安定・持続型ビタミン C の発明から 大学発ベンチャーの立ち上げと保健機能性食品の誕生までの道程

山本 格

要約：ビタミン C (アスコルビン酸) は、酸素および活性酸素あるいは、その反応物質と容易に化学反応(酸化還元反応)を起こし、相手を還元することがその役割である。人類は 1200 ~ 800 万年前に進化の過程でその合成能を失い、ビタミン C を外部から摂取しなければ生命維持ができなくなった。その結果、人類は酸素に弱いビタミン C を如何に酸化分解されていない状態のままで摂取し機能を発揮させるかという切実で大きな課題と向き合ってきた。1989 年、我々は安定・持続型のビタミン C 誘導体 (AA-2G) の創製に成功した。AA-2G は 1994 年には、医薬部外品(美白化粧品)として、2004 年には食品添加物として厚生労働省によりその使用が許可されるに至った。さらに、1999 年には親油性ビタミン C 誘導体(6-Acyl-AA-2G)の合成に成功し、現在その工業的生産法と用途開発が進行している。近年、健康や食の安全、環境保全への意識が高まる中、国立大学の特殊行政法人化に伴い、大学発ベンチャーが奨励される状況となってきた。それを受けて、AA-2G の発明者とその仲間は、種々の有用な新規ビタミン C 誘導体、ならびに疾病予防を目的とした新規機能性物質の研究、リラクゼーションを目的とした研究開発、商品開発ならびに販売事業を行うべく起業(2004 年 9 月)し、ベンチャー企業支援施設である「岡山リサーチパークインキュベーションセンター、ORIC」に入居し活動を開始した。本稿ではビタミン C 誘導体の発明から大学発ベンチャーの立ち上げと保健機能性食品の誕生までの道程を述べる。

1. 今、ビタミン C はなぜ必要か

西洋医学・医療は生活習慣病をある程度コントロールし、平均寿命の底上げに成功したが、その大半は対症療法であるため、治療の継続性と重篤な副作用との

戦いを強いられ、また薬剤耐性などの医原病を生んでいる。医療保険制度も破綻寸前である。がん、アレルギー、自己免疫疾患などに関しては完成された治療法さえない。この様な中、西洋医学とは質を異にする代替医療・補完医療の立場から難病克服のために多くの医療人が立ち上がっている。今世紀の比較的早い時期に、我々国民は疾病治療に対する意識を根本的に変更することを余儀なくされるであろう。「治してもらおう」医療から、「自ら治す」医療、すなわち「予防」医療へのシフトである。

さて、酸素で生かされ、酸素が基で寿命が閉じられるのが人間をはじめ好気性生物の宿命である。酸素が利用されエネルギー物質(ATP)を作る際に生じる 2 ~ 3% の活性酸素もまた両刃の剣で、微量であれば生理活性物質であるが、過剰の活性酸素は DNA の損傷、脂質の酸化などで細胞を障害し、種々の疾病の要因となることが実証されつつある。過激な運動、紫外線、環境汚染物質、多量の薬物などの異物もまた過剰な活性酸素発生源である。従って、抗酸化力をアップさせ、酸化ストレスの攻撃から身を守るための生体防御機能の強化こそが老化促進の抑制であり、体内環境改善であり、生活習慣病疾病予防の第一段階であると言われている(1)。それに対処するには適正な食餌と運動からなる生活習慣を確立し、不足しているものを的確にサプリメント等で補完する術を個人個人が編み出し実施することに尽きる。

生体内で過剰の活性酸素を分解・消去する酵素としてスーパーオキシドジスムターゼ(SOD)が知られているが、還元性物質(一電子還元、二電子還元)としてのビタミン C (アスコルビン酸)は最も信頼のおけるアンチエイジング物質であると考えられている。マウスは肝臓でビタミン C を合成するが、最近、合

キーワード：AA-2G, 安定型ビタミン C, ビタミン C 誘導体, 活性酸素, 生体防御作用

アスコルバイオ研究所 (〒701-1221 岡山市芳賀 5303 ORIC 内)

e-mail: yamamoto@ascorbio.co.jp 原稿受領日：2008 年 6 月 11 日、依頼原稿

Title: The whole story of a stable vitamin C derivative(AA-2G). Author: Itaru Yamamoto

成酵素遺伝子のノックアウトマウスを用いた研究で、マウスにおいてもビタミンC生成を不能にするとヒトの壊血病と同様の症状を呈し、老化・老衰が正常マウスの4倍も進行し、また、寿命が約半分になることが証明されている(2)。

動物、魚類、植物さらには真菌類(ascorbic acid, erythroascorbic acid, 6-deoxy-L-ascorbic acid, erythroascorbic acid, 6-deoxy5-O-(α -D-glucopyranosyl)-L-ascorbic acidなどのビタミンC類似体)など地球上の生物の大半は、必要な時に必要な量のビタミンCまたはビタミンC類似体を自ら合成し使用していること、また、ビタミンCは血中の抗酸化物質の中で、最も早く酸化ストレスに対応する物質である(3)ことも明らかにされている。ビタミンCが過酷な環境と戦い生存し続けるため(自己防御)の最も重要な抗酸化物質であると考えられている理由である。

このように、ビタミンCは元々生体物質であることは今日では常識となっている。ヒトの祖先もまた元々必要に応じてこの還元物質を生合成し利用していたが、進化の過程でたまたまその合成酵素遺伝子の一部に欠損が生じ合成能を失ってしまった。それ故に、全人類がビタミンC合成酵素欠損症を患っていると言うことになる。それが極端に不足すると壊血病で命を落とすことになる。ヒトの肝臓には合成酵素の欠損遺伝子が存在すること(4)、またビタミンC特異的トランスポーター(SVCT)の存在が証明されたことなどがその裏付けとなっている(5)。

2. ビタミンCの生体防御における役割

ビタミンC(学名:アスコルビン酸, AsA)は抗壊血病因子として発見された水溶性ビタミンの一つである。このビタミンの欠乏(血中濃度が0.2 mg/100 ml以下)は、コラーゲン蛋白の生成障害を引き起こし、血管、骨、皮膚等の発育不全を起こし、重症の場合には死亡に至る。

還元性物質としてのビタミンCは、自然界にあるほかの多くの抗酸化物質が代替できない、様々な生理活性作用を有し、特に生体防御機能としての働きがある。すなわち、神経、免疫、内分泌、薬物代謝、抗酸化、細胞修復等から構成される生体防御機構全体をバランスよく活性化し、生命維持機構をしっかりサポートできる唯一の物質がビタミンCであると言える。具体的には、ビタミンCはコラーゲン生成、免疫力増強、抗菌・抗ウイルス、抗酸化、アレルギー緩和、無機鉄吸収、発癌物質形成防止、血中コレステロール削減、美白作用等多彩な作用が知られている。今日、

ビタミンCが、風邪予防、ガン予防、動脈硬化やアレルギー予防など、さらには美白、美肌などを目的に、健康機能食品や医薬部外品、医薬品、化粧品として広範囲で活用されている所以である。

ビタミンCは水溶性で生体に貯蔵され難いゆえ、人の場合も、かつて肝臓で生合成していた時と同じ様に、できれば必要な時に、必要量を摂り一定の血中濃度を維持できるよう補うのが理想的で無駄のない摂り方と言うことになる。2000年、我が国のビタミン所要量が改訂され、成人のビタミンC所要量が1日量50 mgから100 mgに増量されたことは、現実に応じた適切な対応であると思われる。

さて、ビタミンCにはコラーゲン生合成促進作用のほか、インターフェロン誘導能や抗ウイルス作用、さらには免疫増強作用などを証明する報告もあるが、それを否定する報告も多い。このような事態を生じている第一の理由は、ビタミンCが光・熱、酸化に対し極めて弱いことに起因する。この特徴こそが、ビタミンCそのものの作用の本質なのであるが、細胞培養系や試験管内で経時的に進む事象を詳細に追究できない現実がある。第二の理由は、*in vivo*の実験で用いるマウスやラットでは多量のAsAを生合成していること(0.5 g~15 g)、ヒトやモルモットの場合にも常時食餌からAsAを得ていることから、AsA投与の実験結果は生体側の状況により大きく左右される点である。そこで、もし化学的に安定で、しかも細胞内で酵素的にAsAに変換され得るビタミンC誘導体が開発されれば、細胞培養系でAsAの作用メカニズムの解析や、応用的研究が容易になるものと思われる。

3. 安定型ビタミンC(AA-2G)の創製

近年の科学はビタミンCが酸素や活性酸素と反応しどのような過程を経て分解するか、すなわち分子崩壊のメカニズムを明らかにした。我々はそのことを理解した上で、酵素反応によりビタミンCの炭素2位の水酸基に部位特異的にグルコースを1分子導入した安定なビタミンC誘導体(ascorbic acid 2-glucoside, アスコルビン酸2-グルコシド, AA-2G)の創製に成功した(1989年~1990年)(6-8)。

このものは、熱、光、金属、中性水溶液など種々の酸化的条件下において酸化されないが、生体内に摂取されると消化管酵素(マルターゼを主体とする α -グルコシダーゼ)によってアスコルビン酸を遊離し作用を発揮する、新しいビタミンC配糖体である。1960年代、葉酸、VB1、VB6等のビタミン類の配糖化に関する酵素を用いた生化学的研究が盛んに行われていた

図1 安定型ビタミン C 誘導体 L-アスコルビン酸 2-グルコシド

図2 AA-2G の安定性

時期、ビタミン C の配糖化についても試みられたが、安定な配糖体の発見には繋がらなかった。その時使用された酵素は *Asp. Niger* 由来のグルコシダーゼで、後にこの配糖体は 6 位の水酸基にグルコース 1 分子が α -配位で導入されたもので、安定な配糖体ではないことが判明した(9)。

我々が創製したビタミン C 誘導体 (AA-2G) 生成のため最初に用いた酵素源はラット小腸ホモジネートであったが、最終的にはヒトを含め哺乳動物の消化管に存在するスクラーゼやマルターゼなどの糖転移酵素

のうちの最も豊富に存在するマルターゼであることが証明された(8)。

AA-2G はこのような特性を有することから、ビタミン C の前駆体 (プロビタミン C) とみなすことができる。AA-2G は安定であることから取り扱いが容易で製剤等の加工においてもメリットがあるばかりではない。摂取された AA-2G は体内で酵素的にゆっくりと代謝・吸収されるため、急激には血中濃度は上昇せず、比較的長時間にわたって血中濃度を維持する、いわゆるタイムリリース型のビタミン C 誘導体とみな

することができる。AA-2Gは有用かつ、安全なプロビタミンC剤であることが認められ、1994年には、厚生省（現、厚生労働省）により医薬部外品（美白化粧品）として、また、2004年には食品添加物としての使用が許可された(10)。

AA-2Gはその高い有効性を活かし、化粧品、健康食品のほか、再生医療、移植医療、ならびにガンやアレルギーの予防・治療時の副作用阻止物質などへと応用範囲が広がりつつある。

4. 工業的生産

学会発表間もなく大手化粧品メーカー（S社）からの要望があり、工業的生産の必要性が生じた。幸運にも岡山にある（株）林原生物研究所との共同研究が成立し、研究開始間もなくAA-2Gを効率よく比較的安価に生産できる酵素が見つかった。それはすでに他の目的で利用されていた糖関連酵素の一つで、*Batillus stearothermophilus* 由来でサイクロデキストリンの製造に用いられていた酵素、すなわちサイクロデキストリングルカノトランスフェラーゼ（CGTase）がAA-2Gを作る酵素として利用できるという発見であった(11, 12)。澱粉とビタミンCを基質としてCGTaseにより一旦n個のグルコースが鎖状に結合したAA-2Gnが生じるが、グルコアミラーゼ処理することにより、消化管 α -グルコシダーゼを用いて合成したと同じ1分子のグルコースが α 位に結合したAA-2Gが生じ、精製、晶析を経て純度99.5%～100%のAA-2Gの大量生産が可能となった。

ビタミンCにはメラニン合成の抑制、既存メラニンの還元作用（脱色）、さらにはコラーゲン合成促進作用などが認められていたが、安定性が悪く暫くすると商品が黄みを帯びるなどの欠点があることから、安定・持続型ビタミンC（AA-2G）が発明されるまでは美白・美肌作用を目的にはほとんど使用されて来なかった。

酸化に対し安定なビタミンC誘導体が開発され、AA-2Gがメラノサイト膜上に存在する α -グルコシダーゼでAsAを生じ、チロジナーゼを抑制することによりメラニン産生を長時間にわたって抑制することが明らかとなった。ヒト皮膚での臨床試験において85%以上の被検者で紅斑抑制、色素沈着抑制が認められ(13)、代謝、安全性等の検討を経て、1994年、AA-2Gは医薬部外品（美白）として認可され（厚生労働省）、現在多くの化粧品に主成分として配合されている。2004年には食品添加物（栄養機能食品）として認可され（厚生労働省）、サプリメントとしての活用も始

まっている。

5. 油溶性ビタミンC（親油性ビタミンC）

一方、ビタミンCは水溶性で皮膚からの吸収は十分とは言えないことから、安定かつ吸収性に優れ、体内でビタミンCに変換され、一定時間体内貯留可能なビタミンC誘導体の開発が望まれている。現在市場にはビタミンCの分子構造に脂溶性基を導入した親油性ビタミンC誘導体を配合した商品がすでに存在する。これら誘導体は、活性酸素（フリーラジカル）捕捉作用を有するものの安定性、安全性が十分では無く、また生体内（皮内を含む）でビタミンCに変換される量がごく僅かなため、コラーゲン合成促進や免疫活性化作用など、本来ビタミンCが有している重要な生理活性を示すものではない。

我々は、AA-2Gに比べ皮膚吸収性の極めて高い安定なビタミンC誘導体、6-アシル-アスコルビン酸-2-グルコシド(6-Acyl-AA-2G)の酵素的、化学的合成にも成功した(1999年)。合成法の詳細は論文を参照いただくとして、ここでは要点のみを記す。アルゴンガス封入下、AA-2Gをビリジンに溶解させ、攪拌しながら種々の長さの酸無水物を添加し、2時間室温で反応させる。濃縮乾固し、得られた物質を水-エタノール系で精製し、脂肪酸エステルを得た。

これら一連の6-アシル-AA-2G誘導体は、AsAの2位にグルコース、6位に種々の長さの脂肪酸エステルを結合させたアスコルビン酸誘導体で、酸化的条件下において安定であるばかりでなく、脂肪酸エステル部分の炭素数が増えるに従い親油性が強まり、皮膚組織への浸透性（ヒト皮膚再構築モデル、モルモット皮膚）、腸管からの吸収性（ラット）が優れたものとなっている(14, 15)。

さらには、これら新規ビタミンCは摂取された場合には、体内でエステラーゼおよび α -グルコシダーゼにより脂肪酸とグルコースを分離し、AsAとなり通常のビタミンCの生理・薬理作用（抗体産生促進作用、神経突起伸長作用など）を発揮することが示されている。

このように、6-アシル-AA-2Gは体内で活性型のビタミンCに変換されることが保証された世界で最初の親油性ビタミン誘導体である。特に皮膚に塗布した場合、上皮、内皮、真皮層でのフリーラジカル・活性酸素捕捉、メラニン合成抑制およびコラーゲン蛋白生成促進作用を介して、美白効果のみならず、しみ、そばかす、しわ形成抑制などの効果が期待され、「皮膚に塗布して美肌効果に有効な化粧品成分」として早期に開発が望まれている。また、臓器への浸透性ならび

図3 アスコルビン酸の抗原特異的抗体産生促進作用

図4 AA-2G服用後のビタミンC血中濃度の推移

に血中持続性が認められていることから、これらのビタミンC誘導体は虚血性心疾患の再還流障害の抑制、移植臓器や精子の保存、胃腸障害でビタミンCの服用が不可の患者への投与など、医療面で新しい用途が期待される。この化合物は現在、工業的生産と化粧品分野での応用を目指し、開発中である。

さらに興味あることに、新規ビタミンC (AA-2G および 6-Acyl-AA-2G) は、体内でアスコルビン酸へ変換後、フリーラジカル・活性酸素捕捉活性を発揮することは勿論のことであるが、誘導体そのものの形でも、他のアスコルビン酸誘導体とは異なり、遅効性ではあるがフリーラジカル・活性酸素捕捉活性を有することを我々は報告している。これらの特性を利用した応用的開発についても現在検討中である(16)。

6. 神経・免疫クロストークとビタミンC

我々はこれらビタミンC誘導体を用いて、AsAの生理・薬理活性に関する研究の過程で、AA-2Gや6-Acyl-AA-2GはAsAとは異なり培養マウス脾細胞を用いた抗体産生系において、顕著な促進作用を示すこと、そして本作用はα-グルコシダーゼ阻害薬(キャストノスペルミン)の存在下では消失することを観察した。これらの知見は、AA-2Gの免疫賦活作用発現には酵素作用により徐々に遊離したアスコルビン酸そのものが関与していることを示唆するものである。そこで、アスコルビン酸を12時間毎に5日間の培養期間中総計10回添加したところ、AA-2Gの単独添加時とほぼ同程度の抗体産生促進作用のあることを見出した(16)。

次に我々は、AA-2Gを用いてAsAの免疫増強作用について若干検討した。まず、AsAの抗体産生促進メカニズムについてインターロイキン(IL)との関連性について調べた。その結果、AsAはマクロファージからの抗原誘導性IL-1の産生の増加や抗原刺激時のT細胞からのIL-2産生の促進およびIL-2R発現の増強作用のほか、IL-2依存的に抗体産生を促進していることを明らかにした。次に、AsAは神経成長因子(NGF)と抗体産生において相乗作用を示すこと、またAsAがリンパ球膜上でのNGFの受容体発現を増強することがその機作となっていることを明らかにした。続いて我々は、これらビタミンC誘導体を用いて、

AsAには免疫増強作用のほか、サイトカイン依存性の神経突起形成増強作用やNK細胞活性化増強作用などを有することを培養細胞レベルで実証した(17, 18)。

生体は多くの器官や組織からなり、それらはまた幾種類かの細胞から形成されている。これらすべてが一個体として統合され、調和のとれた生命体として機能していくために、生体は幾つかの細胞間および組織間コミュニケーション手段を備えている。代表的なものとしては神経系、免疫系や内分泌系があり、これらは主に全身的な組織情報伝達を行っていることが知られている。一方、局所の細胞間情報伝達を担うものとしてはサイトカインや神経ペプチドなどのネットワークがある。サイトカインはごく微量で生理活性を示す分泌蛋白質であり、その産生の乱れや受容体の異常が疾患を引き起こす例も多い。

上述した様に、AsAはそれ自身サイトカインや神経ペプチドの様な作用を示さないにもかかわらず、それらの因子の作用を相乗的に増強することが判明した。これらの作用は他のビタミンや抗酸化剤に比べ極めて顕著であった。この様な知見から、神経・免疫・内分泌クロストーク（相互対話）において、多彩な作用を有するサイトカインが局所において微量で効率よく、しかも特異的に機能するため、AsAがアンプ（増幅因子）役として重要な役割を果たしているのではないかと私たちは考えている。これは従来のAsAの概念を越えた新しい考え方ゆえ、現時点では仮説に過ぎないが、AsA分子に秘められた機能をこの様な観点から解明することは意義のあることと考えている。

7. 大学発ベンチャー企業の立ち上げ

1989年、山本らは岡山大学薬学部における研究活動の過程で安定型ビタミンC（AA-2G）を創製し、その後、岡山のバイオ企業である（株）林原生物化学研究所との共同研究によりAA-2Gの工業的製造に成功し、医薬部外品、食品添加物（栄養強化食品）として

の厚生労働省からの認可、および国内・国外特許も取得した。2004年9月、健康や食の安全、環境保全への意識が高まる中、国立大学の特殊行政法人化に伴い、大学発ベンチャーが奨励される状況となったのを受けて、発明者とその仲間が自ら起業した。AA-2Gをはじめ、種々の有用な新規ビタミンC誘導体、ならびに疾病予防を目的とした新規機能性物質の研究、リラクゼーションを目的とした芳香水溶液の研究開発、商品開発ならびに委託販売事業を行うべく、ベンチャー企業支援第三セクター施設である「岡山リサーチパークインキュベーションセンター、ORIC」に入居し活動を開始して2年半が経過した。そして、これから3年後には独立した研究所を建設し、そこを基盤に世界に羽ばたける企業となることを夢みて努力している。

安定・持続型ビタミンC（AA-2G）の発明から大学発ベンチャーの立ち上げ、研究補助金支援や共同研究、さらには中国経済産業局・中国四国農政局の販売促進のための新連携支援事業の支援を得ながら、製品開発、商品の販売、OEM、PBにも対応し、種々の保健機能食品を誕生させるまでに発展したことを喜ぶたい。

文 献

- 1) 大柳善彦, 他. 活性酸素と老化制御. 共立出版; 2001.
- 2) Kondo Y, et al. Proc Natl Acad USA. 2006;103:5723-5728.
- 3) Frei B, et al. Proc Natl Acad Sci USA. 1988;85:9748-9752.
- 4) Nishikimi M, et al. J Biol Chem. 1994;269:13685-13688.
- 5) Daruwala R, et al. FEBS Lett. 1999;460:480-484.
- 6) Yamamoto I, et al. Biochim Biophys Acta. 1990;1035:44-50.
- 7) Muto N, et al. J Biochem. 1990;107:222-227.
- 8) Yamamoto I, et al. J Pharmacobio-Dyn. 1990;13:688-695.
- 9) 鈴木幸雄, 他. アスコルビン酸の生合成. 1989;47:259-267.
- 10) 官報:「食品添加物（栄養強化食品）」号外第8号, 平成16年1月20日発行.
- 11) Muto N, et al. Agric Biol Chem. 1990;54:1697-1703.
- 12) Tanaka M, et al. Biochim Biophys Acta. 1991;1078:127-132.
- 13) 宮井恵理子, 他. 西日本皮膚科. 1996;58(3):439-443.
- 14) Yamamoto I, et al. J Med Chem. 2002;45:462-468.
- 15) Tai A, et al. Bioorg Med Chem Lett. 2004;4:623-627.
- 16) Takebayashi J, et al. Free Radic Biol Med. 2007;43:1156-1165.
- 17) Yamamoto I, et al. Int J Immunopharmacol. 1993;15(3):319-325.
- 18) Yanagida M, et al. Life Sci. 1996;59:2075-2081.

著者プロフィール

山本 格（やまもと いたる）

岡山大学名誉教授（薬学、免疫学）。日本ビタミン学会、薬学会、薬理学会、農芸化学会等の会員。ビタミンC研究委員会委員。日本ビタミン学会幹事等多くの学会の役員、学会誌の編集委員、国・県の研究補助事業の審査員を歴任。

新規安定型ビタミンC（アスコルビン酸2-グルコシド、AA-2G）の発明者。岡山大学薬学部を定年退官後、岡山をビタミンCのメッカにすることを目指し「アスコルバイオ研究所」を設立（2005年4月）、また予防医学・医療の啓蒙活動および科学知識の向上と科学倫理の健全な発達に努めている。研究成果を応用し、ビタミンC誘導体のほか、栄養機能食品、医薬品、医薬部外品、化粧品、アロマ商品等に用いられる有用な素材物質の開発から、製造、商品化まで一貫した事業を展開中。すでに「プロビタC」、「ルイボスC」、「ハーバルアクアC」等のサプリメント、保健機能食品、アロマ商品を上梓。