薬 学 雑 誌
YAKUGAKU ZASSHI
107 (1) 1-16 (1987)

N-アセチルシステイン抱合体の新代謝経路 関連酵素を中心として

立石 満,* 富澤宏樹, 深沢英雄, 市原成泰
日本ロシュ研究所生化学部, 〒247 神奈川県鎌倉市梶原 200

Metabolism of N-Acetylcysteine Conjugates and Related Enzymes

MITSURU TATEISHI,* HIROKI TOMISAWA, HIDEO FUKAZAWA,
and SHIGEYASU ICHIHARA

Department of Biochemistry, Nippon Roche Research Center,
200 Kajiwara, Kamakura, Kanagawa, 247, Japan

Mercapturic acids (N-acetylcysteine conjugates) are converted to methylthio-containing metabolites by the action of several enzymes; deacetylases for mercapturic acids, C-S lyases for cysteine conjugates, aminotransferase for cysteine conjugates, C-S lyase for thiopyruvic acid conjugates, and methyltransferases for thiols. Methylsulfides thus formed are subsequently oxidized to methylsulfoxides or methylsulfones prior to excretion. In some cases methylsulfoxides are susceptible to enzymatic reduction.

Keywords—mercapturic acid metabolism; mercapturic acid deacetylase; cysteine conjugate β -lyase; C-S lyase; cysteine conjugate aminotransferase; thiol methyltransferase; methylsulfide oxidation; methylsulfoxide reductase; cysteine conjugate renal toxicity

1. はじめに

我々ヒトを含めすべての生物種は常に無数の化学物質の海で生活していると言っても過言ではない。これら化学物質のうち、いわゆる生体異物と称される物質群は、何等かの理由で生体内に取り込まれた場合、一般には極性化反応を受け、水溶性の物質に変換された後速やかに排泄される。この極性化反応は生体異物の除去(解毒)という点で重要な生体防御機構の1つであり、このような機構を獲得した生物種のみが現在生存を許されていると言えよう。生体異物の代謝(極性化)反応は酸化、還元、加水分解反応から成る第Ⅰ相反応と、内因性物質あるいはそれに由来する物質と生体異物が共有結合する第Ⅱ相反応に大別される。この第Ⅱ相反応により一部の例外(メチル化反応、メチルチオ化反応あるいは多くのアセチル化反応)を除いて、母化合物の水溶性は著しく増大する。このため第Ⅱ相反応も生体異物の除去という上述の観点からは第Ⅰ相反応と同様重要な意義を有しており、多くの研究者により精力的な検討がなされてきた。しかし、従来の異物代謝の研究はどちらかと言うと、主代謝物あるいは比較的簡単な構造の代謝物の構造解明あるいは生成機構に重点が置かれ、微量あるいは不安定なため等の要因で構造決定の困難な代謝物の研究はほとんど行われなかった。しかし、分離・分析技術面における近年の進歩は、従来構造決定の困難であった代謝物の研究にも著しい進展をもたらし、ひいては新代謝経路の発見にもつながって来ている。

今回紹介するメルカプツール酸(N-アセチルシステイン抱合体)の新代謝経路も高分解能質量分析計を駆使したメチルチオ基含有代謝物の構造決定を端緒とし、その後の有機化学的、酵素学的研究により明らかにされた経路である。即ち、ベンゾジアゼピン系薬物の1つである抗不安薬ブロマゼパムの代謝を当研究室で検討していたところ、当時ほとんど報告例の無かったメチルチオ化代謝物(6'-メチルチオブロマゼパム)及びその酸化体がラット尿中から見出だされた。その後の *in vivo* 及び *in vitro* 実験により対応するメルカプツール酸あるいはシステイン抱合体が本代謝物の前駆体であることが判明したわけである。

本稿では、メルカプツール酸のメチルチオ化体への変換過程で主要な役割を果たしていると考えられる酵素及

び生成したメチルチオ化体のその後の代謝的変換(酸化,還元)を中心に現在までに明らかにされている幾つかの事実をまとめてみた。

2. グルタチオン抱合体代謝経路の概観

上述のごとくメチルチオ化体はメルカプツール酸あるいはシステイン抱合体より生成する(後述のごとく一部の生成機構の関与も考えられる)。このことはメチルチオ化反応がグルタチオン抱合体代謝反応の1つであることを意味している。Fig. 1に1950年代より知られているまたFig. 2に近年明らかとなったグルタチオン抱合体代謝経路を示した。即ち、グルタチオン抱合体は主に肝臓あるいは腎臓において γ -グルタミルトランスぺプチダーゼによりまずシステイニルグリシン抱合体に、次いで、ペプチダーゼMなどのアミノペプチダーゼによるグリシル基の開裂によりシステイン抱合体に変換される。¹⁾ システイン抱合体は、これも主として腎臓あるいは肝臓においてN-アセチル化反応を受けてメルカプツール酸となり排泄される(Fig. 1)。¹⁾ 従来はメチルシステイン抱合体等²⁾ 特殊な例を除いてはこのようなメルカプツール酸産生系が唯一のグルタチオン抱合体の代謝経路と考えられていた。

一方我々が明らかにしたメチルチオ化体生成経路では、チオール体が中間体として少なくとも2つの異なった経路を経て生成している(Fig. 2)。³⁻⁵⁾ 即ち、経路の1つはシステイン抱合体(メルカプツール酸のN-脱アセチル化又はシステイニルグリシン抱合体の加水分解により生成)のC-S結合開裂であり(Fig. 2, 経路1)、他の1つはシステイン抱合体の脱アミノ化とそれに続くチオピルビン酸抱合体のC-S結合開裂である(Fig. 2, 経路2)。

ここで各組織及び各動物種におけるチオール体生成活性について触れると、ラットでは比活性、総活性ともに肝臓が最も高く、その他腎臓及び大腸粘膜に活性が認められた(Table I)。⁶⁾ 大腸内容物中の活性は腸内細菌に由来する。各種動物の肝 105000 g

Fig. 1. Route of Formation of Mercapturic Acid

TABLE I. Distribution of Activity of Thiol Formation in the Rat

Tissue	Relative activity ^{a)} (%)
Liver	9.5
Kidney	0.3
Stomach	
Mucosa	0.0
Contents	0.0
Small intestine	
Mucosa	0.0
Contents	1.1
Large intestine	
Mucosa	0.3
Contents	100

a) Triplicate determinations with *S*-(*p*-bromophenyl)-L-cysteine as substrate.

TABLE II. Activity of Formation of Thiol in Mammalian Hepatic Cytosol

Animal	Specific activity: formation of 2,4-dinitrophenyl-methylsulfide (nmol/mg protein/min)
Rat	
Male (<i>n</i> =3)	0.267 ± 0.049
Female (<i>n</i> =3)	0.306 ± 0.028
Mouse	
Male (<i>n</i> =3)	0.240 ± 0.042
Female (<i>n</i> =3)	0.171 ± 0.020
Hamster, male (<i>n</i> =3)	0.172 ± 0.037
Guinea pig, male (<i>n</i> =1)	0.199
Rabbit, male (<i>n</i> =1)	0.499
Man, male (<i>n</i> =1)	0.134

Fig. 2. Metabolic Pathway of Mercapturic Acid

上清における活性 (Table II) はウサギが最も高く, *S*-(2,4-ジニトロフェニル)-*L*-システインを基質とした場合チオール体の生成量は 0.5 nmol/mg 蛋白/min であった.⁶⁾ またラット, マウス, ハムスターの肝臓はほぼ同等の活性を示し 0.2—0.3 nmol/mg 蛋白/min の速度でチオール体を生成した.⁶⁾ ヒト肝臓中にもチオール体生成酵素活性は認められ,⁶⁾ 本反応 (Fig. 2, 経路 1 及び 2) は哺乳動物全般で起きていると考えられる。

このようにして生成したチオール体は主として *S*-メチル基転位酵素によりメチル化されてメチルチオ化体に変換される.^{7,8)} メチルチオ化体は前駆体であるメルカプツール酸あるいはシステイン抱合体は勿論のこと, 母化合物よりも極性の低い場合が多く, 一般には更にイオウ原子が酸化されて対応するメチルスルホキシドあるいはメチルスルホン体を生成する。一方, メチルスルホキシドに特異的に作用する還元酵素の存在も確認されており,⁹⁾ メチルチオ化体への逆反応が本代謝経路において重要な役割を演じている可能性も考えられる。

3. メチルチオ化体生成関連酵素

メチルチオ化体生成経路 (Fig. 2) に関与していると考えられる酵素としては, メルカプツール酸の *N*-脱アセチル化酵素, システイン抱合体 *C*-*S* 結合開裂酵素, システイン抱合体アミノ基転位酵素, チオピルビン酸抱合体の *C*-*S* 結合開裂酵素, チオール体の *S*-メチル化酵素が挙げられる。以下順次これら酵素の精製, 性質等について述べる。

3-1. メルカプツール酸 *N*-脱アセチル化酵素 アセチル基を ^{14}C で標識した [*N*-アセチル- ^{14}C]-*S*-フェニル-*L*-システインをラットに腹腔内投与したところ, 投与後 24 h までの尿中に排泄された *N*-アセチル-*S*-フェニル-*L*-システインの比放射活性は投与時の 1/10 以下に減少していた (富沢ら, 未発表データ)。このことはメルカプツール酸が生体内で脱アセチル化反応を受けている可能性を強く示唆していた。事実, メルカプツール酸 *N*-脱アセ

チル化酵素活性はヒトを始めラット、ハムスター、モルモット、ウサギ、イヌ、ブタ等多くの動物の肝臓及び腎臓の 105000 *g* 上清に認められている。^{8,10,11} 一般に、*N*-脱アセチル化酵素の比活性は腎臓>肝臓の順であるが、総酵素活性は圧倒的に肝臓が高いようである。メルカプツール酸の加水分解を触媒する酵素としては腎アシラーゼ I [EC. 3.5.1.14], アシラーゼ III 及び肝臓由来の酵素が現在までに報告されている。^{11,13}

3-1-1. 腎アシラーゼ I [EC. 3.5.1.14]——本酵素はカラムクロマトグラフィ等を用いた通常の酵素精製法に従い、ブタ腎臓より単一蛋白として上清の 300—350 倍に精製されている。¹² 分子量は 76500 であり、1 mol 蛋白当たり 1 min 間に 20000 mol の *N*-アセチル-L-メチオニンを加水分解する。メチオニン、ロイシン等の内因性脂肪酸アミノ酸の *N*-アセチル体に対する特異性が高く、芳香族 *N*-アセチルアミノ酸に対する活性は極めて低い。¹²

メルカプツール酸に対する基質特異性を市販の精製ブタ腎臓アシラーゼ I (シグマ社) を用いて検討した。^{8,13} その結果 *S*-置換基がエチルあるいはブチル等のアルキル基の場合には *N*-アセチル-L-メチオニンに対するとほぼ同等の活性を示すが、*S*-置換基が芳香族化合物である *S*-アリルメルカプツール酸の基質活性は著しく低い (Table III)。

3-1-2. 腎アシラーゼ III——アシラーゼ III は、アシラーゼ I とは異なり内因性芳香族 *N*-アセチルアミノ酸に高い活性を有する酵素である。遠藤によりラット腎臓より部分精製 (20000 *g* 上清のおよそ 100 倍) された酵素 (分子量 55000) の *N*-アセチル-L-トリプトファンに対する *K_m* 値は 0.096 mM であり、至適 pH は 7.5—9 である。¹⁴

我々は遠藤の方法に従ってアシラーゼ III をラット腎臓より精製し、メルカプツール酸に対する活性を検討した (Table III)。^{8,13} *N*-アセチル-L-チロシンあるいは *N*-アセチル-L-トリプトファン等の内因性 *N*-アセチルアミノ酸に対する活性よりは低いものの、*S*-アリルメルカプツール酸抱合体に対しても比較的高い活性を示す。脂肪酸化合物の *S*-アルキルメルカプツール酸は基質活性をほとんど示さない。

3-1-3. 肝 *N*-脱アセチル化酵素——ラット肝 105000 *g* 上清中の *N*-脱アセチル化酵素を硫酸分画、各種カラム・クロマトグラフィを用い、*N*-アセチル (*p*-ニトロベンジル)-L-システインを基質として精製した。^{11,13} 精製酵素は分子量 35000±1000 のサブユニット 4 個から構成されている。上記基質に対する至適 pH は 8.5 付近に認

TABLE III. Substrate Specificity of Deacetylases

Substrate	Enzyme specific activity (nmol/min/mg protein) ^{a, b)}		
	Rat liver deacetylase	Rat kidney acylase III	Hog kidney acylase I
<i>N</i> -Acetyl- <i>S</i> -(<i>p</i> -nitrobenzyl)-L-cysteine	308 (32.0)	589 (21.5)	23
<i>N</i> -Acetyl- <i>S</i> -benzyl-D,L-cysteine	148 (15.4)	489 (17.9)	43
<i>N</i> -Acetyl- <i>S</i> -benzyl-D-cysteine	ND	ND	ND
<i>N</i> -Acetyl- <i>S</i> -(<i>p</i> -bromophenyl)-L-cysteine	152 (15.8)	NM	NM
<i>N</i> -Acetyl- <i>S</i> -ethyl-L-cysteine	ND	61 (2.2)	770
<i>N</i> -Acetyl- <i>S</i> -butyl-L-cysteine	ND	109 (4.0)	489
<i>N</i> -Acetyl-L-cysteine	ND	ND	694
<i>N</i> -Acetyl-L-tyrosine	537 (55.7)	1750 (63.9)	11
<i>N</i> -Chloroacetyl-L-tryptophan	964 (100)	2740 (100)	ND
<i>N</i> -Acetyl-D-tryptophan	ND	ND	ND
<i>N</i> -Acetyl-L-methionine	26 (2.7)	194 (7.1)	744
<i>N</i> -Acetyl-L-leucine	ND	80 (2.9)	920
<i>N</i> -Acetyl-D-leucine	ND	ND	ND
<i>N</i> -Chloroacetyl-D,L-alanine	19 (2.0)	117 (4.3)	862
<i>N</i> -Acetyl-L-aspartic acid	ND	ND	ND
4-Acetamidobenzoic acid	ND	ND	ND
<i>N</i> -Acetylsulfanilamide	ND	ND	ND
Acetanilide	ND	ND	ND

a) Numbers in parentheses represent relative rate for each substrate. b) ND, nondetectable; NM, not measured.

められ、 K_m 値は 0.38 mM である。本酵素活性はチオール試薬 (エチルマレイミド, PCMB 等) により 10—30% 程度阻害される。

精製酵素は *S*-アルキルメルカプツール酸には作用せず、*S*-アリルメルカプツール酸にのみ高い活性を示す (Table III)。内因性 *N*-アセチルアミノ酸に対しても同様の特異性を示し、*N*-アセチル-L-チロシン等の芳香族 *N*-アセチルアミノ酸に特異的に作用する。脂肪族 *N*-アセチルアミノ酸には活性を示さない。

上述のごとく肝臓から精製した酵素は腎アシラーゼ III と類似した基質特異性を示すが、分子量 (アシラーゼ III は 55000, 肝 *N*-脱アセチラーゼは 145000 ± 10000) 及び金属イオン効果 (Co^{2+} により本酵素活性は 20% 程度活性化されるがアシラーゼ III では活性化は一切認められない) 等に差が認められる。¹³⁾

ラット肝臓には脂肪族 *N*-アセチルアミノ酸に高い活性を有するアシラーゼ I 様酵素の存在も報告されており,¹⁴⁾ 肝臓にも腎臓と同様 *S*-アルキルメルカプツール酸を基質とする酵素が存在しているものと考えられる。

以上、従来は最終排泄形態と考えられていたメルカプツール酸が生体内で再びシステイン抱合体に変換されることが *in vivo* 及び *in vitro* 実験の結果から明らかにされている。

3-2. システイン抱合体 C-S 結合開裂酵素 システイン抱合体の C-S 結合開裂反応を触媒する酵素としてはシステイン抱合体 β -リアーゼ及びシスタチオナーゼがある。

TABLE IV. Substrate Specificity of β -Lyases

Substrate	Relative activity (%) ^{a)}		
	Rat hepatic β -lyase	Human hepatic β -lyase	β -Lyase from <i>F. varium</i>
<i>S</i> -(2,4-Dinitrophenyl)-L-cysteine	69.0	NM	80.5
<i>S</i> -(2,4-Dinitrophenyl)-D-cysteine	0	NM	0
<i>S</i> -(2,4-Dinitrophenyl)-cysteamine	0.7	NM	NM
<i>N</i> -Acetyl- <i>S</i> -(2,4-dinitrophenyl)-L-glutathione	0	NM	0
<i>S</i> -(2,4-Dinitrophenyl)-L-glutathione	0	NM	0
<i>S</i> -(2,4-Dinitrophenyl)-DL-homocysteine	0.3	NM	NM
<i>S</i> -(<i>p</i> -Bromophenyl)-L-cysteine	100	100	100
<i>S</i> -(<i>p</i> -Bromophenyl)-D-cysteine	0	0	0
<i>N</i> -Acetyl- <i>S</i> -(<i>p</i> -bromophenyl)-L-cysteine	0	0	0
<i>S</i> -(<i>p</i> -Bromophenyl)-thiopyruvic acid	NM	0	NM
<i>S</i> -(<i>p</i> -Bromophenyl)-L-glutathione	NM	0	NM
<i>S</i> -(<i>p</i> -Bromophenyl)-cysteamine	NM	0	NM
<i>S</i> -Phenyl-L-cysteine	NM	30	NM
<i>S</i> -Phenyl-L-cysteine sulfoxide	NM	260	NM
<i>S</i> -Naphthyl-DL-cysteine	NM	16	NM
<i>S</i> -(<i>p</i> -Nitrobenzyl)-DL-cysteine	6.9	NM	106
<i>S</i> -Benzyl-L-cysteine	NM	0	95.0
<i>S</i> -Methyl-L-cysteine	0	0	41.2
<i>S</i> -Ethyl-L-cysteine	0	0	NM
<i>S</i> -1-Propyl-L-cysteine	NM	0	NM
<i>S</i> -2-Propyl-L-cysteine	NM	0	NM
<i>S</i> -1-Butyl-L-cysteine	NM	0	NM
<i>S</i> -tert-Butyl-L-cysteine	NM	0	NM
<i>S</i> -1-Hexyl-L-cysteine	NM	0	NM
<i>S</i> -Cyclohexyl-L-cysteine	0	0	23.3
L-Cysteine	0	0	20.8
DL-Lanthionine	NM	0	NM
L-Methionine	0	0	17.7
L-Homoserine	0	0	0
L-Kynurenine	NM	0	NM
DL-Cystathionine	0	0	21.1

a) NM, not measured.

3-2-1. システイン抱合体 β -リアーゼ [EC. 4. 4. 1. 13]——本酵素はラットとヒトの肝臓並びにある種の腸内常在菌から精製されている。^{7,15-21)}

ラット肝臓中酵素は 105000 g 上清に局在している。^{7,15-17)} 精製酵素 (105000 g に対する活性比: 4500) は分子量約 100000 で熱に対して安定であり, 60°C 5 min 間の熱処理によっても有意な活性の消失は示さない. *S*-(2,4-ジニトロフェニル)-*L*-システインを基質とした場合至適 pH を 7.4—8.8 に示し, K_m 値は 0.1 mM である. ヒドロキシルアミン (1 mM) により 80% 近く阻害されるが, チオール試薬, 重金属による影響は認められない. ピリドキサルリン酸要求性の酵素でありヒドロキシアパタイト・カラムクロマトグラフィ後にホロ酵素が得られる.¹⁵⁾ 本酵素の以上の性質及び後述のごとく *L*-キヌレニンにも作用しアントラニル酸を生成する事実から, ニコチン酸の生合成に重要な役割を果たしているキヌレニナーゼと本酵素は同一である可能性が指摘されている.²²⁾

本酵素の基質特異性を Table IV に示した.^{6,7)} 基質活性を有するシステイン抱合体のシステイン部分に関しては *L* 配位の遊離のアミノ基及びカルボキシル基が必須であり, メルカプツール酸, *S*-置換システアミンあるいは *D*-システイン抱合体では活性は認められない. また *S* 置換基に関しては芳香環が直接イオウ原子に置換している化合物に高い基質特異性を示す. *S*-1,2-ジクロロビニル-*L*-システインも同様に高い基質活性を有するが,^{17,23)} 直鎖脂肪族化合物あるいは脂環式化合物が *S*-置換基である *S*-アルキル-*L*-システイン抱合体は基質活性を示さない. システイン抱合体以外で基質活性を示す物質としては β -クロロアラニン及び上記 *L*-キヌレニンがある.²⁴⁾

本酵素はシステイン抱合体を基質とした場合には対応するチオール体とピルビン酸及びアンモニアをほぼ等モルずつ生成する. 更に本酵素に対して安定な *L*-アラニンあるいは *L*-セリンが反応生成物として認められないことから, β -リアーゼは式 1 に示すごとく α,β -脱離反応を触媒していると考えられる.

一方, *L*-キヌレニンに対しては γ -カルボニル炭素部分における加水分解反応を触媒しアントラニル酸と *L*-アラニンを生成する (式 2).

式 1 及び 2 の反応は一見全く異なるように見えるが, Fig. 3 に示したように両反応ともシステイン抱合体あるいは *L*-キヌレニンのアミノ基がピリドキサルリン酸のアルデヒド基と Schiff 塩基を形成し, α 炭素が活性化されて進むものと考えられる. 即ち, 両基質とピリドキサルリン酸は共通の中間体である Schiff 塩基 (Fig. 3, 構造式 III) を形成するがシステイン抱合体は経路 1 を経て, また *L*-キヌレニンは経路 2 を経てそれぞれチオール体及びアントラニル酸を与えるものと考えられる. またシステイン抱合体が基質の場合には生成したチオール体の高い反応性のために自殺基質として作用している可能性が指摘されている.¹⁷⁾

ヒト肝 105000 g 上清より精製した β -リアーゼ (105000 g 上清に対する活性比: 876) は分子量約 88000 (ゲル濾過法) であり, *S*-(*p*-ブロモフェニル)-*L*-システインを基質とした場合の至適 pH は 8.5 付近に認められ, K_m 値は 0.7 mM である.¹⁸⁾ システイン抱合体に対する基質特異性はラット肝 β -リアーゼと同様にシステイン部分に関しては *L* 配位の遊離のアミノ基及びカルボキシル基が必須であり, *S*-置換基としては芳香環が直接イオウ原子に置換している場合に最も高い活性を示す (Table IV). システイン抱合体の酸化体であるシステインスルホキンド抱合体は対応するシステイン抱合体よりも著しく高い基質活性を示す (Table IV) (ラット肝 β -リアーゼも同様にシステインスルホキンド抱合体の C-S 結合に対し高い活性を有する. 富沢ら, 未発表データ).

システインスルホキンド抱合体が排泄形態として報告されている例は極めて少ない. しかしその高い基質活性のために本抱合体はたとえ生体内で生成したとしても β -リアーゼにより直ちに分解され, 代謝物として確認されえない可能性が十分考えられる. 事実, ラット肝ミクロソーム分画を用いて行った我々の予備的実験においては, システインスルホキンド抱合体の生成が確認されている (立石ら, 未発表データ).

ヒト肝 β -リアーゼとラット肝 β -リアーゼの大きな相違は, 熱安定性 (ヒト酵素の活性は 60°C 2 min 間の熱処

Fig. 3. A Postulated Reaction Mechanism for β -Lyase

理で完全に消失するがラット肝 β -リアーゼでは 60°C 5 min 間の熱処理後も活性は消失しない) 及び基質特異性 (ラット肝 β -リアーゼの基質である L-キヌレニンにヒト β -リアーゼは作用しない) に認められる。^{7,18)} このことはヒト肝 β -リアーゼがキヌレニナーゼと異なった酵素であることを示唆している。

腎臓中 β -リアーゼの十分な精製は行われていない。しかし Stevens らによれば、腎臓には少なくとも 2 種類の β -リアーゼが存在しており、一方は可溶性画分に他方はミトコンドリア画分に認められる。²⁵⁾ 両酵素の基質特異性には差があり、ミトコンドリア画分の酵素は *S*-(1,2-ジクロロビニル)-L-システインに高い活性を示すが *S*-(2-ベンゾチアゾリル)-L-システインに対する活性は低いのにに対し、可溶性画分に存在する酵素ではこれとは逆の基質特異性が認められると彼等は報告している (しかし Lash らの実験ではこのような相違は観察されず²⁶⁾ 現時点では腎臓由来の β -リアーゼの基質特異性に関しては若干の混乱が認められる)。また抗体を用いた実験からラット肝システイン抱合体 β -リアーゼと腎可溶性画分及びミトコンドリア画分のそれは異なった酵素であることが推定されている。²⁵⁾

興味深いことは *S*-(1,2-ジクロロビニル)-L-システイン等のシステイン抱合体あるいはグルタチオン抱合体 (Table V) をラットに投与すると腎細胞の壊死が観察されることである。²⁷⁻²⁹⁾ β -リアーゼの特異的な阻害剤であるアミノオキ酢酸をラットに *S*-(1,2-ジクロロビニル)-L-システインと同時に投与した場合あるいは β -リアーゼの基質とはならない *S*-(1,2-ジクロロビニル)-D, L- α -メチルシステインを投与した場合には腎壊死あるいはそれに伴う BUN の上昇、尿グルコース濃度の上昇は認められない。²⁸⁾ 以上の事実から Anders は Table V に示したシステ

インないしグルタチオン抱合体の毒性発現に β -リアーゼが関与している可能性を指摘している。²⁸⁾

またこの毒性発現はミトコンドリアにおける呼吸系の阻害によることが示唆されている。²⁶⁾ しかし活性チオール体が Fig. 2, 経路 2 を経ても生成することを考慮するならば, これら抱合体の毒性発現をすべて β -リアーゼにのみ帰することには疑問がある。

以上, 哺乳動物に存在する β -リアーゼについて最近の知見を紹介したが, 多くの腸内常在菌も β -リアーゼ活性を有する。^{19,20,30)} 動物を抗生物質で処置した場合あるいは無菌動物を用いた場合, メチルチオ化体あるいはその酸化体の排泄が著しく減少することが実験的に確かめられており,³¹⁾ これら代謝物の生成に腸内細菌が大きく関与していることは明白である。腸内細菌のうち比較的高い β -リアーゼ活性を有する菌種としては, *Eubacterium limosum*, *Eubacterium contortum*, *Bacteriodes hypermegas*, *Fusobacterium varium*, *Fusobacterium plauti*, *Fusobacterium nucleatum*, *Peptostreptococcus productus*, *Selenomonas ruminantium* が報告されている。^{19,20,30)} これら細菌のうち *F. varium* 及び *F. limosum* の β -リアーゼはそれぞれ我々¹⁹⁾ 及び Larsen と Stevens²⁰⁾ により精製されている。*F. varium* より精製した酵素は分子量約 70000 で, *S*-(*p*-ブロモフェニル)-L-シ

ステインを基質とした場合, 至適 pH を 7.5—8.0 に有する。¹⁹⁾ 一方, *E. limosum* の β -リアーゼは分子量 38000 のサブユニット 2 個から成る分子量 75000 の酵素で, *S*-(2-ベンゾチアゾリル)-L-システインに対する K_m 値は 0.73 mM であり至適 pH は 7.8 である。²⁰⁾ *F. varium* 由来の酵素はチオール試薬による阻害を受けないが *E. limosum* では阻害が認められている。また両酵素ともピリドキサルリン酸要求性の可能性が高く, 哺乳動物の β -リアーゼと同様チオール体, ピルビン酸, アンモニアをほぼ等モルずつ生成する。Table IV に *F. varium* より精製した酵素の基質特異性を示したが, これら細菌より精製した酵素はいずれも哺乳動物の β -リアーゼよりも低い基質特異性を示す。即ち, 哺乳動物の酵素は *S* 置換基が脂肪鎖あるいは脂環式化合物である *S*-アルキルシステイン抱合体には上述のごとく活性を示さないのに対し, 菌 β -リアーゼは *S*-メチルあるいは *S*-エチル-L-システイン及び *S*-ベンジル-L-システインにも比較的高い活性を示す。一方, システイン部分に対する特異性は厳密であり哺乳動物の場合と同様 L 配位の遊離のアミノ基及びカルボキシル基が必須である。更に *F. varium* の β -リアーゼは L-シスタチオニン, ゼンコール酸, L-ランチオニン, L-シスチン等の生体内アミノ酸にも作用し C-S 結合開裂を触媒することが確認されている。¹⁹⁾

3-2-2. シスタチオナーゼ [EC. 4.4.1.1]—上述のごとくシステイン抱合体 β -リアーゼは *S*-アシルシステインに主として作用する。しかし, ラット肝ホモジネートには *S*-アルキルシステイン抱合体に作用しチオール体を生成する酵素活性が認められたため, 我々は比較的高い基質活性を示した *S*-(*tert*-ブチル)-L-システインを基質として当該酵素の精製を試みその性質を検討した。³²⁾ 本酵素は *S*-アシルシステイン抱合体には全く活性を示さないが *n*-プロピル, *iso*-プロピル, *n*-ブチル, *tert*-ブチルあるいはシクロヘキシルのシステイン抱合体に作用してチオール体, ピルビン酸及びアンモニアをほぼ等モルずつ生成する (Table VI)。更にホモセリン, シスタチオニン, システイン等内因性アミノ酸にも高い活性を示す。この内因性アミノ酸に対する基質特異性及びピリドキサルリン酸を補酵素として要求することなどから, 精製酵素とシスタチオナーゼは同一酵素であろうと考えられた。

シスタチオナーゼは L-シスタチオニンに作用して α, γ 脱離反応を行いシステイン, α -ケト酸及びアミノ酸を生

TABLE V. Glutathione and Cysteine *S*-Conjugates of Halogenated Hydrocarbons That Are Nephrotoxic

Compound	A R=Gluta- thione	B R=Cysteine
I	+	+
II	+	+
III	N.D.	+
IV	+	+
V	+	+
VI	+	N.D.

N.D., not determined.

成する反応, ホモセリンの酸化的脱アミノ化反応あるいは硫化水素, イオウ及び2当量のピルビン酸とアンモニアを生成するシスチンの分解反応 (α,β -脱離反応) 等を触媒する多機能酵素である。

S-(*tert*-ブチル)-L-システインを基質として精製した酵素とシスタチオナーゼが同一酵素であることは以下の実験事実からもほぼ間違いないものと思われる。即ち, *tert*-ブチル-L-システインを基質としたチオール体生成反応活性とシスタチオナーゼの特異的基質であるホモセリンの脱アミノ化活性の比は, 各精製段階 (硫酸分画, 熱処理, アルコール処理, ヒドロキシアパタイト・カラムクロマトグラフィ, ゲル濾過) を通じてほぼ一定であり (Table VII), また精製酵素の熱安定性 (両基質に対する酵素活性は 50°C 5 min 間の熱処理により影響を受けない) あるいは種々の酵素阻害剤に対する挙動 (アミノオキシ酢酸, β -シアノアラニン, ヒドロキシルアミン等で阻害される) 等が両基質を用いた実験においてほぼ一致する。

一方, Binkley は 1950 年に *S*-メチル-, *S*-エチル-等比較的短鎖の *S*-アルキルシステイン抱合体の C-S 結合を開裂する酵素を部分精製し, チオナーゼと命名している。³³⁾ これら抱合体に対する活性は上記シスタチオナーゼの精製の際に用いた熱処理により失われる。したがって, シスタチオナーゼとチオナーゼは別の酵素であるとも考えられるが, その異動に関しては更に検討を必要とする。

以上の結果はラットの肝臓には *S*-メチル-L-システインを始め種々の *S*-アルキルシステイン抱合体の C-S 結合開裂を触媒する酵素も存在し, 特に *S* 置換基がプロピル基より長い場合にはシスタチオナーゼが関与している可能性を強く示唆している。シスタチオナーゼは種々の動物あるいは菌でその存在が報告されており, 多くの哺乳動物の組織において *S*-アルキルシステイン抱合体もチオール体に変換されている可能性が高い。

3-3. システイン抱合体アミノ基転位酵素 システイン抱合体は上述の β -リアーゼの作用によるばかりではなく, 脱アミノ化反応を受けチオピルビン酸抱合体を経てチオール体に変換されうることの先に述べた (Fig. 2, 経路 2)。⁵⁾

この経路 2 の反応に関与している酵素のうち, システイン抱合体の脱アミノ化反応を触媒する酵素の存在はいくつかの *in vivo*^{2,34,35)} 実験の結果より推定されていたが, 我々が本酵素の精製あるいは性質について検討を加えるまでは, 当該酵素の研究はほとんどなされていなかった。

ラットの組織ホモジネートを酵素源とし, *S*-(*p*-ブロモフェニル)-L-システインを基質とした実験では脱アミノ化酵素活性は種々の組織に認められ, 特に肝臓及び腎臓に高い活性が存在している。^{36,37)} ラット肝臓の活性は

TABLE VI. Substrate Specificity of Cystathionase in Rat Liver

Substrate	Relative activity
<i>S</i> -(<i>tert</i> -Butyl)-L-cysteine	100
L-Cysteine	80
<i>S</i> -Methyl-L-cysteine	0
<i>S</i> -Ethyl-L-cysteine	0
<i>S</i> -(1-Propyl)-L-cysteine	38
<i>S</i> -(2-Propyl)-L-cysteine	90
<i>S</i> -(1-Butyl)-L-cysteine	9
<i>S</i> -Cyclohexyl-L-cysteine	98
<i>S</i> -(<i>p</i> -Bromophenyl)-L-cysteine	0
L-Homoserine	237
β -Chloro-L-alanine	442

The following substances were inactive as substrate: *S*-phenyl-L-cysteine, *S*-benzyl-L-cysteine, *S*-benzyl-D-cysteine, *N*-acetyl-*S*-(*p*-bromophenyl)-L-cysteine, and *S*-(1,2-dichlorovinyl)-L-cysteine.

TABLE VII. Ratio of Activity toward *S*-(*tert*-Butyl)-L-cysteine and L-Homoserine during Purification of Cystathionase

Purification step	Activity toward <i>S</i> -(<i>tert</i> -butyl)-L-cysteine (A)	Activity toward L-homoserine (B)	(A)/(B)
	Units	Units	
1. Liver cytosol	67.8	157	0.431
2. Ammonium sulfate fractionation	44.2	111	0.398
3. Heat treatment	34.3	90.1	0.381
4. Alcohol treatment	20.8	54.8	0.379
5. Hydroxyapatite	18.1	43.6	0.414
6. Gel filtration	15.8	38.3	0.413

105000 g 上清とミトコンドリア画分にほぼ同量ずつ局在している。³⁷⁾ またモルモット、ハムスター、ウサギ、イヌ等の肝臓にもラット同様高い酵素活性が認められる。

ラット肝可溶性画分に存在する酵素は硫安分画、各種クロマトグラフィを組み合わせると約 400 倍に精製されている。本酵素は分子量約 48000 のサブユニット 2 個からなる分子量 87000 ± 5000 の酵素である。S-(*p*-ブロモフェニル)-L-システインに対する至適 pH は約 6.0 に認められ、 K_m 値は 3.5 mM である。システイン抱合体のアミノ基を単にアンモニアとして脱離するのではなく、 α -ケトグルタル酸へ転位し、当量のチオピルビン酸と L-グルタミン酸を生成する反応を触媒している (式 3)。

システイン抱合体あるいは生体内アミノ酸に対する活性を Table VIII に示した。システイン抱合体の中では S-(*p*-ブロモフェニル)-L-システインが最も高い基質活性を示すが、S-アルキルシステイン抱合体を含めすべてのシステイン抱合体が基質活性を有する。内因性アミノ酸に関しては L-システインスルフィオン酸及び L-アスパラギン酸が高い基質活性を示し、特に L-システインスルフィオン酸の活性は S-(*p*-ブロモフェニル)-L-システインの 11 倍に達していた。一方、アミノ基受容体としては α -ケトグルタル酸が極めて高い活性を示した。その他の α -ケトカルボン酸は α -ケトコハク酸に若干の活性が認められた以外、受容体活性を示さなかった (Table IX)。本酵素はチオール試薬により阻害されないが、ヒドロキシルアミン及びアミノオキシ酢酸により強く阻害され、多くの内因性アミノ酸アミノ基転位酵素と同様に、ピリドキサルリン酸要求性の酵素である可能性が示唆された。また L-アスパラギン酸及び L-システインスルフィオン酸によるシステイン抱合体脱アミノ化反応の阻害も観察された。

本酵素の内因性アミノ酸基質及び α -ケト酸基質に対する特異性、分子量、阻害剤に対する挙動はすべて L-アスパラギン酸アミノ基転位酵素 [EC. 2.6.1.1] のそれ³⁸⁾と一致していた。また L-アスパラギン酸アミノ基転位酵素の最も良い基質である L-システインスルフィオン酸に対する活性とシステイン抱合体に対する活性の比は精製の過程を通じてほぼ一定の値を示した (Table X)。以上の結果より本酵素と L-アスパラギン酸アミノ基転位酵素とは同一である可能性が考えられる。

TABLE VIII. Substrate Specificity of Cysteine Conjugate Aminotransferase

Substrate	Relative activity
S-(<i>p</i> -Bromophenyl)-L-cysteine	100
S-Benzyl-L-cysteine	28
S-Phenyl-L-cysteine	34
S-Dichlorovinyl-L-cysteine	11
S-Ethyl-L-cysteine	6
S-(1-Propyl)-L-cysteine	26
S-(2-Propyl)-L-cysteine	15
S-(1-Butyl)-L-cysteine	44
S-Cyclohexyl-L-cysteine	4
L-Aspartic acid	465
L-Cysteine	6
L-Kynurenine	16
L-Glutamine	3
L-Tryptophan	3
L-Cysteine sulfinic acid	1120

The following substances were inactive as substrate: S-(*p*-bromophenyl)cysteamine, S-benzyl-D-cysteine, S-phenyl-L-cysteine sulfoxide, S-methyl-L-cysteine, S-ethyl-L-cysteine sulfoxide, S-(*tert*-butyl)-L-cysteine, glycine, L-alanine, L-serine, L-taurine, L-methionine, L-leucine, L-ornithine, L-asparagine, L-lysine, L-tyrosine, L-phenylalanine, L-histidine, L-dopa, and pyridoxamine.

本酵素は熱に対して比較的高い安定性を示すものの、S-(*p*-ブロモフェニル)-L-システインと L-アスパラギン酸を基質とした場合の熱安定性に相違が認められた (Fig. 4)。即ち、前者を基質とした場合には 60°C 以上 5 min 間の熱処理により著しい活性の消失が認められるが、後者を基質とした場合には 70°C 5 min 間の熱処理後でも活性の消失は認められなかった。

このような熱安定性における差異は酵素活性中心に存在するそれぞれの基質に対する親和性部位に熱

TABLE IX. Specificity of Cysteine Conjugate Aminotransferase toward α -Keto-carboxylic Acid

α -Ketocarboxylic acid	Relative activity
α -Ketoglutaric acid	100
α -Ketosuccinic acid	12
Pyruvic acid	0
α -Ketobutyric acid	0
α -Ketoisocaproic acid	0
Glyoxalic acid	0

TABLE X. Ratio of Transamination Activity toward *S*-(*p*-Bromophenyl)-L-cysteine, L-Cysteine Sulfinic Acid, and L-Aspartic Acid at Each Purification Step

Purification step	Activity toward <i>S</i> -(<i>p</i> -bromophenyl)- L-cysteine (A)	Activity toward L-cysteine sul- finic acid (B)	Activity toward L-aspartic acid (C)	B/A	C/A
	Unit	Unit	Unit		
1. Liver cytosol	13.9	184	133	13.2	9.6
2. Ammonium sulfate fractionation	13.1	164	91.0	12.5	6.9
3. DEAE-cellulose	6.24	90.2	33.4	14.5	5.4
4. Hydroxyapatite	2.61	29.2	10.8	11.2	4.1
5. Gel filtration	2.25	25.3	9.45	11.2	4.2

安定性の点で差があるためと現段階では考えている。

内因性アミノ酸から生成した α -ケトカルボン酸は、一般には更に酸化脱炭酸反応を受け炭素鎖の短縮したカルボン酸を与えることが知られている。事実、ある種の化合物では *in vivo* においてチオピルビン酸抱合体を経て生成したと考えられるチオ酢酸抱合体が単離されている。^{34,35)}

一方、我々はラット肝臓あるいは腎臓の主として 105000 *g* 上清にチオピルビン酸抱合体の C-S 結合を開裂してチオール体を生成する酵素が存在していることを見出した。本酵素の精製は当研究室において目下進行中であるが、*S*-(*p*-ブロモフェニル)-3-チオピルビン酸を基質とした場合 105000 *g* 上清中の蛋白 1 mg 当たりのチオール体生成量は 30–50 nmol/min である。

3-4. *S*-メチル基転位酵素 上述の酵素群の作用により生成したチオール体は少なくとも 2 種類のメチル基転位酵素 (チオール *S*-メチル基転位酵素及びチオプリン *S*-メチル転位酵素) によりメチル化される。³⁶⁾

3-4-1. チオール *S*-メチル基転位酵素——本酵素は多くの哺乳動物、鳥類に分布しており、ミクロソーム、核あるいはミトコンドリア画分に局在している。³⁶⁾ 本酵素のテトラヒドロフルフリルスルフィドに対するラット組織の比活性は大腸粘膜で最も高く、次いで肝臓、肺、腎臓にも比較的高い活性が存在する (総酵素活性では肝臓 > 腎臓 > 肺 > 消化管粘膜)。^{40,41)} 腸内容物には活性がないことより、腸内細菌は本酵素を有していない可能性が高い。

Weisiger 及び Jakoby は、ラット肝チオール-*S*-メチル基転位酵素の精製を行い、粗抽出画分の 10000 倍の比活性を有する酵素標品を得ている。⁸⁾ 本酵素はメチル基供与基質として *S*-アデノシル-L-メチオニンを要求し、その基質特異性は厳密である。一方、メチル基受容体であるチオール体には低い基質特異性を示す (Table XI) が、アミノ基、水酸基には作用しない。

本酵素の生理的意義はその分布様式等から見てチオール体の解毒と考えられている。即ち、肝臓、腎臓あるいは腸内細菌の酵素の作用により生成するチオール体や硫化水素は求核性も高く毒性も強い。しかしこれらチオール化合物のほとんどは腸粘膜、肝臓、腎臓中に存在する本酵素により化学的に反応性の低いメチルチオ化体

Fig. 4. Effect of Heat Treatment on the Activity of Aminotransferase toward *S*-(*p*-Bromophenyl)-L-cysteine and L-Aspartic Acid

The enzyme, which had been subjected to heat-treatment at 0, 25, 37, 50, 55, 60, 65, and 70°C for 5 min, was incubated with *S*-(*p*-bromophenyl)-L-cysteine (●) and L-aspartic acid (○).

に変換され毒性発現に至らないものと考えられる。

3-4-2. チオプリン *S*-メチル基転位酵素——本酵素は微生物、鳥類及び哺乳動物に広く分布している。⁴²⁾ ラット組織中の活性は腎臓で最も高く、次いで肝臓、腸、脾臓に比較的高い活性が認められる。^{43,44)} 本酵素は 10000 *g* 上清に局在し、ミクロソーム画分には存在しない。当該酵素の精製はほとんど行われていないが、その基質特異性は比較的に詳細に研究されており、*S*-アデノシル-L-メチオニン存在下チオピリミジン及びチオプリンのチオール基をメチル化するが水酸基もしくはアミノ基には活性を示さないことが明らかにされている。⁴²⁾ このように基質特異性が高いためチオプリン *S*-メチル基転位酵素が多く、の薬物のメチルチオ化に関与している可能性は低いと考えられる。しかしグアニン *N*-オキシドの例に見られるようにプリン骨格を有する化合物のメチルチオ化体が代謝物として単離されている⁴⁵⁾ ことから、本酵素の関与を考慮する必要がある場合もあると考えられる。

4. メチルチオ化体の酸化と還元

以上メルカプツール酸あるいはシステイン抱合体の新しい代謝様式であるメチルチオ化体生成に関連していると考えられる酵素について総括した。しかしメチルチオ基含有代謝物は多くの場合そのままの形態で排泄される例は少なく、先にも述べたごとくメチルスルホキシドあるいはメチルスルホン体に酸化された後排泄される。一方、メチルスルホキシドのメチルチオ化体への逆反応も認められており、以下ではメチルチオ化体の酸化、還元について簡単に述べてみる。

4-1. メチルチオ基酸化酵素 メチルチオ基を含む種々のスルフィド基の酸化は多くの薬物に認められる反応であるにも拘わらず、本反応に関与している酵素についての我々の知見は必ずしも多いとは言えない。現在までに報告されている関連酵素は少なくとも 3 種類あり、その 1 つは精巢ミクロソーム中のプロスタグランジン合成ペルオキシダーゼである。⁴⁶⁾ このペルオキシダーゼは抗炎症薬であるスリンドックの還元代謝物のメチルチオ基酸化を触媒することが報告されている。他の 2 つの酵素はフラビン含有モノキシンゲナーゼ⁴⁷⁾ とチトクローム P-450⁴⁸⁾ である。前者の酸化生成物は立体特異的であり基質と酵素が直接相互作用していると考えられるが、後者による酸化生成物は立体非特異的であり P-450 から放出された活性酸素種とスルフィド基が反応している可能性が高い。いずれの酵素に関しても酵素学的な知見は少ない。

これら酵素の作用により生成したスルホキシド体は更にスルホン体にまで酸化されることが多いが我々の知る限り本酵素に関する研究はない。

4-2. メチルスルホキシド還元酵素 生体異物のスルホキシド還元は多くの化合物に認められる反応であるが、この場合にも関連酵素に関する研究は比較的少ない。現在までに報告されているスルホキシド還元を触媒する酵素としては辰巳らによるアルデヒドオキシダーゼ⁴⁹⁾ 及び *p*-ブロモフェニルメチルスルホキシドを基質として当研究室で部分精製した 2 種類の還元酵素がある。^{9,50)} アルデヒドオキシダーゼについての説明は成書に譲るとしてここでは我々が精製した酵素の性質等について紹介する。

当該酵素の還元活性はチオレドキシン系 (チオレドキシン、チオレドキシン還元酵素及び NADPH から成る) に依存しており、種々の動物の肝臓及び腎臓に認められる。ここでチオレドキシン系について若干説明するならば、チオレドキシンは分子量がおおよそ 10000 のチオール含有蛋白質であり、それ自体には還元活性はないがチオレドキシン還元酵素によりジスルフィド → チオール変換を容易に受ける。⁵¹⁻⁵³⁾ 還元型チオレドキシンは他酵

TABLE XI. Substrate Specificity of Thiol *S*-Methyltransferase

Substrate	Apparent K_m (mM)	Apparent V_{max} (nmol/mg/min)
<i>p</i> -Chlorothiophenol	0.00054	6.2
Phenyl sulfide	0.0011	6.1
4-Nitrothiophenol	0.0028	7.5
Diethylthiocarbamyl sulfide	0.012	3.5
2-Thioacetanilide	0.043	7.6
Hydrogen sulfide	0.064	7.8
2-Benzimidazole thiol	0.11	2.4
Thioglycolic acid	0.19	3.7
L-Cysteine methyl ester	0.21	1.4
Methanethiol	0.24	0.9
<i>N</i> -Acetyl-L-cysteine	0.40	1.0
6-Propyl-2-thiouracil	1.0	6.4
2-Mercaptopropionic acid	1.2	3.1
1-Methylimidazole-2-thiol	1.4	2.0
2,3-Dimercaptopropanol	1.6	5.5
2-Mercaptoethanol	8.1	5.4
Dithiothreitol	—	<0.02
L-Cysteine	—	<0.0002
Glutathione	—	<0.0001

素と共役して比較的酸化還元電位の低い官能基を還元する.^{54,55)} また還元型チオレドキシンは高濃度のジチオスレイトールと置き換える事ができることが知られている.^{56,57)}

チオレドキシンの代わりにジチオスレイトールを用い、硫黄分画及び各種カラムクロマトグラフィを適宜組み合わせ、ラット腎臓から精製した2種類の還元酵素の分子量はそれぞれ 12000 ± 1000 (SR-I と命名) 及び 24000 ± 1000 (SR-II) である.^{9,50)} *p*-ブロモフェニルメチルスルホキシドを基質とした場合、SR-I の至適 pH は 7.5—8.0 で K_m 値は 2.8 mM であり、SR-II の至適 pH は 9.5 で K_m 値は 1.3 mM である。両酵素ともメチオニンスルホキシドあるいは種々の生体外メチルスルホキシド化合物に対し高い活性を有するが、メチル基をエチル基あるいはプロピル基に置換した場合には活性は認められない (Table XII)。メチルスルホキシド体以外で基質活性を示した化合物はテトラメチレンスルホキシドである。以上の基質特異性の結果は両酵素ともその活性部位の空間が比較的狭くかつ柔軟性に乏しいことを示唆していると考えられる。また両酵素と

TABLE XII. Substrate Specificity of Sulfoxide Reductases

Substrate	Relative activity	
	Reductase I	Reductase II
<i>p</i> -Bromophenylmethyl sulfoxide	100	100
<i>p</i> -Hydroxyphenylmethyl sulfoxide	56.9	97.9
Naphthylmethyl sulfoxide	81.1	35.8
2-Pyridylmethyl sulfoxide	92.7	61.0
<i>p</i> -Bromobenzylmethyl sulfoxide	35.4	<1
<i>p</i> -Bromophenylethyl sulfoxide	6.4	3.1
<i>p</i> -Bromophenylpropyl sulfoxide	<1	<1
Tetramethylene sulfoxide	323	346
Butylmethyl sulfoxide	298	N.M.
Dibutyl sulfoxide	<1	<1
Diphenyl sulfoxide	<1	<1
Methionine sulfoxide	51.3	48.3
<i>p</i> -Nitrobenzaldehyde	<1	<1

TABLE XIII. Representative Compounds Forming Methylthio Metabolites

Compound	Formula	Metabolite
Acetamidothiazole		
AF-2		
Bromovaleryl urea	$(CH_3)_2CHCH(Br)CONHCONH_2$	$(CH_3)_2CHCH(SCH_3)CONHCONH_2$
Bromoazepam		
Naphthalene		
Acetaminophen		

もアルデヒド基の還元は触媒しない。

本酵素の生理的な役割は今後の解明を必要とする。しかし内因性物質であるメチオニンスルホキシドの還元も触媒することから、システイン抱合体から生成するメチルスルホキシド体がメチオニンスルホキシドの生体内挙動に何等かの影響を与えている可能性が考えられ興味深い。

5. おわりに

以上主として *in vitro* の実験結果をもとに話しを進めて来たが、現在までにメチルチオ化体あるいはその酸化体が排泄形態として報告された例は数多い。

たとえばフェナセチン,⁵⁸⁾ アセトアミドチアゾール,⁵⁹⁾ カフェイン,⁶⁰⁾ ブロムワレリル尿素,⁶¹⁾ プロマゼパム,⁶²⁾ カルバマゼピン,⁶³⁾ プロパクロル,⁶⁴⁾ プロプラノロール,⁶⁵⁾ AF-2,⁶⁶⁾ ナフタレン,⁶⁷⁾ フェナントレン,⁶⁸⁾ メクロクアロン,⁶⁹⁾ クロザピン,⁷⁰⁾ あるいは種々のハロゲン化芳香族⁷¹⁾ 及び脂肪族化合物が挙げられる。Table XIII にこれら化合物の幾つかとそのメチルチオ化体の構造を示した。メチルチオ化体あるいはその酸化体が代謝物として報告された動物種としては、ヒト (フェナセチン,⁵⁸⁾ カルバマゼピン⁶³⁾), マウス (PCB,⁷²⁾ トリクロロベンゼン⁷³⁾), ラット (プロマゼパム,⁶²⁾ AF-2⁶⁶⁾ 等), ハムスター (パラセタモール⁷⁴⁾), モルモット (フェナントレン⁶⁸⁾), ウサギ (ブロムワレリル尿素,⁶¹⁾ カフェイン,⁶⁰⁾ クロザピン⁷⁰⁾), イヌ (フェナセチン⁵⁸⁾), ヒツジ (プロパクロル⁶⁴⁾), アザラシ (PCB⁷²⁾), ウマ (カフェイン⁶⁰⁾) がある。

またメチルチオ化体生成機構としては Fig. 2 に示した以外にメチオニンのメチルチオ基が活性中間体に転位してメチルチオ化体が生成するという Miller らの説がある⁷⁵⁻⁷⁷⁾ (Fig. 5)。少なくとも一部のメチルチオ化体がこの経路を経て生成していることは実験結果から見て正しいものと考えられる。しかし、以下に述べる理由から量的にはこの経路の寄与は極めて少ないと言えよう。即ち、第一にメチオニンのチオエーテル性イオウの求核性はグルタチオンのチオール基のそれと比較して著しく低いこと、第二に生体内特に肝臓におけるグルタチオンあるいはシステイン量は、メチオニン量よりもかなり多く、たとえチオエーテル基と反応しうる活性代謝中間体が生成してもそれらのほとんどはこれらチオール化合物に捕獲され、メチオニン由来のイオウと反応する量は限られたものと考えられる。

今回紹介した生体異物のメルカプツール酸あるいはシステイン抱合体の代謝反応は、内因性物質のこれら抱合体にも起きている可能性が十分予測できる。本代謝経路の生理的意義を解明するためにはこの方面からの検討が必要と思われる。

引用文献

- 1) 立石 満, “薬物代謝の比較生化学,” 加藤隆一, 釜滝哲也 (編), 清至書院 (株), 東京, 1983, p. 467.
- 2) J. L. Wood, “Metabolic Conjugation and Metabolic Hydrolysis,” W. H. Fishman ed., Academic Press, N.Y., 1970, p. 261.
- 3) M. Tateishi, *Drug Metab. Rev.*, **14**, 1207 (1983).
- 4) 立石 満, 富沢宏樹, 市原成泰, 蛋白質, 核酸, 酵素, **30**, 130 (1985).
- 5) H. Tomisawa, H. Fukuzawa, S. Ichihara, M. Tateishi, *Biochem. Pharmacol.*, **35**, 2270 (1986).
- 6) M. Tateishi, “Enzymatic Basis of Detoxication,” Vol. 2, W. B. Jakoby, ed., Academic Press, N.Y.,

Fig. 5. A Postulated Mechanism for the Formation of a Methylthio Compound from 2-Acetylaminofluorene

- 1980, p. 121.
- 7) M. Tateishi, S. Suzuki, *J. Biol. Chem.*, **253**, 8854 (1978).
 - 8) R. A. Weisiger, W. B. Jakoby, *Arch. Biochem. Biophys.*, **196**, 631 (1979).
 - 9) H. Fukazawa, H. Tomisawa, S. Ichihara, M. Tateishi, *J. Pharmacobio-Dyn.*, **9**, s-23 (1986).
 - 10) H. G. Bray, S. P. James, *Biochem. J.*, **74**, 394 (1960).
 - 11) S. Suzuki, M. Tateishi, *Drug Metabol. Dispos.*, **9**, 573 (1981).
 - 12) F. H. Burns, C. Schulze, *Biochem. Z.*, **336**, 162 (1962).
 - 13) 立石 満, 鈴木修司, 小板橋千代, 第11回薬物代謝と薬効・毒性シンポジウム公演要旨集, 名古屋, 1979, p. 25.
 - 14) Y. Endo, *Biochim. Biophys. Acta*, **523**, 207 (1978).
 - 15) M. Tateishi, *Methods Enzymol.*, **77**, 253 (1981).
 - 16) D. M. Dohn, M. W. Anders, *Anal. Biochem.*, **120**, 379 (1982).
 - 17) J. Stevens, W. B. Jakoby, *Mol. Pharmacol.*, **23**, 761 (1983).
 - 18) H. Tomisawa, S. Ichihara, H. Fukazawa, N. Ichimoto, M. Tateishi, I. Yamamoto, *Biochem. J.*, **235**, 569 (1986).
 - 19) H. Tomisawa, S. Suzuki, S. Ichihara, H. Fukazawa, M. Tateishi, *J. Biol. Chem.*, **259**, 2588 (1984).
 - 20) G. L. Larsen, J. L. Stevens, *Mol. Pharmacol.*, **29**, 97 (1985).
 - 21) G. L. Larsen, J. D. Larson, J.-A. Gustafsson, *Xenobiotica*, **13**, 689 (1983).
 - 22) J. L. Stevens, *J. Biol. Chem.*, **260**, 7945 (1985).
 - 23) A. A. Elfarra, M. W. Anders, *Pharmacologist*, **26**, 239 (1984).
 - 24) W. B. Williams, J. Stevens, *Biochem. Soc. Transact.*, **12**, 33 (1985).
 - 25) J. L. Stevens, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **129**, 499 (1985).
 - 26) L. H. Lash, A. A. Elfarra, M. W. Anders, *J. Biol. Chem.*, **261**, 5930 (1986).
 - 27) J. Stevens, P. Hayden, G. Taylor, *J. Biol. Chem.*, **261**, 3325 (1986).
 - 28) A. A. Elfarra, M. W. Anders, *Biochem. Pharmacol.*, **33**, 3729 (1984).
 - 29) J. A. Nash, J. K. Laurence, A. L. Edward, G. Trever, *Toxicol. Applied Pharmacol.*, **73**, 124 (1984).
 - 30) G. L. Larsen, *Xenobiotica*, **15**, 199 (1985).
 - 31) S. Suzuki, H. Tomisawa, S. Ichihara, H. Fukazawa, M. Tateishi, *Biochem. Pharmacol.*, **31**, 2137 (1982).
 - 32) H. Tomisawa, N. Ichimoto, M. Tateishi, *Xenobiotica*, submitted.
 - 33) F. Binkley, *Methods Enzymol.*, **16**, 100 (1977).
 - 34) K. Gorler, G. Krumbiegel, W. H. Mennicke, *Xenobiotica*, **12**, 535 (1982).
 - 35) W. Stillwell, M. Horning, M. Griffin, W. Tsang, *Drug Metabol. Dispos.*, **10**, 624 (1982).
 - 36) 富沢宏樹, 市本範子, 市原成泰, 深沢英雄, 立石 満, 第18回薬物代謝と薬効・毒性シンポジウム, 金沢, 1986.
 - 37) H. Tomisawa, N. Ichimoto, H. Ichihara, H. Fukazawa, M. Tateishi, *J. Biol. Chem.*, submitted.
 - 38) A. E. Braunstein, "The Enzymes," Vol. 9, P. D. Boyer, H. A. Lardy, K. Myrback, ed., 2nd ed., Academic Press, N.Y., 1973, p. 379.
 - 39) 立石 満, 市原成泰, "薬物代謝の比較生化学," 加藤隆一, 釜滝哲也 (編), 清至書院 (株), 東京, 1983, p. 485.
 - 40) R. A. Weisiger, L. M. Pinkus, W. B. Jakoby, *Biochem. Pharmacol.*, **29**, 2885 (1980).
 - 41) T. Fujita, Z. Suzuoki, *J. Biochem.*, **74**, 717 (1973).
 - 42) C. N. Remy, "Transmethylation and methionin biosynthesis," ed. by S. Shapiro, F. Shlenk. University of Chicago Press, Chicago, 1965, p. 107.
 - 43) C. N. Remy, *J. Biol. Chem.*, **238**, 1078 (1963).
 - 44) R. H. Lindsay, B. S. Hulsay, H. Y. Aboul-Enein, *Biochem. Pharmacol.*, **24**, 463 (1975).
 - 45) G. Stohrer, G. B. Brown, *Science*, **167**, 1622 (1970).
 - 46) R. W. Egan, P. H. Gale, W. J. A. VandenHeuvel, E. M. Baptista, F. A. Kuehl, Jr., *J. Biol. Chem.*, **255**, 323 (1980).

- 47) D. M. Ziegler, "Enzymatic Basis of Detoxication," Vol. 1, W. B. Jakoby, ed., Academic Press, N.Y., 1980, p. 217.
- 48) M.-B. McCarthy, R. E. White, *J. Biol. Chem.*, **258**, 11610 (1983).
- 49) K. Tatsumi, S. Kitamura, H. Yamada, *Biochim. Biophys. Acta*, **747**, 86 (1983).
- 50) 深沢英雄, 富沢宏樹, 市原成泰, 立石 満, 第17回薬物代謝と薬効・毒性シンポジウム要旨集, 仙台, 1985, p. 31.
- 51) A. Holmgren, *Trends Biochem. Sci.*, **6**, 26 (1981).
- 52) L. Thelander, P. Reichard, *Annu. Rev. Biochem.*, **48**, 133 (1979).
- 53) A. Holmgren, B.-O. Soderberg, H. Eklund, C.-I. Bronden, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **72**, 2305 (1985).
- 54) P. Gonzales Porque, A. Baldesten, P. Reichard, *J. Biol. Chem.*, **245**, 2362 (1970).
- 55) A. Holmgren, *J. Biol. Chem.*, **254**, 9113 (1979).
- 56) A. Holmgren, *J. Biol. Chem.*, **252**, 4600 (1977).
- 57) M. W. Anders, J. H. Ratnayake, P. E. Hanna, J. A. Fuchs, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **97**, 846 (1980).
- 58) A. Focella, P. Heslin, S. Teitel, *Can. J. Chem.*, **50**, 2025 (1982).
- 59) D. H. Hunter, W. H. Chatfield, *Biochem. J.*, **134**, 879 (1973).
- 60) K. Kamei, M. Matsuda, A. Momose, *Chem. Pharmacol. Bull.*, **23**, 684 (1975).
- 61) H. Isono, *Jpn. J. Hyg.*, **23**, 79 (1977).
- 62) W. Tateishi, *Xenobiotica*, **6**, 431 (1976).
- 63) S. Goenechea, G. Eckharadt, H. D. Dersen, *K. Anal. Chem.*, **279**, 113 (1976).
- 64) J. E. Bakke, V. J. Feil, C. E. Price, *Biochem. Mass Spectrosc.*, **3**, 226 (1976).
- 65) T. Walle, *Fed. Proc.*, **36**, 961 (1977).
- 66) T. Ou, K. Tatsumi, H. Yoshimura, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **75**, 401 (1977).
- 67) W. G. Stillwell, O. J. Bousma, M. G. Horning, G. W. Griffin, K. Ishitsuka, M. Takaku, *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, **20**, 509 (1978).
- 68) K. Lertratanagkoon, M. G. Horning, B. S. Middlditch, W.-S. Tsang, G. W. Griffin, *Drug Metabol. Dispos.*, **10**, 614 (1982).
- 69) W. G. Stillwell, *Pharmacologist*, **19**, 169 (1977).
- 70) B. Stock, G. Spiteller, "Mass Spectrometry and Combined Techniques In Medicine, Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry," Tubingen, FDR ed., 1977, p. 379.
- 71) T. Mio, K. Sumino, T. Mizutani, *Chem. Pharmacol. Bull.*, **24**, 1958 (1976).
- 72) T. Mizutani, K. Yamamoto, K. Tajima, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **82**, 805 (1978).
- 73) S. Kitamura, K. Sumino, T. Mio, *Jpn. J. Hyg.*, **32**, 200 (1977).
- 74) L. T. Wong, G. Solomonraj, B. H. Thomas, *Xenobiotica*, **6**, 575 (1976).
- 75) S. S. Thorgreisson, D. J. Jollow, H. A. Sasame, I. Green, J. R. Mitchell, *Mol. Pharmacol.*, **9**, 398 (1972).
- 76) J. A. Miller, *Cancer Res.*, **30**, 559 (1972).
- 77) J. W. Cramer, J. A. Miller, E. C. Miller, *J. Biol. Chem.*, **235**, 885 (1960).