

アルド-ケト還元酵素ファミリーに属する ヒドロキシステロイド脱水素酵素 (HSD) の構造と機能

宇佐見則行

薬物・異物カルボニル化合物を還元する多くの NADPH-依存性還元酵素は、アルド-ケト還元酵素と総称され、阻害剤感受性といくつかの基質に対する反応性の違いから、主にアルデヒド類を還元するアルデヒド還元酵素 (ALR)、アルデヒドと共にアルドース類も還元するアルドース還元酵素 (AR)、アルデヒドとケトンも還元するカルボニル還元酵素 (CR) の 3 つに分類されてきた。¹⁾ 最近、一次構造が解析された結果、酵素は、aldo-keto reductase (AKR) と short-chain alcohol dehydrogenase (SDR) の 2 つのスーパーファミリーのいずれかに分類されている。AKR スーパーファミリー²⁾ には、ALR, AR, 20 α -ヒドロキシステロイド脱水素酵素 (20 α -HSD) に加え、従来 CR とされていたラット肝 3 α -HSD やマウス肝 17 β -HSD も含まれる。ヒト組織やラット精巢の単量体 CR やマウス肝ミクロソームの 11 β -HSD は SDR スーパーファミリーに属する。前者に属するタンパク質はホモロジーが高く、ALR, AR およびラット肝の 3 α -HSD の立体構造は酷似しており、後者に属するタンパク質間の相同性は低いことが明らかにされている。³⁾

HSD の分類

ヒト組織の細胞質には、4 種の NADP(H) 依存性 3 α -HSD アイソザイムが存在し、いずれも 36 kDa の単量体である。また、これらアイソザイムは 323 アミノ酸残基で構成され、互いに 83% 以上の高い相同性を示し、AKR ファミリーに属していることから、それぞれ AKR1C1,

AKR1C2, AKR1C3 および AKR1C4 と命名されている。⁴⁾ 表 1 にはこれらアイソザイムと慣用名の関係を示したが、これらアイソザイムは基質特異性や阻害剤感受性などでそれぞれ異なった性状を示す。⁵⁾ また、3 α -HSD と 20 α -HSD の構造や病態との関連は主として実験動物で研究されているが、ヒトと実験動物の間では両酵素の性質や構造も異なるため、治療薬の開発を目的とする場合には、ヒトの酵素に関する十分な基礎的研究が重要である。しかし、両酵素およびアイソザイムの神経ステロイド代謝における役割、構造、組織分布、遺伝的多型性については不明な点が多い。

HSD の構造

最近、AKR1C2-NADP⁺-基質 3 者複合体の結晶化構造解析の研究が報告されているが、⁹⁾ 変異酵素を用いた AKR ファミリーの研究はこれまでに多数行われており、触媒残基、基質結合や補酵素結合にかかわるアミノ酸残基が同定されている。AKR1C1 の 54 番目の Leu は触媒残基の隣に位置するアミノ酸であり、AKR1C2 の 54 番目のアミノ酸残基に相当する Val への置換は、基質特異性や阻害感受性に影響を及ぼすことが報告されている。¹⁰⁾ また、C 末端部位は AKR1C1 と AKR1C4 ではアミノ酸の相同性が低く、これらアイソザイムの性状に関わる部位であることも報告されている。¹¹⁾ 一方、Penning¹²⁾ はラット肝臓の 3 α -HSD の基質特異性に関して、基質結合ポケットに位置づけられる 86 番目の Trp を Tyr で置換す

表1. ヒトAKR1Cアイソフォームとこれらの慣用名との関係

AKR1C アイソフォーム	慣用名	種
AKR1C1 ⁶⁾	DD1 (EC 1.3.1.20), 20 α -HSD (EC 1.1.1.149), 3(20) α -HSD	<i>Homo sapiens</i> : liver
AKR1C2 ⁶⁾	DD2 (EC 1.3.1.20), 3 α -HSD type 3 (EC 1.1.1.213), bile acid binding protein	<i>Homo sapiens</i> : liver
AKR1C3 ⁷⁾	DDX (EC 1.3.1.20), 3 α -HSD type 2 (EC 1.1.1.213), 17 β -HSD type 5 (EC 1.1.1.62), PGFS (EC 1.1.1.118)	<i>Homo sapiens</i> : liver
AKR1C4 ⁸⁾	DD4 (EC 1.3.1.20), 3 α -HSD type 1 (EC 1.1.1.213), chlordecone reductase (EC 1.1.1.125)	<i>Homo sapiens</i> : liver

PGFS, prostaglandin F synthase; DD, dihydrodiol dehydrogenase.

著者紹介 九州保健福祉大学薬学部衛生薬学講座 (講師) 〒882-8508 宮崎県延岡市吉野町 1714-1
TEL. 0982-23-5704 FAX. 0982-23-5705 E-mail: usami@phoenix.ac.jp

る (W86Y) と 4-nitrobenzaldehyde に対する触媒効率 (k_{cat}/K_m) はほとんどゼロに近い値を示すが, 5 α -androsterone-3,17-dione や androsterone などのステロイド類に対する触媒効率は野生型と比較してその 15–25% が保持されるという注目すべき報告をしている. ところが, 本酵素の基質結合ポケットに位置づけられる 227 番目の Trp を Tyr で置換する (W227Y) と 4-nitrobenzaldehyde に対する触媒効率は野生型と比較してその 50% 以上が保持されるが, ステロイド類に対する触媒効率は 5% 以下の低い値を示すことから, 4-nitrobenzaldehyde とステロイド類は 3 α -HSD の同一の基質結合部位に結合するものの, 結合様式は互いに異なっていると結論づけている.¹²⁾

HSD の機能

① AKR1C1 は 3 α -HSD 活性に加えて強い 20 α -HSD 活性を示し, その活性は 1,10-phenanthroline や medazepam により阻害される.¹³⁾

② AKR1C2 は AKR1C1 と 7 アミノ酸残基の配列の違いしかないものの 20 α -HSD 活性は示さず, 限られた 3 α -ヒドロキシおよび 3- ケトステロイド類の酸化還元を触媒し, 本アイソザイムの活性が胆汁酸により強く阻害されることから, ヒト肝では主要な胆汁酸結合タンパクとしての機能を有していると考えられる.¹⁴⁾

③ AKR1C3 は多くの組織でマイナーなアイソザイムであり, 3 α -HSD 活性は非常に弱く, むしろ 17 位に水酸基を有するアンドロゲン類やプロスタグランジン類を良い基質とすることから, 本アイソザイムは 17 β -HSD type 5 および PGFS と同一酵素として考えられ, その活性は indomethacin などの抗炎症薬により阻害される.

④ AKR1C4 は胆汁酸を含めた 3 α -ヒドロキシおよび 3-ケトステロイド類を効率よく酸化還元するように広い基質特異性を示す.¹⁵⁾ AKR1C1, AKR1C2 および AKR1C3 は多くの組織で発現しているのに対して, AKR1C4 は肝特異的なアイソザイムであることから肝においてステロイドを代謝し, 活性なステロイドホルモンの血中濃度を調節していると考えられる.¹⁶⁾ また, その活性は bethamethasone などのステロイド性抗炎症薬や phenolphthalein により阻害され, 肝機能診断薬 sulfobromophthalein により活性化される. さらに, このアイソザイムは殺虫剤の chlordecone を還元する chlordecone 還元酵素と同一酵素でもある. これら 4 種のアイソザイムは DD 活性を有しており, benzo[a]pyrene や benz[a]anthracene などの多環状芳香族炭化水素の発癌性を減弱するとともに, 芳香族炭化水素の毒性化にも関与す

る.¹⁷⁾ 特に AKR1C1, AKR1C2 および AKR1C4 は薬物ケトンを還元するため, 薬物カルボニル化合物還元酵素としても機能する.¹⁸⁾

おわりに

近年, 脳も独自にコレステロールを素材にしてステロイドを合成していることがわかってきた. 脳が末梢ステロイドの標的器官であると同時にステロイド合成器官でもあるという事実は, これまでの常識を覆すものである. 脳等の神経系がコレステロールを素材にして合成するステロイド類は, 神経系自体に作用することから従来の末梢内分泌腺が合成するステロイドと区別して「ニューロステロイド (神経ステロイド)」と総称されている. これまでに脳がつくるニューロステロイドは数種同定されており, その中には性ステロイドも含まれ今後も新しいニューロステロイドが見いだされる可能性がある. 性ステロイドは生殖腺が分泌するホルモンであり, 本能行動として知られる攻撃, 求愛, 交尾, 子育てなどの一連の生殖行動を誘起する. また, 生殖行動の中核である大脳辺縁系や間脳の視索前野・視床下部には性ステロイドの受容体が密接に分布し, 性ステロイドはこれらの脳部位のニューロンに存在するステロイド受容体を介して生殖行動の発現を促している. さらに, 性ステロイドは個体発生過程においても脳で重要な働きをなし, 行動発現系の構築の方向付けをしている.

従来のステロイドは細胞内核受容体と結合して働くが, ニューロステロイドは細胞膜にある GABA_A 受容体に作用して Cl⁻ の流入を変化させたり, NMDA 受容体に作用して Ca²⁺ の流入を変化させるなどが報告されている.¹⁹⁾ したがって, 性ステロイドを含むニューロステロイドは, 重要な脳機能 (本能行動の調節や学習・記憶など) にかかわっていることが次第に明らかになってきた. 哺乳類の脳にはニューロステロイド合成酵素 (P450_{scc}, ステロイド硫酸基転移酵素, 3 β -HSD/ Δ^5 - Δ^4 -異性化酵素など) が発現しており, 数種のニューロステロイドが合成される. 哺乳類のラットを用いた分子生物学的解析の結果, P450_{scc} 遺伝子は大脳, 間脳, 小脳にかけて発現し, 3 β -HSD の遺伝子発現は小脳と大脳において特に高く, P450_{scc} 遺伝子は新生期, 思春期, 成熟期にかけて常に発現しているのに対して, 3 β -HSD 遺伝子は新生期の時期に限り発現していることが見いだされている.²⁰⁾ これらの事実から, 新生期において活発に合成されるプロゲステロンは, ニューロンの発達やシナプス形成などを促し小脳の神経回路構築に関与している可能性がある.

しかしながら、その生理的意義およびニューロステロイド合成に関与する還元酵素の役割は不明な点が多いことから、ニューロステロイドの機能の解明にはニューロステロイドの生理的変動を知ることが生理学的・医学的に重要であると考えられる。また最近では、ニューロステロイドはGABA介在Cl⁻チャンネルのアロステリック部位に結合し、GABA受容体機能を調節していることが報告されている。GABA受容体機能の抑制は不安、興奮、発作などを誘導し、促進は不安解消、鎮痛、睡眠などももたらすと考えられていることから、ニューロステロイド合成に関与する還元酵素阻害剤は医薬品として有用であることが示唆される。

今回HSDに関して記載させて頂いた研究成果は、著者が岐阜薬科大学生化学教室 原 明 教授の御指導の下で一部行ったものであり、ここに厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Wermuth, B.: *Enzymology of Carbonyl Metabolism 2*, (Liss, A. L.), p. 209, New York (1985).
- 2) Bruce, N. C., Willey, D. L., Coulson, A. F., and Jeffery, J.: *Biochem. J.*, **299**, 805 (1994).
- 3) Hoog, S. S., Pawlowski, J. E., Alzari, P. M., Penning, T. M., and Lewis, M.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**, 2517 (1994).
- 4) Jez, J. M. and Penning, T. M.: *Chem-Biol. Interact.*, **130-132**, 499 (2001).
- 5) Penning, T. M., Burczynski, M. E., Jez, J. M., Hung, C. F., Lin, H. K., Ma, H., Moore, M., Palackal, N., and Ratnam K.: *Biochem. J.*, **351**, 67 (2000).
- 6) Hara, A., Matsuura, K., Tamada, Y., Sato, K., Miyabe, Y., Deyashiki, Y., and Ishida, N.: *Biochem. J.*, **313**, 373 (1996).
- 7) Khanna, M., Qin, K. N., Wang, R. W., and Cheng, K. C.: *J. Biol. Chem.*, **270**, 20162 (1995).
- 8) Winters, C. J., Molowa, D. T., and Guzelian, P. S.: *Biochemistry*, **29**, 1080 (1990).
- 9) Jin, Y., Stayrook, S. E., Albert, R. H., Palackal, N. T., Penning, T. M., and Lewis, M.: *Biochemistry*, **40**, 10161 (2001).
- 10) Matsuura, K., Deyashiki, Y., Sato, K., Ishida, N., Miwa, G., and Hara, A.: *Biochem. J.*, **323**, 61 (1997).
- 11) Matsuura, K., Hara, A., Deyashiki, Y., Iwasa, H., Kume, T., Ishikura, S., Shiraishi, H., Katagiri, Y.: *Biochim. J.*, **336**, 429 (1998).
- 12) Penning, T. M.: *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **69**, 211 (1999).
- 13) Usami, N., Yamamoto, T., Shintani, S., Ishikura, S., Higaki, Y., Katagiri, Y., and Hara, A.: *Biol. Pharm. Bull.*, **25**, 441 (2002).
- 14) Hara, A., Matsuura, K., Tamada, Y., Sato, K., Miyabe, Y., Deyashiki, Y., and Ishida, N.: *Biochem. J.*, **313**, 373 (1996).
- 15) Deyashiki, Y., Tamada, Y., Miyabe, Y., Nakanishi, M., Matsuura, K., and Hara, A.: *J. Biochem.*, **118**, 285 (1995).
- 16) Shiraishi, H., Matsuura, K., Kume, T., Hara, A.: *Enzymology and Molecular Biology of Carbonyl Metabolism 7*, (Weiner, H.), p. 539, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York (1999).
- 17) Penning, T. M., Ohnishi, S. T., Ohnishi, T., and Harvey, R. G.: *Chem. Res. Toxicol.*, **9**, 84 (1996).
- 18) Ohara, H., Miyabe, Y., Deyashiki, Y., Matsuura, K., and Hara, A.: *Biochem. Pharmacol.*, **50**, 221 (1995).
- 19) Kokate, T. G., Juhng, K. N., Kirkby, R. D., Llamas, J., Yamaguchi, S., and Rogawski, M. A.: *Brain Res.*, **831**, 119 (1999).
- 20) Ukena, K., Kohchi, C., and Tsutsui, K.: *Endocrinology*, **140**, 805 (1999).