ビタミン K の生体内変換と生成したメナキノン -4 の機能

Conversion of Menaquinone-4 in Animal Organs and its Functions

白川 仁

東北大学大学院農学研究科栄養学分野
〒981-8555
仙台市青葉区堤通雨宮町 1-1

Hitoshi SHIRAKAWA
Laboratory of Nutrition, Graduate
School of Agricultural Science,
Tohoku University
1-1 Tsutsumidori-Amamiyamachi,
Aoba-ku, Sendai 981-8555, Japan

桂井 朋子

東北大学大学院農学研究科栄養学分野
〒981-8555
仙台市青葉区堤通雨宮町 1-1

Tomoko KATSURAI
Laboratory of Nutrition, Graduate
School of Agricultural Science,
Tohoku University
1-1 Tsutsumidori-Amamiyamachi,
Aoba-ku, Sendai 981-8555, Japan

駒井 三千夫

東北大学大学院農学研究科栄養学分野
〒981-8555
仙台市青葉区堤通雨宮町 1-1

Michio KOMAI
Laboratory of Nutrition, Graduate
School of Agricultural Science,
Tohoku University
1-1 Tsutsumidori-Amamiyamachi,
Aoba-ku, Sendai 981-8555, Japan

論文要旨: 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因子である。しかしながら、近年になり、腫瘍細胞への増殖阻害や分化誘導、核内受容体の活性化など、新しい機能についての報告が相次いでいる。ヒトや齧歯類では、摂取されたビタミン K は生体内でビタミン K₂ のひとつであるメナキノン -4 (ゲラニルゲラニル基を側鎖に有する) へと変換される。UBIAD1 (*UbiA* prenyltransferase domain containing 1) が本変換に関わる重要な因子として同定されたが、変換機構の全体についてはまだ不明な点が多い。本レビューでは、メナキノン -4 変換や新しいビタミン K、特にメナキノン -4 の作用に関する最近の知見をまとめ、本変換の生理的意義について考察した。

Abstract: Vitamin K is an essential factor for posttranslational modification (γ -glutamylcarboxylation) of vitamin K-dependent proteins including blood coagulation factors and bone matrix proteins. However, there are many reports regarding novel functions of vitamin K; inhibition of cell proliferation and induction of differentiation in tumor cells, and activation of nuclear receptor SXR/PXR. After ingestion from foods, vitamin K is converted to menaquinone-4, one of vitamin K₂, which has geranylgeranyl moiety at 3 position of 2-methylnaphthoquinone, in various organs in human and rodent. *UbiA* prenyltransferase domain containing 1, UBIAD1, was identified as one of crucial enzyme for this conversion, but entire conversion process has still not elucidated completely. In this review, we described recent knowledge of menaquinone-4 conversion, novel functions of vitamin K, specially menaquinone-4, and discussed physiological meaning of menaquinone-4 conversion in tissues.

Key words: menaquinone-4, UBIAD1, SXR/PXR, NF κ B, protein kinase A

1 はじめに

脂溶性ビタミンの一種であるビタミン K は抗出血症

連絡者: 白川 仁
E-mail: shirakah@m.tohoku.ac.jp

因子として、デンマークの Henrik Dam によって 1934 年に発見された¹⁾。その後、MacCorquodale らは、アルファルファからビタミン K₁ (K₁) を、腐敗した魚粉からビタミン K₂ (K₂) を精製し、その化学構造を明らかにした (Fig. 1)²⁾。ビタミン K は 2-methyl-1,4-naph-

Fig. 1 ビタミン K とコエンザイム Q の構造

thoquinone を基本骨格として、3 位の側鎖構造の違いによって同族体が存在する。K1 (フィロキノン) はフィチル基側鎖を有し、緑色野菜や植物油中に多く含まれる。K2 (メナキノン) は種々の長さのイソプレノイド基側鎖を有しているが、主に微生物が産生し、発酵食品(納豆、チーズなど)に含まれる。6~10 ユニットのイソプレノイド単位を有するものが主要であるが、15 ユニットまでのメナキノンが検出されている。また、側鎖を持たないアナログであるビタミン K3 (K3, 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 はプロトロンビンなどの血液凝固因子やオステオカルシンなどの骨基質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、血管において比較的高い濃度で存在している。一方、ラットにおけるビタミン K の組織分布を見てみると、肝臓や骨のほかに、脳、生殖腺、脾臓などにも多量に存在している (Fig. 2)³⁾。さらに脳や脾臓で見られるビタミン K のほとんどがビタミン K2 の中でもイソプレノイド単位が4 ユニットであるゲラニルゲラニル基を持つメナキノン-4 (MK-4) であることが知られている。多量に存在するメナキノン-4 は食品に含まれる他のビタミン K 類 (K1, K3) から吸収後に、生体内変換・生成されたものであることがわかっている。この変換を担う因子として UBIAD1 (*UbiA prenyltransferase domain contain 1*) が同定されているが、詳細な変換機構や MK-4 生成の生理的意義については未だ不明な点が多い。ビタミン K は、プロトロンビン、オステオカルシンをはじめとした十数種類のビタミン K 依存性タンパク質の翻訳後修飾 (グルタミン酸残基の γ カルボキシ化: Gla 化) を行う γ グルタミルカルボキシラーゼ (GGCX) の必須の因子としてはたらくが、Gla 化以外の新しい作用についても数多く報告されている。これらの作用の多くは MK-4 にのみ見られる特徴的な作用であることから、MK-4 は「活性型ビタミン K」として、基本的に重要な生理機能を示している可能性が考えられる。本稿では、ビタミン K の生体内変換とビタミン K

Fig. 2 ラット組織中のビタミン K 量 (文献 3 より引用) Wistar 系ラットに AIN-93G 標準飼料を 3 週間給餌した後、組織中のビタミン K 量を蛍光 HPLC 法で測定した。

の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。

2 組織におけるメナキノン-4生成

Fig. 2で示したように、ラットをはじめ、マウスなどの実験動物やニワトリなどの組織中にはMK-4が大量に含まれている。このことはヒトにおいても明らかにされており、脳や脾臓にMK-4がK1より多く存在することが報告されている^{4, 5)}。これらの組織中のMK-4は摂取したビタミンKが生体内で変換して、生成したものである。

2・1 ビタミンK1、ビタミンK3からMK-4生成

MK-4生成に関する最初の試験は、今から50年以上も前に行われている。Martiusらは、K1を動物へ経口投与した実験や、ニワトリ肝臓抽出物にK3を添加した無細胞系試験によって、MK-4生成を確認した^{6, 7)}。これらの試験結果より、経口投与したK1は腸内細菌叢によって消化管管腔内で側鎖を持たないK3へと変換され、吸収されたK3が各組織でMK-4へと変換すると推定した。しかし、その後、腸内細菌叢を持たない無菌ラットやマウスにK1を経口摂取させても、MK-4生成が認められたことから、腸内細菌の関与無しにMK-4は生成することがわかっている⁸⁻¹⁰⁾。体内に入ったK1がMK-4へ変換するには、次の2通りの経路が考えられる。1つは、K1のフィチル側鎖の不飽和化が起こり、MK-4が生成するという経路である。もう1つは、フィチル側

鎖がナフトキノン環から解離、K3となった後、メバロン酸経路由来のゲラニルゲラニル基が導入されるという経路である。Thijssenらはヒト尿中にK3代謝物が存在すること、この代謝物がK1の摂取量に従って増加することを見出し、後者の経路を支持する結果を示した¹¹⁾。このことは、最近のHirotaらのラットを用いた試験によっても確認されている¹²⁾。安定同位体で標識したK1をラットに経口投与し、経時的に腸管リンパ液を採取し、K1, K3, MK-4量を測定した。その結果、投与したK1の約2パーセントが消化管細胞内においてK3となり、脳などの組織に移行した後、MK-4に変換されることがわかった(Fig. 3)。授乳中の母親にK1を投与すると母乳中のMK-4濃度が増加するが、この変換によると考えられる¹³⁾。K1やK3以外のビタミンKからもMK-4が生成する。Thijssenらは、ヒトにMK-7を経口投与した場合に尿中のK3代謝物が増加することを示した¹¹⁾。また、我々が行ったラットや臓器抽出液を用いた無細胞系の試験においても、MK-7からのMK-4生成が見られ、MK-4からも自身の側鎖が入れ替わったMK-4が生成することを放射性トレーサー試験で見出している。消化管細胞、あるいは組織において、K1やMK-7から側鎖を解離させ、K3を生成する因子については未だ明らかになっていないが、ラット消化管由来ICE-6細胞において、効率よくK1からMK-4生成が見られる¹²⁾ことから、本細胞を用いて解析を進めることができると考える。

Fig. 3 メナキノン-4の変換・生成機構(文献12より、引用・一部改変)

2・2 変換酵素 UBIAD1

摂取された K1 が K3 となり、その後 MK-4 へと変換されるが、K3 から MK-4 への変換には、UBIAD1 が関与することが明らかになっている。UBIAD1 は、大腸菌プレニルトランスフェラーゼ *menA* のヒト相同体である。Nakagawa らは、ヒト骨芽細胞 MG-63 を用いて、siRNA により UBIAD1 を低下させると、MK-4 変換量が減少すること、また ectopic に UBIAD1 を発現させた細胞において変換活性が見られることを示し、本遺伝子産物が MK-4 変換に関わることをはじめて示した¹⁴⁾。さらに最近、同グループから本遺伝子の欠損マウスについての報告があった¹⁵⁾。マウス *Ubiad1* は 2 つのエクソンから構成される遺伝子であるが、第一エクソンを欠損させた ES 細胞から欠損マウスの作成が試みられた。*Ubiad1*^{-/-}マウスは、胎生 7.5 日で致死となった。*Ubiad1*^{-/-}ES 細胞を樹立し、これを用いた変換試験では MK-4 合成は見られなかったが、コエンザイム Q9 (CoQ9) の合成は野生型の ES 細胞と同程度だった。このことから、少なくとも ES 細胞において、*Ubiad1* は MK-4 生成を行う唯一の酵素であることが明確になった。*Ubiad1*^{+/-}マウスは、正常に発生、成長し、生殖能力もあったが、28 週齢マウスの脳や脾臓などの MK-4 量は、*Ubiad1*^{+/+}マウスの約半分であった。一方、心臓などの CoQ9、CoQ10 量に変化が無かった。ゼブラフィッシュにおいて *Ubiad1* は CoQ 合成に関わる¹⁶⁾ が、マウスの CoQ 合成には関与しないと考えられる。*Ubiad1*^{+/-}マウス同士を掛け合わせた妊娠マウスに MK-4 または CoQ10 を投与すると、胎児の妊娠期の寿命が延長した。しかし、出生後、すべて死亡した。この効果は、CoQ9 の投与では見られなかったことから、CoQ9 より 1 イソプレニル単位多い CoQ10 は、*Ubiad1*^{-/-}マウス胎児において、MK-4 の代償作用を示すと考えられる。これらの結果は、*Ubiad1* はマウス胎児において MK-4 合成のみに関与すること、また妊娠期における MK-4 合成の重要性を示すものである。ショウジョウバエの UBIAD1 ホモログである *heix* は、ミトコンドリア中のキナーゼである *pink1* の活性を制御する因子として同定された。*pink1* のヒトホモログはパーキンソン病の罹患者でしばしば変異が認められている。*heix* の変異はミトコンドリアでの電子伝達系が働かないが、MK-4 を給与することによって、この変異を回復させることができ (CoQ10 の給与では回復しない)¹⁷⁾、MK-4 はショウジョウバエにおいて原核細胞と同じように電子伝達系に働くことができることを示している。ゼブラフィッシュの *Ubiad1* 変異は血管形成不全を引き起こすが、MK-4 の投与によって回復した¹⁸⁾。このことは、*Ubiad1* とその代謝産

物である MK-4 が血管の内皮細胞の生存と発生において重要であることを示唆する。

2・3 UBIAD1 とコレステロール合成・代謝

シュナイダー角膜変性症は、角膜にコレステロールやリン脂質が異常に蓄積し失明する、常染色体優性遺伝疾患であるが、その原因遺伝子は UBIAD1 である^{19, 20)}。一方で、UBIAD1 は膀胱癌などいくつかの腫瘍の増殖抑制因子である TERE1 (transitional epithelial response gene 1) としても報告されている^{21, 22)}。UBIAD1 は、コレステロール代謝を変化させ、腫瘍の増殖を抑制すると考えられており、UBIAD1 はコレステロール輸送に関与する ApoE (アポリポタンパク質 E)、コレステロール合成の律速酵素 HMGCR (HMG-CoA 還元酵素)、コレステロールのエステル化酵素 SOAT1 (ステロール O-アシルトランスフェラーゼ 1) と相互作用することがわかっている^{23, 24)}。先に示した、*Ubiad1*^{+/-}マウスでは血液中の総コレステロール、HDL コレステロール値は、野生型マウスと比較して有意に高値を示した¹⁵⁾。ラットにビタミン K 欠乏食を与え、組織中の MK-4 濃度を低下させると、MK-4 変換が盛んな精巣の HMGCR、MVD (ジホスホメバロン酸デカルボキシラーゼ) などのメバロン酸経路遺伝子の mRNA 量が低下する²⁵⁾。これらの結果は、UBIAD1 さらに MK-4 合成がコレステロールの合成や代謝に大きく影響することを示している。

2・4 UBIAD1 以外の MK-4 変換の制御因子

UBIAD1 はユビキタスに発現が見られ、MK-4 が様々な組織に存在していることとよく相関している。しかし、各組織の MK-4 量と UBIAD1 の発現量は必ずしも一致していない (桂井ら、未発表データ)。MK-4 生成量は、UBIAD1 だけでなく、基質 (K3、およびゲラニルゲラニル基) の供給系の影響を受けると考えられる。先に述べたように、K1 や MK-7 から側鎖が解離して K3 を生成する未知の因子が生成系全体の律速となる可能性もある。また、メバロン酸経路由来のゲラニルゲラニル基の供給量も重要であると考えられる。筆者らの培養細胞を用いた MK-4 変換系において、HMGCR の阻害剤であるスタチンを添加すると、K3 からの MK-4 生成量が有意に減少し、細胞外からゲラニルゲラニル基を給与すると変換量の回復が見られた。また、タンパク質にプレニル基を導入するプレニルトランスフェラーゼの阻害剤処理で、MK-4 生成が有意に上昇した。以上の結果から、細胞内のゲラニルゲラニル二リン酸 (またはその代謝物) 量が律速因子となる可能性が考えられた (桂井ら、未発表データ)。さらに、他の生理活性物質が基質供給系に影響を与え、MK-4 生成量を変化させることも考えられる。最

近, ビタミン E の過剰摂取が MK-4 変換に影響を与えることが報告された。Farley らは, 安定同位体標識 K1 を含む試験食をラットに 17 日間給餌した後, 7 日間, α -トコフェロールを皮下に投与し, 臓器中の総ビタミン K およびラベルされた K1 や MK-4 を検出した²⁶⁾。その結果, トコフェロールの投与によって, 消化管からの K1 の吸収は影響を受けなかったが, 脳, 腎臓, 肺の総 MK-4, ならびにラベルされた MK-4 濃度が低下し (1/3 から 1/4 程度), 見かけ上の MK-4 変換が阻害されていた。しかし, トータル K1 (または MK-4) に対するラベル化 K1 (または MK-4) の割合はコントロール群と比較して, 変化しなかった。この試験では MK-4 変換の中間体である K3 量を測定していないことから, 必ずしも明確な解釈が得られないが, 消化管細胞において K1 から K3 が生成し, 各組織に運ばれて MK-4 に変換されるとすると, トコフェロールは消化管での K3 生成, その後の血中への移行, さらに, 各組織における K3 の取り込みを阻害している可能性が考えられる。

3 ビタミン K の新しい作用

MK-4 は他のビタミン K 同族体が持たない特徴的な作用を有しており, 組織内で変換・生成した MK-4 はそれらの作用を発揮すると考えられている。MK-4 の持つ特異的作用は骨代謝に焦点が当てられ, 1990 年代から精力的に行われてきた。その結果, MK-4 は破骨細胞の分化抑制²⁷⁻³²⁾ やアポトーシス誘導作用^{28, 33)}, 骨芽細胞の分化促進^{30, 34)} やアポトーシス抑制効果³⁵⁾ を有し, 本来持っている GGCX を介したオステオカルシンの活性化と合わせて, 骨の健全性の維持に働く事が明確になった。これらの骨に対する作用に加えて, 核内受容体のリガンド活性, NF κ B の活性化阻害, A キナーゼの活性化などの作用も有している。比較的近年明らかになった, これらの作用について以下に紹介する。

3・1 核内受容体のリガンド活性

核内受容体 SXR/PXR (NR1I2) は, 薬物など生体異物をリガンドとして, 薬物代謝酵素遺伝子の発現を制御する転写調節因子であるが, MK-4 もリガンド活性を有しており, いくつかの遺伝子の発現に関与する。Tabb らは, SXR が肝臓や小腸のほかに, 骨芽細胞においても発現していることを示し, そのリガンドとして MK-4 が機能することを始めて示した³⁶⁾。さらに, Ichikawa らは, 骨芽細胞において MK-4 が骨形成に関わる Tsukushi の mRNA 量を SXR 依存的に上昇させ, コラーゲン量を増加させることを示した³⁷⁾。これらの結果は, MK-4 が骨タンパク質の Gla 化の補因子としての機能や, 骨芽細胞の分化や破骨細胞の分化抑制, アポトーシス誘

導に加えて, 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連していることを示している。

また, MK-4 は腫瘍細胞の増殖阻害効果を示すが, この作用発現に SXR の活性化が関与している。肝細胞癌由来 HuH7 細胞に SXR を過剰発現させると, 細胞の増殖阻害が観察され, さらに MK-4 で処理すると阻害効果が増強した³⁸⁾。MK-4 により活性化された SXR がどのように増殖阻害を示すかについては明らかになっていないが, SXR は NF κ B と相互作用し, コリプレッサーとして働き, NF κ B の活性を阻害する可能性がある。他の肝癌細胞において, NF κ B の活性化を阻害すると細胞増殖が阻害される³⁹⁾ ことから (後述), HuH7 細胞で見られた効果は NF κ B の活性化阻害による可能性も考えられる。

骨髓異形成症候群の患者に MK-4 を投与する試験が行われ, 血球減少に改善が見られたことから, MK-4 は骨髓間質細胞の機能を改善して, 造血をサポートする可能性が示唆されている^{40, 41)}。この MK-4 の作用について, Sada らは MK-4 が造血前駆細胞の分化を SXR を介して誘導することを示した⁴²⁾。ヒト血液由来の CD34 陽性細胞 (造血前駆細胞) を MK-4 とともに 6 日間培養すると, CD34 陽性細胞数が 30% 減少し, 単球細胞マーカーである CD11b, CD14 の発現量が上昇したことから, MK-4 は CD34 陽性細胞を有意に分化促進させることがわかった。CD34 陽性細胞では SXR の発現が見られたことから, SXR の関与を推定し, SXR の典型的なリガンドであるリファンピシンで CD34 陽性細胞を処理すると, MK-4 と同じように細胞の分化が観察され, MK-4 とリファンピシンの共処理で, 相加作用が見られた。MK-4 は SXR のリガンドとして機能し, 造血前駆細胞の分化を促進する作用を有している。

3・2 NF κ B の活性化阻害

NF κ B (Nuclear factor kappa B) は, 様々な細胞内外のストレスによって活性化し, ストレス応答の関わる遺伝子の発現を制御する転写調節因子であり, 炎症応答, 細胞増殖, アポトーシスなど様々な細胞機能に関与している。Ozaki らは MK-4 による肝癌細胞の増殖阻害の機構解析を行ったところ, MK-4 はサイクリン D1 の発現を mRNA レベルで抑制した³⁹⁾。続いてサイクリン D1 の発現調節因子である NF κ B に焦点をあて, レポータージーンアッセイとゲルシフトアッセイにより MK-4 による NF κ B の活性化抑制を示した。また, MK-4 処理した細胞抽出液を用いた in vitro リン酸化試験によって, NF κ B 活性化の上流因子である IKK のリン酸化活性が低下することを示した。さらに同グループは, IKK の

活性化因子のひとつであるCキナーゼの活性をMK-4が阻害することを突き止めた⁴³⁾。肝細胞癌の患者に処方されている抗がん剤5-フルオロウラシル(5-FU)はNFκBを活性化するが、この薬剤によるNFκBの活性化は薬効を減弱させ、NFκB阻害剤との併用が望まれている。MK-4と5-FUを共処理した肝癌細胞ではNFκBの活性化が阻害され、5-FU単独よりも細胞増殖が有意に低下した⁴⁴⁾。筆者らは、ヒト単球由来THP-1をマクロファージ様細胞に分化させた細胞を用いて、MK-4がリポポリサッカライド(LPS)誘導の炎症性サイトカインの発現を抑制することを示した⁴⁵⁾。続いてMK-4の作用点について見たところ、MK-4はLPSによるNFκBの活性化を抑制し、これがIKKα/βのリン酸化(活性化)阻害によると推定された。また、LPS誘導炎症性サイトカインの発現抑制は、K1や他のメナキノン(MK-3, MK-7)処理でも見られた。MK-4以外のメナキノン類によるNFκB活性化阻害について、他にも報告がある。RAW264.7細胞をLPSで刺激した後のNFκBの核内移行量は、MK-2の前処理で阻害された⁴⁶⁾。また、前骨芽細胞であるMC3T3細胞においてTNFαによるNFκBレポーター活性を指標として解析したところ、MK-7やMK-4処理でレポーター活性の有意な低下が観察されている⁴⁷⁾。

3・3 Aキナーゼの活性化

Tsangらは、PC12D細胞において神経増殖因子存在下で、神経突起伸長を促進する物質を検索し、MK-4やK1を同定した。MK-4, K1ともに神経突起伸長を促進し、アセチルコリンエステラーゼ活性を上昇させた⁴⁸⁾。この効果は、Aキナーゼ阻害剤の存在下で消失したことから、ビタミンK処理はAキナーゼを活性化させ、神経突起伸長を促進すると考えられた。肝細胞癌の増殖や浸潤はMK-4により阻害されるが、この作用がAキナーゼの活性化によることも報告されている。AキナーゼがMK-4により活性化すると、その下流因子であるRhoGTPaseが阻害され、抗腫瘍効果を示す⁴⁹⁾。また、骨芽細胞において、GGCXやSXRの活性化以外の作用を調べたところ、GDF15やSTC2といったAキナーゼの下流にある遺伝子のmRNA量がMK-4処理により上昇した⁵⁰⁾。Aキナーゼ阻害剤やAキナーゼを標的としたsiRNAによって、MK-4による両mRNA量の上昇は消失した。一方、K1やMK-7処理では、両遺伝子の発現上昇は観察されなかったことから、骨芽細胞ではMK-4のみがAキナーゼを活性化すると考えられる。我々は、ビタミンK欠乏食や、K1、あるいはMK-4を過剰量含む試験食を給餌したラットの解析より、ビタミンKの摂取量と精巣におけるテストステロン産生が関連してい

ることを見出した²⁵⁾。さらに、精巣におけるテストステロン産生細胞であるライディッヒ細胞において、MK-4処理はAキナーゼを活性化し、ステロイド産生を上昇させた⁵¹⁾。K1処理ではこの効果が見られなかったが、MK-7やMK-3ではステロイド産生上昇が見られた。以上の結果より、MK-4は種々の細胞において、Aキナーゼを活性化させる作用を持つと考えられるが、他のビタミンK同族体では一致した結果が得られていない。

4 おわりに

UBIAD1がMK-4変換・生成の一部を担うことが明らかにになり、変換機構の全容解明に向けて、研究が大きく進展した。一方、これらの研究を進める中で、不明のまま取り残されていた問題も、より明確となった。どのような因子がK1から側鎖を解離させるのか、また、MK-7や他のメナキノン類からK3を生成する際に同じ因子が介在するのかどうか、UBIAD1以外のどのような因子により、各組織の中でK3からMK-4への変換量が決められているのか、などについて明らかにする必要がある。生成したMK-4は、転写調節因子やいくつかのシグナル伝達の活性を変化させ、様々な細胞機能に影響を与えていると考えられる。しかし、大量にMK-4が含まれる、脳や脾臓での明確な機能が明らかになっていない。これらの解析を通じてMK-4の生体内変換の生理的意義がより明確になると考える。

文 献

- 1) H. Dam, *Nature*, **133**, 909-910 (1934).
- 2) W. MacCorquodale, L. C. Cheney *et al.*, *J. Biol. Chem.*, **131**, 357-370 (1939).
- 3) 白川仁, 桂井朋子ら, *Functional Food*, **5**, 340-345 (2012).
- 4) Y. Usui, H. Tanimura *et al.*, *Am. J. Clin. Nutr.*, **51**, 846-52 (1990).
- 5) H. H. Thijssen, M. J. Drittij-Reijnders, *Br. J. Nutr.*, **72**, 415-25 (1994).
- 6) M. Billeter, W. Bolliger *et al.*, *Biochem. Z.*, **340**, 290-303 (1964).
- 7) C. Martius, Ciba foundation symposium on quinines in electron transport., ed. by G. E. W. Wolstenholme, C. M. O'Conner, 312, Little Brown, Boston (1961).
- 8) J. E. Ronden, M. J. Drittij-Reijnders *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta* **1379**, 69-75 (1998).
- 9) R. T. Davidson, A. L. Foley *et al.*, *J. Nutr.* **128**, 220-3 (1998).
- 10) S. Kimura, H. Satoh *et al.*, *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)* Suppl. 425-8 (1992).
- 11) H. H. Thijssen, J. M. Vervoort *et al.*, *Br. J. Nutr.* **95**, 260-6 (2006).
- 12) Y. Hirota, N. Tsugawa *et al.*, *J. Biol. Chem.*, **288**, 33071-80 (2013).

- 13) H. H. Thijssen, H. J. Driessens *et al.*, *Br. J. Nutr.* **87**, 219-26 (2002).
- 14) K. Nakagawa K, Y. Hirota *et al.*, *Nature*, **468**, 117-21 (2010).
- 15) K. Nakagawa, N. Sawada *et al.*, *PLoS One*, **9**, e104078 (2014).
- 16) V. Mugoni, R. Postel *et al.*, *Cell*, **152**, 504-18 (2013).
- 17) M. Vos, G. Esposito *et al.*, *Science*, **336**, 1306-10 (2012).
- 18) J. M. Hegarty, H. Yang *et al.*, *Development*, **140**, 1713-9 (2013).
- 19) A. Orr, M.-P. Dubé *et al.*, *PLoS One*, **2**, e685 (2007).
- 20) J. S. Weiss, H. S. Kruth *et al.*, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **48**, 5007-12 (2007).
- 21) T. McGarvey, T. Nguyen *et al.*, *Oncogene*, **20**, 1042-51 (2001).
- 22) T. McGarvey, T. Nguyen *et al.*, *Prostate*, **54**, 144-55 (2003).
- 23) T. W. McGarvey, T. B. Nguyen *et al.*, *J. Cell. Biochem.*, **95**, 419-28 (2005).
- 24) M. L. Nickerson, A. D. Bosley *et al.*, *Hum. Mut.*, **34**, 317-29 (2013).
- 25) H. Shirakawa, Y. Ohsaki *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta*, **1760**, 1482-8 (2006).
- 26) S. M. Farley, S. W. Leonard *et al.*, *Mol. Nutr. Food Res.*, **58**, 1610-9 (2014).
- 27) Y. Akiyama, K. Hara *et al.*, *Eur. J. Pharmacol.* **263**, 181-5 (1994).
- 28) T. Kawata, J. H. Zernik *et al.*, *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)* **45**, 501-7 (1999).
- 29) Y. Takeuchi, M. Suzawa *et al.*, *Bone* **27**, 769-76 (2000).
- 30) Y. Koshihara, K. Hoshi *et al.*, *J. Endocrinol.*, **176**, 339-48 (2003).
- 31) H. Taira, Y. Fujikawa *et al.*, *Calcif. Tissue Int.*, **73**, 78-85 (2003).
- 32) Y. Hiruma, K. Nakahama *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **314**, 24-30 (2004).
- 33) T. Kameda, K. Miyazawa *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **220**, 515-9 (1996).
- 34) Y. Takeuchi, M. Suzawa *et al.*, *Bone*, **27**, 769-76 (2000).
- 35) S. Urayama, A. Kawakami *et al.*, *J. Lab. Clin. Med.*, **136**, 181-93 (2000).
- 36) M. M. Tabb, A. Sun *et al.*, *J. Biol. Chem.*, **278**, 43919-27 (2003).
- 37) T. Ichikawa, K. Horie-Inoue *et al.*, *J. Biol. Chem.*, **281**, 16927-34 (2006).
- 38) K. Azuma, T. Urano *et al.*, *Endocr. J.*, **56**, 843-9 (2009).
- 39) I. Ozaki, H. Zhang *et al.*, *Cancer Res.*, **13**, 2236-45 (2007).
- 40) Y. Abe, K. Muta *et al.*, *Rinsho Ketsueki*, **43**, 117-21 (2002).
- 41) K. Miyazawa, J. Nishimaki *et al.*, *Leukemia*, **14**, 1156-7 (2000).
- 42) E. Sada, Y. Abe *et al.*, *Eur. J. Haematol.*, **85**, 538-48 (2010).
- 43) J. Xia, S. Matsushashi *et al.*, *J. Nutr. Biochem.*, **23**, 1668-75 (2012).
- 44) H. Zhang, I. Ozaki *et al.*, *Oncol. Rep.*, **25**, 159-66 (2011).
- 45) Y. Ohsaki, H. Shirakawa *et al.*, *J. Nutr. Biochem.*, **21**, 1120-6 (2010).
- 46) Y. Mizushima, J. Maeda *et al.*, *Int. J. Mol. Sci.*, **12**, 1115-32 (2011).
- 47) M. Yamaguchi, M. N. Weitzmann, *Int. J. Mol. Med.*, **27**, 3-14 (2011).
- 48) C. K. Tsang, Y. Kamei, *Neurosci. Lett.*, **323**, 9-12 (2002).
- 49) M. Otsuka, N. Kato *et al.*, *Hepatology*, **40**, 243-51 (2004).
- 50) T. Ichikawa, K. Horie-Inoue *et al.*, *J. Mol. Endocrinol.*, **39**, 239-47 (2007).
- 51) A. Ito, H. Shirakawa *et al.*, *Lipids Health Dis.*, **10**, 158 (2011).