

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	霍 佳
論文審査担当者	主 査 山田 充彦 副 査 竹下 敏一・柴 祐司
論文題目	Coenzyme Q10 prevents senescence and dysfunction caused by oxidative stress in vascular endothelial cells (コエンザイム Q10 は血管内皮細胞の酸化ストレスに起因する老化や機能障害を抑制する)
(論文の内容の要旨)	<p>【背景と目的】血管内皮細胞への酸化ストレスは内皮細胞の機能障害や動脈硬化において重要な役割を果たしていると考えられている。我々は、これまでに、還元型コエンザイム Q10 (CoQ₁₀H₂) の補給が老化促進モデルマウス (SAMP1) の促進老化を抑制すること (Yan J et al. Exp Gerontol 2006)、老化抑制効果には Sirt1 や Pgc-1α を介したミトコンドリア機能の改善が重要であること (Tian G et al. Antioxid Redox Signal 2014) を示唆してきた。さらに CoQ₁₀H₂ は肝細胞においてホスホジエステラーゼ (PDE) の発現を抑制して細胞内の cAMP の増加や AMPK の活性化を促進し、肥満に伴う脂質代謝を改善することも示唆した (Xu Z, et al. Sci Rep 2017)。本研究では、H₂O₂ による酸化ストレス負荷によって細胞老化を誘導した培養血管内皮細胞に対する、CoQ₁₀H₂ の酸化ストレス、アポトーシスおよび内皮細胞機能障害への保護作用を検証し、そのメカニズムの解明を行った。</p> <p>【材料と方法】10 μM CoQ₁₀H₂ で 24 時間前処置したヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVECs: human umbilical vascular endothelial cells) に 100 μM H₂O₂ を添加して酸化ストレスを与え、細胞老化を誘導した。細胞老化 (SA-β-Gal 染色や SASP (Senescence-Associated Secretory Phenotype、老化関連分泌表現型) 関連遺伝子群 (<i>P14</i>, <i>P16</i>, <i>P53</i>, <i>P21</i>, <i>IL-1β</i>, <i>IL-6</i>, <i>TNF-α</i>, <i>MMP-1</i> および <i>MMP-3</i>) の転写発現の Real-time RT-PCR 解析)、アポトーシス (Annexin V 測定)、ミトコンドリア機能 (JC-1 測定)、内皮細胞機能 (一酸化窒素: NO 産生量測定、細胞移動能測定、チューブ形成能測定) を実施して、CoQ₁₀H₂ の血管内皮細胞保護効果を解析した。</p> <p>【結果と考察】CoQ₁₀H₂ 前処置は、H₂O₂ による SA-β-Gal 陽性細胞数の増加を著しく減少させた。また、SASP 関連遺伝子の転写発現量の増加を抑制した。これらは、酸化ストレスによる細胞老化誘導に対する CoQ₁₀H₂ の保護作用を示すものである。さらに CoQ₁₀H₂ 前処置は高濃度グルコースによる細胞老化誘導にも保護作用を示した。CoQ₁₀H₂ 前処置は以下のような、H₂O₂ 添加による HUVECs の機能障害、1) アポトーシス陽性細胞数や pro-apoptosis 遺伝子発現 (<i>BAX</i>/<i>BCL-2</i>) の増加、2) 細胞内活性酸素種 (ROS) の増加や <i>SOD2</i> 発現量の低下、3) NO や NO 産生酵素遺伝子 (<i>eNOS</i>) の発現量減少、4) ミトコンドリア膜電位の低下や <i>SIRT1</i>, <i>SIRT3</i>, <i>PGC-1α</i> のミトコンドリア機能調整遺伝子発現量の減少、5) HUVECs の細胞移動能とチューブ形成能の減少、を抑制し、内皮細胞保護作用を示した。CoQ₁₀H₂ 前処置は、細胞内の CoQ₁₀H₂ 濃度や総 CoQ₁₀ に対する CoQ₁₀H₂ の比率の激的な増加をもたらした。対照的に、H₂O₂ 処理は細胞内の酸化型 CoQ₁₀ 濃度を激的に増加させたが、CoQ₁₀H₂ の前処置は酸化型 CoQ₁₀ の増加を抑制した。</p> <p>【結論】以上の結果から、H₂O₂ によって惹起される酸化ストレスに対し、CoQ₁₀H₂ の投与が、血管内皮細胞の抗酸化能力を促進し、ミトコンドリア機能を増強することによって、細胞老化を抑制し、アポトーシスや血管内皮細胞の機能障害から保護することが示された。したがって、CoQ₁₀H₂ 補給が、血管の老化や機能減退を遅延させる可能性が示唆された。</p>