

## トコトリエノールの神経保護作用 Neuroprotective effect of tocotrienols

ビタミンEの歴史は1922年にH.M. EvansとK.S. Bishopらがラットの抗不妊因子としての物質Xを発見した事にはじまる<sup>1)2)</sup>。自然界には $\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ -、 $\delta$ -のトコフェロール体とトコトリエノール体の8種類の同族体が存在する(図1)。小腸で吸収されたビタミンEは、肝臓に運ばれた後に $\alpha$ -トコフェロール輸送タンパク質( $\alpha$ -TTP:  $\alpha$ -tocopherol transfer protein)<sup>3)</sup>と結合する事で $\alpha$ -トコフェロールが選択的に体内に運ばれる。 $\alpha$ -TTP発見以前より生体中には $\alpha$ -トコフェロール量が各組織で多い事が明らかであったため、これまでのビタミンEに関する研究は $\alpha$ -トコフェロールを中心に展開されてきた。しかし、近年、トコトリエノールの生理作用に注目が集まっている。このトコトリエノールの作用の中には、トコフェロールより強い作用を示すものもあれば、トコフェロールにはない特有の作用も存在する。その作用には抗酸化作用<sup>4)</sup>は勿論のこと、がん細胞におけるアポトーシスの誘導<sup>5)</sup>、HMG-CoA還元酵素の活性調節<sup>6)</sup>、抗血管新生作用<sup>7)</sup>など抗酸化では説明できない作用を示す報告もある。既に、一部の企業からはサプリメントとして販売されており、社会への浸透も広まりつつあるが、含有する食品が少ない、また含有していてもその量が少ないなどの理由<sup>8)</sup>から、トコフェロール類と比較すると、生

理作用の詳細な解明は遅れていると言わざるを得ない。そこで、本稿ではこれらトコトリエノール類の生理作用の一つとして、その可能性が議論されている神経保護作用に関する文献を紹介する。

2000年にSenらは、マウス海馬由来のHT4細胞を用いてグルタミン酸神経毒性に対するトコフェロール類とトコトリエノール類の細胞死抑制効果について検討している。その結果、10 mMのグルタミン酸を2時間投与した際、低濃度(50 nM)の $\alpha$ -トコフェロールでは認められなかった細胞死抑制効果に対して、同濃度の $\alpha$ -トコトリエノールは有意な抑制効果を示したことが報告されている。しかも、トコトリエノール間での比較では、 $\gamma$ 体よりも $\alpha$ 体の方が高かったとも報告している。さらに、その後の実験から、 $\alpha$ -トコトリエノールによる細胞死抑制効果の作用機序を、チロシンリン酸化酵素のSrcキナーゼの活性化を抑制する事によるとしており、この非抗酸化的作用により $\alpha$ -トコトリエノールはグルタミン酸毒性による細胞死を抑制していると結論付けている<sup>9)</sup>。Srcキナーゼは乳がん細胞で活性化しており、がん細胞の増殖や浸潤に深く関与することが明らかになっている。このことを考慮するとトコトリエノールによるがん細胞でのアポトーシスの誘因効果にも、この経路が何らかの関与をしているのかもしれない。さらに同研究グループは2003年にもこの実験を発展させて報告し、アラキドン酸の代謝酵素である12-リポキシゲナーゼの活性調節が $\alpha$ -トコトリエノールの神経保護作用の主要な作用だともしている<sup>10)</sup>。また、彼ら以外にもトコトリエノール類による細胞死抑制効果に関する報告は多数あり、これより神経保護作用のメカニズムの一つには細胞内シグナル伝達経路への関与が強く伺える。筆者らも実験条件は異なるが、培養細胞への過酸化水素添加時のトコトリエノール類による細胞死抑制効果を検討し、同様に $\alpha$ -トコフェロールよりも $\alpha$ -もしくは $\gamma$ -トコトリエノールの投与で有意に細胞死を抑制する事を確認した<sup>11)</sup>(図2)。この際、過酸化脂質の生成を抑制した他に、軸索特異的タンパク質の発現量や変性をもトコトリエノール類は抑制したことから、抗酸化と非抗酸化の両方が作用していると考え、現在も検討を重ねている。

一方、Kamatらはラジカル惹起剤のAAPHもしくはは

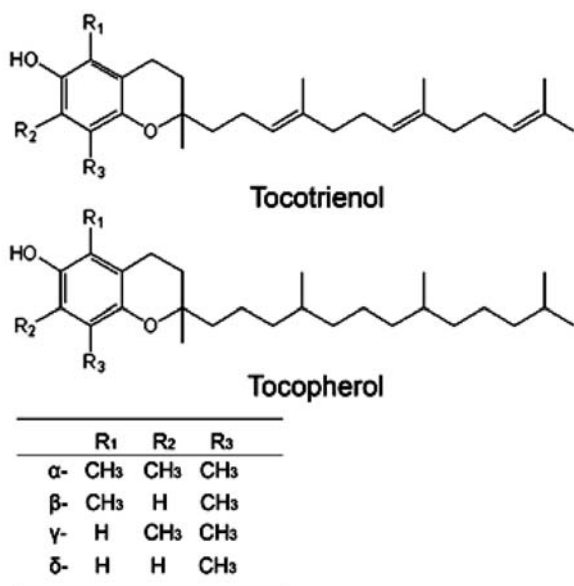


図1 ビタミンEの構造式(11)より引用

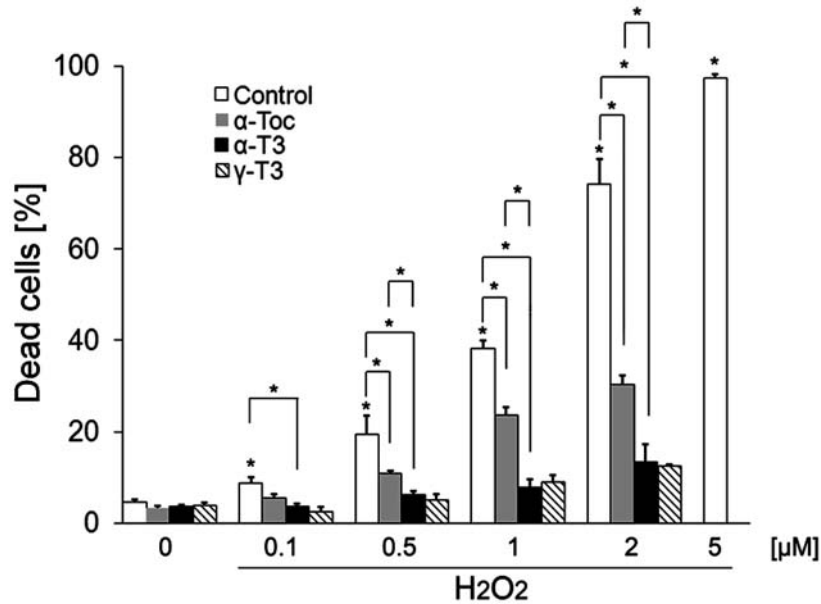


図2 ビタミンEによる細胞死抑制効果 11)より引用

鉄-アスコルビン酸系の *in vitro* において、ラット脳ミトコンドリアでの脂質過酸化に対するトコフェロール類もしくはトコトリエノール類の抑制効果を検討した所、チオバルビツール酸反応物質のTBARSや共役ジエンの生成の抑制効果が $\gamma$ -> $\alpha$ -> $\beta$ -トコトリエノール> $\alpha$ -トコフェロールの順であったと報告している<sup>12)</sup>。トコトリエノール類の添加において脂質過酸化抑制効果が高かった理由として、側鎖が不飽和結合しているために、トコフェロール類よりも細胞膜における移動性が高く、その結果として高い抗酸化性を発揮したのではないかと推察している。既知の様にトコフェロール類とトコトリエノール類の構造の違いは側鎖の二重結合の有無のみである(図1)。細胞膜への取り込まれやすさ、細胞膜中での存在する位置、取り込まれた後の移動性の違いは、以前より $\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ -、 $\delta$ -トコフェロール間でも議論されているものの、トコフェロール類とトコトリエノール類の間でも、抗酸化作用の違いを生み出す大きな要因となっているのかもしれない。他にミトコンドリアとトコトリエノール類との関係では、トコトリエノール類はがん細胞におけるチトクロームC漏出促進によるアポトーシスの誘引<sup>13)</sup>や、ヒト近位尿管上皮細胞であるRPTE細胞において活性酸素種からミトコンドリア膜電位を保護することが報告<sup>14)</sup>されているが、これらはいずれも不思議なことに $\gamma$ -トコトリエノールによるものである。

また、Saitoらは $\alpha$ -トコトリエノールが $\alpha$ -トコフェ

ロールよりも高いグルタミン酸神経毒性に対する抑制効果を示すのは、トコフェロール類の細胞への取り込みが遅いことが原因であり、プレ投与により十分な時間を確保し、同程度の量が細胞にきちんと取り込まれれば、グルタミン酸神経毒性に対する防御効果に、 $\alpha$ -トコフェロールと $\alpha$ -トコトリエノールの間で大きな差は生じないとしている<sup>15)</sup>。むしろ生体で $\alpha$ -TTPが存在する意義などを考慮すれば、 $\alpha$ -トコフェロールの方が高い生理作用があるのではないかとしている。また、あくまでもこの際のビタミンEの作用は抗酸化によるものであり、結果の比較は培地に添加した濃度ではなく実際に細胞に取り込まれた量で行うべきであり、かつその際の分母となるタンパクや脂質の選択に注意することが必要だと考察している。

以上をまとめると、確かにトコトリエノール類はトコフェロール類に比べると細胞種にもよるが、数倍か数十倍取り込まれやすいことは事実である。しかし、この“取り込まれやすさ”というのも、その物質自身が持つ一つの大きな利点・特徴と捉えることは出来ないだろうか？いづれにせよ、何を基準とするかで結果が異なり、相反する主張の論文が異なる科学雑誌に掲載される現状では、まだ、トコフェロール類とトコトリエノール類のどちらの生理作用(何の生理作用を対象とし、どの様な実験系で行うかも重要な問題であるが)が強いのか、また、その作用が抗酸化か非抗酸化によるものかとはいえず、今後のより詳細な検討が待たれる

所である.

**Key Words** : tocotrienols, vitamin E, neuron, neuroprotection

<sup>1</sup> Physiological Chemistry Laboratory, Department of Bioscience and Engineering, College of Systems Engineering and Sciences, Shibaura Institute of Technology, Fukusaku 307, Minuma-ku, Saitama, 337-8570, Japan

<sup>2</sup> Life Support Technology Research Center, Research Organization for Advanced Engineering, Shibaura Institute of Technology, Saitama, Japan,

Koji Fukui<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> 芝浦工業大学システム理工学部生命学科生理化学研究室

<sup>2</sup> 芝浦工業大学先端工学研究機構ライフサポートテクノロジー研究センター

福井 浩二<sup>1,2</sup>

## 文 献

- 1) Evans HM, Bishop KS (1922) On the existence of a hitherto unrecognized dietary factor essential for reproduction. *Science* **56**, 649-651
- 2) 美濃真 (1998) ビタミン研究のブレイクスルー : 「ビタミン E」, (1) ビタミン E の歴史. *ビタミン* **72**, 531-533
- 3) Ouahehi K, Arita M, Kayden H, Hentati F, Ben Hamida M, Sokol R, Arai H, Inoue K, Masndel JL, Koenig M (1995) Ataxia with isolated vitamin E deficiency is caused by mutations in the alpha-tocopherol transfer protein. *Nat Genet* **9**, 141-145
- 4) Packer L, Weber SU, Rimbach G (2001) Molecular aspects of alpha-tocotrienol antioxidant action and cell signaling. *J Nutr* **131**, 369S-373S
- 5) Srivastava JK, Gupta S (2006) Tocotrienol-rich fraction of palm oil induces cell cycle arrest and apoptosis selectively in human

- prostate cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* **346**, 447-453
- 6) Parker RA, Pearce BC, Clark RW, Gordon DA, Wright JJ (1993) Tocotrienols regulate cholesterol production in mammalian cells by post-transcriptional suppression of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase. *J Biol Chem* **268**, 11230-11238
  - 7) Shibata A, Nakagawa K, Sookwong P, Tsuduki T, Oikawa S, Miyazawa T (2009) delta-tocotrienol suppresses VEGF induced angiogenesis whereas alpha-tocopherol does not. *J Agric Food Chem* **57**, 8696-8704
  - 8) Frank J, Chin XW, Schrader C, Eckert GP, Rimbach G (2012) Do tocotrienols have potential as neuroprotective dietary factors? *Ageing Res Rev* **11**, 163-180
  - 9) Sen CK, Khanna S, Rov S, Packer L (2000) Molecular basis of vitamin E action. Tocotrienol potently inhibits glutamate-induced pp60(c-Src) kinase activation and death of HT4 neuronal cells. *J Biol Chem* **275**, 13049-13055
  - 10) Khanna S, Roy S, Ryu H, Bahadduri P, Swaan PW, Ratan RR, Sen CK (2003) Molecular Basis of vitamin E action: tocotrienol modulates 12-lipoxygenase, a key mediator of glutamate-induced neurodegeneration. *J Biol Chem* **278**, 43508-43515
  - 11) Fukui K, Takatsu H, Koike T, Urano S (2011) Hydrogen peroxide induces neurite degeneration: Prevention by tocotrienols. *Free Radic Res* **45**, 681-691
  - 12) Kamat JP, Devasagayam TPA (1995) Tocotrienols from palm oil as potent inhibitors of lipid peroxidation and protein oxidation in rat brain mitochondria. *Neurosci Lett* **195**, 179-182
  - 13) Inoue A, Takitani K, Koh M, Kawakami C, Kuno T, Tamai H (2011) Induction of apoptosis by  $\gamma$ -tocopherol in human cancer cell lines and leukemic blast from patients: dependency on Bid, cytochrom c, and caspase pathway. *Nutr Cancer* **63**, 763-770
  - 14) Nowak G, Bakajsova D, Haves C, Hauer-Jensen M, Compadre CM (2012)  $\gamma$ -tocotrienol protects against mitochondrial dysfunction and renal cell death. *J Pharmacol Exp Ther* **340**, 330-338
  - 15) Saito Y, Nishio K, Akazawa Y.O, Yamanaka K, Miyama A, Yoshida Y, Noguchi N, Niki E (2010) Cytoprotective effect of vitamin E homologues against glutamate-induced cell death in immature primary cortical neuron cultures: Tocopherols and tocotrienols exert similar effects by antioxidant function. *Free Radic Biol Med* **49**, 1542-1549