

キヌレニン, キヌレン酸, キヌレニナーゼについて

柴田 幸雄¹⁾, 松田 芳和¹⁾, 進藤 備之¹⁾

太田 隆男¹⁾, 中塚 正博¹⁾, 石津 弘視²⁾

(¹⁾日本クリニック・中研*, (²⁾植木病院**)

On the Kynurenine, Kynurenic acid and Kynureninase

Yukio Shibata¹⁾, Yoshikazu Matsuda¹⁾, Tomoyuki Shindo¹⁾,

Takao Ohta¹⁾, Masahiro Nakatsuka¹⁾ and Hiroshi Isizu²⁾

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

In 1925, Matsuoka and Yoshimatsu reported about the new metabolite of Trp, which was named as kynurenin by Prof. Yashiro Kotake. And also the decomposed enzyme of kynurenin was named as kynureninase.

The Kynureninase is a B₆ related enzyme, in which enzyme activity of the liver decreased in experimental DM rats.

In 1995, Takeuchi, Shibata et al. defined the primary structure of this enzyme protein, and its active center is similar to those of cystathionine synthase and lyase. Both decreased enzyme activity and diabetic conditions were recovered by taurine (intermedial metabolite of Met. or Cys) administration.

トリプトファン (Trp) を犬に与えると尿中にキヌレン酸 (K.A.) が排泄されることは、ケーニヒスベルク大学のエリンガー¹⁾, 大阪大学の古武弥四郎, 松岡らによって認められた (キヌレン酸の化学構造はリービッチが確認している)。1925年, 松岡, 吉松²⁾は Trp 代謝における新しい中間代謝産物を見出し, 古武弥四郎はこれを Kynurenin (KYN) と命名し K.A. への中間産物と推定した^{1,2)}。

また, この構造については最初古武弥四郎により推定されたが, その後大阪大学理学部の小竹, 目によって現在の構造式を決定, プテナントによって確定された。

その後, 京都大学早石, 西塚らは, 古武弥四郎によって命名されたキヌレニン分解酵素, キヌレニナーゼ (KYNase) が KYN もしくは OH-KYN に働き, OH-KYN に働いた場合は完全分解系もしくは NAD⁺ 生成の最初の酵素であることを確認, KYN から K.A. への酵素はキヌレニンアミノトランスフェラーゼであることが明らかとなった (尚, OH-KYN に働くとキサントレン酸 (XA) が生成される)。

また, KYN については大阪大学市原, 大谷, 古武弥人, 伊藤らの多くの実験があり³⁾, また, ラットの毛 (名古屋保健衛生大学, 石黒ら), アゲハチョウの鱗翅における KYN の存在 (金沢大学, 梅

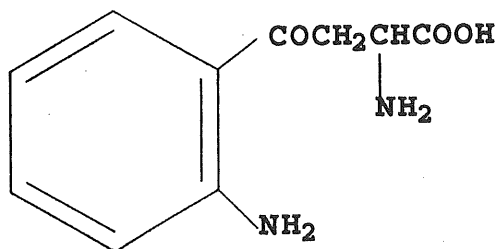


Fig. 1 Structure of kynurenine

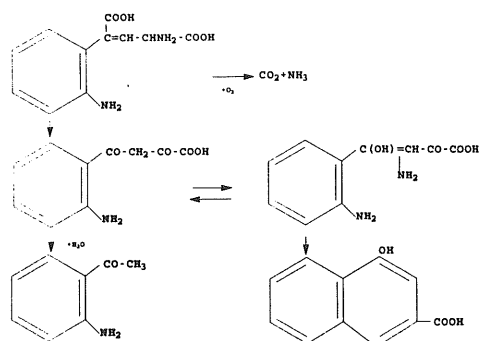


Fig. 2 From kynurenine to kynurenic acid (Yashiro Kotake)

鉢)の証明があり、これについては柴田らも再確認、鱗翅類ではアゲハチョウ科のみ検出されることを認めた。

今回、我々はこのKYNaseについて検討を加え、実験的糖尿病についてKYNaseの活性を検討したところその活性は低下し、Metの代謝産物であるタウリンなどを与えると回復することを見出したのでここに報告する。

実験方法ならびに結果

ウィスター系ラット4週齢を主として用い、実験的糖尿ラットを作成、次の様な実験を行った。

ここに Trp, Met の主なる代謝図、ならびに実験的糖尿病惹起物質の化学構造を示しておく。

1) キヌレニナーゼ、キヌレニンアミノトランスフェラーゼ (KYN-AT) の細胞内局在性

名古屋大学の小笠原も示しているごとく、同じ B₆ 酵素である KYNase は主として細胞質内に局在し、KYN-AT はミトコンドリアに局在している。そのため、V.B₆ 欠乏においては大量の XA が生成排泄されてくる。XA の構造式はミラノ大学のキアンコーネによって決定され、XA 排泄による V.B₆ 欠乏の指標 XA Index はカリフォルニア大学のレプコウスキーが検討した。尚、V.B₆ 欠乏ラットは、ペニシ

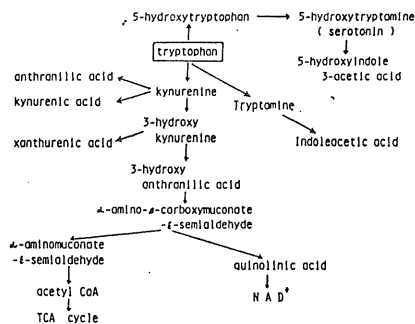


Fig. 3 Metabolism of tryptophan

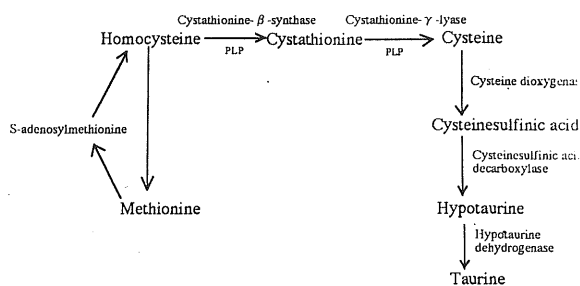


Fig. 4 Metabolism of methionine and cysteine

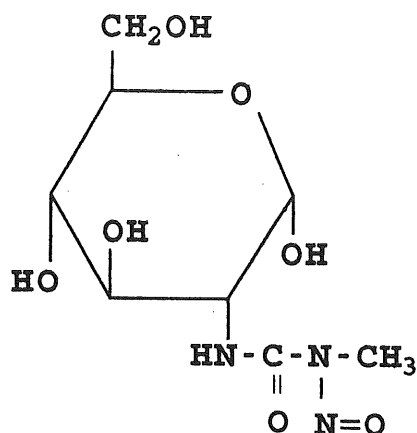


Fig. 5 Structure of streptozotocin

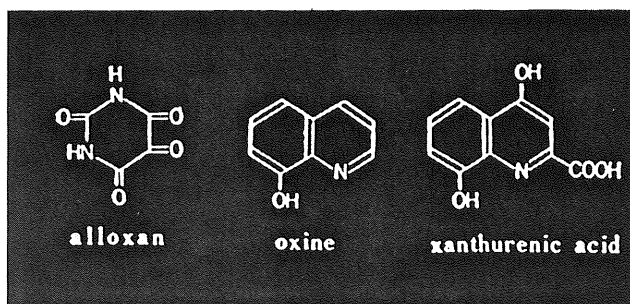


Fig. 6 Structure of alloxan, oxine and xanthurenic acid

リナーゼの使用によって実験している。

2) V.B₆ 欠乏ラットによる KYNase 活性の変化

KYNase は B₆ 酵素であるので、V.B₆ 欠乏ラットについて実験を行い、KYNase 活性をみると図のよう

3) ストレプトゾトシン (STZ) 糖尿ラットにおける KYNase 活性の変化

STZ ラットについて実験を行うと、図のごとく明らかに KYNase 活性の低下が見られる。鳴門大の岡田らは V.B₆ からの PLP 生成の低下を唱えておられるが、服部、古武弥三、柴田らによって糖尿病患者においても V.B₆ 欠乏ははっきりしないが、V.B₆ の PLP への活性化は抑えられているようである。

4) アロキサン糖尿における GTT (Glucose Tolerance Test) の変化

アロキサン糖尿ラットにおいて、変化した GTT はタウリンを多量に含むかき抽出物 (JCOE) の投与によって GTT の回復傾向が見られた。

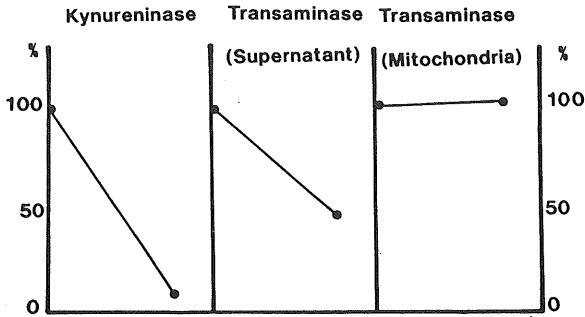


Fig. 7 Localization of kynureninase and kynurenine amino transferase

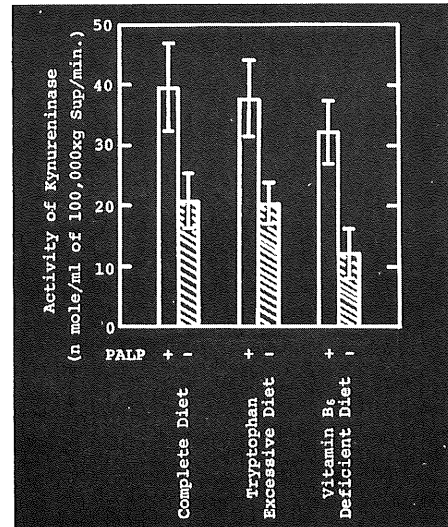


Fig. 8 Kynureninase activity in 100000g sup. of 25% rat liver homogenate

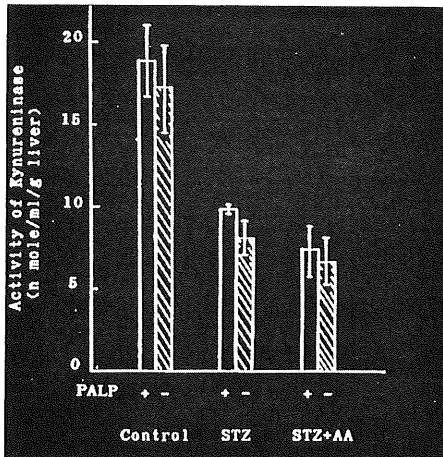


Fig. 9 Kynureninase activity in liver of STZ-induced diabetic rats

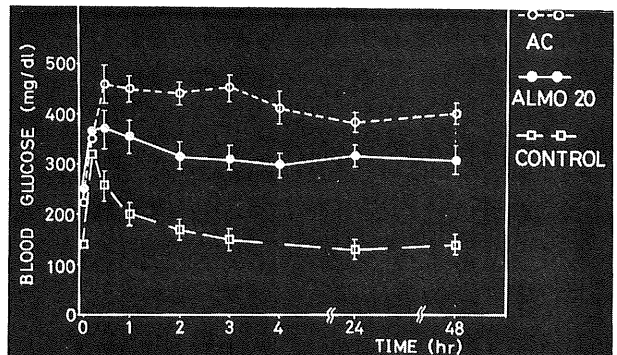


Fig. 10 Effect of low molecular fraction of oyster extract on alloxan diabetes rat 50g GTT

5) XA 生成に対するかき抽出物あるいはタウリンの作用

XA によりラットが糖尿病様症状をきたすことは和歌山県立医大、古武弥人、稲田、松村、清水らによって認められたが、Trp からの XA 生成はタウリンなどの投与によって低下してくる^{7,8)}。

京都大学、岡本耕造、門田によるオキシシン (8-オキシキノリン) 糖尿におけるオキシシンと XA の構造を比較し、種々のキノリン核化合物を合成実験すると 8-位の free の -OH 基、キノリン核の N 原子、2-位の free の -COOH 基が重要と思われた (柴田、ウィスコンシン大学、Price)。また、東北大学の岡本宏は、キノリン核化合物によるプロインスリン合成の抑制を報告している。

6) ラット肝 KYNase のタンパク質一次構造と含硫アミノ酸代謝におけるシスタチオン合成ならびに分解酵素との関係

愛知医科大学, 竹内, 柴田らは1995年に KYNase のタンパク質一次構造を決定し, その活性中心をシ
スタチオン合成ならびに分解酵素のそれと比較したところ, お互いきわめて酷似している。

また, KYNase と GOT (AST) の一次構造とも比較検討を行った⁹⁻¹¹⁾。

Diet	μg/day in urin
Taurine fed group	2689.1
Ser+Met fed group	3667.1
Oyster extract fed group	1851.1
Control group	2681.4

*Each group except control group was given the
feed described in the table added to normal
diet. Control group was fed pny normal diet.

Fig. 11 Excretion amount of xanthurenic acid in urine
of rats after oral trp. administration

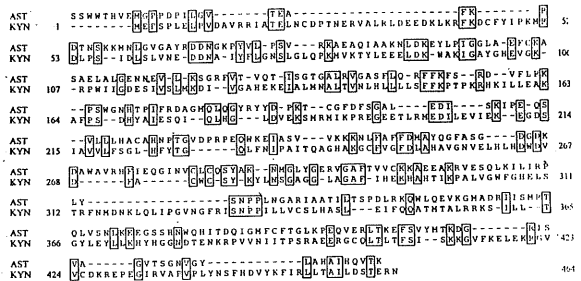


Fig. 12 Amino acid sequence of rat liver kynureninase
subunit

考 察

ラットの実験的糖尿病において, B₆ 酵素 KYNase の活性は低下している。

これらの活性低下は, タウリンなどの Met 代謝産物の投与で回復する。このことと, 含硫アミノ酸代謝酵素, シスタチオン合成, 分解酵素 (いずれも B₆ 酵素) の活性中心を比較するとき, 須田正巳のいう multifunctional enzyme¹²⁾ の関係が考えられるが, 今後の検討を待たねばならない。

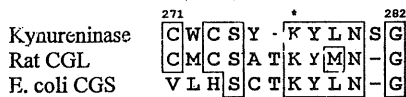


Fig. 13 Comparison of amino acid sequence at pyridoxal
phosphate-binding site

Numbering is the same as in Fig. 12. CGL: cystathionine
γ-lyase. CGS: cystathionine γ-synthase

*: pyridoxal phosphate binding site

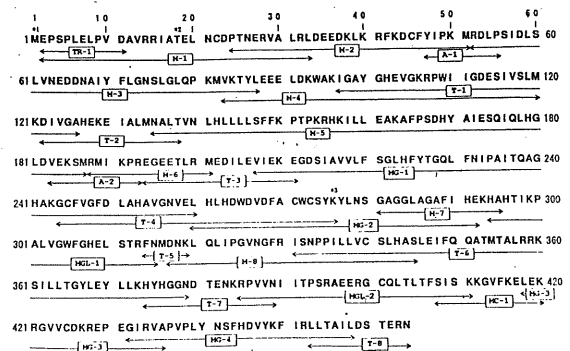


Fig. 14 Alignment of amino acid sequences of rat liver
kynureninase and rat mitochondrial aspartate aminotransferase

AST: rat mitochondrial aspartate aminotransferase,
KYN: rat liver kynureninase

要 約

1. STZ 糖尿
2. XA 糖尿
3. アロキサン糖尿

のいずれにおいても V.B₆ の活性化の低下のためかラット肝 KYNase 活性は低下している。そしてこれらの状態に対し、タウリンやタウリンを多量に含有するかき抽出物の投与でその活性は回復してくる。

参 考 文 献

- 1) Ellinger, A. (1904) Hoppe Seyler's Z. 43, 325
- 2) Matsuoka, Z. and N. Yoshimatsu (1925) Diese Z. 143, 206
- 3) Kotake, Y. Studien über den intermediären Stoffwechsel des Tryptophans. I-XXVI
- 4) Shibata, Y. (1978) Acta vitaminologica et enzymologica 32 : 195-207
- 5) 柴田幸雄 (1985) 愛知医大誌 13 : 167-180
- 6) 柴田幸雄 (1989) ビタミン 63 : 111-122
- 7) Shibata, Y. and K. Sato et al. (1990) proceedings of 8th International Symposium on V.B₆ and carbonyl catalysis 533-595
- 8) Mahin Khotami et al. ibid 6 : 601-603
- 9) Takeuchi, F., S. Izuta, R. Tsubouchi and Y. Shibata (1991) J. Nutri. 121, 9 : 1366-1373
- 10) Takeuchi, F., R. Tsubouchi, M. Yoshino, Y. Shibata (1995) Biochim. Biophysica Acta 1252 : 185-188
- 11) 1st ISTRY, 1974 (イタリア, パドゥェ) ~7th ISTRY, 1992 (名古屋)
- 12) 須田正巳 (1981) 栄養・代謝, リズム, 医歯薬出版