【解説】

ビタミンKの生体内変換とその意義

白川 仁, 大崎雄介, 駒井三千夫

ビタミン K は、血液凝固因子や骨基質タンパク質の翻訳後修飾過程において必須の栄養成分である。近年になり、腫瘍細胞や破骨細胞に対するアポトーシス誘導や核内受容体のリガンドとしての機能など、従来知られている以外の作用に関する報告が相次いでいる。ヒトや齧歯類、鳥類では、摂取されたビタミン K は生体内でビタミン K₂ の1つであるメナキノ-4 へと変換されるが、変換機構やその生理的意義については不明な点が多い。ビタミン K の新しい作用の多くはメナキノ-4 特有の作用であることから、メナキノ-4 は活性型ビタミン K として、様々な組織の細胞で基本的に重要な生理機能を果たしている可能性が考えられる。

脂溶性ビタミンの一種であるビタミン K は Dam によって 1934 年に発見された。脂質を含まない飼料でニワトリの雛を飼育したところ、皮下や筋肉などの組織に出血が見られること、採血した血液が凝固しにくいことを見いだした。Dam は、この試験食に脂溶性のビタミン A, D, E や壊血病の治癒因子であるビタミン C (アスコルビン酸) を加えても症状が治癒されないことから、まったく新しい栄養成分が存在するものと考え、ビタミ

ン K と命名した⁽¹⁾。その後、MacCorquodale らによってアルファルファからビタミン K₁ が、腐敗した魚粉からビタミン K₂ が精製され、構造式が決定された(図1)⁽²⁾。

ビタミン K は 2-メチル-1,4-ナフトキノン を基本骨格として、3 位の側鎖の違いによっていくつかの同族体が存在する。K₁ (フィロキノ-ン) はフィチル基を、K₂ (メナキノ-ン) は種々の長さのイソプレノイド基を有している。天然には K₁ と K₂ の2種類のビタミン K が存在するが、K₁ は植物が合成し、緑色野菜や植物油中に、K₂ は主に微生物が産生し、発酵食品(納豆、チーズなど)に

図1 ■ ビタミン K 同族体の構造式

Conversion of Vitamin K into Menaquinone-4 in Animal Tissues
Hitoshi SHIRAKAWA, Yusuke OHSAKI, Michio KOMAI, 東北大学大学院農学研究科

多く含まれている。また、側鎖をもたないアナログである K_3 (メナジオン) も動物に投与した場合、ビタミン K 活性を有しており、安価なビタミン K として実験動物などの飼料に添加されている。

ビタミン K はプロトンビンなどの血液凝固因子やオステオカルシン、マトリクス Gla タンパク質などの骨タンパク質の活性化の補因子として機能していることから、それらのタンパク質を発現している肝臓や骨において比較的高い濃度で存在している。しかし、ラットのビタミン K の体内分布を見てみると、肝臓や骨のほかに、脳、生殖腺、顎下腺などにも多量に存在している⁽³⁾。さらに、脳や生殖腺で見られるビタミン K のほとんどがビタミン K_2 であり、その中でもイソプレノ単位が4つであるゲラニルゲラニル基をもつメナキノ-4 であることも、古くから知られている。通常使用するラットの飼料にはメナキノ-4 はそれほど多く含まれていないことから、多量に存在するメナキノ-4 は餌中に含まれる他のビタミン K 類 (ビタミン K_1 , ビタミン K_3) から生体内で変換・生成されたものと考えられている。この現象は、1960 年代に見いだされて、変換機構についていくつかの仮説が提唱されているが、変換機構の詳細や生理的な役割については必ずしも明らかになっていない。ここでは、ビタミン K の古典的な役割であるタンパク質の翻訳後修飾 (Gla 化) や、最近になってわかった Gla 化を介さない新しい作用を紹介し、このビタミンの生体内変換の意義について考察したい。

ビタミン K とタンパク質の Gla 化

ビタミン K が血液凝固因子や骨基質タンパク質の活性化に必須の因子であることは前述した通りであるが、その活性化とは K 依存性タンパク質中の特定のグルタミン酸残基の γ 位をカルボキシ化させ、 γ -カルボキシルグルタミン酸残基 (Gla) を生ずる修飾反応である。プロトンビン、第 VII 因子、第 IX 因子、第 X 因子、プロテイン S、プロテイン C、プロテイン Z といった血液凝固やその制御に関わる因子は、Gla 化修飾を受けることによって、カルシウムイオンを配し、Gla 残基を含むドメインの高次構造を安定化させリン脂質 (主にホスファチジルセリン) と結合する。この膜-タンパク質の相互作用はビタミン K 依存性血液凝固因子の活性発現に必須の段階であり、Gla を欠く凝固因子は活性を失う。また、骨基質タンパク質のうち、非コラーゲン成分中に最も多く存在し、骨芽細胞において合成・分泌されるオステオカルシン (骨 Gla タンパク質) は、骨ヒドロキシアパタ

イトと結合するために Gla 化されることが必要であり、Gla 化修飾されていないオステオカルシン (低カルボキシル化オステオカルシン) は血液中に放出される。血清中の低カルボキシル化オステオカルシン濃度はビタミン K が不足した状態で上昇し、骨粗鬆症の血液マーカーのひとつとして利用されている。

Gla 化を受けるタンパク質は先に示した血液凝固因子やオステオカルシンのほかに、骨や血管壁に存在するマトリクス Gla タンパク質や細胞膜に存在するプロリン残基に富んだ Gla タンパク質 (PRGP: Proline-rich Gla protein), Alx ファミリー受容体チロシンキナーゼのリガンドである Gas6 (Growth-arrest-specific gene 6) などがある。PRGP は Gla 修飾を受けるタンパク質の Gla 残基付近のアミノ酸配列の相同領域をもとにクローニングされたタンパク質である⁽⁴⁾。その役割についてはほとんど解析されていないが、PRGP の構造を見ると、Gla ドメインのほかに膜貫通領域、細胞内シグナル分子が結合する PPXY や PXXP の繰り返し配列をもつドメインから構成されているので、膜受容体として機能し、外界のシグナルを細胞内に伝達することに寄与している可能性が考えられている。

Gas6 は当初、NIH3T3 細胞の血清飢餓時において、特異的に発現する遺伝子産物として報告されたタンパク質であるが^(5,6)、プロテイン S と類似した構造をもち 44% の相同性が見られる。その後、Axl や Dtk などの細胞増殖やアポトーシスに関与する Axl ファミリー受容体チロシンキナーゼのリガンドであることが明らかになった⁽⁷⁾。Gla を欠いた Gas6 は Axl の自己リン酸化を行なうことができず⁽⁸⁾、Gas6 の Gla ドメインは Axl を介したシグナル伝達に重要な役割を果たしている。以上のことから、ビタミン K は血液凝固や骨代謝をはじめとして生体内のいくつかの機能に Gla 化を介して関わっている。

これらビタミン K 依存性タンパク質の Gla 化は、 γ -グルタミルカルボキシラーゼ (GGCX) によって行なわれる。最近の GGCX 欠損マウスの解析結果から、GGCX は Gla 化を行なう唯一の酵素であることが明らかとなった⁽⁹⁾。GGCX は分子量 9 万の膜タンパク質であり、補因子として還元型のビタミン K を要求する。還元型のビタミン K は GGCX のシステイン残基の作用によって 1 分子の酸素を取り込み、強塩基性のビタミン K アルコキシドとなる。ビタミン K アルコキシドは Gla 化の対象となるグルタミン酸残基の γ 位から水素を引き抜き、1 分子の二酸化炭素が添加されて Gla 残基が生成する。この反応と同時にビタミン K は酸化され、ビタミン

図2 ■ ビタミン K サイクルと生体内変換

GGPP：ゲラニルゲラニルピロリン酸

K 2,3-エポキシドが生成する。ビタミン K 2,3-エポキシドはビタミン K エポキシドレダクターゼ (VKOR) によって還元され、再び反応に利用される。この一連の K の酸化還元反応はビタミン K サイクルと呼ばれている (図2)。

GGCX は Wu らによってクローニングされ⁽¹⁰⁾、哺乳類では肝臓のほか、胎盤、脳、心臓、腎臓など多くの組織で発現が観察されている。その後、種々の生物から GGCX がクローニングされ、報告されている。ショウジョウバエ^(11,12) やイモ貝 (巻き貝の一種)^(13~15) といった無脊椎動物からも GGCX と相同なタンパク質が見いだされており、実際に Gla 反応を触媒できることも示されている。酵素自身は種を越えて存在しているが、その基質となるタンパク質は種によって異なり、機能の異なるタンパク質を修飾している。つまり、哺乳類では Gla 化は血液凝固や骨形成、細胞増殖などに、イモ貝では捕食のための神経毒として機能している。このことは、酵素タンパク質の相同性が比較的高いにもかかわらず、基質認識においてはまったく異なることを示している。

ビタミン K サイクルを担うもう一方の酵素である VKOR は、2004 年にその構造の一部が明らかにされた。Rost ら⁽¹⁶⁾ および Li ら⁽¹⁷⁾ は、VKOR の強力な拮抗阻害分子であるワルファリンに対する感受性の異なる患者からポジショナルクローニングによって VKORC1 を同定

した。部分的に精製されている VKOR はいくつかのポリペプチドから構成されていたことから、クローニングされた遺伝子 (VKORC1: vitamin K epoxide reductase complex 1) は構成員のひとつであると推定されている。殺鼠剤や血液凝固阻害薬として用いられているワルファリンはビタミン K サイクルを止めることによって、抗凝固作用を発揮する。ワルファリンは脳や心臓における血栓の予防に用いられている重要な薬剤であるが、患者によって効き目が大きく異なるため、服薬管理が難しい医薬品のひとつとされている。VKORC1 遺伝子にはいくつかの多型が存在し、ワルファリンの感受性との関連について調べられ、遺伝子型が薬剤の維持用量に大きく影響していることが判明している。このことを利用して、処方前に患者ごとの服用量の推定が可能となりつつある。

組織におけるメナキノン-4 生成

先に述べたように、ラットやマウスなどの実験動物やニワトリなどの組織中にはビタミン K₂ の 1 つであるメナキノン-4 が大量に含まれている。この組織中のメナキノン-4 の由来について、Billeter らは経口的に投与したビタミン K の側鎖が変換されてメナキノン-4 が生成することを報告した⁽¹⁸⁾。Taggart らは ³H で標識したビタ

図3 ■ メナキノン-4 生成の2つの経路

ミン K₃ をラットに投与して代謝を観察し、ビタミン K₃ がおそらくメナキノン-4 へと代謝されると報告している⁽¹⁹⁾。Dialameh らはこの変換反応がニワトリでも起こることを示し、肝臓からメナキノン-4 を同定した⁽²⁰⁾。Martius は *in vitro* での検討を行ない、トリ肝ホモジェネートにゲラニルゲラニルピロリン酸を加えて、ビタミン K₃ からメナキノン-4 が生成されることを報告している⁽²¹⁾。

以上の研究は、40 年以上も前に行なわれているが、その後の研究は大きくは進んでいない。ただ、これまでも先駆的な研究を補完する論文はいくつか見られる^(22~29)。当初よりメナキノン-4 の生成に腸内細菌が関与する可能性が推察されていたが、腸内細菌叢をもたない無菌動物や培養細胞を用いた研究においても生成が認められたことから^(22, 23, 26)、微生物の関与なしにメナキノン-4 が生成することが判明した。また、ヒトにおける変換の有無については、授乳中の母親にビタミン K₁ を投与した場合、母乳中のメナキノン-4 濃度が増加したこと⁽²⁴⁾ やヒト由来の培養細胞においても変換が確認された⁽²³⁾ ことから、ヒトにおいてもビタミン K からメナキノン-4 への変換が行なわれると考えられている。筆者らのグループは、ウシ腎臓ホモジェネート中にビタミン K₁ や K₃ からメナキノン-4 への変換活性があることを見いだし、加熱処理や尿素、グアニジン塩酸の処理によりその活性が失われたことから、酵素タンパク質によって変換されていると推定している。

ビタミン K₃ からメナキノン-4 への変換の際に必要な側鎖部分は、コレステロール合成の中間体であるゲラニルゲラニルピロリン酸が結合したと考えられる。一方、ビタミン K₁ からメナキノン-4 への変換は側鎖のフィチル基が外れ、K₃ の場合と同様にゲラニルゲラニ

ル基が導入される経路と、側鎖の不飽和化が起こってメナキノン-4 が生成する経路の2通りの可能性が考えられた(図3)。最近になり、Thijssen らは、ヒトの尿中にビタミン K₃ の代謝物が存在していることを報告した⁽²⁵⁾。我々の食事の中にはビタミン K₃ はほとんど含まれていないこと、ビタミン K₁ の摂取量に依存して K₃ 代謝物が変化したことなどから、ビタミン K₁ からメナキノン-4 への変換はフィチル側鎖が解離し、ゲラニルゲラニル基が導入されると推定している。このことを裏づけるように、筆者らのラットを用いた実験系や先に示した無細胞変換系においても、K₁ や K₃ だけではなく、納豆に含まれているメナキノン-7 からメナキノン-4 が生成し、メナキノン-4 自身も側鎖が入れ換わることが、トレーサーを使用した筆者らの実験で判明している(未発表データ)。また、無細胞変換系において、ビタミン K サイクルの阻害因子であるワルファリンの添加によって、メナキノン-4 生成が阻害され、還元剤(ジチオトレイトール)によって回復することから、変換に際して還元型になる必要があると思われる。しかし、この変換反応を担う酵素は未だに精製されておらず、メナキノン-4 生成の意義を解明する上でも、この酵素の早期の同定が期待される。

ビタミン K の新しい作用と生体内変換の意義

生体内においてビタミン K がメナキノン-4 へと変換されることは明らかであるが、なぜ変換は起こるのか。この疑問に対する答えのひとつとして、ビタミン K 同族体の中でもメナキノン-4 のみがいくつかの特異的な作用を有していることが挙げられる。メナキノン-4 は破骨細胞の分化抑制^(30~35) やアポトーシスの誘導作

用^(31, 36), 骨芽細胞の分化促進^(33, 37) やアポトーシス抑制効果⁽³⁸⁾, 腫瘍細胞へのアポトーシス誘導作用^(39~42), 動脈硬化抑制作用⁽⁴³⁾ を有していることが報告されている。破骨細胞は造血幹細胞由来の単球・マクロファージ系前駆細胞より分化するが, 分化誘導因子として骨芽細胞が発現する RANKL が必要である。メナキノ-4 の骨に対する作用は, 骨芽細胞の分化を促進し, 一方 RANKL の発現量を低下させ, 前駆破骨細胞の分化を抑制していると推定されている。さらに, メナキノ-4 は核内の生体異物受容体 (SXR/PXR) のリガンド活性^(44, 45) を有しており, いくつかの遺伝子の発現制御に直接関わっている。SXR は多くの薬物代謝酵素が発現している肝臓や小腸において顕著に発現しているが, それ以外の組織でもわずかながら発現している。Tabb らは, ヒト骨芽細胞由来細胞において SXR が発現し, そのリガンドとしてメナキノ-4 が機能することを初めて示した⁽⁴⁴⁾。また, Ichikawa らは, 骨芽細胞由来の細胞に SXR を過剰発現させ, メナキノ-4 によって mRNA レベルで発現量が変化する遺伝子種を DNA マイクロアレイで検索した。その結果, 骨形成に関与するコラーゲンや Tsukushi タンパク質の発現量をメナキノ-4 が SXR 依存的に制御していることを見いだした⁽⁴⁵⁾。この事実は, メナキノ-4 が骨タンパク質の Gla 化の補因子として機能するだけでなく, 骨芽細胞の分化や破骨細胞の分化抑制, アポトーシス誘導, SXR を介した遺伝子発現制御を通じて, 従来知られていた以上に

骨代謝と密接に関与していることを示している。

筆者らは, ラットにおいてビタミン K の充足度によって発現量が変化する遺伝子の同定を通じて, ビタミン K の新しい作用の解析を進めている。ビタミン K は腸内常在菌によって合成されるが, 抗生物質を投与した患者や腸内細菌叢が定着していない新生児においてビタミン K 欠乏症を発症する場合があることから, 腸内細菌由来のビタミン K は宿主に吸収・利用され, 要求量の一部を担っていると考えられている。筆者らは腸内細菌叢をもたない無菌動物を使用して, 摂取されるビタミン K 量を完全にコントロールできる実験系によって解析を進めている⁽⁴⁶⁾。

先に述べたように, ラットの精巣や脳には肝臓よりも高い濃度でビタミン K が存在し, そのほとんどがメナキノ-4 である。GGCX や VKORC1 も発現しているが, 肝臓と比べるとわずかであり, メナキノ-4 が多量に存在する理由は不明のままである。筆者らは精巣に焦点をあて, DNA マイクロアレイを用いて K 欠乏時に変化する遺伝子種の検索を行なった。その結果, コレステロールやステロイドホルモン合成に関与する遺伝子の発現量が K 欠乏状態で低下していることを見いだした⁽⁴⁷⁾。コレステロール合成の律速酵素である HMG-CoA 還元酵素をはじめとして, ジホスホメバロン酸デカルボキシラーゼ, オキシドスクワレン環化酵素, ファルネシルトランスフェラーゼ, ゲラニルゲラニルトランスフェラーゼの発現が低下していた (図 4)。また, コレ

図 4 ■ コレステロール合成・イソプレノイド代謝経路とビタミン K 欠乏時に発現低下する遺伝子

● コレステロール合成経路酵素: ① HMG-CoA 還元酵素 (Hmgcr), ② ジホスホメバロン酸デカルボキシラーゼ (Mvd), ③ オキシドスクワレン環化酵素 (OSC), ● プレニルトランスフェラーゼ: ④ ファルネシルトランスフェラーゼ α -サブユニット (Fnta), ⑤ Rab ゲラニルゲラニルトランスフェラーゼ α -サブユニット (Rabggt), ■ ステロイドホルモン合成経路酵素: ⑥ コレステロール側鎖切断酵素 (P450scc)

ステロールからプレグネノロンを生成する過程を触媒するコレステロール側鎖切断酵素 (P450scc) の発現量も低下していた。P450scc はステロイドホルモン合成の律速酵素であることから、この経路の産物であるテストステロン量の低下が予想された。測定の結果、血漿中のテストステロン量はビタミン K 欠乏時に有意に減少していた。このことから、先に述べたコレステロール合成に関わる遺伝子の発現低下は、ビタミン K 欠乏の直接的な影響ではなく、テストステロン産生の減少に伴う余剰コレステロールのフィードバック阻害による可能性が考えられた。P450scc の発現は、下垂体から放出される黄体ホルモン (LH) によって制御され、ステロイドホルモン産生細胞である精巣ライディッヒ細胞の LH 受容体を介した A キナーゼ (PKA) の経路によって調節されている。下垂体をはじめとして脳にも大量にビタミン K が含まれていることから、欠乏状態が下垂体の機能を低下させ、LH 分泌に影響を与える可能性が考えられたが、K 欠乏状態においても、血漿 LH 濃度は変化していなかった。一方、精巣 P450scc mRNA 量と精巣ビタミン K 量について見てみると、有意な正の相関関係が見られた。Otsuka らは、肝癌由来細胞においてメナキノン-4 が細胞内 cAMP 濃度を上昇させ、細胞増殖を抑制することを報告している⁽⁴⁸⁾。また、ビタミン K は PC12D 細胞の神経突起の伸長を促進させるが、PKA の阻害剤でその効果が消失した⁽⁴⁹⁾。これらのことから、精巣中のビタミン K (大部分がメナキノン-4) が精巣 cAMP 量の増加を促し、P450scc の発現量を上昇させ、テストステロン合成を亢進させている可能性が考えられる。

次に、肝臓において同様のスクリーニングを行ない、 α_1 -酸性糖タンパク質、フィブリノーゲン γ 鎖、メタロチオネインなど、急性期タンパク質の mRNA がビタミン K 欠乏状態で上昇していることを見いだした⁽⁵⁰⁾。急性期タンパク質は、感染や炎症、組織の損傷などによって発現量が増大する一群のタンパク質で、炎症反応の抑制などに関与している。これら遺伝子の発現量が上昇していたことから、ビタミン K 欠乏状態では組織内での炎症が亢進していると推定された。事実、マウスを用いた実験では、ビタミン K 欠乏時に起こる血液凝固不全に起因した組織内出血が肝臓などにおいて観察されることから、このことを反映して急性期タンパク質の発現が上昇するものと考えられた。一方、重篤ではない欠乏症状を呈している動物においても、急性期タンパク質 mRNA の上昇が観察されたことから、ビタミン K 自身が抗炎症作用を有し、欠乏によって炎症反応が亢進したという可能性も考えられた。そこで、炎症を誘発するモ

デル系によって、ビタミン K の抗炎症作用の有無について検証を行なった。

ラットに比較的多量 (標準飼料に添加される K_1 量の 100 倍) のビタミン K_1 を含む餌を 10 日間給餌し、リポポリサッカライド (LPS) を腹腔内に投与した。一般に、LPS を投与すると肝障害が起こり、血漿中の肝障害マーカーであるアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST) やアラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) の酵素活性が上昇する。この酵素活性を指標として、ビタミン K_1 添加食給餌の影響をみたところ、通常レベルのビタミン K を含む食餌を与えた対照群に比べ、AST、ALT 活性ともに有意に減少しており、肝障害が抑制されていた。また、肝臓における炎症のマーカー遺伝子であるマクロファージ遊走阻止因子の mRNA 量も減少していたことから、ビタミン K_1 添加食の給餌は LPS 誘導の炎症反応を緩和することがわかった。

さらに、ヒト単球由来細胞 THP-1 を用いた解析によっても、ビタミン K が抗炎症作用を有していることが確認できた。すなわち、THP-1 をホルボールエステルによってマクロファージ様細胞に分化させた後、種々の濃度のビタミン K と LPS で処理し、3 時間後のインターロイキン-6 (IL6) mRNA 量を測定した。LPS 処理によって IL6 mRNA は上昇するが、K の添加 ($10 \mu\text{M}$) によって有意に上昇が抑制されていた。また、この効果は K_1 や種々の側鎖長のビタミン K_2 によっても見られ、ビタミン K 類はその側鎖構造に因らず LPS による IL6 の発現上昇を抑制する活性を有していた。IL6 は炎症性サイトカインのひとつであるが、骨代謝において骨吸収を促進する作用 (骨芽細胞における RANKL の発現促進) を有している。先にも述べたように、ビタミン K は骨代謝と密接に関わっているが、骨吸収性サイトカインの発現を抑制するという点においても、骨量を増加させ、骨粗鬆症の改善、予防に寄与している可能性が考えられる。抗炎症作用の詳細なメカニズムは明らかではないが、THP-1 細胞を用いた解析で、少なくとも LPS による NF κ B 経路の活性化が阻害され、IL6 の発現を抑制しているという結果が得られている。NF κ B 経路は PKA によって阻害されることから、ビタミン K による PKA の活性化が IL6 の発現抑制をひき起こすと推察している。NF κ B は炎症反応にとどまらず、多くの細胞内イベントに関与しているので、ビタミン K がこの転写因子を介して広範な生物反応に影響を与えている可能性も考えられる。

以上、ビタミン K の新しい作用について筆者らの結果も含めて述べてきたが、これらの作用と生体内変換の

生理的意義とはどのように結びつくのであろうか。確かに骨における変換は、メナキノ-4 がもつ特異的な作用を発揮する上で重要である。筆者らのデータも含めて、新しい作用のいくつかはビタミン K₁ を用いた場合においても同様の効果が見られており、ナフトキノ-環の作用と推定できる。メナキノ-4 を動物に投与した場合、肝臓、血中濃度は速やかに上昇するが、急速に消失する。一方、他の K アナログを投与した場合、メナキノ-4 に比べ、緩やかに代謝される。この現象は肝癌由来の培養細胞を用いた場合も同様で、メナキノ-4 の細胞内での半減期は他の K アナログに比べ著しく短い。通常、血液中のビタミン K は K₁ が主であり、メナキノ-4 はほとんど検出されない。一方、脳や生殖腺、唾液腺、脾臓などに存在するビタミン K のほとんど (9 割以上) はメナキノ-4 である。肝臓や血中での半減期が短いこと、特定の臓器で高い濃度で維持されていることから考えて、骨において活性型ビタミン K としてユニークな作用を有するメナキノ-4 であるが、精巣などでは側鎖部分であるゲラニルゲラニル基の貯蔵形態として変換されているのかもしれない。ゲラニルゲラニル基はプレニル化タンパク質の基質であり、細胞内のシグナル伝達分子の修飾を介して様々な機能と関連している⁽⁵¹⁾。メナキノ-4 が有するアポトーシス誘導作用の一部は、側鎖部分を介して行なわれている可能性がある。ナフトキノ-環を介した古典的な作用 (Gla 化) や抗炎症などの新しい作用のほかに、ゲラニルゲラニル基供与体として様々な細胞機能に関与しているかもしれない。

今後の課題

様々な研究結果からメナキノ-4 の生体内変換の分子機構のアウトラインは描けてはいるが、変換の中心となる酵素タンパク質の性状がまったく明らかになっていない。この変換酵素を明らかにすることが最優先課題であり、筆者らも分離・同定を試みてはいるが、困難をきわめている。ビタミン K サイクルについても、サイクル自体は 30 年以上も前に発見されていたが、それを担う酵素もすべて明らかになったわけではない (GGCX に続いて、数年前にやっと VKOR の一部が明らかになった)。ワルファリンによって変換が阻害されることから、K サイクルに関わる因子も含めて、さらなる研究が必要である。

また、生成の生理的意義について、筆者らはメナキノ-4 に変換されないビタミン K アナログである 2',3'-ジヒドロフィロキノ- (dK₁) を動物に与えた場合の影響

を解析している。dK₁ は植物油を水素添加した際に派生する側鎖のフィチル基が還元されたビタミン K₁ 様物質である。GGCX の補因子として機能することから、Gla 化には影響しないものの、ラットやヒトでメナキノ-4 へと変換されないことが示されている^(25,52)。このことから、筆者らは dK₁ を含む餌を無菌ラットに与え、脳や精巣でメナキノ-4 含量が著しく低下した動物を作製し、その表現型の解析を進めている。この動物の解析を通じてメナキノ-4 の生理的役割の全容が明らかになるものと期待している。

文献

- 1) H. Dam : *Nature*, **133**, 909 (1934).
- 2) W. MacCorquodale, L. C. Cheney, S. B. Binkley, W. F. Holcomb, R. W. McKee, S. A. Thayer & E. A. Doisy : *J. Biol. Chem.*, **131**, 357 (1939).
- 3) A. M. Huber, K. W. Davidson, M. E. O'Brien-Morse & J. A. Sadowski : *J. Nutr.*, **129**, 1039 (1999).
- 4) J. D. Kulman, J. E. Harris, B. A. Haldeman & E. W. Davie : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 9058 (1997).
- 5) C. Schneider, R. M. King & L. Philipson : *Cell*, **54**, 787 (1988).
- 6) G. Manfioletti, C. Brancolini, G. Avanzi & C. Schneider : *Mol. Cell. Biol.*, **13**, 4976 (1993).
- 7) B. C. Varnum *et al.* : *Nature*, **373**, 623 (1995).
- 8) T. Nakano, K. Kawamoto, J. Kishino, K. Nomura, K. Higashino & H. Arita : *Biochem. J.*, **323**, 387 (1997).
- 9) A. Zhu, H. Sun, R. M. Raymond, B. C. Furie, B. Furie, M. Bronstein, R. J. Kaufman, R. Westrick & D. Ginsburg : *Blood*, **109**, 5270 (2007).
- 10) S.-M. Wu, W.-F. Cheung, D. Frazier & D. W. Stafford : *Science*, **254**, 1634 (1991).
- 11) T. Li, C.-T. Yang, D. Jin & D. W. Stafford : *J. Biol. Chem.*, **275**, 18291 (2000).
- 12) C. S. Walker, R. P. Shetty, K. Clark, S. G. Kazuko, A. Letsou, M. Baldomero, B. M. Olivera & P. K. Bandyopadhyay : *J. Biol. Chem.*, **276**, 7769 (2001).
- 13) G. S. Begley, B. C. Furie, E. Czerwicz, K. L. Taylor, G. L. Furie, L. Bronstein, J. Stenflo & B. Furie : *J. Biol. Chem.*, **275**, 36245 (2000).
- 14) E. Czerwicz, G. S. Begley, L. Bronstein, J. Stenflo, K. Taylor, B. C. Furie & B. Furie : *Eur. J. Biochem.*, **269**, 6162 (2002).
- 15) P. K. Bandyopadhyay, J. E. Garrett, R. P. Shetty, T. Keate, C. S. Walker, M. Baldomero & B. M. Olivera : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 1264 (2002).
- 16) S. Rost, A. Fregin, V. Ivaskevicius, E. Conzelmann, K. Hortnagel, H. J. Pelz, K. Lappegard, E. Seifried, I. Scharer, E. G. Tuddenham, C. R. Muller, T. M. Strom & J. Oldenburg : *Nature*, **427**, 537 (2004).
- 17) T. Li, C. Y. Chang, D. Y. Jin, P. J. Lin, A. Khvorova & D. W. Stafford : *Nature*, **427**, 541 (2004).
- 18) M. Billeter, W. Bolliger & C. Martius : *Biochem. Z.*, **340**, 390 (1964).
- 19) W. V. Taggart & J. T. Matschiner : *Biochemistry*, **8**, 1141 (1969).
- 20) G. H. Dialameh, W. V. Taggart, J. T. Matschiner & R. E. Olson : *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, **41**, 391 (1971).

- 21) C. Martius: "Ciba Foundation Symposium on Quinines in Electron Transport", ed. by G. E. W. Wolstenholme and C. M. O'Connor, Little Brown, Boston, 1961, p. 312.
- 22) J. E. Ronden, M. J. Driittij-Reijnders, C. Vermeer & H. H. Thijssen: *Biochim. Biophys. Acta*, **1379**, 69 (1998).
- 23) R. T. Davidson, A. L. Foley, J. A. Engelke & J. W. Suttie: *J. Nutr.*, **128**, 220 (1998).
- 24) H. H. Thijssen, H. J. Driittij, C. Vermeer & E. Schoffelen: *Br. J. Nutr.*, **87**, 219 (2002).
- 25) H. H. Thijssen, J. M. Vervoort, L. J. Schurgers & M. J. Shearer: *Br. J. Nutr.*, **95**, 260 (2006).
- 26) S. Kimura, H. Satoh & M. Komai: *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)*, *Suppl.* 425 (1992).
- 27) H. H. Thijssen & M. J. Driittij-Reijnders: *Br. J. Nutr.*, **72**, 415 (1994).
- 28) H. H. Thijssen, M. J. Driittij-Reijnders & M. A. Fischer: *J. Nutr.*, **126**, 537 (1996).
- 29) R. Yamamoto, M. Komai, K. Kojima, Y. Furukawa & S. Kimura: *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)*, **43**, 133 (1997).
- 30) Y. Akiyama, K. Hara, T. Tajima, S. Murota & I. Morita: *Eur. J. Pharmacol.*, **263**, 181 (1994).
- 31) T. Kawata, J. H. Zernik, T. Fujita, C. Tokimasa & K. Tanne: *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)*, **45**, 501 (1999).
- 32) Y. Takeuchi, M. Suzawa, S. Fukumoto & T. Fujita: *Bone*, **27**, 769 (2000).
- 33) Y. Koshihara, K. Hoshi, R. Okawara, H. Ishibashi & S. Yamamoto: *J. Endocrinol.*, **176**, 339 (2003).
- 34) H. Taira, Y. Fujikawa, O. Kudo, I. Itonaga & T. Torisu: *Calcif. Tissue Int.*, **73**, 78 (2003).
- 35) Y. Hiruma, K. Nakahama, H. Fujita & I. Morita: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **314**, 24 (2004).
- 36) T. Kameda, K. Miyazawa, Y. Mori, T. Yuasa, M. Shio-kawa, Y. Nakamaru, H. Mano, Y. Hakeda, A. Kameda & M. Kumegawa: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **220**, 515 (1996).
- 37) Y. Takeuchi, M. Suzawa, S. Fukumoto & T. Fujita: *Bone*, **27**, 769 (2000).
- 38) S. Urayama, A. Kawakami, T. Nakashima, M. Tsuboi, S. Yamasaki, A. Hida, Y. Ichinose, H. Nakamura, E. Ejima, T. Aoyagi, T. Nakamura, K. Migita, Y. Kawabe & K. Eguchi: *J. Lab. Clin. Med.*, **136**, 181 (2000).
- 39) M. Yaguchi, K. Miyazawa, M. Otawa, T. Katagiri, J. Nishimaki, Y. Uchida, O. Iwase, A. Gotoh, Y. Kawanishi & K. Toyama: *Leukemia*, **12**, 1392 (1998).
- 40) K. Miyazawa, M. Yaguchi, K. Funato, A. Gotoh, Y. Kawanishi, Y. Nishizawa, A. You & K. Ohyashiki: *Leukemia*, **15**, 1111 (2001).
- 41) T. Shibayama-Imazu, S. Sakairi, A. Watanabe, T. Aichi, S. Nakajo & K. Nakaya: *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **129**, 1 (2003).
- 42) T. Yoshida, K. Miyazawa, I. Kasuga, T. Yokoyama, K. Minemura, K. Ustumi, M. Aoshima & K. Ohyashiki: *Int. J. Oncol.*, **23**, 627 (2003).
- 43) H. M. Spronk, B. A. Soute, L. J. Schurgers, H. H. Thijssen, J. G. De Mey & C. Vermeer: *J. Vasc. Res.*, **40**, 531 (2003).
- 44) M. M. Tabb, A. Sun, C. Zhou, F. Grun, J. L. Errandi, K. M. Romero, H. Pham, S. Inoue, S. Mallick, M. Lin, B. M. Forman & B. Blumberg: *J. Biol. Chem.*, **278**, 43919 (2003).
- 45) T. Ichikawa, K. Horie-Inoue, K. Ikeda, B. Blumberg & S. Inoue: *J. Biol. Chem.*, **281**, 16927 (2006).
- 46) M. Komai, H. Shirakawa & S. Kimura: *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, **58**, 55 (1988).
- 47) H. Shirakawa, Y. Ohsaki, Y. Minegishi, N. Takumi, K. Ohinata, Y. Furukawa, T. Mizutani & M. Komai: *Biochim. Biophys. Acta*, **1760**, 1482 (2006).
- 48) M. Otsuka, N. Kato, R. X. Shao, Y. Hoshida, H. Ijichi, Y. Koike, H. Taniguchi, M. Moriyama, Y. Shiratori, T. Kawabe & M. Omata: *Hepatology*, **40**, 243 (2004).
- 49) C. K. Tsang & Y. Kamei: *Neurosci. Lett.*, **323**, 9 (2002).
- 50) Y. Ohsaki, H. Shirakawa, K. Hiwatashi, Y. Furukawa, T. Mizutani & M. Komai: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **70**, 926 (2006).
- 51) M. Bifulco: *Life Sci.*, **77**, 1740 (2005).
- 52) T. Sato, R. Ozaki, S. Kamo, Y. Hara, S. Konishi, Y. Isobe, S. Saitoh & H. Harada: *Biochim. Biophys. Acta*, **1622**, 145 (2003).

プロフィール

木梨 陽康 (Haruyasu Kinashi) <略歴> 1969 年東京大学農学部農芸化学科卒業 / 1974 年同大学大学院農学系研究科農芸化学専攻博士課程修了 (農博) / 同年理化学研究所特別研究員 / 1976 年三菱化成 (株) 生命科学研究科 / 1990 年広島大学工学部助教授 / 1997 年同大学大学院工学研究科教授 / 1998 年同大学大学院先端物質科学研究科分子生命機能科学専攻教授, 現在にいたる。この間, 1984 年米国ウィスコンシン大学薬学部客員研究員 (2 年間) <研究テーマと抱負> 放線菌の線状染色体・プラスミドの構造・機能および進化に関する研究 <趣味> 囲碁, 山歩き, テニス

木下 専 (Makoto Kinoshita) <略歴> 1989 年京都大学医学部卒業後, 眼科臨床研修を経て, 1995 年同大学大学院医学研究科博士課程修了 / 同年分子腫瘍学教室助

手 / 2003 年同大学大学院医学研究科先端領域融合医学研究機構グループリーダー / 2007 年同大学大学院生命科学系キャリアパス形成ユニット講師, 現在にいたる。この間, 2000 年米国 Harvard Medical School HFSP フェロー <研究テーマと抱負> 分子細胞生物学 <趣味> 宇宙論 (初歩的)

経塚 淳子 (Junko Kyoizuka) <略歴> 1984 年東京大学大学院農学系研究科修士課程修了後, 三菱化成 (株) (現 三菱化学 (株)) 植物工学研究所, オーストラリア CSIRO 博士研究員を経て, 1995 年奈良先端科学技術大学院大学助教授 / 2002 年東京大学大学院農学生命科学研究科助教授, 現在にいたる <研究テーマ> 植物の形作り <趣味> 動物の飼育, 植物の育成

高妻 篤史 (Atsushi Kouzuma) <略

歴> 2003 年東京大学農学部生命工学専修卒業 / 2005 年同大学大学院農学生命科学研究科応用生命工学専攻修士課程修了 / 2007 年日本学術振興会特別研究員 (東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命工学専攻博士課程在学中), 現在にいたる <研究テーマと抱負> 細菌の硫黄飢餓応答機構の解明 <趣味> 読書, DVD, 運動

合谷 祥一 (Shoichi Gohtani) <略歴> 1978 年大阪府立大学農学部農芸化学科卒業 / 1980 年同大学大学院農学研究科博士前期課程修了 / 1981 年同博士後期課程中退 / 1982 年香川大学農学部助手 / 1986 年同助教授 / 2001 年同教授, 現在にいたる <研究テーマと抱負> 食品乳化剤を用いた省エネな微細エマルジョンの調製, 食品のレオロジー的性質に対する油滴の影響, 高齢者食品に関する研究