

# 1 Caco-2 細胞コエンザイム Q10 の酸化還元バランスに対するプロサポシンの役割

○寺嶋政之, 及川慎吾, 加柴美里, 山本順寛  
東京工科大学応用生物学部

## 【緒言】

コエンザイム Q10 (CoQ10) は, ミトコンドリア電子伝達系のエネルギー産生に必須の脂質である。また, その還元型 (CoQ10H<sub>2</sub>) は酸化ストレスから生体を護る抗酸化物質としても重要である。したがって, 酸化ストレスに対抗するために, 細胞内 CoQ10H<sub>2</sub> 量を増やす機序を明らかにすることは有用である。

脂溶性の CoQ10 が細胞内外を移動するためには, その結合・輸送蛋白質が必要であるが, 未同定であった。我々はサポシン B (*J. Clin. Biochem. Nutr.* (2008) 42:167-174) と, その前駆体プロサポシン (長谷川誠ら, 第 6 回研究会) に CoQ10 結合能があることを報告した。本研究では遺伝子工学手法を用いて Caco-2 細胞プロサポシンノックダウン細胞株を作製し, プロサポシン, サポシン B が細胞内 CoQ10 量とその酸化還元バランスに与える影響を解析した。

## 【方法】

Caco-2 細胞プロサポシンノックダウン株は, miRNA ベクターをリポフェクション法にて導入後, Blasticidin でセレクションを行い作製した。作製した細胞株の細胞内および分泌されたプロサポシンとサポシン B 量をウエスタンブロット法で測定した。細胞播種後, 2, 4, 8, 12 日目のタンパク質量を BCA 法で, CoQ10, CoQ10H<sub>2</sub>, 遊離コレステロール (FC) を HPLC で定量した。CoQ10 の還元活性は, 細胞をホモジネート処理し 8000 g で遠心した上清と, 一枚膜リポソームに組み込んだ CoQ10 とを反応させ, 生成する CoQ10H<sub>2</sub> を HPLC 用いて定量することにより測定した。

## 【結果と考察】

Caco-2 細胞ノックダウン株の細胞内プロサポシンとサポシン B 量はコントロール株に比べ顕著に減少していた。メディウム中に分泌されるプロサポシン量もノックダウン株で顕著に減少していた。細胞播種後のウエル毎のタンパク質量を解析したところ, 8 日目, 12 日目でノックダウン株ではコントロール株に比べて有意に減少していた。このことから, ノックダウン株では細胞増殖能が低下していると考えられる。ノックダウン株の細胞内の FC 量, CoQ10 量は, Day 8, Day 12 でコントロール株に比べ有意に減少していた。さらに興味深いことに, ノックダウン株の全 CoQ10 量に対する酸化型の割合 (%CoQ10) は, Day12 でコントロール株に比べ有意に上昇していた。さらに, コントロール株とノックダウン株の CoQ10 の還元活性を *in vitro* で比較したところ, ノックダウン株で低下していた。

これらの測定結果は HepG2 にプロサポシンを高発現させた場合と正反対であり (大泉美希子ら, 第 6 回研究会), プロサポシンやサポシン B は細胞内コエンザイム Q10 量とその酸化還元バランスの調節に重要な役割を果たしていると考えられる。