

線虫のストレス耐性に対するアイスプラント抽出物の生理作用解析

村井 隼弥 (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】

近年、野菜などに含まれる植物由来の生理活性物質であるファイトケミカルの生活習慣病の予防や改善、抗老化に効果的であるとして注目を集めている。

アイスプラント (*Mesembryanthemum crystallinum*) は南アフリカ原産の植物で、耐塩性が高く、塩ストレス下では塩類を塩囊細胞に蓄積させる塩生植物である。またアイスプラントは、血糖値を低下させるピニトールや、脂肪の蓄積を抑制するミオイノシトールを含むことが知られており、抗肥満や抗糖尿病などの機能性食品としても期待されている。本研究の先行研究において、マウス前駆脂肪細胞 3T3-L1 細胞株に対してアイスプラント抽出物が分化関連遺伝子の発現抑制と脂肪合成・脂肪蓄積の抑制に関わることが明らかにされている。

本研究では、このアイスプラントの生理作用について、線虫を用いて解析を行った。

【材料・方法】

・モデル生物

本研究では線虫 *C.elegans* var. Bistol(N2株)を用いた。線虫は、餌である大腸菌 OP50 株を播種した NGM(Nematode Growth Medium)プレートで飼育し、飼育温度は 20 °C とした。

・同調処理

実験に使用する線虫は、成虫の表皮を NaClO 処理によって破碎し、得られた卵を生理食塩水 S-basal で 18 時間培養し、発生段階の揃った幼虫を得た。

・アイスプラントの抽出

アイスプラントを凍結乾燥させ、乳鉢ですりつぶし、得られた粉末を dDW で抽出した。

・D-Pinitol / myo-Inositol

前述したような効果が知られているため、ポジティブコントロールとして用いた。

・実験方法

(1) 脂肪蓄積量の測定

同調処理により得られた幼虫を 78 時間培養し、アイスプラント抽出物/D-Pinitol, myo-Inositol を添加し 18 時間培養した。その後、線虫を Nile-Red 試薬で染色し、蛍光顕微鏡で撮影した画像を画像解析ソフト ImageJ を用いて解析した。

(2) 熱ストレス耐性試験 (運動性の回復)

同調処理により得られた幼虫を 78 時間培養し、アイスプラント抽出物/D-Pinitol, myo-Inositol を添加し 18 時間培養した。その後、線虫を無菌 NGM プレートに移し、35 °C で 4 時間培養し再度 OP プレートに移し、0, 12, 24 時間後に線虫のスラッシング運動の回数を測定した。

(3) 熱ストレス耐性試験 (生存率)

同調処理により得られた幼虫を 78 時間培養し、アイスプラント抽出物/D-Pinitol, myo-Inositol を添加し 18 時間培養した。その後、線虫を無菌 NGM プレートに移し、37 °C で飼育して 4, 6, 8 時間後の生存率を測定した。

(4) ミトコンドリア染色

同調処理により得られた幼虫を 78 時間培養し、アイスプラント抽出物/D-Pinitol, myo-Inositol, MitoTracker Green/Orange を添加し 18 時間培養した。その後蛍光顕微鏡で撮影した画像を画像解析ソフト ImageJ を用いて、ミトコンドリアの膜電位と量について解析した。

(5) 酸化ストレス耐性試験

同調処理により得られた幼虫を 78 時間培養し、アイスプラント抽出物/D-Pinitol, myo-Inositol を添加し 18 時間培養した。その後、線虫を 0.1 % H₂O₂ に移し 1 時間毎に生存率を測定した。

(6) 寿命測定

同調処理により得られた幼虫を 4 日間培養した。その後 2~3 日毎に試料の添加と生存個体数の測定を行った。

【結果】

- (1) マウス前駆脂肪細胞における先行研究の結果に反して、線虫ではアイスプラント抽出物投与による脂肪蓄積の抑制は起こらず、むしろ脂肪蓄積が促進された。
- (2) アイスプラントの投与による線虫の熱ストレス耐性 (運動性) への変化は見られなかった。
- (3) 現在実施中である。
- (4) 膜電位については安定した結果が得られていないが、ミトコンドリア量については、アイスプラントの投与によって増加した。
- (5), (6) 現在実施中である。

【今後の展望】

本研究は機能性食品と成り得るものの一次的なスクリーニングであるため、今後は各種ストレス耐性や寿命延伸を司る遺伝子の変異体を用いた解析及び関連遺伝子の発現解析など作用機序の解明を行い、さらにはマウスを用いた *in vivo* での生理作用解析を行う予定である。