

論文内容要旨

論文題目

ヒト系統で生じた Melanocortin 1 Receptor のアミノ酸置換の解析

責任講座： 皮膚科学講座

氏名： 川口 純之介

【内容要旨】 (1,200 字以内)

【背景】ヒトと共通祖先から分岐したチンパンジーは体毛に覆われた淡い色素の皮膚を持っている。一方、ヒト系統では汗を通じた効率的な体温調整が可能になったことにより約 120 万年前に体毛が減少し、紫外線によるダメージを防御するために皮膚色が濃くなったとされている。この進化の過程において、Melanocortin 1 Receptor (MC1R) 遺伝子の変化がその主な要因であるという仮説が提唱されている。MC1R は、7 回膜貫通型 G タンパク質共役型受容体でメラノサイト表面に特異的に発現し、色素生成を制御するメラニン生合成経路への細胞内シグナル伝達の重要な調節因子である。リガンドである α -Melanocyte-stimulating hormone (α -MSH) によって MC1R が活性化され、cAMP シグナル伝達経路を介してメラニン合成が促進される。ヒトとチンパンジーの分岐後、ヒト系統で発生した MC1R の変化として Pro41Ser と Leu174Val の 2 つのアミノ酸置換が知られている。しかし、これらアミノ酸置換の機能的意義は不明である。

【目的】本研究の目的は、ヒト系統で生じた MC1R のアミノ酸置換が MC1R の機能に与える影響を明らかにすることである。

【方法】正常ヒト不死化培養メラノサイト (PIG1) を用いて CRISPR/Cas9 により 41 番目、174 番目のアミノ酸をチンパンジーのものに変換した KI 細胞を作成し、 α -MSH 刺激による MC1R を介したシグナル伝達、下流の遺伝子発現の変動を解析した。さらに、*in silico* 解析によりアミノ酸置換が MC1R 蛋白に与える影響について解析した。

【結果】CRISPR/Cas9 により 41 番目、174 番目のアミノ酸をホモ接合性にチンパンジーのものに置換することに成功した (Pro41, Leu174)。これらの変異細胞株では、 α -MSH 刺激による細胞内 cAMP 濃度上昇が抑制され、MITF と DCT (MC1R の下流のメラニン合成関連遺伝子) の mRNA 発現量の上昇が顕著に抑制された。このことから、ヒト系統で発生した Pro41Ser および Leu174Val のアミノ酸置換は MC1R の活性を上昇させる変異であることが示唆された。*in silico* 解析では、41 番目のアミノ酸は N ターミナル直後の binding pocket に非常に近い場所に位置していること、Ser41Pro の変化はアミノ酸極性が変わること、アミノ酸置換によって構造が変化する可能性があることからリガンド結合に影響を与える可能性が示唆された。

【結論】ヒト系統では体毛の減少に伴う紫外線ダメージから防御するために、MC1R に Pro41Ser, Leu174Val の遺伝子変異を獲得し、濃い皮膚色の形質を獲得したと考えられた。

令和 6 年 12 月 23 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 川口 純之介

論文題目： ヒト系統で生じた Melanocortin 1 Receptor のアミノ酸置換の解析

審査委員： 主審査委員 三井 哲夫



副審査委員 渡辺 昌文



副審査委員 山口 浩明



審査終了日： 令和 6 年 12 月 18 日

【 論文審査結果要旨 】

Melanocortin 1 Receptor (MC1R) は、霊長類のメラノサイトに発現している 7 回膜貫通型 G タンパク質受容体で、メラニン生合成経路において重要な役割を果たしている。チンパンジーからヒトへの進化の過程で、この MC1R には 4 つのアミノ酸置換が生じている。申請者は、この変異が進化の際に体毛の減少に伴う皮膚色の変化において重要な役割を果たした可能性を考え、それらの変異の機能的役割を解明することを目的に標記研究を行った。

4 つのアミノ酸置換のうちチンパンジー以前には全く変化なくヒトで初めて変化した 41 番目の Serine、174 番目の Valine に特に着目し、ヒト不死化培養メラノサイト(PIG1)を用いて、CRISPR/Cas9 による手法で、それぞれチンパンジーの MC1R のアミノ酸配列に戻すための塩基置換を行い、変異細胞株 S41P、V174L を得て、MC1R のリガンドである α Melanocyte stimulating hormone (α MSH) で刺激、下流シグナル分子の解析を行った。本来の細胞株と比較して、両変異細胞株においては α MSH 刺激後 cAMP の上昇率に同程度の低下が認められ、MC1R 刺激への応答能が低下していた。また、刺激後にメラニン生合成系酵素遺伝子の発現を制御している小眼球症関連転写因子 (Microphthalmia-associated transcription factor : MITF) とメラニン合成系酵素のドパクロムトートメララーゼの mRNA 発現量の減少が確認された。また、あらためて、この 41 Ser、174 Val を *in silico* で見直すと、両者はいずれも膜貫通領域に位置し、PolyPhen-2 の予測では、両変異は蛋白機能に影響は与えないとされたが、41 は膜貫通に入る 1 つ目のアミノ酸で、リガンド親和性、シグナルアンカー機能を持つ N-末端の直後に位置し、リガンド結合部位に近接しその機能的重要性が推定されることを確認した。

こうした結果から、チンパンジーからヒトへの進化における P41S と L174V の変異は、体毛が失われる中、MC1R シグナル系の活性を高め色の濃い皮膚色を獲得する過程で生じたものであることが示唆された。こうしたチンパンジーからヒトへの MC1R 遺伝子のアミノ酸配列変化についての解析は申請者の研究が初めてでもあり、一連の研究は学位に値すると審査委員は判断した。一方で、論文全体における記載内容について、研究背景、考察における研究結果の解釈、結果解釈に対する限界、他のアミノ酸変異との比較考察等十分な書き込みが不足していると指摘され、審査委員は本論文を追記、修正することを条件に本研究が学位論文に値するとの結論を得た。

1131/1200 文字