

α-mangostin はメラノーマ細胞のメラニン生成を抑制する

四元 陽香 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 坂本 和一 (筑波大学 生命環境系)

【背景・目的】

近年、ポリフェノールやカテキンなど様々な植物由来の化学物質 (ファイトケミカル) が健康や美容に対してよい効果を示すことが明らかにされ、社会から多くの関心を集めている。その一つに、マンゴスチンという植物の果皮の主成分でポリフェノールの一種である α-mangostin が知られている。マンゴスチンは熱帯地域に生育する常緑樹であり、その果実は東南アジアを中心に生産されている。現地では、マンゴスチンの果実は食用だけでなく様々な民間治療薬として古くから使われており、皮膚病や胃腸不全の治療薬や解熱剤としても利用されている。

これまでに、α-mangostin については様々な基礎研究が行われており、抗腫瘍作用や抗酸化作用を示すことが知られている。本研究の先行研究では、脂肪細胞 (3T3L-1) の分化抑制や脂肪蓄積抑制効果を示すことが分かっており、肥満防止効果が期待されている。

本研究では、皮膚細胞、特にメラニンを生成する皮膚がん細胞であるマウスメラノーマ細胞 (B16F10) に対する、α-mangostin の生理活性作用の解析を目的とした。

【方法】

いずれの実験もマウスメラノーマ細胞 (B16F10) を用いて行った。α-mangostin は DMSO に溶かし、濃度は 3, 6, 9 μM に設定した。各実験のコントロールは DMSO とした。(1) (2) (4) の実験は α-mangostin 処理から 3 日後の細胞を用いた。

(1) 細胞生存率

細胞内ミトコンドリア活性を調べる MTT assay と Trypan blue による細胞内染色法を用いて、α-mangostin が細胞生存率に与える影響を調べた。

(2) 細胞内メラニン生成量

α-mangostin がメラノーマ細胞のメラニン生成にもたらす効果を調べるために、細胞内のメラニン生成量の測定を行った。試薬処理 3 日後の細胞を回収して NaOH に溶かし、波長 475 nm における吸光度を測定した。各値はタンパク量で補正した。

(3) 細胞増殖率

α-mangostin が細胞増殖に与える影響を調べるため、試薬処理 0 日目から 5 日目までの細胞増殖率を調べた。各サンプルの細胞を回収し血球計数盤で細胞数を数え、細胞増殖率の推移を比較した。

(4) チロシナーゼ活性

メラニン生成を促す酵素チロシナーゼに対する α-mangostin の働きを調べるため、チロシナーゼ活性を測定した。細胞を回収後粉碎し、チロシナーゼの基質である L-DOPA を与えた。メラニン生成量はチロシナーゼ活性に伴い上昇することから、各サンプルの 1 時間のメラニン生成量の変化を 10 分間隔で測定した。

【結果】

- (1) MTT assay による解析では、α-mangostin は濃度依存的に細胞毒性を示した。Trypan blue による測定では、3, 6 μM の濃度で細胞生存率に変化はみられなかったが、9 μM では生存率が減少した。
- (2) 細胞内メラニン生成量は α-mangostin の濃度依存的に減少し、α-mangostin 投与群はコントロールと比べメラニン生成量が抑制された。
- (3) 細胞増殖率は α-mangostin の濃度依存的に減少したが、3 μM ではコントロールとほとんど変化がなかった。
- (4) チロシナーゼ活性は、コントロールに比べて α-mangostin の濃度依存的に減少した。

【考察・今後の展望】

本実験結果から、α-mangostin はマウスメラノーマ細胞 (B16F10) に対して濃度依存的にメラニン生成量を減少させることが分かった。また、α-mangostin はチロシナーゼ活性を減少させることでメラニン生成を抑制しているのではないかと考えられる。9 μM の α-mangostin は細胞生存率に影響するため、今後は低濃度の α-mangostin を投与する予定である。また、遺伝子発現を調べメラニン生成に対する効果やそのメカニズムを解明したいと考えている。更に、皮膚がん細胞だけでなく正常ヒト皮膚細胞への投与実験も行い、α-mangostin が美白成分として効果を示すことを期待している。