

令和 7 年 6 月 24 日現在

機関番号：32692

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2022 ~ 2024

課題番号：22K11713

研究課題名（和文）抗加齢を目指した新規コエンザイムQ10量制御戦略の確立：神経ステロイドを用いて

研究課題名（英文）Establishment of a novel strategy to control coenzyme Q10 levels for anti-ageing

## 研究代表者

加柴 美里 (Kashiba, Misato)

東京工科大学・教養学環・教授

研究者番号：80338186

交付決定額（研究期間全体）：(直接経費) 3,200,000 円

**研究成果の概要（和文）：**本研究は、神経細胞におけるコエンザイムQ（CoQ）量の増強手法の確立を目的とし、神経ステロイドが極めて低濃度でCoQ量を増加させることを見出した。神経ステロイド投与により、CoQ合成の最終ステップ酵素群の遺伝子発現量に変化はなかったが、4-ヒドロキシ安息香酸（4-HB）合成関連遺伝子のうち、チロシンから4-ヒドロキシフェニルビルビン酸（4-HPP）への変換を担うAADAT遺伝子の発現が増加していた。現在、AADAT高発現時のCoQ量変化について検討を継続中である。本研究により、神経ステロイドによりCoQ量が増加することと、その背景として4-HB合成酵素の関与が示唆された。

## 研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、神経細胞のコエンザイムQ（CoQ）量増強手法を確立し健康寿命の延伸に寄与することを目的とした。様々な遺伝子疾患や神経系の病態において神経細胞中のCoQ量の減少が報告されており、これが病態の発症や悪化に関与していると考えられている。しかしながら、サプリメント等として投与したCoQは脳には移行されにくい。そこで、神経細胞内でCoQを合成しこれを増強する手法の確立が望まれている。本研究にてみいだされた神経ステロイドを用いた新規CoQ量制御機構は、新しい視点からの神経細胞保護機構の解明・開発にもつながり、健康寿命の延伸にも寄与すると考える。

**研究成果の概要（英文）：**This study aims to establish a method for enhancing coenzyme Q (CoQ) levels in neurons. We found that neurosteroids enhanced CoQ levels even at very low concentrations. Neurosteroid treatment did not alter gene expression levels of the final step enzyme of CoQ synthesis. A group of genes related to 4-hydroxybenzoic acid (4-HB) synthesis was analysed. The expression of the AADAT gene, which converts Tyrosine to 4-hydroxyphenylpyruvate (4-HPP), was increased.

The CoQ level fluctuations during high AADAT gene expression are still under investigation. The present study suggests that CoQ levels are increased by neurosteroid administration and that an increase in 4-HB synthase is the molecular background for this increase.

研究分野：病態生化学

キーワード：コエンザイムQ10 神経ステロイド

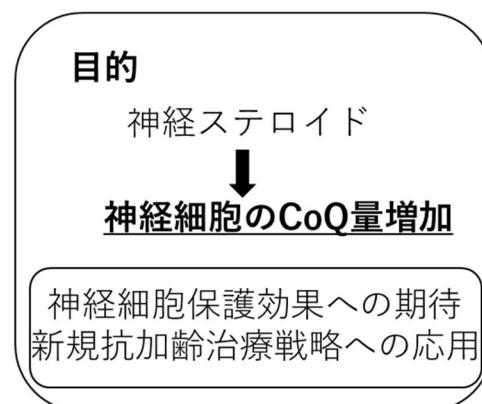
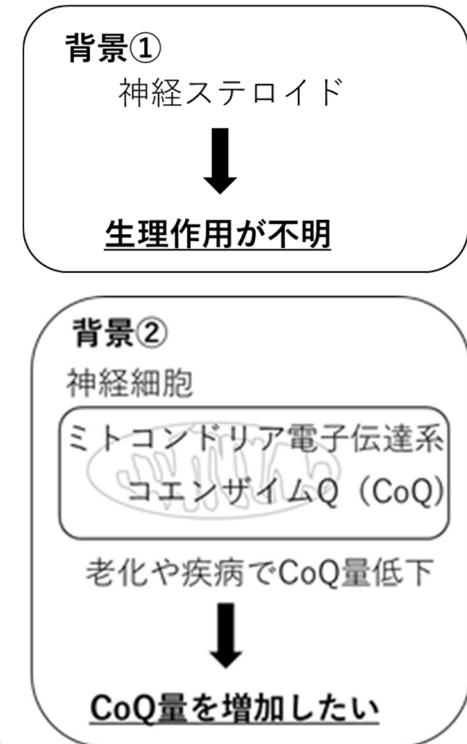
## 1. 研究開始当初の背景

中枢神経内で合成されるステロイドホルモンが神経ステロイドとして注目されている。神経ステロイドの合成は脳内の限られた細胞でのみ活発に行われている。神経ステロイドの生理作用には不明な点が多く残されている。

ミトコンドリアは、加齢や様々な疾患でその量や質の低下が報告されており、中枢神経でのミトコンドリアの役割が改めて注目されている。コエンザイム Q(CoQ)はミトコンドリア電子伝達系において、複合体 I または複合体 II から複合体 III への電子の運搬に関わる必須脂質である。加齢や様々な疾患では、CoQ 量が低下することも報告されている(Lipids. 1989 Jul;24(7):579-84)。具体的には CoQ 合成酵素遺伝子変異が、神経疾患を引き起こしていること(N Engl J Med. 2013 Jul 18;369(3):233-44. Am J Hum Genet. 2006 Dec;79(6):1125-9.) や、パーキンソン病患者の血清中 CoQ 量の低下(J Neurol Sci. 2012 Jul 15;318(1-2):72-5.) が報告されている。CoQ は 抗加齢サプリメントとして注目されているが、経口投与した CoQ は脳に取り込まれにくい(Free Radic Biol Med. 2003 Mar 1;34(5):563- 75.)。CoQ は抗酸化物質としても重要である。細胞内の抗酸化物質量 の増加や、ミトコンドリア活性の上昇は、健康寿命の延長を目指すうえでも重要である。神経細胞の CoQ 量を上昇する手法の開発は、予防医学の観点からも期待される。

## 2. 研究の目的

以上のように、細胞の健康を鑑みると、細胞内の CoQ 量を増強させることが望ましいが、特に神経細胞において CoQ 量を増加させる手法は見出されておらず、その手法の究明は強く求められている。研究代表者らは、神経細胞中の CoQ 量が加齢や神経疾患で変動することから神経細胞に注目しての解析をおこなってきた。これらの過程で、神経様培養細胞が分化する際に、細胞内 CoQ 量が増加することを見出した(J Clin Biochem Nutr. 2022 Sep;71(2):89-96. doi: 10.3164/jcbn.21-107.)。この際、神経細胞のよりよい分化条件を検討していたところ、神経突起の伸長に効果があるとされている神経ステロイド添加時に、CoQ 量が劇的に増加することを、パイロット実験の結果より見出した(図 1)。この図は、細胞内の CoQ 量を同じく細胞内のフリーコレステロール値で補正していることもあり、実際に細胞当たりの CoQ 量がどの程度増加しているのかは不明である。本研究では、神経ステロイドによる本作用を確認し、さらにその機序を解明することを目的とする。また、本研究にて神経ステロイドによる



神経細胞内 CoQ 値の増加が確認できれば、その機序についても検討し、その応用を検討することにより、神経ステロイドを用いた新規 CoQ 量制御戦略の確立を目指した。

### 3. 研究の方法

本研究では、神経ステロイドによる神経細胞内 CoQ 値への効果とその機序の解明をめざす。具体的には、神経ステロイド投与による下記項目の検討を解析した。

- (1) 神経ステロイドの種類と至適濃度の検討
- (2) CoQ の細胞内局在の解析
- (3) CoQ が上昇する機序の解析

いずれの実験系も神経細胞モデル(PC12 細胞、N1E-115 細胞)を用いて行う。

### 4. 研究成果

#### (1) 神経ステロイドの種類と至適濃度の検討

まず神経ステロイド投与による CoQ 量増強現象の確認を行った。神経ステロイドとしては、トランスフェリン、インスリン、プロゲステロンの3種類を用いた。これらの神経ステロイドの投与により、細胞内の CoQ 量が増加することを確認した。次に、神経ステロイドの至適濃度の検討を行った。結果を図 2 に示す。きわめて低濃度でも CoQ 量增加効果があることを確認した。

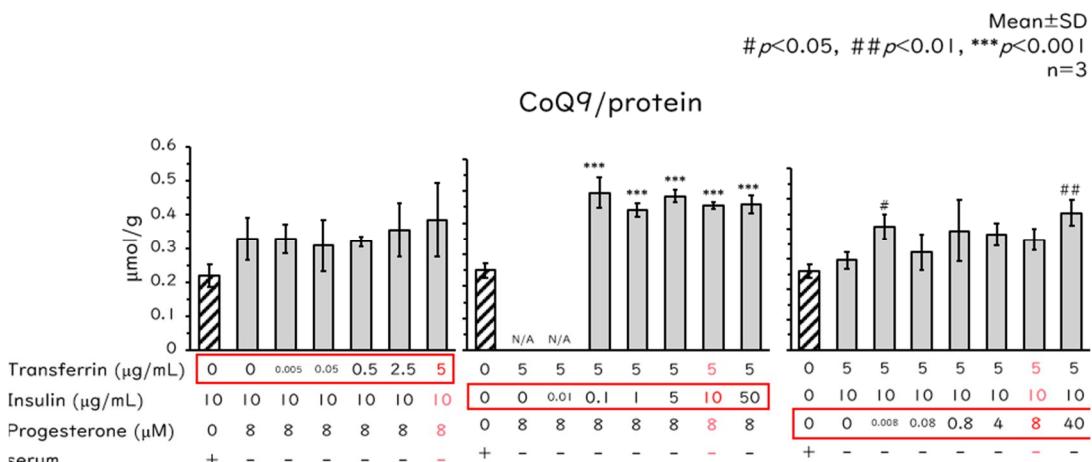


図 2 各種濃度の神経ステロイド投与による PC12 細胞内コエンザイム Q 量の変動

神経細胞内の CoQ 量は  
神経ステロイドの投与で増加する

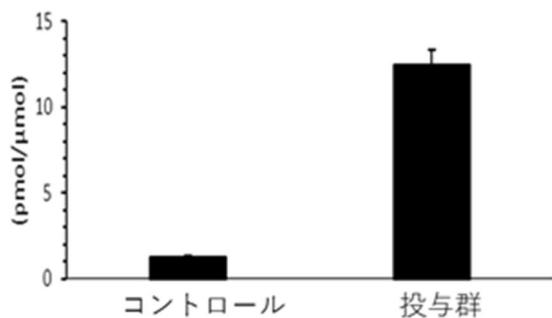


図 1 神経様培養細胞株 PC12 細胞に神経ステロイド等を投与したところ、細胞中の CoQ 量が劇的に増加した。

## (2) CoQ の細胞内局在の解析

CoQ は、あらゆる細胞内膜に存在することが報告されている。形質膜や核膜などに存在する CoQ は、抗酸化物質として重要であると考えられている。CoQ はもちろんミトコンドリア内膜にも存在し、電子伝達系の必須因子としてエネルギー産生に寄与している。神経ステロイド投与により、細胞レベルで解析した場合の神経細胞内 CoQ が上昇することを見出した。この CoQ の上昇が細胞のどの部位の CoQ の上昇によるものなのかを検討した。具体的には、ミトコンドリアを分画し、ミトコンドリア中の CoQ 量を解析することにより、ミトコンドリア中の CoQ も神経ステロイド投与により増加するのかを検討した。結果、ミトコンドリア中の CoQ 量も神経ステロイドの投与により、有意に増加することを見出した。

## (3) CoQ が上昇する機序の解析

CoQ は生合成される。その合成機序については、一部不明な部分ものこされているが、おおむね、図3に示すスキームによって生合成されると考えられている。

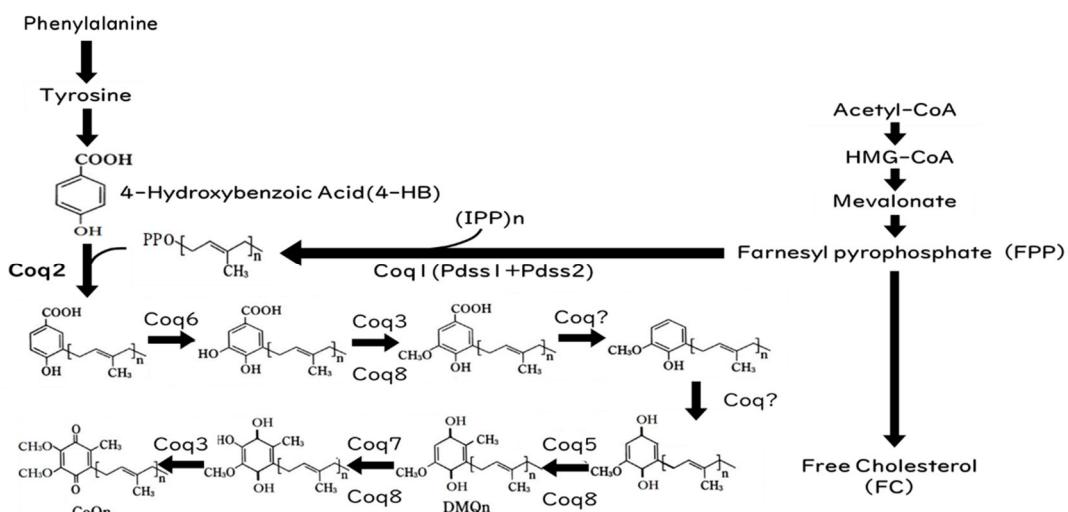


図3コエンザイム Q 合成スキーム

CoQ1 (PDSS), coq2 coq9 の遺伝子発現量を解析した。しかしながら、いずれの CoQ 合成酵素遺伝子にも、その遺伝子発現量に変動はみとめられなかった。そこで、次に、チロシンから 4-HB が生合成される過程の酵素に注目した。この経路の酵素は、十分には明らかにされていないが、既に報告されている遺伝子発現量を解析したところ、Tyrosine を 4-ヒドロキシフェニルピルビン酸(4 - HPP)に変換する AADAT 遺伝子発現量が、神経ステロイドの投与により顕著に増加することを見いだした。この変動が下流の CoQ 量に影響している可能性が示唆されたことから、AADAT 遺伝子を高発現させた場合の CoQ 量の変動について引き続き検討をおこなっている。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] 計2件 (うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件)

1. 著者名 Kyousuke Sugawara, Seiji Sato, Yuto Tanaka, Akari Nakamura, Akio Fujisawa, Yorihiro Yamamoto, and Misato Kashiba	4. 卷 -
2. 論文標題 Method for detecting CoQ10 incorporation in the mitochondrial respiratory chain supercomplex	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 J Clin Biochem Nutr	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Akari Nakamura, Yukina Aida, Mizuho Okamoto, Ayaka Maeda, Ayaka Nagao, Kanae Kitatani, Susumu Takekoshi, Akio Fujisawa, Yorihiro Yamamoto, and Misato Kashiba	4. 卷 -
2. 論文標題 Transferrin, insulin, and progesterone modulate intracellular concentrations of coenzyme Q and cholesterol, products of the mevalonate pathway, in undifferentiated PC12 cells	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 J Clin Biochem Nutr.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計8件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Rena Okuzumi, Riku Harata, Mizuho Okamoto, Akio Fujisawa, Yorihiro Yamamoto, Misato Kashiba
2. 発表標題 レスベラトロール, インスリン, プログステロン投与による細胞内コエンザイムQ10量制御手法の確立
3. 学会等名 日本生化学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 會田有希奈, 岡本瑞穂, 中村朱里, 前田彩華, 藤沢章雄, 山本順寛, 加柴美里
2. 発表標題 神経細胞の分化に伴うコエンザイムQ量変動の解析とそのメカニズムの解明
3. 学会等名 日本コエンザイムQ協会研究会
4. 発表年 2023年

1 . 発表者名 菅原響介 , 佐藤誠治 , 藤沢章雄 , 山本順寛 , 加柴美里
2 . 発表標題 ミトコンドリア呼吸鎖超複合体中のCoQ10定量手法の確立と応用
3 . 学会等名 日本酸化ストレス学会関東支部会
4 . 発表年 2024年

1 . 発表者名 Yukina Aida, Akari Nakamura, Ayaka Maeda, Ayaka Nagao, Mizuho Okamoto, Akio Fujisawa, Yorihiro Yamamoto, Misato Kashiba
2 . 発表標題 神経細胞のコエンザイムQ量変動メカニズムの解明
3 . 学会等名 日本生化学会大会
4 . 発表年 2023年

1 . 発表者名 加柴美里
2 . 発表標題 神経細胞の分化に伴うコエンザイムQ量変動の解析とそのメカニズムの解明
3 . 学会等名 日本コエンザイムQ 協会研究会（招待講演）
4 . 発表年 2024年

1 . 発表者名 Yukina Aida, Akari Nakamura, Ayaka Maeda, Ayaka Nagao, Kanae Kitatani, Susumu Takekoshi, Akio Fujisawa, Yorihiro Yamamoto, Misato Kashiba
2 . 発表標題 神経ステロイド類は、PC12細胞の薬物耐性を増強する
3 . 学会等名 第95回 日本生化学会大会
4 . 発表年 2022年

1 . 発表者名	Yukina Aida, Akari Nakamura, Ayaka Maeda, Ayaka Nagao , Kanae Kitatani, Susumu Takekoshi, Akio Fujisawa, Yorihiro Yamamoto, Misato Kashiba
2 . 発表標題	神経ステロイド類は、PC12細胞のコエンザイムQ(CoQ)量を増加させる
3 . 学会等名	第95回 日本生化学会大会
4 . 発表年	2022年

1 . 発表者名	Akari Nakamura, Yukina Aida, Mizuho Okamoto, Ayaka Maeda, Ayaka Nagao, Kanae Kitatani, Susumu Takekoshi, Akio Fujisawa, Yorihiro Yamamoto, Misato Kashiba
2 . 発表標題	Administration of transferrin, insulin and progesterone increases cellular coenzyme Q levels in PC12 cells
3 . 学会等名	Society for Free Radical Research Australasia & Japan Conference (国際学会)
4 . 発表年	2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6 . 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	中村 真男 (Nakamura Masao) (40632972)	公益財団法人佐々木研究所・附属研究所・研究員 (72609)	
研究分担者	竹腰 進 (Takekoshi Susumu) (70216878)	東海大学・医学部・教授 (32644)	

7 . 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------