



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

ビタミンB₆の新規生理機能発掘のための新しい分析法の開発

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2022-06-08 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 柘植, 治人 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/5609

ビタミンB₆の新規生理機能発掘のための新しい分析法の開発

柘植 治人

生物資源利用学科

(2003年8月14日受理)

Some Proposals for Developing the More Precise and Critical Studies on Newer Vitamin B₆ Physiology

Haruhito TSUGE

Division of Utilization of Biological Resources, Faculty of Agriculture, Gifu University

(Received August 14, 2003)

SUMMARY

In order to develop more precise and critical studies on newer vitamin B₆ physiology, some proposals, must be resolved in near future, are reviewed.

First of all, analytical task should be completed is the establishment of more simple and concise HPLC method being able to analyze simultaneously at least 7 derivatives of vitamin B₆ (pyridoxal, pyridoxamine, pyridoxine, those of 5'-phosphate ester, and pyridoxic acid), which are ubiquitously found in the biological materials. Newer method to analyze these vitamin B₆ derivatives using one isocratic HPLC column with high sensitivity is necessitated. Thus, stable and synthetic compound suitable as an inner standard, which possesses similar characteristics with these natural compounds but not easily decomposed during the sample preparation, is needed for the development of accurate and reliable HPLC analysis.

Another problems should be solved are the establishment of modulation mechanisms between vitamin B₆, especially PLP, and transcription factors during gene expression under physiological conditions.

Res. Bull. Fac. Agr. Gifu Univ. (68):1-8, 2003

要 約

ビタミンB₆の新規生理機能を研究するために解決しなければならない問題点を、分析化学的視点から解説した。その第1は、天然に存在するビタミンB₆誘導体、すなわち、自然界に広く存在することが認められている少なくとも7種類のB₆誘導体をより簡便なHPLC法で同時に分析する必要がある。それには、1本のカラムでイソクラテックな溶媒系を用いた、高い検出感度の分析法が必要である。正確で信頼性の高いHPLC分析法の開発のためには、天然に存在するB₆誘導体と性質が似ているが、サンプル調製時に容易に分解しない安定な合成の化合物を内部標準物質として用いる必要がある。解決すべきもう一つの問題は、生理的な条件下で遺伝子の発現段階におけるビタミンB₆、特にPLP、と転写調節因子との修飾反応の機構を解明することである。

1. はじめに

ビタミンB₆は、1934年 Györgyによって、ラットの脂漏性皮膚炎を予防する因子として、ビタミンB₂複合体中より発見された。この物質が、ピリジン環に幾つかの官能基を持つ比較的簡単な構造の化合物であることは、1938年Kuhnによって決定された。すなわち、3-Hydroxy-4,5-bis (hydroxy-methyl) -2-methyl pyridineと化学構造が決定されると同時に、ピリドキシシン (PN) と命名され、化学合成によって確かめられた。その後、アメリカの栄養学者 (Snell) 等の努力により、微生物の増殖促進活性の研究から、ピリド

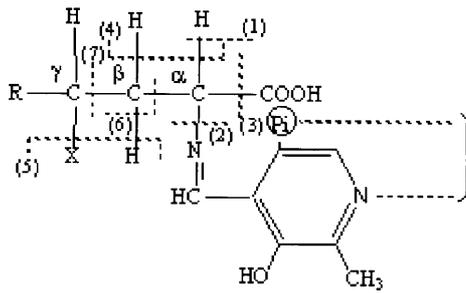


図-1 ビタミンB₆酵素の行う触媒反応
離脱、置換のおきる箇所を(番号)と---で示す。

1. α -Cにおける脱離と置換反応 (1) α -C-H: transaminase, racemase, (2) α -C-N及び α -C-H: transaminase, (3) α -C-COOH: α -decarboxylase, (6) α -Cと β -Cの切断: Ser hydroxymethyl-transferase
2. β -Cにおける脱離と置換反応 (4) α -C-H及び β -C-Y: Thr dehydratase (7) β -C, γ -Cの切断: Asp β -decarboxylase
3. γ -Cにおける脱離と置換反応 (5) β -C-H及び γ -C-X: cystathionine γ -lyase

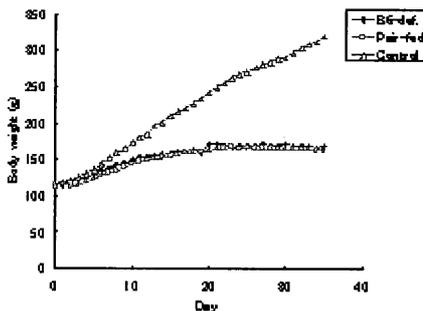


図-2 ビタミンB₆欠乏飼料を投与したラットの成長抑制を示すグラフ

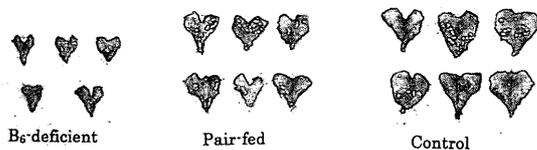


図-3 ラット胸腺に及ぼすビタミンB₆欠乏の影響。
左からB₆欠乏投与群, ペアフェッド群, コントロール群 (35日目) の写真

する際などには有用な方法であるが、検出限界⁵⁾が 1 ng/tube と高いため、例えば、特別なビタミンサプリメントを摂っていない健康人の血中ビタミンB₆量の定量など、微量にしか存在しない生体サンプルの定量では検出限界以下となり信頼性が低くなるなどの問題点が指摘されてきた。より検出感度が高く、特異的な定量法⁶⁾も報告されているが、PLPに限られており、その他のB₆誘導体は定量できない。こうした事情から、全ビタミンB₆誘導体を高感度で定量出来る方法の開発が望まれていたのであるが、1970年代からの高速液体クロマトグラフィーの発展が、その端緒を開いた⁶⁾。

いわゆる高速液体クロマトグラフィーは、安定な脈流の無い高性能ポンプの開発、酸性領域で適用でき、高圧に耐えられるODS (Octa decylsilane) 系のクロマト担体を用いた逆相、順相のクロマトグラフィー

キシシより数百倍から数千倍活性の強い複数の化合物が存在することが判明し、それを偽ピリドキシン (pseudopyridoxine) と名づけた。これらの化合物は、後に、ピリドキサミン (PM), ピリドキサル (PL) であると同定された。ビタミンB₆が、酵素の補酵素として働いていることは、Gunsalus等の研究により、デカルボキシラーゼの吸収スペクトルの研究から、ピリドキサールのリン酸エステルであるピリドキサル5'-リン酸 (PLP) と同定されたのが1944年のことである¹⁾。

2. 生理作用

その後、現在に至るまでに、いわゆるビタミンB₆依存性酵素²⁾は、アミノ基転移酵素 (transaminase), デカルボキシラーゼ (decarboxylase), ラセマーゼ (rasemase) 等の約100種類の酵素中で補酵素として機能していることが判明している。しかも、触媒する反応の種類がアミノ基転移, 脱炭酸, ラセミ化, α, β -脱離反応, α, γ -脱離反応等多岐にわたり、ビタミンB₆の活性型であるFMN, FADやナイアシンの活性型であるNAD (P) の触媒する反応が酸化還元反応に限られているのとは対照的である。図-1にその概要を示した。

一方、栄養学的には、成長停止 (図-2), 脂漏性皮膚炎, 胸腺の萎縮 (図-3), 痙攣発作等が実験的に報告³⁾されているが、通常の食生活をしているヒトの場合、欠乏症は一般に認め難く稀である。その理由は、私たちが食べている食品中にビタミンB₆は広く存在しているからである。

3. 分析法

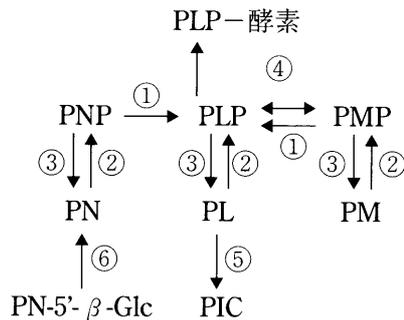
定量法としては、専ら生物学的な検定法が、初期には用いられてきた⁴⁾。すなわち、ビタミンB₆要求性の微生物を用いるバイオアッセイ法で、*Lactobacillus casei*, *Saccharomyces cerevisiae*等の微生物がビタミンB₆濃度に依存して増殖することを基本とした定量法である。この方法は、総B₆量の定量には便利であるので、食品中のB₆総量を定量

表-1 高等動物に認められたB₆依存性酵素

[EC] 番号	酵素名	名称 所在
2.1.2.1.	Serine hydroxymethyltransferase	ウサギ肝Mitochondria, Cytosol
2.3.1.37.	δ -Aminolevulinate synthase	動物の肝臓, 造血組織, その他の組織
2.3.1.50.	Serine palmitoyltransferase	脳を含む動物臓器のMicrosome
2.4.1.1.	Phosphorylase	骨格筋と肝をはじめとする種々の動物臓器
2.6.1.1.	Aspartate aminotransferase	動物細胞に広く分布 (各種アイソザイム有り)
2.6.1.2.	Alanine aminotransferase	動物細胞に広く分布 (各種アイソザイム有り)
2.6.1.4.	Glycine aminotransferase	ラット, ヒトの肝臓, 脳
2.6.1.5.	Tyrosine aminotransferase	動物組織に広く存在
2.6.1.7.	Kynurenine aminotransferase	動物の肝臓, 腎臓
2.6.1.13.	Ornithine 5-aminotransferase	ラット肝臓, 腎臓, 小腸
2.6.1.19.	Aminobutylate aminotransferase	動物の脳, 肝臓, 腎臓
2.6.1.31.	Pyridoxamine oxaloacetate aminotransferase	ウサギ肝臓
2.6.1.42.	Branched-chain-amino acid aminotransferase	各種動物の筋肉
2.6.1.43.	Aminolevulinate aminotransferase	牛肝臓Mitochondria
2.6.1.44.	Alanine glyoxylate aminotransferase	動物肝
2.6.1.49.	Dihydroxyphenylalanine aminotransferase	動物肝, 脳Mitochondria
2.6.1.51.	Serine-pyruvate aminotransferase	動物肝実質細胞Mitochondria, 腎
2.6.1.57.	Aromatic-amino acid aminotransferase	動物の脳
3.7.1.3.	Kynureninase	動物肝臓, 腎臓
4.1.1.15.	Glutamate decarboxylase	動物の脳, 肝臓, 心臓
4.1.1.17.	Ornithine decarboxylase	ラット肝, 前立腺
4.1.1.22.	Histidine decarboxylase	腹腔内の遊離肥満細胞腫, 胃
4.1.1.28.	Aromatic L-amino acid decarboxylase	各種動物臓器
4.1.1.29.	Cysteinesulfinate decarboxylase	動物組織 (肝)
4.2.1.13.	L-Serine dehydratase	ヒツジ肝, ラット肝
4.2.1.22.	Cystathionine β -synthase	哺乳動物の種々の組織
4.2.3.2.	Ethanolamine-phosphate phospholyase	ラット, ウサギの肝臓
4.4.1.1.	Cystathionine γ -lyase	動物の肝臓

の考案とフローセルを採用した検出手段の自動化によって、分析システムの密閉化が可能となり、短時間に再現性の高いクロマトグラフィーが実施可能になったことにより急速に普及した。特に、6～7種類存在するビタミンB₆誘導体の定量は、クロマトグラフィーによる分離定量法が適していると考えられたため、早くも1975年には、最初の論文が報告⁷⁾されている。当時は、Aminex A-5樹脂を分離担体としたイオン交換カラムで、分離された各々のB₆誘導体を紫外線 (UV) 検出器で定量する方法が採用された。また、一旦4位を全て-CHO (ホルミル基) に変換した後、セミカルバジッドでPLP-semicarbazone (あるいはPL-semicarbazone) 誘導体とし、蛍光を測定する方法⁸⁾が提案され、食品中のビタミンB₆含量の分析などに利用されたが、それぞれ弱点があり、それほど普及しなかった。

活性型ビタミンB₆の化学的特徴は、4-位に-CHO (ホルミル基) を有し、タンパク質中のアミノ基とSchiffの塩基を形成することである。これまでに判明しているB₆酵素の酵素タンパク質と補酵素の結合 (相互作用) は、ホスホリラーゼ [EC 2.4.1.1] の例外を除いた全ての酵素で、アポタンパク質のリジン残基 (ϵ -アミノ基) とPLPの-CHO (ホルミル基) との間のシッフ塩基の形成 (図-1参照) であり、特異的な反応である。

図-4 B₆の相互転換代謝系

- ① PNP/PMP oxidase [EC 1.4.3.5]
 ② PL kinase [EC 2.7.1.35]
 ③ PLP phosphatase [EC 3.1.3.2]
 ④ Aminotransferase (s) [EC 2.6.1.-]
 ⑤ Aldehyde oxidase [EC 1.2.3.1]
 ⑥ Lactase/Phlorizin hydrolase [EC 3.2.1.23;62;108]

表-2 B₆栄養状態の指標とその基準値

項目	健康人の基準値
[直接法]	
血清中PLP濃度	>30 pmol/ml
総血中PLP濃度	
血清中総B ₆ 量	>40 pmol/ml
尿中PIC排泄量	>3.0 μmol/日
尿中総B ₆ 排泄量	>0.5 mmol/日
[間接法]	
赤血球中AST-活性化率	<1.80
赤血球中ALT-活性化率	<1.25
尿中キサントレン酸排泄量	<65 μmol/日
血清中ホモシステイン濃度	
脳波 (EEG) 異常	

させるため、高タンパク質 (60~70%) からなる食餌を与えるか、B₆のアンタゴニストを投与する必要がある。因みに、ヒトのビタミンB₆栄養状態を判定するために用いられる測定項目とその基準値として、一般に受け入れられている値³⁾を表-2として示した。

6. 新しい試み——その1

こうしたビタミンB₆の生体濃度を、出来る限り正確に把握するためにはHPLC法が有用であるが、検出感度が問題であった。私たち^{12),19)}はいち早く単一溶媒系 (イソクラチック) のHPLC法で、分離したB₆誘導体を蛍光検出器で定量する方法を採用し、生体中のビタミンB₆含量の正確な定量法の開発を企図したが、生体中には多くの盲蛍光物質が存在し、しかも、PLPのみが他のB₆誘導体とは異なるため、他の誘導体を定量するために設定した波長では感度が低くなるのが難点であった。そこで、PLPの分析感度を増強するための工夫として、CNイオンによるシアノヒドリン誘導体への変換を試みた。PLPはピリドキシン酸 5'-リン酸 (PIC-P) に定量的に変換され、蛍光強度が20倍近く増強することを発見した¹³⁾。私たちが開発した分離システムで十分定量可能であることを知ったが、その他のB₆誘導体の蛍光特性とは若干異なる

4. 新しい生理機能

従来、B₆の生理作用¹⁾は、酵素 (表-1に哺乳動物中に見出された酵素のリストをあげた) の補酵素として機能することであると考えられてきたが、最近になって、遊離の状態でもタンパク質と相互作用⁹⁾することが見出され、生理的に十分意義を持つ反応であることがわかってきた。例えば、ステロイドホルモンの作用発現は、標的器官の細胞膜を通過した後、サイトソルに存在するホルモン受容体 (タンパク質) と結合し、ホルモン-受容体-複合体を形成し、核膜を通過してクロマチンに結合すると、DNA中の遺伝情報が読み解かれて、目的の反応を促進するための酵素タンパク質の増産へとシグナル伝達されるが、適当量の遊離のPLPが存在すると、受容体のリジン残基とPLPが結合し、ホルモンとの結合を阻害することにより、ホルモン作用の発現を緩和する作用があることが証明⁹⁾されている。同様に、DNA polymerase II [EC 2.7.7.7]は、DNAの修復に重要な役割をはたす酵素であるが、PLPによって阻害¹⁰⁾されるため、発ガン作用が抑制されると指摘されている。

5. 生体におけるPLP濃度の恒常性

生体中に存在するビタミンB₆誘導体は、お互いに相互転換し (図-4)、一定量のPLP供給に貢献しており、生体中でのそれらの濃度はほぼ一定に保たれている¹¹⁾。従って、特別な実験条件を設定しない限りPLPの濃度は特段低くなったり、高濃度になり過ぎたりはしないものと考えられている。実験的に欠乏症とするためには、食餌中のビタミンB₆化合物をほぼ完全に除去することは当然であるが、体内保留のB₆化合物を早く対外へ排出

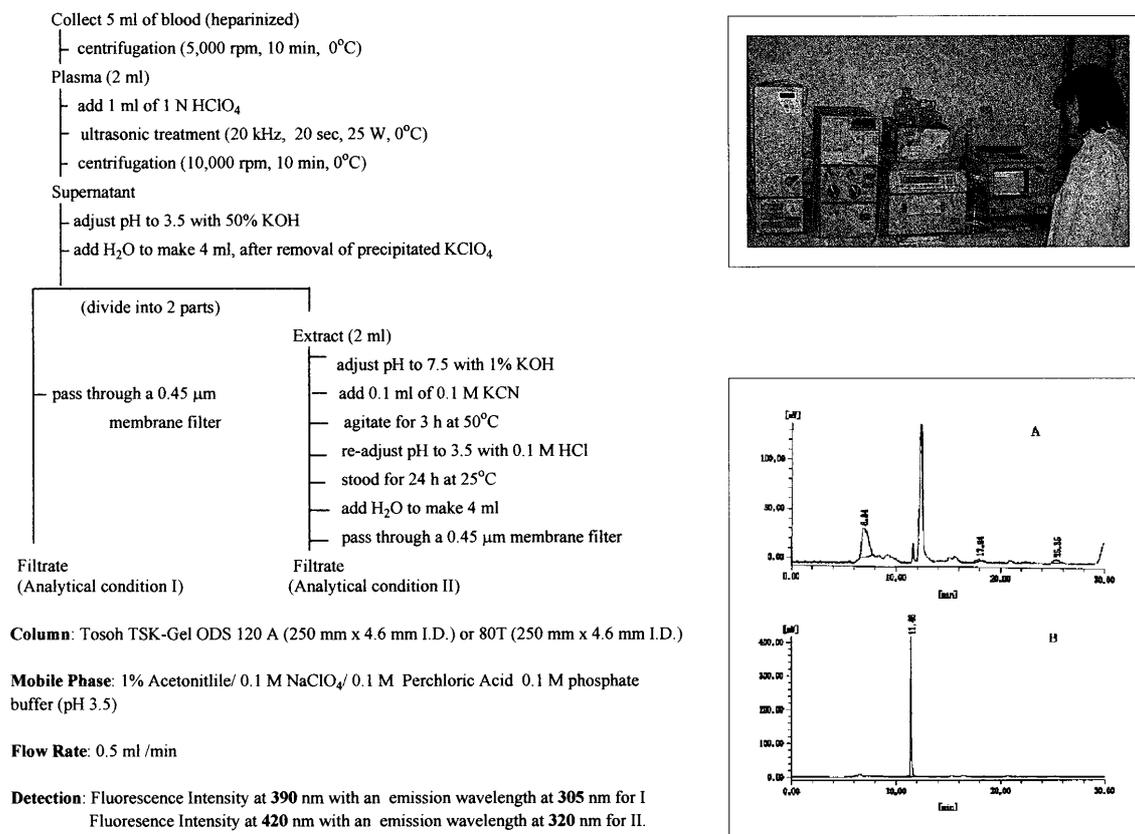


図-5 HPLC法による生体試料中のビタミンB₆誘導体の分析スキーム¹⁸⁾，装置及びヒト血漿中の分析パターン (A：Analytical Condition I, B: Analytical Condition II)

っており、全てのB₆誘導体を一度に分析することは困難である。むしろ、PLPだけを分析する方法として完成させた方が得策であると考えた。結果的に、全ビタミンB₆濃度を定量するためには、2回の分析を必要とするが、生体試料中のビタミンB₆誘導体を、分析するシステムを構築することが出来た(図-5)。現在、この方法¹⁸⁾は、ヒトの血中ビタミンB₆濃度の定量等に活用されている。しかし、私たちはこの方法が完成した分析法であるとは考えていない。さらに高感度かつより簡便で、ビタミンB₆誘導体に特異的な分析法の開発を目指して研究中である。

ここで、その一端を紹介しよう。新しい分析法のアイデアは、ビタミンB₆の構造的特性に依存している。ビタミンB₆活性を有する化合物は例外なく2-methyl-3-hydroxy-4-derivatized-5-hydroxymethyl pyridineであり、6-位にはプロトンが結合している。

この6-位には種々の化合物が結合する特性をもっている²⁰⁾。例えば、ビタミンB₆の定性反応の試薬であるGibbsの試薬(dichloroquinone chloride)は、6位に結合し青色に発色する。図-6に示したように検出感度の高い蛍光試薬をレポーターグループとして選択すれば、充分実用可能と考える。

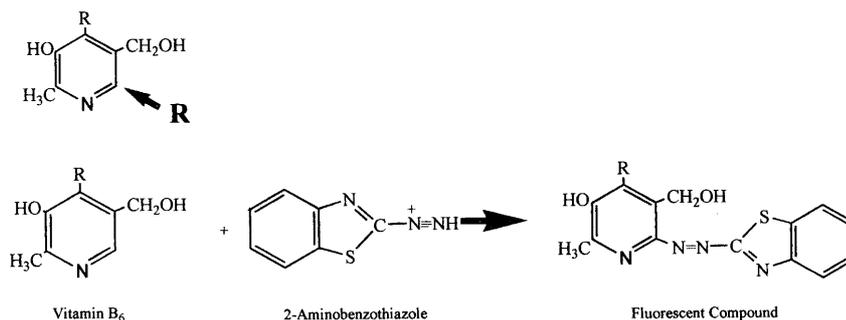


図-6 ビタミンB₆誘導体の反応特性。矢印の位置(6-位)で求核試薬(R)と反応する

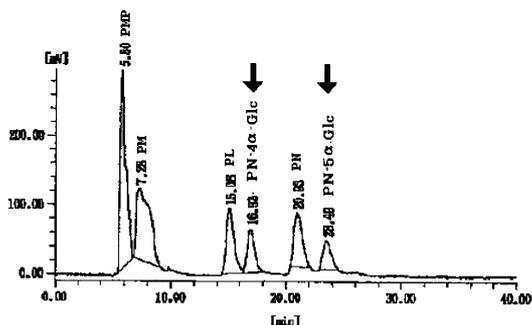


図-7 HPLC法によるヒト血漿中のビタミンB₆化合物の分析

Analytical condition I での分析パターン，矢印が内部標準（PN-4 α -GlcとPN-5 α -Glc）（分析条件は図-5 参照）

かり，以後使われなくなった。最近，我々は，ビタミンB₆誘導体のHPLC分析において内部標準として有望な化合物を探しあてた。すなわち，Pyridoxine-4'- α -glucoside（通称；PN-4 α -Glc）及びPyridoxine-5'- α -glucoside（通称；PN-5 α -Glc）で，植物及び微生物が生産する α -アミラーゼの転移反応を利用して合成²²⁾できる。この化合物の光学的特性は，他のビタミンB₆誘導体と殆んど変わらず，HPLCにおける溶出位置はチャート（図-7）に示した通りである。しかも，PNと比較して，光に対して安定であるので，生体試料や食品分析の際に内部標準として一定量を添加して，その回収率を基準として定量値を確定することが出来る。

7. 新しい試み——その2

次の問題は，遊離のPLPが示す生理作用に関する課題である。1981年以来，Cidlowskiら^{9), 23) -25)}のグループが報告してきた遺伝子の発現段階におけるPLPの役割が，生理的濃度の条件下でおきているということを証明するための実験系の構築である。彼等の用いた方法は培養細胞を用いた系である。すなわち，遊離のビタミンB₆の作用が，薬理作用ではなく，生理的な反応であることを証明する必要がある。それには細胞内のPLP濃度を生理濃度の5倍とか10倍に増加させることが必要である。こうした状態をどうやって作り上げるかが問題となる。これまでの実験では，欠乏状態は作ることが可能であるが，その逆の状態を作り上げることは極めて困難な仕事である。特に興味があるのは，岡ら^{26) -29)}が報告した，転写調節因子であるHNF1, C/EBP等へのPLPの結合が，DNAへの結合を抑制し，mRNA合成を調節するという仮説（図-8）は大変魅力的であるが，核中におけるビタミンB₆の動態を調べた報告は無く，検証する必要がある。そのためにも，微量しか存在しない全ビタミンB₆誘導体を一度に分析できる方法の開発が必要である。

謝 辞

本論文を作成するに当たり，未発表データの提供にご協力いただいた伊佐保香（岐阜大学大学院連合農学研究科1年）氏に感謝いたします。

ビタミンB₆誘導体の定量分析におけるもう1つの問題点は，適当な内部標準物質が無いことであろう。通常，分析化学では適当な内部標準物質もしくはスタンダード（標準物質）を用いて，分析操作の校正もしくは確認を行う。内部標準物質として適する化合物は，分析しようとする物質と化学的性質が近く，安定で，かつ，目的物質の分析を妨害しない物質でなければならない。そうした物質として適当な物質が見つからない場合もある。かつて，ビタミンB₆誘導体のHPLC分析でDeoxypyridoxine（DOPN）²¹⁾が用いられたが，この物質の蛍光強度は他のB₆誘導体と若干異なっており，他のB₆誘導体の分析に妨害になることがわ

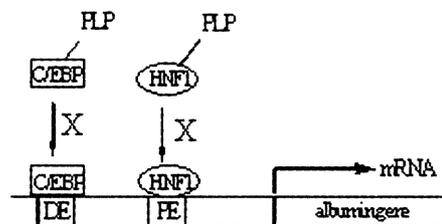


図-8 PLPによるアルブミン遺伝子発現の調節機構²⁶⁾

DE; distal element, PE; proximal element, PLPが結合することによって，転写調節因子が結合できなくなり，mRNAの合成を調節する

文 献

- 1) 島藺順雄, 万木庄次郎: '第10章 ビタミンB-6', "ビタミン[II] - 研究史を中心として -" (共立出版) pp. 212-234, 1980.
- 2) Martell, A. E.: 'Reaction pathways and mechanisms of pyridoxal catalysis' in "Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology" ed. by Meister, A. (Academic Press, US), Vol. 53, p. 163-199, 1982.
- 3) 'Vitamin B₆' in "Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B₆, Folate, Vitamin B₁₂, Pantothenic acid, Biotin and Choline", National Academy Press, US, pp.150-195, 1998.
- 4) Anderson, B. B., Peart, M. B. & Fulford-Jones, C.E.: The measurement of serum pyridoxal by a microbiological assay using *Lactobacillus casei*. J. Clin. Path. 23: 232-242, 1970.
- 5) Osborne, D. R. & Voogt, P.: "The Analysis of Nutrients in Foods" (Academic Press, US), pp. 244-248, 1978.
- 6) Sauberlich, H. E.: Newer laboratory methods for assessing nutriture of selected B-complex vitamins. Ann. Rev. Nutr. 4: 377-407, 1984.
- 7) Williams, A.K. & Cole, P.D.: Vitamin B₆. Ion exchange chromatography of pyridoxal, pyridoxol, and pyridoxamine. J. Agric. Food Chem. 23: 915-916, 1975.
- 8) Gregory, J. F.: Determination of pyridoxal 5'-phosphate as the semicarbazone derivative using high-performance liquid chromatography. Anal. Biochem. 102: 374-379, 1980.
- 9) Compton, M. M. & Cidlowski, J. A.: Vitamin B₆ and glucocorticoid action. Endocrine Rev. 7: 140-148, 1986.
- 10) Monaghan, A. & Hay, R. T.: Pyridoxal 5'-phosphate inhibition of adenovirus DNA polymerase. J. Biol. Chem. 271: 24242-24248, 1996.
- 11) Ink, S. L. & Henderson, L. M.: Vitamin B₆ metabolism. Ann. Rev. Nutr. 4: 455-470, 1984.
- 12) Tsuge, H., Oda, T. & Miyata, H.: Separation and determination of vitamin B-6 derivatives by reversed-phase HPLC. Agric. Biol. Chem. 50: 195-197, 1986.
- 13) Tsuge, H., Toukairin-Oda, T., Shoji, T., Sakamoto, E., Mori, M. & Suda, H.: Fluorescence enhancement of PLP for application to HPLC. Agric. Biol. Chem. 52: 1083-1086, 1988.
- 14) 柘植治人, 広瀬尚孝: 高速液体クロマトグラフィーによるビタミンB₆誘導体の分析. ビタミン, 63: 349-360, 1989.
- 15) Toukairin-Oda, T., Sakamoto, E., Hirose, N., Mori, M., Itoh, T. & Tsuge, H.: Determination of vitamin B-6 derivatives in foods and biological materials by reversed-phase HPLC. J. Nutr. Sci. Vitaminol. 35: 171-180, 1989.
- 16) Hirose, N., Kubo, N. & Tsuge, H.: Highly sensitive determination of PLP in human plasma with HPLC method. J. Nutr. Sci. Vitaminol. 36: 521-529, 1990.
- 17) Tsuge, H., Hirose, N., Toukairin-Oda, T. & Hayakawa, T.: 'Highly sensitive and simple determination of vitamin B₆ derivatives using a reversed-phase HPLC' in "Enzymes Dependent on Pyridoxal Phosphate and Other Carbonyl Compounds as Cofactors" ed. by Fukui, T., et al (Pergamon Press, Oxford), pp. 625-627, 1991.
- 18) Tsuge, H.: 'Determination of vitamin B₆ vitamers and metabolites in a biological sample' in "Methods in Enzymology", ed. by McCormick, D. B., Suttie, J. W. & Wagner, C., (Academic Press, US), Vol. 280, pp.3-12, 1997.
- 19) 柘植治人: 哺乳動物におけるビタミンB₆化合物及びホモシステインの新しい栄養機能に関する解析的研究. ビタミン, 77: 147-161, 2003.
- 20) Pesez, M. & Bartos, J.: 'Phenols' in "Colorimetric and Fluorimetric Analysis of Organic Compounds and Drugs" (Marcel Dekker, US), pp.75-114, 1974.
- 21) Lim, K. L., Young, R. W. & Driskell, J. A.: Separation of vitamin B₆ compounds by high-performance liquid chromatography. J. Chromatogr. 188: 285-288, 1980.

- 22) Suzuki, Y., Doi, Y., Uchida, K. & Tsuge, H.: 'Enzymatic preparation of pyridoxine 4'- and 5'- α -D-glucosides' in "Methods in Enzymology", ed. by McCormick, D. B., Suttie, J. W. & Wagner, C., (Academic Press, US) , Vol. 280, pp.66-71, 1997.
- 23) O'Brien, J. M. & Cidlowski, J. A.: Interaction of pyridoxal phosphate with glucocorticoid receptors from HeLa S3 cells. *J. Steroid Biochem.* 14: 2687-2691, 1981.
- 24) Allgood, V. E., Powell, F. E. & Cidlowski, J. A.: Vitamin B₆ influences glucocorticoid receptor-dependent gene expression. *J. Biol. Chem.* 265: 12424-12433, 1990.
- 25) Allgood, V. E. & Cidlowski, J. A.: Vitamin B₆ modulates transcriptional activation by multiple members of the steroid hormone superfamily. *J. Biol. Chem.* 267: 3819-3824, 1992.
- 26) 岡達三：ビタミンB₆による遺伝子発現の制御. *日農化誌*, 72: 1187-1190, 1998.
- 27) Oka, T., Komori, N., Kuwahata, M., Sassa, T., Suzuki, I., Okada, M. & Natori, Y.: Vitamin B₆ deficiency causes activation of RNA polymerase and general enhancement of gene expression in rat liver. *FEBS Lett.* 331: 162-164, 1993.
- 28) Oka, T., Komori, N., Kuwahata, M., Okada, M. & Natori, Y.: Vitamin B₆ modulates expression of albumin gene by inactivating tissue-specific DNA-binding protein in rat liver. *Biochem. J.* 309: 243-248, 1995.
- 29) Oka, T., Kuwahata, M., Sugitatsu, H., Tsuge, H., Asagi, K., Kohri, H., Horiuchi, S. & Natori, Y.: Modulation of albumin gene expression by amino acid supply in rat liver is mediated through intracellular concentration of pyridoxal 5'-phosphate. *J. Nutr. Biochem.* 8: 211-216, 1997.