

香り物質によるホルモン代謝作用の解析

田中 萌奈（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）

【背景と目的】

アロマオイルはストレス緩和やリラックス効果がありアロマセラピーやフレグランスとして一般に広く利用されているが、それらの具体的な生理作用の科学的研究は十分ではない。本研究室ではアロマオイルの香り刺激が線虫のストレスホルモンの代謝にどのように作用するか解析した先行研究がある（久保、修士論文、2018）。

ストレスホルモンとはコルチゾールやコルチコステロンなどの糖質コルチコイドのことで、特にコルチゾールは抗ストレス作用があり、その分泌がストレスと関係することからストレスのバイオマーカーとなっている。哺乳類において糖質コルチコイドは、コルチゾンからコルチゾール、コルチゾールからコルチコステロンへと代謝される。先行研究で、線虫にも同様な代謝系が存在することがわかっている（久保、修士論文、2018）。また、アロマオイルの揮発性物質を線虫にさらすと、これらの代謝酵素を介してストレスホルモンの代謝量の変化が起こること、香り物質の種類によって代謝の度合いが異なるということが分かっている。そこで、本研究ではアロマオイルに含まれる単一の香り化学物質がストレスホルモンの代謝を変化させるかどうか解析を行った。

【材料・方法】

<モデル生物>

大腸菌 OP50 株を餌として与えて飼育した線虫 *C. elegans* Bristol (N2 株) を用いて実験を行った。

<同調処理>

発生段階をそろえるために、成虫になった線虫の表皮を次亜塩素酸ナトリウムで破碎し、得られた卵を S-basal で 18 時間培養した。

<ストレスホルモン>

Cortisone(SIGMA) (東京化成工業、東京、日本) は DMSO で 350 mM になるよう調整したものを -80°C で保存した。これを解凍し、LB medium 中の大腸菌 OP50 株、DMSO と混合して 7.5 mM になるようにした。調整した溶液を NGM プレートに塗布した。同調処理で得られた幼虫をこのプレートで培養した。

<香り物質投与>

香り物質として、Linalool(和光純薬、東京、日本)、Benzyl Acetate、Phytol、(1R)-(+)- α -Pinene、(1S)-(-)- α -Pinene (東京化成工業、東京、日本) を DMSO で 1%に希釈して使用した。線虫を 72 時間培養したプレートの裏蓋にろ紙を貼り、ろ紙に香り物質を塗布して、24 時間培養した。

<コルチゾール定量>

コルチゾールを定量するにあたり、Cortisol ELISA kit(Cayman Chemical, Michigan, USA)を使用した。香り物質を与えてから

24 時間後に線虫を破碎し、遠心分離にかけた後、その上清をサンプルとして使用した。各サンプルを 96well プレートに加え、そこに Cortisol AChE Tracert と Cortisol monoclonal antibody を加え、 4°C で一晩反応させた。Well 中の液を除去し、洗浄後、Ellman's Reagent を加え、2 時間振とう後、412 nm で吸光度を測定した。

【結果】

現在実施中のため、結果及び考察は発表会にて口頭で発表する。

【考察と今後の展望】

代謝変化させる香り物質をピックアップして、その物質を中心に線虫のストレス耐性や脂肪蓄積、寿命に対する効果などの生理的作用を研究する予定である。また、コルチゾールからコルチコステロン、コルチゾンからコルチコステロンへの代謝に対する香り物質の効果についても解析を行う。先行研究でリナロールがインスリンシグナル経路に作用していることがわかっていることから、香り物質にさらしたときの線虫の遺伝子発現を調べ、香り物質がインスリンシグナル経路を含め、どの経路に作用しているか明らかにする予定である。