

Title	哺乳動物における農薬の代謝とヒトへの外挿に関する研究
Author(s)	高久, 朋之
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.18910/56176">https://doi.org/10.18910/56176</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

## 論文内容の要旨

氏 名 ( 高 久 朋 之 )

## 論文題名

哺乳動物における農薬の代謝とヒトへの外挿に関する研究

## 論文内容の要旨

食糧の安定生産等に用いられる農薬は、我々の生活に欠かすことのできない化学物質である。農作物の病害虫（菌、昆虫、だに等）や雑草の防除に優れた効果を有し、ヒトおよび環境に対する安全性に優れた農薬が望まれているため、世界中の企業により精力的に農薬開発が進められている。以前は、優れた防除効果をもつ殺虫剤

Dichloro-diphenyl-trichloroethane (DDT) やパラチオン、除草剤パラコート等の農薬が使用されていたが、DDTにおいては、作物や土壌に残留することが明らかになったこと、そしてパラチオンおよびパラコートにおいては、ヒトに対する中毒、死亡事故が多数発生したことにより、現在は農薬として使用されることは少なくなっている。今日では、ヒトおよび環境に対する安全性が確保された農薬のみが上市を許可されている。したがって、新規農薬の開発において、安全性評価研究は重要な役割を担っている。農薬の安全性評価では、ヒト健康および環境に対する農薬の影響を調べるため、多数の試験が実施される。農薬の使用者は高濃度の農薬に暴露される可能性があることから、使用者への安全性を調べる目的で、急性毒性試験等が実施される。また、消費者は農薬が使用された農作物を食べることにより、長期的に微量な農薬を摂取する可能性があることから、消費者への安全性を担保するため、1年間反復投与毒性試験等が行われる。さらに、農薬の毒性評価に資することを目的とした、動物代謝試験の実施も必要とされている。哺乳動物における代謝試験により、農薬の体内における蓄積性や毒性代謝物の生成について明らかになるため、安全性評価の中で果たす役割は大きい。農薬の安全性評価において代謝試験は重要であるが、代謝には動物とヒトで種差があることが知られており、それを明確化することが重要と考える。本博士論文では、安全性の高い農薬開発に貢献するため、直接ヒトへの投与により代謝実験ができない農薬について、動物における代謝をヒトに外挿する手法を確立することを目的とした。農薬を有効成分により分類すると、殺虫剤、除草剤、および殺菌剤の3種類に分けることができるが、本博士論文では代謝を受けやすいことが明らかとなった除草剤プロピリスルフロン、殺虫剤ペルメトリン、および除草剤フルミオキサジンを対象とした。なお、農薬によっては代謝を受けにくい化合物も知られているが、その場合、ヒトへの外挿を目的とした研究を実施することは困難と考えられる。

除草剤プロピリスルフロンのラットにおける *in vivo* 代謝について検討し、他のSU剤と異なる排泄パターンであることを明らかにした。その理由として、プロピリスルフロンの水溶解度が、他のSU剤と比べて低いことが考えられた。また、排泄物および組織中の代謝物を同定し、他のSU剤と同様の代謝を受けることを示した。尿、糞および胆汁中に検出された<sup>14</sup>Cの多くは代謝物であったが、血漿中ではほとんど未変化体であったため、投与されたプロピリスルフロンは水溶性の高い代謝物として、体外へ排泄されることが示された。さらに、主要代謝物から微量代謝物に至るまでの多数の代謝物の構造を、機器分析を駆使することにより決定した。農薬のヒトにおける主要代謝物がラットにおいては微量代謝物である可能性も考えられるため、ラットの *in vivo* 代謝実験において可能な限り多くの代謝物の構造情報を取得することは重要であり、本検討で用いた試料の前処理法や機器分析法は、他の農薬においても適用可能な方法と考えられる。

ヒトおよびラットの肝ミクロソームを用いた殺虫剤ペルメトリンの *in vitro* 代謝について検討し、ヒトおよびラットにおける *trans*-ペルメトリンの主要代謝経路はエステル結合の加水分解によるPBa1cの生成であり、検出された代謝物に種差は認められないことを明らかにした。また、PBa1cの4'位の水酸化に関与するヒトCYP分子種はCYP2E1、CYP2D6およびCYP2C19であり、PBa1cは多くの分子種により代謝されることから、遺伝的多型による影響は少ないと考えられた。さらに、ヒトおよびラットにおける、PBacidのグルクロン酸抱合活性およびグルクロン酸抱合を触媒するヒトUGT分子種についても検討したところ、種差は認められず、UGT分子種はUGT1A9であった。農薬のヒトにおける代謝が詳細に解析された事例は少なく、本検討で示した実験手法により他の農薬においてもヒトにおける詳細な代謝の知見が得

られることが期待される。

除草剤フルミオキサジンの妊娠ラットおよびヒトのPBPKモデルについて検討し、フルミオキサジンのヒトにおける体内濃度を予測した。PBPKモデルにより予測したヒトにフルミオキサジンを1000 mg/kg投与した時の血液および胎児中最高濃度は、0.86  $\mu\text{g/mL}$  (2.43  $\mu\text{M}$ ) および0.68  $\mu\text{g/mL}$  (1.92  $\mu\text{M}$ ) であり、妊娠ラットにフルミオキサジンを30 mg/kg投与した時の体内濃度を考慮すると比較的lowだったが、1000 mg/kg投与した時のフルミオキサジンの体内吸収率は約10%と低く、代謝速度も速やかであることが、低濃度の要因と考えられた。本検討において構築したPBPKモデルは比較的簡便であり、必要とするパラメータも多くないことから、他の農薬においても応用可能なモデルと考えられる。

農薬の催奇形性を理解する上で重要である胎盤透過性に関して、ヒトに外挿する手法を確立しようと考えたが、農薬においてはヒトの胎盤透過性に関するデータを得ることが困難であるため、農薬に限らず、医薬や一般化学物質まで研究対象とすることとした。文献から収集した55化合物の臍帯血-母体血濃度比 ( $F/M$  値) を用いたQSAR解析について検討し、ヒトにおける  $F/M$  値の予測式を構築した。構築した予測式の予測性に関して外部検証を行ったところ、指標である  $R^2_{pred}$  値が0.51であった。これまで報告がなく、簡便な予測式の構築が望まれていたヒトにおける化学物質の胎盤透過性に関して、予測性能の基準を満たすQSAR式を構築した。このQSAR式を用いることにより、農薬に限らず、様々な化学物質のヒトにおける胎盤透過性が予測できると考えられる。

安全性の高い農薬開発に貢献するため、直接ヒトへの投与により代謝実験ができない農薬について、動物における代謝をヒトに外挿する手法を確立することを目的として4テーマに関して研究を行ったが、これらは独立したものではなく、それぞれが動物における代謝をヒトに外挿するうえで必要な技術であると考えられる。つまり、農薬に対してこれらの技術を複合的に適用することが代謝をヒトに外挿する際に有用であり、今後、多くの農薬に関して本手法が適用され、その結果が農薬のヒトにおける安全性評価に活用されることを期待したい。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 ( 高 久 朋 之 )	
	(職) 氏 名
論文審査担当者	主 査 教授 高木 達也
	副 査 教授 那須 正夫
	副 査 教授 平田 收正

論文審査の結果の要旨

農薬開発において、農薬のヒトや環境に対する安全性を確認するため多数の安全性試験が実施されている。動物代謝試験では農薬の体内における蓄積性や代謝経路が明らかになるため、安全性評価において重要な役割を担っている。しかし、代謝には動物とヒトで種差が存在することが知られている。そこで申請者は、安全性の高い農薬開発に貢献するため、直接ヒトへの投与により代謝実験ができない農薬に関して、動物における代謝をヒトに外挿する手法を確立することを目的とし、以下の研究を行った。

まず、各種機器分析を駆使することにより、*in vivo*代謝について解析する目的で、除草剤プロピリスルフロンのラットにおけるラットの排泄物や組織中の多数の代謝物を機器分析的に同定した。農薬のヒトにおける主要代謝物がラットにおいては微量である可能性も考えられるため、ラットの*in vivo*代謝実験において可能な限り多くの代謝物を同定することは重要であり、本検討で用いた試料の前処理法や機器分析法は、他の農薬の*in vivo*代謝実験においても活用できると考えた。

次に、殺虫剤ペルメトリンのヒトにおける*in vitro*代謝について検討した。ヒトとラットで代謝物の種差は認められないことを明らかにした。また、代謝に関わる酵素（CYPおよびUGT）を同定した。農薬のヒトにおける詳細な代謝経路が調べられた事例は少なく、本検討で示した実験手法により他の農薬においてもヒトにおける詳細な代謝の知見が得られると考えた。

さらに、ヒトにおけるPBPKモデルを構築するため、除草剤フルミオキサジンの妊娠ラットおよびラットにおいて精緻なPBPKモデルを構築した後、ラットとヒトで種差がある代謝速度に関するパラメータ等を変更することにより、ヒトの血液および胎児中濃度を予測した。本検討において構築したPBPKモデルは簡便であり、予測に必要なパラメータも多くないため、他の農薬のヒトにおける体内動態の予測においても適用できると考えた。

最後に、農薬の催奇形性を理解する上で重要な胎盤透過性に関して、ヒトに外挿する手法の確立を試みた。しかし、農薬においてはヒトの胎盤透過性に関するデータを得ることが難しかったため、農薬に限らず医薬や一般化学物質まで研究対象とし、簡便にヒトの胎盤透過性を予測可能なQSAR式を構築した。このQSAR式を用いることにより、様々な化学物質のヒトにおける胎盤透過性が予測できると考えた。

申請者は農薬の動物における代謝をヒトに外挿する手法の確立を目的とし上記の研究を行ったが、農薬に対してこれらの技術を複合的に適用することが代謝をヒトに外挿する際に必要であると考えた。

以上のように、本論文は直接ヒトへの投与により代謝実験ができない農薬について、動物における代謝をヒトに外挿する手法を提唱しており、安全性の高い農薬開発に寄与するところが大きい。よって、博士（薬学）の学位論文に値するものと認める。