

## 赤ぶどう抽出物とレスベラトロールによるアンチエイジング作用の比較解析

福本 隼平 (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

「赤ぶどう」の果皮にはポリフェノールの一種であるレスベラトロールが豊富に含まれている。先行研究により、レスベラトロールは線虫やショウジョウバエなどのモデル生物に対し SIR2(silent information regulator 2)ファミリー (サーチュイン) を介して寿命延伸などのアンチエイジング効果があることが明らかになっている<sup>1)</sup>。しかし、その生理活性作用については不確かな点が多く、安定した結果が得られないことが問題視されている<sup>2)</sup>。我々は精製レスベラトロールと、レスベラトロールを含む赤ぶどうの抽出物 (GE: redgrape extract) をそれぞれ線虫に投与してそれらのアンチエイジング作用の比較解析を行った。

## 材料・方法

## モデル生物

本実験では *C.elegans* var. Bristol (N2 株) を使用した。線虫は大腸菌 OP50 株を播種した NGM(Nematod Growth Medium) プレートで飼育した。飼育温度は 20°C で行った。

## 同調処理

線虫の表皮を次亜塩素酸ナトリウム溶液で破壊して虫卵のみを回収し、18 時間・20°C でインキュベートを行い、齢の揃った幼虫(L1: larvae 1) 集団を得た。

## 経時的な運動性の変化

同調処理から 18 時間後の線虫を OP50 を播種した NGM プレートに移し、72 時間飼育した。その後、UV 照射で殺した OP50 とレスベラトロールまたは GE を添加した NGM プレートに線虫を移し、3 日ごとに線虫の 15 秒間の波打ち運動回数を計測した。

## 熱ストレス耐性

同調処理から 18 時間後の線虫を UV 照射で殺した OP50 と各試薬を添加した NGM プレートに移し 72 時間飼育。熱回復実験では、成虫に 35°C・4 時間の熱ストレスを与えた後、12 時間ごとに線虫の波打運動回数を計測し、熱ストレスを与えなかったグループと比較した。

## 寿命測定

同調処理から 18 時間後の線虫を OP50 を播種した NGM プレートに移し、72 時間飼育した。その後、UV 照射した OP50 と各試薬を添加した NGM プレートに線虫を移し、二日ごとに線虫の生存個体数を計測した。

## 遺伝子発現解析

同調処理から 18 時間後の線虫を OP50 を播種した NGM プレートに移し、72 時間飼育した。その後、UV 照射した OP50 と各試薬を添加した NGM プレートに線虫を移し、3 日間飼育した。飼育した線虫を乳鉢に移し液体窒素により凍結破砕した。破砕片より、RNA 抽出キット(iso-PLUS TAKARA)を用いて RNA を

抽出し、逆転写 RT-PCR によって各種ストレス耐性遺伝子の発現量を調べた。

## 結果

レスベラトロールと GE は、線虫の老化や熱ストレスによる運動性の低下を抑制する作用を示したが、両者に有意な違いはみられなかった。一方、寿命測定においては、GE を与えたグループの方が精製レスベラトロールを与えたグループに比べ、線虫の寿命が延伸した。

## 考察

寿命測定の結果より、GE にはレスベラトロールの他に未同定の抗老化物質が含まれている可能性が示唆される。今後は進行中の遺伝子発現解析の結果をもとに遺伝子欠損型の変異体を用いて、GE のアンチエイジング作用のメカニズムの解明を進める。

## 参考文献

1. Wood, G.J. Sirtuin activators mimic caloric restriction and delay ageing in metazoans. *Nature* **430**, 686-689 (2004)
2. Kenyon, J.C. The genetics of ageing. *Nature* **464**, 504-512(2010)