

トピックス

ビタミン C の新たな機能：ビトシル化は免疫応答を強化する

A novel function of vitamin C: Vitosylation enhances immune responses

今から 6,100 万年前、霊長類の祖先は、ビタミン C (L-アスコルビン酸) 合成経路の最後の段階で働く酵素、L-グロノラクトン酸化酵素の遺伝子を欠損した。そのため、ヒトは食事からのビタミン C 摂取が必須となり、欠乏すると壊血病を発症する。このようにビタミン C は、私たちの生存に必須な栄養素であり、多くの生理機能が知られる。現在、報告されているビタミン C の生理機能には、コラーゲン重合、カルニチン合成、カテコールアミン合成、ペプチドホルモン合成、チロシン代謝、低酸素応答、エピジェネティクス制御に働く多くの酵素の補因子 (cofactor) としての働き、そして体内での過剰な活性酸素種 (ROS) を消去する働きなどがある¹⁾。最近、ビタミン C の新たな生理機能として、Xiadi ら²⁾によりペプチド、またはタンパク質に含まれるリジン残基の「ビトシル化 (vitcylation)」が Cell 誌に報告された。「ビトシル化」を意識すると「ビタミン C 化」といえるかもしれない。論文の表題を直

訳すると、「リジンのビトシル化は、シグナル伝達兼転写活性化因子 1 (STAT1: Signal transducer and activator of transcription 1) を介して免疫応答を高める」となる。本稿では、この論文を概説する。

Xiadi ら²⁾は、ビタミン C が反応性ラクトン構造 (図 1) を含むことに着目し、そのラクトン構造を介してペプチド、及びタンパク質中のリジン残基の ε-アミノ基を修飾して、ビトシル化するのではないかと仮説を立てた。検証するため、合成リジン含有ペプチドをビタミン C と生理的 pH (7.4) でインキュベートした。そして、マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析装置 (MALDI-TOF/TOF MS: Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry) により、アスコルビン酸モノアニオンがリジン残基を修飾してビトシル-リジンを生成することを確認した (図 1)。また、この反応がリジン残基に特異的であるかを検証するため、合成ペプチドのリジンをアルギニン、アラ

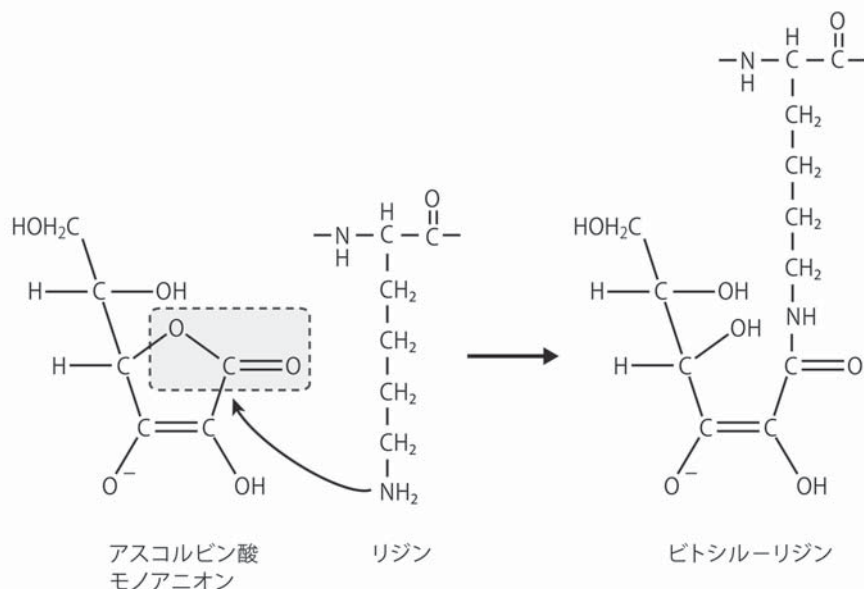


図 1 リジン残基のビトシル化

ニン、システインなどに置換したが、ビトシル化は確認されず、修飾がリジン残基に特異的であることがわかった。

著者らは、次にヒト乳癌細胞系 Cal-51 細胞とマウス乳癌細胞株 E0771 細胞を 2 mM ビタミン C で処理した後、ビトシル化したタンパク質を MALDI-TOF/TOF により分析した。その結果、Cal-51 細胞と E0771 細胞からは、それぞれ 553 個と 1,405 個のビトシル化したタンパク質を同定できた。また、両細胞株に共通していたビトシル化したタンパク質は 89 個であった。さらなるバイオインフォマティクス解析により、ビトシル化したタンパク質は、細胞内の様々なオルガネラに局在し、細胞機能や情報伝達に重要な役割を果たす可能性が示唆された。しかし、ビトシル化するリジン残基を含むコンセンサス配列が存在するのかを明らかにするまでには至らなかった。

細胞内でリジン残基が本当にビトシル化するのか、さらに検証するため、ビトシル-リジンに対する特異的ポリクローナル抗体を作製した。そして、ドットブロットやウエスタンブロット解析により、ビトシル化したタンパク質の検出を試みた。その結果、ウエスタンブロット解析により、ビタミン C 処理したヒト乳癌細胞系 Cal-51 細胞とマウス乳癌細胞株 E0771 細胞の溶解物にビトシル化したタンパク質のバンドが検出された。さらに、ビトシル化したタンパク質は、ビタミン C の濃度依存的 (0.2, 0.5, 1.0, 2.0 mM)、時間依存的 (6, 12, 24 時間)、pH 依存的 (7.0, 7.5, 8.0) に増加した。また、ミトコンドリアマトリックスの pH 値 (7.7 ~ 8.2) は、細胞質の pH 値 (7.0 ~ 7.4) より少し高いため³⁾⁴⁾、ミトコンドリアのタンパク質は、細胞質のタンパク質よりもビトシル化したタンパク質の量が多かった。

次に、細胞にビトシル化する酵素が存在するかを確かめるため、変性した細胞溶解物と未変性の細胞溶解物を用いて、タンパク質のビトシル化を比較、検討した。その結果、未変性の細胞溶解物を用いた場合、ビタミン C によるタンパク質のビトシル化を確認できた。しかし、変性した細胞溶解物では、ビタミン C によるタンパク質のビトシル化を確認できなかった。これは、細胞には、ビトシル化を触媒する酵素が存在する可能性を強く示唆している。しかし、酵素の同定には至っていない。

細胞内でのビトシル化の機能的役割を調べるため、次に GO (Gene ontology) 解析やエンリッチメント解析 (GSEA : Gene set enrichment analysis) を行った。その結果、免疫や炎症反応に関与することが知られる、IFN- γ 応答、IFN- α 応答、炎症応答関連遺伝子の発現が

ビタミン C 処理と関連することがわかった。これら遺伝子の中でも特に、ビタミン C 処理により STAT1 のリジン 298 番目 (K298) がビトシル化することを同定できたため、STAT1 の K298 に注目した。STAT1 の K298 は、脊椎動物で保存されている重要な機能調節部位⁵⁾⁻⁷⁾であり、高次構造でもタンパク質の表面に露出していることから、ビトシル化される。さらに、STAT1 のチロシン 701 番目がリン酸化 (pSTAT1) されると核移行し、IFN 応答を促進する⁸⁾⁹⁾。そのため、STAT1 のビトシル化とリン酸化との関連を調べた。すると、STAT1 のビトシル化とリン酸化の両方がビタミン C 濃度依存的に増加した。さらに、ビタミン C 処理により STAT1 のユビキチン化も促進され、STAT1 の分解も進むことがわかった。これは、ビタミン C によるビトシル化が STAT1 のリン酸化を促進する一方、STAT1 の分解も促進して、過剰な IFN 応答を防ぐなど、二重の役割を担うことを示唆している。この制御機構は、ビタミン C による STAT1 のビトシル化がリン酸化、核内移行、STAT1 分解を調整して、IFN 応答を微妙に調節していることを示している。

STAT1 のリン酸化、核移行は、細胞内で IFN を介した抗原処理と抗原提示につながる (図 2)。そのため、定量 PCR (qPCR : quantitative PCR) により関連遺伝子の発現を解析し、フローサイトメトリーにより主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) / ヒト白血球抗原 (HLA) クラス I の発現を調べた。その結果、ビタミン C 処理により、複数の抗原処理と抗原提示に関与する遺伝子の発現が増加した。また、IFN- γ 誘導性の MHC/HLA クラス I の発現も増強した。これらの結果は、STAT1 のビトシル化が IFN を介した MHC/HLA クラス I の制御に寄与し、抗原処理および抗原提示の調節にビトシル化が重要な役割を果たすことを示している。

さらに、ビタミン C による腫瘍の抑制効果を *in vivo* で調べるため、マウス乳癌細胞株 E0771 細胞を移植したマウスにビタミン C を腹腔内投与 (4 g/kg/ 日) した。その結果、ビタミン C 投与により、腫瘍の成長が抑制され、生存期間が延長した。しかし、同系統の免疫不全マウスでは、腫瘍成長の抑制効果は認められなかった。

著者ら²⁾の結果を要約すると、ビタミン C による STAT1 のビトシル化は、STAT1 のリン酸化を促進し、腫瘍細胞における抗原処理と抗原提示を増強する (図 2)。これにより、免疫細胞が活性化され、腫瘍細胞の成長を抑制する。長年に渡り、高容量ビタミン C 投与による癌の縮小効果の是非が議論されてきた¹⁰⁾⁻¹⁴⁾。ビタミン C によるタンパク質に含まれるリジン残基のビトシル化の発見は、ビタミン C の新たな機能として、

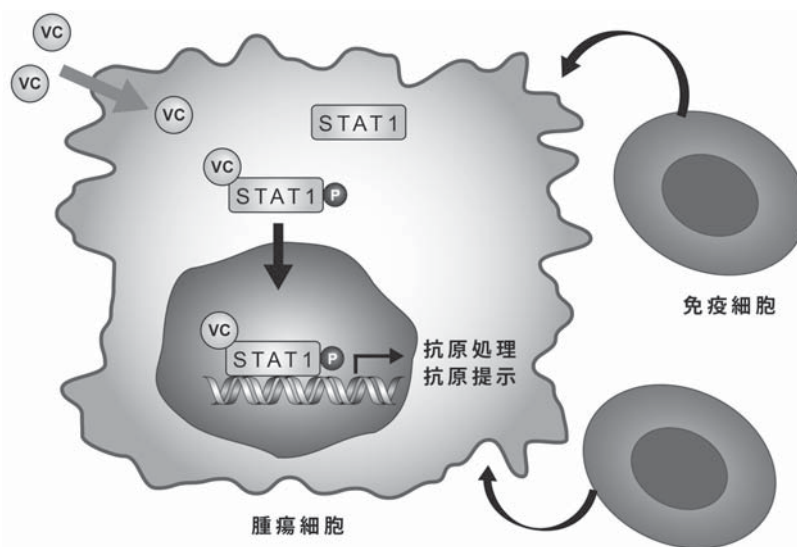


図2 ビトシル化は免疫応答を強化する

ビタミンCによる抗腫瘍効果を説明できるのかも知れない。今後、リジン残基のビトシル化に関する研究の発展を期待したい。

Key words: Ascorbic acid, Immune response, STAT1, Vitamin C, Vitosylation

Tokyo Metropolitan Institute for Geriatrics and Gerontology
Akihito Ishigami

東京都健康長寿医療センター研究所
石神 昭人

利益相反自己申告：申告すべきものなし

(2025.4.10 受付)

文 献

- 1) 池田彩子, 阪野朋子, 佐伯茂 (2020) ビタミンCは酵素反応の補因子として多様な生理作用を発揮する. ビタミン **94**, 397–400
- 2) He X, Wang Q, Cheng X, Wang W, Li Y, Nan Y, Wu J, Xiu B, Jiang T, Bergholz JS, Gu H, Chen F, Fan G, Sun L, Xie S, Zou J, Lin S, Wei Y, Lee J, Asara JM, Zhang K, Cantley LC, Zhao JJ (2025) Lysine vitosylation is a vitamin C-derived protein modification that enhances STAT1-mediated immune response. *Cell* **188**, 1–20
- 3) Poburko D, Santo-Domingo J, Demareux N (2011) Dynamic regulation of the mitochondrial proton gradient during cytosolic calcium elevations. *J Biol Chem* **286**, 11672–11684
- 4) Platanias LC (2005) Mechanisms of type-I- and type-II-interferon-mediated signalling. *Nat Rev Immunol* **5**, 375–386
- 5) Martinez-Martinez L, Martinez-Saavedra MT, Fuentes-Prior P, Barnadas M, Rubiales MV, Noda J, Badell I, Rodriguez-Gallego C, de la Calle-Martin O (2015) A novel gain-of-function STAT1 mutation resulting in basal phosphorylation of STAT1 and increased distal IFN-gamma-mediated responses in chronic mucocutaneous candidiasis. *Mol Immunol* **68**, 597–605
- 6) Liu S, Jiang M, Wang W, Liu W, Song X, Ma Z, Zhang S, Liu L, Liu Y, Cao X (2018) Nuclear RNF2 inhibits interferon function by promoting K33-linked STAT1 disassociation from DNA. *Nat Immunol* **19**, 41–52
- 7) Chang W, Luo Q, Wu X, Nan Y, Zhao P, Zhang L, Luo A, Jiao W, Zhu Q, Fu Y, Liu Z (2022) OTUB2 exerts tumor-suppressive roles via STAT1-mediated CALML3 activation and increased phosphatidylserine synthesis. *Cell Rep* **41**, 111561
- 8) Darnell JE, Jr., Kerr IM, Stark GR (1994) Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins. *Science* **264**, 1415–1421
- 9) Villarino AV, Kanno Y, O'Shea JJ (2017) Mechanisms and consequences of Jak-STAT signaling in the immune system. *Nat Immunol* **18**, 374–384
- 10) Chen Q, Espey MG, Krishna MC, Mitchell JB, Corpe CP, Buettner GR, Shacter E, Levine M (2005) Pharmacologic ascorbic acid concentrations selectively kill cancer cells: action as a pro-drug to deliver hydrogen peroxide to tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A* **102**, 13604–13609
- 11) Chen Q, Espey MG, Sun AY, Lee JH, Krishna MC, Shacter E, Choyke PL, Pooput C, Kirk KL, Buettner GR, Levine M (2007)

- Ascorbate in pharmacologic concentrations selectively generates ascorbate radical and hydrogen peroxide in extracellular fluid *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci U S A* **104**, 8749–8754
- 12) Chen Q, Espey MG, Sun AY, Pooput C, Kirk KL, Krishna MC, Khosh DB, Drisko J, Levine M (2008) Pharmacologic doses of ascorbate act as a prooxidant and decrease growth of aggressive tumor xenografts in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* **105**, 11105–11109
- 13) Bottger F, Valles-Marti A, Cahn L, Jimenez CR (2021) High-dose intravenous vitamin C, a promising multi-targeting agent in the treatment of cancer. *J Exp Clin Cancer Res* **40**, 343
- 14) Magri A, Germano G, Lorenzato A, Lamba S, Chila R, Montone M, Amodio V, Ceruti T, Sassi F, Arena S, Abrignani S, D'Incalci M, Zucchetti M, Di Nicolantonio F, Bardelli A (2020) High-dose vitamin C enhances cancer immunotherapy. *Sci Transl Med* **12**, 8707