

氏名(国籍)	尹 旻 洙 (韓国)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	博甲第2281号
学位授与年月日	平成12年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	農学研究科
学位論文題目	Studies on Plant Cytochrome P-450 Involved in Detoxifying Metabolism of Sulfonylurea Herbicides (スルホニルウレア系除草剤の解毒代謝に関与する植物シトクローム P-450 に関する研究)
主査	筑波大学教授 農学博士 白井健二
副査	筑波大学教授 理学博士 長谷川宏司
副査	筑波大学助教授 農学博士 松本宏
副査	筑波大学教授 農学博士 河野義明

論文の内容の要旨

作物生産において病害虫雑草による減収は大きな問題であり、近年農業による化学的防除が確立されてきた。除草剤は雑草防除の有効な手段として食料の安定生産と省力化に寄与してきているが、環境保全、負荷の低減の立場から非残留性、低毒性、高活性、高選択性のものが推奨されてきている。スルホニルウレア系除草剤はその代表例である。植物の分岐鎖アミノ酸合成経路のアセトラクテート合成酵素を極低濃度で阻害し、対象作物・雑草に対応した化合物が数十g/haという低施用量で各種雑草に高い効果を示し世界的に用いられている。その反面、不良条件下での薬害や抵抗性雑草の出現も懸念されている。

スルホニルウレア系除草剤の選択作用性は解毒代謝活性の差に基づいており、特に水田用のピラゾスルフロンエチル (PSE) やベンスルフロンメチル (BSM) は主としてO-脱メチル化反応に依り、薬物酸化酵素、ミクロゾームのシトクローム P-450 の関与が指摘されている。しかし、植物 P-450 の活性が低いことなどにより明確にされていない。本研究ではイネにおけるスルホニルウレア系除草剤の代謝、薬害軽減作用及び植物種間選択性への P-450 の関与を究明することを目的とし、P-450 の O-脱アルキル化活性測定法の検討、活性へ誘導、阻害剤の効果、活性の種間差等を通して追究している。

第1章では、イネ幼植物における PSE と BSM に対する薬害軽減効果は、ジメピペレートとダイムロンの他、ナフタリックアンハイドライド (NA) でも見られることを確認した。

第2章では、イネの P-450 による O-脱アルキル化活性をクマリン化合物のエトキシクマリン O-脱エチル化酵素 (ECOD)、メトキシクマリン O-脱メチル化酵素 (MCOD) 活性の測定により調べ、各種化合物の P-450 誘導作用を調べた。O-脱アルキル化活性の誘導は、NA、エタノールの他に、ジメピペレート、ダイムロン、PSE、BSM などの除草剤によっても行われることが分かった。

第3章では、イネ P-450 のクマリン化合物の O-脱アルキル化活性の各種薬剤による阻害を測定し、スルホニルウレア系除草剤の P-450 活性への関与を調べた。ECOD、MCOD 活性の阻害は P-450 活性阻害剤の 1-ABT、PBO の他の、PSE、BSM によっても行われた。この結果から、スルホニルウレア系除草剤は両クマリン化合物と競争的に P-450 活性を阻害することが推測される。また、各化合物により ECOD、MCOD の誘導及び阻害反応が異なり、異なるシトクローム P-450 分子種の存在及び誘導、さらに基質特異性が推察された。一方、NADPH cyt.cred. 活性の

誘導あるいは阻害は見られなかった。

第4章では、P-450の基質として直接PSEを用いて、脱メチル体をHPLCで測定し、イネのP-450のPSEO-脱メチル化活性の誘導及び阻害の測定により、スルホニルウレア系除草剤の代謝及び薬害軽減作用へのP-450の関与を調べた。PSEO-脱メチル酵素活性の誘導はP-450の誘導剤の他に除草剤によっても行われ、スルホニルウレア系除草剤の代謝、O-脱メチル反応は、その除草剤自体や薬害軽減剤によっても促進されることが示唆された。また、PSEO-脱メチル酵素活性の阻害からも、クマリン化合物がシトクロムP-450の競争的基質としての作用を示唆している。

第5章では、スルホニルウレア系除草剤の植物種間選択性へのシトクロムP-450の関与をイネとミズガヤツリにおけるNADPH cyt.cred.及びO-脱アルキル化活性の測定により調べた。無処理のシトクロムP-450活性及びその誘導活性は共にイネで高く、ミズガヤツリで低かった。PSEO-脱メチル酵素活性の誘導は、誘導剤により植物間で異なる傾向を示した。スルホニルウレア系除草剤の植物種間における選択性は耐性及び感受性植物間のO-脱アルキル化活性を中心とするP-450活性の差に由来することが推測される。

以上の結果から、スルホニルウレア系除草剤の代謝及び薬害軽減作用と植物種間選択性にはシトクロムP-450が関与していると判断される。本研究は、除草剤の代謝、選択性及び薬害軽減作用の機構の解明のみならず、植物の異物に対する対応、解毒反応や生体防御の機構に解明に寄与するものと考えられる。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、各種作物用に世界的に用いられているスルホニルウレア系除草剤の選択性及び薬害軽減作用の機構について、酸化解毒代謝反応を行うシトクロムP-450の関与を究明したものであり、有意義である。

スルホニルウレア系除草剤の選択性は解毒代謝活性の差に依り、主としてピリミジン環O-脱メチル反応等を行うP-450等の酸化酵素の関与が考えられている。しかし、植物P-450活性は低く直接スルホニルウレア系除草剤を基質としたP-450活性の測定は難しく、まず、蛍光法により高感度なエトキシクマリン、メトキシクマリンを用いて、イネにおけるミクロソーム脱アルキル活性、各種誘導剤による活性誘導及び阻害剤の効果を調べた。その結果、薬害軽減効果を示す化合物に高い活性誘導能のあること、誘導剤・薬害軽減剤が脱アルキル活性を阻害することより、イネにおけるP-450による脱アルキル活性を確認し、スルホニルウレア系除草剤の代謝及び薬害軽減作用へのP-450の関与を示唆した点は、新規性を示すとともに評価される。

スルホニルウレア系除草剤のP-450によるin vitro代謝活性測定については、従来、放射性標識化合物を用いていたが、O-脱メチル体をHPLCで分析する方法を確立したことは、本研究の展開に大きく寄与した。ピラゾスルフロエチルO-脱メチル化活性が誘導剤の他スルホニルウレア系除草剤自体によっても誘導されることの発見は独創的であり、特記すべきことである。また、イネとミズガヤツリにおける脱メチル活性及びその誘導活性の差、特にスルホニルウレア系除草剤による脱メチル活性の誘導の差も、選択性及び薬害軽減作用へのP-450の関与を示すものであり、高く評価される。

一方、本研究の脱アルキル活性の誘導及び阻害の各種化合物及び基質による差はP-450アイソザイムあるいは基質特異性を示唆するが、直接的証明は今後の重要な課題である。また、スルホニルウレア系除草剤の他の植物も含めた選択性及び薬害軽減作用に対する他の要因の追究も今後の課題であろう。

本研究は、スルホニルウレア系除草剤の選択性及び薬害軽減作用へのP-450の関与を示すものであり、それら機構の解明のみならず、植物の異物対応、生体防御の機構の解明にも寄与するものと期待される。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。