

(Maniratanachote et al. 2006). Although the dephosphorylation enzyme involved was not identified, a posttranslational modification, dephosphorylation, of P0 was suggested to be associated with the troglitazone-induced toxicity. Proteomics and system biology studies will provide new insights into troglitazone-induced toxicity.

8 Conclusions

Factors affecting the susceptibility to drug-induced hepatic injury include age, sex, co-administered drugs, genetic polymorphism, and enzyme activities catalyzing metabolic activation pathways. Idiosyncratic hepatotoxicity in human is usually unpredictable, pharmacologically independent, very rare, and not reproducible in experimental animal models, which makes it difficult to study (Lee 2003). Troglitazone is known as a typical cause of idiosyncratic hepatotoxicity and has been extensively studied for the past decade. Although a number of toxicological tests, both *in vivo* and *in vitro*, have been performed, no direct mechanism has been found that can explain why troglitazone hepatotoxicity occurred in only some individuals. We have learned from previous reports that the mechanism of troglitazone hepatotoxicity is PPAR γ -independent, that the molecular mechanisms of apoptotic cell death are most likely involved in the hepatotoxicity, and that its idiosyncratic nature may be genetically determined.

Recent findings concerning the miRNA functions in specific tissues has enabled better understanding of the molecular mechanisms of various pathologies and diseases. Among several hundred miRNAs, we first reported the involvement of miRNA on the posttranscriptional regulation of CYPs (Tsuchiya et al. 2006). The decreased expression of miR-27b is one of the causes of the high expression of CYP1B1 protein in humans (Tsuchiya et al. 2006). In addition, we found that miR-148a posttranscriptionally regulated human hepatic pregnane X receptor, resulting in a modulation of the inducible and/or constitutive levels of CYP3A4 in human liver (Takagi et al. 2008). Therefore, studies on miRNAs and their targets could contribute to elucidating the mechanism of troglitazone-induced idiosyncratic hepatotoxicity.

Acknowledgment We thank Mr. Brent Bell for reviewing the manuscript.

References

- Akai S, Hosomi H, Minami K, Tsuneyama K, Katoh M, Nakajima M, Yokoi T (2007) Knock down of γ -glutamylcysteine synthetase in rat causes acetaminophen-induced hepatotoxicity. *J Biol Chem* 282:23996–234003
- Bae MA, Song BJ (2003) Critical role of c-Jun N-terminal protein kinase activation in troglitazone-induced apoptosis of human HepG2 hepatoma cells. *Mol Pharmacol* 63:401–408

- Bae MA, Rhee H, Song BJ (2003) Troglitazone but not rosiglitazone induces G1 cell cycle arrest and apoptosis in human and rat hepatoma cell lines. *Toxicol Lett* 139:67–75
- Bolton JL, Trush MA, Penning TM, Dryhurst G, Monks TJ (2000) Role of quinone in toxicology. *Chem Res Toxicol* 13:135–160
- Bourdi M, Larrey D, Nataf J, Bernuau J, Pessayre D, Iwasaki M, Guengerich FP, Beaune PH (1990) Anti-liver endoplasmic reticulum autoantibodies are directed against human cytochrome P-450IA2. A specific marker of dihydralazine-induced hepatitis. *J Clin Invest* 85(6):1967–73
- Bourdi M, Chen W, Peter RM, Martin JL, Buters JTM, Nelson SD, Pohl LR (1996) Human cytochrome P450 2E1 is a major autoantigen associated with halothane hepatitis. *Chem Res Toxicol* 9:1159–1166
- Bova MP, Tam D, McMahon G, Mattson MN (2005) Troglitazone induces a rapid drop of mitochondrial membrane potential in liver HepG2 cells. *Toxicol Lett* 155:41–50
- Brown C, Toh BH, Pedersen JS, Clarke FM, Mackay IR, Gust I (1987) Autoantibody to aldolase in acute and chronic hepatitis. *Pathology* 19:347–350
- Ciaraldi TP, Gilmore A, Olefsky JM, Goldberg M, Heidenreich KA (1990) In vitro studies on the action of CS-045, a new antidiabetic agent. *Metabolism* 39:1056–1062
- Fan YH, Chen H, Natarajan A, Guo Y, Harbinski F, Iyasere J, Christ W, Aktas H, Halperin JA (2004) Structure–activity requirements for the antiproliferative effect of troglitazone derivatives mediated by depletion of intracellular calcium. *Bio Med Chem Lett* 44:2547–2550
- Freid J, Everitt D, Boscia J (2000) Rosiglitazone and hepatic failure. *Ann Intern Med* 132:164
- Fujiwara T, Okuno A, Yoshioka T, Horikoshi H (1995) Suppression of hepatic gluconeogenesis in long-term troglitazone treated diabetic KK and C57BL/KsJ-db/db mice. *Metabolism* 44:486–490
- Funk C, Pantze M, Jehle L, Ponelle C, Scheuermann G, Lazendic M, Gasser R (2001a) Troglitazone-induced intrahepatic cholestasis by an interference with the hepatobiliary export of the bile acids in male and female rats. Correlation with the gender difference in troglitazone sulfate formation and the inhibition of the canalicular bile salt export pump (Bsep) by troglitazone and troglitazone sulfate. *Toxicology* 167:83–98
- Funk C, Ponelle C, Scheuermann G, Pantze M (2001b) Cholestatic potential of troglitazone as a possible factor contributing to troglitazone-induced hepatotoxicity: In vivo and in vitro interaction at the canalicular bile salt export pump (Bsep) in the rat. *Mol Pharmacol* 59:627–635
- Gardner OS, Shiau CW, Chen CH, Graves LM (2005) Peroxisome proliferator-activated receptor γ -independent activation of p38 MAPK by troglitazone involves calcium/calmodulin-dependent protein kinase II and protein kinase R: Correlation with endoplasmic reticulum stress. *J Biol Chem* 280:10109–10118
- Gething MJ, Sambrook J (1992) Protein folding in the cell. *Nature* 355:33–45
- Gitlin N, Julie NL, Spurr CL, Lim KN, Juarbe HM (1998) Two cases of severe clinical and histologic hepatotoxicity associated with troglitazone. *Ann Intern Med* 129:36–38
- Gonzalo P, Lavergne JP, Reboud JP (2001) Pivotal role of the P1 N-terminal domain in the assembly of the mammalian ribosomal stalk and in the proteosynthetic activity. *J Biol Chem* 276:19762–19769
- Green S (1995) PPAR: a mediator of peroxisome proliferators action. *Mutat Res* 333:101–109
- Gut J, Christen U, Huwyler J (1993) Mechanism of halothane toxicity: Novel insights. *Pharmac Ther* 58:133–155
- Hagenbuch B, Meier PJ (2003) The superfamily of organic anion transporting polypeptides. *Biochim Biophys Acta* 1609:1–18
- Hanefeld M (2001) Pharmacokinetics and clinical efficacy of pioglitazone. *Int J Clin Pract Suppl* 121:19–25
- Haskins JR, Rowse P, Rahbari R, de la Iglesia FA (2001) Thiazolidinedione toxicity to isolated hepatocytes revealed by coherent multiprobe fluorescence microscopy and correlated with multiparameter flow cytometry of peripheral leukocytes. *Arch Toxicol* 75:425–438

- He K, Woolf TF, Kindt EK, Fielder AE, Talaat RE (2001) Troglitazone quinone formation catalyzed by human and rat CYP3A: An atypical CYP oxidation reaction. *Biochem Pharmacol* 62:191–198
- Hewitt NJ, Lloyd S, Haydan M, Butler R, Sakai Y, Springer R, Fackett A, and Li AP (2002) Correlation between troglitazone cytotoxicity and drug metabolic enzyme activities in cryopreserved human hepatocytes. *Chem Biol Interact* 142:73–82
- Holcik M, Sonenberg N (2005) Translational control in stress and apoptosis. *Nature Rev Mol Cell Biol* 6:318–327
- Homberg JC, Andre C, Abuaf N (1984) A new anti-liver-kidney microsome antibody (anti-LKM2) in tienilic acid-induced hepatitis. *Clin Exp Immunol* 55:561–570
- Honma W, Shimada M, Sasano H, Ozawa S, Miyata M, Nagata K, Ikeda T, Yamazoe Y (2002) Phenol sulfotransferase, ST1A3, as the main enzyme catalyzing sulfation of troglitazone in human liver. *Drug Metab Dispos* 30:944–952
- Inoue I, Katayama S, Takahashi K, Negishi K, Miyazaki T, Sonoda M, Komoda T (1997) Troglitazone has a scavenging effect on reactive oxygen species. *Biochem Biophys Res Comm* 235:113–116
- Isley WL, Oki JC (2000) Rosiglitazone and liver failure. *Ann Intern Med* 133:393
- Izumi T, Enomoto S, Hoshiyama K, Sasahara K, Sugiyama Y (1997a) Pharmacokinetic stereoselectivity of troglitazone, an antidiabetic agent, in the KK mouse. *Biopharm Drug Dispos* 18:305–324
- Izumi T, Hoshiyama K, Enomoto S, Sasahara K, Sugiyama Y (1997b) Pharmacokinetics of troglitazone, an antidiabetic agent: Prediction of *in vivo* stereoselective sulfation and glucuronidation from *in vitro* data. *J Pharmacol Exp Ther* 280:1392–1400
- Johnson GL, Lapadat R (2002) Mitogen-activated protein kinase pathways mediated by ERK, JNK and p38 protein kinases. *Science* 298:1911–1912
- Ju C, Uetrecht JP (2002) Mechanism of idiosyncratic drug reaction: relative metabolites formation, protein binding and the regulation of the immune system. *Curr Drug Metab* 3:367–377
- Jung JY, Yoo CI, Kim HT, Kwon CH, Park JY, Kim YK (2007) Role of mitogen-activated protein kinase (MAPK) in troglitazone-induced osteoblastic cell death. *Toxicology* 234:73–82
- Kassahun K, Pearson PG, Tang W, McIntosh I, Leung K, Elmore C, Dean D, Wang R, Doss G, Baille TA (2001) Studies on the mechanism of troglitazone to reactive intermediates *in vitro* and *in vivo*. Evidence for novel biotransformation pathways involving quinone methide formation and thiazolidinedione ring scission. *Chem Res Toxicol* 14:62–70
- Kawai K, Kawasaki-Tokui Y, Odaka T, Tsuruta F, Kazui M, Iwabuchi H, Nakamura T, Kinoshita T, Ikeda T, Yoshioka T, Komai T, Nakamura K (1997) Disposition and metabolism of the new oral antidiabetic drug troglitazone in rats, mice and dogs. *Arzneimittelforschung* 47:356–368
- Kawai K, Odaka T, Tsuruta F, Tokui T, Ikeda T, Nakamura K (1998) Stereoselective metabolism of new oral anti-diabetic agent troglitazone stereoisomers in liver. *Xenobio Metab Dispos* 13:362–368
- Kenna JG, Knight TL, van Pelt FNAM (1993) Immunity to halothane metabolite-modified proteins in halothane hepatitis. *Ann N Y Acad Sci* 685:646–661
- Kostrubsky VE, Sinclair JF, Ramachandran V, Venkataramanan WYH, Kindt E, Galchev V, Rose K, Sinz M, Strom SC (2000) The role of conjugation in hepatotoxicity of troglitazone in human and porcine hepatocyte cultures. *Drug Metab Dispos* 28:1192–1197
- Kostrubsky VE, Vore M, Kindt E, Burliegh J, Rogers K, Peter G, Altogge D, Sinz MW (2001) The effects of troglitazone biliary excretion on metabolite distribution and cholestasis in transporter-deficient rats. *Drug Metab Dispos* 29:1561–1566
- Kreb R (2006) Implications of genetic polymorphism in drug transporters for pharmacotherapy. *Cancer Lett* 234:4–33
- Lebovitz HE, Kreider M, Freed MI (2002) Evaluation of liver function in type 2 diabetic patients during clinical trials. *Diabetes Care* 25:815–821
- Lee WM (2003) Drug-induced hepatotoxicity. *New Engl J Med* 349:474–485

- Leeder JS, Riley RJ, Cook VA, Spielberg SP (1992) Human anti-cytochrome P450 antibodies in aromatic anticonvulsant-induced hypersensitivity reactions. *J Pharmacol Exp Ther* 263: 360–367
- Lehmann JM, Moore LB, Smith-Oliver TA, Wilkison WO, Willson T, Kliewer SA (1995) An antidiabetic thiazolidinedione is a high affinity ligand for peroxisome-activated receptor γ (PPAR γ). *J Biol Chem* 270:12953–12956
- Lim PL, Liu J, Go ML, Belsterli UA (2008) The mitochondrial superoxide/thioredoxin-2/Ask1 signaling pathway is critically involved in troglitazone-induced cell injury to human hepatocytes. *Toxicol Sci* 101:341–349
- Liu H, Miller E, van de Water B, Stevens JL (1998) Endoplasmic reticulum stress proteins block oxidant-induced Ca^{2+} increases and cell death. *J Biol Chem* 273:12858–12862
- Lodish HF, Kong N (1990) Perturbation of cellular calcium blocks exit of secretory proteins from the rough endoplasmic reticulum. *J Biol Chem* 265:10893–10899
- Loi CM, Young M, Randinitis E, Vassos A, Koup JR (1999) Clinical pharmacokinetics of troglitazone. *Clin Pharmacokinet* 37:91–104
- Maniratanachote R, Minami K, Katoh M, Nakajima M, Yokoi T (2005a) Chaperone proteins involved in troglitazone-induced toxicity in human hepatoma cell lines. *Toxicol Sci* 83: 293–302
- Maniratanachote R, Shibata A, Kaneko S, Yamamori I, Wakasugi T, Sawazaki T, Katoh K, Tokudome S, Nakajima M, Yokoi T (2005b) Detection of autoantibody to aldolase B in sera from patients with troglitazone-induced liver dysfunction. *Toxicology* 216:15–23
- Maniratanachote R, Minami K, Katoh M, Nakajima M, Yokoi T (2006) Dephosphorylation of ribosomal protein P0 in response to troglitazone-induced cytotoxicity. *Toxicol Lett* 166: 189–199
- Masubuchi Y, Kano S, Horie T (2006) Mitochondrial permeability transition as a potential determinant of hepatotoxicity of antidiabetic thiazolidinediones. *Toxicology* 222:233–239
- Michalski C, Cui Y, Nies AT, Neuhaus P, Zanger UM, Klein K, Eichalbaum M, Keppler D, Konig J (2002) A naturally occurring mutation in the SLC21A6 gene causing impaired membrane localization of the hepatocyte uptake transporter. *J Biol Chem* 277:43058–43063
- Motomura W, Tanno S, Takahashi N, Nagamine M, Fukuda M, Hohgo Y, Okumura T (2005) Involvement of MEK-ERK signaling pathway in the inhibition of cell growth by troglitazone in human pancreatic cancer cell. *Biochem Biophys Res Commun* 332:89–94
- Nagasaki S, Abe T, Kawakami A et al (2002) Pioglitazone-induced hepatic injury in a patient previously receiving troglitazone with success. *Diabe Med* 19:344–348
- Narayanan PK, Hart T, Elcock F, Zhang C, Hahn L, McFarland D, Schwartz L, Morgan DG, Bugelski P (2003) Troglitazone-induced intracellular oxidative stress in rat hepatoma cells: a flow cytometric assessment. *Cytometry* 52A:28–35
- Neuschwander-Tetri BA, Isley WL, Oki JC, Ramrakhiani S, Quiason SG, Phillips NJ, Brunt EM (1998) Troglitazone-induced hepatic failure leading to liver transplantation. *Ann Intern Med* 129:38–41
- Nozawa T, Sugiura S, Nakajima M, Goto A, Yokoi T, Nezu J, Tsuji A, Tamai I (2004) Involvement of organic anion transporting polypeptides in the transport of troglitazone sulfate: implications for understanding troglitazone hepatotoxicity. *Drug Metab Dispos* 32:291–294
- Ong MM, Latchoumycandane C, Boelsterli UA (2007) Troglitazone-induced hepatic necrosis in an animal model of silent genetic mitochondrial abnormalities. *Toxicol Sci* 97:205–213
- Ott P, Ranek L, Young MA (1998) Pharmacokinetics of troglitazone, a PPAR-g agonist, in patients with hepatic insufficiency. *Eur J Clin Pharmacol* 54:567–571
- Palakurthi SS, Aktas H, Grubissich LM, Mortensen RM, Halperin JA (2001) Anticancer effects of thiazolidinediones are independent of peroxisome proliferators-activated receptor γ and mediated by inhibition of translation initiation. *Cancer Res* 61:6213–6218
- Park BK, Pirmohamed M, Kitteringham NR (1998) Role of drug disposition in drug hypersensitivity: a chemical, molecular and clinical perspective. *Chem Res Toxicol* 11:969–988

- PDR (1999) Rezulin®. In: Physician's desk reference, 52nd edn. Medical Economics Company, Inc., Montvale, NJ, pp 2310–2314
- PDR (2005a) Actos®. In: Physician's desk reference, 59th edn. Thomson PDR, Montvale, NJ, pp 3181–3185
- PDR (2005b) Avandia®. In: Physician's desk reference, 59th edn. Thomson PDR, Montvale, NJ, pp 1438–1443
- Penhoet E, Rajkumar T, Rutter WJ (1966) Multiple forms of fructose diphosphate aldolase in mammalian tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 56:1275–1282
- Pohl LR, Satoh H, Christ DD, Kenna JG (1988) The immunologic and metabolic basis of drug hypersensitivity. *Ann Rev Pharmacol* 28:367–387
- Prabhu S, Fackett A, Lloyd S, McClellan HA, Terrell CM, Silber PM, Li AP (2002) Identification of glutathione conjugates of troglitazone in human hepatocytes. *Chem Biol Interact* 142:83–97
- Preininger K, Stingl H, Englisch R, Furnsinn C, Graf J, Waldhausl W, Roden M (1999) Acute troglitazone action is isolated persused rat liver. *Br J Pharmacol* 126:372–378
- Pumford NR, Martin BM, Thomassen D, Burris JA, Kenna JG, Martin JL, Pohl LR (1993) Serum antibodies from halothane hepatitis patients react with the rat endoplasmic reticulum protein Erp72. *Chem Res Toxicol* 6:609–615
- Ramachandran V, Kostrubsky VE, Komoroski BJ, Zhang S, Dorko K, Esplen JE, Strom SC, Venkataraman R (1999) Troglitazone increases cytochrome P-450 3A protein and activity in primary cultures of human hepatocytes. *Drug Metab Dispos* 27:1194–1199
- Robin MA, Maratrat M, Le Roy M, Le Breton FP, Bonierbale E, Dansette P, Ballet F, Mansuy D, Pessayre D (1996) Antigenic targets in tienilic acid hepatitis: Both cytochrome P450 2C11 and 2C11-tienilic acid adducts are transported to the plasma membrane of rat hepatocytes and recognized by human sera. *J Clin Invest* 98:1471–1480
- Rothwell C, McGuire EJ, Altrogge DM, Masuda H, de la Iglesia FA (2002) Chronic toxicity in monkeys with the thiazolidinedione antidiabetic agent troglitazone. *J Toxicol Sci* 27:35–47
- Sahi J, Hamilton G, Sinz M, Barros S, Huang SM, Lesko LJ, LeCluyse EL (2000) Effects of troglitazone on chromosome P450 enzymes in primary cultures of human and rat hepatocytes. *Xenobiotica* 30:273–284
- Saltiel AR, Olefsky JM (1996) Thiazolidinediones in the treatment of insulin resistance and type II diabetes. *Diabetes* 45:1661–1669
- Schultz WA, Eickerlmann P, Sies H (1996) Free radicals in toxicology: redox cycling and NAD(P)H:quinone oxidoreductase. *Arch Toxicol Suppl* 18:217–222
- Sherr CJ, Roberts JM (1999) CDK inhibitors: Positive and negative regulators of G1-phase progression. *Genes Dev* 13:1501–1512
- Shiau CW, Yang CC, Kulp SK, Chen KF, Chen CS, Huang JW, Chen CH (2005) Thiazolidinediones mediate apoptosis in prostate cancer cells in part through inhibition of Bcl-xl/Bcl-2 functions independently of PPAR γ . *Cancer Res* 65:1561–1569
- Shibuya A, Watanabe M, Fujita Y, Saigenji K, Kuwao S, Takahashi H, Takeuchi H (1998) An autopsy case of troglitazone-induced fulminant hepatitis. *Diabetes Care* 21:2140–2143
- Simon T, Bacquemont L, Mary-Krause M, de Waziers I, Beaune P, Funck-Brentano C, Jaillon P (2000) Combined glutathione-S-transferase M1 and T1 genetic polymorphism and tacrine hepatotoxicity. *Clin Pharmacol Ther* 67:432–437
- Spiegelman BM (1998) PPAR- γ : Adipogenic regulator and thiazolidinedione receptor. *Diabetes* 47:507–514
- Takagi S, Nakajima M, Mohri T, Yokoi T (2008) Post-transcriptional regulation of human pregnane X receptor by micro-RNA affects the expression of cytochrome P450 3A4. *J Biol Chem* 283:9674–9680
- Tetty JN, Maggs JL, Rapeport WG, Pirmohamed M, Park BK (2001) Enzyme induction dependent bioactivation of troglitazone and troglitazone quinone *in vivo*. *Chem Res Toxicol* 14:965–974
- Tirmenstein MA, Hu CX, Gales TL, Maleeff BE, Narayanan PK, Kurali E, Hart TK, Thomas HC, Schwartz LW (2002) Effects of troglitazone on HepG2 viability and mitochondrial function. *Toxicol Sci* 69:131–138

- Toyoda Y, Tsuchida A, Iwami E, Miwa I (2001) Toxic effect of troglitazone on cultured rat hepatocytes. *Life Sci* 68:1867–1876
- Tsuchiya Y, Nakajima M, Takagi S, Taniya T, Yokoi T (2006) MicroRNA regulates the expression of human cytochrome P450 1B1. *Cancer Res* 66:9090–9098
- Vignati L, Turlizzi E, Monaci S, Grossi P, Kanter R, Monshouwer M (2005) An in vitro approach to detect metabolite toxicity due to CYP3A4-dependent bioactivation of xenobiotics. *Toxicology* 216:154–167
- Watanabe T, Ohashi Y, Yasuda M, Takaoka M, Furukawa T, Yamoto T, Sanbuissho A, Manabe S (1999) Was it possible to predict liver dysfunction caused by troglitazone during the nonclinical safety studies? *Iyakuhin Kenkyu* 30:537–546
- Watanabe Y, Nakajima M, Yokoi T (2002) Troglitazone glucuronidation in human liver and intestine microsomes: high catalytic activity of UGT1A8 and UGT1A10. *Drug Metab Dispos* 30:1462–1469
- Watanabe I, Tomita A, Shimizu M, Sugawara M, Yasumo H, Koishi R, Takahashi T, Miyoshi K, Nakamura K, Izumi T, Matsushita Y, Furukawa H, Haruyama H, Koga T (2003) A study to survey susceptible genetic factors responsible for troglitazone-associated hepatotoxicity in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin Pharmacol Ther* 73:435–455
- Watkins PB, Whitcomb RW (1998) Hepatic dysfunction associated with troglitazone. *N Engl J Med* 338:916–917
- Yamamoto Y, Nakajima M, Yamazaki H, Yokoi T (2001) Cytotoxicity and apoptosis produced by troglitazone in human hepatoma cells. *Life Sci* 70:471–482
- Yamamoto Y, Yamazaki H, Ikeda T, Watanabe T, Iwabuchi H, Nakajima M, Yokoi T (2002) Formation of a quinone epoxide metabolite of troglitazone with cytotoxic to HepG2 cells. *Drug Metab Dispos* 30:155–160
- Yamazaki H, Shibata A, Suzuki M, Nakajima M, Shimada N, Guengerich FP, Yokoi T (1999) Oxidation of troglitazone to a quinone-type metabolite catalyzed by cytochrome P-450 2C8 and P-450 3A4 in human liver microsomes. *Drug Metab Dispos* 27:1260–1266
- Yoshigae Y, Konno K, Takasaki W, Ikeda T (2000) Characterization of UDP-glucuronosyltransferases (UGTS) involved in the metabolism of troglitazone in rats and humans. *J Toxicol Sci* 25:433–441



9784807907113



1923047038005

ISBN978-4-8079-0711-3
C3047 *¥3800E

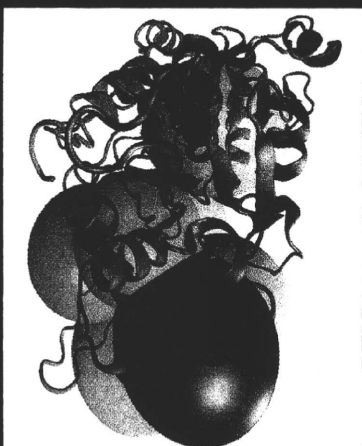
薬物代謝学

医療薬学・医薬品
開発の基礎として

第3版

横山 加藤
井 添 隆一
毅 康一 編

東京
化学同人



薬物代謝学

医療薬学・医薬品開発の基礎として

第3版

加藤隆一・山添康・横井毅 編

157

東京化学同人

定価：本体 3800 円＋税

発するベンジジンやベンジジン類緑化合物が生成する。たとえば、コンゴレーレッドからはベンジジンが、ダイレクトブルー15からは3,3'-ジメトキシベンジジンが生成する。トリパングルーからはがん原物質、変異原物質である還元代謝物質のトリイジンが生成する。

その他、腸内細菌により代謝される薬物として、抗リウマチ薬としても使用される抗がん薬のメトトレキサートや、テガフルル・ギマスタット・オタスタットカリウム配合剤として用いられる抗がん薬の中のリン酸化阻害薬であるオタスタットカリウムなどがある(図2・33)。

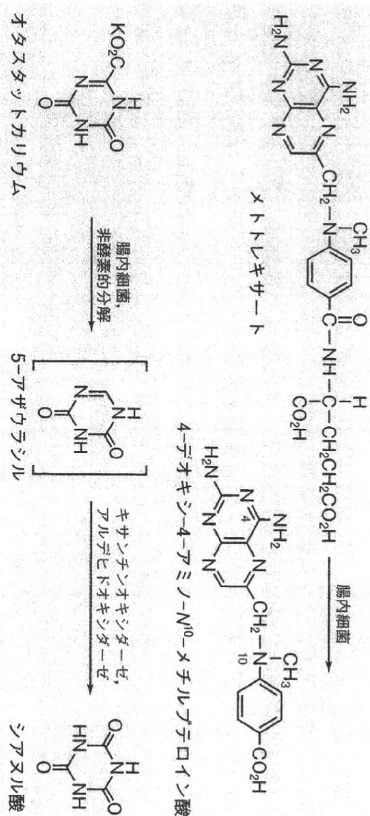


図2・33 腸内細菌によるその他の代謝

3

薬物代謝に関与する酵素とその反応機構

3.1 はじめに

言うまでもなく、生体は非常に複雑な化学反応の組み合わせによって支えられている。その反応は常温・常圧という条件下で酵素の持つ触媒作用によって円滑に進行する。また、アナボリズム(同化)、カタボリズム(異化)、フィードバック制御を包括するホメオスタシス(恒常性)は、酵素の働きで保たれる。したがって、“生命=酵素”と言っても決して過言ではない。薬物代謝酵素(drug-metabolizing enzyme)は生体に発現する多様な酵素から構成され、肝を含む多種多様な臓器に分布している。

薬物代謝酵素は、元来、生体内物質(ステロイド、脂肪酸、胆汁酸など)の合成あるいは分解反応を触媒している酵素から登場し、体内に摂取、あるいは侵入した薬物(異物)を代謝して体外に排出させる役割をもつに至ったと考えられる。

第1章で述べたように、薬物代謝反応を大別すると、**第I相反応(phase I reaction)**の酸化、還元、加水分解、**第II相反応(phase II reaction)**の抱合から成る。N-アセチル化やメチル基転移反応などの一部の例外を除けばいずれも極性化反応であり、極性官能基(OH基、NH₂基、COOH基など)を薬物に導入、あるいは生成する。生成した代謝物の一部は体外に排泄されるが、さらに生体成分(グルクロン酸、硫酸、グルタチオンなど)を有効に用いて、第I相反応で生成した極性官能基に結合させる(第II相反応)。その結果として薬物は、より高度な水溶性を獲得し体外に排泄されやすくなる。これらの反応のすべてに、酵素が触媒として働く。本章では、これら一連の薬物生体内変換反応にかかわる酵素群を“薬物代謝酵素”とよぶこととする。これまでに、酸化や還元(P450など)、加水分解(エステラーゼなど)、抱合反応(グルクロナシルトランスフェラーゼなど)に関与する、多種多様な酵素とその代謝反応が明らかにされている(表3・1参照)。

さらに腸内において、経口投与された薬物や胆汁中に排泄された薬物あるいは代謝物は、腸内細菌によって代謝(おもに還元および加水分解)を受け、脂溶性を獲得して再吸収されるもの、そのまま糞中に排泄されるものなどさまざまな代謝経路をたどる。特に腸内細菌は、腸肝循環とよばれる薬物の腸→肝→胆汁→腸の循

表 3.1 薬物代謝酵素と関与する代謝反応

第 I 相 反応		第 I 相 反応	
酵素名 (略号)	局在する細胞画分*	代謝反応	反応の起こる官能基と代謝物
シトクロム P450, CYP	Ms	酸化	脂肪酸化合物 (鎖 環): $\text{>CH}_2 \rightarrow \text{>CH-OH} \rightarrow \text{>C=C} \rightarrow \text{>C-O-C}$ 芳香環: $\text{Ar} \rightarrow \text{ArOH} \rightarrow \text{>C=C} \rightarrow \text{>C-O-C}$ $N-, O-, S\text{-アールキル: } \text{RXCH}_2\text{R} \rightarrow \text{RXH} + \text{R'CHO}$ $(X=N, O, S)$ N原子: $-\text{NH}_2 \rightarrow -\text{NHOH}, \text{>NH} \rightarrow \text{>N-O}$ S原子: $\text{>C=S} \rightarrow \text{>C=O}; \text{>P=S} \rightarrow \text{>P=O}$ アルコール: $-\text{CH}_2\text{OH} \rightarrow -\text{CHO}$ アルデヒド: $-\text{CHO} \rightarrow -\text{COOH}$
		還元	アゾ基: $\text{R-N=N-R}' \rightarrow \text{R-NH}_2 + \text{R-NH}_2$ ニトロ基: $-\text{NO}_2 \rightarrow -\text{NO} \rightarrow -\text{NHOH} \rightarrow -\text{NH}_2$ エポキシド: $\text{>C-O-C} \rightarrow \text{>C=C}$
アラビノシ含有モノオキシゲナーゼ, FMO	Ms	酸化	N原子: $\text{>NH} \rightarrow \text{>NOH}; \text{>N} \rightarrow \text{>N-O}$ S原子: $\text{>C=S} \rightarrow \text{>C=O}; \text{R-S-R}' \rightarrow \text{R-S-S-R}'$ $\text{R-SH} + \text{R-SH} \rightarrow \text{R-S-S-R}'$
		還元	アルコール: $-\text{CH}_2\text{OH} \rightarrow -\text{CHO}; \text{>CHOH} \rightarrow \text{>C=O}$ アルデヒド: $-\text{CHO} \rightarrow -\text{CH}_2\text{OH}$ ケトン: $\text{>C=O} \rightarrow \text{>CHOH}$
アルデヒドデヒドロゲナーゼ, ALDH	Cs, Ms	酸化	アルデヒド: $-\text{CHO} \rightarrow -\text{COOH}$
モノアミンオキシナーゼ, MAO	Mt, 血清 (血小板)	酸化脱アミノ	$-\text{CH}_2\text{NH}_2 \rightarrow -\text{CHO} + \text{NH}_3$
NAD(P)H:キノンオキシドレダクターゼ, DT-ジテホラーゼ	Cs	還元	アゾ基: $\text{R-N=N-R}' \rightarrow \text{R-NH}_2 + \text{R-NH}_2$ ニトロ基: $-\text{NO}_2 \rightarrow -\text{NHOH} \rightarrow -\text{NH}_2$ キノン: $\text{O}=\text{C}_6\text{H}_4=\text{O} \rightarrow \text{HO-C}_6\text{H}_4\text{-OH}$
NADPH-シトクロム P450 レダクターゼ	Ms	還元	アゾ基: $\text{R-N=N-R}' \rightarrow \text{R-NH}_2 + \text{R-NH}_2$ ニトロ基: $-\text{NO}_2 \rightarrow -\text{NO} \rightarrow -\text{NHOH} \rightarrow -\text{NH}_2$

(※ペーシにつづく)

表 3.1 (つづき)

第 I 相 反応		第 II 相 反応	
酵素名 (略号)	局在する細胞画分*	代謝反応	反応の起こる官能基と代謝物
アルデヒドレダクターゼ	Cs	還元	アルデヒド: $-\text{CHO} \rightarrow -\text{CH}_2\text{OH}$
カルボニルレダクターゼ	Cs	還元	ケトン: $\text{>C=O} \rightarrow \text{>CHOH}$
カルボキシレヒドロラーゼ, CES	Ms, Cs, 血清	加水分解	エステル: $-\text{COOR} \rightarrow -\text{COOH} + \text{ROH}$ 酸アミド: $-\text{CONHR} \rightarrow -\text{COOH} + \text{RNH}_2$
エポキシドヒドロラーゼ, EH	Ms, Cs	加水分解	エポキシド: $\text{>C-O-C} \rightarrow \text{>C(OH)-C(OH)}$
β-グルクロニダーゼ	リソソーム, 腸内細菌	加水分解	グルクロニド: $\text{>C-OH} + \text{XR} \rightarrow \text{>C(OH)-OXR} + \text{>C(OH)-OH}$ $(X=N, O)$
グルタミルトランスフェラーゼ, γ-グルタミルトランスフェラーゼ, γ-グルタミルトランスフェラーゼ, γ-GTP	Cs	加水分解	酸性硫酸エステルの: $\text{RXSO}_3\text{H} \rightarrow \text{RXH} + \text{H}_2\text{SO}_4$ (X=N, O, S) $\text{CONHCH}_2\text{COOH} \rightarrow \text{RSCH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH} + \text{CH}_2\text{-COOH}$ $\text{CONHCH}_2\text{COOH} \rightarrow \text{CONHCH}_2\text{COOH} + \text{HOOC}(\text{CH}_2)_2\text{CH-COOH}$ NH_2
グルクロノシトルトランスフェラーゼ, UGT	Ms	グルクロン酸抱合	フェノール (Ar-OH), アルコール (-OH), カルボン酸 (-COOH), アミン (-NH ₂), ミド, スルホニド
スルホトランスフェラーゼ, SULT	Cs	硫酸抱合	フェノール (Ar-OH), アルコール (-OH), チオール (-SH), アミン (-NH ₂)

(※ペーシにつづく)

表 3・1 (つづき)

第 II 相 反応				
酵素名 (略号)	高在する細胞画分*	代謝反応	生体側抱合体	反応の起こる官能基
グルタチオンS-トランスフェラーゼ, GST	Cs	グルタチオン抱合	グルタチオン	炭化水素中の水素, ハロゲン, ニトロ基の置換, あるいはエポキシド
アセチルトランスフェラーゼ, NAT	Cs	アセチル抱合	酢酸 (アセチル CoA)	芳香族アミン (Ar-NH ₂), 複素環式アミン, ヒドラジン
メチルトランスフェラーゼ	Ms, Cs	メチル抱合	メチオニン	-NH ₂ , >NH, >N-, -OH, -SH
グリニン-N-アシルトランスフェラーゼ	Mt	グリニン (アミノ酸) 抱合	グリシン	芳香族カルボン酸 (Ar-COOH)
グルコシルトランスフェラーゼ	Ms	グルコニヌ抱合	グルコース	-OH, >NH
ロダネーゼ	Cs	チオシアニン合成	硫黄	-CN

* Ms: 小胞体 (ミクロソーム), Mt: ミトコンドリア, Cs: 可溶性画分 (上清).

環に生体内でかかわっている。

別の見方をすると、これら薬物代謝反応は生体防御機構の一つでもある。しかし、たとえば、がん原物質から究極がん原物質が生成するように、反応性代謝物を生成し毒性を発現する場合もあることを忘れてはならない。

以下、関与する代謝酵素とその反応機構を記述する。

3・2 薬物の酸化反応に関与する酵素系

3・2・1 ミクロソーム酵素系

a. P450

i) 研究史 薬物代謝反応の約 8 割に関与するといわれる P450 は、つぎのような過程で発見された。1958 年 Klingenberg は、肝ミクロソームをジチオオナイト (亜ジチオン酸ナトリウム, Na₂S₂O₄) で還元し、一酸化炭素 (以下 CO) を通気すると、450 nm に吸収極大を示すスペクトルが出現することを発見した。その後、1964 年大村および佐藤は、それが新規のヘムタンパク質に起因することを証明し、可逆的に酸化還元を行うシトクロムの性質を兼ね備えていることから、450 nm に

吸収極大を示す色素 (pigment) という意味で、P450 と命名した。後にシトクロム P450 (cytochrome P450) と名づけられ CYP との略号が用いられるようになった。

P450 の発見に先立ち 1950 年代には、Axerlod らにより薬物など異物の酸化代謝系が肝ミクロソームに局在し、その反応は NADPH と O₂ を要求する、モノオキシゲナーゼ (一原子酸素添加酵素) 型であることがすでに明らかにされていた。早石, Mason らはそれぞれ独立に、基質の酸化が反応液中に加えた H₂¹⁸O の ¹⁸O ではなく、気相中の ¹⁸O₂ が導入されることを報告した。ついで、1965 年 Cooper らは、ステロイド側鎖水酸化反応に上記 P450 が関与することを確かめ、ここにモノオキシゲナーゼ系の末端酵素としての P450 の生理機能が明らかとなった。また、P450 の可溶性化および精製は、1967 年市川, 山野らが安定化剤としてグリセロールを見いだしたことにより、急速に進展した。1974 年今井, 佐藤により、P450 はウサギ肝ミクロソームより単一タンパク質として精製された。1982 年, 藤井らは P450 の mRNA に相補的な DNA (cDNA) の分析から、タンパク質としての一次構造をはじめめて明確にした。その後、精製技術と遺伝子解析の飛躍的な進歩発展により、これまで哺乳動物の P450 のみでも約 200 の分子種 (CYP1A1, CYP2B1 など) が確認されている。1999 年 Johnson および McRee らは、ミクロソームの P450 の CYP2C5 の結晶化による X 線構造解析に初めて成功し、三次元構造を明らかにした。

ii) ミクロソーム電子伝達系 図 3・1 に示すように、肝ミクロソーム中には P450 を末端酵素とする、実線と点線で示す電子の流れがある。すなわち、1 個目の電子は NADPH からフラビンタンパク質である NADPH-シトクロム P450 レダクターゼを介して伝達され、P450 を構成する Fe³⁺ を Fe²⁺ に還元する。2 個目の電子は、1 個目と同じ NADPH 経路あるいは NADH から NADH-シトクロム b₅ レダクターゼおよびシトクロム b₅ 経路で供給され、酸素分子の活性化を行う。この場合、電子の供給は NADPH からの方が NADH より圧倒的に多い。結果として薬物の酸化 (還元) が行われる。

ここに利用される NADPH の供給は、おもに細胞質のベントースリン酸回路によ

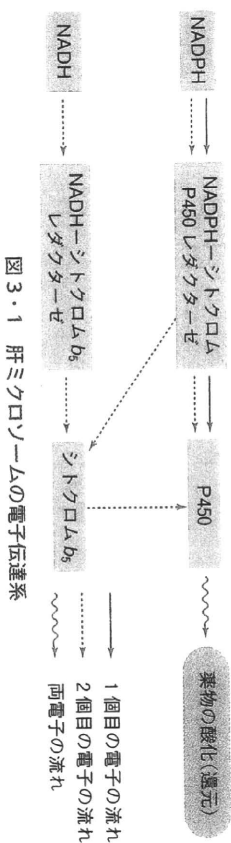


図 3・1 肝ミクロソームの電子伝達系

る(図3・2)。このように、薬物の酸化反応とエネルギー代謝は密接に関係している。そこで、ミクロソームを用いた *in vitro* での薬物代謝の研究では、通常 **NADPH 生成系** (NADPH-generating system) として、基質とともに NADP^+ 、グルコース6-リン酸、グルコース6-リン酸デヒドロゲナーゼを加えて行う。

iii) P450 による酸化反応機構 P450 の触媒反応は基質の水酸化に限らず、表3・1や以下に詳しく述べるように、複雑多岐にわたる。しかし、基本的に一原子酸素添加反応 (monooxygenation) である。すなわち、式(3・1)のように P450 は NADPH 存在下、分子状態酸素 (O_2) を活性化し、その一原子は薬物分子中に取込ま

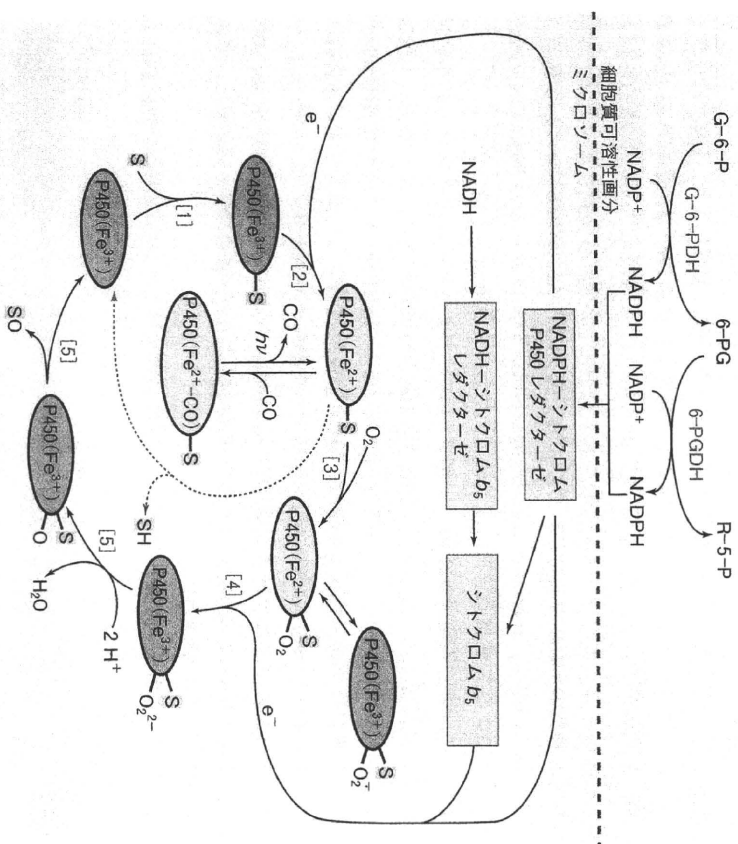


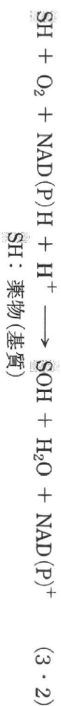
図3・2 P450の酸化反応機構

図3・2 P450の酸化反応機構

れ、他の一原子は水分子に還元される。



なお、C-H 結合間への酸素の導入は、鎖状および環状のアルキル基の水酸化では直接に、芳香環や二重結合では直接あるいはエポキシ化とその後の NIH シフト (芳香族エポキシ体の転位反応は水素の隣接炭素へのシフトによる) によって起こる (p. 19 参照) が、結果として C-OH (水酸基) を生じることから式(3・2)のようにも表される。



P450 による薬物酸化反応は、図3・2のような逐次的に起こる [1]~[5] の5段階のステップによる。

[1] 酸化型 P450 への薬物 (基質 S) の結合: 酸化型 P450 ($\text{P450(Fe}^{2+})$) と基質が結合して複合体 $\text{P450(Fe}^{2+})-S$ を生成する。この際、基質の種類により、 π 軌道に起因する吸収スペクトルの変化が起こる。このような変化を、基質差スペクトルあるいは基質誘導スペクトル変化とよぶ。

[2] 1 個目の電子の導入による π 鉄の還元 ($\text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{Fe}^{2+}$): NADPH から $\text{NADPH-シトクロム P450 レダクターゼ}$ を介して 1 個目の電子が P450 に与えられる。 π 鉄原子は Fe^{3+} から Fe^{2+} に還元されて酸化型 P450 は還元型 $\text{P450(P450(Fe}^{2+})-S)$ となる。[1] の基質の結合は、P450 の酸化還元電位を上昇させ電子の供給を促す。

[3] 還元型 π 鉄への分子状態酸素 (O_2) の結合: 生成した還元型 P450 は、分子状態酸素と結合して複合体 $\text{P450(Fe}^{2+})-S$ を形成する。この複合体の形成は、 π 鉄の第六配位座に起こる。もしこのとき CO が共存すると、 π 鉄 (Fe^{2+}) と CO との結合力は酸素と比較して 200~300 倍と強いいため、結果として酸化反応が阻害される。また、 CO との結合は光照射によって解離する。このような、 CO による阻害や光照射による活性の回復は、薬物代謝における P450 関与の有無の証明に用いられる。

[4] 2 個目の電子の導入および分子状態酸素の活性化: 複合体 $\text{P450(Fe}^{2+})-S$ に NADPH から $\text{NADPH-シトクロム P450 レダクターゼ}$ 、あるいは NADPH や NADH から $\text{シトクロム } b_5$ を経由して 2 個目の電子が供給され、きわめて反応性に富む複合体 $\text{P450(Fe}^{3+})-S-O_2^-$ を形成する。電子の供給がいずれの経路によるかは

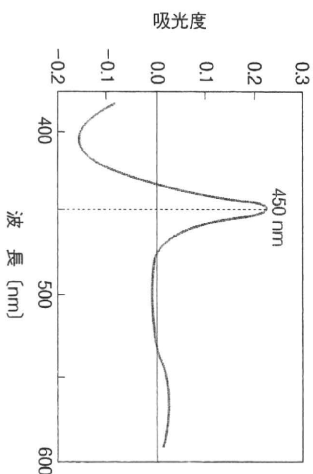
主として P450 分子種と基質の組合わせで決まる。したがって、ここにおいてシトクロム b_5 の存在が重要となる。

[5] 代謝物および水分子の生成・遊離と酸化型 P450 の再生： [4] で生成した複合体は非常に不安定であるため分子状酸素 (O_2^{2-}) の O-O 結合が開裂し、2 個の酸素原子のうち 1 個は基質薬物に導入され SOH となり、もう 1 個の酸素は還元され水 (H_2O) となる。この時点で酸化型 P450 が再生され、反応経路は出発点 [1] に戻る。

iv) P450 の構造と反応の特徴 P450 は分子量約 50,000 (1 個のアミノ酸の分子量を平均 100 とすると約 500 個のアミノ酸から成る) で、補欠分子族として 1 個のプロトヘムを有する。N 末端アミノ酸はメチオニンである。ヘム鉄が活性中心にあり、鉄の六つの配位子のうち、第一〜第四配位はテトラピロール環の窒素、第五配位として P450 のシステイン由来の S が配位し、第六配位としてプロポタンパク質由来の酸素が可逆的に配位した構造をしている。このヘム鉄の第五配位 (軸配位) はシステイン残基のチオラートイオン (S⁻) であることから、すでに述べたように 450 nm に特徴的な吸収極大をもつ還元型 P450-CO 差スペクトルを与える (図 3・3)*。最近、P450 を巨大な遺伝子スーパーファミリーを構成するヘム・チオラートタンパク質と定義することもある。

P450 は、微生物から高等植物、哺乳動物に至るまで多くの生物体に存在する。

図 3・3 還元型 P450-CO 差スペクトル (出典：T. Omura, R. Sato, *J. Biol. Chem.*, 239, 2370(1964))



* シトクロム P450 の CO 差スペクトルによる定量法：ミクロソーム画分などの試料を 1~2 mg/ml のタンパク質量で 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.25) に懸濁させ、複光束分光光度計の試料用・対照用の両方のセルに入れて、400~500 nm 間のベースラインを補正する。細いチューブを用い、試料側のセルの底近くから毎秒数滴程度で CO を約 30 秒間バブリングする。両方のセルに $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ を数 mg 入れてかくはんする。400~500 nm 間の差スペクトルを、450 nm のピーク高が一定になるまで繰返し測定する。P450 の濃度は λ_{max} (ほぼ 450 nm) と 490 nm の吸光度差より、吸光係数 $\epsilon_{450-490} = 91 \text{ cm}^{-1} \cdot \text{mM}^{-1}$ を用いて計算する。P450 安定化のために入れられるグリセロールは測定を妨害しない。界面活性剤は変性を起こす場合があり注意を要する。

動物やヒトでは肝で最も含量が多く、分子種も多様である。赤血球や精子を除くほとんどすべての臓器、たとえば、腎、副腎、肺、小腸、脳、皮膚、胎盤などにも少量ながら分布する。肝細胞における細胞内局在性は、滑面小胞体と粗面小胞体 (滑面小胞体 > 粗面小胞体) に見られるほか、核膜、リボソーム、ゴルジ体、ミトコンドリアなどの細胞小器官 (オルガネラ) にも存在する。薬物代謝で最も重要なのは、おもに小胞体の膜破片から成る肝ミクロソーム画分 (肝ホモジェネートの 9,000 × g 上清をさらに 105,000 × g で遠心分離した沈殿) の P450 (薬物代謝型 P450) である。その含量はラット肝の場合、ミクロソーム総タンパク質の約 5% 以上、ポリ塩化ビフェニル (ポリクロロビフェニル, PCB) などの誘導剤を投与した場合約 20% にも達する。

動物の P450 は、薬物代謝型 (薬物の代謝に関与する分子種、おもに肝ミクロソーム画分に局在) と生体成分合成型 (生体内物質の合成に関与する分子種、おもに肝、副腎、性腺などのミクロソーム画分あるいはミトコンドリアに局在) の二つに大別できる。生体成分合成型 P450 は、ステロイドや脂溶性ビタミンなどにかなり高い基質特異性を示すのに対し、薬物代謝型 P450 分子種は、一般的な酵素の概念では異常ともいえるほど基質特異性が低い。このため薬物代謝型 P450 は一つの分子種がまったく異なる構造の薬物を基質としてたり、同じ基質の異なる位置を酸化したりする。また、複数の分子種が、同一化合物の同じ位置や立体選択性が同じ反応を触媒するなどさまざまである。

v) P450 の分類と命名法 前述のようにすべての P450 は、共通の祖先の遺伝子の進化によってスーパーファミリー (超遺伝子群) を形成している。一般的に酵素名は、“基質の化合物名 + 触媒する反応名 (語尾の多くは「アーゼ」) となるが、P450 は既述のように機能が不明のまま名づけられたので、おのおの分子種のアミノ酸配列の相同性に基づいて命名され、CYP (cytochrome P450 の略) の後に群 (アラビア数字) および亜群 (アルファベット) を付けた系統的名称を用いる。すなわち、アミノ酸配列の相同性が約 40% を超える分子種を一つの群 (ファミリー) とする。また、55% を超えるグループを亜群 (サブファミリー) として小分類する。一つの群に、二つ以上の亜群があるときはアルファベット順にする (たとえば、CYP2A, CYP2B, CYP2C)。さらに、一つの亜群の中の複数の分子種は、表示の最後にアラビア数字を入れる (たとえば、CYP1A1)。哺乳動物の薬物代謝型 P450 は 1~4 群がある。図 3・4 に薬物代謝型 P450 の系統樹、図 3・5 にヒト肝ミクロソーム中の P450 分子種の組成を示す。

図 3・6 (p. 53) には、世界の売上上位 200 の医薬品の主要クリアランスの経路を示す。全クリアランスのうち代謝クリアランスが約 72% を占め、尿中排泄が

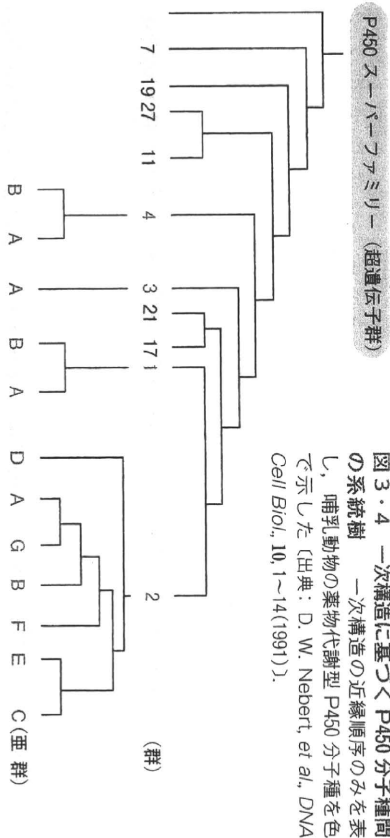


図 3.4 一次構造に基づく P450 分子種間の系統樹 一次構造の近縁順序のみを表し、哺乳動物の薬物代謝型 P450 分子種を色で示した (出典: D. W. Nebert, et al., DNA Cell Biol., 10, 1~14(1991)).

約 25%, 胆汁中排泄が約 3% であった (ケリテラクスについては第 4, 5 章参照)。以下, ヒトの P450 を中心として若干の説明を加える。

1 群: A と B の二つの亜群がある。3-メチルコラントレンなどの多環式芳香族炭化水素や 2,3,7,8-テトラクロロジベンゾ-p-ジオキシン(TCDD, ダイオキシン)などで誘導される分子種である。還元型 CYP1A-CO 差スペクトルは 448 nm に吸収極大を示すため, かつては P448 とよばれた。1 群は, P450 の中で最もその構造が保存されており, ヒトと実験動物の基質特異性も類似している。がん原性多環式芳香族炭化水素, マイコトキシン類の酸化あるいは芳香族アミン, 複素環式アミンの窒素原子の水酸化などが代表的な反応であり, がん原物質の代謝的活性化との関係が深い。ヒトにおいては, CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1 の三つの分子種がある。CYP1A1 は肺を含む末梢臓器に発現するものの, 肝にはほとんど検出されない。CYP1A2 は肝のみに存在し全肝 P450 の約 1 割を占める。ヒトにおけるカプアイン代謝の約 90% は CYP1A2 による N-脱メチル反応であるため, *in vivo* でのプロ-

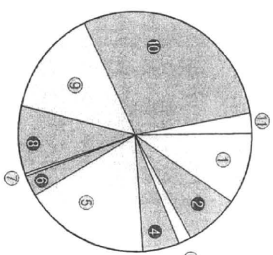


図 3.5 ヒト肝における P450 分子種の割合 () 内は全 P450 量に対する割合を示す (出典: S. Imaoka, et al., Biochem. Pharmacol., 51, 1041~1050(1996)).

- ① CYP1A2 (10.0%), ② CYP2A6 (7.8%),
- ③ CYP2B6 (1.8%), ④ CYP2C8 (5.2%),
- ⑤ CYP2C9 (17.9%), ⑥ CYP2C18 (3.0%),
- ⑦ CYP2C19 (0.4%), ⑧ CYP2D6 (9.2%),
- ⑨ CYP2E1 (14.5%), ⑩ CYP3A4 (30.2%),
- ⑪ CYP4A11 (2.7%)

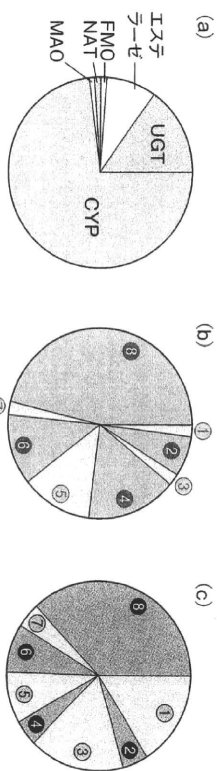


図 3.6 医薬品の主要代謝クリアランス (a) CYP は代謝クリアランスのうち 75%, UGT は 15% を占める。(b) 臨床で使用される医薬品がどの P450 分子種で代謝されるかの内訳を示す。約 50% の代謝に CYP3A (主として 3A4) が関与している。(c) UGT 各分子種 (§3.5.2 参照) の内訳。UGT: グルクロニルトランスフェラーゼ, FMO: フラビン含有モノオキシゲナーゼ, NAT: アセチルトランスフェラーゼ, MAO: モノアミンオキシダーゼ (出典: J. A. Williams, et al., Drug Metab. Dispos., 32, 1201~1208(2004))

ア薬物として使用される。CYP1B1 は, 肝(全量の 1% 以下)と他の組織に存在, エストラジオールの代謝と広範ながん原物質の代謝的活性化に関与する。

2 群: 哺乳類では 13 の亜群 (A, B, C, D, E, F, G, J, R, S, T, U, W) から成り, 最も多くの分子種が存在する。ヒトには 16 分子種あり, その中で CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C18, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1, CYP2J2 が薬物代謝の主要な酵素であり, すべてに遺伝的多型性 (genetic polymorphism) が存在する。CYP2A6 は肝に発現, ニコチンのコチニンへの代謝や多くの N-アルキルニトロソアミンの代謝的活性化に関与するが, 薬物代謝における重要性は限られている。2B 亜群に属する P450 は, フェノバルビタールで誘導される。実験動物においては広い基質特異性と多くの薬物に対して相対的に強い代謝活性を示す。CYP2B6 は, 肝および肺, 消化管に存在し, 7-ベンジルオキシレゾルフィンの代謝活性をもつ。2C 亜群は, 1~44 まであり, 亜群中最も多い分子種をもつ。そのほとんどは常在型である。ラットの顕著な性差は, 性特異的発現酵素 [たとえば, P450 雄 (CYP2C11) と P450 雌 (CYP2C12)] による (§1.4 参照)。なお, アルデヒド基のカルボキシル基への酸化に関与するミクロソーム酵素 (microsomal aldehyde oxygenase, MALDO) の主要な分子種は CYP2C29 でありこの群に含まれている。ヒトにおいても CYP2C の酵素は最も複雑である。CYP2C8, CYP2C9, CYP2C18, CYP2C19 はすべて 80% 以上の相同性を有し, 基質特異性も重複している。肝の 4 分子種の総量

表 3・2 薬物代謝型 P450 分子種の組織分布

分子種	組織	分子種	組織	分子種	組織
CYP1A1	肺, 腎, 消化管, 皮膚, 胎盤, リンパ球	CYP2A6	肝, 肺, 鼻粘膜	CYP3A4, 5	肝, 消化管, 胎盤, 子宮, 腎, 肺
CYP1A2	肝	CYP2B6	肝, 消化管, 肺	CYP4A11	腎
CYP1B1	肝, 皮膚, 腎, 乳腺, 前立腺, 子宮	CYP2C	肝, 消化管, 喉頭, 肺	CYP4B1	肝, 胎盤
		CYP2D6	肝, 消化管, 腎	CYP4F2	肝, 腎
		CYP2E1	肝, 肺, 胎盤		
		CYP2F1	肝, 肺, 消化管, 心臓		
		CYP2J2			

表 3・3 ヒトの主要な P450 分子種と代謝されるおもな薬物と反応

分子種	薬物 (基質)	酸化	反応
CYP1A1	環境化学物質など	アセトアミノフェン メキシリチン プロプラノロール カフェイン; テオフィリン オランザピン フルタミド タンパク質熱分解物 (Glu-P-1, IQ, MeIQ) [†] アフラトキシン B ₁ 芳香族アミン	キノニン生成, 3-水酸化 N-水酸化 N-脱アルキル N-脱メチル C-酸化 N-水酸化
CYP1A2	抗がん剤 抗精神薬 その他	アセトアミノフェン メキシリチン プロプラノロール カフェイン; テオフィリン オランザピン フルタミド タンパク質熱分解物 (Glu-P-1, IQ, MeIQ) [†] アフラトキシン B ₁ 芳香族アミン	キノニン生成, 3-水酸化 N-水酸化 N-脱アルキル N-脱メチル C-酸化 N-水酸化
CYP2A6	抗がん剤 その他	アセトアミノフェン メキシリチン プロプラノロール カフェイン; テオフィリン オランザピン フルタミド タンパク質熱分解物 (Glu-P-1, IQ, MeIQ) [†] アフラトキシン B ₁ 芳香族アミン	キノニン生成, 3-水酸化 N-水酸化 N-脱アルキル N-脱メチル C-酸化 N-水酸化
CYP2B6	抗がん剤 麻酔薬	アセトアミノフェン メキシリチン プロプラノロール カフェイン; テオフィリン オランザピン フルタミド タンパク質熱分解物 (Glu-P-1, IQ, MeIQ) [†] アフラトキシン B ₁ 芳香族アミン	キノニン生成, 3-水酸化 N-水酸化 N-脱アルキル N-脱メチル C-酸化 N-水酸化
CYP2C8	抗がん剤 糖尿病治療薬 抗不安・催眠薬	アセトアミノフェン メキシリチン プロプラノロール カフェイン; テオフィリン オランザピン フルタミド タンパク質熱分解物 (Glu-P-1, IQ, MeIQ) [†] アフラトキシン B ₁ 芳香族アミン	キノニン生成, 3-水酸化 N-水酸化 N-脱アルキル N-脱メチル C-酸化 N-水酸化
CYP2C9	抗がん剤 抗凝固薬 その他	アセトアミノフェン メキシリチン プロプラノロール カフェイン; テオフィリン オランザピン フルタミド タンパク質熱分解物 (Glu-P-1, IQ, MeIQ) [†] アフラトキシン B ₁ 芳香族アミン	キノニン生成, 3-水酸化 N-水酸化 N-脱アルキル N-脱メチル C-酸化 N-水酸化
CYP2C19	抗うつ薬 抗不安薬 プロトンポンプ阻害薬 血小板凝集抑制薬 その他	アセトアミノフェン メキシリチン プロプラノロール カフェイン; テオフィリン オランザピン フルタミド タンパク質熱分解物 (Glu-P-1, IQ, MeIQ) [†] アフラトキシン B ₁ 芳香族アミン	キノニン生成, 3-水酸化 N-水酸化 N-脱アルキル N-脱メチル C-酸化 N-水酸化

(次ページにつづく)

表 3・3 (つづき)

分子種	薬物 (基質)	酸化
CYP2D6	抗がん剤 抗不整脈薬 抗うつ薬 統合失調症治療薬	4-水酸化 O-脱メチル 5-水酸化 10-水酸化 O-脱メチル 2-水酸化 S-酸化 N-脱アルキル 1-水酸化 4-水酸化 α-水酸化 4-水酸化 O-脱メチル 水酸化 O-脱メチル
CYP2E1	筋弛緩薬 全身麻酔薬 その他	6-水酸化 脱フッ素 酸化 キノニン生成 1-水酸化 酸化 メチル基水酸化 メチル基水酸化 酸化
CYP3A4	抗不整脈薬 鎮静薬 抗がん剤 抗菌薬 Caチャネル遮断薬 制吐薬 免疫抑制薬 抗がん剤 HIVプロテアーゼ阻害薬 HMG-CoA 還元酵素阻害薬 その他	N-脱エチル 1-水酸化 α-水酸化 エボキシ化 還元脱アミノ N-脱メチル N-水酸化 N-脱メチル 酸化 9-水酸化 水酸化, N-脱メチル N-脱メチル, メチル基水酸化 O-脱メチル, C-酸化 N-脱メチル, α-水酸化 4-水酸化, N-脱アルキル 3-水酸化 酸化 C-酸化 C-酸化, N-脱アルキル N-脱メチル N-脱メチル 6β-水酸化 2-水酸化 エボキシ化

† Glu-P-1: 2-アミノ-6-メチルジピリド[1,2-a:3'2'-d]イミダゾール; IQ: 2-アミノ-3-メチルイミダゾ[4,5-f]キノリン; MeIQ: 2-アミノ-3,4-メチルイミダゾ[4,5-f]キノリン.

は約 25% を占め、そのうち CYP2C9 の含量が最も多い。2D 亜群は、ヒト、ラットにおいて遺伝的多型が知られており、テマリソキシン、スバルテインなどの塩基性窒素を有する薬物の酸化をおもに触媒する。CYP2D6 は、抗不整脈薬、β遮断薬や抗うつ薬など多くの医薬品の代謝に関与する重要な酵素である。基質となる薬物の構造については詳しく検討されており、共通する構造的特徴として、塩基性の窒素原子を有し、酸化を受ける部位と塩基性の窒素原子の距離が 5Å~7Å とされている。2B 亜群は、エタノール、アセトニンによって誘導される。これまでエタノールは、細胞質可溶性画分中のアルコールデヒドロゲナーゼやカタラーゼによって代謝されアセトアルデヒドになるというのが常識であったが、多量に摂取するとミクロソーム画分中のエタノール酸化酵素系 (microsomal ethanol oxidizing system, MEOS) とよばれる主要な分子種 (CYP2E1) が関与することが明らかとなった。CYP2E1 は、ベンゼン、アニリン、ハロゲン化物、アセトフェノンなどを代謝して反応性に富んだ中間代謝物を生成する。本酵素はヒトの胎児肝にも発現しており、代謝活性は低いながら、異物 (薬物) 代謝能はある。2F および 2J 亜群は、肺および消化管にそれぞれ高い発現を示す。

3 群: A のみの亜群がある。ステロイド誘導体、グルコシルチコイドおよびマクロライド系抗生物質などで誘導される分子種を含む。ヒトでは、CYP3A4, CYP3A5 および CYP3A7 の三つがある。CYP3A は医薬品代謝の約 50% に関与していることから、薬物相互作用において最も重要である。中でも CYP3A4 が代表的な分子種であり、ヒト肝および消化管の洞組織で最も比含量が高く、成人での平均含量は肝で全 P450 の約 30%、消化管においては 70% を占める。CYP3A4 は分子サイズの大きな薬物を代謝できる。また、同一薬物から複数の代謝物を生成する場合や、複雑なキネティクス (反応速度機序) を示す場合も多い。CYP3A5 は腎に普遍的に発現するが個体差があり、肝に存在が確認される率は約 20% であり、その量は CYP3A4 の 10~30% である。CYP3A7 は胎児肝の主要な分子種であり、全 P450 量の 50% 以上を占めるが、出生後 1 年ほどで成人レベル (約 5%) に減少する。

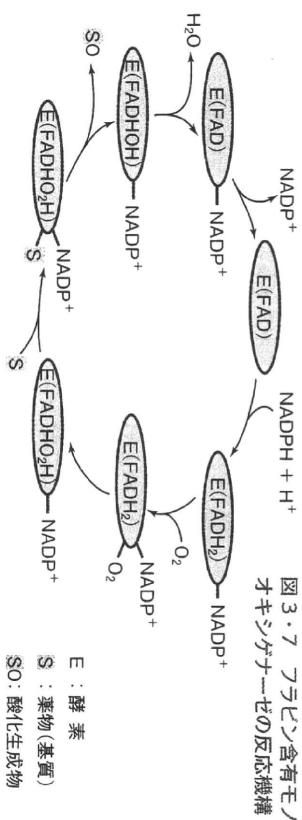
4 群: 抗高脂血症薬 クロフィブラートで誘導される。また、脂肪酸やエイコサノイド類の酸化を行う。

表 3・2 に主要な薬物代謝型 P450 分子種の組織分布、表 3・3 にその代表的基質と代謝反応を示した (前葉参照)。

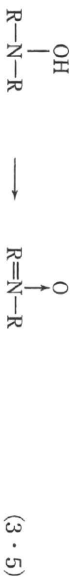
b. フラビン含有モノオキシゲナーゼ 窒素 (N) および硫黄 (S) 原子の酸化は、既述のミクロソーム電子伝達系とはまったく別の、NADPH と分子状酸素を必要とする FAD を含むモノオキシゲナーゼによっても触媒される。この酵素は、1972 年 Ziegler と Mitchell により、ラタ肝ミクロソームからはじめて単離・精製さ

れた。分子量は約 65,000 で、補欠分子族として FAD 1 mol を含有し、活性体は八量体を構成している。これまでにマウス、ラット、イヌ、ウサギ、ヒトなど多くの動物の肝から精製されている。このように FAD を含むことから、現在の酵素はフラビン含有モノオキシゲナーゼ (flavin-containing monooxygenase, FMO) と称され、アミノ酸配列の相同性に基づき FMO1~5 の五つに分類されている。

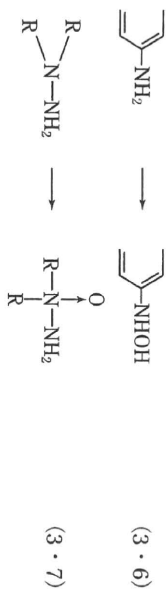
成人の FMO1 は腎に発現し、肝には認められない。FMO2 はおもに肺に存在し、FMO3 は含量が最も多く肝の主要な分子種である。FMO4 は肝および肺、腎に、FMO5 は肝に発現するが、FMO1 や 3 と比較してその量はきわめて少ない。図 3・7 に FMO 系の薬物酸化反応機構を示す。



FMO の基質特異性は P450 と異なる。すなわち、芳香族窒素複素環の酸化や、塩基性の弱い第一級アミンの水酸化の多くは P450 によるものである。しかし、塩基性の強い第三級アミン [式 (3・3)], 第二級アミン [式 (3・4)], ヒドロキシルアミン [式 (3・5)], アミン [式 (3・6)] あるいはヒドラジン [式 (3・7)] の部分構造をもつ物質の N 原子の酸化は、一般的に FMO による。また、代謝物として N-オキシドおよびヒドロキシルアミンを生じることから、FMO は薬物の解毒のみならず毒性発現にも関与する。

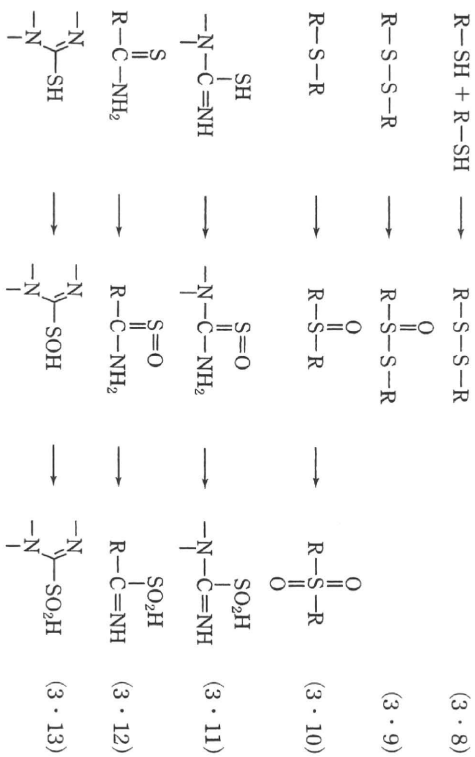


3. 薬物代謝に関与する酵素とその反応機構



強い臭を有するトリメチルアミンは、FMO によって無臭のトリメチルアミン-N-オキシドに代謝される。遺伝的疾患である魚臭症候群 (fish odor syndrome) は、トリメチルアミン代謝の主要酵素である FMO3 の遺伝的多型による活性低下が原因である。

さらに、S 原子でも求核性の強いものほど FMO の基質となりやすく、チオール [式(3・8)], ジスルフィド [式(3・9)], スルフィド [式(3・10)], チオカルバミド [式(3・11)], チオアミド [式(3・12)], メルカプトアミン, メルカプトピリジン, メルカプトイミダゾール [式(3・13)] の酸化をも触媒する。



FMO による反応の特徴は、CO あるいは SKF525-A など P450 の典型的な阻害剤では阻害されないことである。また、FMO による酸化反応に NADPH-シクロ P450 レダクターゼはまったく関与せず、その抗体でも阻害されない。さらに、FMO の酵素活性は、フェニバルピタルおよび 3-メチルコラントレン処理で誘導されない。しかしながら、N-オクシドを反応系に添加すると活性が約 2 倍になるなどの特徴を有する。

3・2 薬物の酸化反応に関する酵素系

c. プロスタグランジンエンドペルオキシドシンターゼ (PHS/COX) 哺乳動物のほとんどのすべての細胞中に存在する。中でも精囊腺に最も多く含まれ、ヒツジやウシから精製され、その分子量は約 70,000 である。その他、腎臓、血小板、血管内皮細胞、消化管、脳、肺および膀胱にも比較的高い活性をもつ。

プロスタグランジンエンドペルオキシドシンターゼ (prostaglandin endoperoxide synthase) は上記組織細胞の小胞体と核膜に局在し、アラキドン酸からプロスタグランジン G₂ を生成する脂肪酸シクロオキシゲナーゼ活性 (COX) と、プロスタグランジン G₂ をプロスタグランジン H₂ に還元するプロスタグランジンヒドロペルオキシダーゼ活性 (PHS) の両触媒機能をもつ。図 3・8 に示すように薬物 [この反応においては特に相互基質 (cosubstrates) とよばれる] は、プロスタグランジンエンドペルオキシドシンターゼによってアラキドン酸代謝 (ヒドロペルオキシダーゼ

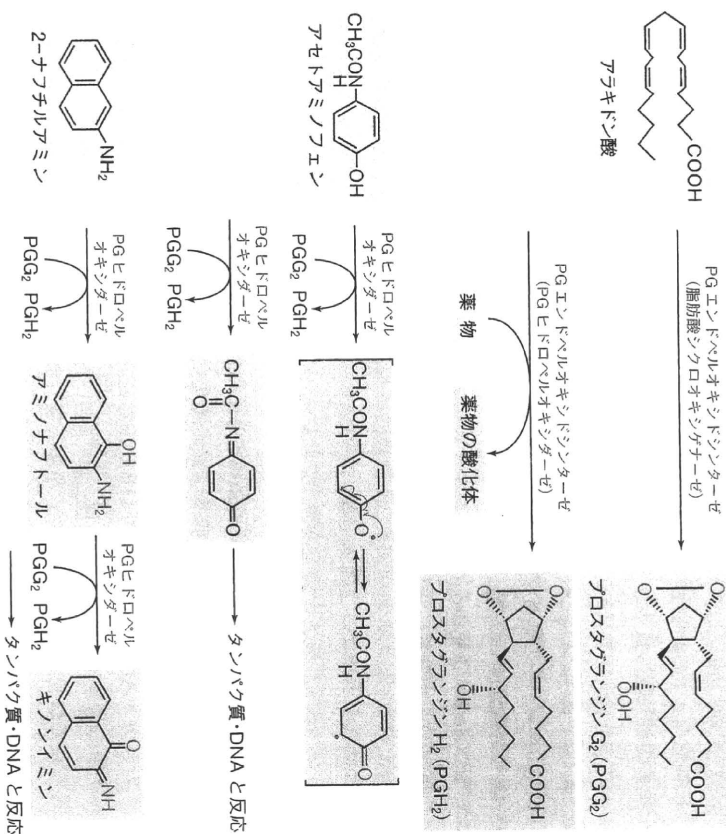


図 3・8 プロスタグランジンエンドペルオキシドシンターゼによるアセトアミノフェンおよび 2-ナチルアミン共役酸化の反応機構

ゼ触媒機能) との間に共役酸化反応 (co-oxidation) が起こる。芳香族アミンおよびフェノール化合物は、この反応を最も受けやすい。また、ベンゾ[a]ピレン、ベンゾ[a]ピレン-7,8-ジヒドロジオール、7,12-ジメチルベンゾアントラセンおよび N-[4-(5-ニトロ-2-フリル)-2-チアゾリル]ホルムアミド、アフラトキシン B₁ のようながん原物質とともに、アミノピリン、ベンゾ[e]タミン、オキシフェンブタゾンなど多くの薬物も、この共役酸化反応を受ける。

アセトアミノフェンの代謝反応機構は、水素の引き抜きによりフェノキシラジカルを生成する一電子酸化で、これがアセトアミノフェン腎毒性の原因物質と考えられている (図 3・8)。また、ベンジジンや 2-チアチルアミンにおいても同様に、2 回の一電子酸化で生成したキノノイミン体がタンパク質や DNA と共有結合する。一方、ベンゾ[a]ピレンやそのジオール代謝物は、炭素に直接酸素が導入され、水酸化体やエポキシ体を生成する。さらに、アミノピリンなどの N-アールキル化合物は、N-脱メチルを受ける。このように、共役酸化反応は、腎や肺あるいは膀胱の上皮細胞など P450 活性の低いか、もしくは欠如している組織における薬物の代謝とその毒性発現に関与していると考えられる。

3.2.2 非ミクロソーム酵素系

a. アルコールデヒドロゲナーゼ 第一級アルコールは、おもに中鎖脱水素酵素(還元酵素超遺伝子群 (ヌーパータファミリー) に属するアルコールデヒドロゲナーゼ (alcohol dehydrogenase, ADH) によって対応するアルコールに酸化される。この反応は可逆的で、正(脱水素)反応の至適 pH は 8~10 であり、逆(還元)反応の至適 pH は 5~7 である。NAD⁺ を特異的に補酵素として利用し、NADP⁺ ではほとんど活性を示さない (図 3・9)。



哺乳動物の ADH は、細胞質に存在する亜鉛含有酵素で、分子量約 40,000 のサブユニット 2 個の組合わせから成る二量体構造をもち、数多くの分子種が存在する。ヒトには一次構造や性質の違いに基づき、以下四つのクラスがある。クラス I は、サブユニット ADH1A, ADH1B (1B1, 1B2, 1B3), ADH1C (1C1, 1C2) のホモおよびヘテロ二量体である。これらは、エタノールを含む短鎖脂肪族アルコールの酸化に関与しており、肝に最も多く、小腸、胃、肺にも存在し、4-メチルピラゾールにより強く阻害される。また、これに対応する分子種の存在がラット、マウス、ウツ、サルにおいて知られている。クラス II は、サブユニット ADH2 のホモ二量体で、I と II の中間的性質を示し、肝、腎、肺に高在する。クラス III は、サブユニット

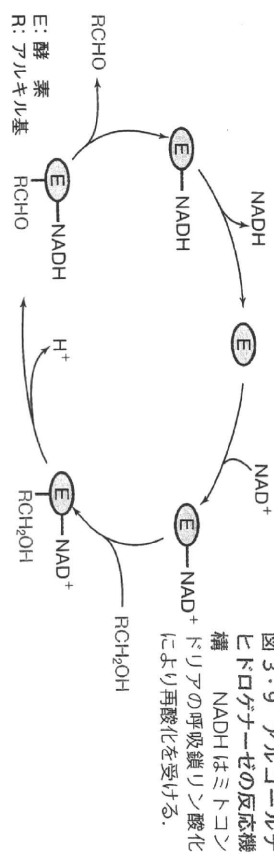


図 3・9 アルコールデヒドロゲナーゼの反応機構 NADH はミトコンドリアの呼吸鎖リン酸化により再酸化を受ける。

ADH3 のホモ二量体で、体内の諸臓器に普遍的に存在する。炭素数 5 以上の長鎖脂肪族および芳香族アルコールの酸化に関与するが、クラス I の酵素とは異なり、4-メチルピラゾールで阻害されない。クラス IV は、サブユニット ADH4 のホモ二量体で、胃と食道に特異的であり、肝には存在しない。クラス II と同様な性質を示す。

本酵素はエタノール代謝の律速酵素であり、脂肪族第一級、第二級および脂環式アルコール、ジオール体、一部のヒドロキシステロイド、ω-ヒドロキシ脂肪酸、ジキタリヌ配糖体のアグリコンなど幅広い基質特異性を示す。アルコール代謝は、多くの動物で肝の役割が大きく、ヒトでは ADH 全活性の 80% 以上が肝に存在する。分子内に水酸基を有する化合物を脱水素反応により酸化する。上記 ADH とは明らかに異なる酵素が、細胞質可溶性画分に存在する。これらの酵素は 1-イソタンノール、3-ヒドロキシヘキソニアルピタルおよびモルヒネなどを基質として精製されており、おもに基質に由来して命名されている (たとえばモルヒネデヒドロゲナーゼ)。多くは分子量 30,000~40,000 の単量体で、補酵素として NAD⁺ と NADP⁺ の一方あるいは両者を利用し、エタノール以外の広範な物質を基質とする。

b. ジヒドロジオールデヒドロゲナーゼ P450 によって芳香族二重結合 (がん原性多環式芳香族炭化水素、ナフタレンあるいはベンゼン) より生成したエポキシ体は、エポキシデヒドロラーゼにより *trans*-ジヒドロジオール体となる (表 3・1, エポキシデヒドロラーゼの項参照)。



本酵素は、これらジヒドロジオール体をカテコール体に酸化する NADP⁺ 依存性の可溶性酵素である。多環式芳香族炭化水素の代謝において、ジヒドロジオール体を酸化することにより究極がん原物質 (たとえばベンゾ[a]ピレン-7,8-ジオール-

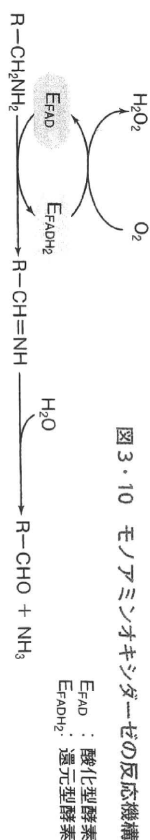
9,10-エポキシド)の生成を抑制する一方、細胞毒性の高い活性酸素や α -キノン体を生成するなど、毒性学的には二面性をもつ。このような代謝を行う酵素として、アルド-ケトレダクターゼ(aldo-keto reductase, AKR)ファミリーがある。ヒトには AKRIC1, AKRIC2, AKRIC4などが存在する。上記のジヒドロジオール体以外に、脂環式アルコール(ゾロスタグランジン)類の酸化およびカルボニル化合物の還元(§3・3・4参照)も触媒する広い基質特異性を示す。主要酵素は AKRIC4である。

c. アルデヒドデヒドロゲナーゼ アルデヒド化合物は、一部食品添加物の着色料として使用されているが、メチル基やアルコールの酸化あるいは生体膜の脂質過酸化、炭化水素の光化学反応によっても生成し、反応性が高く、生体内高分子と共有結合をつくる生体にとって有害な物質となる。アルデヒドデヒドロゲナーゼ(aldehyde dehydrogenase, ALDH)は、 NAD^+ または NADP^+ ($\text{NAD}^+ \rightarrow \text{NADP}^+$)を補酵素として、これらアルデヒド体を対応するカルボン酸体に不可逆的に酸化する反応を触媒することから、代謝過程で生成される有害なアルデヒド類の解毒が重要な機能である。ALDHは、サブユニットの分子量49,000~57,000のホモ二量体あるいはホモ四量体で、活性中心にSH基を有する単純タンパク質であり、脂肪族や芳香族の各種アルデヒドの酸化に働く。基質特異性は低く、一つの分子種で多種類の基質を酸化することが可能であるとともに、各分子種間で基質特異性が著しく重複しているのが特徴である。アルデヒド基は酵素のSH基にチオエーミアセタールの形で結合し、酸化されてチオエステルを経て加水分解される。



本酵素の臓器内分布は、肝に最も多く、ついで腎、副腎、生殖腺、胃など多くの臓器に存在する。また、ラットやヒト肝では、ミトコンドリア、ミクロソームならびに上清に活性が分布している。肝のアルデヒドデヒドロゲナーゼは、P450と同様にフェノバルビタールあるいは3-メチルコレラントレン処理により誘導される。ジスルフィラムやシクロプロパノンによって活性が阻害される。このアルデヒド類の酸化についてはミクロソーム中にMALDOの存在が知られている。これについてはすでに述べた(p. 53)。

ヒトにおけるALDHにはいくつもの分子種があるが、肝および胃のミトコンドリアに局在するALDH2は、アセトアルデヒドの代謝に関与する最も主要な酵素である。東洋人に見られる本酵素の欠損者は、少量のアルコール飲用後でも血漿アルデヒド値が高くなるため、顔面紅潮、悪心などをひき起こす。この欠損は、ALDH2遺伝子の点突然変異(point mutation)により487番目のアミノ酸残基のグルタミン酸がシリニンに変換したことによる。

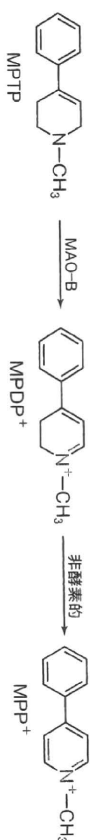


d. モノアミンオキシダーゼ モノアミンオキシダーゼ(monoamine oxidase, MAO)は、カテコールアミンや脂溶性の直鎖アミンを酸化的に脱アミンする酵素であり、肝、腎、胃、腸、動脈、脳、血小板に高い活性がある。



MAOはFADを補酵素とし、ミトコンドリア外膜に局在するフラビン酵素である。ケロルジリン、ハーマリンあるいはテアラニル、パージンなどの阻害剤に対する感受性の違いから、前者に特異的なA型(MAO-A)と後者に特異的なB型(MAO-B)の2種に分類される。MAO-Aは、セロトニン、ノルアドレナリン、アドレナリンを基質とするのに対し、MAO-Bはベンジルアミン、 β -フェネチルアミンを基質とする。なお、チラミン、ドパミンは両型の基質となるが、アニリン、アンフェタミンはいずれも基質とならない。図3・10にMAOの反応機構を示す。

MAO-Bは、合成麻薬ベチジン(マベリジン)合成時の副産物である1-メチル-4-フェニル-1,2,3,6-テトラヒドロピリジン(MPTP)を代謝して、パーキンソン病様症状をひき起こす。これは、MPTPが脳内のMAO-Bにより酸化されて1-メチル-4-フェニル-2,3-ジヒドロピリジニウムイオン(MPP⁺)となり、ただちに自動酸化を受けミトコンドリア毒性(NADHデヒドロゲナーゼ阻害)を示す1-メチル-4-フェニルピリジニウムイオン(MPP⁺)を生成することによる(図3・11)。このように、神経毒の生成にかかわることから脳内におけるMAOは毒性学的に重要である。



e. キサンチンオキシダーゼ(キサンチンデヒドロゲナーゼ) フリン塩基の代謝物であるヒポキサンチンをキサンチンに、ついでキサンチンをさらに尿酸にまで酸化する。また、種々のアルデヒド類のカルボン酸体への酸化とともに、ある種の複素環および芳香族ニトロ化合物のニトロ基の還元も行う。キサンチンオキシダー

ゼ (xanthine oxidase) [キサンチンデヒドロゲナーゼ (xanthine dehydrogenase)] の酸化反応に伴う酸素の還元産物は O_2^- または H_2O_2 であり, O_2^- は非酵素的に H_2O_2 と O_2 になる. メタノールの酸化においては, アルコールデヒドロゲナーゼよりむしろペルオキシソーム中に含まれるカタラーゼによって多くは酸化されるが, これには本酵素反応によって生成する H_2O_2 が利用される. アロプリノール, アロキサントンおよびアリン-6-アルデヒドは本酵素の強力な阻害剤である.

本活性は, 哺乳動物では肝, 小腸粘膜, 乳汁において高い. 肝可溶性画分より精製された酵素の分子量は約 290,000 であり, その二量体酵素 1 分子当たり 2 分子の FAD, 2 原子のモリブデン, 8 原子の鉄を含む. 白血病治療薬のメルカプトプリンには本酵素によって速やかに代謝され, 薬理活性をもたない 6-チオ尿素へと代謝される. このため, メルカプトプリンにシステインを包含させてアロプロラゾ化することにより有用な臨床成績が得られている.

f. アルデヒドオキシダーゼ アルデヒド類のカルボニル酸体への酸化を触媒するとともに, NAD の代謝物である N^1 -メチルニコチンアミドや 2-ヒドロキシピリジンのような複素環式化合物に対して高い活性を示す. また, 前述のキサンチンオキシダーゼ (キサンチンデヒドロゲナーゼ) の類縁酵素であるが, ヒポキサンチンやキサンチンに対しての活性はほとんど有さない. 嫌気的条件下においてアルデヒドオキシダーゼ (aldehyde oxidase) は, N^1 -メチルニコチンアミドや 2-ヒドロキシピリジンを電子供与体として N -オキシド, スルホキシド, ヒドロキソム酸, N -ニトロソ, オキシム, ニトロ, アゾ化合物など多くの薬物の還元反応を触媒する. メナジオン, クロルプロマジン, アミドール, シアソ化カリウム, 亜ヒ酸ナトリウム, β -クロロメルクリ安息香酸, キナクリンは本酵素活性を阻害する.

本活性は, 肝において最も高く, 可溶性画分に局在する. しかし, ミトコンドリアやミクロソーム中にも若干認められる. また, 動物肝可溶性画分から精製された酵素の分子量は約 270,000 であり, キサンチンオキシダーゼ (キサンチンデヒドロゲナーゼ) と同様にその 1 分子中に FAD 2 分子, モリブデン 2 原子, 鉄 8 原子を含む.

g. 脂肪酸の β 酸化酵素系

脂肪酸の β 酸化酵素系は真核細胞のミトコンドリアとペルオキシソームに存在する. 両者の差異は, ペルオキシソームの β 酸化の初発反応が酸化反応に対して, ミトコンドリアでは脱水素反応であることである. ペルオキシソームの β 酸化酵素活性は, 飢食, 糖尿病, 高脂肪食摂取, 発生・成長に伴い迅速かつ顕著に変化することが知られており, 抗高脂血症薬 クロソイプラートやアラスチック可塑性 フタル酸エステル類, フェノキシ酢酸系農薬, 抗炎症薬など多くの薬物によって顕著に誘導される. ペルオキシソームの β 酸化酵素

は, ミトコンドリアにおけるエネルギー生成の補助的機能をもつが, 基質特異性が低いため, ミトコンドリアでは酸化されにくい長鎖脂肪酸, 不飽和脂肪酸, ジカルボン酸, 胆汁酸前駆体とともに, アシル側鎖を有する薬物の側鎖短縮反応に主要な役割を果たすなど薬物代謝酵素としても機能している.

3. 3 薬物の還元反応に関与する酵素系

3. 3. 1 NAD(P)H: キノンオキシドレダクターゼ

(NQO1, DT-ジアホラーゼ)

NAD(P)H: キノンオキシドレダクターゼ [NAD(P)H: quinone oxidoreductase] は, 還元型ピリジンスクワレオチドを電子供与体として, ベンゾキノン類, ピタミンK を含むナフトキノンをそれぞれキノールに二電子還元する (表 3. 1). また, 4-ニトロキノリン-1-オキシド (4-NQO) のニトロ基をヒドロキシアミノ基へ還元し毒性発現に関与する. メチルレッドのように 2 位にカルボキシ基を有する化合物のアゾ基還元性も有する. 分子量約 55,000, 補欠分子族として 1 分子中に 2 分子の FAD を含有, サテユニットの分子量 27,000~30,000 のホモ二量体として存在する. 還元型ピリジンスクワレオチドとして NADH (旧補酵素名 DPNH) および NADPH (TPNH) の両者をほぼ同等に電子供与体とする特徴があり, DT-ジアホラーゼ (DT-diaphorase) という名称は旧補酵素名の D と T に由来する. さらに, 3-メチルコラントレン, ベンゾ[a]ピレン, ポリ塩化ビフェニル (PCB), 2,3,7,8-テトラクロロジベンゾ-p-ジオキシン (TCDD, ダイオキシンの), フタルヒドロキシアニソール (BHA), ジアチルヒドロキシルエノン (BHT) によって強く誘導される. 一方, ジクマロール, ワルファリンなどの抗凝薬によって, きわめて強く阻害される. 本活性は各種動物の肝に最も多く, 腎, 肺, 脳など種々の器官にも認められる. なお, ラット肝での局在性は, 95% が可溶性画分であり, ミクロソームおよびミトコンドリアには 2~3% 程度存在する.

3. 3. 2 NADPH-シトクロム P450 レダクターゼ

NADPH-シトクロム P450 レダクターゼ (NADPH-cytochrome P450 reductase) はニトロ基 [式 (3. 18)] やアゾ基 [式 (3. 19)] の還元を単独でも行うことができ, CO で阻害されない. 既述 (p. 47) のようにミクロソームに局在, FMN と FAD を各 1 分子もつ分子量約 75,000 のフラビン酵素であり, 電子伝達系を構成する酵素の一つとして P450 に電子を渡す機能をもつ.



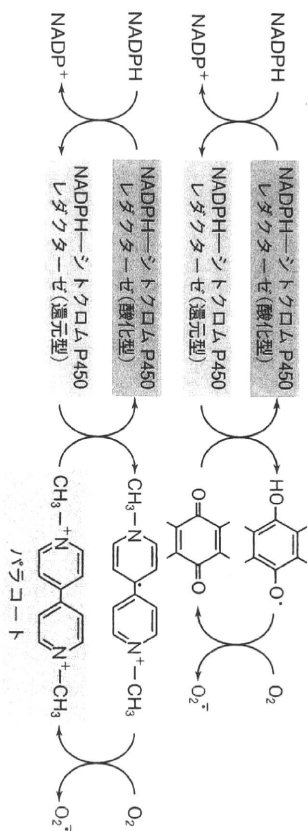


図3-12 NADPH—シトクロムP450 レダクターゼによるアントラサイクリン系抗がん薬およびパラコートの還元に伴う O_2^- の生成機構

本酵素によるニトロ基の還元は、式(3・18)に示すようにニトロソ体を経てヒドロキシルアミンまでの反応であるが、これら代謝物はいずれも反応性に富み、毒性的(メトヘモグロビン形成など)に重要である。また、反応は一電子還元であるため、代謝物による種々の障害を招くことが知られている。すなわち、抗悪性腫瘍薬(抗がん薬)アドリマイシンなどのアントラサイクリン系抗生物質は、還元され、図3・12に示すような機構でスーパーオキシド(O_2^-)を生成、これが心毒性の原因となる。また、除草剤であるパラコートも、スーパーオキシドを生成して肺毒性を示す(図3・12)。さらに、本酵素は Fe^{2+} の存在下、脂質過酸化をひき起こす。その機構は、一電子還元によって生成した O_2^- と、その不均化反応により生成する H_2O_2 とから、鉄イオンなどの遷移金属の触媒下、きわめて反応性の高いヒドロキシルラジカル($\cdot OH$)が生成[フエントン型ハーバー・ワイス反応(Fenton type Haber-Weiss reaction), 式(3・20)]し、これが脂質過酸化反応の引き金となる(図3・13)。



なお、これらスーパーオキシド由来の酸素毒性に対する生体内防御機構として、スーパーオキシドジスムターゼ(SOD)が存在し、スーパーオキシドを H_2O_2 と O_2 にしたのち[式(3・21)], 生成した H_2O_2 をカタラーゼがさらに H_2O と O_2 に分解する[式(3・22)]。

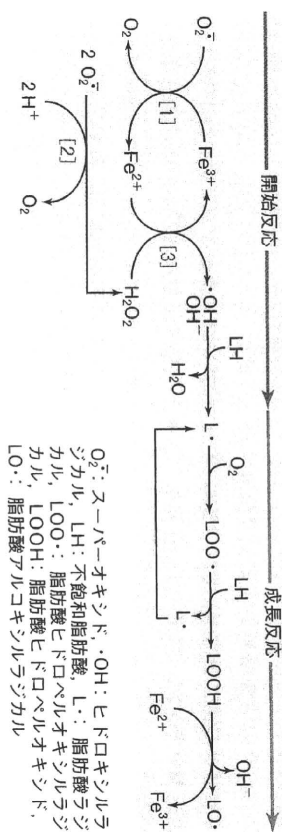


図3-13 鉄イオン触媒下のハーバー・ワイス反応による $\cdot OH$ の生成と脂質過酸化反応機構 [1] 鉄イオンの還元, [2] O_2^- の不均化反応, [3] フエントン反応

3・3・3 P450

§3・2・1aで述べたようにP450は、好氣的条件下ではモノオキシゲナーゼとして、広く薬物の酸化に関与しているが、嫌氣的条件下ではその低い酸化還元電位により還元を触媒する。この反応は、 O_2 により競合的に阻害されるので、生体内での寄与は基質により異なる。

P450は、ニトロ基のアミンへの還元、アゾ基の還元的開裂、アレーンオキシドおよびN-オキシドからの脱酸素ならびにポリハロゲン化合物の還元的脱ハロゲンなどを触媒する。なお、ニトロ基の還元は、ニトロソ化合物、ヒドロキシルアミン化合物を経て最終的にアミンとなる。

本酵素による還元反応は、図3・2に……→で示した機構で進み、酸素および CO で強く阻害される。

3・3・4 アルデヒドレダクターゼ, カルボニルレダクターゼ (ケトンレダクターゼ)

ケトンは、生体内で還元体である第二級アルコールと平衡関係を保ち共存する。酵素化学的には至適pHが10付近にあるカルボニル生成(酸化)よりも、そのpHが7付近(生体の正常pH)にあるアルコール生成(還元)の方に傾いている。しかし、アルデヒドは前述のアルデヒドレダクターゼ、アルデヒドオキシダーゼおよびMALDOによって不可逆的にカルボン酸となるため、アルコールへ還元されにくい。ただし、催眠薬の抱水クローラルは、生体内で還元されトリクロエタノールとなる。

カルボニル基の還元を触媒する酵素としては、既述のアルコールレダクターゼ(ADH)がよく知られている。本酵素は、逆反応によりNADHを補酵素として