

キヌレニナーゼの動向

柴田 幸雄¹⁾, 中塚 正博¹⁾, 太田 隆男¹⁾, 松田 芳和¹⁾,
進藤 備之¹⁾, 高谷 英子¹⁾, 石津 弘視²⁾,
山田 泰三³⁾, 出田 祐久⁴⁾

(¹⁾日本クリニック(株)・中研, (²⁾植木病院, (³⁾玉井整形外科内科病院, (⁴⁾安倉病院)

Importance of Kynureninase

Yukio Shibata¹⁾, Masahiro Nakatsuka¹⁾, Takao Ohta¹⁾, Yoshikazu Matsuda¹⁾,
Tomoyuki Shindo¹⁾, Eiko Takaya¹⁾, Hiroshi Ishizu²⁾,
Taizo Yamada³⁾, Sukehisa Izuta⁴⁾,

¹⁾Japan Clinic Co., Ltd., Central Research Institute, ²⁾Ueki Hospital,

³⁾Tamai Orthopedics and Internal Medicine hospital, ⁴⁾Akura Hospital

It was reported about the chemical structure of Kynureninase (KYN) and other B₆ relating enzyme for example decarboxylases of amino acid metabolism.

1. The amino acid sequence of rat liver KYN and AST (GOT) have similarity in amino acid sequence.
2. And the amino acid sequence of active center in KYN, CGL and CGS have also similar sequence of amino acid.
3. 5-OH-Trp. decarboxylase and DOPA decarboxylase activity decreased in Zn²⁺ administrated rats.
4. Metabolism of Lys. And Trp. were interrelated through 3-amino adipate aminotransferase.
5. Zn²⁺ content increased in brain-stem especially in Corpus Striatum using VB₆ deficient rats.
6. And finally, histamine synthesis by His. Decarboxylase in diabetic rats were also discussed.

キヌレニナーゼ (KYN) は, cysteine conjugate β -lyase と性質上類似している¹⁾ (Fig. 1)。

先に竹内らは B₆ 酵素 KYN の一次構造を決定し, 464個のアミノ酸配列からなり, そこに含まれる 8個の Cys の -SH 基はすべてフリーであることを明らかにした。

また, AST との構造の類似性, さらには活性中心における構造のシスタチオン合成ならびに分解酵素 (CGS, CGL, いずれも B₆ 酵素) との類似性についても報告している。

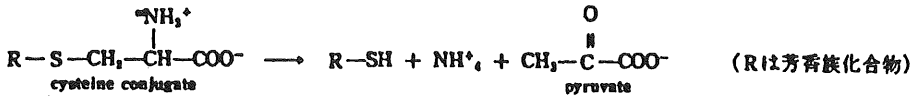
他方, 我々は実験的糖尿病 (アロキササン糖尿, ストレプトゾトシン糖尿, キサンツレン酸糖尿) ラットにおいて肝 KYN 活性の低下, そしてまた Met 代謝産物であるタウリンなどの投与により酵素活性が

回復することを明らかにした。

4.4.1.13 Cysteine-conjugate β-lyase

〔系統名〕 L-Cysteine-conjugate thiol-lyase (deaminating)

〔反応〕



〔測定〕 標識基質 (たとえば [¹⁴C]2, 4-ジニトロベンゼンのL-システイン抱合体) を用い、生成したチオール化合物を TLC で精製後、ラジオアッセイ¹⁾。

〔所在と精製〕 各種哺乳動物の肝と腎に存在。ラット肝の cytosol から 3000 倍に精製された²⁾。

〔性質〕 最適 pH 7.4~8.5¹⁾。システインはS体のみ反応。ヒドロキシルアミンで阻害される。S₀ 要求性酵素と思われるが、補酵素は強く酵素に結合し、リン酸

カルシウムゲル処理によりわずかに B₆ 添加効果が出現²⁾。本酵素は薬物のメチルチオ化反応の要所を担う。

〔清水宏俊〕

- 1) Tateishi, M., Suzuki, S. & Shimizu, H. (1978) *J. Biol. Chem.* 253, 8854-8859.
- 2) Tateishi, M. & Shimizu, H. (1980) *Enzymatic Basis of Detoxication*, Vol. II (Jakoby, W.B. ed.) pp. 121-130, Academic Press.

Fig. 1.

実験方法および結果

今回は、糖尿病におけるインスリンなどの Zn²⁺ との関連性から、我々は雄性ウイスター系ラット 4 週齢を利用して Zn²⁺ 投与ラットを作り (30日間毎日 ZnCl₂ を経口投与)、検討した。

1. 脱炭酸酵素に関する実験²⁾

5-OH-Trp 脱炭酸酵素と DOPA 脱炭酸酵素について調べると何れもその活性は低下し、特に DOPA 脱炭酸酵素においてその低下は著しく、さらに脳に関しては大脳以外の脳幹、特に線状体において著名である (Table 1, Fig. 2, 3, 4)。

Table 1. The Formation of Serotonin and Dopamine in Zn administered rats

	Serotonin	Dopamine
Liver		
Control	5.33 ± 2.75	34.99 ± 6.08
Zn add.	4.22 ± 2.58	23.70 ± 12.45
Kidney		
Control	3.94 ± 1.52	25.89 ± 6.27
Zn add.	3.32 ± 1.62	20.08 ± 7.91
Cerebrum		
Control	129.3 ± 44.4	1.59 ± 1.00
Zn add.	101.6 ± 66.7	1.00 ± 0.28
Brain Stem		
Control	115.8 ± 28.3	1.70 ± 0.54
Zn add.	72.0 ± 39.4	0.94 ± 0.30

(Sotokawa)

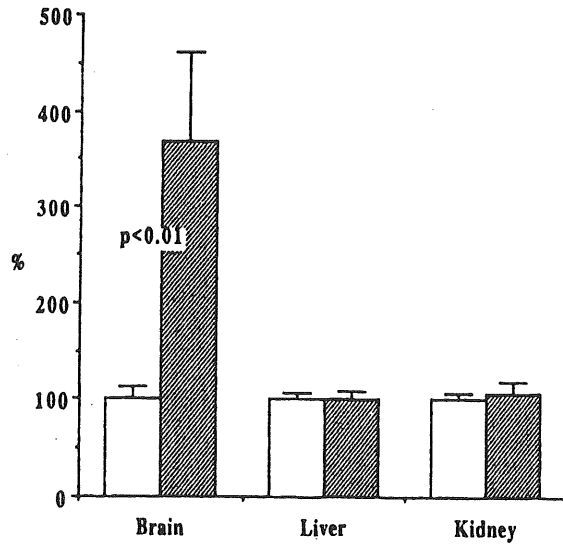


Fig. 2. Zinc content of Brain, Liver and Kidney from control and Zinc administered rats. (□) control, (■) Zn

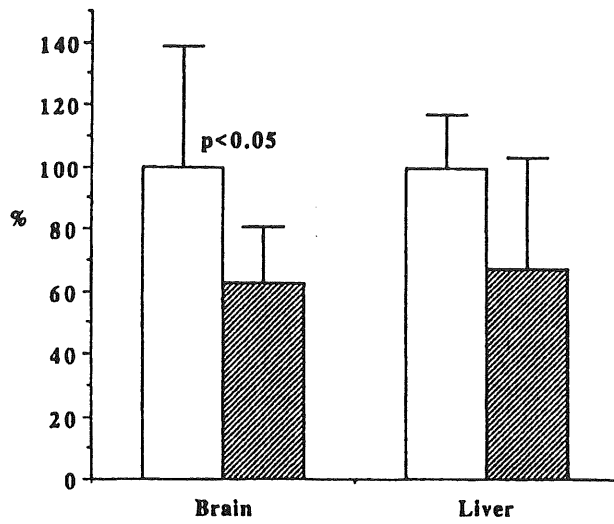


Fig. 3. AADC activity of Brain and Liver from control and Zinc administered rats with L-DOPA as substrate. (□) control, (■) Zn

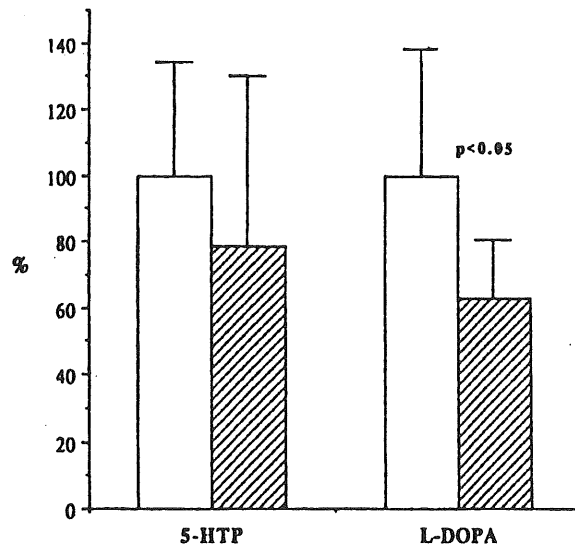


Fig. 4. AADC activity of Brain from control and Zinc administered rats with 5-HTP, L-DOPA as substrate.

(□) control, (■) Zn

2. 臓器における Zn^{2+} 量に関する作用

すでに柴田修行, 糸川, 木村, 菊池, 石川らによっても実験が行われているが, VB_6 欠乏ラットにおいて当然脱炭酸酵素は阻害されるが, Zn^{2+} 量は図のごとく特に脳において増量し, 脳幹部特に線状体において増加している様である (Table 2)。

Table 2. Zinc content in $V.B_6$ deficient rats.

	(ppm)	
	Control	$V.B_6$ def.
Liver	27.8 ± 1.8	26.8 ± 2.9
Kidney	28.0 ± 1.0	26.6 ± 0.9
Spleen	22.8 ± 1.1	23.1 ± 0.6
Cerebrum	15.7 ± 2.0	15.6 ± 1.8
Cerebellum	10.9 ± 0.3	10.9 ± 0.4
Brain Stem	14.9 ± 1.6	16.8 ± 0.4

(O, Shibata)

3. タウリンの作用

アロキサン糖尿ラットにおける臓器タウリン量は, タウリンを多く含む Oyster Extract 投与で正常値

に戻る (Table 3)。

Table 3. The ratio of taurine content in liver and brain of alloxan diabetic rats and oyster administered rats.

	Liver	Brain
Control	1.00	1.00
Alloxan D.	5.88	0.42
Oyster add.	0.92	0.96

考 察

一般に同じような B₆ 酵素であるキヌレニンアミノトランスフェラーゼは、Lys 代謝における 3-アミノアジピン酸アミノトランスフェラーゼと関係があり、(いうまでもなく Lys と Trp は代謝物 3-オキソアジピン酸の段階で同一経路を歩む) また日本人のよく使用する醤油に含まれる Lys, Arg, His さらには His から脱炭酸酵素によって生ずるヒスタミンの存在は醤油の大量飲用による中毒と関係するかもしれないという推論や³⁾、ストレプトゾトシン糖尿マウスのヒスタミンの生成増加⁴⁾(これらの酵素蛋白は KYN とは異なる様である) などの報告を考えると、これら B₆ 酵素との相互関連性について今後検討を加えねばならない (Fig. 5)。

Glutamine transaminase K			
Cysteine conjugate β -lyase	Kidney	Brain hippocampus	astrocyte
Kynurenine aminotransferase	Mainly mitochondria		
α -Amino adipate aminotransferase	Kidney	Brain Cortex	Liver
Kynurenine aminotransferase	Mainly cytosol		
Kynurenine hydrolase	Liver Brain astrocyte		
Cysteine conjugate β -lyase			

Fig. 5.

また、そのためには、B₆ 酵素の様式として発表された Braunstein (ソ連) Snell (米) の反応モードとの関連性についても検討せねばならない。

さらにまた、竹内は第70回日本生化学大会 (1997, 金沢) において一次配列の 8 個の Cys のうち 22, 45, 340, 401, 425 番目の Cys について 245, 270, 272 番目の Cys を確認、-S-S-結合なく本酵素の変性に伴い、まず 45, 340 番目の Cys が修飾されること、さらに 45 番目の Cys は表在性であり、酵素蛋白の失活に際しその必須-SH 基は 340 番目の Cys であると思われる、と報じている。

以上のことから、タウリンは糖尿病によって低下したキヌレニナーゼ (KYN) 活性を回復し、また、

STZ 糖尿病の際、His 脱炭酸酵素によって生成されるヒスタミンの過剰生成が報告されているが、カキに多く含まれる Zn^{2+} の投与は脱炭酸酵素（例えば、DOPA デカルボキシラーゼ等）の反応を調節し、正常化をきたすと思われる。また、 VB_6 欠乏ラットにおいて、特に間脳線状体に Zn の増加が見られることは、精神系における精神伝達物質生成に対し調節作用をもつと考えられるが、これらに対してはさらに検討を要すると思われる。尚、肝や脳におけるタウリン量の変化がタウリンを多く含むカキ抽出物の投与によってそれぞれ正常化させることも興味深い (Table 3)。

文 献

- 1) Takeuchi, F., Y. Shibata et al.: Biochim Biophys Acta, 1252, 185-188 (1995)
- 2) 亜鉛イオンと Trp および Tyn 代謝, 第36回日本臨床病理学会, 東海・北陸支部総会, 1997.3.9, 名古屋, No.12, P.29
- 3) 丹羽・平: 醤油中の塩基性アミノ酸の研究, 京都女子大学食物学雑誌, P.55, No.8, 1960
- 4) Journal of Neurochemistry Masahiro Nishibori, Ryozo Oishi, Yoshinori Itoh, Kiyomi Saeki Changes in Histamine Metabolism in the Brains of Mice with Streptozotocin-Induced Diabetes, 1375-1381, Vol.52, 1989