

〈資料〉

## β-カロテン代謝のニュートリゲノミクス研究

木内 幸子<sup>1)</sup>、渭原 博<sup>1)</sup>、西口 慶一<sup>2)</sup>、横田 浩充<sup>3)</sup>

### Nutrigenomics research on β-carotene metabolism

Sachiko Kiuchi<sup>1)</sup>, Hiroshi Ihara<sup>1)</sup>, Yoshikazu Nishiguchi<sup>2)</sup> and Hiromitsu Yokota<sup>3)</sup>

**Summary** β-Carotene is an essential fat-soluble nutrient and a precursor of vitamin A. Because humans are unable to synthesize β-carotene de novo, we need to consume it from plant-based foods. In the intestinal enterocytes, β-carotene is absorbed along with dietary lipids, and is cleaved into two molecules of retinal by β-carotene 15-15'-monooxygenase (BCMO1). Recently, several genetic studies have reported on the metabolism of β-carotene, such as its absorption and transportation in the enterocyte, and regulation of BCMO1 gene. In this mini review, we have focused on the activation and repression of BCMO1 gene, respectively, by thyroid hormone and retinoic acid. In addition, we discuss how single nucleotide polymorphism (SNP) in the BCMO1 gene affects on the enzyme activity in the European and Japanese populations.

**Key words:** β-Carotene, β-Carotene 15-15'-Monooxygenase (BCMO1), Single nucleotide polymorphism (SNP), Genetic variations

#### I. はじめに

β-カロテンはビタミンA（レチノール）の前駆体（プロビタミンA）であるとともに、抗酸化物質として働く脂溶性栄養素である。1モルのβ-カロテンは、ビタミンE（α-トコフェロール）

1モルに相当する抗酸化能をもつ<sup>1)</sup>。植物はアセチルCoAから3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリルCoA（HMG-CoA）、メバロン酸、ゲラニルピロリン酸、ファルネシルピロリン酸（ここまでは、動物のコレステロール合成系と同じ）、次いでゲラニルゲラニルピロリン酸、フィトエ

<sup>1)</sup> 千葉科学大学危機管理学部医療危機管理学科  
〒288-0025 千葉県銚子市潮見町15-8

<sup>2)</sup> 城西国際大学薬学部医療薬学科  
〒283-8555 千葉県東金市求名1

<sup>3)</sup> 東邦大学理学部臨床検査課程  
〒274-8515 千葉県舟橋市三山2-2-1

<sup>1)</sup> Faculty of Risk and Crisis Management, Chiba Institute of Science, 15-8 Shiomi, Choshi, Chiba 288-0025, Japan

<sup>2)</sup> Faculty of Pharmaceutical Sciences, Josai International University, 1 Gumyo, Togane, Chiba 283-8555, Japan

<sup>3)</sup> Education Development Center, Faculty of Science, Toho University, 2-2-1 Miyama, Funabashi, Chiba 274-8515, Japan

受付日：2018年3月28日

採択日：2018年4月4日

ン、リコペン経路でβ-カロテンを合成 (de novo 合成) している<sup>2)</sup>。

動物はβ-カロテンを合成できず、緑黄色野菜や柑橘類などの植物性食品から摂取しなければならない。摂取したβ-カロテンは、小腸上皮細胞で吸収されてビタミンA (レチナール) に転換される。β-カロテンを2分子のレチナールに開裂する酵素が、β-カロテン15,15'-モノオキシゲナーゼ (BCMO1: EC 1.13.11.63) である。レチナールは細胞内結合蛋白 (Cellular retinol binding protein-2: CRBP-2) と結合して腸細胞内を輸送されレチノールに還元され、さらに脂肪酸 (パルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸) と結合してレチニルエステルとしてカイロミクロンのコアに取り込まれリンパに入る (Fig. 1)。なお、β-カロテン開裂酵素にはアイソザイムに相当するβ-カロテン9',10'-モノオキシゲナーゼ (BCO2: EC 1.13.11.71) (1分子のレチナールを生成する) がある。

現代人が摂取するビタミンAの半量はβ-カロテン由来 (米国で40%、我が国で60%)<sup>3,4)</sup> であるが、動物性食品 (肉類や乳製品) もビタミンA (レチニルエステル) の供給源である<sup>3)</sup>。ビタミンAの吸収と体内動態ならびに輸送蛋白 (Plasma RBP-4) の臨床的意義については既報<sup>5)</sup> で詳述したので、本稿では、小腸細胞におけるβ-カロテンの開裂の調整と開裂酵素BCMO1の遺伝子多型について、近年のゲノム栄養学知見に我々の研究成果を併せ解説する。

## II. 甲状腺ホルモンによる BCMO1 の活性化

甲状腺ホルモン (Triiodothyronine: T3) は、核内受容体 (Thyroid hormone receptor: THR) に結合し、次いでレチノイドX 受容体 (Retinoid X receptor: RXR) とヘテロダイマーを構成する。THR・RXR複合体はThyroid hormone response element (THRE) に結合して、16番染色体 (16q23.2) にあるBCMO1遺伝子の発現とmRNAを増加させ、BCMO1酵素を活性化する (Fig. 2)。このような分子メカニズムがヒト小腸Caco-2 BBe細胞 (ヒト結腸癌由来の細胞株で、分化して小腸上皮細胞様な細胞モデルとなる) を用いた研究で報告されている<sup>6)</sup>。

我々は、甲状腺ホルモン (T3) 濃度が低ければ、BCMO1によるβ-カロテンの開裂が低下し、血液中に開裂しないβ-カロテンが蓄積し、その濃度が高まるのではないかと考えた。甲状腺疾患 (低下症と亢進症) 患者について、血清FT3 (Free T3) 濃度と血清β-カロテン濃度の関係を調べると、FT3濃度が低下すると高β-カロテン血症 (>2.14 μmol/L) を呈するグループとβ-カロテン濃度が基準範囲 (0.06–2.14 μmol/L) に留まるグループが認められた (Fig. 3)。全例の相関係数は、-0.178とFT3とβ-カロテン濃度は負の関係にあるが有意でない<sup>7)</sup>。なお、症例に緑黄色野菜の過剰摂取やサプリメントの常用者は含まれない。これらの成績から血液中のβ-カロテン濃度はFT3以外の因子によっても調整

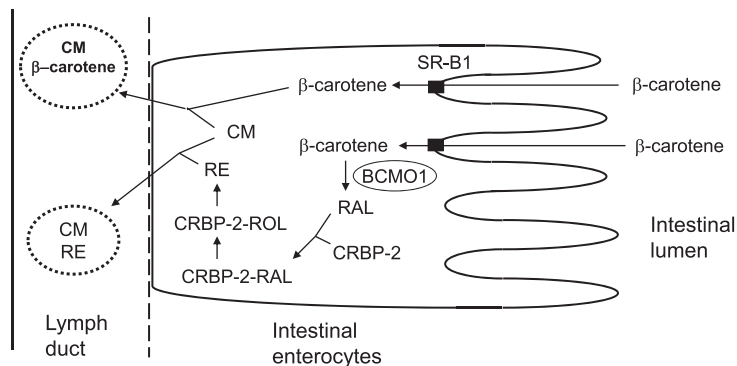


Fig. 1 Cellular uptake and transportation of dietary β-carotene in the enterocyte.  
 SR-B1: scavenger receptor class B type 1, BCMO1: β-carotene 15,15'-monooxygenase, RAL: retinal, ROL: retinol, CRBP-2: cellular retinol binding protein-2, RE: retinyl ester, CM: chylomicron.

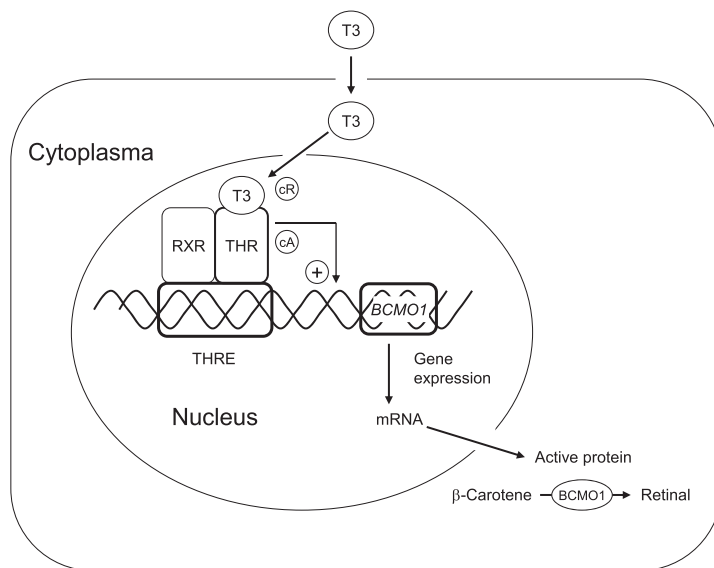


Fig. 2 A molecular mechanism of stimulation of BCMO1 gene by triiodothyronine. T3: triiodothyronine, RXR: retinoid X receptor, THR: thyroid hormone receptor, THRE: thyroid hormone response element, BCMO1:  $\beta$ -carotene 15,15'-monooxygenase, cR: co-repressor, cA: co-activator.

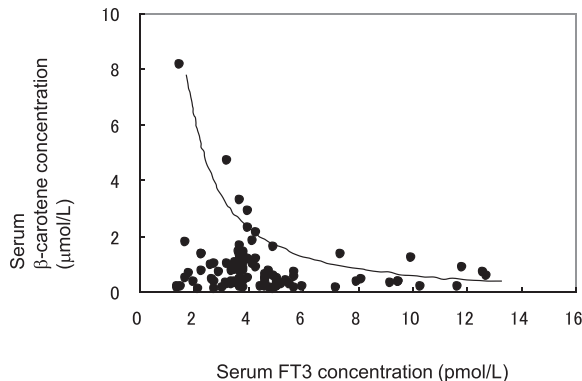


Fig. 3 Relationship between free triiodothyronine (FT3) levels and serum  $\beta$ -carotene concentrations in 101 patients with thyroid disorders.

されていることが推察された（東邦大学大橋倫理委員会審査承認番号：橋承14-54）。

### Ⅲ. レチノイン酸による BCMO1 活性の抑制

ビタミンA（レチノイン酸）は分子レベルで BCMO1活性をネガティブフィードバック機構で抑制している<sup>8)</sup>。体内のビタミンAが充足時には、レチノイン酸はレチノイン酸受容体

（Retinoic acid receptor: RAR）に結合し、さらにレチノイドX受容体（RXR）とヘテロダイマーを形成する。RAR・RXR複合体はRetinoic acid response element（RARE）に結合して、小腸に特異的なIntestine specific homeodomain transcription factor（ISX）のプロモーター領域に作用して、その発現を活性化する（Fig. 4）。活性化されたISX遺伝子は、脂質や脂溶性ビタミンの吸収に関わるScavenger receptor class B type 1（SR-B1）受

容体とBCMO1の遺伝子発現を抑制して、β-カロテンの開裂と小腸での吸収を抑制的に調整する。

一方、体内のビタミンAが不足した状態では、レチノイン酸が低下しているのでISX遺伝子の発現は抑制されず、小腸でのSR-B1受容体とBCMO1の遺伝子は正常に発現される。このようなメカニズムで、β-カロテンの吸収からレチノールへの代謝が調整されているが、ヒトのSR-B1遺伝子は12番染色体(12q24.31)にあり、ISXからBCMO1へのシグナル伝達への研究が求められている。

このような背景から、我々は、ビタミンAの血液中レベルがβ-カロテン開裂の抑制(血中蓄積)を反映しているか健康者(20名)について比較を行った(東邦大学大橋倫理委員会審査承認番号:橋承14-54)。血清レチノール(基準範囲内:1.05-2.86 μmol/L)とβ-カロテン濃度は負の関係にあるが相関性は低い( $r = -0.100$ )結果を得た<sup>7)</sup>(Fig. 5)。レチノール/β-カロテンモル比は0.02~1.19(中央値:0.23)と広く分布するので、β-カロテン代謝の体内動態のモル比を用いた研究を考えている。

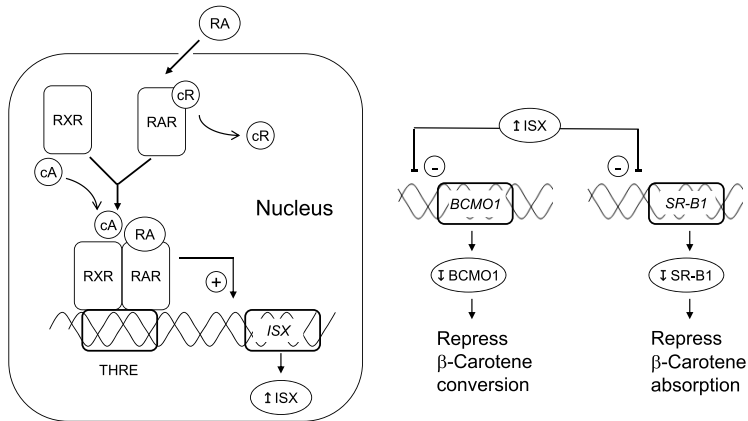


Fig. 4 A molecular mechanism of repression of BCMO1 gene expression and absorption of β-carotene in enterocyte.

BCMO1: β-carotene 15,15'-monooxygenase, RA: tetinoic acid, RXR: retinoid X receptor, RAR: retinoic acid receptor, ISX: intestine specific homeodomain transcription factor, SR-B1: scavenger receptor class B type 1, cR: co-repressor, cA: co-activator.

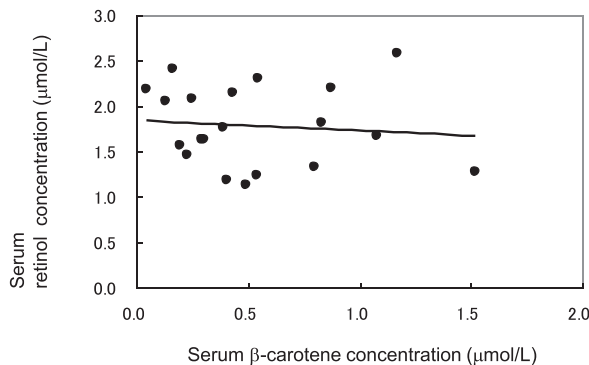


Fig. 5 Relationship between serum concentrations of β-carotene and retinol in 20 healthy adults.

#### IV. BCMO1 の遺伝子多型

肉食系のネコなどはBCMO1遺伝子が発現していないので、小腸で吸収されたβ-カロテンはレチナールに開裂されない。ネコのビタミンAの供給源はレチニルエステルであり、CRBP-2やPlasma RBP-4に代わってリポ蛋白が体内輸送に働く。一方、草食動物ではβ-カロテンの小腸での吸収は悪いが、レチナールに容易に変換される<sup>9)</sup>。

ヒトではβ-カロテンの吸収と変換効率はよいが、低BCMO1活性を引き起こす遺伝子変異の頻度が、ヨーロッパ系(35~50%)、中国系(10~30%)、日本人(5~25%)で異なることが報告されている<sup>10)</sup>。BCMO1遺伝子の一塩基多型(Single nucleotide polymorphism: SNP)によって惹起され、対立遺伝子の変異はA379V(rs7501331, C>T, Ala→Val)とR267S(rs12934922, A>T, Arg→Ser) + A379Vと報告されている。β-カロテンに対する親和性(Km: μmol/L)は、野生型(18.3 μmol/L)、R267S(17.9)、A379V(12.3)、R267S + A379V(19.5)、酵素活性(V<sub>max</sub>: nmol·mg protein<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>)は、野生型(2.3)、R267S(2.2)、A379V(2.0)、R267S + A379V(1.0)

と報告されている。BCMO1のコード領域(エクソン)での変異は、ヨーロッパ系、日系人とも酵素活性を低下させている。

さらにBCMO1遺伝子のプロモーター領域のSNPもBCMO1の酵素活性に影響を与えている。英国人の女性28名にβ-カロテンと脂肪食を摂取させ、摂取前と摂取3時間後に採血し、総レチニルエステルとβ-カロテンの血清中濃度ならびにモル比(総レチニルエステル/β-カロテンモル比)を比較した研究が行われている<sup>10,11,12)</sup>。同時に被験者のBCMO1遺伝子のプロモーター領域のSNP(rs6420424, rs8044334, rs11645428, rs6564851)の解析を行っている(Table 1)。プロモーター領域が転写を低下させるSNPであれば、BCMO1遺伝子の発現は低くなる。その結果、BCMO1の酵素活性は低く、未開裂のβ-カロテンが血液中に蓄積する(レチニルエステルは増加しない)。rs6420424, rs11645428, rs6564851のBCMO1酵素活性は、それぞれ、59%、51%、48%の低下にあるが、rs8044334では野生型と比べて活性は高い。BCMO1のプロモーター領域での変異は、BCMO1の酵素活性に繋がるrs6420424とrs11645428では、ヨーロッパ系と日系人で頻度に大きな異なりが認められる<sup>10,12,13)</sup>。

Table 1. Single nucleotide polymorphisms in the coding region and upstream of BCMO1

SNP ID	Wild-type allele <sup>11)</sup>	Vriant allele(BCMO1 activity) <sup>11)</sup>	Genotype (frequency, %) <sup>10,12)</sup>	
			European	Japanese
A379V rs7501331	C	T(repress)	CC(45.9)	CC(71.8)
			CT(49.5)	CT(27.3)
			TT(4.5)	TT(0.9)
R267S rs12934922	A	T(repress)	CC(31.7)	CC(72.1)
			CT(49.2)	CT(27.9)
			TT(19.1)	TT(0.0)
rs6420424	G	A(repress)	GG(22.3)	GG(2.7)
			AG(49.1)	AG(26.5)
			AA(28.6)	AA(70.8)
rs8044334	G	T(activate)	GG(14.4)	GG(12.5)
			GT(46.8)	GT(46.4)
			TT(38.7)	TT(41.1)
rs11645428	A	G(repress)	AA(10.6)	AA(0.0)
			AG(40.7)	AG(0.0)
			GG(48.7)	GG(100.0)
rs6564851	T	G(repress)	TT(18.9)	TT(2.7)
			GT(49.5)	GT(33.9)
			GG(31.5)	GG(63.4)

rs6564851 (BCMO1活性↓)とrs8044334 (BCMO1活性↑)では、ヨーロッパ系と日系で頻度の異なりは少ない。

## V. まとめ

草食動物では、ビタミンAの摂取に、β-カロテン開裂酵素(BCMO1)を欠くことができない。肉食動物では、ビタミンAはレチニルエステルとして摂取されるので、BCMO1の必須性は少ない。ヒト(ヨーロッパ系とアジア系)では、食習慣(肉食と菜食)という選択圧(Selective pressure)が、BCMO1の遺伝子多型(SNP)と関わりをもつか興味ある課題である。これまでの研究では、コード領域のSNPはBCMO1活性を低下させるので、変異の頻度は日本人で低く、西欧人で高く、この仮説を説明できるものと考ええる。一方、プロモーター領域の変異は、BCMO1遺伝子の転写を低下させるSNP頻度が日本人で高く、仮説の説明に更なる研究が求められる。BCMO1活性を増加させるSNPの存在、β-カロテンの吸収に必要な脂質の吸収のヨーロッパ系とアジア系の違いも関連するのではないかと考える。

COI報告書に記載したとおり、本論文内容に関連する著者(ら)の利益相反：なし

## 文献

- 1) Ihara H, Oikawa Y, Kakinoki T, Morita Y, Matsumoto N, Shino Y, Takamiya K, Suzuki M, Katsumata S, Uehara M, Hashizume N: Plasma concentrations of oxidized low-density lipoprotein are related to blood glucose concentration but not to total peroxyl radical-trapping potential. *J Anal Bio-Sci (Seibutsu Shiryo Bunseki)*, 33: 366-370, 2010.
- 2) Edited by Combs Jr, GF: Source of the vitamins. *The Vitamins*, 4th ed., 453-454. Academic Press, Amsterdam (2012).
- 3) Edited by Institute of Medicine: β-Carotene and other carotenoids. *Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids*, 325-382. National Academy Press, Washington, D.C. (2000).
- 4) Ministry of Health, Labour and Welfare (Japan): *Japan National Health and Nutrition Survey 2010*.
- 5) 涓原博：レチノール結合蛋白- 4. *生物試料分析*, 34 : 354-358, 2011.
- 6) Yamaguchi N, Suruga K: Triiodothyronine stimulates CMO1 gene expression in human intestinal Caco-2 BBe cells. *Life Sci*, 82: 789-796, 2008.
- 7) Kiuchi K, Ihara H, Koyasu M, Tani A, Kakinoki T, Shino Y, Nishiguchi Y, Ito N, Yokota H, Hashizume N: Relation between serum levels of thyroid hormone and serum β-carotene concentrations in patients with thyroid disorders. *Int J Anal Bio-Sci*, 6: 1-9, 2018.
- 8) Lobo GP, Hessel S, Eichinger A, Noy N, Moise AR, Wyss A, Palczewski K, von Lintig J: ISX is a retinoic acid-sensitive gatekeeper that controls intestinal beta,beta-carotene absorption and vitamin A production. *FASEB J*, 24: 1656-1666, 2010.
- 9) 日本生化学会編：カロテノイドおよび脂溶性ビタミンの代謝。細胞機能と代謝マップ。I. 細胞の代謝・物質の動態, 232-235, 東京化学同人, 東京, 1997.
- 10) Leung WC, Hessel S, Méplan C, Flint J, Oberhauser V, Tourniaire F, Hesketh JE, von Lintig J, Lietz G: Two common single nucleotide polymorphisms in the gene encoding beta-carotene 15,15'-monooxygenase alter beta-carotene metabolism in female volunteers. *FASEB J*, 23: 1041-1053, 2009.
- 11) NCBI: Reference SNP (refSNP) Cluster Report. [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp\\_ref.cgi?rs=](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=)
- 12) Lietz G, Oxley A, Leung W, Hesketh J: Single nucleotide polymorphisms upstream from the β-carotene 15,15'-monooxygenase gene influence provitamin A conversion efficiency in female volunteers. *J Nutr*, 142: 161S-165S, 2012.
- 13) Edited by Sommerburg O, Siems W, Kraemer K: G Lietz, A Oxley, C Boesch-Saadatmand: Consequences of common genetic variations on β-carotene cleavage for vitamin A supply. *Carotenoids and Vitamin A in Translational Medicine*, 383-396. CRC Press, New York (2013).