

野生種トマトの栽培と アンチエイジング物質の抽出に関する基礎的研究

瀧川 義浩¹、河村 洋樹²、角谷 晃司³、
野々村 照雄²、松田 克礼²、豊田 秀吉²

要 旨

トマトは、栽培種トマトと野生種トマトに大きく分類されている。栽培種トマトは我が国の主要作物であり、その用途は生鮮や加工品など多岐にわたる。また、食品機能性に富み、これまでに、抗酸化作用、抗炎症作用、抗ガン作用、抗アレルギー作用など、様々な機能が認められている。一方、野生種トマトに関しては、既に著者らのグループにおいて、昆虫に対する忌避作用や抗菌作用などの効果を明らかにしており、さらに多くの機能性物質の存在が示唆されている。そこで本研究では、各種野生種トマトの栽培試験により優良形質のトマトを選抜し、それらの機能性成分の探索、ならびにアンチエイジング素材の開発を目的とした、生物寿命に及ぼす影響についての検討を行った。

緒 言

トマトは長い年月をかけ、8000種類以上の品種に改良された栽培種トマトと、南米アンデス山脈の過酷な環境に自生しており、栽培種トマトとは異なる形質を発現している野生種トマトに大きく分類されている。栽培種トマトは野菜類の中で最も生産量の多い我が国の主要作物であり、その用途は生鮮や加工品など多岐にわたる。また、食品機能性に富み、これまでに、抗酸化作用^{1,2)}、抗炎症作用^{3,4)}、抗ガン作用^{5,6)}、抗アレルギー作用⁷⁾など、さまざまな機能が認められている。一方、野生種トマト *Lycopersicon pennellii* は、葉の表面にトリコームと呼ばれる毛状の突起物を有し、トマトの重要病害の一つであるうどんこ病菌に対して抗菌作用を示すことや⁸⁾、昆虫に対する忌避効果を有すること⁹⁾などが明らかになっており、さらに多くの機能性物質の存在が示唆されている。筆者らはこの野生種トマトに注目し、成分の機能性や、培養細胞および生物への影響について検討している。本研究では、各種野生種トマトの栽培試験により優良形質のトマトを選抜し、それらの機能性成分の探索、ならびにアンチエイジング素材の開発を目的とした、生物の寿命に及ぼす影響についての検討を行うこととした。はじめに、本来南米の過酷な条件下で自生する野生種トマト品種の中で、筆者らの実験圃場においても果実を生産し、抽出に適する優良形質のトマトを選抜することとした。次に、収穫された野生種トマトの果実および葉の成分抽出を行い、その成分中の抗酸化物質およびポリフェノール物質の検出を試みることにした。そして、それらの成分が生物の寿命に及ぼす影響について、ショウジョウバエを用いて検討することとした。

1. 近畿大学先端技術総合研究所 植物センター 〒644-0025 和歌山県御坊市塩屋町北塩屋 768-8

2. 近畿大学農学部 農業生産科学科 〒631-8505 奈良県奈良市中町 3327-204

3. 近畿大学薬学総合研究所 〒577-8502 大阪府東大阪市小若江 3-4-1

材料と方法

1. 野生種トマトの栽培

野生種トマトは、栽培種トマト *L. esculentum* との交配の難易により 2 つのグループに分類されており、交配が比較的容易なグループは Esculentum-complex、交配できないグループは Peruvianum-complex と呼ばれている (図 1)。野生種トマトには多くの種が存在し、それぞれの種はさらに細かい系統に分かれている。筆者らは *L. hirsutum* 35 系統、*L. pimpinellifolium* 19 系統、*L. pennellii* 16 系統、*L. peruvianum* 12 系統、*L. cheesmanii* 4 系統、*L. parviflorum* 3 系統、*L. chilense* 1 系統、*L. esculentum* var. *cerasiforme* 13 系統、*L. esculentum* var. *pyriforme* 2 系統の、計 105 系統の野生種トマトを保管している (表 1)。

今回、その中の 41 系統の野生種トマトについて栽培試験を行った。トマトの属名は *Lycopersicon* であるが、近年、ナス科の属名である *Solanum* をトマトの属名に使用する流れもあるが、本論文では *Lycopersicon* 属として記載した。野生種トマトの栽培は、はじめに、種子をシャーレ内で発芽させ、発芽後は近畿大学薬学総合研究所内の圃場で約 1 カ月栽培を行った。その後、近畿大学植物センター (和歌山県御坊市) の圃場に移し、栽培を行った。

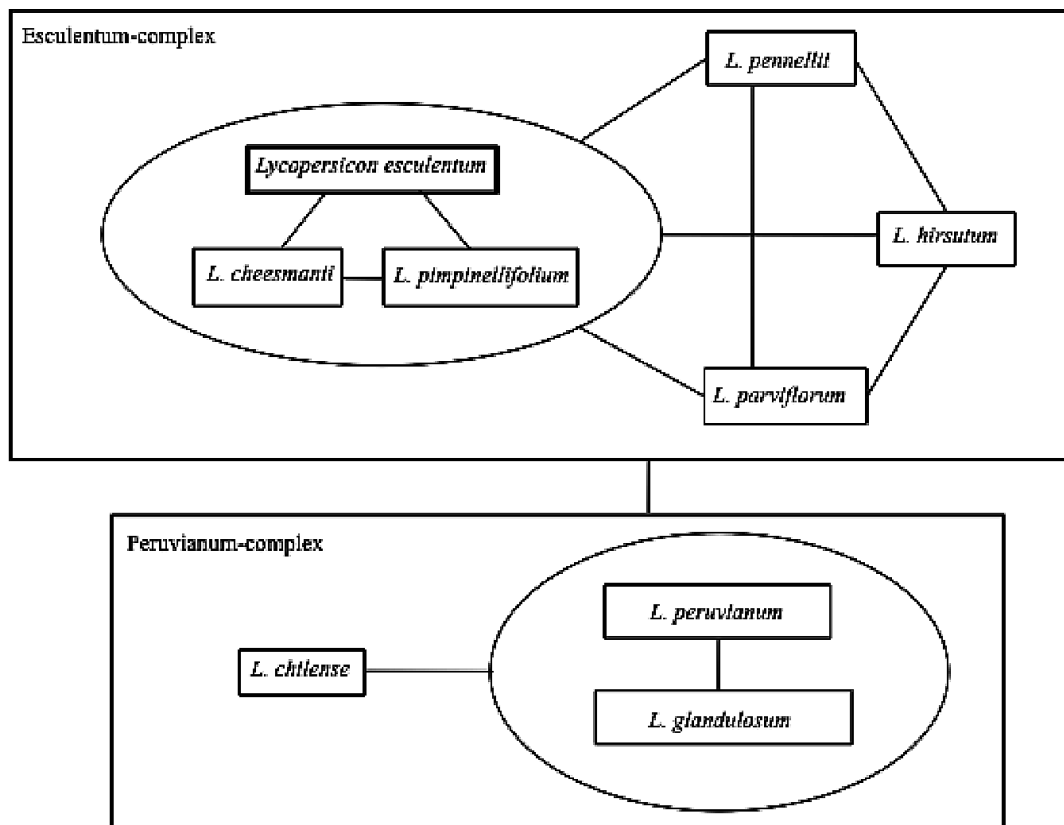


図 1. 栽培種および野生種トマトの交配図¹⁹⁾

表 1. 研究室に保管されているトマト系統と提供元

<i>Lycopersicon</i> spp. and accessions	Sources of seeds	<i>Lycopersicon</i> spp. and accessions	Sources of seeds
<i>L. hirsutum</i>		<i>L. peruvianum</i>	
LA0094 ^{b)}	TGRC	LA0453 ^{b)}	TGRC
LA1347	TGRC	LA4393 ^{b)}	TGRC
LA1775 ^{b)}	TGRC	LA1753 ^{b)}	TGRC
PI126445	USDA	LA1749 ^{b)}	TGRC
TK2386	KAGOME	LA2172	TGRC
LA1298 ^{b)}	TGRC	LA1750 ^{b)}	TGRC
LA1928	TGRC	LA1751 ^{b)}	TGRC
LA1363	TGRC	TK5418	KAGOME
CGN15790 ^{b)}	CGN	TK6908	KAGOME
LA1731	TGRC	TK6909	KAGOME
LA1753 ^{b)}	TGRC	LA1755	TGRC
LA1777	TGRC	LA4247	TGRC
PI129157	USDA	<i>L. pimpinellifolium</i>	
PI126449	USDA	TK7163 ^{b)}	KAGOME
LA1223	TGRC	TK7536 ^{b)}	KAGOME
TK2385	KAGOME	LA0121 ^{b)}	TGRC
TK3731	KAGOME	LA4456 ^{b)}	TGRC
LA1391 ^{b)}	TGRC	PI344102	USDA
TK2384 ^{b)}	KAGOME	LA4452	TGRC
TK4489 ^{b)}	KAGOME	TK7044 ^{b)}	KAGOME
TK4849 ^{b)}	KAGOME	LA1478 ^{b)}	TGRC
PI127827	USDA	LA4454 ^{b)}	TGRC
LA1746 ^{b)}	TGRC	LA4455 ^{b)}	TGRC
PI134418	USDA	LA1301	TGRC
LA1033 ^{b)}	TGRC	LA1576	TGRC
LA1918	TGRC	LA1236	TGRC
LA3683	TGRC	LA1660	TGRC
LA1352 ^{b)}	TGRC	LA0753	TGRC
LA4137 ^{b)}	TGRC	LA1416	TGRC
LA1255	TGRC	LA2381 ^{b)}	TGRC
LA4490 ^{b)}	KAGOME	LA3798	TGRC
LA1362 ^{b)}	TGRC	LA3859	TGRC
LA2115	TGRC	<i>L. esculentum</i> var. <i>cerasiforme</i>	
LA3684	TGRC	LA1239 ^{b)}	TGRC
LA0386	TGRC	LA1230 ^{b)}	TGRC
<i>L. parviflorum</i>		TK3742 ^{b)}	KAGOME
LA1321	TGRC	TK3743	KAGOME
LA1322	TGRC	TK3744	KAGOME
LA1716 ^{b)}	TGRC	LA1289	TGRC
<i>L. pennellii</i>		LA1338 ^{b)}	TGRC
TK4560	KAGOME	TK3739	KAGOME
LA2560	TGRC	TK3740 ^{b)}	KAGOME
TK4558	KAGOME	TK3741	KAGOME
TK5796	KAGOME	LA1334	TGRC
LA1272	TGRC	LA0377	TGRC
LA0716	TGRC	TK3745	KAGOME
LA1297	TGRC	<i>L. cheesmanii</i>	
LA2580	TGRC	LA1035	TGRC
LA1942	TGRC	LA0422	TGRC
LA1656	TGRC	LA0480	TGRC
LA1376 ^{b)}	TGRC	LA0438	TGRC
LA1273	TGRC	<i>L. chilense</i>	
LA1734 ^{b)}	TGRC	TK2206 ^{b)}	KAGOME
LA1733 ^{b)}	TGRC	<i>L. esculentum</i> var. <i>pyriforme</i>	
LA1724	TGRC	cv. Red Pear	TAS
LA1367	TGRC	cv. Yellow Pear	TAS

a) TGRC, Tomato Genetics Center, University of California, Davis ; USDA, United States Department of Agriculture ; CGN, The Center for Genetic Resources, the Netherlands DLO Foundation ; KAGOME, The Seed Resource of Kagome Institute ; TAS, Takii Seeds.

b) Accessions used in this study.

2. 栽培種および野生種トマトの成分抽出

本研究では、図2、3に示す方法に従い、栽培種トマト (*L. esculentum*) 桃太郎品種、ならびに野生種トマト (*L. pimpinelliflorum*) LA1478 系統の果実および葉の成分抽出を行った。まず、ホモジナイザー (Oster社製) を用いて、果実および葉の破碎を行った。なお、葉組織は液体窒素で凍結したものを破碎に用いた。次に、生重に対し50倍量となるよう100%メタノール (MeOH) を加えた後、超音波洗浄機で20分間超音波振動を加え、抽出を行った。その後、吸引濾過により不純物を除去し、抽出液を得た。吸引濾過によって得られた残渣に、生重の25倍量の100% MeOH を加え、同様に超音波振動、吸引濾過を行い、抽出液を回収した。得られた抽出液を、ロータリーエバポレーターを用いて乾固させたものを抽出試料とした。葉の MeOH 抽出液については、Diaion HP-20 (三菱化学社製) を用いたカラムクロマトグラフィーを行った後、溶媒分配を行った。次に、抽出試料を20mlの100% MeOH に溶解した後、180mlの超純水を加え、これを H₂O/MeOH 層とした。H₂O/MeOH 層を攪拌した後、100mlのヘキサン (Hexane) と共に分液ロートに加え、5分間振盪を行った。その後5分間静置し、Hexane 層と H₂O/MeOH 層の分離を行った後、H₂O/MeOH 層を回収し、新たに100mlのHexaneを加え、再び5分間の振盪を行った。得られたHexane層をHexane抽出画分とした。その後、酢酸エチル (EtOAC)、ブタノール (BuOH) の順に H₂O/MeOH 層に加え、Hexaneの際と同様に抽出を行い、それぞれ EtOAC 抽出画分、BuOH 抽出画分を得た。残った H₂O/MeOH 層は H₂O/MeOH 抽出画分とした。Hexane、EtOAC、BuOH の各抽出画分は、ロータリーエバポレーターを用いて乾固し、得られた乾固物量を測定した。H₂O/MeOH 抽出画分は MeOH を除去した後に凍結乾燥を行い、乾固物を得た。最終的に各抽出画分は MeOH で 10mg/ml の濃度に溶解し、Hexane 抽出画分を Sample1、EtOAC 抽出画分を Sample2、BuOH 抽出画分を Sample3、H₂O/MeOH 抽出画分を Sample4 とした。

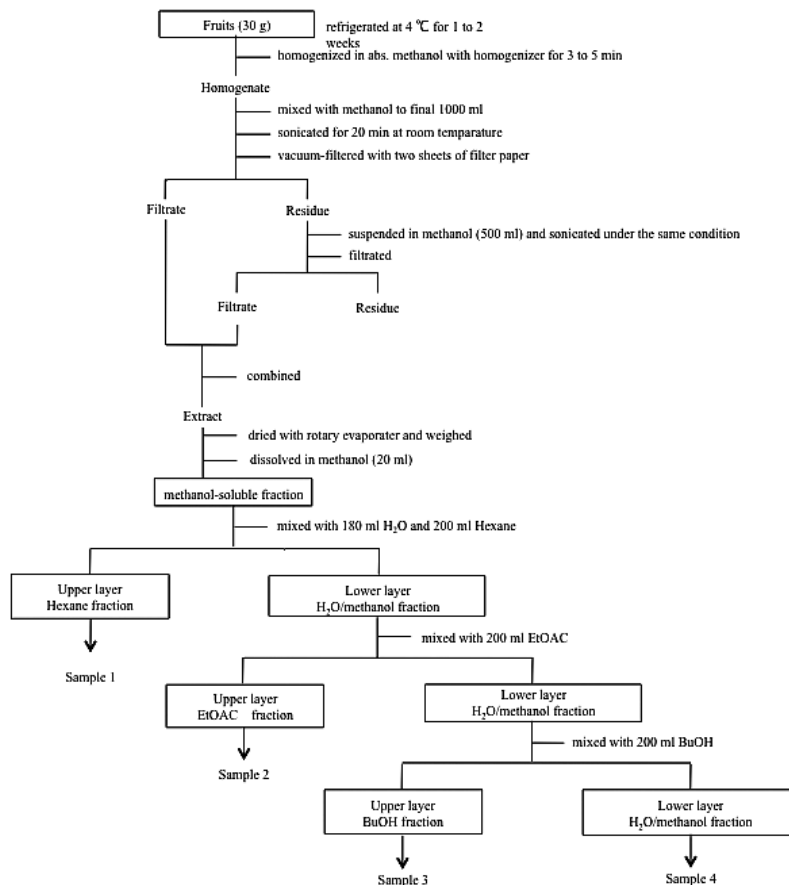


図2. トマト果実の成分抽出方法

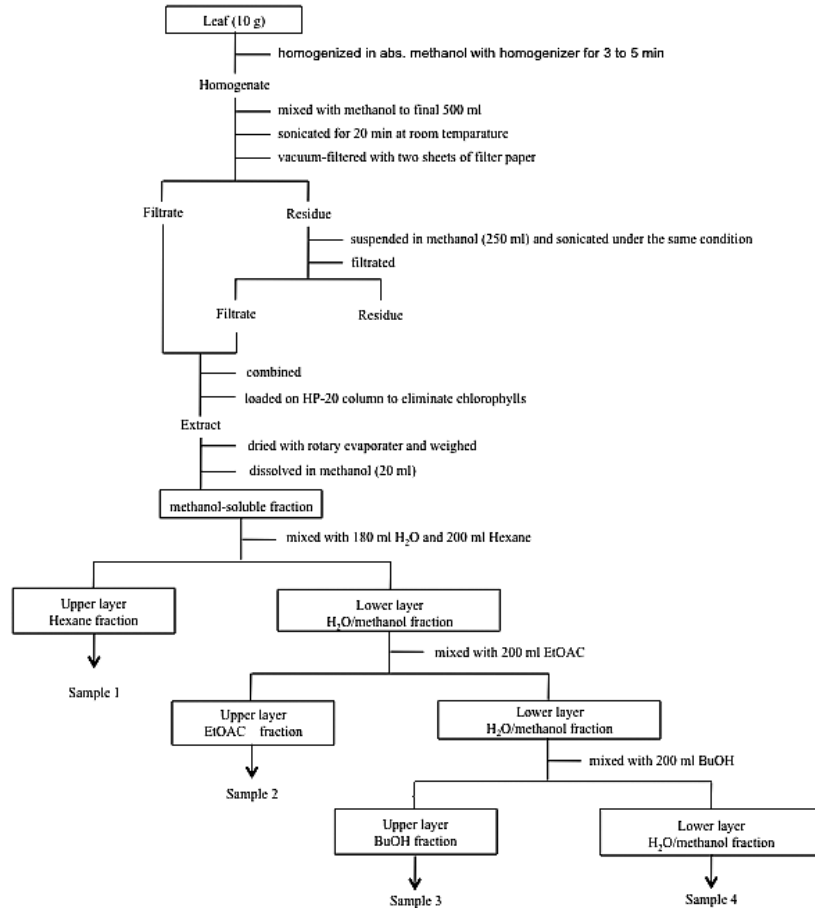


図 3. トマト葉の成分抽出方法

3. 抗酸化物質およびポリフェノール物質の検出

次に、各抽出画分の抗酸化物質およびポリフェノール物質について検出を試みた。抗酸化物質の検出には、DPPH (1, 1-Diphenil-2-picrylhydrazyl) ラジカル消去法を用いた。MeOH で 300 μ M に調製した DPPH 溶液 (200 μ l) に、10mg/ml の抽出サンプル (20 μ l) を加え検出した。ポリフェノール物質については、TLC (Thin Layer Chromatography) を用いた検出を試みた¹⁰⁾。TLC 展開後、1% AlCl₃ 溶液を噴霧し、乾燥させた。その後プレートを加熱処理し、UV 照射を行うことでポリフェノール物質の検出を行った。なお、展開溶媒には BuOH:AcOH:H₂O = 4:1:5 を使用し、プレートには TLC Cellulose F (Merck 社製) を用いた。

4. 供試昆虫と寿命検定方法

ショウジョウバエの継代飼育

ショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) の継代飼育には、FORMULA 4-24 Instant Drosophila Medium BLUE (ブルー培地) (和光純薬社製) を用いた。まず、ブルー培地を敷いた飼育容器内にショウジョウバエの成虫を放ち、25 $^{\circ}$ C のインキュベーター内で飼育を行った。成虫はブルー培地上に産卵し、孵化した幼虫は飼育容器の側面に這い上がり蛹になることから、蛹から羽化した成虫を新たな飼育容器に移し、継代を行った。なお、2 週間毎に培地の交換を行った。

ショウジョウバエを用いた寿命検定試験

ショウジョウバエの寿命検定試験には、15% SY 培地（1L 中に 150g 乾燥酵母，150g ショ糖，15g 寒天を添加したもの）に栽培種トマト（*L. esculentum*）桃太郎品種、ならびに野生種トマト（*L. pimpinellifolium*）LA1478 の果実および葉の各抽出サンプルを最終濃度 50 μ g/ml になるように調製したものをを用いて行った。すなわち、羽化直後のショウジョウバエ成虫を SY 培地を敷いた試験管に、1 試験区につきオス 15 匹、メス 15 匹の計 30 匹を入れて飼育を行った。その後、3 日毎に培地の交換を行い、死亡個体を計測することで寿命の評価を行った。

結 果

1. 野生種トマト品種の栽培試験および成分抽出ならびに機能性成分の検出

野生種トマトの果実生産性

筆者らが保管している野生種トマト 105 系統のうち、41 系統について栽培試験を行った。栽培を行った 41 系統中、21 系統において果実の生産が確認された（表 2）。これらの果実については、緑色、紫色のものに分類され、直径 1cm 程度の小型の果実から、5cm 程度の大型の球状のものまであった（図 4）。その中で 1 株あたりの果実生産量の最も多い、*L. pimpinellifolium* LA1478 ならびに栽培種トマト（*L. esculentum*）桃太郎品種を選抜し、それらの果実および葉組織からの機能性成分の探索を試みた。

表 2. 野生種トマト系統の果実生産

<i>Lycopersicon</i> spp. and accessions	Fruit production
<i>L. hirsutum</i>	
LA1391	yes
LA1746	yes
LA1352	no
LA1362	no
CGN15790	no
LA3683	no
TK4489	yes
TK2384	yes
TK4490	yes
LA1033	no
LA1775	yes
LA4137	no
LA0094	no
LA1298	no
LA1753	no
<i>L. peruvianum</i>	
LA1755	yes
LA1750	yes
LA4393	yes
LA1749	no
LA1753	no
LA0453	no
LA1751	no
<i>L. pimpinellifolium</i>	
LA0121	yes
LA4455	yes
TK2381	yes
LA7536	yes
TK7163	no
TK7044	no
LA1478	yes
LA4454	no
LA4456	yes
<i>L. pennellii</i>	
LA1376	no
LA1733	no
LA1734	no
<i>L. parviflorum</i>	
LA1716	no
<i>L. esculentum</i> var. <i>cerasiforme</i>	
TK3740	yes
LA1239	yes
TK3742	yes
LA1289	yes
LA1230	yes
<i>L. chilense</i>	
TK2206	yes



図 4. 収穫された野生種トマト果実

A : *L. chilense* TK2206 B : *L. hirsutum* LA1391

C : *L. peruvianum* LA1750 D : *L. pimpinellifolium* LA1478

栽培種トマトおよび野生種トマトの成分抽出

栽培種および野生種トマトの果実および葉の成分抽出を行った後に乾固物量を測定したところ、栽培種トマト果実で 2252mg、栽培種トマト葉で 374mg、野生種トマト果実で 1356mg、野生種トマト葉で 277mg となった。また、溶媒分配後の各画分の乾固物量を測定したところ、栽培種トマト果実では、Hexane 画分で 30mg、EtOAC 画分で 52mg、BuOH 画分で 426mg、H₂O/MeOH 画分で 1223mg となった。栽培種トマト葉では、Hexane 画分で 18mg、EtOAC 画分で 115mg、BuOH 画分で 79mg、H₂O/MeOH 画分で 90mg となった。野生種トマト果実では、Hexane 画分で 23mg、EtOAC 画分で 151mg、BuOH 画分で 258mg、H₂O/MeOH 画分で 823mg となった。野生種トマト葉では、Hexane 画分で 7mg、EtOAC 画分で 51mg、BuOH 画分で 84mg、H₂O/MeOH 画分で 99mg となった。

抗酸化物質およびポリフェノール物質の検出

抗酸化物質については、栽培種および野生種トマト果実の Sample1 (Hexane 画分) および Sample2 (EtOAC 画分)、葉の Sample4 (H₂O/MeOH 画分) において検出された他、栽培種トマト葉の Sample2、野生種トマト葉の Sample3 (BuOH 画分) においても検出された (表 3)。一方、ポリフェノール物質は栽培種および野生種トマト果実の Sample2 および Sample3、葉の Sample2 および Sample3 において検出された他、栽培種トマト果実および野生種トマト葉の Sample4 においても検出された (表 3)。

表 3. 各トマト抽出サンプルの抗酸化物質およびポリフェノール物質の有無

Tomato plants	Fractions	Detection of antioxidative activity		Detection of polyphenolics	
		fruit	leaf	fruit	leaf
<i>L. esculentum</i> cv.Momotarou	Sample 1 (Hexane-soluble)	+	—	—	—
	Sample 2 (EtOAC-soluble)	+	+	+	+
	Sample 3 (BuOH-soluble)	—	—	+	+
	Sample 4 (H ₂ O/methanol-soluble)	—	+	+	—
<i>L. pimpinellifolium</i> LA1478	Sample 1 (Hexane-soluble)	+	—	—	—
	Sample 2 (EtOAC-soluble)	+	—	+	+
	Sample 3 (BuOH-soluble)	—	+	+	+
	Sample 4 (H ₂ O/methanol-soluble)	—	+	—	+

2. ショウジョウバエを用いた寿命検定試験

トマト抽出成分がショウジョウバエの寿命へ及ぼす影響

寿命検定試験は、寿命曲線中の3点を比較する方法を用いて評価した(図5)。ショウジョウバエの生存率が100%となった日数をPointA、50%となった日数をPointB および0%となった日数をPointCとした。また、PointBを平均寿命と定義した。各試験区のこれらのPointの日数を比較することで、寿命検定試験の評価を行った。また、トマト抽出成分によるショウジョウバエの寿命への影響についても調査を行った。その結果、対照区として使用した15%SY培地では、PointAで11.3日、PointBで22.7日、PointCで33日となった。一方、栽培種および野生種トマトの果実および葉の各抽出サンプルを添加した培地で飼育したショウジョウバエの寿命との比較を行ったところ、葉の抽出サンプルでは、野生種トマトのSample3(BuOH画分)のPointBで23.8日となり、有意な寿命の延長が認められた(表4)。果実の抽出サンプルでは、PointBにおいて栽培種および野生種トマトのSample1(Hexane画分)およびSample2(EtOAC画分)において有意な寿命の延長が認められた(表5)。日数はそれぞれ、栽培種トマトのSample1で24.2日、Sample2で24.2日、野生種トマトのSample1で24.7日、Sample2で24.5日となった。また、PointCについては、栽培種トマトと野生種トマトのSample2において、それぞれ36日、35.7日となり、有意な寿命の延長効果が認められた。

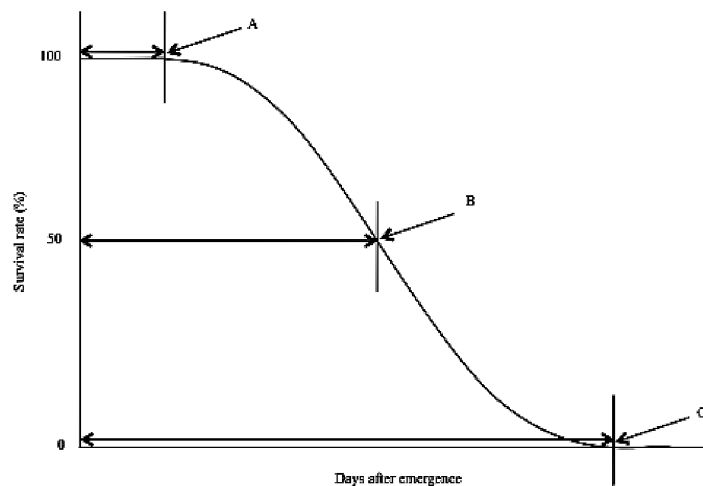


図5. 寿命検定試験の評価法

表4. 栽培種および野生種トマト葉抽出成分がショウジョウバエの寿命に及ぼす影響

Original plants for extraction	Fractions	Days required to reach								
		Point A (100% survival)			Point B (50% survival)			Point C (0% survival)		
Common tomato	Sample 1 (Hexane-soluble)	10	±	1.7 a	22.3	±	0.8 a	34	±	1.7 a
	Sample 2 (EtOAC-soluble)	9.3	±	1.5 ab	22.5	±	0.9 a	33.7	±	0.6 a
	Sample 3 (BuOH-soluble)	6.3	±	2.3 ab	22.3	±	0.3 a	33.3	±	0.6 a
	Sample 4 (H ₂ O/methanol-soluble)	7.7	±	2.4 ab	22.7	±	0.3 a	30	±	1.7 b
Wild tomato	Sample 1 (Hexane-soluble)	11	±	2.5 a	22.8	±	0.3 a	33	±	2.0 a
	Sample 2 (EtOAC-soluble)	11.7	±	2.6 a	23.7	±	0.3 ab	34.7	±	2.1 ac
	Sample 3 (BuOH-soluble)	8	±	2.7 ab	23.8	±	0.0 b	34.7	±	1.5 ac
	Sample 4 (H ₂ O/methanol-soluble)	8.7	±	2.8 ab	22.2	±	0.6 a	31.3	±	1.7 ab
—	Control	11.3	±	2.9 a	22.7	±	0.8 a	33	±	1.0 a

Data were given as means and standard deviation of 3 replications. Different letters on mean values indicate a significant difference ($p < 0.05$) according to Tukey's method.

表 5. 栽培種および野生種トマト果実抽出成分がショウジョウバエの寿命に及ぼす影響

Original plants for extraction	Fractions	Days required to reach					
		Point A (100 % survival)		Point B (50 % survival)		Point C (0 % survival)	
Common tomato	Sample 1 (Hexane-soluble)	6.7	± 2.5 b	24.2	± 0.6 b	33.7	± 0.6 a
	Sample 2 (EtOAC-soluble)	9.7	± 0.6 ab	24.2	± 0.3 b	36	± 1.7 b
	Sample 3 (BuOH-soluble)	11	± 1.7 a	22.7	± 0.3 a	33.3	± 1.2 a
	Sample 4 (H ₂ O/methanol-soluble)	8.3	± 1.5 b	22.8	± 0.3 a	30	± 3.5 ac
Wild tomato	Sample 1 (Hexane-soluble)	12.3	± 1.2 a	24.7	± 0.3 b	35.3	± 1.5 ab
	Sample 2 (EtOAC-soluble)	11.7	± 1.5 a	24.5	± 0.5 b	35.7	± 1.5 b
	Sample 3 (BuOH-soluble)	8	± 1.7 b	23.5	± 0.0 ab	34.7	± 1.5 ab
	Sample 4 (H ₂ O/methanol-soluble)	8.7	± 3.5 ab	22.2	± 0.6 a	31.3	± 1.7 a
—	Control	11.3	± 1.2 a	22.7	± 0.8 a	33	± 1.0 a

Data were given as means and standard deviation of 3 replications. Different letters on mean values indicate a significant difference ($p < 0.05$) according to Tukey's method.

考 察

筆者らは保管している野生種トマトの中で、実験圃場においても果実を生産し、抽出に適する優良形質のトマトの選抜を行った。すなわち、41 系統の野生種トマトについて栽培試験を行ったところ、21 系統において果実の生産が確認された。これらの果実については、緑色、紫色のものに分類された。また、直径 1cm 程度の小型の果実から、5cm 程度の大型の球状のものまでであった。今回、栽培種トマトと比較的交配が容易である *L. pimpinelliflorum* において 9 系統中 6 系統で果実生産が確認され、その中でも 1 株あたりの果実生産量の多い *L. pimpinelliflorum* LA1478 を選抜し、果実および葉組織の成分抽出を行った。また、栽培種トマト (*L. esculentum*) 品種として桃太郎を選抜し、成分抽出を行った。本実験では MeOH 抽出後、Hexane、EtOAC、BuOH を用いて分配を行ったが、果実抽出物に関してはこの 3 溶媒に不溶な成分も多く存在した。その後、各トマト抽出サンプルの抗酸化物質およびポリフェノール物質の検出を試みた。Sample1 (Hexane 画分) では、ポリフェノール物質は検出されず、Sample2 (EtOAC 画分)、Sample3 (BuOH 画分) において検出された。機能性成分の違いは Sample 間だけでなくトマト品種間においても見受けられた。これらのことから、栽培種トマトと野生種トマトでは異なる機能性成分を生産しており、果実と葉でも含まれる機能性成分に違いがあることが示唆された。

次に、トマト抽出物が生物の寿命に及ぼす影響について検討するため、ショウジョウバエを用いた寿命検定試験を行った。ショウジョウバエはハエ目 (双翅目) ショウジョウバエ科に属し、体長は 2 ~ 3 mm で自然界では熟した果物類や樹液、そこに生育する天然の酵母を食料とする。様々な突然変異系統が分離されており、遺伝学や発生学分野で頻繁に使用される実験動物である。また、人工培地での飼育方法が確立されており^{11, 12)}、生活環が比較的短いため、化合物を与える寿命検定試験^{13, 14)} や、高酸素^{15, 16)} や薬剤ストレス^{17, 18)} 条件下における寿命検定試験など、様々な生物実験に使用されている。今回、トマト抽出物の生物への影響を検討するにあたって、試験昆虫として適していると考え、使用することとした。寿命の評価には、成虫期における Point A、B、C を比較する評価法を用いた。15% SY 培地では Point B の平均寿命が 22.7 日であったのに対し、栽培種トマト果実の Hexane 画分および EtOAC 画分で 24.2 日、野生種トマト果実の Hexane 画分で 24.7 日、EtOAC 画分で 24.5 日となり、それぞれ有意な寿命の延長が確認された。EtOAC 画分については、Point C についても有意な寿命の延長が確認された。また、野生種トマト葉の BuOH 画分では平均寿命が 23.8 日となり、有意な寿命の延長が確認された。従って今回、野生種トマト果実の Hexane 画分が最も寿命延長効果を示し、対照区と比べ、2 日間延長することが明らかとなった。

本研究の Hexane 画分には、トマト抽出物中の脂溶性成分が溶解している可能性が高く、リコピンをはじめとするカロテノイドがこれにあたると思われる。リコピンはトマトの色素で、これまでに抗炎症作用⁴⁾ や抗ガン作用⁵⁾ など多くの機能性が認められている。本研究では、トマト果実抽出物の Hexane 画分

においてショウジョウバエの寿命延長効果が認められ、リコピンをはじめとするカロテノイドが生物の寿命延長に効果的である可能性が示唆された。

一方、EtOAC 画分については、抗酸化物質およびポリフェノール物質の検出が確認されていることから、これらの物質がショウジョウバエの寿命に何らかの影響を及ぼしていると考えられる。ポリフェノールはヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) の一種である Sir2 に作用し、活性を上昇させることが明らかになっている。Sir2 は酵母の長寿遺伝子として発見され、DNA 修復や転写制御を介して寿命の延長に作用すると考えられている。その後、線虫、ショウジョウバエおよびマウスにおいても老化、寿命を制御することが実験的に証明されている¹⁴⁾。本実験で寿命延長効果を示したトマト果実の EtOAC 画分においても、ポリフェノール物質の検出が確認されたことから、同様の効果を有するポリフェノール化合物の存在が示唆された。

以上の結果より、栽培種および野生種トマトには、生物の寿命延長に有効な機能性成分が含まれていることが示唆された。本実験では Hexane、EtOAC、BuOH の 3 種の有機溶媒により溶媒分配を行ったが、今後はこれらの各抽出サンプルをさらに細かく分画し、機能性成分の探索および生物に及ぼす影響について検討が行われることが期待される。また、今回抽出に使用した *L. pimpinelliflorum* LA1478 以外の果実生産がみられた野生種トマト系統についても、今後、成分抽出および機能性成分の探索が行われることが期待される。

参 考 文 献

1. Toor, R. K., Savage, G. P. (2005) Antioxidant activity in different fractions of tomatoes. *Food Research International* 38, 487-494
2. Jamshidzadeh, A., Baghban, M., Azarpira, N., Bardbori, M. A., Niknahad, H. (2008) Effects of tomato extract on oxidative stress induced toxicity. *Food and Chemical Toxicology* 46, 3612-3615
3. Hirai, S., Kim, Y. I., Goto, T., Kang, M. S., Yoshimura, M., Obata, A., Yu, R., Kawada, T. (2007) Inhibitory effect of naringenin chalcone on inflammatory changes in the interaction between adipocytes and macrophages. *Life Science* 81, 1272-1279
4. Yaping, Z., Wenli, Y., Weili, H., Ying, Y. (2003) Anti-inflammatory and anticoagulant activities of lycopene in mice. *Nutrition Research* 23, 1591-1595
5. Ivanov, N. I., Cowell, S. P., Brown, P., Rennie, P. S., Guns, E. S., Cox, M. E. (2007) Lycopene differentially induces quiescence and apoptosis in androgen-responsive and -independent prostate cancer cell lines. *Clinical Nutrition* 26, 252-263
6. Kasagi, S., Seyama, K., Mori, H., Souma, S., Sato, T., Akiyoshi, T., Suganuma, H., Fukuchi, Y. (2005) Tomato juice prevents senescence-accelerated mouse P1 strain from developing emphysema induced by chronic exposure to tobacco smoke. *American Journal of Physiology Lung Cellular and Molecular Physiology* 290, L396-L404
7. Yamamoto, T., Yoshimura, M., Yamaguchi, F., Kouchi, T., Tsuji, R., Saito, M., Obata, A., Kikuchi, M. (2004) Anti-allergic activity of naringenin chalcone from a tomato skin extract. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 68 (8), 1706-1711
8. Nonomura, T., Xu, L., Wada, M., Kawamura, S., Miyajima, T., Nishitomi, A., Kakutani, K., Takikawa, Y., Matsuda, Y., Toyoda, H. (2009) Trichome exudates of *Lycopersicon pennellii* from a chemical barrier to suppress leaf-surface germination of *Oidium neolycopersici* conidia. *Plant Science* 176, 31-37

-
- 9 . Shapiro, J. A., Steffens, J. C., Mutschler, M. A. (1994) Acylsugars of the wild tomato *Lycopersicon pennellii* in relation to geographic distribution of the species. *Biochemical Systematics and Ecology* 22 (6), 545-561
 10. Budzianowski, J., Budzianowska, A. (2006) Chromatographic and spectrophotometric analyses of the DPPH free radical scavenging activity of the fractionated extracts from *Lamium album* L., *Lamium purpureum* L. and *Viscum album* L. *Herba Polonica* 52, 51-57
 11. Magwere, T., Chapman, T., Partridge, L. (2004) Sex differences in the effect of dietary restriction on life span and mortality rates in female and male *Drosophila Melanogaster*. *Journal of Gerontology : Biological Sciences* 59A (1), 3-9
 12. Kawasaki, H., Kayashima, Y., Ono, H. (2007) A manual for educational experiments and maintenance of *Drosophila melanogaster* (in Japanese). *Hiyoshi Review of Natural Science Keio University* 42, 1-15
 13. Wood, J. G., Rogina, B., Lavu, S., Howitz, K., Helfand, S. L., Tatar, M., Sinclair, D. (2004) Sirtuin activators mimic caloric restriction and delay ageing in metazoans. *Nature* 430, 686-689
 14. Bass, T. M., Weinkove, D., Houthoofd, K., Gems, D., Partridge, L. (2007) Effects of resveratrol on lifespan in *Drosophila melanogaster* and *Caenorhabditis elegans*. *Mechanisms of Ageing and Development* 128, 546-552
 15. Bahadonari, S., Mukai, S., Egli, D., Hilliker, A. J. (2010) Overexpression of metal-responsive transcription factor (MTF-1) in *Drosophila melanogaster* ameliorates life-span reductions associated with oxidative stress and metal toxicity. *Neurobiology of Aging* 31, 1215-1226
 16. Magwere, T., West, M., Riyahi, K., Murphy, M. P., Smith, R. A. J., Partridge, L. (2006) The effects of exogenous antioxidants on lifespan and oxidative stress resistance in *Drosophila melanogaster*. *Mechanisms of Ageing and Development* 127, 356-370
 17. Khazaeli, A. A., Nuzhdin, S. V., Curtsinger, J. W. (2007) Genetic variation for life span, resistance to paraquat, and spontaneous activity in unselected populations of *Drosophila melanogaster* : Implications for transgenic rescue of life span. *Mechanisms of Ageing and Development* 128, 486-493
 18. Shchedrina, V. A., Vorbruggen, G., Lee, B. C., Kim, H. Y., Kabil, H., Harshman, L. G., Gladyshev, V. N. (2009) Overexpression of methionine-R-sulfoxide reductases has no influence on fruit fly aging. *Mechanisms of Ageing and Development* 130, 429-443
 19. Lindhout, P., Pet, G., van der Beek, H. (1994) Screening wild *lycopersicon* species for resistance to powdery mildew (*Oidium lycopersicum*). *Euphytica* 72, 43-49

英文抄録

Cultivation of Wild Tomato Species and Preliminary Extraction of
Nutraceutical Substances Useful for Prolongment of Insect LongevityYoshihiro Takikawa¹, Hiroki Kawamura², Koji Kakutani³, Teruo Nonomura²,
Yoshinori Matsuda² and Hideyoshi Toyoda²

Abstract

In order to examine nutraceutical effects of wild tomato species, we screened wild tomato species that were suitable for cultivation and extracted substances useful for longevity prolongment. Namely, twenty-one of totally of 41 wild tomato species used possibly produced fruits of different shapes, colors (red, green and purple) and sizes. Antioxidative and polyphenolic substances were detected in some fractions of fruit- and leaf-extracts obtained from both common and wild tomato species. All fractions of leaf-extracts were less effective to prolong life span of the test insect, with no relation to common and wild tomato plants. In point A, there was no significant difference in the longevity prolongment of the test insect among all fractions of both common and wild tomato plants. In point B, two fractions (hexane-soluble and ethyl acetate-soluble fractions) of fruit-extracts from both common and wild tomato plants were positive to the lifespan prolongment of vinegar fly adults. Hexane-soluble fraction of fruit-extracts from wild tomato plants was most effective to prolong lifespan of the test insect. In point C, ethyl acetate-soluble fraction of fruit-extracts from both plants showed the significant effect on the prolongment of lifespan. Antioxidants and polyphenolic substances in ethyl acetate-soluble fractions were effective to prolong lifespan of the test insect. Polyphenols are potential substances to extend lifespan of diverse species including vinegar fly. Hexane-soluble fraction of fruit-extracts from wild tomato plants was positive to the lifespan prolongment, it contained substances effective to prolong lifespan of the test insect. Judging from these results, both common and wild tomatoes are useful sources to search various nutraceutical substances for the longevity prolongment, as assessed by the insect assay system..

1. Plant Center, Institute of Advanced Technology, Kinki University, Wakayama 644-0025, Japan

2. Department of Agricultural Science and Technology, Faculty of Agriculture, Kinki University, Nara 631-8505, Japan

3. Pharmaceutical Research and Technology Institute, Kinki University, Osaka 577-8502, Japan