

リレー連載

農薬を変えた農薬～開発ものがたり・日本の創薬力～(1)

プロベナゾール開発秘話と今後の展望

岩手大学農学部
元 明治製菓株式会社 生物産業研究所

岩田 道顯 (いわた みちあき)

はじめに

2015年1月に、東京の学士會館において「オリゼメート発売40周年」記念行事が開催された。これは本年が、オリゼメート粒剤が発売されて40年という区切りの年となるのを契機に、これまで長年にわたってご指導をいただいた農業試験場や大学等の試験研究・普及機関の方々への御礼と、改めてオリゼメートについて情報を交換し理解を深め合うことを目的として開かれたものである(図-1)。

各種オリゼメート製剤の1977年から2013年までの累計普及面積は、1,411万haに達している。近年のイネの作付面積は約160万haであることから、文字通りオリゼメート粒剤はイネ(*Oryza sativa*)の友(mate)としてその役割を果たしてきたことが伺える。しかし、オリゼメート粒剤は、順風満帆に継続して使用されてきたわけではない。イネいもち病は長い期間で見ると数年から10数年の周期で少発生、多発生を繰り返しているが、1980年代中ごろは、いもち病の発生の少ない年が続き、もういもち病は重要病害ではなくなったのではないかとの議論もなされた。それに伴い、他の防除剤と同様にオリゼメート粒剤の売り上げも年々減少し、社内的にはビジネスとして不安視された。だが、いもち病は1988年に大発生し、続いて1993年にはそれ以上に大発生した。発生の周期性が再認識されるとともに、防除の必要性も再認識された。そのような中で、オリゼメート粒剤を的確に施用していた水田では、卓越した高い防除効果を示すことが確認された。そして、翌年には、その情報に基づき多くの地域でオリゼメート粒剤を基軸とし

た防除暦が作成された。その後、いもち病の多発生のたびにこれが繰り返され、オリゼメート粒剤は、確実に防除効果が期待できるいもち病防除剤として徐々に不動の地位を築きあげていったのである。

オリゼメート粒剤が注目されるのは、防除効果が卓越しているからだけではない。オリゼメート粒剤の有効成分プロベナゾールの作用メカニズムが、植物の自然免疫力を向上させて病原菌からの侵害を軽減することにあるからである。このメカニズムは、それまでの防除剤とは全く異なることから、プロベナゾールは、多くの農薬化学企業、植物の感染生理・分子生物研究者等の関心を集めることになった。その結果、1990年代の終わりころからプロベナゾールと類似した作用メカニズムの防除剤が創出され、日本では現在、3剤が販売されている。

このような、世界初となった薬剤をどのようにして発見し発売することができたのか、40周年を機にその“秘話”について紹介する。なお、プロベナゾールの特性、作用機序や植物の防御システムについては、拙著(岩田, 2003; 2004; 2014)を参考にされたい。



図-1 オリゼメート発売40周年記念講演会

The Development Anecdote and an Outlook of Probenazole.
By Michiaki IWATA

(キーワード; プロベナゾール, オリゼメート, plant defense activator, 抵抗性誘導剤, 植物免疫活性化剤, イネいもち病)

I 発売までの三つのブレイクスルー

筆者は、プロベナゾールの創製から発売に至る過程で、三つのブレイクスルーがあったと考えている。そして、このうちの一つでも欠けていたならば、プロベナゾールは日の目を見ることなく忘れ去られ、40年にもわたって長く、そして今日のように広く使用されることもなかったと思われる。一つ目は当然のことながら、プロベナゾール合成のリードとなった化合物の発見である。二つ目は、プロベナゾールが当時としては珍しい水面施用剤としての特性を持っていることを見いだしたことである。三つ目は、プロベナゾールが極めて優れたイネいもち病防除効果を有していることを再発見したことである。

1 リード化合物の発見

1966年、明治製菓中央研究所（現 Meiji Seika ファルマ横浜研究所）では、いもち病防除剤の探索研究を行っていた。当時の探索手法は、ポット栽培したイネ幼苗に試料を噴霧処理するいわゆる“ぶっかけ”試験であった。夏の終わりに、探索研究の担当者が、あることに気が付いた。それは、ある抗生物質の塩を調製して供試したところ、その防除価が元のフリー体抗生物質よりもわずかに高い数値を示していたのである。この塩はその抗生物質の薬害軽減を目的として調製したものである。担当者はそんなはずはないと思いながらも、確認試験を繰り返した結果、自分の観察に確信を持つことになった。そしてこの現象は、抗生物質を塩にすることによって得られたのではなく塩の調製に用いられた化合物自身が防除効果を発現させているからではないかと考えた。すぐにその化合物の防除試験を行い、その正しさも確認したのである。報告を受けた上司は、さっそくそれをリード化合物と位置づけ、合成研究を開始することになった。これが、プロベナゾールの“リード化合物発見”の経緯である。

筆者は、この探索研究でリード化合物が得られたのは、幸運であったというのではなく、最初の選抜法に植物を用いた感染治療試験を採用したことにあつたと考えている。このような方法よりも、前もってシャーレ上の抗菌力を指標に試料の篩い分けを行い、より抗菌作用の強いものだけを植物を用いた接種試験の対象とするほうが時間、労力、費用の面で効率的であることは自明のことである。しかし、非効率的な“ぶっかけ”試験を採用したことには、理由があつたのである。それは、1966年に農業登録された抗生物質カスガマイシンが発見された際の情報を、一つの教訓としてとらえたからである。カスガマイシンは、培養濾液をそのまま植物試験に供す

ることで発見されたのであるが、当時はシャーレ上で抗菌作用を示さない物質として考えられていた。これは、シャーレ試験などの *in vitro* test は、“想定外”の作用メカニズムを持った化合物を見落としてしまう可能性があることと、植物試験の重要性を教えてくれたのである。そして、これを教訓とすることで、結果としてプロベナゾールという“想定外”の作用を持つ“宝物”を手にすることができたのである。

また、探索担当者の観察力が優れていたことも見逃せない。現在も残されている当時の“調査野帳”の数値を見ると、抗生物質のフリー体と塩の防除価の違いは、試験の“ふれ”の範囲とも解釈できるものである。しかし、担当者は、数値だけではなく、植物を注意深く観察することによってそれを“違いがある”と判断したのである。

ただ、その防除価は、現在使用されているメラニン生合成阻害剤やストロビリン系の防除剤と比べると、見劣りのするものである。それでも、リード化合物として位置づけられたのは、当時はまだそのような優れた薬剤がなく、防除剤の種類も少なかったので、少しでも可能性のあるものならば取り上げて検討してみようという状況下にあつたからである。後年、メラニン生合成阻害剤などの防除剤の切れ味の良さを体験している他社の評価研究者からは「(ポット試験ではそれほど防除効果の高くないプロベナゾールを) どうやって発見したのですか？」と質問を受けることがある。それにはいつも、直接の答えになっていないが「現在ならば、発見することができなかったでしょう。その当時だからこそ発見できたのです」と答えることにしている。

合成研究が開始されて間もなく、秋には、“プロベナゾールが誕生”することになった。意外に早くリード化合物の最適化研究が進化したのである。これには、その当時の研究所の“雰囲気”が関係していると思われる。評価や合成の担当者だけでなく別の業務を担当している研究者も加わって、日常の“おしゃべり”のような中で構造活性相関研究が語られ、進展していったのである。設立して間もない若い研究所だったので、現在のように機能的にあるいはテーマで強く結びつけられた組織とは異なり、広い視野で比較的自由に研究を進めることができる雰囲気があつたのである。

2 水面施用剤としての特性の発見

プロベナゾールの実用性に関する評価試験は、日本植物防疫協会に委託して1967年に開始された。その年のプロベナゾールは、PO-20と名付けられた水和剤と粉剤が茎葉散布処理剤として供試された。

そのころ、発売間もないいもち病防除剤で2次薬害が

発生し、大きな問題となった。その防除剤を散布した稲わらから作った堆肥を、野菜の栽培に用いたところ、野菜に奇形などが発生してしまったのである。これは、堆肥中で生成した代謝物が原因とされている。プロベナゾールについても、2次薬害の恐れがないかを調べることになった。散布直後に収穫することにより模擬的にプロベナゾールを残留させた稲わらや、プロベナゾールそのものを土壌に混入させ、イネに対する影響試験を行った。この試験で、プロベナゾールには2次薬害がないことが確認された。しかし、担当者は、そこで試験を終わらせるのではなく、そのイネにもち病菌を接種することを思いつき、それを実行してみた。その結果、担当者は、プロベナゾールは茎葉散布処理よりも経根処理のほうが高い防除効果を発現する化合物であることを理解することになった。

この発見に基づき、プロベナゾールを当時としては数少なかった水面施用剤として開発することになった。未経験であった粒剤化にも成功し、1969年からの委託試験は、粒剤で行うことになった。ここに、“オリゼメート粒剤”が誕生したのである。

プロベナゾールが、水面施用剤として適正があることを発見できた背景として、2次薬害試験を行った担当者が、求められていた薬害の評価だけではなく、自由な発想でいろいろな試験を行ってみるゆとりと、優れた観察力を持っていたということを挙げるができる。

3 防除効果の再発見

特別連絡試験や安全性にかかわる試験を終えて、オリゼメート粒剤は、1974年4月27日付で農業登録された。開発当初は、オリゼメート粒剤をすぐにも発売する予定であった。しかし、あいにく、1973年から第一次オイルショックが世界を覆うことになり、原油価格が1973年から翌年にかけて4倍にもなるという今までに経験したことのない状況となった。石油製品を筆頭に物価は“狂乱”的に高騰し、プロベナゾールの原料となる化学製品も非常に高価格となってしまった。このようなことから、明治製菓は、せっかく登録されたオリゼメート粒剤の発売を見送るという苦渋の決断することになった。

それでも、発売は見送ったものの、展示用の圃場試験は続けていた。あるとき、試験を行っている圃場を見回っていた営業担当者は、オリゼメート粒剤を施用した水田のイネの色が、隣接する慣行防除水田のそれとは違って青々としていることに気が付いた。その年は、たまたまいもち病が大発生し、慣行防除した水田でもイネが黄土色に見えるほどに発病してしまっていた。それに対

し、オリゼメート粒剤施用水田では、ほとんど発病していなかったのである。営業担当者は、この状況からオリゼメート粒剤は、遠くから見ても違いがわかるほどの高い防除効果を持つ薬剤であると判断し、さっそくその現場を撮影し本社開発部に報告した。間もなく、本社開発部と研究所の関係者はこの写真と報告書に接することになった。この年の展示圃場試験は、我々にオリゼメート粒剤は想定していたよりももっと優れた防除効果を持つ薬剤であることを認識させてくれた、すなわち、“オリゼメート粒剤の防除効果を再発見”させてくれたのである。

オイルショックの影響で当初予定していた価格よりも高くなってしまったが、防除効果の再発見を受けて間もなく、オリゼメート粒剤を発売することに方針を変更することになった。オリゼメート粒剤はこれまでの防除剤とは異なる価値を持っている薬剤であると思われるので、費用対効果の点からも農家に大きなメリットをもたらすであろうから、農家に受け入れてもらえるかと判断したわけである。このようにして、オリゼメート粒剤は、登録された翌年の1975年に（恐る恐るではあるが）上市されることになった。

営業担当者が日々の観察を怠らなかつたこと、観察したことの意味を的確に判断したこと、それを写真に記録し迅速に報告したことが“防除効果の再発見”につながった。オリゼメート粒剤は防除効果の再発見がなければ農業登録されたもののおそらく発売されることはなかったと思われるので、営業担当者のこのような当たり前にも見える基本的な任務遂行が、オリゼメート粒剤にとって重要な役割を果たしたことになる。

II 多くの人に育てていただいた

防除効果の再発見から我々は、“現場に学べ”も教訓として学んだ。当時の我々は、オリゼメート粒剤の本当の力を理解していなかったのである。そしてその後、圃場試験を重ねることによって、オリゼメート粒剤などプロベナゾールを有効成分とする薬剤は、

- ①温室よりも圃場で高い防除効果を発揮する、
- ②防除効果の持続性に優れている、
- ③広域で使用すると感染源の密度を低下させる効果が加わるのでより有効、
- ④いもち病以外の病害にも有効

等の特徴を持つことを把握することができたのである。

その過程で日常的に“現場”で活動している全国の農業関係の研究者、技術指導員等の方々から、様々な情報を提供していただいた。その一例が、オリゼメート粒剤は、細菌病である「イネ白葉枯病にも効くらしい」とい

うものであった。これは、大分農業技術センターの研究者がいもち病防除試験を行っていたときに、オリゼメート粒剤を施用した水田で白葉枯病の発生が少ないことに気がつき、3年間にわたって確認試験を繰り返し、その情報を明治製菓に提供してくれたものである。オリゼメート粒剤が、まだ、農薬登録される前のことである。岩手県の病害虫防除所の農業改良普及員は、キュウリ斑点細菌病にオリゼメート粒剤が有効であることを知らせてくれた。また、KOGANEZAWAら(1998)は、プロベナゾールをタバコに処理するとタバコモザイクウイルスによるモザイク症状のマスキングが促進されると報告している。

オリゼメート粒剤の普及に当たっては、予防的防除剤としての特徴を活かすため、多くの県の研究者がその地域のいもち病の発生生態に合わせた試験を繰り返し行い、その地域に最適の防除暦を確立していただいた。

ブレイクスルーを経てようやく発売されることになったオリゼメート粒剤は、このようにして、多くの人々から支援を受け育てられた。

III 耐性菌出現の可能性が低い

プロベナゾールのもう一つの特徴は、その作用機序から導かれる

⑤耐性菌出現の可能性が低い

ことである。

殺菌剤は、殺菌力で病原菌を死滅させたり侵入力を低下させて防除するものであるが、繰り返し使用すると突

然変異により出現した低感受性菌が薬剤で選抜・濃縮され、次第に十分な防除効果が得られなくなる。そのため、作用機序の異なる薬剤とのローテーション使用など、何らかの対応が必要となる。一方、プロベナゾールなどの植物免疫活性化剤 (plant defense activator) は、植物の持っている力を利用して発病を抑制する薬剤である。植物免疫活性化剤は、作用発現に際し薬剤と病原菌が接触する場面が必要としない点で、殺菌剤とは発病抑制の原理が異なる(図-2)。プロベナゾールの作用は植物体を介して発現するので、その過程では、病原菌を直接選抜することはなく、変異菌を濃縮することもない。プロベナゾールで自然免疫系を活性化された植物に感染することができる病原菌は、活性化された防御系を打ち破る能力を持ったものだけである。しかし、植物は幾重もの防御系を備えており、それらのすべてを掻い潜ることのできる変異した病原菌すなわち耐性菌が出現する可能性は低い。自然界や人間社会においてゼロリスクはあり得ないので、プロベナゾールに対する耐性菌出現の可能性もゼロではない。幸いにも、プロベナゾールは発売以来40年にわたって全国の水田で繰り返し使用されてきたが、耐性菌の出現についてはまだ報告例がない。

IV 今後の展望

プロベナゾールの今後の展望についてではなく、植物抵抗性誘導剤あるいは免疫活性化剤の探索の展望について、述べてみたい。抵抗性誘導剤あるいは免疫活性化剤

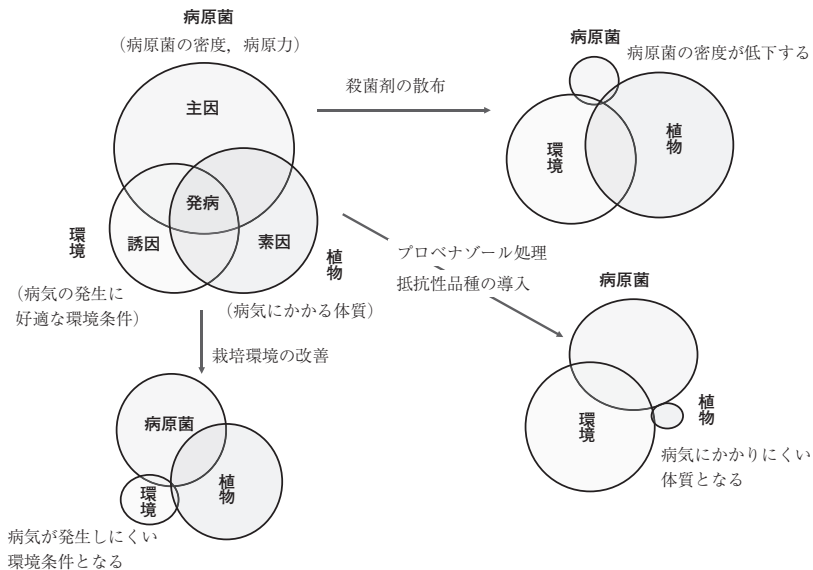


図-2 病気の成立に関与する3要因の関係とプロベナゾールの発病抑制の原理
3要因が重なり合う場合のみ発病する。

という概念は、プロベナゾールの作用メカニズム研究の進展に伴って確立されたものである。プロベナゾールの卓越した防除効果と、作用メカニズム研究は、植物のもとも持っている防御能力は強力なものであり実際の病害をほぼ完璧に抑制できるものであることと、それを化学薬剤で誘導することができることを教えている。上述したようにプロベナゾールは特定の作用機序を想定して探索されたものではない。しかし、プロベナゾールの後に開発された抵抗性誘導剤は、そのような作用機序を持つ薬剤を得ることを目的として探索されたものである。プロベナゾールの軌跡を辿ることで、新しい抵抗性誘導剤を得ることが可能になったことと、抵抗性誘導剤としてのプロベナゾールの先進性に動機づけられたからである。

分子生物学の進展により、植物の自然免疫の仕組みが急速に、解きほぐされてきている。また、抵抗性誘導剤の作用メカニズムも、少しずつではあるが植物の分子・生化学的レベルで確実に進展してきている。両者の情報を結びつけることにより、プロベナゾールで行われたような探索法とは異なった、より作用点を指向した抵抗性誘導剤の探索が可能となってきた。例えば、草間ら(2009)は、防御応答にかかわる遺伝子のプロモーターにホタルシフェラーゼ遺伝子などの発光遺伝子を連結させたレポーターアッセイ系を構築し、これを用いることで抵抗性誘導剤の探索と評価のハイスループット(高速・高効率)化が可能になったとしている。Noutoshiら(2012)は、病原菌が感染するときに植物に引き起こされるプログラム細胞死を指標としてハイスループットスクリーニングを行い、プライミング作用を併せ持つ5種の免疫活性化剤を選抜している。これらの化合物は、サリチル酸配糖化酵素を阻害する作用を持つので植物体内のフリーのサリチル酸が増加することになり、これが耐病性を向上させているメカニズムであると推測している。また、北畑ら(2015)はエリシター作用を持つ cryptogein や flg22 により誘導される活性酸素種生成量を指標として探索を行い、プロベナゾールと異なると思われる作用点を持つ化合物が得られたと報告している。

ここで紹介した探索方法はいずれも、樹脂製のマイクロプレートを用いることで微量の化合物を多検体同時に評価できるものである。また、多くの工程のロボット化、自動化も可能である。このような手法で選抜された化合物が圃場で、どの程度の防除効果を発揮することができ

たのかについてはまだ未報告である。もし、分子生物学的観点・手法で選抜された化合物が実際に圃場で実用性があると評価されたならば、これからは、今までにない作用を持ち、多様な植物あるいは病害に対して有効な植物免疫活性化剤の開発が比較的容易になり、新たな道が開けることになる。さらに、より進化した斬新な探索法も考案されると考えられる。これまでに販売されている植物免疫活性化剤は主としてイネいもち病防除に用いられているが、新たな薬剤の適用が果樹病害、野菜病害、細菌病、ウイルス病等に広がる可能性もある。50周年、60周年も迎えるであろう先輩格のプロベナゾールと、新たな植物免疫活性化剤が補完し合いながら植物病害防除分野で活躍することを期待したい。

おわりに

オリゼメート粒剤を始めプロベナゾールを主成分とする製剤は当初想定していた以上の卓越したいもち病防除効果を有することから、有用な防除剤として農家に支持されることになった。また、プロベナゾールは、世界で初めて実用的な抵抗性誘導剤であったことから、植物の免疫システムを解析するためのツールとしても研究者から注目されることになった。このような特異な地位を得ることになったプロベナゾールが、どのようにして誕生したかについて後世に記録を残しておくことは、意義のあることである。オリゼメート粒剤が今年で発売40周年の節目を迎えたこともあり、本稿では主として、創製から発売までに至る過程で遭遇した三つのブレイクスルーについて紹介した。これまでに既に紹介してきた事柄も一部含まれている(岩田, 2007)が、改めて“秘話”として詳述した。何かの参考になれば幸いである。

引用文献

- 1) 岩田道顕 (2003): 日本の農業開発, 日本農業学会, 東京, p.195 ~ 208.
- 2) ——— (2004): 次世代の農業開発, ソフトサイエンス社, 東京, p.161 ~ 170.
- 3) ——— (2007): 植物防疫 61: 553 ~ 558.
- 4) ——— (2014): Dr. 岩田の「植物防御機構講座」改訂版 <http://www.meiji-seika-pharma.co.jp/agriculture/lecture/activator.html>.
- 5) 北畑信隆ら (2015): 日本農業学会第40回記念大会講演要旨集: p.152.
- 6) KOGANEZAWA, H. et al. (1998): Ann. Phytopathol. Soc. Jpn 64: 80 ~ 84.
- 7) 草間勝浩ら (2009): 日本農業学会誌 34: 346 ~ 349.
- 8) NOUTOSHI, Y. et al. (2012): Plant Cell 24: 3795 ~ 3804.