

トピックス

動物におけるカロテノイドの細胞内局在 Subcellular localization of carotenoids in animals

はじめに

カロテノイドは植物や光合成を行う一部の生物が産生する脂溶性の色素化合物であり、自然界に750種類以上存在する。カロテノイドは炭素と水素で構成されるカロテンと炭素と水素の他に酸素を含有するキサントフィルから構成される。食物連鎖を通じて様々な動物組織に蓄積され、ヒトでは約20種類のカロテノイドが体内で検出される。その中でも、カロテンの β -カロテン、 α -カロテン、リコペン、そしてキサントフィルの β -クリプトキサニン、ゼアキサニン、ルテインの6種類がヒトの体内で検出されるカロテノイドの約90%を占める。カロテノイドは多数の共役二重結合をもつ特徴的な構造であり、分子内に9つ以上の共役二重結合をもつと高い抗酸化作用を示す。カロテノイドの一部はプロビタミンAであり、カロテノイド酸化開裂酵素である β -carotene oxygenase 1 (BCO1)によって、ビタミンAに代謝される。また、その他のカロテノイドもカロテノイド酸化開裂酵素である β -carotene oxygenase 2 (BCO2)によってアポカロテナールに代謝される。一方で、キサントフィルはBCO1とBCO2に依存しない系で水酸基が酸化的に代謝される。カロテノイドあるいはその代謝物は、抗炎症作用、抗老化作用、抗ガン作用、抗肥満作用、骨格筋機能向上作用など、様々な生理機能を有している。カロテノイドは構造的な性質から細胞膜内に留まるだけでなく、細胞質ゾルやミトコンドリア、核、小胞体など様々な細胞内小器官に存在することが知られている。本稿では、カロテノイドのトコンドリア局在に関する最新の知見を紹介する。

カロテノイドの吸収と組織分布

脂溶性のカロテノイドは体内の水溶性の環境では拡散が難しく、細胞外及び細胞内で移動するための輸送機構が存在する。食事由来のカロテノイドは消化の過程で胆汁酸やコレステロール、脂肪酸、リン脂質、モノアシル

グリセロールを含む混合ミセルに取り込まれることで可溶化される。混合ミセルに可溶化されたカロテノイドの一部が単純拡散及び促進拡散によって腸管上皮細胞に取り込まれる。促進拡散にはカロテノイドトランスポーターである scavenger receptor class B member 1 (SR-B1) や CD36, NPC1 like intracellular cholesterol transporter 1 (NPC1L1) が関与する¹⁾²⁾。腸管上皮細胞におけるカロテノイドトランスポーターの発現量は生体内のビタミンA濃度に応じて制御されており、ビタミンAが十分量存在する状態では、転写因子である intestine specific homeobox (ISX) によってカロテノイドトランスポーターの発現が抑制されている。一方で、ビタミンAが不足する状態では、ISXの発現量が低下することで、カロテノイドトランスポーターの発現量が増加する。ISXは腸管上皮細胞におけるBCO1の発現量も負に制御しており、ビタミンAが不足する状態ではISX依存的にBCO1の発現量が増加する³⁾⁴⁾。これらの発現制御によって、ビタミンAが不足する状態ではカロテノイドが積極的に吸収され、さらにビタミンAへと代謝されることで、生体内のビタミンA量が調節される。腸管上皮細胞内に取り込まれたカロテノイドはカイロミクロンに組み込まれてリンパ液中に分泌され、全身を循環する⁵⁾。カロテノイドの種類によって蓄積される組織分布は異なっており、 β -カロテン、 α -カロテン、および β -クリプトキサニンは副腎>精巣>肝臓の順に多く、リコペンは精巣>副腎>肝臓の順に多く組織に蓄積される⁶⁾。一方、ゼアキサニンとルテインは脂肪組織や肝臓の他、網膜に蓄積される⁷⁾⁻⁹⁾。カロテノイドの種類による組織分布の違いにはカロテノイド結合タンパク質が関わっており、ゼアキサニン結合タンパク質として glutathione S-transferase P1, ルテイン結合タンパク質として steroidogenic acute regulatory domain protein 3 (StARD3) が網膜での蓄積に関与する¹⁰⁾¹¹⁾。さらに、HDLの構成タンパク質である ApoA-I と BCO2 のダブルノックアウトマウスでは、BCO2 ノックアウトマウスと比較して肝臓中においてカロテノイド量が多いが血中と網膜中では少ないこと

から、肝臓中のカロテノイドが HDL を介して網膜に運搬されることが示唆されている¹²⁾。鎌状赤血球症患者における血中 ApoA-I レベルとカロテノイド濃度を調査した研究によると、血中の単量体 ApoA-I 濃度は鎌状赤血球症患者では 30.4 $\mu\text{g/mL}$ であるのに対し、同等の HDL コレステロール値を示す健常者では 141 $\mu\text{g/mL}$ と、鎌状赤血球症患者の単量体 ApoA-I 濃度は健常者と比較して約 80% 低値を示した¹³⁾。また鎌状赤血球症患者では健常者と比較して血中のルテイン、ゼアキサンチン、 β -クリプトキサンチン、 β -カロテンの濃度がそれぞれ、64.0%, 68.7%, 84.2%, 79.2% 低値を示した。さらに、健常者の血中単量体 ApoA-I 濃度は血中ルテイン ($r=0.52$; $p<0.005$) 及びゼアキサンチン ($r=0.42$; $p=0.026$) と正の相関関係を示した。これらのことからヒトにおいても ApoA-I がカロテノイドの循環に関与することが示唆されている。表面プラズモン共鳴法によって結合親和性を測定した結果、ApoA-I との結合親和性は β -カロテン > ゼアキサンチン > ルテインの順に高く、また、HDL の他のアポリポタンパク質である ApoE と ApoD も ApoA-I と同様のパターンを示した¹²⁾。一方で、ApoA-II と β -カロテンの結合は確認されず、ApoM との結合親和性は β -カロテン > ルテイン > ゼアキサンチンの順に高かった。これらの結果からカロテノイドの組織分布の違いにアポリポタンパク質が関与することが示唆されている。さらに、HDL と SR-BI の間の架橋因子として機能し、エステル化コレステロールの選択的取り込みを担う肝リパーゼ (LIPC) は HDL とカロテノイド存在下で培養した SR-BI を高発現する HEK293 細胞においてルテインの取り込みを 18%、ゼアキサンチンの取り込みを 20%、 β -カロテン取り込みを 11% 増加させた。これらの結果から LIPC が HDL と SR-BI を介した組織へのカロテノイドの選択的取り込みに関与することが示唆されている¹²⁾。

カロテノイドの細胞内分布

カロテノイドは脂溶性の化合物であり、自由拡散によって細胞内を移動することが難しいと考えられるが、様々な細胞小器官への存在が確認されている。カロテノイドの種類によって細胞内の局在が異なり、 β -カロテンは他のキサントフィル類と比べてミトコンドリアへの蓄積量が少ない。 β -カロテンはミトコンドリア膜間腔に多くが存在するのに対して、キサントフィルであるゼアキサンチンはミトコンドリア内膜に多く存在している。BCO1 は細胞質ゾルに局在し、 β -カロテンと α -カロテンのような β イオノン環を少なくとも

一つもつプロビタミン A は BCO1 の基質となるが、その他のキサントフィルは基質とならない¹⁴⁾⁻¹⁶⁾。一方で BCO2 はミトコンドリアに局在し、基質特異性が低くカロテン類やキサントフィル類を基質とする¹⁷⁾⁻¹⁹⁾。BCO1 ノックアウトマウスでは野生型マウスと比較して血中及び肝臓中の β -カロテン量が増加するが、BCO2 ノックアウトマウスでは血中及び肝臓中の β -カロテン量に変化しない²⁰⁾。一方で、アポカロテナールの存在量は BCO2 ノックアウトマウスでは検出限界以下となる。つまり、 β -カロテンは主に BCO1 によって代謝されており、生体内で BCO2 の基質となるがその量はわずかであることが示唆される。一方で、キサントフィルである β -クリプトキサンチンの肝臓中の量は BCO2 ノックアウトマウスでは増加するが、BCO1 ノックアウトマウスでは変化がない。また、BCO2 ノックアウトマウスにおけるゼアキサンチン、ルテイン、アスタキサンチンなどのキサントフィル類の存在量は野生型マウスと比較して増加する。つまり、キサントフィル類は主に BCO2 によって代謝される。これらの結果は、カロテノイドの細胞内局在の結果と一致しており、カロテノイドの細胞内局在の制御が厳密に行われていることを示唆している。

カロテノイドの細胞内輸送機構はこれまで不明であったが、Bandara ら²¹⁾⁻²²⁾によってカロテノイドをミトコンドリアへ輸送するタンパク質として Aster タンパク質が同定された。Aster タンパク質は小胞体で C 末端の膜貫通ドメインが固定されている一方で、その構造の大部分が細胞質ゾルに露出しているタンパク質であり、SR-BI の下流で作用して、コレステロールの細胞膜から小胞体及びミトコンドリアへの動員を担う²³⁾⁻²⁵⁾。Aster タンパク質の中央部分には親油性の溝でステロールに結合する StART 様ドメインが含まれている。ルテイン結合タンパク質として同定された StARD3 もコレステロール輸送を担うなど、コレステロールとカロテノイドの化学的類似性からカロテノイドも StART 様ドメインを介して細胞内輸送が行われているかが調査された結果、Aster タンパク質の StART 様ドメインはカロテノイドと高い親和性で結合し、カロテノイドとコレステロールが同じ結合部位をめぐる競合することも示された²¹⁾。さらに、生体内における Aster タンパク質ファミリーのうち Aster-B の組織における発現量とゼアキサンチンの蓄積が一致することも示されている²¹⁾。Aster-B は β -カロテン、リコピン、ゼアキサンチンに結合することが明らかにされている。ヒト肺腺癌基底上皮腺癌細胞 A549 細胞において、Aster-B のノックダウンによってミトコンドリア中のゼアキサンチン

量が減少する一方で、細胞質ゾル中のゼアキサンチン量が増加した²²⁾。これらの結果から、Aster-Bがカロテノイドの蓄積やミトコンドリアへの輸送に関わるということが明らかにされた。

おわりに

本稿ではカロテノイドの細胞内局在とその制御機構について、最新の知見を紹介した。カロテノイドは構造によって組織分布に特異性があり、これまでカロテノイドの蓄積部位における生理機能は、カロテノイドの組織分布の解析から見いだされた。そのため、今後、カロテノイドの細胞内局在の制御機構に関する研究が進むことで、カロテノイドの新たな生理機能の発見や、生理機能の制御につながることが期待される。

Key words: carotenoid, subcellular localization, mitochondria

¹Department of Applied Biological Chemistry, Graduate School of Agriculture, Osaka Metropolitan University

²Center for Research and Development of Bioresources, Osaka Metropolitan University

Tomoya Kitakaze¹, Naoki Harada¹, Ryoichi Yamaji^{1,2}

¹大阪公立大学農学研究科生命機能化学専攻

²大阪公立大学生物資源開発センター

北風 智也¹, 原田 直樹¹, 山地 亮一^{1,2}

利益相反自己申告：申告すべきものなし

(2025.2.26 受付)

文 献

- 1) Reboul E and Borel P. (2011) Proteins involved in uptake, intracellular transport and basolateral secretion of fat-soluble vitamins and carotenoids by mammalian enterocytes. *Prog Lipid Res* **50**, 388–402
- 2) Kitakaze T, Sugihira T, Kameyama H, Maruchi A, Kobayashi Y, Harada N, Yamaji R. (2022) Carotenoid transporter CD36 expression depends on hypoxia-inducible factor-1 α in mouse soleus muscles. *J Clin Biochem Nutr* **71**, 112–121
- 3) Lobo GP, Hessel S, Eichinger A, Noy N, Moise AR, Wyss A, Palczewski K, von Lintig J. (2010) ISX is a retinoic acid-sensitive gatekeeper that controls intestinal β , β -carotene absorption and vitamin A production. *FASEB J* **24**, 1656–1666
- 4) Seino Y, Miki T, Kiyonari H, Abe T, Fujimoto W, Kimura K, Takeuchi A, Takahashi Y, Oiso Y, Iwanaga T, Seino S. (2008) Isx participates in the maintenance of vitamin A metabolism by regulation of β -carotene 15,15'-monooxygenase (Bcmo1) expression. *J Biol Chem* **283**, 4905–4911
- 5) Brown MJ, Ferruzzi MG, Nguyen ML, Cooper DA, Eldridge AL, Schwartz SJ, White WS. (2004) Carotenoid bioavailability is higher from salads ingested with full-fat than with fat-reduced salad dressings as measured with electrochemical detection. *Am J Clin Nutr* **80**, 396–403
- 6) Stahl W, Schwarz W, Sundquist AR, Sies H. (1992) *cis-trans* isomers of lycopene and β -carotene in human serum and tissues. *Arch Biochem Biophys* **294**, 173–177
- 7) Chung HY, Ferreira AL, Epstein S, Paiva SA, Castaneda-Sceppa C, Johnson EJ. (2009) Site-specific concentrations of carotenoids in adipose tissue: relations with dietary and serum carotenoid concentrations in healthy adults. *Am J Clin Nutr* **90**, 533–539
- 8) Leo MA, Rosman AS, Lieber CS. (1993) Differential depletion of carotenoids and tocopherol in liver disease. *Hepatology* **17**, 977–986
- 9) Bone RA, Landrum JT, Friedes LM, Gomez CM, Kilburn MD, Menendez E, Vidal I, Wang W. (1997) Distribution of lutein and zeaxanthin stereoisomers in the human retina. *Exp Eye Res* **64**, 211–218
- 10) Bhosale P, Larson AJ, Frederick JM, Southwick K, Thulin CD, Bernstein PS. (2004) Identification and characterization of a Pi isoform of glutathione S-transferase (GSTP1) as a zeaxanthin-binding protein in the macula of the human eye. *J Biol Chem* **279**, 49447–49454
- 11) Li B, Vachali P, Frederick JM, Bernstein PS. (2011) Identification of StARD3 as a lutein-binding protein in the macula of the primate retina. *Biochemistry* **50**, 2541–2549
- 12) Li B, George EW, Vachali P, Chang FY, Gorusupudi A, Arunkumar R, Giaque NA, Wan Z, Frederick JM, Bernstein PS. (2023) Mechanism for the selective uptake of macular carotenoids mediated by the HDL cholesterol receptor SR-BI. *Exp Eye Res* **229**, 109429
- 13) Niesor EJ, Perez A, Rezzi S, Hodgson A, Canarelli S, Millet G, Debevec T, Bordat C, Nader E, Connes P. (2024) Plasma monomeric ApoA1 and high-density lipoprotein bound ApoA1 are markedly decreased and associated with low levels of lipophilic antioxidants in sickle cell disease: A potential new pathway for therapy. *Eur J Haematol* **113**, 788–797
- 14) Wyss A, Wirtz G, Woggon W, Brugger R, Wyss M, Friedlein A, Bachmann H, Hunziker W. (2000) Cloning and expression of β , β -carotene 15,15'-dioxygenase. *Biochem Biophys Res Commun* **271**, 334–336
- 15) Lindqvist A and Andersson S. (2002) Biochemical properties of purified recombinant human β -carotene 15,15'-monooxygenase. *J Biol Chem* **277**, 23942–23948
- 16) Kim YS and Oh DK. (2009) Substrate specificity of a recombinant chicken β -carotene 15,15'-monooxygenase that converts β -carotene into retinal. *Biotechnol Lett* **31**, 403–408

- 17) Amengual J, Lobo GP, Golczak M, Li HN, Klimova T, Hoppel CL, Wyss A, Palczewski K, von Lintig J. (2011) A mitochondrial enzyme degrades carotenoids and protects against oxidative stress. *FASEB J* **25**, 948–959
- 18) Kiefer C, Hessel S, Lampert JM, Vogt K, Lederer MO, Breithaupt DE, von Lintig J. (2001) Identification and characterization of a mammalian enzyme catalyzing the asymmetric oxidative cleavage of provitamin A. *J Biol Chem* **276**, 14110–14116
- 19) Lobo GP, Isken A, Hoff S, Babino D, von Lintig J. (2012) BCDO2 acts as a carotenoid scavenger and gatekeeper for the mitochondrial apoptotic pathway. *Development* **139**, 2966–2977
- 20) Amengual J, Widjaja-Adhi MAK, Rodriguez-Santiago S, Hessel S, Golczak M, Palczewski K, von Lintig J. (2013) Two carotenoid oxygenases contribute to mammalian provitamin A metabolism. *J Biol Chem* **288**, 34081–34096
- 21) Bandara S, Ramkumar S, Imanishi S, Thomas LD, Sawant OB, Imanishi Y, von Lintig J. (2022) Aster proteins mediate carotenoid transport in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* **119**, e2200068119
- 22) Bandara S, Moon J, Ramkumar S, von Lintig J. (2023) ASTER-B regulates mitochondrial carotenoid transport and homeostasis. *J Lipid Res* **64**, 100369
- 23) Sandhu J, Li S, Fairall L, Pfisterer SG, Gurnett JE, Xiao X, Weston TA, Vashi D, Ferrari A, Orozco JL, Hartman CL, Strugatsky D, Lee SD, He C, Hong C, Jiang H, Bentolila LA, Gatta AT, Levine TP, Ferng A, Lee R, Ford DA, Young SG, Ikonen E, Schwabe JWR, Tontonoz P. (2018) Aster proteins facilitate nonvesicular plasma membrane to ER cholesterol transport in mammalian cells. *Cell* **175**, 514–529.e20
- 24) Naito T and Saheki Y. (2021) GRAMD1-mediated accessible cholesterol sensing and transport. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids* **1866**, 158957
- 25) Andersen JP, Zhang J, Sun H, Liu X, Liu J, Nie J, Shi Y. (2020) Aster-B coordinates with Arf1 to regulate mitochondrial cholesterol transport. *Mol Metab* **42**, 101055