

ビタミンKの新たな生理機能としての フェロトーシス抑制作用の同定

三 島 英 換

ヘルムホルツセンターミュンヘン 上級研究員

東北大学大学院医学系研究科 腎膠原病内分泌学分野 非常勤講師

緒 言

ビタミンKは、デンマークの生化学者のヘンリク・ダムが、ニワトリに脂肪成分が少ない餌を与え続けると、出血が止まらなくなることをきっかけにして1929年に発見された血液凝固作用を有する脂溶性ビタミンである。ドイツ語で血液凝固を意味する“Koagulation”の頭文字のKに由来してビタミンKと命名された。ビタミンKは、食事成分でもあり、ビタミンK1はほうれん草などの緑色野菜に、ビタミンK2は肉や卵の他、納豆やチーズなどに豊富に含まれている。以後の研究で、ビタミンKには血液凝固作用以外にも骨形成など多様な生理作用に関わることが分かり、また、それらの作用に必要な生体内におけるビタミンKの代謝サイクルも明らかとなってきた。さらに、ビタミンKの拮抗薬であるワルファリンは抗凝固薬として長きにわたり世界中で血栓症の治療や予防のために広く利用されている。ビタミンKの発見から約100年を経て、今回我々は、フェロトーシスという細胞死の研究を通じて、ビタミンKのフェロトーシス抑制作用という新たな生理作用を明らかにした。さらにこの研究は、生体内での存在自体は知られているものの50年以上その分子正体が同定されていなかったワルファリン非依存性のビタミンK還元酵素の同定にも至った¹⁾。

フェロトーシス (Ferroptosis) は、鉄を介在して生じた細胞内の過剰な脂質酸化を特徴とする非アポトーシス性の制御性細胞死の一種であり、2012年にStockwellらによって、その概念が提唱された細胞死概念である²⁾。近年、フェロトーシスは腎臓や肝臓などの急性臓器障害や、アルツハイマー病をはじめとする神経変性疾患の病態などに関与することが知られ創薬標的として世界的に注目を浴びている生命事象である³⁾。

フェロトーシスの細胞死過程において、細胞膜のリン脂質の酸化をきっかけとして生じた、酸化脂質に由来す

る脂質ラジカルによって細胞膜が破裂することで細胞死に至る。また、生体は細胞をこのフェロトーシスを防ぐ仕組みを有しており、過酸化脂質を還元する酵素グルタチオンペルオキシダーゼ4 (GPX4) や、コエンザイムQ10 (ユビキノン, CoQ10) を還元型に変換して脂質ラジカルを消去する酵素であるフェロトーシスサプレッサープロテイン1 (FSP1) が知られている⁴⁾。もし、フェロトーシスを有効に防ぐことが出来れば、上述したようなフェロトーシスに関連する病気の治療や予防薬になることが期待されている。

目的、方法および結果

今回我々は、フェロトーシス細胞死の抑制作用を有する戦隊内の代謝物の探索を目的として、フェロトーシスを誘導するモデル細胞 (GPX4欠損した培養細胞) を用いてスクリーニングを行った。その結果、フェロトーシスを抑制する作用がよく知られている抗酸化物質であるビタミンE以外にも、フィロキノン (ビタミンK1) やメナキノン-4 (ビタミンK2) などのビタミンKも強力にフェロトーシスを抑制する作用があることを見出した。また、高用量のメナキノン-4 (ビタミンK2) の投与はマウスにおけるフェロトーシスに関連する肝障害や腎障害 (GPX4の欠損や虚血再灌流障害) による臓器障害を軽減する効果があることも認めた。次に、ビタミンKがどのようにしてフェロトーシスを抑制するのかの機序について検討した。大事な点は、通常酸化型ビタミンKは、ビタミンEのような直接的な抗酸化作用を有さないことである。そこで、我々はビタミンKとCoQ10の構造類似性に着目した。上述したように酸化型CoQ10はミトコンドリア外のCoQ10を還元する酵素であるFSP1によって還元され、還元型CoQ10が悪玉の脂質ラジカルを消去することでフェロトーシスを抑制する。我々は、i) CoQ10と同じキノン化合物であるビタ

ミンKもFSP1によって還元されること、ii) 還元型ビタミンKが強い脂質ラジカル消去能をもつこと、そしてiii) ビタミンKのフェロトーシス抑制作用にはFSP1が必要であることを明らかにした。

さらに、我々は血液凝固作用に必要なビタミンKサイクルにおけるFSP1の役割も検討した。ビタミンKは通常は安定型である酸化型として存在しているが、細胞内で、「酸化型→還元型→エポキシド型→再び酸化型」へと変換される回路をまわることで生体内の微量のビタミンKが再利用され、その過程で血液の凝固に必要なタンパク質である凝固因子等が活性化され、出血した際に血を止める血液凝固の役割を果たす。このビタミンKサイクルの中で酸化型から還元型ビタミンKへの変換には、i) ワルファリンで阻害される経路とii) ワルファリンでは阻害されないワルファリン非依存性経路の二つの経路があることが知られているが、後者のワルファリン非依存性ビタミンK還元酵素の分子正体は不明であった。ちなみに、このワルファリン非依存性ビタミンK還元酵素による経路は、抗凝固薬ワルファリンの中毒時の治療として行われるビタミンKによる解毒作用に必要な経路である。抗凝固薬としてひろく使用されるビタミンKエポキシド還元酵素の阻害薬であるワルファリンは、薬物相互作用等で過剰投与の中毒になりやすい薬ではあるが、このワルファリン中毒時にはビタミンKの高用量投与が解毒薬となる。その解毒機序はビタミンKがこの“ワルファリン非依存性ビタミンK還元酵素”によって還元されることでワルファリン中毒下でも凝固因子が作られるためであるが、その責任酵素はこれまで同定されていなかった。

そこで我々は、この血液凝固に必要なビタミンKサイクルにおけるFSP1の役割を検討した。その結果、FSP1はビタミンKサイクルにおいてこれまで正体が未知であったワルファリン非依存性のビタミンK還元酵素でもあることを同定した。実際に、FSP1を欠損したノックアウトマウスでは、いくらビタミンKを投与してもワルファリン中毒による抗凝固効果をレスキューすることができなくなった。つまり、この発見は、ビタミンKサイクルに残された最後の謎を解き明かすとともに、ワルファリン中毒時において、なぜビタミンKがワルファリン中毒の解毒剤としての役割を果たすのかその分子メカニズムの解明にもつながったものである⁴⁾(図1)。

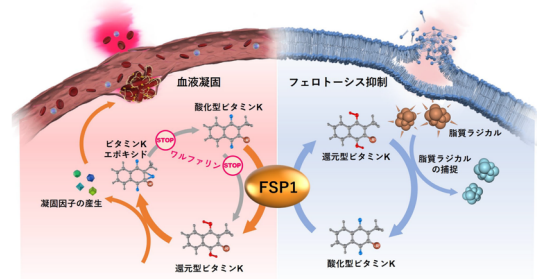


図1 FSP1を介したビタミンKの二つの作用

(右) ビタミンKによるフェロトーシスの抑制作用。酸化型ビタミンKはFSP1の働きによって還元型ビタミンKに変換される。還元型ビタミンKは脂質ラジカルを消去することでフェロトーシスを抑えるとともに、酸化型ビタミンKに戻り再びFSP1によって還元される。

(左) 血液凝固に関わるビタミンKの作用。ビタミンKは、「酸化型ビタミンK→還元型ビタミンK→ビタミンKエポキシド→再び酸化型」へと変換される回路をまわることで、血液の凝固に必要なタンパク質である凝固因子が活性化され、出血した際に血を止める役割を果たす。ワルファリンはこのビタミンKサイクルをとめることで凝固因子が作られなくなるため血を固まりにくくする。ワルファリンが効いている状態でも、ビタミンKはFSP1の働きによって還元型ビタミンKへと変換する経路があるため、ワルファリン中毒になった時でもビタミンKを投与することで凝固因子がつけられ止血可能な状態にできる。(図：東北大学プレスリリース2022年8月4日より引用)。

考察、要約

以上から、我々はFSP1を介したビタミンKの二つの作用を明らかにした。一つは、FSP1によって還元された還元型ビタミンKが脂質ラジカルを消去し、フェロトーシスを抑制する作用。また、FSP1によるビタミンKの還元は、血液凝固に必要なビタミンKサイクルにも重要な役割を担っていたのである¹⁾。フェロトーシスは、各種臓器障害や、神経変性疾患など様々な病気に関わることが近年報告されているため、今後、このビタミンKのフェロトーシス抑制作用の基づいた、フェロトーシス関連疾患の治療や予防のための介入法の開発につながる事が期待される。

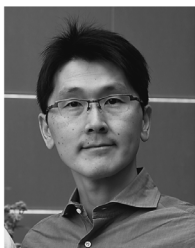
謝 辞

この度、名誉ある三島海雲学術賞をいただきましたことに厚い感謝・御礼を申し上げます。また、研究遂行にあたりサポートしていただいた共同研究者の先生方に感謝申し上げます。本研究は、科研費(20KK0363)の助成を受けたものである。

文 献

- 1) Mishima E et al. A non-canonical vitamin K cycle is a potent ferroptosis suppressor. *Nature*. 2022; 608: 778
- 2) Dixon SJ, Lemberg KM, Lamprecht MR, Skouta R, Zaitsev EM, Gleason CE, Patel DN, Bauer AJ, Cantley AM, Yang WS, Morrison B 3rd, Stockwell BR. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death. *Cell*. 2012; 149: 1060–1072
- 3) Mishima E, Conrad M. Nutritional and Metabolic Control of Ferroptosis. *Annu Rev Nutr*. 2022 Aug 22; 42: 275–309
- 4) Mishima E, Wahida A, Seibt T, Conrad M. Diverse biological functions of vitamin K: from coagulation to ferroptosis. *Nat Metab*. 2023; 5: 924–932

著者紹介



三島 英換 (ミシマ エイカン)

神奈川県生れ
2006年 東北大学医学部 卒業
2013年 東北大学大学院医学系研究科 博士課程修了 (医学博士)
2020年から ヘルムホルツセンターミュンヘン (ドイツ) 研究員

論文著作等

Mishima et al, *Nature* 2022, 608: 778–783
Mishima et al, *Nature* 2023, 619: E9–E18
など