

## キヌレニンをめぐって—実験的糖尿病におけるタウリンおよび亜鉛の作用—

柴田幸雄<sup>1)</sup>, 竹内章夫<sup>1)</sup>, 松田芳和<sup>2)</sup>, 高谷英子<sup>2)</sup>  
山口雅子<sup>2)</sup>, 太田隆男<sup>3)</sup>, 中塚正博<sup>3)</sup>, 川端希代子<sup>3)</sup>  
(<sup>1)</sup>愛知医科大学, <sup>2)</sup>日本クリニック(株), <sup>3)</sup>(株)日本食品開発研究所)

### On the Kynureninase —Medico-histological aspect of tryptophan metabolism with emphasis on the action of taurin and Zn<sup>2+</sup> to diabetic rats—

Yukio Shibata<sup>1)</sup>, Fumio Takeuchi<sup>1)</sup>, Yoshikazu Matsuda<sup>2)</sup>, Eiko Takaya<sup>2)</sup>,  
Masako Yamaguchi<sup>2)</sup>, Takao Ohta<sup>3)</sup>, Masahiro Nakatsuka<sup>3)</sup>, Kiyoko Kawabata<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> Aichi Medical University, <sup>2)</sup> Japan Clinic Co., Ltd.

<sup>3)</sup> Japan Food Research and Development Institute Co., Ltd.

In 1925, Kynurenin has discovered by Matsuoka and Yoshimatsu and was named as Kynurenin by Prof. Yashiro Kotake.

Since then, these metabolites have experimented by Yashiro Kotake, Yahito Kotake, Yazo Kotake, K Ichihara and Osamu Hayaishi et al.

In this report, we display the action of taurin in diabetic rats through Kynureninase activity of rat liver.

And we discuss about the interrelationship between the structure of Kynureninase protein and cystathionine synthase or lyase, and also about the difference against decarboxylase (5-OH Trp decarboxylase, DOPA decarboxylase and His decarboxylase protein related Zn<sup>2+</sup> ion).

1925年、松岡、吉松は古武教授と共にトリプトファン代謝に関連した新物質を発見、古武によってキヌレニン (KY) と命名、KY の分解酵素をキヌレニナーゼ (KNA) と命名した<sup>1)</sup>。

その後、早石、西塚らにより、KNA は、KY からアラニンを分離し、アントラニル酸 (AA) を生成するか、又は、3-オキシ・キヌレニンからアラニンを分離し、3-オキシアントラニル酸を生成する酵素であることを確定した。

その後、KY から、キヌレン酸 (犬尿酸) (KA)、3-オキシ・キヌレニンからキサントレン酸 (黄尿酸) (XA) を生成する酵素は、アミノトランスフェラーゼであることが明らかになった。

又、大量の AA をラットに与えると、5-オキシアントラニル酸を生じる。これは、古武弥四郎、久保

秀雄らによって、酸化還元物質であることが明らかにされ、古武弥四郎、柴田は、V.B<sub>2</sub> 欠乏ラットにおいて、5-オキシアントラニル酸 (5-OH-AA) の投与が、V.B<sub>2</sub> 欠乏状態を回復する作用を有することを明らかにした。また酸化還元電位については、長井、大塚 (村上) らの報告がある。3-オキシ・アントラニル酸は、その後、NAD<sup>+</sup> 生成あるいは完全分解系に向かう。

古武弥人、稲田、松村らは、V.B<sub>6</sub> 欠乏、高蛋白質食あるいは高脂肪食ラットにおいて、Trp からはXA を大量に生成排出し、ラットは、糖尿病様症状を引き起こすことが明らかとなり、清水によって膵β細胞の変化を認めた。

1. XY の生理的機能：古武弥四郎，古武弥人，古武弥三
2. KY の分析：市原，大谷，本多，伊藤，柴田
3. KY → XA：古武弥人，稲田，松村，小笠原
4. KNA：竹内，坪内，吉野，柴田，城戸
5. KY → 3-OH-KY：早石，西塚，西本
6. AA → 5-OH-AA：古武弥四郎，久保，白井，長井，柴田

## 実 験 結 果

### I 糖尿病ラットにおける KNA 活性の低下

KYN 活性の測定は、Shetty らの方法に従い蛍光光度法により測定を行なった<sup>2)</sup>。また、ストレプトゾトシン (STZ) 糖尿ラットは、STZ 50 mg/kg を腹腔内に投与し血糖値の上昇を確認後使用した。

a V.B<sub>6</sub> 欠乏ラットの肝における KNA は明らかに低下する (表 1)。

b ストレプトゾトシン (STZ) 糖尿ラットの肝における KNA の低下が見られる (表 2)。この際、V.B<sub>6</sub> → PLP の変化は低下する。

**Table 1.** Kynureninase activity of 100,000g supernatant of 25% rat liver homogenate.  
(nmol/ml/min)

Pyridoxal Phosphate	Control	Vitamin B <sub>6</sub> Deficient
+	39.6±7.5	32.3±5.5
-	20.6±4.7	12.7±8.5

Control : Complete diet fed group.

**Table 2.** Liver kynureninase activity of STZ-induced diabetic rats.  
(nmol/ml/g liver)

Pyridoxal Phosphate	Control	STZ
+	18.3±2.1	9.4±0.3
-	16.8±2.5	7.7±0.9

STZ : Streptozotocin-induced diabetic rats.

## II タウリンの作用

a メチオニン (Met) とセリン (Ser) とを同時継続投与したラットは、V.B<sub>6</sub> 欠乏の状態を引き起こす。この際、タウリンを投与すると、V.B<sub>6</sub> 欠乏状態を回復する (表3)。この関係をみるため、100 mg の Trp を与えると生成する XA は低下する。

b アロキサンを腹腔内に投与し<sup>3)</sup>、血糖値 300~400 mg/dl となったアロキサン糖尿ラットに、コントロール食投与群 (AC)、これにカキ抽出エキスの低分子画分投与群 (ALMO) を作り、グルコーストレランステスト (GTT : 耐糖能) をみると、タウリンを多く含むカキ抽出エキス低分子画分投与によって、糖尿病の状態は回復される (表4)<sup>4)</sup>。

**Table 3.** Excretion of xanthurenic acid in urine of rats after oral tryptophan administration.

Dietary Enrichment	Urinary Xanthurenic Acid ( $\mu\text{g/day}$ )
Taurine	2689.1
Serine + Methionine	3667.1
Control	2681.4

**Table 4.** Effect of low molecular fraction of oyster extract on alloxan diabetic rats in 50g GTT.

Time	Control	(mg/dl)	
		AC (Alloxan Diabetic)	ALMO (Alloxan Diabetic rats fed Oyster Extract)
0	138	224	252
10min	319	350	364
30min	257 $\pm$ 30	457 $\pm$ 38	371 $\pm$ 38
1h	198 $\pm$ 23	448 $\pm$ 26	352 $\pm$ 33
2h	219 $\pm$ 20	439 $\pm$ 23	312 $\pm$ 77
3h	149 $\pm$ 22	452 $\pm$ 26	307 $\pm$ 24
4h		410 $\pm$ 33	300 $\pm$ 24
24h	133 $\pm$ 19	373 $\pm$ 20	318 $\pm$ 21
48h	138 $\pm$ 20	401 $\pm$ 21	306 $\pm$ 29

## III KY から3-オキシ・キヌレニンの生成

この水酸化は、古武弥人、柴田により、榎野らの薬剤における水酸化と同様、EDTA, V.C の存在のもとに、NADPH の存在で3-オキシ・キヌレニンの生成を認めた<sup>5)</sup>。他方、早石らにより、オキシゲナーゼが発見された。その際、テトラヒドロピオプテリンが、ジヒドロピオプテリンになり、これをもとのテトラヒドロピオプテリンに変化させる際、NADPH が使われる様である。また、早石は、この反応に V.B<sub>2</sub> が関与すると報じている。

IV V.B<sub>2</sub> 欠乏ラットにおける白内障発症

V.B<sub>2</sub> 欠乏で 5-OH-AA が生成され、長期 V.B<sub>2</sub> 欠乏 Trp 投与ラットにおいて白内障を認めた。この際、5-OH-AA からのキノミンカルボン酸が関与するようである (図1, 写真1)。

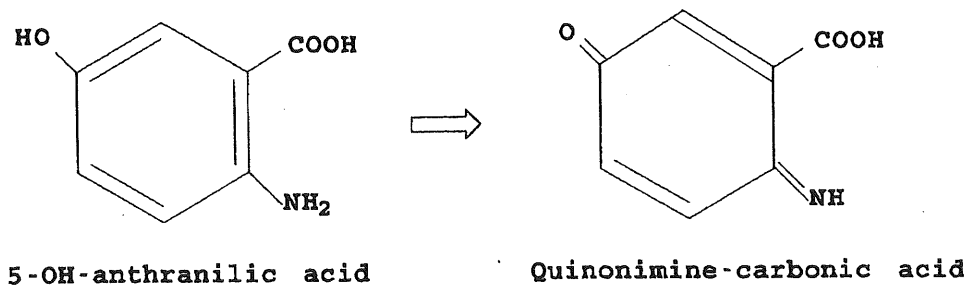


Fig. 1. 5-OH-anthranilic acid to Quinonimine carbonic acid

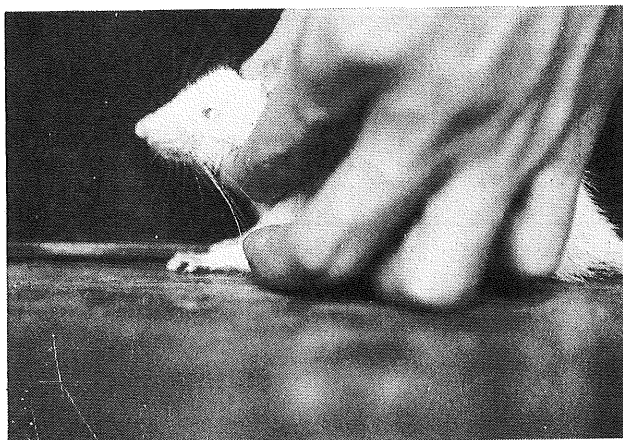


Photo 1.

V Zn<sup>2+</sup> の作用

亜鉛の投与によって芳香族アミノ酸脱炭酸酵素の活性は低下する。また、V.B<sub>6</sub> 欠乏ラットの脳幹中の亜鉛量は増加する (図2, 表5)。

結 語

1. 糖尿病ラットにおいて KNA 活性は低下する。
2. 糖尿病ラットにおいてタウリンを投与すると、その回復が見られる。

KNA の活性中心<sup>6)</sup> はシスタチオン合成酵素並びに分解酵素とよく似ており、リジン (K) の次に位置するアミノ酸はチロシン (Y) である。

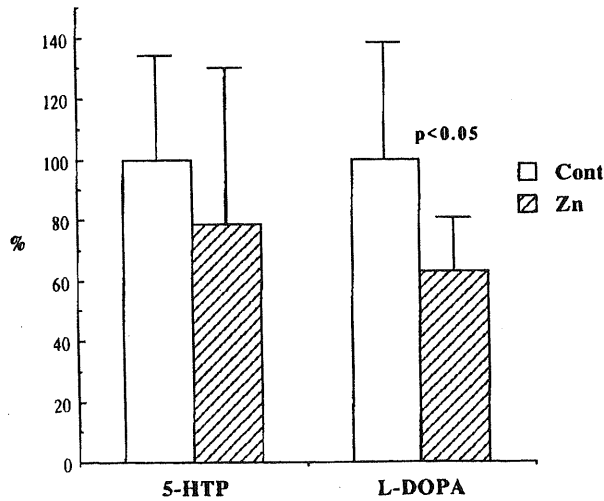


Fig. 2. AADC activity of Brain from control and Zinc administered rats with 5-HTP, L-DOPA as substrate. (Y. Sotokawa)

Table 5. Zinc content in V.B<sub>6</sub> deficient rats.

	Control	V.B <sub>6</sub> def.
Liver	27.8±1.8	26.8±1.8
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, M. Kimura, Y. Itokawa, M. Ishikawa, H. Kikuchi)

しかるに、STZ 糖尿病マウスで脳内ヒスタミンの生成が認められるが、この活性中心 K の次は、メチオニン (M) であり、芳香族アミノ酸脱炭酸酵素の K の次に位置するアミノ酸は、トリプトファン (W) である<sup>6)</sup>。ちなみに KNA のタンパク質は464個のアミノ酸からなり、N 末端はアセチルメチオニンで、C 末端はアスパラギンである。なお、本タンパクに存在するいかなる SH 基も SS 結合を作っていない。

3. KY から3-オキシキヌレニンの生成に対しては、NADPH が必要である。
4. V.B<sub>2</sub> 欠乏ラットにトリプトファンを継続的に与えると、ラットは白内障を引き起こす (写真1)。
5. 糖尿病において  $Zn^{2+}$  は低下し、亜鉛塩の投与で味覚障害は回復する。しかし、 $Zn^{2+}$  継続過剰投与では芳香族アミノ酸脱炭酸酵素は低下し、また、V.B<sub>6</sub> 欠乏ラットでは、神経伝達物質生成に関連する脳幹において  $Zn^{2+}$  量は増加している。

文 献

- 1) Z. Matsuoka and N. Yosimatu : Uber eine neue Ubstanz, die aus Tryptophan im Tierkorper gebildet Wird HoppeSeyler's Zeitschrift fur Physiologische Chemie B.D 142-143, pp206-210 (1925)
- 2) Shetty, A.S. & Gaertner, F.H. : J Bacteriol. 113, 1127-1133 (1973)
- 3) 中井一吉, 内田景博, 寺田信幸ら : 臨床検査, 25 : 457 (1981)
- 4) 杉野徳和, 太田隆男ら : かき成分の血小板凝集能に及ぼす影響, 微量栄養素研究第3集, pp94-101 (1986)
- 5) Y. Kotake, Y. Shibata and A. Toratani, On the hydroxylation of anthranilic acid and Kynurenine: Proc. Japan Acad. XXXII 774 (1956) Proc. Japan Acad. XXXII 774 (1956)
- 6) Takeuchi, F., R. Tsubouchi, M. Yoshino, Y. Shibata (1995) Biochim. Biophysica Acta 1252 : 185-188