
トピックス

細胞内レチノール結合タンパク質 (CRBP) II はモノアシルグリセロールに結合して腸の内分泌シグナルを調節する

Cellular retinol-binding protein II binds monoacylglycerols and modulates gut endocrine signaling

成体において小腸特異的に発現している細胞内レチノール結合タンパク質 (cellular retinol-binding protein, CRBP) II (統一的な命名規則により現在では RBP2 と呼ばれる) は、レチノールとレチナールに結合することで小腸におけるビタミン A の吸収を促進することがその役割であると考えられてきた¹⁾²⁾。最近 Lee ら³⁾は、CRBP II が 2-アラキドノイルグリセロール (2-arachidonoylglycerol, 2-AG) などのエンドカンナビノイドにも結合することを見だし、CRBP II の新しい生理機能を示唆する論文を報告したので、その背景も含めて本稿で紹介する。

Rbp2 ノックアウトマウスの表現型は 2002 年に報告された⁴⁾。それによると、ビタミン A を豊富に含む食餌で飼育した場合、*Rbp2*^{+/-} のオスと *Rbp2*^{+/-} のメスを掛け合わせて生まれた *Rbp2*^{-/-} の仔は正常に成長した。ところが、*Rbp2*^{-/-} のオスと *Rbp2*^{-/-} のメスを掛け合わせ、母マウスの妊娠期間の後半以降、下限に近いビタミン A しか含まない食餌で飼育すると、生まれた仔は、24 時間以内に 100% 死亡した。同様の条件で *Rbp2*^{+/+} のオスと *Rbp2*^{+/+} のメスを掛け合わせた時には、死亡した仔はいなかった。また、同様の条件で *Rbp2*^{+/+} のオスと *Rbp2*^{-/-} のメスを掛け合わせた時の死亡率は 79 ± 21% であり、*Rbp2*^{-/-} のオスと *Rbp2*^{+/+} のメスを掛け合わせた時の死亡率は 27 ± 25% であった。仔の遺伝子型がどちらも *Rbp2*^{+/-} であるにもかかわらず死亡率に有意な差 (79 ± 21% vs. 27 ± 25%) が出たことから、母マウスの *Rbp2* が仔の成長に重要であることが示された。一方、*Rbp2*^{+/+} のメスから生まれた *Rbp2*^{+/-} の仔も一定の割合 (27 ± 25%) で死亡していることから、仔の *Rbp2* (の発現量) もまた、仔の成長に重要であることが示された。

Lee ら³⁾は、通常食で長期間飼育した *Rbp2*^{-/-} のオスが、野生型のマウスに比べて太ることに気づいた。この太った *Rbp2*^{-/-} のオスでは、腹腔内に投与したグルコースの

処理が遅れる (血糖値が下がりにくい) 傾向がみられた。また、空腹時の肝臓中の中性脂肪の増加と、血中の中性脂肪の減少が観察された。これらと関連して、肝臓からの超低密度リポタンパク質 (very-low-density lipoprotein, VLDL) 分泌の低下も観察された。以上から、*Rbp2*^{-/-} のオスは、高脂肪食に対してより太りやすい性質を持つことも明らかとなった。

この *Rbp2*^{-/-} の代謝異常の原因を探ったところ、レチノイドの作用との関連性は認め難かった。そこで、ビタミン A 以外のリガンドが CRBP II と結合して生理作用を発揮するのではないかと考えて探索したところ、2-AG、2-オレオイルグリセロール (2-oleoylglycerol, 2-OG)、2-リノレオイルグリセロール (2-linoleoylglycerol, 2-LG)、1-AG などのモノアシルグリセロール (monoacylglycerols, MAGs) が CRBP II と強く結合することが判明した。さらに、*N*-アラキドノイルエタノールアミン (*N*-arachidonylethanolamine, AEA)、*N*-リノレオイルエタノールアミン (*N*-linoleoylethanolamine, LEA)、*N*-ミリスチルエタノールアミン (*N*-myristoylethanolamine, MEA) などの *N*-アシルエタノールアミン (*N*-acylethanolamines, NAEs) もまた CRBP II と弱いながらも結合することが明らかとなった。なお、上記の化合物のうち、2-AG と AEA は、エンドカンナビノイドと呼ばれる内在性カンナビノイド受容体アゴニストであることが知られている⁵⁾。MAGs の CRBP II への結合は、ホロ型 CRBP II からレチノールを外して置き換えるほど強いものであったが (タンパク質の蛍光の変化で見積もった CRBP II と 2-AG の解離定数 $K_d = 27.1 \pm 2.4$ nM)、NAEs の CRBP II への結合はホロ型 CRBP II からレチノールを引き抜くほどではなかった (同様に見積もった CRBP II と AEA の $K_d = 663.0 \pm 24.0$ nM)。

Lee ら³⁾は同じ論文で、2-AG、AEA と結合した CRBP II の結晶構造を報告している。そのうち、2-AG

結合 CRBP II の構造をリガンド結合ポケット開口部から観察した立体視像を図示した (図 1A). 比較のため, レチノールが結合した CRBP II の結晶構造⁶⁾ も図示した (図 1B). レチノールの水酸基は, CRBP II の 108 番目のグルタミン残基 (Q108) のアミド基と水素結合していることが知られている⁶⁾⁷⁾. 一方, 2-AG には 2 つの水酸基とカルボニル基が 1 つ存在する. この 2 つの水酸基の一方が, Q108 のカルボニル基および 40 番目のリジン残基 (K40) のアミノ基と水素結合しており, もう一方が 51 番目のスレオニン残基 (T51) の水酸基と水素結合していた. また, 2-AG のカルボニル基は Q97, 72 番目のグルタミン酸残基 (E72), 60 番目のチロシン残基 (Y60) と水分子を介して水素結合ネットワークを形成していた. 以上をまとめると, レチノールと CRBP II との水素結合は 1 つしか存在しないが, レチノールの β -イオン環およびポリエン鎖が

CRBP II のリガンド結合ポケットと疎水性相互作用することで, 両者の結合を増強している. 一方, 2-AG と CRBP II との間には複数の水素結合が存在するが, 2-AG のアシル基の配置に疎水性相互作用は貢献しておらず, それより弱いファンデルワールス力によって規定されている. 結果として, レチノールと 2-AG は, 互いに異なる結合様式 (それぞれ疎水性相互作用, 水素結合を中心とする) を持ちながら, CRBP II に同等の強さで結合するのではないかと, Lee ら³⁾ は考察している.

最後に Lee ら³⁾ は, CRBP II が MAGs と結合することの生理的意義を検討した. その結果, *Rbp2*^{-/-}において, 小腸粘膜の MAGs レベルが増加していることが明らかとなった. また, グルコース依存性インスリン分泌刺激ポリペプチド (glucose-dependent insulintropic polypeptide, GIP) の血中レベルも増加していることが

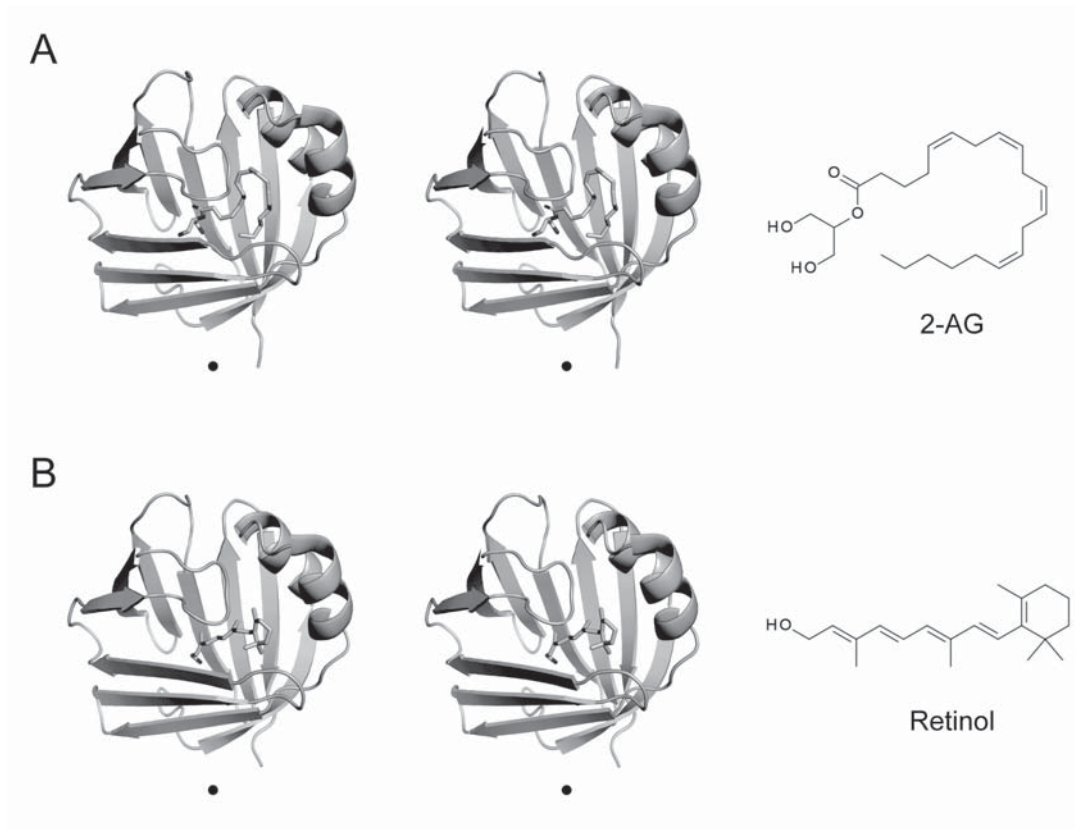


図 1 ヒト細胞内レチノール結合タンパク質 (CRBP) II の立体構造

2-アラキドノイルエタノールアミン (2-AG) 結合ヒト CRBP II の結晶構造 (PDB ID: 6BTH) を PyMOL により模式的に示した (A). また, レチノール結合ヒト CRBP II の結晶構造を同様に示した (B). 平行法で立体視できるように左右に画像を配置した. 右の黒点を右目で, 左の黒点を左目で, 遠くを見るように眺めると, 4 つの黒点が見える. 中央寄りの 2 つの黒点が重なるように視線を調節すると, その上に描かれた結晶構造が立体的に見える. CRBP II の二次構造とリガンド結合ポケットの構築については, 以前本誌に掲載した解説を参照されたい⁹⁾. Symyx Draw を用いて各リガンドの構造式を描き, 右に示した.

明らかとなった。血中 GIP 濃度は、グルコース摂取依存的でなく、脂肪摂取依存的に上昇した。また、*Rbp2* 遺伝子欠損による GIP 放出の調節不全は、*Rbp2*^{-/-} が太りだす前に観察されたことから、肥満などの代謝異常の結果ではないと考えられた。Lee ら³⁾は、*Rbp2*^{-/-} で観察された体重増加の原因は、小腸粘膜で増加した MAGs が腸内分泌細胞からの GIP 放出を促し、その結果、末梢の脂肪組織 (GIP 受容体を発現している) における脂肪酸の取り込みが増加するためではないかと考察している。

CRBP II は小腸の可溶性タンパク質の 0.4 から 1.0% を占めることが知られているが、ビタミン A の吸収を促進するための量としては大過剰ではないかとの指摘もなされてきた。CRBP II が、ビタミン A のみならず、MAGs にも結合してその生理機能を発揮するのではないかという今回の報告が、その答えとなる可能性がある。一方、*Rbp2* ノックアウトマウス的小腸粘膜で MAGs が増加する分子メカニズムや、CRBP II への結合をめぐってビタミン A と MAGs が競合する可能性など、今後明らかにすべき問題が数多く生み出されたとも言える。古くて新しいタンパク質である CRBP II の研究がますます発展していくことが期待される。

Key words :cellular retinol-binding protein II, monoacylglycerol, endocannabinoid, intestine, crystal structure, knockout mouse

Department of Laboratory Medicine, The Jikei University School of Medicine 3-25-8, Nishi-Shimbashi, Minato-ku, Tokyo, 105-8461, Japan

Yoshihiro Mezaki

東京慈恵会医科大学臨床検査医学講座

目崎 喜弘

利益相反自己申告：申告すべきものなし

(2020.11.16 受付)

文 献

- 1) Ong DE (1984) A novel retinol-binding protein from rat. Purification and partial characterization. *J Biol Chem* **259**, 1476-1482
- 2) Blaner WS, Brun PJ, Calderon RM, Golczak M (2020) Retinol-binding protein 2 (RBP2): biology and pathobiology. *Crit Rev Biochem Mol Biol* **55**, 197-218
- 3) Lee SA, Yang KJZ, Brun PJ, Silvaroli JA, Yuen JJ, Shmarakov I, Jiang H, Feranil JB, Li X, Lackey AI, Krężel W, Leibel RL, Libien J, Storch J, Golczak M, Blaner WS (2020) Retinol-binding protein 2 (RBP2) binds monoacylglycerols and modulates gut endocrine signaling and body weight. *Sci Adv* **6**, eaay8937
- 4) E X, Zhang L, Lu J, Tso P, Blaner WS, Levin MS, Li E (2002) Increased neonatal mortality in mice lacking cellular retinol-binding protein II. *J Biol Chem* **277**, 36617-36623
- 5) 上田夏生 (2020) XIV. 必須脂肪酸と脂質メディエーター。ビタミン **94**, 190-196
- 6) Nossoni Z, Assar Z, Yapici I, Nosrati M, Wang W, Berbasova T, Vasileiou C, Borhan B, Geiger J (2014) Structures of holo wild-type human cellular retinol-binding protein II (hCRBPII) bound to retinol and retinal. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* **70**, 3226-3232
- 7) Winter NS, Bratt JM, Banaszak LJ (1993) Crystal structures of holo and apo-cellular retinol-binding protein II. *J Mol Biol* **230**, 1247-1259
- 8) 目崎喜弘 (2018) リガンド結合に伴う細胞内レチノール結合タンパク質の立体構造変化。ビタミン **92**, 461-463