

脂肪細胞 3T3-L1 における琥珀エタノール抽出物の生理作用解析

十河 衿香 (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)

【背景と目的】

琥珀は、マツやスギなどの針葉樹の樹液が長い年月をかけて石化したものであり、現在では宝石として装飾品などでよく用いられている。一方で、琥珀を用いた民間療法は世界中で古くから知られており、リラクゼーション効果や傷口の治療などに広く用いられてきたという歴史がある。

先行研究では、琥珀には血管新生促進、ヒアルロン酸産生の促進やターンオーバーの促進などといった、健康や美容に関わる効果が報じられている。近年では、琥珀がもつこれらの生理作用が注目されており、本研究では未だ解明されていない琥珀の生理作用を明らかにし、琥珀を健康や産業への利用に役立てることを目的とする。

本研究では、マウス由来脂肪細胞3T3-L1を用いて、琥珀エタノール抽出物が脂肪細胞にもたらす生理作用について解析した。

【方法】

<細胞培養>

本実験では、脂肪前駆細胞(3T3-L1)細胞をDMEM培地で培養した。分化させる際にはDMIを含むDMEMで処理をし、2日後にインスリン半量処理を施した後、DMI投与後8日目までDMEMで培養したものを完全に分化した脂肪細胞とみなし、実験を行った。

<琥珀の抽出>

共同研究先((株)ヤマノビューティーケミカル)より提供された琥珀パウダーを50%エタノールで溶解しサンプルとして用いた。

<実験方法>

(1) 細胞毒性の検定

3T3-L1細胞において、分化前、分化中、分化後に様々な濃度の琥珀サンプルを投与した後、MTT溶液を用いて細胞の毒性を測定した。

(2) 脂肪蓄積の測定

3T3-L1細胞の分化中に琥珀サンプルを投与し続け、Oil Red O試薬で脂肪滴を染色し顕微鏡下で観察した後、OD=420 nmで吸光度を測定した。また、脂肪分化中のどの時期に琥珀サンプルが最も作用しているのか調べるために、脂肪細胞の分化誘導 0日目から分化完了の8日目までを2日ごとに区切り、それぞれの時期ごとに琥珀サンプルを投与した。

(3) グルコース取り込みの測定

3T3-L1細胞の分化後に琥珀サンプルを投与し、投与後6, 12, 18, 24時間後の細胞培地を回収し、それぞれの培地に含まれるグルコース量をOD=505 nmで測定した。

(4) グリセロール放出の測定

3T3-L1細胞の分化後に琥珀サンプルを投与し、投与後6, 12,

18, 24時間後に細胞培地を回収し、それぞれの培地に含まれるグリセロール量をOD=600 nmで測定した。

【結果】

(1) MTT assayによる解析では、琥珀サンプルは脂肪前駆細胞では細胞毒性は見られなかった。しかし、分化中と分化後に琥珀サンプルを投与した場合では、濃度依存的な細胞毒性を示した。

(2) 琥珀サンプルを投与したものでは、脂肪蓄積量は増加した。

(3) 琥珀サンプル投与によって、グルコース取り込みは、琥珀サンプル濃度依存的に抑制された。

(4) グリセロール放出は、琥珀サンプルの濃度依存的に増加し、琥珀サンプル投与群はコントロールに比べグリセロール放出は増加した。

【考察・今後の展望】

本実験結果から、琥珀エタノール抽出物は脂肪細胞(3T3-L1)に対して濃度依存的にグルコース取り込みを抑制する一方で、グリセロールの放出を促進していることが分かった。これらの結果から、今後は脂肪分解におけるメカニズムを解明するため、遺伝子発現やタンパク質発現を調べ、作用機構を明らかにすると同時に、有効成分の同定を行っていく予定である。