

ビタミンKは血液凝固のK

J. Evan Sadler

ラット、マウスおよびヒトでの遺伝的連鎖の比較研究から、ビタミンK代謝の重要な成分がついに突き止められた。ビタミンKの代謝反応は、今日最も一般的に使われている抗凝固薬の標的である。

原文：Medicine: K is for koagulation

Nature Vol.427(493 - 494)/5 February 2004; www.naturejpn.com/digest

ビタミンは医学的、経済的にみて極めて重要である。その一例にあげられるのが血液凝固に不可欠なビタミンKで、その発見によって出血や凝血塊が原因で起こる無数の死が未然に防げるようになり、甚大な被害をもたらす農業病害虫の抑制も容易になった。

こうした恩恵もたらされたものの、ビタミンK代謝の解明はなかなか進まなかった。ビタミンKは間違いなく、酵素の手で活性化されて初めて機能を発揮できるようになるのだが、この過程に関与するタンパク質は60年以上もの間、追求の手をすり抜けてきたのだ。しかし、本誌2004年2月5日号p.537とp.541でRostたち¹とLiたち²がそれぞれ報告した成果によって、解明がようやく進んだのである。

1943年のノーベル医学生理学賞は、ビタミンKを発見、単離、合成した業績により、デンマークのHenrik Damと米国のEdward Doisyに授与された。Kという名は、このビタミンが欠乏すると血液の「koagulation」(凝固の意味のスカンジナビア語)が損なわれるため、その頭文字をとったものである。

この発見はすぐさま医療分野に恩恵をもたらした。1940年代以前には、ビタミンK欠乏によって命に関わる出血を引き起こす幼児が少なくなかったが、妊婦や新生児にビタミンKを投与することでこうした出血はほぼ解消された。そうした出来事とほぼ同じ時代に、米国北部の蓄牛がカビの生えたスイートクローバー(シナガワハギ)の干し草を食べて出血死する事件が起こった。1940年にはKarl Linkが、このカビの産物がビタミンKのアンタゴニスト(拮抗物質)になっていることを突き止めた。彼はこのアンタゴニストの強力な誘導体を、自分が特許権を譲渡したWisconsin Alumni Research Foundationの頭文字をとって、ワルファリン(warfarin)と名付けた。

ビタミンKが欠乏すると、数種の血液凝固

タンパク質で必須アミノ酸残基のカルボキシル化が妨げられるために血液凝固が損なわれる。通常このカルボキシル化反応を触媒する酵素がビタミンK依存性カルボキシラーゼで、この酵素は酸素と還元型ビタミンKを使って二酸化炭素分子1分子をグルタミン酸に付加し、 γ -カルボキシグルタミン酸を生成する(図1)。この修飾のおかげで、血液凝固因子はカルシウムイオンに結合し、膜表面に結合して血液を凝固させることができる。

触媒作用の他の産物としてビタミンK_{2,3}-エポキシドがあり、これはビタミンKエポキシド還元酵素(VKOR)によって再生処理され

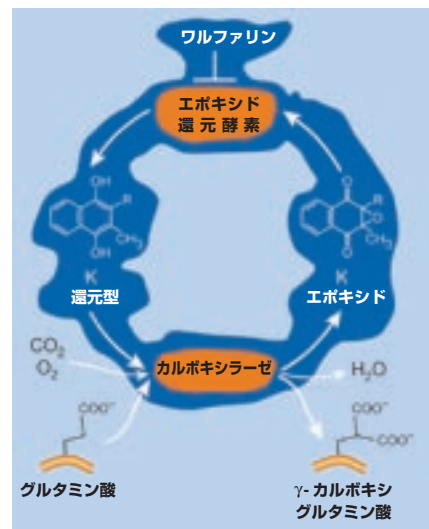


図1 ビタミンKの再生処理過程。ビタミンK依存性カルボキシラーゼは還元型ビタミンKと酸素を使って、特定の血液凝固タンパク質のグルタミン酸の側鎖に二酸化炭素分子を1個付加し、 γ -カルボキシグルタミン酸とビタミンK_{2,3}-エポキシドを生成する。ビタミンKエポキシド還元酵素は還元型ビタミンKを再生成して、もう1つの触媒反応に回す。ワルファリンはこの還元酵素を阻害して血液凝固因子の合成を損ない、出血を起こす。複数種の血液凝固因子の欠損は、ビタミンK依存性カルボキシラーゼかエポキシド還元酵素のどちらかの変異によって起こりうる。Rostたち¹とLiたち²は、ビタミンKエポキシド還元酵素の遺伝子を突き止めた。

て還元型ビタミンKとなる。VKOR活性はワルファリンによって阻害される。ワルファリンは大量摂取すると出血を起こし、格好の殺鼠剤となっている。しかしワルファリンは、凝血塊ができやすい人々に適正な用量で処方することで、命にかかわるような肺や心臓、脳での凝血塊生成を防いでくれる(図1)。

医療現場でワルファリン使用量が増えるきっかけになったのは、1955年に米国第34代大統領ドワイト・アイゼンハワーが心臓発作に陥り、この薬剤を使って治療を受けたことによる。それ以降、ワルファリンは最もよく処方される抗凝固剤となっている。ラットやマウスの中にはワルファリン様の毒素に耐性をもつようになったものがあり、ヒトでも血液を「さらさらにする」ために通常よりずっと多いワルファリン投与を必要とする人が(ごく少数だが)いる。

ビタミンK依存性カルボキシラーゼの遺伝子が単離され、特徴が明らかにされたのは、かなり前のことである³。だが、VKORは今もって部分的にしか精製されておらず、その遺伝子はまだ「捕まって」いない。Rostたち¹とLiたち²の報告にあるように、遺伝学的に迫る方法がついに成功を収めたわけだが、これはほんの一握りの重要な知見があったおかげでもある。

まず第一に、遺伝性の毒素耐性をもつラットを調べた過去の研究で、VKOR遺伝子がラットの1番染色体上にあるとわかっており、この染色体はマウスの7番染色体と相似である。これら2つの齧歯類の染色体を、相似性の低いヒト遺伝子地図と比較することで、VKORがヒトの10番か12番か16番の染色体上にあることまで絞り込むことができた。

第二に、いくつかのビタミンK依存性血液凝固因子を遺伝的に欠損する人々の一部にVKOR活性を欠損する人があり、この欠損症の原因遺伝子はFreginたち⁵によってヒトの

▶ 16 番染色体上にあることが突き止められた。Fregin たち⁵は、VKOR 変異の種類の違いがワルファリン耐性になるか血液凝固因子の欠損を起こすかの違いになっているのではないかと考え、齧歯類染色体にあるワルファリン耐性領域に似たヒト染色体領域に問題の遺伝子があることを突き止めた。

そこで Rost たちと Li たちはヒトの 16 番染色体に的を絞った。Rost たち¹は、問題の DNA 領域に 100 を超える遺伝子が存在することに気づいた。彼らは遺伝子のリストをふるいにかけるため、VKOR 活性を遺伝的に欠損した患者とラットを調べた。すると、ビタミン K 依存性血液凝固因子を欠損した 2 つの家系と、遺伝性のワルファリン耐性をもつ 4 つの家系と、ワルファリン様毒素に耐性のある多数のラット系統の 3 者では、ある特定の遺伝子に変異があることがわかった。さらに Rost たちは、魚類やカエル、そしてカにも同様の遺伝子があることを見つけた(ただし、ショウジョウバエにはなかった)。

Rost たちの報告によると、この VKOR の候補遺伝子は低分子量の膜貫通タンパク質をコードしており、このタンパク質は細胞内区画の 1 つである小胞体に存在している。このタンパク質はさらに大きい複合体の 1 成分にすぎない可能性が残されているため、Rost たちはこのタンパク質にビタミン K エポキシド還元酵素複合体サブユニット 1 (VKORC1) と名づけた。その正常な遺伝子からつくられたタンパク質は VKOR 活性を示し、この活性はワルファリンによって阻害される。血液凝固因子欠損症の患者の遺伝子がコードする変異タンパク質は、予想された通り不活性である。意外なことに、ワルファリン耐性をもつ人々の変異タンパク質は、培養細胞で調べた場合にはワルファリンに対してかなりの感受性を示す。VKORC1 変異が生体内でどうやってワルファリン耐性を生じるのかは、まだ解明されていない。

Li たち²は、VKOR 変異患者を研究対象とする機会に恵まれなかったが、この不利な条件を独創的な方法で乗り越えた。彼らはまず、16 番染色体の問題の領域から、機能がわかっていたり機能の予想がついていたりするタンパク質の遺伝子を除外した。次に、膜貫通領域と思われる領域をもつタンパク質の遺伝子候補を 13 個選び出した (VKOR は膜タンパク質だと見られているためである)。

Li たちはその次に RNA 干渉法を使って VKOR 遺伝子を特定した。この手法では、二本鎖の低分子干渉 RNA 分子 (siRNA) を細胞内に挿入する。細胞内で RNA 分子は適合するメッセンジャー RNA を標的として分解させる。その結果、これらのメッセンジャー RNA をコードする遺伝子は効果的に発現が抑制される。Li たちは、VKOR 活性の高いヒト細胞で、13 個に絞り込んだ候補遺伝子それぞれの発現が抑制されるように siRNA を設計した。そして、ある 1 個の遺伝子だけ (これは Rost たちの見つけた VKORC1 遺伝子と同じもの) を標的にすることで、VKOR 活性が大きく低減することを見つけた。この遺伝子は、昆虫の細胞で発現すると活性のある VKOR を産生し、この VKOR はワルファリンによって阻害された。Li たちが述べているように、siRNA を利用したこの方法は、たとえ研究対象の生理活性が多量の遺伝子産物に左右されるとしても、機能解析の工夫が可能な他のポジショナルクローニング研究で使えるはずである。

VKOR はこれまで、大型の多タンパク質複合体だと考えられていた。しかし Li たちは、たった 1 種類のタンパク質を発現させることで、VKOR 活性のない昆虫細胞に VKOR 活性をもたらすことができた。低分子量のタンパク質が他の還元酵素類とのはっきりした関連性もなしにこのような働きをするのは荷が重すぎるように思えるが、この分子は単独でビタミン K の再生処理を担っている可能性がある。

こうして VKOR 遺伝子が捕まったからには、

動物生体内でビタミン K エポキシドを還元する電子の化学的供給源も突き止めることができるはずだ。研究室ではさまざまなスルフィドリル化合物が調べられているが、今回の進展によりニコチンアミドやフラビンなど他のありふれた還元酵素補因子の果たす役割も研究対象となりうる。ワルファリンの標的と見られるこの物質の構造を解明するのも、大事な作業である。おそらく構造解明によって、これまでより優れた凝血塊解消用のビタミン K アンタゴニストが見つかるだろうし、殺鼠剤用のアンタゴニストも見つけられることだろう。

現在ようやくわかったこと、それは、複数種のビタミン K 依存性血液凝固因子の欠損が、2 つの遺伝子、つまりビタミン K カルボキシラーゼ遺伝子か、Rost たちが報告した VKORC1 遺伝子のどちらかの変異によって、起こりうるということだ。ただし、今手元にあるリストには漏れがある可能性もある。もし漏れがある場合には、患者の家系に連鎖解析を施せば、ビタミン K 再生処理のさらなる成分がすぐにも発見できるかもしれない。 ■

筆者の J. Evan Sadler は、ワシントン大学 (セントルイス) 医学部のハワード・ヒューズ医学研究所 (the Howard Hughes Medical Institute, Washington University School of Medicine, St Louis, Missouri 63110, USA) に所属している。

e-mail: esadler@im.wustl.edu

1. Rost, S. *et al. Nature* **427**, 537-541 (2004).
2. Li, T. *et al. Nature* **427**, 541-544 (2004).
3. Wu, S. M., Cheung, W. F., Frazier, D. & Stafford, D. W. *Science* **254**, 1634-1636 (1991).
4. Kohn, M. H. & Pelz, H. J. *Blood* **96**, 1996-1998 (2000).
5. Fregin, A. *et al. Blood* **100**, 3229-3232 (2002).

ナノファイバーは どうやって伸びる?

Pulickel M. Ajayan

カーボンナノファイバーが炭素を含む蒸気からできてくる原子スケールの仕組みは、数十年の研究にもかかわらず解明されていなかった。今回の研究では、高分解能の電子顕微鏡を使って、炭素分子がでこぼこの上を動いていく様子が明らかにされた。

原文: *Nanotechnology: How does a nanofibre grow?*

Nature Vol.427(402 - 403)/29 January 2004; www.naturejpn.com/digest

D'Arcy Thompson は歴史的な研究書 *On Growth and Form*¹ の中で「物体の形

は成長を支配する力を図解している」と書いた。しかしながら、多くの場合、成長と形態の