

また遊離の B_{12} の吸収試験 (Schilling test) や卵黄中 B_{12} の吸収試験で大部分の患者が正常値を示したことから、彼らはエイズで血清 B_{12} レベルが低いのは吸収不良によるのではなく、 B_{12} 輸送系に損傷が起こるために血清中 B_{12} レベルが下がると考えた⁶⁾。彼らはまた血清の不飽和の B_{12} 結合能が上昇しており、それが不飽和の TC 分画の増加によることを見ているが⁶⁾、これは他の研究者たち^{5), 8)}が報告しているようにエイズで血清中のホロ TC が減少して B_{12} 欠乏の初期症状を呈するという観察と間接的に一致している。

Herbert ら⁸⁾は正常な状態では血清の B_{12} レベルと無関係に B_{12} の 20% が TC に結合しているのに対して、エイズ患者では血清 B_{12} レベルが正常な場合でもホロ TC が検出されない場合があると報告している。そしてエイズ患者でも血清中のホロ TC レベルが正常であったものは B_{12} を正常に吸収でき、そうでないものは血清レベルは正常であるにもかかわらず B_{12} を吸収できなかった。これから彼らは、 B_{12} の吸収が不良で造血機能の損傷や神経精神学的損傷があるときにはかならず血清の全 B_{12} レベルが低くなると考えるのは誤りであり、 B_{12} の吸収が低下して出納バランスが負に傾いたときに最初に出現する兆候は血清中のホロ TC の減少であるとした。そして悪性貧血においては月に 1 度 $100 \mu\text{g}$ の B_{12} を注射すれば十分であるのにエイズでは 1 mg を注射しても数週間後にはホロ TC レベル、デオキシウリジン閉止試験、顆粒球分葉などが異常を示すようになってしまい、エイズにおいてホロ TC 受容体を持つ細胞への B_{12} の輸送に欠陥があることを示していると考えた。このようにエイズにおける B_{12} の出納バランスは負に傾いており、その程度はホロ TC レベルが低下する初期状態から血清 B_{12} レベルが正常より低くなるようなものまであるが、生化学的あるいは血液学的に変化が現れるほど著しいものはないようである。

一般に B_{12} 欠乏状態で血液学的損傷よりも早くに神経の損傷が起こることが知られるので、エイズの場合の神経精神症状は B_{12} 欠乏の初期症状であるかも知れない。エイズ治療における栄養補給としてすべての患者に B_{12} を注射することが望まれるだろうか。

Mc Cutchan ら⁹⁾は血清全 B_{12} レベルが 200 から 400 pg/ml のエイズ患者で azidothymidine で治療中のものに 1 mg の B_{12} を月に 1 回筋肉注射すると azidothymidine によって引き起こされる好中球

減少症が B_{12} を投与しなかったものより悪化したことに注目している。さらに Herbert ら⁸⁾は B_{12} 投与は HIV-1 が成長する場である T4 細胞と単核球に栄養補給することになるので理論的には HIV-1 の成長を助ける可能性があることを指摘している。したがってエイズ患者において B_{12} 出納が負になっており、TC および TC 受容体による B_{12} 輸送系が円滑に行われないからといって B_{12} を投与すべきかどうかまだ明確でない。

(北海道教育大 家政学 山田 正二)

文 献

- 1) Lake-Bakaar, G., Quadros, E., Beidas, S., Elsakr, M., Tom, W., Wilson, D. E., Dincsoy, H. P., Cohen, P., Straus, E. W. : Ann. Intern. Med., **109**, 502-504 (1988)
- 2) Kotler, D. P., Gaetz, H. P., Lange, M., Klein, E. B., Holt, P. R. : Ann. Intern. Med., **101**, 421-428 (1984)
- 3) Modigliani, R., Bories, C., Le Charpentier, Y., Salmeron, M., Messing, B., Galian, A., Rambaud, J. C., Lavergne, A., Cochand-Priollet, B., Desportes, I. : Gut, **26**, 179-187 (1985)
- 4) Remacha, A. F., Riera, A., Cadafalch, J., Gimferrer, E. : Eur. J. Haematol., **47**, 60-64 (1991)
- 5) Herzlich, B. C., Schiano, T. D., Moussa, Z., Zimbalist, E., Panagopoulos, G., Ast, A., Nawabi, I. : Am. J. Gastroenterol., **87**, 1781-1788 (1992)
- 6) Burkes, R. L., Cohen, H., Kralio, M., Sinow, R. M., Carmel, R. : Eur. J. Haematol., **38**, 141-147 (1987)
- 7) Remacha, A. : Eur. J. Haematol., **42**, 506 (1989)
- 8) Herbert, V., Fong, W., Gulle, V., Stopler, T. : Am. J. Hematol., **34**, 132-139 (1990)
- 9) McCutchan, J., Allen, J., Ballard, Z., Freeman, B., Bartok, A., Richman, D. : Proc. V Intern. Conf. AIDS, Montreal, June 4-9, 1989 : 文献 8 より引用

酵素の多面的機能

酵素が本来の生体反応触媒機能だけではなく、全く別の機能を果していることを示す結果が最近相次いで発表された。分岐鎖アミノ酸アミノ基転移酵素 (BCAT) とグルタチオン S-トランスフェラーゼである。

代表的なビタミン B_6 依存性酵素 (ピリドキサル酵素) の一つである BCAT のミトコンドリア型アイソザイム (BCATm) がアミノ基転移反応を触媒するだけではなく、分岐鎖ケト酸の輸送活性を示すこと

が分った¹⁾。従来から、 β -チロシナーゼ等のピリドキサル酵素は单一酵素が脱離反応や置換反応等の反応性を示し、反応特異性が多様であるため多機能酵素と呼ばれてきた²⁾。しかしながら、今回報告されたBCATmの場合はこれらとは根本的に異なっており、化学反応の触媒とは全く関係の無い機能を発揮することが示された。従って、混乱を避けるためにBCATmのような酵素を多面的機能酵素とでも呼ぶべきかも知れない。

BCATはトランスアミナーゼBとも呼ばれピリドキサル酵素の中でも早くからその存在が明らかにされた酵素である。また、細菌においてはイソロイシンの生合成の最終段階の反応を触媒し、動物では必須アミノ酸である各種分岐鎖アミノ酸の酸化的分解反応の最初の反応段階を触媒するため、多くの研究者の注目を集めてきた³⁾。哺乳動物における本酵素の存在様式は非常に特徴的であり、BCATmは肝を除いてほとんど全ての器官・組織に存在するが、シトソール型の本酵素(BCATc)はその存在が非常に限られ、癌細胞や胎児組織そして脳に見られるのみであり、oncofetalタンパク質といわれる。BCATmの生理機能は分岐鎖アミノ酸の炭素骨格を分岐鎖 α -ケト酸経由でミトコンドリアからシトソールへ、さらにプラズマ中へと流出させることであると考えられている⁴⁾。従って、BCATmはミトコンドリア内膜に存在する分岐鎖ケト酸輸送タンパク質と密接な関係を持って機能していると考えられてきた。今回、この二つの機能が単一のタンパク質によって行われることが示されたことになる。

実験は次のように行われた。まず、分岐鎖ケト酸輸送タンパク質がラット心臓のミトコンドリアから部分精製された。輸送タンパク質の輸送活性は、卵黄レシチンを用いて、凍結融解超音波処理法によりプロテオリポソームを作成し、¹⁴Cでラベルした α -ケトイソカプロン酸(KIC, 130 nM)の取り込み量を測定し求めた。なお、理由は不明であるが、この輸送活性は卵黄ではなく大豆レシチンを用いて作成したプロテオリポソームでは非常に低いことが示されている。凍結ミトコンドリアから Triton-X 114 で輸送タンパク質を可溶化し、FPLC 等により約100倍に部分精製された標品は SDS-PAGE で4本のタンパク質バンドを示し、このうち 39 KDa と 41 KDa の分子量に相当する成分が輸送タンパク質であった。この両成分は、二次元ペプチドマップが一つのスポットを除いて

同一であり、また共に抗 BCATm 抗体と反応してイムノプロッティングではっきりと染色されたことから、同一のタンパク質であると思われた。

この輸送タンパク質が BCATm と同一のタンパク質であることは 1) 均一に精製した BCATm を用いて作成された抗体と反応する。2) この抗体はラットミトコンドリアの粗抽出液中の輸送タンパク質活性と BCATm 活性をパラレルに免疫沈降させた。3) 両活性はラット組織においてほぼ同一の分布をしている。4) 精製した BCATm を用いて調製したプロテオリポソームは輸送活性を示す。ことなどから結論された。

そこで次に均一に精製した BCATm を用いて、プロテオリポソームを調製し、分岐鎖アミノ酸輸送の性質を調べた。BCATm による KIC と α -ケトイソバレリアン酸の輸送の K_m は各々 10 と 25 μM であった。KIC の輸送はその他の分岐鎖ケト酸やその誘導体、また芳香族カルボン酸誘導体によって阻害された。一方、ピルビン酸輸送タンパク質の基質やその誘導体、ブチルマロン酸やコハク酸によっては阻害されなかった。KIC の輸送は SH 試薬、ジエチルピロカーボネート、N-アセチルイミダゾールによって阻害された。このとき、BCAT 活性もこれらタンパク質修飾試薬によってほぼ同じように阻害されたが、阻害の程度は必ずしも両活性で同一ではなかった。ピリドキサル 5'-リン酸は輸送活性を 10 mM 程度で 75% 阻害したが、BCAT 活性にほとんど影響を与えるむしろ若干活性化した。これらの結果は BCATm が二面的機能酵素であり、各々の活性に関与する別々の部位がタンパク質中に存在していることを示唆した。

グルタチオン S-トランスフェラーゼの二面的機能性については杉本⁵⁾によって報告された。従来から、本酵素もまた多機能酵素であり、主として種々の化合物の解毒作用に関与していることが知られている。また、本酵素は、肝臓中に大量に存在することから、あたかも血漿中に大量存在するアルブミンと同様のある種の貯蔵タンパク質としての機能も想定してきた。しかしながら、今回、本酵素が前駆白色脂肪細胞増殖因子と同一タンパク質である可能性が示された。BCATm の場合と同様に、増殖因子としての活性に基づいて精製を行い、得られた増殖因子のタンパク質構造を調べた結果、本酵素との高い類似性が明かとなつた。

このようにある種の酵素が化学反応の触媒としてで

はなく、予期できない重要な生体機能に関与していることが明かとなった。今後も色々な酵素で興味深い機能が発見されるのであろうか。

(高知大農 生物資源科学 八木 年晴)

文 献

- 1) Hutson, S. M., Hall, T. R. : J. Biol. Chem., 268, 3084-3091 (1993).
- 2) 熊谷英彦・山田秀明：ビタミン学II（日本ビタミン学会編）東京化学同人, 197-207 (1980)
- 3) Ichihara, A. : Biochemistry : Transaminase Vol. 2 (Ed. Meister, A. ; J. Wiley & Sons, New York), pp. 430-438 (1985)
- 4) Hutson, S. M. : Ann. N. Y. Acad. Sci., 573, 230-239 (1989)
- 5) 杉本悦郎：日本農芸化学会平成5年度関西・西日本支部合同大会講演要旨集 p. 25 (1993)

ビタミンAによるBリンパ球の増殖・分化・機能の制御

ビタミンA（以下A）は癌細胞を含む種々の細胞の増殖と分化、四肢の形態形成や再生などに広汎な生物学的作用を持つ¹⁾。

以前から、血液細胞の増殖・分化・機能もAによって制御されることが推測されていた²⁾。このことは前骨髓性白血病細胞がレチノイン酸によって顆粒球に分化誘導されることが発見されて³⁾、実証された。さらに、A欠乏症でも、過剰症でも生体のリンパ系機能が低下するという現象があり、リンパ系細胞の増殖・分化・機能もAによって制御される可能性が指摘されていた。しかし、リンパ系細胞に対するAの作用の *in vitro* での研究は、殆どが悪性リンパ腫などの細胞株に、エタノールやジメチルスルホキシドに溶解したAを添加するという人工的条件下で行われてきた^{4)~6)}。

しかし実際には脂溶性ビタミンであるAはフリーの形で血液中に存在することはない。腸から吸収されたAは、レチニルエステルの形で、キロミクロンあるいはキロミクロンレムナントと複合体をなして、血液中を肝臓に運ばれる⁷⁾⁸⁾。またレチノール（生理的血中濃度 1~3 μM）は特異的結合タンパク質であるレチノール結合タンパク（RBP）と複合体を形成して血液中を流れ、種々の細胞の表面にあるRBPに対する受容体を介して、細胞内に取り込まれる^{7)~11)}。レチノイン酸は血液中ではアルブミンと結合していて、わずかな量しか存在しない（5~30 nM）。

最近、Blomhoff らは、ヒト成熟Bリンパ球と生理的濃度のA（レチニルエステル、レチノール、レチノイン酸）およびAの生理的キャリアー（キロミクロンレムナント、RBP）を用いて、Aが生理的条件下で成熟リンパ球の増殖・分化・機能を制御することを示した¹²⁾ので紹介したい。

健常ヒト末梢血からバッフィコートを得て、細胞懸濁液にする。この懸濁液に、Bリンパ球の表面抗原の一つであるCD19に対する抗体（抗CD19抗体）で表面を被覆したマグネットビーズを混ぜて、インキュベートする。こうすると、Bリンパ球のみがマグネットビーズ表面の抗CD19抗体に付着する。鉄を利用してマグネットビーズを回収した。こうして99%以上純粋な成熟Bリンパ球の懸濁液が得られた。

まず、Aの成熟Bリンパ球の増殖への影響が [³H]-thymidine のDNAへの取り込みを定量することにより、観察された。この際には、成熟Bリンパ球を抗ヒト IgM 重鎖抗体（抗μ抗体）か、黄色ブドウ球菌で刺戦して、[³H] thymidine の取り込みを高める。これらのBリンパ球に従来どうりエタノールに溶解したAを添加すると、容量依存的にBリンパ球の [³H] thymidine 取り込みは抑制された。すなわち、AはBリンパ球の増殖を制御すると言える。

細胞周期の1回目と2回目をプロモデオキシリジンを用いて識別できる。この方法を用いて観察すると、黄色ブドウ球菌で刺戦されたBリンパ球にA（1 μM のレチノールか、1 μM のレチノイン酸）を添加すると、細胞周期は1回目から2回目に移行できないことがわかった。

次に、Aを生理的なキャリアーと複合体にして添加し、DNAの生合成への影響を調べた。キロミクロンレムナントにレチニルエステルを 0.5 μM (Aを豊富に含む食事を摂った後の血中レベルに等しい) になるように加えて、抗μ抗体か、黄色ブドウ球菌で刺戦したBリンパ球に添加して、[³H] thymidine のDNAへの取り込みを定量した。キロミクロンレムナントのみでは、[³H] thymidine の取り込みは全く抑制されなかったが、レチニルエステルを含むキロミクロンレムナントは著明にこの取り込みを抑制した。またRBPと結合したレチノールも生理的濃度（1 μM）で、やはりこの取り込みを抑制した。その程度はフリーのレチノールによるよりも遥かに強かった。

ついで、Aは細胞周期（→G₁→S→G₂→M→）のどこで周期を止めるのか、Bリンパ球活性化のマーカー