

令和 2 年度学術研究助成 特別研究紹介

レチノイド X 受容体を標的とする被験物質の迅速かつ簡便な結合性・
機能性同時検出技術の開発

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 准教授 加来田 博貴

青魚に含まれるドコサヘキサエン酸 (DHA) は、抗血液凝固や中性脂肪低下作用が報告され、「特定保健用食品 (トクホ)」や「栄養機能食品」・「機能性表示食品」としても提供されている。「トクホ」は消費者庁の許可を受け、その保健効果を認められている食品である。一方の「栄養機能食品」と「機能性表示食品」は規制当局等への届出は不要で、前者が科学的根拠の確認された栄養成分を一定の基準量を含む食品であり、後者は機能性関与成分を含むことから特定の保健効果が期待できる旨を表示できるものである。

話は逸れたが、DHA には、上述する生理作用のほか、抗炎症作用や脳・神経細胞の機能保持なども報告される。その作用機序に注目すると、1) 細胞膜流動性を変えること、2) イオンチャネルや G タンパク質関連受容体など膜受容体への作用、3) 細胞内受容体への作用などが挙げられる。筆者らは、中でも 3) に記載している細胞内受容体の一つであるレチノイド X 受容体 (RXR) に注目し研究を行ってきた。RXR は、核内にて様々な遺伝子発現の調節に関わる「核内受容体」の一つであり、図 1 に示すような様々な核内受容体と協働する。RXR を軸に他の受容体とともに包括的なバランス調整ができれば、健康状態の体内バランス (恒常性) が崩れて生じる疾患に対して、治療効果が得られるのではないかと考えた。このコンセプトの根底には、漢方薬のような全身的な体内バランス調整を西洋医学的な低分子にて行えないかとの思いがあった。これを著者は「西洋漢方」と称している。

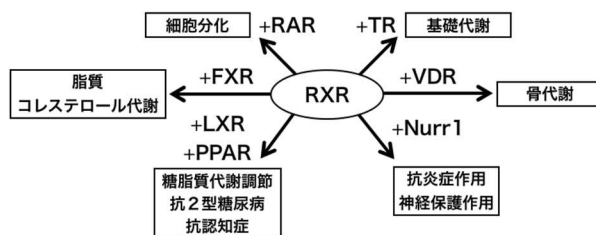


図 1. RXR と協働する様々な核内受容体。TR (甲状腺ホルモン受容体)、VDR (ビタミン D 受容体)、RAR (レチノイン酸受容体) など。(岡山大学のプレスリリース (2019 年 9 月 27 日) より転載)。

RXR に結合しその機能を活性化状態にさせる物質（作動薬、活性化薬、アゴニストとも言う）は、DHA に限らず、炎症反応の結果生じる認知症、2 型糖尿病、肥満、炎症性腸疾患に対し治療効果を発揮することが知られる。したがって、食品中に含まれる RXR 作動性物質であれば、DHA のようにトクホなどへの展開が期待される。また、合成分子は、上述するような疾患に対する医薬品への展開も見込める。一方で、RXR の多機能性がゆえ、不必要に RXR に結合する物質を不用意に体内に取り込むことは、病気につながりかねない。船底への海洋生物の付着を防ぐ目的で用いられた有機スズ化合物は、巻貝における生殖器の異常が知られており、このような物質も RXR への結合性が知られている。したがって、申請者らは、RXR 結合性分子を簡便に検出することは健康維持の観点でも有用と考えた。

これまでの RXR 活性化能を評価するシステムに注目すると、細胞用の特別な実験設備に加え、結果を得るのに 3-4 日を要することなど課題がみられる。そこで、申請者らはこのような RXR を対象とした作動性物質の探索、評価システムに見られる課題解決を目的に研究を進めてきた。これまでに、蛍光性 RXR 作動薬である CU-6PMN (1) (図 2A) を見出し、これを用いて、汎用的な蛍光プレートリーダーにて数時間内に評価物質の RXR 結合性を判定できる、RXR 結合評価システムを創出している (文献 1)。この研究は、平成 27 年度の岡山工学振興会科学技術賞をいただき進めた。しかしながら、本技術には 1) RXR に対する結合試験法として一般的に用いられている放射性同位体 (ラジオアイソトープ) である $[^3\text{H}]9\text{cis}$ -レチノイン酸 (RA) を用いる方法との相関性が劣ること、2) 評価物質の RXR に対する作動性と拮抗性が判定できないことが課題として残った。そこで本研究では、この課題を解決した評価物質の迅速かつ簡便な結合性・機能性同時検出技術の開発を目指すこととした。

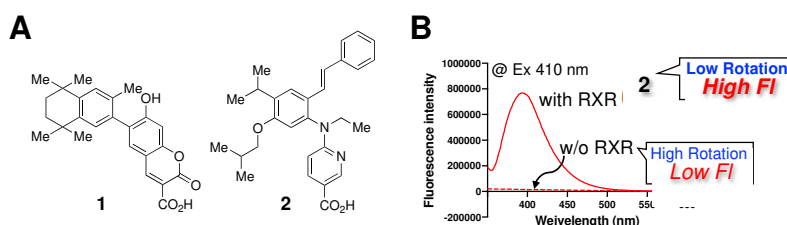


図 2. A) RXR 作動性分子の CU-6PMN (1) と拮抗性分子である NEt-SB (2) の分子構造. B) NEt-SB (2) の RXR 結合に起因した蛍光強度変化. 2 が RXR と結合することでスチルベン構造の自由回転が制御され、蛍光強度が上昇する。

上記の 2 つの未解決課題のうち 1) について、その課題を解決した新たな蛍光性 RXR 結合分子を創出する上でのシード (種) となる知見を今回新たに得るに至ったのでその一部を紹介する (文献 2)。

申請者らは、RXR に結合し RXR 作動薬に対し拮抗性を示す物質 (アンタゴニスト) として NEt-SB (2) (図 2A) を見出している (文献 3)。本化合物は $[^3\text{H}]9\text{cis}$ -RA との競合が確認されており、さらにその構造的特徴として蛍光団でもあるスチルベン構造を有する。スチルベン部位は自由回転が抑制されると顕著な蛍光強度が上昇する。そこで、本化合物であれば、高粘度溶媒中および RXR への結合に応じた蛍光強度の上昇が見られると考えられた。2 を高粘性のエチレングルコールにて蛍光測定するとエタノール中に比べ顕著な蛍光強度の増強が見られ、また RXR との共存によっても顕著な蛍光強度の増強が見られた (図 2B)。そこで 2 を用いて既知の RXR 結合分子との競合を調べたものの、2 の蛍光波長の長さもあって汎用的な蛍光プレートリーダーでの結合評価に

は不適切であることが判明した。2 のスチルベン構造をより長波長側に蛍光を生じる分子へと変換することで、上記の 1) を解決した新たな被験物質の迅速かつ簡便な結合評価系を提供できる。なお、上記課題の 2) については、RXR に作動性物質が結合すると、RXR 自体の立体構造が変化し、コアクチベーターと呼ばれるタンパク質が結合する現象を利用した評価系の構築を計画している。

本研究の完成は、上述するトクホや治療薬シーズの探索のみならず、RXR 結合性分子を含む環境汚染物質の検出ツールとして期待される。

(謝辞)

本研究をご採択いただいた公益財団法人 岡山工学振興会に心からお礼申し上げます。

(参考文献)

1. Yamada S, Kawasaki M, Fujihara M, Watanabe M, Takamura Y, Takioku M, Nishioka H, Takeuchi Y, Makishima M, Motoyama T, Ito S, Tokiwa H, Nakano S, Kakuta H. Competitive binding assay with an umbelliferone-based fluorescent rexinoid for retinoid x receptor ligand Screening. *J. Med. Chem.* 2019, 62, 8809–8818.
2. Yamada S, Takamura Y, Fujihara M, Kawasaki M, Ito S, Nakano S, Kakuta H. Fluorescence properties of retinoid X receptor antagonist NEt-SB. Accepted.
3. Nakayama M, Yamada S, Ohsawa F, Ohta Y, Kawata K, Makishima M, and Kakuta H. Discovery of a Potent Retinoid X Receptor Antagonist Structurally Closely Related to RXR Agonist NEt-3IB. *ACS Med. Chem. Lett.*, 2010, 1, 521–25.

「令和 2 年度特別研究（内山勇三科学技術賞）受賞者」

高度に官能基化された四級アミノ酸の立体選択的合成法の開発と創薬化学への展開

岡山大学大学院自然科学研究科 教授 坂倉 彰

低分子医薬と抗体医薬に次ぐ第三の医薬品カテゴリとして、中分子医薬への関心が高まっている。その世界市場は 2.4 兆円を超え、ますます増加している。中分子医薬の中で 80%以上を占めるのが、ペプチド医薬である。数個から数十個のアミノ酸がアミド結合で連結した化合物をペプチドと呼ぶ。ペプチド医薬は、大環状骨格をもち、また特殊アミノ酸と呼ばれる非天然型のアミノ酸を含むものが多い。このようなペプチド医薬を特殊ペプチドと呼ぶ。経口投与が可能であり脂肪膜透過性や血中安定性が高いなどの優れた特徴をもち、従来の医薬品では達成できなかった治療効果を示すことが期待されている。

特殊ペプチドの特異な薬理活性は、主に、構成成分として含まれる特殊アミノ酸に由来する。そのため、これまでにない新しい特殊アミノ酸を自在に設計、合成できるようになれば、新たな機能や薬理活性をもつ特殊ペプチドを開発できるようになる。特に、高度に官能基化された特殊アミノ酸が供給できるようになれば、次世代型の特殊ペプチドを開発する契機となり、成長著しい中分子医薬の中核を担うペプチド医薬のさらなる発展を促すと期待される。

特殊アミノ酸の一つに、四級アミノ酸 (α, α -二置換- α -アミノ酸) がある。四級アミノ酸に含まれる不斉四置換炭素を立体選択的に合成するのは、反応性と立体選択性の両面において難し

い。β位にも立体中心をもつ四級アミノ酸ともなると、その連続する不斉炭素の立体化学を制御しながら合成するのは、先端科学をもってしても困難を極める。四級アミノ酸は、特異な生物活性を示す天然有機化合物に含まれる鍵構造の一つでもある。そのため、高度に官能基化された四級アミノ酸の合成法、特に、α, β位の立体化学を制御して目的とする異性体のみを選択的に合成する方法の開発は、現代の有機合成化学者に課せられた重要な研究課題の一つである。

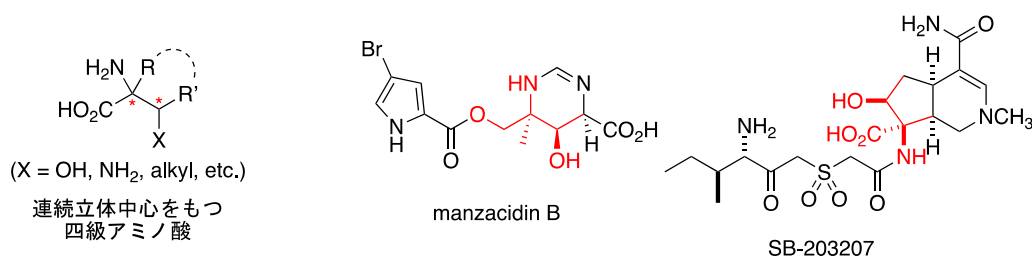


図1 連続立体中心をもつ四級アミノ酸

当研究室では、β位にヒドロキシ基が結合した四級アミノ酸、あるいはその還元体であるアミノアルコール構造をもつ生物活性物質の合成研究に取り組んできた。その一例として、マンザシジン B の形式全合成について紹介する。マンザシジン B は、三連続立体中心を含む四級アミノアルコール構造をもつ。容易に入手できるキラルなアルデヒドを出発原料とし、立体選択的な Henry 反応を 2 回続けて行うことにより、マンザシジン B の形式全合成を達成した (A. Sakakura, et al., *J. Org. Chem.* **2020**, *85*, 798-805.)。具体的には、温和な反応条件下でアルデヒド **1** とニトロエタンとの Henry 反応を行うと、生成物 **2** が立体選択性 11:1 で得られた。保護基をかけた後、ニトロアルカン **3** とホルムアルデヒドとの Henry 反応を行うと、生成物 **4** が立体選択性 6:1 で得られた。この生成物から 7 工程の官能基変換によってマンザシジン B を合成することができる。いずれの Henry 反応においても、保護基や反応剤の種類を換えることで異性体を作り分けることができるのが、本合成法の特徴である。そのため、本合成法を利用すれば、マンザシジン B の立体異性体を網羅的に合成することができる。また最近、生物活性物質 SB-203207 に含まれる環状の β-ヒドロキシ四級アミノ酸構造を立体選択的に合成する方法も開発にした (A. Sakakura, et al., *J. Org. Chem.* **2019**, *84*, 15614-15623.)。

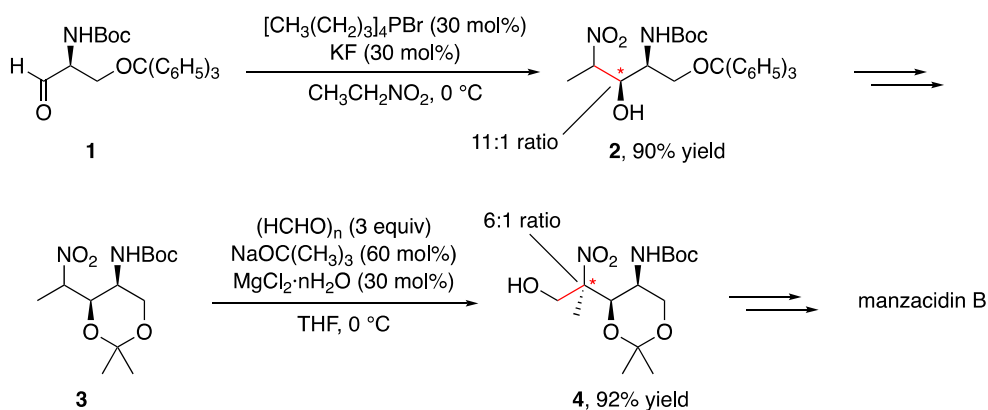


図2 マンザシジン B の立体選択的な形式全合成

上述の合成はいずれも、基質があらかじめ持っている立体化学を利用してジアステレオ選択的に α, β-連続立体中心を構築している。一方、ペプチド医薬の構成成分として利用される四級ア

ミノ酸を合成する場合、基質分子内に起点となる立体中心がないため、立体選択的に合成するためには不斉触媒を用いて立体化学を制御する必要がある。このような背景のもと当研究室では、連続立体中心をもつ四級アミノ酸の合成法を開発することを目的として、不斉触媒を用いて C α -C β 結合を立体選択的に構築する新しい方法の開発を進めている。

連続立体中心をもつ六員環状の四級アミノ酸の立体選択的な合成法の開発を目的として、3-ニトロクマリンと Danishefsky ジエンとの不斉 Diels-Alder 反応の検討を行った。その結果、汎用される C₂ 対称な触媒を用いても立体選択性がほとんど発現しなかったのに対し、対称性を崩した C₁ 対称なブレンステッド酸触媒を用いたところ、良好な立体選択性で目的とする環化生成物を得ることができた (A. Sakakura, et al., *Synlett*, **2020**, in press.)。環化生成物のニトロ基を還元すれば、四級アミノ酸誘導体へと変換することができる。現在は、五員環および七員環状の四級アミノ酸を立体選択的に合成する方法を開発することを目的として、本合成法を拡張してシクロプロパン化合物を基質とする環化付加反応の開発を行っている。

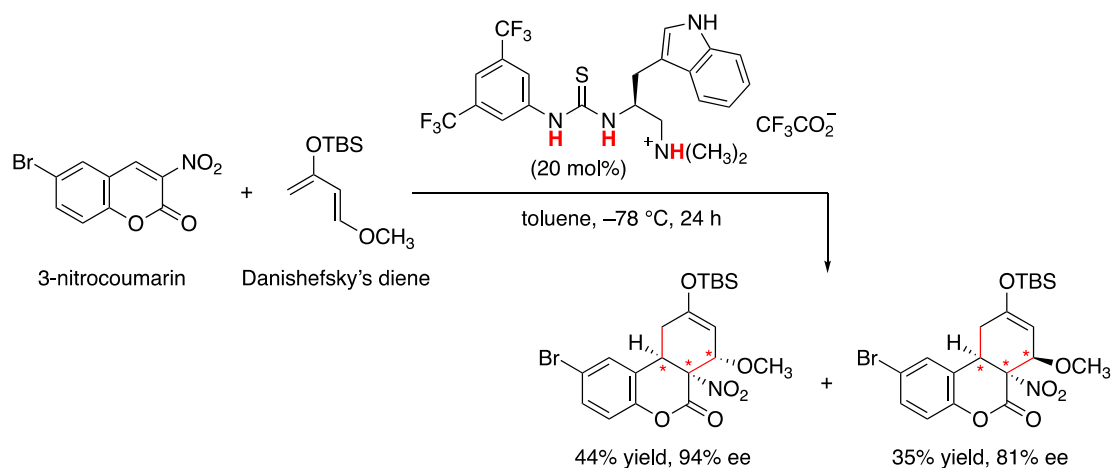


図3 3-ニトロクマリンと Danishefsky ジエンとの不斉 Diels-Alder 反応

また、連続立体中心をもつ鎖状の四級アミノ酸の立体選択的な合成法の開発を目的として、 α -イミノエステルを基質とする不斉アルドール反応の開発を重ねている。様々な検討の結果、キラルなコバルト(II)錯体を触媒として用いると、良好な収率およびエナンチオ選択性で目的とする付加生成物が見出された(論文投稿中)。残念ながらこの方法ではジアステレオ選択性があまり発現しないため、現在は、この課題を解決することを目的として、反応遷移状態の詳細な考察に基づいて新しい機能をもった触媒の精密設計を行っている。

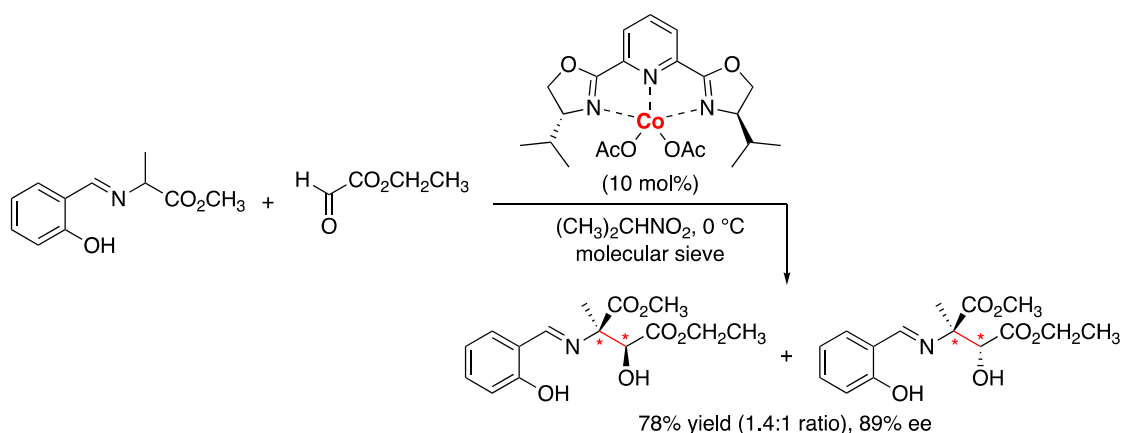


図4 α -イミノエステルを基質とする不斉アルドール反応

今後も、これまで培ってきた高機能触媒の精密設計と立体選択的炭素-炭素結合形成反応の開発に関する幅広い知見に基づいて、新たな創薬シーズの開発に努めていきたい。

「令和2年度特別研究（内山勇三科学技術賞）受賞者」

賛助会員様のご紹介

（公財）岡山工学振興会は、理工学に関する研究を振興するとともに、先端技術の向上を目指した大学と産業界等との連携をはかり、もって学術および技術開発の進展に寄与することを目的としています。この趣旨に賛同し、ご支援賜っています法人会員様をご紹介します。今月号は、内山工業株式会社様にご執筆を賜りました。

内山工業株式会社

【内山工業のプロフィール】

1989（明治31）年、コルク栓の製造を開始し「内山コロップ製造処」を興したのが当社の創業です。その後数々のコルク製品を開発し、そこで培った「密封と絶縁」の技術を活かし合成ゴムを用いたガスケットやベアリングシールさらには樹脂製品などの自動車部品を軸とした事業展開を実施しており、独立系メーカーとしてトヨタ自動車、日産自動車をはじめとした国内の全自動車メーカー、主要なベアリングメーカーならびに海外の主要自動車メーカー、ベアリングメーカーを取引先としています。

海外への事業展開も積極的に進めてきており、現在グループ全体で国内18、アメリカ、ポルトガル、ベトナム、中国広州、韓国など海外7工場を有し、現在メキシコに新工場を建設中。

またアメリカ、ドイツ、上海、インド、パラグアイ、メキシコに営業拠点を配置、研究所も日本をはじめ、アメリカ、ドイツ、ベトナムに展開しており、設計・開発、生産・販売までグローバルに取り組んでいます。



【コルクの自動車内装部品への展開】

今年コルクシートを使用した内装部品がマツダ様のMX-30に採用されました。コルクに関するマツダ様と当社の関係はマツダ様が東洋工業時代に当社がコルク事業を引継ぎさせていただいた経緯があります。今回の開発はそのような経緯からマツダ様から当社に共同開発のお話をいただいたのがはじまりです。

当社にとって自動車の内装についてはほとんど経験なく、エンジン回りの部品とは異なる耐候性、質感、見た目などの要求特性を満足させるのに苦労しましたが、何とか要求仕様を満足するものができ現在採用いただいています。今後の展開が楽しみです。

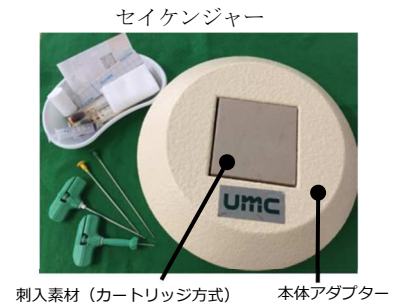


マツダ様ホームページより

【新規事業開発室の新設】

当社の売上は約9割が自動車関連部品となっているのが現状です。そのような中、自動車関連以外の分野を開拓するために3年前に新規事業開発室を新設しました。

様々な分野の調査を実施し、その中から多数の方々との面談を重ねてきた結果、岡山大学との共同開発により白血病など血液のがんの診断に必要な「骨髄検査」の練習キットをコルクと樹脂を使って「骨髄戦士セイケンジャー」として商品化しました。これを機に医療分野向けに他の商品開発も進行中です。



【コロナ禍の中での新商品の開発】

長期的な新型コロナウイルスの影響により、当社も大きく受注が減り休業実施を余儀なくされました。そのような中、少しでも売상을伸ばすために何ができるかを検討し、マスク、フェースシールド、簡易ベッドを生産するに至りました。

それぞれの商品は自動車部品の生産で培った生産技術、設計開発のノウハウを活用して新型コロナ対策商品として商品化を実現しました。



【変化の時代に】

グローバル化やテクノロジーの急激な進化によって、各所で様々な変化が起こっています。当社にとって関わりの深い自動車業界においては「CASE」をキーワードに変化が急激に加速しています。

このような環境下、当社の経営理念「会社を愛する人間集団として、将来に向かって挑戦するとともに、地球的感觉を養い、世界に誇れる製品を提供し、そしてお互いに助け合い、信頼し、幸福への道を開拓するために積極的な行動をとり、温かい心をもって、いつまでも発展することを目指します。」を基軸に進化を試み、変化に乗り遅れることなく新製品を開発してまいります。

関係各位におかれましては今後ともご指導ご鞭撻賜りますようお願い申し上げます。

内山工業株式会社

〒703-8588 岡山県岡山市中区小橋町 2-1-10

<http://www.unc-net.co.jp>

《（公財）岡山工学振興会賛助会員の募集について》

（公財）岡山工学振興会は、平成元年2月に設立された特定公益増進法人で、平成23年11月公益財団法人に移行した法人です。本財団は、理工学に関する研究を振興するとともに、先端技術の向上を目指した大学と産業界等との連携を図り、もって学術および技術開発の進展に寄与することを目的としています。本会の趣旨にご賛同のうえ、是非とも賛助会員をお引き受け頂き、ご支援賜りたくお願い申し上げます。

平成27年度から賛助会費については、定款の変更に伴い、寄附金控除の対象となる旨の税務署の確認をいただいております。

賛助会費（年額）

- | | | | |
|----------|----|---------|------|
| (1) 法人会員 | 1口 | 50,000円 | 1口以上 |
| (2) 個人会員 | 1口 | 5,000円 | 1口以上 |

電話/Fax：(086)255-8311 e-mail：ofst@cc.okayama-u.ac.jp

※詳しくは当財団ホームページ <http://ofst.or.jp/> をご覧ください。

賛助会員

（法人）株式会社英田エンジニアリング、株式会社OKI ソフトウェア、倉敷化工株式会社、株式会社システムズナカシマ、新興工業株式会社、ナカシマプロペラ株式会社、北興化学工業株式会社、みのる産業株式会社、安田工業株式会社

（個人）伊藤敏幸、宇野義幸、岡本康寛、古賀隆治、酒井貴志、眞田明、芝本詢三、清水一郎、高橋智、辻善夫、本田和男、村上宏、吉田彰、和田力

財団コラム

業務執行理事 船曳繁之

平成27年（2015年）6月より、岡山工学振興会の業務執行理事を務めています船曳繁之です。本振興会の業務の中で、企画・財務会計を担当しています。近年の低金利のため、資産運用も厳しく、研究者の皆様には十分な研究助成ができるとは言い難い状況ですが、少しでも研究の手助けができればと考えています。この6月に新しく就任されました酒井代表理事の下、多くの企業や個人の皆様のご支援を頂きながら、本振興会創立の趣旨を達成するよう努力して行きたいと思っております。

個人的な話になりますが、数年前から「日本100名城」巡りを行っており、これまでに中国地方、四国地方、関西地方と東海地方の三十数ヶ所の城（城跡）を巡りました。写真は2019年11月に訪れた「日本100名城」の一つである滋賀県近江八幡市にある「52. 観音寺城」登山口の観音正寺での写真です。これを最後に、「日本100名城」巡りはコロナ禍のために中座しています。早く新型コロナが落ち着き、100名城巡りが再開できることと、皆様の研究活動の日常が取り戻せることを願っています。

