

線虫を用いたオキシトシンのストレス耐性作用と作用機序の解析

永野 豪 (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】

オキシトシンとは、平滑筋収縮や乳汁の分泌、子宮の収縮に関わるホルモンである。ヒトにおいては脳下垂体後葉から分泌され、中枢神経、末梢神経系のオキシトシンの受容体に対して作用する。ストレスや人間関係、感情など社会性への作用も近年注目されている。その例として、オキシトシンを経鼻的に投与することで他人への信頼感が増すことや、自閉症の緩和作用などが報告されている。また、オキシトシンはヒトや線虫を含む多くの生物に保存されている。線虫においてもオキシトシンが神経系を介した行動に関与していること、その受容体が存在していることが明らかになっている。

本研究ではオキシトシンの線虫での生理作用を解析するとともに、オキシトシンのアンタゴニストであるアトシバンを用いて、オキシトシンが受容体を介して働いているのかを調べた。

【材料・方法】

＜モデル生物＞

本研究では線虫 *C.elegans* Bristol(N₂株)を用いた。線虫は大腸菌 OP50 株を播種した NGM(Nematode Growth Medium)プレート(OP プレート)で 20 °C で飼育した。

＜同調処理＞

発生段階をそろえるため、成虫になった線虫の表皮を次亜塩素酸処理によって破碎し、得られた卵を S-basal で 18 時間培養した。オキシトシン、アトシバンを dDW に溶解し、さらにこれを OP 飼料と混合し NGM プレートに添加した。その後、幼虫をこのプレートで 96 時間培養し、これを実験に用いた。

＜実験方法＞

(1) 寿命の測定

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) 熱ストレス耐性試験(運動性)

96 時間培養した線虫を無菌 NGM プレートに移し、に 35 °C の熱ストレスを 4 時間与えた。その後、線虫を OP プレートに移し、0、12、24 時間後の線虫のスラッシング運動回数を測定した。

(3) 熱ストレス耐性試験(生存率)

96 時間培養した線虫を、OP50 を塗布したアンピシリンプレートに移し、35 °C の熱ストレスを与えた。熱を与え始めて 10 時間目から線虫がすべて死ぬまで、2 時間毎に生存率を測定した。

(4) 細胞内 ROS の測定

96 時間培養した線虫を、DCF 染色し蛍光顕微鏡で撮影した画像を解析した。

【結果】

(1) オキシトシンの投与が線虫の寿命に影響しないことが明らかになった。

(2) オキシトシンの投与によって、線虫の熱ストレス後の運動性の回復率が上昇することが明らかになった。また、アトシバンの投与によって、この回復率の上昇は抑制された。

(3) オキシトシンの投与によって、線虫の熱ストレス下における生存率が上昇することが明らかになった。また、アトシバンの投与によって、この生存率の上昇は抑制された。

(4) オキシトシンの投与によって、線虫の細胞内 ROS が上昇することが明らかになった。また、アトシバンの投与によって、この細胞内 ROS の上昇は抑制された。

【考察・今後の展望】

本実験からオキシトシンには線虫の熱ストレス耐性の向上、細胞内 ROS の若干の向上に関与しており、これらの作用がオキシトシンの受容体を介して働いていることが示唆された。先行研究により、オキシトシンは線虫の酸化ストレス耐性を向上させることが明らかにされている。細胞内 ROS の上昇はこれによりフィードバックが働くことで、酸化ストレス耐性が向上するのではないかと考えられる。今後は酸化ストレス応答や熱ストレス応答に関わる遺伝子の発現を解析することでこれらの作用機序を明らかにしていくほか、アトシバン以外のオキシトシンのアンタゴニストを用いてさらに解析を進めていく予定である。