

農薬代謝におけるグルタチオンS-トランスフェラーゼの役割

誌名	日本農薬学会誌
ISSN	03851559
著者	穴戸, 孝
巻/号	3巻特別号
掲載ページ	p. 465-473
発行年月	1978年12月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



農薬代謝におけるグルタチオン S-トランス フェラーゼの役割

宋 戸 孝

農林水産省農業技術研究所

The Role of Glutathione S-Transferases in Pesticide Metabolism

Takashi SHISHIDO

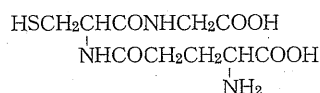
National Institute of Agricultural Sciences, Nishigahara,
Kita-ku, Tokyo 114, Japan

This review summarizes recent research on the metabolism of pesticides by GSH conjugation, the role of this reaction in pesticide selectivity in mammals and plants, and characteristics of GSH S-transferases. GSH conjugation occurs with organophosphorus insecticides, γ -BHC, organothiocyanate insecticides, s-triazine herbicides, thiocarbamate sulfoxides, fluorodifen, EDB and monofluoroacetic acid. GSH S-transferases are widely distributed in mammals, birds, fishes, insects, plants and microorganisms. The highest activity is found in the mammalian liver and microorganisms are low activity. Plant enzymes are very stable. GSH S-transferases from mammals and insects comprise a group of enzymes which have overlapping substrate specificities. Chemical structures possessing an electrophilic center, high SN reactivity, and the reactive center of low electron density can conjugate readily. The formation of a GSH conjugate destroys the biocidal properties of the parent molecule. The function of GSH S-transferases may be regarded as biological protection against electrophilic foreign compounds which have the capacity to bind to biological molecules with nucleophilic centers. The qualitative and quantitative differences in GSH S-transferases distributed in various organisms are closely associated with insecticide or herbicide selectivity and insecticide resistance. Dichloroacetamide antidotes act in corn to induce GSH and GSH S-transferase, resulting in rapid detoxication of thiocarbamate sulfoxides.

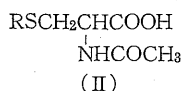
はじめに

グルタチオン (GSH) (I) は活性 SH 基をもち、さまざまな異物 (xenobiotics, 低分子の非生体性有機化合物) と結合して GSH 抱合体を作る。この反応を触媒する酵素がグルタチオン S-トランスフェラーゼ (GSH トランスフェラーゼ) である。一般に動物体においては GSH 抱合体はさらに代謝され、まずグルタミン酸とグリシンが離脱し、生成したシステイン抱合体は N-アセチル化されて、メルカプツール酸 (II) となり尿中に排泄される^{1,2)}。メルカプツール酸は 1879 年に Baumann &

Preusse³⁾ と Jaffé⁴⁾ によってそれぞれハロゲン化ベンゼンを投与した動物の尿から見いだされた化合物で、その生成機構は長く不明であったが、1961 年に Booth⁵⁾ によって GSH トランスフェラーゼが発見されるに及んで一連の過程がようやく明らかにされた。この機構は生物にとって不必要な異物に対する対応あるいは生体防御機構の一つと考えることができる。



(I)



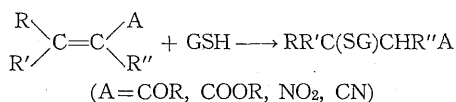
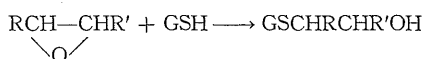
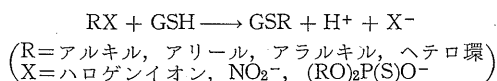
一般の抱合（グルクロン酸抱合，硫酸抱合，グリシン抱合等）は脂溶性異物がいったん酸化，還元，加水分解をうけて分子内に OH, NH₂, COOH 等の極性基が導入された代謝物と生体成分（糖，硫酸，アミノ酸等）との反応であるのに対し，GSH 抱合は GSH が脂溶性異物と直接結合し，これを極性化する点で大きく異なっている。この抱合により物理性，化学構造が大きく変えられることから，一般に物質のもつ生理活性あるいは生体分子との反応性は消失する。

グルタチオン抱合に関する研究の進展にともない，今日では GSH トランスフェラーゼは動物をはじめ植物，微生物にまで広く分布していることが知られ，各種の農薬がこの酵素によって代謝されていくことが明らかにされている⁹⁾。そして生物間における GSH 抱合能の差異が殺虫剤・除草剤選択性あるいは殺虫剤抵抗性の主要因となっている例がしばしば見いだされている。ここでは，GSH トランスフェラーゼによる農薬の抱合とその毒物学的意義や酵素特性を中心にふれてみたい。

グルタチオン S-トランスフェラーゼによる農薬の代謝

1. 反応様式

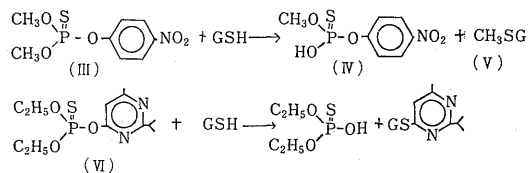
動物に投与された異物からメルカプツール酸の生成より，あるいはまた GSH トランスフェラーゼの基質特异性から，多くの化合物が GSH 抱合体を形成することが明らかにされている。次式は GSH トランスフェラーゼによる一般反応様式を示したものである。



最初の例は leaving group X と GSH との置換反応で，有機ハロゲン化合物，ニトロ化合物，リン酸トリエステル等がアニオンを遊離すると同時にアルキル，アリール，アラルキル残基や N-ヘテロ環等が GSH のイオウ原子に転移する。農薬の GSH 抱合の多くはこの型に属する。その他の例は GSH の付加反応でエポキシドとアルケン化合物において起こる。

2. 殺虫剤

動物による有機リン殺虫剤のリン酸エステル結合の開裂には加水分解，酸化，GSH 抱合の三つの機構が関与している。メチルパラチオン^{7,8)}(III)，メチルパラオクソン⁹⁾，テトラクロルピリンホス¹⁰⁾，アジンホスメチル¹¹⁾その他ジメチル系有機リン殺虫剤は哺乳動物と昆虫のトランスフェラーゼによりそれぞれ脱メチル体(IV)と S-メチルグルタチオン(V)を生成する。



パラチオン¹²⁾，モカップは脱エチルするが，アルキル基が高級になると脱アルキルされにくくなる。ダイアジノン¹³⁾(VI)の場合には P-O-ピリミジニル結合が，パラオクソン¹⁴⁾，パラチオン¹²⁾では P-O-フェニル結合が開裂して，アリール基が転移する。一部の哺乳動物，昆虫酵素では二つのエステル部位に作用する例も見いだされている。そのアルキル基とアリール基の転移割合は種，系統によりかなり異なっている。

殺虫剤，殺菌剤として用いられている有機チオシアネート化合物は GSH トランスフェラーゼにより青酸を遊離し，毒作用を発現する¹⁵⁾(Fig. 1)。GSH 抱合はほとんどが解毒作用であるのに対し，この反応は数少ない活性化の例である。

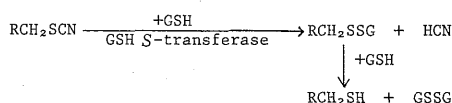
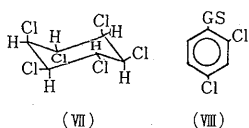


Fig. 1 Bioactivation of alkyl thiocyanates by GSH S-transferase.¹⁵⁾

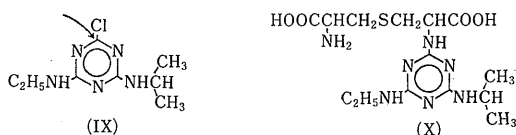
塩素系殺虫剤 γ -BHC (VII) は生体でクロロシクロヘキセン，クロロベンゼン，クロロフェノール，抱合体等に代謝される。ラットに投与された γ -BHC と γ -2,3,4,5,6-ペンタクロロシクロヘキセンから 2,4-ジクロロフェニルメルカプツール酸が分離されている¹⁶⁾。哺乳動物の GSH トランスフェラーゼは γ -2,3,4,5,6-ペンタクロロシクロヘキセンの GSH 抱合を行なうが，昆虫酵素と違って γ -BHC の抱合能をもたず¹⁷⁾，いったん，ミクロゾーム酸化酵素系により不飽和化され，生成したクロロシクロヘキセンから GSH 抱合，次いでメルカプツール酸を生成すると考えられている^{18,19)}。 γ -BHC 抵抗性昆虫では GSH 抱合は主要代謝経路の一つであり，昆虫

可溶性酵素により容易に 2,4-ジクロロフェニルグルタチオン (VIII) が生成する²⁰⁾. この生成機構としては γ -BHC に GSH が直接結合する説と, いったん不飽和化を経て抱合が起こるとの説¹⁹⁾に分かれている. γ -BHC に作用する昆虫 GSH トランスフェラーゼは他の多くのトランスフェラーゼ基質にも作用する²¹⁾. 現在まで γ -BHC のみに作用する酵素は単離されていない.



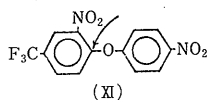
3. 除草剤その他の農薬

トリアジン系除草剤アトラジン (IX) は植物体で側鎖 *N*-アルキル基の酸化を受ける以外に GSH 抱合体を生成する²²⁾. 各種トリアジン系除草剤に作用する植物 GSH トランスフェラーゼはトウモロコシ, モロコシの葉より分離されている²³⁾. この抱合は植物において見いだされた最初の例である. アトラジンの GSH 抱合体はシステイン抱合体を経てさらに lantionine 抱合体 (X) に変化する.

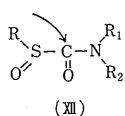


(矢印は GSH トランスフェラーゼによる攻撃位置を示す)

ジフェニルエーテル系の除草剤フルオロジフェン (XI) はエンドウマメその他の植物の GSH トランスフェラーゼによりエーテル結合の開裂をうけて *S*-(2-nitro-4-trifluoromethylphenyl) glutathione と 4-ニトロフェノールとなる²⁴⁾. この抱合は植物におけるフルオロジフェンの主要代謝経路である. 植物体では抱合体がさらに構造不明の不溶性化合物に変化する.



チオカーバメート系除草剤は動植物の酸化酵素によりチオカーバメートスルホキッド (XII) に酸化される. この活性体は植物あるいは動物の GSH トランスフェラーゼにより解毒され, *S*-(*N,N*-dialkylcarbamoyl) gluta-



thione を生成する²⁵⁾. 植物体からはこの GSH 抱合体とシステイン抱合体が分離されている. 動物体ではさらに代謝が進行し, メルカプトツール酸, メルカプト酢酸の形で排泄される.

殺線虫剤 EDB はラット肝 GSH トランスフェラーゼにより *S*-(β -hydroxyethyl) glutathione に変化する. これは不安定の GSH 抱合体が一度生成し, さらに加水分解をうけて生成したと考えられる²⁶⁾ (Fig. 2). EDB 投与のラット組織からはこの抱合体とそのスルホキッド体やメルカプトツール酸が分離されている.

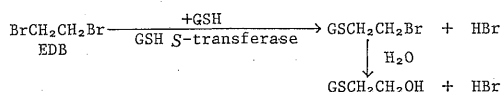
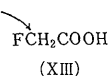


Fig. 2 Conjugation of EDB with GSH.²⁶⁾

モノフルオロ酢酸 (XIII) は殺ソ剤として使用されているが, カイガラムシ, ハダニ, アブラムシ防除に使用されているフルオロアセトアミドの中間代謝物でもある. この化合物はレタスにより一部炭酸ガスとして排出されるが, そのほとんどは *S*-carboxymethylglutathione とそのシステイン抱合体に変化する²⁷⁾. モノフルオロ酢酸は非酵素的に GSH とほとんど反応しないことから, 酵素的生成と考えられている.



グルタチオン *S*-トランスフェラーゼ

1. 分 布

Booth ら⁵⁾によって見いだされた GSH トランスフェラーゼはその後多種多様な型の化合物に作用することが明らかにされ, これらの酵素は転移基の炭素骨格に従って, 一応アルキルトランスフェラーゼ, アリールトランスフェラーゼ, アラルキルトランスフェラーゼ, エポキシドトランスフェラーゼ, アルケントランスフェラーゼ等に分類されている.

哺乳動物の場合, 上記トランスフェラーゼは主として肝, 腎, そのほか腸, 肺, 心, 脾, 脳, 赤血球にも存在するが, その分布率は使用する基質により異なり, また種属においてもかなりの差がみうけられる. メチルパラチオンのメチル抱合は哺乳動物臓器一般に見いだせるが, 肝臓がもっとも高い活性をもっている⁸⁾. 昆虫も広い範囲に分布しているが, 種, 系統により活性に差がある. カブトムシ, カイコ, ワモンゴキブリの脂肪体と中腸が比較的高い活性をもっている. しかし, 哺乳動物よ

りはかなり活性は低い^{8,26)}.

植物のアトジン抱合酵素はこの薬剤に抵抗性をもつモロコシ、トウモロコシ、ジョンソングラス等の葉に分布している²³⁾. 一方、フルオロジフェン抱合酵素は植物一般に分布し、根、胚軸、葉に存在している²⁴⁾. チオカーバメートスルホキシドに作用する酵素は根と葉に分布している. また、レタスの葉、トウモロコシの茎葉および根は哺乳動物、昆虫と同様に、各種有機ハロゲン化合物、エポキシド、アルケン化合物、有機リン化合物に対する抱合活性をもっている^{29,30)}.

微生物のトランスフェラーゼについてはほとんど研究

Table 1 GSH S-transferase activity towards O, O-diethyl O-(2, 4-dinitrophenyl) phosphorothionate in various organisms.³¹⁾

	Enzyme activity	
	conjugate, nmol/min/g of fresh wt.	
Rat liver	16,000	
Pigeon liver	14,000	
Carp liver	520	
Am. cockroach fat body	2,400	
Corn (leaf, stem)	34	
<i>E. coli</i>	28	

されていないが、酵母と大腸菌は植物より活性は低い、同様なトランスフェラーゼ活性をもっている^{29,30)}.

Table 1 は各種生物における GSH トランスフェラーゼ活性を O, O-diethyl O-(2, 4-dinitrophenyl) phosphorothionate を基質として比較した結果を示したものである³¹⁾. 抱合体 2, 4-ジニトロフェニルグルタチオンの生成は温血動物が高く、トウモロコシや大腸菌では比較的低い傾向がみられる.

2. 特 性

GSH トランスフェラーゼはそのほとんどが未精製の状態で用いられていたため、酵素と基質間の相互関係や酵素の種類を明確にとらえることができなかった. しかし、最近になってラット肝臓とワモンゴキブリ脂肪体からトランスフェラーゼが分離精製された結果、複数個の型があり、おのおの酵素の間で基質の重複が認められることが明らかにされて^{32~34)}、従来の分類法には問題が生じてきている.

メチルパラチオンのメチル抱合とダイアジノンのピリミジン抱合を行なうトランスフェラーゼがワモンゴキブリ脂肪体から5個分離されている³³⁾ (Table 2). トランスフェラーゼ I と V はダイアジノンに作用し、II~IV はメチルパラチオンのみに作用する. I はダイアジノン以外にクロルピリミジン、クロルトリアジン等の N-ヘテロ環の転移も触媒する. II~IV は構造のまったく異なる

Table 2 Properties of GSH S-transferases.

Property	Transferase							
	Am. cockroach (fat body)					Corn (leaf)	Pea (epicotyl)	
	I	II	III	IV	V			
Substrate specificity	Diazinon (heterocycle)*	← Methyl parathion (alkyl)* → ← 3,4-Dichloro-1-nitrobenzene (aryl)* → ← p-Nitrobenzyl chloride (aralkyl)* → trans-Cinnamaldehyde (alkene)* 1, 2-Epoxy-3-(p-nitrophenyl) propane (epoxide)*			Butyl bromide (alkyl)*	Diazinon (heterocycle)*	Atrazine (heterocycle)*	Fluorodifen (aryl)*
MW (10 ³)	← 35-37 →							
Optimum pH	6.5	← 8.5 →			6.5	6.7	9.4	
K _m (substrate)	1.3×10 ⁻⁴ M	← 2.8×10 ⁻⁴ M →			1.3×10 ⁻⁴ M	3.7×10 ⁻⁵ M	1.2×10 ⁻⁵ M	
K _m (GSH)						2.4×10 ⁻³ M	7.4×10 ⁻⁴ M	
Stability	Stable	← Unstable →				Very stable	Very stable	
Reference	← 33) →					23)	24)	

* Parentheses indicate types of GSH conjugation.

化合物に広く作用し、しかも重複した基質特異性をもっている。とくに、IIIはアリール、アラルキル、アルケン、エポキシド抱合活性が強い。一方、ラット肝臓から5個のGSHトランスフェラーゼが分離され³⁴⁾、昆虫と同様に基質に対する重複性を示すが、ワモンゴキブリとは溶離位置、基質特異性、分子量にかなりの違いがある。肝トランスフェラーゼIはメチルパラチオンのメチル抱合のみを行なうが、IIIとIVではアルキルとアリール抱合の両者が起こる。ダイアジノン³⁵⁾はIIIとIVによりピリミジン部位で抱合体を作る。IIとVは有機リン殺虫剤には作用しない。また、200倍に精製されたイエバエGSHトランスフェラーゼは分子量23,000の二つのサブユニットよりなり、各種リン殺虫剤や γ -BHCに作用する²⁴⁾。

植物のトランスフェラーゼはトウモロコシ²³⁾とエンドウマメ²⁴⁾から部分精製されている。両酵素は分布と性質が異なることから異なった酵素と考えられている。動物酵素にくらべてこれらの酵素は比較的安定であり、基質(除草剤)の K_m 値が低く、酵素との強い親和性は注目値する(Table 2)。

3. 化学構造と酵素的反応性

GSHトランスフェラーゼの基質となる化合物はいままで述べてきたように構造的に非常に多種多様にわたっており、基質の間には一見してまったく共通性がないように思われる。しかし、この酵素によって触媒される化合物は通常物質代謝に関与する酵素のように特異的な分子構造あるいは化学結合などを必要とせず、分子内に強力な親電子センターをもつことが要求される^{2,32,35)}。

ラット肝トランスフェラーゼによる有機リン酸トリエステル化合物のアリール転移性は電子吸引性置換基をもつものが大きく、2-クロロ-4-ニトロフェニル基[ダイキャブソン(XIV)]、2,4-ジニトロフェニル基[O,O-dialkyl O-2,4-dinitrophenyl phosphorothionate(XV)]はきわめて反応性に富んでいる³⁵⁾。この傾向は一般的で、3,4-ジクロロ-1-ニトロベンゼン、1-クロロ-2,4-ジニトロベンゼン(XVI)はきわめてアリール基が転移し

やすい³²⁾。ヘテロ環転移性ではダイアジノン、アトラジンのほかに、2-クロロ-5-ニトロピリジン(XVII)、2-イソプロピル-4-メチル-6-クロロピリミジン、2-クロロ-4,6-ジフェノキシ-6-トリアジン(XVIII)等が非常によく酵素的に転移する³³⁾。

これらの化合物の酵素的反応性を有機反応機構的にみると芳香族親核反応性(ArSN反応性)と密接に関連のあることがわかる。すなわち、ベンゼン環の反応炭素はニトロ基、ハロゲン等の電子吸引性置換基のため強力な親電子センターを形成し、ヘテロ環では電気陰性度の大きい環窒素により反応炭素の π 電子密度がきわめて低下している。

また、アルキル基の転移性の場合も化学的にアルキル化能の高い、あるいは2分子脂肪族親核置換反応性(SN2反応性)に富んだ構造が酵素的にも高い反応性を示す^{10,35)}。すなわち、有機リン酸トリエステル化合物はアルキル化剤としての性質をもっており、アルキル基の中ではメチル基の反応性が最も強い。GSHとの酵素的抱合はメチルエステルが最も活性が大で、エチル基、プロピル基の転移性は低くなる。ハロゲン化アルキルの抱合も同様で、Table 3に示したようにトランスフェラーゼは沃化メチルに最もよく作用する³²⁾。これは沃化アルキルのSN2反応性³⁶⁾ときわめて類似の傾向を示している。

一般に、炭素不飽和結合への付加反応は α, β -不飽和カルボニルにおいて容易に起こることが知られている。GSHトランスフェラーゼによるGSH付加反応も同様で、マレイン酸ジエチル(XIX)やシナムアルデヒド(XX)は容易にGSH抱合体を作ることが明らかにされ

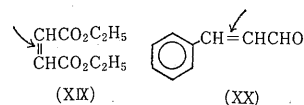
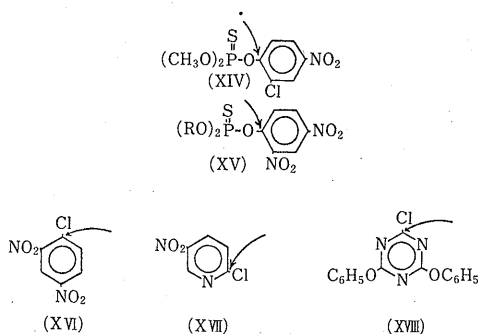


Table 3 GSH conjugation and SN2 reactivity of alkyl iodides.

	Specific activity of rat liver transferase E μ moles $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ *	Relative rates of SN2 reactions**
CH_3I	8.9	1.00
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{I}$	2.8	0.22
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{I}$	1.0	0.08

* Habig *et al.*: *J. Biol. Chem.* **22**, 7130 (1974)³²⁾

** Segaller: *J. Chem. Soc.* **103**, 1154 (1913); $\text{RI} + \text{C}_6\text{H}_5\text{ONa} \rightarrow \text{C}_6\text{H}_5\text{OR} + \text{NaI}$; $k_2(\text{CH}_3\text{I}) = 0.03362 \text{ min}^{-1} \text{M}^{-1}$ (42.5°)³⁶⁾



ている^{1,2)}。

以上のように GSH 抱合反応は親核反応性と密接な関連性を示すことから、基質となる化合物の親核反応定数、あるいは反応炭素の電子密度を求めることにより、酵素的反応性を予測することが可能と思われる。今後この面からのドラッグデザインへの応用が期待されよう。

また、酵素学の点からみると GSH トランスフェラーゼの基質特異性は特定の物理化学的性質に支配され、従来の化学構造に立脚した“lock and key”説の範囲をこえたもので、この点注目に値する。

グルタチオン抱合と農薬の選択性

生物体において農薬が毒作用を発現するまでの過程は農薬と生物の接触、生体内への浸透移行、活性化あるいは解毒代謝、体内組織への蓄積、排泄、作用部位への移行、作用点との相互作用などの諸因子が関与しており、とくに農薬の体内濃度を支配する代謝の生物間における量的な、あるいは質的な差異は毒性発現に大きく影響し、生物種における作用点感受性の違いとともに農薬の選択性を支配する要因の一つと考えられている。近年、GSH トランスフェラーゼによる農薬の代謝とその生物分布や毒物学的意義が明らかになるにつれて、殺虫剤の選択毒性³⁵⁾、殺虫剤抵抗性³⁷⁾、除草剤の殺草選択性³⁵⁾の機構とグルタチオン抱合の関連性が数多く報告されている。

1. 殺虫剤選択性

パラチオン型の有機リン殺虫剤は Table 4 に示したように、一般にアルキル基がメチル基の場合エチル基に比し、哺乳動物に対し低毒である。また、メチル系殺虫剤は比較的高い殺虫性を保持しており、昆虫と哺乳動物間に選択性を生ずる^{39,40)}。この系統の殺虫剤は動物体でリン酸エステル結合が開裂し解毒されるが、そのパターンは化学構造と生物種によって異なっている。哺乳動物に投与されたメチル系殺虫剤は脱メチルをうけやすく、低毒性のものほどこの率が高くなる。エチル系では大部分がアリール結合の開裂による分解をうける。一方、昆虫では両薬剤とも脱アリール化がほとんどを占める^{41~43)}。

一方、酵素レベルから脱アルキルをみると、この解毒反応に関与する酵素は GSH トランスフェラーゼであることが明らかにされている。トランスフェラーゼは一般にメチル系殺虫剤によく作用し、脱メチル活性はエチル同族体の約 50 倍以上も高い。また、この酵素は哺乳動物では全組織に、昆虫では脂肪体、中腸等に分布しているが、とくに肝臓が高活性を示し、両生物間では酵素活

Table 4 Comparative toxicities of *O,O*-dialkyl *O*-aryl phosphorothionate insecticides to mammals and insects.

Insecticide	LD ₅₀ (mg/kg)	
	Oral	Topical
	Rat* ¹	Housefly* ²
Methyl parathion	24	1.3
Parathion	3.6	1.4
	Rat* ³	Rice stem borer* ⁴
Chlorthion	625	7.1
Ethyl chlorthion	50	7.1
	Mouse* ⁵	Adzuki bean weevil* ^{5,6}
Fenitrothion	870	0.0016
Ethyl fenitrothion	17.5	0.00053

*1-5 Sources of data; *1 Gains (1960); *2 Metcalf & March (1953); *3 Fest & Schmidt (1970); *4 Ishikura & Ozaki (1966); *5 Nishizawa *et al.* (1961).

*6 LC₅₀ (%conc.), dipping.

性に大きな開きがある^{8,10,23,35)}。

したがって代謝面からは、GSH トランスフェラーゼの両生物間における分布量の差がメチル系有機リン殺虫剤の選択毒性の要因と考えられ、また哺乳動物に対するアルキル選択性はトランスフェラーゼのアルキル基に対する基質特異性に基づいていると考えることができる³⁵⁾。

2. 殺虫剤抵抗性

アジンホスメチル抵抗性のダニとイエバエ¹¹⁾や、ダイアジノン^{44,45)}、パラチオン¹²⁾、テトラクロルピホス⁴⁶⁾にそれぞれ抵抗性のイエバエ等では感受性系統にくらべ、GSH 依存性の脱アルキルや脱アリール化能の高いことが見いだされている。この GSH トランスフェラーゼの高活性は抵抗性発現の要因の一つと考えられている。有機リン殺虫剤の抵抗性機構としては皮膚透過性と作用点感受性の低下が明らかにされており、解毒の要因としてはミクロゾーム酸化酵素系、加水分解酵素の活性増大も報告されている。とくに、イエバエでは数個の抵抗性遺伝子をもつものが見いだされており、抵抗性レベルもきわめて高い。テトラクロルピホスで選抜されたイエバエはこの薬剤に高い抵抗性を示すが³⁾、その他パラチオン、メチルパラチオン等の有機リン殺虫剤にも高い抵抗性レベルをもっている。この昆虫はリン化合物によるアセチルコリンエステラーゼ阻害の低下に加えて、GSH トランスフェラーゼによる高脱アルキル活性とエステラーゼによる高加水分解活性をもっており、各種有

機リン殺虫剤に対する高レベルの抵抗性はこれら機構の総合的な作用と考えられている。複数の抵抗性遺伝子をもつダイアジノン⁵⁰⁾とパラチオン¹²⁾抵抗性イエバエの系統では遺伝子分析を行なった結果、GSH トランスフェラーゼはミクロゾーム酸化酵素系あるいは加水分解酵素に比し、抵抗性への貢献度はそう大きくないと考えられている。アジンホスメチル抵抗性のイエバエの場合は感受性系統に比し、脱メチル活性が高いこと、またエチル同族体に対しては抵抗性レベルが大幅に低下することなどから、トランスフェラーゼ活性の増大が抵抗性要因と推定されている¹¹⁾。

GSH トランスフェラーゼはいくつかの型があり、また作用する基質間に重複がみられることから今後は抵抗性昆虫においてどの型のトランスフェラーゼが抵抗性に関与しているかを調べる必要がある。

3. 除草剤選択性

アトラジンはモロコシ、トウモロコシに作用しにくく他の雑草との間に選択的な除草効果をあらわす。この薬剤は植物体中で酸化的 *N*-脱アルキル化、グルタチオン抱合、植物成分である benzoxazinone により接触される非酵素的な加水分解の三つの経路により不活性化される。このなかで GSH 抱合による分解が抵抗性にもっとも重要な機構とされている³⁸⁾。すなわち、抵抗性植物であるモロコシ、トウモロコシの葉のアトラジンによる光合成阻害は数時間以内に回復するが、この時点で組織内のアトラジンは 80% 前後が GSH 抱合体として解毒されている。一方、感受性の植物ではアトラジンの解毒代謝はほとんど起こらず、光合成能は回復しない。また、トウモロコシの一品種 GT112 は GSH トランスフェラーゼ活性が非常に低く、他の一連の品種に比し活性が 1/50~1/120 程度である。この品種は組織内にアトラジンの集積がみられ、きわめて薬害を生じやすい。

植物 GSH トランスフェラーゼはまたフルオロジフェンの殺草選択性にも関与している。この薬剤に対し GSH 抱合能の高いエンドウマメ、ラッカセイ、ダイズ等はこの除草剤に抵抗性をもち、感受性のトマト、キュウリ、ハウレンソウ等ではこの活性が低い。フルオロジフェン抱合酵素はアトラジン抱合酵素よりかなり広範囲の植物に分布し、また組織内分布にも差があり、さらに、フルオロジフェン抵抗性植物はトリアジン系除草剤に感受性を示すことなどから、両薬剤に作用するトランスフェラーゼは異なっていると考えられている²⁴⁾。

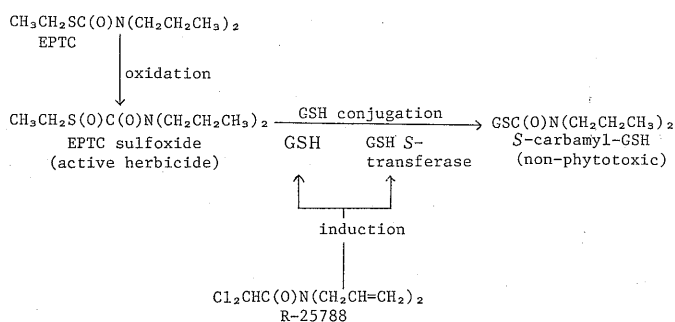


Fig. 3 Antidotal action of R-25788 for EPTC in corn.^{47,48)}

N,N-diallyl-2, 2-dichloroacetamide (R-25788) は EPTC によるトウモロコシの薬害を保護する作用をもつが、ほかの植物に対する殺草作用にはほとんど影響を与えない選択的な解毒剤である。この EPTC の無毒化機構には GSH トランスフェラーゼが関与していることが最近明らかにされている^{47~49)}。EPTC は植物体でスルホキンド体に変化し、この活性体が不飽和脂肪酸の生合成を阻害することにより殺草効果があらわれるとされている。EPTC スルホキンドは通常 GSH トランスフェラーゼにより容易に解毒されカルバミルグルタチオンに変化する。R-25788 で処理されたトウモロコシは GSH と GSH トランスフェラーゼが誘導形成され、GSH レベルが 2 倍以上に、酵素活性が 2~3 倍に高まる。一方、EPTC に感受性のカラスムギでは高濃度の処理で GSH レベルのわずかな上昇がみられただけで、トランスフェラーゼのレベルには変化がみられない。R-25788 による無毒化機構は Fig. 3 に示したように、解毒代謝に関与する GSH と GSH トランスフェラーゼのレベルを上昇させるためと結論されている。しかし、なぜトウモロコシにのみ GSH とトランスフェラーゼの誘導作用が起こるかは不明である。今後、一般の薬物を含めて植物における酵素誘導の研究がのぞまれる。

おわりに

生体に侵入した異物に対し生物はさまざまな防御機構をもっている。高分子の有機化合物に対する免疫機構、低分子の非生体性有機化合物に対する代謝がこれに相当する。異物代謝酵素の一つ GSH トランスフェラーゼは分子内に親電子センターあるいは電子密度の低下した部位を求めて広く触媒作用を行なうことから、この酵素の機能あるいは生物学的意義としては親核性の活性基をもつ生体成分あるいは酵素等を親電子性異物による攻撃から保護する役割をはたしていると考えられる。このトランスフェラーゼによる反応機構は活性酸素が親

電子反応により基質に導入されるミクロゾーム酸化酵素の水酸化機構とは逆の関係にある。これらの機能は生物にとって未知の物質を含めて異物の侵入に対処するために、生物進化の過程において獲得されたものであろう。

GSH トランスフェラーゼによる酵素反応は有機化学における S_N 反応性との類似が認められることから、今後量子化学面から化学物質の定量的な酵素反応性の予測を行なうことが可能となろう。さらにまた、比較生物学の立場から生物における GSH トランスフェラーゼの分布と酵素の型、特性等を明らかにすることにより生物分解性と選択性をそなえた農薬の分子設計への基礎的知見を提供することができよう。

引用文献

- 1) E. Boyland & L. F. Chasseaud: *Adv. Enzymol.* **32**, 173 (1969)
- 2) L. F. Chasseaud: "Glutathione," ed. by I. M. Arias, W. B. Jakoby, p.77, Raven Press, New York, 1976
- 3) E. Baumann & C. Preusse: *Chem. Ber.* **12**, 806 (1879)
- 4) M. Jaffé: *Chem. Ber.* **12**, 1092 (1879)
- 5) J. Booth, E. Boyland & P. Sims: *Biochem. J.* **79**, 516 (1961)
- 6) D. H. Hutson: "Bound and Conjugated Pesticide Residues," ed. by D. D. Kaufman, G. G. Still, G. D. Paulson, S. K. Bandal, p.103, American Chemical Society, 1976
- 7) T. Shishido & J. Fukami: *Botyu-Kagaku* **28**, 69 (1963)
- 8) J. Fukami & T. Shishido: *J. Econ. Entomol.* **59**, 1338 (1966)
- 9) R. M. Hollingworth: *J. Agric. Food Chem.* **17**, 987 (1969)
- 10) D. H. Hutson, B. A. Pickering & C. Donninger: *Biochem. J.* **127**, 285 (1972)
- 11) N. Motoyama & W. C. Dauterman: *Pestic. Biochem. Physiol.* **2**, 113 (1972)
- 12) F. J. Oppenorth, V. Rupes, S. ElBashir, N. W. H. Houx & S. Voerman: *Pestic. Biochem. Physiol.* **2**, 262 (1972)
- 13) T. Shishido, K. Usui, M. Sato & J. Fukami: *Pestic. Biochem. Physiol.* **2**, 51 (1972)
- 14) R. M. Hollingworth, R. L. Alstott & R. D. Litzenberg: *Life Sci.* **13**, 191 (1973)
- 15) H. Ohkawa, R. Ohkawa, I. Yamamoto & J. E. Casida: *Pestic. Biochem. Physiol.* **2**, 95 (1972)
- 16) P. L. Grover & P. Sims: *Biochem. J.* **96**, 521 (1965)
- 17) M. Ishida & P. A. Dahm: *J. Econ. Entomol.* **58**, 383 (1965)
- 18) K. Tanaka, N. Kurihara & M. Nakajima: *Pestic. Biochem. Physiol.* **6**, 392 (1976)
- 19) K. Tanaka, N. Kurihara & M. Nakajima: *Agric. Biol. Chem.* **41**, 723 (1977)
- 20) A. G. Clark, M. Hitchcock & J. N. Smith: *Nature* **209**, 103 (1966)
- 21) N. Motoyama & W. C. Dauterman: *Insect Biochem.* **7**, 361 (1977)
- 22) G. L. Lamoureux, R. H. Shimabukuro, H. R. Swanson & D. S. Frear: *J. Agric. Food Chem.* **18**, 81 (1970)
- 23) D. S. Frear & H. R. Swanson: *Phytochemistry* **9**, 2123 (1970)
- 24) D. S. Frear & H. R. Swanson: *Pestic. Biochem. Physiol.* **3**, 473 (1973)
- 25) J. E. Casida, E. C. Kimmel, H. Ohkawa & R. Ohwawa: *Pestic. Biochem. Physiol.* **5**, 1 (1975)
- 26) D. Nachtomi: *Biochem. Pharmacol.* **19**, 2853 (1970)
- 27) P. F. V. Ward & N. S. Huskisson: *Biochem. J.* **130**, 575 (1972)
- 28) A. G. Clark, P. L. Cropp, J. N. Smith, T. W. Speir & B. J. Tan: *Pestic. Biochem. Physiol.* **6**, 126 (1976)
- 29) 穴戸 孝・白井健二・深見順一: 日本農薬学会第2回大会講演要旨 102 (1977)
- 30) 穴戸 孝・白井健二・深見順一: 日本農薬学会第3回大会講演要旨 302 (1978)
- 31) 穴戸 孝: 未発表
- 32) W. H. Habig, M. J. Pabst & W. B. Jakoby: *J. Biol. Chem.* **249**, 7130 (1974)
- 33) K. Usui, J. Fukami & T. Shishido: *Pestic. Biochem. Physiol.* **7**, 249 (1977)
- 34) K. Usui, T. Shishido & J. Fukami: *Agric. Biol. Chem.* **41**, 2491 (1977)
- 35) 穴戸 孝・深見順一: 農技研報 C32, 1 (1978)
- 36) D. Segaller: *J. Chem. Soc.* **103**, 1154 (1913)
- 37) F. J. Oppenorth & W. Welling: "Insecticide Biochemistry and Physiology," ed. by C. W. Wilkinson, p.532, Plenum Press, New York, 1976
- 38) R. H. Shimabukuro, G. L. Lamoureux, D. S. Frear & J. E. Bakke: "Pesticide Terminal Residues," ed. by A. S. Tahori, p.323, Butterworth, London, 1971
- 39) G. Schrader: "Die Entwicklung Neuer Insektizider Phosphorsäure-Ester, Verlag Chemie, Weinheim, 1963
- 40) 西沢吉彦: "新農薬創製法" (山本・野口編), p.25, 南江堂, 1965
- 41) F. W. Plapp & J. E. Casida: *J. Econ. Entomol.* **51**, 800 (1958)
- 42) R. M. Hollingworth, R. L. Metcalf & T. R. Fukuto: *J. Agric. Food Chem.* **17**, 242 (1967)
- 43) R. M. Hollingworth, R. L. Metcalf & T. R. Fukuto: *J. Agric. Food Chem.* **17**, 250 (1967)

-
- 44) J. B. Lewis & R. M. Sawicki: *Pestic. Biochem. Physiol.* 1, 275 (1971)
- 45) N. Motoyama & W. C. Dauterman: *Pestic. Biochem. Physiol.* 5, 489 (1975)
- 46) F. J. Oppenoorth, H. R. Smissaert, W. Welling, L. J. T. van der Pas & K. T. Hitman: *Pestic. Biochem. Physiol.* 7, 34 (1977)
- 47) M.-M. Lay, J. P. Hubbell & J. E. Casida: *Science* 189, 289 (1975)
- 48) M.-M. Lay & J. E. Casida: *Pestic. Biochem. Physiol.* 6, 442 (1976)
- 49) J. E. Casida, R. A. Gray & H. Tilles: *Science* 184, 574 (1974)
- 50) M. Motoyama & W. C. Dauterman: *Pestic. Biochem. Physiol.* 7, 443 (1977)