

骨芽細胞の menaquinone-4(MK-4) 生合成におけるキノン還元酵素の関与について
○弓削 直人¹, 中川 公恵¹, 澤田 夏美¹, 須原 義智¹, 岡野 登志夫¹(¹神戸薬大)

【目的】ビタミン K(K)は、 γ -glutamyl carboxylase(GGCX)の補酵素として働き、血液凝固、骨形成を促進する。K には、側鎖構造の異なる幾つかの同族体が存在し、その中で menaquinone-4 (MK-4)のみが、他の K 同族体から生体内で生合成されることが知られており、細胞レベルでは特にビタミン K₃(K₃)が最も良い基質となることが示されている。MK-4 の生合成機序は明らかではないが、K₃ を基質とした場合における geranylgeranyl 基の導入は合成化学的に考えると、K₃ が hydroquinone 体に還元された後に起こると推察できる。K₃ を quinone 体から hydroquinone 体に還元する酵素としては、NAD(P)H : quinone oxidoreductase 1 (NQO1)と NRH:quinone oxidoreductase 2 (NQO2)が報告されている。今回、K₃ からの MK-4 の生合成機序を明らかにするため、NQO1 と NQO2 の MK-4 生合成への関与について検討した。

【方法】ヒト肝ゲノム DNA を用いて PCR 法により NQO1 および NQO2 の cDNA をクローニングし、pcDNA3.3-TOPO に組み込んで発現ベクターを構築した。この NQO1 あるいは NQO2 の発現ベクターまたは siRNA をヒト骨芽細胞様細胞(MG-63)に導入し、重水素標識 K₃ からの重水素標識 MK-4 の生成を LC-APCI/MS/MS を用いて定量した。

【結果および考察】NQO1 あるは NQO2 の siRNA を導入して発現量を低下させた場合では、MK-4 の生合成量に変化は認められなかった。このことより、NQO1 および NQO2 による K₃ の hydroquinone 体への還元は、MK-4 の生合成に直接関与していないと推測される。しかし、NQO1 や NQO2 以外の還元酵素が代替した可能性も示唆されるため、現在さらに NQO1 および NQO2 を強制発現させた場合についても検討を行っている。