

TABLE 1. は、PLP, II, III, IV, Vの pK_a を示している。小さな値はフェノール基の、大きな値はピリジン環の窒素原子の pK_a 値である。中央の pK_a は phosphono 基のものであるが、これらの基によるスペクトルの解離はあまり影響がないことがわかる。この点は NMR の結果とも一致する。PLP 誘導体における環状窒素とフェノール性酸素の塩基性強度は 5 位の置換基の性質によって影響を受ける。II におけるそれらの 2 つの基の pK_a は PLP より高値であった。また不飽和の誘導体の環状グループにおける pK_a 値はそれぞれの飽和した側鎖を持つ化合物の pK_a 値よりも低い。電子吸収基、軌道の電子陰性度などを説明する資料ともいえる。化合物 II 及び III のスペクトルは PLP と似ていたが、水和定数 (hydration constants) は異なっていた。化合物 III のアルデヒドと水和物の吸収バンドは、化合物 II のバンドと比較して深色の方 (bathochromically) にシフトしており、さらに molar area は III に比べ 25% 増加していた。

TABLE 2. は各種アナログと、アポ S-GOT の結合物の吸収バンドを示し、TABLE 3. は本来の酵素と II-アポ酵素結合物の pK_a 値と解離定数を示している。II と III は、アポ S-GOT 活性部分にほとんど同程度に結合し、それらの結合物は PLP との結合物とほぼ同様のスペクトル吸収と環状の二色性スペクトル (circular dichroism spectra) を示した。II の結合物の無色の結晶の吸収スペクトルが本来の酵素とほぼ同一であることは、高 pH における補酵素の環の偏向性が、本来の酵素と、II により再構成された酵素がほぼ同一であることを示している。また II, III との結合物と、基質や準基質との反応は本来の酵素と類似していた。しかし erythro-3-hydroxyaspartate を基質とした場合は本来の酵素は約 53% の quinonoid に変換することができるに比べ、より少ない量の quinonoid 中間体 (II において 28% 以下、III において 20~25%) を産出したのみであった。

一方化合物 II は PLP に大変類似の物質であるが、本来の補酵素の触媒活性の 6% しか持っていないという事実を計算に入れても明らかな差がある。さらに重要な可能性として II 及び III において構造の変化による大きな立体障害があり、それが反応のアミノ酸転移過程に関連しているとも考えられる。II とアポ酵素と glutamate のスペクトル吸収における quinonoid 吸収の明らかな減少は、アミノ酸転移速度の減少とこの中間体の不安定性の反映かもしれない。化合物 III は

II に比べ本来の補酵素の類似なアナログに見えない。しかし過剰に存在するときには、S-GOT に対しては II よりやや活性が高く、この差は III のより緻密な結合を反映しているかもしれない。いずれにしても PLP のアナログの研究は酵素作用のメカニズム解明に極めて有用であり、今後アポ酵素抗体を応用し対比することが望まれる。

(愛知医大 沢木 健二・松浦 正明)

文 献

- 1) Schnackerz, K.D., Feldmann, K. : Biochem. Biophys. Res. Commun., **95**, 1832-1838 (1980)
- 2) Groman, E., Huang, Y.Z., Watanabe, T., Snell, E.E. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA., **69**, 3297-3300 (1972)
- 3) Vidgoff, J.M., Pocker, A., Hullar, T.L., Fischer, E.H. : Biochem. Biophys. Res. Commun., **57**, 1166-1174 (1974)
- 4) Miura, R., Metzler, C.M., Metzler, D.E. : Archiv. Biochem. Biophys., **270**, 526-540 (1989)

ビタミン B₆ の栄養状態の評価法に関する最近の知見

動物におけるビタミン B₆ (B₆) の栄養状態の評価法にはトリプトファン負荷試験をはじめとして血漿中のピリドキサル 5'-リン酸 (PLP) を定量したり、赤血球中のトランスアミナーゼの活性量もしくはその活性化係数 (activation coefficient) を求めたり、尿中の 4-ピリドキシン酸もしくはキサンツレン酸を定量する方法等がある。これらの方法のうち一般的に最も信頼性が高いとされているのは血漿中の PLP の定量に基づく方法である¹⁾。しかしながらこの方法についていも、特に妊娠中の動物については必ずしも動物組織の B₆ レベルを正しく反映しないことが知られている。

ヒトも含めて妊娠中の動物が B₆ 欠乏症状を呈することはよく知られている²⁾。この場合、血漿中の PLP 濃度は減少するが、PL 濃度はむしろ増加することが示された³⁾。また肝と腎の PLP と PMP の濃度は血漿中の PLP 濃度とパラレルに減少するが、筋肉中のこれら B₆ 濃度は減少しないことも示された⁴⁾。これらの結果は妊娠中の動物の B₆ 栄養状態の評価は血漿 PLP 濃度の定量による方法では不十分であることを強く示唆していた。さらに最近この事実

をよりはっきりと示す結果が報告された。

Furth-Walker ら⁵⁾はマウスを 3.13mg/kg の PN を含む飼料で飼育し、妊娠中期の PLP と PMP の濃度変化を肝、脳、血漿、赤血球についてアポトリプトファナーゼ法により調べた。この場合、PMP はグリオキシル酸との反応によりあらかじめ PLP に変えた後測定する。血漿中の PLP 濃度は通常の 50% に減少し、肝の PLP と PMP も約 25% 減少し、マウスでも妊娠により B_6 欠乏症状が惹起されることが確認された。しかしながら同時に測定した脳の PLP と PMP の濃度は妊娠に伴う減少は全く観察されなかつた。さらに興味深いことに赤血球中の PLP 量は妊娠により通常の 2.9 倍と大幅に上昇し、その結果、血漿中での減少にもかかわらず全血としては通常の 1.6 倍に PLP レベルが上昇することが判った。すなわち通常のマウスでは血漿中と赤血球中の PLP の存在比は 1 : 2 であるのに対し、妊娠中のマウスではこの存在比は 1 : 8 となり、赤血球中の PLP 濃度が特異的に増大したのである。妊娠期間中に見られる赤血球 PLP の特異的增加に関して、その機構や生理的意義については現在のところ全く不明である。あるいは PLP が赤血球に何か必須の生理的変化をもたらしているのかも知れない。いずれにせよ、これらの結果は少なくとも妊娠期間中の動物組織の B_6 栄養状態は血漿中の PLP 濃度の測定だけでは正しく反映できないことをはっきりと示している。

赤血球中のトランスアミナーゼの活性化係数に基づく方法に関する新たな知見が得られた。赤血球から調製したヘモリゼート中のトランスアミナーゼ活性について PLP の存在下で得られる値を非存在下で得られる値で割って求められる商がこの係数になる。2.0 以上が欠乏であり、1.6 以下を適とする場合がある⁶⁾。しかしながら、従来この係数に基づく評価法に関してはその有効性をめぐって意見が分れていた。最近、Skala ら⁷⁾はラットの B_6 栄養状態の判定に、この係数は有効なマーカーとして役立つことを報告した。彼らはラットを B_6 欠乏状態とした後各種濃度の PN を含む餌を与え、欠乏から過剰までの 4 段階の B_6 栄養状態を作り出してこのことを確かめた。さらに、この係数の決定要因に関しても手がかりが得られた。すなわち、この係数はヘモリゼート中のアポ型とホロ型の酵素存在量によって決まるのであるが、その量は赤血球内 *in situ* レベルでのアポ型及びホロ型酵素存在量となんらかの相関があるかどうかという点である。

われわれは細胞レベルでウサギ赤血球中の PLP 型アスパラギン酸トランスアミナーゼ存在量を求め、この点を検討した。その結果、この係数は細胞レベルのアポ並びにホロ型酵素量とは全く相關しないことが判った⁸⁾。つまり、この係数はヘモリゼート中の B_6 濃度はもちろんその他の色々な因子、例えば緩衝液の種類と濃度あるいはタンパク質濃度等によって変化をうけるものであることがはっきりした。従ってこの方法により B_6 の栄養状態を評価するためにはこれらの因子に基づく影響をできるだけ抑える必要がある。そのためにはヘモリゼートの調製等にあたっての基準となる条件をできるだけ早急に設定することが望まれる。

(高知大(農)農芸化学 八木 年晴)

文 献

- 1) Lumeng, L., Ryan, M.P., Li, T.-K : J. Nutr., 108, 545-553 (1978)
- 2) Brophy, M.H., Siiteri, P.K. : Am. J. Obstet Gynecol., 121, 1076-1079 (1975)
- 3) Barnard, H. C., De Kock, J.J., Vermaak, W.J.H., Potgieter, G.M. : J. Nutr., 117, 1303-1306 (1987)
- 4) Van Den Berg, H., Bogaards, J.J.P. : J. Nutr., 117, 1866-1874 (1987)
- 5) Vuilleminier, J.P., Keller, H.E., Rettenmaier, R., Hunziker, F. : Int. J. Vitam. Nutr. Res., 53, 359-370 (1983)
- 6) Salkeld, R.M., Stotz, R. : Vitamin B-6, its role in health and disease. A. R. Liss, 463-467 (1985)
- 7) Skala, J.H., Schaeffer, M.C., Sampson, D.A., Gretz, D. : Nutr. Res., 9, 195-204 (1989)
- 8) 八木年晴ら：生化学，61, 1105 (1989)

形態形成における細胞内レチノイド結合タンパクの機能

細胞の正常な増殖、分化に A が不可欠であることはよく知られている。最近ではレチノイン酸 (A-CO OH) が胚発生に際し、分化の進展する領域において濃度勾配を形成することが示され¹⁾、A-COOH は天然あるいは内因性の morphogen (形態形成源) として位置情報を与えている可能性が高いという²⁾。しかし一方では、過剰の A は teratogen (胚子奇形発生要因) として作用することも知られている。いずれにしても A、特にレチノール (A-OH) 及び A-CO OH が胚子形成過程において重要な役割を果たしていることは確かであり、さらに、これらのレチノイドは細胞内レチノイド結合タンパク (CRBP, CRABP)