

エルゴチオニン (EGT)

L-エルゴチオニン (EGT)は、1世紀前にライ麦の麦角中から発見された、珍しい硫黄含有アミノ酸です。それを合成することが知られているのは、アクチノマイセタ目(例:マイコバクテリウム)に属する細菌と、BasidiomycotaおよびAscomycota分類に属する非酵母の菌などです。

EGTは植物界と動物界の両方に広く分布しています。哺乳類は食事を通じてのみETを取得します。EGTは、酸化ストレスに頻繁にさらされる細胞や組織に濃縮されており、最も高濃度なものではミリモルの範囲で血液、眼の水晶体、肝臓、骨髄、精液などに存在します。

EGTは異性体であり、中性水溶液中では主にチオン形式で存在します。これはEGTが自己酸化に対して耐性を持つ理由であり、対照的に速やかに酸化されるもう一つの主要な水溶性チオールであるグルタチオンとは異なります。[1]

1世紀以上前に発見されたこの低分子量のチオール/チオンは、その独特な化学性(例:異常な安定性)や、有機カチオン輸送体新型1(OCTN1)という輸送体の同定、これによってヒトの組織におけるEGTの摂取と蓄積が食事から行われ、また輸送体の発現の差による組織への選択的分布などの理由から、最近再び注目が高まっています。[2]

2005年に、遺伝子slc22a4によってエンコードされるOCTN1が、EGTの主要な輸送体であり、他の関連代謝物よりも高い輸送効率を持つことが発見されました。

この輸送体は、食事からEGTを活発に摂取する責任があり、多くの組織に広く分布しています(図1)。実験室のラットやマウスのほとんど、もしくは全ての組織にはETが存在していますが、彼らの食事には微量のEGTしか含まれていないため、この栄養素の効率的な摂取と保持が示唆されています。[3]

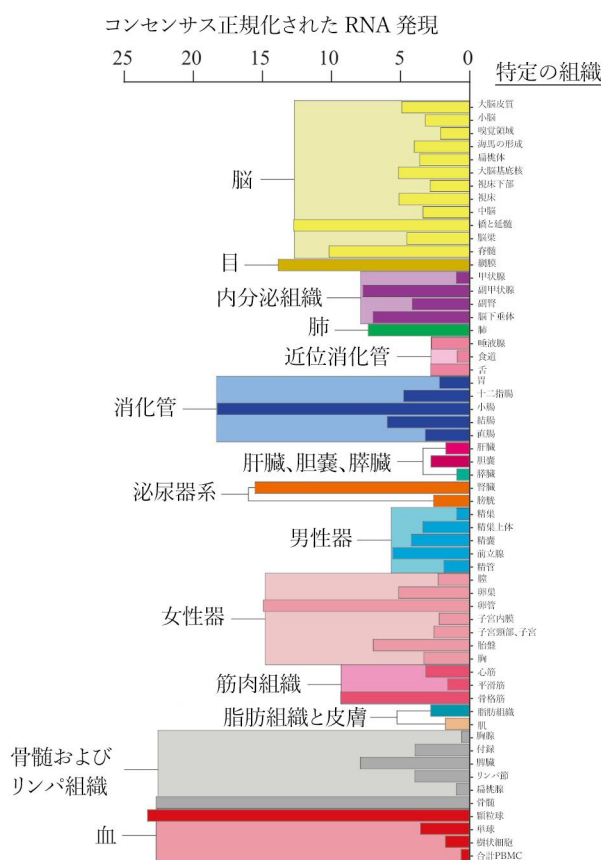


図1. 3つのデータセット(genotype-tissue expression project、human protein atlas dataset、およびFANTOM5プロジェクト)から正規化されたコンセンサスRNA発現データを使用して、ヒトの体内でのslc22a4(OCTN1をエンコード)のRNA発現を示したグラフです。グラフとデータはHuman Protein Atlasから適応されました。

DNAのハロゲネーションにおけるEGT

ミエロペルオキシダーゼ(MPO)は、活性化された白血球によって分泌されるヘムタンパク質であり、次亜塩素酸(HOCl)や次亜臭素酸(HOBr)などのハロゲン化分子の生成により、炎症部位における宿主の防御に重要な役割を果たします。しかし、過剰なハロゲン化合物はDNA、タンパク質、脂質などの宿主の生体大分子も変化させます。

エルゴチオニン(EGT)が炎症関連のDNAハロゲネーションに与える影響を評価するために、EGT処理後の*in vitro*でのミエロペルオキシダーゼ(MPO)活性を測定し、L-ヒスチジン処理後の活性と比較しました(表2-AB)。

炎症の早期マーカーである8-ブロモ-2'-デオキシグアノシン(8-BrdG)は、デオキシグアノシン(dG)とミエロペルオキシダーゼ(MPO)-H₂O₂-Cl⁻/Br⁻システムから生成される次亜臭素酸(HOBr)の反応によって生成されます。8-Bromo-2'-deoxyguanosine(8-BrdG)の形成の抑制は、MPO活性の阻害またはHOBrの除去によるものと考えられます。

EGTのHOBrの消去能力は、グルタチオンやアスコルビン酸などの主要な抗酸化物質と比較して評価されました(表2-C)。^[4]

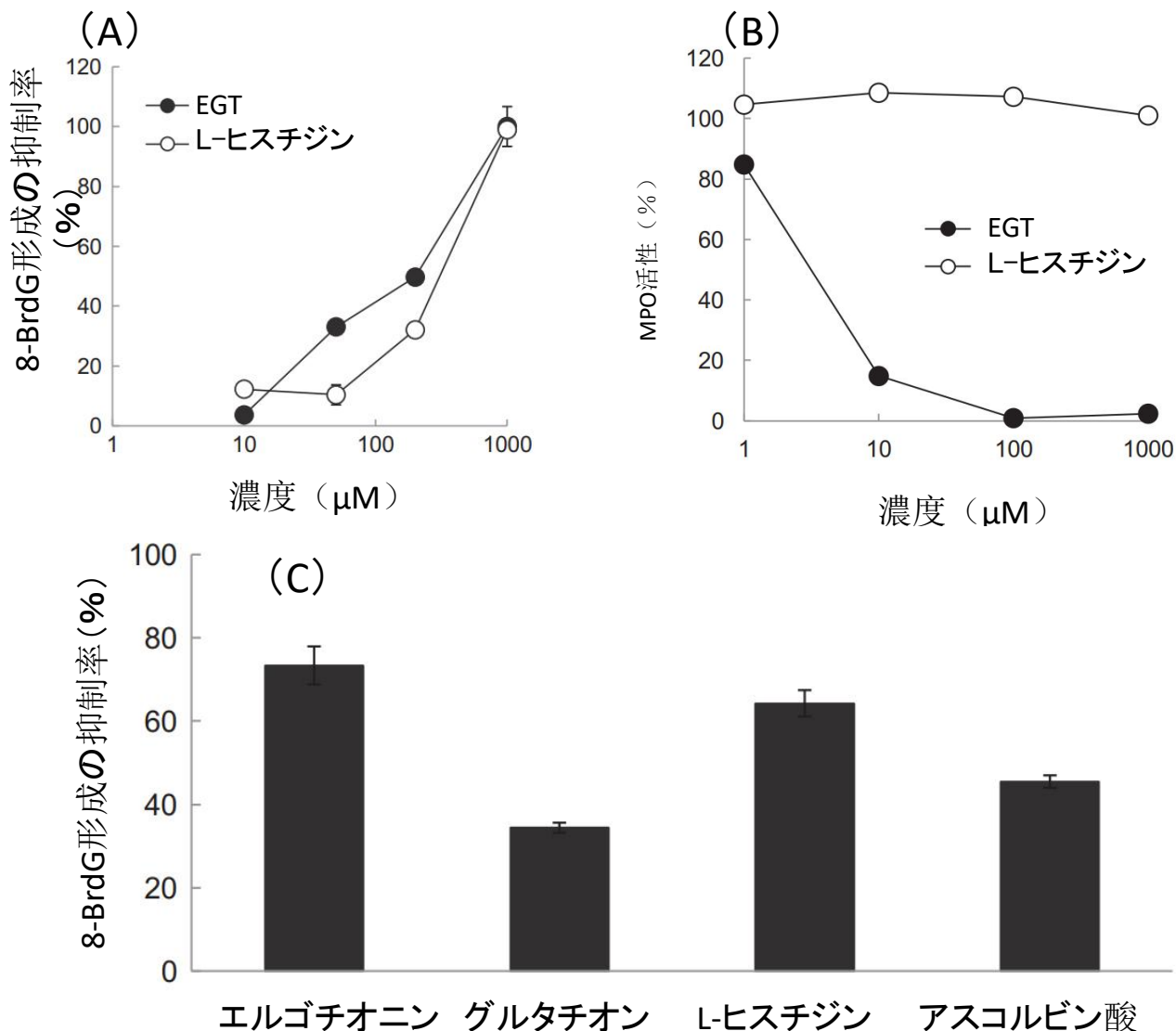


図2. EGTの8-BrdG形成およびMPO活性の抑制効果

リピッド過酸化におけるEGT

脂質の過酸化は、脂質に対する酸化剤の攻撃によって引き起こされます。脂質ペルオキシラジカル、ヒドロペルオキシド、およびさまざまな酸化生成物の生成により、制御されない脂質過酸化は膜の破裂や細胞死につながります。^[6]

コエンザイム Q10 と比較した脂質過酸化に対する EGT の影響が別の研究^[5]で調査されました。リポソームは、エタノール中のリン脂質コリン500 mg/mLを冷たい蒸留水の5倍量に注入して作製されました。リン脂質コリンリポソームは、4.6、22.9、および57.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のEGTまたはCoQ10で予め処理され、それから10 mmのアロキサンで処理されました。処理後、脂質過酸化は脂質過酸化キットを用いて1時間後に測定されました。

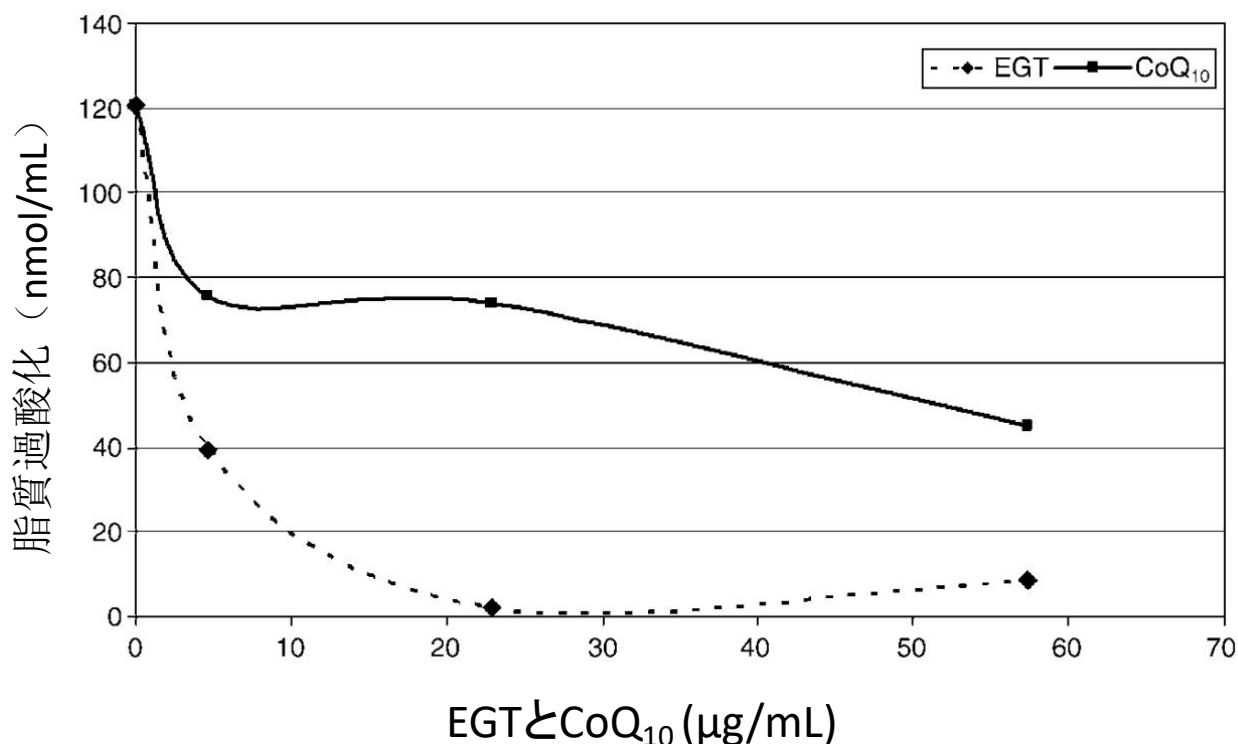


図3. リン脂質コリンリポソームのアロキサン(10 mm)およびL-エルゴチオニンまたはコエンザイムQ10(4.6から57.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$)で処理後の脂質過酸化

アロキサンは強力な脂質酸化剤です。アロキサンはジアルリン酸に分解し、それから自己酸化してアロキサンに戻り、反応性酸素を生成します。リン脂質コリンリポソームはアロキサンで処理され、EGTまたはCoQ10で保護され、脂質過酸化が測定されました。非保護のリン脂質コリンリポソームを10 mmのアロキサンで処理すると、脂質過酸化レベルは389%増加しました。EGTとCoQ10の両方が脂質過酸化を抑制しましたが、等モル濃度で使用した場合、EGTの方がCoQ10よりも効果的でした(図3)。4.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のCoQ10で処理されたリポソームでは、脂質過酸化が37%減少しました。一方、4.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のEGTで処理されたリポソームでは、脂質過酸化が67%減少しました(図3)。^[5]

エルゴチオニンの抗酸化活性と紫外線保護

L-エルゴチオニンは細胞膜を透過しないため、その保護機能はL-エルゴチオニン専用の受容体/トランスポーターであるOCTN1を発現する細胞に制限されます。エルゴチオニンが皮膚細胞に対してどのような効果を持つかを評価するため、ある研究では皮膚細胞中のOCTN1の発現とそれに伴う抗酸化ポテンシャルが評価されました。^[7]

OCTN1の発現は培養された皮膚細胞とヒトの皮膚細胞について評価されました。培養細胞としては、新生児正常人皮膚線維芽細胞(NHDF)および新生児正常人表皮角化細胞(NHEK)が使用されました。ヒトの細胞サンプルとしては、成人の皮膚組織サンプルおよび新生児の包皮サンプルが使用されました。

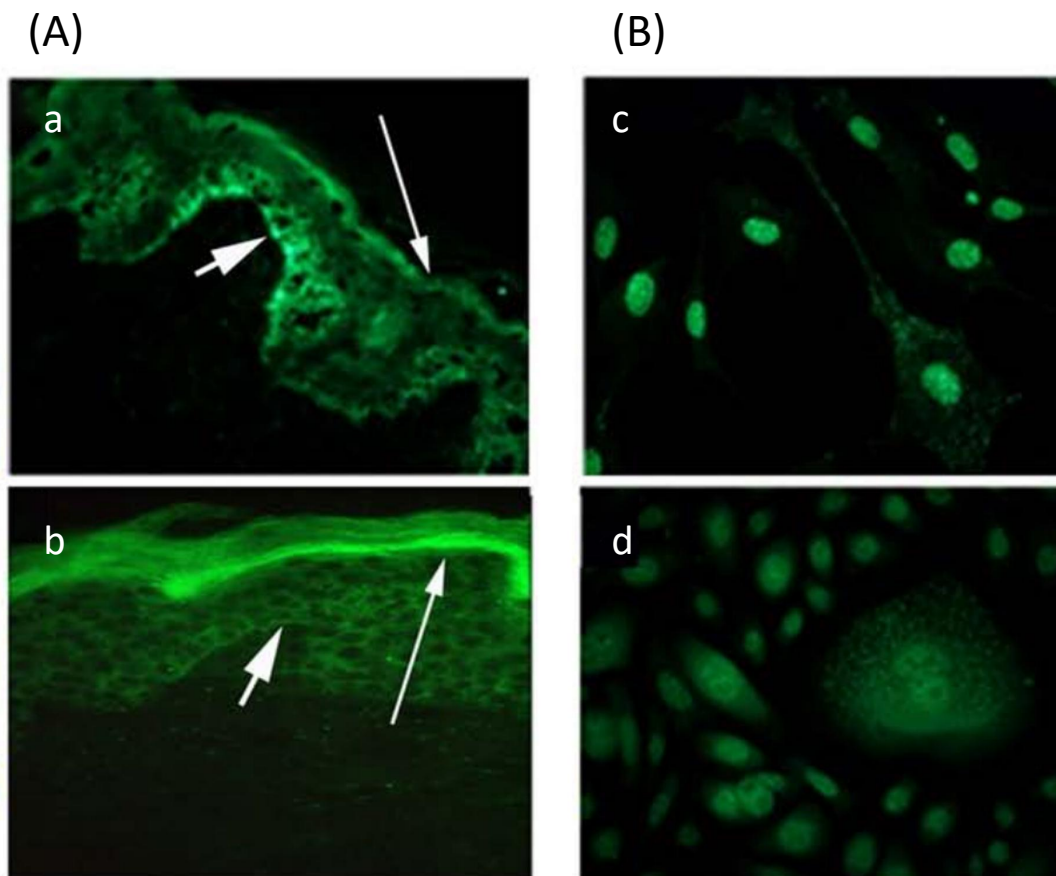


図4. (A) 皮膚組織におけるOCTN1の発現。(B) 培養された皮膚細胞におけるOCTN1の発現。a. 成人の表皮; b. 子供の表皮; c. NHDF(新生児正常人皮膚線維芽細胞); d. NHEK(新生児正常人表皮角化細胞)

短い矢印は基底層角化細胞を指し、長い矢印は顆粒層角化細胞を指しています。

ヒトの皮膚におけるEGTの酸化的損傷への有効性は、皮膚細胞が受容体/トランスポーターであるOCTN1を産生するかどうか大きく依存しています。皮膚臓器の培養物に対する抗-OCTN1特異的抗体の染色では、OCTN1が表皮区画で強く発現していることが明らかになりました。成人の表皮では発現は均一ではありませんでした。OCTN1の信号は増殖中の基底層(短い矢印)および終末分化した顆粒層角化細胞(長い矢印)で強く、徐々に分化する棘細胞では著しく弱かったです。さらに、顆粒細胞ではOCTN1が均等に分布し、主に細胞周辺に存在しましたが、基底細胞では優先的に基底側に局在していました。新生児の包皮では、基底層におけるOCTN1の発現は弱く、顆粒層における発現は成人の表皮と比べて強かったです。OCTN1の発現はまた、真皮線維芽細胞と表皮角化細胞の原代培養でも観察されました。したがって、培養中および皮膚の居住細胞として、主要な皮膚細胞タイプはおそらくEGTを有効に利用できる可能性があります。^[7]

エルゴチオニンのUVB誘発の細胞ダメージに対する効果

別の研究^[8]では、エルゴチオニンがUVB誘発の光老化に対して保護作用を持つかどうかを、角化細胞/線維芽細胞の共培養系を用いて評価しました。角化細胞はエルゴチオニンで予処理され、UVBに照射され、その後線維芽細胞と共培養されました。角化細胞では、ROSの生成とアポトーシスが評価されました。また、エルゴチオニンの炎症に対する効果は、プロ炎症サイトカインであるIL-1 β 、IL-6、TNF- α の測定によって評価されました。

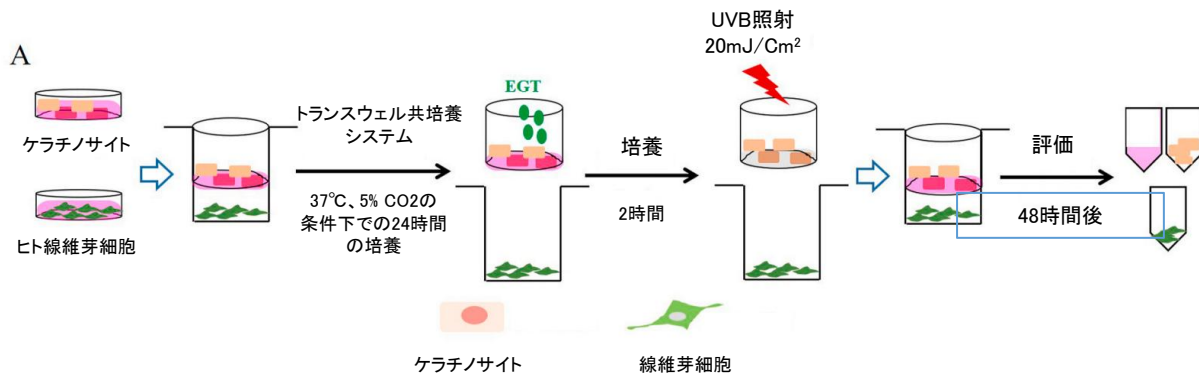


図5. 実験デザイン; 上部チャンバーには角化細胞、下部チャンバーには線維芽細胞を配置し、37°Cで5% (v/v) CO₂の条件下で24時間培養しました。角化細胞は2時間のエルゴチオニン予処理の有無で分けられ、UVB (20 mJ/cm²)に刺激されました。刺激された角化細胞はエルゴチオニンの有無で分けられ、線維芽細胞と共培養されました。48時間後、培養液と細胞が収集されました。

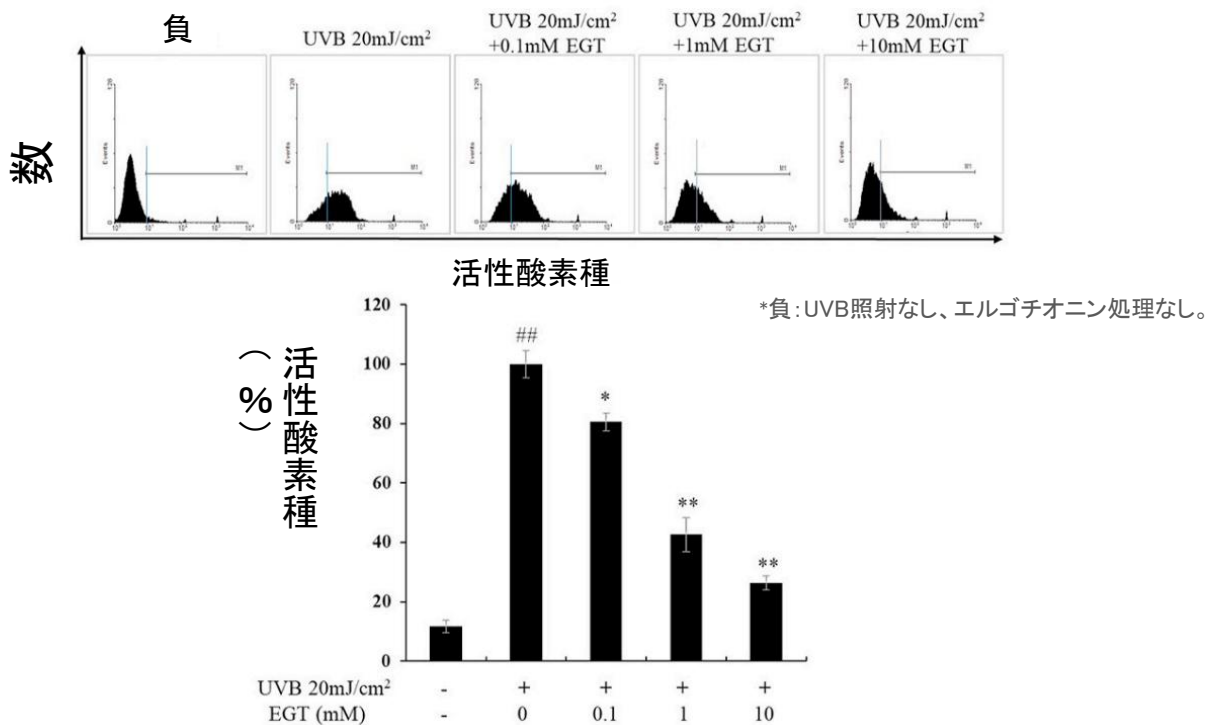


図6. UVB照射による角化細胞内の反応性酸素種 (ROS) のレベル。エルゴチオニンは、UVB照射後の角化細胞におけるROSの合成を抑制しました。

エルゴチオニンは、濃度が10 mMまでの範囲では角化細胞で有意な細胞死や細胞毒性を引き起こしませんでした。UVB照射後、車両処理された角化細胞では細胞内のROSレベルが負の対照群と比較して有意に増加しましたが、UVB照射前にエルゴチオニン(0.1、1、または10 mM)で処理された角化細胞ではROSレベルが有意に低下しました。

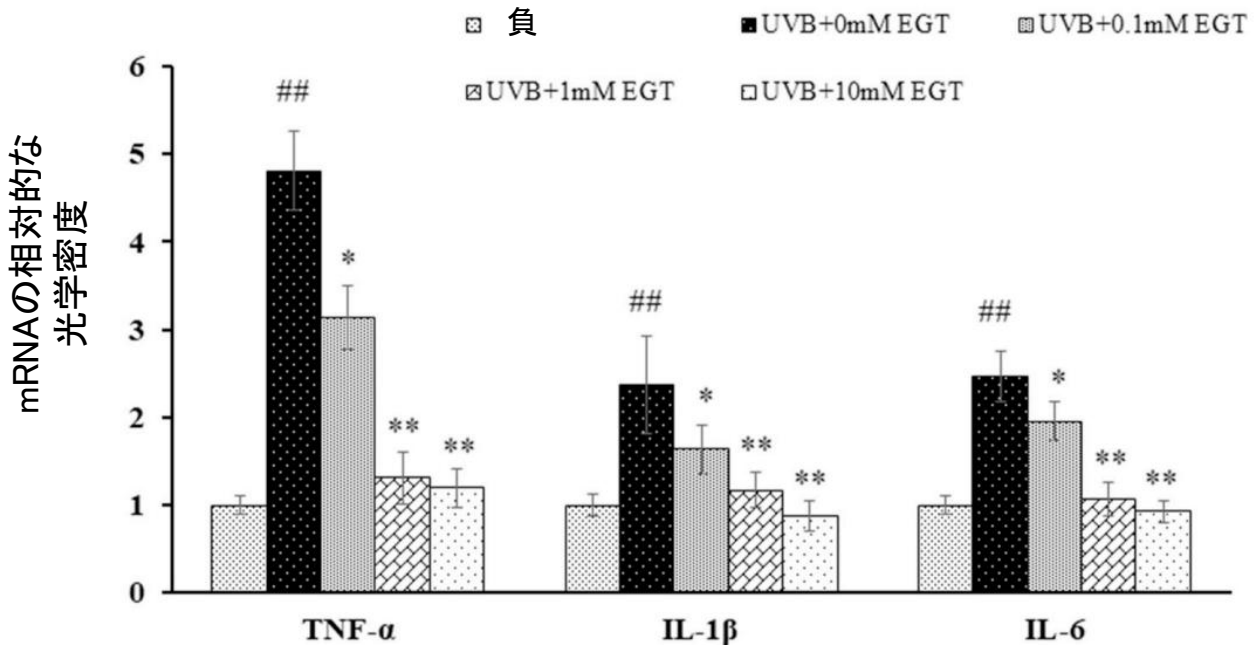


図7. エルゴチオニンによる角化細胞におけるUVB誘発の炎症性サイトカイン産生の抑制。UVB照射された角化細胞における炎症性サイトカイン(TNF- α 、IL-1 β 、IL-6)のmRNAレベルは、エルゴチオニンの処理の有無でRT-PCRによって調べられました。

角化細胞における炎症性サイトカインのレベルは、1 mMのエルゴチオニンのみ処理されたグループと10 mMのエルゴチオニンのみ処理されたグループで有意に低下しました。UVB照射は、車両処理されたグループでTNF- α 、IL-1 β 、IL-6などの炎症性サイトカインの発現を有意に上昇させました。エルゴチオニン予処理グループでは、炎症性サイトカインのレベルが有意に低下しました。

エルゴチオニンのUVA誘発の細胞ダメージに対する効果

別の研究^[9]では、エルゴチオニン(EGT、0.125-0.5 μ M)のサブマイクロモラー濃度がUVA照射に対する皮膚保護効果を調べるために、未処理とEGT処理されたヒト線維芽細胞細胞(HSF)に対する3 J/cm²のUVA照射(27分間、 λ max、365 nm、320 nm未満の検出できない放射はない)後の反応性酸素種の生成を評価しました。非照射のヒト線維芽細胞細胞(負の対照)と比較して。

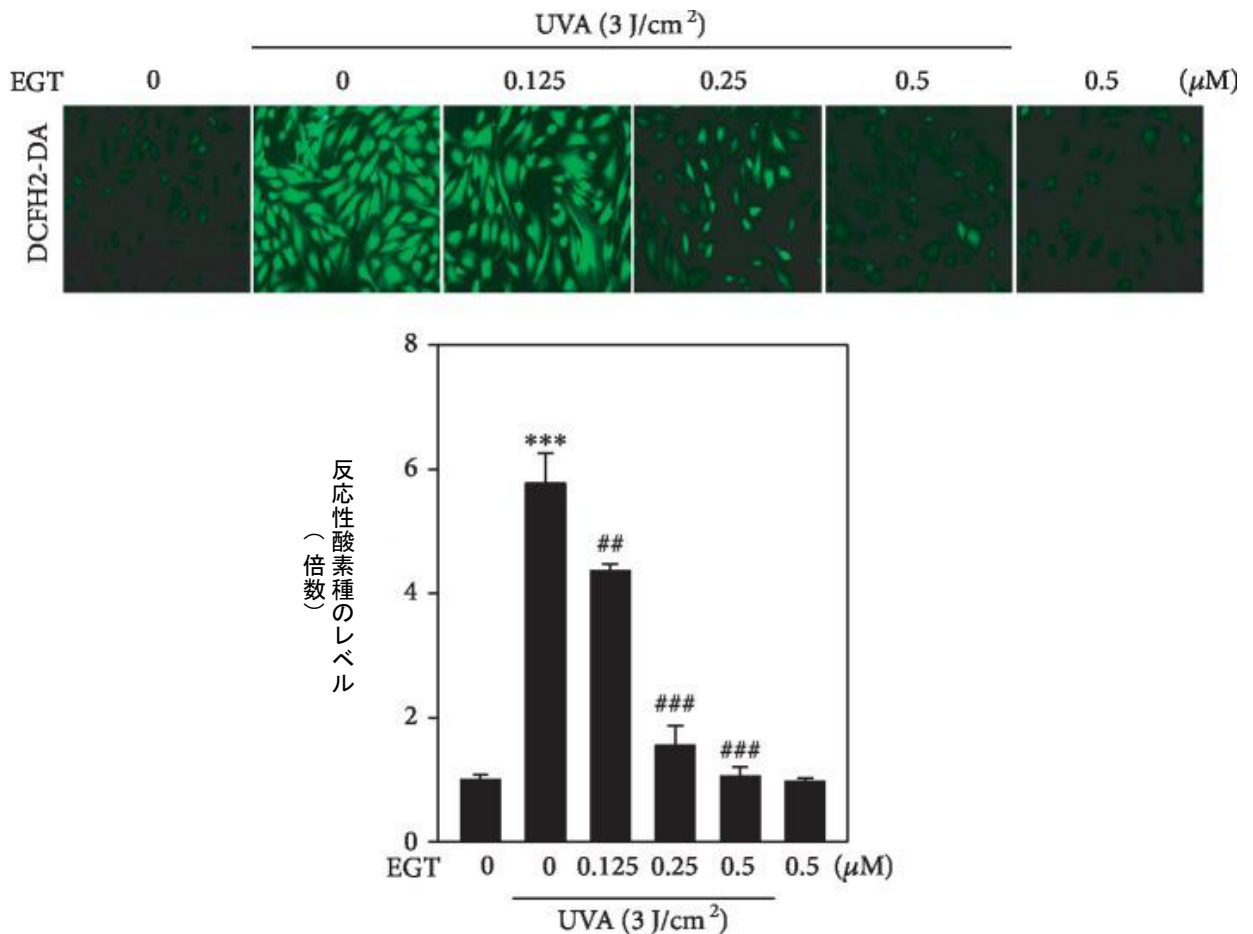


図8.エルゴチオニンは、ヒト皮膚線維芽細胞（HSF）におけるUVA誘発の反応性酸素種（ROS）生成を抑制しました。細胞はエルゴチオニン（0.125-0.5 μM）で24時間前処理され、その後3 J/cm²のUVA照射を受けました。DCFは細胞内の反応性酸素種のレベルを示し、蛍光顕微鏡（200倍拡大）によって測定されました。

図8は、制御細胞と比較して、エルゴチオニンを処理していないがUVA照射を受けた細胞では、HSF細胞内の反応性酸素種（ROS）レベルが有意に増加したことを示しています（約5.5倍）。しかし、エルゴチオニンの予処理は、用量依存的にこの効果を有意に低下させ、エルゴチオニンの抗酸化特性を示しています。

参考文献

1. Paul, B., Snyder, S. The unusual amino acid L-ergothioneine is a physiologic cytoprotectant. *Cell Death Differ* 17, 1134–1140 (2010). <https://doi.org/10.1038/cdd.2009.163>
2. Cheah IK, Halliwell B. Ergothioneine, recent developments. *Redox Biol.* 2021 Jun;42:101868. doi: 10.1016/j.redox.2021.101868. Epub 2021 Jan 26. PMID: 33558182; PMCID: PMC8113028.
3. Irwin K. Cheah, Barry Halliwell, Ergothioneine, recent developments, *Redox Biology*, Volume 42, 2021, 101868, ISSN 2213-2317, <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.101868>.
4. Takashi Asahi and others, A mushroom-derived amino acid, ergothioneine, is a potential inhibitor of inflammation-related DNA halogenation, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, Volume 80, Issue 2, 1 February 2016, Pages 313–317, <https://doi.org/10.1080/09168451.2015.1083396>
5. Dong KK, Damaghi N, Kibitel J, Canning MT, Smiles KA, Yarosh DB. A comparison of the relative antioxidant potency of L-ergothioneine and idebenone. *J Cosmet Dermatol.* 2007 Sep;6(3):183-8. doi: 10.1111/j.1473-2165.2007.00330.x. PMID: 17760697.
6. Jingbo Li, Rui Kang, Daolin Tang, Chapter 13 - Monitoring autophagy-dependent ferroptosis, Editor(s): Oliver Kepp, Lorenzo Galluzzi, *Methods in Cell Biology*, Academic Press, Volume 165, 2021, Pages 163-176, ISSN 0091-679X, ISBN 9780128244876, <https://doi.org/10.1016/bs.mcb.2020.10.012>.
7. Nelli G. Markova, Nevena Karaman-Jurukovska, Kelly K. Dong, Niusha Damaghi, Kenneth A. Smiles, Daniel B. Yarosh, Skin cells and tissue are capable of using l-ergothioneine as an integral component of their antioxidant defense system, *Free Radical Biology and Medicine*, Volume 46, Issue 8, 2009, Pages 1168-1176, ISSN 0891-5849, <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.01.021>.
8. Hyun Ju Ko, Jeongtae Kim, Meejung Ahn, Jin Hwa Kim, Geun Soo Lee, Taekyun Shin, Ergothioneine alleviates senescence of fibroblasts induced by UVB damage of keratinocytes via activation of the Nrf2/HO-1 pathway and HSP70 in keratinocytes, *Experimental Cell Research*, Volume 400, Issue 1, 2021, 112516, ISSN 0014-4827, <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2021.112516>.
9. Hseu YC, Vudhya Gowrisankar Y, Chen XZ, Yang YC, Yang HL. The Antiaging Activity of Ergothioneine in UVA-Irradiated Human Dermal Fibroblasts via the Inhibition of the AP-1 Pathway and the Activation of Nrf2-Mediated Antioxidant Genes. *Oxid Med Cell Longev.* 2020 Feb 12;2020:2576823. doi: 10.1155/2020/2576823. PMID: 32104530; PMCID: PMC7038158.