

Kyotorphin について

塩見 浩人

Kyotorphin

Hiroto Shiomi

ABSTRACT Kyotorphin is a novel analgesic dipeptide (L-Tyr-L-Arg) originally isolated from bovine brain and is also contained in the CNS of the rat, mouse, guinea-pig and rabbit. In this article, identification processes of kyotorphin, the regional and subcellular distribution, its pharmacological actions and the activities of kyotorphin analogues are discussed.

I はじめに

パピルス古文書の中にもその記載が認められる様に、アヘン或いはその主成分である **morphine** は有史以前より人間と拘りを持ち、現在でも鎮痛薬の主力として君臨する重要な医薬品である。しかしながら、その作用機序については、長い間不明な点が多かった。

国際麻薬性鎮痛薬会議 (**International Narcotic Research Conference, INRC**)は、この分野の第一線の研究者を集め1969年に発足したが、**morphine** を中心とした **opioid** 研究は、この会議での熱心な討論の中で着々と成果をあげ、急激な進展をみるに至った。その中でも、1975年に報告された、英国の **J. Hughes, H. W. Kosterlitz** グループの内在性モルヒネ様物質(ペプチド)、即ち **methionine-enkephalin, leucine-enkephalin** の単離、同定¹⁾は画期的なもので、これが引金となって、 **β -endorphin** を始め、多数の内在性モルヒネ様物質が同定されてきた。現在までに構造が明らかにされたものはすべてペプチドで、表1に示すとうりである(おのおのの文献は高木の総説²⁾を参照されたい)。現在、これらの内在性モルヒネ様物質については、多方面からその生理的意義が解明されつつある。

著者も長年 **morphine** の鎮痛作用機序解明の研究に従事してきたが、これらの報告に非常な刺激をうけ、新しい内因性鎮痛活性物質の探索を計画し、新鎮痛活性ペプチド、**tyrosyl-arginine (Tyr-Arg)** を同定した。³⁻⁵⁾ このジペプチドは、一連の **opioid peptides** とはその作用様式が全く異なる鎮痛活性因子で **kyotorphin** と命名した。

本稿では **kyotorphin** の分離、同定とその薬理作用について、これまでの成果をまとめてみたい。

表1 Endogenous Opioid Peptides の構造

Methionine-Enkephalin (Hughes & Kosterlitz)	TYR GLY GLY PHE MET
Leucine-Enkephalin (Hughes & Kosterlitz)	TYR GLY GLY PHE LEU
β -Endorphin (Li, Smyth, Guillemin, Chretien)	TYR GLY GLY PHE MET THR SER GLU LYS SER GLN THR PRO LEU VAL THR LEU PHE LYS ASN ALA ILE ILE LYS ASN ALA HIS LYS LYS GLY GLN
BAM-12p (Matsuo)	TYR GLY GLY PHE MET ARG ARG VAL GLY ARG PRO GLU
BAM-22p (Matsuo)	TYR GLY GLY PHE MET ARG ARG VAL GLY ARG PRO GLU TRP MET ASP TYR GLN
Peptide I (Udenfriend)	SER PRO THR LEU GLU ASP GLU HIS LYS GLU LEU GLN LYS ARG TYR GLY GLY PHE MET ARG ARG VAL GLY ARG PRO GLU TRP TRP MET ASP TYR GLN LYS ARG TYR GLY GLY PHE LEU
Peptide F (Udenfriend)	TYR GLY GLY PHE MET LYS LYS MET ASP GLU LEU TYR PRO LEU GLU VAL GLU ALA ASN GLY GLY GLU VAL LEU GLY LYS ARG TYR GLY GLY PHE MET
Peptide E (Udenfriend)	TYR GLY GLY PHE MET ARG ARG VAL GLY ARG PRO GLU TRP TRP MET ASP TYR GLN LYS ARG TYR GLY GLY PHE LEU
Peptide B (Udenfriend)	PHE ALA GLU PRO LEU PRO SER GLU GLU GLY GLU SER TYR SER LYS GLU VAL PRO GLU MET GLU TYR GLY GLY PHE MET ARG GLY LEU
Enkephalin 8 (Numa)	TYR GLY GLY PHE MET ARG GLY LEU
Enkephalin 7 (Udenfriend)	TYR GLY GLY PHE MET ARG PHE
α^* and β -Neo-Endorphin (Matsuo)	TYR GLY GLY PHE LEU ARG LYS TYR PRO (LYS)*
Dynorphin ₁₋₁₇ (Dynorphin A) (Goldstein, Tachibana)	TYR GLY GLY PHE LEU ARG ARG ILE ARG PRO LYS LEU LYS TRP ASP ASN GLN
Dynorphin B (Goldstein, Udenfriend)	TYR GLY GLY PHE LEU ARG ARG GLN PHE LYS VAL VAL THR
Dynorphin ₁₋₈ (Matsuo, Barchas)	TYR GLY GLY PHE LEU ARG ARG ILE
Kyotorphin (Takagi)	TYR ARG
Neo-kyotorphin (Takagi)	THR SER LYS TYR ARG

表2 キョートルフィンの鎮痛効力(マウス大槽内投与)

	ED 50 (nmol/マウス)	
	Tail pinch test	Hot plate test
Morphine	0.61 (0.32-1.20)	0.45 (0.24-0.80)
Kyotorphin	34.7 (22.0-54.9)	15.7 (10.4-24.0)
Met-enkephaline	146.0 (99.0-215.0)	—

II Kyotorphin の分離と同定

1. スクリーニング

内在性モルヒネ様物質の分離, 精製にあたっては, 1) モルモット回腸縦走筋標本⁶⁾, 2) マウス輸精管標本⁷⁾, 3) **opioid receptor** との結合試験⁸⁾のいずれかを用いて行なわれるのが常である。しかしながら, これらの検定法は次の2点で問題を含んでいる。1) **Opioid receptor** にはいくつかの **subtype** があり, 標本によって **receptor** の型が異なること, 2) 鎮痛活性をもったモルヒネ様物質を最終目的物質とするとき, 鎮痛活性を精製の過程で調べることができないことである。

著者らは, これらの欠点を考慮して, *in vivo* での鎮痛効力そのものを検定することが最善であると考え, 微量の検体を感度よく鎮痛検定する方法の確立に着手した。この鎮痛検定法確立には, 著者らの長年のモルヒネ研究の成果が大いに役立った。

活性物質の分解による失活, 脳・血管関門通過性の問題を除くため, 検体は脳室内投与方法を取ることとしたが, **morphine** の主力の作用点が延髄に存在することから, 大槽内へ投与する方法を試みた。この方法は J 字型に曲げた $\frac{1}{8}$ 注射針をマイクロシリンジに取り付け, 片手で無麻酔のマウスを保持し, 後頭部より大槽内に挿入する方法(図1)で⁹⁾, この方法により, 脳組織を損傷することなく, 脳室内投与ができ, **morphine** の作用部位である延髄に高濃度で検体を作用させることができる。

しかも, 生理食塩水投与では, 投与直後できえ, マウスの一般行動に何ら影響を及ぼさない。痛み刺激としては, マウス尾根部への圧刺激(**tail pinch** 法)を用いたが, この検定法を用いると, これまで検出が困難とされていた **methionine-enkephalin (Met-enk)** や **leucine-enkephalin (Leu-enk)** の鎮痛作用も容易に検出できた。鎮痛作用がモルヒネ様であることは, その特異的拮抗薬 **naloxone** で阻止されることで確認した。生理活性物質の同定において, どのようなスクリーニング法を用いるかということは最も重要なことであるが, 簡便で高感度の鎮痛検定法の開発が, この研究を大きく進展させたことは言うまでもない。

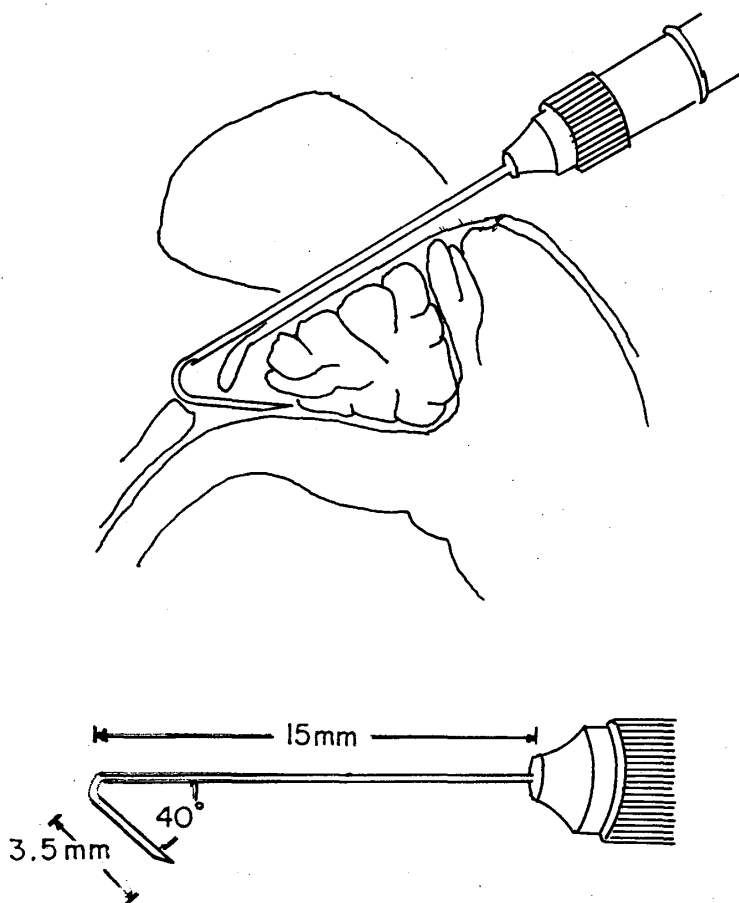


図1 マウス大槽内投与法

2. 抽出および分離, 精製³⁻⁵⁾

分離, 精製過程は図2に示した。新鮮なウシ脳(小脳を除く)を屠畜場で直ちに凍結後持ち帰り, 粉碎後冷アセトンで脱脂し, アセトン粉末を得た。このアセトン粉末を酢酸で抽出し, これを **Sephadex-G50** でゲル濾過した。この溶出液中において, 3つの鎮痛活性画分が得られたが, このうち鎮痛活性が強く **naloxone** で拮抗される画分(L画分, 分子量約1,000)を選んで **Dowex 50W x 2** でさらに精製した。**Dowex 50W x 2** での溶出液中においては, さらに5つの鎮痛活性画分(L-1, L-2, L-3a, L-3b, L-3c)が得られたが, その中でも鎮痛効力が最も強く, **naloxone** 拮抗も完全な L-3b 画分を **Bio Gel-P₂** でさらに精製し, L-3b' 画分を得た。

これは高圧濾紙電気泳動, 薄層クロマトグラフィー, 高速液体クロマトグラフィーなどで単一物質であることが確認された。さらにその構造は, **tyrosine** と **arginine (1:1)** よりなり, N末端アミノ酸が **tyrosine** である **Tyr-Arg** のジペプチドであると同定され, これをキョートルフィン(**kyotorphin**)と命名した。京都で発見されたエンドルフィン(内在性モルヒネ様物質)という意味である。

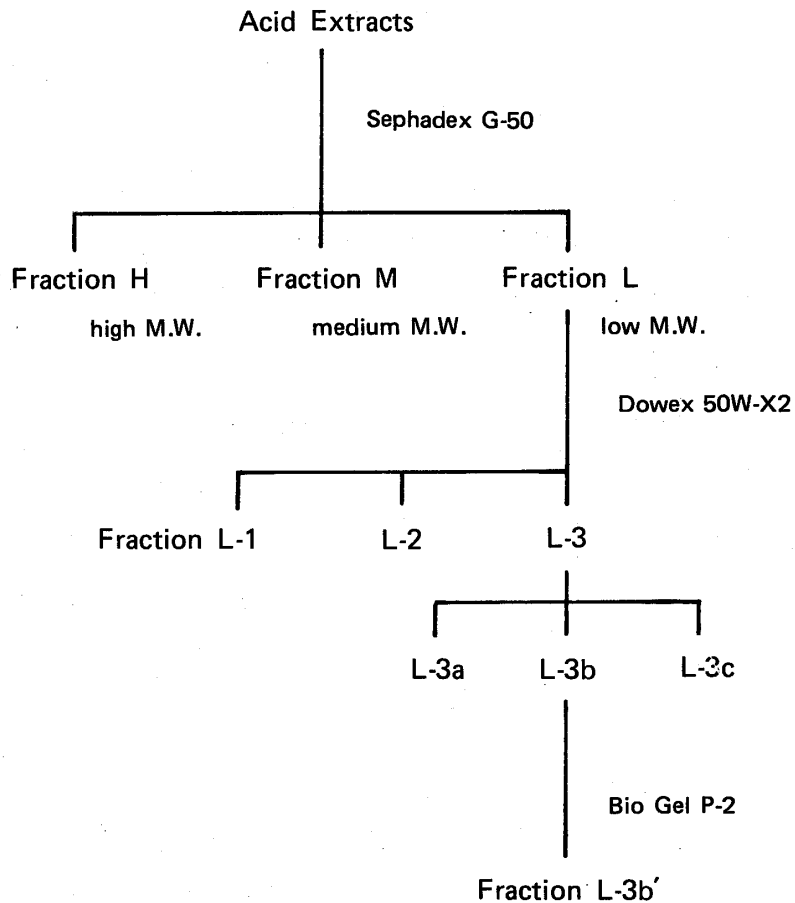


図 2 モルヒネ様鎮痛活性物質の分離

Kyotorphin は naloxone によって拮抗される鎮痛作用を有するが (図 3 参照), 後述するようにモルモット摘出回腸縦走筋の電気刺激による収縮をほとんど抑制せず, 又 opioid receptor には直接結合しない。これらの事実から, 従来の *in vitro* 生物検定法を用いていたならば, kyotorphin

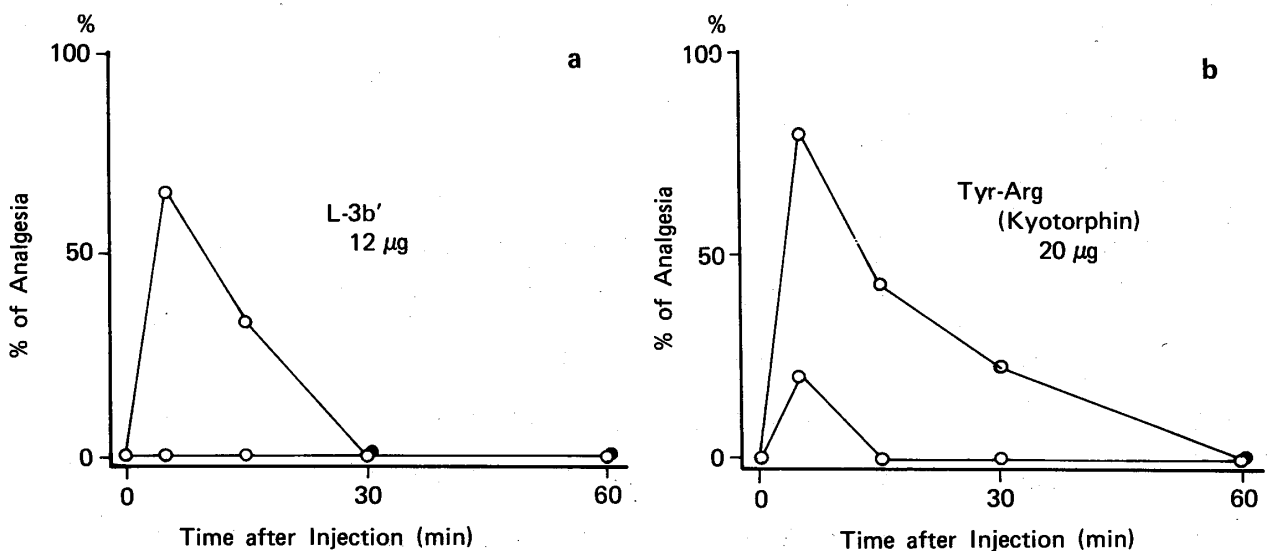


図 3 L-3b' と合成 Tyr-Arg (キョートルフィン) との鎮痛効力の比較

の単離は成功しなかったと考えられる。生理活性物質の精製において、そのスクリーニング法選択の重要性を示す一例である。

Ⅲ Kyotorphin の脳・脊髄内分布および細胞下局在

Kyotorphin はウシ脳より単離されたが、ラット、マウス、モルモット、ウサギの脳内にも存在していることが確認されている。

表 3 にラットの脳・脊髄内分布を示した。¹⁰⁾ 定量はボルタンメトリーを検出器とし高速液体クロマトグラフィーを用いて行った。

Kyotorphin を高濃度に含有する部位は、視床下部、中脳、橋・延髄といった脳幹部で、さらに、痛覚の第一次ニューロンがシナプスを形成する脊髄背側部にも腹側部より高濃度に存在する。これらの部位はいずれも morphine 鎮痛や電気刺激鎮痛の発現に深く関与する領域で、kyotorphin が内在性の鎮痛制御物質として生理的役割を担っている可能性を強く示唆している。一方 kyotorphin が opioid peptides の分布が少ない大脳皮質に全脳の約 50% も存在することは、kyotorphin が疼痛制御に関与することと同時に、この部位においては、他の生理的役割を担っていることも考えられる。

ラット脳組織での細胞下分画での結果では、kyotorphin の大部分 (92.2%) は粗シナプトゾーム画分 (P₂画分) に存在し、さらに P₂画分を再分画すると、シナプトゾームを主として含む P₂B 画分に最も高濃度 (17.1 ng/mg protein) に認められた。¹¹⁾ これらの結果は、kyotorphin が神経伝達物質として存在する可能性を示唆するもので、kyotorphin 含有ニューロンの存在が想定される。この点に関しては、現在追究中であるが、kyotorphin receptor の同定、遊離・生命機構の解明、組織化学的研究等によってその確認が期待される。

Ⅳ Kyotorphin の鎮痛作用機序

1) 鎮痛作用¹²⁾

Kyotorphin をマウス大槽内に投与すると、naloxone で拮抗される用量依存性の鎮痛作用が発現する。Tail pinch 法、hot plate 法による鎮痛効力を表 2 に示した。

ED₅₀ 値での比較は、その効力は morphine の 1/60、Met-enk の 4.2 倍であり、持続時間は後者のそれより長い。Vaught ら¹³⁾も我々が提供した合成 kyotorphin を用い、マウスの側脳室内投与、或いはラット腰髄くも膜下腔内投与によって Met-enk より作用時間の長い用量依存性の鎮痛効果を報告しており、さらに、morphine 耐性マウスでは、kyotorphin の鎮痛効果が著しく減弱することから、kyotorphin と morphine との間に交叉耐性が生じることを認めている。高木らも、kyo-

表3 Kyotorphinのラット脳および脊髄内分布

	Kyotorphinの含量	
	濃 度 (ng/g組織)	全脳での パーセント
脳		
全 脳	261.9 ± 33.4	100
大脳皮質	267.1 ± 85.9	48.4 ± 8.5
線条体	45.5 ± 8.2	1.7 ± 0.4
海 馬	61.8 ± 20.3	2.7 ± 0.7
視 床	119.3 ± 30.6	4.5 ± 1.5
視床下部	391.8 ± 47.8	3.5 ± 0.8
中 脳	719.5 ± 113.3	16.9 ± 2.8
橋 + 延髄	556.5 ± 89.6	25.0 ± 4.5
小 脳	101.8 ± 25.2	6.4 ± 1.8
脊 髄		
背側部	405.1 ± 71.0	
腹側部	230.2 ± 37.7	

torphin のラット第Ⅲ脳室内投与, 延髄巨大細胞網様核内, 中脳水道周辺灰白質内投与, および脊髄くも膜下腔内投与などで鎮痛効果を確認しており, kyotorphin の主要な鎮痛作用部位は, morphine や Met-enk 同様, 脳幹部および脊髄後角にあるものと考えられる。

2) 種々の opioid receptor に対する作用³⁾

Kyotorphin は naloxone で拮抗される鎮痛効果をもち, しかも morphine や Met-enk の鎮痛作用部位と同じ所に作用していることから, この内在性物質が①他の内在性 opioid peptides と同様に opioid receptor に結合して作用する, 或いは②内在性 opioid peptides (Met-enk 等) の opioid receptor 結合に対して, その親和性を強めたり, receptor の数を増加させる方向に働くことが考えられる。

Opioid receptor には現在数種のサブタイプが存在すると考えられており, モルモット回腸縦走筋標本は主に μ 型, マウス輸精管標本は δ 型, ラット輸精管標本は ϵ 型をそれぞれ個有していると考えられている。そこで, kyotorphin のこれら 3 種の末梢臓器に対する作用を調べたが, いずれも, ほとんど作用が認められなかった。さらにラット脳膜標本での ^3H -naloxone, ^3H -dihydroxymorphine, ^3H -Met-enkephalin 結合に対する阻害作用を調べたが kyotorphin は 10^{-4}M においても阻害作用を示さず, ^3H -Met-enkephalin 結合に対する親和性および最大結合部位数にも影響を及ぼさなかった。

3) Met-enkephalin 遊離作用^{3,14)}

Kyotorphin が opioid receptor に対して何ら作用を持たないことから、その鎮痛作用は①内在性 opioid peptides の遊離作用、或いは② opioid peptides の不活性化過程（酵素分解）を阻害する作用を介して発現すると考えられる。著者らは opioid peptides の中でも最も神経伝達物質としての可能性が高い enkephalin について kyotorphin の作用を調べた。

モルモット線条体切片標本を灌流し、灌流液中に遊離されてくる Met-enk 量は、高 K^+ メジウムにおいて、 Ca^{2+} 依存性の増大を示し、電気刺激によってもその増大作用が確認される。この系に kyotorphin 10^{-6} , 10^{-5} を適用すると、濃度依存性の Met-enk 遊離作用が認められた。この作用は Ca^{2+} 依存性であり、tetrodotoxin で阻害される脱分極性であることが示された。同様の Met-enk 遊離増大作用は、図4に示すように鎮痛発現にも重要な部位である脊髓の切片標本においても認められる。これらのことより、kyotorphin は、enkephalin 含有ニューロンの細胞体或いは終末部を脱分極させ、その神経終末から enkephalin を遊離させることにより、疼痛制御機構を駆動させているのではないかと考えられる。

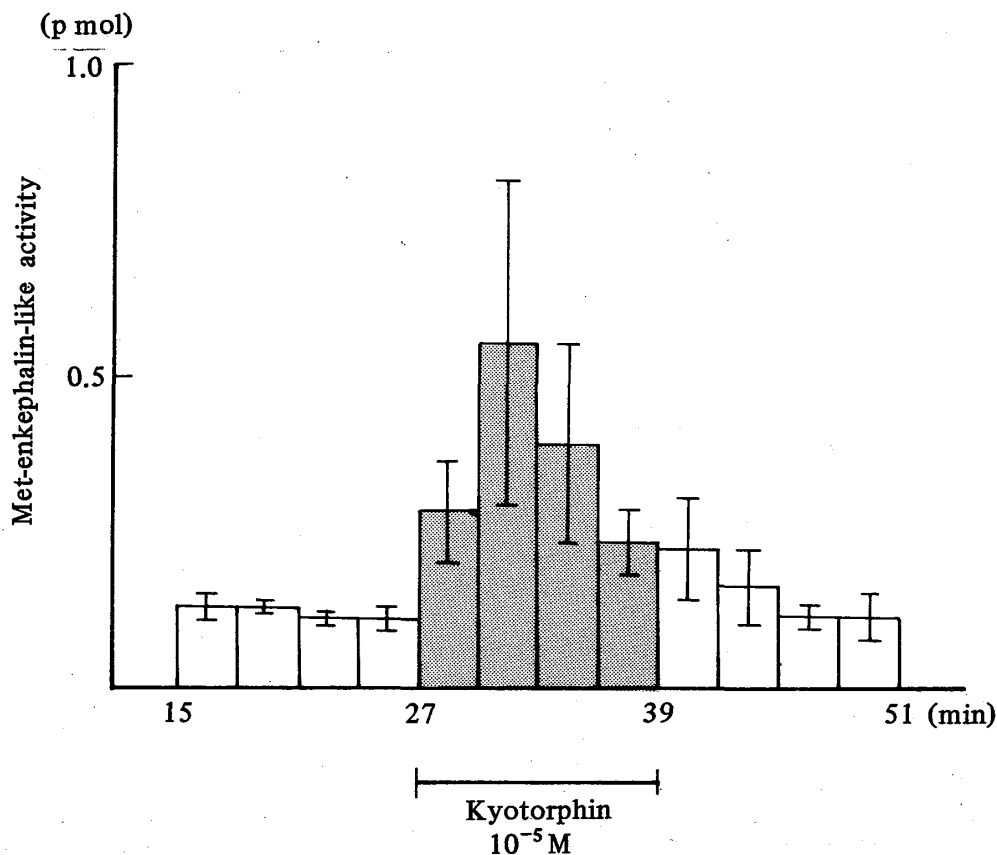


図4 灌流液中に加えられた kyotorphin (10^{-5} M) によるモルモット脊髓切片からの Met-enkephalin 遊離促進作用。

Enkephalins は、主に Tyr¹-Gly² 結合を切断する aminopeptidase と Gly³-Phe⁴ 結合を切る enkephalinase によって分解され失活する。この2種の酵素に対して kyotorphin は阻害作用を有するが非常に弱いものである。Kyotorphin の enkephalin 分解酵素阻害作用は、鎮痛作用発現に際して主力とはなり得ず、補助的な役割しか持たないと考えられる。

4) 電気生理学的知見

Kyotorphin の鎮痛作用が enkephalin 遊離作用を介して発現すると考えると、kyotorphin の鎮痛作用発現部位は、enkephalin や morphine の作用部位と同じところであると考えられる。

Morphine や enkephalin の作用部位としては、延髄傍巨大細胞網様核 (NRPG)・巨大細胞網様核

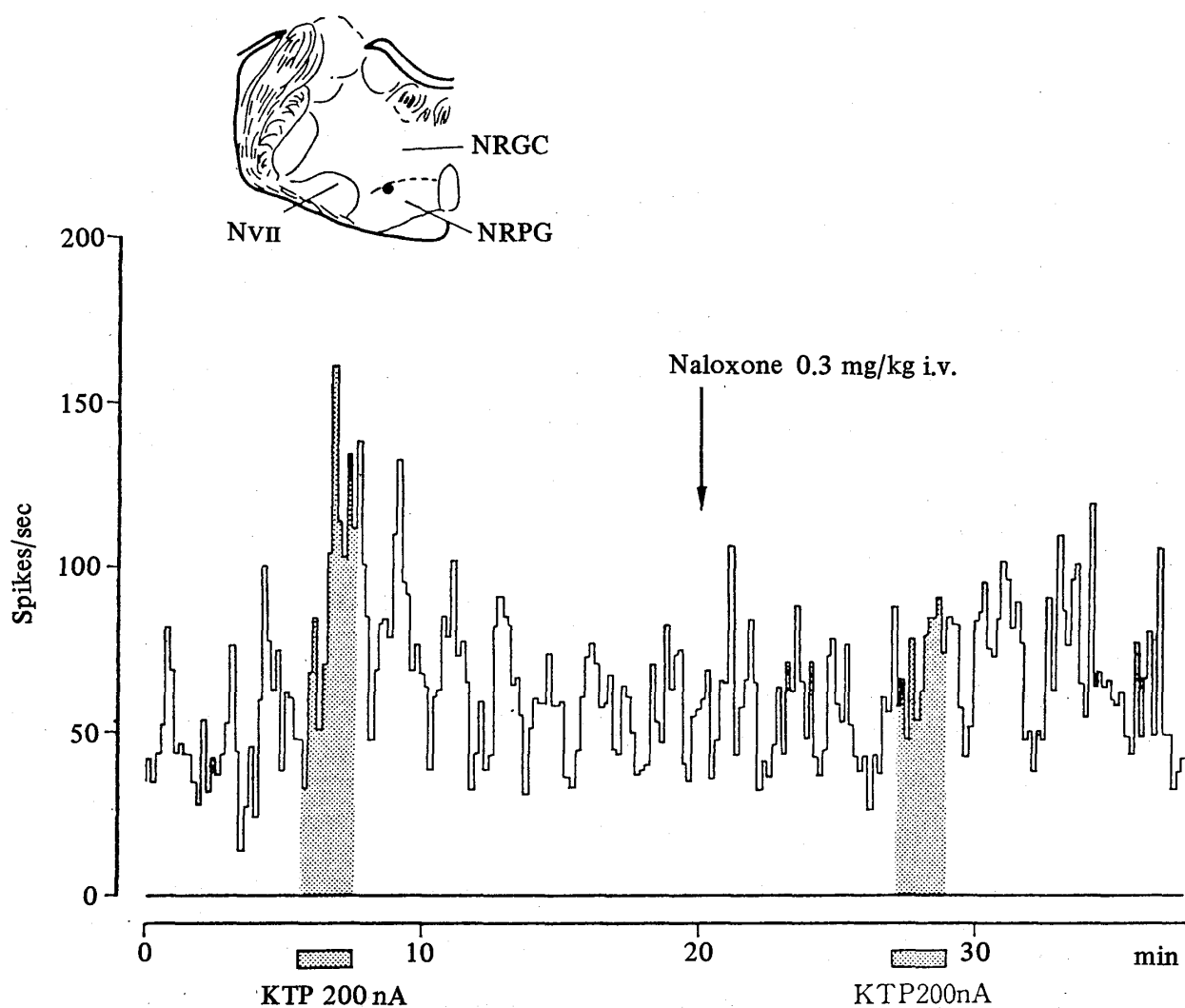


図5 微小電気泳動法により適用されたkyotorphin (KTP: 200 nA) によるラット延髄傍巨大細胞網様核 (NRPG) ニューロン興奮作用および naloxone (0.3 mg/kg i.v.) による拮抗。なお、この NRPG ニューロンは bradykinin 動脈内注射に対して興奮性反応を示した。挿入図中の黒点は記録したニューロンの位置を示す。¹⁵⁾

(NRGC) や脊髄後角が重要である。

NRPG ニューロンの自発性活動に対して、微小電気泳動法により適用した **kyotorphin** は主に増加作用を示し、この作用は **naloxone** によって拮抗される(図5)¹⁵⁾。このNRPGニューロンに対する興奮作用は、NRPG から脊髄後角への下行性抑制系を駆動させたことを示しており、**enkephalin** や **morphine** にも同様の効果が認められる。このことから、**kyotorphin** はNRPGの部位において **enkephalin** 含有ニューロンに作用し、その終末から **enkephalin** を遊離させ、この **enkephalin** を介してNRPGニューロンを興奮させているものと考えられる。さらに、ウサギ脊髄第V層型ニューロン(痛みの伝達に関与している)において、発痛物質 **bradykinin** の大腿動脈内注射による痛み刺激により活性化されたニューロン活動は **kyotorphin** の適用により抑制され、この抑制作用も **naloxone** によって拮抗された。一方、触刺激により誘発されたニューロン活動には、**kyotorphin** は全く無影響であった。¹⁵⁾ これらの結果は、脊髄においても、**kyotorphin** は **enkephalin** を介して、痛覚伝達を抑制する可能性を示している。

V **Kyotorphin** の大脳皮質に対する作用

大脳皮質には **kyotorphin** の全脳含有量の約50%が局在していることは前述した。この分布は、**kyotorphin** が大脳皮質において何らかの生理作用を有することを示唆している。しかしながら、この部位には **enkephalin** 含有ニューロンの分布が非常に少ないので、**enkephalin** 遊離を介さない **kyotorphin** の直接作用が示唆される。事実、**kyotorphin** は大脳皮質ニューロンを興奮させ、大量投与するとてんかん様発作波(脳波)を生ずるが、この効果は **naloxone** によって拮抗されない(図6)¹⁶⁾。

なお、同様の効果は **enkephalin** を大脳皮質に投与した時にも認められるが、これは **naloxone** 処置によって拮抗される。

興味深いことに、**kyotorphin** は条件回避反応の消去を遅延させる作用をもつ。¹⁷⁾ この効果は **naloxone** の前処置によっても影響を受けないので **enkephalin** 遊離作用を介するものではなく、**kyotorphin** 固有の大脳皮質ニューロン興奮作用に関連した作用ではないかと考えられる(表4)。

このように、大脳皮質での **enkephalin** を介さない **kyotorphin** 独自の作用は、記憶の強化、維持に関与しているのかも知れない。

ipsilateral

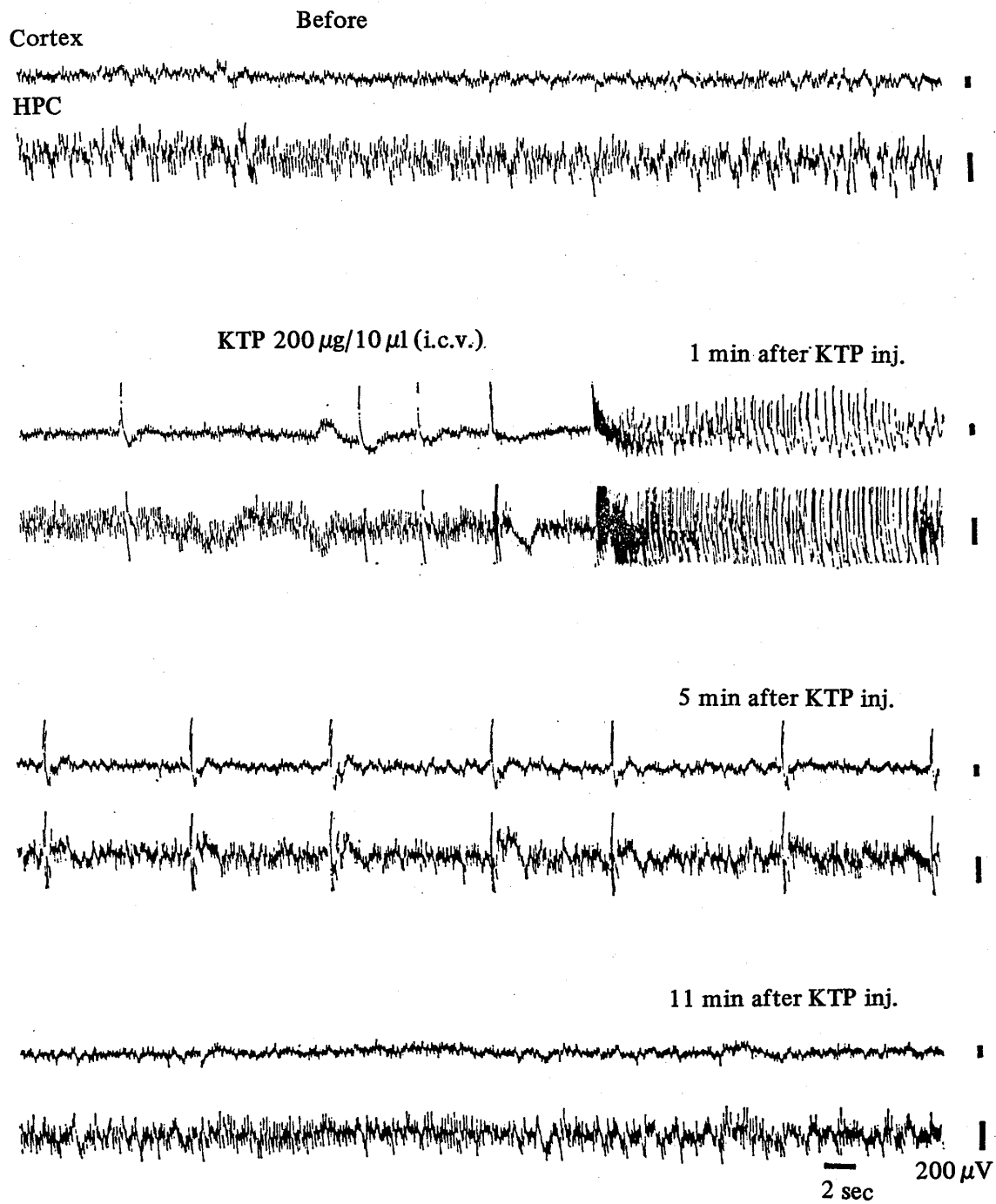


図 6 ラット側脳室内に注射された kyotorphin (KTP: 200 μ g=593 nmol) による注射側の
大脳皮質感覚運動野 (cortex) および海馬 (HPC) でのてんかん様発作波。¹⁶⁾

表4 Kyotorphin 及び関連ペプチドの条件回避行動の消去遅延作用(ポール・クライミング法)¹⁷⁾

Treatment	Dose per Rat	N ¹	N. of Positive Responses in 10 Trials		
			0 hr ²	2 hr	4 hr
Saline	0.5 ml	19	9.4 ± 0.2 ³	5.8 ± 0.9	4.2 ± 0.9
KTP	5.0 µg	6	9.7 ± 0.3	6.8 ± 1.9	6.5 ± 2.1
	15 µg	10	9.7 ± 0.2	8.5 ± 1.0*	6.8 ± 1.0*
	30 µg	9	9.5 ± 0.3	9.1 ± 0.8*	7.9 ± 1.4*
	500 µg	10	9.8 ± 0.2	9.2 ± 0.2*	7.8 ± 1.3*
L-Tyr-D-Arg	1.0 µg	5	9.6 ± 0.2	6.6 ± 1.6	4.2 ± 1.7
	5.0 µg	11	9.5 ± 0.2	8.5 ± 0.5	7.3 ± 1.1*
Tyrosine	30 µg	6	8.8 ± 0.3	4.8 ± 1.5	4.7 ± 1.7
Arginine	30 µg	6	9.5 ± 0.3	6.3 ± 1.2	4.4 ± 1.6
Leu-enkephalin	1.0 µg	10	9.7 ± 0.2	9.6 ± 0.3*	8.1 ± 1.0*
	5.0 µg	10	9.8 ± 0.2	8.9 ± 0.7*	6.2 ± 1.4
	15 µg	10	9.9 ± 0.1	7.2 ± 1.2	5.7 ± 1.5
	500 µg	8	9.6 ± 0.2	7.9 ± 0.9	7.0 ± 1.1*
Nalox. 1.0 mg/kg					
+ Saline	0.5 ml	9	9.6 ± 0.2	3.3 ± 1.2	2.3 ± 1.2
+ KTP	30 µg	9	9.4 ± 0.2	7.1 ± 1.4**	6.3 ± 1.5**
+ Leu-enkephalin	1.0 µg	9	9.8 ± 0.1	6.4 ± 0.6	2.2 ± 0.6

1 Number of rats.

2 The first extinction session of 10 trials (0 hr).

3 Mean ± S.E.M.

* Significant difference from the saline control ($P < 0.05$).** Significant difference from value for naloxone-pretreated saline group ($P < 0.05$).

Ⅵ Kyotorphin 同族体について^{12, 18)}

Enkephalin の発見以来, その同族体合成についても研究が進み, morphine の鎮痛作用と比較しても数倍強い効力を持ち, 末梢投与にも耐えうるペプチドや, opioid receptor の subtype の一つに選択的に結合するもの等, 数多くの興味ある同族体が生まれてきている。

Kyotorphin についても酵素分解に抵抗性をもたせるため L-Arg を D-Arg に変えた Tyr-D-Arg を合成した。この同族体(D-kyotorphin)は, 効力が kyotorphin の約5倍強くなり, 作用時間も延長した。

ところで, もし, enkephalin 関連ペプチドの中に kyotorphin 構造を組み込んだならば, enkephalin 自体の opioid 活性に kyotorphin による内在性 enkephalin 遊離作用が相加され, 強力な鎮痛活性をもつペプチドの合成が期待される。この様な理由から, 我々は kyotorphin 構造をその N 末端にもつ enkephalin 関連ペプチドを合成し, 大槽内投与により鎮痛活性を比較検討した。

それらの中で、D-Arg²-Met⁵-enkephalin (Tyr-D-Arg-Gly-Phe-Met, DAME) は最も強力で、その効力は Met-enk の 584 倍、morphine の 3.6 倍であり、静脈内注射によっても鎮痛効果は発現し、その ED₅₀ 値は 60.2 mg/kg であった(皮下投与では無効)。この様に我々は、末梢投与によっても作用を発現する新しい鎮痛活性ペプチドを得たが、このペプチドが酵素分解を受けやすい遊離の C 末端をもつことは興味のあるところである。そこで生体内において peptidase による分解で生成してくる可能性のある N 末フラグメント 3 種について、その鎮痛活性を検討した(表 5)。これらのフラグメントはすべて鎮痛活性を有していたが、その中でも tetrapeptide, Tyr-D-Arg-Gly-Phe (DR-4) は DAME より 5.7 倍強力で、morphine と比較すると 21 倍も強力な鎮痛作用を示した。DR-4 は皮下注射によっても有効で、その ED₅₀ 値は 10 mg/kg である。このペプチドは opioid receptor のうち μ -receptor に結合するので opioid としての特性をもっているが、kyotorphin の特性としての enkephalin 遊離作用をもっているのかどうかについては現在追究中である。

表 5 D-Arg² ペプチド類の鎮痛効果(マウス大槽内投与法による)¹⁸⁾

Compound	ED ₅₀ (nmol/mouse)	Relative Potency
Met ⁵ -enkephalin	146	1
D-Ala ² -Met ⁵ -enkephalin	1.84	79.3
D-Arg ² -Met ⁵ -enkephalin (DRME)	0.25	584
D-Arg ² -Leu ⁵ -enkephalin	5.19	28.1
Tyr-D-Arg-Gly-Phe (DR-4)	0.044	3318
Tyr-D-Arg-Gly (DR-3)	11.4	12.8
Tyr-D-Arg (DR-2)	16.6	8.80
Kyotorphin	59.3	2.46
Morphine	0.90	162

Ⅶ おわりに

本稿では、kyotorphin の同定過程、中枢神経系内分布、薬理活性とその機序についてまとめると共に、医薬品開発の一つの試みとして、同族体を合成し、酵素抵抗性があり morphine よりも強力な鎮痛活性ペプチドを得たことを述べた。現在残された問題は kyotorphin 固有の receptor の有無、生合成過程の解明、組織化学的研究などである。これらの研究遂行にあたっては、特異性の高い kyotorphin 抗体を得る事が強く望まれる。kyotorphin は dipeptide であり、その抗体作成は困難を極めたが、現在、やっとその作成に成功した。今後、この抗体を用いて未解決の分野も急速に進展していくことを期待している。

本文において直接ふれなかったが、我々は鎮痛活性をもつペプチドも合わせて同定している。

そのアミノ酸配列は, **Thr-Ser-Lys-Tyr-Arg** で, そのC末端に **kyotorphin** 構造をもつものであり, **Neo-kyotorphin** と命名した。^{19, 20)} このペプチドが **kyotorphin** の前駆体として存在するのか, 或いは固有の生理的意義があるのかも興味ある研究課題である。

Kyotorphin を含む **opioid peptides** の生理作用, 薬理作用の研究を通して生体の疼痛制御機構を解明し, その中から, 身体依存性, 耐性を生じない理想的な鎮痛薬を創造していくことが, 我々研究者の夢であり, ここに記した **kyotorphin** の研究が, その一端を担っているならば幸いである。

付 記

Opioid peptide 研究の現状と将来の展望については著者の総説²¹⁾にまとめてある。参照されたい。

文 献

- 1) Hughes, J., Smith, T. W., Kosterlitz, H. W., Fothergill, A. A., Morgan, B. A., Morris, H. R.: *Nature*, **258**, 577 (1975).
- 2) 高木博司, 佐藤公道: エンケファリンとエンドルフィン(藤村 一, 高木博司編) P 85, 講談社, 東京(1981)
- 3) Takagi, H., Shiomi, H., Ueda, H., Amano, H.: *Nature*, **282**, 410 (1979).
- 4) Takagi, H., Satoh, M., Shiomi, H., Akaike, A., Ueda, H., Kawajiri, S., Yamamoto, M., Amano, H.: "Endogenous and Exogenous Opiate Agonists and Antagonists" (ed. by Way, E. L.); pp. 201, Pergamon Press, New York (1980).
- 5) Shiomi, H., Ueda, H., Takagi, H.: *Neuropharmacology*, **20**, 633 (1981).
- 6) Kosterlitz, H. W., Lydon, R. J., Watt, A. J.: *Brit. J. Pharmacology*, **39**, 398, (1970).
- 7) Hughes, J.: *Brain Research*, **88**, 295 (1975).
- 8) Part, C. B., Snyder, S. H.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **70**, 2243 (1973).
- 9) Ueda, H., Amano, H., Shiomi, H., Takagi, H.: *Europ. J. Pharmacology*, **56**, 265 (1979).
- 10) Ueda, H., Shiomi, H., Takagi, H.: *Brain Research*, **198**, 460 (1980).
- 11) Ueda, H., Tatsumi, K., Shiomi, H., Takagi, H.: *Brain Research*, **231**, 222 (1982).
- 12) Takagi, H., Shiomi, H., Ueda, H., Amano, H.: *Europ. J. Pharmacology*, **55**, 109 (1979).
- 13) Vaught, J. L., Chipkin, R. E.: *Europ. J. Pharmacology*, **79**, 167 (1982).
- 14) Shiomi, H., Kuraishi, Y., Ueda, H., Harada, Y., Amano, H., Takagi, H.: *Brain Research*, **221**, 161 (1981).
- 15) Satoh, M., Kawajiri, S., Yamamoto, M., Akaike, A., Ukai, Y., Takagi, H.: *Neuroscience Letter*, **16**, 319 (1980).
- 16) Satoh, M., Yamamoto, M., Kawamuki, K., Takagi, H.: *Neuroscience Letter, Suppl.* **9**: S100 (1982).
- 17) Yamamoto, M., Kawamuki, K., Satoh, M., Takagi, H.: *Neuroscience Letter*, **31**, 175 (1982).
- 18) 天野博夫, 中村明弘, 高木博司, 窪田 実, 矢島治明: 第61回日本薬理学会近畿部会抄録集 (1982)
- 19) Takagi, H., Shiomi, H., Fukui, K., Hayashi, K., Kiso, Y., Kitagawa, K.: *Life Sciences*, **31**, 1733 (1982).
- 20) Fukui, K., Shiomi, H., Takagi, H., Hayashi, K., Kiso, Y., Kitagawa, K.: *Neuropharmacology*, **22**, 191 (1983).
- 21) 塩見浩人, 高木博司: 神経研究の進歩, **27**, No. 3, 479 (1983)