

似て非なる酵素：アルド-ケト還元酵素と カルボニル還元酵素

寺田 知行

アルド-ケト還元酵素と短鎖脱水素酵素/還元酵素¹⁾は、本トピックスの著者らが前述するように、NAD(P)H 依存的にアルデヒド、ケトンあるいはキノンなどの低分子のカルボニル化合物を酸化還元する一群の酵素である(西中, 石倉, 宇佐見前述)。未だ構造が解明されなかった時代、両酵素は、分子量が約3万前後であること、基質や補酵素がオーバーラップすることなどから同じ酵素群に分類されていた(田中前述)。唯一の分類法は阻害剤特異性であったが、残念ながら多くの酵素で共通性が認められたことも両者の分類を、さらに混とんとさせてきた。

さて、構造上特長的なことは、アルド-ケト還元酵素は、全体構造としては、トリオースイソメラーゼと類似した特長的なバレル構造(樽状構造)を有し、N-末端側に、活性発現に関わる Asp-Tyr-Lys-His のアミノ酸の Tetrad を有し、Asp, Lys, His が、活性中心である Tyr 残基を general acid として、解離を保持する役割を担っている。一方、短鎖脱水素酵素/還元酵素は、N-末端側に補酵素であるピリジヌクレオチド結合領域(ロスマンホールド)とともに、C-末端側に Ser-Tyr-xx-(Thr/Ser)-Lys のアミノ酸の Triad 活性構造を有し、同じく Tyr は general acid として活性中心として機能する。

さらに、基質特異性においても、環境汚染物質や薬物などの生体外異物由来のみならず、生体内の物質の酸化還元に関与することは両酵素の共通性でもある。たとえば、酸素による生体膜への傷害例があげられる。酸化的ストレスの結果、生体膜が傷害されると脂質過酸化が惹起され、最終生成物である 4-hydroxynonenal や malondialdehyde を始めとする種々の carbonyl 体が多く産生され、タンパク質のカルボニル化や DNA への共有結合などの生体高分子への傷害、あるいは活性酸素分子種の産生、あるいは活性酸素分子カスケードを介してのラジカルの産生などによるタンパク質の酸化や DNA 鎖の切断など、重篤な細胞傷害を惹起する。生体にはグルタチオン(GSH)、アスコルビン酸あるいはビタミンEを始めとする多くの低分子性の還元剤が存在し、効率よく生体を防御している。さらに、多くの生物にはグルタチオントランスフェラーゼ、キノン還元酵素あるいはグルタチ

オンペルオキシダーゼなど多くの抗酸化酵素も同時に発現しており、強力な防御機構として機能している。すなわち、これら酵素は、過酸化物質あるいはラジカルなどの活性酸素分子種を産生する前駆体である prooxidants の産生抑制や分解を通じて酸化的ストレス防御に機能している。アルド-ケト還元酵素や短鎖脱水素酵素/還元酵素も同様に酸化的ストレスの原因の一つであるアルデヒド、ケトンあるいはキノンに代表されるカルボニル化合物をより安定なアルコールに還元代謝することにより prooxidants の除去することが最も重要な生理機能である。加うるに、アルド-ケト還元酵素の一つであるヒトジヒドロジオール脱水素酵素は、卵巣癌において、抗ガン剤のシスプラチンの酸化的ストレスに応答して発現が高まり、結果として抗癌剤への抵抗性が増す。²⁾ 一方、アルデヒド還元酵素は、糖尿病における脂質過酸化の進行とともに発現が上昇し、先に示した脂質過酸化最終産物であるアルデヒドを還元代謝する可能性も示された。³⁾ これらの発現制御機構には、先に西中らの報告した Epidermal growth factor, extracellular signal-regulated protein kinase⁴⁾ を始め、Vascular endothelial growth factor⁵⁾ などが関わる可能性も示唆されている。さらに、ショウジョウバエの carbonyl reductase は、中枢における酸化的ストレス防御タンパク質として中枢神経の細胞死を防御していることも示唆されており、⁶⁾ 酸化的ストレス防御という点からも重要な酵素である。

さて、酸化的ストレスにより傷害を受けた細胞膜からは、phospholipase A₂ などによりアラキドン酸などが切り出され、prostaglandin (PG) などの産生へとつながる。これらの生体内物質はきわめて強い生理活性を持っており、酸化的ストレスによるこれらの生体内物質の産生は、老化や発ガンなどの生体に対する傷害だけでなく、細胞増殖や炎症など多くの生理作用に関与することが明らかにされている。この代謝には、多くの酵素が関与しているが、prostaglandin 9-ketoreductase あるいは 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase などアルド-ケト還元酵素や短鎖脱水素酵素/還元酵素に属する酵素は、主に生理活性の消失に関与し、生理機能の制御に関わっていると考えられている。きわめて興味深いことは、非ス

著者紹介 大谷女子大学教育福祉学部(教授) 〒584-8540 富田林市錦織北3-11-1
TEL. 0721-24-0781 FAX. 0721-24-4863 E-mail: teradat@ohtani-w.ac.jp

テロイド系の抗炎症剤 (NSAID), たとえば, インドメタシンやフェンブフェンなどは, プロスタグランジン合成酵素 (cyclooxygenase) などのPG合成系の酵素と同様に, 両酵素群の酵素は強い阻害を受ける. 合成と代謝に関わる両酵素が, NSAIDにより阻害を受けることは, プロスタグランジンを介した起炎のみならず消炎の制御にも関与することが興味深い.

さらに我々は, 両酵素群の酵素がともに酸化ストレスに対して強い感受性を示すことを活性変動, 化学修飾試薬や放射性同位体を用いた実験により明らかにした. たとえば, グルタチオンの酸化型 (GSSG) と還元型 (GSH) の異なる比率下 (酸化還元緩衝液中) での, 酵素活性の変動を調べたところ, アルド-ケト還元酵素であるウシジヒドロジオール脱水素酵素とラット 3 α -ヒドロキシステロイド酸化酵素は, 酸化型の比率の上昇に伴い酵素活性は低下し, 還元型の比率が高いほど活性は上昇した.⁷⁾ これは, アミノ酸残基変異実験の結果, 酵素分子内のシステイン残基 (Cys-143) と GSSG の disulfide 間に S-S-bridge が形成されて, 補酵素の結合を妨げた結果であることを明らかにした.⁸⁾ 一方, 短鎖脱水素酵素/還元酵素についても類似した結果を得た. すなわち, 大腸菌に発現させた Chinese hamster の 3 種の組換え酵素 (CHCR1, CHCR2 and CHCR3) あるいはヒトの脳の組換え酵素は, SH還元剤の共存により強い安定性を示し, 酵素活性に低下は認められなかった.⁹⁾ これらの共通性がどのような生理機能に結びつくのかは未だ明らかにされていないが, 酸化ストレスに感受性を示すことが共通した性質であった.

現在, 短鎖脱水素酵素/還元酵素は, 約 3000 の一次構造および約 30 の立体構造が同定されている,¹⁰⁾ なかでも最近になり WWOX-domain を有する短鎖脱水素酵素/還元酵素が, 腫瘍抑制, Alzheimer's 病あるいは乳癌や前立腺癌前駆細胞においてステロイドホルモンにより発現のみならず tau タンパク質のリン酸化などの活性の上昇が認められる¹¹⁻¹³⁾ など多くの報告がなされはじめている. また, この遺伝子は, p73 や c-Jun N-terminal kinase (JNK) と複合体を形成して機能を発現することが推定されている.¹⁴⁾ 一方, ヒトの carbonyl reductase は, 卵巣癌の抗ガン剤抵抗性や転移¹⁵⁾ にも関わっており, 多くの機能が示されている. 加うるに, negative transcriptional regulator も, 短鎖脱水素酵素/還元酵素の一つで, GATA transcription-activating protein (AreA) の N-末端に結合して, AreA の機能を阻害することにより, カビの中でアンモニアの代謝の抑制に関与することも推定され

ている. 一方, アルド-ケト還元酵素ファミリーの voltage-sensitive potassium channel β -subunit protein は, protein kinase C zeta と常と同調して NADPH の結合するであろう N-末端がリン酸化される. このタンパク質の機能面については未だ明らかになっていないのであるが, イオン強度に応答したヌクレオチド結合に基づくイオンチャンネルの機能制御に関わっているのではないかとと思われる.¹⁶⁾ さらに, TNF- α による apoptosis において caspase-3, JNK, p38 mitogen activated protein kinase などの AP-1 による活性化を妨げることも示唆されており, 両者とも幅広い機能が推測された. また, ヒトの胎児には, 成人の脳ではほとんど発現の認められない carbonyl reductase の発現が認められており (未発表), ハムスターの受精時の精子と卵子の結合に分子量約 34 kDa の酵素が必須であること,¹⁷⁾ あるいは性周期にラットの卵巣の酵素の発現が関与すること¹⁸⁾ などを考え合わせると, 性を決定することが示唆されている胎児期のホルモンシャワーとの関連も推測される.

本論を総括すると, アルド-ケト還元酵素と短鎖脱水素酵素/還元酵素は, 構造的にはまったく異なる酵素であるが, カルボニル化合物を介した生体防御に機能面においては類似点も多く, 類似した酵素とも言えるであろう. 基質として, anthracycline, oracin や benfluoron などの抗腫瘍剤, haloperidol, bromoperidol, alprenolol, naloxone, natorexone や timiperone などの中枢経薬物, acetohexamide, befunolol, ethacrynic acid, ketoprofen, loxoprofen や metyrapone, naftazone などの薬物, 4-hydroxynonenal, prostaglandin, steroid, retinoid や脳内でパーキンソン病に関わる monoamine oxidase の生体内阻害剤である isatin (石倉前述) あるいは芳香族炭化水素などの環境汚染物質などが示されていることから, 両者ともに非常に多くの化学物質の代謝に関与することが推定されている. しかし, 両者の構造の違いは, 酵素活性に直結していない可能性のある生理機能面に, 決定的な違いが見いだされつつあり, 今後の展開が興味深い.

近い将来, 両者のあるいは生理機能面での異同が明らかになれば, 表 1A および B に示したように, なぜこれほどまで似通ったタンパク質がヒトだけでなく多くの生物に準備されていないかということが明らかになり, 多くの疾病, 特に老化あるいは発ガンなど酸化ストレスと関連する疾病の原因究明あるいは治療方法の開発などに重要な役割を果たすのではないかと考え, 成果に期待している.

表 1-A. ヒト染色体上に見いだされているアルド-ケト還元酵素遺伝子のリスト

Gene	Location	Name
KCNAB2	1p36.3	potassium voltage-gated channel, shaker-related subfamily, beta member 2
AKR7A2	1p35.1-p36.23	aldo-keto reductase family 7, member A2 (aflatoxin aldehyde reductase).
AKR1A1	1p33-p32	aldo-keto reductase family 1, member A1 (aldehyde reductase).
KCNAB1	3q26.1	potassium voltage-gated channel, shaker-related subfamily, beta member 1.
AKR1B1	7q35	aldo-keto reductase family 1, member B1 (aldose reductase).
AKR1B10	7q33	aldo-keto reductase family 1, member B10 (aldose reductase).
AKR1D1	7q32-q33	aldo-keto reductase family 1, member D1 (delta 4-3-ketosteroid-5-beta-reductase).
LoopADR		aldo-keto reductase loopADR family member.
AKR1C1.1	10p15.2	aldo-keto reductase family 1, member C1 (dihydrodiol dehydrogenase 1; 20-alpha (3-alpha)-hydroxysteroid dehydrogenase).
aldo_ket_red.1		aldo-keto reductase family 1 member C2.
AKR1C1		aldo-keto reductase family 1, member C1 (dihydrodiol dehydrogenase 1; 20-alpha (3-alpha)-hydroxysteroid dehydrogenase).
AKR1C1.2		aldo-keto reductase family 1, member C1 (dihydrodiol dehydrogenase 1; 20-alpha (3-alpha)-hydroxysteroid dehydrogenase).
AKR1C2.1		aldo-keto reductase family 1, member C1 (dihydrodiol dehydrogenase 1; 20-alpha (3-alpha)-hydroxysteroid dehydrogenase).
AKR1C2	10p15-p14	aldo-keto reductase family 1, member C1 (dihydrodiol dehydrogenase 1; 20-alpha (3-alpha)-hydroxysteroid dehydrogenase).
AKR1C3		aldo-keto reductase family 1, member C3 (3-alpha hydroxysteroid dehydrogenase, type II).
AKR1C4	10p15-p14	aldo-keto reductase family 1, member C4 (chlordecone reductase; 3-alpha hydroxysteroid dehydrogenase, type I; dihydrodiol dehydrogenase 4).
DHDH	19q13.3	dihydrodiol dehydrogenase (dimeric).
ALDRL6	22q13.3	aldehyde reductase (aldose reductase) like 6.

表 1-B. ヒト染色体上に見いだされている短鎖脱水素酵素/還元酵素遺伝子のリスト

Gene	Location	Name
SDR1	1p36.1	short-chain dehydrogenase/reductase 1.
HSD17B7	1q23	hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 7.
HSD11B1	1q32-q41	hydroxysteroid (11-beta) dehydrogenase 1.
NT5C1B	2p24.3	5'-nucleotidase, cytosolic 1B.
SPR	2p14-p12	sepiapterin reductase (7,8-dihydrobiopterin:NADP+ oxidoreductase).
rodor		short-chain dehydrogenase reductase 1.
RDHL	2q31.1	NADP-dependent retinol dehydrogenase/reductase.
PECR	2q35	peroxisomal <i>trans</i> 2-enoyl CoA reductase.
BDH	3q29	3-hydroxybutyrate dehydrogenase (heart, mitochondrial).
RetSDR2	4q22.1	retinal short-chain dehydrogenase/reductase 2.
DHRS6	4q24	dehydrogenase/reductase (SDR family) member 6.
HADHSC	4q22-q26	L-3-hydroxyacyl-Coenzyme A dehydrogenase, short chain.
adh_short.5	4q32.3	hypothetical protein FLJ14431.
HPGD	4q34-q35	hydroxyprostaglandin dehydrogenase 15-(NAD).
HSD17B4	5q21	hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 4.
HKE4	6p21.3	hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 8.
adh_short.8		oxidoreductase ucpA family member.
RDH-E2	8q12.1	retinal short chain dehydrogenase reductase.
RDH10	8q13.3	retinol dehydrogenase 10 (all- <i>trans</i>).
DECRI	8q21.3	2,4-dienoyl CoA reductase 1, mitochondrial.
HSD17B3	9q22	hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 3.
adh_short.10	9q33.1	hypothetical protein MGC10940.
adh_short.12	10p11.21	hypothetical protein LOC158160.
IPO7	14q24.1	importin 7.
HTATIP2	11p15.1	HIV-1 Tat interactive protein 2, 30kDa.

HSD17B12	11	hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 12.
ACAD8	11q25	acyl-Coenzyme A dehydrogenase family, member 8.
GCN5L1	12q13-q14	GCN5 general control of amino-acid synthesis 5-like 1 (yeast).
RODH	12q13	3-hydroxysteroid epimerase.
SDR-O	12q13.13	orphan short-chain dehydrogenase / reductase.
RODH-4	12q13.13-q13.2	microsomal NAD ⁺ -dependent retinol dehydrogenase 4.
ACADS	12q22-qter	acyl-Coenzyme A dehydrogenase, C-2 to C-3 short chain.
adh_short.15	13q14.2	hypothetical protein FLJ13639.
DHRS2	14q11.2	dehydrogenase/reductase (SDR family) member 2.
DHRS4	14	dehydrogenase/reductase (SDR family) member 4.
DHRS1	14q11.2	dehydrogenase/reductase (SDR family) member 1.
retSDR4	14q23.1	retinal short-chain dehydrogenase/reductase 4.
COX7A3P	14q24.1	DKFZP564M1462 protein.
RDH12	14q24.1	retinol dehydrogenase 12 (all- <i>trans</i> and 9- <i>cis</i>).
ETFA	15q23-q25	electron-transfer-flavoprotein, alpha polypeptide (glutaric aciduria II).
DECR2	16p13.3	2,4-dienoyl CoA reductase 2, peroxisomal.
HSD11B2	16q22	hydroxysteroid (11-beta) dehydrogenase 2.
WWOX	16q23.3-q24.1	WW domain containing oxidoreductase.
WWOX.1		WW domain containing oxidoreductase.
HSD17B2	16q24.1-q24.2	hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 2.
adh_short.21	16q24.1	steroid dehydrogenase-like.
adh_short.0		i-86 protein family member.
adh_short.23	17p12	DKFZP566O084 protein.
FLOT2	17q11.2	flotillin 2.
adh_short.22	17q21.1	hypothetical protein MGC4172.
HSD17B1	17q11-q21	hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 1.
HSD17BP1	17q11-q21	hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase pseudogene 1.
DCXR	17q25.3	dicarbonyl/L-xylulose reductase.
FVT1	18q21.3	follicular lymphoma variant translocation 1.
RPL36	19p13.3	ribosomal protein L36.
RDH8	19p13.2-p13.3	retinol dehydrogenase 8 (all- <i>trans</i>).
retSDR3	19q13.33	retinal short-chain dehydrogenase/reductase 3.
DHDH	19q13.3	dihydrodiol dehydrogenase (dimeric).
RDH13	19q13.42	retinol dehydrogenase 13 (all- <i>trans</i> and 9- <i>cis</i>).
CBR1	21q22.13	carbonyl reductase 1.
CBR3	21q22.2	carbonyl reductase 3.
ALTE	Xp22.33; Yp	Ac-like transposable element.
HADH2	Xp11.2	hydroxyacyl-Coenzyme A dehydrogenase, type II.
ALTE.1	Xp22.33; Yp	Ac-like transposable element.

These genes listed here are registered as an EST on the genome sequence in the AceView (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/IEB/Research/Acembly/index.html>).

文 献

- Rosemond, M. J. C. *et al.*: *Drug Metab. Rev.*, **36**, 335 (2004).
- Deng, H. B. *et al.*: *J. Biol. Chem.*, **277**, 15035 (2002).
- Koh, Y. H. *et al.*: *Free Radic. Res.*, **33**, 739 (2000).
- Nishinaka, T. *et al.*: *Free Radic. Biol. Med.*, **31**, 205 (2001).
- Obrosova, I. G. *et al.*: *Diabetes*, **52**, 864 (2003).
- Botella, J. A. *et al.*: *Curr. Biol.*, **14**, 782 (2004).
- Terada, T. *et al.*: *J. Enzyme Inhib.*, **7**, 33 (1993).
- Najo, H. *et al.*: *Biochem. J.*, **310**, 101 (1995).
- Terada, T. *et al.*: *Eur. J. Biochem.*, **267**, 6849 (2000).
- Oppermann, U. *et al.*: *Chem-Biol. Interact.*, **143-144**, 247 (2003).
- Sze, C. I. *et al.*: *J. Biol. Chem.*, **279**, 30498 (2004).
- Chen, S. T. *et al.*: *Neuroscience*, **124**, 831 (2004).
- Chang, N. S. *et al.*: *Oncogene*, **24**, 714 (2005).
- Aqeilan, R. I. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 8256 (2004).
- Umemoto, M. *et al.*: *Br. J. Cancer*, **85**, 1032 (2001).
- Liu, S. Q. *et al.*: *J. Biol. Chem.*, **276**, 11812 (2001).
- Montfort, L. *et al.*: *Mol. Reprod. Dev.*, **61**, 113 (2002).
- Inazu, N. and Fujii, T.: *J. Reprod. Fertil.*, **108**, 123 (1998).