

トピックス

ビタミン E ニコチン酸エステルの新たな生理機能

New biological function of vitamin E nicotinate

ビタミン E ニコチン酸エステル (EN) (別名トコフェロールニコチン酸エステル, ニコチン酸- α -トコフェロール) は, α -トコフェロール (α -Toc) のクロマン環にある水酸基とニコチン酸 (NA) がエステル結合した化合物で, その化学構造は図 1 に示すようである. EN は化学合成され, 医薬品として使用されている. EN はエーザイ(株)から商品名ユベラ N[®]として微小循環系賦活剤として, 米国のファイザー社から商品名 Renascin[®]として抗不整脈薬として販売されている¹⁾. また, EN は化粧品にも添加されているが, その使用量は極わずかである¹⁾.

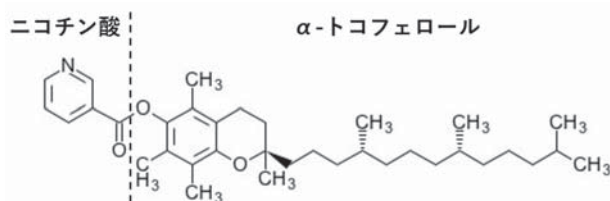


図 1 ビタミン E ニコチン酸エステル (EN) の構造式

投与された EN は生体内でエステラーゼにより加水分解され, α -Toc と NA が生ずるが, 投与された EN の作用に関しては EN そのものによるのか, 加水分解されて生ずる α -Toc と NA の協調によるか否かがこれまでに検討されている. 1973 年に Kamimura²⁾ は, 微小循環不全患者に EN と α -Toc と 20% NA の混剤を交互に投与し, それらの投与の間に冷却再加温テストを行って再加温時間を調べ, EN の方が α -Toc と NA の混剤よりも再加温時間を短縮する効果が高いことを認め, その EN の効果は α -Toc と NA の相乗効果ではないことを報告した. また, 1977 年に Higashi と Kikuchi³⁾ は過酸化水素惹起血小板凝集に対する EN の阻害効果を α -Toc および α -Toc と NA の混剤と比較し, EN が α -Toc 単独や α -Toc と NA の混剤よりも強い血小板凝集阻害効果を示し, また NA にはその効果がないことを確認し, 血小板凝集阻害効果が EN それ自身によるもので, α -Toc と NA の相加効果でないことを報告した.

2017 年に Wang ら⁴⁾ は肺高血圧症ラットの右心不全における酸化ストレスを調べた際にメタボロミクス解析を行い, 右心室に EN が存在するが, その濃度が正常ラットよりも 30 倍以上も少ないことを認め, EN が生体内で臨床的に重要である可能性を報告した. この報告に基づいて, 2019 年に Marcocci と Suzuki⁵⁾ は EN の生物学的作用を明らかにするために, ヒト血管平滑筋細胞に EN, ビタミン E 酢酸エステル (EA) + ナイアシン (N) および N を作用させてメタボロミクス解析を行い, EN の生物学的作用を EA + N の場合と比較検討し, EN それ自身がタンパク質キナーゼを活性化し, 細胞内でシグナルを引き出すことを示唆している. そこで, この Marcocci と Suzuki の EN に関する研究論文について, トピックスとして紹介したい.

最初に, 著者らはヒト血管平滑筋細胞 (1×10^7 個の細胞) に EN (終濃度 100 μ M), EA (終濃度 100 μ M) + N (終濃度 100 μ M) および N (終濃度 100 μ M) を 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 下で培養し, その培養細胞の抽出試料についてのメタボロミクス解析の結果を部分最小二乗法・判別分析した. その結果, EN 処理細胞と EA + N 処理細胞のメタボロミクスプロファイルが無処理細胞とは異なり, しかもメタボロミクスプロファイルが EN 処理細胞と EA + N 処理細胞の間で明らかに異なっていた. この結果から, 著者らは添加された EN は別々に添加された EA や N とは細胞に対して異なった作用を発揮することを示した.

さらに, 著者らはエレクトロスプレーイオン (ESI) + と - の両方の仕様で質量分析を行い, 発現が少なくとも 2 倍の違いがある分子について EN 処理細胞と EA + N 処理細胞において比較した. その結果, 分子質量が 1200 かそれ以下である総数 2828 分子が EN 処理細胞と EA + N 処理細胞との間で異なって発現しており, その多くの分子はこれまで知られていない分子であった. 質量分析で得られたいくつかの質量がヒトの培養細胞で見られることが期待されない合成化学物質に相当した. EN 処理細胞と EA + N 処理細胞での代謝

物のリストを詳細に調べた結果、同定された多くの質量は生物学的に関連する脂質に相当し、いくつかの質量は小さなペプチドに相当した。しかも、EN 処理細胞と EA+N 処理細胞の間で発現が異なっていたひとつの注目すべき脂質分子が EN そのものであった。その EN は EN 処理細胞では EN が添加されていることもあり、EA+N 処理細胞よりも 100 倍以上高いことが分かった。この結果から、ヒト血管平滑筋細胞では添加された EA と N から少なくとも 10 分間足らずの培養では作られる EN 量はかなり少ないことが示された。

また、著者らはヒト血管平滑筋細胞の EN 処理が種々の脂肪酸の誘導体、特に図 2 に示す構造の *N*-アシルエタノールアミン (別名 *N*-アシルエタノールアミド) である多くの脂肪酸アミドの細胞内発現に影響することを見いだした。異なった長さの *N*-アシルエタノールアミンのレベルが EN 処理細胞で EA+N 処理細胞よりも高かった。図 2 に示す構造の同じ炭素鎖の長さで、同じ質量であるアナンダミド (*N*-アラキドノイルエタノールアミン) あるいはピロダミン (*O*-アラキドノイルエタノールアミン) といわれる注目すべき分子であるアラキドノイルエタノールアミンの発現は EN 処理細胞と EA+N 処理細胞との間で異なり、EN 処理細胞が EA+N 処理細胞よりもアラキドノイルエタノールアミンを増加させる効率が 3 倍も高かった。これらの結果から、著者らは EN がビタミン E やナイアシンに依存しない生物学的応答を引き出すことができると推察した。また、オレイン酸アミド、エラジン酸アミド、リノール酸アミド、パルミチン酸アミド、パルミトイル酸アミドなどの脂肪酸アミドの発現も EN 処理細胞と EA+N 処理細胞との間で異なり、それらの脂肪酸アミドの発現は EN 処理細胞の方が EA+N 処理細胞より高かった。パ

ルミチン酸レチノール、セラミド、スフィンゴシンなどの分子の発現は EN 処理細胞と EA+N 処理細胞との間で異なり、それらの発現は EN 処理細胞の方が EA+N 処理細胞より高かった。これは、EA+N 処理細胞ではこれらの分子の発現レベルが下方制御されていることによるものであった。一方で、カルニチンの発現は EN 処理細胞と EA+N 処理細胞の両方で下方制御されていたが、その制御の効果は EA+N 処理細胞の方が EN 処理細胞よりも高かった。これらの脂肪酸誘導体のうちでも、EN はアラキドノイルエタノールアミンとパルミチン酸アミドを選択的に増加させた。アナンダミドはエンドカンナビノイドの CD1 受容体と CD2 受容体のアゴニスト⁶⁾であり、ペロオキシソーム増殖因子活性化受容体 α (PPAR α)⁷⁾、カプサイシン受容体の TPRV1 (transient receptor potential vanilloid 1)⁸⁾ および温度センサーの TRPM8 (transient receptor potential melastatin⁸⁾ 受容体チャネル⁹⁾などと反応する。ピロダミンはカンナビノイド受容体である CB1 受容体と CB2 受容体のアゴニスト¹⁰⁾であり、オーファン受容体の GRP55¹¹⁾とも反応する。パルミチン酸アミドを含めた脂肪酸アミドは重要な細胞内シグナル分子であることが知られている¹²⁾。パルミチン酸アミドは PPAR α を活性化し、海馬マウス神経のシナプス機能を上方制御する¹³⁾。また、著者らは EN のシグナル伝達がアラキドノイルエタノールアミンやパルミチン酸アミドの分解に関与する酵素を阻害している可能性をいくつかの文献を基にして示した。これらのことから、著者らは EN が *N*-アシルエタノールアミンや脂肪酸アミドを増加させるために、それらの合成を促進し、分解経路を阻害する受容体を介する過程を通して細胞内シグナル伝達を引き出すことを提案している。

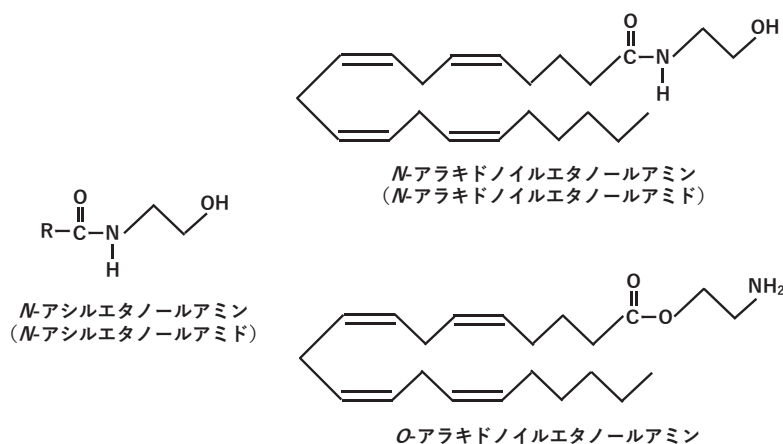


図 2 *N*-アシルエタノールアミンとアラキドノイルエタノールアミンの構造式

さらに、EN の構造そのものが細胞内シグナル伝達の活性化剤として役立つことが暗示されたことから、著者らは EN が細胞内シグナル伝達を制御する主なタンパク質キナーゼである細胞外シグナル制御キナーゼ (ERK)・分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ (MAPK) を活性化するか否かを調べた。その結果、ヒト血管平滑筋細胞を EN 処理すると、処理後 30 分をピークとした p44 と p42ERK・MAPK のリン酸化レベルの有意な上昇が認められたが、EA+N, EA のみ, N のみのいずれの処理でも ERK・MAPK の活性化は認められなかった。しかも、著者らはナイアシンが G-タンパク質共役受容体 109A (GPR109A) に結合することが示されていること¹⁴⁾と、EN がより効率的に脂肪酸アミドを増加させることから、EN が N よりも効率的に GPR109A に結合する可能性を示している。これらの結果から、著者らはステオリルエタノールアミンが ERK・MAPK 経路を活性化すること¹⁵⁾とアナンダミドが p38MAPK シグナル伝達の活性化剤であること¹⁶⁾を考慮に入れ、EN が脂肪酸アミドを通して MAK 経路を活性化している可能性を示している。

このように、著者らは EN がビタミン E やナイアシンの供給源として単に役立つこととは別に細胞応答を引き出すという仮説を本研究によって実証し、総じて EN には新たな生物学的な役割が存在することを推察している。従って、EN の新たな生物学的役割が解明されることが望まれる。

Key words :vitamin E nicotinate (α -tocopheryl nicotinate), cell signaling, anandamide

Department of Chemistry, Fujita Health University School of Medicine

Yoshiji Ohta

藤田医科大学医学部化学

太田 好次

開示すべき利益相反なし

(2022.1.17 受付)

文 献

- 1) Duncan KR, Suzuki YJ (2017) Vitamin E nicotinate. *Antioxidants* **2017**, 6, 20; doi: 10.3390/antiox6010020
- 2) Kamimura M (1973) Comparative studies of the effects of α -tocopheryl nicotinate and the combination α -tocopheryl acetate and nicotinic acid. *J Nutr Sci Vitaminol* **19**, 375-381
- 3) Higashi O, Kikuchi Y (1977) A comparative study of the effect of vitamin E-nicotinate and the combination of vitamin E and nicotinic acid on the hydrogen peroxide-induced platelet aggregation. *Tohoku J Exp Med* **121**, 81-84
- 4) Wang X, Shults N, Suzuki YJ (2017) Oxidative profiling of the failing right heart in rats with pulmonary hypertension. *PLoS ONE* **12**(5): e0176887
- 5) Marcocci L, Suzuki YJ (2019) Metabolomics studies to assess biological functions of vitamin E nicotinate. *Antioxidants* **2019**, 8, 127; doi: 10.3390/antiox8050127
- 6) Devane WA, Hanus L, Breuer A, Pertwee RG, Stevenson LA, Griffin G, Gibson D, Mandelbaum A, Etinger A, Mechoulam R (1992) Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science* **258**, 1946-1949
- 7) O'Sullivan SE (2007) Cannabinoids go nuclear: Evidence for activation of peroxisome proliferator-activated receptors. *Br J Pharmacol* **152**, 575-582
- 8) Starowicz K, Nigam S, DiMarzo V, (2007) Biochemistry and pharmacology of endovanilloids. *Pharmacol Ther* **114**, 13-33
- 9) De Petrocellis L, Strowicz K, Moriello AS, Vivese M, Orlando P, Di Marzo V (2007) Regulation of transient receptor channels of melastatin type 8 (TRPM8): Effect of cAMP, cannabinoid CB(1) receptor, and endovanilloid. *Exp Cell Res* **313**, 1911-1920
- 10) Kozłowska H, Baranowska M, Schlicker E, Kozłowski M, Laudanski J, Malinowska B (2008) Virodhamine relaxes the human pulmonary artery through the endothelial cannabinoid receptor and indirectly through a COX product. *Br J Pharmacol* **155**, 1034-1042
- 11) Pertwee RG (2007) GPR55: A new member of the cannabinoid receptor clan? *Br J Pharmacol* **152**, 984-986
- 12) Arafat ES, Trimble JW, Anderson RN, Dass C, Desiderio DM (1989) Identification of fatty acid amides in human plasma. *Life Sci* **45**, 1679-1687
- 13) Roy A, Kundu M, Jana M, Mishra RK, Yung Y, Luan CH, Gonzalez FJ, Pahan K (2016) Identification and characterization of PPAR α ligands in the hippocampus. *Nat Chem Biol* **12**, 1075-1083
- 14) Kamanna VS, Ganji SH, Kashyap ML (2009) The mechanism and mitigation of niacin-induced flushing. *Int J Clin Pract* **63**, 1369-1377
- 15) Ezzili C, Otrubova K, Boger DL (2010) Fatty acid amide signaling molecules. *Bioorg Med Chem Lett* **20**, 5959-5968
- 16) Almada M, Piscitelli F, Fonseca BM, Di Marzo V, Coreia-de-Silva G, Teixeira N (2015) Anandamide and decidual remodeling: COX-2 oxidative metabolism as a key regulator. *Biochim Biophys Acta* **1851**, 1473-1481