THE CHEMICAL TIMES

2020 No.4 (通巻258号)
ISSN 0285-2446

特集 | 機能性ナノマテリアル シクロデキストリンの科学

02 シクロデキストリンの特性と機能性食品分野への応用と展望
株式会社シクロケムバイオ　代表取締役
モンゴル国立大学　客員教授
日本シクロデキストリン工業会　会長　寺尾 啓二

11 シクロデキストリンを用いた高分子材料
東京大学大学院 新領域創成科学研究科　教授　伊藤 耕三

16 無限の可能性を秘めたシクロデキストリンの医学・薬学へのアプローチ
城西大学 薬学部　教授　井上 裕

21 シクロデキストリン包接錯体を利用する生命科学研究:COの生理機能解明へのアプローチ
同志社大学 理工学部 機能分子・生命化学科　教授　北岸 宏亮

KANTO CHEMICAL CO., INC.

シクロデキストリンの特性と機能性食品分野への応用と展望

Characterstics of cyclodextrins and application and prospect in functional food field

寺尾 啓二 Keiji Terao, Ph.D. (Representative director)
株式会社シクロケムバイオ 代表取締役／モンゴル国立大学 客員教授／日本シクロデキストリン工業会 会長
CycloChem Bio Co.,Ltd. / National University of Mongolia (Guest Professor) / Japan Cyclodextrin Industry Association (Chairman)

キーワード ▪▪▪ シクロデキストリン、ナノカプセル、ヒトケミカル

01 はじめに

シクロデキストリン(CD)はBacillus属の微生物が生産する酵素シクロデキストリングルカノトランスフェラーゼ(CGTase)をとうもろこしや馬鈴薯デンプンに作用させることによって得られるグルコースがα-1,4結合している環状のオリゴ糖である。天然型のCDの中で、グルコースの単位が6,7,8個のα-CD,β-CD,γ-CDが、現在、工業生産されている。構造は底のないバケツ状で、グルコースのC-2とC-3原子についている二級水酸基は環の一方の広い側に位置し、環の反対(狭い)側に一級水酸基が位置している。そのため、環の外側は親水性を示し、逆に環の内側は水素原子やグルコシド結合の酸素原子が位置して疎水性(親油性)を示すので、CDは同一分子内に親水性部分と親油性部分を合わせ持つ一種の界面活性剤ともいえる(図1)。

CDはその特徴的な構造により環の内側の空洞が親油性であることから、水中において脂溶性物質をその空洞内に取り込むことができる。この現象は一般的に包接と呼ばれる。その包接よって物質を安定化させたり、水に対する溶解性を改善したりすることから、不思議な性質を持つ「魔法の糖」と呼ばれ、古くから興味が持たれている。現在では、CDは食品分野を中心に、医薬品、化粧品、香料、繊維、バイオレメディエーション、塗料、フィルム、化学工業等、さまざまな分野で利用されている。本章ではCDの基本的な特性とともに機能性食品分野への応用と展望について概説する(図2)。

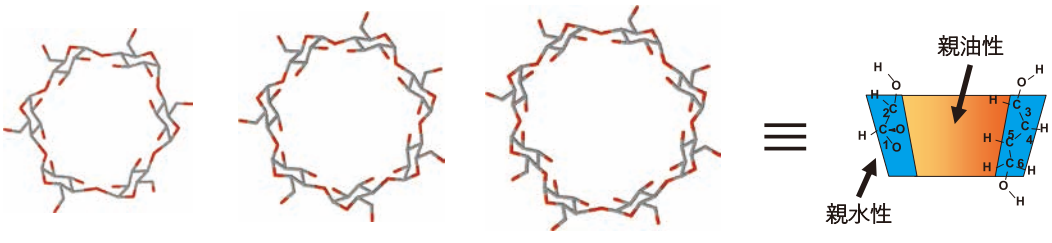

図1 シクロデキストリンの構造

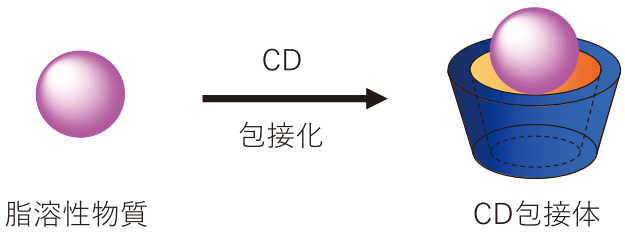

図2 シクロデキストリンによる脂溶性物質の包接

02 シクロデキストリンの特性

2.1.シクロデキストリンの包接機能

CDはその親油性空洞内に脂溶性物質を包接することで様々な機能を付与することができる[1,2]。以下にCD包接による効果について幾つかの例を示す。

①不安定ゲスト分子の安定性の向上

揮発性有機物質、紫外線や熱などに弱い物質、酸化や加水分解を受けやすい不安定な物質を包接することで安定化できる[3]。

②脂溶性成分の水分散性・水溶性の向上

脂溶性物質の多くは水中では凝集して存在している。そのような難水溶性物質を包接して凝集を抑制し、水中における分散性や溶解性を向上させることができる。

③生体利用能の向上

CD包接による脂溶性の機能性成分の安定化や水分散性・水溶性の向上は製品の保存性や品質の向上のみならず、それらの成分を摂取した際の消化管内においても同様であり、その結果、成分の生体利用能を向上させることができる[4]。

④粉末化

揮発性の高い物質や気体を包接することで安定したハンドリングが容易な粉末に変換できる。

⑤徐放

香辛料や香料などの揮発性成分を包接して揮発性を抑制し、それらの成分を徐々に放出(徐放)できる。包接化によって保存安定性を高めると同時に香辛料や香料の風味の持続性を向上できる。また、温度や湿度によって徐放速度を制御できる。[5,6]

⑥マスキング

嫌な臭いや苦味・渋味などの元となる成分を包接することで、それらの受容体との相互作用を阻害し、臭みや苦味・渋味をマスキングできる[7]。

⑦粘度調整

粘性の高い物質を包接化して分子間力を断ち切ることで粘度を下げることができる。

上記のようなCD包接化によって得られる効果により、家庭品においては除菌消臭剤や芳香剤、一般食品や保健機能食品においては香料や機能性成分を安定化させたガムや練りわさび、苦味を抑制した緑茶飲料、泡立ちを安定化させたミルクセーキ、機能性成分の吸収性を高めたサプリメントなど、さまざまな用途でCDは利用されている。

2.2.シクロデキストリンの水溶性

CDのグルコース水酸基は、その環状構造のため、隣接する水酸基と分子内水素結合で結ばれて安定化される。特に、グルコースの単位が7個のβ-CDが最も理想的な環状の水素結合を形成し安定化している。それが理由で、周囲の水分子との水素結合が少ないためにβ-CDの水溶性は低い。一方、グルコース単位が6個のα-CDと8個のγ-CDはグルコースのコンファメーションにより、β-CDと比較してほんの僅かのズレが生じ、分子内水素結合の割合は少し減少している。その結果、25℃におけるγ-CDの水溶性はβ-CDに比べて10倍以上高い(図3)[2]。

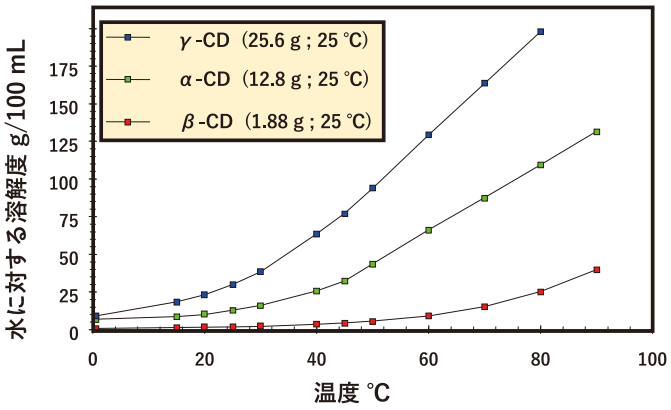

図3 シクロデキストリンの水に対する溶解度

2.3.シクロデキストリンの消化性と分解性

α-CDとβ-CDは小腸内では消化を受けない。α-CDはβ-CDに比べて高い水溶性を有することから、水溶性食物繊維として大腸において腸内細菌叢によりほぼ完全に発酵分解し、短鎖脂肪酸に変換され、腸内環境の改善作用を有する。また、α-CDは糖質や脂質の吸収を抑制する作用も合わせ持ち、抗メタボリックシンドローム効果を示すことも明らかとなっており、これまでにないスーパー食物繊維として近年注目されている[8-10]。β-CDは大腸で腸内細菌叢により部分的に分解される。過剰にβ-CDを摂取すると分解されないβ-CDが一部体内に吸収され、腎機能に影響を与える可能性が動物試験によって示唆されているのでβ-CDの摂取量には注意が必要である(次項を参照されたい)(図4)。一方、γ-CDは小腸内でアミラーゼによって消化されるが、環状の糖質であるため、その消化速度は他の消化性糖質に比べて遅く、グルコースが緩やかに生成して持続的に吸収されるので持久力を競うスポーツや集中力を高める目的に有用な特徴がある。

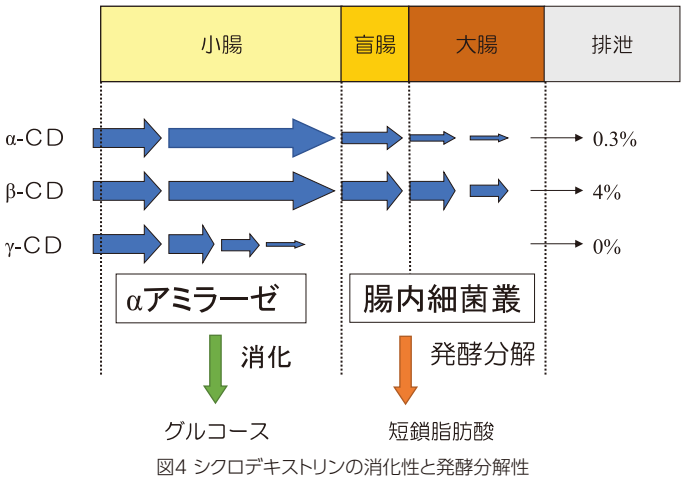

図4 シクロデキストリンの消化性と発酵分解性

2.4.シクロデキストリンの安全性

WHO(世界保健機関)とFAO(国連食糧農業機関)が共同で組織したJECFA(世界食品添加物合同専門家会議)は、α-CD、β-CD、γ-CDの天然型CD3種の安全性に関する評価を行い、結果として、α-CDとγ-CDは1日の許容摂取量を特定する必要のない安全な物質であると評価し、β-CDは1日の許容摂取量を5mg/kgと設定した[11]。したがって、体重60kgの方の許容摂取量は300mg(5mgx60kg)となる。このJECFAの安全性評価に基づき多くの国は天然型CD3種の食品添加物としての使用制限を定めている(表1)。

表1 天然型シクロデキストリン3種の性質の比較

	水溶性(@25℃)	代謝性	1日許容摂取量(ADI)
α-CD	○(14.5g/100mL)	難消化性	上限値なし
β-CD	△(1.8g/100mL)	難消化性	5mg/kg/日
γ-CD	○(23.2g/100mL)	消化性	上限値なし

EU(欧州連合)では、α-CDとγ-CDについては“安全な食品”を意味するノーベル・フード(Novel Food)として登録されている。また、米国では食品医薬品局(FDA)によってβ-CDは「食品香料キャリア」に限ってGRAS(Generally Recognized As Safe)認可されている。一方、α-CDとγ-CDは「広範囲用途」でGRAS認可されている[12]。

このように“α-CDとγ-CDは制限なし”であり、“β-CDは制限あり”という天然型CD3種の世界における使用基準に対して、日本では食品への添加においてすべての3種CDに使用制限はなく、安全性に関する責任はCDを使用する各々の食品業者に任されているため、市販製品を注意深く見直す必要がある。

03 機能性食品分野におけるシクロデキストリン 消化管ケミストリーとその展望

CDは特に食品分野と医薬品分野においてさまざまな目的で利用されている。医薬品分野では摂取量を制限できるので天然型CDのみならずヒドロキシプロピル化CD(HP-CD)、部分メチル化CD(RM-CD)、スルホブチルエーテル化CD(SBE-CD)などの水溶性を高めた化学修飾型CDも経口、注射など様々な投与方法で用いることができる。たとえば、新型コロナウイルス(COVID-19)治療薬のレムデシビルには溶解度改善のためにSBE-CDが使用されている。一方、食品分野においては、医薬的な用法用量を制限できないので安全性の面から天然型CDのみ

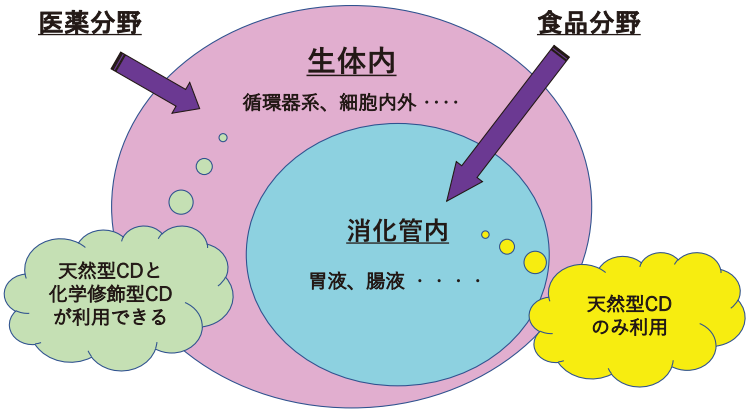

図5 医薬品分野と食品分野において利用可能なシクロデキストリン

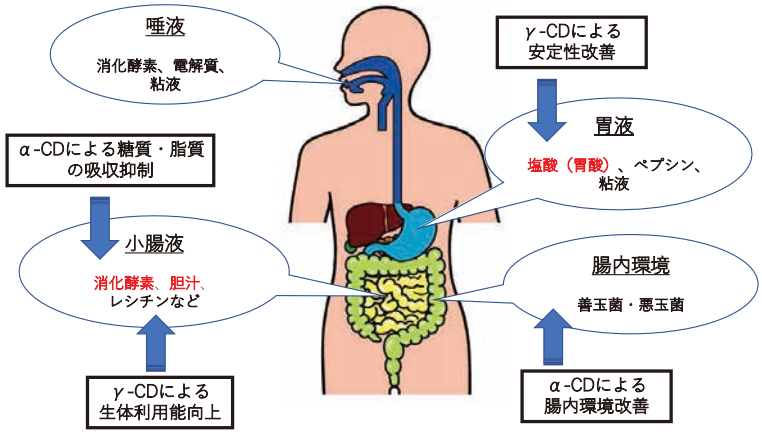

図6 シクロデキストリン消化管ケミストリー

が利用可能である(図5)。

これまでに、天然型CD、あるいは、機能性栄養素の天然型CD包接体を経口摂取した際の口腔内、胃内、小腸内、大腸内などの各消化管内におけるCDのさまざまな働きが明らかになってきている。ここでは、その“シクロデキストリン消化管ケミストリー”について紹介する(図6)。

3.1.α-シクロデキストリンによる消化管からの糖質・脂質の吸収抑制

α-CDは、小腸内においてα-アミラーゼでは分解されないため、包接作用と食物繊維作用の両方を介した様々な機能を発揮する。具体的な機能としては血糖値上昇抑制作用、中性脂肪上昇抑制作用、飽和脂肪酸選択的排泄作用、小型LDL低減作用などが明らかとなっている[13]。

①血糖値上昇抑制作用：食物繊維の多くで見られる血糖値上昇抑制は、主食のご飯やパン類に含まれるデンプンを摂取した際のデンプン分解酵素活性阻害のみである。しかし、α-CDの場合は活性部位への包接によるデンプン分解酵素活性阻害作用のみならず、砂糖分解酵素活性阻害作用もあることから、主食のみならず、甘いスイーツなどの間食を摂る際の血糖値の上昇も抑制できる。

②中性脂肪上昇抑制作用：食物繊維の一つである難消化性デキストリンを機能性成分とした食後の血中中性脂肪上昇抑制作用を謳った機能性表示食品が数多く存在するが、α-CDも食後の血中中性脂肪上昇抑制作用を有している。その研究はプラセボ対照クロスオーバー試験の手法で行われ、血中中性脂肪値がやや高めを含む健常人に対して、食事とともにα-CDを2g摂取した際、プラセボと比べ、有意な血中中性脂肪上昇抑制作用が確認されている[14]。それらの機能性を比較すると、難消化性デキストリンは、食事とともに血中中性脂肪の上昇抑制のために5gの摂取を必要とし、一日3回の食事では15g必要である。しかし、α-CDはわずか一日6g(毎食2g)の摂取で抑制作用が確認されている。この作用も包接機能によるものと考えられている。中性脂肪の3つの脂肪酸の一つをα-CDが包接し水溶性を持たせることで包接体自体が界面活性を有することから過剰の中性脂肪を取り込んだミセルを形成していると考察される。

③飽和脂肪酸・トランス脂肪酸の選択的排泄作用：食事から摂取している脂は、不飽和脂肪酸と飽和脂肪酸の2種類に分けられる。植物油や魚油に含まれる不飽和脂肪酸は中性脂肪やVLDLを低下させる作用や、生理活性物質の材料になるなど健康維持に重要な脂肪酸である。一方、動物性油脂に含まれる飽和脂肪酸やトランス脂肪酸は心血管疾患(CVD)、特に冠動脈性心疾患(CHD)のリスクを高めることが知られている[15]。α-CDに飽和脂肪酸・トランス脂肪酸の選択的排泄作用のあることがマウス試験で明らかとなっている。LDLr-KOマウスに対して食餌にα-CDを混ぜて14週間摂取させたα-CD群(n=20)とα-CDと等量のセルロースを摂取させたセルロース群(n=20)の血漿中の脂肪酸組成の差を調べたところ、α-CD群でオレイン酸やDHAなどの不飽和脂肪酸は増加し、パルミチン酸やステアリン酸などの飽和脂肪酸、そして、トランス脂肪酸は減少していた(図7)[16]。つまり、α-CDは不飽和脂肪酸の生体吸収率を高め、飽和脂肪酸やトランス脂肪酸の生体内吸収を抑制することが判明している。この選択性も包接機能が関与しており、α-CDと結合定数の高い飽和脂肪酸やトラン

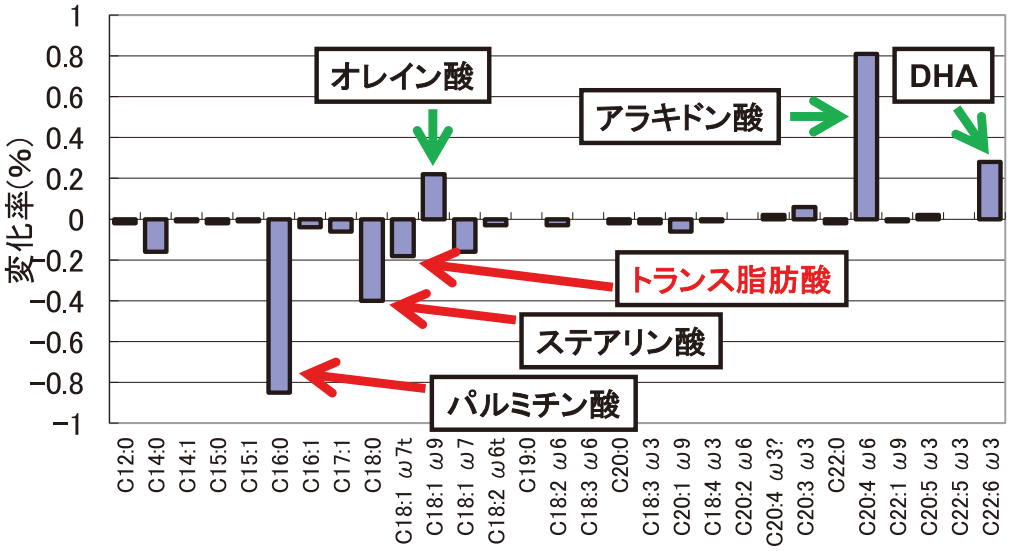

図7 α-CD摂取によるマウスの血漿中脂肪酸組成の変化

ス脂肪酸が包接され易く、その結果、排泄に導かれたと考察できる。

④小型LDL低減作用：LDLは悪玉コレステロールと呼ばれ、従来から健康リスクの指標とされてきたが、最近、LDLの粒子径を25.5nm以上の大型と25.5nm未満の小型に分けた際、大型LDLは体にとって有用であり、健康リスクを与える真の悪玉コレステロールは小型LDLであることが国内外の幾つもの研究グループによって明らかとされている。小型LDLが増加する原因は中性脂肪の増加、インスリン抵抗性、そして、飽和脂肪酸の増加である。前述のようにα-CDはこれらすべての原因に対して改善効果を持つことから、ヒト試験でα-CDによる小型LDL低減作用が検証された。二重盲検クロスオーバー試験で14週間、α-CDを食事毎に2g、1日6g摂取させた。その結果、プラセボと比べ小型LDLは10%低減され、有意に低値を示すことが認められている[17]。

3.2.α-シクロデキストリンによる腸内環境改善

ヒトの小腸内で消化酵素によって分解されない難消化性糖質は、盲腸と大腸内の腸内細菌によって発酵分解される。しかし、その難消化性糖質の種類によってその分解率は大きく異なり、ポリデキストロースや寒天は25%未満で難消化性デキストリンやアラビアガムは25%～75%であるが、α-CDは75%以上である。腸内細菌によって難消化性糖質が分解されると短鎖脂肪酸(SCFAs)に変換される。近年の研究からこのSCFAsが宿主にさまざまな健康増進効果をもたらすことが分かってきており、腸内細菌によって効率よく発酵分解されSCFAsに変換されやすいα-CDが注目されている[15]。

マウスを用いて通常食餌群、高脂肪食餌群、そして、α-CDを加えた高脂肪食餌群に分けて、腸内のSCFAsと腸内細菌がどのように変化するかについて検討されており、α-CD摂取によって高脂肪食による体重増加が抑制され、酢酸、プロピオン酸、酪酸などのSCFAsが増加し、腸内細菌叢は腸内有用菌である乳酸菌が増加し、アテローム性動脈疾患を抑制するとして注目されているバクテロイデス属も増加することが判明している[18]。

これまでの研究で明らかとなったα-CDがもたらすSCFAs増加による健康増進効果としては、カルシウムなどミネラルの吸収性向上、骨量の増加、骨強度の向上[19]、アンモニア血症、肝性腎症の予防、また、スポーツパフォーマンス向上効果としてSCFAsの特にプロピオン酸による持久力向上[20]などが挙げられる。

また、α-CDがもたらす腸内有用菌の健康増進効果としては、免疫増強作用、抗アレルギー作用、動脈硬化症の予防効果などが挙げられるが、特に、アテローム性動脈硬化の抑制効果に関してはマウスを用いた検討が行われている。この研究報告で菊芋の成分として注目されているイヌリンと比較してα-CDに明白な有意差が示されている[21]。

試験方法は8週齢のApoE欠損マウスを低脂肪餌(LFD、脂質5%)群、高脂肪餌群(WD、脂質21%)、α-CD摂取(WDA、脂質21%)群、β-CD摂取(WDB, 脂質21%)群、イヌリン摂取(WDI、脂質21%)群の5群に分け、11週間、餌を与えた。尚、それぞれの難消化性糖質の投与量は餌の1.5%であり、マウスの摂餌量が1日当たり2～3gで難消化性糖質は30mgから45mgを摂取することになる。解剖で大動脈を取り出し、病変部位を観察したところ、低脂肪餌(LFD)群に比べ、高脂肪餌(ウエスタンダイエット、WD)群では病変部位が多く、α-CD含有のWDA群はWD群に比べ65%抑制し、LFD群と同程度であった。一方、動脈硬化の抑制効果で注目されているイヌリンを含有するWDI群はWD群の病変部位の面積と殆ど大きな差は観られていない(図8)。

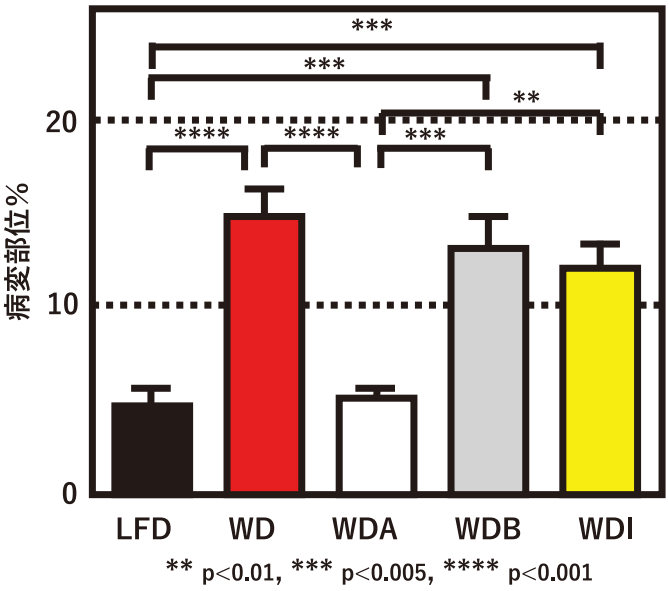

図8 ApoE欠損マウスの病変部位に対する各難消化性糖質の影響

アテローム性動脈硬化を抑制する作用はイヌリンよりもα-CDの方がはるかに高いが、この論文ではα-CDによる腸内細菌叢の変化によるものとされている。しかし、このように顕著な有意差が示されたことから、前述の小型LDL低減作用との相乗な効果と考えられる。

3.3.γ-シクロデキストリンを用いた機能性栄養素の安定性改善による生体利用能の向上

機能性栄養素の中には紫外線や酸素、あるいは、酸性水溶液の中で容易に分解する不安定な物質が存在する。γ-CDはそのような食品機能性成分の安定化に利用できる。ここでは、γ-CDを用いて安定性が改善されることによって生体利用能と活性が向上したR-αリポ酸とニュージーランド産プロポリスの機能成分コーヒー酸フェネチルの検討例を紹介する。

①R-αリポ酸γ-CD包接体の安定性改善と生体利用能向上：αリポ酸は糖代謝による抗糖尿病作用、エネルギー産生作用、抗酸化作用などを有する機能性成分であるが工業的には天然型R体と非天然型S体を等量含むラセミ体が製造され、市販

のαリポ酸サプリメントにはこのラセミ体が使用されている。非天然型S体は様々な副作用のあることが分かっているので、天然型R体のみ使用したサプリメントの摂取が好ましい。しかしながら、R体はラセミ体に比べ融点が低く極めて不安定であり、酸や熱によってポリマー化しやすいためR-αリポ酸を安定に配合することは困難であった[22]。そこで、γ-CD包接化によるR-αリポ酸(RALA)の安定性改善が検討されている。人工胃液中、37℃で60分間撹拌した後、未包接のRALAでは大きなポリマーが生成し残存率43%であったが、γ-CD包接体(RALA-CD)ではポリマーは確認されず、100%残存していることが明かとなっている(図9)[23]。

また、ヒト試験によるRALA-CDの生体吸収性も検討されている。健常人男性(20歳～45歳)にRALA、もしくはRALA-CD(いずれもR-αリポ酸として600㎎)を経口投与し、血漿中のRALA濃度を測定したところ、γ-CD包接化によってRALAの吸収性が約2.5倍向上することが判明した。そして、このRALAの吸収性向上は安定性改善によるものと考えられている(図10)[24]。

②コーヒー酸フェネチルの安定性改善と各種薬理活性の向上:

プロポリスは種々の生理活性を示すことから機能性食品分野において広く用いられている。中でもニュージーランド産プロポリスは抗がん活性などの多様な生理活性を示す化合物としてコーヒー酸フェネチル(CAPE)を特徴的に含んでいる。しかしながらCAPEはその構造上に複数の反応性部位を有している不安定な化合物であるため生体吸収性も低い。そこで、γ-CD包接による安定性の改善が検討されている。その結果、γCD包接体(CAPE-CD)は加水分解反応、アミノ酸とのマイケル付加反応、そして、酸化反応に対する安定性が未包接の

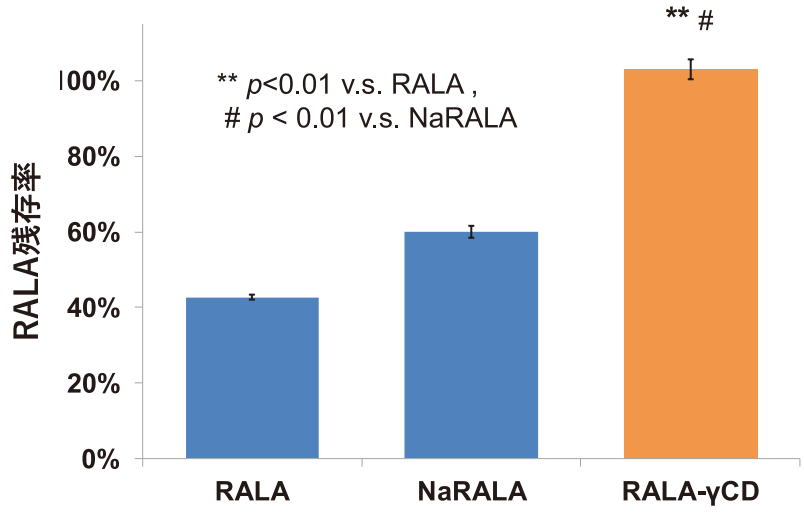

図9 R-αリポ酸-γ-CD包接体の酸に対する安定性

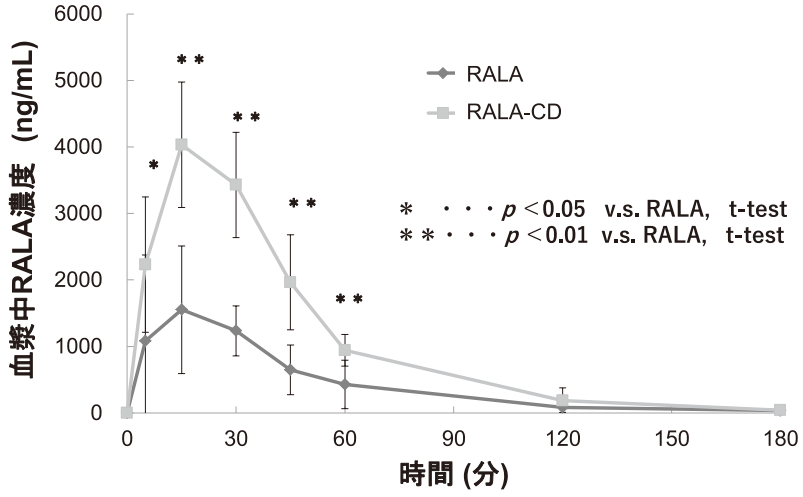

図10 γ-CD包接化によるR-αリポ酸の吸収性向上

CAPEに比べてはるかに高いことが確認されている[25]。

そこで、CAPEの安定性が改善されたCAPE-CDの抗がん作用について評価されている。がん細胞を移植したマウスにCAPEまたはCAPE-CDを経口投与し、飼育期間中の腫瘍体積の変化を追跡したところ、CAPEと比較してCAPE-CDで高い癌細胞増殖抑制効果が観測された。このように、γ-CDによりCAPEの安定性と吸収性が向上することによって抗がん作用が高まることが確かめられている(図11)[26]。また、抗がん作用の向上のみならず、CAPEには神経細胞の分化誘導による脳機能改善作用や新型コロナウイルス(COVID-19)に対する抗ウイルス作用についても見出されており、γ-CD包接によるそれらの作用の向上についても注目されている[27]。

3.4.γ-シクロデキストリンを用いた機能性栄養素の溶解度改善による生体利用能の向上

一般的に、摂取された脂溶性物質は腸内で胆汁酸ミセルに取り込まれて体内に吸収される。これまでの研究から、脂溶性物質がγ-CDに包接されると非常に効率よく分子レベルで胆汁酸ミセルに取り込まれ、経口吸収性も大幅に向上することが明かとなっている。ここではコエンザイムQ10(CoQ10)を例に挙げ、そのメカニズムを紹介する。

CoQ10-γCD包接体(CoQ10-CD)は水に高分散するものの、その溶解度はCoQ10原末と殆ど変化はない。それにもかかわらず、CoQ10-CDを経口摂取すると飛躍的に吸収性は向上する結果が得られている[28,29]。この理由に腸管内において界面活性剤の働きをしている胆汁酸が関与していることが明かとなった。CoQ10-CDの水分散液に胆汁酸の主成分の一つであるタウロコール酸ナトリウム(TCNa)を添加したところ、CoQ10原末や乳化剤を使用した"水溶性CoQ10"製剤と比較して極めて高い溶解度を示した(図12)。

経口吸収性向上のメカニズムとして、経口摂取したCoQ10-CDが腸管に到達すると、TCNaをはじめとした胆汁酸分子はゲスト分子であるCoQ10と入れ替わる。腸管内ではCoQ10の1分子1分子が胆汁酸と分子ミセルを形成することから、効率よく体内に吸収されるものと考えられる(図13)[30]。

このγ-CDを用いた優れた吸収性向上技術は現在、CoQ10のみならず、クルクミン、トコトリエノール、ウルソール酸、ジンゼノサイド等、様々な脂溶性の機能性食品素材へ応用され、サプリメントやその他の機能性食品に利用されている。

3.5.機能性食品分野におけるシクロデキストリン消化管ケミストリーの展望

消化管は口腔から始まり、食道、胃、小腸(十二指腸・空腸・回腸)、大腸(盲腸・結腸・直腸)を経て肛門に至るまでの消化・吸収代謝機能をつかさどる臓器である。口腔内では唾液、胃内では胃酸を含む胃液、小腸内では胆汁酸や消化酵素などを含む腸液、大腸では腸内細菌によって食物栄養素は消化と発酵分解が行われ、生体内に吸収されている。

"シクロデキストリン消化管ケミストリー"とは天然型CDの包接作用とα-CDの場合はさらに難消化性の食物繊維としての特性を活かして消化管から生体内へ吸収すべき栄養素の吸収率を高め、吸収させたくない成分を選択的に排泄し、腸内環境改善するなどの健康増進効果を期待したケミストリーである。

α-CDは小腸において消化液に含まれるα-アミラーゼによって分解を受けないために、デンプンや砂糖の分解酵素活性を抑制し、消化液中の乳化作用を有するレシチンの乳化作用を抑え

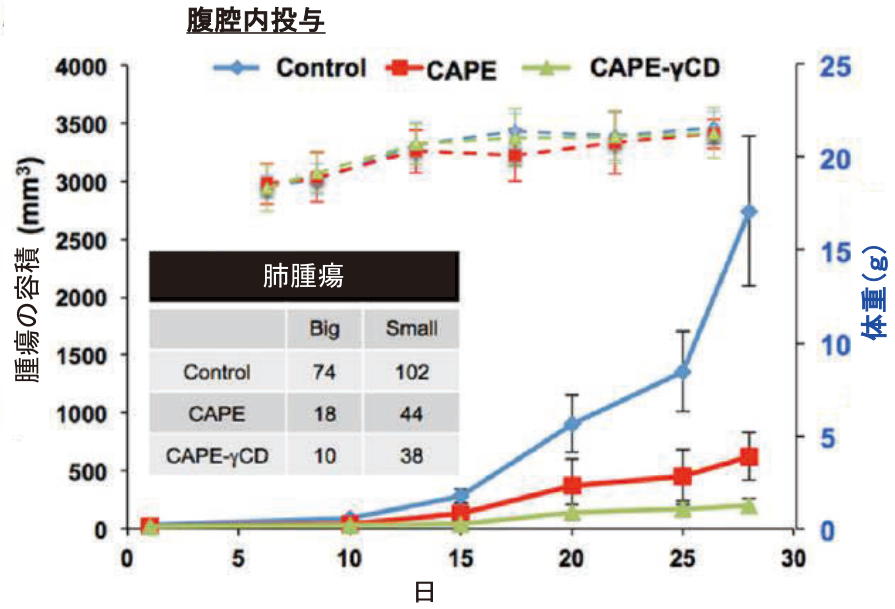

図11 γ-CD包接化によるCAPEの抗がん作用の向上

て脂質の吸収を抑制する。また、大腸においては腸内細菌に資化されて短鎖脂肪酸に発酵分解されることから様々な食物繊維としての機能を有している。

一方、γ-CDは小腸においてα-アミラーゼによる分解を受けるものの環状であるためにその分解速度は遅く、徐々にエネルギー源のグルコースに変換され体内に吸収される。そこで、他の糖質に比べ、γ-CDを摂取すると長時間にわたって体内にグルコースを維持できるので、持久力の向上作用がみられている。

また、γ-CDは小腸消化液に含まれる胆汁酸との結合親和性が高いことから、コエンザイムQ10など脂溶性の機能性成分のγ-CD包接体と胆汁酸とのゲスト分子交換を行い、機能性成分を分子ミセル化して吸収性を向上できることも前述した。γ-CDを用いるとわずか1nmのミセル粒子サイズをコントロールできるので従来の100nm粒子のナノテクノロジーの革命もシクロデキストリン消化管ケミストリーの一つである。

今後のシクロデキストリン消化管ケミストリーの展開において、α-CDの難消化性の環状オリゴ糖としての作用を活かした以下のようなα-CDを用いた様々な機能性素材が提案されており、新規な機能性食品開発への利用が期待されている。

- **大根**：辛み成分のMTBIは抗菌作用や体重低減作用などの有益な機能を有しているが、非常に不安定な物質なのでα-CDで安定化し、大根おろしα-CD凍結乾燥粉末の作製に成功。粉末に水を加えると食感、辛味は乾燥前の大根おろしと同等であった[31]。
- **ブロッコリースプラウト**：抗肥満作用や解毒作用で注目される機能性成分のスルフォラファンを含有するが、揮発しやすく不安定なので、α-CDで安定性が向上することが明かとなっている[32]。
- **キュウリ**：キュウリはホスホリパーゼ酵素による脂質低減作用を有している。この酵素は消化液中の乳化作用を持つレシチンを分解し、脂質の乳化を抑え、脂質の吸収を抑制する。キュウリホスホリパーゼのα-CDによる安定化に成功。α-CDはレシチン包接による乳化抑制作用を有するのでキュウリホスホリパーゼとの相乗作用が期待できる[33]。

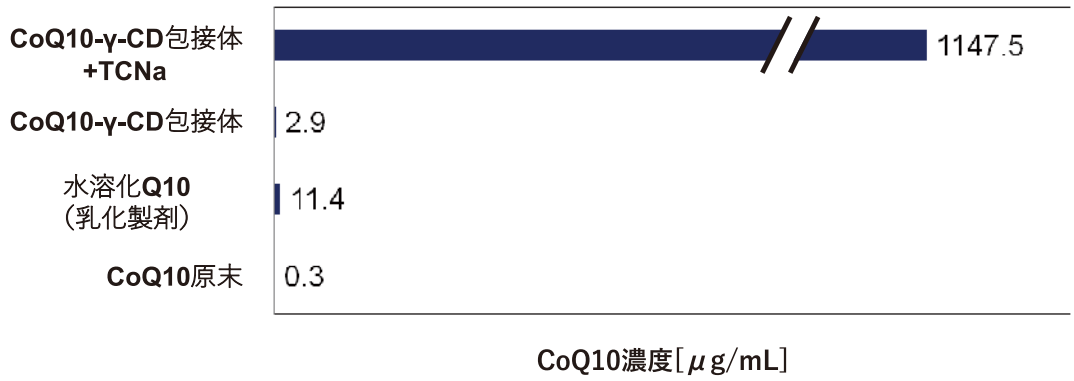

図12 CoQ10-γ-CD包接体とタウロコール酸ナトリウム（TCNa）によるCoQ10溶解度の向上

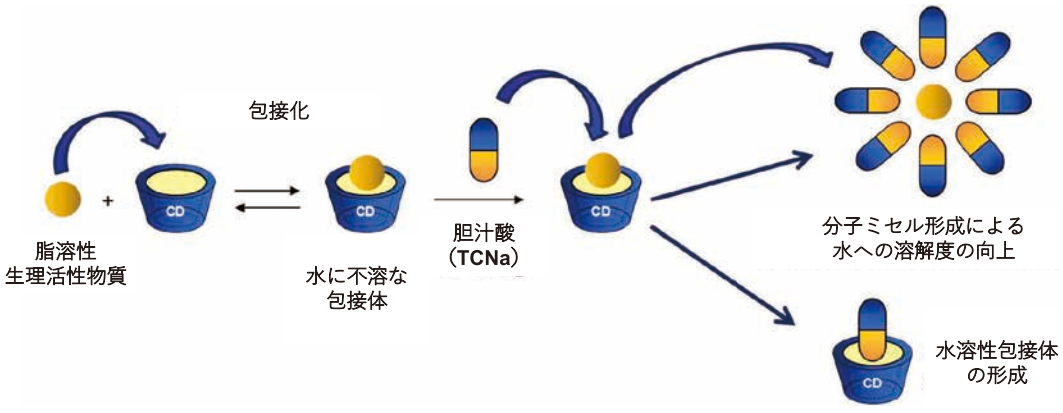

図13 胆汁酸とγ-CDを用いる脂溶性生理活性物質の吸収性向上の機構

- **キウイフルーツ**：キウイプロテアーゼ酵素は羊肉などの食肉に含有するタンパク質の分解を促し、胃腸の負担を軽減する働きがあるが、空気酸化で酵素活性は失活する。α-CDによるキウイプロテアーゼの安定化に成功。キウイα-CD乾燥粉末は1年後も酵素活性を維持している[34]。
- **亜麻仁油**：亜麻仁油はω3不飽和脂肪酸のα-リノレン酸が全脂肪酸の60%を占めるので酸化しやすい。α-CD包接化によって酸化を抑制できる[35]。亜麻仁油は中性脂肪低減作用と小型LDLコレステロール低減作用を有しているのでα-CDとの相乗効果も期待できる。
- **ラクダミルク**：ラクダミルクにはヒト臨床試験によって1型と2型の糖尿病患者の病状改善効果が立証されている[36]。しかしながら、牛乳に比べて品質劣化が早いため流通し辛い問題点がある。そこで、α-CDを用いた再乳化型粉末乳が開発されている。

04 さいごに

食品の機能性栄養素や医薬品の薬理活性成分の中には水への溶解度が低い、あるいは、安定性が低いために生体利用能に問題のある物質も多い。それらの溶解性を高め、安定性を高めて生体利用能を向上させる製剤化技術には一般的にリポソームなどの脂質二重構造によるマイクロカプセル化手法とゼラチンなどタンパク質を用いたマイクロカプセル化手法がある。マイクロカプセルとはサイズが1～1,000μmのものであり、これらの技術は1μm以上の粒子サイズの活性成分の集合体をカプセル化したマイクロカプセル化技術である。

一方で、CDの直径は約1nm であり、CDの包接作用を用いることで活性成分を集合体としてではなく、分子レベルでカプセル化できる従来の脂質やタンパク質を用いるマイクロカプセル化技術とは異なるナノカプセル化技術である。天然型の3種CDの中でも、特にα-CDとγ-CDは2000年から工業生産が開始されており、過去の検討例も少なく、新たなナノカプセル化技術と言える。

食品分野において、CDはこれまで、苦味の低減、食品色素の安定化、脂溶性物質の可溶化など一般食品の嗜好を改善する目的が中心に利用されてきた。しかし、今後は、さまざまな機能性栄養素のCD包接体が開発され、日本のような超高齢社会において、医療費を削減し健康寿命を延ばすための人々の健康増進を目的に利用されることを期待したい。

参考文献

1) A. R. Hedges, *Chem. Rev.*, **98**, 2035 (1998)
2) 寺尾啓二 , 池田宰（監修）, シクロデキストリンの科学と技術 , シーエムシー出版（2013）
3) 寺尾啓二（監修）, 食品機能性成分の安定化技術 , シーエムシー出版（2016）
4) Y. Uekaji, K. Terao, Bio-Nanotechnology: A Revolution in Food, Biomedical and health Sciences, p.179, Wiley & Sons, U. K. (2013)
5) L. Szente et al., *Trends Food Sci. Technol.*, **15**, 137 (2004)
6) T. A. Reineccius et al., *J. Food Sci.*, **67**, 3271 (2002)
7) G. Astray et al., *Food Hydrocoll.*, **23**, 1631 (2009)
8) 寺尾啓二 , 新機能性食物繊維 α - シクロデキストリン , ハート出版（2008）
9) 寺尾啓二ら , スーパー難消化性デキストリン " αオリゴ糖 ", 健康ライブ出版社（2017）
10) 寺尾啓二（監修）, 古根隆広 , αオリゴ糖の応用技術集（2019）
11) World Health Organization(WHO),(https://apps.who.int/food-additives-contaminants-jecfa-database/chemical.aspx?chemID=2066)（参照 2020-7-28）
12) K. Terao et al., *Food & Food Ingredient Journal of Japan,* **201** (3), 222 (2005)
13) 城文子ら , 食品と開発 ,**46**(1),81(2011)
14) PA.Jarosz et al., Metabolism, 62(10), 1443 (2013)
15) 浅原ら , オレオサイエンス , 10(10), 365 (2010)
16) EM.Wagner et al., Metabolism, 57(8), 1046 (2008)
17) Amar et al., *Lipids in health and Disease* **15**, 115 (2016)
18) N.Nihei et al., *Biofactors*, **44**(4), 336 (2018)
19) 近本ら、投稿準備中
20) H. Morita et al., bioRxiv (THE PREPRINT SERVER FOR BIOLOGY 2020)
21) T. Sakurai et al., Molecular Nutrition & Food Research, 61(8)(2017)
22) 寺尾啓二 , 善玉リポ酸と悪玉リポ酸　美容と健康の救世主！ R- αリポ酸　低用量摂取でも危険！ S- αリポ酸 , 健康ライブ社（2020）
23) 寺尾啓二ら、食品と開発 49(11), 74(2014)
24) N. Ikuta et al., *International Journal of Molecular Science*, **17**(6), 946 (2016)
25) Y. Ishida et al., *Integrative Cancer Therapies*, **17**(3), 867 (2018)
26) R. Wadhwa et al., *Journal of Cancer*, **7**(13), 1755 (2016)
27) V. Kumar et al., Journal of Biomolecular Structure and Dynamics. Published on web(http://doi.org/10.1080/07391102.2020.1772108) (2020).
28) K. Terao et al., *Nutrition Research,* **26**, 503 (2006)
29) X. Gao et al., *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **1**, 95 (2006)
30) Y. Uekaji et al., *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, **93**, 3 (2019)
31) 上野ら , 第 30 回シクロデキストリンシンポジウム講演要旨集 , P278 (2013)
32) 大西ら、第 35 回シクロデキストリンシンポジウム講演要旨集、P162（2018）
33) 古根ら、第 36 回シクロデキストリンシンポジウム講演要旨集、P165（2019）
34) 城ら、第 32 回日本臨床栄養学会総会•第 31 回日本臨床栄養協会総会。第 8 回大連合大会講演要旨集 P145（2010）
35) 近本ら、第 36 回シクロデキストリンシンポジウム講演要旨集 P171(2019)
36) P.Mirmiran et al., International Journal of Endocrinol Metabolism, 15(2) e42150(2017)

シクロデキストリンを用いた高分子材料

Polymeric Materials with Cyclodextrin

伊藤 耕三 Kohzo Ito, Ph.D. (Professor)
東京大学大学院 新領域創成科学研究科 教授
The University of Tokyo

キーワード ▪▪▪ シクロデキストリン、環動高分子、ナノシート

01 はじめに

シクロデキストリン(CD)は、食料品や医薬品などの広い範囲で現在利用されている環状オリゴ糖であり、α-, β-, γ-CDの3種類が現在のところ市販されている。それぞれは、グルコースの6、7、8量体であり、内径が0.44、0.58、0.74nmとなっている[1,2]。他の環状分子と比べてCDは高純度品を低価格で大量に手に入れることが可能であり、また水酸基が多数付いているため様々な官能基を容易に修飾できる。CDは内部が疎水性、外部が親水性であるため、水中で様々な疎水性低分子を内部に取り込み包接錯体を形成することが知られていた。1990年にHaradaとKamachi [3]は、α-CDとポリエチレングリコール(PEG)を水溶液中で混合したところ自己組織的に多数のα-CDとPEGが包接錯体を形成することを世界で初めて発見し、これを疑似ポリロタキサンと名付けた。続けてHaradaら[4]は、1992年に疑似ポリロタキサンの両末端を大きな分子で封止(キャッピング)してα-CDがPEGから抜けないようにすることに成功し、ポリロタキサンの合成を報告した。この新しい超分子構造体は、その構造自身が興味深く報告当初から大きな注目を集めているだけでなく、機能性高分子材料を開発する上での基本的な構成要素としてきわめて重要であり、現在も盛んに研究が行われている[5-6]。ちなみに2016年のノーベル化学賞は、カテナンやロタキサンのようにトポロジカルに結合した超分子構造の合成やその分子機械としての特性に対して、J.-P. Sauvage、F. Stoddart、B. Feringaの3氏に授与された。

筆者ら[7]は、2000年ころにポリロタキサン構造を利用して、図1のような従来とは全く異なる架橋高分子材料を合成することに成功した。具体的には、高分子量のPEGを用いてα-CDが低密度に入ったポリロタキサンを合成し、次に異なるポリロタキサン上のα-CDを化学的に架橋することで、8の字状の架橋点が自由に動く高分子材料を世界で初めて作成し、これを環動高分子材料(Slide-Ring Materials)と名付けた。環動高分子材料では、環状分子が化学架橋して8の字になった架橋点によりネットワークが形成されているために、架橋点が自由に動き、従来の架橋点が固定した高分子材料とは本質的に異なる構造と物性を示す。このような架橋点が自由に動く高分子材料は、1999年にde Gennesがsliding gel [8]と名付けて理論的に考察しているのみで、概念としても新しく、絡み合い効果を理論的に扱ったスリップリンクモデルを具現化した材料とみなされている。ちなみに、日米中欧で物質に限定されない基本特許が成立済みである。1839年のグッドイヤーによる化学架橋の発見以来、架橋高分子材料については、架橋点が固定していることを前提としてこれまでに実験・理論の両面で膨大な研究が行なわれてきたが、2000年になって架橋点が自由に動く材料が初めて登場し、架橋高分子材料に関するこれまでの常識が次々と塗り替えられつつある。本稿では、シクロデキストリンを用いた様々な環動高分子材料の基礎と応用について紹介する。

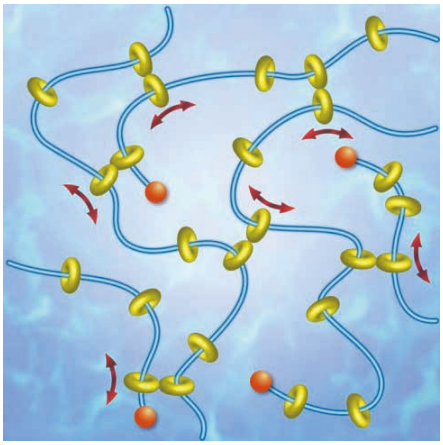

図1 環動高分子材料の模式図。ポリロタキサン中のシクロデキストリンを架橋することで架橋点が自由に動く超分子ネットワークが形成される。

02 環動高分子材料の調製[9)]

環動高分子材料の原料としては、軸分子にPEG、環状分子にα-CD、キャッピング分子としてアダマンタンを用いたポリロタキサンが、現在のところ収率などの点で最も優れており、量産化が進んでいる。環動高分子材料の特性を発揮させるためにはCD環が長い距離を動ける方がよいので、軸分子はなるべく長く、また包接するCDの数は比較的少ない方が好ましい。一例として分子量35000程度のPEGを軸とし、90～100個のCDを包接した試料[10)]などがよく用いられるが、他にも様々な合成例が報告されている。また、ポリロタキサン中のCDの数の制御も可能であり、ポリロタキサンおよび環動高分子材料の構造や物性は、CDの包接率によって大きく変化することが分かっている[11)]。

このようにして得られたPEG/CDのポリロタキサンはCD間の強い分子内・分子間水素結合のため、水や大半の有機溶媒には溶解しない。ポリロタキサンの良溶媒としてはこれまでに、DMSO、NaOH水溶液、Li塩を含むDMAcやDMF、環状アミンオキシド、$Ca(SCN)_2$水溶液、イオン液体などの特殊な溶媒が報告されている[12)]。このポリロタキサンの溶解性の問題は、CDの修飾によって劇的に改善され、ポリロタキサン誘導体では水やアセトン、トルエン、クロロホルム、酢酸ブチルなどへの溶解も可能である（難溶性であるセルロースが修飾によって有機溶媒や水に可溶になるのと同様）。ポリロタキサンの架橋には、未修飾の場合には水酸基どうしの架橋剤、誘導体の場合にはそれ以外の架橋剤やあるいは光なども利用できる。一方、環動高分子材料の軸高分子としては、PEG以外の様々な高分子が利用可能である。実際に我々は、軸高分子にポリシロキサンあるいはポリブタジエンとγ-CDを用いた環動高分子材料や、PEGとポリプロピレングリコール（PPG）のブロックコポリマーとβ-CDを用いた環動高分子材料の合成にも成功している[13)]。

低包接率のポリロタキサンでは、CDは軸分子にそって移動したり軸分子の周りを回転したりできると考えられている。このような性質を特に環動性と呼んでいる。環動高分子材料はCDの環動性により架橋点が自由に動くために、従来の架橋点が固定されたエラストマーやゲルとは大きく異なる特性を示す。たとえば、環動ゲルは乾燥重量に対し最大24000倍の膨潤率（純水膨潤時）、元長に対して24倍の伸長率を示す。またゲルとして80～90%の溶媒（水）を含みながらゴムのように伸び縮みする、いわゆるエラストマー様の引張り特性を示す。さらに、血管や皮膚などの生体組織と同様のJ字型の応力伸長特性を示すことから、生体代替材料としての応用が期待されている[14)]。

03 環動高分子の力学特性

環動高分子が従来の高分子材料と根本的に異なる点として、架橋点の可動性による滑車効果と環のエントロピーの2つが挙げられる[15)]。環動高分子に含まれる軸高分子は、架橋点を自由に通り抜けることができるため、力学的には高分子は1本のままとして振る舞うことができる。この協調効果は1本の高分子内にとどまらず、架橋点を介して繋がっている隣り合った高分子同士でも有効なため、高分子材料全体の構造および応力の不均一を分散し、高分子の潜在的強度を最大限に発揮することが可能だと考えられる。架橋点が滑車のように振る舞っていることから、この協調効果を滑車効果と呼んでいる[7)]。この効果は、軸高分子の架橋点間距離の不均一性を解消し、低ヤング率や優れた伸長性などの原因となっている。

環動高分子のもう1つの重要な特性が環のエントロピーである[15)]。ポリロタキサンには、軸高分子の形態エントロピーと環状分子の配置エントロピーの2つのエントロピーが存在している。この2つのエントロピーは、任意の高分子形態において環状分子は任意の配置を取れることから、ポリロタキサンではほとんど独立に振る舞っている。ところが架橋して環動高分子になると状況は大きく変化し、2つのエントロピーが結合してキャッチボールを始める。良く知られているように、高分子の形態エントロピーはゴム弾性（エントロピー弾性）の原因となっていることから、環動高分子では環のエントロピー（配置エントロピー）が紐のエントロピー（形態エントロピー）を通じて力学物性などに大きな影響をもたらすことになる。

スライド可能な架橋点を有する環動ゲルの高強度化メカニズムを明らかにするために亀裂進展試験（破壊エネルギーを求めるために、高分子に亀裂を入れて行う応力伸長試験）を実施し、共有結合で架橋された通常の固定架橋ゲルとの比較を行った[16)]。図2に架橋密度を変えることで弾性率を調整した固定架橋ゲルおよび環動ゲルの破壊エネルギー（高分子を破壊するのに必要

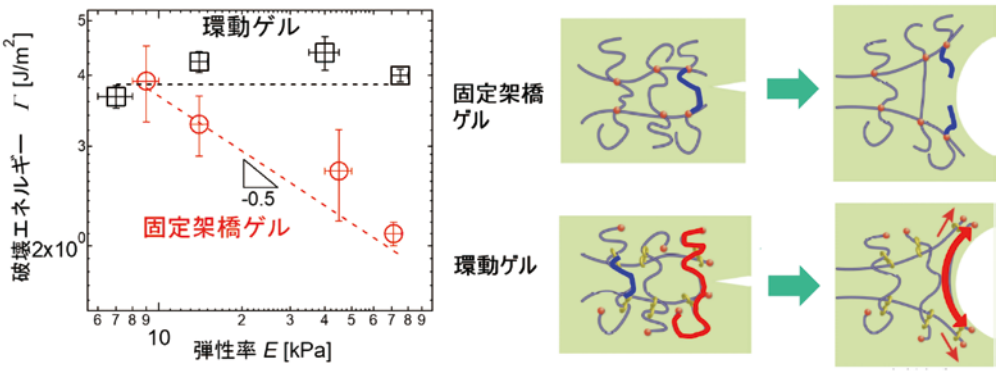

図2 環動ゲルおよび固定架橋ゲルにおける破壊エネルギーG の弾性率依存性と破壊メカニズムの模式図。

なエネルギー)を示す。通常の固定架橋ゲルでは、架橋密度の増大とともに架橋点間鎖長が短くなり、破壊エネルギーは減少する。つまり、ゲルは硬くなるほど脆くなり、硬さと強靭性は相反してしまう。一方、環動ゲルでは、環動ゲルの破壊エネルギーは架橋密度によらず一定であり、環動ゲルの靭性(破壊エネルギー)と硬さ(弾性率)は独立していることが明らかとなった。これは、環動ゲルの弾性率は固定架橋ゲルと同様、平均の架橋点間距離(図2中の青い鎖の長さ)に支配される一方、破壊エネルギー亀裂先端において8の字架橋点がスライドできる距離(図2中の赤い鎖の長さ)に依存しており、それぞれ異なる分子的起源を有しているためである。

04 環動高分子材料の応用

カブロラクトンをグラフトしたポリロタキサンを他の高分子とブレンドして架橋したエラストマーは一般に、弾性率(ゴム硬度)と圧縮永久歪(高分子を長期間圧縮した後の形状の非回復率)がともに小さい、応力伸長特性のヒステリシスが小さく伸長性が増加する、非常に広い周波数帯域で振動を吸収する、無機フィラーを分散しても弾性率やヒステリシスがあまり変わらない、形状復元力が強い、硬化収縮率が低下する、残留応力が緩和する、透明性が高い、ブレンドする高分子の種類に応じて応力緩和性が著しく増加または減少するなど、通常の架橋高分子では見られない相反する特性を同時に示す傾向がある。環動高分子のこのような特性は、滑車効果や環のエントロピーによる材料の均一性の保持と密接な関係があると考えている。その結果、環動高分子の応用としては、自己修復性塗料として塗膜の耐擦り傷性材料や振動吸収材料、研磨材、ゴルフボールとして実用化されているだけでなく、誘電アクチュエータなど様々な分野での製品化が期待されている[17]。最近、環動高分子を利用することで耐衝撃性が著しく向上することが見出された[18]。また図3のようなポリロタキサンガラスがKatoらによって合成され[19]、通常の高分子ガラスと異なる異常な物性が明らかになり、耐衝撃性との関連が注目されている。

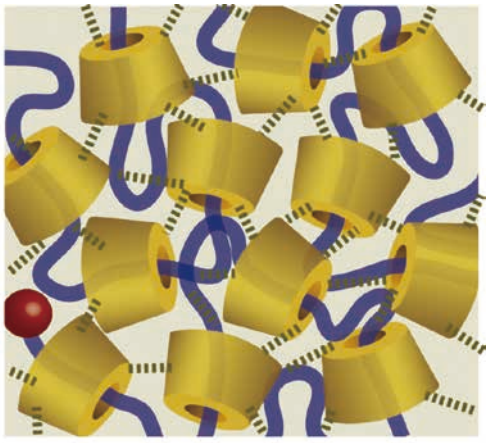

図3 ポリロタキサンガラスのイメージ図。シクロデキストリンが作るフレームワーク中で軸高分子であるポリエチレングリコールが運動している。

05 内閣府革新的研究開発推進プログラム(ImPACT)プログラム

革新的研究開発推進プログラム(ImPACT:Impulsing PAradigm Change through Disruptive Technologies)は、実現すれば産業や社会のあり方に大きな変革をもたらす革新的な科学技術イノベーションの創出を目指し、ハイリスク・ハイインパクトな挑戦的研究開発を推進することを目的として、内閣府の総合科学技術・イノベーション会議(CSTI)により創設された、全く新しい研究開発推進プログラム(平成26～30年度)である。ImPACTの「超薄膜化・強靭化「しなやかなタフポリマー」の実現」という採択課題の中では、この環動高分子が基幹技術の1つとして使われている。ポリロタキサンを他の高分子と化学的あるいは物理的に架橋することによって、外力が加わった際に応力の局所的集中を分散し、クラックの発生や亀裂の進展を抑えることができる。実際に名古屋大学竹岡・関研究室では、ポリアクリルアミドゲルに少量のポリロタキサンを添加して架橋したところ、力学特性が劇的に変化して、伸長性が最大30倍と顕著に増加しただけでなく、カッターでは切断が困難なほど強靭性の大幅な向上が見られた[20]。また東レ株式会社では、ポリアミド樹脂に少量の環動高分子の構造を組み込むことで、硬さや強さを保ちながらも、衝撃を受けても壊れにくい材料を開発することに成功した。開発した材料は、従来のポリアミドに比べて、約6倍の破断伸びと約20倍の屈曲耐久性を示し、車体構造材を想定した衝撃試験では、2倍以上のエネルギーを吸収することが明らかになった。さらに最近、我々はポリロタキサンをエアロゲルに応用し、機械強度に優れたエアロゲルを合成することに成功した[21]。ポリロタキサン無しでは破断圧縮率が5-10%程度なのに対して、ポリロタキサンを2.5%程度添加すると破断圧縮率が70%以上と大幅に改善する。圧縮破断強度も0.04MPaから10MPaと250倍も増加し、透明度も向上した。一方、空孔率や断熱性は、ほとんど変化しない。したがって、断熱性を保ったままで大幅に機械強度を向上させることに成功したといえる。これらの場合にはいずれの場合も少量の環動高分子構造の導入により強靭性が大幅に向上する点が重要であり、比較的低コストで既存の安価な高分子材料の特性が改善することから、短期間での実用化が可能となっている。

またプログラムでは、各材料開発プロジェクトの成果の集大成として、「タフポリマー」の可能性をクルマで示し、実用性・安全性を備えた未来車のプロトタイプを提示するために東レカーボンマジック株式会社が中心となってコンセプトカーを製作した。このコンセプトカーは、鉄からポリマーへ「Iron to Polymer」という意味を込め「ItoP(アイトップ)」と名付けられた(図4)。

ItoPは電気自動車(EV)で3人乗り、将来の自動運転化を見据えたモニタリングシステムやステアリングシステムを備えている。スタイリングデザインは、しなやかさとタフさの両方をイメージさせ、樹脂を多用したクルマだからこそ成しえる未来的なデザインを目指し、一体感のある卵型キャビンと独立したフロントホイールカバー、大きな窓エリア、大開口ドアなどが外観上の大き

図4 コンセプトカーItoPの写真。ItoPのボディ部であるモノコックフレームにはシクロデキストリンを用いたポリロタキサンが含まれている。

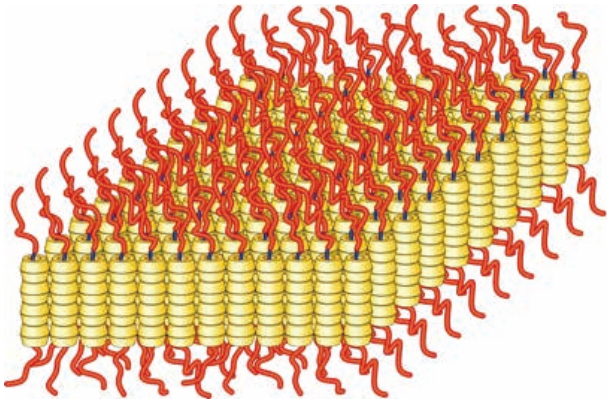

図5 擬ポリロタキサンナノシートの模式図。中央部はシクロデキストリンとトリブロックコポリマーの中央部より構成されている。

な特徴となっている。このデザインを成立させ、かつ軽量性・機能性に富んだ車体の構築には、ポリロタキサンを含む樹脂材料を炭素繊維で強化した複合材を多用した。ボディを兼ねるモノコックフレームは、外皮部分とプラットフォームに加え隔壁を一体成形し、高強度・剛性と軽量性を両立しながら100kg以下の重量である。

このように様々な開発成果を盛り込んで省エネルギーを追求したItoPでは、車両の樹脂化を47パーセント(従来比4倍)に高めた結果、車重は約850キログラムとなり、従来と同じ素材で製作した場合の約4割減という軽量化を達成した。従来エンジン車に対し、製造時及び10万キロメートル走行時の温室効果ガス排出量が約11パーセント低減できるという試算結果が得られている。これは軽量化による燃費向上、必要蓄電容量の低減、軽量低燃費タイヤ実装の相乗効果によるものである。

06 擬ポリロタキサンナノシート

厚みが100nm以下であるのに対し、横サイズはその数百倍以上である異方的な形状の物質をナノシートと呼ぶ。標的物質に対して大面積で相互作用できることから、高接着性の構造材料として注目されている。ナノシート材料は無機鉱物結晶から構成されているのが一般的だが、最近我々は、安価かつ生体適合性を有する汎用性分子である*β*-シクロデキストリン(*β*-CD)と末端に電離基を有するpoly(ethylene oxide)-*b*-poly(propylene oxide)-*b*-poly(ethylene oxide) (PEO-PPO-PEO) トリブロックコポリマーを室温の水中で混合するだけで、自己組織的に単層剥離したナノシート構造体が形成されることを見出した(図5)[22]。環状分子である*β*-CDは軸分子であるPEO-PPO-PEO中のPPOセグメントのみを選択的に被覆し、包接錯体はその後*β*-CDの直径方向のみに結晶成長することで、擬ポリロタキサンナノシート(PPR-NS)が形成される。PPR-NSは低毒性・分解特性を有することから、ドラッグデリバリー材料や細胞培養基板のような生体材料への応用が期待されている。

07 おわりに

1839年のグッドイヤーによる高分子の化学架橋の発見以来、架橋点は高分子に固定されていることが常識であった。ところが、2000年になって初めて架橋点が自由に動く環動高分子材料が発見され、その後、架橋点の自由な動き特有の物性や構造が明らかになってきた。これらの物性は滑車効果と呼ばれ、架橋点の自由な動きが高分子鎖に働く張力や架橋点分布の不均一性を緩和するためであると考えられている。また、スライディング弾性やスライディング転移など、架橋されていない環状分子の配置エントロピーが環動高分子の力学物性に重要な役割を果たしていることが明らかになりつつある。環動ゲルの発見以来、様々な測定手段を用いて架橋点の自由な動きや滑車効果が検証されてきた。たとえば、力学特性や、伸長下の中性子あるいはX線を用いた小角散乱、準弾性光散乱などを用いて、環動ゲルが通常の化学ゲルとは大きく異なる特性を示すことが次々に明らかになり、現在では滑車効果の存在を支持する数多くの測定結果が得られている。

環動高分子材料は滑車効果とスライディング弾性により、従来の架橋点が固定された高分子材料とは異なる力学特性と構造を示す。このような特徴は、程度の差はあるものの、ゲルだけに限らず液体を含まないエラストマーにも及んでいる。その結果、ソフトコンタクトレンズなどのバイオマテリアル分野だけでなく、塗料や振動吸収材など工業材料の分野でも実用化に向けた研究開発が進んでいる。環動高分子材料が示す様々な物性の中には、我々の予想を超えるもの、まだ十分に説明できていないものも少なくない。今後、環動高分子材料の応用展開が急速に進む中で、基礎的にも高分子科学におけるこの新規分野をさらに発展させていきたいと考えている。

引用文献

1) J. Szejtli and T. Osa, Ed., in *Comprehensive Supramolecular Chemistry Vol. 3: Cyclodextrins*, Pergamon, Elsevier, Oxford, (1996).
2) H. Dodziuk, Ed., in *Cyclodextrins and Their Complexes: Chemistry, Analytical Methods, Applications*, Wiley-VCH, New York, (2006).
3) A. Harada and M. Kamachi, *Macromolecules*, **23**, 2821 - 2823(1990).
4) A. Harada, J. Li, and M. Kamachi, *Nature*, **356**, 325 - 327(1992).
5) A. Harada, A. Hashidzume, H. Yamaguchi, and Y. Takashima, *Chem. Rev.*, **109,** 5974–6023 (2009).
6) J. Araki and K. Ito, *Soft Matter*, **3,** 1456 – 1473 (2007).
7) Y. Okumura and K. Ito, *Adv. Mater.*, **13**, 485 -487 (2001).
8) P. G. de Gennes, *Physica A*, **271**, 231 -237 (1999).
9) 伊藤耕三：応用糖質科学、1(4)、313-317(2011).
10) J. Araki, C. Zhao, and K. Ito, *Macromolecules*, **38**, 7524 - 7527(2005).
11) L. Jiang et al., Chem. Mater., **30**, 15, 5013-5019 (2018).
12) 荒木潤、伊藤耕三：シクロデキストリンの応用技術，寺尾啓二・小宮山真編，シーエムシー出版，pp. 315 – 329 (2008).
13) K. Kato and K. Ito, *Macromolecules*, **43**, 8799 - 8804(2010).
14) K. Ito, *Polymer J.,* **39**, 488 – 499 (2007).
15) K. Ito, Poly. Jr., **44**, 38– 41(2011).
16) C. Liu et al., *ACS Macro Lett.*, **6**, 1409–1413 (2017).
17) Y. Noda, Y. Hayash, K. Ito, *J. Appl. Polym. Sci.*, **131**, 40509 (2014).
18) X. Li et al., *Polymer*, **55**, 4313–4323 (2014).
19) K. Kato, T. Mizusawa, H. Yokoyama, K. Ito, *J. Phy. Chem., Lett.*, **6**, 4043-4048 (2015).
20) A. B. Imran et al., *Nature Commun.*, **5**, 5124 (2014).
21) L. Jiang, K. Kato, K. Mayumi, H. Yokoyama, K. Ito, *ACS Macro Lett.*, **6**, 281-286 (2017).
22) S. Uenuma, R. Maeda, H. Yokoyama, K. Ito, *Chem. Commun.*, **55**, 4158–4161 (2019).

無限の可能性を秘めた シクロデキストリンの医学・薬学へのアプローチ

Approach of cyclodextrin of infinite possibilities to the medical and pharmaceutical

井上 裕 Yutaka Inoue, Ph.D. (Professor)
城西大学 薬学部　教授
Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Josai University,

キーワード ▪▪▪ 包接体、機能性栄養素、物理化学的性質

01 はじめに

シクロデキストリン(CD)は、グルコピラノースがα-1,4結合した構造をとり、結合数が6，7，8個のものがそれぞれα、β、γ-CDと呼ばれている[1]。CDは環の外側は親水性であるのに対し、空洞内は疎水性であるため、水溶液中では疎水性相互作用などにより種々の疎水性ゲスト分子を空洞内に封入し、包接複合体を形成することが知られている[2]。α-CDは難消化性、水溶性の特徴を有し、脂肪と包接体を形成し、排泄する効果が知られている。β-CDは難消化性、難水溶性の特徴を有し、芳香剤、消臭剤に使用されている。γ-CDは消化性、水溶性の特徴をもち、サプリメントに使用されている。作用としては、包接、徐放、安定化、バイオアベイラビリティの向上、粘度調整、マスキング、吸湿防止、粉末化および可溶化が挙げられる[3]。CDによって包接されたゲスト分子は、物理化学的性質が変化することで溶解性改善、光および熱への安定性向上、マスキング作用などが期待され、医薬品分野、食品分野および工業分野など、様々な分野に幅広く利用されている[3]。その中で、いくつかのCDの応用事例を紹介させて頂く。

02 抗真菌薬のシクロデキストリンへの応用

トリアゾール系抗真菌薬であるイトラコナゾール(図1)、真菌細胞膜の主成分であるエルゴステロールの生合成経路のシトクロムP450 (CYP)を阻害し、C-14脱メチル化反応を阻害することによって真菌膜機能を障害する。これにより、広い抗真菌スペクトル、高い抗真菌作用および優れた組織移行性を示す。アスペルギルス属やカンジダ属などの菌種に有効であり、真菌血症や呼吸器真菌症を始めとする、各種真菌症や口腔咽頭カンジダ症等に適応がある。

脂溶性のイトラコナゾールは、溶解補助剤であるヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン(HP-β-CD)の添加により、溶解性の改善(図2)が認められた[4]。真菌感染症例には、食事が困難な患者、口腔内病変や高齢のため嚥下障害を来し固形製剤が服用できない患者が存在する。そのため、イトラコナゾールの液剤化は、前述の患者においても服用しやすく、食事や併用薬に関係なく、安定した血中薬物濃度を得られるというメリットがある(図3)[5]。

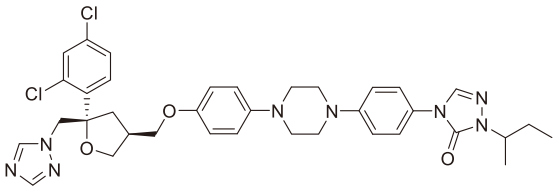

図1 イトラコナゾール

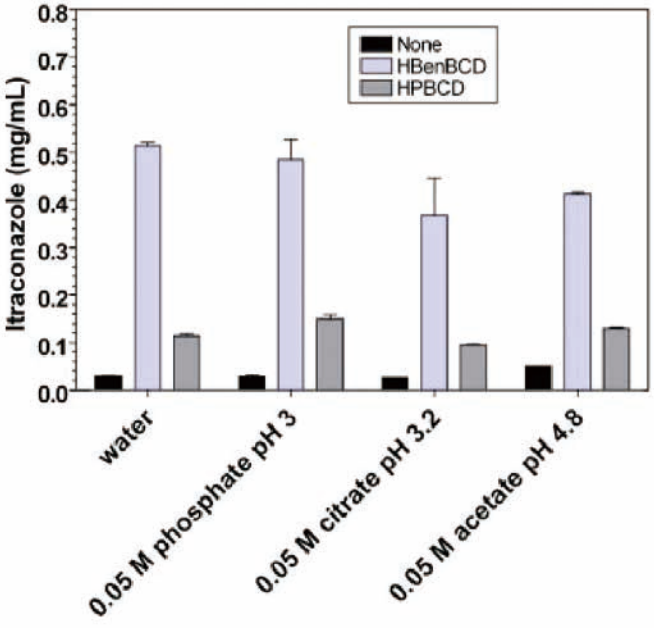

図2 各種CDによるイトラコナゾールの溶解性改善

		Cmax（ng/mL）	Tmax（h）	$t_{1/2}$（h）	AUC（ng·h/mL）
ITCZ-OS alone (n=18)	ITCZ	287.1 ± 123.4	1.3 ± 0.5	19.4 ± 6.9	2,215 ± 885
	OH-ITCZ	374.9 ± 61.1	1.8 ± 0.5	8.9 ± 2.7	5,531 ± 1,830
ITCZ-OS + Omeprazole (n=18)	ITCZ	246.3 ± 91.0	1.3 ± 0.5	19.2 ± 6.0	1,979 ± 643
	OH-ITCZ	372.9 ± 76.1	2.2 ± 1.0	8.4 ± 2.0	5,154 ± 1,409

Janssen Pharmaceutica data　　Mean ± S. D.

図3 イトラコナゾール薬物の血中薬物濃度推移（出典:ヤンセンファーマ株式会社）
胃酸分泌抑制薬であるオメプラゾール内服中の方にイトラコナゾールを併用しても併用薬に関係なく、安定した血中薬物濃度を得られる。

（解説:血中薬物濃度推移）静脈投与以外の方法で与えられた薬物の血中濃度は、一定時間後に最大濃度に達しその後減衰する。最高血中濃度（Cmax）は薬物投与後の最大血中濃度を、最高血中濃度到達時間（Tmax）は最大濃度に達するまでの時間、血中濃度半減期（T1/2）は薬物の血中濃度が半分になるまでの時間であり、これらは体内動態の指標となる。体循環血液中に入った薬物量は直接測定することができないので、血中濃度の時間経過を表した曲線（薬物血中濃度−時間曲線）と、横軸（時間軸）によって囲まれた部分の面積（AUC: area under the blood concentration time curve）が、体内に取り込まれた薬の量を示す指標として用いられる。経口投与などをした薬物の血中濃度−時間曲線は、時間0からTmaxまでの間に最大値Cmaxまで上昇し、その後は低下するという山形の曲線になる。生物学的利用速度は、製剤から薬物が吸収されて体循環血液中へ到達する速度のことであり、薬物の最高血中濃度（Cmax）と最高血中濃度到達時間（Tmax）が指標として利用されている。（出典:公益社団法人 日本薬学会HP）

ボリコナゾール（図4）は、イトラコナゾールと同様アゾール系深在性抗真菌症治療薬であり、剤形として静注用、錠剤およびドライシロップが挙げられる。真菌細胞において、膜成分であるエルゴステロールの生合成に必要なCYP依存性14-α-ステロールデメチラーゼを阻害することにより抗真菌作用を示す。カンジダ症やアスペルギルス症などの重症または難治性の真菌感染症治療薬であり、侵襲性真菌感染症の第一選択薬として知られている[6]。経口投与においても消化管吸収に優れ、バイオアベイラビリティも高い。しかしながら、空腹時と比較し、高脂肪食摂取後の投与では、吸収速度の遅延がみられるため、食間の投与が推奨されている。

ボリコナゾールの溶解性を高めるために、スルホブチル-β-シクロデキストリン(SBE-β-CD)が添加されたボリコナゾール静注用が開発された。以上のことから、剤形の選択肢が増え、患者に合わせた剤形を選択することが可能になった。
ボリコナゾールは、肝臓でCYP2C19によって代謝されるため、腎機能障害患者における用量調整の必要がない。SBE-β-CDは腎排泄型であり、糸球体ろ過により尿中に排泄される[7]。

03 シクロデキストリン誘導体の抗腫瘍活性の応用

各種シクロデキストリン類（CDs）の中でもβ-CDを用いた製剤として葉酸多分岐修飾メチル-β-CD（FA-M-β-CD）(図5)が挙げられる[8]。FA-M-β-CDは、腫瘍選択性を持つようにM-β-CDに葉酸を修飾した新規抗がん剤である。FA-M-β-CDは葉酸レセプター（FR-α）を介して細胞内に取り込まれ、FR-α高発現細胞選択的に顕著な抗腫瘍活性を示す。メリットとして、①葉酸およびCDともに臨床応用されており安全性が高い点、②分子サイズが小さく(5nm)、細胞膜透過性に優れており、③標的指向性を有するため、正常細胞への影響が少ない点、④腎癌、肺癌、子宮癌、脳腫瘍および骨髄癌等の多種類の癌に応用可能であり、⑤オートファジーを介した新規細胞死誘導機構を有しており、⑥合成が容易かつ安価である点が挙げられる。また、抗がん剤であるドキソルビシン(DOX)（図6）をFA-M-β-CDに包接または結合させることにより、抗腫瘍効果(図7)を示すことが報告されている[9]。
以上のことから、CDsは抗がん剤としての利用も期待できることが示唆された。

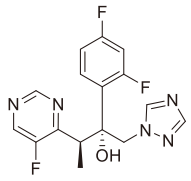

図4 ボリコナゾール

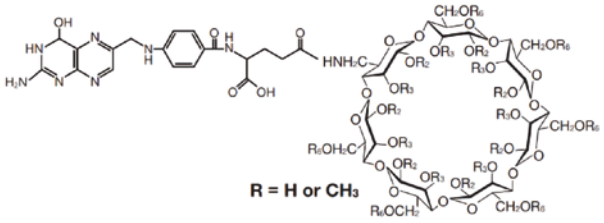

図5 葉酸多分岐修飾メチル-β-CD(FA-M-β-CD)

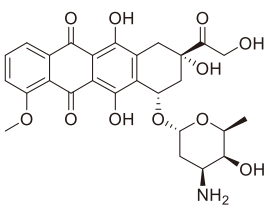

図6 ドキソルビシン(DOX)

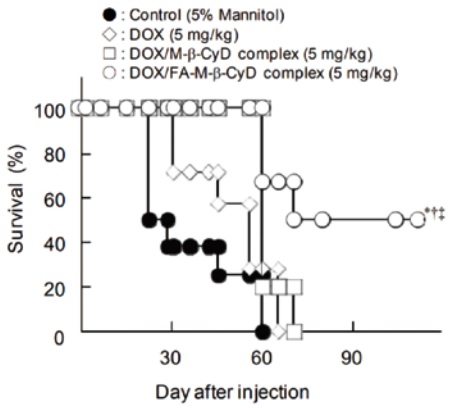

図7 ドキソルビシン(DOX)/FA-M-β-CD包接体の抗腫瘍効果

04 機能性栄養素へのシクロデキストリンの応用

ヒトケミカルは、ヒト生体内で産生され、生命体を維持するための機能性成分として働いている。ヒトは60兆個の細胞で成り立つが、その1つ1つの細胞のエネルギーはミトコンドリア内で、食事で摂取する糖質や脂質を取り込み、ATPとして産生されている。ヒトケミカルは、このミトコンドリアでのエネルギー産生に大きく関与している[10]。

ヒトケミカルは、エネルギーの素となる、糖質や脂質の取り込み、エネルギー産生のサポートおよびエネルギー産生で生じた活性酸素の除去など、ミトコンドリアの活動に不可欠な機能成分である。しかしながら、ヒトケミカルの生体内生産量は20歳を境に減少するため、漏れ出す活性酸素が増加することから、ヒトケミカルを積極的に補うことでエネルギー産生による疲労回復や活性酸素除去による老化防止につながり、健康的なエイジング(K-エイジング)が期待される。

CDは、ヒトケミカルの分野でも応用可能であり、当研究室では、CDの内部空洞に、ヒノキチオール(HT)、ダイゼイン(DDZ)およびコエンザイムQ10(CoQ10)などのゲスト分子の包接化およびバイオアベイラビリティの向上に成功している[11-13]。

05 香料成分へのシクロデキストリンの応用

HT(図8)はタイワンヒノキの揮発性成分中から発見された天然精油成分である。HTは、抗菌活性[14]を有するため、抗酸化作用[15]、メラニン抑制作用[16]などを利用した酸化防止剤および日焼け防止剤を目的とした化粧品開発などで使用されている。HTは、食品や化粧品などを含めて幅広い分野で用いられており、今後更なる利用が期待されている。そこで、CDを用いたHTの抗菌作用の向上を目指し、HT/CDsの固体分散体の抗菌活性の評価を行った。

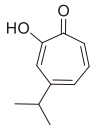

図8 ヒノキチオール(HT)

その結果、HT単独と比較して、振動型混合粉砕物群(図9)では経時的に細菌の増殖を抑制することが確認された(図10)。さらに、HT/CDs複合体は、γ-CD>α-CD>β-CDの順に早い増殖抑制を示したことから、CDと細胞膜との親和性の違いが細胞への到達の速さに起因したと考えられた。また、CDと包接複合体を形成することで、HTを細胞表面まで輸送するキャリアとして作用したことが推察された。以上のことから、CDを用いた際のHTの抗菌作用の向上が確認された。

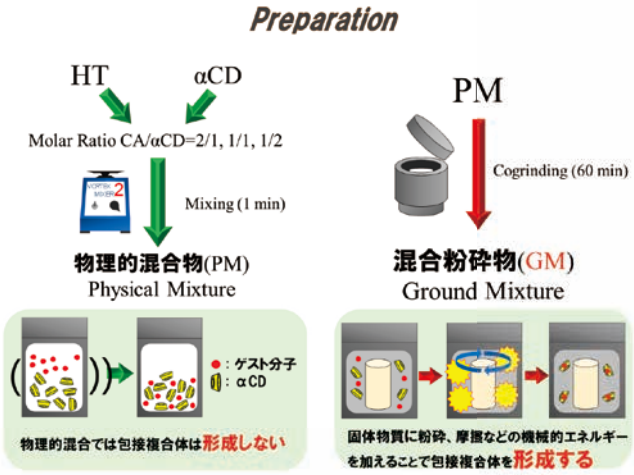

図9 HTとCDにおける物理的混合法と混合粉砕法

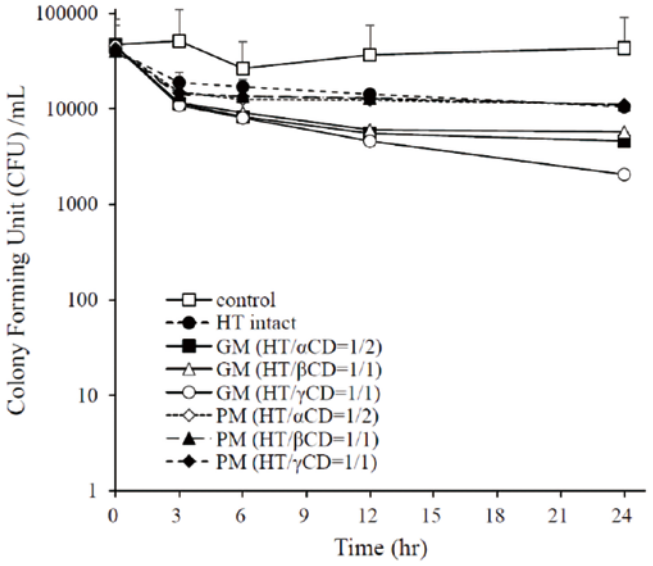

図10 HT/CDs複合体における細菌の増殖抑制

06 食品成分へのシクロデキストリンの応用

大豆イソフラボンにはアグリコン型イソフラボンのダイゼイン(DDZ)およびゲニステイン(GST)(図11)が存在する。DDZは、アテローム性動脈硬化性心血管疾患の予防に有用であると報告されている[17]。しかしながら、DDZは難水溶性であり、安定性およびバイオアベイラビリティが低いなどの問題点が挙げられるため、DDZの利用拡大には水への分散性の改善やバイオアベイラビリティの改善が必要になる。そこで、CDを用いて、DDZの更なる抗酸化力の向上を目指し、DDZ/CD固体分散体の抗酸化作用の評価を行った。

その結果、抗酸化力が高いことで知られているアスコルビン酸の50%阻害濃度(IC_{50})は4.79μg/mLであり、DDZの(IC_{50})は352.89μg/mLを示した。さらに、三次元型混合粉砕物(DDZ/γ-CD)の(IC_{50})は265.46μg/mLであり、DDZと比較して(IC_{50})

が優位な低値を示した(図12)。この理由として、DDZが包接複合体を形成することにより、CD空洞内に収められたDDZ分子の電子密度が上昇し、DDZ分子がプロトンをラジカルとして放出しやすくなったことに起因する2,2-ジフェニル-1-ピクリルヒド(DPPH)ラジカルの捕捉が考えられた[18]。

07 新規金属有機構造体へのシクロデキストリンの可能性

Metal Organic Frameworks (MOF)は、有機リガンドが金属とクラスターを形成する多孔質結晶の化合物として、ガス貯蔵、分離技術などへの応用が期待されている。しかしながら、MOFが含有する金属の種類によっては、毒性が生じることから、製剤開発の障害となっていた。これらの問題を解決する新規MOFとして、近年では、塩、アルコールおよびCDのみで調製された食用可能なCD-MOF-1が開発されている[19]。

CD-MOF-1は、活性炭やゼオライトに比べて高表面積を有し、CO_2に対して高い吸着機能を有することから、混合溶液の分離にも用いられている。CD-MOF-1は、6分子のCDの水酸基にカリウムが結合した構造を有するため、CDとは異なる新規キャリアとしての機能を示す可能性がある(図13)。また、安全、安価で容易に調製することができ、ヒトでの安全性に加え、環境に優しい化合物として、製剤開発での応用が期待されている。

CoQ10は、エネルギー産生の補酵素として機能するヒトケミカルである。主にミトコンドリア内膜の電子伝達系に関与し、ATPの合成効率を高める補酵素としてはたらく、生体に必要不可欠な成分である。しかしながら、CoQ10は難溶解性であるという問題があり、CoQ10の蒸留水への分散性を高める製剤応用が必要となる[20]。そこで、CoQ10/CD-MOF-1固体分散体を調製し、蒸留水中における溶解性の評価を行った。

その結果、24時間値において、CoQ10は0.61μg/mL、物理的混合物(Physical Mixture:PM)は0.57μg/mL、CoQ10/γ-CD complexは1.55μg/mL、溶媒留去物(EVP)は58.6μg/mLの溶解度を示した。興味深いことに、溶媒留去物は、CoQ10/γ-CD complexと比較して溶解性が高く、CoQ10/γ-CD complexにカリウムを添加した場合と比較しても高い溶解性を示した(図14)。以上のことから、EVPの溶解性向上には、CD-MOF-1との包接複合体形成が寄与していると考えられた。

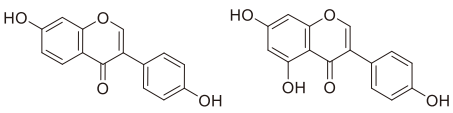

図11 大豆イソフラボン類

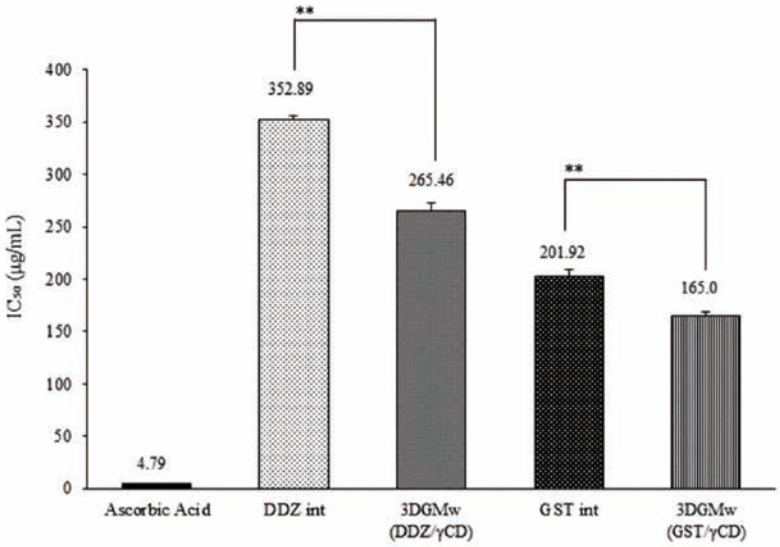

図12 DDZ/γCDおよびGST/γCD複合体における抗酸化効果(IC_{50})

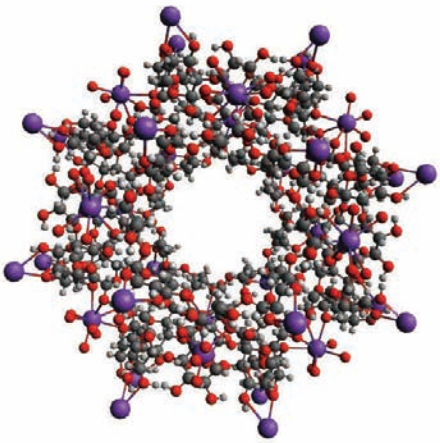

図13 CD-MOF-1
γ-CDとKOHの水溶液にメタノールを蒸気拡散すると、多孔質結晶である金属有機構造体(CD-MOF)が形成

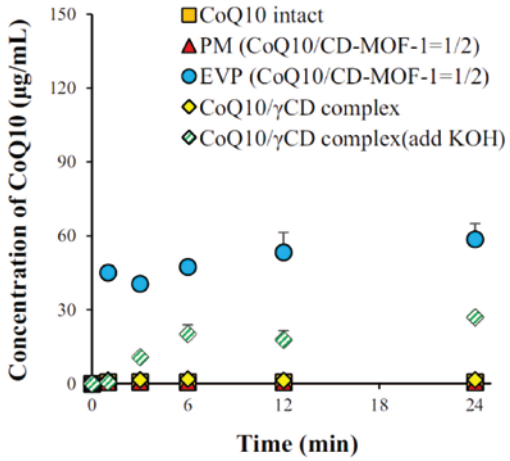

図14 CoQ10/CD-MOF-1複合体におけるCoQ10の溶解性

08 おわりに

現在、食品メーカーでは、第6の栄養素食物繊維であるヒトケミカルとしてのCDの有効利用が注目されている。また、製薬メーカーでは、CDの医薬品原薬(API)との包接化合物および製剤添加剤としての利用に加えて、CD自体をAPIとして利用する新たな展開へ移行している[21)]。
以上のことから、CDは医薬品や機能性健康食品の付加価値を高める素材であり、ヒトケミカルの分野においても健康寿命の延長に一翼を担うことが期待される。

無限の可能性を秘めたCDは、医薬品への応用利用のみならず、食品や香料としても利用されている。今後も、CDが多くの人に愛され、医薬品、医薬品原薬およびサプリメント等のさまざまな用途に活用され、人々の豊かな暮らしに貢献できることを願っている。

これまでにシクロデキストリン研究にご指導、ご鞭撻をいただきました多くの諸先生方に感謝いたします。また、日頃より研究への多くご支援、ご協力をいただいております、城西大学に深謝申し上げます。最後に、シクロデキストリン研究に携わっていただいた研究室の卒業生・在学生にお礼申し上げます。

参考文献

1) Loftsson T, Duchêne D. Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. *Int J Pharm*. **329**(1-2), 1-11(2007).
2) Brewster ME, Loftsson T.Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. *Adv. Drug. Deliv.Rev.* **59**, 645-666(2007).
3) Ogawa N, Higashi K, Nagase H, Endo T, Moribe K, Loftsson T, Yamamoto K, Ueda H. Effects of cogrinding with β-cyclodextrin on the solid state fentanyl. *J. Pharm. Sci.* **99**, 5019-5029(2010).
4) Charles M. Buchanan, Norma L. Buchanan, Kevin J. Edgar, Sandra Klein, James L. Little, Michael G. Ramsey, Karen M. Ruble, Vincent J. Wacher, Michael F. Wempe, Pharmacokinetics of itraconazole after intravenous and oral dosing of itraconazole - cyclodextrin formulations. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **96**(11), 3100-3116(2007).
5) 丁宗鉄、Itraconazole 内用液の単回および反復投与における薬物動態、*日本化学療法学会誌* **54**(S-1), 6-17(2020).
6) LilyAnn Jeu, Frank J. Piacenti, Aleksandr G. Lyakhovetskiy, Horatio B. Fung. Voriconazole. *Clinical Therapeutics*. **25**(5), 1321-1381(2003).
7) Nolan Wood, Voriconazole の薬物動態 *日本化学療法学会雑誌* **53**(S-2), 16-23(2005).
8) Motoyama K., Higashi T., Arima H. 葉酸修飾メチル - β - シクロデキストリンを用いたがん療 , Drug Delivery System. **28**(2), 99-108(2013).
9) Motoyama K., Onodera R., Okamatsu A., Higashi T., Kariya R., Okada S., Arima H. Potential use of the complex of doxorubicin with folate-conjugated methyl- β -cyclodextrin for tumor-selective cancer chemotherapy. J Drug Target. **22**(3), 211-219(2014).
10) Gao X, Nishimura K, Hirayama F, Arima H, Uekama K, Schmid G, Terao K, Nakata D, Fukumi H. Enhanced dissolution and oral bioavailability of coenzyme Q10 in dogs obtained by inclusion complexation with γ -cyclodextrin. *AJPS*. **1**(2), 95-102 (2016).
11) Suzuki R. Approach to the preparation and external antimicrobial formulations of hinokitiol solid dispersion. *Josai University Repository of Academia.* (2019).
12) Inoue Y, Osada M, Murata I, Kobata K, Kanamoto I. Evaluation of Solubility Characteristics of a Hybrid Complex of Components of Soy. *ACS Omega*. **4**(5), 8632-8640(2019).
13) Inoue Y, Nanri A, Murata I, Kanamoto I. Characterization of Inclusion Complex of Coenzyme Q10 with the New Carrier CD-MOF-1 Prepared by Solvent Evaporation. *AAPS PharmSciTech*. **19**(7),3048-3056(2018).
14) Oblak EZ, Bolstad ES, Ononye SN, Priestley ND, Hadden MK, Wright DL.The furan route to tropolones: probing the antiproliferative effects of β -thujaplicin analogs. *Org Biomol Chem.***10**, 8597-8604(2012).
15) Koufaki M, Theodorou E, Alexi X, Nikoloudaki F, Alexis M.N. Synthesis of tropolone derivatives and evaluation of their in vitro neuroprotective activity. *Eur. J. Med. Chem.***45**, 1107-1112(2010).
16) Choi Y.G, Bae E.J, Kim D.S, Park S.H, Kwon S.B, Na J.I, Park K.C.Differential regulation of melanosomal proteins after hinokitiol treatment. *J. Dermatol. Sci*. **43**, 181-188(2006).
17) Pan W, Ikeda K, Takebe M, Yamori Y. Genistein, Daidzein and Glycitein Inhibit Growth and DNA Synthesis of Aortic Smooth Muscle Cells from Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive Rats. *J Nutr.***131**(4), 1154-1158(2001).
18) Jianbin C, Hongfang W, Wei Z, Min Z, Liwei, Z. Investigation of the inclusion behavior of chlorogenic acid with hydroxypropyl- β -cyclodextrin. *Biol Macromol.* **50**, 277-282(2012).
19) Smaldone RA, Forgan RS, Furukawa H, Gassensmith JJ, Slawin AMZ, Yaghi OM. Metalorganic frameworks from edible natural products. *Angew Chemie - Int Ed*. **49**(46), 8630-8634(2010).
20) Miyamoto S, Kawai A, Higuchi S, Nishi Y, Tanimoto T, Uekaji Y, et al. Structural studies of coenzyme Q10 inclusion complex with gamma-cyclodextrin using chemical analyses and molecular modeling. *Chem-Bio Informatics J*. **9**, 1-11(2009).
21) Higashi T. Motoyama K. Arima H. Cyclodextrin-based drug carriers for low molecular weight drugs, proteins, and nucleic acids. *Methods Pharmacol. Toxicol*. **39**, 27-45(2016).

シクロデキストリン包接錯体を利用する生命科学研究：COの生理機能解明へのアプローチ

Life science research using cyclodextrin inclusion complexes: An approach to elucidation of physiological function of CO.

北岸 宏亮 Hiroaki Kitagishi, Ph.D. (Professor)
同志社大学 理工学部 機能分子・生命化学科　教授
Department of Molecular Chemistry and Biochemistry, Doshisha University

キーワード ▪▪▪ シクロデキストリン, ガスバイオロジー, ヘム

01 はじめに

シクロデキストリン(CD)は、水中や生体内においてさまざまな疎水性物質と包接錯体を形成する特徴が、一般には知られている。しかしCDの面白い点は、それだけではない。ゲスト分子をCD空洞内の疎水環境に隔離することにより、水中では通常見られない特異な性質を発現させることがある。我々の研究グループでは、水酸基をO-メチル基で置換したメチル化CDを用いて、ポルフィリン類をミクロな疎水場に隔離した包接錯体に着目し、この包接錯体の性質を活かす応用研究を行ってきた。この包接錯体は、ヘモグロビンなどの天然ヘムタンパク質が補酵素ヘムを疎水ポケットに取り込む様式と非常に似通っている。すなわちCDはヘムタンパク質のタンパク質部分を模倣する代替物としてのはたらきを示すのである。

本稿では、メチル化CDとポルフィリンから構成される人工ヘムタンパク質モデル化合物を利用した、著者らの最新の研究を紹介する。CDが単なるホスト分子としてではなく、CD/ポルフィリン包接錯体が生命研究の最前線において非常に役に立つはたらきをしていることを紹介したい。なお研究開始当初から、現在のような展望があったわけではなく、行き当たりばったりしながらも何とか活路を見出して、生命科学領域へと足を踏み入れた次第である。このような筆者らの研究経緯は、決して一般的に広く役立つものではないかもしれないが、どこか一部分でも読者らに研究のヒントになるような部分があれば、とても幸いである。

02 生体における一酸化炭素の機能と役割

一酸化炭素(CO)は火災事故や練炭自殺の際に登場する悪名高き有毒ガスである一方、生命科学分野においては、内因性シグナルガスとして認知されている。生体内においてCOは、赤血球から漏出した補因子ヘムが細胞内に取り込まれ、酵素ヘムオキシゲナーゼ(HO)により代謝分解される際に、ビリベルディン、鉄イオンとともに、産生する(図1)。成人男性(体重60kgと仮定)では1日あたり約10mLのCOが産生すると言われている。内因性COのうち約8割は細胞外へと拡散し、赤血球のヘモグロビン(Hb)に配位して、CO-Hbとして血中を循環する。Hbに配位したCOは徐々に解離し、肺から呼気として排出される。残り2割のCOは細胞内においてヘムタンパク質などの金属イオン補因子に作用することで、様々なシグナル伝達を担う。特に炎症性サイトカインの抑制による抗炎症作用がよく知られている。最近ではCOを除

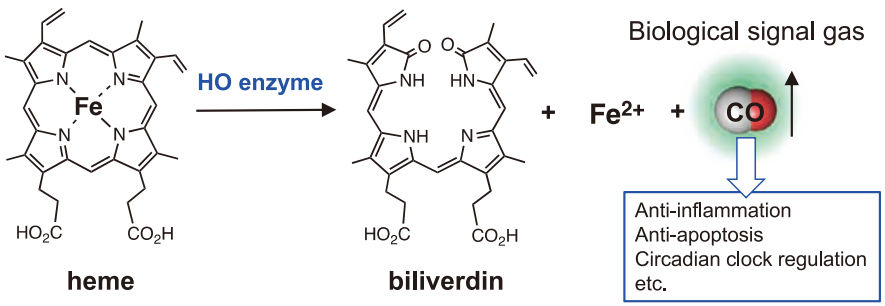

図1 ヘムの分解による内因性COの産生: 内因性COはシグナルガスとして機能する

放する化合物(CO-releasing molecules, CORMs)を用いて微量のCOを生体投与する試みが盛んであり、CORMsによる血管拡張作用、抗炎症作用、細胞死抑制作用など、細胞を保護する効果が数多く報告されている[1]。

COのように有毒ガスでありながらも内因性ガスとしてシグナル機能を有する類似のガス分子として、一酸化窒素(NO)と硫化水素(H_2S)が挙げられる。これらのガス分子は、それぞれの合成酵素の発現をノックアウト/ノックダウンすることにより、それぞれの生理機能に関する検討が進められてきた。一方COの場合、生体内では図1に示すヘム代謝の副産物として産生するため、従来の遺伝子工学的な手法では、ヘム代謝に影響を与えずCOのみを選択的に除去することは不可能であり、そのため生理機能の研究が困難であった。生体内COの役割をクリアに検討するためには、高いCO親和性を示す選択的スカベンジャーの開発が必須であった。

03 シクロデキストリン/ポルフィリン超分子錯体

CDの水酸基をO-メチル化した2,3,6-tri-O-methyl-β-CD(TMe-β-CD)は、水中でアニオン性テトラアリールポルフィリンであるTPPSと非常に安定な2:1包接錯体を形成する(図2)[2]。この包接錯体は、水中における安定性が異常に高く、低濃度条件(マイクロモル濃度以下)でも定量的に錯体を形成する。この両者の分子間相互作用における結合定数は大きすぎて正確には決定されていない。最近、同位体ラベル化した^{13}C-TMe-β-CDを用いた実験により、TPPSとTMe-β-CDが動物の血液中などの夾雑物が非常に多い生体環境においても、選択的に両者が相互作用して安定な包接錯体を形成することが、NMR測定により示された[3]。生体内環境ではたらく人工ホスト・ゲストペアの中で、これほど強く相互作用する系は極めて珍しい。したがって、本稿で紹介する利用以外でも、たとえばアビジン・ビオチンペアのように、生体内ホスト・ゲストペアの素材として、様々な応用可能性を秘めている超分子系である。

包接錯体の異常な安定性に加えて、TMe-β-CDは水中においてTPPSをミクロな疎水環境に隔離する。通常、ポルフィリン配位子は酸性水溶液中において内部窒素がプロトン化されて溶液が赤紫色から緑色に変色する。一方、TMe-β-CD存在下においてTPPSは、強酸性水溶液(pH 1以下)においても変色しない[4]。すなわち、TMe-β-CDはポルフィリン環を包接することでプロトン、すなわち水分子の近接を著しく妨げていることを示している。このようなポルフィリン環周囲に対するミクロな強い疎水場の形成は、天然ヘムタンパク質に見られるヘムポケットの環境と類似している。

我々の研究室では、ポルフィリン-TMe-β-CD包接錯体と天然ヘムタンパク質との間に「疎水場形成」という共通項を見出し、この包接錯体をベースとしたヘムタンパク質モデル錯体の構築に取り組んできた (図3)[5]。水溶性TPPS鉄(II)錯体(FeTPPS)と、ピ

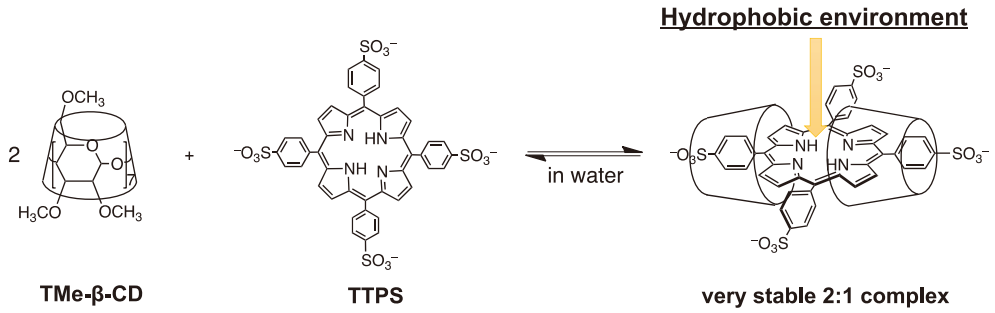

図2 メチル化CDと水溶性ポルフィリンからなる2:1包接錯体

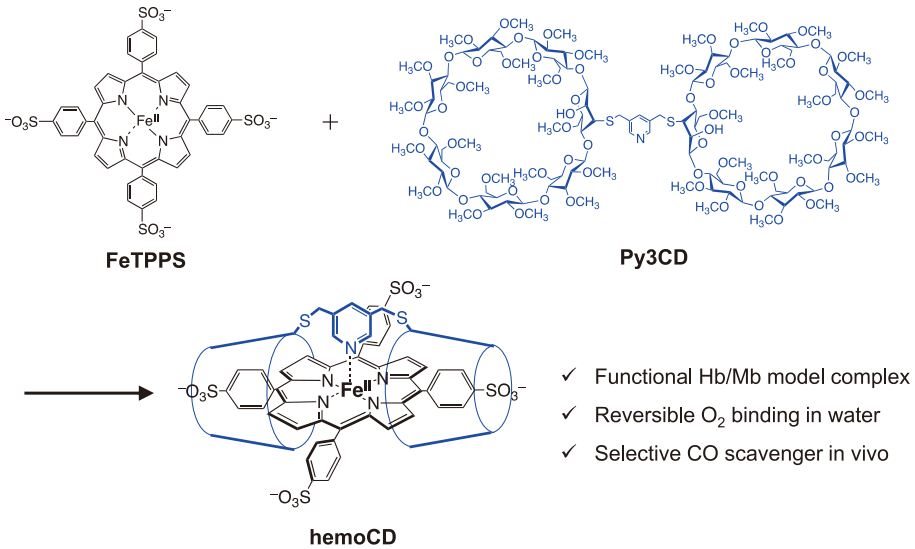

図3 水溶性ポルフィリン鉄錯体(FeTPPS)とメチル化CD二量体(Py3CD)とから成る水溶性ヘムタンパク質モデル錯体(hemoCD)

リジン環を連結部に導入したメチル化CD二量体(Py3CD)からなる包接錯体を、我々はhemoCDと名付けた。hemoCDにおいて鉄(II)ポルフィリンは強固な疎水場に隔離されるため、中心鉄(II)に酸素が結合した際にも、鉄(III)への自動酸化反応が著しく抑えられる。酸素存在下での鉄(II)から鉄(III)への自動酸化には、周囲の水分子からの求核攻撃が関与するためである。「水中にありながら、水分子を排除するミクロな疎水環境」の実現により、hemoCDは水中・室温で可逆的な酸素の吸脱着を実現した。Hbと同等の可逆的酸素結合能を示す水溶性モデル化合物は、hemoCDの他に報告されておらず、現在のところ生体内でも使える唯一の人工Hbモデル錯体である。

我々はまずhemoCDを人工酸素運搬体の素材としての利用価値があるものと考えた。hemoCDの酸素親和性は、赤血球中のHbと近く、肺で酸素を受け取り、末端組織で酸素を放出するのにちょうど良い[6]。一方、分子サイズが小さいために、hemoCDそのものでは腎臓による糸球体ろ過を受けやすく、すぐさま尿として体外に排出される。しかしマレイミド基で化学修飾したhemoCD誘導体(Mal-hemoCD, 図4)を用いることで、血液中で血清アルブミンに担持させることに成功し、血中滞留性の問題もすでに解決済みである[7]。現在、Hb代替物としてのhemoCDの利用についての研究をすすめている。

04 動物体内における内因性COの選択的除去による生理機能探索

筆者らは当初、hemoCDを人工酸素運搬体として利用する目的で動物体内へ導入する実験を開始した。その結果、hemoCDをラット静脈に注射すると、30分程度でhemoCD成分を含む

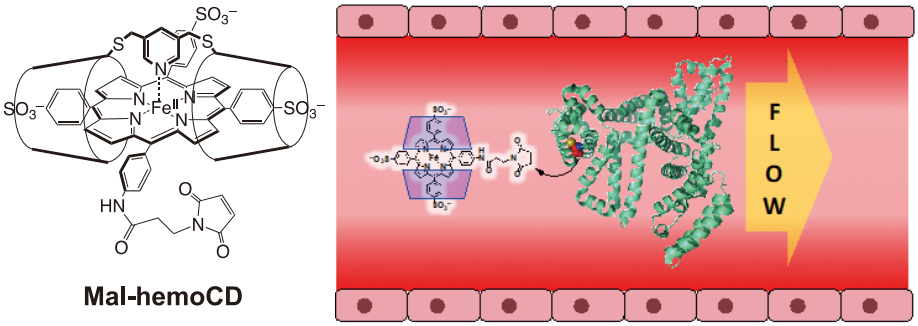

図4 マレイミド修飾hemoCD (Mal-hemoCD)は,血液中に大量に含まれる血清アルブミンの表面システイン残基と選択的に結合することで,長期血中滞在を可能にする

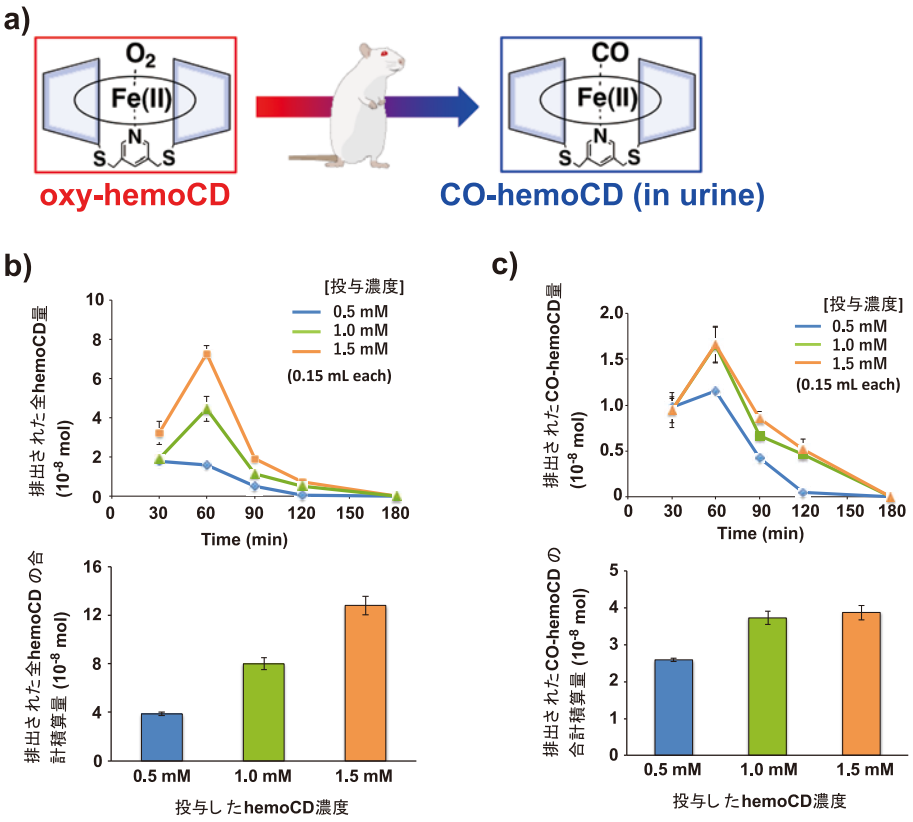

図5 (a) hemoCDを動物に投与すると,COを捕捉して尿として体外排出される, (b) 尿中に排出された全hemoCD量の投与濃度依存性 (上段:時間変化, 下段:積算量), (c) 尿中に排出されたCO-hemoCD量の投与濃度依存性 (上段:時間変化, 下段:積算量),

尿が排出され、その中にCOを配位したhemoCDが含まれていた[8]。hemoCDは、Hbと比べて同等の酸素親和性を示す一方、Hbよりも約100倍高いCO親和性を示す。これまで報告されている生体内ヘムタンパク質の中でも、最もCO親和性が高い。したがって、静脈に投与されたhemoCDは、血液中に存在するCO-HbからCOを奪い、小さな分子サイズのために定量的に尿中へと排出されることが判明した(図5a)。尿の吸収スペクトルの形状から、排出されたhemoCD量、およびその中に含まれるCO-hemoCD量を算出した。その結果、投与するhemoCD濃度を高くすると、hemoCD排出量が多くなる一方(図5b)、COはある一定量以上排出されないことが判明した(図5c)。このCO量は、推定されている哺乳類の内因性CO量とよく一致している。したがって、hemoCDの投与により、ほぼ全ての内因性CO量が体外へと排出されたことになり、遺伝子ノックアウト法を用いずとも、内因性COを欠乏させた動物検体を容易に作成できることがわかった。

内因性COを一時的に除去したマウスに対して、基礎的な検査(血圧測定、血液検査)を行ったが、特に目立った変化は観測されなかった。一方、血液中のCO-Hb量を観測すると、興味深いことに、hemoCD投与後に一旦減少したCO-Hbが、短時間のうちに正常値まで回復していた(図6a)[9]。これは、内因性CO欠乏の情報が体内で伝達することにより、恒常性を維持しようとするフィードバック型CO産生機構の存在を示している(図6c)。実際に、COを産生する酵素HO-1 (HOのアイソザイムの一種, HOには誘導型のHO-1と定常型のHO-2がよく知られている)の発現が、内因性COの除去により強く誘導されていることがわかった(図6b)。内因性COの恒常性が維持されるしくみの存在は、これまで知られておらず、我々のポルフィリン/CD包接錯体の利用により、はじめてひとつの生理現象が明らかとなった。我々は、恒常的に循環するCO-HbからのCO除去が生体内ヘム濃度のバランスを一時的に崩すことになり、余剰ヘム放出が亢進されることでHOが誘導され、一定量COが補充されるというメカニズムを提案している。

05 COが関与する概日リズム調節機構

高等生物および一部の原核生物の細胞には地球の自転周期に合わせた遺伝子発現リズムが備わっており、これを概日リズムと呼ぶ。この細胞内システムには*Per*や*Cry*といった時計遺伝子

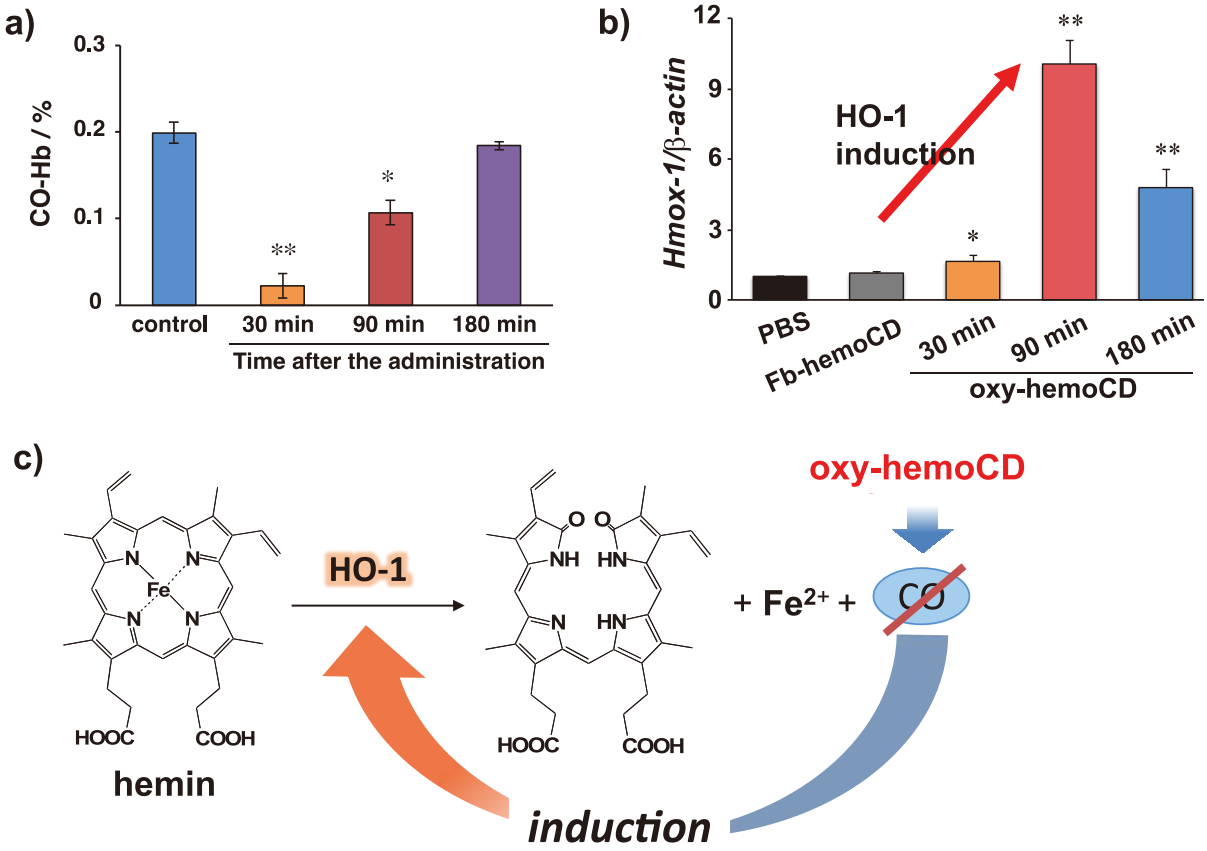

図6 hemoCDによるCO除去が恒常性維持のためのフィードバック型CO産生機構を誘発する, (a) hemoCD投与によるCO-Hbの減少および復元, (b) hemoCD投与によるヘムオキシゲナーゼ(HO)-1遺伝子の発現誘導, (c) フィードバック型CO産生の簡易スキーム

群が関与する。*Per*および*Cry*遺伝子から発現したタンパク質は、自らの発現を制御する転写因子であるBMAL1/CLOCKあるいはBMAL1/NPAS2に作用し、転写を抑制する(図7)。PER/CRY二量体は細胞内で徐々に分解され、再び転写が活性化する。このような24時間周期の転写/翻訳フィードバックループにおいて、中核的な役割をなす転写因子CLOCKおよびNPAS2は、ともにヘムを結合する性質を持ち、さらに結合したヘムにはCOが配位する。そのため内因性COには、概日リズムを調節するシグナル因子としての役割があると考えられてきた。しかしながら、それを直接的に証明した実験系は報告されていなかった。

筆者らはhemoCDをつかってマウス体内の内因性COを枯渇させ、その際の時計遺伝子群の発現リズムを調べることにより、内因性COが概日リズム調節に関わっている直接的な証拠を掴むことを試みた[10]。COを捕捉しないコントロール試薬として、中心に鉄イオンを持たないフリーベース(Fb)ポルフィリンであるFb-hemoCD (図8)を使用した。肝臓内に発現する時計遺伝子の発現レベルを調査した結果、CO除去による遺伝子発現リズムの撹乱が明確に示された。内因性COの恒常的な産生が時計遺伝子のコントロールに必要であることを示した初めての実験的証拠である。しかしCOによる遺伝子発現制御メカニズムは複雑である。上述のCLOCK, NPAS2以外でもBMAL1の発現をコントロールする転写因子REVにもヘムが結合することが知られており、そのヘムにCOが結合することで機能が変化するのかどうかは不明である。内因性COは、ヘムの代謝分解により常時産生し、産生されたCOはヘムに結合することでシグナル伝達を行う。このヘム/COの両者のバランスが概日リズムの制御に重要であることは疑いようがなく、COと概日リズムの関係性について深く理解するためには、今後、ヘムとCOのクロストーク性について十分に考慮しながら研究を進めていく必要があると考えている。

06 細胞内COへのアプローチ

COの細胞内シグナル機能を解明するためには、細胞内に存在するCOを直接捕捉する必要がある。しかしながら一般的にCDは細胞膜透過性に乏しく、hemoCDも例外ではない。そこで

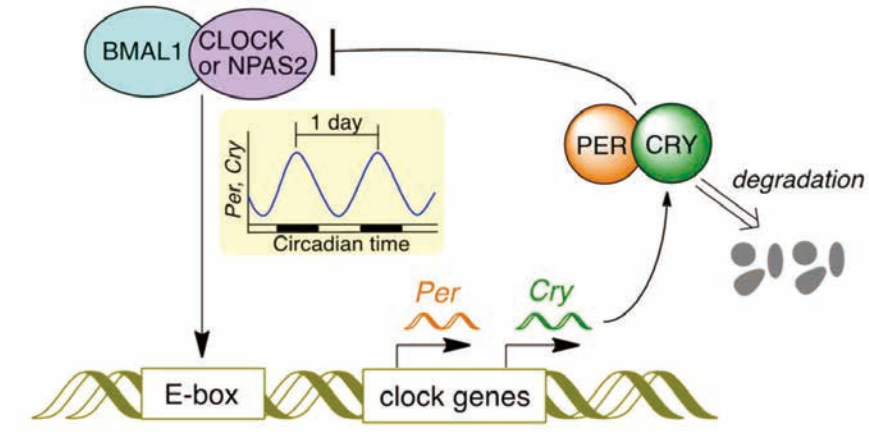

図7 細胞内概日リズムにおけるコア転写-翻訳フィードバックループ，時計遺伝子Per/Cryは約24時間周期で発現の増減リズムを示す

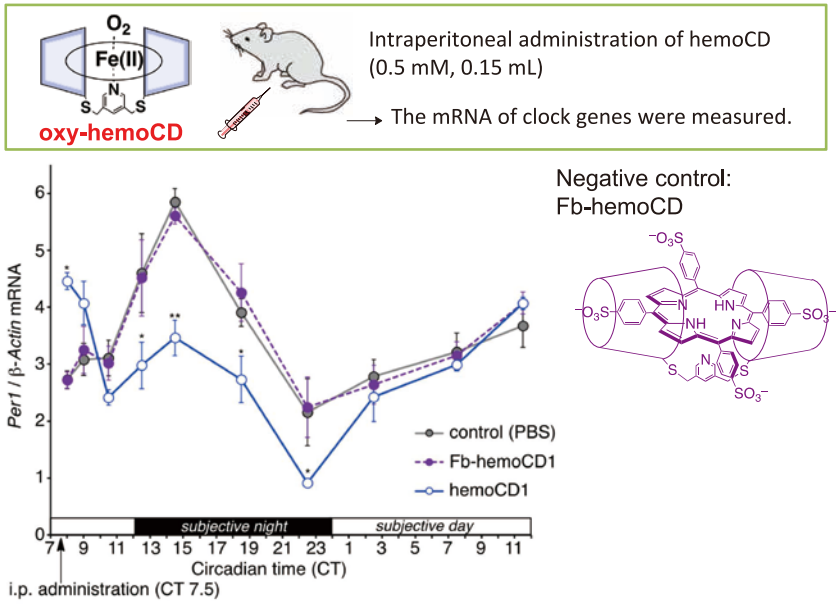

図8 hemoCD投与による時計遺伝子Per1の発現リズム撹乱

我々はCD包接錯体を細胞内に届けるため、細胞膜透過性ペプチドとしてオクタアルギニン(R8)を利用した(図9)[11,12]。ペプチドを修飾するにあたり、ポルフィリン側およびCD側それぞれにペプチドを修飾する研究を行った。CDにアルギニンを修飾したR8-CDは、ゲスト分子を包接したまま細胞内へと移行する性質を示した。このような膜透過性ホスト分子は、ポルフィリン以外の様々なゲスト分子に対するデリバリーツールとして有用であると考えられ、現在その応用研究に取り組んでいる[11]。特にR8-CDは抗体などの巨大タンパク質を細胞内にデリバリーするツールとして利用できることが最近になり分かってきている[12]。一方、細胞内CO捕捉剤として、ポルフィリン側にペプチド修飾したR8-hemoCDが良い機能を示した[13]。R8-hemoCDを細胞内に導入すると、内因性CO捕捉効果により、細胞内活性酸素種(ROS)の濃度が優位に上昇することが明らかとなった。したがって、内因性COの欠乏は酸化ストレスの原因であるROSの産生を誘発する。この結果は、これまでに提唱されていたCOによる抗酸化ストレス効果と矛盾しない。R8-hemoCDを用いて細胞内COを枯渇させた状態の細胞を用いて、未知のCOの生理機能探索を進めている。

さらに我々は細胞や組織に含まれる微量COをhemoCDを用いて正確に定量するアッセイを考案した(図10)[13]。hemoCDはCO結合により吸収スペクトルが鋭敏に変化し、さらに一度結合したCOの解離速度は極めて遅く、実質的に解離しない。hemoCD水溶液を細胞あるいは組織に添加し、そのまま超音波破砕処理することにより、細胞や組織から遊離したCOをhemoCDが捕捉する。その後、遠心分離およびフィルター処理によって透明なろ液を得て、そのスペクトルを測定する。すると細胞からは150–250pmol/10^6cellsほど内因性COが遊離してくることが判明した(図10)。これまで内因性COの計測は主にガスクロマトグラフィーが用いられてきたが、ガスクロマトグ

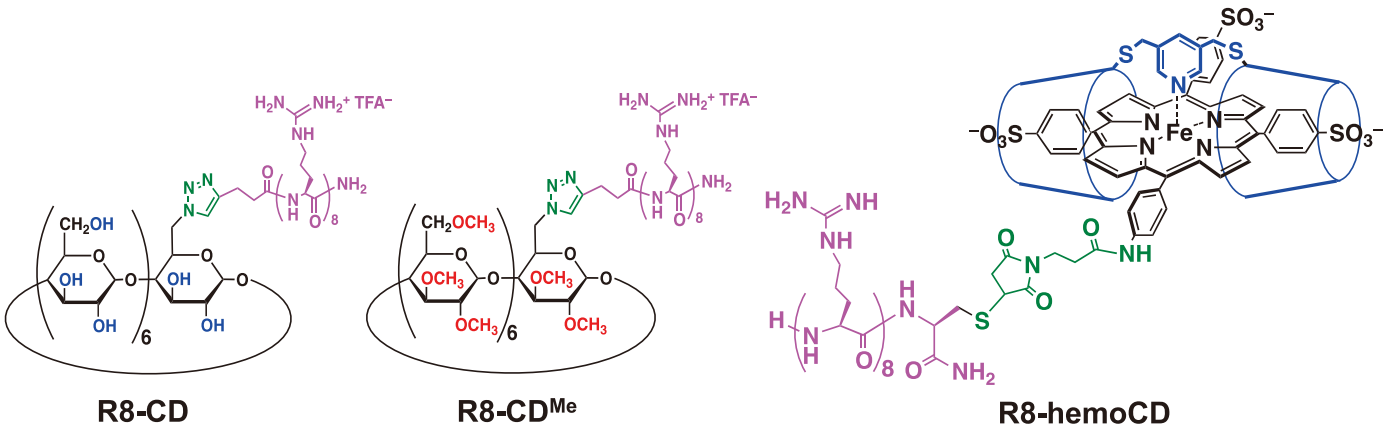

図9 細胞膜透過ペプチドを修飾したシクロデキストリン誘導体(R8-CDおよびR8-CDMe)およびhemoCD誘導体 (R8-hemoCD)

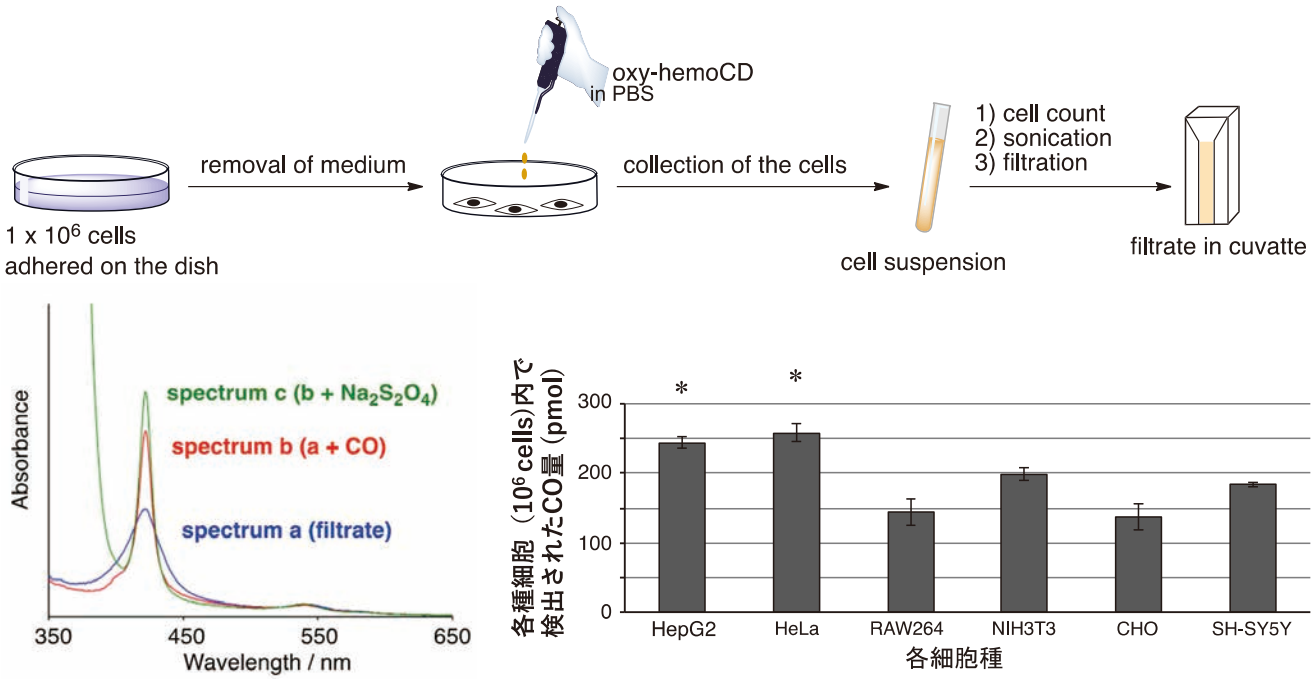

図10 hemoCDを微量CO検出試薬として用い，細胞組織に含まれる内因性COを定量した

ラフィーでは、細胞や組織から気相に遊離したCOを定量するため、実際のCO量よりも少なく見積もってしまう。我々の開発したhemoCDによるCO定量アッセイは、試薬と分光器さえあれば簡単かつもれなく正確にCO量を計測することができる。このアッセイを用いて、現在は細胞活動とCO量の関係性を調べる研究に展開している。さらにCO中毒の際に体内のどの組織へどの程度のCOが拡散するのかについて、脳組織も含めて検討しており、将来的には医学的に役に立つデータを収集することを視野に入れている。さらにhemoCDを用いた体内有毒COの除去に関する研究についても、現在注力している。

07 おわりに

本稿では、シクロデキストリンに包接されたポルフィリン鉄錯体の特性、水溶性ヘムタンパク質モデルとしての機能、およびそれを利用した生命科学領域への展開について、筆者らの現状を紹介した。天然に存在するタンパク質の機能を人工的に合成された化合物により模倣するバイオミメティックケミストリーは、本来、天然酵素の反応メカニズム解析や、役に立つ触媒を開発する目的の学問領域である。一方、筆者らは、水中で機能するヘムタンパク質モデルを独自に構築し、それをさらに生体内にて機能させるというユニークなアプローチで研究を展開してきた。天然のタンパク質といくら同じような機能を示すモデル錯体でも、全く同じ性質を示すことはまずない。どこかは異なる性質を示すはずである。こういった化合物を生体に作用させると、思いがけず興味深い生体内反応が観測され、それが生命科学研究の発展に大きく貢献することもあるだろう。筆者らは、そのような現象を発見する幸運に恵まれたこともあり、これまでに有効な手段のなかったCOの選択的除去法を用いてCOの生命科学に足を踏み入れた。これからの生命科学領域は、化学合成された分子ツールを有効に活用することにより、遺伝子工学の限界を超えた研究が可能になると考えている。COに関して、今後も大学および企業との共同研究により益々学術・社会に役立つ研究へと発展させたいと考えている。

本研究の実施にあたり、同志社大学 加納 航治 名誉教授、同志社女子大学薬学部 根木 滋 准教授、ならびに同志社大学理工学部・機能有機化学研究室の学生諸氏からの多大なるご協力を賜りました。この場を借りて厚く御礼申し上げます。

参考文献

1) R. Motterlini, L. E. Otterbein, *Nat. Rev. Drug Discov.* **9**(9), 728–743 (2010).
2) K. Kano, R. Nishiyabu, T. Asada, Y. Kuroda, *J. Am. Chem. Soc.* **124**(33), 9937–9944 (2002).
3) H. Kitagishi, M. Saito, Q. Mao, A. Kiriyama, S. Negi, K. Kano, *Chem. Asian J.* **14**(19), 3320–3328 (2019).
4) K. Kano, N. Tanaka, H. Minamizono, Y. Kawakita, *Chem. Lett.* 925–926 (1996).
5) K. Kano, H. Kitagishi, M. Kodera, S. Hirota, *Angew. Chem. Int. Ed.* **44**(3), 435–438 (2005).
6) K. Kano, H. Kitagishi, C. Dagallier, M. Kodera, T. Matsuo, T. Hayashi, Y. Hisaeda, S. Hirota, *Inorg. Chem.* **45**(11), 4448–4460 (2006).
7) H. Kitagishi, H. Kawasaki, K. Kano, *Chem. Asian J.* **10**(8), 1768–1775 (2015).
8) H. Kitagishi, S. Negi, A. Kiriyama, A. Honbo, Y. Sugiura, A. T. Kawaguchi, K. Kano, *Angew. Chem. Int. Ed.* **49**(7), 1312–1315 (2010).
9) H. Kitagishi, S. Minegishi, A. Yumura, S. Negi, S. Taketani, Y. Amagase, Y. Mizukawa, T. Urushidani, Y. Sugiura, K. Kano, *J. Am. Chem. Soc.* **138**(16), 5417–5425 (2016).
10) S. Minegishi, I. Sagami, S. Negi, K. Kano, H. Kitagishi, *Sci. Rep.* **8**, 11996 (2018).
11) H. Kitagishi, F. Chai, S. Negi, Y. Sugiura, K. Kano, *Chem. Commun.* **51**(12), 2421–2424 (2015).
12) H. Kitagishi, M. Jiromaru, N. Hasegawa, *ACS. Appl. Bio Mater.* **3**, 4902–4911 (2020).
13) S. Minegishi, A. Yumura, H. Miyoshi, S. Negi, S. Taketani, R. Motterlini, R. Foresti, K. Kano, H. Kitagishi, *J. Am. Chem. Soc.* **139**(16), 5984–5991 (2017).

キーワード解説

シクロデキストリン

デンプンにある種の酵素を作用させて得られる環状オリゴ糖であり、グルコースがα-1,4結合で環状に連なった化合物で、天然にも存在する。グルコースが6、7、8個環状に結合したものを、それぞれα-、β-、γ-シクロデキストリンと呼び、天然には、さらにたくさんのグルコースが環状に結合した大環状のシクロデキストリンも存在している。(日本シクロデキストリン学会HP 参照)

ヒトケミカル

ヒトの生体内で作られている生体を維持するための機能性成分。
ヒトの体は60兆個の細胞から作られており、その細胞1つ1つにミトコンドリアが100～3000個存在する。食事で摂取する糖や脂肪などのエネルギー源は、ミトコンドリアでATPというエネルギーに変換され、細胞はすべて、ATPを利用している。ATP生産に係わっている物質として、CoQ10、R-αリポ酸、L-カルニチンがあり、三大ヒトケミカルとして知られている。(株式会社シクロケムHP 参照)

ドラッグデリバリーシステム

ドラッグデリバリーシステム(drug delivery system:DDS)は、投与方法(薬物輸送)を工夫することで体内の薬物分布を制御し、作用部位への薬物効果を最大限に高め、最適な治療を目的とした技術。
シクロデキストリンは、溶解性・吸収性の改善や安定化などの特性を有しており、すでに難水溶性薬物やタンパク質性薬物の放出制御用担体へ応用されているものもあり、生体適合性や機能性を高めたシクロデキストリン誘導体の研究開発が活発に行われている。

ロタキサンとポリロタキサン

ロタキサンは、環状分子(リング)の穴と棒状分子(軸)が貫通し、軸の両末端にストッパーとなる嵩高い部位を結合させ、リングが軸から抜けなくなった超分子。1個の軸と複数個のリングからロタキサンが形成された超分子はポリロタキサンと呼ばれている。
シクロデキストリンや化学修飾シクロデキストリンをリングとして利用し、軸としてポリマーをもちいた超分子錯体の機能性や構造(物性)について活発に研究が行われている。

包接が広げる、ナノテクノロジーの世界

α-,β-,γ-シクロデキストリン　　**化学修飾シクロデキストリン**

※無断転載および複製を禁じます。

関東化学株式会社
〒103-0022 東京都中央区日本橋室町2丁目2番1号
室町東三井ビルディング
電話(03)6214-1090　FAX(03)3241-1047
HP　http://www.kanto.co.jp/times/
E-mail : chemiti-info@gms.kanto.co.jp　編集責任者：木原 温子

2020年10月発行