

トピックス

ビタミンCは酵素反応の補因子として多様な生理作用を発揮する

Vitamin C Exerts Various Physiological Actions as a Cofactor for Enzyme Reactions

1. はじめに

ビタミンCは13種類のビタミンの中で最も一般の人々に認知されており¹⁾, その1日の摂取量もビタミンの中で最も多い(成人の食事摂取基準100 mg/日). また, ビタミンC欠乏症として知られる壊血病は, ビタミンB₁欠乏症である脚気と並んで栄養学の歴史上最も有名な疾患である. しかし, 壊血病についても現象面の解析にとどまり, ビタミンCの作用の詳細には今なお不明な点が多い.

ビタミンCの生理作用として昔からよく知られているのは, コラーゲン合成, カテコールアミン合成, カルニチン合成などにおける補因子(cofactor)作用である. これらの生理作用は1980年代にはすでに確立されており²⁾, 長らくビタミンCの生理作用が注目を集めることはなかった. ところが, 最近になってビタミンCがDNAの脱メチル化酵素の補因子としてエピゲノムを調節することが複数の研究グループから相次いで報告され, ビタミンCの作用が今まで想像されていた以上に広範囲に及ぶことが明らかになりつつある. そこで本稿では, 補因子作用という観点からビタミンCの作用をまとめた.

2. エピゲノム調節を介したビタミンCの遺伝子発現調節作用

エピゲノムは, DNA塩基配列の変化を伴わず, 主に①ゲノムDNAのシトシンのメチル化と, ②ヒストンタンパク質のメチル化, アセチル化などの修飾によって規定される遺伝情報である. DNAのメチル化とヒストンの修飾によって起こるクロマチン構造の変化は, さまざまな遺伝子発現を調節する. エピゲノムの情報は発生や分化だけでなく, 生活習慣病, 精神疾患の発症, 細胞のがん化などに影響を与える.

Ten-eleven translocation (TET) は2-オキソグルタル酸依存性ジオキシゲナーゼ(2-oxoglutarate-dependent dioxygenase, 2OGD)の一種であり, DNAの5-メチルシト

シンを5-ヒドロキシメチルシトシンに変換する脱メチル化酵素である³⁾. TETの活性中心には非ヘム鉄の鉄イオン(Fe²⁺)が結合しており, 酵素反応にはFe²⁺, 2-オキソグルタル酸(α -ケトグルタル酸ともいう)および分子状酸素(O₂)が必要である. ビタミンCはこのFe²⁺の還元状態を維持することによってTET活性を上昇させ, DNAの脱メチル化を促進する. また, Jumonji C (JmjC)ドメイン含有ヒストン脱メチル化酵素(JHDM)は, ヒストンタンパク質のメチルリシンの脱メチル化反応を触媒する一群の酵素である. JHDMも2OGDの一種であることから, ビタミンCはJHDM活性もTETと同様のメカニズムで調節すると考えられている. このように, ビタミンCがDNAとヒストンタンパク質の両方の脱メチル化を促進することによって遺伝子発現を調節することが明らかになった⁴⁾.

最近の研究では, ビタミンCがこれらのエピゲノム調節を介して急性骨髄性白血病や腎細胞がんでは最も多い淡明細胞型腎細胞がんを抑制する可能性も示唆されている⁵⁾⁻⁷⁾. これらの研究は, Pauling博士が提唱した「ビタミンCの大量投与はがんの予防や治療に有効である」という説を, 40年の時を経て科学的に証明しつつあるのかもしれない. この分野の研究の今後の発展が楽しみである.

3. 2-オキソグルタル酸依存性ジオキシゲナーゼ

ところで, TETやJHDMが属する2OGDは, 酵素反応にFe²⁺, 2-オキソグルタル酸およびO₂を必要とするジオキシゲナーゼである. その酵素反応の過程で2-オキソグルタル酸が脱炭酸されてコハク酸と二酸化炭素(CO₂)になり, O₂の酸素原子の1つは基質の水酸化に使われ, 残りの1つはコハク酸に取り込まれる(図1). 2ODは細菌から動物まで広く存在し, ヒトには60種類以上の2OGDが存在する. これらは, 水酸化反応以外にもハロゲン化, 環状化, 不飽和化等のさまざまな酸化反応を触媒する⁹⁾.

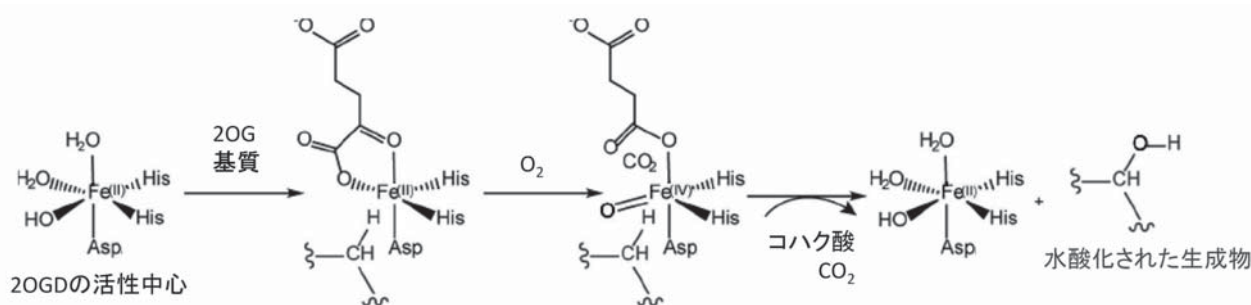


図1 2-オキソグルタル酸依存性ジオキシゲナーゼの反応

2-オキソグルタル酸依存性ジオキシゲナーゼ (2OGD) が触媒する反応では、 O_2 の酸素原子 1 つが基質の水酸化に使われ、残りの 1 つは 2-オキソグルタル酸 (2OG) に取り込まれてコハク酸の合成に使われる。(文献 8 を改変)

4. 酵素反応の補因子としてのビタミン C の役割

2OGD についての理解が近年深まったことによって、酵素反応の補因子としてのビタミン C の作用があらためて注目される。そこで、従来のビタミン学では生理的役割によって整理されることの多いビタミン C の補因子作用を酵素反応の種類で分類した (表 1)。

(1) 2OGD

2OGD には、前述の TET と JHDM の他に、コラーゲンのプロリンおよびリシンの水酸化酵素 3 種類、脂

肪酸化に必要なカルニチンの合成経路に含まれる *N*-トリメチルリシンヒドロキシラーゼおよび γ -ブチロバタインヒドロキシラーゼがある。また、低酸素誘導因子- α (HIF- α) を基質とするプロリル 4-ヒドロキシラーゼは、HIF- α の特定部位 (oxygen-dependent degradation domain) の 2 つのプロリン残基を水酸化することによって HIF- α タンパク質を分解へと誘導するものである。これらの 2OGD には非ヘム鉄である Fe^{2+} が結合し、これらの酵素反応には Fe^{2+} 、2-オキソグルタル酸および O_2 が必要である。2OGD の酵素反応において、ビタミン C は Fe^{2+} の還元状態を維持するために必要である。

表 1 ビタミン C を補因子とする主な酵素

酵 素	酵素番号	基 質	生理的役割
2-オキソグルタル酸依存性ジオキシゲナーゼ (2-オキソグルタル酸・ Fe^{2+} 要求性)			
● プロリル 4-ヒドロキシラーゼ	1.14.11.2	プロコラーゲンのプロリン	コラーゲン合成
● プロリル 3-ヒドロキシラーゼ	1.14.11.28	プロコラーゲンのプロリン	コラーゲン合成
● リシル 5-ヒドロキシラーゼ	1.14.11.4	プロコラーゲンのリシン	コラーゲン合成
● プロリル 4-ヒドロキシラーゼ	1.14.11.29	低酸素誘導因子- α のプロリン	低酸素応答
● <i>N</i> -トリメチルリシンヒドロキシラーゼ	1.14.11.8	トリメチルリシン	カルニチン合成
● γ -ブチロバタインヒドロキシラーゼ	1.14.11.1	γ -ブチロバタイン	カルニチン合成
● Ten-eleven translocation		DNA の 5-メチルシトシン	エピゲノムの調節
● Jumonji C ドメイン含有ヒストン脱メチル化酵素		ヒストンのメチルリシン	エピゲノムの調節
2-オキソグルタル酸非依存性ジオキシゲナーゼ (Fe^{2+} 要求性)			
● 4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ	1.13.11.27	4-ヒドロキシフェニルピルビン酸	チロシン代謝
モノオキシゲナーゼ (Cu^{2+} 要求性)			
● ドーパミン β -ヒドロキシラーゼ	1.14.17.1	ドーパミン	カテコールアミン合成
● ペプチジルグリシン 2-ヒドロキシラーゼ	1.14.17.3	ペプチジルグリシン	ペプチドホルモン合成

(2) 2-オキソグルタル酸非依存性ジオキシゲナーゼ

2-オキソグルタル酸非依存性ジオキシゲナーゼには、チロシン代謝経路に含まれる4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ(HPPD)がある。HPPDには非ヘム鉄である Fe^{2+} が結合し、その酵素反応には Fe^{2+} と O_2 が必要であるが、2-オキソグルタル酸は必要ではない。HPPDの酵素反応では、ビタミンCは Fe^{2+} の還元状態を維持するために必要である。

(3) モノオキシゲナーゼ

銅イオン(Cu^{2+})要求性のモノオキシゲナーゼとして、チロシンからカテコールアミンの合成経路に含まれるドーパミン β -ヒドロキシラーゼとペプチドホルモン合成に必要なペプチジルグリシン2-ヒドロキシラーゼ(ペプチジルグリシンモノオキシゲナーゼともいう)がある。いずれの酵素にも Cu^{2+} が結合しており、それらの酵素反応には Cu^+ と O_2 が必要である。両酵素反応において、ビタミンCは Cu^{2+} を Cu^+ に還元するために必要である。

(4) その他

コレステロールから胆汁酸への代謝の律速酵素で、シトクロムP450酵素であるコレステロール7 α -ヒドロキシラーゼ(CYP7A1)も、ビタミンCによって酵素活性が調節されることが古くから知られている。しかし、シトクロムP450酵素に対するビタミンCの作用の詳細は明らかではない。

5. ビタミンCの補因子作用の特異性

上述した酵素の反応におけるビタミンCの補因子としての作用の本質は、L-アスコルビン酸の還元性である。体内には還元性をもつ物質がビタミンC以外にも存在するため、ビタミンCの補因子作用がビタミンC特異的かどうかという点は重要である。コラーゲンのプロリン水酸化反応については、*in vitro*ではエリソルビン酸(アスコルビン酸の立体異性体)、テトラヒドロプテリジン、システイン、グルタチオン、ジチオスレイトールなどによっても酵素活性の上昇が認められたが、*in vivo*ではビタミンCが最も有効だとされている²⁾。また、TET活性についてもグルタチオン、ビタミンB₁、ビタミンE、NADPH、システインなどでは代替できないようである⁴⁾。したがって、酵素反応の場に適切な濃度で抗酸化物質が存在すれば、補因子作用は他の抗酸化物質でも代替可能であり、ビタミンCに狭い意味での特異性はないのかもしれない。しかし、*in vivo*の生理的条件下ではビタミンCが最適な抗酸化物質として機能しているのであろう。

6. おわりに

1980年頃からの分子生物学の隆盛とともに、ビタミンの研究手法もそれまでの酵素活性を中心としたものから遺伝子発現解析へと移り、ビタミンAやビタミンDの転写調節作用が多く研究者の注目を集めた。ビタミンCについても遺伝子発現調節作用が模索され、培養細胞や動物個体においてコラーゲン、アセチルコリン受容体、アルカリホスファターゼ、オステオカルシンなどのmRNAレベルがビタミンCによって変動することが報告された。筆者らも遺伝的にビタミンCを合成できないODSラットを用いて、ビタミンC欠乏時には肝臓の急性期タンパク質のmRNAレベルが変動することを報告した¹⁰⁾。しかし、水溶性ビタミンであるビタミンCに関して転写因子を介した作用メカニズムは想像しづらく、ビタミンCの遺伝子発現調節作用についてこれ以上の知見は得られなかった。

ところが近年、ゲノムDNAやヒストンタンパク質の修飾が遺伝子発現を調節するというエピゲノムの重要性が明らかになり、核内の脱メチル化酵素が2OGDであったことから、思いがけずビタミンCのエピゲノムの変化を介した遺伝子発現調節作用が明らかになった。ヒトの2OGDは60種類以上存在する上に、反応に Fe^{2+} や Cu^{2+} を要求する酵素は2OGD以外にも多い。したがって、それらの酵素の中にはビタミンCが最適な抗酸化物質として酵素活性に寄与するものが他にもあるかもしれない。今回、補因子作用の重要性が再認識されたことから、ビタミンCの新たな生理作用の解明が期待される。

開示すべき利益相反なし

(2020.2.25 受付)

Key words : ascorbic acid, cofactor for enzyme reaction, epigenetics, 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase, vitamin C

¹Nagoya University of Arts and Sciences

²College of Nagoya Women's University

³Osaka City University

Saiko Ikeda¹, Tomoko Banno², Shigeru Saeki³

¹名古屋学芸大学

²名古屋女子大学短期大学部

³大阪市立大学

池田 彩子¹, 阪野 朋子², 佐伯 茂³

文 献

- 1) 阿部雅里, 阪野朋子, 内田友乃, 佐野可奈, 池田彩子 (2017) 初等中等教育および高等教育におけるビタミン学習の現状と課題—大学生を対象にしたビタミン関連用語の認知度調査の結果から—. *ビタミン* **91**, 688-695
- 2) 日本ビタミン学会 (1989) ビタミンハンドブック②水溶性ビタミン. 化学同人, 京都
- 3) Tahiliani M, Koh KP, Shen Y, Pastor WA, Bandukwala H, Brudno Y, Agarwal S, Iyer LM, Liu DR, Aravind L, Rao A (2009) Conversion of 5-methylcytosine to 5-hydroxymethylcytosine in mammalian DNA by MLL partner TET1. *Science* **324**, 930-935
- 4) Young JI, Zuchner S, Wang G (2015) Regulation of the epigenome by vitamin C. *Annu Rev Nutr* **35**, 545-564
- 5) Agathocleous M, Meacham CE, Burgess RJ, Piskounova E, Zhao Z, Crane GM, Cowin BL, Bruner E, Murphy MM, Chen W, Spangrude GJ, Hu Z, DeBerardinis RJ, Morrison SJ (2017) Ascorbate regulates haematopoietic stem cell function and leukaemogenesis. *Nature* **549**, 476-481
- 6) Cimmino L, Dolgalev I, Wang Y, Yoshimi A, Martin GH, Wang J, Ng V, Xia B, Witkowski MT, Mitchell-Flack M, Grillo I, Bakogianni S, Ndiaye-Lobry D, Martin MT, Guillaumot M, Banh RS, Xu M, Figueroa ME, Dickins RA, Abdel-Wahab O, Park CY, Tsigos A, Neel BG, Aifantis I (2017) Restoration of TET2 function blocks aberrant self-renewal and leukemia progression. *Cell* **170**, 1079-1095
- 7) Shenoy N, Bhagat TD, Chevillat J, Lohse C, Bhattacharyya S, Tischer A, Machha V, Gordon-Mitchell S, Choudhary G, Wong LF, Gross L, Ressig E, Leibovich B, Boorjian SA, Steidl U, Wu X, Pradhan K, Gartrell B, Agarwal B, Pagliaro L, Suzuki M, Grelally JM, Rakheja D, Thompson RH, Susztak K, Witzig T, Zou Y, Verma A (2019) Ascorbic acid-induced TET activation mitigates adverse hydroxymethylcytosine loss in renal cell carcinoma. *J Clin Invest* **130**, 1612-1625
- 8) Markolovic S, Wilkins SE, Schofield CJ (2015) Protein hydroxylation catalyzed by 2-oxoglutarate-dependent oxygenases. *J Biol Chem* **290**, 20712-20722
- 9) Martinez S, Hausinger R (2015) Catalytic mechanisms of Fe(II)- and 2-oxoglutarate-dependent oxygenases. *J Biol Chem* **290**, 20702-20711
- 10) Ikeda S, Horio F, Kakinuma A (1998) Ascorbic acid deficiency changes hepatic gene expression of acute phase protein in scurvy-prone ODS rats. *J Nutr* **128**, 832-838