

ジフェニルエーテル系除草剤の抗アンドロゲン様活性 およびエストロゲン様活性

小島弘幸、桂 英一、兼俊明夫、堀 義宏

北海道立衛生研究所・薬理毒性部

【目的】我々は、農薬の内分泌攪乱作用を明らかにするため、これまでに約 200 種類の農薬についてヒトアンドロゲン受容体(hAR)およびヒトエストロゲン受容体 α (hER α)に対するそれぞれのアゴニストおよびアンタゴニスト作用の有無を高感度レポーター遺伝子アッセイ系により網羅的に検討してきた。この中で、過去に使用されていたジフェニルエーテル系(DPE)除草剤にエストロゲン様活性を併せ持つ比較的強い抗アンドロゲン様活性を見出したので、hAR や hER α に対する結合作用とともに報告する。

【方法】DPE 除草剤の試料として和光純薬(株)製の nitrofen (NIP), chlornitrofen (CNP), chlomethoxylin, bifenoxy, fluazifop-butyl, CNP 代謝物(CNP-amino)標準品を用いた。レポーター遺伝子アッセイは hAR(hER α)発現プラスミドおよびルシフェラーゼ遺伝子上流に AR(ER)応答配列を組込んだプラスミドをチャイニーズハムスター卵巣細胞に導入し、試料と 24 時間培養後 Dual-luciferase Reporter Assay System (Promega)を用いて行った。hAR および hER α との結合試験は Ligand Screening System (TOYOBO)を用いて行った。

【結果および考察】CNP>chlomethoxylin>NIP>CNP-amino>bifenoxy の順で濃度依存的な抗アンドロゲン様活性が認められた。とくに、CNP および chlomethoxylin の活性は、AR アンタゴニストとして既に報告されている vinclozolin や fenitrothion よりも 3 倍程度強かった。さらに、CNP-amino>CNP>fluazifop-butyl>NIP>bifenoxy=chlomethoxylin の順でエストロゲン様活性が認められ、CNP-amino は ER アゴニストである *p,p'*-DDT よりも強かった。これらの結果と良く一致して、各除草剤の hAR および hER α に対する結合作用を確認した。他の DPE 除草剤(acifluorfen, chloroxuron, diclofop-methyl, oxyfluorfen)についても同様に検討中であるが、これらの活性には DPE 骨格を有する化学構造の関与が示唆された。CNP は、1970,80 年代を中心に主に国内で水田除草剤として大量に使用され、深刻な水系汚染を引き起こした。土壌残留性や生物濃縮性も高いことから、今後は動物を用いた *in vivo* での影響を検討する予定である。

Antiandrogenic and Estrogenic Activities of Diphenyl Ether Herbicides

Hiroyuki Kojima, Eiji Katsura, Akio Kanetoshi and Yoshihiro Hon

Department of Pharmacology and Toxicology, Hokkaido Institute of Public Health

Antiandrogenic and estrogenic activities of diphenyl ether herbicides [nitrofen (NIP), chlornitrofen (CNP), chlomethoxylin, bifenoxy, fluazifop-butyl and CNP metabolite (CNP-amino)] were investigated using two sensitive reporter gene assays based on human androgen receptor (hAR) and human estrogen receptor α (hER α)- mediated mechanisms. The order of antiandrogenic potentials of six herbicides were as follows: CNP > chlomethoxylin > NIP > CNP-amino > bifenoxy (fluazifop-butyl; no activity). It is noteworthy that antiandrogenic activities of CNP and chlomethoxylin were about 3-fold higher than those of AR antagonist such as vinclozolin and fenitrothion. The order of estrogenic potentials of six herbicides were as follows: CNP-amino > CNP > fluazifop-butyl > NIP > bifenoxy = chlomethoxylin. In particular, CNP-amino indicated higher estrogenic activity than ER agonist such as *p,p'*-DDT. Additionally, these data were consistent with the binding affinities of the herbicides to hAR and hER α obtained from receptor binding assays. These results suggest that diphenyl ether herbicides might act as AR antagonist and/or ER agonist. Therefore, it is possible that the chemicals having a common structure of diphenyl ether may be candidates for the endocrine disruptors.