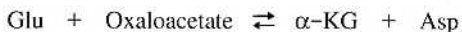


- 研究の周辺 -

トランスアミナーゼ点描

生化学 湊 川 洋 介

トランスアミナーゼの代表である GOT, GPT を昨今ではアスパラギン酸 トランスアミナーゼ (AST), アラニン トランスアミナーゼ (ALT) と表記すると漏れ聞きますが, その真意はどこにあるのでしょうか. なぜ GOT が AST で, GPT が ALT なのか, と尋ねられることがあります. どちらで表しても良いのですが, GOT, GPT の方が実は正確な表記法であり, AST, ALT は不完全な表記であります. GOT はグルタミン酸: オキサロ酢酸 トランスアミナーゼの略号であり, この反応によってグルタミン酸 (Glu) の持つアミノ基がオキサロ酢酸 (Oxaloacetate) に移され, その結果 α -ケトグルタル酸 (α -KG) とアスパラギン酸 (Asp) が生成することになります. トランスアミナーゼは可逆反応を行う酵素でありますので, この逆反応, すなわちアスパラギン酸 (Asp) と α -ケトグルタル酸 (α -KG) とのトランスアミネーション反応も触媒します. すなわち,



この反応を表から見ると Glu: Oxaloacetate トランスアミナーゼであり, 裏から見ると Asp: α -KG トランスアミナーゼであり, 実態は同じ酵素を示しています. ただし, GOT は基質となるアミノ酸 (Glu) とそのアミノ基受容体 (Oxaloacetate) を明確に示しているのに対し, AST はアミノ酸 (Asp) だけを示し, そのアミノ基受容体 (α -KG) のことは示されて

いません. GPT すなわち ALT についても同じことが言え, グルタミン酸: ピルビン酸 トランスアミナーゼはアラニン: α -KG トランスアミナーゼと表裏一体の酵素です. この場合でも ALT は基質となるアミノ酸 (アラニン; Ala) だけを示し, アミノ基受容体 (α -KG) のことは示していません. その意味で, これらの表記は不完全であるといえます. トランスアミナーゼと言われる酵素は沢山あり, その基質特異性によって命名され, 分類されていますが, α -KG をアミノ基受容体とするトランスアミナーゼが多いことから AST, ALT のように α -KG がアミノ基受容体であることを省略してしまったのかと思います. しかし, 厳密にはアミノ基受容体も示さないと本当の意味での命名にはなりません. 現に Asp: Glyoxylate トランスアミナーゼとか Ala: Glyoxylate トランスアミナーゼなどが存在し, これらとの区別がつかないこととなります.

私の研究生活はトランスアミナーゼの基質特異性の研究から始まりました. 今から約35年前, 大学卒業後2年目位だったでしょうか, 当時は酵素と基質との関係は鍵と鍵穴の関係と同じで厳密に規定されている, と言うのが教科書的にも定説でありました. その中で, トランスアミナーゼと言えば各種のアミノ酸のアミノ基転移を触媒するが, そのアミノ基受容体は殆ど α -KG であると信じられていました. そこで私はトリプトファンの代謝産物であるキヌレニンの

トランスアミノーションの肝臓での研究に取り掛かり、アミノ基受容体として定法に従い α -KGを用いて始めました。生成物のキヌレン酸を分光学的に測定することでその酵素活性を測ったのですが、なんとも頼りない活性しか示しませんでした。これは精製するにも、酵素の性質を調べるにも活性が弱すぎて難儀なことだ、と思っていたところ、ある日、何の拍子か、深い意味も無く、アミノ基受容体としてオギザロ酢酸とピルビン酸を使ってみる機会を得ました。何と、今までの活性の10倍以上の活性が得られ、何事が起こったのか、と狐につままれたような気持ちで、何回と無くやり直しをしたのを覚えています。私の頭の中では、アミノ基受容体は α -KGである、との定説がガラガラと音を立てて崩れていくのが分かりました。その時、私の頭をよぎったのは、トランスアミナーゼは基質のアミノ酸で分類されているが、ひょっとするとアミノ基受容体である α -ケト酸によっても分類されるのではないかと、との予測でした。そこで始まったのが、トランスアミナーゼの基質としてGlu, Alaはもとより、アロマチックアミノ酸（トリプトファン、フェニールアラニン、チロジン、ヒスチジン）、分岐鎖アミノ酸（バリン、ロイシン、イソロイシン）などを使い、アミノ基受容体として α -KG, Oxaloacetate, Pyruvate, Glyoxylate, フェニールピルビン酸、ヒドロキシピルビン酸、分岐鎖アミノ酸の α -ケト酸、メチオニンの α -ケト酸など、手当たり次第に使って、ラットの各種臓器のホモジネートとインキュベーションする生活でした。こんな大それた研究は一人で出来るわけがありませんので、当時の研究室が総がかりで取り組んだプロジェクトへと発展したわけです。

まず、今まで知られていなかったキヌレンイン：ピルビン酸 トランスアミナーゼの存在を明らかにすることが出来、ついで、トリプトファン：オギザロ酢酸 トランスアミナーゼの存在をラットの脳で明らかにすることが出来ました。私どもの研究室はトリプトファンの代謝を

研究することがメインでありましたので、トリプトファン： α -KG トランスアミナーゼ、すなわち、当時アロマチックアミノ酸トランスアミナーゼと言われていた酵素の精製を行いましたところ、それが細胞質内 GOT (sGOT) そのものであることが分かったのです。すなわち、トリプトファンのみならず、チロジン、フェニールアラニンも sGOT の基質となることが分かりました。ちなみに、キヌレニン： α -KG トランスアミナーゼも sGOT が示す広い基質特異性のうちの一つの活性でした。すなわち sGOT の基質特異性は低く、沢山のアミノ酸のトランスアミノーションを触媒することが分かったのです。いずれの場合も α -KGを最も良いアミノ基受容体としましたが、基質特異性が非常に低いと言うことは、また我々にとっては衝撃でした。先ほども述べましたが、酵素と基質との関係は鍵と鍵穴に例えられるごとく、厳密に規定されているもの、との定説を覆すものであったからです。トランスアミナーゼにおいては基質特異性は言われているほど厳密なものではないことが分かり、今まで報告されているトランスアミナーゼを洗いなおす必要があるところへと来てしまったのです。

そして、アロマチックアミノ酸：ピルビン酸 トランスアミナーゼの存在も明らかにすることが出来ました。今まではヒスチジン：ピルビン酸 トランスアミナーゼ、フェニールアラニン：ピルビン酸 トランスアミナーゼ などとして異なったトランスアミナーゼに分類されていた酵素が実は同一の酵素の基質特異性に依ることを明らかにしました。そうこうするうちに、セリン：ピルビン酸 トランスアミナーゼとアロマチックアミノ酸：ピルビン酸 トランスアミナーゼの性質が似ていることから、これらが同じ酵素であることも見出しました。この当時、アラニン：グリオキシル酸 トランスアミナーゼの存在が報告され、我々も追試したところ、何と、セリン：ピルビン酸 トランスアミナーゼであることが分かり、この酵素がアミノ酸に対しては非常に広い基質特異性を示し、アミノ

基受容体としてはグリオキシル酸が最適で、次いでピルビン酸であり、 α -KG は全くアミノ基受容体としては働かないことを明らかにすることが出来ました。また、初期に見出したキヌレニン：ピルビン酸 トランスアミナーゼはこのアラニン：グリオキシル酸 トランスアミナーゼが持つ広い基質特異性の示す酵素活性の一つであることも分かりました。

私たちの初期の目的、すなわち、アミノ基受容体である α -ケト酸によってトランスアミナーゼが分類できるのではないかと、との目論見はその複雑さゆえに頓挫しましたが、少なくともトランスアミナーゼの基質特異性はある程度揺るぎを持ったものであること、ひいてはこの揺るぎは程度の差こそあれ、酵素一般に当てはまることを世に実例として示すことが出来たと考えています。ピッキングが容易な鍵穴もあれば、ピッキングが不可能なものもあると言うことでしょうか。

このように、トランスアミナーゼの基質特異性はどうしても良いことではなく、厳密に使われないと、自分が意図している酵素とは別の酵素を聞き手が想像していることがあります。

従って、GOT、GPTを使わないなら、せめて Asp α -KGT、あるいは Ala α -KGT とでもしていただければ納得できるのですが、でも、どちらかと言うと GOT、GPTの方が略号としてはすっきり、スマートだと思うのですがいかがでしょう。AST、ALTを使うメリットがあればお教え下さい。

老婆心ながら、GOTには細胞質内 GOT (sGOT) とミトコンドリア内 GOT (mGOT) があります。これらはアミノ酸配列が全く違うアイソザイムであります。通常血中に見出される GOT はどれかの臓器から漏れ出た sGOT のことでありますが、一般的には肝臓から漏れ出ているか、心筋から漏れ出ているかのどちらかです。以前、血中の sGOT と mGOT を測り分ける試みが為されたことがあります。これは sGOT 抗体で sGOT を除去した活性を mGOT 活性とし、総 GOT 活性から mGOT 活性を減

じたものを sGOT 活性とするものでした。肝炎などで肝細胞の障害の深さを予測する試みとして行われ、その有効性がうたわれましたが、mGOT 活性があまり大きな値として得られないこと、また、その測定手技の煩雑さ、測定値のばらつきの大きさからか臨床的には使われなくなりました。

sGOT の研究は歴史があり、その X 線結晶解析も行われていますが、mGOT についてはあまり詳しい解析は行われていません。mGOT はミトコンドリア内の酵素ですが、その遺伝子は核染色体 16 の q 21 に存在します。従って、細胞質で合成されてからミトコンドリアへ転送されますが、合成された mGOT の N 末端にはミトコンドリアへ転送されるために必須のアミノ酸配列が余分についている模様です。

また、GPT は細胞質にのみ存在する酵素で (ミトコンドリアアイソザイムもあると言われていますが定かではありません)、精製が難しく、GOT ほど研究されていません。あまり精製されていない酵素で測定したので確定的なことは言えませんが、基質特異性は非常に狭い (殆どアラニンにしか働かない) と予測したことを記憶しています。現在では一応精製され、アミノ酸配列、遺伝子解析も行われていますが、X 線結晶解析はまだ行われていないようです。

GOT、GPT はほとんど全ての細胞に存在していますが、生命維持にこれらのトランスアミナーゼがどのような役割を果たしているのでしょうか。アミノ酸代謝すなわち栄養学的な観点からの寄与だけなのでしょう。実のところ、栄養学的観点以外の生理的役割について確実なことは分かっていませんが、少なくとも GOT、GPT を欠損した症例が知られていないことから、生命維持に必須の酵素であることは間違いないさそうです。グルコースが解糖系で分解される際、細胞質で形成された $\text{NADH} + \text{H}^+$ をミトコンドリアへ転送する代謝経路にリンゴ酸-アスパラギン酸シャトル (malate-aspartate shuttle) が提唱されていますが、このシャトルで

sGOTとmGOTが働くことが予測されています。このシャトルが提唱された当時は、その存在を実験的に証明することは難しく、生化学者が細胞内に存在する酵素を組み合わせるこのようなシャトルの存在を予測したものであります。しかし、ノックアウトマウスや酵素の阻害剤などを用いて、このシャトルが阻害されたと考えられる細胞を観察してみると、解糖系酵素は健在であるにもかかわらず、この細胞での糖の利用が極端に低下することが明らかにされました。すなわち、このシャトルは実在し、この経路でsGOT、mGOTが実際に働き、細胞のエネルギー産生に重要な役割を果たしているらしいことが明らかになって来ています。この辺りにsGOT、mGOTの大きな役割があるのかもしれないと思っています。sGOT、mGOTのヘテロジェニティーによって細胞内エネルギー産生に個人差が出てくる可能性もあるのではないか、この事がひいてはスポーツへの適合性、寿命、体質などの生理的機能の他に免疫能、易感染性、肥満、高血圧症、高脂血症、糖尿病などの病的状態との絡みが潜んでいるのではないかとあらぬ事を考えている今日この頃であります。