

## 線虫 *C. elegans* の寿命延長効果を指標とした機能性食品の評価

神奈川県産業技術センター 化学技術部 ○瀬戸山 央

### 1. はじめに

高齢化が進む現在、生理的な老化自体を防ぐことはできないが、心身ともに健康なまま老いることが求められている。一方、抗酸化成分を含む食品を摂取することで、老化に伴って起きる体内の活性酸素除去能力の低下を抑制することができ、老化による生活習慣病などの予防が期待できる。

食品の機能性評価は主に *in vitro* で行われるが、生体内での効果の実証には *in vivo* の生物試験が必要となる。*in vivo* 試験において、マウスなどの代わりとなる生物に線虫の1種、*Caenorhabditis elegans* がある。線虫 *C. elegans* は寿命が3~4週間と短く、全ゲノムが解明されたモデル生物として用いられている。また、老化と酸化ストレスの関係について多くの研究が行われており、寿命に影響を与える物質の探索にも用いられている。

本研究では、機能性成分を含む食品素材として健康茶の杜仲茶およびルイボスティーに着目し、*in vitro* で抗酸化活性評価を行い、*in vivo* で線虫の寿命を指標とした抗老化作用の評価を行った。

### 2. 実験方法

#### 2. 1 試料

試料として、非発酵のグリーンルイボス抽出物（タマ生化学提供）および神奈川県内で栽培された杜仲樹木から夏に採取した葉を熱水抽出後凍結乾燥した杜仲抽出物を用いた。

#### 2. 2 成分分析

液体クロマトグラフ質量分析装置 Xevo G2-TOF（日本ウォーターズ株式会社）を使用して行った。グリーンルイボスの分析条件を表1に、杜仲の分析条件を表2に示す。

#### 2. 3 *in vitro* 抗酸化活性

*in vitro* 抗酸化活性としてDPPHラジカル消去活性を測定し、DPPHラジカルを50%消去する試料濃度IC<sub>50</sub>を算出した。

表1 グリーンルイボス分析条件

LC条件	
カラム	ACQUITY UPLC™ HSS T3 1.8μm 2.1×100mm
カラム温度	50°C
サンプル注入量	2μL
流速	0.5mL/min
移動相	A液 0.1%ギ酸水溶液 B液 アセトニトリル
MS条件	
イオン化法	ESIポジティブ
キャピラリー電圧	3.0kV
Cone電圧	30V
スキャン範囲	m/z 100~600

表2 杜仲分析条件

LC条件	
カラム	ACQUITY UPLC™ BEH C18 1.7μm 2.1×100mm
カラム温度	40°C
サンプル注入量	2μL
流速	0.5mL/min
移動相	A液 0.1%ギ酸水溶液 B液 アセトニトリル
MS条件	
イオン化法	ESIポジティブ
キャピラリー電圧	3.0kV
Cone電圧	30V
スキャン範囲	m/z 100~800

## 2. 4 *in vivo* 抗老化作用

線虫は温度感受性の *fer-15* 変異株を用いた。成虫の線虫体内から卵を回収後、孵化させた L1 幼虫は培養フラスコを用い 26°C, 100rpm で大腸菌を餌として同調培養を行った。培養 5 日目にアンピシリンおよび各試料を加えた。その後、数日ごとに培養液の一部をとり線虫の生存数を調べ、培養 5 日目の生存率を 100%とした場合の生存曲線を描き統計処理により平均寿命および最長寿命を算出した。

## 3. 実験結果

成分分析の結果、グリーンルイボスにはアスパラチン、ルチン、オリエンチンおよびイソオリエンチンが含まれており、杜仲にはクロロゲン酸、ゲニポシド酸およびアスペルロシドが含まれていることがわかった。

DPPH ラジカル消去活性測定はグリーンルイボスおよび杜仲、またこれらに含まれていた抗酸化活性成分について測定を行った。その結果を表 3 に示す。グリーンルイボスおよび杜仲ともに抗酸化活性が認められ、特にグリーンルイボスは高い抗酸化活性を示した。これはグリーンルイボスに含まれているオリエンチンやイソオリエンチンなどの抗酸化活性が高いためだと考えられる。一方、杜仲の抗酸化活性は杜仲に含まれているクロロゲン酸によるものだと考えられる。

試料	DPPHラジカル消去活性 IC <sub>50</sub> 値(μg/ml)
グリーンルイボス	335
ルチン	243
オリエンチン	43
イソオリエンチン	41
杜仲	1301
クロロゲン酸	1780

グリーンルイボスおよび杜仲を与えた際の線虫の生存曲線を図 1 および図 2 に示す。グリーンルイボスおよび杜仲ともにコントロールに対して寿命の延長が確認できた。特にグリーンルイボスを与えた線虫の寿命延長効果は顕著であった。これはグリーンルイボスの高い抗酸化活性によるものと思われる。

## 4. おわりに

線虫に抗酸化活性を有するグリーンルイボスや杜仲を与えると寿命が延長されることが確認できた。これにより、線虫の寿命延長効果を指標とした抗酸化活性を有する機能性食品素材の *in vivo* 抗老化作用評価が有望であることが明らかになり、今後さまざまな機能性食品の生体内での効果をみる方法としての利用が期待できる。

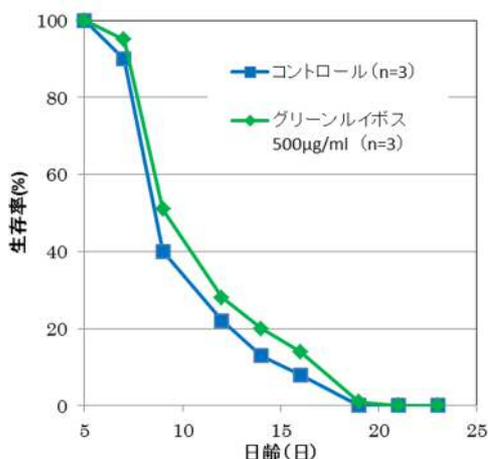


図 1 生存曲線 (グリーンルイボス)

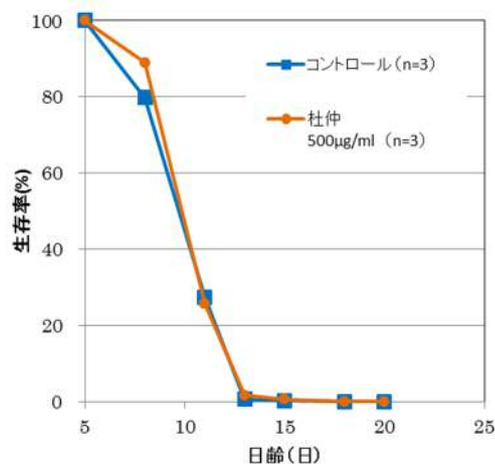


図 2 生存曲線 (杜仲)