

令和元年5月31日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16320

研究課題名(和文)色素産生細胞におけるプロレニン受容体の発現と生理機能の解明

研究課題名(英文) Analysis of prorenin receptor expression and physiological function in pigment cells

研究代表者

大場 浩史 (Ohba, Koji)

東北大学・医学系研究科・助教

研究者番号：70726710

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：色素細胞における、プロレニン受容体の発現と機能を解析した。免疫組織化学的解析によって、ヒト組織とマウス組織において、プロレニン受容体がメラノサイト、メラノーマ細胞、網膜色素上皮細胞に発現していることが明らかになった。プロレニン受容体の発現を抑制すると、細胞増殖、遊走能、色素産生関連タンパクの発現が低下した。さらに、プロレニン受容体がオートファジーの制御に関与していることが分かった。プロレニン受容体は、MITFの発現制御を介して、色素細胞の生理機能を調節している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

色素産生細胞の生理機能の異常は、白髪、シミ、日焼け、白斑症といった外見上の変化に密接に関係している。また、メラノサイトが悪性化したメラノーマは、予後が不良である。本研究課題の遂行により、プロレニン受容体が色素産生細胞の生理機能を調節している可能性が示された。今回の研究成果は、プロレニン受容体がメラノーマの治療標的として、あるいはメラノサイトの機能異常による美容上の課題の克服に寄与する因子となりうる可能性を示唆している。

研究成果の概要(英文)：In this study, I analyzed the function of the prorenin receptor in pigment cells. Immunohistochemistry revealed that melanocytes, melanoma cells, and retinal pigment epithelial cells expressed the prorenin receptor in human and mouse tissues. siRNA-mediated prorenin receptor suppression reduced cell proliferation, migration, and the expression of chromogenic proteins. Furthermore, it was found that the prorenin receptor is involved in the control of autophagy. It is possible that the prorenin receptor regulates the physiological function of pigment cells via modulation of MITF expression.

研究分野：細胞生理学

キーワード：プロレニン受容体 MITF 色素細胞 メラノーマ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

小眼球症関連転写因子 (MITF: Microphthalmia-associated transcription factor) は、色素産生細胞の分化や生存に必須の因子であり、メラニン色素産生酵素であるチロシナーゼ (TYR: tyrosinase) やドーパクロームトートメラーゼ (DCT: dopachrome tautomerase) の発現を調節するキー遺伝子である。また、メラノーマ特異的ながん遺伝子として腫瘍化や増殖にも関与する。MITF の発現と転写活性の制御には、MAPK シグナルや Wnt シグナルが関与しているが、それらの起点となる因子には不明な点が多い。

本研究課題に先立って実施した実験で、色素産生細胞において、プロレニン受容体 (PRR: prorenin receptor) が MITF の発現を制御している可能性を示唆する実験結果を得ていた。PRR は、350 個のアミノ酸からなる一回膜貫通型受容体であり、レニンアンジオテンシン系の新規構成因子として発見された (Nguyen et al. J Clin Invest. 2002)。その後の研究で、以下に示す膜型受容体にとどまらない多様な機能を有していることが明らかになってきている。

(1) 酵素的に不活性なプロレニンを活性型のレニンに変換し、アンジオテンシン II の産生を促進する。

(2) 膜型受容体としての機能として、レニンあるいはプロレニンが PRR に結合することで MAPK シグナルや Akt シグナルが活性化される。

(3) LPR6 のリン酸化に必須の存在であり、Wnt シグナルの活性化に関与する (Cruciat et al. Science. 2010.)

(4) PRR は、細胞内や細胞内小器官の pH に関与する V-ATPase のサブユニットの一つとして機能する。 (Kinouchi K et al. Circ Res. 2010)

しかしながら、皮膚組織や眼球に存在する色素産生細胞における PRR の発現は明らかにされておらず、その生理機能についても不明であった。

2. 研究の目的

本研究課題は、MITF の発現制御機構を明らかにし、色素産生細胞の生理機能を制御する因子を発見することを目的としている。

3. 研究の方法

MITF の発現を制御する因子として PRR に着目し、色素産生細胞における PRR の発現や生理機能を明らかにする。

(1) 代表的なメラニン色素存在部位である皮膚、眼球、メラノーマの組織を対象として、免疫組織化学的に PRR の発現と MITF の発現の異同を解析した。

(2) 色素産生細胞由来の培養細胞株 (HMVII, GAK, ARPE-19) とメラノサイト初代培養細胞を用いて、PRR と MITF の発現を解析した。

(3) 上記細胞を対象として siRNA を用いて PRR と MITF の発現を抑制し、細胞増殖、遊走能、色素産生関連タンパクの発現を検討した。

4. 研究成果

(1) ヒト正常皮膚と、ヒトメラノーマ組織における PRR と MITF の発現を免疫組織化学的に検討した。正常皮膚において PRR は、基底層・有棘層・顆粒層にかけて PRR 陽性所見が得られた。メラノサイトが存在する、基底層で PRR の発現が確認できたが、PRR と MITF 陽性細胞の正確な相同性については確認が困難であった。一方、ヒトメラノーマ組織では 18 症例中 10 症例で PRR と MITF が共発現していた。さらに、マウス皮膚組織の毛根部と眼球組織を対象として、PRR と MITF の発現の解析を行った。毛根部では、PRR・MITF・DCT の染色領域に相同性が見られた。また、マウス眼球では、網膜色素上皮細胞・脈絡膜メラノサイト・毛様体色素細胞においても MITF と PRR が共発現している可能性を示唆する所見が得られた。

(2) メラノサイト・網膜色素上皮細胞・メラノーマ由来培養細胞からタンパクを抽出し、ウエスタンブロット法で PRR と MITF の発現を検討した。その結果、検討を行ったすべての細胞で PRR と MITF が共発現していることを確認できた。

(3) 網膜色素上皮細胞由来培養細胞株の ARPE-19 と、メラノーマ由来培養細胞株の HMVII と GAK を対象として、siRNA を用いて PRR の発現を抑制し、細胞増殖への影響を WST-8 アッセイで、遊走能の変化を wound healing assay で検討した。その結果、PRR の発現を抑制することによって、細胞増殖が約 70 から 85% 程度抑制された。また、メラノーマ由来培養細胞株の遊走能の低下を確認することができた。

(4) PRR の発現抑制による MITF と TYR の発現への影響を、ウエスタンブロット法および免疫細胞化学的手法で解析した。その結果、MITF と、色素産生関連タンパクである TYR と DCT のタンパク量の低下を示唆する結果が得られた。

(5) PRR の発現を抑制すると、オートファジー関連タンパクである LC3 と p62 が細胞内に蓄積しており、PRR がオートファジーに関与している可能性を示唆する結果が得られた。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

Nishijima Tsuguo, Ohba Koji, Baba Shigeaki, Kizawa Testuya, Hosokawa Keisuke, Endo Fumiyo, Yamashiro Yoshihiro, Suwabe Akira, Sasaki Akira, Takahashi Kazuhiro, Sakurai Shigeru. Decrease of Plasma Soluble (Pro)renin Receptor by Bariatric Surgery in Patients with Obstructive Sleep Apnea and Morbid Obesity. 査読あり. Metab Syndr Relat Disord. 2018 May;16(4):174-182. doi: 10.1089/met.2017.0153.

Shibuya H, Watanabe R, Maeno A, Ichimura K, Tamura M, Wakana S, Shiroishi T, Ohba K, Takeda K, Tomita H, Shibahara S, Yamamoto H. Melanocytes contribute to the vasculature of the choroid. 査読あり. Genes Genet Syst. 2018 Sep 15;93(2):51-58. doi: 10.1266/ggs.17-00058.

〔学会発表〕(計 5 件)

Koji Ohba, Moe Endo, Shigemitsu Sato and Kazuhiro Takahashi. Prorenin receptor is involved in cell proliferation and migration of lung cancer cells through regulation of autophagy. 第 77 回日本癌学会学術総会, 2018

Yurina Yokota, Koji Ohba, Kazuhiro Takahashi. Effects of anti-cancer agents on soluble prorenin receptor expression in cultured human breast cancer cells. 第 77 回日本癌学会学術総会, 2018

Shigemitsu Sato, Airi Yamamoto, Moe Endo, Koji Ohba, Kazuhiro Takahashi. (Pro) renin receptor stimulated proliferation of cultured breast cancer cells via ERK-independent pathway. 第 77 回日本癌学会学術総会, 2018

Moe Endo, Koji Ohba, Shigemitsu Sato, Kazuhiro Takahashi. Inhibition of autophagy induced accumulation of soluble prorenin receptor in cultured cancer cells. 第 77 回日本癌学会学術総会, 2018

Koji Ohba, Tamio Suzuki, Kazuhisa Takeda, Shigeki Shibahara, Kazuhiro Takahashi. (Pro)renin receptor in melanoma. 第 76 回日本癌学会学術総会, 2017

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。