



東北大学



平成23年12月13日
東北大学脳科学グローバルCOE
東北大学大学院生命科学研究科

Varp 分子の新たな機能「樹状突起形成の促進作用」を発見

— メラニン色素のケラチノサイトへの転移に関与 —

【ポイント】

- ・メラニン色素の肌への沈着にはメラノサイトの「樹状突起」からケラチノサイトへのメラニン色素の受け渡しที่สำคัญ
- ・メラニン合成酵素の輸送に必須の因子「Varp」が樹状突起の形成促進にも関与
- ・Varp を欠損すると細胞内メラニン色素量が減少し、樹状突起の形成が阻害

【概要】

国立大学法人東北大学は、メラニン合成酵素の輸送に必須の因子として知られる Varp 分子に「メラノサイトの樹状突起形成を促進」する新たな作用があることを明らかにしました。これは、東北大学大学院生命科学研究科の大林典彦助教、福田光則教授らによる研究成果です。

わたしたちの肌や髪の色源であるメラニン色素は、「メラノサイト」と呼ばれる特殊な細胞でメラニン合成酵素によって合成され、「メラノソーム」と呼ばれる細胞内の袋(小胞)に貯蔵されています。メラニン色素を貯蔵したメラノソームは細胞内を移動し、メラノサイトの「樹状突起」^{*1}から隣接する肌や髪を作る細胞(ケラチノサイトや毛母細胞)に受け渡されて、肌や髪が黒くなります。メラノサイトからケラチノサイトにメラノソームを効率よく受け渡す(転移)ためには、樹状突起の形成が重要と考えられてきましたが、これまでその仕組みは十分に解明されていませんでした。

今回、研究グループはマウスの培養メラノサイトを用いて、この樹状突起形成過程に「Varp (バープ)」^{*2}と呼ばれる Rab (ラブ) 21 活性化因子^{*3}が関与することを突き止めました。これまで Varp はメラノサイトの細胞内で Rab38 と共にメラニン合成酵素の輸送に関与することが知られていましたが^{*4}、Varp の Rab21 活性化の機能を特異的に欠損させたメラノサイトでは、樹状突起の形成が顕著に阻害されることを見いだしました。すなわち、Varp は Rab21 を活性化することにより、樹状突起の形成に必要な膜やタンパク質の突起端への供給に関与することがはじめて明らかになりました。

Varp は肌や髪の色を暗色化に重要な二つのプロセス(メラニン合成酵素の輸送と樹状突起の形成)に関与することから、Varp の機能を阻害あるいは安定化するような薬剤のスクリーニングが進めば、今後、肌の美白の維持や白髪予防につながる可能性が期待できます。

本研究成果は、米国の科学雑誌『*Molecular Biology of the Cell*』電子版に間もなく掲載されます。

【背景】

わたしたちの肌や髪の毛に含まれるメラニン色素は、有害な紫外線から体を守るために重要な役割を果たしていますが、一方でしみやそばかすの原因ともなっています。メラニン色素は、皮膚の基底層と呼ばれる場所に存在する特殊な細胞・メラノサイトでのみ作られ、メラノソームと呼ばれる袋（小胞の一種）に貯蔵されています。成熟したメラノソームはメラノサイトの細胞内を輸送され、樹状突起^{*1}の先端から隣接する皮膚を作る細胞・ケラチノサイトに受け渡されて（転移）、肌の暗色化が起こります（図1）。つまり、メラニン色素をケラチノサイトに受け渡し、正しく沈着させるためには、メラノサイトの樹状突起形成のプロセスが重要と考えられます。しかし、これまでメラノサイトの樹状突起形成の仕組みは十分に解明されていませんでした。

【研究成果】

本研究では、培養メラノサイト（マウス melan-a 細胞）の樹状突起形成に関与する候補分子として、以前わたしたちがメラニン合成酵素の輸送に関わる分子として同定した Varp^{*2}に着目しました。まず、メラノサイトに内在性の Varp 分子の発現を細胞レベルで特異的にノックダウンすることにより、樹状突起の形成に対する影響を検討しました。次に、Varp 分子内に存在する二種類の Rab シグナリングドメイン^{*3} [Rab21 活性化ドメイン（VPS9 ドメイン）及びメラニン合成酵素の輸送に関与する Rab38 エフェクタードメイン（ANKR1 ドメイン）^{*4}] の樹状突起形成への関与を明らかにするため、各ドメインの機能のみを欠損させた変異体（VPS9 変異体及び ANKR1 変異体）を作成し、それらの役割をノックダウン-レスキューアプローチにより評価しました^{*5}。その結果、以下のことを明らかにすることができました（図2及び図3）。

1. Varp 分子を欠損するメラノサイトでは、樹状突起の形成が顕著に阻害されることから（図2A右）、Varp はメラノサイトの樹状突起形成に必須の因子と考えられます。
2. Varp 分子を欠損（ノックダウン）するメラノサイトに野生型の Varp 分子を再び戻してやると、樹状突起の形成が回復（レスキュー）しましたが（図3中央左）、VPS9 ドメインの Rab21 活性化作用を欠損させた VPS9 変異体では樹状突起の形成は回復しませんでした（図3中央右）。
3. 一方、Rab38 の結合能を欠損する ANKR1 変異体では、メラニン合成酵素がメラノソーム上から消失しているにもかかわらず、樹状突起の形成が促進されました（図3右）。

以上の結果から、Varp は分子内に存在する二つの Rab シグナリングドメインの機能を使い分けることにより、「メラニン合成酵素の輸送」と「樹状突起の形成」という二つの異なる輸送プロセスを制御する多機能分子であることが明らかになりました（図4）。Varp のように分子内に複数の Rab シグナリングドメインを持つ分子は他にも報告されていますが、これまでに報告された分子はいずれも異なる Rab シグナリングドメインが協調して一つの輸送経路を制御するものであり、今回の Varp による二つの異なる輸送経路の制御に関する研究成果は、Rab による小胞輸送制御を理解する上でも重要な発見と考えられます。

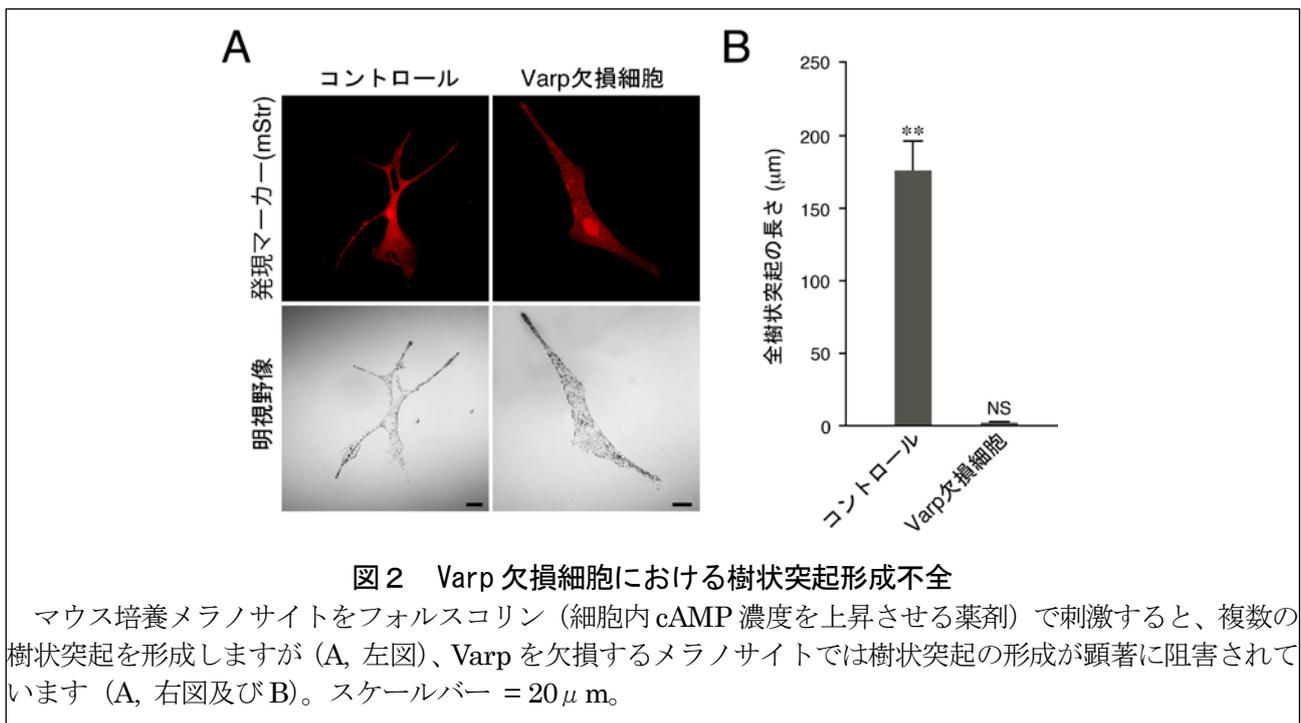
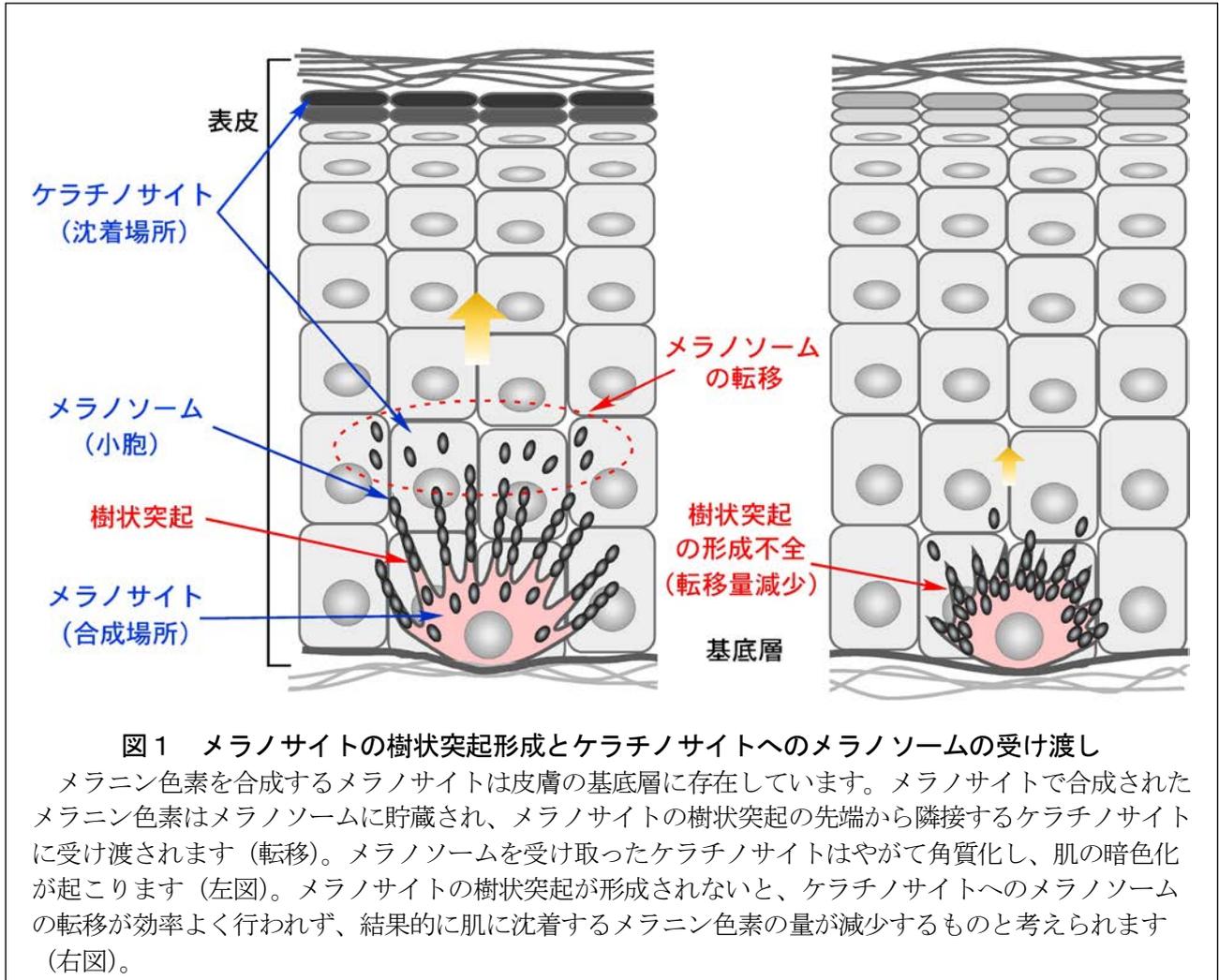
【今後の展開】

紫外線を浴びるとわたしたちの体内ではメラニン合成酵素が活性化され、合成されたメラニン色素が皮膚に沈着し日焼け、しみ、そばかすが発生します。肌の美白維持に関しては、メラニン色素（メラノソーム）の合成、輸送、転移（あるいは樹状突起の形成）のいずれかのプロセスをターゲットにした薬の開発が行われていますが、これまで複数のプロセスを対象にした

研究は行われていませんでした。しかし今回の研究により、Varp を対象とすれば、メラニン合成酵素の輸送レベルとケラチノサイトへの転移のレベルを同時に制御することが可能と考えられます。今後、Varp 分子の機能を阻害あるいは安定化するような薬の開発が進むことが期待されます。

※本研究成果は、文部科学省新学術領域研究細胞内ロジスティクス「リソソーム関連オルガネラの細胞内動態とその破綻による疾患発症の分子基盤」（研究代表者：福田光則 東北大学大学院生命科学研究科教授）、同省グローバル COE プログラム（脳神経科学を社会へ還流する教育研究拠点、代表者：大隅典子 東北大学大学院医学系研究科教授）、及び加藤記念バイオサイエンス研究振興財団・研究助成金「新規 Rab32/38 結合蛋白質によるメラノソーム成熟機構の解析」（研究代表者：福田光則）によるものです。

【図及び説明】



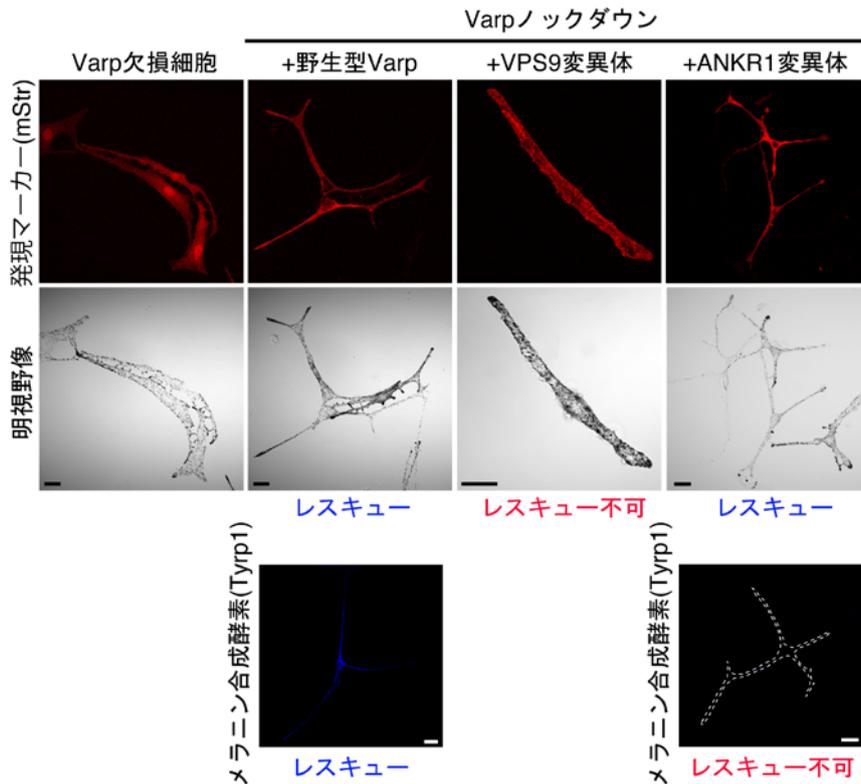


図3 樹状突起形成における Varp の Rab21 活性化 (VPS9) ドメインの役割

Varp を欠損する細胞に野生型の Varp を戻すと樹状突起の形成が回復しますが (上段、中央左)、Rab21 活性化能を欠損した VPS9 変異体 (D310A) では樹状突起の形成は起こりません (上段、中央右)。一方、Rab38 の結合能を欠損した ANKR1 変異体 (Q509A/Y550A) では樹状突起の形成が回復します (上段、右)。

なお、ANKR1 変異体の発現により樹状突起の形成は回復しますが、Rab38 結合能を欠損するため、メラニン合成酵素の輸送は正しく行われず、細胞内からメラニン合成酵素のシグナルが顕著に減少します (下段、右: Varp 欠損細胞を白線で示す)。スケールバー = 20 μ m。

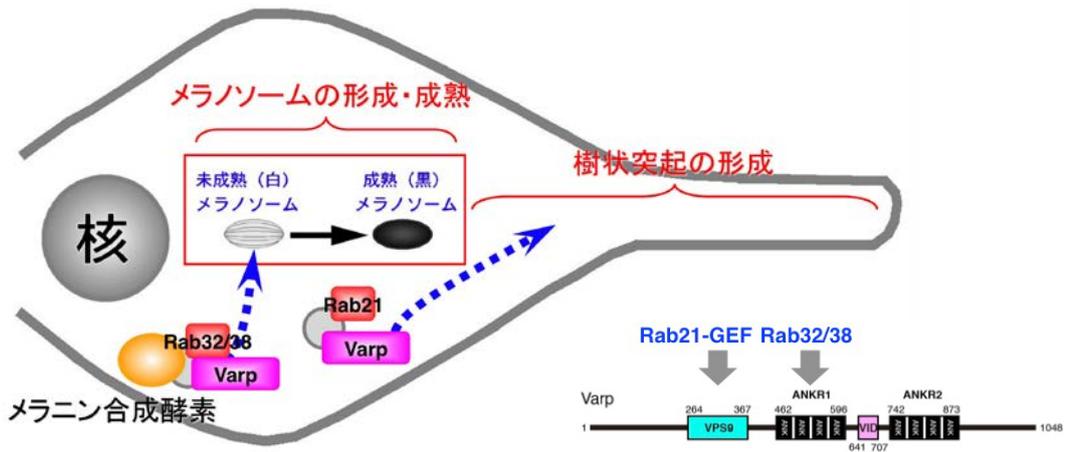


図4 Varp による樹状突起形成とメラニン合成酵素輸送の制御

Varp 分子には Rab21 を活性化する VPS9 ドメインと Rab38 を結合する ANKR1 ドメインが存在し、前者の機能を用いて樹状突起の形成を促進し、後者の機能を用いてメラニン合成酵素の輸送を促進します。このように Varp は二つの異なる輸送プロセスを連携させることにより、効率的な肌の暗色化に貢献するものと考えられます。

【用語説明】

* 1 樹状突起

皮膚の基底層に存在するメラノサイトは、複数の樹状突起（細胞体から樹木の枝のように分岐した複数の突起）をケラチノサイトの細胞層に向かって伸ばし（図1参照）、ここからメラニン色素の詰まったメラノソームをケラチノサイトに受け渡します。しかし、樹状突起の形成や受け渡しの詳細な仕組みはこれまでほとんど分かっておらず、今回樹状突起形成に関わる分子の一つとして Varp が同定されました。

* 2 Varp (バープ)

Varp (VPS9-ankyrin-repeat protein) は分子内に VPS9 ドメインと呼ばれる Rab の活性化ドメイン（グアニンヌクレオチド交換因子）とアンキリンリピートドメイン（様々なタンパク質で見られる、33 アミノ酸の繰り返し配列で、分子間・分子内の相互作用によって機能制御を行うとされています）を二個持つタンパク質です。本研究により、Varp は VPS9 ドメインで Rab21 の活性化（*3 参照）を行い樹状突起の形成を促進し、最初のアンキリンリピート（ANKR1）ドメインで活性化型の Rab38 を結合し（Rab38 のエフェクターとして機能）、メラニン合成酵素の輸送を制御することが明らかになりました（*4 参照）。

* 3 低分子量 G タンパク質 Rab とその制御因子

メラノソームなどの小胞の輸送を適切に行うためには交通整理人（制御タンパク質）の存在が不可欠です。この交通整理人の一つとして酵母から高等哺乳動物のヒトまで普遍的に存在しているのが低分子量 G タンパク質 Rab（ラブ）です。Rab は GTP というヌクレオチドを結合した活性化型と GDP を結合した不活性化型の二つの状態をとり、活性化型の GTP-Rab（例えば GTP-Rab38）がエフェクターと呼ばれる特異的なタンパク質（Varp ANKR1）と結合することにより小胞（メラニン合成酵素）を輸送します。不活性化型の GDP-Rab を GTP-Rab に変換し、活性化を行う酵素をグアニンヌクレオチド交換因子（GEF）と呼び、Varp の VPS9 ドメインは Rab21 の活性化を行います。

従って、Varp は一つの分子内に Rab21 の活性化を行う VPS9 ドメインと活性化型の Rab38 を結合する ANKR1 ドメイン（エフェクタードメイン）を持つ興味深い分子で、今回の研究により二つの Rab シグナリングドメインの機能的な関係が初めて明らかになりました。

* 4 Varp-Rab38 によるメラニン合成酵素の輸送機構

メラノソームの中でメラニン色素を合成するためには、メラニン合成酵素を未成熟メラノソームに正しく輸送することが不可欠です。この過程には、Varp-Rab38 複合体が必須であることが近年明らかにされています。

プレスリリース（2009年4月28日）

「メラニン合成酵素」を輸送する新分子発見 — 新たな美白ターゲットとして期待 —
(http://ja.sendaibrain.org/upload/press_release_v6.pdf)

* 5 RNA 干渉法を用いたノックダウン-レスキューアプローチ

20 塩基程度の二本鎖 RNA を細胞内に発現させると、その配列と相補的な RNA のみが特異的に分解され、その結果、目的のタンパク質の発現を特異的に抑制することができます（RNA 干渉法）。この手法を用いてメラノサイトに内在性の Varp 分子をノックダウンするだけでなく、人為的な塩基の変異を施し RNA 干渉に抵抗性の Varp 分子をメラノサイトに戻すことにより、

得られた表現型（樹状突起の形成不全）をレスキューすることが可能です。

【論文題目】

Ohbayashi, N.*, Yatsu, A.*, Tamura, K.*, and Fukuda, M. (2011) The Rab21-GEF activity of Varp, but not its Rab32/38 effector function, is required for dendrite formation in melanocytes. *Mol. Biol. Cell*, in press (*, equal contribution)

「Varp による Rab21 活性化はメラノサイトの樹状突起形成を促進する」

(お問い合わせ先)

東北大学大学院生命科学研究科

教授 福田 光則 (ふくだ みつのり)

電話番号： 022-795-7731

Eメール： nori@m.tohoku.ac.jp

(報道担当)

東北大学脳科学グローバルCOE

広報・コミュニケーション担当

長神 風二 (ながみ ふうじ)

電話番号： 022-717-7908

ファックス： 022-717-7923

Eメール： f-nagami@med.tohoku.ac.jp