



細胞膜のオーガナイザー

名古屋大学大学院 理学研究科 生命理学専攻 楠見明弘

I propose to call the cellular mechanism by which membrane molecules are organized to form oligomers, assemblies, or localized structures as “membrane organizers.” For the understanding of membrane functions, the knowledge on the mechanism by which relevant molecules are structurally arranged and organized in the membrane is essential. Membrane research from the standpoint of “membrane organizers” is emphasized.

membrane skeleton / fence model / oligomerization / cytoskeletal organization

1. 細胞は細胞膜分子を組織化している

細胞膜は2次元の液体のような構造と物性を持っている。すなわち、膜構造の中で膜タンパク質や脂質は拡散運動をおこなっている。これらの分子は動き回れるからこそさまざまな分子と衝突し、それによって情報伝達などが可能になっている。

しかし、細胞は、細胞膜中の分子に単なるブラウン運動を許しているわけではない。細胞は、細胞膜上で、膜タンパク質の運動と局在化を制御し、また、さまざまな機能をもつタンパク質の集合/配列構造を構築している。例えば、大きな構造体としては、細胞間接着構造、シナプス、クラスリン被覆構造体、カベオラなどが挙げられるし、小さな構造体としては、信号伝達時の受容体のオリゴマーなどが挙げられる。すなわち、これらの細胞膜上の構造は、細胞や多細胞集団が重要な機能を発現する多くの過程において、鍵となる役割を演じているのである。しかも、これらの形成、消滅は外部からの入力によって動的に制御されている。

このように、細胞は細胞膜を可塑的で多機能なシステムとして有効に働かせている。そのために、細胞は細胞膜分子を組織化（膜分子の運動と局在化を制御し、また、さまざまな機能をもつタンパク質の集合/配列構造を構築する）し、さらに、細胞膜の構造を大域的にオーガナイズしているように見える。

2. 膜タンパク質1分子の運動を追跡し、それを制御する力を観察した

最近、細胞膜上のレセプターを直径30 nm程度（ちなみにヘモグロビンの直径は7 nm）の金コロイド微粒子で標識し、光学顕微鏡下で、生細胞の細胞膜上でのレセプターの運動を、1分子レベルで、空間精度1 nm、時間分解能0.2ミリ秒で追跡することに成功した（図1）。さらに、光ピンセットを用いて金コロイドを捕捉し、レセプターを細胞膜上において強制的に動かしていくことに成功した（図2、ピコニュートン程度の力）。すなわち、タンパク質の特定領域への運動・集合とそれの力学的制御機構を、直接的に調べるための糸口が得られたのである^{1)・9)}。細胞は「分子の手」（分子間相互作用

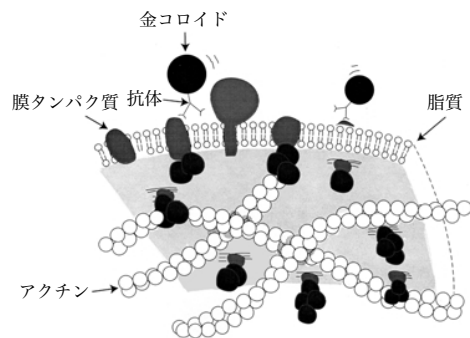


図1 一粒子追跡法の概略。

Plasma Membrane Organizers

Akihiro KUSUMI

Department of Biological Science, Graduate School of Science, Nagoya University

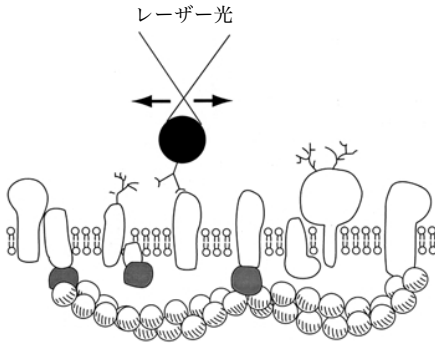


図2 光ピンセットによって金コロイドを捕捉し、細胞膜に沿って膜タンパク質を動かすことを示す模式図。

用)を用いて分子を組織化するが、我々は「科学の手(主に光)」を用いて、分子を、同じような精度と力で操作し、生きている細胞の中で分子の手の真似をしたり邪魔をしたりして、細胞膜分子の組織化の機構・原理を明らかにしていこう、ということだ。

これらの方法によって、多数分子の挙動の平均値を測定してはわからないことがどんどん見えてきた^{2)・4)・6)}(本特集の佐甲氏の総説)。

3. 膜骨格のフェンス効果と結合/輸送効果によって膜タンパク質の運動が制御されている

1分子レベルでの実験によって、膜タンパク質と細胞骨格/膜骨格ネットワーク(すべての膜裏打ちタンパク質を含む)との相互作用様式が明らかになってきた。膜骨格は細胞骨格の中でも細胞膜に近接している部分の呼称である。細胞膜近傍の細胞骨格には部位特異的なタンパク質と構造があり、細胞膜と共同して特有の機能を発揮している。

我々は、膜骨格と膜タンパク質との基本的な相互作用様式として、2種類のものを見いだした。第一は膜タンパク質が膜骨格に結合している場合(図3b)、第二は細胞膜に近接して存在する膜骨格ネットワークのために細胞膜が小さなコンパートメントに仕切られており、膜骨格が膜タンパク質の拡散運動に対して、(膜タンパク質の細胞質部分がぶつかるといふ立体障害のために)フェンスのような効果を持つという場合である(図3c, d)。

(A) 膜骨格フェンスモデル

細胞膜は膜骨格によって平均直径が600 nmのコンパートメントに仕切られており、膜受容体は隣接するコンパートメントへと次々に移動する(平均20秒毎)

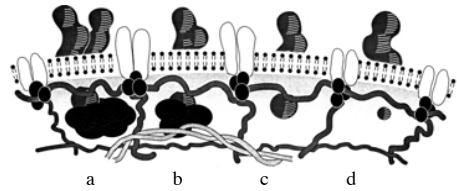


図3 膜骨格フェンス構造の模式図。細胞内部から細胞膜を見たところ、細胞膜、膜貫通型タンパク質、膜骨格、膜骨格を細胞膜に結合させている膜タンパク質、膜タンパク質と結合している細胞質タンパク質(a, b)、さらにそれが細胞骨格/膜骨格に結合しているところ(b)、などが示されている。膜骨格は膜にきわめて近く隣接している部分が多い。膜タンパク質の細胞質部分(あるいは、膜タンパク質とそれに結合した細胞質タンパク質の複合体)は立体障害的に膜骨格ネットワークと衝突し、なかなか隣接するコンパートメントへ移動できない(b, c, d)。膜タンパク質の細胞質部分を小さくすると、隣接コンパートメントへ移動しやすくなる(d)。膜タンパク質の会合は機能の発現に重要な役割を果たすことが多く、また、その制御には膜タンパク質に結合する細胞質内タンパク質もかわることが多い(a)。

ことによって、細胞膜上を移動すること、コンパートメント内部ではほぼ自由拡散している^{2)・4)}(図4, 図5)。

さらに、光ピンセットを用いて、受容体を1分子ずつ膜面に平行に牽引し(図2)、仕切りは弾性的であり、実効バネ定数は1-10pN/μm、バリアーの高さはkT程度であることを見いだした。すなわち、バリアーは熱拡散がある程度抑える程度には高いが、ATP1分子の加水分解の自由エネルギー(約10 kT)より小さいという、うまい高さになっている^{3)・10)}。

(B) 膜骨格への結合と輸送

多くの膜タンパク質に関して、膜骨格への結合が多くの割合で起こっていることがわかってきた(図3のb)。さらにまた、膜骨格には静止しているもの(振動的な運動はしている)に加えて、長距離にわたって拡散しているもの、一方に能動輸送されていくもの、が見つかってきた。これに結合している膜タンパク質も、同様の運動をする¹⁰⁾。

E-カドヘリンの場合には、細胞の自由表面にある分子のうち、約半数は膜骨格に結合しており、残りの半数は膜骨格フェンスによって制限された運動をおこなっていた。また、膜骨格結合成分の多くは、特定の方向への能動輸送を示唆する運動を示した。トランスフェリンやマクログロブリンの受容体、Na⁺、K⁺-ATPase、ヒト赤血球中のバンド3なども膜骨格の結合効果とフェンス効果の両方によって、運動と集合が制御されている^{9)・10)}。

膜骨格のフェンス効果、結合、輸送などの効果がどの

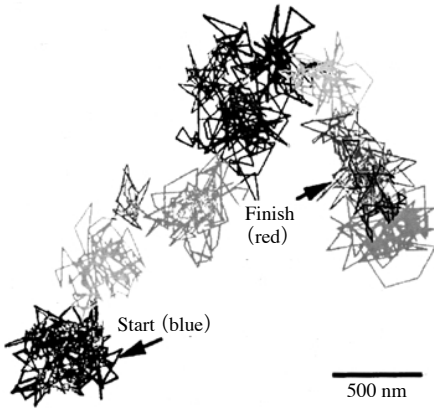


図4 トランスフェリン受容体の運動の軌跡。トランスフェリン受容体がドメイン間を移動して、隣接するドメインに移っていく様子を示す。330秒間の運動の軌跡。点が混みすぎるのを避けるために、330ミリ秒に1回の頻度で座標点が打ってある。バーは500 nm.

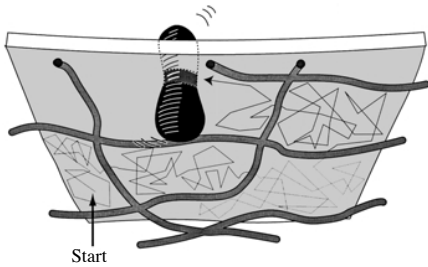


図5 細胞膜は受容体の拡散に対してコンパートメント化されている。膜貫通型タンパク質はコンパートメント間を時々ホップすることによって、広い領域を拡散運動する。コンパートメントの境界は、膜骨格によるものと考えられる(膜骨格フェンス構造)。

ように組み合わせられて、膜タンパク質の集合や会合を制御しているのかを明らかにしていくことが、現在の主要な課題となっている。

4. 膜タンパク質の組織化(会合-局在化-集合/配列構造形成)の5つの素過程

細胞膜における分子の組織化のためには、私は、下記の5つの素過程が重要であると考えている¹⁰⁾、(図6)。すなわち、上記の

- (1) 膜タンパク質と膜骨格/細胞骨格との相互作用、に加えて
- (2) 膜タンパク質の会合

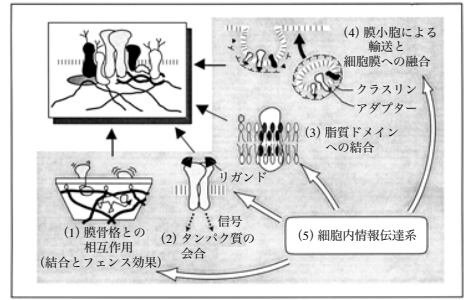


図6 膜タンパク質の組織化(会合-局在化-集合/配列構造形成)に重要な5つの素過程(私のグループの提案)。

- (3) 特定の脂質が集合した脂質ドメインの形成
- (4) 生合成された膜タンパク質の膜小胞による輸送と細胞膜の特定部位への融合
- (5) さらに、これらの機構のどれとどれを、いつ、どこで発動するかを制御するための細胞内情報伝達、である。

膜タンパク質の会合は、これが受容体の場合には、リガンドが結合した受容体の会合体が細胞内への情報伝達をトリガーするという点で重要である。しかし同時に、「細胞は膜タンパク質の会合度を制御することによって、膜タンパク質の膜骨格との相互作用を制御している」というモデルを提案したい。例えば、モノマーの膜タンパク質がダイマーになったとする。もし、モノマーの膜骨格への結合の解離定数が0.1mM程度であったとすると、モノマーのままでは膜骨格に結合する確率は極めて低いが、ダイマーの解離定数は(どちらかのタンパク質が膜骨格に結合すればダイマーは結合するので自乗で効く)10 nM程度となり、劇的に結合する確率が大きくなる。また、フェンスモデルで記述できる系でも、モノマーなら次々と隣接するコンパートメントへとホップしていくタンパク質でも、ダイマーになると2つのタンパク分子が同時にホップする必要があるので、ホップ確率が大きく減少する。すなわち、膜タンパク質分子の会合度を変えることによって、細胞は、膜タンパク質と膜骨格との相互作用を大きく変動させ得るのである。

脂質ドメインとしては、スフィンゴ脂質とコレステロールの作る秩序液晶相が重要である。脂質ドメインは、疎水部分の長さや秩序度(アルキル鎖のトランスとゴーシュのコンフォメーションによって決まるオーダーパラメータによって特徴づけられる量)、親水性部分の負電荷などで特徴づけられることが多い。それで、

例えば疎水部分の特定の秩序度にはアフィニティーを持つ膜タンパク質が集合したりする。飽和脂肪酸鎖をもつキナーゼやGタンパク質が秩序液晶相に局在化し、信号伝達が生じたり、信号伝達を阻害したりしている可能性がある^{(11)・(14)}。

これからは、これらの素過程をもっと徹底して調べると同時に、これらの素過程がどのように統合されて組織化が可能になるか、が解明されねばならない。

5. 膜オーガナイザー

細胞膜がさまざまな機能を発揮するために膜分子を組織化する機構を、「膜オーガナイザー」と呼ぶことを提案したい。細胞膜の組織化機構を理解することは、細胞や細胞集団における膜のかかわる過程の分子機構の理解に本質的に重要である。例えば、細胞間接着を取り上げよう。カドヘリンのような細胞間接着分子が細胞表面に発現されたとしても、それだけでは、マクロスコピックな力に抗することはできない。各分子がバラバラに相手の細胞のカドヘリンと結合したとしても、力がかかると、1分子ずつはずされてしまう。これを避けるには、カドヘリン分子が多数集合して、その集合領域で外力に対抗する必要がある。すなわち、細胞は、カドヘリンの集合状態を制御することによって、細胞間の接着を制御し得るのである。

このように、ある膜機能について、それに関与する膜分子の組織化機構を理解することが、その機能の制御機構の理解に直結していることが、膜の機能にはきわめて多いのである。したがって、膜オーガナイザーという観点からの膜研究が、本質的に重要なのである。

膜オーガナイザーとしては、上記の5つの素過程が考えられる。なかでも、膜骨格の働きについての研究が緒につきはじめたところである。膜タンパク質の集合・局在化には、(1) 膜タンパク質が細胞膜上を動いていけること、さらに、(2) 適切な場所でアンカーされること、が重要だが、これらの過程に、膜骨格がクリティカルな役割を果たすことがわかってきたのである。他の4つの素過程、および、素過程の組み合わせについても大きな進展が期待できる状況にある。

6. 細胞膜分子の組織化のエネルギー論

細胞は、細胞膜分子を組織化し、細胞膜上の構造体を構築し、しかも外部環境の変化に対応してこれらを変えていく。これは、単に分子のセルフアセンブリー（熱運動の利用）だけでは達成できるものではない。すなわち、細胞は、ATPの自由エネルギーを用いた能動的機構をうまく共同させることによって、細胞膜のグロー-

バルな組織化をおこなっていると考えられる。上で述べた5つの素過程の中では、(1) (4) (5) はATP要求性の能動的過程、(2) (3) は主に細胞膜中での分子の熱運動（拡散）に依存する過程である。

最近、膜骨格の関与する膜の組織化過程について、エナジेटイクスの観点から以下の2つの作業仮説を立て、検証をすすめているので、ご紹介したい（これはナノメートルサイズの部品を組み立てて細胞内の高次構造を作るための一般的な戦略なのではないか、と考えている）。細胞膜上で、ある膜タンパク質が特定のドメインに集合する時、細胞がこの膜タンパク質を1分子ずつATPを使って集めてくるのは時間的にもエネルギー的にも不可能である。膜骨格を上手に使っているのではないか、というのが基本的なアイデアである。

(1) 細胞は膜タンパク質の熱運動を膜タンパク質を動かしていくための駆動力として利用し、ATPのエネルギーを用いて膜骨格の構造をかえたり、膜タンパク質の集合度を変えたりして熱運動を制御することによって、膜タンパク質を集合させる（すなわち、細胞はATPの放出する自由エネルギーを膜タンパク質の運動の駆動に使うのではなくて、制御に用いているという仮説）。

(2) 膜骨格が膜タンパク質を牽引していく場合にも、1分子ずつを運ぶのではなく、ある領域内に存在する多数のタンパク質を網にかかった魚のように運ぶか（膜骨格フェンスモデルでフェンスが動く）、または、膜タンパク質の集合体・集合体が膜骨格に結合して、この小集塊を膜骨格がまとめて運ぶ（要は、膜骨格が能動的に膜タンパク質を輸送するときには、1分子ずつは運ばないというモデル）。

7. おわりに

細胞膜のオーガナイザーの研究は緒につき始めたばかりである。しかし、オーガナイザーの理解は、我々の細胞膜に関する概念を大きく変革し、ひいては、我々の細胞観に大きな影響を与えるものであるように思われる。しかも、この変革には生物物理学が大きく貢献することが必要であるし、また、それが期待されている。この小文によって生物物理関係の読者がこの分野にさらに興味をもって頂けるなら、望外の幸せである。

文 献

- 1) Kusumi, A., Sako, Y. and Yamamoto, M. (1993) *Biophys. J.* **65**, 2021-2040.
- 2) Sako, Y., and Kusumi, A. (1994) *J. Cell Biol.* **125**, 1251-1264.

- 3) Sako, Y., Kusumi, A. (1995) *J. Cell Biol.* **129**, 1559-1574.
- 4) Sako, Y., Nagafuchi, A., Tsukita, S., Takeichi, M., and Kusumi, A. (1998) *J. Cell Biol.* **140**, 1227-1240.
- 5) Kusumi, A., Sako, Y., Fujiwara, T., and Tomishige, M. (1997) *Methods Cell Biol.* **55** "Laser Tweezers," M. P. Sheetz, Ed. pp. 173-194 Academic Press.
- 6) Tomishige, M., Sako, Y., and Kusumi, A. (1998) *J. Cell Biol.* **142**, 989-1000.
- 7) 富重道雄, 楠見明弘 (1997) 生体の科学 **48**, 313-318.
- 8) 富重道雄, 楠見明弘 (1997) 生物物理 **214**, 244-248.
- 9) 柳田敏雄, 石渡信一 編 (1997) ナノピコスペースのイメージング, 吉岡書店.
- 10) Kusumi, A., and Sako, Y. (1996) *Curr. Opinion Cell Biol.* **8**, 566-574.
- 11) Simons, K., and Ikonen, E. (1997) *Nature* **387**, 569-572.
- 12) Brown, D. A., and London, E. (1997) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **240**, 1-7.
- 13) Sargiacomo, M., Sudol, M., Tang, Z., and Lisanti, M. P. (1993) *J. Cell Biol.* **122**, 789-807.
- 14) Huang, C., Hepler, J. R., Chen, L. T., Gilman, A. G., Anderson, R. G. W., and Mumby, S. M. (1997) *Mol. Biol. Cell* **8**, 2365-2378.