

バイオフィンターフェイス (後編) マテリアルを組織化したバイオフィンターフェイス

生物, 物理, 数学の境界領域としての膜研究

下川 直史¹・高木 昌宏²

バイオフィンターフェイスとは?

「インターフェイス」とは、直訳すれば、接触面や界面、中間面などといった意味になる。しかし、情報通信の分野では、単に接触面、中間面という意味から発展して、コンピュータと周辺機器の接続部分を表すようになった。コンピュータの接続部分に目を向けると、「接触面」「中間面」という静的な存在ではなく、インターフェイスを介した情報のやりとりが当然ある訳で、つながっているだけではない、より動的な側面が重要視される。さらに、ユーザーインターフェイスという言葉に代表されるように、人間と自動機械との間の複雑な操作をする手順・規則の意味にも使われる。つまり、インターフェイスとは、単なる界面(サーフェス)、接触面、中間面といった、境界をつくったり、つなげたりするだけではない、情報や価値の伝達、変換や創出も含む用語である。最初に、その点を明確にしたい。

そして、我々の関係する生物学・生物工学の分野でも、「インターフェイス」に当てはまる研究例が多くあり、それらを「バイオフィンターフェイス」と総称するのだが、接触、連結に留まらない、伝達、変換などを伴う興味深い例が、数多く本特集で紹介されている。

バイオフィンターフェイスとしての細胞膜

バイオフィンターフェイスの中で、我々が着目しているのが細胞膜である。細胞膜が細胞の内側と外側を隔てている界面を形成しているというのは、高校生物の教科書にも記載されているまぎれもない事実である。しかし、上述したインターフェイスの定義とまったく同じロジックで、単なる境界面を形成しているだけでなく、情報の伝達、変換にきわめて重要な役割を担っている。膜が情報伝達に関わっていると考えられるようになった最初のきっかけは、「脂質メディエーター」の発見であろう。そして次に、「ラフト仮説」の提唱ではないだろうか?

プロスタグランジン類、ロイコトリエン類などに代表される脂質メディエーターは、細胞膜脂質に由来する生理活性物質で、痛み、発熱、睡眠、覚醒など、重要な生理応答に関与している。身近なところでは、鎮痛解熱剤として広く用いられているアスピリンの作用機序が、膜脂質のアラキドン酸をプロスタグランジン類の前駆体であるプロスタノイドに分解するシクロオキシゲナーゼ(COX)の阻害であることがあげられる¹⁾。

我々が学生時代に講義や教科書で学んだ細胞膜は、「流動モザイクモデル」であった。つまり膜中を、リン脂質、コレステロール、膜タンパク質などが一様に分散している状態として膜構造は理解されていた。しかし「ラフト仮説」では、「膜中に直径100 nm以下の大きさのコレステロールや糖脂質を多く含む相分離領域(ラフト)が存在し、受容体や脂質アンカー型シグナル伝達分子が濃縮されシグナル伝達のプラットフォームを形成している。」という考え方をする²⁾。このラフト仮説は、非常に魅力的であり、生物学はもちろん、物理学の一分野であるソフトマター物理の研究者達の興味を惹いた。

ソフトマターとは、両親媒性分子はもちろん、液晶、コロイドなど大きな内部自由度を有する物質の総称であり、外部からの刺激に対してゆっくり応答し、多くの非平衡現象を示し、生命現象の背景にある秩序構造(膜やタンパク質の構造)やダイナミクスとも深い関わり合いがある。

2次元(2D)、3次元(3D)ダイナミクス

我々は、膜のダイナミックな動きに関して、以下の二つの側面を考えている。つまり、ラフト構造に代表される膜相分離構造の形成や集積などの変化としての、2次元(2D)ダイナミクス(図1)、そして膜の変形を伴うエンドサイトーシス、エキソサイトーシス、オートファジーなどに代表される、3次元(3D)ダイナミクス(図2)であり、これらの側面から、膜のダイナミクスと細胞

著者紹介 ¹北陸先端科学技術大学院大学先端科学技術研究科マテリアルサイエンス系(助教)

²北陸先端科学技術大学院大学先端科学技術研究科マテリアルサイエンス系(教授) E-mail: takagi@jaist.ac.jp

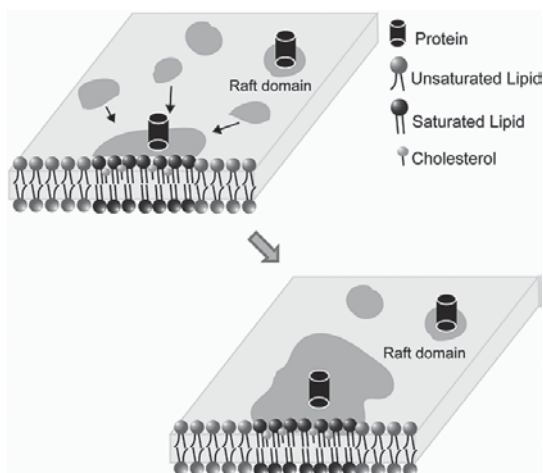


図1. 2次元 (2D) ダイナミクス

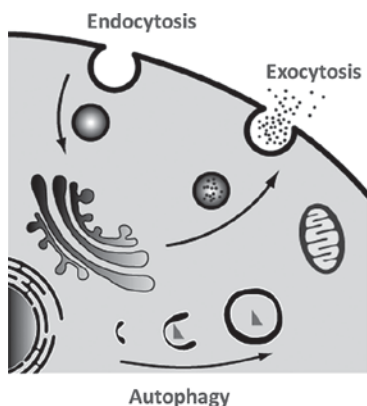


図2. 3次元 (3D) ダイナミクス

信号伝達の関連性を理解しようと試みてきた³⁾。しかし、実際には以下に詳しくその理論面から述べるように、膜相分離と膜変形とは連動しており、不可分の関係にある。

細胞や人工膜を用いた研究例に関しては、過去にも本誌で紹介させていただいたこともある³⁾。ここでは2次元ダイナミクス (相分離構造) と3次元ダイナミクス (膜変形) の理論的背景について、その物理学的、そして数学的な基礎について、できる限り簡単に紹介させていただきたい。

相転移・相分離

相分離と膜変形に関する基礎的な理論モデルを紹介したい。話を簡単にするために、脂質二成分系に注目して解説する。

まず、相分離の前に脂質の相転移について触れておく。脂質は低温では固体的に、高温では液体的に振る舞う。つまり、固体と液体の相転移が存在し、相転移温度を主転移温度と呼ぶ。脂質の場合、ゲル・液晶相転移と

いう呼び方もする。固体相では炭化水素鎖が秩序だっているのに対し、液体相では無秩序で流動的な状態となる。この主転移温度が大きく異なる2種類の脂質から成る脂質膜では相分離が起きやすい。これは物理的な性質が大きく異なっているため、脂質同士は、混ざり合うことを嫌う傾向にあることを意味している。飽和脂質は一般に主転移温度が高く、室温で固体相であるのに対し、不飽和脂質は主転移温度が非常に低く、室温で液体相である。そのため、室温では二つの脂質の間に炭化水素鎖の秩序の差が生まれる。この秩序の差により同種脂質間の引力が異種脂質間の引力よりも支配的となるために相分離が起きる。

しかし、相分離は脂質間の相互作用によってのみ決定される物理化学現象ではない。より正確にはヘルムホルツ自由エネルギー $F = U - TS$ を用いて説明することができる (ギブス自由エネルギー $G = H - TS$ でも本質的には同じであるが、ここではヘルムホルツ自由エネルギーを用いる)。つまり、相分離状態と混合状態でどちらの自由エネルギーが小さくなるかを比較すればよいのである。 U は内部エネルギーで脂質間の引力に起因し、同種脂質同士が集まると小さくなり、膜内で脂質がランダムに配置されていると大きくなる。 S はエントロピーで相分離していると配置の状態数が減るため小さくなり、反対にランダムな配置のときには大きくなる。 T は温度である。これより、温度が高いとき (T が大きいとき) は U ではエネルギーが増加するが、 S を大きくした方が、結果的に F が最小となる (S の項が負であることに注意)。つまり、高温では混ざり合うことを意味する。反対に低温 (T が小さいとき) はエントロピー項ではエネルギーが増加するが、 U を小さくすることで、 F が最小となる。このように U と S の競合により相分離と混合状態を記述することができる。

代表的な相分離を記述するモデルとして Flory-Huggins 理論がある^{4,5)}。もともとは高分子溶液を記述するモデルであるが、脂質膜においても広く用いられている。2成分の脂質の片方の組成比を ϕ ($0 < \phi < 1$) とすると

$$F_{\text{mix}} = k_B T [\phi \ln \phi + (1 - \phi) \ln (1 - \phi)] + \chi \phi (1 - \phi)$$

となる。ここで、 k_B はボルツマン定数、 χ は2種類の脂質の間の相互作用パラメータであり、おおよそ温度の逆数に比例する。第1項が脂質の混合のエントロピーを、第2項が脂質間の相互作用を表す。 $\chi < 2 k_B T$ (高温) ではエントロピー項が支配的となり、相分離は起きないが、 $\chi > 2 k_B T$ (低温) では相互作用項が支配的となり、相分離が起きる (図3)。

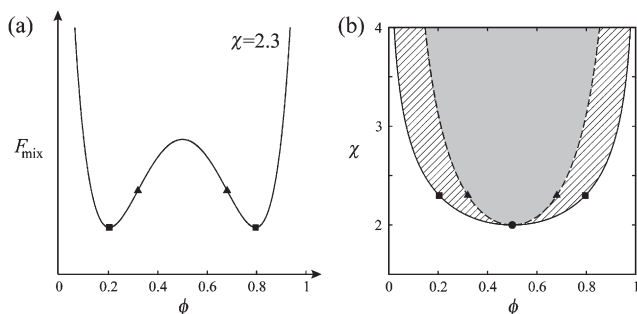


図3. Flory-Huggins理論の自由エネルギー(a)と相図(b). (a)は例として $\chi=2.3 k_B T$ の場合を計算した. (a)の四角で示した2点に相分離する. 三角は自由エネルギーの変曲点で熱力学的に不安定な領域と準安定な領域を分ける. (b)で実線が混合状態(白い領域)と相分離領域(斜線と灰色)を分ける相境界でバイノーダルと呼ばれる. 点線はスピノーダルラインで不安定な領域(灰色)と準安定な領域(斜線)を分ける線である. 四角と三角の点はそれぞれ(a)の点と対応する. 黒丸は臨界点を示す. χ は温度の逆数におおよそ比例するので, χ が小さいときが高温, 大きいときが低温に対応する.

相分離から膜変形へ

次に, 相分離がきっかけで起こる膜変形について言及する. 我々は荷電脂質と中性脂質の2成分系において, 相分離が起きた後さらに温度を下げると, 荷電脂質に富む領域から膜孔(ポア)が形成されることを実験的に明らかにし, 数値シミュレーションによっても再現した⁶⁾.

このポア形成は膜が曲がることによる曲げエネルギーと膜孔の縁にかかるラインエネルギーの競合でその形態を記述することができる. つまり, 球状のリポソームは曲率を有しているため曲げエネルギーは大きい, ポアが存在しないためラインエネルギーは存在しない. 反対に, ポアを形成し開ききりディスク状となった場合, 膜面は平らであるため曲げエネルギーは小さいが, 膜孔が存在するため, ラインエネルギーが存在する.

膜の曲げエネルギーはHelfrichの曲率エネルギーを用いて⁷⁾

$$F_{\text{curv}} = \int \left[\frac{1}{2} \kappa (c_1 + c_2 - c_0)^2 + \kappa_G c_1 c_2 \right] dA$$

と書ける. κ は曲げ剛性率, c_1, c_2 は主曲率, c_0 は自発曲率, κ_G がサドル-スプレイ剛性率である. []内は単位面積当たりの曲げエネルギーであり, それを膜面全体で積分することで, リポソーム全体の曲げエネルギーとなる. 球状リポソームの場合, 主曲率はリポソームの半径 r を用いて $c_1 = c_2 = 1/r$ となる. また, ディスク状では $c_1 = c_2 = 0$ である. 第1項は膜の曲率が自発曲率からどれだけずれているかに対するエネルギーと見ることができる. いま自発曲率は $c_0 = 0$ として, 平らな形状を好む

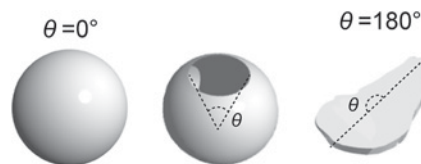


図4. 球状リポソーム・ポアが開いたリポソーム・ポアが開ききったディスクの模式図.

と仮定する. 第2項はガウス曲率と呼ばれ膜のトポロジーに関する項である. また, 二重膜ではおおよそ $\kappa_G = -\kappa$ である⁸⁾.

次にラインエネルギーを記述する. ポアを形成すると, 脂質の疎水部が水にさらされエネルギーが大きくなる. この過剰エネルギーをラインエネルギーとして表す. つまり, ポアの縁の長さに比例し, 比例係数が界面張力(この場合は特に線張力と呼ぶ)となる.

$$F_{\text{line}} = \gamma \int dl$$

と表すことができる. γ は線張力で言い換えれば単位長さあたりのラインエネルギーである.

図4のようにポアの開き角を θ とし変形に際し膜面積が保存すると仮定すると, 全エネルギーは

$$\begin{aligned} F_{\text{total}} &= F_{\text{curv}} + F_{\text{line}} \\ &= 2\pi\kappa(1 + \cos\theta) + 2\pi\gamma r \sin\theta \left(\frac{2}{1 + \cos\theta} \right)^{1/2} \end{aligned}$$

となる. 上式に $\theta = 0$ (球状)と $\theta = \pi$ (ディスク状)をそれぞれ代入し, 二つのエネルギーが等しくなる場合を考える. すると

$$r^* = \frac{\kappa}{\gamma}$$

という特徴的なサイズ r^* が得られる. この長さは陥入長(invagination length)と呼ばれ, ポア形成を特徴付けるサイズとなる. このサイズよりも小さいとポアが開き, 大きいと閉じることになる. つまり, γ が小さくポアの縁が安定化されている, または κ が大きく曲がることを好まない場合 r^* は大きな値となる. この値を下回るサイズのリポソームは穴が開くため, 穴が開くリポソームが増えることを意味する. 先に言及した我々の実験では荷電脂質がポアの縁を安定化し γ を小さくすることでポアが開きやすくなると理解することができる.

このポア形成のモデルは相分離ドメインのバディング(出芽)現象と同一である(むしろ, バディングのモデルとして広く知られている)⁹⁾. ドメインの境界に働く線張力とドメイン領域の曲げエネルギーからドメインがバディングするか, しないかを記述することができる.

境界領域としてのバイオインターフェイス

アラキドン酸とプロスタグランジン代謝の研究, そしてラフト仮説の提唱により, 細胞膜のイメージは大きく変化した. 膜は単なる界面ではなく, 情報を伝達, 変換, 創出する「インターフェイス」なのである.

細胞情報伝達に関する研究が, 分子生物学における主要分野として大きく発展し, 情報分子と膜受容体の相互作用や細胞内でのリン酸化カスケードなどの解明など, 多くの重要な知見をもたらしたことは否定すべくもない. しかし, ここで述べた膜ダイナミクスが, 受容体やチャネルによる細胞信号伝達と協働的に機能している可能性について, 今後考えて行く必要がある. 実際, 生活習慣病の多くは肥満がリスクファクターであり, その背景に細胞膜の脂質組成, 脂質代謝が関与している可能性はきわめて高い.

さらに膜という構造は, 生命秩序を考えるうえでも重要なモデル系を提供しており, 物理学, さらに数学的

な解析がきわめて威力を発揮する分野でもある.

ここで述べた理論的な背景は, 生物工学に携わる研究者にとっては, 難しい側面もある. しかし, 膜研究が, 生物だけでなく, 物理, 化学, 数学などとの異分野融合研究の「インターフェイス」となり得ることは, 少なくともご理解いただけたと期待している.

文 献

- 1) Vane, J. R.: *Nature New Biol.*, **231**, 232 (1971).
- 2) Simons, K. and Ikonen, E.: *Nature*, **387**, 569 (1997).
- 3) 高木昌宏: 生物工学, **92**, 142 (2014).
- 4) 土井正男: ソフトマター物理学入門, 岩波書店 (2010).
- 5) 石井淑夫 監修: 材料表面の親水・親油の評価と制御設計, p. 531, テクノシステム株式会社 (2016).
- 6) Himeno, H. *et al.*: *Phys. Rev. E*, **92**, 062713 (2015).
- 7) S. A. サフラン: コロイド物理学—表面・界面・膜面の熱統計力学—, 吉岡書店 (2001).
- 8) Hu, M. *et al.*: *Biophys. J.*, **102**, 1403 (2012).
- 9) Lipowsky, R.: *J. Phys. II France*, **2**, 1825 (1992).