

学位論文要旨 Dissertation Abstract

氏名： 木村 幸
Name

学位論文題目： 新規殺菌剤フルチアニルの創製と生物学的、形態学および
Title of Dissertation 毒性学的研究

学位論文要旨：
Dissertation Abstract

緒言

うどんこ病菌は幅広い作物種に甚大な被害を与える重要病害の一つであり、FRAC (Fungicide resistance action committee) の病原菌リスクリストにおいて耐性菌発生リスクが高い病原菌に分類されている。現在、農業現場で使用されている殺菌剤に対して耐性を示す各種作物うどんこ病菌が数多く報告されており、実用場面では常に新規作用機構の剤が求められている。フルチアニル (Fig. 1) はこのような要望に応えるべく、創製・開発されたシアノメチレンチアゾリジン環を有するユニークな構造のうどんこ病菌専用の殺菌剤である。

本剤の作用特性並びに作用機構を明らかにすべく、うどんこ病菌の形態に及ぼす影響を詳細に解析した。さらに、本剤のうどんこ病菌の遺伝子発現に対する影響についても検討した。また、本剤が登録・上市されるために必要とされる各種の安全性試験を実施し、毒性学的諸性質を明らかにした。

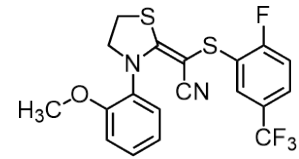


Fig. 1. Structure of flutianil

1. フルチアニルの創製

殺菌剤の創製に関して、社内化合物ライブラリー並びにユニークな骨格を持つ外部の化合物ライブラリーを導入し、ランダムスクリーニング法により新規リード化合物を探索した。その結果、チアゾリジン骨格を有する化合物がキュウリうどんこ病菌に対して比較的高い活性を示した。既存の殺菌剤にはない骨格であり、新規作用機構を有する可能性が期待されたため、この化合物をリード化合物として合成展開を行った結果、最も高い殺菌活性を示すフルチアニルを創製した。

2. フルチアニルの作用特性に関する研究

フルチアニルは各種植物病原糸状菌および植物病原細菌に対して *in vitro* ではほとんど活性を示さなかった。対照的に、本剤は 10 mg/L の低濃度で、各種作物うどんこ病菌に対して高い防除効果が確認でき、うどんこ病菌特異的なスペクトラムを有することが示された。さらに、本剤は予防、治療効果、浸達性、耐雨性および残効性に優れているだけでなく、EUでのブドウうどんこ病菌、日本でのキュウリおよびイチゴうどんこ病菌に対する薬剤感受性試験において、既存の殺菌剤とは交差耐性を示さないことを明らかにした。代表的な作物としてキュウリ、ナス、カボチャおよびイチゴうどんこ病菌に対する圃場試験を実施したところ、フルチアニルの高い実用性が認められた。

3. フルチアニルのうどんこ病菌の形態への影響に関する研究

フルチアニルのうどんこ病菌に対する作用部位を明らかにする目的で、各種顕微鏡を用いた形態学的解析を行った。まず、オオムギうどんこ病菌の感染初期における本剤の影響を光学顕微鏡により観察した。オオムギうどんこ病菌の一連の感染プロセスにおいて、フルチアニルは吸器の形成を阻害するが、分生子破裂、

第一次発芽管発芽，付着器発芽，付着器突起形成の阻害は見られず，また付着器全体の形態異常は認められなかった。

次に，透過型電子顕微鏡を用いて，フルチアニルのオオムギうどんこ病菌の細胞小器官への影響を観察した。本剤は，吸器細胞の吸器外マトリックス部位および吸器細胞壁だけでなく，菌糸においても細胞壁の不明瞭化を引き起こした。以上の顕微鏡を用いた形態学的解析によりフルチアニルの一次作用点が吸器である可能性が高いことを示した。副次的な作用として分生子の形態やアクチン崩壊および細胞壁形成異常につながっている可能性が高いが，これらについてはさらに詳細な解析が必要であると考えられた。

4. フルチアニルのうどんこ病菌の遺伝子発現への影響に関する研究

フルチアニルの作用部位の特定に資するために，RNA-sequencing (RNA-seq)を用いたオオムギうどんこ病菌のトランスクリプトーム解析を行ったところ，フルチアニル処理により上方または下方制御される遺伝子群の中に，主に吸器細胞で発現する3種類の糖輸送体遺伝子を同定することができた。なお，フルチアニルと既存殺菌剤のメトラフェノンまたはシフルフェナミドの遺伝子発現のプロファイルにはほとんど類似性がなく，本剤の作用機構が他の既存殺菌剤とは異なることを示唆していた。

以上のRNA-seqを用いたトランスクリプトーム解析からも，フルチアニルの主な作用部位は吸器の機能阻害である可能性が示唆されたが，確証を得るために更なる積み重ねの試験が必要であると考えられた。

5. フルチアニルの毒性学的研究

フルチアニルの人畜や環境への安全性を担保するため，各種毒性試験を実施した。本剤のラットに対する急性経口並びに経皮毒性は極めて低く，LC₅₀は5000 mg/kg bw以上で，皮膚刺激性および感作性，変異原性は認められず，目刺激性は極軽度であった。続いて本剤の慢性毒性試験の実施に当たって，慢性毒性試験における被験物質の用量設定および標的臓器の検討を目的とした90日間の亜急性毒性試験を実施した。さらに28日間の亜急性経皮・吸入毒性試験も実施した。その結果，いずれの試験でも投与最高用量で毒性は認められなかった。また，長い潜伏期間および累積的な影響について調べるために，イヌ，ラットおよびマウスを用いた各種毒性試験を実施した。フルチアニル投与により認められた影響は主に肝臓の肥大であった。発がん性，繁殖能に対する影響，催奇形性は認められなかった。以上の研究からフルチアニルの高い安全性が認められた。

結論

創薬研究から新規骨格シアノメチレンチアゾリジン環を有するフルチアニルを創製した。フルチアニルのスペクトラムはうどんこ病菌特異的であり，極めて低薬量で達効を示した。予防および治療効果，浸達性，耐雨性および残効性に優れていた。キュウリうどんこ病，イチゴうどんこ病およびブドウうどんこ病に対する感受性検定により既存殺菌剤とは交差耐性を示さず，新規作用機構の可能性が示された。形態学的解析および遺伝子学的解析結果より，フルチアニルの作用機構は吸器を第一作用点とし，吸器の機能を阻害することで，分生子の形態異常や菌糸の細胞壁に影響を与える可能性が考えられる。しかしながら作用点特定のためには更なる詳細な解析が必要である。また，各種うどんこ病に対する圃場試験により高い実用性が示された。各種毒性試験によりフルチアニルは低毒性であり，発がん性，生殖毒性，変異原性は認められず安全性が高い薬剤であることが示された。今現在，世界各国で農薬登録が進められており，世界の農業現場に貢献する剤として使われている。