

[PRESS RELEASE]

2014年2月7日

東京大学医学部附属病院

埼玉医科大学ゲノム医学研究センター

ビタミンKの肝臓での作用不足は出血と寿命短縮に至る

—ビタミンKの肝臓内外への多面的な作用解明に道筋—

ビタミンKは緑黄色野菜や納豆に多く含まれ、臨床的には新生児の頭蓋内出血の予防や、加齢や医薬品等に使われるステロイドによる骨粗鬆症の治療に用いられています。また、疫学研究によりビタミンK不足が動脈硬化や認知症、悪性腫瘍の危険性を上げる可能性も報告されています。

ビタミンKは主として γ グルタミルカルボキシラーゼ（用語解説1）という酵素の作用を助け、タンパク質の修飾にかかわるメカニズムが示されており、肝臓での血液凝固因子の活性化に必要です。ビタミンKと γ グルタミルカルボキシラーゼの作用を受ける分子は血液凝固因子以外にも10種類以上知られ、全身に分布しており、ビタミンKは上記の疾患やさまざまな生理作用にかかわる多様な働きが推測されています。しかし、ビタミンKの作用は不明な点が多いほか、 γ グルタミルカルボキシラーゼを全身で欠損するマウスは激しい出血傾向により生存できないため、多面的なビタミンKの作用を動物モデルにて解明することは困難でした。

このたび、東京大学医学部附属病院 22世紀医療センター抗加齢医学講座特任教授の井上聡、老年病科特任講師（研究当時）の東浩太郎、埼玉医科大学ゲノム医学研究センター 講師の池田和博らは、大阪大学、神戸薬科大学との共同研究により、 γ グルタミルカルボキシラーゼを肝臓のみで欠損するマウスの作製に成功し、そのマウスが出血傾向を示すことを示しました。また、この遺伝子改変マウスは寿命が短縮するものの、オスよりもメス（妊娠していない）の方が長生きであるという興味深い結果を得ました。

本研究の技術を用いることにより、肝臓をはじめ、特定の臓器のみでビタミンKの作用を欠損したマウスを作製することが可能となり、今後、全身における多彩なビタミンKの作用が解明されると期待されます。

本研究成果は、日本時間2月11日にPLOS ONE オンライン版に掲載されます。

【発表者】

東京大学医学部附属病院 22世紀医療センター 抗加齢医学講座 特任教授 井上聡

東京大学医学部附属病院 老年病科 特任講師 東浩太郎

(研究当時／現在は米国カリフォルニア大学アーバイン校研究員)

埼玉医科大学ゲノム医学研究センター 遺伝子情報制御部門 講師 池田和博

【研究の背景】

ビタミンKは緑黄色野菜や納豆に多く含まれる脂溶性のビタミンです。ビタミンKの作用不足が出血傾向につながることは古くから知られ、臨床的には新生児の頭蓋内出血の予防に用いられています。また、骨折の予防効果も臨床試験において示されており、日本を含むアジアの国々において骨粗鬆症治療薬として用いられています。それに留まらず、近年の国内外の疫学研究により、ビタミンK不足が動脈硬化や認知症、悪性腫瘍の危険性を上げる可能性も報告されており、これらの加齢性疾患との関わりが注目されています。

ビタミンKは、主としてγグルタミルカルボキシラーゼ (GGCX) という酵素と協調して作用し、タンパク質の中の特定のグルタミン酸にカルボキシル基を付加する「Gla化」というタンパク質修飾にかかわるメカニズムが示されています(参考図)。Gla化を受けるタンパク質として、肝臓で合成される血液凝固因子のうち第2因子、第7因子、第9因子、第10因子が知られています。これらのタンパク質はGla化により活性化するため、ビタミンK不足によるGGCXの作用低下は、血液凝固因子のGla化不足を招き、出血傾向に至ります。

一方で、GGCXは肝臓だけでなく全身に広く分布しています。Gla化を受けることが報告されているタンパク質も血液凝固因子以外に10種類以上知られ、それらも肝臓以外の多くの臓器で発現しています。このことより、GGCXを介するビタミンKの作用は止血にとどまらず、全身において多様な生理的・病的現象に関係していることが推測されます。疫学的にもビタミンKが種々の加齢性疾患との関わりが示唆されていることから、動物モデルによる解析が熱望されていました。

しかしながら、GGCXを全身で欠損するマウスは、激しい出血傾向により胎生期から出生直後にかけて死亡し生存できないため、GGCXの全身における多彩な作用を生体で明らかにすることは困難でした。

【研究の内容】

これまで、井上聡特任教授が率いる東京大学医学部附属病院 22世紀医療センター抗加齢医学講座では、同病院の老年病科の東浩太郎特任講師(研究当時)を中心として、埼玉医科大学ゲノム医学研究センターの堀江公仁子准教授、池田和博講師と協力しながら、ビタミンKの骨粗鬆症や癌といった加齢性疾患への関わり的一端を明らかにしてきました。今回、井上聡特任教授と東浩太郎特任講師らの研究グループは、文部科学省や日本学術振

興会の科学研究費の支援を得て、埼玉医科大学ゲノム医学研究センター、大阪大学微生物病研究所、神戸薬科大学と共同研究を行い、ビタミン K の作用を担う γ グルタミルカルボキシラーゼ (GGCX) を肝臓のみで欠損するマウスを世界に先駆けて作製しました。

研究グループは、特定の遺伝子を欠損するよう操作できる Cre-loxP システム (用語解説 2) を用い、肝臓のみで GGCX の発現を欠損するマウスを作製しました。Cre-loxP システムでは、GGCX 遺伝子を loxP という配列で挟むように遺伝子改変したマウスを作製し、このマウスを特定の臓器で Cre という酵素を発現するマウスと交配します。これにより、特定の臓器のみで loxP 配列に挟まれた GGCX が Cre の作用で切り出され、ゲノム DNA から欠損します。研究グループは、この特定の臓器だけで GGCX を欠損させた実例として、肝臓のみで Cre を発現する Alb-Cre マウスと交配を行い、肝臓のみで GGCX を欠損するマウスの作製に成功しました。この遺伝子改変マウスの肝臓以外では GGCX の発現が確認され、特定の臓器だけで GGCX 活性を制御できることが示されました。

また、このマウスではビタミン K の作用不足、凝固因子の活性低下を確認しました (参考図)。その他にもこのマウスでは、正常なマウスに比べ、肝臓におけるビタミン K 依存性凝固因子活性の低下を認め、尻尾からの出血時間の著明な延長、皮下出血、妊娠時の性器出血、寿命の短縮を認めました。また、妊娠していないメスに比べオスの寿命が顕著に短いという非常に興味深い性差を観察しました。

特定の臓器で GGCX を欠損したマウスは、今回世界で初めて作製され、報告された研究成果であり、今後、他の特定の臓器だけで Cre を発現するマウスと交配することにより、これまで解析が困難であったビタミン K の全身にわたる未知の多面的な作用が解明されると期待されます。

【用語解説】

- 1) γ グルタミルカルボキシラーゼ (GGCX) : 細胞内の小胞体膜という細胞内小器官に存在する酵素。作用にはビタミン K を必要とし、タンパク質の中の特定のグルタミン酸にカルボキシル基を付加する「Gla 化」というタンパク質修飾に関わる。この酵素の作用を受けるタンパク質は、血液凝固因子をはじめとして現在までにおよそ 19 種類ほど報告されている。
- 2) Cre-loxP システム : Cre は遺伝子の組み換え酵素で、loxP というバクテリオファージ由来の 34 塩基の配列を標的として遺伝子組み換えを起こす。特定の遺伝子部位を挟むように loxP 配列を 2 つ導入することにより、Cre の作用でその間の配列を欠損させることができる。この技法は特定の遺伝子を欠損するマウスの作製に用いられる。

【発表雑誌】

雑誌名：PLOS ONE

論文名：Liver-specific γ -Glutamyl Carboxylase-Deficient Mice Display Bleeding Diathesis and Short Life Span

掲載日：電子版にて米国東部標準時間 2 月 10 日に掲載

【注意事項】

報道の解禁時間は**日本時間 2 月 11 日午前 7 時**（米国東部標準時間：2 月 10 日午後 5 時）です。

新聞掲載は**11 日夕刊**以降解禁となりますのでご注意ください。

【参照 URL】

PLOS ONE ウェブサイト <http://www.plosone.org/>

《本件に関するお問合せ先》

東京大学医学部附属病院 22 世紀医療センター 抗加齢医学講座

特任教授 井上 聡

電話：03-5800-8834（直通） FAX：03-5800-9126

E-mail：INOUE-GER@h.u-tokyo.ac.jp

埼玉医科大学ゲノム医学研究センター

遺伝子情報制御部門

講師 池田 和博

電話：042-984-4606 FAX：042-984-4541

E-mail：iked@saitama-med.ac.jp

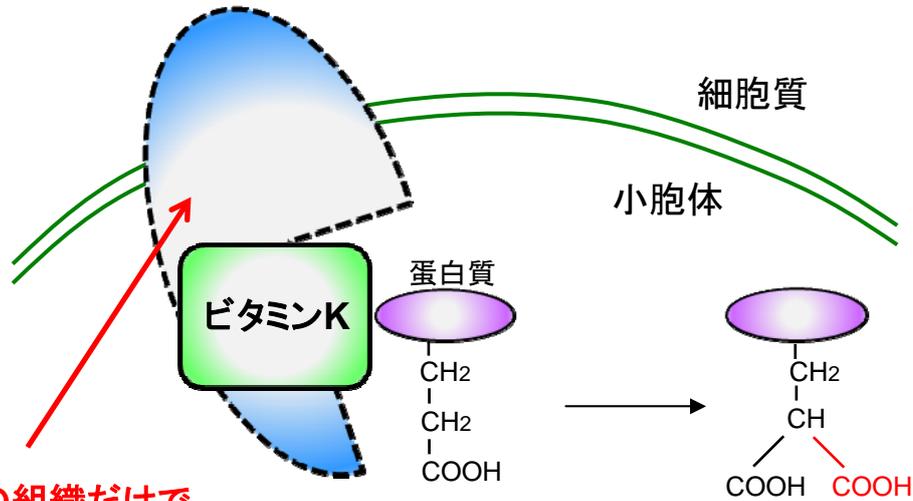
《取材に関するお問合せ先》

東京大学医学部附属病院 パブリック・リレーションセンター

担当：小岩井、渡部

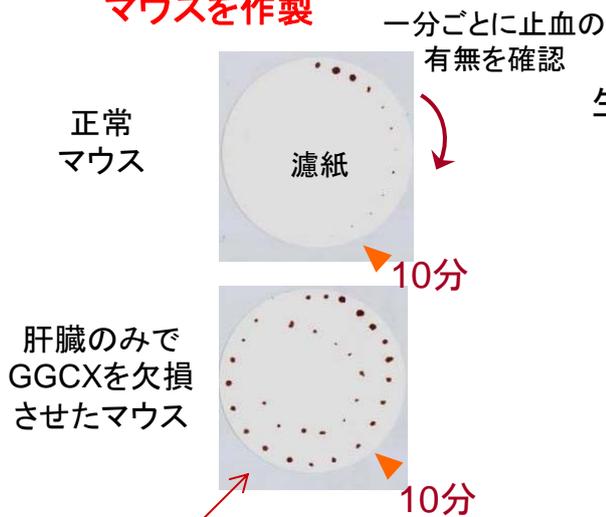
電話：03-5800-9188（直通） E-mail：pr@adm.h.u-tokyo.ac.jp

γグルタミルカルボキシラーゼ (GGCX)

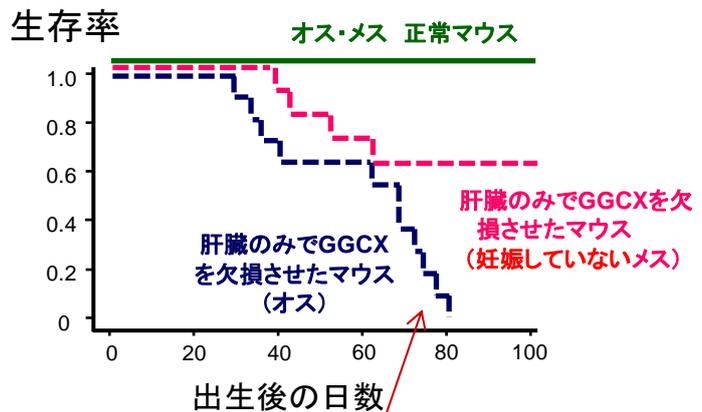


特定の組織だけで
GGCXを欠損させた
マウスを作製

タンパク質のGla化修飾



尻尾からの出血が30分を
経過しても止血せず。



出血による寿命の短縮はオスで顕著。

(参考) γグルタミルカルボキシラーゼ (GGCX) の働きと肝臓のみでGGCXを欠損させたマウス
γグルタミルカルボキシラーゼ (GGCX) は、ビタミンKの存在下で、タンパク質のGla化という修飾に必要です。この修飾を受けるタンパク質は体全体に分布していますが、肝臓における血液凝固因子がその中でも有名です。このたび肝臓のみでGGCXを欠損させたマウス (肝臓特異的 GGCX欠損マウス) の作製に成功し、このマウスは出血傾向を示し、正常なマウスに比べ早期に死亡することが示されました。また、この寿命短縮には性差があり、妊娠していないメスに比べてオスにおいてより顕著でした。ビタミンKは、肝臓以外の臓器でも多様な作用を発揮していると考えられ、動脈硬化、認知症、骨粗鬆症との関連も報告されており、本研究の成果はこれら未知のビタミンK作用を解明する糸口になると期待されます。