

トピックス

脂溶性ビタミンと SARS-CoV-2 に関する最近の知見

Recent hot topics on fat-soluble vitamins and SARS-CoV-2

新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) は重症急性呼吸器症候群コロナウイルス-2 (SARS-CoV-2: severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) が原因で発症する呼吸器疾患であり, 症状として急性肺障害, 肺炎, 味覚障害および嗅覚障害などの非定型症状が挙げられる. 2023 年 2 月 1 日現在, COVID-19 は世界中で 650 万人以上の死亡をもたらしており, 世界中で COVID-19 の予防と治療を目指した研究が続けられている. 生命科学や生物医学に関する関連文献を掲載する検索エンジン PubMed において「COVID-19」で検索したところ, 2017 ~ 2022 年間で 334,000 件以上, 「SARS-CoV-2」で 191,000 件以上が報告されていた. 世界的に COVID-19 治療法に対する強い関心があることが分かる (Fig. 1).

SARS-CoV-2 は感染した個体の呼吸飛沫および粘膜接触などにより別の個体の体内に侵入する. SARS-CoV-2 のスパイクタンパク質はアンジオテンシン変換酵素 2 (ACE2: Angiotensin-converting enzyme 2) に結合する受容体結合ドメインを有しており, 宿主細胞へ侵入する役割を持つ. スパイクタンパク質は ACE2 と結合する際に宿主細胞の II 型膜貫通セリンプロテアーゼ (TMPRSS2: Transmembrane protease serine 2) の切断を受ける. 露出したスパイクタンパク質の疎水性アミノ酸と細胞膜が融合することで SARS-CoV-2 は宿主細胞に侵入する. 侵入した SARS-CoV-2 の RNA は宿主細胞

胞の翻訳機構を用いて, タンパク質前駆体であるポリタンパク質を合成し, ポリタンパク質は SARS-CoV-2 由来の 3CL protease によって切断される. この切断時に合成された RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ (RdRp: RNA-dependent RNA polymerase) が RNA を鋳型とし, 次世代 RNA と様々なウイルスタンパク質を生成する. その後ゴルジ体において殻が形成され, RNA を取り込むことで新たな SARS-CoV-2 となり細胞外へ放出される. この一連の流れを繰り返すことで SARS-CoV-2 は増殖を行っている (Fig. 2).

昨今, ビタミンに関する研究は急速な勢いで進歩しており, 生体内機能を正常に維持するためにビタミンが重要な働きを担うことが注目を集めている. また脂溶性ビタミンであるビタミン D, ビタミン A, ビタミン K は核内受容体を介して重要な生理活性タンパク質を産生させることが知られている. つまり脂溶性ビタミンはリガンドとして機能することで様々な生理活性に関与していると考えられる.

今回は SARS-CoV-2 増殖の抑制において, 重要な働きを示す各脂溶性ビタミンにおける最近の知見を報告する.

1. SARS-CoV-2 に対するビタミン A の役割

ビタミン A の同族体であるレチノール, レチナール,

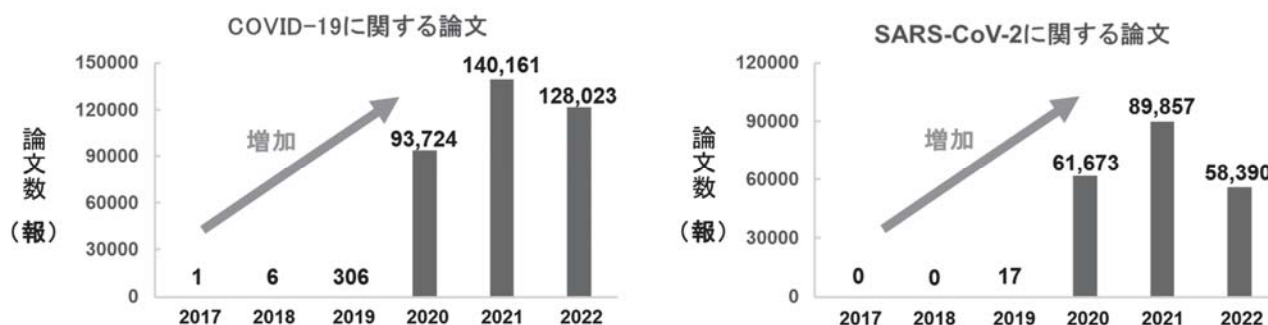


Figure. 1 PubMed において COVID-19, SARS-CoV-2 に関連する論文

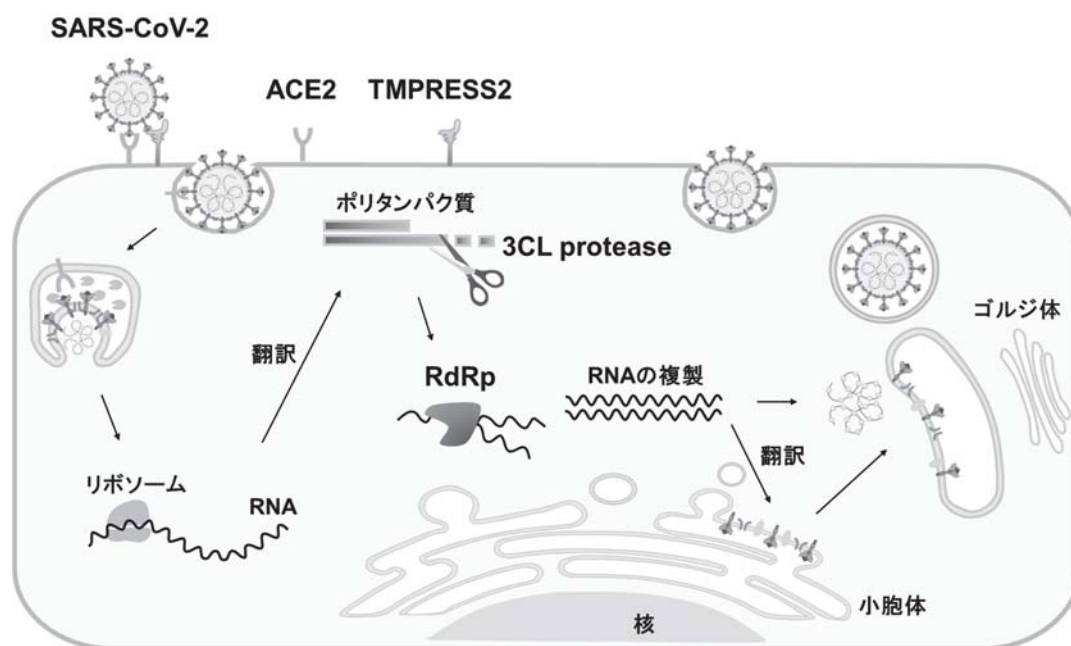


Figure. 2 SARS-CoV-2 の増殖過程

レチノイン酸などはレチノイドと総称され、生体内で吸収されたレチノールからレチナールおよびレチノイン酸に変換されることで活性を示す。レチナールは視覚サイクルにおいて重要な働きをして、レチノイン酸は細胞分化などに関与している。またインフルエンザなどのウイルス感染時において、レチノイン酸はRIG-I (Retinoic acid-inducible gene-I) を活性化し、1型インターフェロン (IFN-1: interferon type-1) による免疫系を促進することが知られている¹⁾。

PubMedにおいて、ビタミンAとSARS-CoV-2に関する論文は73件報告されている(2023年2月1日現在)。最近、レチノイドのひとつであるトレチノイン (ATRA: *all-trans* retinoic acid) がSARS-CoV-2に対して抗ウイルス活性を示すことが明らかとなった。Moritaらは天然化合物のライブラリをスクリーニングし、ATRAがSARS-CoV-2の3CL protease活性を効率的に阻害することを発見した²⁾。

またIFN-1をノックダウンしたVeroE6/TMPRSS2細胞を用いてSARS-CoV-2に感染させ、ATRAで処理した後に細胞死の阻害を細胞生存率アッセイによって評価した。その結果ATRAの添加濃度依存的に細胞の生存率が向上した。さらに蛍光免疫染色法により、ATRAの濃度依存的にウイルス量が減少していることが確認された。以上の研究によりATRAには3CL proteaseを阻害することでSARS-CoV-2に対して抗ウイルス活性を示すことが示唆された。

YamadaらはATRAが誘導するRIG-IがSARS-CoV-2のRdRpを阻害することを発見した³⁾。A549細胞をSARS-CoV-2に感染させ、RT-PCRによりRNAを定量した。その結果、RIG-IをノックダウンしたA549細胞において有意にSARS-CoV-2由来のRNAが増加した。以上の研究によりATRAによって誘導されたRIG-IはRdRpを阻害することでSARS-CoV-2に対して抗ウイルス活性を示すことが示唆された。

2. SARS-CoV-2に対するビタミンDの役割

ビタミンDはキノコ類由来のビタミンD₂と動物由来のビタミンD₃などの同族体が存在し、肝臓や腎臓で水酸化を受けることで活性型ビタミンD [1,25(OH)₂D] となる。ビタミンDの生体内活性として腸内カルシウムの吸収促進による血清カルシウムとリン酸塩濃度の維持、ならびに骨芽細胞と破骨細胞による骨形成の調整が知られている⁴⁾。

PubMedにおいて、ビタミンDとSARS-CoV-2に関する論文は1,007件報告されている(2023年2月1日現在)。QayyumらはビタミンDとその誘導体、代謝物のRdRp、3CL protease阻害活性をそれぞれ評価した。その結果、1,25(OH)₂Dは有意にSARS-CoV-2由来のRdRp、と3CL proteaseの活性を阻害した⁵⁾。また前述の化合物群投与時における、ACE2とSARS-CoV-2由来スパイクタンパク質との相互作用をELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) により評価した。その結果、1,25(OH)₂D

は ACE2 とスパイクタンパク質との結合を $0.1 \mu\text{M}$ で抑制した⁶⁾。以上の結果から、 $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ は SARS-CoV-2 由来の RdRp および 3CL protease, ACE2 を阻害することで抗ウイルス作用を示すことが明らかとなった。

3. SARS-CoV-2 に対するビタミン K の役割

ビタミン K は一般に、生体内で γ -グルタミルカルボキシラーゼの補酵素として働き、骨形成作用や血液凝固作用を示すことが知られている。同族体としてフィロキノン、メナキノンが存在し、フィロキノンは生体内で代謝されることでメナジオン (MD) となることが知られている⁷⁾。

PubMed において、ビタミン K と COVID-19 に関する論文は 74 件報告されている (2023 年 2 月 1 日現在)。Wang らはアメリカ食品医薬品局 (FDA : Food and Drug Administration) によって承認された薬物ライブラリを蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET : Fluorescence resonance energy transfer) 法によりスクリーニングし、メナジオンが SARS-CoV-2 の 3CL protease を時間依存的に阻害することを発見した⁸⁾。MD はウイルスのキノン感知応答抑制因子 (QsrR : quinone-sensing and response repressor) と時間依存的に共有結合することが明らかとなっている⁹⁾。Wang らは MD 添加による 3 分後と 33 分後の 3CL protease 活性を、FRET 法によって測定した。その結果、 IC_{50} (half maximal inhibitory concentration) は 30 分間で 0.2 倍となった ($20.96\text{--}4.78 \mu\text{M}$)。以上の研究により、MD は時間依存的に 3CL protease と共有結合することで 3CL protease 活性を阻害することが示唆された。

4. SARS-CoV-2 に対するビタミン E の役割

ビタミン E はクロマン環に側鎖が結合した両親媒性の構造を有しており、側鎖に不飽和結合がないトコフェロールと側鎖に不飽和結合があるトコトリエノールに分類される。それぞれ、クロマン環に結合するメチル基の数や位置の違いによって α , β , δ , γ , の 4 種類の同族体が存在する。 α -トコフェロールはラジカル連鎖反応によって過酸化脂質の生成を防ぎ、抗酸化作用を示すことが知られている。

PubMed において、ビタミン E と COVID-19 に関する論文は 46 件報告されている (2023 年 2 月 1 日現在)。Pacl らは SARS-CoV-2 に感染させた Calu3 細胞に既存の COVID-19 治療薬であるレムデシビル (RDV: Remdesivir) とビタミン E 誘導体である D- α -トコフェロールポリエチレングリコールコハク酸塩 (TPGS : D- α -tocopherol polyethylene glycol succinate) の混合液を添加した。その結果、RDV 単体と比較して混合液投与群は細胞生存率

が有意に増加した。また、TPGS の構成成分である α -トコフェロールが RdRp を阻害していることが明らかとなった。以上の結果から α -トコフェロールの誘導体である TPGS は RDV と相乗効果を示すことで RdRp を効率的に阻害することが示唆された¹⁰⁾。

5. 総括

各脂溶性ビタミンが SARS-CoV-2 の増殖に必要な ACE2 および 3CL protease, RdRp を阻害することが示唆された。現在、いずれの化合物も臨床応用には至っていないが、SARS-CoV-2 増殖抑制の選択肢を増やすことは COVID-19 の治療に対する新たなアプローチとして期待できる。

Key words :SARS-CoV-2, COVID-19, RdRp, 3CL, ACE2, vitamin

¹ Laboratory of Organic Synthesis and Medicinal Chemistry, Department of Bioscience and Engineering, College of Systems Engineering and Science, Shibaura Institute of Technology

² Laboratory of Biochemistry, Department of Bioscience and Engineering, College of Systems Engineering and Science, Shibaura Institute of Technology

Taiki Homma¹, Yoshihisa Hirota², Mayu Hayakawa², Yoshitomo Suhara¹

¹ 芝浦工業大学 システム理工学部 生命科学科 創薬化学研究室

² 芝浦工業大学 システム理工学部 生命科学科 生化学研究室

本間 大暉¹, 廣田 佳久², 早川 真由², 須原 義智¹

利益相反自己申告：申告すべきものなし

(2023.2.14 受付)

文 献

- 1) Alison K, Michael G (2015) RIG-I in RNA virus recognition. *Virology* **479**, 110–121
- 2) Morita T, Miyakawa K, Sundararaj S, Yamaoka Y, Tomoko K, Sada M, Kuniyasu T, Jinwei Y, Kimura H, Ryo A (2021) All-Trans Retinoic Acid Exhibits Antiviral Effect against SARS-CoV-2 by Inhibiting 3CLpro Activity. *Viruses* **13**, 1669–1681
- 3) Yamada T, Sato S, Sotoyama Y, Orba Y, Sawa H, Yamauchi H,

- Sasaki M, Takaoka A (2021) RIG-I triggers a signaling-abortive anti-SARS-CoV-2 defense in human lung cells. *Nature Immunology* **22**, 820–828
- 4) Ángel G, Julio P, María D (2018) Vitamin D: Classic and Novel Actions. *Ann Nutr Metab* **72**, 87–95
- 5) Qayyum S, Mohammad T, Slominski R, Hassan M, Tuckey R, Raman C, Slominski A (2021) Vitamin D and lumisterol novel metabolites can inhibit SARS-CoV-2 replication machinery enzymes. *Endocrinology and metabolism* **321**, 246–251
- 6) Qayyum S, Mohammad T, Slominski R, Raman C, Slominski A (2022) Novel CYP11A1-Derived Vitamin D and Lumisterol Biometabolites for the Management of COVID-19. *Nutrients* **14**, 4779–4793
- 7) Hirota Y, Suhara Y (2019) New Aspects of Vitamin K Research with Synthetic Ligands: Transcriptional Activity via SXR and Neural Differentiation Activity. *IJMS* **20**, 3006–3017
- 8) Wang R, Hu Q, Zhu G, Wang M, Zhang Q, Zhao Y, Li C, Zhang Y, Ge G, Chen H, Chen L (2021) Identification of Vitamin K3 and its analogues as covalent inhibitors of SARS-CoV-2 3CL^{pro}. *Int J Biol Macromol* **183**, 182–192
- 9) Jia Q, Zhanga L, Jonesb M, Suna F, Denga X, Lianga H, Choc H, Brugarolasa P, Gaoa Y, Petersonb S, Land L, Baec T, He C (2013) Molecular mechanism of quinone signaling mediated through S-quinonization of a YodB family repressor QsrR. *Proc Natl Acad Sci USA* **110**, 5010–5015
- 10) Pacll H, Tipper J, Sevalkar R, Crouse A, Crowder C, Ahmad S, Ahmad A, Holder G, Kuhlman C, Chinta K, Nadeem S, Green T, Petit C, Steyn A, Harrod K (2021) Water-soluble tocopherol derivatives inhibit SARS-CoV-2 RNA-dependent RNA polymerase. *bioRxiv* **15**, 1–42