



東北大学

報道機関各位

平成24年7月11日
東北大学大学院生命科学研究科

メラニン色素の『微小管順行性輸送』を制御する分子を遂に発見！

～ メラニン色素を運ぶ三種類の輸送経路の最後の仕組み解明へ～

【ポイント】

- ・メラニン色素は微小管とアクチン線維という細胞内の道路に沿って輸送されるが、最も重要とされる微小管の順行性輸送の仕組みだけが未解明
- ・メラニン色素の「微小管順行性輸送」に関わる分子を初めて同定
- ・この分子の機能を阻害すると微小管順行性輸送が止まり、核周辺でメラニン色素が凝集

【概要】

国立大学法人東北大学は、メラニン色素が微小管に沿って細胞の縁の部分へと輸送される「微小管順行性輸送」を制御する分子を初めて同定しました。これは、東北大学大学院生命科学研究科の石田森衛修士大学院生、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之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、細胞内に張り巡らされた二種類の交通網、微小管とアクチン線維^{*1}に沿って細胞膜まで輸送されます。メラノソームはまず、長距離で両方向（順行性・逆行性）に動く微小管輸送により細胞辺縁部へと運ばれ、次に短距離で一方向にのみ動くアクチン輸送により細胞膜近傍まで輸送されます。わたしたちの肌や髪の色が黒くなるためには、メラノサイトでのこれら三種類の輸送のバランスがとれていることが重要になります。アクチン輸送^{*2}や微小管逆行性輸送^{*3}の仕組みは既に解明されていますが、最後に残された長距離を順方向に動く微小管輸送の仕組みは長らく不明でした。

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、メラノソームの微小管順行性輸送に低分子量Gタンパク質の一種「Rab1A」^{*4}が関与していることを突き止めました。Rab1Aは成熟したメラノソーム上に存在しており、Rab1Aの機能阻害により核周辺でのメラノソームの凝集が引き起こされることが明らかになりました。

今回の発見により、メラノソームの三種類の輸送経路に関わる分子群が出そろいましたので、それぞれの輸送経路を対象とした薬剤スクリーニングが可能になります。今後は複数の薬剤を組み合わせることで、より緻密な肌や毛髪の色化制御が輸送レベルで可能になるものと期待されます

本研究成果は、英国の科学雑誌『*Journal of Cell Science*』電子版に間もなく掲載される予定です。

【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。メラニン色素はメラノサイトと呼ばれる特殊な細胞でのみ合成され、メラノソームと呼ばれる袋(小胞)に貯蔵されています。核の周辺で成熟したメラノソームは、細胞内に張り巡らされた二種類の交通網、微小管とアクチン線維^{*1}に沿って細胞内を輸送され、隣接する皮膚や髪の毛を作る細胞(ケラチノサイトや毛母細胞)に受け渡され、肌や髪の毛の暗色化が起こります。つまり、肌や髪の毛に正しくメラニン色素を沈着させるためには、メラノサイトの内部でのメラニン色素の輸送が重要なプロセスです。メラニン色素は光学顕微鏡でもその動きを観察できることから、メラニン色素の輸送には三種類のタイプが存在することがこれまでに知られています(図1の①~③)。一つはアクチン線維に沿った一方向性の短距離輸送で、残りの二つは微小管に沿った両方向性(順行性・逆行性)の長距離の輸送です。これら三つの輸送のバランスが崩れると、メラニン色素の輸送が正しく行われず色素異常という疾患を発症することになります。実際、低分子量Gタンパク質Rab27Aを欠損すると^{*2}、アクチン輸送の障害と逆行性輸送の増大^{*3}によりメラノソームが核周辺で凝集する(結果的に肌や髪の毛が白くなる)ことが知られています。これまでの研究で、アクチン輸送と微小管逆行性輸送の仕組みは既に解明されていますが、最も重要と考えられる核周辺から細胞辺縁部への長距離の微小管順行性輸送の仕組みは謎に包まれていました。

【研究成果】

本研究では、小胞の輸送の際に荷札的な役割を果たす低分子量Gタンパク質Rabに着目し^{*4}、微小管順行性輸送に関与するRabタンパク質群を網羅的に探索しました。具体的には、ヒトやマウスに存在する全てのRabタンパク質群を対象に、活性化型固定化/不活性化型固定化変異体^{*5}の過剰発現、あるいは内在性Rab分子のノックダウンによりメラノソームの分布に影響を与えるものをスクリーニングしました(図2及び図3)。その結果、以下のことを明らかにすることができました。

1. Rab1Aの活性化型固定化変異体をメラノサイトに過剰に発現すると、メラノソーム上に局在し(図2中段、挿入図の矢頭)、メラノソームの核周辺での凝集が誘導される(図2中段左)。
2. 内在性のRab1A分子もメラノソーム上に存在し、そのノックダウンや不活性化によりメラノソームの核周辺での凝集が引き起こされる(図3)。
3. メラノソームの動態解析により、Rab1Aを欠損するメラノサイトでは、長距離の微小管順行性輸送が阻害される(図4下、赤バー)。

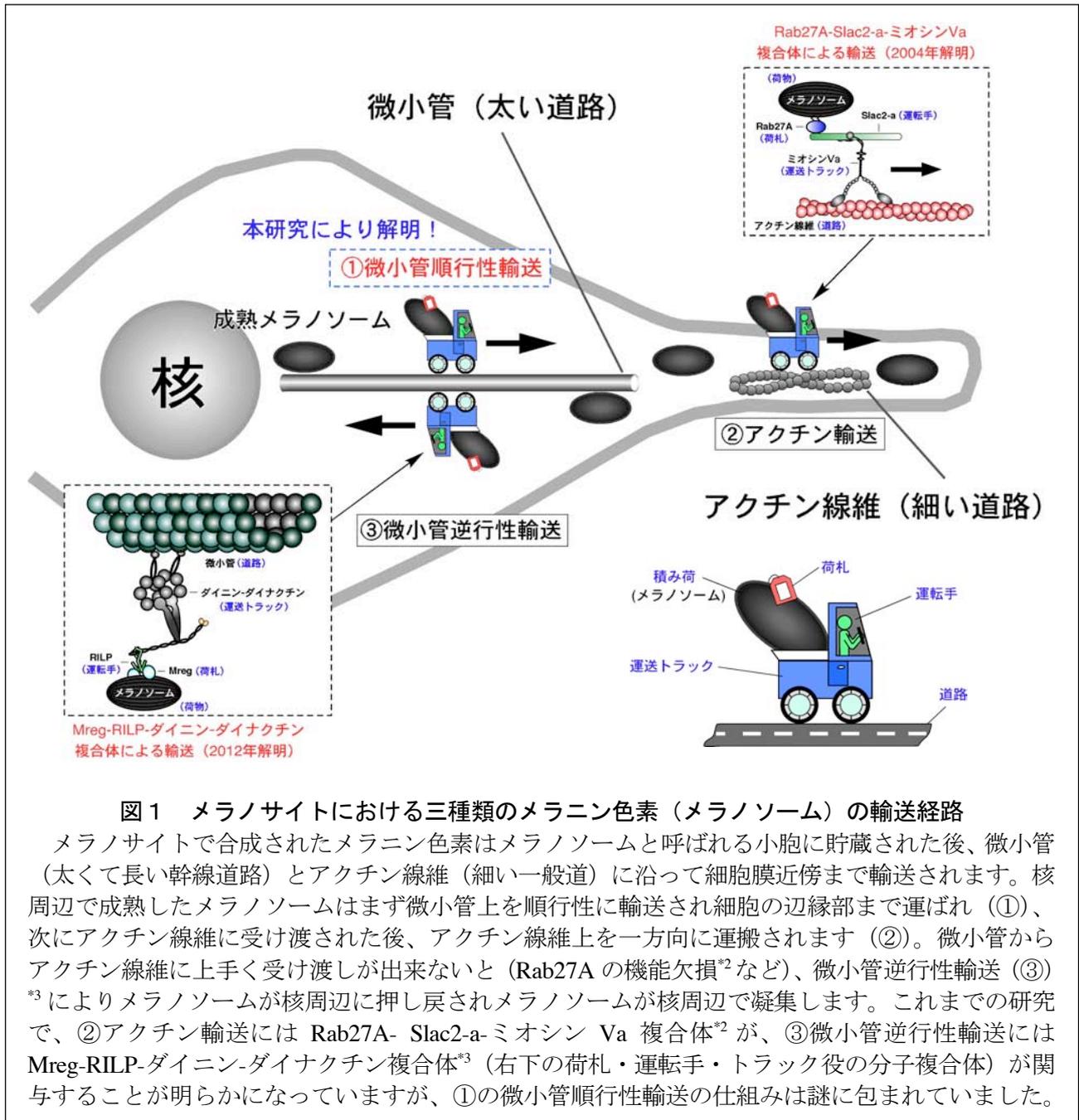
以上の結果から、マウスの培養メラノサイトにおいて微小管順行性輸送を制御する因子としてRab1Aを同定することに初めて成功しました。Rab1Aを欠損するメラノサイトでは、微小管順行性輸送が阻害され、逆行性輸送には影響が無いため(図4)、メラノソームが核周辺で凝集することが明らかになりました。Rab1Aはこれまで線維芽細胞など他の細胞ではゴルジ体と小胞体の間の小胞輸送に関与することが知られていましたが、今回の研究によりメラノサイトにおいては微小管順行性輸送を制御するという特殊な役割を担うという意外な事実も明らかになりました。

【今後の展開】

今回の研究により、Rab1A が微小管順行性輸送を制御することは明らかになりましたが、Rab1A を結合したメラノソームがどのように微小管上を動くのかは完全には理解できていません。メラノソームのアクチン輸送や微小管逆行性輸送においては、「荷札分子 (Rab27A など)」、「運転手役の分子」「運送トラック役のモーター分子」が複合体を形成して、「道路」(アクチン線維や微小管上) を運搬することが明らかになっています (図5右)。今回の発見が突破口となり、荷札役の Rab1A 分子を認識する運転手役の分子や運送トラック役のモーター (キネシン) 分子が近い将来同定されるものと期待されます (図5左)。また今回の発見により、メラノソームの三種類の輸送経路に関わる分子群が出そろいましたので、それぞれの輸送経路をターゲットとした薬剤探索・開発が可能になります。今後は異なる輸送経路に影響を与える複数の薬剤を組み合わせることで、より緻密な肌や毛髪の色化制御が輸送レベルで可能になるものと期待されます。

※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) によるものです。

【図及び説明】



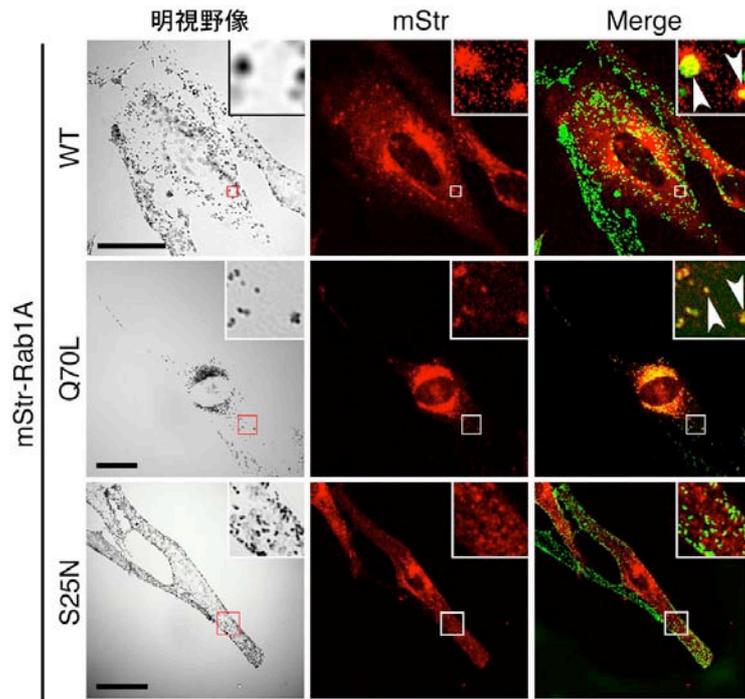


図2 Rab1A分子のメラノソームへの局在化と活性化型固定化変異体によるメラノソーム凝集の誘導
 赤色蛍光タンパク質 (mStr) を融合した Rab1A 分子 (野生型、活性化型固定化変異体(Q70L)、不活性化型固定化変異体(S25N)) をマウス培養メラノサイト (melan-a 細胞) に発現させると、野生型と活性化型固定化変異体 (赤色) では、これまでに報告のあるゴルジ体に加え、メラノソーム上にも局在します (すなわち、活性化型依存的にメラノソームに局在)。また、活性化型固定化変異体を発現する細胞では、核周辺でのメラノソームの凝集が頻繁に観察されます (中段左)。挿入図では、メラノソームに緑色の疑似カラーを付けているため、Rab1A 分子と重なって黄色に見えます (矢頭)。スケールバー = 20 μ m。

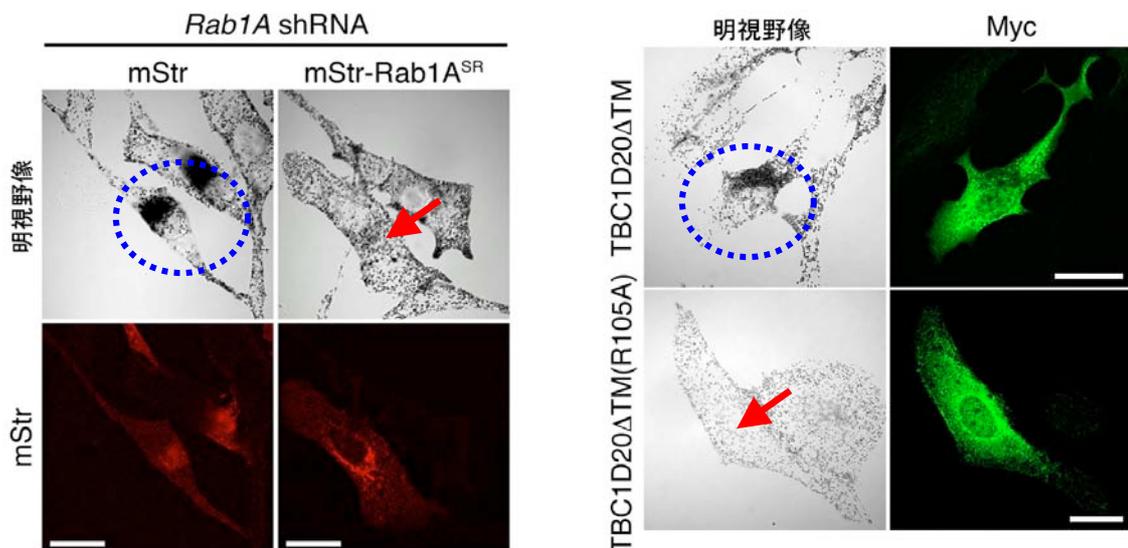


図3 Rab1A分子のノックダウン/不活性化によるメラノソーム凝集の誘導
 RNA 干渉法により Rab1A をノックダウンしたメラノサイト (左図、青丸) あるいは TBC1D20 と呼ばれる Rab1A に特異的な不活性化酵素 (Rab1-GAP) の細胞質領域を過剰発現させたメラノサイト (右図、青丸) では、図2の Rab1A(Q70L)の過剰発現と同様に核周辺でのメラノソームの凝集が観察されます。一方、Rab1A 欠損細胞に Rab1A^{SR} を戻すとメラノソームの分布は復活します (左図、赤矢印)、酵素活性を欠損した R105A 変異体ではメラノソーム凝集は誘導されません (右図、赤矢印)。スケールバー = 20 μ m。

図4 Rab1A分子のノックダウンによる微小管順行性輸送の阻害

Rab1A欠損メラノサイト（上段下側）及びRab27A欠損メラノサイト（アクチン輸送は起こらないが、微小管上の輸送は正常な細胞：上段上側）のメラノソームの動きを一つ一つ追跡することにより、微小管順行性輸送の定量化が可能です。Rab1A欠損メラノサイトでは、Rab27A欠損メラノサイトに比べ、長距離の微小管順行性輸送が顕著に減少していますが（上段中央、下段グラフ）、微小管逆行性輸送には有意な違いは見出されていません（上段右）。スケールバー = 20 μ m。

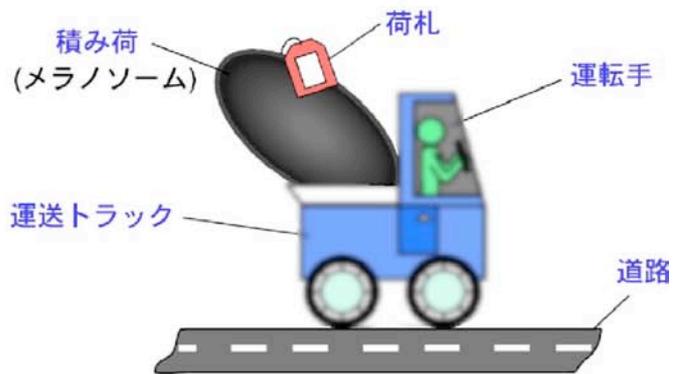
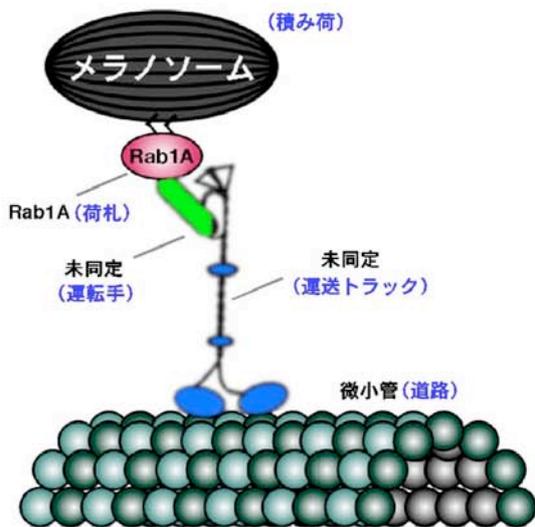
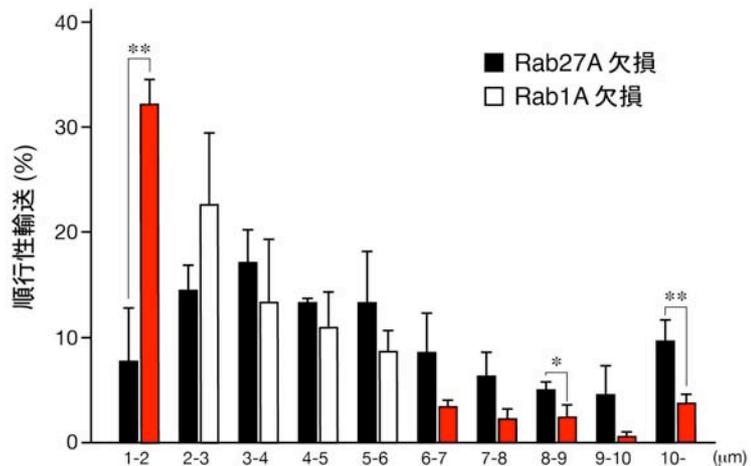
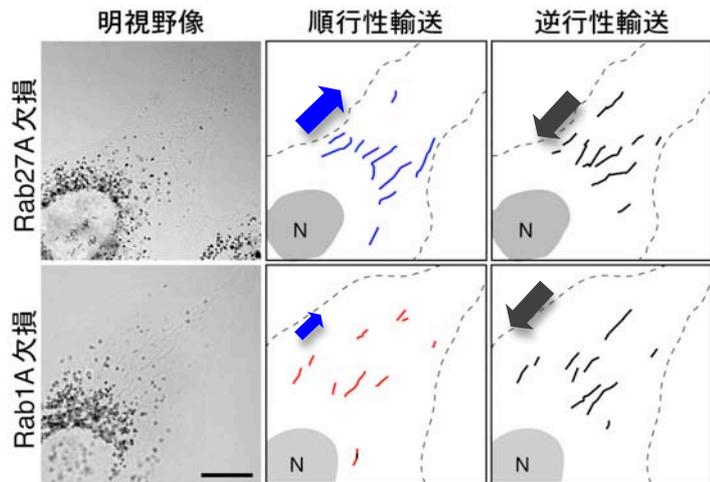


図5 微小管順行性輸送におけるRab1Aの役割（モデル）

成熟メラノソーム上に存在するRab1A分子は荷札役の役割を果たし、まだ未同定の荷札を認識する運転手役の分子と運送トラック役のモーター分子（キネシン）と複合体を形成し（未同定のため、ぼかし入り）、微小管上を順行性（核から細胞辺縁部の方向）に輸送します。今回荷札役のタンパク質が見つかったことで、微小管順行性輸送を行う複合体の解明が急速に進展するものと期待されます。

【用語説明】

* 1 微小管とアクチン線維

細胞内には「細胞骨格」と呼ばれるタンパク質の線維が多数存在しており、細胞の形態を保つだけでなく、メラノソームなどの小胞の運搬用の道路として利用されています。最も太い微小管（図1の太い道路に相当）は、細胞の中心部から放射状に伸びており、両方向（順行性＝細胞の中心から辺縁部方向；逆行性＝細胞辺縁部から中心方向）に輸送されます。一方、最も細いアクチン線維（図1の細い道路に相当）は、細胞の周辺部に多く一方向にのみ輸送されます。細胞骨格上の輸送には運送トラック役のモータータンパク質が必要で、微小管の順行性の輸送には「キネシン」、逆行性の輸送には「ダイニン（*3参照）」、アクチン輸送には「ミオシン」（*2参照）が関与すると一般的に考えられています。

* 2 低分子量Gタンパク質 Rab27Aによるアクチン線維上のメラノソーム輸送

成熟メラノソーム上には、低分子量Gタンパク質の一種 Rab27A（荷札役）が存在し、ここに Slac2-a（運転手役）とモータータンパク質・ミオシン Va（運送トラック役）が結合することにより、メラノソーム（積み荷）のアクチン輸送を行う仕組みが解明されています（図1右上）。この仕組みが損なわれると、微小管からアクチン線維にメラノソームが受け渡されなくなり、微小管逆行性輸送が促進され、メラノソームは核周辺で凝集します（図4上段、左上）。
プレスリリース（2004年11月15日）

『メラニン色素』の輸送メカニズムを解明ー肌や髪の毛が黒くなる仕組みー

(<http://www.riken.jp/r-world/info/release/press/2004/041115/index.html>)

* 3 メラノソームの微小管逆行性輸送

成熟メラノソーム上に存在する Mreg（melanoregulin メラノレギュリン）分子が荷札役として働き、ここに RILP（運転手役）とモータータンパク質・ダイニン-ダイナクチン（運送トラック役）が結合することにより、メラノソーム（積み荷）を細胞辺縁部から核周辺へと逆行性に微小管上を輸送する仕組みが解明されています（図1左下）。Rab27Aを欠損しメラノソームが核周辺で凝集したメラノサイトから Mreg をさらに欠損させると、逆行性輸送が阻害されメラノソームの分布が復活します。

プレスリリース（2012年1月30日）

『メラニン色素』の逆行性輸送の仕組みを解明～白髪予防の新たな分子標的として期待？～

(<http://www.tohoku.ac.jp/japanese/2012/01/press20120130-01.html>)

* 4 低分子量Gタンパク質 Rab（ラブ）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ほ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 です。ヒトやマウスには約 60 種類の Rab タンパク質が存在し、様々な小胞の輸送に関与すると考えられていますが、これまでメラノソームの微小管順行性輸送に関わる Rab タンパク質は同定されていませんでした。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 がエフェクターと呼ばれる特異的なタンパク質（例えば、Slac2-a など運転手役のタンパク質）と結合することにより小胞（メラノソーム）を輸送します。

* 5 Rab の活性化型固定化・不活性化型固定化変異体

Rab の特定の部位にアミノ酸変異を加えることにより、活性化型または不活性化型の片方の状態 (*4 参照) に固定化した変異体を作成することができます。これらの変異体の過剰発現により、特定の小胞の輸送 (ここではメラノソームの輸送・分布) に影響を与えることが可能です。本研究では、Rab1A(Q70L) (70 番目のグルタミンをロイシンに置換) を活性化型固定化変異体として、Rab1A(S25N) (25 番目のセリンをアスパラギンに置換) を不活性化型固定化変異体として使用しています。

【論文題目】

Ishida, M., Ohbayashi, N., Maruta, Y., Ebata, Y. and Fukuda, M. (2012) Functional involvement of Rab1A in microtubule-dependent anterograde melanosome transport in melanocytes. *J. Cell Sci.*, in press

「Rab1A はメラノソームの微小管順行性輸送を制御する」

(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 みつなり)

電話番号: 022-795-7731 (or 022-795-3641)

Eメール: nori@m.tohoku.ac.jp