

黑素体在黑素细胞内运输及调控机制的研究进展

宁婧, 张汝芝*

(苏州大学附属第三医院 皮肤性病科, 江苏 常州 213003)

摘要: 黑素体(MS)是黑素细胞(MC)中一种合成、储存和运输黑素的特殊膜性细胞器,其类型、数量、分布及成熟状态决定了人类肤色的差异。MS在MC内的运输是3种动力蛋白与两种细胞骨架之间相互作用的结果,此过程受多种调节因素影响。MS运输障碍与多种色素性疾病相关,加深对MS运输机制的了解有助于提高对MS运输障碍相关性疾病的认识,为临床治疗和药物研发提供新依据。

关键词: 黑素体运输;微管;肌动蛋白微丝;驱动蛋白;肌球蛋白-Va

中图分类号:R334.5;R751 文献标志码:A

DOI:10.16352/j.issn.1001-6325.2022.10.1581

Research advances in mechanism of melanosomes transport and regulation in melanocytes

NING Jing, ZHANG Ru-zhi*

(Department of Dermatology, the Third Affiliated Hospital of Soochow University, Changzhou 213003, China)

Abstract: Melanosome (MS) is a special membrane organelle which synthesizes, stores and transports melanin in melanocytes (MC). The diversity of human skin color lies on the type, quantity, distribution and maturation of MS. The transport of MS in MC is the result of the interaction between three kinesins and two kinds of cytoskeletons, which are affected by many regulatory factors. A variety of pigmented diseases are strongly associated with MS transport malfunction. A deeper understanding of the mechanism for MS transport may improve the cognition of MS transport-related diseases and potentially provide a novel strategy for clinical treatment and pharmaceutical development.

Key words: melanosome transport; microtubules; actin filaments; kinesin; myosin-Va

黑素体(melanosomes, MS)是黑素细胞(melanocytes, MC)中一种专门合成、储存和运输黑素的溶酶体相关膜性细胞器。MS内含多种特殊的黑素合成酶和相关结构蛋白,其中酪氨酸酶(tyrosinase, TYR)是黑素合成的关键限速酶^[1]。MS经历4个不同阶段(I~IV期)至完全发育成熟后,沿MC骨架向外周运输

直至质膜,后迁移到邻近的角质形成细胞(keratinocytes, KC)中,聚集在核上方,保护KC的DNA免受光损伤^[2]。MS运输障碍可直接影响皮肤和毛发的颜色,与多种色素性疾病相关,如Griscelli综合征、有点状白斑的Darier病、色素性基底细胞上皮瘤及无色素痣等^[3]。本文简要综述MS在MC中的运输及调节机制。

收稿日期:2021-06-03 修回日期:2021-11-08

基金项目:国家自然科学基金(81673078);中华医学会项目(S2018151137);江苏省双创计划([2015]26);常州市医学重点学科建设项目([2018]161-7);常州市医学创新人才培养项目([2016]27-4)

*通信作者(corresponding author): zhangruzhi628@163.com

1 MS 在 MC 中的运输路径

早期未成熟 MS 在核周区域停留,发育成熟后向细胞周围运输,该过程是 3 种蛋白[动力蛋白(dynein)、驱动蛋白(kinesin)以及肌球蛋白(myosin)]与两种细胞骨架[微管(microtubules, MT)和肌动蛋白微丝(actin filaments, AF)]相互作用的结果^[4]。MT 为长距离运输($>1\ \mu\text{m}$)轨道,与驱动蛋白和动力蛋白相互作用,介导 MS 在细胞中心和外周之间快速、双向、远距离运输。AF 组成的复杂网络为短距离运输($<1\ \mu\text{m}$)轨道,与肌球蛋白共同将 MS 运输到 MC 树突顶端并锚定在胞膜上,等待下一步转运进入 KC^[5]。

2 MS 在 MT 上的运输

2.1 顺向运输

驱动蛋白-1 在哺乳动物的 MC 中高表达,与成熟 MS 上的 Rab1A(RAB 家族的一员,一种小 GTP 酶)以及沙门氏菌诱导丝状体 A-驱动蛋白相互作用蛋白(SifA-kinesin-interacting protein, SKIP, Pleckstrin 同源结构域蛋白 M 家族的一员)共同形成 Rab1A-SKIP-驱动蛋白-1 运输复合物,介导 MS 在 MT 上的顺向运输^[6]。动力肌动蛋白亚基 1(dynactin subunit 1, DCTN1, 又称 p150 Glued)缺陷的 melan-a 细胞中的 Rab1A 敲低会抑制 MS 顺向运输,导致 MS 在核周聚集,说明 Rab1A 在 MS 沿 MT 顺向运输过程中具有重要作用。微管相关蛋白 1 轻链 3B(microtubule-associated protein 1 light chain 3B, MAP1-LC3B/LC3B)基因敲除的 MC 中可见 MS 核周聚集现象,说明 LC3B 可能也参与组成运输复合物,并且可以在不影响 MT 的情况下,特异性降低 MS 的运动速度,在调节顺向运输的过程中起着重要作用^[7]。

2.2 逆向运输

依赖 MT 的 MS 逆向运输由动力蛋白-动力肌动蛋白(dynactin)运动复合体介导。动力蛋白是目前已知的最大、最快的动力蛋白,在介导 MS 沿 MT 的逆向运动中起着至关重要的作用,需与动力肌动蛋白(dynactin)结合才具有活性,再通过动力肌动蛋白上的 p150 Glued 亚单位与 MT 结合,从而介导 MS 的逆向运输。动力蛋白受到抑制或动力蛋白-动力肌动蛋白复合体被破坏时,均会出现 MT 上的 MS 顺

向运动增强,原本聚集在核周区域的 MS 分散到细胞外周,甚至出现超分散现象^[8]。逆向运输在 MT 介导的双向运动中占主导作用,这可能与利于未成熟 MS 在核周区域发育成熟相关,因此,MT 对 MS 的核周聚集具有极其重要的作用。

2.3 依赖 MT 的 MS 运输的调控

无色素痣(naevus depigmentosus, ND)又称脱色素痣,是一种病因不明的先天性、非家族性皮肤色素减退斑,皮损内可见 MC 中部分 MS 停滞在 I、II 期并伴转运异常,可能与未成熟 MS 主要受逆向运输调控相关^[9]。

MS 的最终定位很大程度上取决于驱动蛋白和动力蛋白的数量和激活状态。顺向运输过程中动力蛋白始终附着于 MT 并与驱动蛋白竞争,而逆向运输过程中驱动蛋白脱离轨道,不影响运输过程。动力肌动蛋白可以与动力蛋白和驱动蛋白-II 发生竞争性的结合,提示其可能是协调双向运动平衡的关键性分子^[10]。MS 沿 MT 的双向运输也受 Rab7 和 Rab27A 相对数量调控。早期未成熟 MS 主要和 Rab7 结合,Rab7 与 Rab 相互作用溶酶体蛋白(Rab-interacting lysosomal protein, RILP)和 p150 Glued 结合形成 Rab7-RILP-肌动蛋白复合物,发挥逆向运输调控作用,以促使其核周聚集并进一步发育成熟^[11]。黑素调节蛋白(melanoregulin, Mreg)通过影响 MS 对动力蛋白和动力肌动蛋白的招募调控 MS 在 MT 上的逆向运输^[12]。摩托蛋白的结合伴侣和调节蛋白上的修饰物也可决定 MS 的最终定位,微管结合蛋白 4(microtubule-associated protein 4, MAP4)磷酸化可抑制 MS 与 MT 结合,促进动力蛋白介导的逆向运输并抑制顺向运输^[13]。整合素连接激酶(integrin-linked kinase, ILK)也是 MS 沿 MT 轨道正常运输所必需的,缺乏 ILK 时,未成熟 MS 不能在核周区域停留,而成熟 MS 会沿 MT 轨道进行随机双向运动,无法实现向 MT 树突端的净位移^[14]。

3 MS 在 AF 上的运输过程

3.1 MT 上的 MS 被捕获至 AF

经 MT 依赖的长距离顺向运输被运送到细胞周边后,未成熟 MS 通过逆向运输返回细胞核周区域,而成熟的 MS 与 MT 分离,在 AF 和肌球蛋白-Va 的共同作用下被捕获,附着在 AF 丰富的树突顶端和

侧缘区域,阻止其返回细胞中心^[15]。自噬相关蛋白酶 4B (autophagy related protease 4B, ATG4B) 是 MS 转位到 AF 所必需的,MS 在相关 LC3B 被 ATG4B 脱脂并分离后才能够转位,而内源性 ATG4B 水平的 siRNA 缺失可发生 MS 核周聚集^[7]。肌球蛋白-Va 突变的 MC 中,成熟 MS 沿 MT 进行双向运动,无法在外周聚集。Rab27A 也参与捕获过程,Rab27a 基因缺失会引起 MS 在 MT 上的逆向运输增强,导致核周聚集。Rab36 是 MS 在 MT 和 AF 间转移的开关,RILP-动力蛋白和 RILPL2-肌球蛋白-Va 可与 MS 上的 Rab36 竞争性结合,从而影响捕获过程^[16]。

3.2 Rab27a-Mlph-肌球蛋白-Va 三元运输复合体

MS 被 AF 捕获后,在 AF 富集的树突尖端区域进行局部、短距离运动。对依赖 AF 的 MS 运动的认识很大程度上依赖于格林塞利综合征 (Griscelli syndrome, GS)。GS 是一种罕见的常染色体隐性遗传病,以皮肤色素减退、银发、免疫缺陷及毛干内大量簇状色素沉着为特征。电镜下可见皮损处 MC 核周有大量正常、成熟 MS 异常沉积。Rab27A、肌球蛋白-Va 和黑素亲和素 (melanophilin, Mlph) 发生异常或基因突变分别导致 GS-I 型、II 型和 III 型^[3]。这些突变细胞中的 MS 向树突尖端转移受阻,在 MC 的核周区域聚集,表明 AF 介导的运输存在缺陷。

MS 沿 AF 向树突尖端的运输以及分散状态的维持是由成熟 MS 表面表达的 Rab27A 依次招募 Mlph 和肌球蛋白-Va 所形成的 Rab27A-Mlph-肌球蛋白-Va 三元运输复合物所介导的。以往普遍认为 MT 和 AF 及其相关的运动蛋白在长距离和短距离细胞器运输中起互补作用。然而,在 MT 耗竭的细胞中,肌球蛋白-Va 也能迅速 (速度 $>1 \mu\text{m}/\text{min}$) 将 MS 运输到细胞外周的树突尖端部位 (距离 $>10 \mu\text{m}$),表明 AF 和三元运输复合物在 MS 远距离运输中也具有一定作用^[17]。

3.3 依赖 AF 的 MS 运输的调控

依赖 AF 的 MS 运输过程受到 Rab27A、Mlph 和肌球蛋白-Va 之间相互作用、与 AF 的结合情况及其他蛋白的调控。

Rab27A 是 MITF 的直接作用靶点,Rab27A-交换蛋白 (Rab27A-GDP/GTP exchange protein, Rab3GEP) 可激活 Rab27A 并靶向到 MS 膜上,促进 MS 转运^[18]。异甘草素 (isiquiritigenin, ISL, 甘草根

中提取的一种黄酮类化合物) 可激活 MAPK/ERK 通路而降低 MITF 的表达,导致 Rab27A 的表达降低,抑制 MS 转运^[19]。而原卟啉 IX (protoporphyrin IX, PPIX) 通过激活 cGMP/PKG 信号通路诱导 MITF 及 Rab27A 的表达增加,促进 MS 运输^[20]。Mlph 在三元运输复合体中起连接作用,是关键中间物质,其表达受糖皮质激素受体 (glucocorticoid receptor, GR) 的调节^[21]。16-Kauren-2-beta-18, 19-triol (一种从热带植物-Asteraceae psidia punctulata 中提取的天然二萜类化合物) 可在不影响 Rab27A 和肌球蛋白-Va 表达的情况下选择性抑制 Mlph 在 mRNA 和蛋白水平的表达,从而抑制 MS 转运^[22]。抗增殖蛋白 (prohibitin, PHB/BAP32) 可通过增强 Rab27A 和 Mlph 之间的相互作用调节 MS 转运^[23]。突触结合蛋白样蛋白 2-a (synaptotagmin-like protein 2, Stp2-a/Syt2) 也可与 Rab27A 及 Mlph 相互作用,对 MS 依赖 AF 的运输过程进行调控^[13]。Mlph 的 C 端肌动蛋白结合域 (actin binding domain, ABD) 的磷酸化状态可以调控 MS 对运动轨道的选择,低水平 cAMP 使大量 Mlph 去磷酸化,肌球蛋白-Va 活性降低后与 MS 分离,使 MS 倾向于与 MT 结合而向细胞核的聚集,而中等水平至高水平的 cAMP 使 Mlph 磷酸化,发挥抑制动力蛋白的作用,增强与肌球蛋白-Va 的结合,在不增加 Rab27A-Mlph-肌球蛋白-Va 三元运输复合体形成情况下促进 MS 与 AF 结合,使 MS 向树突尖端分散^[24]。肌球蛋白-Va 的 ATP 酶活性受 RILPL2 调节后可加强肌球蛋白-Va 与 Mlph 的作用,从而调节 MS 依赖 AF 的运动^[16]。

4 问题与展望

MS 直接影响皮肤和毛发的颜色,在保护人体和皮肤健康方面也具有重要作用,其运输缺陷会导致多种色素相关性疾病。MS 从 MC 核周向外周转运的过程是动力蛋白、驱动蛋白和肌球蛋白分别与 MT 和 AF 相互作用的结果,然而,此运输过程及相关调控机制尚未完全明确,MT 如何与 AF 协同运输 MS,MS 运输的方向性如何被精确调控,生物体内的 MS 运输机制是否和体外实验完全相同,仍有待进一步研究。深入研究 MC 内 MS 运输及调控机制,有助于揭示 MS 运输障碍相关色素性疾病的发病及调控机制,发现潜在的治疗靶点,为临床治疗提供新的思路 and 方向。

参考文献:

- [1] Allouche J, Rachmin I, Adhikari K, *et al.* NNT mediates redox-dependent pigmentation via a UVB- and MITF-independent mechanism[J]. *Cell*, 2021, 184: 1-16.
- [2] Bissig C, Croise P, Heiligenstein X, *et al.* The PIKfyve complex regulates the early melanosome homeostasis required for physiological amyloid formation[J]. *J Cell Sci*, 2019, 132: 5. doi: 10.1242/jcs.229500.
- [3] Al-Sulaiman R, Othman A, El-Akouri K, *et al.* A founder RAB27A variant causes Griscelli syndrome type 2 with phenotypic heterogeneity in Qatari families[J]. *Am J Med Genet*, 2020, 182A: 2570-2580.
- [4] Lv J, Fu Y, Gao R, *et al.* Diazepam enhances melanogenesis, melanocyte dendricity and melanosome transport via the PBR/cAMP/PKA pathway[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2019, 116: 105620. doi: 10.1016/j.biocel.2019.105620.
- [5] Alzahofi N, Welz T, Robinson CL, *et al.* Rab27a co-ordinates actin-dependent transport by controlling organelle-associated motors and track assembly proteins [J]. *Nat Commun*, 2020, 11: 1-21.
- [6] Ishida M, Ohbayashi N, Fukuda M. Rab1A regulates anterograde melanosome transport by recruiting kinesin-1 to melanosomes through interaction with SKIP[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 8238. doi: 10.1038/srep08238.
- [7] Ramkumar A, Murthy D, Raja DA, *et al.* Classical autophagy proteins LC3B and ATG4B facilitate melanosome movement on cytoskeletal tracks[J]. *Autophagy*, 2017, 13: 1331-1347.
- [8] Sanghavi P, Kumar P, Roy A, *et al.* On and off controls within dynein-dynactin on native cargoes[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2021, 118: e2103383118. doi: 10.1073/pnas.2103383118.
- [9] Sharquie KE, Al-Jaralla FA, Schwartz RA, *et al.* Nevus depigmentosus: the analysis of 37 cases [J]. *Ital J Dermatol Venerol*, 2021, 156: 62-67.
- [10] Hasegawa S, Sagawa T, Ikeda K, *et al.* Investigation of multiple-dynein transport of melanosomes by non-invasive force measurement using fluctuation unit chi[J]. *Sci Rep*. 2019, 9: 5099. doi: 10.1038/s41598-019-41458-w.
- [11] Khobrekar NV, Quintremil S, Dantas TJ, *et al.* The dynein adaptor RILP controls neuronal autophagosome biogenesis, transport, and clearance[J]. *Dev Cell*, 2020, 53: 141-153.
- [12] Rout AK, Wu X, Starich MR, *et al.* The structure of melanoregulin reveals a role for cholesterol recognition in the protein's ability to promote dynein function[J]. *Structure*, 2018, 26: 1373-1383.
- [13] Zhang J, Li L, Zhang Q, *et al.* Phosphorylation of microtubule-associated protein 4 promotes hypoxic endothelial cell migration and proliferation [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 368. doi: 10.3389/fphar.2019.00368.
- [14] Crawford M, Liu N, Mahdipour E, *et al.* Integrin-linked kinase regulates melanosome trafficking and melanin transfer in melanocytes[J]. *Mol Biol Cell*, 2020, 31: 768-781.
- [15] Robinson CL, Evans RD, Sivarasa K, *et al.* The adaptor protein melanophilin regulates dynamic myosin-Va: cargo interaction and dendrite development in melanocytes[J]. *Mol Biol Cell*, 2019, 30: 742-752.
- [16] Cao QJ, Zhang N, Zhou R, *et al.* The cargo adaptor proteins RILPL2 and melanophilin co-regulate myosin-5a motor activity[J]. *J Biol Chem*, 2019, 294: 11333-11341.
- [17] Tripathi A, Bond C, Sellers JR, *et al.* Myosin-specific adaptations of *in vitro* fluorescence microscopy-based motility assays[J]. *J Vis Exp*, 2021, 168: e62180. doi: 10.3791/62180.
- [18] Sanza P, Evans RD, Briggs DA, *et al.* Nucleotide exchange factor Rab3GEP requires DENN and non-DENN elements for activation and targeting of Rab27a[J]. *J Cell Sci*, 2019, 132: jcs212035. doi: 10.1242/jcs.212035.
- [19] Lv J, Fu Y, Cao Y, *et al.* Isoliquiritigenin inhibits melanogenesis, melanocyte dendricity and melanosome transport by regulating ERK-mediated MITF degradation [J]. *Exp Dermatol*, 2020, 29: 149-157.
- [20] Lv J, An X, Jiang S, *et al.* Protoporphyrin IX stimulates melanogenesis, melanocyte dendricity, and melanosome transport through the cGMP/PKG pathway[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11: 569368. doi: 10.3389/fphar.2020.569368.
- [21] Myung CH, Lee JE, Jo CS, *et al.* Regulation of melanophilin (Mlph) gene expression by the glucocorticoid receptor (GR)[J]. *Sci Rep*, 2021, 11: 16813. doi: 10.1038/s41598-021-96276-w.
- [22] Myung CH, Kim K, Park JI, *et al.* 16-Kauren-2-beta-18, 19-triol inhibits melanosome transport in melanocytes by down-regulation of melanophilin expression [J]. *J Dermatol Sci*, 2020, 97: 101-108.
- [23] Jo CS, Park HI, Jung HJ, *et al.* A novel function of Prohibitin on melanosome transport in melanocytes[J]. *Theranostics*, 2020, 10: 3880-3891.
- [24] Oberhofer A, Spieler P, Rosenfeld Y, *et al.* Myosin Va's adaptor protein melanophilin enforces track selection on the microtubule and actin networks *in vitro*[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114: E4714-E4723.