



東北大学



2012.01.30

Discovery of the retrograde melanosome transport complex in melanocytes

– Expected molecular target for preventing gray hairs?–

[Summary]

Tohoku University has elucidated a mechanism for “microtubule-dependent retrograde melanosome transport”, that is, reversed transport of melanin pigments along the microtubules. This research result has been acquired by Assistant Professor Norihiko Ohbayashi and Professor Mitsunori Fukuda at Graduate School of Life Sciences, Tohoku University.

Melanin pigments, sources of our skin color and hair color, are synthesized by melanogenic enzymes in melanocytes, and are stored in specialized organelles called melanosomes. Mature melanosomes are transported to the plasma membrane, along two kinds of cytoskeletal networks, microtubules and actin filaments. First, melanosomes are delivered to the peripheral area in the cell by long-distance and bidirectional (anterograde and retrograde) microtubule-dependent transport.

Next, melanosomes are conveyed close to the plasma membrane by short-distance one-way actin-dependent transport. Melanosomes are eventually transferred to neighboring keratinocytes and hair matrix cells, which produce skin and hairs, respectively. This process makes skin and hairs black. Although the mechanism of actin-dependent melanosome transport by small GTPase Rab27A had been revealed, long-distance microtubule-dependent melanosome transport has not been elucidated at all.

In this study, the research group has uncovered that a transport complex including melanoregulin (Mreg) is involved in the process of microtubule-dependent retrograde melanosome transport, by using cultured mouse melanocytes. It has been revealed that Mreg on mature melanosomes forms a complex with dynein, a kind of motor protein, via Rab interacting lysosomal protein (RILP) and transports melanosomes in a retrograde fashion, that is, from near the plasma membrane to the perinuclear area in the cell.

This study has revealed that Mreg deficiency nearly restores melanosome distribution from perinuclear melanosome aggregation in Rab27A-deficient melanocytes. Hence,

screening of medical agents inhibiting Mreg functions will lead to prevent our hairs from becoming gray.

The research result has been published online in The Journal of Cell Science. The paper's title is "Melanoregulin regulates retrograde melanosome transport through interaction with the RILP•p150^{Glued} complex in melanocytes".

[Contact]

(About the research)

Professor Mitsunori Fukuda

Graduate School of Life Sciences, Tohoku University

TEL: +81-22-795-7731

E-mail: nori*m.tohoku.ac.jp (Replace * with @)

(Public Relations)

Associate professor Fuji Nagami

Tohoku Neuroscience Global COE

Tel: +81-22-717-7908 Fax: +81-22-717-7923

E-mail: f-nagami*med.tohoku.ac.jp (Replace * with @)

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（小胞の一種）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（図1）。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と考えられます。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。面白いことに、**Rab27A** を欠損するため遺伝的に毛並みが白いマウス (*ashen*) に、さらにもう一つ遺伝的変異 (*dsu: Mreg* (メラノレギュリン)^{*3} の欠損) が加わると毛並みが黒く回復することが30年ほど前に報告されています。この毛並み回復には **Mreg** による微小管輸送制御の関与が示唆されていましたが、長距離・両方向に動く微小管輸送の仕組みが全く解明されていなかったため、**Mreg** 欠損による毛色の回復の仕組みは長い間謎に包まれていました。

【研究成果】

本研究では、メラノソームの分布が正常なメラノサイト（コントロール細胞：図2、写真左上）、及び遺伝的に **Rab27A** を欠損するためメラノソームが核周辺で凝集している培養メラノサイト（**Rab27A** 欠損細胞、図2、写真中央上）の二種類の細胞を用いて、**Mreg** の微小管輸送への関与を検討しました。具体的には、正常メラノサイトへの **Mreg** の過剰発現、あるいは

Rab27A 欠損細胞での Mreg 分子（あるいは Mreg 結合分子や逆行性モーター分子^{*4}）のロックダウンを行った際の、メラノソーム分布への影響を評価しました。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. Mreg 分子は成熟メラノソーム上に存在し(図3)、正常メラノサイトへの過剰発現により、メラノソームの核周辺での凝集が引き起こされる(図2、写真左下)。
2. Rab27A 欠損メラノサイトにおいて、Mreg 分子をロックダウンすると、メラノソームの分布がほぼ回復する(図2、写真右上)。
3. Mreg は RILP (Rab interacting lysosomal protein : リルプ) との直接結合を介して、逆行性微小管モーター分子であるダイニン-ダイナクチン複合体と相互作用する(図4左)。

以上の結果から、成熟メラノソーム上に存在する Mreg 分子は、まず RILP と直接結合し、次にこの RILP を介して逆行性モーター分子・ダイニン-ダイナクチン複合体をリクルートすることにより、メラノソームを逆行性(細胞辺縁部から核の方向)に輸送することが明らかになりました(図4左)。例えてみると、Mreg はメラノソームを逆行性に輸送する際の「荷札」の役割を果たし、この荷札を「運転手役の RILP」が認識して、「運送トラック役のダイニン-ダイナクチン複合体」に積み込み、「微小管で出来た道路」を輸送すると考えられます(図4右の模式図)。

Rab27A を欠損するメラノサイトでは、微小管からアクチン線維にメラノソームを受け渡すことが出来ないため、Mreg-RILP-ダイニン-ダイナクチン複合体の機能により、メラノソームが核方向へと押し戻され、核周辺で凝集すると考えられます。このため、Rab27A を欠損するメラノサイトで Mreg の機能も阻害されると、順行性微小管輸送(仕組みは未解明)が優位となり、メラノソームの分布が回復します。

【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はメラノソームに貯蔵された後、細胞内を輸送され、最終的に肌や髪の毛に沈着します。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)をターゲットにした阻害薬の探索・開発が行われていますが、メラノソームの輸送促進というコンセプトでの薬剤探索はこれまで行われていませんでした。今回わたしたちが明らかにした逆行性メラノソーム輸送機構を担う Mreg 分子は、正にこのコンセプトに合致する分子標的と考えられます。今後、Mreg 分子の機能を阻害するような薬の開発が進めば、将来的に白髪防止・予防への応用も期待されます。

※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)、及び同省グローバル 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)によるものです。

【図及び説明】



図1 メラノサイトにおけるメラニン色素（メラノソーム）の動き

メラノサイトで合成されたメラニン色素はメラノソームと呼ばれる袋（小胞）に貯蔵され（ステップ①）、微小管とアクチン線維に沿って細胞膜近傍まで輸送されます（ステップ②～④）。細胞膜につなぎ止められたメラノソーム（ステップ⑤）は最終的に隣接するケラチノサイトに受け渡されます（ステップ⑥）。メラノソームは微小管上を両方向（順行性・逆行性）に、アクチン線維上を一方方向に運搬され、後者に関しては Rab27A-Slac2-a-ミオシン Va 複合体（図のトラック役の分子複合体）による輸送の仕組み^{*2}が明らかになっていますが、前者の微小管輸送の仕組みはこれまで謎に包まれていました。

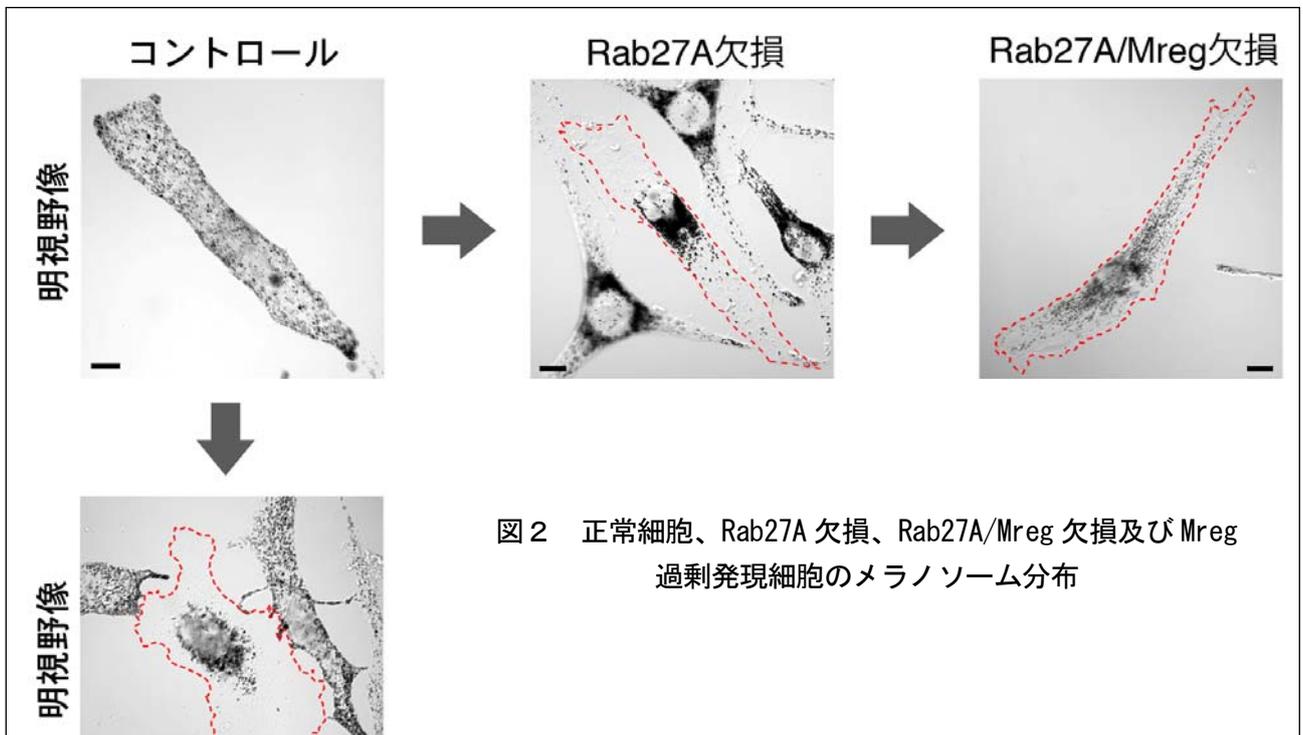


図2 正常細胞、Rab27A 欠損、Rab27A/Mreg 欠損及び Mreg 過剰発現細胞のメラノソーム分布

正常マウス培養メラノサイト (melan-a 細胞:左上) から Rab27A 分子を欠損すると核周辺でのメラノソームの凝集が起こりますが (中央上)、ここからさらに逆行性微小管輸送に参与する Mreg 分子を欠損するとメラノソームの細胞膜周辺での分布がほぼ回復します (右上)。一方、正常細胞に Mreg 分子を過剰に発現すると、逆行性微小管輸送が促進され、メラノソームが核周辺で凝集します (左下)。スケールバー = 20 μ m。

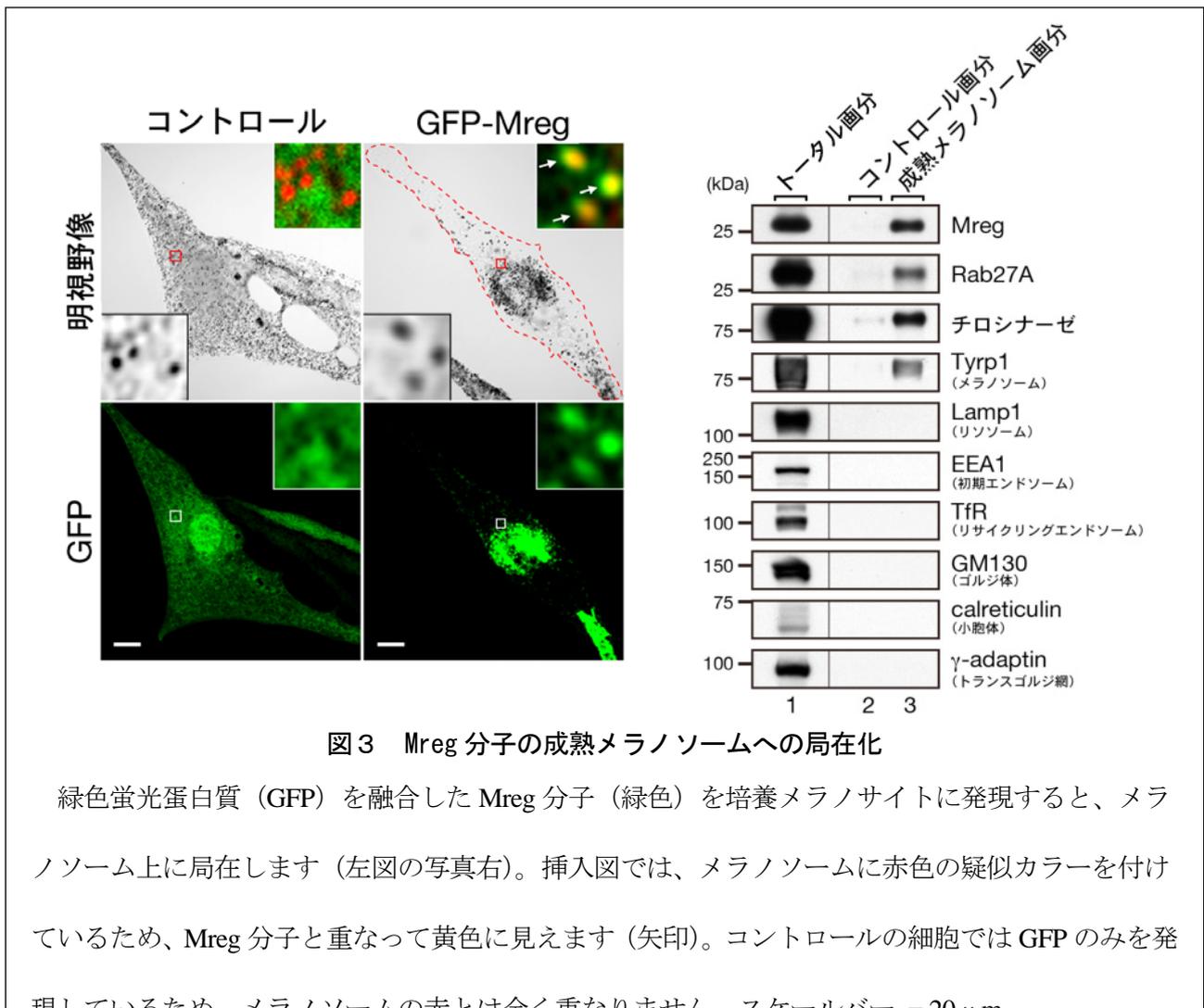


図3 Mreg 分子の成熟メラノソームへの局在化

緑色蛍光蛋白質 (GFP) を融合した Mreg 分子 (緑色) を培養メラノサイトに発現すると、メラノソーム上に局在します (左図の写真右)。挿入図では、メラノソームに赤色の疑似カラーを付けているため、Mreg 分子と重なって黄色に見えます (矢印)。コントロールの細胞では GFP のみを発現しているため、メラノソームの赤とは全く重なりません。スケールバー = 20 μ m。

成熟メラノソームを生化学的に単離すると、ここにはメラニン合成酵素 (チロシナーゼや Tyrp1)、アクチン輸送を行う Rab27A、逆行性微小管輸送を行う Mreg 分子が含まれていますが、他のオルガネラ (膜画分) のマーカーは含まれていません。

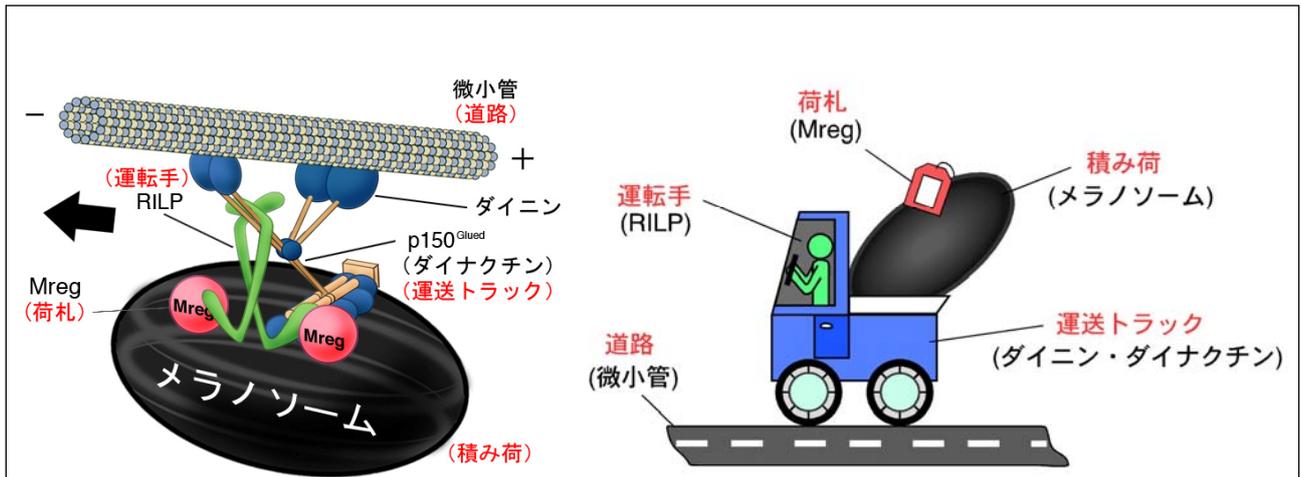


図4 逆行性微小管輸送を行う Mreg 複合体のモデル図

成熟メラノソーム上に存在する Mreg 分子は、RILP を介して逆行性モーター分子・ダイニン-ダイナクチンと複合体を形成し、微小管上を逆行性（細胞辺縁部から核の方向）に輸送する（左）。

例えてみると、メラノソーム上の「荷札」役の Mreg を「運転手役の RILP」が認識し、「運送トラック役のダイニン-ダイナクチン」にメラノソーム（積み荷）を積み込み、「微小管で出来た道路」

を輸送します（右）。

【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せん。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-ダイナクチン（*4参照）」、アクチン輸送には「ミオシン」（*2参照）が関与すると考えられています。

* 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。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、結果的にメラノソームは核周辺で凝集します（図2中央上）。

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 -肌や髪の毛が黒くなる仕組み-

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

* 3 Mreg (melanoregulin メラノレギュリン)

Rab27A の欠損により毛色が白くなったマウスの毛色を元の黒色に戻す変異 (*dsu*, *dilute suppressor*) が 30 年ほど前に報告されています。2004 年に *dsu* の原因遺伝子産物が同定され、Mreg と命名されましたが、214 アミノ酸からなる小さな分子で既知のタンパク質とは相同性が無かったため、その機能はこれまで明らかではありませんでした。

* 4 逆行性モーター分子

ATP の加水分解のエネルギーを用いて微小管上を逆行性（細胞辺縁部から中心部方向：正確には微小管のプラス端からマイナス端方向）に輸送するモータータンパク質の複合体で、その実体はダイニン-ダイナクチン複合体です。ダイニンはモーター分子の本体で、ダイナクチンは複数のタンパク質のサブユニットからなり、微小管と結合する部分、ダイニンと結合する部分、RILP と結合する部分 (p150^{Glued}) からなります。

【論文題目】

Ohbayashi, N.*, Maruta, Y.*, Ishida, M. and Fukuda, M. (2012) Melanoregulin regulates retrograde melanosome transport through interaction with the RILP-p150^{Glued} complex in melanocytes. *J. Cell Sci.*, in press (*, equal contribution)

「メラノレギュリンは RILP-p150^{Glued} と複合体を形成してメラノソームの逆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