないし 30 個のアミノ酸からなる神経ペプチドで哺乳動物の中樞神経系に広く分布している. GAL は学習・記憶機能に関係する脳部位のニューロン内でアセチルコリンと共存し, 特に海馬からのアセチルコリン遊離や正中隆起からのドパミン遊離を抑制することが報告されている. したがって, GAL が脳内神経伝達を調節することによって学習・記憶過程に影響する可能性が考えられる. 事実, GAL をげっ歯類の側脳室に投与すると, 受動的回避, 水迷路および遅延非見本合わせにおける学習行動が障害される (Kameyama et al., 1994; Ukai et al., 1995c).

一方, κ -オピオイド受容体作動薬の dynorphin A-(1-13) が scopolamine あるいは前脳基底部破壊によって誘発される受動的回避学習障害 (Ukai et al., 1993; 1995a; 1996) および [D-Ala², NMePhe⁴, Gly-ol]enkephalin (DAMGO), pirenzepine あるいは scopolamine によって誘発される自発的交替行動障害 (Itoh et al., 1993; 1994; Ukai et al., 1995b; 1996) を改善することが報告されている. また, scopolamine による自発的交替行動障害に対する dynorphin A-(1-13) の改善作用機序にドパミン神経系の関与も示唆されている. そこで今回, GAL 誘発受動的回避学習障害に対する κ -オピオイド受容体作動薬の作用について検討した.

【実験材料および方法】

実験には, 7 週齢の ddY 系雄性マウス (32-34 g) を用いた. 受動的回避学習装置としてステップダウン (step-down) 型を用いた. 訓練試行では, 先ずマウスを木製プラットホーム上に静かにのせ, マウスがプラットホームから床グリッド上へステップダウンした直後に間欠的な電気刺激 (60 V, DC, 0.5 sec, 1 Hz) を負荷した. 保

持試行は、訓練試行の 24 時間後に行い、マウスを再びプラットホーム上にのせてステップダウンするまでの時間 (step-down latency; SDL) を測定し、これを学習の指標とした。なお、cut-off 時間の上限は 300 秒とした。GAL (i.c.v.) は、訓練試行の 15 分前、訓練試行直後および保持試行の 15 分前に投与した。Dynorphin A-(1-13)(i.c.v.), nor-binaltorphimine (i.c.v.), U-50,488H (i.p.) およびドパミン受容体拮抗薬 (i.p.) は、訓練試行の 20, 25, 30 および 30 分前にそれぞれ投与した。

【結果】

1. 受動的回避学習に対する GAL の作用

GAL ($3 \mu\text{g}$) を訓練試行前に投与すると保持試行時の SDL が対照群と比較して有意に短縮した。また、保持試行前に GAL (0.3 および $1 \mu\text{g}$) を投与しても SDL は有意に短縮した。しかしながら、GAL (0.3-10 μg) を訓練試行直後に投与すると保持試行時の SDL はほとんど影響されなかった。

2. 受動的回避学習に対する κ -オピオイド受容体作動薬および拮抗薬の作用

正常マウスに dynorphin A-(1-13) (0.3-3 μg), U-50,488H (0.1-1 mg/kg) あるいは nor-binaltorphimine (2 および 4 μg) を保持試行前に単独投与しても SDL はほとんど変化しなかった。

3. 受動的回避学習における GAL 誘発健忘に対する dynorphin A-(1-13) および U-50,488H の作用

GAL (0.3 μg) を保持試行前に投与すると SDL が有意に短縮した。保持試行前に dynorphin A-(1-13) (1 および 3 μg) あるいは U-50,488H (0.3 および 1 mg/kg) を投与すると GAL による SDL の短縮が有意に抑制された。一方、nor-binaltorphimine (4 μg) の保持試行前投与により、dynorphin A-(1-13) (3 μg) および U-50,488H (1 mg/kg) の抑制作用はほぼ完全に拮抗された。

4. 受動的回避学習における dynorphin A-(1-13) の GAL 誘発健忘抑制作用に対するドパミン受容体拮抗薬の作用

S(-)-Sulpiride (10 および 30 mg/kg) は、GAL (0.3 μg) の保持試行前投与によって誘発される受動的回避学習障害に対する dynorphin A-(1-13) (3 μg) の抑制作用にほとんど影響しなかったが、SCH23390 (0.03 mg/kg) は dynorphin A-(1-13) (3 μg) の抑制作用を

有意に減弱させた。

【考察】

今回、 κ -オピオイド受容体作動薬の dynorphin A-(1-13)(1 および 3 μ g) および U-50,488H (0.3 および 1 mg/kg) が GAL (0.3 μ g) による受動的回避学習障害を用量依存的に改善した。この改善作用は、 κ -オピオイド受容体拮抗薬 nor-binaltorphimine (4 μ g) の併用によってほぼ完全に拮抗された。また、dynorphin A-(1-13) (0.3, 1 および 3 μ g), U-50,488H (0.1, 0.3 および 1 mg/kg) および nor-binaltorphimine (2 および 4 μ g) を保持試行前にそれぞれ単独投与しても SDL がほとんど変化しなかったことより、dynorphin A-(1-13) および U-50,488H の改善作用は κ -オピオイド受容体を介するものと考えられる。我々は dynorphin A-(1-13) が前脳基底部破壊, DAMGO, pirenzepine あるいは scopolamine で誘発される学習・記憶障害を改善し、その作用が κ -オピオイド受容体を介するものであることを既に報告した (Itoh et al., 1993; 1994; Ukai et al., 1993; 1995ab; 1996)。前脳基底部破壊, DAMGO, pirenzepine あるいは scopolamine で誘発される記憶障害はアセチルコリン神経の機能低下に起因することが知られている。さらに、physostigmine および oxotremorine は、GAL (0.3 μ g) により誘発される受動的回避学習障害を有意に改善する (Ukai et al., 1995c)。一方、GAL による受動的回避学習障害を改善した dynorphin A-(1-13) の作用は、ドパミン D_2 受容体拮抗薬 S(-)-sulpiride (10 および 30 mg/kg) を投与してもほとんど影響されなかったが、ドパミン D_1 受容体拮抗薬 SCH23390 (0.03 mg/kg) の投与によって減弱された。

以上の結果より、 κ -オピオイド受容体を刺激することによって、ドパミン D_1 受容体を介するドパミン神経系が活性化され、アセチルコリン神経の機能低下に起因する GAL 誘発健忘が改善されるものと考えられる。

【文献】

Itoh, J., Ukai, M. and Kameyama, T., Dynorphin A-(1-13) markedly improves scopolamine-induced impairment of spontaneous alternation performance in mice, *Eur. J. Pharmacol.*, 236 (1993) 341-345.

- Itoh, J., Ukai, M. and Kameyama, T., Dynorphin A-(1-13) potently improves the impairment of spontaneous alternation performance induced by the μ -selective opioid receptor agonist DAMGO in mice, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 269 (1994) 15-21.
- Kameyama, T., Ukai, M. and Miura, M., Dynorphin A-(1-13) potently improves galanin-induced impairment of memory processes in mice, *Neuropharmacology*, 33 (1994) 1167-1169.
- Ukai, M., Kobayashi, T. and Kameyama, T., Dynorphin A-(1-13) attenuates basal forebrain-lesion-induced amnesia in rats, *Brain Res.*, 625 (1993) 355-356.
- Ukai, M., Kobayashi, T., Shinkai, N., Shan-Wu, X. and Kameyama, T., Dynorphin A-(1-13) potently improves scopolamine-induced impairment of passive avoidance response in mice, *Eur. J. Pharmacol.*, 274 (1995a) 89-93.
- Ukai, M., Shinkai, N. and Kameyama, T., κ -Opioid receptor agonists improve pirenzepine-induced disturbance of spontaneous alternation performance in the mouse, *Eur. J. Pharmacol.*, 281 (1995b) 173-178.
- Ukai, M., Miura, M. and Kameyama, T., Effects of galanin on passive avoidance response, elevated plus-maze learning, and spontaneous alternation performance in mice, *Peptides*, 16 (1995c) 1283-1286.
- Ukai, M., Itoh, J., Kobayashi, T., Shinkai, N. and Kameyama, T., Effects of the κ -opioid dynorphin A-(1-13) on learning and memory in mice, *Behav. Brain Res.*, in press (1996).

3-7

オピオイド研究／パースペクティブ

野崎正勝（財・生産開発科学研究所）

オピオイドに関する研究も例にもれず最近では遺伝子レベルからのアプローチが盛んである。しかし、受容体のリガンド認識機構やオピオイドペプチドの本質的な生理作用に関する総合的検討は必ずしも行われていない。ここでは現在我々が開始した研究課題を一部紹介したい。

（1）受容体とリガンドの相互作用

受容体は多数の分子のなかから特異的なリガンド分子を認識している。リガンドと受容体結合部位が衝突したとき、リガンドと受容体結合部位の相補的構造変化（コンフォメーション変化）が起き、結果としてジャスト・フィットし、複合体を作ると想像されている。この結合形成の場を直接的に解析した試みはない。しかし、現在のナノテクノロジーの応用により、直接的に観測することが可能と考えられる。その例として、原子間力顕微鏡（AFM: atomic force microscope）の応用がある。その可能性をさぐる。

（2）オピオイドによる生体防御

内因性オピオイドペプチドが生体の自己防御および環境に対する適応反応の重要な促進因子として恒常性維持に深くかかわっていることは明らかである。オピオイドペプチドは中枢神経系および腸管や副腎のほか、T-リンパ球、NK細胞、多核白血球、単球などでも産生・分泌されていることから、神経内分泌系および免疫系の連関の重要な構成因子となっていることもよく知られている。終末期医療に劇的な臨床効果を発揮することがあるモルヒネの作用は、単に鎮痛作用を発揮しているということにとどまらないかもしれない。オピオイドによる生体の自己防御は神経障害、炎症・免疫反応などで部分的には検討されているが個体の全体像として生体防御を検討した例は数少ないと思われる。

最近、我々は赤血球変形能を亢進する薬物として知られているジピリダモールやジラゼップが赤血球に特異的に結合し、マラリア原虫の赤血球侵入を抑制することを見いだした。これらの薬物はオピオイドと異なりPDE阻害によって増加したc-AMPによって膜機能を修飾する（膜輸送阻害）と考えられていた。興味あることに抗マラリア薬のクロロキンは脳膜標本のオピオイド受容体に対して親和性を有している。

人マラリア原虫（merozoite）は人の赤血球以外の細胞には侵入しない。マラリアの感染進行は赤血球内での発育増殖サイクルの進行に依存している。merozoiteが赤血球に侵入して感染が成立する場合、merozoiteと赤血球の間に特異的な機構が存在しており、赤血球膜表面にmerozoiteを認識し受容する場所がある。侵入にとって重要な部位としてIL-8受容体が考えられている。

赤血球膜表面には μ 、 δ 、 κ -リガンドの特異的結合部位が存在し、オピオイドを作用させると赤血球変形能が著しく亢進する。この作用は κ -リガンドに顕著である。これらの事実から人とマラリアそして内因性オピオイドの関係の解析を試みている。