

線虫における青色光の活性酸素生成と水素の抗酸化作用

土浦日本大学中等教育学校 6年 内山 実紅

背景 青色光が体に悪影響を及ぼすことに興味を持った私は、4年間、光質が線虫(C.elegans)の体に及ぼす影響を調べてきた。

【これまでの研究で分かったこと】

- ①赤色光を除く光質(青・黄・紫外線)は、線虫の生存数を減少させることが分かった(図2)。
- ②青色光に線虫は、忌避行動を示し、個体数も減少する。
- ③生育段階によって光質から受ける影響が異なり、幼虫期は青色光の影響を強く受けやすい。

本研究では、青色光が線虫の寿命に及ぼす影響を調べ、さらに、青色光が線虫の健康に及ぼす原因を追求する。

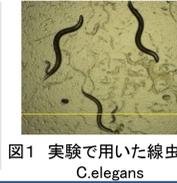


図1 実験で用いた線虫 C.elegans

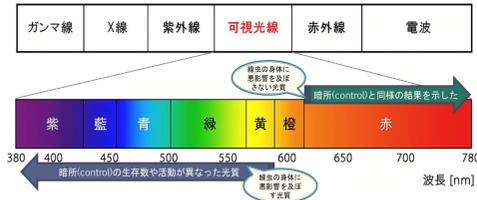


図2 線虫が光質に対する反応

実験1 青色光は線虫の寿命を短くする

目的 昨年度までの研究で、青色光に対して線虫は忌避行動を示し、生存数も赤色光や暗所(control)より少なくなったことから、光質が線虫の寿命に及ぼす影響を調べる。

方法 餌入りの寒天培地に、同調処理した線虫を20匹ずつ植え付けたシャーレを3つ用意し、赤色群(赤色LED670nm)、青色群(青色LED450nm)、暗所(control)とする。毎日個体数を数え、定期的に植え替える。※この実験を計5回繰り返す。

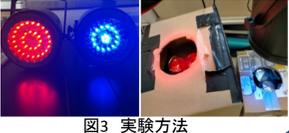


図3 実験方法

仮説 ●赤色光が健康に悪影響を及ぼさないのなら、赤色光で寿命は短くならず、暗所(control)と同じ寿命曲線を示す。
●青色光が線虫の健康に悪影響を及ぼすのなら、暗所(control)に比べて生存数が減少し、寿命も短くなる。

結果と考察 計5回実験を行ったが、夏休み途中で理科室のエアコンが切られ室内の温度が上がって、線虫が死亡し、データとして使えなくなったため、3回分の結果を光質別で表にまとめた(表1~3)

《表1 暗所》

生存日数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
1回目	20	20	20	20	20	20	19	18	18	17	11	11	11	8	6	3	3	3	2	1	1	0	0	0	0	0
2回目	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	14	10	10	9	6	6	5	5	4	3	2	2	0	0	0
3回目	20	20	20	20	19	19	18	18	18	18	16	15	14	10	4	3	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0
平均	20	20	20	20	19.7	19.3	18.7	18.3	18.3	16.3	15.7	13.3	10.7	8.7	5.3	4.3	3.7	2.7	2	2	1.3	1	0.67	0.67	0	0

《表2 赤色光》

生存日数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
1回目	20	20	20	20	15	12	12	10	8	3	3	2	2	2	2	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
2回目	20	20	20	20	20	20	20	20	19	19	19	18	17	15	12	9	7	7	6	5	3	2	1	0	0	0
3回目	20	20	20	15	12	12	11	10	10	8	7	6	5	3	3	3	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0
平均	20	20	20	18.3	15.7	14.7	14.3	14	13.3	11.7	9.7	9.3	8.3	7.3	6.7	5.3	4.3	3.3	3.3	3	1.7	1	0.7	0.3	0	0

《表3 青色光》

生存日数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
1回目	20	20	20	20	18	17	15	12	11	10	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2回目	20	15	6	6	5	4	4	3	3	2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3回目	20	13	12	11	11	8	8	7	7	5	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
平均	20	16.2	12.7	12.3	11.3	9.7	9	7.7	7	6.7	3.3	2	0.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

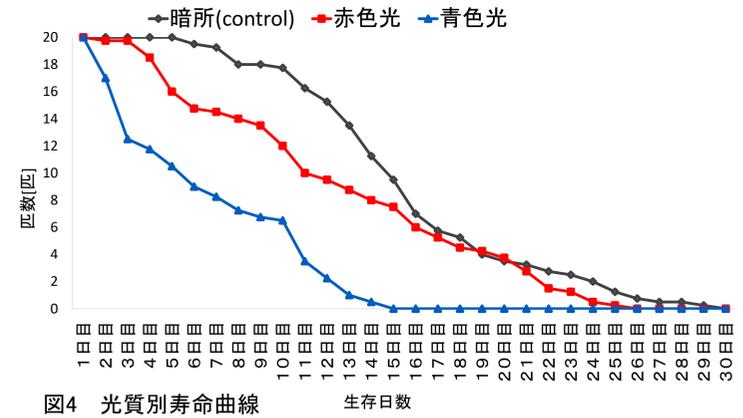


図4 光質別寿命曲線



図5 線虫の死体(暗所(control))
各群間の老廃物に着目し確認したが、違いは見られなかった。

また、その平均値から寿命曲線を作成した(図4)。
《各群の最長寿命個体の死亡確認日》
青色群(15日) ≪ 暗所群(control)(26日) = 赤色群(26日)
《各群60匹分の線虫の平均寿命》
青色群(6.8日) ≪ 暗所群(control)(15日) ≧ 赤色群(16日)

青色光は線虫の寿命を短くするが、赤色光と暗所群(control)で寿命は等しく、寿命曲線でも5%水準で有意差は見られなかった(図4)。暗所群(control)と青色群間のみ、3~15日でそれぞれ5%水準で有意差が見られた(フィッシャーの正確確率検定)。

なぜ青色光のみ線虫の寿命を短くするのか？



図5 青色光の短寿命化のメカニズム仮説

青色光は、体内で活性酸素を過剰に産生して、細胞や組織を損傷し、短寿命化に繋がると考えた(図5)。そこで、青色光が過剰に活性酸素を産生するならば、抗酸化作用のある水素を青色光照射群に投与すると、寿命が短くなるのを防ぐと考え、実験2を行う。

実験2 青色光は線虫体内で活性酸素を産生する

目的 青色光が活性酸素(ROS)を過剰に産生し、寿命を短くするなら、抗酸化作用のある水素投与で、寿命が短くなるのを防ぐと考え実験を計画した。
従来のビタミンCやE等の抗酸化物質(SOD)は、すべての活性酸素を消去するため、生体に必要なROSも取り除いてしまう。しかし、水素は過剰なROSのみを除去するため(参考文献6)、水素をSODとして用いた。

方法 餌入りの寒天培地に、同調処理した線虫を20匹ずつ植え付けたシャーレを6個用意し、光質(暗所(control)vs青色光vs赤色光)と水素の有無で6群に分け(表4)、毎日個体数を数え、定期的に植え替える。水素有のシャーレには、粉末状の水素発生剤を寒天上に散布する。計4回行う。

表4 実験方法

	暗所	青色光	赤色光
水素無	(i)	(iii)	(v)
水素有	(ii)	(iv)	(vi)



図6 実験で用いた水素

仮説 ●青色光は、活性酸素を過剰に産生し、その活性酸素が原因で寿命が短くなる。⇒水素を投与すると、水素無に比べ寿命が延びる。
●赤色光・暗所は、線虫体内で過剰な活性酸素を産生せず、寿命に影響を及ぼさない。⇒水素有無で差が見られない。

▶ 青色群 ≪ 青色群+H2 ≪ 暗所群(control) ≧ 暗所群+H2 ≧ 赤色群 ≧ 赤色群+H2

結果・考察

最長寿命個体の死亡確認日: 青(15日) ≪ 青H2(23日) ≧ 赤H2(24日) < 暗所(26日) = 赤(26日) = 暗所H2(26日)

平均寿命: 青(6.8日) ≪ 青H2(12日) ≧ 赤H2(13日) ≧ 暗H2(14日) ≧ 暗所(15日) ≧ 赤色(16日)

青色光では、水素有・無で有意差がみられたが(表5,図7)、暗所や赤色光では「暗所vs暗所+H2」「赤色光vs赤色光+H2」に有意差が見られず(表5,図7)、水素を投与しても効果が得られなかった。このことから、青色光は過剰の活性酸素を産生し、老化が促進され、寿命を短くするが、赤色光や暗所では過剰な活性酸素が生じないため、SODとして水素は働かず、水素有・無で寿命の違いは見られなかった。また、「青色光+H2 vs 赤色光 vs 暗所」では有意差が見られない(図7)ことから、水素は青色光で発生した過剰なROSのみを除去し、暗所、赤色光と寿命に差がないと考えられる。

口から水素発生剤を摂取している様子が確認できた。さらに、水素発生剤に体表面を密着させ、体表面から吸収している様に見えた。

図8 水素発生剤取り入れられていると思われる様子

表5 水素有・無の平均寿命比較

平均寿命	暗所	青色光	赤色光
水素無	(i)15日	(iii)7日	(v)16日
水素有	(ii)14日	(iv)12日	(vi)13日

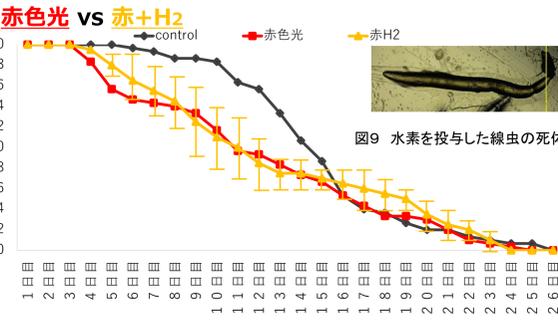


図7 各群の寿命曲線(①~⑤)

まとめ

実験1
青色光は線虫にマイナスの影響を与え、寿命を短くする。

実験2
抗酸化作用のある水素の投与で、青色光により産生されたROSが除去され、暗所や赤色光と同様の寿命となった。このことから、青色光は過剰なROSを産生し、線虫の寿命を短くすると考えた。

展望

- 活性酸素産生量や抗酸化の測定を行いたかったが、高校では高価な測定機材がなかったため、今後実際に測定し、有効性を確認したい。
- 今回、投与する水素の量を測定しなかったが、水素の量を増やしたり減らしたりすると、結果は変わるのか調べたい。
- 遺伝についても興味がある。同じ光質を照射し続けると生存数が増えることから、親世代に照射した光質を子世代にも照射し、寿命が延びる傾向を確認した(図11)。しかし、データが少なかつたため、再度実験を行い、光質に対する耐性が親から子へ受け継がれるメカニズムも調べていきたい。

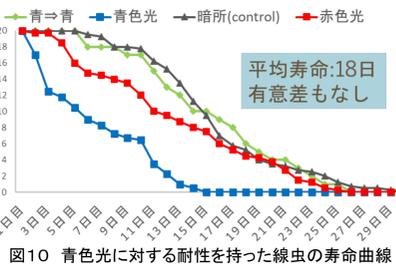


図10 青色光に対する耐性を持った線虫の寿命曲線

参考文献

1. 検定に使ったHP(フィッシャーの正確確率検定)
<https://www.kisnet.or.jp/nappa/software/star/freq/2x2.htm>
2. 原田真市:線虫をモデル生物とした光刺激と寿命・老化制御の分子基盤の解明, 科研費26430068
3. 石井直明:老化研究『線虫からヒトへ』, 日本基礎老化学会 巻39号, 2014
4. 石井直明:線虫研究からはじまった老化の分子メカニズムの解明と人へ応用, 生物機能開発研究所紀要11:6-22, 2011
5. 石井直明:人はなぜ老いるのか-個体老化・寿命のメカニズム, 日消誌103:143-, 2006
6. 太田成男:これまでわかった水素水最新Q&A, 2021, 小学館, p.85-p.88, p.133 ※2
7. 瀬戸山央:パラコート処理が線虫の体内活性酸素および抗酸化酵素に与える影響, 科学・技術研究41:44, 2021
8. 綾木雅彦:住宅証明中のブルーライトが体内時計と睡眠覚醒に与える影響, 住総研研究論文集No.42, 2015

謝辞

土浦日本大学中等教育学校 宇佐神 潔先生には、4年間本研究の取りまとめにあたり様々なアドバイスをいただきました。ありがとうございました。