

トリプトファン代謝とメタル

柴田幸雄¹⁾・竹内章夫¹⁾・坪内涼子¹⁾・太田隆男¹⁾
中塚正博¹⁾・白石節子¹⁾・奥村迪雄¹⁾・坂田元記¹⁾
古武彌三²⁾・沖中靖³⁾・仲佐輝子³⁾
(¹⁾愛知医科大学学生化学*, (²⁾元神戸学院大学**, (³⁾同志社女子大学***)

Tryptophan Metabolism and Metal

Yukio SHIBATA¹⁾, Fumio TAKEUCHI¹⁾, Ryoko TSUBOUCHI¹⁾, Takao OHTA¹⁾, Masahiro NAKATSUKA¹⁾,
Setsuko SHIRAISHI¹⁾, Michio OKUMURA¹⁾, Motoki SAKATA¹⁾, Yazo KOTAKE²⁾, Osamu OKINAKA³⁾,
and Teruko NAKASA³⁾

¹⁾Department of Biochemistry, Aichi Medical University, ²⁾Formerly, Kobe Gakuin University

³⁾Doshisha Women's College

In 1952, Kotake et al. have reported that Xanthurenic Acid (XA) show the diabetogenic action in V.B₆ deficient rats. From that time, we have experimented about the serum Ca and Mg value in Trp-sodium butyrate administered rats, V.B₆ deficient rats, alloxan diabetic rats and D.M. patients. And we detected the low Ca and slightly high Mg value in such an experimental rats serum.

In this report, we will report about the effect of Mg²⁺ and Zn²⁺ related to Trp metabolism.

- (1) In Mg deficient rats, only anthranilic acid (AA) excretion decreased. This effect is in accordance with the change of kynureninase activity.
- (2) On the other hand, in Zn deficient rats, only XA excretion increased.
- (3) From the experiment of kynureninase enzyme activity, -SH group existed in this apo enzyme, is important for this enzyme activity.

And it was inhibited by the *p*-OH-phenylpyruvate that is the metabolite of Tyr.

From these data, the kynureninase reaction is very important for the regulation of 3-OH kynurenine metabolism. And also it might be important for the metabolic regulation of D.M. patients in nutritional point.

*所在地：愛知県愛知郡長久手町大字岩作字雁又21(〒480-11)

**所在地：大阪市淀川区三國本町3-33-6(〒532)

***所在地：京都市上京区今出川通寺町西入玄武町602(〒602)

1952年、古武(弥人)、稲田、松村は V. B₆欠乏高蛋白食白鼠あるいは高脂肪・高蛋白食白鼠において糖尿病様症状が発現するという事実を明らかにして以来、主として和歌山医大 生化学教室、名古屋大学第二生化学教室において多くの発表が行われてきた。

著者らは、(1)トリプトファン (Trp) 酪酸ソーダ同時投与白鼠 (2)V. B₆欠乏白鼠 (3)アロキサン糖尿白鼠 (4)糖尿病患者の血清について、それぞれの血清中 Ca, Mg 値の変化を検討し、いずれの場合においても血清 Ca が低下し、血清 Mg 値がむしろ上昇するという結果を得た。(柳沢氏法による)¹⁾

その後多くの研究者によって実験が行われ、血清 Mg 値については低下するか、あるいはやや上昇するという報告が行われている。(原子吸光法)²⁻⁴⁾

Mg は糖代謝にとって重要な金属イオンであり、また Zn はインスリン分子との関係や炭酸脱水酵素にとって重要な金属イオンであることは周知の事実である。

そこで、Mg 欠乏ならびに Zn 欠乏白鼠を用い、次の実験を行った。

実験方法

体重150g 前後のウィスター系雄性白鼠を使用し、Mg 欠乏あるいは Zn 欠乏飼料で約 2 週間飼育し 100mg/100g 体重の Trp を経口投与し排泄される代謝産物について測定を行った。

実験結果

(1) Mg 欠乏白鼠に関する実験

Trp 代謝産物の測定結果については、Table 1 の如くであり AA (アントラニル酸) については、対照群 $1016 \pm 113 \mu\text{g}$ に対し、Mg 欠乏群においては $319 \pm 106 \mu\text{g}$ と減少傾向を示す。

(Table 1 は、対照群を1.00とした比較値で示している)

Table 1. Content Ratio of Tryptophan Metabolites Excreted in Mg Deficient Rats

	Control group	Mg deficient group
KY(kynurenine)	1.00	0.42±0.11
XA(xanthurenic acid)	1.00	0.78±0.35
AA(anthranilic acid)	1.00	0.31±0.10
5HIAA(5-Hydroxyindole acetic acid)	1.00	0.82±0.11

また、キヌレニン (KY)、キサントレン酸 (XA)、5-オキシインドール酢酸 (5AIAA) については著しい変化は認められなかった。

この事実は、肝酵素活性に関する実験においても明らかであり、トリプトファンピロラーゼ (Trp→フォルミルキヌレニン) 活性は対照群 3546 ± 387 (n mol/g of liver, n = 5) Mg 欠乏群 4292 ± 592 (n mol/g of liver, n = 7) とむしろ Mg 欠乏群で増加の傾向を示し、またキヌレニナーゼ (キヌレニン or ヒドロキシキヌレニン→アントラニル酸 or ヒドロキシアントラニル酸) 活性は対照群 114.84 ± 1.94

(n mol/min/g of liver, n = 5), Mg 欠乏群 95.05 ± 8.79 (n mol/min/g of liver, n = 7) と Mg 欠乏群で減少の傾向を示している。

(2) Zn 欠乏白鼠に関する実験

Zn 欠乏白鼠について, Mg 欠乏白鼠と同様実験を行うと, Table 2 の如く Mg 欠乏白鼠とは異なり, 統計上はあまり変化を認められないが, Zn 欠乏群で XA の大量排泄される例が認められる。これらのことから考えると糖尿病様症状発現に対する調節には, 古武, 小笠原らの実験からもうかがえる如くキヌレニナーゼ活性の変動が中心になっていると思われる。

Table 2. Content Ratio of Trtptophan Metabolites Excreted in Zn Deficient Rats

	Control group	Zn deficient group
KY(kynurenine)	1.00	1.04±0.51
XA(xanthurenic acid)	1.00	1.16±0.29
AA(anthranilic acid)	1.00	1.07±0.73
5HIAA(5-Hydroxyindole acetic acid)	1.00	0.69±0.13

(3) キヌレニナーゼに関する物性的研究

(1)(2)の実験からキヌレニナーゼ性質の解明が焦点となるので, Stevens の最近の実験をもととし⁵⁾, 肝キヌレニナーゼの Apo enzyme を600倍に純化し検討すると, 本酵素蛋白における SH-基の重要なことが考えられる。すなわち, ジチオスレイトール (DTT) の添加はその活性を上昇し, また竹内は, 5, 5'ジチオ-ビス-(2-ニトロ安息香酸) (DTNB) による活性低下は DTT により回復してくることをみている。

Table 3 は, DTT による活性の上昇を示す。

また本酵素は, Table 4 にみられる如くチロシン (Tyr) の代謝産物 *p*-ヒドロキシ・フェニル・ピルビン酸によって阻害される。

Table 3. Effect of DTT and Pyridoxal Phosphate on Kynureninase Apoenzyme Activity

Treatment	Relative activity (%)	
	Kynurenine substrate	3-Hydroxykynurenine substrate
Standard assay	100	100
1 mM-DTT incubation	183	220

Phenylhydrazine-treated kynureninase was dialyzed against 50 mM-Tris/HCl containing 0.1 mM-dithiothreitol(DTT), pH 8.0. 1 mM-DTT incubation: After incubation of apoenzyme with 90 mM-Hepps/KOH containing 1 mM-DDT, pH 8.3, the activity was determined with standard assay.

Table 4. Effect of Metabolites of Phenylalanine and Tyrosine on Kynureninase Activity

Addition to assay mixture	Relative activity (%)			
	Kynurenine substrate		3-Hydroxykynurenine substrate	
	1 mM	5 mM	1 mM	5 mM
none	100		100	
Tyrosine	98		95	
<i>p</i> -Hydroxyphenylpyruvate	22	0.2	23	0.7
Phenylalanine	100	102	97	92
Phenylpyruvate	74	27	85	44

結 論

以上のことから、キヌレニナーゼの Apo enzyme における-SH 基の重要性が明らかであり、XA 生成増加の調節にはキヌレニナーゼの活性の変化、ひいては3-ヒドロキシ・キヌレニンの代謝調節が重要な影響をもつものと思われる。また、さらに Tyr から由来した *p*-ヒドロキシ・フェニル・ピルビン酸によるキヌレニナーゼ活性阻害の結果から、Trp とフェニルアラニン (Phe) あるいはメチオニン (Met) の代謝の相互関係の重要性がうかがわれる。これらのことを考慮すると、糖尿病発現に対しては栄養生化学的な面からの種々の因子が関わりあっていることが推察される。⁶⁻⁸⁾

文 献

1. 柳沢文正 (1955) カルシウム及びマグネシウムの新定量法と代謝, 文光堂 pp. 101
2. SHIBATA, Y., T. OHTA and M. NAKATSUKA (1989) Relation between tryptophan and calcium-magnesium metabolism, Trace Metal Metabolism 17 : 109
3. TERAOKI, Y. and A. UCHIYAMA (1989) Calcium, magnesium, phosphate metabolism in the rat, Trace Metal Metabolism 17 : 103
4. YAMATANI, M. and T. OKADA (1989) Comparative study of urinary excretion values of zinc & magnesium in each renal function, Trace Metal Metabolism 17 : 113
5. STEVENS, J.L. (1985) Isolation and characterization of a Rat Liver Enzymes with Both Cysteine conjugate β -Lyase and Kynureninase Activity. J. Biol. Chem. 260 : 7945-7950
6. 柴田幸雄, 太田隆男, 中塚正博, 坪内涼子, 竹内章夫, 坂田元記, 沖中靖, 仲佐輝子 (1989) トリプトファン代謝とメチオニン代謝との関連性, 第43回日本栄養食糧学会総会 5.12.東京 要旨集 pp. 193
7. SHIBATA, Y., M. HATTORI, F. TAKEUCHI, H. OTSUKA, R. TSUBOUCHI, M. UGATA, S. SHIRAISHI, T. OHTA, N. SUGINO, Y. SOTOKAWA, R. TAKAHASHI, YAZO KOTAKE and YAHITO KOTAKE (1986) Influence of feeding oysters on the metabolism of serotonin in alloxan-diabetic rats, Progress in Tryptophan and Seroto-

nin Research, D. A. BENDER et al. ed., Walter de Gruyter & Co., Berlin, 87

8. SHIBATA, Y., R. TSUBOUCHI, M. HANEDA, T. OHTA, M. NAKATSUKA, J. NOMURA and T. TANAKA (1988)
Tryptophan metabolism in magnesium deficient rats, Fifth International Magnesium Symposium, 8th.
August, Kyoto