

線虫の寿命及びストレス耐性に対する生理活性物質の作用の研究

栗野 智帆 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 坂本 和一 (筑波大学 生命環境系)

○ 背景・目的

ファイトケミカルは植物中に存在する天然の生理活性物質である。その多くは抗酸化作用を通じて肥満や糖尿病などの予防・改善に生理的効果があるとされている。近年では様々なファイトケミカルがサプリメントや健康機能食品として市場に出ており、生活習慣病の予防や老化の防止といった点で期待が高まっている。しかし、ファイトケミカルの数は膨大であり、その効果が解明されたのはごく一部にしかすぎず、さらなるファイトケミカルの機能解析が求められている。

線虫(*C.elegans*)が持つ *Daf-16* は *FoxO* のホモログである。これは進化的に保存された転写因子で、細胞周期、DNA 修復、糖代謝など様々な作用に関わっていることが知られており、ファイトケミカルの一部はこの *FoxO* を活性化することで生理活性機能をもたらすことが明らかになっている。

本研究の先行研究において、植物抽出物ライブラリーの中から *Daf-16* を活性化するものをスクリーニングした結果、マンゴスチンと呼ばれる東南アジア原産のオトギリソウ科クギ属に属する常緑高木の実が最も効果を示した。*Daf-16* 転写因子が活性化し標的遺伝子を発現させるためには、*Daf-16* が核に移動・局在することが必要となる。マンゴスチンを投与した線虫では、他の植物抽出物を投与したものと比較して二倍程度の核局在が確認され、また各抽出物を投与した個体に対して体長測定を行ったところ、マンゴスチン及び α -マンゴスチン投与の個体で伸びが抑制される傾向が示された¹。*Daf-16* が活性化すると成長の遅延が起こることが明らかになっており、体長の伸びの抑制は *Daf-16* の活性化からくるものだと考えられる。また、マウス 3T3-L1 前駆脂肪細胞を用いた解析では、マンゴスチン果皮抽出物により脂肪蓄積が顕著に抑制された¹。

本研究では、マンゴスチンの果皮抽出物のさらなる生理作用の解析と機能成分の同定を目的として線虫を用いた実験を行った。

○ 方法

マンゴスチン果皮抽出物及び、抽出物中最大含有物質である α -マンゴスチンを線虫に添加し、発現した形質について解析を行った。いずれの試薬も DMSO (解析(1)(2)) またはエタノール (解析(1)(3)) に溶かして実験に用いた。

線虫は基本的に 20°C で培養し、同調処理から 72h 後に FUDR を添加することで同世代の線虫のみを実験に用いた。同調処理から 94h は、NGM プレートに試薬と大腸菌の混合液を塗布したもので培養し成虫まで飼育した。また用いた線虫は全て N2 系統である。

(2)熱ストレス後の寿命測定に関しては、試薬を投与し解析を行いながら、実験系の立ち上げを行った。

(1) 寿命測定

線虫を同調処理後 94h 培養し、NGM プレートに試薬と大腸菌の混合液を塗布したもので一ヶ月程度培養、プレートを 1 日置きに交換しつつ測定した。ピッキングを行った際、もしくは生理食塩水に浸した際に動くかどうかを指標として生死判定を行った。

(2) 熱ストレス後の寿命測定

線虫を同調処理後 94h 培養し、各試薬に対し同数の線虫を NGM プレートに試薬と大腸菌の混合液を塗布したものに移し 35°C の熱ストレスを 3.5h 与え、この日を 0 日目として寿命の測定を行った。プレートは 3 日置きに交換した。指標は(1)と同様である。

(3) 熱ストレス後の運動性の変化

線虫を同調処理後 94h 培養し、その時点で線虫を生理食塩水に浮かべて実体顕微鏡下で観察し、15sec あたりの thrashing 運動回数を測定した。その後、35°C の熱ストレスを 1h 与えて同じく thrashing 運動回数を測定し、熱ストレスを与えた前後での運動性について比較した。

○ 結果

- (1) マンゴスチン抽出物及び α -マンゴスチンの寿命延長傾向は見られなかった。
- (2) マンゴスチン抽出物及び α -マンゴスチンの熱ストレス耐性による寿命延長の傾向は見られなかった。
- (3) α -マンゴスチン投与個体において運動性の維持が示された。

○ 考察及び課題

結果から、マンゴスチン抽出物は寿命延長作用を持つものではないことが示された。一方で、熱ストレス耐性による運動性の変化では有意な差がみられたことから、 α -マンゴスチンには運動性低下抑制作用があることが期待される。

今後は、遺伝子発現の解析などにより作用機構の解明を行っていく。また、マウス前駆脂肪細胞において脂肪蓄積が抑制されることから、線虫においても脂肪蓄積量の測定を行いその効果を明らかにしていく予定である。

○ Reference

1. Eri Obata (2013) Tsukuba Journal of Biology 12, 55