

# AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

蛋白質・核酸・酵素 (1990) 35(4):630-637.

カテコールアミン生合成の調節

**奥野幸子, 藤沢仁**

## カテコールアミン生合成の調節

奥野幸子・藤澤 仁

カテコールアミンの合成速度は律速酵素であるチロシン水酸化酵素の活性の変動によって調節されている。チロシン水酸化酵素の活性は種々の調節因子によって複雑な調節を受けていると推定されているが、なかでも蛋白質磷酸化酵素による活性化機構が重要であると考えられ、研究が進められてきた。種々の蛋白質磷酸化酵素が関与する可能性が報告され、活性調節における役割が解明されつつある。チロシン水酸化酵素の一次構造が明らかになり、それを手がかりに活性調節領域の磷酸化部位の特定などに力が注がれている研究の現状を紹介した。

はじめに カテコールアミン（ドーパミン、ノルアドレナリン、アドレナリン）は中枢および末梢神経の神経伝達物質として、また副腎髓質ホルモンとして働いており、いずれもアミノ酸のチロシンからいくつかの酵素反応を経て合成される。一連の合成酵素反応のうち、チロシンからドーパを生じる最初の反応が律速段階であり、この反応を触媒するチロシン水酸化酵素<sup>1,2)</sup>の活性が変動することによって、カテコールアミンの合成速度が調節されている。したがって、チロシン水酸化酵素の活性の調節機構はきわめて重要である。

チロシン水酸化酵素の活性の調節機構に関する研究は、酵素の発見と同時に開始され、種々の活性阻害物質や活性化因子が見いだされるにつれて、複雑な活性調節機構が存在すると推定されてきた<sup>3)</sup>。これらの調節因子の中でもとくに酵素蛋白質の磷酸化による活性化機構<sup>4)</sup>が注目を集め、以来この10年間は蛋白質磷酸化反応を中心とした活性調節機構の研究が進められてきた。

チロシン水酸化酵素の活性を変動させる種々の因子や蛋白質磷酸化反応については本誌でもすでに紹介したが<sup>3,4)</sup>、その後、遺伝子工学的手法により明らかにされたチロシン水酸化酵素蛋白質の一次構造を手がかりに、酵

素の活性調節機構を分子レベルで解明しようとする研究が最近急速な進展をみせている。

### I. 安定/不活性型チロシン水酸化酵素

神経伝達物質やホルモンとして、カテコールアミンは生体機能の調節系に重要な役割を担っており、その合成をつかさどるチロシン水酸化酵素には、生体の必要に応じて巧みに活性が高められたり抑制されたりする高度の調節機構が備わっているものと推定される。

脳の線条体には中枢ドーパミン作働性神経の終末部が存在し、この部位で神経伝達物質であるドーパミンの分泌と合成が行なわれており、チロシン水酸化酵素の含量も高いことが知られている。図1は筆者らの実験結果を示したものであるが、ラットの線条体の粗抽出液中のチロシン水酸化酵素の活性を種々のpHで測定すると、図1AのようにpH5.4で測定したときに活性は最も高く、pHが上昇するにつれて活性は急激に低下し、pH7付近の中性では活性はほとんど検出できなかった。神経細胞内のpHは通常pH7付近に保たれていることが報告されているので、この結果から線条体でチロシン水

Sachiko Okuno, Hitoshi Fujisawa, 旭川医科大学第一生化学教室 (〒078 旭川市西神楽4棟5号3-11) [Department of Biochemistry, Asahikawa Medical College, Asahikawa 078, Japan]

Regulation of Catecholamine Biosynthesis

[Key word] 【カテコールアミン】【チロシン水酸化酵素】【蛋白質磷酸化酵素】

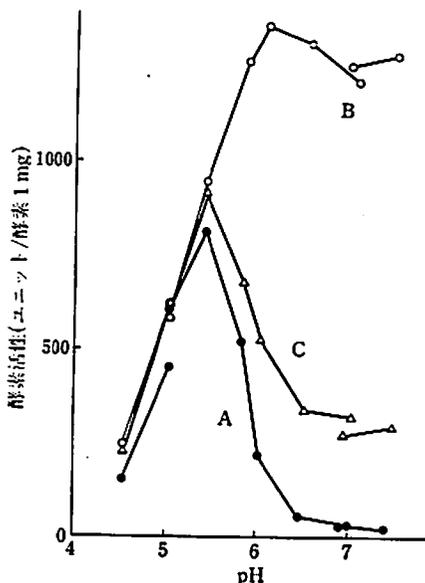


図1. チロシン水酸化酵素活性のpH依存性 (A)粗抽出液, (B)粗抽出液を酸性沈澱した酵素, (C)酸性沈澱の酵素にドーパミンを加えてインキュベーションした酵素。

酸化酵素は平常は活性をもたない状態、すなわち不活性型で存在していることが推定された<sup>9)</sup>。

その後の研究から、酵素の最終反応産物であるカテコールアミンが酵素をこのような中性付近の生理的なpHでは活性をもたない不活性型酵素に転換することが明らかになった<sup>6,7)</sup>。カテコールアミンによる不活性型酵素への転換は、十分量の補酵素ブテリンの存在下においても非常に低濃度 ( $10^{-7} \sim 10^{-8} M$ ) のカテコールアミンが効果を示すことや、カテコールアミンと酵素とのインキュベーションが必要なこと、中性領域での活性を特異的に抑制し、酸性領域での活性には影響しないことなどが特徴的で、従来から知られている補酵素ブテリンと拮抗したカテコールアミンによる活性阻害とは異なった別の機構によるものと思われる。このカテコールアミンによる不活性型酵素への転換は可逆的であり、不活性型に転換された酵素は酸性沈澱の操作で活性の抑制が解除され、中性に高い活性を示す酵素に戻ることも明らかになった(図1B)。酵素は不活性型に転換されると、変性による失活を受けにくくなるので、不活性型酵素はより安定な分子構造をとるものと考えられる<sup>9)</sup>。このように酵素を不活性かつ安定な状態に転換する作用はカテコールアミンに特異的であり、酵素の基質であるチロシンや直接の反応産物であるドーパ、カテコールアミンの代謝産物であるDOPAC、インドールアミンなどにはその効果は認

められない。

カテコールアミンの類縁体を用いて調べた結果、カテコール環と側鎖のアミンの両構造が、安定/不活性型酵素への転換に必要であることも明らかになった。図2はカテコールアミンとその代表的な類縁体について酵素の不活性化および安定化効果に対する濃度依存性を調べたものであり、双方の結果がよく一致することは、不活性化と安定化が同一の反応によっていることを示している。また作用の強さと構造との相関は、この不活性化、安定化作用がカテコールアミンに特異的なものであることを物語っている。カテコールアミンによる安定/不活性型酵素への転換の際、カテコールアミンの消費を伴わないこと、転換された酵素には加えたカテコールアミンが結合していないことなどから、図3のように、カテコールアミンは触媒的に作用して酵素を可逆的に安定/不活性型に転換していると考えられる。

チロシン水酸化酵素は自らの最終反応産物であるカテコールアミンによって不活性で安定な状態に転換されて貯えられ、カテコールアミン合成に備えているものと考えられる。

## II. 活性型チロシン水酸化酵素への転換

上記のように平常は安定/不活性型で貯えられているチロシン水酸化酵素は、カテコールアミン合成時にはどのような機構で活性化され、カテコールアミンの合成を開始するのであろう。

チロシン水酸化酵素の活性化因子<sup>8)</sup>として報告された中で、現在、蛋白質リン酸化による活性化が重要であろうと考えられており、いくつかの種類の蛋白質リン酸化酵素が関与していると報告されている。

### 1. cAMP 依存性プロテインキナーゼの関与

cAMP 依存性プロテインキナーゼ (Aキナーゼ) がチロシン水酸化酵素をリン酸化して活性化することはすでによく知られており、このAキナーゼによるリン酸化が、活性化機構の最も重要な部分を担っていると考えられている。図4は不活性型チロシン水酸化酵素をそれぞれの蛋白質リン酸化酵素によって活性化した筆者らの結果を示したものである。安定/不活性型酵素 (図4A) にAキナーゼの触媒サブユニットを加えてリン酸化すると、中性ではほとんど検出されなかった活性が著明に上昇し、中性に至るpHを示す酵素に変化した(図4B)。生体内pHと考えられる中性領域でのこの劇的な活性化はまさしく不

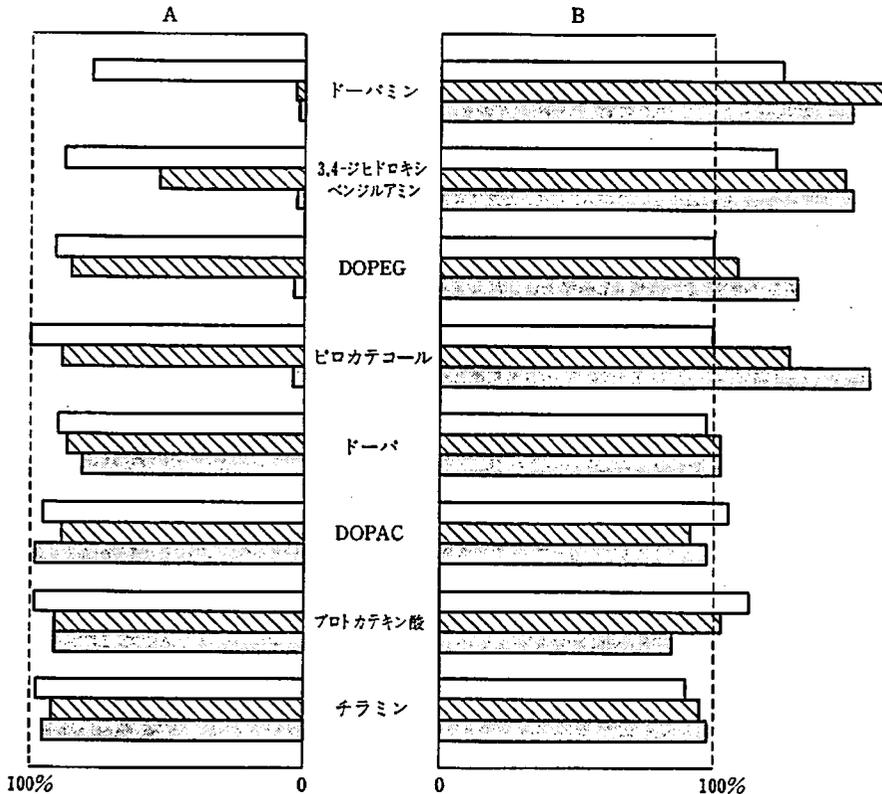


図2. カテコールアミン類縁体によるチロシン水酸化酵素の不活性化と安定化  
 (A) 不活性化: 酸性沈殿によって活性化に転換された酵素にカテコールアミン類縁体を添加して30°C/10分間インキュベーションしたのち、pH7で酵素活性を測定し、不活性化効果を調べた。無添加を100%とした。  
 (B) 安定化: カテコールアミン類縁体を添加して30°C/2時間インキュベーションしたのち、pH5で残存酵素活性を測定し、安定化効果を調べた。無添加を100%とした。白いバー:  $10^{-8}M$ , 斜線バー:  $10^{-7}M$ , 影つきバー:  $10^{-6}M$  添加。

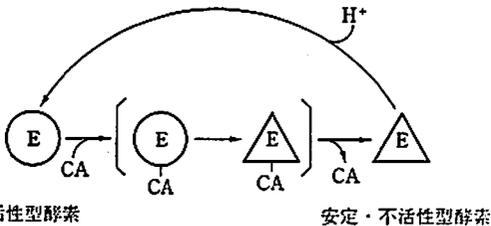


図3. カテコールアミンによるチロシン水酸化酵素の安定・不活性化への転換機構  
 CA: カテコールアミン。

活性型酵素から不活性化型酵素への転換を示しており、Aキナーゼがその役割を担っていることがうかがえる。図4にはAキナーゼのほか、カルモデュリン依存性プロテインキナーゼII (CaMキナーゼII) と活性化蛋白質で磷酸化し、活性化した場合 (図4C)、磷脂質依存性プロテインキナーゼ (Cキナーゼ) で磷酸化した場合 (図4D) も同時に示した。CaMキナーゼIIで活性化すると酵素活性は約2倍上昇するが、活性のpH依存性は不活性化

酵素と変わらず、中性領域での活性化はわずかであった。また、Cキナーゼを加えて磷酸化した場合にはどのpH領域においても活性化機構への関与を示すほどの活性増加は認められなかった。このように *in vitro* の実験結果はAキナーゼによる磷酸化がチロシン水酸化酵素の活性化に最も重要な役割を果たしている可能性を推定させる。Aキナーゼは生体内ではシナプス前膜のアデノシンA<sub>2</sub>レセプターと共役した調節系によってチロシン水酸化酵素の活性調節に関与していると考えられる<sup>4,9)</sup>。

2. Ca<sup>2+</sup> 依存性蛋白質磷酸化酵素の関与

Aキナーゼによる磷酸化、活性化と並んで、Ca<sup>2+</sup> に依存した細胞内カテコールアミン合成量の増加や、チロシン水酸化酵素の磷酸化や活性化が報告され、CaMキナーゼIIやCキナーゼがチロシン水酸化酵素の活性調節に関与していることが考えられている。

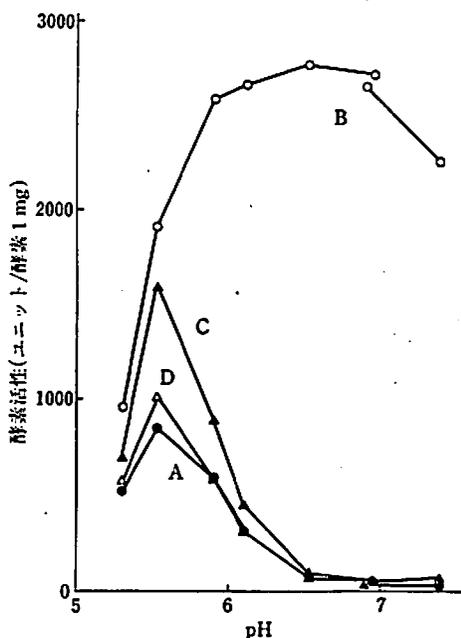


図 4. 蛋白質磷酸化酵素で磷酸化したラットのチロシン水酸化酵素の活性のpH依存性

(A) もとの粗酵素(●), (B) Aキナーゼで磷酸化した酵素(O), (C) 活性化蛋白質を加えてCaMキナーゼIIで磷酸化した酵素(▲), (D) Cキナーゼで磷酸化した酵素(△).

粗酵素として1mmの6-メチルプリンゲルを使用し活性を測定した。

### A. CaMキナーゼII

CaMキナーゼIIは1980年にチロシン水酸化酵素やトリプトファン水酸化酵素を磷酸化して活性化する脳に多くに豊富に存在する新しい蛋白質磷酸化酵素として筆者らの研究室で見いだされた<sup>10</sup>。CaMキナーゼIIによるチロシン水酸化酵素の活性化の機構は、Aキナーゼによる場合とは異なり、酵素が磷酸化されても活性は変化せず、磷酸化された酵素に活性化蛋白質が作用して初めて活性化が起こるという2段階の反応よりなっている<sup>11,12</sup>。

図4Cは活性化蛋白質存在下にラットの脳より精製したCaMキナーゼIIを加えて不活性型チロシン水酸化酵素を活性化した結果を示したものである。酸性領域ではAキナーゼによる場合と同等の活性化が認められるが、前に述べたように、中性領域での活性化にはCaMキナーゼIIはほとんど寄与していないようにみえる。しかしスライスなどを用いた*in situ*の実験系ではCaMキナーゼIIによるチロシン水酸化酵素の活性化が報告されており<sup>13</sup>、Aキナーゼに比べると、より複雑な調節系を介して関与しているのかもしれない。

CaMキナーゼIIには一次構造の異なる少なくとも4種類( $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ )のサブユニットが存在し、脳の部位によってその構成比などが異なることが筆者らの研究室で明らかになっている<sup>14a,14b</sup>。末梢の各組織にアイソザイムが存在することも明らかになっており、どのタイプのCaMキナーゼIIがチロシン水酸化酵素と共存してその活性化に関与しているのか興味深い。

またCaMキナーゼIIはMAP2やチューブリンなどの細胞骨格蛋白質をよく磷酸化し、MAP2の磷酸化を介して微小管の脱重合やアクチンのゲル化を調節することも筆者らの研究室で明らかにされている<sup>15,16</sup>。これらの細胞骨格蛋白質の磷酸化によってカテコールアミン分泌を調節し、さらにオートレセプターを介してカテコールアミン合成をも調節している可能性が推定される<sup>9</sup>。

### B. Cキナーゼ

チロシン水酸化酵素はCキナーゼによっても磷酸化される。しかし磷酸化を受けるものの、筆者らの実験結果では有意な活性の上昇は認められなかった(図4D)。活性化蛋白質を添加しても活性化は認められず、CaMキナーゼIIによる場合とは異なっている。Albertらはチロシン水酸化酵素がCキナーゼで磷酸化されると、 $V_{max}$ は変化しないが、補酵素ブテリンに対する親和性が増すことを報告した<sup>17</sup>。Iuvoneら<sup>18</sup>は $V_{max}$ の増大も伴うことを報告しており、筆者らの結果とは異なっている。PC12細胞やクロム親和性細胞にフォルボールエステルを投与するとドーパの合成が増大すること<sup>19,20</sup>やチロシン水酸化酵素活性が高まるという結果<sup>21</sup>も報告されているが、後述するように磷酸化される部位の特定とも関連して、Cキナーゼが活性化に関与するか否かはまだはっきりしていない。

### 3. その他の蛋白質磷酸化酵素の関与

Yanagiharaらは副腎髄質細胞のチロシン水酸化酵素が $\mu M$ 程度の濃度の $Ca^{2+}$ とATPによって活性化されるが、この活性化はカルモデュリンの阻害剤には影響を受けず、cAMPやフォルボールエステルによる活性化と相加的に認められることから、CaMキナーゼII、Cキナーゼとは別の $Ca^{2+}$ 依存性蛋白質キナーゼの関与を推定している<sup>22</sup>。

また、Andrewsらはチロシン水酸化酵素がcAMPや $Ca^{2+}$ に非依存性の蛋白質キナーゼによって $V_{max}$ が約2倍上昇することを報告し<sup>23</sup>、Pigeonらはラットの好クロム性細胞腫(pheochromocytoma)から精製したチロシン水酸化酵素にはcAMPおよび $Ca^{2+}$

に非依存性のプロテインキナーゼが付随しており、チロシン水酸化酵素を燐酸化することを報告した<sup>24)</sup>。

Roskoski らは cGMP 依存性プロテインキナーゼ (Gキナーゼ) によってもチロシン水酸化酵素が燐酸化され活性化されることを報告した<sup>25)</sup>。

McTigue らは PC 12 細胞に EGF を投与したときチロシン水酸化酵素が燐酸化されるが、この燐酸化に関する酵素は A キナーゼや CaM キナーゼ II や C キナーゼではないと述べている<sup>19)</sup>。

#### 4. その他の活性化因子

蛋白質燐酸化のほか、ポリアニオン、燐脂質、高濃度の塩などが酵素を活性化することは前に述べたとおりである<sup>34)</sup>。これらは酵素のアロステリック部位に結合して蛋白質燐酸化と協同的に酵素を活性化すると考えられている<sup>26)</sup>。Nelson らは RNA も低濃度では酵素を活性化すること、高濃度になると逆に拮抗的 (uncompetitive) 阻害作用を示すことを見だし、RNA が酵素との相互作用によって活性を調節している可能性を述べている<sup>27)</sup>。Togari らは蛋白質分解酵素の 1 つであるカルパインがチロシン水酸化酵素を活性化すること、カルパインが副腎髄質の細胞質にチロシン水酸化酵素と共存していることを示し、カルパインによる活性化の可能性も推定している<sup>28)</sup>。

### III. チロシン水酸化酵素の活性調節領域

#### 1. 触媒領域と活性調節領域

チロシン水酸化酵素は分子量約 60 K のサブユニット 4 個から構成されている蛋白質であるが<sup>29)</sup>、酵素をトリプシンやキモトリプシンなどの蛋白質分解酵素で消化すると、分子量 34 K の活性の高いポリペプチドが得られること、この 34 K の酵素が蛋白質燐酸化酵素やポリアニオンによる活性化をもはや受けないこと<sup>30)</sup>などから、酵素は触媒領域と燐酸化部位やポリアニオン結合部位などを含む活性調節領域とからなっており、蛋白質分解酵素によって両者が切断されることが推定されてきた。1985 年、PC 12 細胞の cDNA クローニングが行なわれてラットのチロシン水酸化酵素のアミノ酸配列が明らかにされ<sup>31)</sup>、フェニルアラニン水酸化酵素およびトリプトファン水酸化酵素のアミノ酸配列との比較が行なわれた<sup>22,32)</sup>。これらの 3 つの酵素はともにビオプテリンを補酵素として芳香族アミノ酸の水酸化反応を触媒する一原子酸素添加酵素であるので、酵素の触媒部位は互いに

非常に似ていると推察される。酵素のサブユニットはアミノ酸配列からそれぞれチロシン水酸化酵素が 498 個のアミル酸からなる分子量 55,903 のポリペプチド、フェニルアラニン水酸化酵素が 452 アミノ酸、分子量 51,632、トリプトファン水酸化酵素が 444 アミノ酸、分子量 51,010 と計算されているが、それぞれの C 末端側約 340 個のアミノ酸からなる部分が三者間でホモロジーが高く、触媒に関与している領域であり、それよりホモロジーの低い N 末端側が活性の調節に関与する領域であろうと推定されている。Abate らはトリプシン消化で得られる 34 K チロシン水酸化酵素の活性フラグメントは Ser<sup>158</sup> から Arg<sup>184</sup> に相当することを示した<sup>34)</sup>。同じ領域の活性フラグメントがフェニルアラニン水酸化酵素のキモトリプシン消化によっても得られている<sup>35)</sup>。

#### 2. 燐酸化部位

先に述べたようにチロシン水酸化酵素を燐酸化すると報告されている蛋白質燐酸化酵素には種々のものがあるが、それぞれがチロシン水酸化酵素の活性化にどのように関与しているのかについては、研究者によって異なった結果も得られており、今後解決されねばならない問題である。それぞれの蛋白質燐酸化酵素がチロシン水酸化酵素分子内のどの部位を燐酸化するのか、どの部位が燐酸化されると活性変化を伴うのかなどが明らかにされる必要がある。これまでの *in situ*, *in vitro* の研究においてチロシン水酸化酵素分子内の燐酸化される部位はすべてセリン残基であるという一致した結果が得られている<sup>17,19,36,37)</sup>。酵素のサブユニットには 42 個のセリンが含まれているが、A キナーゼによって、このうちの 1 個が燐酸化され<sup>20)</sup>、CaM キナーゼ II によって別の 1 個または複数個が燐酸化されると報告されている<sup>12,38,39-41)</sup>。A キナーゼによって燐酸化される部位は G キナーゼ<sup>25)</sup> や C キナーゼや CaM キナーゼ II によっても燐酸化されるとの報告がある。C キナーゼによる燐酸化部位は A キナーゼとは別のセリンであるとの報告もあり<sup>19,21)</sup>、それぞれの蛋白質燐酸化酵素の燐酸化部位についての知見はまだ一致していない。

Campbell らは、それぞれのキナーゼで燐酸化される部位のアミノ酸配列を調べ、チロシン水酸化酵素の N 末端側の 4 カ所のセリン残基が燐酸化を受けることを報告した<sup>39)</sup> (図 5)。Ser<sup>8</sup> はラットの好クロム性細胞腫から精製したチロシン水酸化酵素に付随するプロテインキナーゼによって燐酸化される部位、Ser<sup>19</sup> は CaM キナーゼ II によって燐酸化される部位、Ser<sup>40</sup> は A キナーゼによ

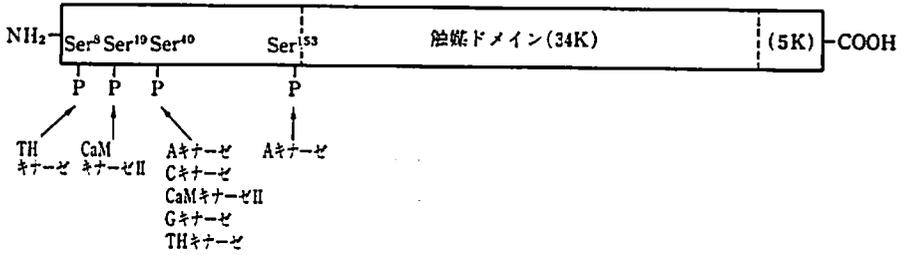


図 5. チロシン水酸化酵素の燐酸化部位<sup>23)</sup>

- Ser<sup>3</sup> : TH キナーゼ (チロシン水酸化酵素付随プロテインキナーゼ) によって燐酸化される。
- Ser<sup>10</sup> : CaM キナーゼ II によって燐酸化される。
- Ser<sup>10</sup> : A キナーゼ, C キナーゼ, CaM キナーゼ II, G キナーゼによって燐酸化される。TH キナーゼによっても燐酸化される<sup>24)</sup>。
- Ser<sup>153</sup> : A キナーゼによって燐酸化される。

って燐酸化される部位であり、Cキナーゼや CaM キナーゼ II によっても 燐酸化され、Ser<sup>153</sup>はチロシン水酸化酵素が蛋白質分解酵素で部分消化されると A キナーゼによって燐酸化される部位であるとしている。Pigeon らはチロシン水酸化酵素付随プロテインキナーゼによって燐酸化されるのは Ser<sup>10</sup> であると報告している<sup>24)</sup>。前述したように筆者らの実験結果では A キナーゼ、CaM キナーゼ II、C キナーゼによる燐酸化はチロシン水酸化酵素の活性にそれぞれ異なった作用を示した。すなわち、A キナーゼでは燐酸化されるとただちに活性化されるのに対し、CaM キナーゼ II では活性化には活性化蛋白質が必要であり、C キナーゼでは活性化蛋白質を添加しても活性化が認められない (図 4)。この結果はこれらのプロテインキナーゼがチロシン水酸化酵素のそれぞれ異なった部位の燐酸化に関与していることを裏づけるものであり、共通の燐酸化部位が存在するとすれば、その部位は活性化には関与していないように思われる。

### 3. 異種間での活性調節部位の保存とヒトのチロシン水酸化酵素の多型

ラットのチロシン水酸化酵素に続いて、ヒト<sup>42)</sup>、ウズラ<sup>43)</sup>、ウシ<sup>44,45)</sup>の酵素のアミノ酸配列が明らかにされて互いに比較され、とくに燐酸化部位の保存の有無が目目された。A キナーゼは Arg-Arg-X-Ser の配列を、CaM キナーゼ II は Arg-X-Y-Ser の配列を好んで燐酸化するが<sup>46,47)</sup>、Ser<sup>10</sup> を含む Arg-Ala-Val-Ser の配列および Ser<sup>10</sup> を含む Arg-Arg-Gln-Ser の配列はこれらのすべての種で保存されており、この部位がチロシン水酸化酵素の活性調節に重要であることが推察される。これに対して Ser<sup>3</sup> はラットとウズラではスレオニンに置換され、保存されていない。また Ser<sup>153</sup> では Arg-Arg-Val-Ser の配列がヒトでは Arg-Gln-Val-Ser に、ウシやウズラで

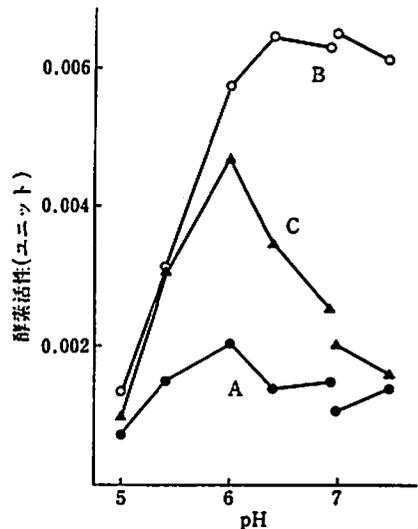


図 6. 蛋白質燐酸化酵素で燐酸化したヒトのチロシン水酸化酵素の活性の pH 依存性 (A) もとの粗酵素 (●), (B) A キナーゼで燐酸化した酵素 (○), (C) 活性化蛋白質を加えて CaM キナーゼ II で燐酸化した酵素 (▲)。

は Arg-Arg-Val-Ala に置換しており、A キナーゼの燐酸化部位は消失している。図 6 はヒトのチロシン水酸化酵素を A キナーゼと CaM キナーゼ II で活性化した場合を示すが、ラットと同じ結果が得られており、ヒトとラットのチロシン水酸化酵素で同じ活性調節機構が働いていることをうかがわせる。ヒトのみならず、Ser<sup>153</sup> を欠損したウシの酵素でも A キナーゼによる活性化が認められるので、A キナーゼによる活性化に関与しているのは Ser<sup>153</sup> ではなく Ser<sup>10</sup> であろうと考えられる。しかし Ser<sup>10</sup> は A キナーゼと異なった活性化様式を示す CaM キナーゼ II や C キナーゼにも共通の燐酸化部位であるともいわれており、この矛盾の解決は今後の研究にまたねばならない。

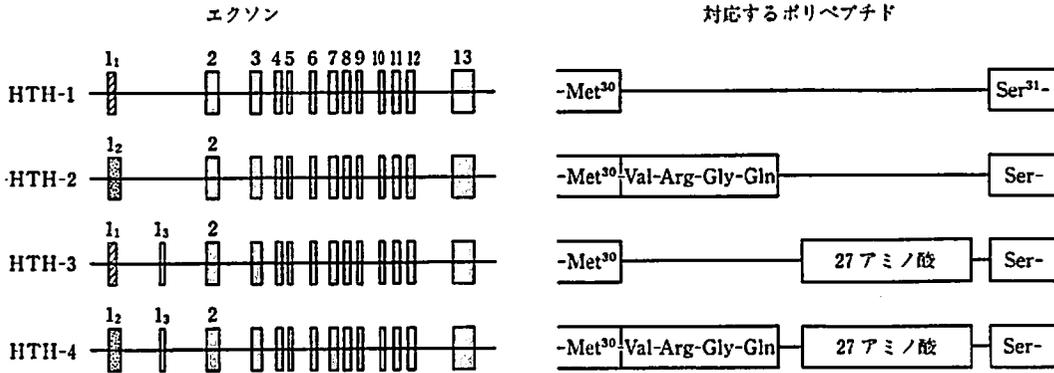


図 7. スプライシングによるヒトのチロシン水酸化酵素の多型<sup>42,50)</sup>

エクソン 1<sub>2</sub> はエクソン 1<sub>1</sub> の下流に 12 スクレオチドが挿入されたもの。エクソン 1<sub>3</sub> は 81 スクレオチドで構成されている。エクソン 2~13 は 4 つのタイプで共通である。

ヒトのチロシン水酸化酵素はスプライシングの違いによる 4 種類の酵素が存在することも明らかにされた<sup>42,48-50)</sup> (図 7)。このうち 3 型, 4 型は mRNA の相対含量も低く, 脳では検出されないと報告されているので<sup>42,51)</sup>, 主要なものは 1 型と 2 型であろうと考えられる。2 型は 1 型にさらに 12 スクレオチド, すなわち 4 アミノ酸が挿入されたものであり, 1 型と 2 型の mRNA の量比は 1 : 2 であると報告されている<sup>42,51)</sup>。2 型では 4 アミノ酸の挿入により新たに Arg-X-Y-Ser の配列が生まれるので, CaM キナーゼ II の磷酸化部位が 1 カ所増している可能性が考えられる (図 7)。

発現実験により得られた 2 型の酵素の比活性は 1 型酵素の約 40% であると報告されており<sup>32,33)</sup>, ヒトのチロシン水酸化酵素ではスプライシングで活性を調節しているとも考えられている。

おわりに チロシン水酸化酵素の活性調節, とくに蛋白質磷酸化酵素の関与についての最近の知見を中心に述べた。この数年間の研究で, 活性調節機構の概略は明らかになり, 近い将来, その全容が解明されよう。遺伝子工学的アプローチが導入され, 研究は蛋白質合成の調節, 転写制御の調節へと広がりつつある。

文 献

- 1) Nagatsu, T., Levitt, M., Udenfriend, S.: *J. Biol. Chem.*, **239**, 2910-2917 (1964)
- 2) Levitt, M., Spector, S., Sjoerdsma, A., Udenfriend, S.: *J. Pharmacol. Exp. Therp.*, **148**, 1-8 (1965)
- 3) 奥野幸子・藤澤 仁: 本誌, **29**, 1286-1294(1984)

- 4) 奥野幸子・藤澤 仁: 本誌, **31**, 1841-1850(1986)
- 5) Okuno, S., Fujisawa, H.: *J. Biochem. (Tokyo)*, **97**, 265-273 (1985)
- 6) Okuno, S., Fujisawa, H.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **124**, 223-228 (1984)
- 7) Okuno, S., Fujisawa, H.: *J. Biol. Chem.*, **260**, 2633-2635 (1985)
- 8) Fujisawa, H., Okuno, S.: *in Amino Acids in Health and Disease: New Perspectives* (ed. Kaufman, S.), pp. 245-266, Alan R. Liss, (1987)
- 9) 奥野幸子・藤澤 仁: *生体の科学*, **38**, 229-234 (1987)
- 10) Yamauchi, T., Fujisawa, H.: *Biochemistry International*, **1**, 98-104 (1980)
- 11) Yamauchi, T., Nakata, H., Fujisawa, H.: *J. Biol. Chem.*, **256**, 5404-5409 (1981)
- 12) Atkinson, J., Richtand, N., Schworer, C., Kuczenski, R., Soderling, T.: *J. Neurochem.*, **49**, 1241-1249 (1987)
- 13) El Mestikawy, S., Glowinski, J., Hamon, M.: *Nature*, **302**, 830-832 (1983)
- 14a) Tobimatsu, T., Kameshita, I., Fujisawa, H.: *J. Biol. Chem.*, **263**, 16082-16086 (1988)
- 14b) Tobimatsu, T., Fujisawa, H.: *J. Biol. Chem.*, **264**, 17907-17912 (1989)
- 15) Fujisawa, H., Yamauchi, T., Okuno, S., Nakata, H.: *in Advances in Cyclic Nucleotide and Protein Phosphorylation Research* (eds. Greengard, P., Robison, G. A., Paoletti, R., Nicosia, S.), **17**, pp. 503-510, Raven Press, New York (1984)
- 16) Yamauchi, T., Fujisawa, H.: *Biochim. Biophys. Acta*, **968**, 77-85 (1988)
- 17) Albert, K. A., Helmer-Matyjek, E., Nairn, A. C., Müller, T. H., Haycock, J. W., Greene, L. A., Goldstein, M., Greengard, P.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **81**, 7713-7717 (1984)
- 18) Iuvone, P. M., Butler, B. K. J.: *Fed. Proc.*, **42**, 379 (1983)

- 19) McTigue, M., Cremins, J., Halegoua, S.: *J. Biol. Chem.*, 260, 9047-9056 (1985)
- 20) Pocotte, S. L., Holz, R. W.: *J. Biol. Chem.*, 261, 1873-1877 (1986)
- 21) Tachikawa, E., Tank, A. W., Weiner, D. H., Mosimann, W. F., Yanagihara, N., Weiner, N.: *J. Neurochem.*, 48, 1366-1376 (1987)
- 22) Yanagihara, N., Uezono, Y., Koda, Y., Wada, A., Izumi, F.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 146, 530-536 (1987)
- 23) Andrews, D. W., Langan, T. A., Weiner, N.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 80, 2097-2101 (1983)
- 24) Pigeon, D., Ferrara, P., Gros, F., Thibault, J.: *J. Biol. Chem.*, 262, 6155-6158 (1987)
- 25) Roskoski, R., Jr., Vulliet, P. R., Glass, D. B.: *J. Neurochem.*, 48, 840-845 (1987)
- 26) Richtand, N. M., Inagami, T., Misono, K., Kuczenski, R.: *J. Biol. Chem.*, 260, 8465-8473 (1985)
- 27) Nelson, T. J., Kaufman, S.: *Arch. Biochem. Biophys.*, 257, 69-84 (1987)
- 28) Togari, A., Ichikawa, S., Nagatsu, T.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 134, 749-754 (1986)
- 29) Okuno, S., Fujisawa, H.: *Eur. J. Biochem.*, 122, 49-55 (1982)
- 30) Hoeldtke, R., Kaufman, S.: *J. Biol. Chem.*, 252, 3160-3169 (1977)
- 31) Grima, B., Lamouroux, A., Blanot, F., Biguet, N. F., Mallet, J.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82, 617-621 (1985)
- 32) Ledley, F. D., DiLella, A. G., Kwok, S. C. M., Woo, S. L. C.: *Biochemistry*, 24, 3389-3394 (1985)
- 33) Darmon, M. C., Guibert, B., Leviel, V., Ehret, M., Maitre, M., Mallet, J.: *J. Neurochem.*, 51, 312-316 (1988)
- 34) Abate, C., Smith, J. A., Joh, T. H.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 151, 1446-1453 (1988)
- 35) Iwaki, M., Phillips, R. S., Kaufman, S.: *J. Biol. Chem.*, 261, 2051-2056 (1986)
- 36) Vulliet, P. R., Woodgett, J. R., Ferrari, S., Grahame Hardie, D.: *FEBS Lett.*, 182, 335-339 (1985)
- 37) Waymire, J. C., Johnston, J. P., Hummer-Lickteig, K., Lloyd, A., Vigny, A., Craviso, G. L.: *J. Biol. Chem.*, 263, 12439-12447 (1988)
- 38) Haycock, J. W., Bennett, W. F., George, R. J., Waymire, J. C.: *J. Biol. Chem.*, 257, 13699-13703 (1982)
- 39) Campbell, D. G., Grahame Hardie, D., Vulliet, P. R.: *J. Biol. Chem.*, 261, 10489-10492 (1986)
- 40) Griffith, L. C., Schulman, H.: *J. Biol. Chem.*, 263, 9542-9549 (1988)
- 41) Tachikawa, E., Tank, A. W., Yanagihara, N., Mosimann, W., Weiner, N.: *Mol. Pharmacol.*, 30, 476-485 (1986)
- 42) Grima, B., Lamouroux, A., Boni, C., Julien, J.-F., Javoy-Agid, F., Mallet, J.: *Nature*, 326, 707-711 (1987)
- 43) Fauquet, M., Grima, B., Lamouroux, A., Mallet, J.: *J. Neurochem.*, 50, 142-148 (1988)
- 44) D'Mello, S. R., Weisberg, E. P., Stachowiak, M. K., Turzai, L. M., Gioio, A. E., Kaplan, B. B.: *J. Neurosci. Res.*, 19, 440-449 (1988)
- 45) Saadat, S., Stehle, A. D., Lamouroux, A., Mallet, J., Thoenen, H.: *J. Neurochem.*, 51, 572-578 (1988)
- 46) Cohen, P.: *Eur. J. Biochem.*, 151, 439-448 (1985)
- 47) Pearson, R. B., Woodgett, J. R., Cohen, P., Kemp, B. E.: *J. Biol. Chem.*, 260, 14471-14476 (1985)
- 48) O'Malley, K. L., Anhalt, M. J., Martin, B. M., Kelsoe, J. R., Winfield, S. L., Ginns, E. I.: *Biochemistry*, 26, 6910-6914 (1987)
- 49) Kaneda, N., Kobayashi, K., Ichinose, H., Kishi, F., Nakazawa, A., Kurosawa, Y., Fujita, K., Nagatsu, T.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 146, 971-975 (1987)
- 50) Kobayashi, K., Kaneda, N., Ichinose, H., Kishi, F., Nakazawa, A., Kurosawa, Y., Fujita, K., Nagatsu, T.: *J. Biochem.*, 103, 907-912 (1988)
- 51) Le Bourdellès, B., Boularand, S., Boni, C., Horellou, P., Dumas, S., Grima, B., Mallet, J.: *J. Neurochem.*, 50, 988-991 (1988)
- 52) Horellou, P., Le Baudellès, B., Clot-Humbert, J., Guibert, B., Leviel, V., Mallet, J.: *J. Neurochem.*, 51, 652-655 (1988)
- 53) Kobayashi, K., Kiuchi, K., Ishii, A., Kaneda, N., Kurosawa, Y., Fujita, K., Nagatsu, T.: *FEBS Lett.*, 238, 431-434 (1988)