

# ビタミンK変換反応とCoQ10合成反応のミッシングリンクを繋ぐ 酵素の解明

芝浦工業大学 システム理工学部 生命科学科 廣田 佳久

## はじめに

ビタミンKは栄養素として広く認知され、緑黄色野菜に含まれるビタミンK<sub>1</sub>(PK)や発酵食品に含まれるビタミンK<sub>2</sub>(MK-n : n=1~14)に大別される。ビタミンKは側鎖構造にphytyl側鎖を有するPKやisoprenyl側鎖を有するMK-n (n=1~14)、側鎖を持たないビタミンK<sub>3</sub>(MD)に分類される。ビタミンKは血液凝固や骨形成作用に重要な役割を担うことが報告されており、血液凝固薬や骨粗鬆症治療薬として広く利用されている。これまでに、ヒトやマウスの組織中にはMK-4が最も高濃度に存在することが報告されていた。しかし、食事から摂取するビタミンKは、主に植物に多く含まれるPKやMDであり、MK-4の摂取量は極めて少ない。MK-4を殆ど摂取していないにもかかわらず組織中にMK-4が高濃度に存在することから、体内でMK-4へ変換される機構が存在すると考えられてきた。

## ビタミンK変換酵素UBIAD1の同定と機能解析

我々はこれまでに、培養細胞や遺伝子組み換えマウスを用いることにより、天然に存在しない重水素標識PK(PK-d<sub>3</sub>)を用いて、PKがMK-4に変換されることを科学的に証明した(図1)。特に、ビタミンKの環構造部分のみを有するMDに側鎖であるGGPP(Geranylgeranyl pyrophosphate)を結合する酵素がUBIAD1(UbiA prenyltransferase domain containing protein 1)であることを世界に先駆けて同定することに成功した<sup>1,2</sup>。その後、UBIAD1ノックアウトマウスの表現型解析を介して生体内のビタミンKの重要性を見出し<sup>3</sup>、UBIAD1酵素機能解析やプロモーター制御を明らかにすると共にUBIAD1とコレステロール代謝の律速酵素HMGCR(HMG-CoA reductase)の結合を介して角膜の白濁を引き起こすSCD(Schnyder corneal dystrophy)の発症に起因することを見出した<sup>4</sup>。

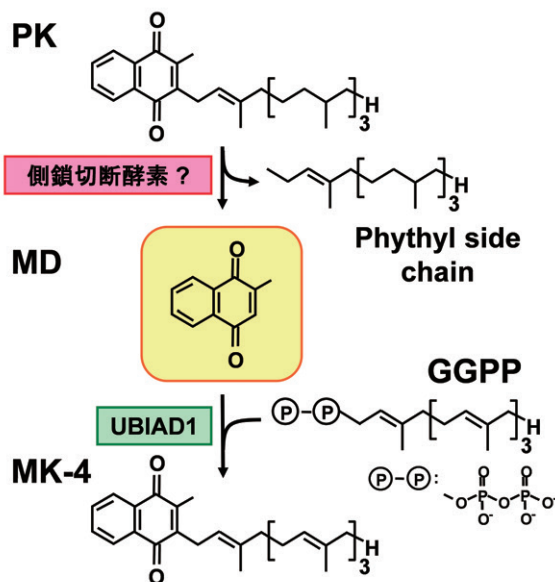


図1 生体におけるビタミンK変換機構

## ビタミンKメチル化酵素COQ5の同定

ビタミンK変換機構を検討する上で、2位のメチル基を持たないビタミンK誘導体を合成し、MK-4変換を評価すると2位にメチル基を持たないMK-4(Demethyl-MK-4)からMK-4への変換が認められた。ヒト生体においてこれまでにDemethyl-MK-4は測定されて

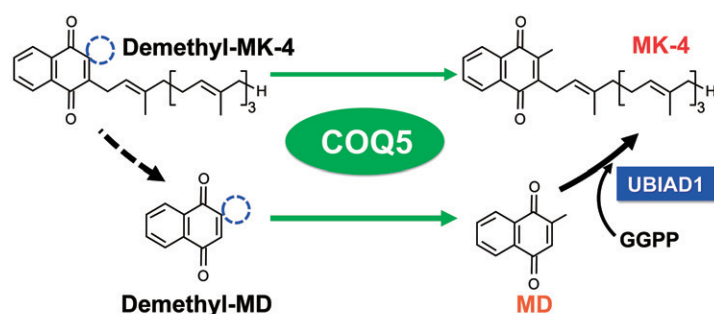


図2 ビタミンK変換機構におけるCOQ5の役割

いないが、2位にメチル基を持たないPK(Demethyl-PK)が植物に存在することが報告されている<sup>5</sup>。我々は大腸菌におけるビタミンK合成機構に着目し、UbiEという酵素がメチル基付加酵素であることを見出し、ヒトホモログの探索を行った。その結果、47.8%の相同性を有するCoenzyme Q10(CoQ10)合成に重要なCOQ5(coenzyme Q5 methyltransferase)を見出し、生化学実験よりCOQ5がビタミンKのメチル基付加酵素と同定した(図2)。

## 今後の展望

ビタミンKとCoQ10は環構造が共にキノン骨格であり、側鎖構造はイソプレニル単位の繰り返し構造であるため、構造類似点も多いことから両者が密接に関連することは想像できる。また、1960年代の生化学の教科書には、ビタミンKが真核生物においてもCoQ10と同様に、ミトコンドリア上で電子伝達を担うコンポーネントとして記載されている。

これまでにビタミンKとCoQ10は全く独立した栄養素と考えられてきたが、UBIAD1やCOQ5、FSP1(Ferroptosis suppressor protein 1)<sup>6</sup>はいずれもビタミンK変換とCoQ10合成機構に共に関与する酵素である(図3)。将来的に、ビタミンKとCoQ10という2つの重要な栄養素に存在するミッシングリンクを繋ぐものとして、ビタミンK変換反応に新たなCoQ10合成酵素が関与すると考えている。我々は、未だ見出されていないビタミンK変換酵素が存在すると考え、今後も研究を推進していきたいと考えている。

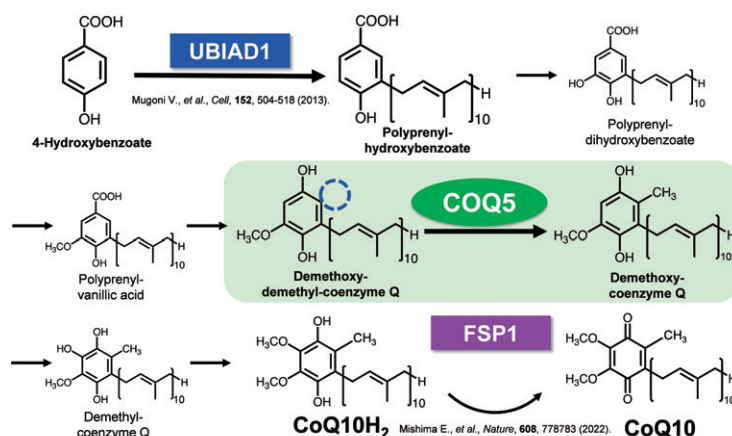


図3 ビタミンK変換機構とCoQ10合成機構に共に関与する酵素

## 謝辞

本研究は、神戸薬科大学および鈴鹿医療科学大学、芝浦工業大学において多くの先生方、諸先輩方、大学院生、学部学生と共に行ったものです。本研究の遂行にあたり、長きにわたって多大なるご指導を賜りました岡野登志夫名誉教授(神戸薬科大学)および様々なビタミンK誘導体を合成いただいた須原義智教授(芝浦工業大学)に深謝申し上げます。これまでに研究生活を共にした多くの皆様に心より感謝申し上げます。

## 引用文献

1. Nakagawa K., Hirota Y., et al. *Nature*, **468**, 117-121 (2010).
2. Hirota Y., et al. *J. Biol. Chem.*, **288**, 33071-33080 (2013).
3. Nakagawa K., Hirota Y., et al. *PLoS One*, **9**, e104078 (2014).
4. Nickerson M.L., Hirota Y., et al. *Hum. Mutat.*, **34**, 317-329 (2012).
5. Stutts L., et al. *Plant Cell*, **35**, 3686-3696 (2023).
6. Mishima E., et al. *Nat. Metab.*, **5**, 924-932 (2023).

## 略歴

2006年 3月 神戸薬科大学 薬学部 薬学科 卒業  
2008年 3月 神戸薬科大学大学院 薬学研究科 医療薬科学専攻 修士課程 修了  
2008年 4月 協和発酵工業株式会社 生産技術研究所 研究員  
2012年 4月 独立行政法人 日本学術振興会 特別研究員DC2  
2013年 3月 神戸薬科大学大学院 薬学研究科 薬学専攻 博士課程 修了・博士(薬学)  
2013年 4月 独立行政法人 日本学術振興会 特別研究員PD  
2014年 4月 鈴鹿医療科学大学 薬学部 薬学科 助手  
2016年 4月 芝浦工業大学 システム理工学部 生命科学 助教  
2019年 4月 芝浦工業大学 システム理工学部 生命科学 准教授(独立)  
2020年 4月 シンシナティ大学 医学部 客員研究員(学振 国際共同研究加速基金 研究者)  
2021年 4月 芝浦工業大学 学長補佐 兼 学術情報センター長、図書館長

# Elucidation of the Enzyme Bridging the Missing Link Between the Vitamin K Conversion and CoQ10 Biosynthesis

Yoshihisa Hirota, College of Systems Engineering and Science, Shibaura Institute of Technology

## Introduction

Vitamin K is widely recognized as an essential nutrient and is generally classified into two main types: vitamin K<sub>1</sub> (phylloquinone, PK), which is abundant in green leafy vegetables, and vitamin K<sub>2</sub> (menaquinones, MK-n; n = 1 to 14), which is found in fermented foods. Vitamin K compounds are categorized based on their side chain structures: PK contains a phytyl side chain, MK-n contains isoprenyl side chains (n = 1 to 14), and vitamin K<sub>3</sub> (menadione, MD) lacks a side chain. Vitamin K is known to play a vital role in blood coagulation and bone formation, and it is widely used in anticoagulant therapies and the treatment of osteoporosis. Previous studies have reported that MK-4 is the predominant form of vitamin K found at high concentrations in human and mouse tissues. However, the primary dietary sources of vitamin K are PK, which is abundant in plants, and MD, while the intake of MK-4 is generally very low. Despite the minimal intake of MK-4 through diet, its high concentrations in body tissues have led researchers to hypothesize the existence of a metabolic pathway in which MK-4 is synthesized endogenously from dietary sources.

## Identification and Functional Analysis of the Vitamin K-Converting Enzyme UBIAD1

We previously demonstrated that PK is converted into MK-4 by using genetically modified cultured cells and mice in combination with deuterium-labeled PK (PK-*d*<sub>7</sub>), a compound not found in nature (Fig. 1). In particular, we successfully identified the enzyme UBIAD1 (UbiA prenyltransferase domain-containing protein 1) as responsible for attaching the side chain geranylgeranyl pyrophosphate (GGPP) to MD.<sup>1,2</sup>

Subsequent phenotypic analysis of UBIAD1 knockout mice revealed the physiological importance of vitamin K *in vivo*.<sup>3</sup> We further characterized the enzymatic activity and promoter regulation of *UBIAD1*, and discovered that its interaction with HMG-CoA reductase (HMGCR) - the rate-limiting enzyme in cholesterol biosynthesis - contributes to the pathogenesis of Schnyder corneal dystrophy (SCD), which is marked by corneal opacification.<sup>4</sup>

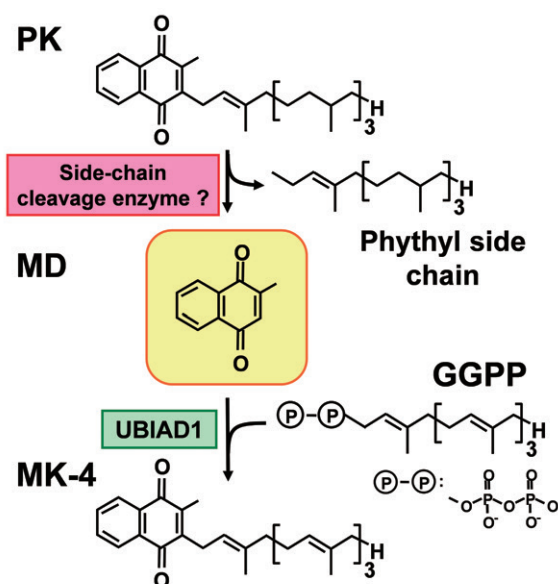


Fig. 1. Conversion Mechanism of Vitamin K.

## Identification of the Vitamin K Methyltransferase COQ5

We synthesized vitamin K derivatives lacking a methyl group at the C2 position and evaluated their conversion into MK-4. As a result, we observed that demethyl-MK-4, which lacks the methyl group at the C2 position, was converted into MK-4. Although demethyl-MK-4 has not been detected in human tissues, it has been reported that demethyl-PK is present in plants.<sup>5</sup>

Focusing on the vitamin K biosynthetic pathway in *Escherichia coli*, we identified UbiE as a methyltransferase that catalyzes the addition of a methyl group.

A search for human homologs of UbiE led us to COQ5 (coenzyme Q5 methyltransferase), a key enzyme involved in the biosynthesis of coenzyme Q10 (CoQ10), which shares 47.8% sequence identity with UbiE. Biochemical analysis confirmed that COQ5 functions as the methyltransferase responsible for the methylation of vitamin K (Fig. 2).

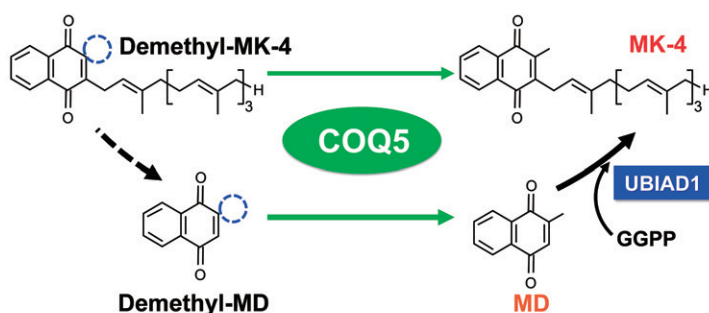


Fig. 2. Role of COQ5 in the Vitamin K Conversion Pathway.

## Future Perspectives

Vitamin K and CoQ10 share structural similarities, as both possess a quinone ring and feature side chains composed of repeating isoprenoid units. These similarities suggest a close biochemical relationship between the two molecules. In fact, biochemistry textbooks from the 1960s described vitamin K as a component of the electron transport chain in eukaryotic mitochondria, similar to CoQ10. Vitamin K and CoQ10 have been regarded as entirely separate nutrients. However, enzymes such as UBIAD1, COQ5, and FSP1 (ferroptosis suppressor protein 1)<sup>6</sup> have been shown to be involved in both vitamin K conversion and CoQ10 biosynthesis (Fig. 3).

We hypothesize that a previously unidentified enzyme, shared by both the vitamin K conversion and CoQ10 biosynthesis pathways, may serve as a missing link between these two essential nutrients. Our goal is to identify and characterize this enzyme in future research.

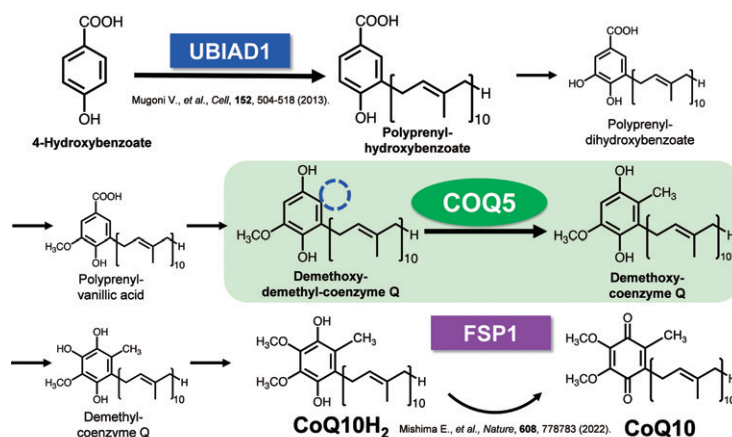


Fig. 3. Enzymes Involved in Both Vitamin K Conversion and CoQ10 Biosynthesis.

## Acknowledgements

This research was conducted in collaboration with many professors, graduate students, and undergraduate students at the institutions with which I have been affiliated. I would like to express my deepest gratitude to Pro. Toshio Okano (Kobe Pharmaceutical University) for his invaluable guidance and support. I am sincerely grateful to Pro. Yoshitomo Suhara (Shibaura Institute of Technology) for synthesizing a wide range of vitamin K derivatives. Finally, I would like to extend my heartfelt thanks to all those with whom I have had the privilege of working throughout my research journey.

## Reference

1. Nakagawa K., Hirota Y., et al. *Nature*, 468, 117-121 (2010).
2. Hirota Y., et al. *J. Biol. Chem.*, 288, 33071-33080 (2013).
3. Nakagawa K., Hirota Y., et al. *PLoS One*, 9, e104078 (2014).
4. Nickerson M.L., Hirota Y., et al. *Hum. Mutat.*, 34, 317-329 (2012).
5. Stutts L., et al. *Plant Cell*, 35, 3686-3696 (2023).
6. Mishima E., et al. *Nat. Metab.*, 5, 924-932 (2023).

## Brief Biography

<b>March 2006</b>	Bachelor's Degree (Pharmacy), Kobe Pharmaceutical University
<b>March 2008</b>	Master's Degree (Pharmacy), Kobe Pharmaceutical University Graduate School
<b>April 2008</b>	Researcher, Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.
<b>April 2012</b>	Research Fellow (DC2), Japan Society for the Promotion of Science (JSPS)
<b>March 2013</b>	Doctor's Degree (Pharmacy), Kobe Pharmaceutical University Graduate School
<b>April 2013</b>	Postdoctoral Research Fellow (PD), JSPS
<b>April 2014</b>	Assistant Professor, Suzuka University of Medical Science
<b>April 2016</b>	Assistant Professor (Tenure Track), Shibaura Institute of Technology
<b>April 2019</b>	Associate Professor (Independent), Shibaura Institute of Technology
<b>April 2020</b>	Visiting Researcher, College of Medicine, University of Cincinnati
<b>April 2021</b>	Associate Vice President, Shibaura Institute of Technology