

食品成分が健康増進にもたらすにもたらす影響とは N.K<科③>

1 はじめに

抗酸化作用とは人間の老化やがんの発症の原因となる酸化ストレスを抑える作用である。この作用を持つタンニンやポリフェノールなどの成分を含む食品がある。この作用を調べるために、ゼブラフィッシュという魚がよく実験に用いられる。ゼブラフィッシュはヒトとほぼ同じ遺伝子を持つ魚である。ヒトの遺伝子のうち、マウスにはないがゼブラフィッシュにはある遺伝子もある。

本研究では、ゼブラフィッシュを用いて食品成分が酸化ストレスを抑える効果を検証した。

2 仮説・実験方法

2.1 緑茶が持つ抗酸化作用

緑茶には、血圧や血糖の上昇を抑える効果があるタンニンという食品成分が含まれている。さらに、タンニンには、抗酸化作用があることも報告されている[1]。そこで、緑茶がゼブラフィッシュの酸化ストレスへの耐性に影響を与えるかどうかを検証した。

2.2 検証方法

小さい水槽を用意し、底が親魚が通れないほどの網目状に空いている同じ形の容器を上に乗せて水を入れ、交配用の水槽とした。そこにゼブラフィッシュの親魚をオス、メス2匹ずつ程度を用意した。ゼブラフィッシュが最も産卵に適している28～30℃に維持して交配させた。産卵したら受精卵だけが底に落ちるのでその卵を3つのシャーレに均等に分けた。約3日後に孵化するので、3日後の夕方に稚魚がいる水を薄めた緑茶に変えた(食品成分前処理)。次の日の朝に過酸化水素水に変え、その後の稚魚の生存率を調べた。緑茶は2倍、3倍、100倍希釈、3%過酸化水素水は10倍、50倍、100倍希釈のいずれかを用い、実験を行った。



図1 使用した緑茶



図2ゼブラフィッシュ

3 検証結果

3.1 緑茶濃度別比較・酸化剤別濃度比較

表1 緑茶濃度別比較

	処理前	処理後
2倍希釈	約20匹	次の日の朝 全て死亡
3倍希釈	約20匹	次の日の朝 全て死亡
100倍希釈	約50匹	全て生存

孵化した稚魚たちを100倍希釈、50倍希釈、10倍希釈した緑茶に分けて入れ、その後の生存率を測定した。100倍希釈の緑茶で生活した稚魚は全て生存していて、50倍、10倍希釈では次の日の朝に全て死亡していた(表1)。

表2 酸化剤濃度別比較

	処理前	処理後
100倍希釈	約20匹	4日後夜まで生存
50倍希釈	約50匹	次の日の朝1匹のみ生存
10倍希釈	約50匹	次の日の朝全て死亡

孵化した稚魚たちを100倍希釈、50倍希釈、10倍希釈した過酸化水素水に入れ、その後の生存率を測定した。

100倍希釈の過酸化水素水で酸化ストレスを与えた稚魚は、4日後夜まで生存していた。一方で、50倍希釈では次の日の朝に1匹のみ生存し、10倍希釈では全て死亡していた。100倍希釈の過酸化水素水は、先行研究で用いた濃度とほぼ同じであり、先行研究においては数日かけて生存率が徐々に低下していく生存曲線が報告されている[2]。したがって、再度100倍希釈の過酸化水素水を用いて、実験を行った。

再び12匹の稚魚を用いて緑茶50倍希釈の前処理および過酸化水素水100倍希釈で酸化ストレスを与えて実験を行ったが、過酸化水素水を入れた次の日には全て死亡していた。

4 考察

親のゼブラフィッシュを用意してから、繁殖、飼育に取り組んだところどちらも成功することができた。最初の実験で50倍希釈、10倍希釈した過酸化水素水に入れたとき、次の日の朝すべて死んでしまった。よって、50倍希釈以上の酸化剤ではゼブラフィッシュにとって酸化ストレスが強くて生存できないことが分かった。また、先行研究によると100倍希釈した過酸化水素水に入れると、数日かけて生存率が徐々に低下していく生存曲線を書けるはずだったが、今回のデータでは生存曲線は書けなかった。これは、1回目の実験では過酸化水素水が上手く混ざっていなかった、または用いた過酸化水素水が古かったために実際の濃度が100倍希釈よりも薄かったのではないか。新しい過酸化水素水を用いて行った2回目の実験で

は、100倍希釈の過酸化水素水に入れた次の日には全て死亡していた。これは、今回の実験で用いたゼブラフィッシュが、生育環境や親魚等の影響で、先行研究で用いたゼブラフィッシュよりも酸化ストレスへの耐性が弱い個体であったこと、濃度調整の不正確さなどが原因である可能性があると考えた。また、2倍、3倍希釈した緑茶で食品成分前処理をした時に全ての稚魚が死んでしまったので、稚魚にとって3倍希釈以上の緑茶だと濃度が高すぎて生存できないことが分かった。一方で、100倍希釈の緑茶では、全て生存できたので、緑茶の抗酸化作用を調べるには、100倍希釈程度の緑茶を用いるのがよいと考えられる。

5 今後の課題

今回の実験では過酸化水素水の濃度の調整に時間を時間をかけすぎてしまって適切な濃度を測ることができなかった。そのため、今後は生存曲線を書ける適切な過酸化水素の濃度条件を設定して生存曲線を書きたい。そのうえで、緑茶がゼブラフィッシュの酸化ストレスへの耐性に影響を与えるかを調べていきたい。

謝辞

本研究を進めるにあたって、様々なアドバイス、発表や論文の作成に携わって頂いた探求指導員の岡崎実那子さん、筑波大学准教授の小林麻己人先生、またこの実験に協力してくださった皆様に心から御礼申し上げます。

参考文献

- [1]科学研究費助成事業 研究成果報告書
<https://kaken.nii.ac.jp/en/file/KAKENHI-PROJECT-15K18727/15K18727seika.pdf>
 [2]筑波大学医学医療系 分子発生生物学研究室
<https://www.md.tsukuba.ac.jp/MDBiology/mdbiol.index.html>