

## 40年の時をへて

岐阜大学応用生物科学部 木曾 真

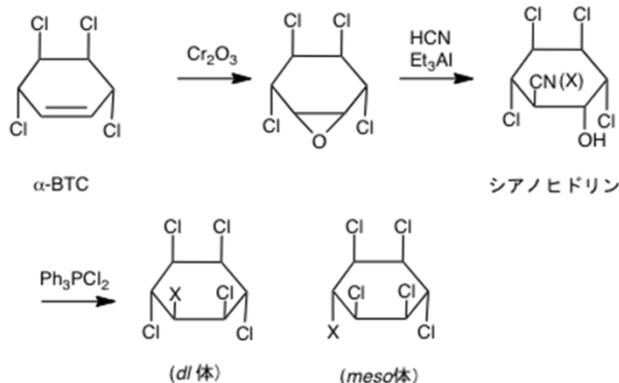
定年を機に、日本農芸化学会誌「化学と生物」(Vol.51, No.1, 2013, pp52-63)に、岐阜大学における糖鎖研究の背景とそれを支えた人々、学会や社会との関わりなどを含め、<sup>※</sup>長谷川明先生と筆者・研究室を取り巻く糖質科学研究の歴史的断片の幾つかを時間軸に沿ってたどってみたが、今回 *JSCR Newsletter* 編集委員からのご依頼を受け、なるべく重複しないように、あらためて私が研究者として歩み始めた頃にも思いを馳せながら、来し方を振り返ることにした。

思えば40年前、生まれ育った京都の町を離れ、山紫水明の地・岐阜(飛騨と美濃の大自然と文化は、その特徴から飛山濃水と呼ばれる)に赴任したのは、1975(昭50)年の春のこと。その前年、ようやく博士論文にめどが立った頃、恩師・中島稔教授から「きみ、岐阜大学の長谷川君のところへ行かないか」と肩を叩かれた。すでに結婚していたこともあり、申し出を快諾した。同門の大先輩でもある長谷川明先生は、京大大学院農学研究所(農芸化学専攻、農薬化学講座)でベンゼングライコールやアミノサイクリトール類の有機合成化学的研究に従事し、1968年カナマイシンAの全合成を達成された(*Tetrahedron Lett.*, 5,623-627,1968)。その後母校岐阜大学の農芸化学科に新設された植物成分化学講座の助教授、米国NIHへの留学をへて、1974年学部最年少教授(当時39歳)に昇進された。その翌年に私が助手として赴任した(図1)。

京大大学院時代の私は、糖とは正反対の性質を持つ $\gamma$ -BHC(Lindane)類縁体の有機合成、構造解析、物性評価と殺虫(神経興奮)活性、そしてHansch-Fujita法による直線的自由エネルギー関係による構造活性相関研究に取り組んだ。当時、凄まじいエネルギーをつぎ込んで合成実験に没頭したことを思い出す。徹夜をした朝はきまって生協のカレーに生卵をかけて暖かいみそ汁をすするのが定番であった。Hansch-Fujita法の指導を直々に受けた藤田稔夫先生は、当時中島研の助教授として広く薬学の分野で活躍中であった。ベンゼンの四塩化物( $\alpha$ -BTC, 図2)を無水クロム酸で酸化して得られるエポキシドを置換基Xで開環後、生じた水酸基を予め調製したTriphenylphosphine dichlorideで立体の反転を伴って塩素化すると $\gamma$ -BHC類縁体(*dl*体)が得られる。簡単に見えるが危険な反応の連続で、その最たるものはエポキシドのHydrocyanationでした。疎水性も嵩高さも塩素原子に最も近いメチル基を導入したくて挑戦したが、リチウムやマグネシウムなどのアルカリ金属試薬ではうまく行かず、最後の指南役となったのは、有機合成化学協会誌(Vol.26, No.1, 1968, pp2-22)に掲載された「総説・ハイドロサイアネーション」(永田亘・吉岡美鶴)であった。HCNはZieglerの方法で調製したが、反応試薬であるHCN-AlEt<sub>3</sub> complexは、工学部の熊田研へ出向き、消火器3本並べてもらって実験操作のトレーニングを受けた



図1. 長谷川明先生(40)と筆者(27)(上野良光先生撮影、1975)

図2.  $\gamma$ -BHC (Lindane)とその類縁体

X = H, F, Cl ( $\gamma$ -BHC), Br, I, OCH<sub>3</sub>, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, SCH<sub>3</sub>, CN, CONH<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>H, CH<sub>2</sub>OH, CH<sub>3</sub> etc.

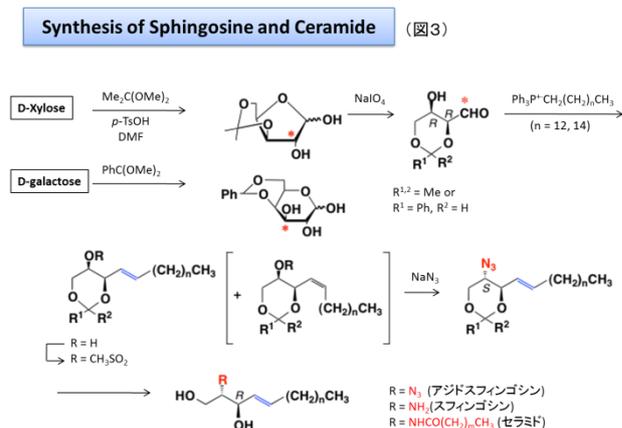
後に調製した。どんな危険な実験も熱意と馬力で押し切ったが、今だったらとても学生さんに勧められない。まさに猪突猛進、大学院に入ったばかりで怖いもの知らずとはこういうのを言うんでしょうね。結果は大成功！得られたシアノヒドリンを収率85%で結晶化した。この時の感激は忘れられない。実光穰氏(元・住友化学宝塚研究所)、田中啓司氏(元・三共アグロ)らと協力して、それまで誰もできなかった $\gamma$ -BHC類縁体の合成に成功(*Agric. Biol. Chem.*, 39, 443-461, 1975)、それらを電気生理学研究に供した。Hansch-Fujita法による構造活性相関の結果、 $\log(1/LD_{50}) = 3.315 - 0.024[\Delta V_w(dl)]^2 - 0.112 \Delta V_w(dl) + 1.292rw(meso)$  ( $n = 27$ ,  $s = 0.329$ ,  $r = 0.933$ ,  $F = 51.20$ )を導きだした(*Pestic. Biochem. Physiol.*, 8, 33-43, 1978)。すなわち、*dl*体では置換基のvan der Waals volume( $V_w$ , 嵩高さ)とパラボリックな相関があり、*meso*体ではvan der Waals radius( $rw$ , 半径)と正に相関している。当時、 $\gamma$ -BHCがシナプス前膜に作用して神経興奮を増強することは知られていたが、その分子機構は不明であった。現在では、抑制性神経伝達を司る $\gamma$ -aminobutyric acid(GABA)のtype-A receptors(GABA<sub>A</sub>Rs)に結合してその機能を阻害し、

結果として神経興奮を誘導することが解っている。ヒトの GABA<sub>A</sub>R の構造に関する最近の論文 (*Nature*, 512, 270-275, 2014) では、extracellular domain に 1 サブユニットあたり 3 個 (pentamer で合計 15 個) の N-結合型糖鎖を有し、アゴニストの感受性に重要な影響を与えることが報告されている。一方  $\gamma$ -BHC のような疎水性アンタゴニストは、昆虫の GABA<sub>A</sub>R の transmembrane domain の疎水性ポケットに結合し、noncompetitively に殺虫活性を発現する。

岐阜に来て研究対象は変わったが、今も「合成と生理活性」が私の研究の中心にある。以来、生理活性糖質を研究の友として 40 年が過ぎた。古代インド哲学では、人間の一生を学生 (がくしょう) 期、家住 (かじゅう) 期、林住 (りんじゅう) 期、遊行 (ゆぎょう) 期の四つに分けて考えたそうですが、私の場合、学生期を京都で、結婚して家住期を岐阜で過ごし、そして今や林住期から遊行期に入ろうとしている。つい最近まで知らなかったのだが、「さすらいの仏教語」(玄侑宗久著, 中公新書) によれば、「砂糖」を世界で最初に創ったのはインドで、その言葉もサンスクリットの「シャルカラ (śarkara)」あるいはパーリ語の「サッカラー (sakkharā)」に由来するらしい。インドにはすでに紀元前 2 千年に砂糖が使われていた記録があり、これが主にアラビア人によってペルシャ、エジプト、中国へと伝わったという。英語の「シュガー (sugar)」も「サッカリン (saccharin)」もインドの言語から派生したものらしい。さても思いがけず、昨年一月にインドのバンガロールで開催された 27th International Carbohydrate Symposium (Jan.12-17, 2014) でプレナリーレクチャーをする機会を戴いた。ICS 最後の講演と心得「Synthetic Gangliosides and Glycan Probes for Cell-Material Integration」と題して、岐阜大学でのガングリオシド合成のスタートから最近の進歩までを、若かりし頃の思い出やその時々培われた人や物との出会い、不思議な縁を思い起こしながら足早に紹介した。

何事も始めが肝心である。岐阜大に赴任して最初に取り組んだ実験は、一般にアセトネーションと呼ばれる 2,2-ジアルコキシプロパンと糖類との反応で、得られた成果 (*Carbohydr. Res.*, 52, 95-101, 1976) を 8th International Symposium on Carbohydrate Chemistry (Aug.16-20, 1976, Kyoto) で口頭発表した。この国際会議は後に International Carbohydrate Symposium (ICS) と呼ばれるようになったが、私にとって初めての ICS デビューで、忘れることができない。得られた 3,5-O-isopropylidene-D-xylofuranose が、のちにスフィンゴシン・セラミド合成 (図 3) の出発原料になった。本当に不思議な縁である。

駆け出しの糖質化学者として筆者の人生を決定づけたアメリカ留学にも沢山の懐かしい思い出が蘇る。長谷川先生のご助言に従い、Laurens Anderson, Stephen Hanessian, Derek Horton の 3 先生に application letter を送った。待つこと数ヶ月、一番早く OK の返事を戴いた L. Anderson 先生 (Wisconsin 大・生化学) に決め、1977 年 4 月に女房と長女 (1 歳 7 ヶ月) を連れて渡米した。先生は夕



M. Kiso, A. Nakamura, J. Nakamura, Y. Tomita, & A. Hasegawa, *J. Carbohydr. Chem.*, 5, 335-340, 1986; *Carbohydr. Res.*, 158, 101-111, 1986.

方になると一旦自転車でお帰りになり、夕食後再び車で研究室に戻られるので、私もそれに合わせて夜中の零時を過ぎるまで実験した。実験ノート 8 冊、約 50 種の新規化合物を合成した。公私ともに失敗の連続であったけれど、毎日がハラハラ・どきどき、本当に楽しく充実したアメリカ生活でした。これも家族が一緒にいてくれたからこそできた事で、心から感謝している。最近人の名前が出てこないのに、当時の自宅電話番号(608-271-8561)は今でもすらすらと出てくる(笑い)。異国の地でも、強い意志の力と責任感を持ってすれば何とかなることを身を以て体験した。当時の *Biochemistry* には活性型ビタミン D<sub>3</sub> の研究で有名な DeLuca 先生がおられた。年間何人もの高名な生化学者が講演に来られ、また大学院生が主体的に発表するセミナーも良い勉強になった。最先端に行く生化学の話題が満載で、私のその後の研究・教育に決定的な影響を与えた。Anderson 先生は、この 5 月で 95 歳を迎えられる。

1978 年末に米国留学から帰国後ガングリオシドについて勉強中に、内貴正治先生(北大獣医)から「シアル酸の免疫学」(代謝 Vol.16, No.5, 1979, 特集 シアル酸)の別冊を送って頂いた。大急ぎで医学部の図書館に行ってこの特集号を見てみると、内貴先生の他に「新展開するガングリオシド」(永井克孝, 安藤進, 岩森正男)、「シアロ糖蛋白質」(山科郁男)、「シアリダーゼ」(齊藤政樹)、「シアル酸の病態生化学」(鈴木義之)、「癌とシアル酸」(落合滋子)そして最後に目で見えるページ「生体膜とシアル酸」(背山洋右)と続いていた。シアル酸・ガングリオシドの合成を始めようと目論んでいた矢先の筆者にとっては、目から鱗が落ちる出会いであった。以来、幾つものハードルを乗り越えて、1986 年にスフィンゴシン・セラミドの合成法 (図 3) を開発した。この年「細胞工学」(Vol.5, No.7, 1986, pp564-676)に、永井克孝らによる特集「糖脂質と細胞生物学-糖脂質研究の拓く新しい世界-」が掲載された。特に、辻崇一による「生理活性糖脂質」GQ1b は、エベレスト登頂に匹敵する魅惑的な合成ターゲットとなった。1988 年には、長谷川明先生の陣頭指揮のもと、蟹江治くん(現・東海大学)、村瀬孝利くん(現・花王)、亀山昭彦くん(現・産総研)たち院生を中心に、インドからのポスドク K.P.R.Kartha さんを加えてシアロ糖鎖の新構築法を開発し (図 4、5)、系統的なガング

リオシド合成(*Carbohydrates-Synthetic Methods and Applications in Medicinal Chemistry*, eds. by H. Ogura, A. Hasegawa & T. Suami, Kodansha/VCH, 1992, pp243-266)に歩を進めた。中でも特記すべきは、亀山らによるシアリルルイス X(sLex) ガングリオシドの世界初全合成の成功である(*Carbohydr. Res.*, 209, c1-c4, 1991. 被引用数 147 回)。この成果は、早速 15th International Carbohydrate Symposium (ICS Yokohama, Aug.12-17, 1990)で口頭発表され、炎症と癌転移という当時世界で最も注目を集めた白血球接着分子セレクトイン(selectin)の糖鎖リガンド解明に大きな貢献をした。

時を同じくして、1989(平成元)年に永井克孝先生(当時、東京都臨床医学総合研究所)を代表としてスタートした「ガングリオシド糖鎖情報の解読と細胞機能の制御」は、オール日本のガングリオシド研究者を結集して 1990(平成2)年度の重点領域研究に採択された。一方 1991(平成3)年、待ちに待った博士課程(岐阜大学大学院連合農学研究所)が設置され、登山に例えれば、エベレスト登頂を目指すベースキャンプがようやく整った。この頃、永井先生の監修で発行された「特集: バイオシグナルとしての糖鎖」(現代化学, No.248, 1991, 図6)に、“シアロ糖鎖の化学合成: 分子レベルでの機能解明と医学生物学への応用を目指して”と題して、私達が目指す研究の vision と当時得られた最新の成果を発表した。このジャーナルが生協の書店にならんだ時、売れ行きを心配しながらも何やら嬉しくて少々エキサイトしていたことを思い出す。また「糖鎖工学」(小川智也, 木幡陽, 渋谷直人, 鈴木旺, 永井克孝編)(産業調査会バイオテクノロジー情報センター, 1992)が4省庁の後援で出版された。それから3年後、長谷川隊はガングリオシド合成の最高峰 GQ1b の初登頂に成功した(*Carbohydr. Res.*, 260, c1-c6, 1994)。奇しくもこの年に、「糖鎖の科学入門」(培風館; 岩瀬仁勇, 大西正健, 平林義雄, 山本憲二との共著)を上梓する事ができ、その後の教育・研究の支えとなった。

さて手前味噌ながら私が共著者となっている原著論文の被引用回数(2015年1月現在)ベスト10を見てみると、[1] C. Foxall et al., *J. Cell Biol.*, 117, 895-902, 1992 (709 回); [2] A. Takada et al., *Cancer Res.*, 53, 354-361, 1993 (508 回); [3] S. Yamada et al., *Nature*, 444, 378-382, 2006 (483 回); [4] Y. Suzuki et al., *J. Virol.*, 74, 11825-11831, 2000 (367 回); [5] D. Tyrrell et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88, 10372-10376, 1991(318 回); [6] L.J.-S. Yang et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93, 814-818, 1996 (249 回); [7] C. Mitsuoka et al., *J. Biol. Chem.*, 273, 11225-11233, 1998 (232 回); [8] R.A. Childs et al., *Nat. Biotechnol.*, 27, 797-799, 2009 (222 回); [9] B.K. Brandley et al., *Glycobiology*, 3, 633-641, 1993 (193 回); [10] O. Kanie et al., *J. Carbohydr. Chem.*, 7, 501-506, 1988 (156 回)となっている。論文 1, 2, 5, 7, 9 は sLex と selectin (白血球交通、炎症と癌)に関するもの、論文 3, 4, 8 はインフルエンザウイルスの認識特異性と感染機構に関するもの、論文 6 は

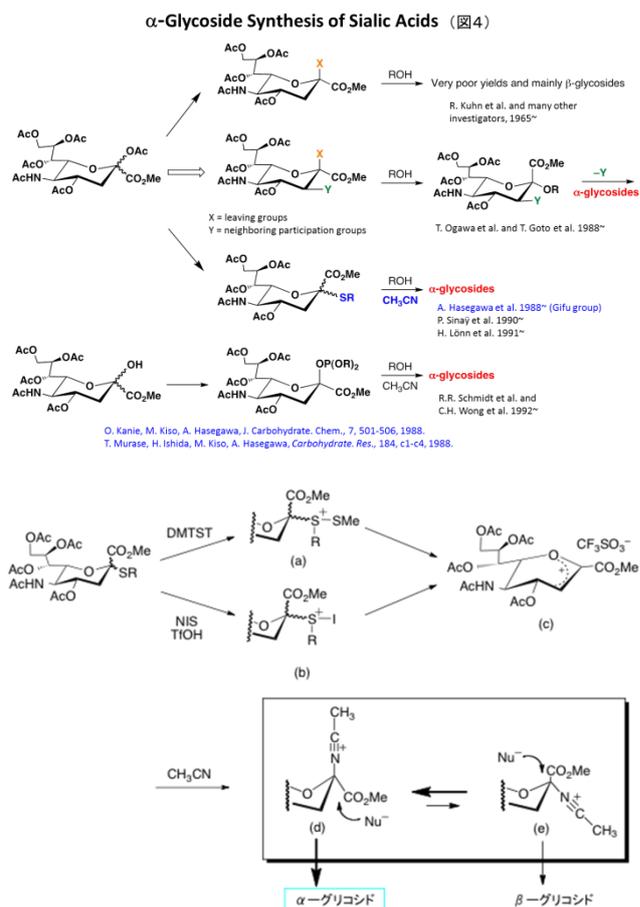


図5. シアル酸のα-立体選択的グリコシル化の提案機構

myelin-associated glycoprotein(MA G, siglec-4)のリガンド活性に関するもの、論文 10 はシアル酸の S-グリコシドをドナーとする新規シアリル化法(図5)に関するものであり、いずれもシアロ糖鎖とガングリオシドが主役である。2000年に開始した基盤(A)は、上記ベスト[6]論文

PNAS, 1996(R.L.S chnaar らとの共同研究)およびベスト[7]論文 JBC, 1998(神奈木玲児らとの共同研究)を基に提案したもので、MAG および L-selectin の内在性/高親和性リガンドの構造を明らかにした。2003年からの CREST(糖鎖の生物機能の解明と利用技術、領域代表: 谷口直之)では感染と共生をテーマに創薬に向けた基礎研究を推進し、さらに 2005年からは、新しい複合糖質プローブの創製と高次生命機能の制御を目的に基盤(S)がスタートした。へパリンに親和性を有する HappyY probe はここから生まれた(T. Yabe et al., *J. Biol. Chem.*, 286, 12397-12406, 2011; *Analytical*



図6

Biochem., 472, 1-6, 2015)。ICS とは別に、シアル酸やシアロ糖鎖をメインテーマとして Sialoglyco 国際会議が偶数年に開催されている。鈴木康夫(当時、静岡県大)、北島健(名古屋大)らと共に組織した "Sialoglycoscience 2006"(Aug.27-30, 2006, Mishima, Japan, 図 7)は、私の研究人生の中で最も輝いた時であったと思う(ご苦勞をおかけしたスタッフの皆さんには感謝、感謝です!ご支援ありがとうございました)。

光陰矢の如し、其の年の6月に還暦を迎えようとしていた2007年の3月、京大から一本の電話がかかってきた。世界トップレベル研究拠点プログラム「京都大学物質-細胞統合システム拠点」(WPI-iCeMS)への参画要請であった。

体力に不安を抱えながら60歳で新たな山に登る一大決心をさせたのは、主任研究者(PI)を兼務することによって、岐阜大学(応用生物科学部)をサテライト設置機関として糖鎖研究を継続できること、先端融合研究推進のための基盤整備とグローバルな若手研究者育成が可能になることであった。9月に採択が決まったからしばらくは胃の痛くなるような産みの苦しみを味わったが、大学とスタッフの皆さんのご支援で、ようやく2009年にサテライトラボを開設した。この登山道では、石田秀治(2004年から教授)・安藤弘宗(iCeMS 准教授)・今村章宏(当時 iCeMS 助教)らが率いる若手研究チームが、多彩なシアロ糖鎖とガングリオシドの新しい実践的合成法の開発に成功し、その後の先導的研究を牽引した。例えば、カセットアプローチによるガングリオシド合成の最高峰 GQ1b への新登頂ルート開拓(A. Imamura et al., *J. Org. Chem.*, 74, 3009-3023, 2009)、1,5-ラクタム化を鍵反応とする  $\alpha(2,8)$ オリゴシアル酸の合成(H. Tanaka et al., *Tetrahedron Lett.*, 50, 4478-4481, 2009)、環状グルコシルセラミドをカセットにした GM<sub>3</sub>, GM<sub>2</sub>, GM<sub>1</sub>, GalNAc-GD1a ガングリオシドの系統的合成(K. Fujikawa et al., *Tetrahedron Lett.*, 51, 1126-1130, 2010, *Chem. Eur. J.*, 17, 5641-5651, 2011)、ハイブリッド型ガングリオシド(S. Nakashima et al., *Chem. Eur. J.*, 17, 588-597, 2011, *Chem. Asian J.*, 7, 1041-1051, 2012)、棘皮動物由来ガングリオシド(Y. Iwayama et al., *Chem. Eur. J.*, 15, 4637-4648, 2009,



図7

*Chem. Commun.*, 47, 9726-9728, 2011; H. Tamai et al., *Angew. Chem. Int. Ed.*, 50, 2330-2333, 2011, *Org. Lett.*, 14, 6342-6345, 2012)の全合成と生理活性研究など、若手研究者の活躍が何よりも嬉しくて、日々生き甲斐を感じてきた。そしてその成果は、これらの研究を中心になって先導してくれた安藤弘宗さんの「農芸化学奨励賞」に結実した(2012年度受賞講演要旨集 pp17-19; H. Ando, *Biosci. Biotech. Biochem.*, 79, 343-346, 2015)。iCeMS 岐阜大学サテライト(図 8)では、生物学的に重要な糖鎖および機能化した糖鎖プローブを多様に擁するライコバンクの創生に注力しながら、幹細胞科学、1分子細胞生物物理学、薬品動態制御学などの学際共同研究を展開してきた。プロジェクトはあと2年を残すのみとなったが、花開いた研究成果が結実して大きな果実に成長するのを心待ちにしている。

図8

この40年を振り返るとき、本当に沢山の皆様のお世話になった。多くの学生さんが命をかけて「ものづくり」に励んでくれた。いつしか放下着(ほうげじゃく)を道しるべに歩んできたが、教育(知の継承)と研究(知の創造)の両輪がうまく機能したお陰で、33名の博士を含めラボ = ベースキャンプから多くの若手研究者が巣立って行った。これはひとえにスタッフの皆さんのご支援のお陰であり、あらためて深く感謝します。最後に私の思い出の写真1枚(図9)を添付します。ありがとうございました。



図9. 春のテニス大会(岐阜県百年公園にて、2012.5.30)