

論壇

たかがビタミンC、されどビタミンC

広島大学名誉教授・中央高等学院統括  
江坂宗春

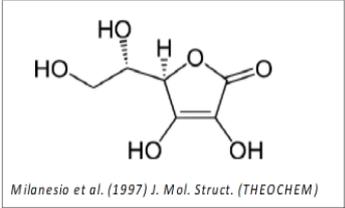
筆者は、この3月、40年近く勤めた広島大学を定年退職した。これまで、植物の生化学・分子生物学を専門とし、特に、植物のビタミンCの生理的機能や生合成に関する研究を行ってきた。ビタミンCは、誰もが知っている栄養素であるが、意外にまだわかっていないことも多い。また、その生理作用についても知られているようで、十分知られていない。本稿では、ビタミンCについて概説するとともに、筆者らが進めてきた植物のビタミンCの研究について紹介したい。

**ビタミンCは、抗壊血病因子、免疫増強因子、ウイルス不活化因子！**

ビタミンCは、ラクトン構造を持つ有機化合物の一種である。抗壊血病因子として発見され、anti (抗) +scurvy (壊血病) = ascorbic acidということで、アスコルビン酸と命名された。壊血病は、血管壁や毛組織が脆弱になり、出血を起こす病気である。歯肉からの出血、歯肉腫脹、創傷治癒不全、点状出血、貧血、関節痛、紫斑が特徴的であり、また、倦怠感などの全身症状や骨折を伴うこともある。

壊血病は、コラーゲンの合成不全から起こる。コラーゲンの合成にはビタミンCが必要不可欠である。コラーゲンは、主に脊椎動物の真皮、腱、骨、軟骨などを構成する蛋白質の一つで、ヒトのコラーゲンの総量は、体内の全蛋白質の約1/4を占める。コラーゲンは、まずその前駆体であるプロコラーゲンとして合成される。その後、プロコラーゲンに含まれるアミノ酸残基のプロリンおよびリシンが水酸化され、それぞれヒドロキシプロリン、ヒドロキシリジンになることにより、3本のコラーゲン繊維が重合、三重らせん構造化し、正常コラーゲンができあがる。ビタミンCは、そのプロリンおよびリシンを水酸化さ

**人間におけるビタミンCの生理機能**



Milanesio et al. (1997) J. Mol. Struct. (THEOCHEM)

**アスコルビン酸**  
(Ascorbic Acid; Vitamin C)  
抗壊血病の酸

→植物から摂取することで防止

**ビタミンCの機能**

- \*抗酸化作用
- \*自然免疫系の強化
- \*コラーゲン合成



→植物から摂取することで防止



**欠乏**

- \*老化促進
- \*壊血病

**効能**

- \*発病予防
- \*肌の再生



ビタミンCは人間にとって必須な栄養素

せる酵素（プロリルヒドロキシラーゼ、リシンヒドロキシラーゼ）の活性に必須である。したがってビタミンCがない条件では、コラーゲンは合成できない。

「ビタミンCは、お肌をきれいにし、風邪・ガン予防にも、ボケも防止して、若さを保つ」。ビタミンCには抗癌作用や抗ウイルス作用などの多彩な生理作用が認められている。確かに、ビタミンCは、鼻やのどの粘膜を強くしてウイルスの侵入を防ぎ、直接的に、または白血球に働きかけて、ウイルスを破壊、不活化する力がある。具体的には、抗ウイルス作用のあるインターフェロンの合成を促進し、白血球機能の亢進、抗体やTリンパ球、NK細胞の増強など免疫増強作用も知られている<sup>1)</sup>。さらに、ビタミンCの強い抗酸化作用により、免疫反応の結果として発生する組織障害性の活性酸素を除去できることも示されている。

一方、身体的・精神的ストレスにより、抗ストレスホルモンである副腎皮質ホルモンやカテコールアミンが作られる。その際、ビタミンCが必要となり、ビタミンCが消費される。そのため、特にストレス下で、より多量のビタミンCの摂取が必要と考えられている。

成人では1日のビタミンC推奨量が100 mg（2015年版食事摂取基準、厚生労働省）と設定されているが、健康な生活を送るためには、より多量のビタミンCを摂取する必要がある。

## ビタミンCの発見の歴史

壊血病は、皮下・粘膜から出血、歯・骨の形成不全などを引き起こし、昔は、原因不明の死にいたる病気として恐れられていた。特に航海中に発病することが多かったが、これは、航海中は、野菜や果物を摂取することができず、ビタミンC不足になったためである。たとえば、16世紀、マゼランの世界一周の航海では、多くの船員が壊血病にかかり、帰り着いたのは5隻のうち1隻だけであった。また、日露戦争の203高地の戦いでロシア軍が敗退したのも、実は、ロシア軍の多くが壊血病にかかったためとも言われている。1912年の南極探検家スコットの凍死も、実は、壊血病による衰弱が原因と言われている。

ビタミンCの発見の歴史を以下に示す。

- (1) 1907年、モルモットを実験的壊血病にさせることに成功。
- (2) 1918年、オレンジに抗壊血病因子があることを発見。
- (3) 1920年、抗壊血病因子をビタミンCと命名。
- (4) 1928年、Szent-Györgyiが、ウシの副腎からビタミンCを分離。
- (5) 1933年、Haworthが、ビタミンCの化学構造を決定（アスコルビン酸と命名）。
- (6) 1937年、Szent-GyörgyiとHaworthにノーベル賞。

このように、ビタミンCは抗壊血病因子として発見され、抗壊血病因子: anti(抗) + scurvy(壊血病) = ascorbic acidということで、アスコルビン酸と命名された。

## ほとんどの哺乳動物はビタミンCを合成できる！

私たち人間はビタミンCを自身で作ることができないため、野菜や果物などからビタミンCを摂取している。

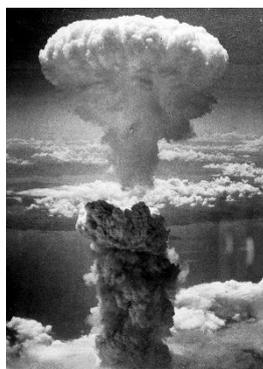
ヒト、サル、モルモットなど、一部の哺乳動物だけがビタミンCを合成できず、食事によりビタミンCを摂取しなければならない。ほとんどの動物は、ビタミンC生合成系を有しており、自身でビタミンCを合成できる。しかし、ヒトでは、ビタミンC生合成系の最後の酵素であるグルノ・ラクトン酸化酵素の遺伝子に変異がおこっていて、本酵素が正常に発現・機能できず、結果的にビタミンCを合成できない<sup>2)</sup>。ヒトのビタミンC合成能の欠如は、遺伝病によるものと言っても過言ではない。ビタミンCを合成するには、多量のエネルギーを必要とすることから、ヒトは、進化の過程で、ビタミンC合成能を放棄したものと考えられる。ともあれ、ヒト、サル、モルモット以外の多くの動物は、ビタミンCを自ら合成でき、ヒトの平均体重 50 kg あたりに換算すると 1~15 g/日のビタミンCを合成している。原始人は 2 g/日のビタミンCを摂取していたと考えられており、「現在のビタミンCの栄養所要量 0.1 g/日は少なすぎる、もっと多量に摂取すべき」との声も多い。

ビタミンCは、前述のように、組織蛋白質コラーゲンの合成に必須で、ビタミンCが不足すると、組織の形成が異常になり、結果的に壊血病にみられるような症状を引き起こす。一方、ビタミンCは強い還元力を有しており、ストレスで生じる活性酸素種等を除去する抗酸化剤としても機能している。最近のストレス社会では、ヒト体内で発生する活性酸素種も多くなっており、ビタミンCの消費量も著しい。健康的な生活を送るためには、より多くのビタミンCを摂取する必要があると考える。

### ライナス・ポーリングとビタミンC

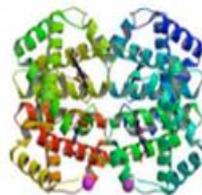
ライナス・カール・ポーリング (Linus Carl Pauling, 1901年-1994年) は、1901年にアメリカのオレゴン州ポートランドに生まれた。オレゴン農業大学に入学し、量子論、量子力学の考え方に興味を持った。カリフォルニア工科大学に進学、結晶構造に関する研究を行い、1925年、物理化学と数理物理学の学位を取得した。その後、ヨーロッパへ留学し、量子力学の創設者であるニールス・ボーア (1922年原子物理学への貢献によりノーベル物理学賞を受賞) やエルヴィン・シュレーディンガー (1933年「新形式の原子理論の発見」の業績によりノーベル物理学賞を受賞) のもとで研究し、カリフォルニア工科大学に新設された理論化学の助教授に就任した。以後、1964年までカリフォルニア工科大学を拠点として研究・教育に携わり、カリフォルニア工科大学を化学研究のメッカに育て上げた。

ライナス・ポーリングは、量子力学を化学に応用した先駆者である。化学結合を量子力学の観点から解明し、『化学結合論：分子と結晶の構造』を出版し、結晶構造の解析等だけでなく、蛋

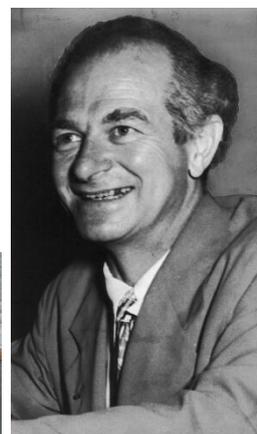


核実験反対運動により  
ノーベル平和賞受賞  
(Wikipedia)

αヘリックス構造



世界初の電気自動車



ライナス・ポーリング

白質や DNA など生体分子の構造にも関心を向け、分子生物学の草分け的な一人とも言われている。

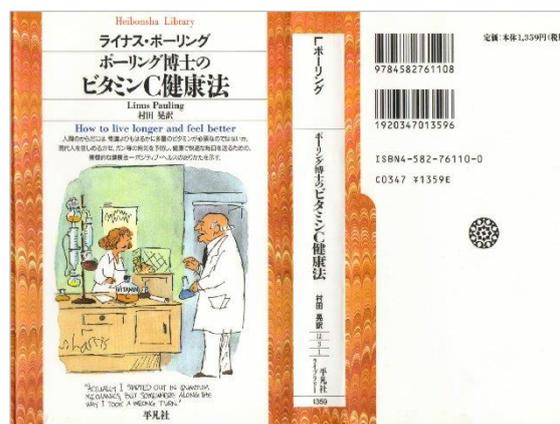
1947 年に、アメリカ化学会会長に就任したが、この頃から、広島・長崎の原爆の悲劇を二度と起こさないよう、核兵器反対運動、核実験反対運動・平和運動に積極的に参加するようになった。1954 年に「化学結合の本性、ならびに複雑な分子の構造研究」により、ノーベル化学賞を受賞した。1958 年には、核実験反対運動を主導し、核実験に反対する科学者 1 万人以上の署名を国連に提出した。1962 年「核兵器に対する反対運動」や「核実験禁止条約締結の実現」に貢献したことが評価され、2 回目のノーベル賞（ノーベル平和賞）を受賞した（キュリー夫人に次いで 2 人目）。ノーベル賞を二度受賞した人は、現在までに 4 人いるが、化学賞と平和賞という全く異なる分野での受賞者はポーリングのみである。

この頃から、ビタミン C の人への生理的効能に興味を持ち始めている。1966 年にポーリングは、生化学者のアーウィン・ストーンから高濃度ビタミン C 摂取が健康に良いことを聞き、風邪の予防のために毎日数グラムのビタミン C を摂り始めた。そして、その効果に驚いたポーリングは、ビタミン C に関わる臨床研究等を調べるとともに、1970 年には『ビタミン C と風邪』を出版し、1 日あたり 5~10 g という大量のビタミン C を摂取すれば風邪が予防でき、風邪をひいても軽く済むことを主張した<sup>3)</sup>。さらに、病気の予防・治療のためのビタミン C の多量摂取の必要性を訴えた。イギリスの癌外科医と共同で、ビタミン C を末期癌患者に点滴および経口投与した結果、ビタミン C が癌治療に有効であることを示し<sup>4)</sup>、その研究成果をもとに 1977 年に『癌とビタミン C』を執筆した。このように、ポーリングは、ビタミン C の大量摂取が、風邪だけでなく、癌にも効果があると主張したが、関係学会からはなかなか受け入れられなかった。

同時期、1968 年にポーリングは「サイエンス」誌に論文<sup>5)</sup>を投稿し、精神を適正な分子環境にすることで精神病を治療する医学「分子矯正精神医学」(Orthomolecular Psychiatry) を提唱した。また、その後、精神に限定せず、身体全体に適応して、体内に存在する物質の体内濃度を適切に変動させることによって、健康の保持と疾病を治療できると考え、「分子矯正医学」

(Orthomolecular Medicine) を提案した。すなわち、多くの病気は分子病として分類されるとし、健康を維持し病気の治療を促進するためには、人体を分子レベルから捉え直す必要があると主張した。しかし、この「分子矯正医学」の考え方も、従来の医学の考え方と大きく異なり、関係学会からはなかなか受け入れられなかった。

1994 年、ポーリングは 93 歳で、皮肉にも癌で亡くなった。ただ、ポーリング自身は「ビタミン C を摂取していなかったら、もっと早く癌になって死んでいた」とコメントしたという。93 歳まで長生きできたのは、ビタミン C のおかげということであろうか。



彼の死後 10 年以上たった 2005 年、アメリカ国立衛生研究所 (National Institute of Health : NIH) から、ビタミン C が癌細胞のみに選択的に毒性を示すこと、そして、その毒性効果のメカニズムに関する論文が発表され、ビタミン C 大量療法の有効性が報告された。また、2006 年にはカナダの研究グループが、大量のビタミン C を点滴投与した癌患者が予想よりも長く生存したことを示した。それ以来、ビタミン C 治療が再び注目され、アメリカの大学病院などで臨床試験が行われるようになった。一方、高濃度ビタミン C 点滴による腎不全や下痢などの副作用も報告されており、癌患者に対する高濃度ビタミン C 治療の実用性と安全性の評価が大きな課題となっている。日本でも 2007 年から徐々に高濃度ビタミン C 点滴が癌治療の選択肢として導入されるようになった。現在ではアメリカ、カナダ、日本などの大学で、癌患者を対象にした高濃度ビタミン C 点滴療法の臨床試験が進められ、論文も発表されている。

関係学界は、ポーリングのビタミン C に関する医療研究に関しては否定的であったが、ポーリングは、ビタミンやミネラルなど、疾病予防に効く栄養素の重要性を社会に知らしめた。ポーリングが提案した「分子矯正医学」は、他の研究者にも刺激を与え、「分子矯正医学」の研究は今も続いている。特に、新型コロナウイルス大流行の今、ビタミン C やビタミン D の感染症予防効果に関する研究に期待が寄せられている。

### 植物におけるビタミン C の生理機能

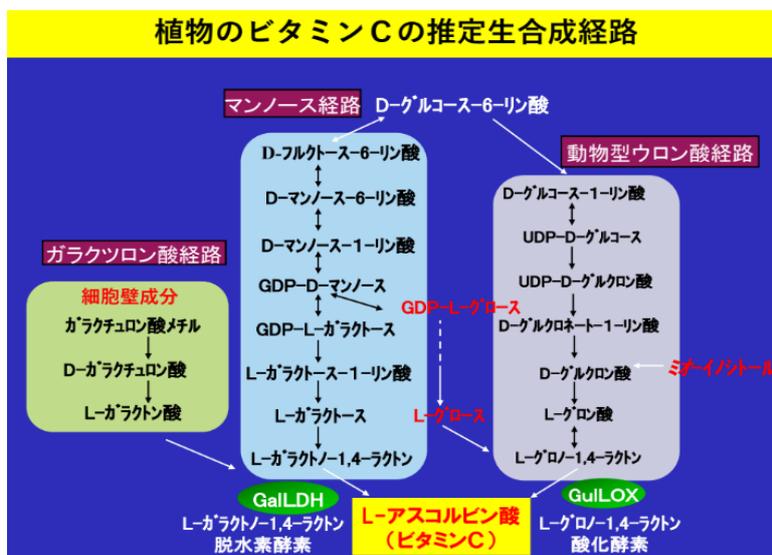
私たちは、ビタミン C を野菜や果物などの植物から摂取しているにもかかわらず植物のビタミン C の生理機能や生合成経路に関しては未だ不明な点が多い。一般に、植物のビタミン C は光合成によって生じる過酸化水素の除去や外的環境による酸化ストレスの防御に利用されている<sup>6)</sup>。

実際に、強い光や紫外線を受ける熱帯植物ではビタミン C が大量に合成され、トロピカルフルーツでは、その果実中にビタミン C を大量に集積することが知られている。また、光を照射することによりビタミン C 生合成が増強され、ビタミン C 含量が高まることがわかっており<sup>7)</sup>、野菜や果物の栽培では、ビタミン C 量を増強させるための光照射条件の研究もされている。また、植物のビタミン C は、病傷害抵抗性にも関わっていると考えられている<sup>8)</sup>。ビタミン C 含量が野生型の 30% しかない植物の突然変異体は、オゾン傷害に対して感受性が高くなり、野生型の植物より酸化ストレスに対する抵抗性が著しく低下する<sup>9)</sup>。一方、ビタミン C は、植物のレドックス (酸化還元) 制御にも関与し、細胞分裂の調節にも関与することが知られている。筆者らは、ビタミン C を特異的に酸化する酵素として知られるアスコルビン酸酸化酵素 (L-ascorbate oxidase) の研究を進め<sup>10)</sup>、ビタミン C が細胞分裂・伸張を制御する因子である可能性を示した<sup>11)</sup>。動物では、ビタミン C は、プロリンの水酸化に寄与して、コラーゲンの生合成に関わっているが、植物のビタミン C も同様に、細胞壁の主要なタンパク質であるヒドロキシプロリンリッチタンパク質の生合成にプロリンの水酸化を介して関わっている。実際に、植物のビタミン C 生合成を抑制させ、ビタミン C 含量を顕著に低下させると、細胞壁の構築が不完全となり、動物における壊血病と同様な症状が引き起こされる<sup>12)</sup>。

このように、植物のビタミンCは、抗酸化剤として、酸化ストレス防止やレドックス制御、病傷害に関わるシグナル伝達、また、酵素の補因子として、植物ホルモンや細胞壁タンパク質等の合成に、さらには、細胞分裂・細胞伸長の調節因子として、多様な機能を持つことがわかってきている。

一方、近年、植物のビタミンCの生合成経路が解明されてきており、動物とは異なるビタミンC生合成経路を、そして、一つの経路だけでなく複数の経路を有することがわかってきた。すなわち、D-グルコースから、D-マンノース、L-ガラクトースを経て、ビタミンCが生合成されるマンノース経路が主要な経路であるが<sup>13)</sup>、マンノース経路以外のビタミンC生合成経路も存在する。これら複数のビタミンC生合成経路が、植物の組織や周囲の環境により複雑に制御され、ビタミンCの生合成が調節されると考えられるようになった。たとえば、イチゴの果実では、ペクチンの構成成分であるガラクトツロン酸からアスコルビン酸が合成可能(ガラクトツロン酸経路)であり、トマトでは、果実の成熟に伴い、ガラクトツロン酸経路が機能しはじめ、ビタミンCが合成される<sup>14)</sup>。そして、トマトのガラクトツロン酸経路のD-ガラクトツロン酸還元酵素が、環境ストレス抵抗性に関わることも明らかになった<sup>15)</sup>。また、動物のビタミンC生合成経路に似た動物型ウロン酸経路、さらに、ミオイノシトールからビタミンCが生合成される経路も示唆されている。ビタミンCのマンノース経路生合成系の最終酵素L-ガラクトノ-1,4-ラクトン脱水素酵素はミトコンドリアに局在し、ビタミンCはミトコンドリアで誕生する。

ミトコンドリアで誕生したビタミンCは、葉緑体や細胞壁、細胞質、液胞に運ばれ、それぞれの場所でそれぞれの生理的機能を発揮する。すでに、ビタミンCが葉緑体に運ばれるためのトランスポーターが同定されている<sup>16)</sup>。植物は、強い光にさらされると、ミトコンドリアでビタミンCが作られた後、葉緑体に運ばれ、光合成等で発生した活性酸素種を除去し、葉での光障害を防止すると考えられている。



## アセロラのビタミンCはなぜ多いのか？

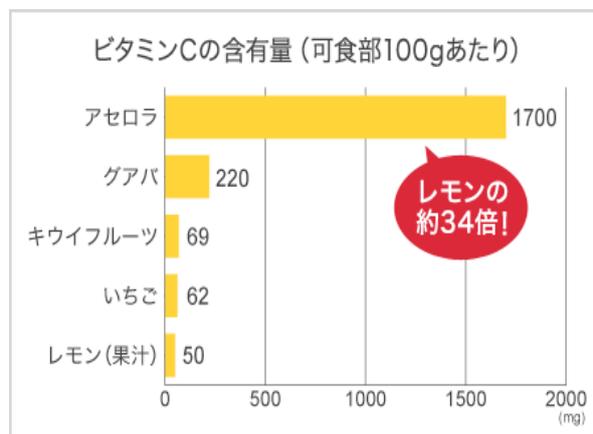
ビタミンCは、動植物の生存にとって必須な抗酸化物質で、生体内では多様な生理機能を有している。また、植物のビタミンC生合成には複数の経路があることがわかり、これらの経路が、組織や環境条件によって使い分けられ、ビタミンC生合成が調節されている。

熱帯植物であるアセロラは、その果実に、驚くほど大量にビタミンCを集積する。その含量は、レモンの約34倍、100g新鮮重あたり1.7gにも達し、アセロラ果実から水分を除いた可溶性有機物の半分以上がビタミンCである。

筆者らは、アセロラにおけるビタミンC大量集積機構を分子レベルで解明するための研究を行ってきた。また、応用的観点から、アセロラのビタミンCの大量集積機構を、ビタミンC含量の低い植物に導入し、ビタミンC高含量植物の作出が可能かどうかを検討してきた。

高等植物では、複数のビタミンC生合成経路が存在するが、中でもマンノース経路が主経路と考えられている。そこで、ビタミンCを大量に含むアセロラに関して、マンノース経路に属する種々のビタミンC生合成酵素に着目した。

アセロラのマンノース経路に属するビタミンC生合成酵素のcDNAをクローニングし、大腸菌による組換えタンパク質として発現させて、その触媒機能活性（比活性）を調べ、分子生物学的な観点でモデル植物とされているシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) からの組換え酵素のものと比較した。その結果、アセロラのビタミンC生合成酵素の触媒活性は、シロイヌナズナのものとはほぼ同等で、特に高いものではなかった。一方、リアルタイムPCRにより、アセロラのビタミンC生合成酵素のmRNA発現量を調べた結果、アセロラでは、マンノース経路に属するほとんど全ての酵素のmRNA発現量が、コントロールのシロイヌナズナの該当mRNAの発現量に比べて、著しく高いことがわかった<sup>17)</sup>。すなわち、アセロラのビタミンC含量の高い理由は、アセロラの主要なビタミンC生合成経路であるマンノース経路の全ての酵素の遺伝子発現が顕著に高いことによるものと推定した。さらに、アセロラのマンノース経路に属する複数のビタミンC合成酵素のゲノム遺伝子をクローニングし、プロモーター活性を調べた。その結果、これらの酵素遺伝子のプロモーター活性も、シロイヌナズナの該当酵素遺伝子のプロモーター活性より著しく高いことがわかった<sup>18)</sup>。すなわち、アセロラのビタミンC含量が著しく高い理由は、ビタミンC生合成に関わる特定の酵素の遺伝子発現が高



※日本食品標準成分表2015年版(七訂) 日本食品標準成分表より



いことによるものではなく、ビタミン C 生合成の主要な経路であるマンノース経路のほとんどの全ての酵素の遺伝子発現が高いことに起因していると考えられる。

これまで、植物のビタミン C 生合成系に関わる酵素のうち、単独の酵素の発現を高めるだけでは、ビタミン C 含量を効果的に高めることは難しかった。前述のアセロラの結果から、植物のビタミン C 含量を高めるためには、マンノース経路に関わる酵素群全体の発現を高める必要があることがわかった。そこで、マンノース経路に関わる複数のビタミン C 生合成酵素の遺伝子を同時に過剰発現することで、ビタミン C 量を飛躍的に強化できるかどうかを調べた結果、実際に、同時に複数のビタミン C 生合成酵素遺伝子を過剰発現するとビタミン C 含量が高まった<sup>19)</sup>。最終的に、植物のビタミン C 生合成のマンノース経路に関わる複数のビタミン C 生合成酵素遺伝子を同時に過剰発現することが、アスコルビン酸含量を高めるために有効であることがわかった。

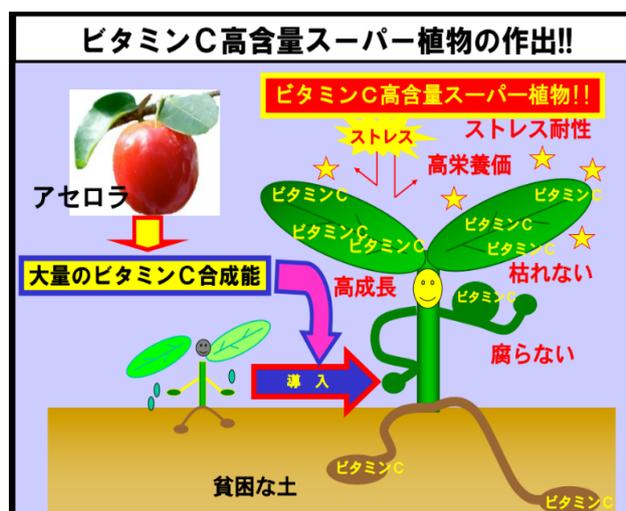
### スーパー植物の作出

アセロラをはじめとするトロピカルフルーツ（熱帯性植物）は、強い日光を浴び、強烈な紫外線にさらされる。その結果、生体内で活性酸素種が大量に発生し、厳しい酸化ストレスを受けることになる。活性酸素種の速やかな除去・消去は、生存を維持するためには必須である。トロピカルフルーツなどの熱帯性植物は、大量の活性酸素種を速やかに除去・消去するために高含量のビタミン C を蓄積しているものと思われる。

前述のように、ビタミン C を強化した植物が作出できれば、その植物は、活性酸素種の除去が効率的に行われ、老化や腐敗が防止され、種々の環境ストレスに対して抵抗性を有する可能性がある。すなわち、ビタミン C に富む栄養価の高い植物を、さらに、ストレス抵抗性で、腐りにくい、枯れない「ビタミン C 高含量スーパー植物」を誕生させる可能性を秘めている。

### おわりに

私は、この 3 月、40 年近く勤めた広島大学を定年退職した。私の勤めていた広島大学は、2019 年度から大学院が再編され、2019 年にまず最初の新研究科として、統合生命科学研究科、医系科学研究科が設立された。今年度、2020 年度からは、新たに、人間社会科学研究科、先進理工系科学研究科が設立され、広島大学の大学院は、11 の研究科が 4 つの研究科に再編された。



私は、2016 年、統合生命科学研究科・医系科学研究科の立ち上げのきっかけとなった最初の WG「生命・生物系分野強化検討 WG」の座長をさせていただいた。ちょうど当時、副学長を拝命していたが、たまたま当時の大学執行部に医療系以外の生命・生物関係の者がおらず、白羽の矢があたった。全学的に大学院を再編することを前提にした WG であったが、当初は全く白紙的な状況で、本当にいばらの WG、喧々諤々と議論した WG であった。

本 WG では、生命・生物系分野の既存の教育研究組織の現状を把握、評価するとともに、国内外の大学の生命・生物系分野の教育研究組織のベンチマーキングを行い、生命・生物系分野の機能強化に繋がる新たな研究科を再編・創設するための検討を行った。

広島大学では、全教員の約 30%は生命・生物系の教員であり、生命・生物系の教員と大学院生は、主に 5 つの研究科に所属し、それぞれの研究科において、それぞれの教育理念・教育目標に沿って、独自の教育システム、教育カリキュラムのもとで人材育成を行ってきた。しかし、急速に発展し続け、絶えず変革している生命・生物系の研究領域に対応し、他研究分野とも柔軟に融合・連携しながら、イノベーションを創出しうる人材を育成するためには、それぞれの既存の研究科での教育システム、狭い領域での教育カリキュラムのもとで学ぶだけでは、不十分になってきた。特に、ポストゲノム時代に入り、生命系の知識以外に情報・数理科学やナノテクノロジー等の素養も必要となってきており、ナノ分子、遺伝子・ゲノムから生態、地球・環境まで、そして、それらの基礎から応用まで、幅広い分野に対する理解と深い専門性を身につけた人材が望まれるようになってきた。すなわち、他領域の学問領域にも興味を持ち、分野融合・学際的な研究領域で貢献できる人材、そして、ゲノムサイエンス、脳・神経科学、ナノ・バイオテクノロジー、生態・環境科学など、発展・変革し続ける生命・生物系の研究領域に迅速に適応し、グローバル社会における様々な諸課題を解決できる人材の育成が求められるようになった。このようなことから、生命・生物系の 5 つの研究科に所属している教員・学生を、2 研究科（生命科学研究科、医系科学研究科）に所属させることになった。結果的に、広島大学の 11 の研究科が 4 つの研究科に再編されるきっかけになった。

本稿で紹介したビタミン C に関する研究も、基礎生命科学、応用生命科学、農学、栄養学、医科学をまたぐ学際的研究から発展してきた。まさに「たかがビタミン C、されどビタミン C」である。

## 文献

- 1) Carr AC, Maggini S.: Vitamin C and Immune Function. *Nutrients*. 2017; 9(11):1211-1235.
- 2) Nishikimi M.: Cloning and chromosomal mapping of the human nonfunctional gene for L-gulono- $\gamma$ -lactone oxidase, the enzyme for L-ascorbic acid biosynthesis missing in man. *J. Biol. Chem.* 1994; 269:13685-13688.
- 3) Pauling L.: The significance of the evidence about ascorbic acid and the common cold. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1971; 68(11):2678-2681.

- 4) Cameron E, Pauling L, Leibovitz B.: Ascorbic acid and cancer: A review. *Cancer Res.* 1979; 39(3):663-681.
- 5) Pauling L: Orthomolecular psychiatry. Varying the concentrations of substances normally present in the human body may control mental disease. *Science* 1968; 160(3825):265-271.
- 6) Ishikawa T., Shigeoka S.: Recent advances in ascorbate biosynthesis and the physiological significance of ascorbate peroxidase in photosynthesizing organisms. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2008; 72(5):1143-1154.
- 7) Fukunaga K, Fujikawa Y, Esaka M.: Light regulation of ascorbic acid biosynthesis in rice via light responsive cis-elements in genes encoding ascorbic acid biosynthetic enzyme. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2010; 74(4):888-891.
- 8) 篤永隆昌, 江坂宗春: 植物アスコルビン酸の新たな生理機能: アスコルビン酸が病害抵抗性に関与する? *ビタミン* 2005; 79(2):116-117.
- 9) Conklin PL, Norris SR, Wheeler GL, Williams EH, Smirnoff N, Last RL, Genetic evidence for the role of GDP-mannose in plant ascorbic acid (vitamin C) biosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1999; 96(7):4198-4203.
- 10) Esaka M, Fujisawa K, Goto M, Kisu Y: Regulation of ascorbate oxidase expression in pumpkin by auxin and copper. *Plant Physiol.* 1992; 100(1):231-237.
- 11) Kato N, Esaka M: Expansion of transgenic tobacco protoplasts expressing pumpkin ascorbate oxidase is more rapid than that of wild-type protoplasts. *Planta* 2000; 210(6):1018-1022.
- 12) Tabata K, Oba K, Suzuki K, Esaka M.: Generation and properties of ascorbic acid-deficient transgenic tobacco cells expressing antisense RNA for L-galactono-1,4-lactone dehydrogenase. *Plant J.* 2001; 27(2):139-148.
- 13) Wheeler GL, Jones MA, Smirnoff N: The biosynthetic pathway of vitamin C in higher plants. *Nature* 1998; 393(6683):365-369.
- 14) Badejo AA, Wada K, Gao Y, T Maruta T, Sawa Y, Shigeoka Y, Ishikawa T.: Translocation and the alternative D-galacturonate pathway contribute to increasing the ascorbate level in ripening tomato fruits together with the D-mannose/L-galactose pathway. *J. Exp. Bot.* 2012; 63(1):229-239.
- 15) Suekawa M, Fujikawa Y, Inada S, Murano A, Esaka M.: Gene expression and promoter analysis of a novel tomato aldo-keto reductase in response to environmental stresses. *J. Plant Physiol.* 2016; 200:35-44.
- 16) Miyaji T, Kuromori T, Takeuchi Y, Yamaji N, Yokosho K, Shimazawa A, Sugimoto E, Omote H, Ma JF, Shinozaki K, Moriyama Y.: AtPHT4;4 is a chloroplast-localized ascorbate transporter in Arabidopsis. *Nat Commun.* 2015; 6:5928.

- 17) Badejo AA, Fujikawa Y, Esaka M.: Gene expression of ascorbic acid biosynthesis related enzymes of the Smirnoff-Wheeler pathway in acerola (*Malpighia glabra*). *J. Plant Physiol.* 2009; 166(6):652-660.
- 18) Kondo T, Fujikawa Y, Esaka M.: A novel regulatory element responsible for high transcriptional expression of acerola GDP-D-mannose pyrophosphorylase gene. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2017; 81(6):1194-1197.
- 19) Suekawa M, Fujikawa Y, Inoue A, Kondo T, Uchida E, Koizumi T, Esaka M.: High levels of expression of multiple enzymes in the Smirnoff-Wheeler pathway are important for high accumulation of ascorbic acid in acerola fruits. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2019; 83(9):1713-1716.