

スギ由来ジテルペノイド成分の抗老化作用～線虫を用いたバイオアッセイ系による評価～

(岩手連大農)○山地由恵、佐藤真美、小藤田久義、(秋県大木高研)辻村舞子、
(岩手大工)若林篤光、(バイオクーン研)シラパング・ピヤマース、鈴木幸一

【緒言】

抗酸化活性を有する化合物は、生体内で発生する活性酸素等のラジカル種が引き起こす細胞障害に対する生体防御物質として作用すると考えられており、スギ由来の抗酸化ジテルペン類にも同様の効果が期待される。抗酸化剤が生体に与える総合的な影響は抗老化作用という観点から評価することができるが、そのためには試料の直接投与による生物試験の実施が必要となる。このような試験系に用いられる生物の一種に線虫(*Caenorhabditis elegans*)があり、基礎研究に適したモデル生物として広く利用されている。本研究では、線虫*C. elegans*を用いて寿命延長効果ならびに抗認知症効果に関する生物試験を行い、フェルギノールをはじめとするスギジテルペンの抗老化作用について検討した。

【試料】

スギオガ粉に10倍量の*n*-ヘキサンを加えて20時間浸漬後、濾過して抽出物を得た。フェルギノールは既報¹⁾に従って調製したものを各濃度に調製した。エトスクシミドおよびギンコライドAは、市販のものを各濃度に調製した。

【線虫 *C. elegans*】

- ・寿命が約1ヶ月 → 短期間での評価が可能
- ・凍結保存可能 → 供試個体を随時に復元できる
- ・全ゲノムが解読済 → 遺伝子操作が容易
- ・ヒト病気遺伝子65%保持 → 病態類似性が高い



【1 生物試験による抗加齢効果の検討】

抗加齢活性の評価にあたっては、*C. elegans* N2(野生株)を用いたバイオアッセイによる寿命延長試験を行った。試料はDMSO溶液として、線虫のエサとなる大腸菌(OP50株)とともに培地上に塗布することにより投与した。線虫(4プレート:各12匹)は20°Cのインキュベータ内で飼育し、生存数の経時的な変化を追跡した。生存数の変化を溶媒のみを与えたコントロールと比較し、統計有意差を検定した。予備的実験としてテルペン類を含むスギ材ヘキサン抽出物20μgの寿命延長効果試験も行ったところ明白な効果が見られた。次いでポジティブコントロールであるエトスクシミド2.0μgおよびフェルギノール5μgを各プレートに添加して寿命延長活性試験を行ったところ、いずれも有意な効果が認められた(図1、図2)。

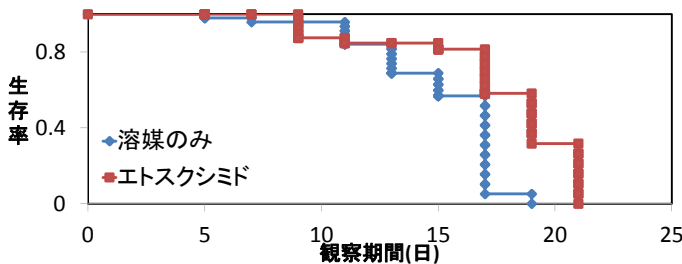


図1 . エトスクシミド投与による線虫の生存率変化

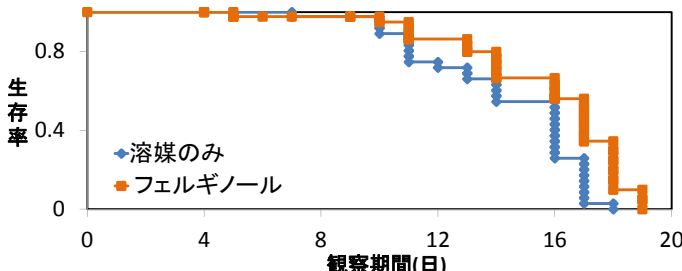
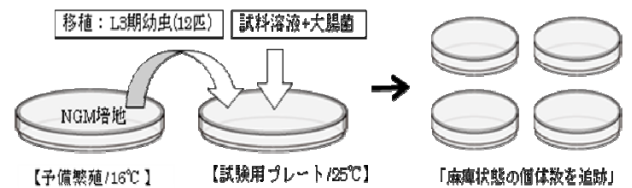


図2 . フェルギノール投与による線虫の生存率変化

【2 生物試験による抗認知症効果の検討】

アミロイドベータペプチド(Aβ)遺伝子導入線虫*C. elegans* CL4176系統を用いて抗アルツハイマー病活性を調べた。16°Cのインキュベータ内でL3幼虫まで飼育した線虫を2枚のプレートに50匹ずつ移したのち、試料を上記と同様に投与するとともに飼育温度を25°Cに昇温させ、継時的に麻痺状態になった個体数を追跡し、コントロールと比較することにより統計的有意差を検定した。



C. elegans CL4176系統には温度依存性のAβ合成遺伝子が組み込まれており、25°Cでは筋組織特異的にAβが発現し麻痺状態となる。このとき特定の抗酸化物質を投与することにより、Aβ誘発性の酸化ストレスが緩和され、麻痺の発生頻度が減少することが知られている²⁾。

本研究ではフェルギノールおよびギンコライドA(イチヨウの抽出成分=ポジティブコントロール)を同様に各5μg添加して抗認知症試験を行ったところ、いずれも有意な効果が認められた(図3)。

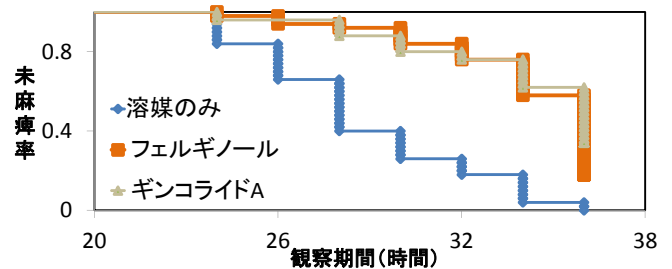


図3. フェルギノール投与による線虫の麻痺率変化

【まとめ】

テルペンを主成分とするスギ材ヘキサン抽出物には線虫の寿命を延長させる効果があること、なかでもフェルギノールは顕著な抗加齢活性を有することが示された。あわせてフェルギノールにはギンコライドAと同等の抗Aβ作用があることも示された。フェルギノールはスギに含まれる代表的な抗酸化型ジテルペンであることから、線虫の体内でその作用を発現することにより、抗加齢および抗認知症効果をもたらしたと考えられる。