

トピックス

ビタミン E の長鎖代謝物であるガルシン酸は
核内受容体 pregnane X receptor のアゴニストとして機能する
**Garcinoic acid, a long chain metabolite of vitamin E, functions as an agonist
of the nuclear pregnane X receptor**

脂溶性ビタミンであるビタミン A やビタミン D₃ は生体内で酸化的に代謝活性化されてレチノイン酸や活性型ビタミン D₃ となり、それぞれ特異的な核内受容体と結合して固有の機能を発現することはよく知られている。同じく脂溶性ビタミンであるビタミン E やビタミン K についても、その代謝産物の生理作用について様々な研究が行われており、従来から知られるビタミンとしての機能を含めて、その生物機能性化合物としてのホリスティックな生理作用が徐々に明らかになりつつある¹⁾⁻³⁾。本稿では、2020年に Bartolini ら⁴⁾によって報告された、ビタミン E 代謝物の一つであるガルシン酸が核内受容体 pregnane X receptor (PXR) のアゴニストとして機能するという研究を紹介する。

ビタミン E は、側鎖構造の違いにより、飽和アルキル鎖を持つトコフェロール (T) と、3 個の二重結合を持つトコトリエノール (T3) に分類され、さらに骨格となるクロマン環上のメチル基の数と置換位置の違いにより、それぞれに α , β , γ , δ の 4 種の同族体が存在

する。いずれの化合物も主に肝臓で CYP4F2 により側鎖末端 (13' 位) が ω 酸化されて長鎖代謝物である 13' 位水酸化体 (13'-OH) および 13' 位カルボン酸 (13'-COOH) を生成、続く β 酸化により側鎖が段階的に切断され、最終的に短鎖代謝物であるカルボキシエチルヒドロキシクロマン (carboxyethyl hydroxychroman : CEHC) を主要な代謝産物として生じる (図 1)。一方、ビタミン E と、医薬品など生体異物のセンサーとして機能する核内受容体 pregnane X receptor (PXR) (あるいは、steroid and xenobiotic receptor : SXR) との関係については、2004年に Zhou ら⁵⁾によって T3 が PXR を活性化することが報告されているほか、2017年には Podszun ら⁶⁾によって、 α T の長鎖代謝物である α T-13'-COOH が PXR を活性化することも報告されている。

Bartolini らは、ヒト hPXR とコアクティベータの *in vitro* 結合アッセイを用いて、いくつかのビタミン E 代謝物の PXR 活性化能を測定した。その結果、 δ T3 の長鎖代謝物であるガルシン酸 (δ T3-13'-COOH) が EC₅₀ 値

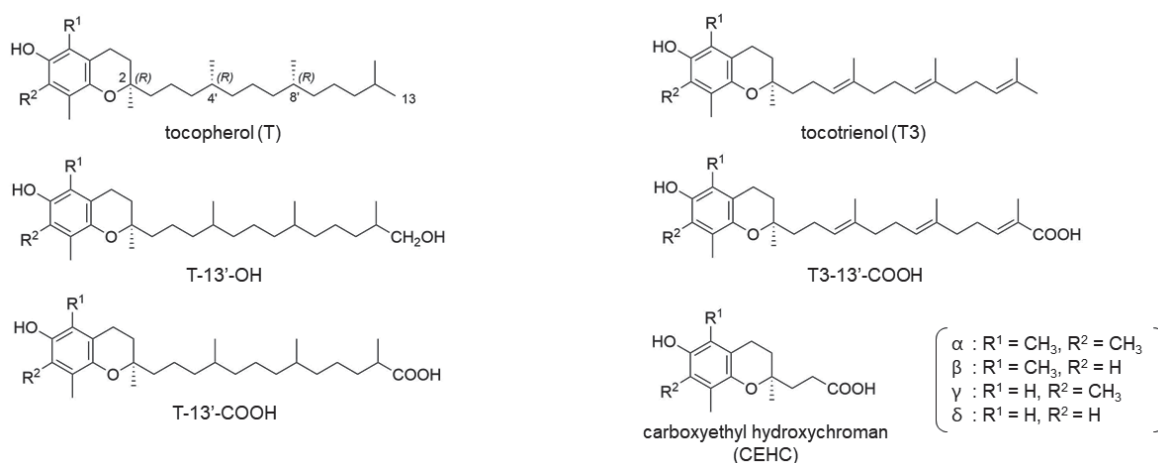


図 1 ビタミン E 各同族体と代謝物の構造

1.3 μM (最大活性: T0901317 (ポジティブコントロール) 比 103%) の有意な PXR 活性化能を示した一方で, 短鎖代謝物である α -CEHC や γ -CEHC は活性化能を示さなかった. また, T の長鎖代謝物である α T-13'-COOH や δ T-13'-COOH, あるいは α T-13'-OH や δ T-13'-OH も EC_{50} 値 1.5 μM ~ 3.3 μM で PXR 活性化能を示したが, それらの最大活性はいずれも T0901317 比で 11 ~ 24% と低かった. また, ガルシン酸のグルクロン酸抱合体は有意に PXR 活性化能が低下した.

次に, 培養細胞を用いて, PXR 標的遺伝子の発現に対するガルシン酸の作用を検討した. ガルシン酸 (1 μM -50 μM) は HepG2 細胞において, 濃度依存的に PXR および CYP3A4 の mRNA 量とタンパク量を増加させ, その効果は siPXR 処理により消失した. また, MDR1 の mRNA 量の増加や p 糖タンパク質 (p-GP) 活性の増大も認められた. PXR の mRNA 量増加は, HepaRG 細胞においても認められた. さらに, マウスを用いた *in vivo* 実験で, ガルシン酸 (5 mg, 10 mg, 25 mg) 投与により, 肝および小腸において, PXR の mRNA 量およびタンパク量, CYP3A11 (マウスで CYP3A4 に対応するアイソフォーム) および MDR1 のタンパク量が増加することを確認した.

本研究で Bartolini らは, hPXR のリガンド結合ドメイン (LBD) とガルシン酸の共結晶を作成し, ガルシン酸の結合コンフォメーションおよび受容体との相互作用を X 線結晶構造解析から明らかにしている (PDB ID: 6P2B). hPXR-LBD 中で, ガルシン酸はリガンド結合ポケットに単一のコンフォメーションで結合した

(図 2A). 結晶構造中, ガルシン酸のクロマン環部位は 3 個の芳香族アミノ酸側鎖 (Phe288, Trp299, Tyr306) とファンデルワールス相互作用を, また Gln285 側鎖および Ser247 主鎖アミドと水素結合を形成していた. 末端カルボン酸構造を含む側鎖構造は大きく折り畳まれたコンフォメーションでリガンド結合ポケットに収納され, カルボン酸は His407 側鎖と静電的な相互作用を形成していることが示された (図 2B). このことから, クロマン環の疎水性と水素結合能, 必要な折り畳みコンフォメーションを取ることができる不飽和側鎖, そして側鎖末端のカルボン酸構造の存在がガルシン酸の PXR リガンド活性に重要であると考えられる.

本論文では, T3 の同族体のうち δ T3 の長鎖代謝物であるガルシン酸 (δ T3-13'-COOH) についてのみ記述されており, α , β , γ の各 TE 同族体に関しては 13'-COOH 代謝物の PXR リガンド活性を評価していない. 結晶構造から考察すると, クロマン環の疎水性置換基は結合親和性に大きく影響する可能性があり, メチル基の数と置換位置が異なる T3 各同族体で, 13'-COOH 代謝物の PXR リガンド活性が異なることが考えられる. また, 本研究および Podszun ら⁶⁾ の研究のいずれも, T の長鎖代謝物 (T-13'-COOH, T-13'-OH) は, 対応する T3 の長鎖代謝物の側鎖二重結合を接触還元により飽和構造に変換することで合成している. そのため側鎖の立体配置が (4'R, 8'R) である天然体とは異なり, 立体異性体の混合物を用いて評価を行っている. 本研究の X 線結晶構造解析からは, 側鎖の折り畳みコン

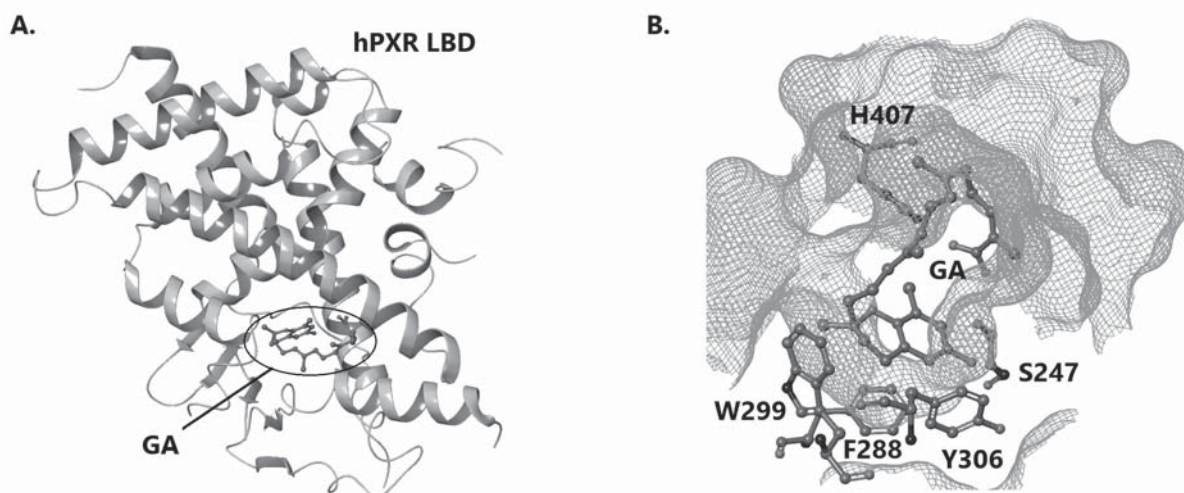


図2 hPXR とガルシン酸 (GA: δ T3-13'-COOH) の共結晶構造 (PDB ID: 6P2B より本稿筆者作成)

(A) hPXR-LBD の全体図. (B) リガンド結合ポケット周辺と, 相互作用の様子. タンパク質表面をメッシュで表す.

フォメーションがPXRとの結合に重要であることから、側鎖の立体異性体の間でPXRリガンド活性が異なる可能性も考えられる。Tの天然体(2R, 4'R, 8'R)と合成体(立体異性体の混合物)では脳内移行性が異なることが報告され本誌トピックスでも紹介されているが⁷⁻⁹⁾、代謝物の立体異性体間での生理作用における差異も、今後重要になってくるかもしれない。ビタミンE代謝物について、同族体間での構造活性相関、また立体異性体間での構造活性相関の解明が期待される。また、本稿で紹介した論文の研究グループは、ガルシノ酸がPXR活性化を介して脳内のβアミロイドの沈着を抑制することを報告しており¹⁰⁾、ビタミンE代謝物の生理機能解析が創薬へ発展する可能性を示している。

Key words :vitamin E, metabolite, garcinoic acid, pregnane X receptor, PXR

Institute of Biomaterials and Bioengineering, Tokyo Medical and Dental University, 2-3-10 Kanda-Surugadai, Chiyoda-ku, Tokyo 101-0062, Japan.

Shinya Fujii

東京医科歯科大学生体材料工学研究所

藤井 晋也

利益相関自己申告：申告すべきものなし

(2022.6.6 受付)

参考文献

- 1) Jiang, Q (2022) Metabolism of natural forms of vitamin E and biological actions of vitamin E metabolites. *Free Radic Biol Med* **179**, 375-387
- 2) Galli F, Azzi A, Birringer M, Cook-Mills JM, Eggersdorfer M, Frank J, Cruciani G, Lorkowski S, Ozer NK (2017) Vitamin E: Emerging aspects and new directions. *Free Radic Biol Med* **102**, 16-36
- 3) Schmölz L, Birringer M, Lorkowski S, Wallert M (2016) Complexity of vitamin E metabolism. *World J Biol Chem* **7**, 14-43
- 4) Bartolini D, De Franco F, Torquato P, Marinelli R, Cerra B, Ronchetti R, Schon A, Fallarino F, De Luca A, Bellezza G, Ferri I, Sidoni A, Walton WG, Pellock SJ, Redinbo MR, Mani S, Pellicciari R, Gioiello A, Galli F (2020) Garcinoic acid is a natural and selective agonist of pregnane X receptor. *J Med Chem* **63**, 3701-3712
- 5) Zhou C, Tabb MM, Sadatrafiei A, Grün F, Blumberg B (2004) Tocotrienols activate the steroid and xenobiotic receptor, SXR, and selectively regulate expression of its target genes. *Drug Metab Dispos* **32**, 1075-1082
- 6) Podszun MC, Jakobi M, Birringer M, Weiss J, Frank J (2017) The long chain α -tocopherol metabolite α -13'-COOH and γ -tocotrienol induce P-glycoprotein expression and activity by activation of the pregnane X receptor in the intestinal cell line LS 180. *Mol Nutr Food Res* **61**, 1600605
- 7) Ranard KM, Kuchan MJ, Bruno RS, Juraska JM, Erdman JW Jr (2020) Synthetic α -tocopherol, compared with natural α -tocopherol, downregulates myelin genes in cerebella of adolescent *Tpa*-null mice. *J Nutr* **150**, 1031-1040.
- 8) Ranard KM, Kuchan MJ, Juraska JM, Erdman JW Jr. (2021) Natural and synthetic α -tocopherol modulate the neuroinflammatory response in the spinal cord of adult *Tpa*-null mice. *Curr Dev Nutr* **5**, nzab008
- 9) 池田彩子, 小林美里, 阪野朋子 (2021) 合成ビタミンE摂取によるビタミンE立体異性体の脳への移行. *ビタミン* **95**, 487-490
- 10) Marinelli R, Torquato P, Bartolini D, Mas-Bargues C, Bellezza G, Gioiello A, Borrás C, De Luca A, Fallarino F, Sebastiani B, Mani S, Sidoni A, Viña J, Leri M, Bucciantini M, Nardiello P, Casamenti F, Galli F (2020) Garcinoic acid prevents β -amyloid (A β) deposition in the mouse brain. *J Biol Chem* **295**, 11866-11876