

タンパク質の働きには細胞表面の“ハリ”が重要!?

本研究成果のポイント：

- ◆神経伝達や生理上の重要な役割を持つ膜タンパク質「カリウムチャンネル」の活性が、細胞膜の張力（張り）と細胞内の化学的環境の両方により調節されることを世界で初めて解明
- ◆世界初、細胞膜の張力を自在に操作できる人工細胞膜の実験法を開発（特許出願中）
- ◆細胞膜の張力でカリウムチャンネルは制御されているが、コレステロールやその類似物質でも張力を介してチャンネルを操作でき、創薬の新たな戦略につながる可能性がある

現在市販されている医薬品の約 70%は、細胞表面の細胞膜に存在し、細胞機能の調節に重要な役割をもつ膜タンパク質（図 1・A）を薬物の標的としています。多くの物質は細胞膜をそのまま通過することができませんが、「イオンチャンネル」という種類の膜タンパク質は、開いたり閉じたりしながら細胞内外でのイオンや情報のやり取りの窓口となっています。より効率的な医薬品の開発に向けて、膜タンパク質の立体構造解析が多く進められていますが、こういった時に、どのようなメカニズムが働くのか、といったことを明らかにしなければなりません。

私たちは、イオンチャンネルのうち、カリウムイオンの出入りに関わる「カリウムチャンネル」を人工細胞膜に組み込んで、カリウムチャンネル周辺の細胞膜に発生する張力（張り）に着目しました（図 1・B）。そして私達が開発した細胞膜の張力を再現できる実験法（特許出願中）で、カリウムチャンネルの活性（開閉）と張力との関係を解明しました。

カリウムチャンネルの活性には、従来、細胞内外の化学的条件が必要なことはわかっていましたが、この研究では化学的条件を満たしていても細胞膜の張力がふだんの状態より小さくなるとチャンネルの活性が弱まって閉じることを突き止めました。つまり、チャンネルが完全に開く（活性化する）のは細胞内外の「化学的環境」に加え、細胞膜の張力という「物理的環境」という 2 つの条件が満たされるときだけであることを世界で初めて明らかにしました。さらに、細胞膜にコレステロールが入り込むと、張力が変わってカリウムチャンネルの活性に影響することもわかり、コレステロールが生体に影響する仕組みの一つを解明しました。これらの成果は、膜タンパク質全般のメカニズムに関わる可能性があるという点で、非常に重要な意味を持つと考えられます。

今後は、実験モデルにより、コレステロールや同じ働きをする物質を使って細胞膜の張力を調節することができれば、物理的環境に働きかける新たな作用メカニズムを持つ薬剤の開発に繋がるのが期待されます。

※本成果は、米国科学アカデミー紀要（PNAS）に掲載されました。

〈研究の背景〉

私たちの体は常に外界や体内で発生する物理的な刺激にさらされています。体に物がぶつかる以外にも、息を吸って肺が膨らんだり、尿がたまって膀胱が膨らんだりしても、そこにある細胞にとっては物理的な刺激になります。例えば物がぶつかった場合、皮下にある細胞の表面（細胞膜^(注1)）が変形して押し伸ばされ、そこに大きな張力^(注2)が発生します。細胞膜にはこの“変形による張力”を検知するためのセンサーが組み込まれており、その信号が脳へ伝えられるため、私たちはぶつかったことに気付くことができます。その一方、変形による力が加わらなくても、細胞膜には普段からごく僅かな張力（細胞表面の張り）が発生しています。この“背景の張力”とも言える力は、細胞膜に組み込まれたあらゆるタンパク質（膜タンパク質^(注3)）に常に関わっていることとなります。しかしこの張力は、変形で発生する張力と比べて小さく、膜タンパク質の働きに対して何か意味があるのか、これまでほとんど明らかになっていません（図1）。

この課題は、単に学術的な観点からだけでなく、創薬や医療といった観点からも極めて重要です。なぜなら膜タンパク質群は、現在市販されている医薬品の約70%の標的となっており、私たちの体内で非常に重要な働きをする部品であるからです。その膜タンパク質の働きに対して“背景の張力”の影響があるのか否か、あるとすれば何をしているのか、全容を解明することができれば、創薬や医療を大きく進展させられる可能性があります。

〈研究の内容〉

細胞膜に発生している僅かな張力を実験でコントロールすることは難しく、これまで、膜タンパク質の働きに対する張力の影響はほとんど調べることができませんでした。今回私たちは、張力を自在に操ることができる人工細胞膜（図2）の開発に成功しました。そして、膜タンパク質の一種、カリウムイオンチャネル^(注4)を研究対象に用いて上述の課題に挑みました。イオンチャネルは創薬のターゲットとして重要視されている膜タンパク質群であり、その中でも KcsA カリウムイオンチャネル（以下、KcsA^(注5)）は最も深く研究され、チャネル研究を先導するものです。イオンチャネルは細胞内外の様々な刺激に応答して活性化して開き、イオンを流します。KcsA の場合、細胞内が中性では閉じていてイオンを流しませんが、酸性になると活性化して開くことが分かっています。まず私たちは、KcsA を人工細胞膜に組み込み、細胞内を中性にして閉じた状態に置きました。そして、膜の張力を大きくかけましたが、いくら大きな力を加えても中性では KcsA は開きませんでした（図3B）。次に、細胞内を酸性にすると予想通り KcsA は開いた状態（活性化状態）になりましたが、張力を下げると閉じることを発見しました（図3A, C）。つまり膜に自然にかかっている張力（“背景の張力”）がチャネルを開かせていることに初めて気がついたのです。

この実験結果は、KcsA が100%の活性を発揮するためには、細胞内が酸性になること（化学的環境）と細胞膜から“背景の張力”を受ける（物理的環境）という2つの条件が満たされたときであることがわかりました。細胞内は酸性であっても細胞膜は場所によって張力が変わることがあります。そうすると KcsA チャネルは張力の高いところでだけ開いてイオンを流していることとなります。このような新しいメカニズムが細胞の機能に重要な役割を果たしていることが予想されます。

また、コレステロールを人工細胞膜に加えると背景の張力が小さくなり、その影響で KcsA が閉じる現象も発見しました。これまで、コレステロールは細胞に様々な影響を与えることが知られています。今回の発見により、細胞膜張力を介した影響という、コレステロールの新たな作用メカニズムを証明できました。

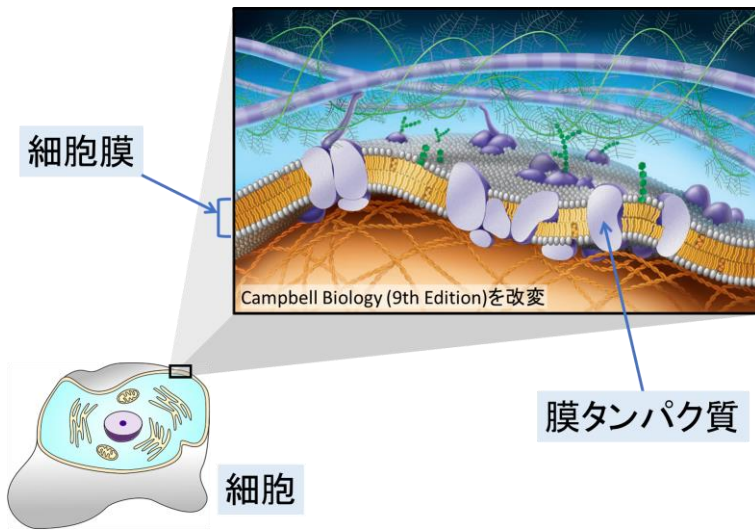
〈今後の展開〉

これまで、細胞膜に発生する張力で意味を持つのは、変形したときに発生する大きな張力だけだと考えられてきました。しかし今回、細胞膜に普段から発生しているようなごく弱い張力が、KcsAの活性を補助していることが分かりました。イオンチャネルの代表的モデルであるKcsAの実験結果は、当然、KcsAと類似する多くのイオンチャネル類にも当てはまることが予想されます。またこの特性は、イオンチャネル類のみならず、膜タンパク質群全般に共通する可能性も考えられます。

膜タンパク質群は医薬品のターゲットとして最も重要であることから、その立体構造解析が精力的に進められています。しかし、立体構造を眺めているだけでは、それがどのように、どういった時に働くのかという、タンパク質にとって最も本質的なものが見えてきません。つまり、立体構造と働くメカニズムの両方が明らかになることが、より効率的な医薬品の開発に繋がります。今回の成果は、膜タンパク質全般のメカニズムに関わる可能性があるという点で、非常に重要な意味を持つと考えられます。これを応用し、細胞膜の物理的環境“背景の張力”に作用する、という新しい作用メカニズムでの創薬戦略も考えられます。例えば、今回明らかになったコレステロールやその類似物質の性質を応用すれば、細胞膜の張力を薬によって操作でき、膜タンパク質の働きをコントロールできる可能性があります。また、作用メカニズムが分かっていない既存の薬も、実は“背景の張力”に作用していたという可能性も考えられます。今回発見した性質は、果たしてどれくらいの種類の膜タンパク質に当てはまるのでしょうか？今後研究対象を広めていくことが私たちにとって重要な課題と考えています。

〈参考図〉

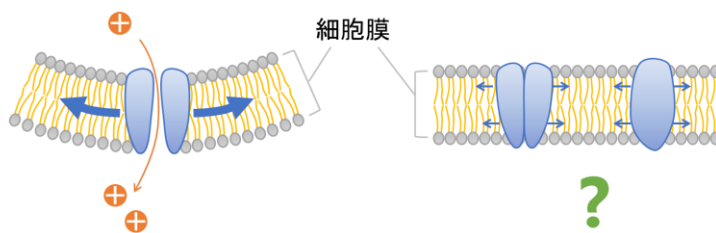
(A)



(B)

変形による張力

背景の張力



- 変形により発生する大きな力
- センサー(機械受容チャネル)が感知し、電気信号が発生

- 常時発生している僅かな力
- 全ての膜タンパク質が常に受けているが、その影響は不明

図 1. 細胞表面の細胞膜とそこに発生する力

(A) 私たちの体を作る細胞 1 つ 1 つは細胞膜と呼ばれる膜に包まれて形作られている。細胞膜には様々な膜タンパク質が組み込まれている。

(B) 細胞膜に何らかの力が加わって変形すると、膜タンパク質を周りから引っ張るような力が発生する(変形による張力)。この張力は膜に組み込まれたセンサー(機械受容チャネル)によって検知される。一方、普段の細胞膜にもごくわずかな“張り”がある(背景の張力)。全ての膜タンパク質は常に背景の張力を受けていることになる。しかし、そのことが膜タンパク質の働きに影響しているのか、はっきりとは分かっていない。

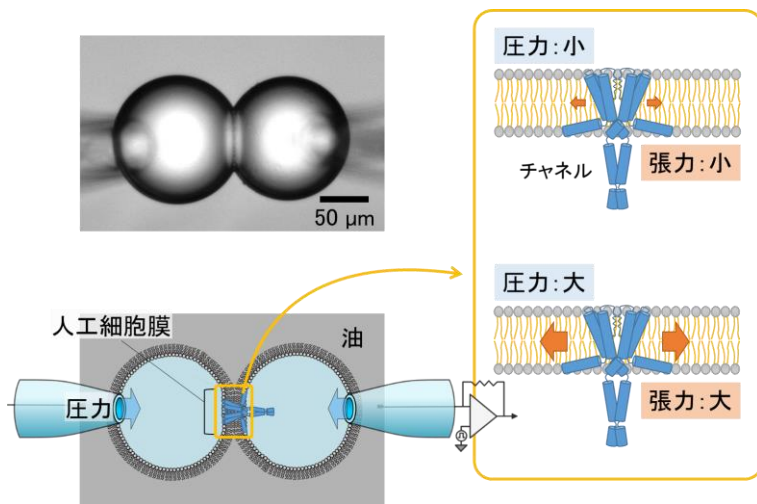


図 2. 人工細胞膜を使った実験方法（CBB 法）の概要

細胞膜の主成分であるリン脂質を含んだ油の中で、シャボン玉を膨らますようにガラス管の先から水滴を膨らますと、その表面にはきれいに 1 層のリン脂質の膜ができる（脂質単分子層）。これを 2 つ結合した接触面は脂質 2 重層となり、私たちの細胞膜とまさに同じ構造を持った人工細胞膜ができる。今回の研究では、この人工細胞膜に組み込んだカリウムイオンチャネルという膜タンパク質の働きを調べた。この CBB（Contact Bubble Bilayer）法という手法は当研究グループが開発したもので、膨らませる圧力を変えることで膜に発生する張力を自在に変えられるという、従来の方法では不可能であった実験を行うことができる。

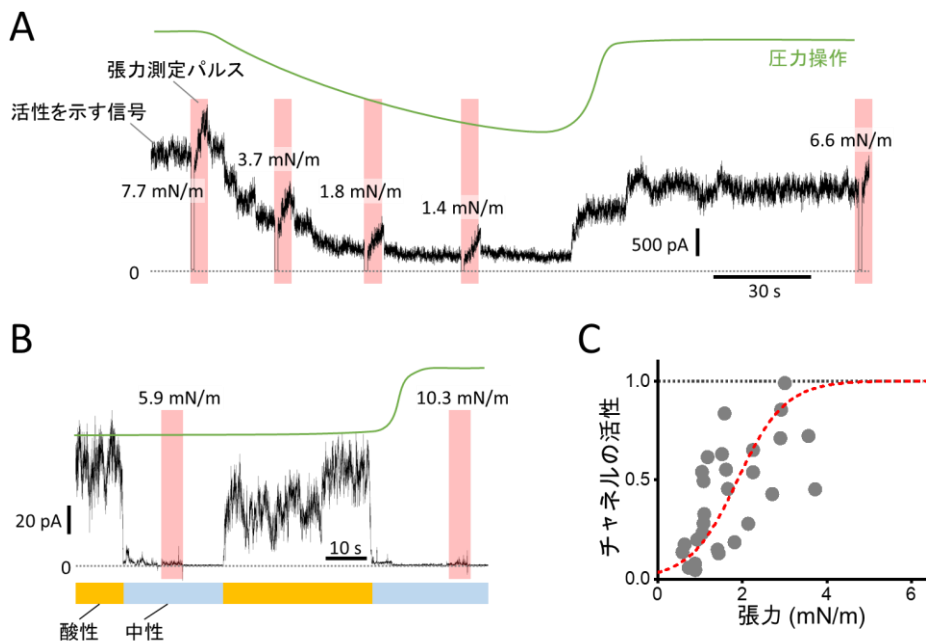


図 3. 細胞膜張力とカリウムイオンチャネルの活性の関係を調べた実験結果

(A) CBB 法で圧力を様々に操作した際のカリウムイオンチャネル活性の変化。今回用いた KcsA カリウムイオンチャネルは酸性 pH で活性化するチャネルであるので、この実験は膨らませる溶液の pH を酸性にして行った。緑色の線は操作による圧力の上昇・下降を示す。薄い赤色は膜張力を解析するためのパルスを与えた区間で、解析により得られた張力値をそれぞれ示している。ある一定の膜張力（約 4 mN/m）以下の領域で

は、KcsA の活性は膜張力の大きさによって増減することが分かった。

(B) 中性 pH での膜張力の影響。KcsA が活性化しない中性 pH では、膜張力が大きくなっても活性は決して観測されなかった。

(C) 酸性 pH での膜張力と KcsA 活性との関係。膜張力が 1 mN/m 以下になると、活性が 10%以下にまで低下することが分かった。

〈用語解説〉

〔注1〕 細胞膜

細胞膜の主成分は脂質（リン脂質）で、これが対称に2層に重なってできた脂質2重層構造になっている。厚さわずか4ナノメートル（1ナノメートルは100万分の1ミリメートル）程度であるが、多くの物質はそのまま細胞膜を通過することはできず、細胞内外を隔てる障壁となっている。

〔注2〕 細胞膜の張力

細胞が外部からの力で変形したり、水を吸って膨らんだりした際、細胞膜が伸展して張力が発生する。この張力は、膜に埋まっているものを周囲に引っ張るように働く。この時の張力は5~15mN/m程度（mN/mはミリニュートン毎メートル。1mNは約0.1g重。）と考えられている。また、変形していない普段の状態の細胞膜にも常に僅かな張力が発生している。この張力はバクテリアの細胞で1~2mN/m程度、真核生物の細胞では0.05mN/m程度と推定されている。

〔注3〕 膜タンパク質

細胞膜に組み込まれたタンパク質の総称。多くの物質は細胞膜をそのまま通過することができないため、膜タンパク質が細胞内外での物質や情報のやり取りの窓口となっている場合が多い。医薬品の標的として重要で、市販薬のおよそ70%が膜タンパク質に作用すると考えられている。

〔注4〕 イオンチャネル

電荷をもったイオンが細胞膜を通過するための通路となる膜タンパク質の総称。中でもカリウムイオン(K^+)を選択的に通過させるものはカリウムイオンチャネルと呼ばれ、神経や心臓の電気的な応答のほか、哺乳類からバクテリアまで、あらゆる細胞に存在して細胞内の K^+ 濃度を調節するなどの働きを持つ。 K^+ チャネルには非常に多くの種類が存在するが、最も重要な部分（イオンを通過させる部分）の構造はほぼ全てに共通している。

〔注5〕 KcsA

放線菌というバクテリアから発見された K^+ チャネルの一種であるが、その構造は私たちの体の中にある K^+ チャネルの最も重要な部分（イオンを通過させる部分）そのものである。また、タンパク質の安定性が高く立体構造が最初に分かったイオンチャネルでもある。そのような経緯から、イオンチャネルの代表的モデルとして世界中で研究に利用されている。

〈論文タイトル〉

“Constitutive boost of a K⁺ channel via inherent bilayer tension and a unique tension-dependent modality”

(日本語タイトル:「固有脂質二重膜張力および特異な張力依存様式によるカリウムイオンチャネルの活性化促進」)

〈著者〉

Masayuki Iwamoto, Shigetoshi Oiki*

岩本真幸 (福井大学 医学部 形態機能医科学講座 分子生理学・助教)

老木成稔 (福井大学 医学部 形態機能医科学講座 分子生理学・教授)

〈発表雑誌〉

「米国科学アカデミー紀要(PNAS) Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America」(プロシーディングス・オブ・ザ・ナショナルアカデミー・オブ・サイエンス・オブ・ザ・ユナイテッドステーツ・オブ・アメリカ)

(2018年12月3日(米国時間)に掲載)

ウェブURL: <https://doi.org/10.1073/pnas.1812282115>

DOI番号: 10.1073/pnas.1812282115

〈お問い合わせ先〉

(研究に関すること)

岩本 真幸 (いわもとまさゆき)

国立大学法人 福井大学医学部形態機能医科学講座分子生理学
〒910-1193 吉田郡永平寺町松岡下合月 23-3

(報道担当)

高田 史朗 (たかだしろう)、山岸 理恵 (やまぎしりえ)

国立大学法人 福井大学 総合戦略部門 広報室
〒910-8507 福井市文京 3丁目9番1号

TEL: 0776-27-9733 E-mail: sskoho-k@ad.u-fukui.ac.jp