

遊離チロシンの硫酸化の意義

ドーパ、カテコールアミンなどの体内濃度調節に関与か？

チロシンの硫酸化について、その実体はあるけれども、その機能、意義についてはほとんどまだわかっていない。筆者らは Lipmann グループとともに、ここ 10 年間この問題に取り組んできた。最近、遊離のアミノ酸のチロシン硫酸化について面白い知見が得られたので紹介したい。

芳香族アミノ酸の 1 つであるチロシンは、タンパク質の構成要素のみでなく他の生体にとって重要な様々な物質の前駆体となっている。副腎髄質ホルモン（アドレナリン、ノルアドレナリン）および神経伝達物質（ドーパミン、アドレナリン、ノルアドレナリン）としてのカテコールアミン、甲状腺ホルモンであるチロキシン、皮膚や髪の毛に存在する色素であるメラニン、またユビキノン、アルカロイドなどがその例である。

遊離の硫酸化チロシンは、1955 年に Tallan らにより初めてヒト尿中に見いだされた⁽¹⁾。以降、ラット、マウス、ウサギなど数種の哺乳動物種からも、その存在が報告されている。その後、尿中に排泄される遊離の硫酸化チロシンの起源を求めて、種々の細胞ホモジネートや精製されたアシル硫酸転移酵素を用いて遊離のチロシンに対する酵素活性を見いだす研究が行なわれたが、発見には至らなかった。そして、Huttner らにより真核生物において広範囲のタンパク質の翻訳後修飾としてチロシン残基が硫酸化されることが報告されるに及んで、尿中に排泄される遊離の硫酸化チロシンは、硫酸化チロシタ

ンパク質の分解によってのみ生じると考えられるようになった^(2,3)。さらに、^[35S]硫酸で標識したフィブリノペプチド B をウサギに注射し、その体内での代謝を検討した結果、遊離の ^[35S]硫酸化チロシンが定量的に尿中から回収されたこととともに多くの硫酸化チロシタンパク質が報告され、多量に排泄される遊離の硫酸化チロシンの起源が、硫酸化チロシタンパク質であるという説を裏付ける証拠となった。こうして、Schiff らのグループによって、高等植物の L-チロシンの硫酸化について再検討されるまで、この説が一応の定説となっていた⁽⁴⁾。

筆者らは、ヒト肝腫瘍由来の HepG2 細胞、ヒト肝由来の Chang Liver 細胞、ヒト腸上皮由来の Caco-2 細胞、およびイヌ腎臓上皮由来の MDCK 細胞を用いて、タンパク質合成阻害剤であるシクロヘキシイミドの存在下に ^[35S]硫酸で細胞を標識すると、L-チロシンの ^[35S]硫酸体が生成することを観察した^(5,6)。また、^[35S]硫酸と ATP から好熱性菌 *Bacillus stearothermophilus* 由来の ATP スルフリラーゼおよび APS（アデノシン 5'-ホスホ硫酸塩）キナーゼを用いて活性硫酸 ^[35S]PAPS（3'-ホスホアデノシン 5'-ホスホ硫酸塩）の酵素的合成を行なった。この高比活性の ^[35S]PAPS を使用することで、これまで報告例のない遊離のチロシンを硫酸化する酵素の存在をラット肝臓を用いて証明しようと考えたのである。

結果は、チロシンおよびドーパ異性体を硫酸化する分

子量 33 k の硫酸転移酵素(D/TST)の発見となった。ラット肝臓の本酵素の遺伝子解析およびアミノ酸配列の検討により、既知の硫酸転移酵素とは違う新しい酵素であることが明らかとなった⁷⁾。基質特異性についてみると、L型よりD型のチロシンおよびドーパを効率よく硫酸化し、生体内で不必要と思われるD型チロシンやドーパの硫酸化による除去機構への関与が示唆される。また、L型に対しては基質濃度が高いときに作用することから、チロシン硫酸化の本質的な機能として次のようなことが考えられ、特に細胞内におけるL-チロシンやドーパ異性体の体内濃度の新規な調節機構に関わっている可能性が示唆される。

- ① 過剰なドーパやチロシンの生体内からの除去
- ② 生理的に活性な硫酸化ドーパや硫酸化チロシンの生成
- ③ ドーパやチロシンの生体内輸送
- ④ ドーパやチロシンの貯蔵体の生成
- ⑤ 内在性および生体異物の解毒

なお、甲状腺ホルモンについても同様なことが推定される。また、図1に示すような生理活性物質の体内濃度の新規な調節機構としての代謝マップが推定される。ここで⇒で示したところは今までの代謝マップに書かれていない新規な代謝となる。

チロシン代謝の遺伝病としては、高チロシン血症が挙げられ、3つの病型に分類されている。これらの病型では、遺伝的に欠損している酵素が異なるだけでなく、酵素異常に基づく臓器の障害や血中チロシン値の上昇の程度も異なっている。I型は、フマリルアセトアセターゼが欠損しており、尿中にスクシニルアセトンが排出され

る。この型には、肝細胞機能障害と腎尿細管機能異常があり、それに基づく症状が現われてくる。II型は、Richner-Hanhart 症候群として知られていた疾患で、知能障害、手掌角化、角膜潰瘍を主要症状とする。肝の細胞質画分のチロシニアミノ基転移酵素が欠損しており、血中チロシン値は著しく高い値を示す(20~70 mg/dl)。III型は、パラヒドロキシフェニルピルビン酸酸化酵素の障害によるもので、神経症状として、けいれん、急性失調、発育遅延がある。この疾患は高チロシン濃度によるもので、前述の3つの酵素の欠損に加えて、チロシンの体内濃度調節に重要と思われる本硫酸転移酵素の欠損によることが推定される。

また、チロシンの代謝経路の一つに中枢神経系、末梢交感神経系の伝達物質であるカテコールアミンの合成経路がある。この神経伝達物質に関係ある病気で、主に老年者の脳疾患であるパーキンソン病は、手足のふるえ、こわばった姿勢、緩慢な動きを特徴とする。この病気は、カテコールアミン合成経路の律速酵素であるチロシン水酸化酵素が異常をきたすことによるドーパミンの欠乏が原因の一つとされている。神経学者はL-ドーパによってほとんどのパーキンソン病患者の症状が改善されるとしている。また、血管障害や脳炎後遺症など原因が明らかであってパーキンソン病と同様の臨床症状を示すものについては、パーキンソン症候群という表現が用いられている。このパーキンソン症候群の一つにマンガン鉱山に働く人などに見られるマンガン中毒症がある。HepG2細胞のD/TST酵素活性は、マンガンにより強く活性化(約400倍)されることから⁸⁾、マンガン中毒症はD/TSTがマンガンにより活性化された結果、本来神経伝達

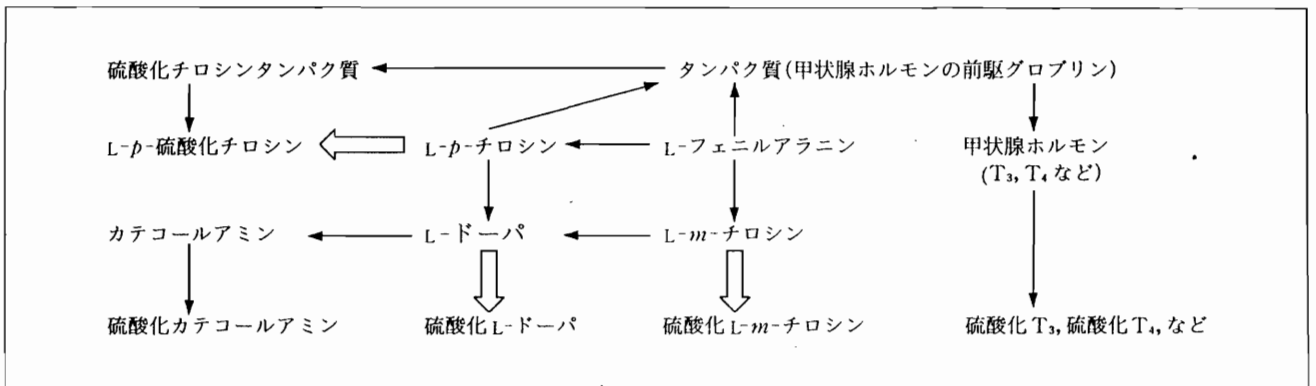


図1 ■ ドーパ/チロシン異性体および甲状腺ホルモンの硫酸化
T₄: チロキシン, T₃: トリヨードチロニン

物質に使われるチロシンおよびドーパが硫酸化され体外へ排泄されることにより不足することが原因ではないかと考えている。

このように、この新しい酵素 D/TST は、パーキンソン病、マンガン中毒症および遺伝性高チロシン血症の生理学的解明に一つの手がかりを与えるものと考えられ、日夜興奮しながら研究を行なっている。

- 1) H.H. Tallan, S.T. Bella, W.H. Stein & S. Moore : *J. Biol. Chem.*, 217, 703 (1955).
- 2) W.B. Huttner : *Nature*, 299, 273 (1982).

- 3) W.B. Huttner : *Annu. Rev. Physiol.*, 50, 363 (1988).
- 4) T. Saidha & J.A. Schiff : *Biochem. J.*, 298, 45 (1994).
- 5) Y. Sakakibara, M. Suiko & M.-C. Liu : *Eur. J. Biochem.*, 226, 293 (1994).
- 6) Y. Sakakibara, M. Suiko, H. Nakajima & M.-C. Liu : *Biochem. J.*, 305, 993 (1995).
- 7) Y. Sakakibara, Y. Takami, C. Zwiab, T. Nakayama, M. Suiko, H. Nakajima & M.-C. Liu : *J. Biol. Chem.*, 270, 1 (1995).
- 8) M. Suiko, Y. Sakakibara, H. Nakajima, H. Sakaida & M.-C. Liu : *Biochem. J.*, 314, 151 (1996).

(水光正仁, 宮崎大学農学部)