

メラニン生成酵素チロシナーゼの翻訳後修飾によるメラニン生成調節作用メカニズム

仁木 洋子*1

1. はじめに

近年、色素沈着メカニズムの解明が進み、美白剤開発における研究ターゲット（作用点）は、メラニン色素を生成する色素細胞（メラノサイト）のみならず、周辺の表皮ケラチノサイトや真皮ファイibroブラストに広がっている。しかしながら、現在、日本の医薬部外品（薬用化粧品）に主剤として認可されている美白有効成分の多くはメラノサイトで作用し、メラニン生成経路の鍵酵素であるチロシナーゼをターゲットにしている。その多くは、アルブチンやコウジ酸などのチロシナーゼ活性阻害剤であるが、チロシナーゼの成熟阻害、分解促進をメカニズムとする美白剤も開発されている。本稿では、はじめにチロシナーゼのタンパク質合成と成熟、分解過程でチロシナーゼが受ける種々の翻訳後修飾の概略を解説する。次いで、脂質修飾の1種であるS-パルミトイル化によるメラニン生成制御について紹介する。

1. 1. メラニン生成酵素チロシナーゼの翻訳後修飾

メラニン色素はヒト皮膚色を決定する最も重要な色素であり、ヒト表皮最下層の基底層に存在するメラノサイトにおいて、特有の細胞小器官メラノソーム内で合成される。メラニン合成経路の鍵

酵素であるチロシナーゼは、メラニン生合成過程の最初の反応を触媒する。チロシナーゼタンパク質は511個のアミノ酸残基からなり、メラノソームにおいては、474～499番目のアミノ酸がメラノソーム膜を貫通し、C末端側はメラノソーム外に存在する膜タンパク質である¹⁾。チロシナーゼ酵素は、約55 kDaのタンパク質として合成された後、小胞体でN結合型糖鎖修飾と α -Glucosidase I、IIによる糖鎖プロセッシングを受け、レクチン様分子シャペロンのCalnexinとCalreticulin (CNX/CRT) によってフォールディングされる²⁾。その後ゴルジ体に輸送され、さらに高度な糖鎖修飾を受け、約80 kDaの成熟型となる。また、この過程で活性中心に2つの2価銅イオンを取り込んで活性型となる。銅の付加には主にゴルジ体膜に存在する銅トランスポーターのATP7Aが関与している³⁾。ミスフォールディングなどを生じた未成熟なチロシナーゼは、小胞体によるタンパク質の品質管理によって分解経路へと進む。この過程は小胞体関連分解とよばれ、未成熟チロシナーゼは小胞体内腔から細胞質に逆輸送され、ユビキチン化を受けプロテアソームによって分解される⁴⁾。成熟したチロシナーゼは、トランスゴルジネットワークからメラニン合成の場となる細胞小器官のメラノソームに細胞内輸送機構によって輸送され、メラニン生成が開始される⁵⁾。メラノソーム

においてチロシナーゼはC末端側が細胞質側に貫通した1回膜貫通型タンパク質として存在し、細胞質側のドメインでセリン残基が³Protein kinase C- β によってリン酸化され活性化されるとの報告もある⁶⁾。

以上のように、チロシナーゼは種々の翻訳後修飾を受け、その成熟や分解、及び活性が制御されている。メラノサイト内のチロシナーゼタンパク質の量は、生成と分解のバランスによって決定され、メラニン生成を制御しうるため、これらを作作用点とする美白剤が開発されてきた。マグノリグナンは、チロシナーゼの糖鎖修飾を阻害し、結果として増加する未成熟チロナーゼの分解を促進しメラニン生成を抑制する⁷⁾。また、リノール酸はユビキチン化を介してチロシナーゼ分解を促進する⁸⁾。

1. 2. S-パルミトイル化

翻訳後脂質修飾の1つであるS-パルミトイル化(以下、パルミトイル化)は、長鎖脂肪酸基(主にパルミテート、C16:0)がチオエステル結合を介して特定のシステイン(Cys)残基に可逆的に結合する⁹⁾。酵素を含む数百種類の可溶性タンパク質や膜タンパク質がパルミトイル化修飾されている。パルミトイル化は基質タンパク質の疎水性に影響を与え、膜結合、タンパク質間相互作用、タンパク質の安定性、局在化、輸送を制御する¹⁰⁾。パルミトイル化は、パルミトイル転移反

ル化、及びそのメラニン生成制御について述べる。

2. 方法と結果

2. 1. パルミトイル化阻害剤は再構築ヒト皮膚モデルのメラニン生成量を増加させる

ヒト皮膚におけるパルミトイル化の役割を調べるために、メラノサイト含有再構築ヒト皮膚モデルにパルミトイル化阻害剤である2-ブロモパルミテート(2-BP)を25 μ Mで17日間添加培養した。その後の皮膚モデルの肉眼所見では、コントロール(DMSO)と比較して組織の色調の黒化が認められた(図1a)。また、2-BP処理皮膚モデルのユーメラニンとフェオメラニンの総量は、コントロール(DMSO)よりも有意に増加していた(図1b)。2-BPによって誘導されるメラニン生成亢進が、ケラチノサイトを含まないメラノサイトを培養した場合に起こるかを調べるために、正常ヒト表皮メラノサイト(NHEM)に2-BPを72時間暴露培養した。2-BP処理は、細胞毒性を示さない濃度において、濃度依存的に細胞あたりのメラニン量を増加させた(図1c)。以上の結果から、パルミトイル化の阻害はメラニン生成を亢進すると示された。

2. 2. チロシナーゼのCys500はパルミトイル化修飾を受け、その阻害はチロシナーゼタンパク質レベルを増加させる。

これ以降の閲覧を希望の場合は、本誌をご購読ください。