

## 線虫の寿命延伸に対する米ケフィランの生理作用解析

柴田 健司 (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】

昨今、国民の平均寿命と健康寿命の間のギャップ(約 10 歳)が大きな社会問題とされており、健康や寿命に密接に関わる食についても関心が高まっている。世界的に長寿で知られるコーカサス地方では、発酵乳ケフィアが伝統的に愛飲され、その中に含まれる粘質多糖ケフィランが長寿の秘訣とされている。粘質多糖ケフィランには抗動脈硬化や抗アレルギー作用、整腸作用などの効果があることが分かっているが、健康寿命を司る長寿遺伝子に対する作用はまだ解明されていない。

そこで本研究では、粘質多糖ケフィランをより多く含む機能性食品の米ケフィランを用い、線虫に対する生理作用の解析を通して長寿遺伝子への働きを調べることを目的とした。

本研究では、長寿遺伝子の中でもフォークヘッド型転写因子ファミリーの FoxO サブグループに属する *daf-16* に焦点を当てた。FoxO 遺伝子は、ストレス防御や老化速度を決定する上で中心的な役割を果たすことがこれまでに確認されている。

## 【材料・方法】

## (材料)

本研究では *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 (Nematode Growth Medium) プレート上で飼育した。

## (方法)

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する同調処理を行った。その後 18 時間培養し、孵化した線虫を OP50 と米ケフィラン抽出物の混合液を塗布した NGM プレート上に移した。同調処理した幼虫を成虫になるまで 96 時間培養し、実験に用いた。飼育温度は 20 °C である。

## (1) 寿命に対する効果

96 時間培養した線虫を 20 °C の環境下で飼育した。2 日毎に生存個体数を測定した。

## (2) 熱ストレス耐性(生存率)に対する効果

96 時間培養した線虫を 35 °C の熱ストレス下で 10 時間飼育した。その後、2 時間毎に生存率を測定した。

## (3) 熱ストレス耐性(運動性)に対する効果

96 時間培養した線虫に 35 °C の熱ストレスを 4 時間与え、4 時間後を 0 時間として、0、12 時間後の線虫のスラッシング運動回数を測定した。また *daf-16* 欠損型の変異体を用いて同様の実験を行った。

## (4) 老化に伴う運動性低下に対する効果

96 時間培養した線虫を 20 °C の環境下で飼育した。0、3、6、9 日後の線虫のスラッシング運動回数を測定した。同調処理後 72 時間培養した線虫を固定し、その体長を測定した。

## 【結果】

- (1) 米ケフィラン抽出物の投与により線虫の寿命が延伸した。
- (2) 熱ストレス下において、米ケフィラン抽出物の投与により、線虫の生存率の低下が抑えられた。
- (3) N2 株では 0 時間後には変化がみられなかったが、12 時間後では米ケフィラン抽出物の投与により、熱ストレス処理後の運動性の回復増進効果がみられた。また変異体ではすべての時間で変化しなかった。
- (4) 米ケフィラン抽出物投与により、老化による運動性低下が回復した(一部、研究室の既知の知見を含む)。
- (5) 米ケフィラン抽出物の投与により、線虫の体長が若干伸長した。

## 【考察・今後の展望】

本実験から、米ケフィラン抽出物は寿命延伸や熱ストレス耐性を始めとした様々な生理作用を示すことが示唆された。寿命延長やストレス耐性の向上などの生理作用は長寿遺伝子の活性化が一因していることが報告されていることから、米ケフィラン抽出物は長寿遺伝子に何らかの影響を与えていると考えられる。

また N2 株では熱ストレス後の運動性が米ケフィランにより顕著に回復したが、*daf-16* 欠損変異体では変化がみられなかった。そこで、今後は *daf-16* を中心として具体的な長寿遺伝子に焦点を当て、変異体を用いた生理作用解析や、DAF-16 の活性化および遺伝子発現の解析など作用機序の解明を行う予定である。