

薬学博士中嶋暉躬君及び医学博士川合述史君の「ハチ毒、クモ毒の  
化学的、生理学的研究、特にジヨロウグモ毒 (JSTX) の神経科学  
的研究」(共同研究) に対する授賞審査要旨

ヒキガエルの耳下腺、皮腺の分泌物は漢方薬のセンソ(蟾酥)のように昔から貴重薬としてよく知られ、その成分の強心性ステロイドの研究も半世紀前に終わっているような特殊な例は別にして、一般的にはカエル皮腺の毒、ハチの刺毒、クモの咬毒などの化学的研究は個体の小さいこと、含量の少ないことなどの隘路があつて遅れていた。中嶋は一九六五年頃、かねてから研究してきたダンシル化蛍光標識に由る微量ペプチド解析法を駆使して、子宮筋収縮、血圧変動測定などを指標にブラジキニンとそのアナログをトノサマガエルの皮から分離確認した。その後、更に世界各国から集めた種々のカエルの皮から従来哺乳動物のみから見出されていたブラジキニン、アンジオテンシン、サブスタンスP及びこれらのアナログの多数を発見した。また、種々のハチの毒腺からはマスト細胞脱顆粒作用を指標にして毒成分の主体であるマストパラン (Mastoparan) とそのアナログを発見した。マストパランは塩基性アミノ酸 Lys 三個と疎水性アミノ酸 Ile, Leu, Ala 一〇個、Asn 一個から構成される14-ペプチドで、強いマスト細胞脱顆粒作用に由りヒスタミンを遊離し、また血小板からはセロトニンを放出するハチ毒発痛因子の一つである。生理作用

の機構についても詳細な研究を行った結果、G蛋白質を直接活性化してフォスファチルイノシトル系の連鎖反応を誘発、ヒスタミンを遊離する特異なペプチドであることが判明し、現在は細胞情報伝達機構の探索試薬として世界的に使われている。

前述の小動物の毒腺の分泌物は生理活性ペプチド以外にも各種の組織破壊酵素蛋白やアミン等を含む混合物なので中嶋は各種の構成成分を分画するカラムの問題、精製された活性ペプチドの解析法の微量化の問題などに取組み、独自の生体成分の微量ペプチドの分離、精製とその解析法を確立した。一九六五年から一九八二年迄の一〇数年間に、曾って必要とした数千個のハチの毒腺が僅か一個で充分に目的を達する迄に微量化が達成された。中嶋がカエル、ハチなどから発見、解析した新規な生物活性ペプチドは七〇余種に達する。そして中嶋は一九八〇年以降、この研究をクモ咬毒の成分研究に展開した。

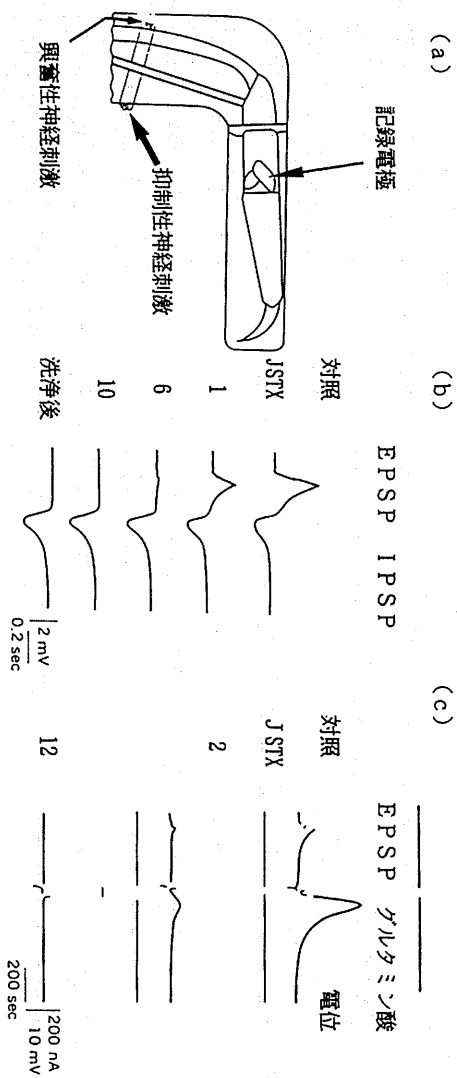
協同研究者の川合は一九六五年から小脳の抑制回路網の研究、脳スライス法による電気生理学的研究などを行って来たが、たまたまクモに咬まれた餌の昆虫が麻痺することと昆虫の筋肉の神経伝達物質がグルタミン酸 (Glu) であることから Gln 伝達阻害の研究を一九八二年に始めた。伝達系にはイセエビ歩脚神経筋標本、クモ毒は日本産のジョロウグモ毒腺を使って実験し Gln 受容体伝達系を不可逆的に阻害する成分の存在を確認しその因子を JSTX (Joro Spider Toxin) と命名した (図一)。

一九八三年には中嶋は南洋産の体長一五 cm のオオジョロウグモから同じ生理活性画分を取り、川合との JSTX の化学的、生物学的研究の協力体制を整えた。アミノ酸分析、二次元 (COSY)-NMR、ダンシル化水解法などに由っ

て図示(図2)のような構造式を一九八六年に提出し、一九八七年全合成に由って構造が決定した。中嶋は JSTX アナログ二〇種をクモ類から発見しているが、これらは共通して頭部にフェニル酢酸、インドール酢酸を、胴部にアミノ酸 Asn、尾部にカダベリン、プトレアニン等のポリアミンを持ち、今までのペプチドとは似て非なる化合物群であった。これらはポリアミノトキシンと命名された(図2)。Glu 伝達系阻害作用と構造との相関研究の結果、最も構造の簡単で生理活性のある NASPM(図2)が選択され Glu 伝達阻害試薬として広く使われている。

川合によるイセエビ歩脚神経筋及びラット海馬スライスの実験結果から JSTX はキスカル酸型(GA-AMPA型)の G<sub>β</sub> 受容体を選択的に遮断することが証明された。また放射性ヨウ素でラベルされた JSTX を接着させることによりイセエビ歩脚神経筋接合部の G<sub>β</sub> シナプスの撮影に成功した。これは G<sub>β</sub> 受容体の可視化に成功した最初の例である。またビオチン化 JSTX のアビジン結合性を利用する G<sub>β</sub> 受容体の組織化学的研究を行い小脳、海馬組織の受容体結合部位を明らかにした。

本研究におけるカエル、ハチ、クモ起源の毒成分の特定、構造決定、その毒作用の機序の解明は、現代的な神経科学の分野における画期的な成果と高く評価されている。Glu は脳内の代表的な興奮神経伝達物質であり、特に記憶学習機能への関与が指摘されている。JSTX、NASPM の両者はその受容体に対する鋭敏な特異的遮断剤として世界的に広く用いられつつあり、また、将来の臨床医学への応用の可能性も注目されている。



- (a) : イセエヒ神経筋標本と電極配置の模式図
- (b) : 伸張筋より記録した興奮性シナプス後電位 (EPSP) は JSTX により不可逆的に抑制されるが抑制性シナプス後電位 (IPSP) は影響を受けない。数字は毒投与後の時間 (単位は分)。
- (c) : EPSP とグルタミン酸電位を同一細胞より記録し、JSTX を与えると両者は同じように遮断される。

図 1 JSTX の甲殻類筋シナプスに対する作用

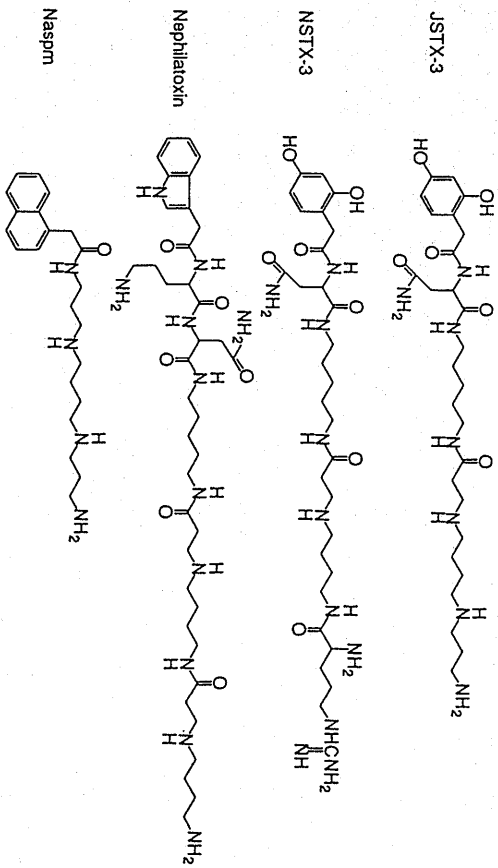


図2 JSTX, ポリアミノトキソン類の構造

一 日本ロバハチ科 (JSTX, NSTX 科) の毒液の成分

1. Y. Aramaki, T. Yasuhara, T. Higashijima, A. Miwa, N. Kawai and T. Nakajima: Chemical characterization of spider toxin, NSTX. *Biomed. Res.*, 8, 167-173 (1987).
2. Y. Aramaki, T. Yasuhara, K. Shimazaki, N. Kawai and T. Nakajima: Chemical structure of joro spider toxin (JSTX). *Biomed. Res.*, 8, 241-245 (1987).
3. Y. Hashimoto, Y. Endo, K. Shudo, Y. Aramaki, N. Kawai and T. Nakajima: Synthesis of spider toxin (JSTX-3) and its analogs. *Tetrahedron Lett.*, 28, 3511-3514 (1987).
4. K. Shudo, Y. Endo, Y. Aramaki, N. Kawai and T. Nakajima: Newly synthesized analogues of the spider toxin block the crustacean glutamate receptor. *Neurosci. Res.*, 5, 82-85 (1987).
5. K. Hagiwara, Y. Aramaki, K. Shimazaki, N. Kawai and T. Nakajima: Iodinated joro toxin (JSTX-3). Its structure and binding to the lobster neuromuscular synapse. *Chem. Pharm. Bull.*, 36, 1233-1236 (1988).
6. T. Toki, T. Yasuhara, Y. Aramaki, K. Osawa, A. Miwa, N. Kawai and T. Nakajima: Isolation and chemical characterization of a series of new spider toxin (nephilatoxins) in the venom of joro spider, *Nephila clavata*. *Biomed. Res.*, 9, 421-428 (1988).
7. T. Asami, H. Kagechika, Y. Hashimoto, K. Shudo, A. Miwa, N. Kawai and T. Nakajima: Acylpolyamines mimic the action of joro spider toxin (JSTX) on crustacean muscle glutamate receptors. *Biomed. Res.*, 10, 185-189 (1989).
8. T. Teshima, T. Matsumoto, T. Wakamiya, T. Shiba, T. Nakajima and N. Kawai: Structure-activity

- relationship of NSTX-3, spider toxin of *Nephila maculata*. Tetrahedron, 46, 3813-3818 (1990).
9. M. Yoshioka, N. Narai, N. Kawai, M. Numata and T. Nakajima: A new insecticide, clavamine, from the venom of a spider, *Nephila clavata*. I. Purification and identification of the structure. Biogenic Amines, 7, 375-384 (1990).
10. T. Toki, A. Miwa, N. Kawai, K. Hagiwara and T. Nakajima: Paralytic effect of spider toxin-related compounds on German cockroach, *Blattella germanica* L. Biomed. Res., 13, 53-58 (1992).
11. M. Miyashita, H. Sato, A. Yoshikoshi, T. Toki, M. Matsushita, H. Irie and T. Nakajima: Synthetic studies on spider neurotoxins (I): Total synthesis of nephilatoxins (NSTX-9 and NSTX-11), new neurotoxins of joro spider (*Nephila clavata*). Tetrahedron Lett., 33, 2833-2836 (1992).
12. T. Toki and T. Nakajima: Lethal action of 1-naphthylacetyl spermine on arthropods. Jpn. J. Sanit. Zool., 43, 59-62 (1992).
- 田中 健  
田中 健
1. N. Kawai, A. Niwa and T. Abe: Spider toxin contains specific receptor blocker of glutamatergic synapses. Brain Res., 247, 169-171 (1982).
2. N. Kawai, S. Yamagishi, M. Saito and K. Furuya: Blockade of synaptic transmission in the squid giant synapse by a spider toxin (JSTX). Brain Res., 278, 346-349 (1983).
3. T. Abe, N. Kawai and A. Niwa: Effects of a spider toxin on the glutamatergic synapse of lobster muscle. J. Physiol. (Lond.), 339, 243-252 (1983).
4. M. Saito and N. Kawai: Developmental changes in the glutamate receptor at the insect neuromus-

5. M. Saito and N. Kawai: Patch clamp study of single glutamate channel in the insect neuromuscular synapse. *Dev. Biol.*, 121, 90-96 (1987).
6. A. Miwa, M. Ui and N. Kawai: Pertussis toxin blocks the presynaptic glutamate receptors, a novel 'Glutamate B' receptor in the lobster neuromuscular synapse. *Brain Res.*, 416, 162-165 (1987).
7. N. Kawai, M. Saito and S. Ohsako: Differential expression of glutamate receptors in *Xenopus* oocytes injected with messenger RNA from lobster muscle. *Neurosci. Lett.*, 95, 203-207 (1988).
8. K. Shimazaki, K. Hagiwara, Y. Hirata, T. Nakajima and N. Kawai: An autoradiographic study of binding of iodinated spider toxin to lobster muscle. *Neurosci. Lett.*, 84, 173-177 (1988).
9. K. Shimazaki, K. Hagiwara, N. Kawai and T. Nakajima: A spider toxin (STX) binding protein in rat hippocampus. *Biomed. Res.*, 10, 401-403 (1989).
10. T. Himi, N. Kawai, H. Saito and T. Nakajima: Spider toxin (STX-3) inhibits the convulsions induced by glutamate agonists. *J. Neural Transmission*, 80, 95-104 (1990).
11. K. Shimazaki, H. P. C. Robinson, T. Nakajima, N. Kawai and T. Takenawa: Purification of AMPA type glutamate receptor by a spider toxin. *Mol. Brain Res.*, 13, 331-337 (1992).
12. H. Tsubokawa, K. Oguro, H. P. C. Robinson, T. Masuzawa, T. Kirino, and N. Kawai: Abnormal  $Ca^{2+}$  homeostasis before cell death revealed by whole cell recording of ischemic CA1 hippocampal neurons. *Neuroscience*, 49, 807-817 (1992).
13. A. Miwa, H. P. C. Robinson and N. Kawai: Presynaptic glutamate receptors depress inhibitory postsynaptic transmission in lobster neuromuscular synapse. *J. Neurophys.*, 70, 1159-1167 (1993).



他三三三

III 他のハチ毒、クマ毒に関する論文

(ハチ毒、クマ毒、トクソリン毒)

1. T. Yasuhara, H. Yoshida and T. Nakajima: Chemical investigation of the hornet (*Vespa xanthophora* Cameron) venom. The structure of a new bradykinin analog "vespakinin-X". Chem. Pharm. Bull., 25, 936-941 (1977).
2. Y. Hirai, T. Yasuhara, H. Yoshida, T. Nakajima, M. Fujino and C. Kitada: A new mast cell degranulating peptide "mastoparan" in the venom of *Vespa lewisii*. Chem. Pharm. Bull., 27, 1942-1944 (1979).
3. S. Hori, N. Kawai, A. Niwa and S. Ohtani: Separation of neurotoxins from hornet (*Vespa insularis*) venom and their actions on crustacean neuromuscular transmission. J. Neurochem., 28, 1183-1188 (1977).
4. Y. Kuroda, M. Yoshioka, K. Kumakura, K. Kobayashi and T. Nakajima: Effects of peptides on the release of catecholamines and adenine nucleotides from cultured adrenal chromaffin cells. Proc. Jpn. Acad., 56(B), 660-664 (1980).
5. T. Abe, N. Kawai and A. Miwa: Purification and properties of a presynaptically acting neurotoxin, Mandaratoxin, from the hornet (*Vespa mandarinia*). Biochemistry, 21, 1693-1697 (1982).
6. T. Higashijima, K. Wakamatsu, M. Takemitsu, M. Fujino, T. Nakajima and T. Miyazawa: Conformational change of mastoparan from wasp venom on binding with phospholipid membrane.

- FEBS Lett., 152, 227-230 (1983).
7. T. Higashijima, S. Uzu, T. Nakajima and E. M. Ross: Mastoparan, a peptide toxin from wasp venom, mimics receptors by activating GTP-binding regulatory proteins (G proteins). *J. Biol. Chem.*, 263, 6491-6494 (1988).
  8. M. Koike, K. Nagashima, K. Saito, M. Nakanishi, M. Fujino and T. Nakajima: Chemotactic peptide from Ropalidian wasp as well as tripeptide stimulates two distinct pathways in neutrophils, but the [Lys<sup>1</sup>] analog does only one of them. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 175, 165-172 (1991).
- (他のクモ毒、コナグモ毒、クサグモ毒など)
1. N. Kawai, A. Mauro and H. Grundfest: Effects of black widow spider venom on the lobster neuromuscular junction. *J. Gen. Physiol.*, 60, 650-664 (1972).
  2. K. Hagiwara, A. Tokita, A. Miwa, N. Kawai and T. Nakajima: Complete amino acid sequence of a new neurotoxin from the venom of the spider, *Agelena opulenta*. *Biomed. Res.*, 11, 181-186 (1990).
  3. K. Hagiwara, A. Tokita, A. Miwa, N. Kawai, Y. Murata, A. Uchida and T. Nakajima: Determination of biogenic amines in spider venom glands of nine typical Japanese species and chromatographic elution pattern analysis of venomous components. *Jpn. J. Sanit. Zool.*, 42, 77-84 (1991).

他五〇編

その他の生物活性ペプチドの解明、新分析法の開発に関する論文等 一五四篇  
 総説、著書等 一三〇篇 (シロコウグモ毒、ハチ毒関係 八七篇)