

トピックス

ピリドキサル 5'-リン酸の生体膜
透過様式

動物細胞におけるビタミン B₆ (B₆) の透過様式に関して多くの研究が成されてきた。六種の B₆ 化合物のうちリン酸基の結合していない遊離型の三種はラット肝細胞、ヒト赤血球をはじめ多くの細胞において受動拡散により膜を透過する。この場合、細胞の内側への透過ではこれら遊離型 B₆ は透過後速やかにピリドキサルキナーゼによりリン酸化され、細胞内に捕捉される。いわゆる代謝的捕捉である。一方、腎近位尿細管細胞については、最近、ナトリウムイオン依存性の能動輸送系の依存が膜小胞を用いた実験により示された¹⁾。また、詳細な性質は不明であるが、分子量 4 万 5 千と 6 万の二種類の B₆ 結合タンパク質の存在も明らかとなった²⁾。本細胞における能動輸送の機構について今後明らかになることが期待される。

このような遊離型 B₆ の透過機構に関する研究に比べ、動物細胞におけるリン酸化型 B₆、特にピリドキサル 5'-リン酸 (PLP) そのものの膜透過様式に関する研究は必ずしも十分とはいえない状況である。一般に細胞膜画分に存在するアルカリホスファターゼ (ALP) の活性が非常に高いために明確な実験結果を得るのが困難であることも原因の一つとなっている。

肝細胞や赤血球等の多くの細胞において PLP はそのものの形ではなく、ホスファターゼにより加水分解反応を受けて脱リン酸化され PL の形で原形質膜を透過すると考えられている。ヒト赤血球中への透過に関して PLP そのものが透過できることを示す結果³⁾が得られているが、現在、血漿中の PLP がそのものの形で赤血球中へ透過することはなく、PL に加水分解されてから透過すると考えられている⁴⁾。また、赤血球中の PLP は他の組織に対する B₆ 源となっており、この場合の赤血球から他の組織 (細胞) への PLP の輸送についても PLP そのものの形ではなく PL として透過すると考えられている。しかしながら、われわれが単離赤血球を用いて得た結果⁵⁾では、赤血球中の PLP (PL) 濃度は血漿や肝臓あるいは腎臓の粗抽出液 (PLP をあらかじめ取り除いてある) と

インキュベーションしても 3 時間以上減少することなく、赤血球外への B₆ 輸送の生理的意義や輸送開始要因についてさらに検討する必要がある。

従来、PLP が脱リン酸化されないで透過する可能性が示されたのは肝細胞から血漿中への輸送、肝細胞のミトコンドリア中へのおそらくは単純拡散による輸送、そして胎盤における母体から胎児への輸送である。

最近、ヒト以外の各種ほ乳動物における乳汁中への PLP 輸送も PLP が脱リン酸化される事なく成されていることが示された⁶⁾。一方、従来の予想に反して、胎盤において PLP はそのものの形ではなく、PL に加水分解された後輸送されている可能性の高いことが示された⁷⁾。

胎盤においての PLP の能動輸送系の依存が予想されたのは母体の血漿中の PLP 濃度に比べ、胎児の血漿中の濃度が 5 倍程度高いためである⁸⁾。しかし、胎児の血漿中の PLP は母体由来ではなく、胎児中での PL のリン酸化によるとの報告もあり、胎盤での PLP 能動輸送系の存否に関する生化学的研究が求められていた。最近、Schenker ら⁷⁾はヒト胎盤葉を用いた灌流実験により次の結果を得た。① PL は胎盤で両方向へ容易に透過する。しかしその透過速度は対照として用いたアンチピリンの透過速度の約 1/2 よりもやや遅く、また、胎児方向への速度が母体方向への速度よりも大きい。② PL の透過は基質濃度を増大させても飽和せず、濃度勾配にさからって透過することはできない。③ PL の透過に比べ、PLP の透過速度は約 1/5 にすぎない。これらの結果は PLP そのものの透過を必ずしも否定するものではないが、胎盤における B₆ の透過はリン酸化型としてではなく、PL の形で受動拡散により行なわれることを強く示唆する。また、この報告では、アルコール (250~400 mg/100 ml) が母体から胎児への PL の輸送を 42% 程度阻害することも示された。

ヒトを例外としてヤギ等の哺乳動物の乳汁中では PLP が主な B₆ 成分となっていることが知られており、最近、この PLP の由来が検討された。Coburn ら⁶⁾は次の結果を得た。①ヤギ、ウシ、ブタ、イヌ、ラットについて乳汁中の PLP 量と ALP 活性量を測定して、PLP 量は ALP 活性量と反比例して減少する。

②これらの動物の乳汁中の ALP 活性は PL キナーゼ活性に比べはるかに高い。(乳汁中の PLP は ALP によって加水分解されない形になっている) ③乳汁中には ATP 源が無い。さらに生化学的な証明が必要であるが、これらの結果は、乳汁中の PLP は乳汁中で生ずるのではなく、PLP の形でおそらくはタンパク質と結合して輸送されていることを示唆している。これらの動物とは対照的にヒトの乳汁中には PLP はほとんど認められない。ヒトの乳房組織中の PL キナーゼ活性と ALP 活性がこれら動物に比べ 1/10 以下であることがこの原因となっているのかもしれない。

このように PLP が脱リン酸化されないでそのものの形で原形質膜を透過している可能性があるのは肝細胞と乳房組織の細胞であり、これらはいずれも PLP をタンパク質複合体の形で透過させていると考えられる。しかしながら、この PLP-タンパク質複合体の形成過程や輸送機構に関する生化学的研究はほとんど行われていない。ミトコンドリアやその他のオルガネラ膜の透過機構も含めて PLP そのものの透過機構に関する研究が必要である。

(高知大農 生物資源科学 八木 年晴)

文 献

- 1) Bowman, B.B., McCormick, D.B., Smith, E.R.: Ann. N. Y. Acad. Sci., 585, 101-109 (1990)
- 2) McCormick, D.B., B-Komro, D.M., Bonkosvksy, J.L., Larsen, C., Zkang, Z.: Proceedings of 8th International Symposium on Vitamin B6 and Carbonyl Catalysis. pp. 609-611 (1991)
- 3) Suzue, R., Tachibana, M.: J. Vitaminol., 16, 164-171 (1970)
- 4) Fonda, M.L., Eggers, D.K.: Exp. Geront., 15, 465-472 (1980)
- 5) Yagi, T., Matsuoka, K., Yamamoto, S.: Biosci. Biotechnol. Biochem., 57, 753-759 (1993)
- 6) Coburn, S.P., Mahuren, J.D., Pauly, T.A., Ericson, K.L., Townsend, D.W.: J. Nutr. 122, 2348-2353 (1992)
- 7) Schenker, S., Johnson, R. F., Mahuren, J. D., Henderson, G. I., Coburn, S.P.: Am. J. Physiol., 262, R966-R974 (1992)
- 8) Zemleni, J., Link, G., Kubler, W.: Internat. J. Vit. Nutr. Res., 62, 165-172 (1992)

酵母に存在する生理活性リン脂質 PAF —PAF の普遍性—

ウサギのアナフィラキシー反応解析の際に血小板を活性化する因子として PAF (血小板活性化因子) が発見¹⁾されてから、20年が経過した。グリセロール骨格の 1 位にアルキル基がエーテル結合をし、2 位にアセチル基が結合したユニークな構造を持つこのコリンリン脂質は、 $10^{-11} \sim 10^{-10} \text{M}$ で血小板を活性化する現在最強の血小板凝集惹起物質である。その他に好中球・マクロファージ・リンパ球の活性化、血管透過性亢進、血圧降下作用、平滑筋収縮作用など多彩な生理作用を有することが判明し、炎症細胞などにより刺激に感応して産生されることからアレルギーや炎症、種々の疾病に関与するメディエーターとして認識されている。一方、PAF は女性ホルモンの刺激により子宮などで産生され、妊娠・出産などの生殖生理に関与するなど、生体のホメオスターシスに関与する因子としても重要視されている。本因子は、極めて微量で種々の病態や生理現象に関与することから、第 2 のエイコサノイドとして確固たる地位を築き、哺乳動物において広く研究されてきた^{2), 3)}。最近になり、下等動物や酵母においても PAF は検出され、その生物界における分布の普遍性や生理的意義が注目されている。

高等動物において、PAF の生合成経路はリモデリング系と *de novo* 系*が知られている。リモデリング経路とは、炎症細胞などにおいて主要な PAF の産生経路とされ、刺激に応じて細胞内カルシウム濃度が上昇し、活性化されたホスホリパーゼ A_2 により生体膜のエーテル型コリンリン脂質からリゾ PAF が生じ、次いで、アセチルトランスフェラーゼによりアセチル基がリゾ PAF の 2 位に導入されて PAF が産生される経路である。Sugiura らは、この系の PAF の貯蔵型前駆体であるエーテル型コリンリン脂質が広く下等動物まで存在することに注目して、ナメクジ等の多細胞無脊椎動物に高いレベルの PAF を見いだした⁴⁾。さらに、9 つの動物門 45 種の多細胞無脊椎動物について系統的に分析した結果、エーテル型脂質の多いものは PAF 含量が高い傾向にあることを明らかにし、環形、軟体、棘皮、扁形、腔腸および海綿動物に高い PAF を検出している⁵⁾。ミミズを針で刺激したり体を切断すると PAF の産生量が増加することより外敵への防御や障害に対する修復機構への関与