



メラニン生成制御に関与する 有用物質の探索と活用について

玉川大学農学部 生産農学科

准教授 佐藤一臣

令和2年10月13日



- 色素沈着のメカニズムとその原因
- 主なメラニン生成阻害剤
- メラニン生成促進剤
- 本発明に関連する研究手法の紹介



本技術に関する知的財産権

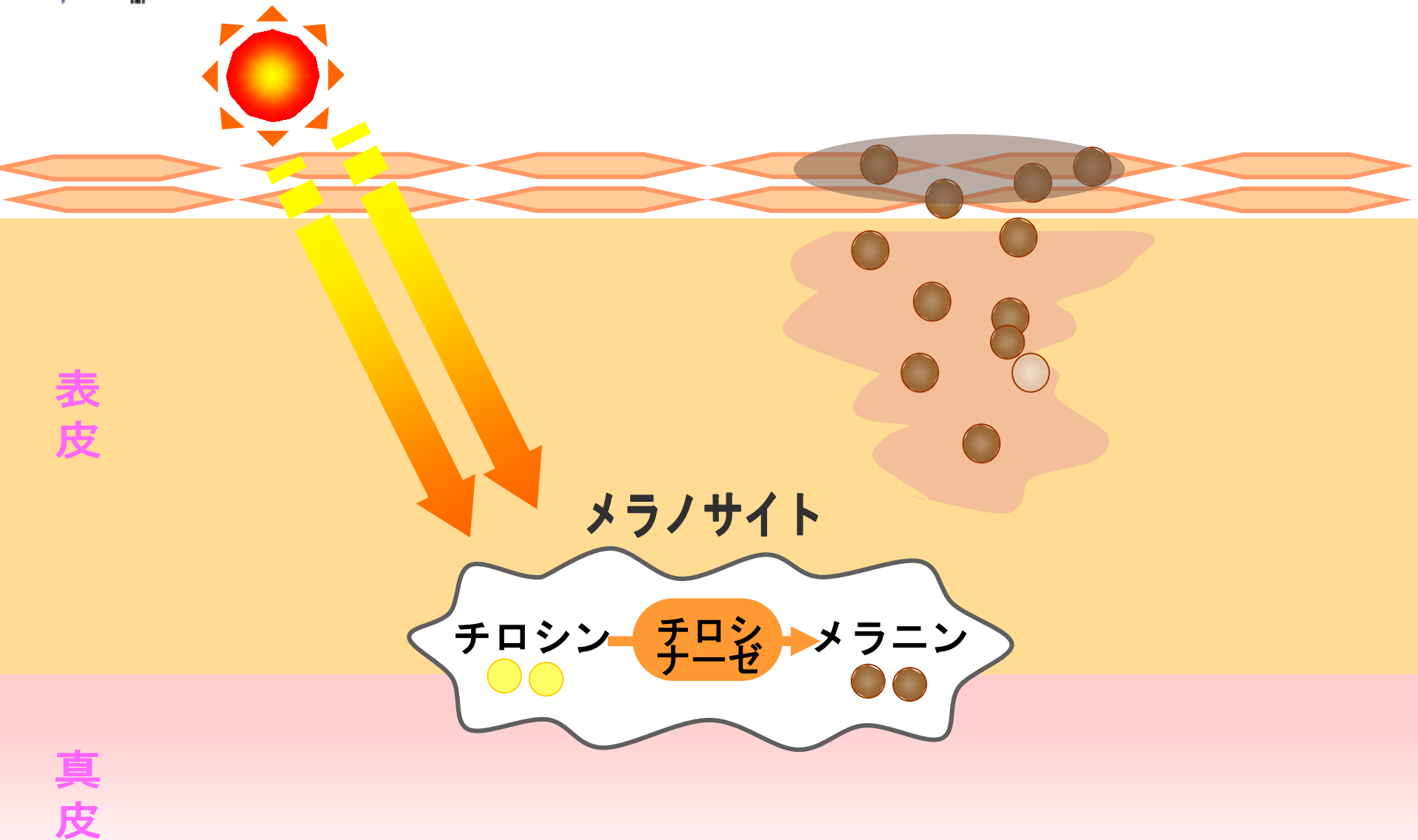
- **発明の名称**：メラニン生成促進剤、白髪予防又は治療剤、色素異常症予防又は治療剤、組成物、及びメラニン生成促進方法
- **出願番号**：特願2020-010372
- **出願人**：学校法人 玉川学園
- **発明者**：佐藤一臣



- 色素沈着のメカニズムとその原因
- 主なメラニン生成阻害剤
- メラニン生成促進剤
- 本発明に関連する研究手法の紹介

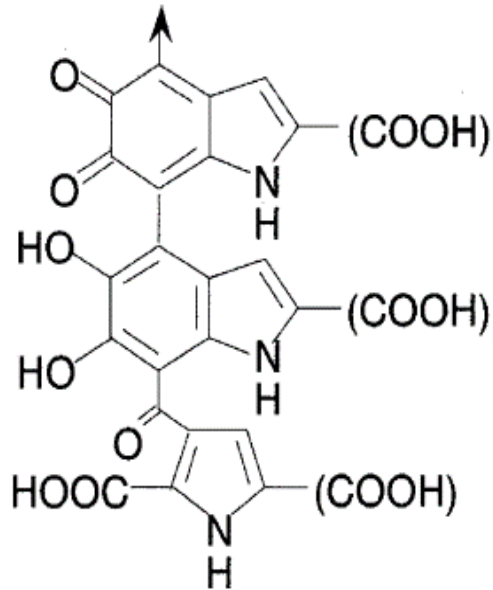


色素沈着のメカニズム



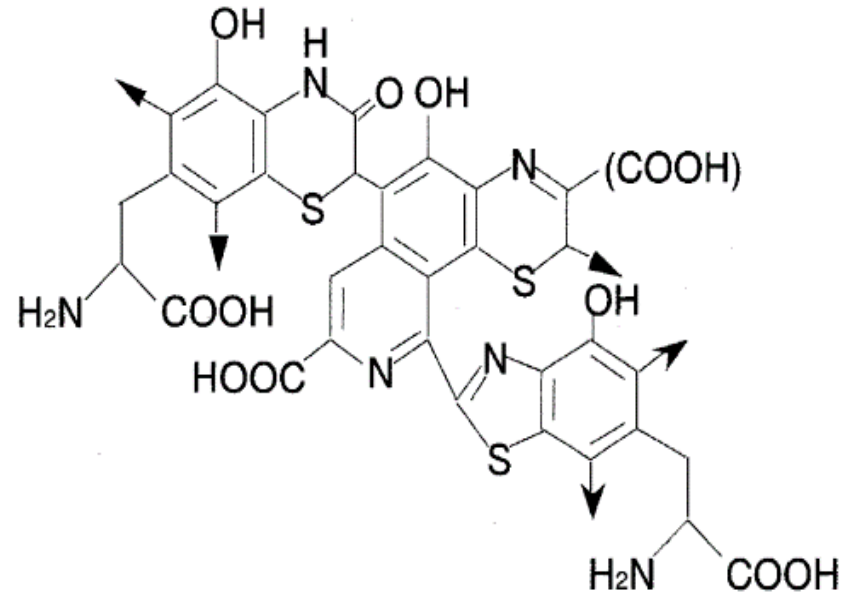


メラニンの構造



ユーメラニン(Eumelanin)

黒色～褐色



フェオメラニン(Pheomelanin)

赤～黄色

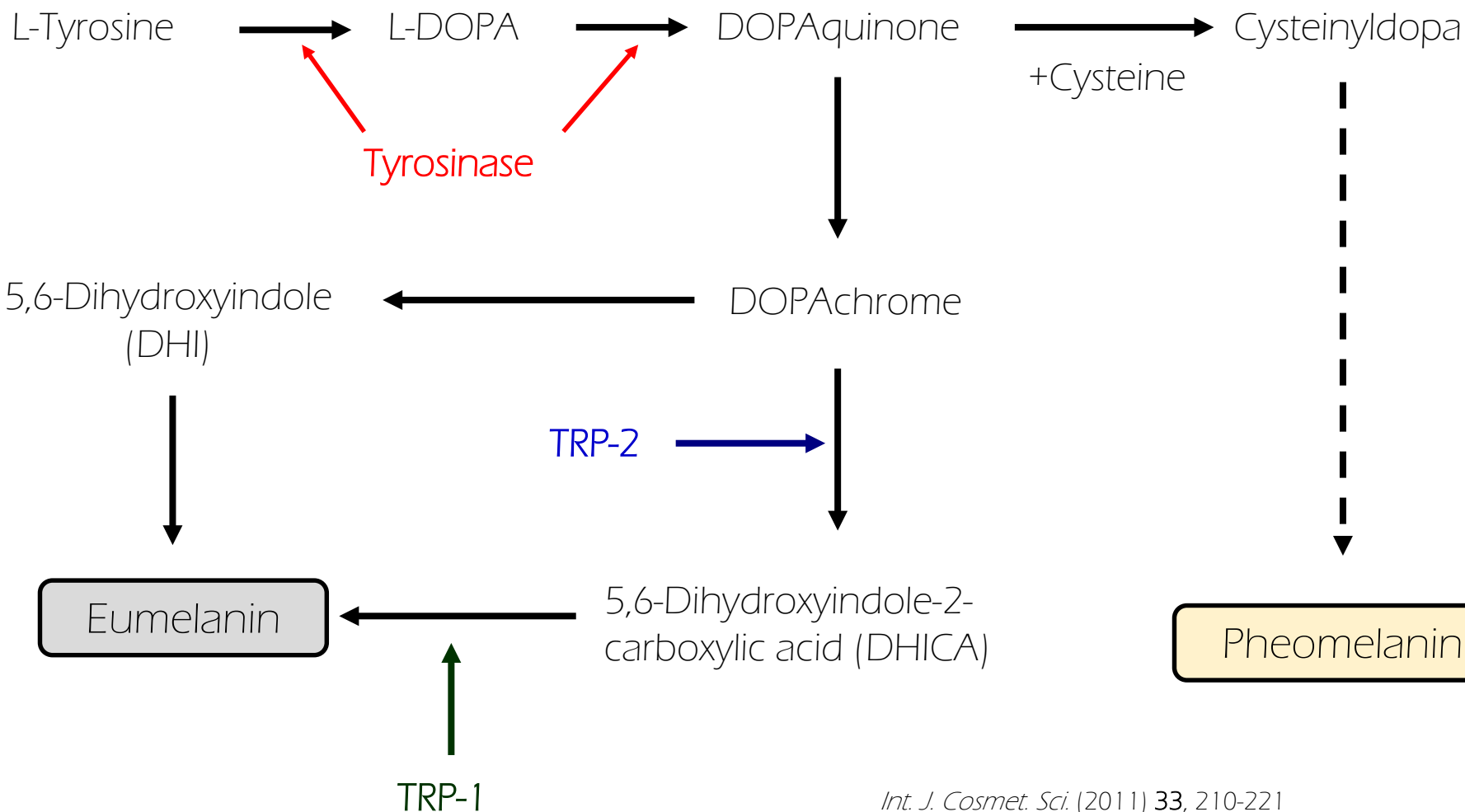
L-Phenylalanine



PAH

メラニン生成経路

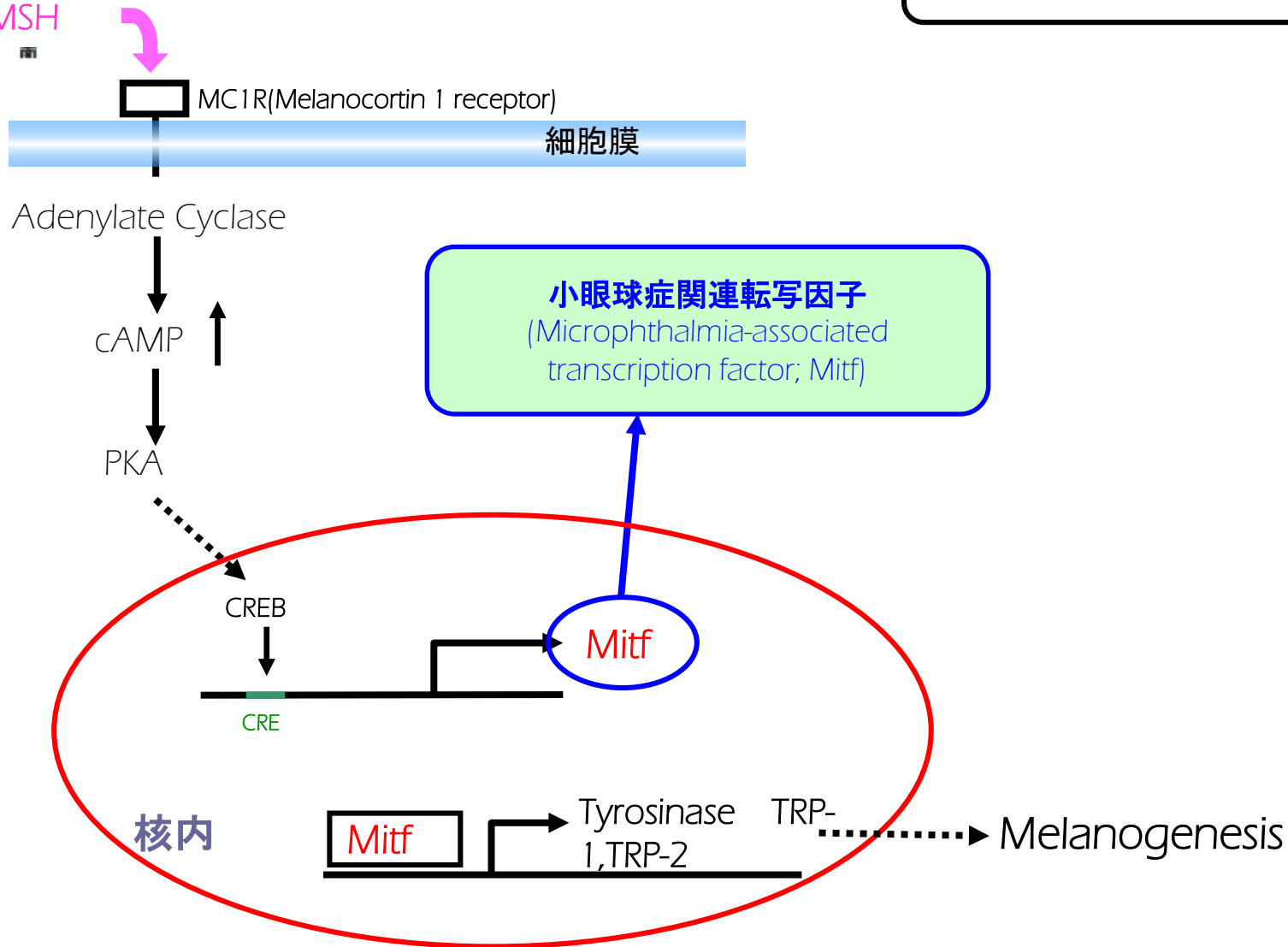
PAH: phenylalanine hydroxylase
TRP: tyrosinase-related protein



ケラチノサイトから放出

α -MSH

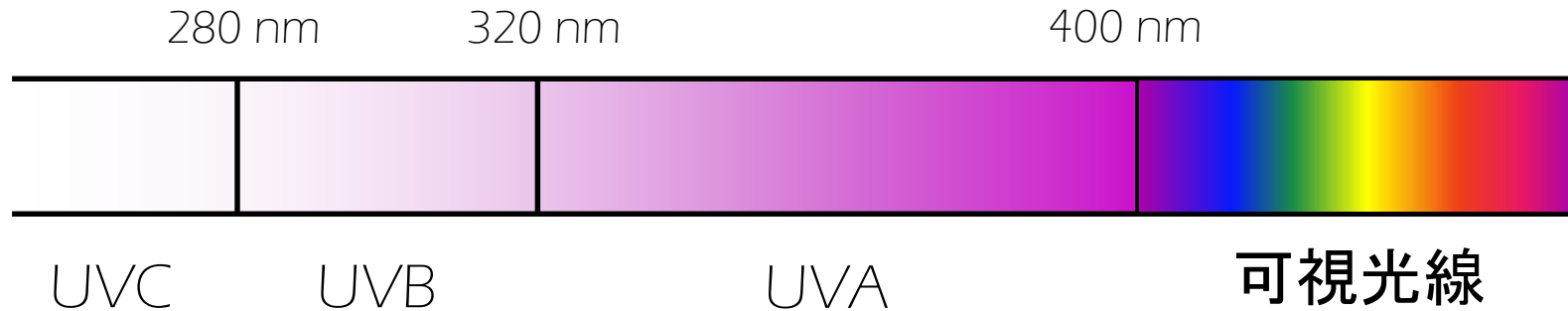
シグナル伝達経路



α -MSH: α -Melanocyte Stimulating Hormone



紫外線の分類

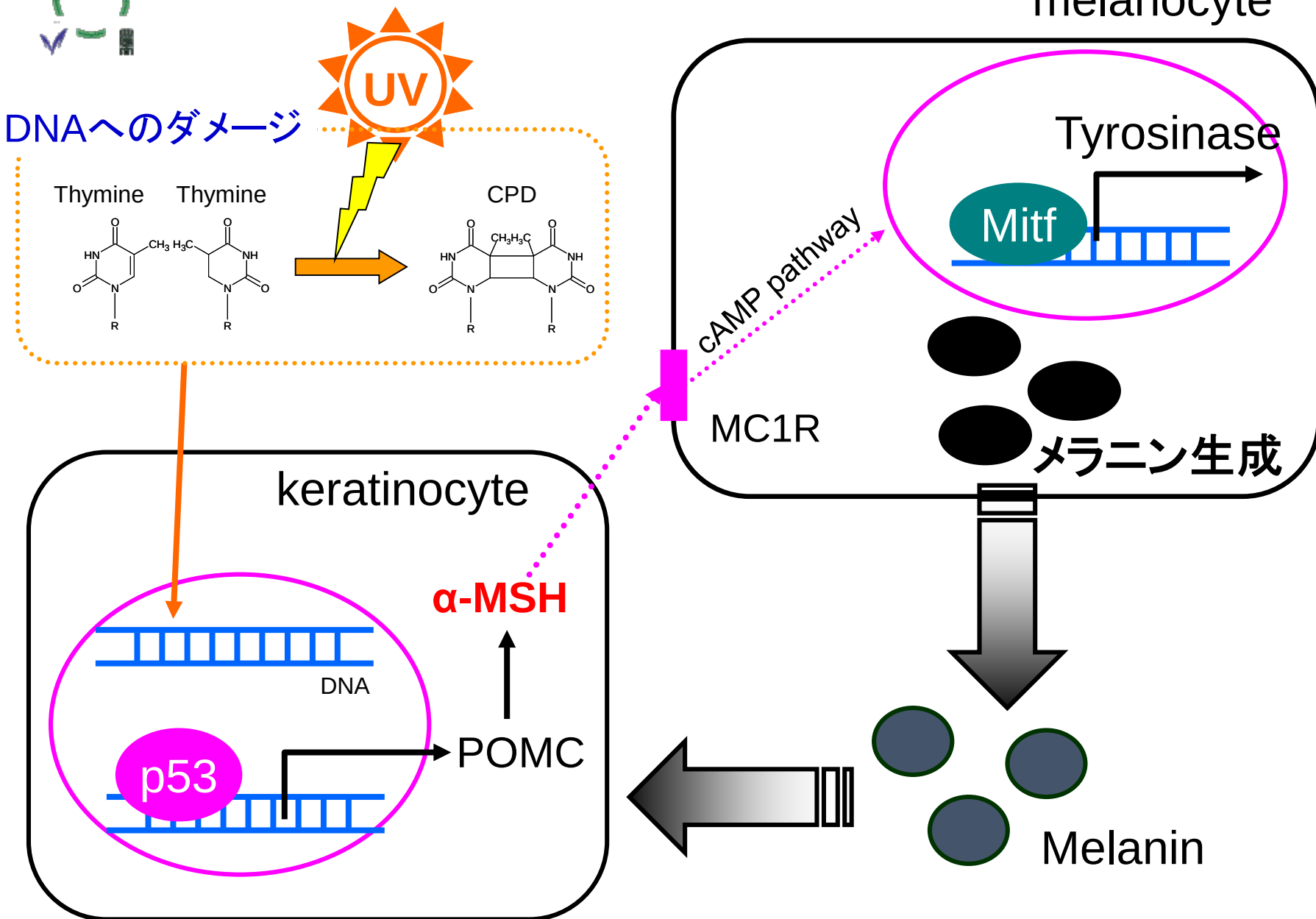


UVC: オゾン層で吸収される

UVB、UVA : オゾン層を通過し、地表に降り注ぐ

UVA、UVBはメラニン生成（日焼け）に関与する

紫外線によるメラニン生成の促進メカニズム





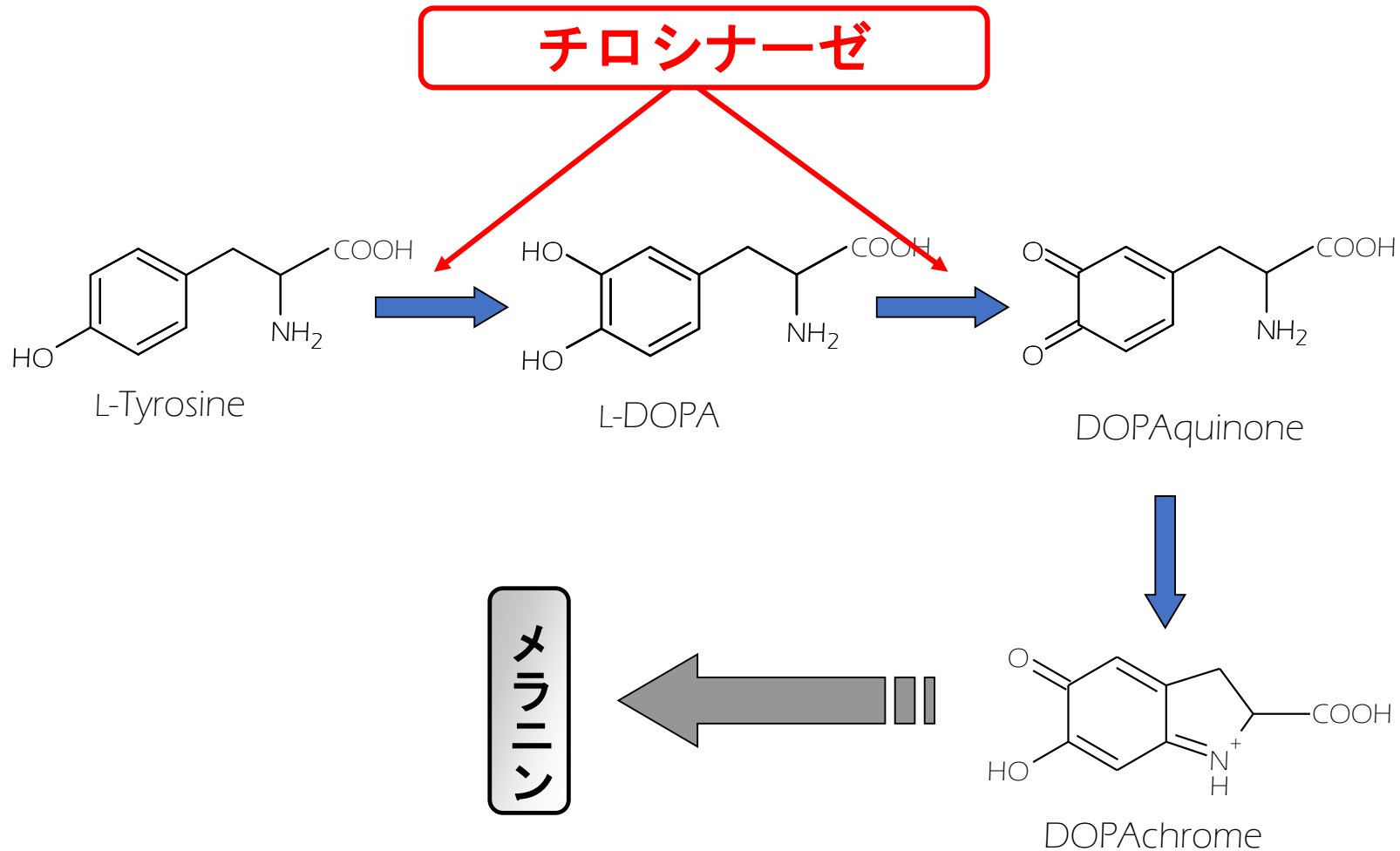
- 色素沈着のメカニズムとその原因
- 主なメラニン生成阻害剤
- メラニン生成促進剤
- 本発明に関連する研究手法の紹介



メラニン生成阻害剤と作用点

○ チロシナーゼ活性阻害剤

Hydroquinone、Arbutin、Kojic acid など





○ 関連タンパク発現の抑制

- C₂-ceramide *Cell Signal.* (2002) 14, 779-785

Mitf発現の抑制

- Retinoic acid、Retinol *Biosci. Biotechnol. Biochem.* (2008) 72, 2589-2597

チロシナーゼタンパク質量の抑制

- Vitamin E (Tocopherol) *Cytotechnology* (2009) 59, 183-190

チロシナーゼmRNA転写の抑制

その他の作用点

- ケラチノサイトへのメラノソーム移行の阻害
- スキンターンオーバーの促進
- チロシナーゼの分解促進 (ユビキチン-プロテアソーム経路)



非ステロイド系抗炎症薬（NSAIDs）のメラニン生成抑制効果

非ステロイド系抗炎症薬とは

(non-steroidal anti-inflammatory drugs; NSAIDs)

抗炎症作用、解熱・鎮痛作用を有する薬剤

作用メカニズム

プロスタグランジン生成に関与するシクロオキシゲナーゼ(COX)活性を阻害することで抗炎症作用、解熱鎮痛作用を有する。

NSAIDsのほとんどはCOX-1、COX-2の両方の活性を阻害する。

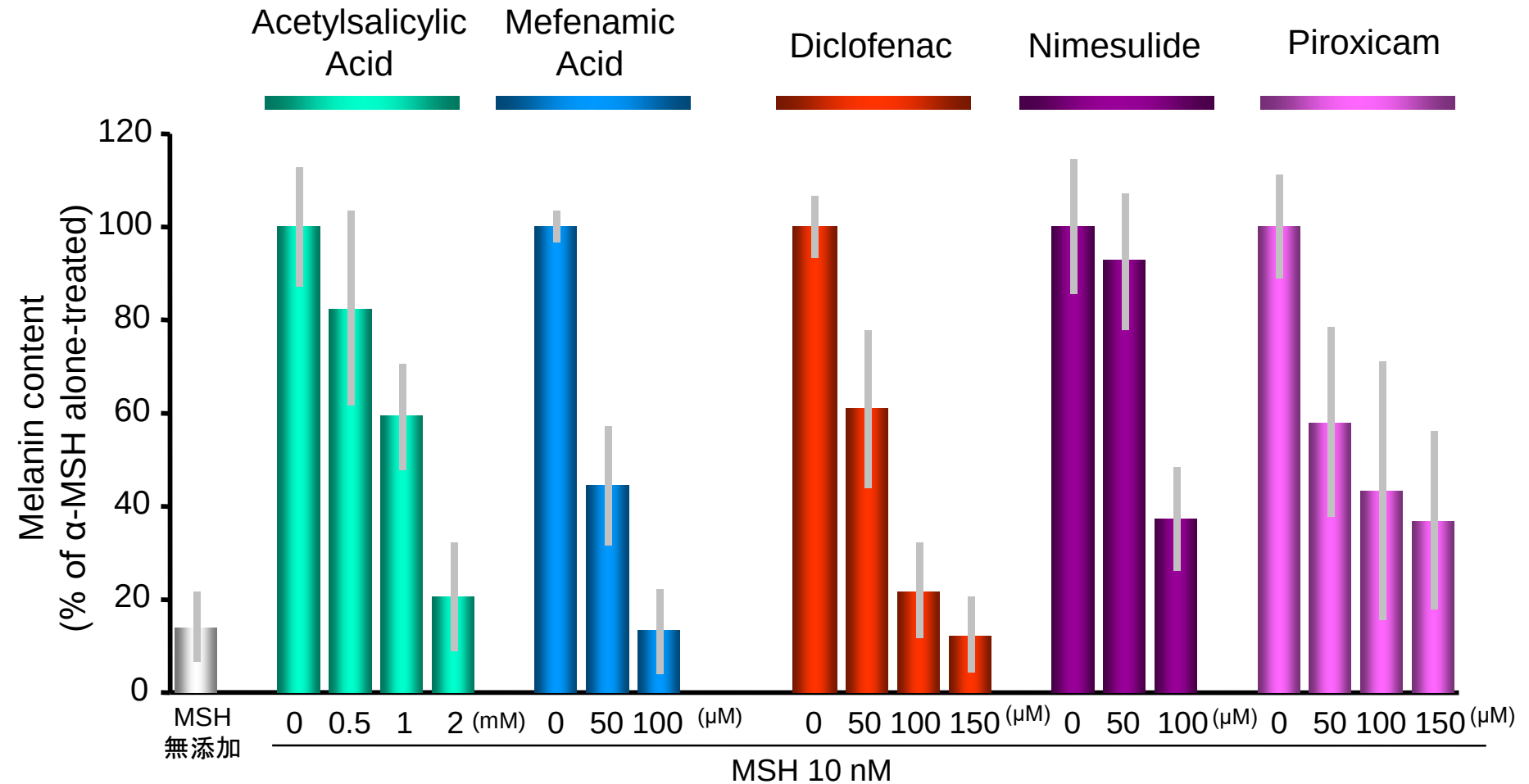


NSAIDsの1つであるアセチルサリチル酸にメラニン生成抑制効果があることを確認。 Sato et al., *Biol. Pharm. Bull.* 2008, 31, 33-37



非ステロイド系抗炎症薬 (NSAIDs) のメラニン生成抑制効果

複数のNSAIDsのメラニン生成抑制効果





非ステロイド系抗炎症薬（NSAIDs）のメ ラニン生成抑制効果

NSAIDsのチロシナーゼ活性抑制効果

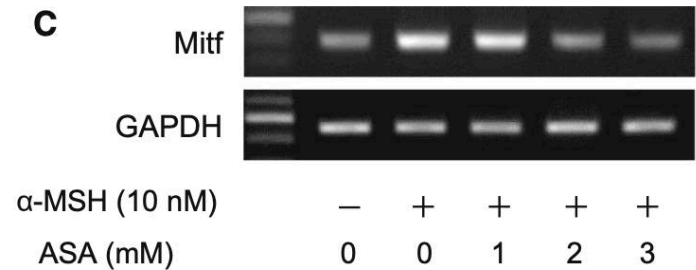
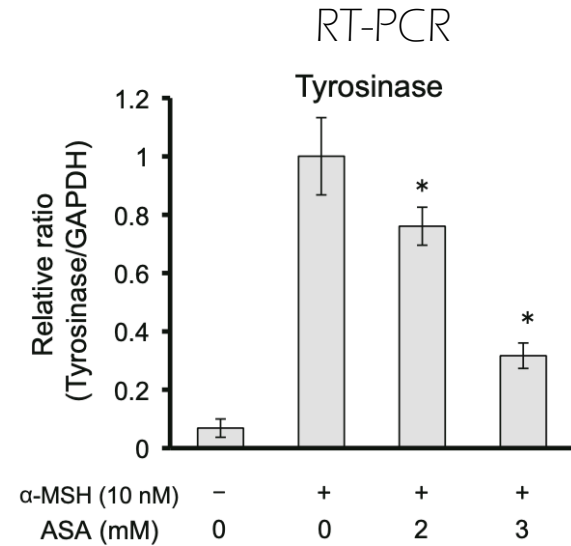
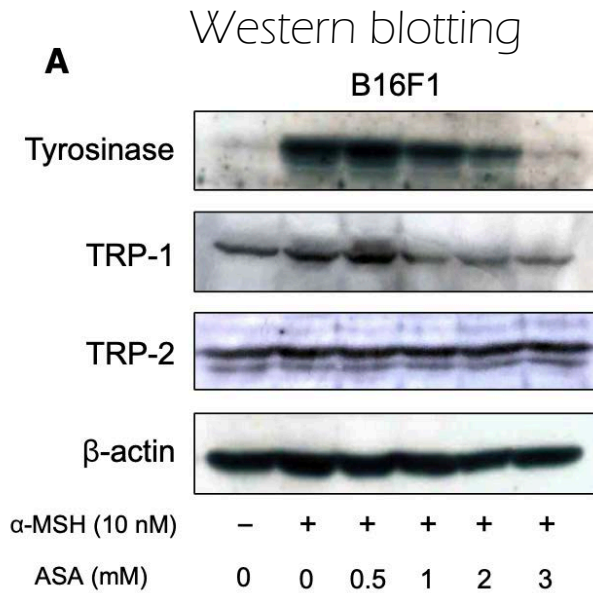
IC₅₀ (mM)

Compound	Monophenolase activity	Diphenolase activity
ASA アセチルサリチル酸	> 4	> 4
Diclofenac	> 4	7.1
Diflunisal	0.112	0.197
Ibuprofen	> 4	> 1
Indomethacin	1.78	0.509
Mefenamic acid	> 1	> 0.2



非ステロイド系抗炎症薬 (NSAIDs) のメラニン生成抑制効果

➤ アセチルサリチル酸(ASA)の例

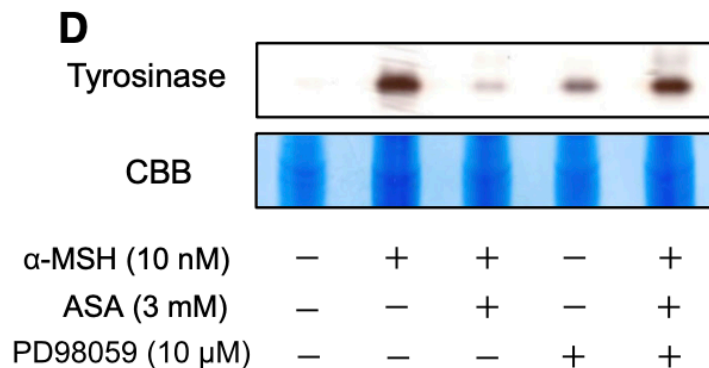
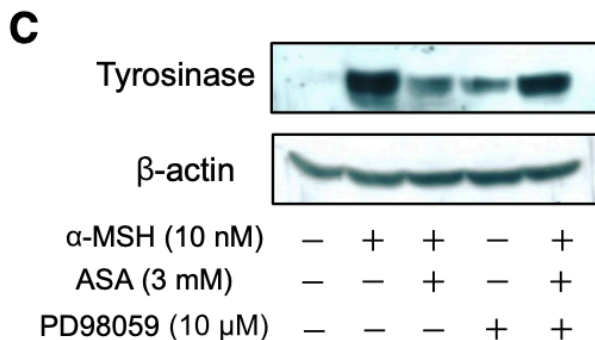
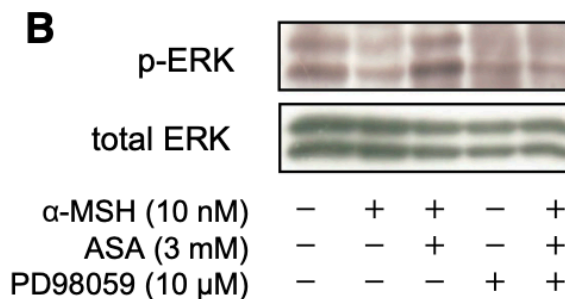
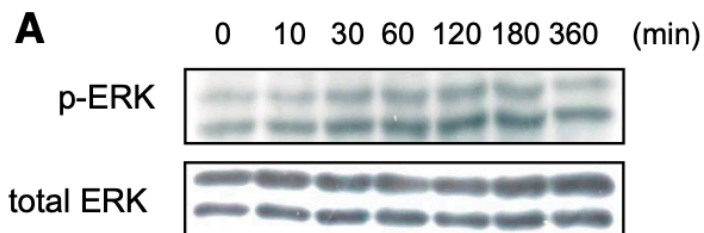


Mitf, チロシナーゼの発現を抑制する効果を持つ



非ステロイド系抗炎症薬 (NSAIDs) のメラニン生成抑制効果

➤ アセチルサリチル酸(ASA)の例



ERKシグナル経路(Mitfの分解に関与)を活性化してMitfの分解を促す



NSAIDsのメラニン生成抑制効果

- チロシナーゼの発現を抑制することで結果的にメラニン生成を抑制する。
- Mitfの転写抑制効果、分解促進効果を有する。
- チロシナーゼタンパクの分解を誘導している可能性も考えられる。
- NSAIDsのチロシナーゼ活性阻害効果もメラニン生成抑制効果の要因となっている。



- 色素沈着のメカニズムとその原因
- 主なメラニン生成阻害剤
- メラニン生成促進剤
- 本発明に関連する研究手法の紹介

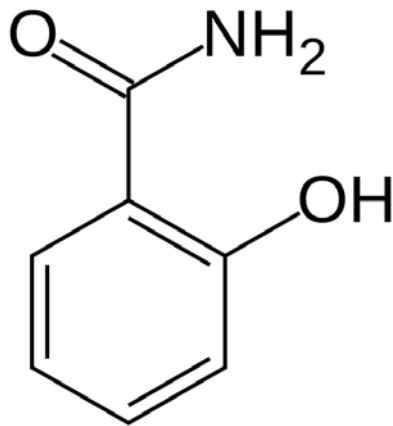


メラニン生成促進剤

メラニン生成阻害剤については多く報告されている



メラニン生成促進効果を有する物質については報告例は限られている



Salicylamide

[期待される応用]

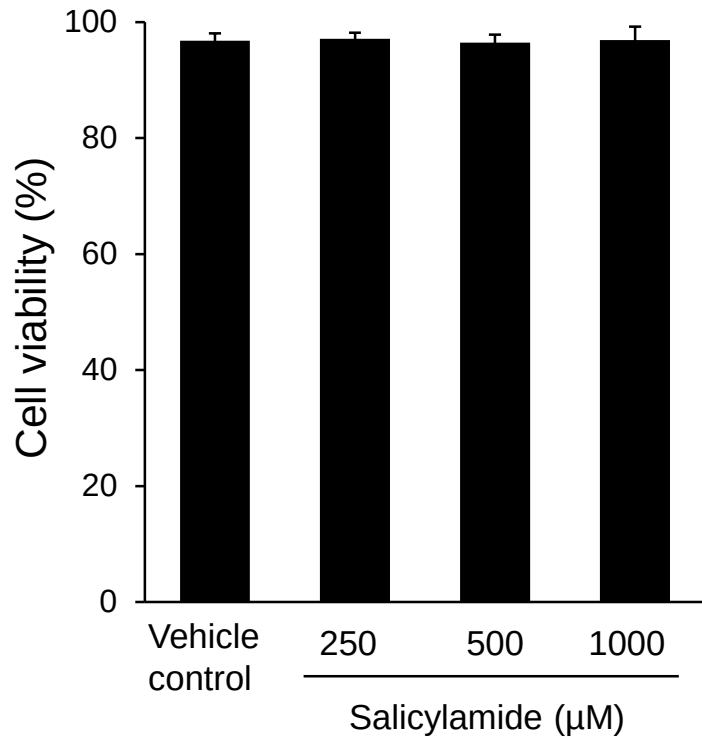
- 白髪防止剤
- 色調維持剤



サリチルアミドのメラニン促進効果

細胞生存率

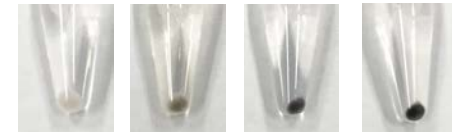
(B16F1メラノーマ 3日間処理)



メラニン含有量

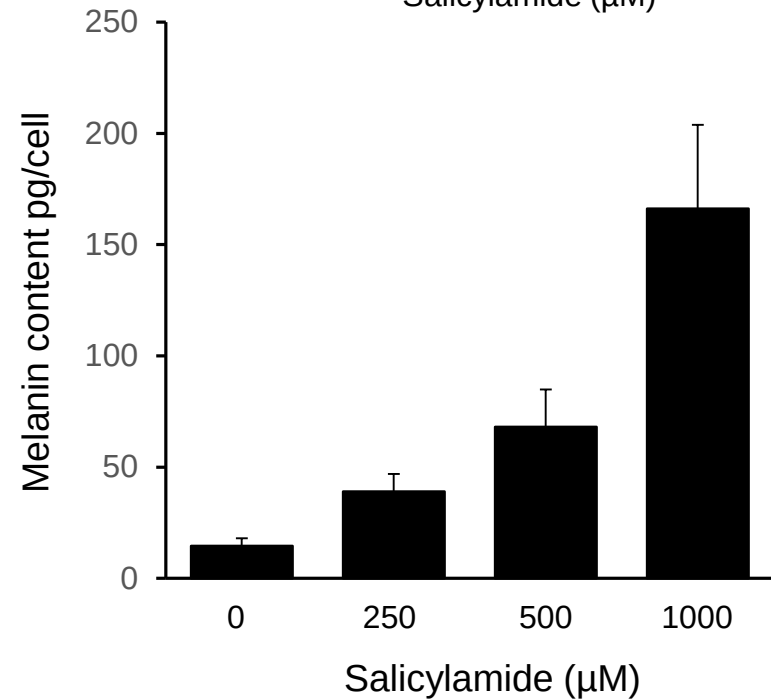
(B16F1メラノーマ 3日間処理)

A



Vehicle control 250 500 1000
Salicylamide (μM)

B

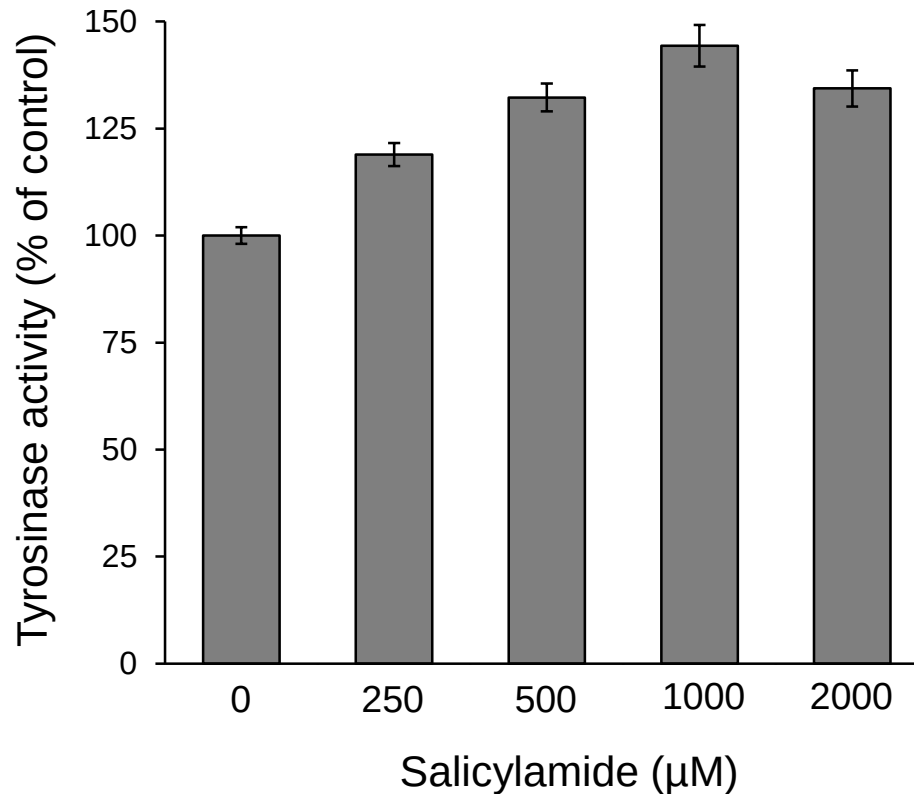




サリチルアミドのメラニン促進効果

チロシナーゼ酵素活性阻害効果

マッシュルームチロシナーゼ阻害効果の評価を行なった。

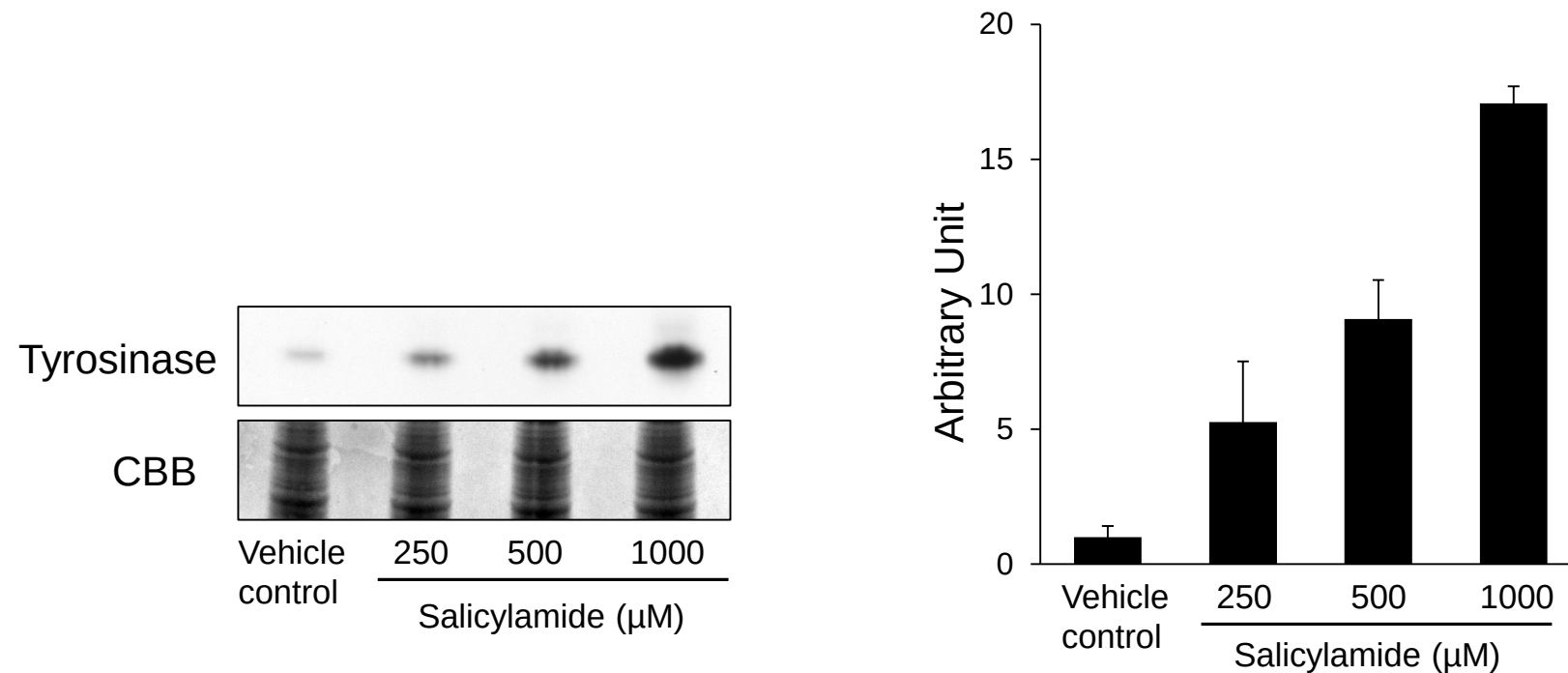




サリチルアミドのメラニン促進効果

細胞内におけるチロシナーゼ活性 (DOPA染色法)

B16F1メラノーマをサリチルアミドで3日間処理し、細胞溶解液をSDS-PAGEで分離後、DOPA染色した

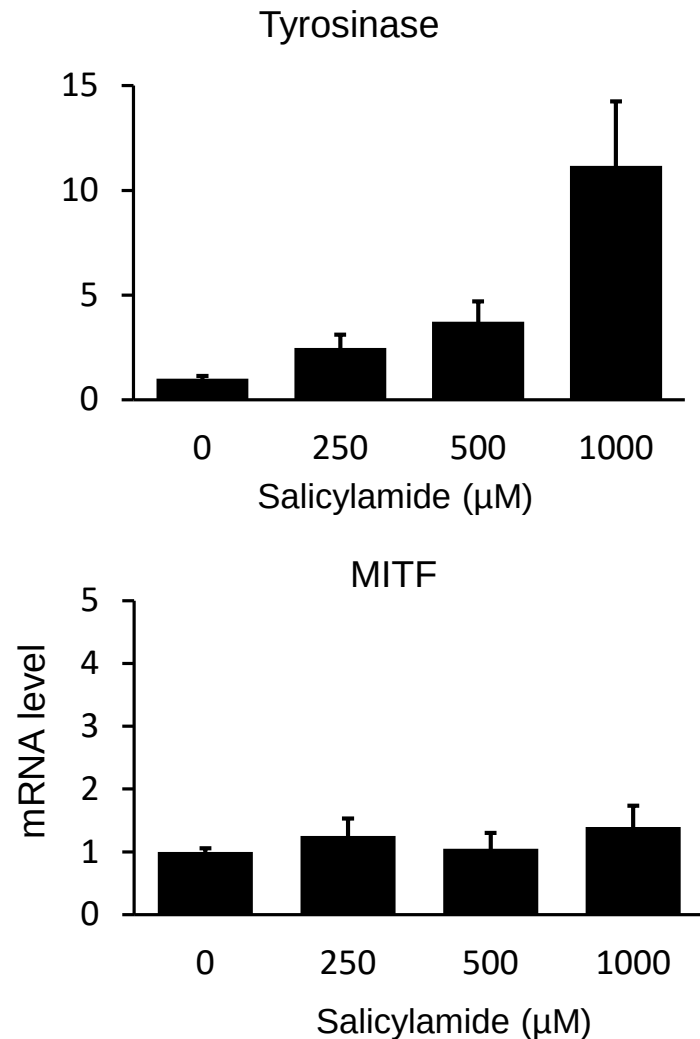
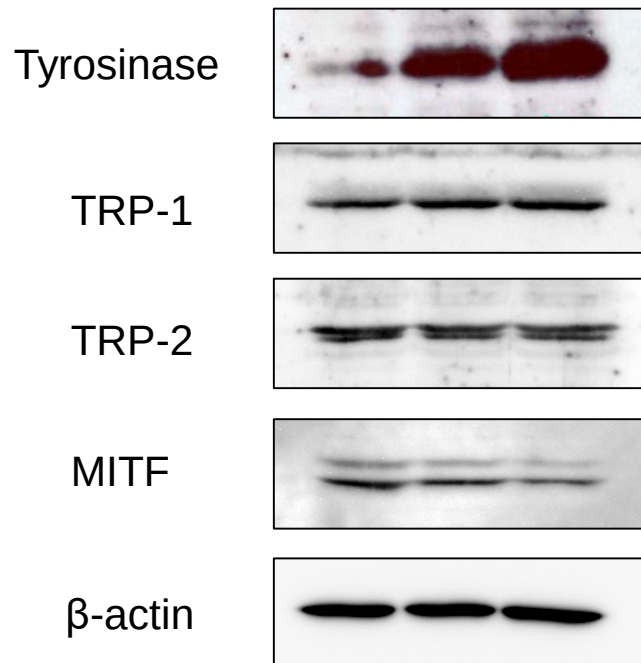




サリチルアミドのメラニン促進効果

リアルタイムRT-PCR

ウェスタンブロッティング





サリチルアミドのメラニン促進効果

サリチルアミドのメラニン生成促進メカニズム

- ✓ 酵素活性の促進効果
- ✓ チロシナーゼタンパクの発現促進効果



メラニン生成促進剤(色調改善剤)としての期待



- 色素沈着のメカニズムとその原因
- 主なメラニン生成阻害剤
- メラニン生成促進剤
- 本発明に関連する研究手法の紹介



今回の発明に関連する研究手法の紹介

■ メラニン生成阻害剤・促進剤の探索

化粧品、美白剤への応用

白髪防止剤

皮膚の色調改善剤などへの応用

■ 皮膚保護効果を有する物質の探索

化粧品への応用

白髪防止剤の応用

■ 細胞死(アポトーシス)を誘導させる物質・手法の確立

抗癌剤としての応用など



今回の発明に関連する研究手法の紹介

■ メラニン生成阻害剤・促進剤の探索

化粧品、美白剤への応用

白髪防止剤

皮膚の色調改善剤などへの応用

■ 皮膚保護効果を有する物質の探索

化粧品への応用

白髪防止剤の応用

■ 細胞死(アポトーシス)を誘導させる物質・手法の確立

抗癌剤としての応用など

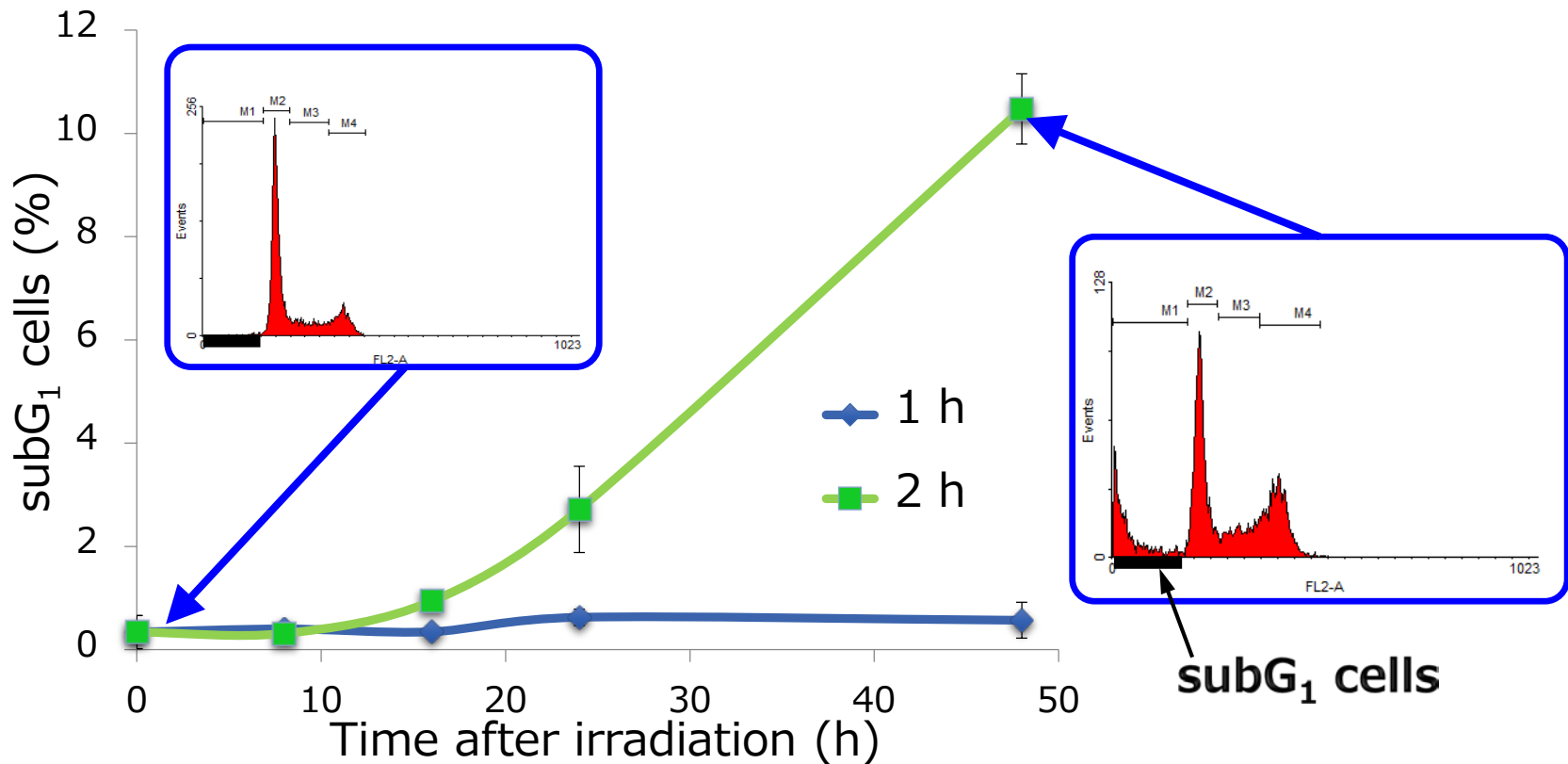


今回の発明に関連する研究手法の紹介

➤ アポトーシス細胞の検出、細胞周期解析

ストレスを軽減させる物質

細胞保護効果を有する物質



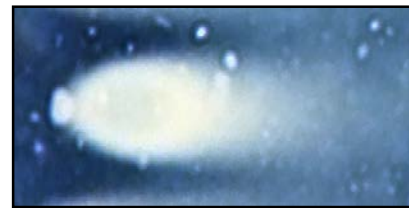
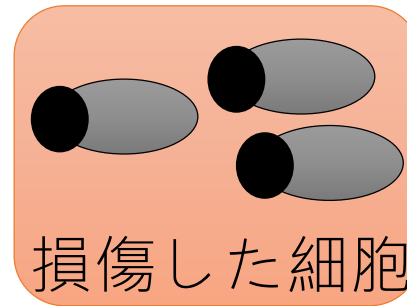
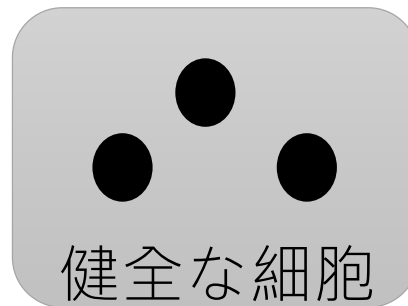
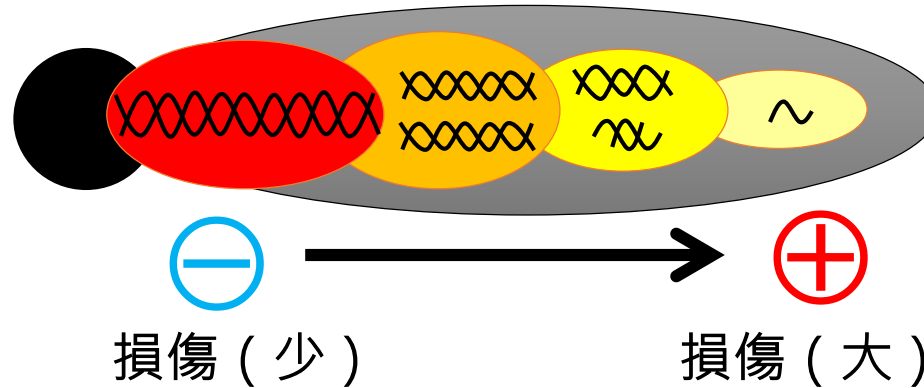


今回の発明に関連する研究手法の紹介

➤ ゲノムDNAの損傷程度を検出 (コメットアッセイ)

ストレスを軽減させる物質の探索

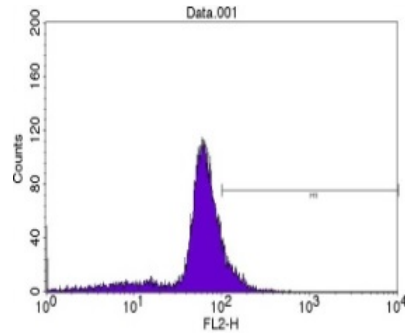
細胞保護効果を有する物質の探索



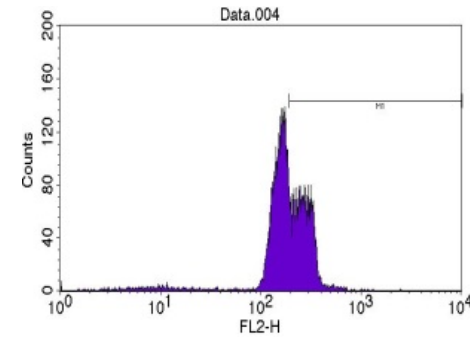


今回の発明に関連する研究手法の紹介

➤ 細胞内ROS量の検出

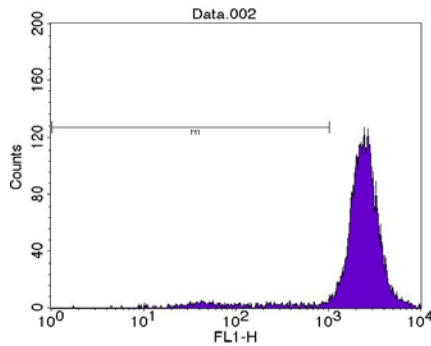


ストレス

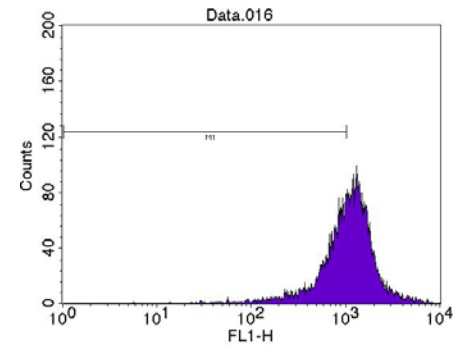


➤ ミトコンドリア膜電位の検出

細胞死に至るストレスを検出



ストレス

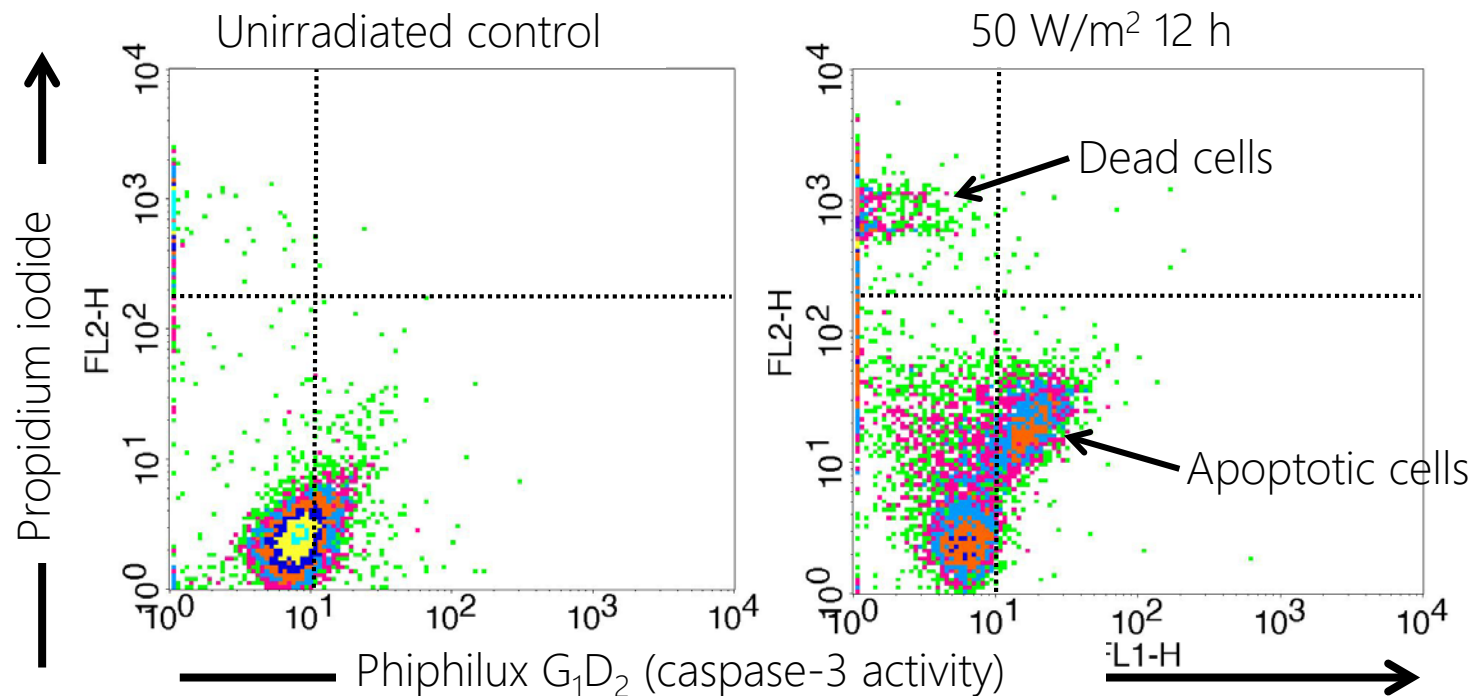




今回の発明に関連する研究手法の紹介

➤ Caspase-3活性の検出

細胞死(アポトーシス)を起こした細胞の検出



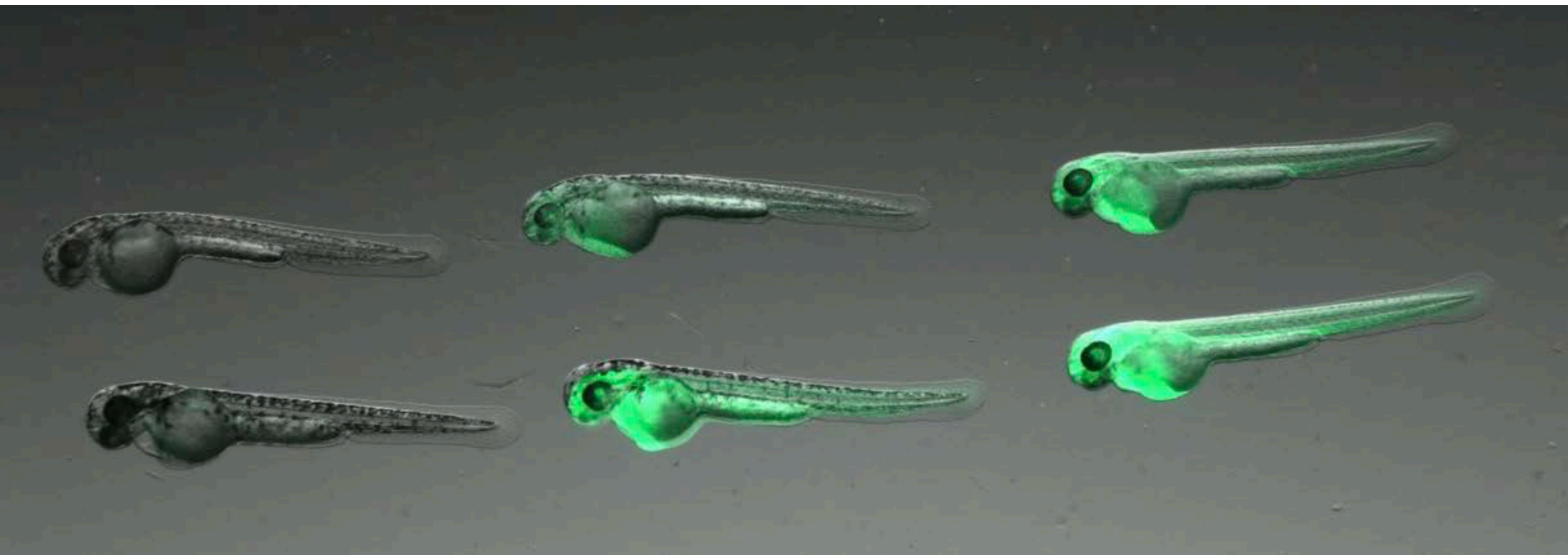


今回の発明に関連する研究手法の紹介

➤ その他：ゼブラフィッシュを利用した研究

変異個体(白色型、p53変異型)を利用した研究

化学物質が動物個体に与える影響について





お問い合わせ先

玉川大学 学術研究所 知的財産本部

TEL : 042-739-8054

FAX : 042-739-8663

e-mail : chizai@tamagawa.ac.jp

