ヨードヒスチジンの代謝 (第 2 報) ヨードヒスチジンとヒスチジンの
脱炭酸反応の比較研究¹⁾瀬山義幸, 山下三郎, 石川信雄
星薬科大学²⁾Metabolism of Iodohistidine. II. Comparative Studies on Decarboxylation
of Iodohistidine and Histidine¹⁾

YOSHIYUKI SEYAMA, SABURO YAMASHITA and NOBUO ISHIKAWA

Hoshi College of Pharmacy²⁾

(Received January 21, 1978)

Decarboxylation of iodohistidines and histidine was comparatively examined by measurement of $^{14}\text{CO}_2$ formation from ^{14}C -iodohistidine (^{14}C -MIH, ^{14}C -DIH) and ^{14}C -histidine during incubation with bacterial histidine decarboxylase or with rat liver homogenate. The decarboxylation rate of iodohistidines was higher than that of histidine, and the decarboxylation of DIH was much faster than that of MIH or histidine, without showing any time-lag. It may be suggested that iodohistidines are directly decarboxylated without deiodination by decarboxylase(s) and converted into the corresponding iodohistamines, which were identified with separately synthesized iodohistamines, by thin-layer chromatogram on cellulose, and it was found that the ratio of decarboxylated metabolites (iodohistamines) was higher than that of deiodinated products (MIH and histidine), and that deaminated metabolite (urocanic acid) was not detected in the metabolites. It was shown that decarboxylation is the major pathway of iodohistidine metabolism.

Iodohistidines seemed to be decarboxylated non-specifically by enzymes (histidine decarboxylase, aromatic L-amino acid decarboxylase) in liver homogenate, since the decarboxylation rate of iodohistidines is higher in alkaline pH (indicating aromatic L-amino acid decarboxylase), but it is inhibited slightly by α -methyl-DOPA, an inhibitor of the enzyme.

Keywords—iodinated amino acid; amino acid metabolism; liver homogenate; histidine decarboxylase; radioisotope; *in vitro* incubation; NMR

Histidine の代謝は最初にそのカルボキシル基が代謝される経路とアミノ基が代謝される経路とに大別されるが、このカルボキシル基は主に histidine decarboxylase により脱炭酸され histamine になることが知られている。しかし、histidine のイミダゾール環がヨード置換されたヨードヒスチジンの脱炭酸反応は不明である。そこでヨードヒスチジンは直接脱炭酸されるか、または、まず脱ヨードされてから脱炭酸されるかを明らかにするため、ヨードヒスチジンの脱炭酸反応について histidine と比較検討した。

実 験 の 部

1. ^{14}C -Diiodohistidine (以下 DIH と略) と ^{14}C -Monoiodohistidine (以下 MIH と略) の合成と精製法
Brunings³⁾ の histidine のヨード化方法を参照し, $[\text{U-}^{14}\text{C}]\text{histidine}$ 50 μl (5 μCi),⁴⁾ 0.5 N NaOH 300 μl , hexane 100 μl を 10 ml の三角フラスコ中に加え, 冷蔵庫内攪拌しながらこれに 0.1 N I_2 -hexane 溶液 500 μl を 3 hr 以内に滴下する, さらに 12 hr 攪拌し, この反応溶液をセルロースの薄層 (Merck 社製) に線状にスポットした。同時に前報⁵⁾ で得た DIH, MIH さらに histidine をスポットし, $n\text{-BuOH}:\text{AcOH}:\text{H}_2\text{O}$ (4:1:5)

1) 日本薬学会第 97 年会で発表, 東京 1977 年 4 月。

2) Location: 2-4-41 Ebara, Shinagawa-ku, Tokyo.

3) K.J. Brunings, *J. Am. Chem. Soc.*, **69**, 205 (1947).

4) 比放射能 306 mCi/mmol, NEN 社製。

5) 瀬山義幸, 山下三郎, 石川信雄, 薬誌, **95**, 648 (1975)。

を展開溶媒として上昇法で展開した。この radioactivity をクロマトスキャンナー (JTC-201, Aloka 製) で調べた。MIH, DIH 分画の薄層をかき取り, conc. HCOOH で抽出後, 減圧濃縮した。この操作を繰返しクロマトグラムの単一になるまで精製した。

2. Histamine のヨード化とその精製法 Brunings³⁾ および石川ら⁶⁾ のヒスチジンのヨード化法を参照して, histamine 塩酸塩 1 g を 0.5 N NaOH 300 ml にとかし, hexane 100 ml を加える。これを氷冷しスターラーで攪拌しながら 0.1 N I₂-hexane 溶液 167 ml を 3 hr で滴下した。さらに 0.5 hr 攪拌後, conc. HCl 15 ml, 過塩素酸溶液 80 mg/50 ml を加え反応停止後, hexane 200 ml で 5 回洗浄し減圧乾固した。この一部を溶出溶媒の 1 N HCOOH にとかし 3000 rpm, 10 min 遠心した上清を Sephadex G-10 (2.2×120 cm) のカラムにのせ, 8—10 sec/1 滴の割合で溶出させ, 10 ml ずつ分画した。分画した各溶液の一定量についてジアゾ試液を加え, 発色後 500 nm にて各分画の吸光度を測定した。また各分画の一定量に 0.1 N 硝酸銀試液を数滴加え, 食塩含有分画を調べた。また各分画の一定量をセルロースの薄層 (Merck 社製) にスポットし, *n*-BuOH: AcOH: H₂O (4: 1: 1) で展開後, ジアゾ試液または, ニンヒドリン試液で発色させ, 単一分画を集め減圧乾固した。これについて, Bensusan ら⁷⁾ の方法を参照して D₂O+DCl (1: 1) にとかし NMR によりヨード置換位置を調べた。PPC を用い展開溶媒 *n*-BuOH: AcOH: H₂O (4: 1: 1) でその R_f 値をもとめた。

3. 脱炭酸反応の測定法 Ritchie および Levine⁸⁾ の方法を参照して測定した。微生物の histidine decarboxylase 活性を測る場合, histidine decarboxylase (*Pseudomonas fluorescens*, Sigma 社製: 5 mg/4 ml) の 10 μl を酵素溶液とし, また肝ホモゲネートの histidine decarboxylase 活性を測るには, Wistar 系雄ラット (約 100 g) を脱血死させ, 肝臓を摘出し, 0.014 M MgCl₂ と 0.06 M KCl 含有 0.01 M Tris-buffer (pH 7.8) を用いテフロンホモゲナイザーにて 50% ホモゲネートとした後 10000 rpm, 20 min 冷却遠心分離しその上清を 0.12 M sodium phosphate buffer (pH 6.8), またはこの buffer (pH 7.4), または 0.1 M pyrophosphate buffer (pH 9.2) で 2 倍にそれぞれ希釈し, このホモゲネート 250 μl を酵素溶液とした。小試験管 (0.8×5.0 cm) 中に 5×10⁻⁴ M pyridoxal 5'-phosphate 20 μl, 上述したおのの buffer 50 μl, ¹⁴C-histidine, ¹⁴C-MIH, ¹⁴C-DIH をそれぞれ 30000—40000 dpm とり, これに前述したそれぞれの酵素溶液を加えた。また別に α-methyl DOPA の影響を調べるには, 1×10⁻² M α-methyl DOPA 10 μl, おのの pH の buffer を 40 μl, その他は同量の上述各種溶液, および肝ホモゲネートをそれぞれ小試験管に加えた。あらかじめ 1 M hyamine hydroxide メタノール溶液 (Packard 社製) を 1 ml 入れておいたテルモ社製真空採血管 (VT-050 P) 中にそれぞれの前述小試験管を入れた。これに採血管のゴム栓をして, ビニールテープで密閉した。これを 37° でインキュベートし, 一定時間ごとに注射器でゴム栓から 6 N HCl 0.1 ml を加え反応を停止した。一昼夜放置後ゴム栓をとり, 小試験管外壁に付着した hyamine hydroxide 溶液および真空採血管中の hyamine hydroxide 溶液を定量的にバイアル瓶に移し, シンチレーター (Aloka, LSC-602) の dimilume-30 (Packard 社製) を 10 ml 加え, 1 hr 以上放置後, 液体シンチレーションカウンター (Aloka, LSC-602) でその radioactivity を測定した。なおアイソトープを入れず同様に操作した radioactivity を back ground とした。各検体の radioactivity から back ground の radioactivity を差し引いた値を, 基質の ¹⁴C-histidine, ¹⁴C-MIH, ¹⁴C-DIH の radioactivity で割りその割合を算出した。

4. TLC による代謝産物の同定法 微生物の histidine decarboxylase および肝ホモゲネートによる代謝産物は実験の部で述べたように一定時間インキュベートした小試験管の反応液を 3000 rpm, 20 min 遠心分離後, その上清の一部をセルロースの薄層 (Merck 社製) にスポットし, 微生物の histidine decarboxylase の代謝物は Ritchie と Levy⁸⁾ の用いた 2-PrOH: CHCl₃: NH₄OH: H₂O (11: 5: 2: 2), または, *n*-BuOH: AcOH: H₂O (4: 1: 1) で展開後, その薄層を 1 cm ずつかき取る。また肝ホモゲネートの代謝物は *n*-BuOH: AcOH: H₂O (4: 1: 1) で二度展開後, その薄層を 0.5 cm ずつかき取る。これら薄層をバイアル瓶に移し, MeOH 1 ml, ジオキサン系シンチレーター 10 ml をそれぞれ加え液体シンチレーションカウンター (Aloka, LSC-602) で radioactivity を測定し, また同量の薄層セルロースの radioactivity を back ground とした。Beaven ら⁹⁾ の報告に基づきおのの薄層の radioactivity から back ground の radioactivity を差し引き, これを, 総和 (Total radioactivity) で割り, それぞれの比を算出した。また標準品としては DIH, MIH, histidine, diiodohistamine, moniodohistamine, urocanic acid を用い, 展開後, ニンヒドリン試液およびジアゾ試液で発色させ, その radioactivity の同定を行なった。

結 果

1. ¹⁴C-MIH と ¹⁴C-DIH の製法

[U-¹⁴C]histidine をヨード化したものを TLC のクロマトスキャンした結果は Fig. 1 の A) のように MIH と DIH の所に主に radioactivity が認められ, さらにこれらを TLC で精製すると ¹⁴C-MIH は Fig. 1 の B)

6) 石川信雄, 山下三郎, 大宮静江, 薬誌, **92**, 1423 (1972).

7) H.B. Bensusan, M.S.R. Naidu, *Biochemistry*, **6**, 12 (1967).

8) D.G. Ritchie, D.A. Levy, *Anal. Biochem.*, **66**, 194 (1975).

9) M.A. Beaven, Z. Horakova, H. Keiser, *European. J. Pharmacol.*, **29**, 138 (1974).

に, ^{14}C -DIH は Fig. 1 の C) に示したようにクロマトグラムの単一である。

2. ヨードヒスタミンの単離

Histamine-塩酸塩をヨード化し, これを Sephadex G-10 のカラムクロマトで精製した. その分離パターンを Fig. 2 に示した. Tube No. 20—24 の NaCl 含有分画を除き, ピーク分画 (Tube No. 14—19 と Tube No. 26—34) をそれぞれ集め減圧乾固し, クロマトグラムの単一なヨードヒスタミンを得た. Tube No. 26—34 は R_f

0.63—0.61, Tube No. 14—19 は R_f 0.46—0.43 であり, これらのヨード置換位置を NMR で調べた結果 Fig. 3 に示したように R_f の大きい方が 2,4 (5)-diiodo-histamine で他方が 4 (5)-monoiodohistamine と決定した。

3. 微生物 (*Pseudomonas fluorescens*) の Histidine Decarboxylase によるヨードヒスチジン (MIH, DIH) とヒスチジンの脱炭酸反応

^{14}C -Histidine, ^{14}C -MIH, ^{14}C -DIH をそれぞれ基質にして, pH 6.8 で histidine decarboxylase (*Pseudomonas fluorescens*) により脱炭酸された割合を経時的に比較した結果, Fig. 4 のごとく MIH は histidine と同じか, またはわずかに大きく, DIH は histidine や MIH より著しく大きい傾向が認められた。

4. Histidine Decarboxylase (*Pseudomonas fluorescens*) によるヨードヒスチジン (MIH, DIH) とヒスチジンの脱炭酸代謝物の同定

Histidine decarboxylase と 60 min インキュベートした時の代謝物をセルロースの TLC で 2-PrOH: CHCl_3 : NH_4OH : H_2O (11: 5: 2: 2) を展開溶媒として分離すると, 基質が ^{14}C -histidine の場合, histidine の分画にその代謝物の radioactivity が主に認められた (Fig. 5 の A). しかし, 基質が ^{14}C -MIH の時 histamine 分画にはその代謝物の radioactivity は認められなかった (Fig. 5 の B). また histamine 以外の代謝物分離可能な n -BuOH: AcOH: H_2O (4: 1: 1) を用いると, 基質が ^{14}C -histidine の時 histamine 分画にその代謝物の radioactivity が認められた (Fig. 5 の C). しかし, ^{14}C -DIH を基質にした時, histamine 分画にその代謝物の radioactivity はなく, diiodohistamine 分画

Fig. 1. Radiochromatograms of Iodination Products of ^{14}C -Histidine

^{14}C -Histidine was iodinated according to the method of Brunings.⁹⁾

TLC: cellulose.

solvent: n -BuOH-AcOH- H_2O (4: 1: 5).

MIH: monoiodohistidine.

DIH: diiodohistidine.

A) iodinated mixture of ^{14}C -His.

B) purified ^{14}C -MIH.

C) purified ^{14}C -DIH.

Fig. 2. Elution Profile of Iodohistamines on Sephadex G-10 Chromatography

column: Sephadex G-10 (2.2 $\times$ 120 cm) equilibrated and eluted with 1N HCOOH .
detection: diazo reagent, AgNO_3 .

Fig. 3. NMR Spectra of Histamine, Monoiodohistamine and Diiodohistamine in $\text{D}_2\text{O} + \text{DCl}$

Fig. 4. Decarboxylation of His, MIH and DIH by Histidine Decarboxylase (*Pseudomonas fluorescens*).

Decarboxylation was measured by the amount of $^{14}\text{CO}_2$ formed from ^{14}C -His, ^{14}C -MIH and ^{14}C -DIH.

●—●, DIH ×—×, His ○—○, MIH.

と MIH 分画にその代謝物の主な radioactivity が認められた (Fig. 5 の D).

5. 肝ホモゲネートによるヨードヒスチジン (MIH, DIH) とヒスチジンの脱炭酸反応

^{14}C -histidine, ^{14}C -MIH, ^{14}C -DIH をそれぞれ基質にして、肝ホモゲネートと、pH を変えて 12 hr インキュベートした時、脱炭酸された割合を比較した結果、MIH と DIH は共に pH 9.2 で一番大きく、pH 7.4, pH 6.8 の順であった。またいずれの pH でも DIH の方が MIH より脱炭酸される割合が大きかった。一方 histidine は MIH, DIH と異なり pH 6.8 の方が pH 9.2 より脱炭酸される割合が大きかった (Fig. 6 参照)。

また ^{14}C -histidine, ^{14}C -MIH, ^{14}C -DIH をそれぞれ基質にして肝ホモゲネートと pH 9.2 でインキュベートし、3 hr, 6 hr, 12 hr での脱炭酸の経時変化を比較した結果、いずれの時点でも histidine より MIH, DIH の方が脱炭酸される割合は大きく、MIH より DIH の方が脱炭酸される割合は大きかった (Fig. 7 参照)。

Fig. 5. Radiochromatogram of Metabolites obtained by the Action of Histidine Decarboxylase (*Pseudomonas fluorescens*) on ^{14}C -His, ^{14}C -MIH and ^{14}C -DIH

- A) substrate: ^{14}C -His, TLC: cellulose, solvent: 2-PrOH- CHCl_3 - NH_4OH - H_2O (11: 5: 2: 2).
 B) substrate: ^{14}C -MIH, TLC: cellulose, solvent: 2-PrOH- CHCl_3 - NH_4OH - H_2O (11: 5: 2: 2).
 C) substrate: ^{14}C -His, TLC: cellulose, solvent: *n*-BuOH-AcOH- H_2O (4: 1: 1).
 D) substrate: ^{14}C -DIH, TLC: cellulose, solvent: *n*-BuOH-AcOH- H_2O (4: 1: 1).

Fig. 6. Effect of pH on Decarboxylation of His, MIH and DIH by Rat Liver Homogenate

6. 肝ホモゲネートによるヨードヒスチジン (MIH, DIH) の代謝産物の同定

^{14}C -DIH を基質にして pH 9.2 で肝ホモゲネートと 12 hr インキュベートした結果 Fig. 8 のように diiodohistamine と histamine 分画にその代謝産物の radioactivity が認められたが, MIH, histidine, urocanic acid の各分画にはその代謝産物の radioactivity は認められなかった. また ^{14}C -MIH を基質にすると Fig. 9 のように monoiodohistamine と histamine 分画にその代謝産物の radioactivity が認められたが histidine, urocanic acid の各分画にはその代謝産物

Fig. 7. Time Course of Decarboxylation of His, MIH, DIH by Rat Liver Homogenate at pH 9.2

●—●, DIH ○—○, MIH ×---×, His.

Fig. 8. Radiochromatogram of Metabolites obtained by Incubation with Rat Liver Homogenate (pH 9.2)

Fig. 9. Radiochromatogram of Metabolites obtained by Incubation with Rat Liver Homogenate (pH 9.2)

Fig. 10. Effect of α -methyl DOPA on Decarboxylation of Histidine, MIH and DIH

a) substrate.
b) incubation time.
c) pH.
d) (+): incubation with α -methyl DOPA,
(-): incubation without α -methyl DOPA.

の radioactivity は認められなかった。また pH 7.4 でインキュベートした時の ^{14}C -MIH と ^{14}C -DIH の代謝産物は pH 9.2 でインキュベートした時の結果と同じ傾向だった。

7. ヨードヒスチジン (MIH, DIH) とヒスチジンの脱炭酸反応に対する α -methyl DOPA の影響

α -Methyl DOPA は pH 6.8 における肝ホモゲネートによる histidine の脱炭酸反応を抑制できないが、pH 9.2 ではこれを抑制した。しかし、 α -methyl DOPA は pH 9.2 で肝ホモゲネートによる MIH, DIH の脱炭酸反応を histidine の時より弱くしか抑制できない (Fig. 10 参照)。

考 察

ヨードヒスチジンの分解過程を明らかにするため前報⁵⁾では脱ヨード化反応、今回は脱炭酸反応と各代謝経路にわけて検討した。この脱炭酸反応を定量的に調べるために基質に用いた ^{14}C -MIH と ^{14}C -DIH は $[\text{U-}^{14}\text{C}]$ -histidine を I_2 -hexane 溶液でヨード化し、クロマト的に単一になるまでセルロースの TLC で精製した。また

ヨードヒスチジンが直接脱炭酸された代謝産物のヨードヒスタミンの標準品は histamine をヨード化して作製した。この合成で histamine と I_2 のモル比は Brunings⁹⁾ の histidine のヨード化条件を参照して histamine に対し 3 倍のモル比の I_2 に相当する I_2 -hexane 溶液でヨード化した後、過剰の I_2 を hexane で抽出除去後、Sephadex G-10 のカラムクロマトで 4(5)-monoiodohistamine と 2,4(5)-diiodohistamine に分離精製した。本法では合成の際共存する NaCl も同時に除去できた。溶出順序は monoiodohistamine, NaCl, diiodohistamine と分子量の大きい順ではなく、このことはすでに Mougey ら¹⁰⁾ Williams ら¹¹⁾ がヨードチロジンの分離の際、同じ現象を報告しており、ゲルろ過以外の要因が関与して分離を可能にしたと考えられる。

Histidine decarboxylase の活性測定法については種々の報告^{8,12,13,14)} がみられるが、最近ではカルボキシル基だけで ^{14}C 標識された DL-[carboxyl- ^{14}C]histidine を基質にして、脱炭酸反応により産生した $^{14}CO_2$ を捕集する方法が報告¹⁴⁾ されているが、本実験では $^{14}CO_2$ 捕集だけでなく、その代謝産物も調べるために [U- ^{14}C]-histidine を用いた。またヨードヒスチジンは前述のようにこれをヨード化した ^{14}C -MIH と ^{14}C -DIH を基質に用いた。これらの基質に微生物の histidine decarboxylase、または肝ホモゲネートを作用させて産生した $^{14}CO_2$ をハイアミン中に捕集させ、ハイアミンの化学ルミネッセンスを防ぐため dimilume-30 のシンチレーターを用いた。測定した $^{14}CO_2$ の radioactivity は基質の radioactivity の大小に影響されるので基質と $^{14}CO_2$ との radioactivity の比率を算出して脱炭酸反応の指標とした。

この指標を用い微生物 (*Pseudomonas fluorescens*) の histidine decarboxylase によるヨードヒスチジンと histidine の脱炭酸反応を経時的に比較した。ヨードヒスチジンが脱ヨードされてから脱炭酸されるならば、脱ヨードされるためのラグがあってからこの脱炭酸反応が起ると考えられるが、ヨードヒスチジンではこのような現象はみられず、むしろ histidine より MIH ではごくわずかに、DIH では著しく速やかに脱炭酸された。なおこの DIH の脱炭酸およびは短時間でプラトーになるのは酵素と基質の相対的な量の関係よりむしろハイナミンの CO_2 捕集能に限度があることによる可能性が考えられる。またこの脱炭酸およびの代謝産物はもし ^{14}C -MIH がまずヨードされ ^{14}C -histidine になり、これが脱炭酸されるならばこの代謝産物の radioactivity は histamine 分画に検出されると推測されるが、 ^{14}C -MIH ではこの現象はみられず、 ^{14}C -MIH は直接脱炭酸され $^{14}CO_2$ を産生すると共に、その脱炭酸代謝産物は ^{14}C -histamine 以外になったと考えられる。また ^{14}C -DIH の代謝産物の radioactivity は histamine 分画でなく diiodohistamine 分画にみられた。従って DIH は直接脱炭酸され CO_2 と diiodohistamine に代謝されたと考えられる。なお前報⁹⁾ で示したように DIH は MIH と異なり非酵素的にも脱ヨードされるので本実験の DIH の代謝産物にも diiodohistamine 以外に MIH 分画にも radioactivity が検出されたと推測される。

微生物の histidine decarboxylase の結果をさらに確かめるため、また他の酵素系が共存していてもヨードヒスチジンは脱炭酸されるか否かを調べるため肝ホモゲネートを用い、histidine decarboxylase の至適 pH 6.8 以外に脱ヨード酵素の至適 pH 7.4、さらに脱アミノ酵素の至適 pH 9.2 とそれぞれ pH を変えて脱炭酸反応を検討した。ヨードヒスチジンはいずれの pH でも脱炭酸され、他の酵素が働いていてもヨードヒスチジンは脱炭酸されると考えられる。また各 pH での脱炭酸されやすさは histidine では酸性側であるが、ヨードヒスチジンは酸性よりむしろアルカリ側であり、両者に差が認められた。また DIH の方が MIH より脱炭酸されやすく、前述した微生物の histidine decarboxylase の場合と同様であった。さらに肝ホモゲネートによる脱炭酸反応を経時的に調べると微生物の histidine decarboxylase の結果と同様にヨードヒスチジンの脱炭酸反応はラグがなく、しかも histidine より速やかであり、またその代謝物については MIH が直接脱炭酸されて monoiodohistamine に DIH が直接脱炭酸されて diiodohistamine になることが確認された。また脱ヨード酵素の至適 pH 7.4 でのヨードヒスチジンの代謝産物を調べたが pH 9.2 の場合と同じ結果であった。従ってヨードヒスチジンは脱ヨード酵素でなく、まず脱炭酸酵素により直接脱炭酸されることが明らかになった。またこの時のヨードヒスチ

10) E.H. Mougey, J.W. Mason, *Anal. Biochem.*, **6**, 223 (1963).

11) A.D. Williams, D.E. Freeman, W.H. Florsheim, *J. Chromatogr.*, **45**, 371 (1969).

12) Y. Kobayashi, *Anal. Biochem.*, **5**, 284 (1963).

13) R. HAKanson, *Biochem. Pharmac.*, **12**, 1289 (1963).

14) R.J. Levine, D.E. Watts, *Biochem. Pharmac.*, **15**, 841 (1966).

ジンの代謝産物の割合を比較すると脱ヨード代謝物 (MIH と histidine) より脱炭酸代謝物 (diiodohistamine と moniodohistamine) の割合が多く, さらに histidine の主な代謝産物である urocanic acid は殆んど認められなかった. このことから脱ヨード酵素と共に脱アミノ酵素が作用して $\text{DIH} \rightarrow \text{MIH} \rightarrow \text{histidine} \rightarrow \text{urocanic acid}$ と代謝される経路はヨードヒスチジンの主な代謝系でなく, 脱炭酸反応が主な代謝系と推測される.

一方, 脱炭酸酵素と脱ヨード酵素も関与している代謝については以下のように推測される. たとえば脱ヨード酵素が含まれている肝ホモゲネートによる代謝産物中には histidine はあまり検出されないにもかかわらず histamine が検出されており, これは diiodohistamine $\rightarrow$ moniodohistamine $\rightarrow$ histamine と脱ヨードされたためと考えられる. また $\text{DIH} \rightarrow \text{MIH} \rightarrow \text{moniodohistamine}$ の代謝については, DIH と moniodohistamine との R_f がほぼ等しくこの経路を直接証明できなかったが DIH からわずかに MIH に代謝されていることから, この経路の可能性も考えられる.

脱炭酸反応を行なう酵素には至適 pH 5.8—7.2 の L-histidine decarboxylase と至適 pH 8.0—9.5 の histidine と共に芳香族アミノ酸も脱炭酸する, aromatic L-amino acid decarboxylase が存在していることが報告¹⁵⁾ されており, 後者は α -methyl DOPA で拮抗される報告¹⁶⁾ がある. ヨードヒスチジンの脱炭酸反応は前述のように酸性より, むしろアルカリ性でより強い活性を示していることから, 至適 pH がアルカリ性の aromatic L-amino acid decarboxylase が特異的にこの代謝に関与している可能性が考えられるので, α -methyl DOPA の影響を調べた. 本実験系で histidine の脱炭酸反応を α -methyl DOPA はアルカリ性では抑制し, 酸性では抑制しなかった. このことから α -methyl DOPA は至適 pH 酸性の L-histidine decarboxylase 活性には影響しないが, 至適 pH アルカリ性の aromatic L-amino acid decarboxylase 活性を抑制したことが確かめられた. ヨードヒスチジンのアルカリ性における脱炭酸反応に対する α -methyl DOPA の影響は histidine の場合より弱い抑制しか認められなかった. 従ってヨードヒスチジンはアルカリ性で脱炭酸されやすいが, アルカリ性に至適 pH を有する aromatic L-amino acid decarboxylase だけでなく, 酸性に至適 pH を有する L-histidine decarboxylase も共に作用し脱炭酸されていると考えられる.

以上からヨードヒスチジンは脱ヨードされてから脱炭酸されるのではなく, 非特異的な decarboxylase により直接脱炭酸されヨードヒスタミンに代謝されており, この脱炭酸反応はいずれの条件でもヨードヒスチジンの内 DIH が特に速やかである. このように DIH は MIH より代謝分解されやすく, Savoie ら¹⁷⁾ の報告にあるように尿中の DIH は MIH より少ないことの一因をなしていると考えられる. また脱炭酸反応は肝におけるヒスチジン代謝では弱い関与しかしていないと報告¹⁸⁾ されているが, ヨードヒスチジンの主な代謝経路である点も興味深い.

15) D. Aures, R. Hakanson, *Methods in Enzymology*, **17**, 667 (1970).

16) W. Lovenberg, H. Weissbach, S. Udenfriend, *J. Biol. Chem.*, **237**, 89 (1962).

17) J.C. Savoie, P. Thomopoulos, F. Savoie, *J. Clin. Invest.*, **52**, 106 (1973).

18) M.L. Morris, S.C. Lee, A.E. Harper, *J. Biol. Chem.*, **247**, 5793 (1972).