

## マンガンはニッケル刺激したカルシニューリン活性を阻害する

田中佑季<sup>\*1</sup>, 大塚恵美子<sup>1</sup>, 保坂公平<sup>2</sup>, 田中 進<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 高崎健康福祉大学健康栄養学科, <sup>2</sup> 群馬大学医学部保健学科)

【目的】 カルシニューリン (CN) はセリン/スレオニンホスファターゼの一種であり, プロテインホスファターゼ 2B (PP2B) とも呼ばれている。CN は触媒部位を持つ CN-A (分子量 61 KDa) と制御サブユニットである CN-B (分子量 19 KDa) からなり,  $\text{Ca}^{2+}$ /カルモジュリン (CaM) 依存的に活性化される。一方 *in vitro* では, CN はマンガン ( $\text{Mn}^{2+}$ ) やニッケル ( $\text{Ni}^{2+}$ ) のような 2 価重金属によって活性化 (刺激) されることが明らかとなっている。とくに *in vitro* で CN をもっとも活性化するのは  $\text{Ni}^{2+}$  であり, また  $\text{Ni}^{2+}$  と  $\text{Mn}^{2+}$  の CN に対する活性化機構も異なっていると言われている。したがって, 本研究では, このような  $\text{Ni}^{2+}$  と  $\text{Mn}^{2+}$  による CN の活性化をさらに検討する目的で,  $\text{Ni}^{2+}$  刺激した CN 活性に対する  $\text{Mn}^{2+}$  の相乗効果について調べた。

【方法】 CN 活性の測定は基質として 3 mmol/L のパラニトロフェニルリン酸 (pNPP) を使用した。すなわち, 酵素反応溶液は 100 mmol/L HEPES-NaOH (pH7.5), 1 mmol/L  $\text{CaCl}_2$ , 3 mmol/L pNPP を含む反応溶液にそれぞれ 3 U の CN と CaM を加えたものを酵素反応液とした。これに任意の濃度の  $\text{NiCl}_2$  や  $\text{MnCl}_2$  を加え, 30°C, 60 分間, 酵素反応を行った。60 分後, 終濃度で 0.67 mol/L の  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  を加え, 酵素反応を停止し, 酵素反応で生成したパラニトロフェノールを  $A_{410}$  で測定することにより, 酵素活性を求めた。

【結果と考察】 今回, われわれの酵素反応系では  $\text{Mn}^{2+}$  や  $\text{Ni}^{2+}$  を添加しないと CN 活性を認めることはできなかったが,  $\text{Mn}^{2+}$  あるいは  $\text{Ni}^{2+}$  の添加により, 濃度依存的に CN 活性がそれぞれ上昇することが確認された。次に,  $\text{Mn}^{2+}$  の  $\text{Ni}^{2+}$  刺激した CN 活性に対する相乗効果を検討するため,  $\text{Ni}^{2+}$  の濃度を 0.03 mmol/L に固定し, 酵素反応系に 0.001~1 mmol/L の種々の濃度の  $\text{Mn}^{2+}$  を添加し, CN 活性の測定を行った。その結果, 意外にも  $\text{Mn}^{2+}$  の相乗効果は観察されず, むしろ, 0.001~0.1 mmol/L の  $\text{Mn}^{2+}$  の濃度では CN 活性の阻害を認めた。一方, 0.1~1 mmol/L の  $\text{Mn}^{2+}$  の濃度では CN 活性の上昇が見られたが, 活性は回復せず, むしろ  $\text{Mn}^{2+}$  単独の刺激で得られる CN 活性と同程度であった。以上から  $\text{Mn}^{2+}$  は単独では CN を活性化する金属であるにもかかわらず,  $\text{Ni}^{2+}$  刺激した CN 活性を阻害することが明らかとなり, 0.1~1 mmol/L の  $\text{Mn}^{2+}$  の高濃度側における CN 活性の上昇は  $\text{Mn}^{2+}$  によるものと推測された。