

生命の神秘を解き明かすカルシウム振動

発生、記憶、老化……

生命現象は細胞の内側から制御されている

脳科学総合研究センター 発生・分化研究グループ 発生神経生物研究チーム
チームリーダー 御子柴克彦



御子柴チームリーダー

カルシウム (Ca) は、骨格を作るだけでなく、細胞内での情報伝達を担うセカンドメッセンジャー^{※1}として働く、生物に欠かすことのできない物質である。最近、細胞内の小胞体から放出されるカルシウムイオン (Ca²⁺) は、ゆっくりとしたリズムの濃度変化「カルシウム振動」を生み出すことが分かってきた。御子柴克彦チームリーダー (東京大学医科学研究所教授を併任) は、Ca²⁺振動が受精や細胞分裂、背と腹の決定、さらには記憶学習まで制御していることを、世界に先駆けて次々と解明してきた。「内側から外を見るとまったく違う世界が見えてくる」と語る御子柴チームリーダーは、Ca²⁺振動という新しい切り口から、生命の神秘を解き明かそうとしている。

細胞内からのカルシウムイオン放出

生物の体には、2つの状態のCaがある。1つは、リン酸カルシウムなどとして沈着した骨格。もう1つはイオン化したものだが、金属イオンであるCa²⁺は有害で、大量にあると細胞が死んでしまう。「ところが生物の体はとても巧妙にできていて、毒であるCa²⁺を少しだけ使うことで、薬にして生きているのです」と御子柴チームリーダーは語る。

筋肉の収縮やホルモン分泌、神経伝達物質放出などの生命現象にCa²⁺が使われている。骨格としての骨という、Caの巨大貯蔵庫があるので、Ca²⁺をいつでも補充できる。

血液中のCa²⁺濃度は10⁻³M^{※2}である。細胞内では血液中の1万分の1、わずか10⁻⁷Mだ。毒であるCa²⁺は、細胞膜にあるポンプで細胞外にくみ出され、細胞内のCa²⁺濃度は低く保たれている。細胞膜にあるチャンネルが刺激を受け取って開くと、濃度勾配に

従って、血液中から細胞内にCa²⁺が自動的に流れ込む。チャンネルとは細胞膜を貫いて細胞の外と内を結ぶ“栓”のようなものだ。

かつてCa²⁺は、すべて細胞外から流入してくると考えられていた。しかし、細胞外からのCa²⁺流入を止めても、細胞内のCa²⁺濃度が上がる。「細胞内にCa²⁺の供給源があると考えなければ説明が付きません。細胞内からのCa²⁺放出には、細胞膜のイノシトールリン脂質が加水分解されてできるイノシトール三リン酸 (IP₃) が関わっていることが分かりましたが、Ca²⁺放出のメカニズムが分からない。そういう状態が続いていました」。1980年代前半のことだ。

当時、御子柴チームリーダーらは、小脳のプルキンエ細胞に多く存在するP400という高分子タンパク質が、行動異常を起こすマウスではほとんど存在しないことを明らかにしていた。そして1989年、P400がIP₃の受容体 (レセプター) であることを世界で初めて発見し、構造を決定して、英国の科学雑誌『nature』に発表したのである。受容体とは、細胞膜や細胞内膜の表面にあるタンパク質で、特定の物質が結合すると、さまざまな機能や反応を引き起こす。

「IP₃受容体が小胞体の表面膜にあることから、小胞体がCa²⁺の貯蔵袋であることが分かりました。しかもIP₃受容体は、IP₃が結合する受容体であると同時に、Ca²⁺が通るチャンネルでもあることを証明できたのです」 (図①)

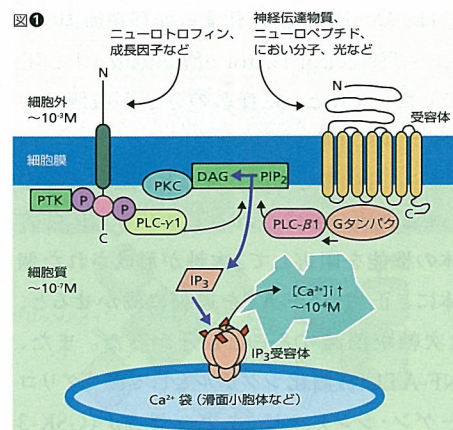
カルシウム振動が受精を制御

「細胞外から流入したCa²⁺と、小胞体から放出されたCa²⁺は、同じCa²⁺ですが、大きな違いがあることが分かってきました」と、御子柴チームリーダーは語る。

小胞体からCa²⁺が放出されると、Ca²⁺の濃度変化が細胞内を波のように伝わっていく。これを「Ca²⁺波」という。この波が次々と生み出されて10分に5~6回のゆっくりとしたリズムでCa²⁺濃度の振動を起こす。これが「Ca²⁺振動」である。「Ca²⁺の蛍光指示薬が開発され、Ca²⁺濃度の変化が目に見えるようになりました。その結果、Ca²⁺振動がさまざまな生命現象を制御していることが分かってきたのです」

生命現象のスタートは受精である。卵子に精子が侵入すると、侵入点からCa²⁺波が起きて、Ca²⁺振動を引き起こす。「私たちは、IP₃受容体の機能を阻害する抗体を世界で初めて作り、ハムスターの受精卵に入れてみました。すると、受精もCa²⁺振動も止まってしまった。この結果から、IP₃受容体が受精に関わっていることが明らかになりました。米国の科学雑誌『Science』に論文を発表した1992年当時は気が付きませんでした。実はCa²⁺振動が受精を制御しているという発見をしたばかりでなく、IP₃受容体がCa²⁺振動を起こす振動発信装置であることを証明していたのです」

卵割や細胞分裂では、分裂する際に分かれ目、分裂溝にCa²⁺波が起きて、やはりゆっくり振動する (図②)。また、IP₃を注入すると細胞の形が変化することから、細胞



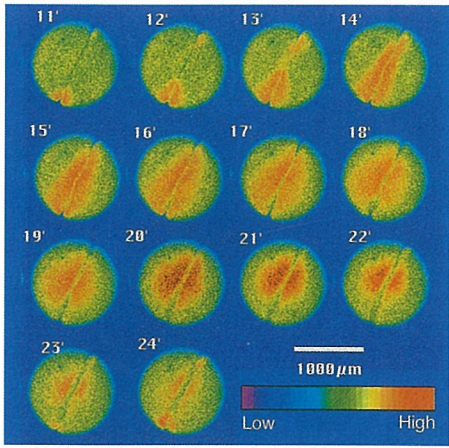


図2

の形を安定させる細胞骨格にもCa²⁺振動が関わっていることが明らかになった。

● 背と腹を決めるメカニズム

受精して間もなく、各細胞が将来、体のどの部分になるか“運命”が決まる。体づくりで重要なのが、前後、左右、背腹という3つの体軸の形成である。背側に神経ができるため、特に背腹軸の形成は重要だ。

発生初期、腹になる運命の細胞にリチウムを入れると、もう1つの脊髄(2次軸)ができることが知られていた。しかし、なぜ異常が起きるのか分からなかった。御子柴チームリーダーは、リチウムがイノシトールリン酸系の酵素の働きを阻害するらしいことに注目した。そこで、アフリカツメガエルのIP₃受容体の機能を阻害する抗体を作り、4細胞期の腹になる運命の細胞に注入した。すると、細胞の運命が変化して背が形成された(図3)。「Ca²⁺振動が腹側化のシグナルとして働く」という論文を1997年に『Science』に発表しました。しかし当時は、Ca²⁺の標的分子が分かっていませんでした」

御子柴チームリーダーらが研究を進めた結果、背腹軸を決定する情報伝達のメカニズムが明らかになってきた。「Ca²⁺の標的分子は、リンパ球を活性化する転写調節因子^{※3} NF-AT(Nuclear Factor of Activated T-cell)でした。なんと、免疫系の分子が腹側化のシグナルに関わっていたのです」

NF-ATの働きを阻害すると、腹が背になって2次軸が形成される。さらに、IP₃受容体の機能を阻害して2次軸が形成された個体に、正常なNF-ATを過剰に働かせると、2次軸が消滅することも分かった。また、NF-ATは背側化シグナルとして働くグリコーゲン・シンターゼ・キナーゼ-3β(GSK-3β)

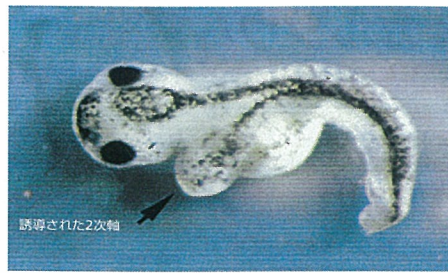


図3

β)^{※4}と相互作用していた(図4)。GSK-3βは、脳の老化に伴って起きるアルツハイマー病の原因の1つと考えられている。

「発生と老化は、1つの現象の裏腹であると私は考えています。今回明らかになった分子や情報伝達のメカニズム(図5)が、老化でも当てはまる可能性があります」と御子柴チームリーダーは語る。研究成果は、『nature』(2002年5月16日号)に掲載され、5月16日に文部科学省においてプレスリリースされた。

● 神経突起の成長を制御する“手”

御子柴チームリーダーが、世界をリードする成果を次々と挙げる背景には、新規の研究・実験手法の積極的な導入がある。「注目すべき画期的な研究法の1つ」として挙げるのが、レーザー分子不活性法である。この方法により、神経突起の成長とCa²⁺振動との関わりが明らかになった。

分化を終えた神経細胞は、1本の長い軸索と、数本の短い樹状突起を伸ばし始める。神経突起の先端には“手”のような成長円錐が形成され、周りの情報を判断しながら伸びていく。神経突起が正しい相手と神経回路を形成して初めて、新しい脳の機能が発揮される。神経突起の成長にはCa²⁺が関わっているのだが、IP₃受容体は細胞体、神経突起、成長円錐に広く分布し、細胞外からの流入もあるため、どのCa²⁺が神経突起の成長に重要なかが分からなかった。

レーザー分子不活性法では、生きた細胞において色素で標識した特定の分子をピンポイントで、自由自在に壊すことができる。実験では、成長円錐のIP₃受容体を破壊したときだけ、突起の成長は止まり、手を引っ込めるように退縮した(図6)。つまり、神経突起の成長を制御しているの

- ※1:セカンドメッセンジャー細胞膜の受容体にシグナル物質(1次メッセンジャー)が結合することで、細胞内で新たに作り出されたり、細胞内に放出されたりして、情報を伝える物質。IP₃やCa²⁺などがある。
- ※2: M(モル濃度)12の溶液に含まれる溶質の濃度をモル(mol)数で表したものを。1molの物質には約6.02×10²³個の粒子が含まれる。
- ※3:転写調節因子転写とは、DNAの遺伝情報をメッセンジャーRNAにコピーすること。メッセンジャーRNAの情報をもとにタンパク質が合成される。転写を抑制したり、促進したりするタンパク質が、転写調節因子である。
- ※4: GSK-3β タウタンパクをリン酸化する酵素。リン酸化されたタウは結合して、神経細胞内に神経原線維変化を作る。神経原線維変化は、βアミロイドタンパクの蓄積による老人斑とともに、アルツハイマー病の特徴的な病変である。

は、神経細胞の中でも成長円錐からのCa²⁺放出であることが、明らかになった。

● 細胞の中は“森”である

御子柴チームリーダーらは、世界に先駆けてIP₃受容体を欠損させたノックアウトマウスを作製し、『nature』(1996年)に発表した。異常なノックアウトマウスと正常なマウスを比較することで、欠損させた分子の働きが見えてくる。「異常から正常を見る」というの

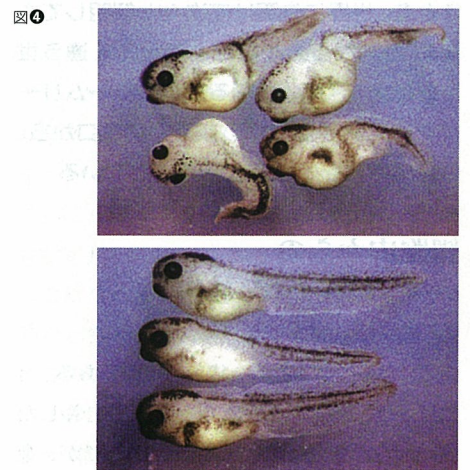
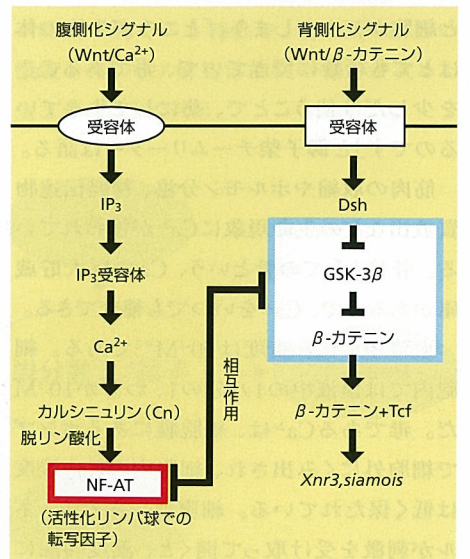


図4



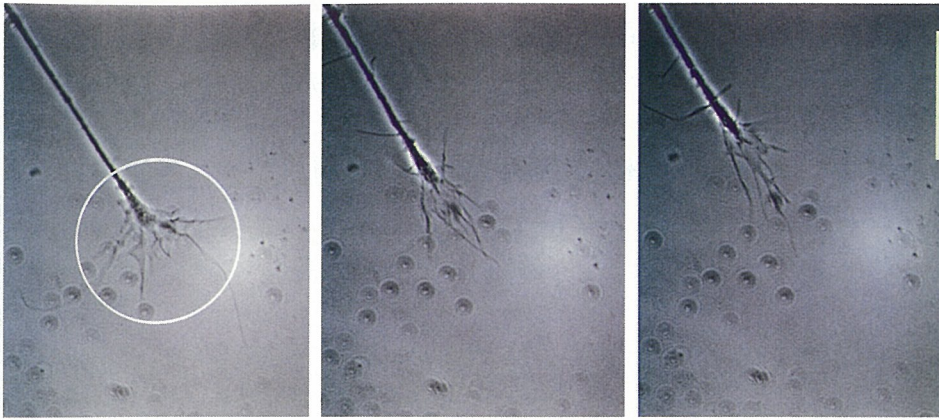


図6

が、御子柴チームリーダーの研究手法だ。

IP₃受容体ノックアウトマウスは、てんかんの症状と小脳失調があることが分かった(図7)。さらに、記憶学習にも変化が見られた。記憶学習は、外部からの情報によって神経回路の伝達効率が変わることによって考えられている。神経回路の伝達効率の変化には2つある。小脳における「長期抑圧(LTD)」は情報伝達の効率が長期間抑えられる現象、海馬における「長期増強(LTP)」は繰り返し刺激が与えられることで伝達効率が増強する現象である。IP₃受容体ノックアウトマウスでは、小脳のLTDが低下し、海馬のLTPは増強した。Ca²⁺振動が、てんかんなどの脳機能障害、さらに高次機能である記憶学習にも関わっていることが分かる。

一方、細胞外からのCa²⁺流入を妨げると海馬のLTPが低下するという報告がある。御子柴チームリーダーの結果とは一見相反している。「これは不思議なことではありません。細胞の中が“広い草原”なら、外から入るCa²⁺と、中から出るCa²⁺の作用は同じかもしれませんが、細胞の中は、真つすぐに歩けないような“森”なのです。Ca²⁺は、“木”つまりさまざまな分子にぶつかって、それぞれ異なった作用を引き起こすのです」と、御子柴チームリーダーは解説する。

最近、IP₃受容体には20個ほどの分子が結合していることが分かってきた。IP₃受容体から放出されたCa²⁺は、すぐにその近傍の分子に作用して、その分子の働きに従った生理機能を引き起こす。しかも、IP₃受容体に結合している分子は、細胞の種類や時期によっても変わってくる。Ca²⁺が多様な機能を持つことも、IP₃受容体にいろいろな分子が複合体として結合していることで説明できる。今後は、分子間の相互作用などを明らかにしていく。

● カルシウム波はなぜ起きるのか

Ca²⁺振動を引き起こすCa²⁺波がどのようなメカニズムで起きるかは、まだ分かっていない。「波」という言葉から、Ca²⁺が細胞の中を拡散していくと連想するかもしれない。しかし、Ca²⁺は細胞の中ではほとんど拡散しない。Ca²⁺波はIP₃受容体そのものが作り出したものなのである。

IP₃受容体は、Ca²⁺とも結合することが分かっている。放出されたCa²⁺が隣のIP₃受容体に結合して活性化し、その結果放出されたCa²⁺がさらに隣のIP₃受容体を活性化する……。これならば、Ca²⁺自体が遠くまで拡散しなくても波が起きる。しかしそのためには、IP₃受容体がすぐ近くに集まっていなければならない。御子柴チームリーダーは、IP₃受容体の分子が集まっている様子を世界で初めてとらえることに成功している。

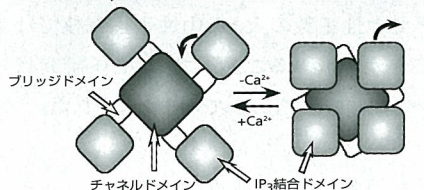
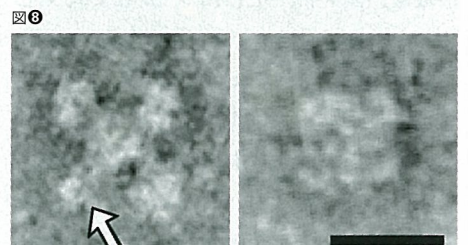
「さらに、生きたIP₃受容体を生きたタンパク質のままに精製することに成功し、IP₃受容体の構造が変化の様子をとらえることができました」。IP₃受容体は4つのユニットからなり、各ユニットの“手”は四角になっている。Ca²⁺が結合すると“手”が矢車に変化する(図8)。IP₃受容体の構造変化は、0か1かのととても大きなデジタル的な動きをするばかりではなく、アナログ的なゆらぎの世界でもある。「この両者の組み合わせが、Ca²⁺波を作る基盤になっているのではないかと考えています」と御子柴チームリーダーは語る。

今後は、構造が変化したことでIP₃受容体の働きがどう変化して、Ca²⁺波を起こすのかを明らかにしていく。御子柴チームリーダーは、IP₃受容体の反応が“感覚の原理”と同じであることにも注目している。そのほかにも、Ca²⁺波のメカニズムに迫っていく

つかの研究が進行中だ。

「Ca²⁺振動が、さまざまな生命現象を制御していることが明らかになってきました。私は、バイオリズムもCa²⁺振動にコントロールされているという仮説を立てています。ぜひ、それを明らかにしていきたい。筋肉の収縮にCa²⁺が関わっていることを明らかにした江橋節郎博士のトロポニンC発見以来、Ca²⁺に関する重要な発見には日本の研究者の貢献が大きいのです。これからも、もっと頑張っていきたいですね」と、御子柴チームリーダーは自らの意気込みを語る。

「異常から正常を見る」「発生と老化は裏腹」と御子柴チームリーダーが語るように、これらの研究は、神経の再生、神経の発達異常や脳機能障害の病因解明・治療、老化の制御など、医療へとつながっていく。



- 図1: IP₃受容体とCa²⁺の情報伝達
- 図2: 卵の分裂溝におけるカルシウム波
- 図3: IP₃受容体の機能阻害抗体による2次軸の形成
- 図4: NF-AT阻害による2次軸の形成(上)がGSK-3βの過剰発現で回復(下)
- 図5: 背腹軸の決定の細胞内情報伝達メカニズム
- 図6: 成長円錐のIP₃受容体をレーザーにより破壊したときの変化。突起の伸展が止まり、退縮した。
- 図7: IP₃受容体ノックアウトマウス
- 図8: IP₃受容体の構造変化。上段の矢印はIP₃結合ドメイン。

監修: 脳科学総合研究センター
発生・分化研究グループ 発生神経生物研究チーム
チームリーダー 御子柴克彦