

ニガウリ抽出物によるマウスメラノーマ細胞の メラニン産生抑制効果

福山 明子*1・柚木崎千鶴子*1・酒井 美穂*1・白木 己歳*2・井野 寿俊*2・赤木 功*3

Suppression of the Melanogenesis of Mouse Melanoma B16 Cells by Bitter Melon Extract

Akiko FUKUYAMA, Chizuko YUKIZAKI, Miho SAKAI, Mitoshi SHIRAKI, Masutoshi INO,
and Isao AKAGI

宮崎県総合農業試験場で育成された5品種のニガウリ80%エタノール抽出物について、マウスメラノーマ細胞におけるメラニン産生抑制効果を検討した。5品種のニガウリのメラニン産生抑制効果に品種間差はなく、部位間で種子においてメラニン産生抑制効果がある傾向が見られた。

また、ニガウリ種子抽出物におけるメラニン産生抑制効果はビタミンC以外の成分に由来することが示唆された。

キーワード：農産物，ニガウリ，メラニン

1 はじめに

消費者の健康志向の高まりにより、ニガウリの需要は増加傾向にある。本県でも年々生産量は増加し、県の主要農産物となっている。また、健康に対する関心の高まりとともに農産物においても、生体調節機能に関する研究報告が多数見られるようになった。

そこで本研究では、宮崎県総合農業試験場で育成されたニガウリ5品種の抽出物を用い、マウスメラノーマB16細胞のメラニン産生抑制効果について検討したので報告する。

2 実験方法

2-1 試料調製

宮崎県総合農業試験場で新規に育成されたニガウリ4品種(N1, N2, N3, N4)と従来の主要品種(佐土原3号)を可食部、胎座および種子に分け、真空凍結乾燥(FTS SYSTEM, Dura-Top MP & Dura-DRY MP)後、超遠心粉砕機(MRK&RETSCH,

EM-1型)で0.5mmのスクリーンを通して粉砕した。粉末試料1gに80%エタノール溶液30mlを加え30秒かくはんし、吸引ろ過後エバポレーターで濃縮した。それを凍結乾燥してできた抽出物をDMSOに溶解しサンプルとした。(以下ニガウリ80%エタノール抽出物をニガウリ抽出物として記載。)

2-2 供試細胞

B16細胞(Mouse B16 melanoma 4A5)は(独)理化学研究所バイオリソースセンターから入手した。この細胞はマウスの皮膚に発生した悪性黒色腫瘍で、特異的なメラニン産生能を有している¹⁾。そのため、メラニン合成に関わる機能調節やメラニン産生抑制物質検索のための研究材料として汎用されている。B16細胞は10%のウシ胎仔血清(GIBCO社製)を含むダルベッコ変法MEM培地(DMEM培地, 日水製薬)で培養した。継代時の細胞剥離にはトリプシンを用い、トリプシンの不活性化にはトリプシンインヒビター(SIGMA)を用いた。培養は37℃, 5%CO₂存在下, 相対湿度95%以上で行った。

2-3 メラニン産生抑制試験

初発細胞密度を 5×10^4 cells/mlとし、6cmディッシュで培養を行った。培養1日目と3日目に

*1 食品開発部

*2 宮崎県総合農業試験場

*3 宮崎県産業支援財団

新鮮培地と交換し、その都度各濃度に調製したサンプルを添加し、4日目にトリプシン処理により細胞を回収した。

回収した細胞懸濁液は1mlに調製し、そのうち100 μ lを血球計算板 (Burker-Turk型)で細胞数を測定した。残りの細胞懸濁液は遠心し、細胞ペレットに1mlの水酸化ナトリウムを添加して細胞を溶解し、475nmの吸光度を測定した。市販の合成メラニン (SIGMA社製) の検量線より、細胞数あたりのメラニン含量を算出した。

また、サンプルと同量のDMSOを添加した区をネガティブコントロールとし、アルブチン (0.1M) を添加した区をポジティブコントロールとして設定した。

測定は3連で行い、測定結果はネガティブコントロールに対するメラニン含量の割合として表示した。

2-4 メラニン産生抑制試験

1) ニガウリ抽出物のメラニン産生抑制

ニガウリの可食部、胎座及び種子におけるメラニン産生抑制試験を行った。サンプルは事前に濃度試験を行い、細胞増殖に影響のない濃度を決定した。(表1)

表1 試験濃度
(μ g extract/ml)

品種	可食部	胎座	種子
佐土原 3号	125.0	3.1	62.5
N1	125.0	3.1	31.3
N2	125.0	3.1	31.3
N3	62.5	1.0	7.8
N4	15.6	1.0	15.6
アルブチン	27.2 (0.1M)		

3 結果および考察

3-1 ニガウリ抽出物のメラニン産生抑制

ニガウリ抽出物における可食部、胎座および種子のメラニン生成割合を比較した (表2)。また、それらを集計して部位ごとの品種間差および部位間差を比較した。(図1)

表2 メラニン生成割合

品種	部位	メラニン生成割合 (%)
佐土原 3号	可食部	91.7
	胎座	95.1
	種子	62.0
アルブチン		58.2
N1	可食部	89.0
	胎座	100.5
	種子	78.0
アルブチン		63.8
N2	可食部	90.0
	胎座	98.4
	種子	69.6
アルブチン		63.8
N3	可食部	112.4
	胎座	127.0
	種子	88.0
アルブチン		76.3
N4	可食部	115.9
	胎座	110.0
	種子	98.2
アルブチン		47.6

(n=3)

その結果、図1-aのとおり、各部位において品種間差は見られなかった。

また、部位間差については図1-bに示すとおり、種子において活性が高い傾向が見られた。

また、すでにメラニン産生抑制効果が認められているアルブチンの産生抑制作用には劣るものの、佐土原3号の種子において、メラニン生成割合はネガティブコントロールの62%まで減少させた。

以上ニガウリ抽出物には主に種子において、細胞増殖に影響のない濃度で、メラニンの産生抑制効果があることが確認された。

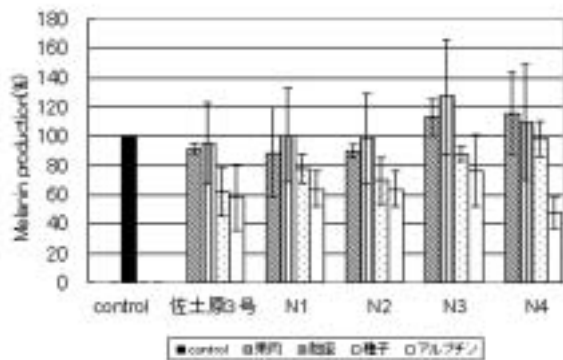


図1-a メラニン生成割合 品種間差

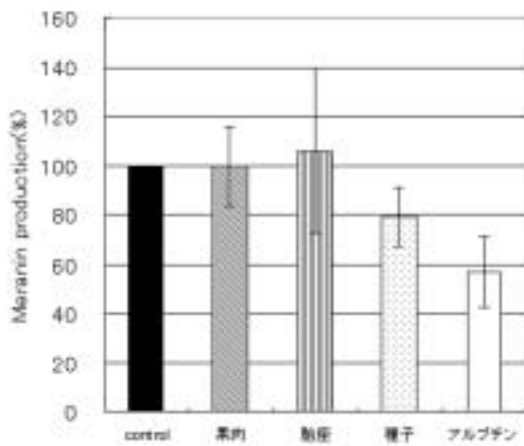


図1-b メラニン生成割合 部位間差

3-2 ビタミンCがメラニン産生抑制に及ぼす影響

ニガウリの種子中にはビタミンCが含まれている。²⁾ ビタミンCは代表的な抗酸化剤であり美白作用を有する。³⁾ そこで最も活性の高かった佐土原3号の種子(62.5 $\mu\text{g/ml}$, 31.3 $\mu\text{g/ml}$)とその種子に含まれるビタミンC相当量(3.6 $\mu\text{g/ml}$, 1.8 $\mu\text{g/ml}$)を標品を用いて調製し、メラニン産生抑制効果について検討した。その結果を表3および図2に示す。種子においてはメラニン産生を抑制していたが、種子中のビタミンC相当量にはメラニン産生抑制効果がなかった。

このことから、種子におけるメラニン産生抑制効果はビタミンC以外の成分であることが示唆された。

表3 種子と種子中に含まれるビタミンCのメラニン生成割合

濃度	メラニン生成割合(%)
佐土原3号種子	
① 62.5 $\mu\text{g/ml}$	71.4
② 31.3 $\mu\text{g/ml}$	83.8
種子中のビタミンC相当量	
① 3.6 $\mu\text{g/ml}$	104.9
② 1.8 $\mu\text{g/ml}$	96.9
7477号 27.2 $\mu\text{g/ml}$	38.9

(n=3)

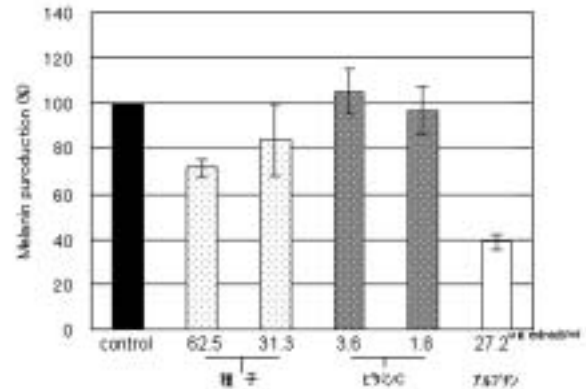


図2 メラニン生成割合
種子と種子中のビタミンC相当量との比較

4 まとめ

宮崎県総合農業試験場で育成された5品種のニガウリ80%エタノール抽出物について、マウスメラノーマ細胞におけるメラニン産生抑制効果について検討し、次のような結果を得た。

- 1) 5品種のニガウリのメラニン産生抑制効果に品種間差はなく、部位間で種子においてメラニン産生抑制効果がある傾向がみられた。
- 2) 種子におけるメラニン産生抑制効果はビタミンC以外の成分に由来することが示唆された。

5 参考文献

- 1) 正木仁, Frafrance Journal 27-1, p22-31(1999)
- 2) 柚木崎千鶴子, 酒井美穂ら, ニガウリに含まれ

- るビタミンC量の品種間差および部位間差, 宮崎県食品開発センター研究報告, p99-101(2005)
- 3) 石田幸久著, Frafrance Journal 63p28-34(1983)
- 4) 下園英俊著者, 小堀真珠子, 新本洋士, 津志田藤二郎, 日本食品化学工学会誌 43-3 p313-317(1998)
- 5) 後藤美恵子, 大分県農水産物加工総合指導センター試験成績報告書11号p7-9(2000)