総説

細胞レベルにおける機能発現のダイナミックス

北海道大学・薬学部 上田 哲男
小 島 陽之助

Rhythm/Amoeboid motility/Myxomycetes/Macrophage/Amoeba/Morphogenesis fractal

はじめに

細胞はエネルギーおよび情報の伝達・変換を自律的に行う最小の生物システムである。この複雑な、それ故に未解決の問題を多く含む細胞システムは、平衡から遠く離れた状態にあるため、しばしば自励振動を呈する。心臓の拍動、脳波、概日リズムなどの生物リズムは、自励振動が機能発現と密接に結びついたよく知られた例であるが、これらも細胞レベルでの自励振動がもとになっている。私達は、この数年間、アメーバ運動、化学受容、形態形成を研究してきた。従来振動現象が重要であろうと考えられていなかったこれらの細胞機能の中においても、非線型性、特に自励振動が重要であることがわかってきた。本稿では、私達の仕事を中心に紹介するが、これを通じて私たちがどのように考えて研究しているかということにくみとっていただければ幸いである。

I. アメーバ運動

1.1 アメーバ運動はリズム的である^{1,2)}

変化を意味する名の由来どおりアメーバは運動に伴って、或いは外部刺激にตอบสนองして細胞の形状を変える。この‘かたち’を定量的に表わすパラメータとして、(周辺長)²/面積で定義される複雑度 (complexity) を考えてみよう。面積は細胞の大きさを表わし、複雑度は無次元であるから大きさに依らず形状のみを抽出した量である。Amoeba proteus の移動に伴う形の時間経過を図1に示す。おおざっぱに言う、アメーバは比較的丸い⇄細長いという形状変化を周期的に繰返しながら移動している。どの程度周期的であるかは、complexity の Fourier のスペクトル解析により判る。マイクロコンピュータのFFTプログラムで解析したところ、アメーバのスペクトルは粘菌変形体のそれとくらべ少し幅が広がっているが、周期5-7分に

図1 A. proteus と粘菌 physarum の運動リズム¹⁾

- (A) アメーバの形状変化
(B) 粘菌変形体糸の張力発生

ピークがみられ、運動は周期的であると言える。

A. proteus の長時間にわたる運動は、2次元のブラウン運動となる。方向変化は5~7分周期で起こり、上の結果と一致する。細長い形の時期には直線的に移動し、丸い形をしたところで止まっては方向変換をする。この結果として不規則な軌跡をたどることになる。丸くなった後の運動の方向は確率的にしか決まらない。つまり、細胞は丸くなることにより記憶を無くしていることになる。

細胞性粘菌は、多数の細胞が集合し胞子を形成する社会性アメーバとして知られている。形態形成は飢餓が引き金となって進行する。この分化に伴う運動パターンの変化を、図2に比較した。前集合期の細胞は、偽足の伸長が形状変化を起こすかのように運動し、スペクトル解析の結果、約2分と5分の周期をもつことが判る(図2 A, B)。飢餓状態が4時間を過ぎて集合期に入ると、新しい運動パターンがあらわれる(図2 C, D)。細胞はほぼ同心円状に大きく伸張して偏平になる。これが約10分の周期で繰返される。集合期に入った細胞の浮遊液は、同調して振動するが、こ

の周期は約10分で上の結果と一致する。

白血球やマクロファージ(Mφ)のような生体防御細胞もアメーバ運動をする。図3に、呼吸阻害および解糖系阻害がマクロファージの運動パターンに及ぼす影響を示す。他のアメーバ細胞と同様に、運動は振動的である。NaCNが存在すると、振動運動は継続するが、周期は2~3倍長くなる。2-deoxy-glucoseによる解糖系の阻害では(D), 運動は非常に不規則になり、遂には、丸くなり動かなくなる。腹腔由来のマクロファージは、嫌気的条件下で生きておりエネルギー源は主に解糖系に依っている。したがって、解糖系阻害による運動の停止は、ATPが無くなったためであろう。呼吸阻害の結果は、運動リズムの発現にミトコンドリアが関与していることを示唆するが、これについては後で詳しく述べる。

規則正しい往復の原形質流動は、変形菌類を分類する上での重要な性質である。しかし、上にみたように、程度の差こそあれ、運動リズムは、粘菌(変形体)に限らず、白血球、Mφ、フィibroblast、Acanthamoeba、A. proteus など広く認められるものである。

図2 細胞性粘菌における分化に伴う運動パターンの変化²⁾

A, B: 前集合期の細胞運動。
C, D: 集合期の細胞運動。

図3 マクロファージの運動パターン.²⁾
呼吸阻害 (C, D) と解糖系阻害(E).

このことは、振動そのものが、ナメバ運動の本質に関与していることを示している。

ここで振動する化学反応と細胞極性の発現との関連を考えてみよう。物理化学的にみれば、細胞は、化学反応と輸送（拡散）が統一に行われている体系である。移動している細胞は形態的に見ても、前後の区別は明らかである。細胞の中のアクチンやミオシンの蛍光抗体法によって解析しても、これらの構造タンパク質の不均一な分布が明らかにされている。一方、細胞には球形をした均一な分布をもった状態が存在するから、移動に伴う細胞の変形＝細胞極性の発現は、均一相における自己構造形成にはかならない。このことが可能となるためには、化学反応系が非平衡、非線型でなければならない。具体的には、Meinhardt & Gi-

erer による activator-inhibitor 形態形成モデル¹⁶⁾や Brusselator¹⁷⁾を思い浮べるとよい。あるパラメータ領域で、化学反応は振動する。十分条件ではあるが、振動する化学反応は、自己秩序形成の原動力である。

1.2 細胞内成分の振動

吉本らは、粘菌の収縮リズムに伴ってATPやCa²⁺濃度が振動していることを示した^{3,4)}。この時、収縮に対しATPは同位相で、Ca²⁺は逆位相である。また、図4に示すように、cAMPは収縮リズムと1/3~1/4の位相差をもって振動する。この位相差の事実を説明するモデルとして図4Bのようなフィードバック・ループが考えられる⁵⁾。同図には、H⁺と膜電位振動の位相差も記してある。ここで、Ca²⁺濃度の上昇は、ATP/H⁺濃度の上昇を阻害するように働くかと仮定してい

図4 振動する細胞内成分の位相関係⁵⁾

(A) cAMPの収縮リズムに伴う振動

(B) 位相関係から予測されるフィードバックループ

る。つまり、ネガティブ・フィードバックがかかっている。

このフィードバック・ループを形成するオルガネラとしてミトコンドリアが重要である。それも、エネルギー源としてではなく、おそらくイオン調節を通じて時計機構に関与しているようである。各種の代謝阻害剤を粘菌変形体に微小注入して収縮リズムに及ぼす効果をみた。NaFやモノード酢酸による解糖系阻害では、細胞内ATP濃度は半減するが、収縮リズムは影響を受けなかった。N₂やCNによる呼吸阻害では、リズムは持続したが、周期は過渡的に1.5~2倍長くなった。ルテニウムレッドによるCa²⁺の取り込み阻害では、周期は3倍近くまで順次長くなり、リズムは停止した⁶⁾この時、細胞内ATP濃度はほとんど変化しない。オリゴマイシンを単独に与えてミトコンドリアのATPaseを阻害しても、収縮リズムは持続する。しかし、これに呼吸阻害を重畳すると、図5に示すよ

図5 呼吸阻害とATPase阻害の重畳による収縮リズムの可逆的停止⁷⁾ 各阻害段階における細胞内ATP濃度も図中に記した。

うに、収縮リズムは可逆的にブロックされる。この時細胞内ATP濃度は、未処理粘菌の50%レベルに保たれている⁷⁾以上の結果は、ミトコンドリアが、H⁺やCa²⁺輸送を通して収縮リズムに関与していると解釈できよう。図4Bに示した反応系との対応の詳細は今後の研究を待たねばならない。

1.3 細胞極性に伴うヌクレオチドの空間分布⁸⁾

粘菌変形体が移動する時、形態上の分化がおこる。

図6に示すように、先端部は扇状に広がり、後端に行くに従って管が形成され、これが網目状に分布する。

図6 粘菌の細胞分極に伴うアデニンヌクレオチドの極性を持った分布⁸⁾

この細胞分極に伴った細胞内成分の不均一分布の例として、図6にアデニン・ヌクレオチドの場合を示す。AMPはほぼ均一に分布しているが、ATP、ADP濃度は先端部で後部の約2倍に達する。原形質流動により細胞内ゾルが激しく攪拌されていることを考えると、局所的にはさらに大きな差であろうと予想される。

他の化学成分、例えばCa²⁺、H⁺、Na⁺、K⁺などのイオンや酵素などのなかには、不均一な分布をしているものもあるであろう。これは、反応-拡散カップリングの帰結であると考えられる。現時点では、前節で述べた振動する化学反応が第一義的なものであるという証拠は何もないが有力な作業仮説となろう。

1.4 構造-機能相関としてのフラクタル⁹⁾

生物にみられる構造は必ずしも規則だったものではなく、時に不規則であり断片的であったりする。等尺張力下における粘菌変形体系の横断面図を図7Aに示す。原形質膜がくびれ込んだ非常に複雑な構造をしている。ectoplasm層の拡大図をBに示すこの複雑な構造は、Mandelbrotの言うフラクタル幾何学の言葉で

図7 変形体系における構造と収縮リズム発現にみられるフラクタル⁹⁾

- (A) 変形体系の横断面図. (B) エクトプラズムの拡大図.
 (C) フラクタル次元の決定法. (D) の2点曲線に沿った長い a , b 間を幅 d のコンパスで分けた時の区分の数が $N(d)$ である.
 (E) 張力の時間経過. F は振動の振幅.
 (F) 張力 F のサイズ r 依存性.

は、フラクタル次元 1.7 をもつ(C).

一方、振動する張力の振幅 F のサイズ依存性は、変形体系の半径を r として、 $F \propto r^{1.6}$ となった(D). 振動リズムという機能の発現においても、半端な次数 1.6 が得られた。これは、構造から求めたフラクタル次元と一致している。したがって、振動は一次元のフラクタル構造上で発現していると考えられる。実際、図 7 A に示すような構造の形成と収縮リズムの発現が対応しており、またマイクロフィラメントは、膜の近傍に密に形成されることが知られている。これは、上の結果を支持する事実である。

1.5 協同現象としてみたアメーバ運動¹⁰⁾

粘菌は生活環において、単核の粘菌アメーバと多核の変形体という2つの細胞型をとる。往復の原形質流動は変形体でみられ、粘菌アメーバではみられない。しかし非常に小さい変形体では往復流動はみられず、運動パターンは粘菌アメーバと酷似していた。これらの結果は、高度に秩序だった収縮リズムは、細胞型の転換だけではなく、大集団の相互作用があって初めて発現することを示している。つまり、粘菌の運動は、

動的協同現象として理解されるべきである。

そこで、粘菌変形体の移動や行動の全体像をつかむための測定法を考案した。寒天土を移動する粘菌を透過光により撮影する。このビデオ画像を 40×30 に区切り、各区画の明るさを測定する。粘菌の厚さに比例すると考えられるこの光強度は、収縮リズムに伴って振動する。移動時のリズムの分布を5秒間隔で示すと、図 8 のようになる。各区画の明るさは、光強度変化を表わす。全体として一様に振動するのではなく、変形体内を適当な集りをつくって原形質が流れていく様子がわかる。

この振動子の集団の挙動を巨視的に記述するため、オーダーパラメーターとして重心の運動をみよう。重心の変位ベクトルを時間に対してプロットすると図 9 A のようになる。変形体の進行方向とそれに垂直な2つの振動成分の間を交互に取るように見える。図 9 B は、粘菌の前方に餌であるオートミールを置いた場合である。矢印の時点で餌に達したが、重心変位は、振幅が小さくなり方向もでたらめになるようである。

重心の運動を、情報という視点から眺めよう。

図8 粘菌を振動子の2次元集合体とみた時の時間経過.¹⁰⁾
5秒間隔で示す.

図9 重心変位ベクトルの時間経過.¹⁰⁾
(A) 自由に移動する時.
(B) 矢印の時刻で餌に接した.

シャノンによれば情報量 I は、次のように定義される.

$$I = - \sum_{i,j} P_{ij} \ln P_{ij} / P_i P_j$$

ここで P_i , P_j は状態 i , j をとる確率, P_{ij} は状態 i , j をとる結合確率である. この情報量 I は、時刻 t_0 で与えられた分布 (知識) をもとにして、時刻 t での分布をどの程度予想できるかを示している. 図10に、自由に運動する際の I の時間経過を示す. 減衰振動していく様子が見られる.

このように、コンピューター画像処理法により、細胞運動を統計物理学的に研究できるようになった. 現在、誘引物質、忌避物質に対する挙動、2つの粘菌の衝突過程、境界条件と集団運動との関連などを解析中

である. 運動や行動が、情報の流れといった言葉で記述できるのではないかと期待している.

I 粘菌の化学受容における非線型現象

2.1 競争実験とカタストロフ¹¹⁾

粘菌変形体は、種々の化学物質に対し走化性を示し、その閾値は膜電位変化のそれと一致する.¹²⁾ 電解質に対する膜電位応答 $\Delta\phi$ は、図11 Aに示すような濃度依存性をもつ. すなわち、

$$\Delta\phi = \pm R \cdot \log (C/C_{th})$$

ここに、+と-の符号はそれぞれ脱分極、過分極応答を示す.

C_{th} は閾値濃度で $C_{th} = 10^{-4}$

Mである. R はテストした50以上の電解質に対し.

図10 運動に伴う情報量の時間経過.¹⁰⁾

情報量 I は $-\sum_{i,j} P_{ij} \ln P_{ij} / P_i P_j$ で定義される.
 P_{ij} は状態 i , j をとる joint probability である.

10~15 mVの値をとった. つまり、電解質刺激に対し、膜電位は2つの定常状態をとる. 過分極応答は、 HCO_3^- , HPO_4^{2-} イオンと Na^+ より大きな水和イオン半径をもつ陽イオンの組合せに対してみられた. 過分極刺激と脱分極刺激間の競争を、全濃度を一定に保ち、 Na^+/K^+ 比を変えた場合を図11 Bに示す. 最初 Na 100% から出発し順次 K の割合を増して行くと、ある Na/K 比で急に脱分極状態に移行し、その後はこのレベルに保たれる. ところが、逆に K 100% から出発すると、Na 100% の刺激でも脱分極状態に留まるという履歴現象がみられた.

図11 粘菌の化学刺激に対する膜電位応答と脱分極/過分極刺激間の競争実験¹¹⁾

図12 競争実験の3次元表示によるカタストロフィの視覚化¹³⁾

以上の実験結果を、三次元的に図示してみよう¹³⁾。x軸に刺激物質の濃度を、y軸に膜と刺激物質の相互作用を示すパラメータを、z軸に膜電位応答をとると図12のようになり、その折れ曲りの様子から、くさび型のカタストロフィになっていることが判る。z軸を走化性応答にとっても、同様の結果が得られる。これらは、化学受容も走化性も強い非線型性をもった協同現象であることを意味する。

2.2 化学刺激に対するサイクリックヌクレオチドの振動的応答¹⁴⁾

種々の誘引物質と忌避物質に対する粘菌変形体のcGMP応答を図13に示す。刺激に対し、cGMP濃度は振動的に反応するが、誘引物質に対しては平均的に減少し、忌避物質に対しては逆に上昇している。cAMPも同様の応答パターンを示した。

非線形非平衡状態で始めて発現するリミットサイクルは安定で、しかも情報量は多い。外界情報に反応するにしても、振幅、振動数、波形の変化や振動モードの変調等々細胞が刺激や環境変化を認識し識別する際に振動現象を積極的に利用している可能性は極めて高い。

図13 種々の化学刺激に対する粘菌の細胞内cGMP応答¹⁴⁾

Ⅲ. 粘菌の光形態形成にみられる振動現象¹⁵⁾

粘菌変形は大きな原形質の塊であるが、核分裂は8-10時間周期で同調して起こる。暗所で飢餓状態に保つと、核分裂周期は順次長くなり、4-5日もすると数十時間も核分裂をしない。この状態で光を照射すると、孢子形成が誘発される。

大きな変形体を、約50個の小さな変形体に切り分けた集団の孢子形成頻度の時間経過を図14に示す。孢子形成は、光照射後10時間を経過した後、5も

図14 連続白色光照射下における粘菌の間欠的な孢子形成。A-Eは異なるバッチを意味する。¹⁵⁾

しくは10時間間隔で間欠的に起こる。このことから、孢子形成のタイミングは光照射により決まること、また孢子形成はリズム的であることが判る。しかも、孢子形成の時刻は決定論的に定っているのではなく、確率的にしか予想できない。

図15 粘菌の孢子形成に伴う cAMP, cGMP, ATP の振動的変動.¹⁵⁾

光照射後の細胞内 cAMP, cGMP, ATP の変動の時間経過を図15に示す。cAMP, cGMP は孢子形成の全過程を通じて、約5時間の周期で同調して振動した。ATP も同様に振動したが、分化の不可逆点 (point of no return) で振動は停止し、形態形成と共に減少した。この5時間周期は温度に依存しなかった。

孢子形成にみられる長周期のリズムは、おそらく RNA 合成、タンパク合成を介した epigenetic な振動であろう。したがって、形態形成リズムは、遺伝子発現のダイナミックスを研究する上で興味深い系であると思われる。詳細は今後の研究に待ちたい。

おわりに

細胞機能の発現と非線型振動との関連を述べてきたが問題の解決というよりは、問題点の指摘に止まってしまった。これは未開拓の分野であるから、やむを得ない。この小論が、若い方々にこの分野への関心と興味を引き起こすことができたならば、筆者の幸いとす

るところである。

文 献

- 1) Ueda, T., Kobatake, Y. (1983) *Exp. Cell Res.*, **147**, 466-471.
- 2) Satoh, H., Ueda, T., Kobatake, Y. (1985) *Exp. Cell Res.*, **156**, 79-90.
- 3) Yoshimoto, Y., Matsumura, F., Kamiya, N. (1981) *Cell Motility*, **1**, 433-443.
- 4) Yoshimoto, Y., Sakai, T., Kamiya, N. (1981) *Protoplasma*, **109**, 159-168.
- 5) Ueda, T., Kobatake, Y. (1984) Yamada Conference on Cell Motility, Nagoya.
- 6) Satoh, H., Ueda, T., Kobatake, Y. (1982) *Cell Str. and Function*, **7**, 275-283.
- 7) Satoh, H., Ueda, T., Kobatake, Y. (1984) *Cell Str. and Function*, **9**, 37-44.
- 8) Akitaya, T., Ueda, T., Kobatake, Y. (1985) in preparation.
- 9) Ueda, T., Kobatake, Y. (1985) submitted to *J. Theor. Biol.*,
- 10) Matsumoto, K., Ueda, T., Kobatake, Y. (1985) in preparation.
- 11) Ueda, T., Hasumoto, M., Akitaya, T., Kobatake, Y. (1985) *Protoplasma*, **124**, 224-235.
- 12) Ueda, T., Kobatake, Y. (1981) *Cell Biology of Physarum and Didymium* (Aldrich, H. C., Daniel, J. W., eds.) vol. 1., p. 111-143, Academic Press.
- 13) Ueda, T., Kobatake, Y. (1983) *Biological Structures and Coupled Flows* (Oplatka, A., Balaban, M., eds.) p. 293-306, Academic Press.
- 14) Akitaya, T., Hirose, T., Ueda, T., Kobatake, Y. (1984). *J. Gen. Microbiol.*, **130**, 549-556.
- 15) Akitaya, T., Ohsaka, S., Ueda, T., Kobatake, Y. (1985). *J. Gen. Microbiol.*, **131**, 195-200.
- 16) Meinhardt, H. (1982) *Models of Biological Pattern Formation* Academic Press.
- 17) ニコリス, プリゴジン 散逸構造 岩波書店 (小島, 相沢訳).

Abstract

Dynamics of Cellular Functions

Tetsuo UEDA and Yonosuke KOBATAKE

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido University, Sapporo

Biological cell is the smallest system in which energy is transformed and information is processed autonomously. This complex and fascinating system is in the far from equilibrium state, and hence can manifest self-excited oscillations. Here we will describe rhythmic locomotion in amoeboid cells, oscillatory responses to chemical stimuli and rhythmic morphogenesis. Their biological and biophysical implications are discussed.

うへだ てつお

1947年8月20日、大阪府茨木市に生る。一女(6才)と一男(2才)の父親。大学と大学院(修士)で化学・高分子学を専攻した。荷電膜における膜現象から出発し、生命の活動に魅了されて、膜興奮、化学受容、細胞の運動と行動、形態形成などを諸先輩に教わりながら手がけてきた。その「いいかげん」なところが気に入ってアメーバ型細胞を調べてきたが、丁度10年目を迎えた。正念場である。この数年やっと細胞生物、生物物理、物理の各学会の雰囲気を楽しめるようになった。

こばたけ ようのすけ

北海道大学薬学部教授(理博)。

昭和25年東京工業大学卒業。

東工大助手、阪大理学部助教授を経て昭和46年より現職。

☎ (011) 716-2111 内線3923