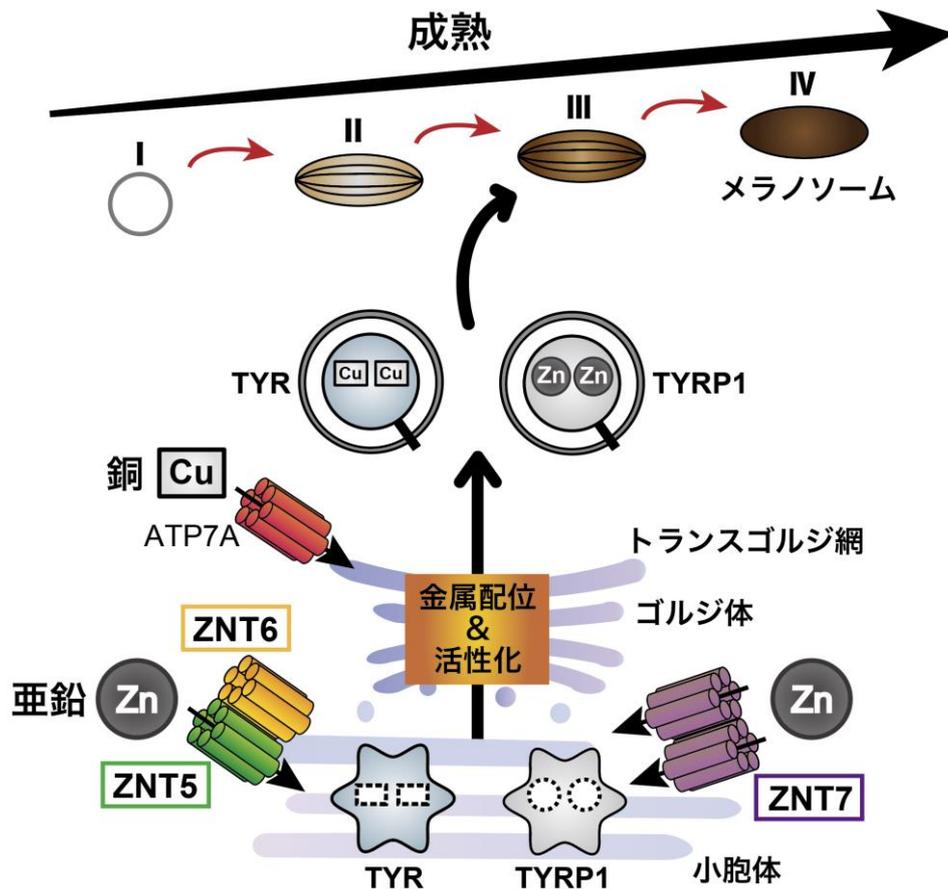


## メラニン生成には、亜鉛も必要だった！

### 概要

メラニンは紫外線から肌を守る重要な物質です。一方で過剰なメラニンはシミの原因となるため、メラニン生成を抑制する成分は美白化粧品に使用されています。メラニンの生合成にはチロシナーゼと呼ばれる酵素群が機能することが知られており、チロシナーゼの活性化には銅が重要であることが知られていました。神戸大 朋 京都大学大学院生命科学研究科准教授、我妻拓実 同博士課程学生、木下政人 京都大学大学院農学研究科准教授、安藤秀哉 岡山理科大学教授、橋本寿史 名古屋大学講師、Michael J. Petris ミズーリ大学教授らの研究チームは、メダカと培養細胞を用いて、メラニン生合成には銅のみならず亜鉛が重要な役割を果たすことを世界で初めて明らかにしました。これは、70年以上前より銅のみが重要であると信じられてきたメラニンの生合成に、他の金属も必要であることを明確に示した成果になります。

本研究成果は、2023年4月18日（火）18時（日本時間）に国際学術誌「*Communications Biology*」にオンライン掲載されました。

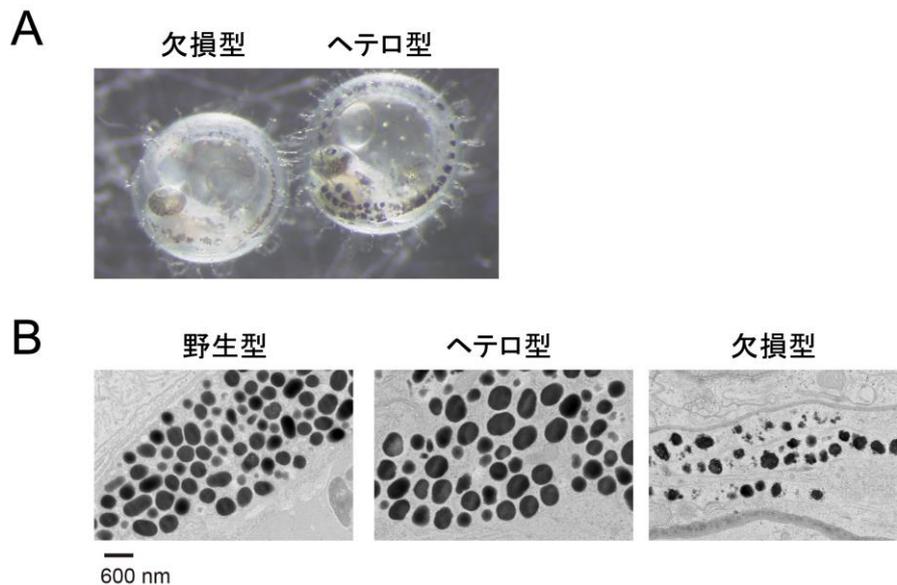


## 1. 背景

メラニンとは、皮膚や毛髪、目の虹彩の色を決める主要な色素です。体内では、黒色を呈するユーメラニンと、赤橙色を呈するフェオメラニンの2種類が合成され、これらの含有量と比率によって皮膚や毛髪の色調が決定されています。メラニンは、紫外線などから身を守るために重要な役割を果たしています。メラニンは、メラノサイトと呼ばれる細胞のメラノソームと呼ばれる小器官でアミノ酸のチロシンを出発点に生合成されており、このメラニンの生合成には、3つのメラニン合成酵素：チロシナーゼ (Tyrosinase; TYR)、チロシナーゼ関連タンパク質 1 (Tyrosinase related protein 1; TYRP1) およびチロシナーゼ関連タンパク質 2 (Tyrosinase related protein 2; TYRP2) が働くことが知られています。TYR が機能しなくなるとアルビノになり、TYRP1 が機能しなくなると色調がブラウン調に変化することが知られています。

## 2. 研究手法・成果

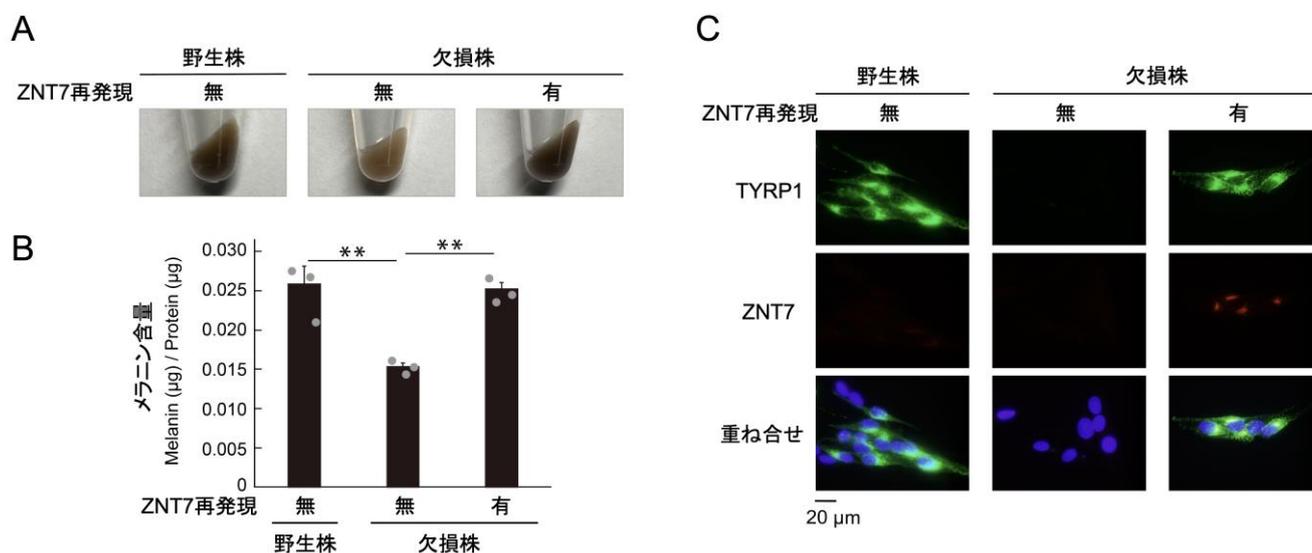
研究チームはこれまで、小胞体やゴルジ体に局在する2つの亜鉛トランスポーター複合体 (ZNT5-ZNT6 ヘテロ二量体および ZNT7 ホモ二量体) が、いくつかの亜鉛酵素に亜鉛を供給する役割を果たすことを報告してきました。その研究の途中で作出した両 ZNT 複合体欠損メダカにおいて、野生型メダカと比較して色調が薄くなることを見出し、メダカ体内に含まれるメラニン量を定量してみると、大きく減少していることを発見しました。電子顕微鏡にて観察すると、欠損メダカではメラニン合成の場であるメラノソームが未成熟な様子が観察され、両 ZNT 複合体がメラニン合成に関与することが示唆されました (図1)。



**図1. 両 ZNT 複合体欠損メダカの写真.** ZNT5-ZNT6 ヘテロ二量体および ZNT7 ホモ二量体の機能を欠損させたメダカでは、色調がブラウン調に薄くなっている (A)。また、欠損型メダカではメラノサイト内のメラノソームが未成熟になっている (B)。なお、野生型メダカとヘテロ型メダカは同一の表現型を示す。

次に両 ZNT 複合体のメラニン合成への寄与について詳細に解析するため、ヒトメラノーマ細胞において、両 ZNT 複合体欠損株を作製しました。回収した野生型メラノーマの細胞ペレットは黒色を呈する一方、欠損メラノーマ株では色調が薄くなりブラウン調を呈しており、これに呼応するように、細胞中に含まれるメラニン量も減少していました (図2 A, B)。このようなブラウン調への色調変化は、TYRP1 に変異を持つ動物でも観察されたことから、3つのメラニン合成酵素の解析を行ったところ、TYRP1 の発現が消失することが明らかになりました。また、両 ZNT 複合体欠損株に ZNT 複合体を恒常的に再発現させた細胞株においては、ブラ

ウン調に変化した細胞の色調が黒く回復し、内在性 TYRP1 の発現も回復しました (図 2 C)。別途作製した TYRP1 欠損株は両 ZNT 複合体欠損株と同様にブラウン調を呈しており、細胞中のメラニン量も両 ZNT 複合体欠損と TYRP1 欠損による減少量は同程度になりました。これらの結果は、両 ZNT 複合体は TYRP1 の発現を介してメラニン合成に寄与することを示しています。



**図 2. 両 ZNT 複合体欠損メラノーマ株の解析結果.** ZNT5-ZNT6 ヘテロ二量体および ZNT7 ホモ二量体の機能を欠損させたメラノーマ株では、色調がブラウン調に薄くなり (A)、メラニン含量が低下する (B)。また、両 ZNT 複合体欠損メラノーマ株では、TYRP1 の発現が消失する (C)。この写真では、欠損メラノーマ株に ZNT7 の発現 (赤色で検出) を回復させると、TYRP1 の発現 (緑色で検出) が回復していることがわかる。重ね合わせの写真において青色で染色されているのは細胞の核になる。

さらに、両 ZNT 複合体の機能に関して詳細に解析するために、別のヒトメラノーマにおいても両 ZNT 複合体欠損株を作出し、TYRP1 を一過的に過剰発現させると、その発現が消失しましたが、両 ZNT 複合体を同時に再発現させることで、消失した TYRP1 の発現が回復することがわかりました。この TYRP1 の発現の回復は、亜鉛輸送能を持たない両 ZNT 複合体の変異体の再発現ではみとめられませんでした。これらの結果を考え合わせると、両 ZNT 複合体が輸送する亜鉛が TYRP1 の発現に不可欠であると判断できます。

以上の解析結果より、従来、銅が結合して機能すると考えられてきた TYRP1 の発現には 2 つの亜鉛トランスポーター複合体が輸送する亜鉛が不可欠であり、亜鉛は TYRP1 発現を介してメラニン生合成において重要な機能を果たすことが明らかになりました。これは、70 年以上前より銅のみが重要であると信じられてきたメラニンの生合成に、亜鉛も重要な役割を果たすことを明確に示した世界初の事例となります。

### 3. 波及効果、今後の予定

多くの美白化粧品には、TYR の銅をキレートする成分が含まれています。同様のアプローチで TYRP1 の亜鉛をキレートする成分を活用することで、黒色を呈するユーメラニンの生成を抑えることができる新たな化粧品の創成につながるが考えられます。また、メラニンの生成は養殖魚の黒変などとも関連するため、黒変が問題となる食材料の改良などにも応用展開されていくと考えています。

#### 4. 研究プロジェクトについて

本研究は、文部科学省科学研究費助成事業 新学術領域研究「細胞内生命金属動態を制御するタンパク質メタレーション, JP19H05768」、日本学術振興会科学研究費補助金 基盤研究(B)「メラニン合成に必須となるチロシナーゼファミリーの配位金属識別機構とその生理的意義, JP22H02257」、公益財団法人コーセーコスメトロジー研究財団、公益財団法人長瀬科学技術振興財団、花王メラニン研究会、一般財団法人リディアオリリー記念ピアス皮膚科学振興財団の支援のもとに行なわれました。

##### <用語解説>

メラノソーム：皮膚の基底層に存在するメラノサイトと呼ばれる特殊な細胞内に存在するオルガネラであり、その内腔でメラニン色素が合成・貯蔵されている。

アルビノ：メラニン生合成に関わる遺伝情報の欠損により先天的にメラニンが欠乏する遺伝子疾患またはその症状を呈する個体のこと。

##### <研究者のコメント>

TYR と TYRP1 は 70%以上のアミノ酸配列が一致しており、金属が結合すると予想されるアミノ酸残基も全く同じですが、TYR は銅酵素として、TYRP1 は亜鉛酵素として機能することがわかりました。このように見た目がそっくりなタンパク質が銅と亜鉛という全く異なる金属をどのように識別しているのでしょうか。生体内で機能するタンパク質の 30%には金属が結合していますが、それぞれのタンパク質が、どのようにして正しい金属を探し当て、結合するのかについては、ほとんど明らかにされていません。今後の解析では、メラニン生合成に関わる新たな知見を明らかにするとともに、銅と亜鉛にとどまらず、生体と様々な金属の巧妙な関係性を明らかにしていきたいと考えています。

##### <論文タイトルと著者>

タイトル Pigmentation and TYRP1 expression are mediated by zinc through the early secretory pathway-resident ZNT proteins (色素形成と TYRP1 の発現は、初期分泌経路局在型 ZNT タンパク質により輸送された亜鉛により媒介される)

著者 Takumi Wagatsuma, Eisuke Suzuki, Miku Shiotsu, Akiko Sogo, Yukina Nishito, Hideya Ando, Hisashi Hashimoto, Michael J. Petris, Masato Kinoshita and Taiho Kambe

掲載誌 *Communications Biology*

DOI <https://doi.org/10.1038/s42003-023-04640-5>