

審査の結果の要旨

論文提出者氏名 永堀 博久

農薬の安全性評価は安全な化合物を市場に供給するためには欠かせない研究である。本論文は、安全性評価のために実施される哺乳動物代謝試験を、より精緻にヒトにおける安全性を評価するための手法に高めることを目的として、NMR や MS を用いた *in vivo* 代謝試験、シトクロム P450 (CYP) 発現系や組織画分を用いた *in vitro* 代謝試験および生理学的薬物動態 (PBPK) モデルを用いた *in silico* 体内動態予測などの *in vivo/vitro/silico* 複合評価手法を用いて、哺乳動物における農薬の代謝経路および体内動態を詳細に解析し、ヒトにおける農薬の安全性の評価を行ったものである。

本論文は以下の 6 章から構成されている。

第 1 章は序論であり、本研究の背景と目的を述べ、本論文の構成を示している。

第 2 章では、ピリダジン系除草剤フルフェンピルエチル(ethyl 2-chloro-5-[1,6-dihydro-5-methyl-6-oxo-4-(trifluoromethyl)pyridazin-1-yl]-4-fluorophenoxy acetate)に関して、ラットおよびマウスにおける *in vivo* 代謝試験を実施し、エステラーゼによるエチルアセテート部位のエステル結合の加水分解が主要な代謝反応であると述べている。また、哺乳動物体内の種々の部位に存在するエステラーゼがエステル結合を容易に加水分解することを *in vitro* 代謝試験により確認している。さらに、ヒトでも体内の種々の部位にエステラーゼが高発現しているため、フルフェンピルエチルの毒性は非常に弱く、高い安全性を有すると推論している。

第 3 章では、ラットとウサギで生殖毒性差が存在するジカルボキシイミド系殺菌剤プロシミドン(3-(3,5-dichlorophenyl)-1,5-dimethyl-3-azabicyclo(3.1.0)hexane-2,4-dione)に関して、種差が生じるメカニズムをプロシミドンの *in vivo* 代謝試験、ならびにラット肝ミクロソームを用いた *in vitro* グルクロン酸包合活性試験によって明らかにしている。すなわち、アンドロゲン受容体(AR)に結合してその活性を阻害するプロシミドンは、ラット、ウサギのいずれでも CYP により速やかに水酸化される。ラットでは、AR 阻害活性を有する水酸化体はさらに酸化されてカルボン酸体となり体外に排泄されるが、完全には代謝されず水酸化体の血中濃度が高いため生殖毒性が高いものと推定している。一方ウサギではプロシミドン水酸化体は肝臓の UDP グルクロニルトランスフェラーゼ(UGT)によってグルクロン酸包合体に変換され速やかに体外に排泄されるため、プロシミドン水酸化体の血中濃度が低く生殖毒性が生じないと述べている。このような UGT 分子種はヒトにも存在し高発現していることから、プロシミドンはウサギと同

様にヒトでも生殖毒性を示さず、高い安全性を有すると推論している。

第4章では、酸アミド系殺菌剤フラメトピル((*RS*)-5-chloro-*N*-(1,3-dihydro-1,1,3-trimethylisobenzofuran-4-yl)-1,3-dimethylpyrazole-4-carboxamide)に関して、体重増加抑制、肝臓肥大等の毒性がラットの雌雄で高い性差が生じるメカニズムをフラメトピルの *in vivo* 代謝試験、ならびにヒト CYP 発現系マイクロソームを用いた *in vitro* 代謝試験によって明らかにしている。すなわち、雌では一群の CYP によるピラゾール環1位のメチル基の *N*-脱メチル化と、これに続くイソベンゾフラン環1位のメチル基の酸化反応によって生成するアルカロイド様生成物の血中濃度上昇により毒性が生じる。一方、雄ではこのような *N*-脱メチル化に係る CYP の発現レベルは低く、主にイソベンゾフラン環3位、7位の水酸化とグルクロン酸包合体への変換により解毒され体外に排出されることがフラメトピルの毒性の性差の原因であると推定している。また、ヒトでは *N*-脱メチル化に係る CYP の発現レベルは極めて低いため、ラットの雄と同様にフラメトピルの毒性は非常に弱いと考えられ、高い安全性を有すると推論している。

第5章では、殺虫剤ピリダリル(2,6-dichloro-4-(3,3-dichloroallyloxy)phenyl 3-[5-(trifluoromethyl)-2-pyridyloxy]propyl ether)のラットを用いた *in vivo* 代謝試験と体内動態のシミュレーション結果について述べている。すなわち、CYP によるエポキシ化反応を経由するジクロロプロペニル基とフェニル基の間のエーテル結合の開裂、それに続く速やかな脱クロル、酸化、グルクロン酸包合などの反応がピリダリルの主な代謝反応であることを確認している。また、極めて脂溶性が高いピリダリルは速やかに脂肪組織に分配され、その後ゆっくりと消失するが、その初期残留率は2~3%であり、毒性が高い DDT、PCB などの脂肪組織への初期残留率50%と比較して極めて低いと述べている。また、ラットを肝臓、脂肪、血液、その他部位の4つのコンパートメントに別け、ピリダリルの代謝、分配、膜透過、血流による輸送の諸過程を考慮した生理学的薬物動態(PBPK)モデルによって体内動態をシミュレーションしている。その結果、シミュレーション結果は実験結果を良く再現することができ、肝臓におけるピリダリルの速やかな代謝によって、脂肪組織への初期残留率と血液中のピリダリル濃度が低く保たれたことが、ピリダリルの急性毒性が低い原因であると推論している。

第6章は研究の総括である。

以上、本論文は、哺乳動物における農薬の代謝経路および体内動態を *in vivo/vitro/silico* 複合評価手法を用いて詳細に解析し、この情報に基づいてヒトにおける農薬の安全性の評価を行ったものであり、農薬の毒性メカニズムの解明、ヒトにおける毒性予測などに基づく安全な農薬開発に寄与するところ大である。

よって本論文は博士(工学)の学位請求論文として合格であると認められる。