Ca 受容蛋白トロポニン

東京大学 医学部 江橋節郎*

生きた筋では、収縮と弛緩は、影のように相伴っている。だが、生筋と同じ構造を保っているはずのグリセリン筋* は、ATP で収縮はするものの、それきりになって、元に戻らない。では、どうしたらこれを弛緩させることができるだろうか。そういった素朴な疑問から始まった我々の仕事も、15年余りを経て、大部その姿をかえてきた。ある時には、その答えは「弛緩因子」であり、漸て、それは「Ca と小胞体」におき換わった。以下は、この古い設問に対する、現在の我々の解答である。

収縮系の活性化因子としての Ca の意義

筋の収縮弛緩サイクルを収縮系のレベルにおいて制御する生理的因子が Ca であることは、すでに定説となっている。現在、多くの研究者によって承認されている収縮の経過を、骨格筋を例にとって説明すれば、次のようになる(図1)。——静止時 交換性 Ca の大部分は小胞体、特にその膨大部 (terminal cisternae, lateral vesicle) に貯えられている。細胞形質膜の脱分極として示される興奮現象(動作電位)は、主として形質膜の延長と考えられるT-システム(T-system; central element)を介して小胞体膨大部に伝えられ、その結果、小胞体の膜の内外の電位差に変化をきたす。この結果、小胞体膜の Ca 結合性または透過性に変化が起こり Ca は形質内に遊離拡散する。この Ca によって収縮系は活性化され、収縮が起こる。小胞体に対する脱分極の影響が消えると、小胞体の Ca 結合能が優先し**、形質内の Ca 濃度は低下し、収縮系から Ca が離れ、筋は弛緩する。Ca の遊離は主として膨大部から起こるが、その汲み上げは小胞体全体で行なわれる。

以上は骨格筋における経過の概要であるが、心筋においても事情は本質的には変らない。ただし収縮系に

作用する Ca が果して小胞体由来するか否かは不明で、多くの人々は、大部分は細胞外液に由来すると考えている。平滑筋の場合は、小胞体の発達が悪く、表面膜の一部または全部が小胞体と同様な働きをしているものと解されている。

では収縮系に作用する Ca は、果してどんな特性を具えているのだろうか。

1) Ca は収縮の基本的な反応——アクチン・ミオシンの相互作用として表現されるような反応——の修飾因子であって、ATP, Mg のような必須因子ではない(図2)。Mg・ATP の濃度、イオン強度、pH、温度なども一種の修飾因子であるか、これらの因子は、アクチンとミオシンの相互作用そのものに(殊にミオシンに)作用すると考えられ、Ca による複雑で間接的な修飾——これが本論文の主要テーマであるが——とは本質的に異なっている。

2) 収縮弛緩を制御するに必要な Ca の量はせいぜい濃度としては $2 \times 10^{-5} M$ 程度である(図3)。このように微量で制御が行なわれるということは、制御因子として最も重要な資格である。

3) 収縮系の収縮の程度は Ca の濃度によって略一義的に定まり、生物現象にしばしば見られる慣れ(accommodation)とか疲労(fatigue)といった現象はほとんど認められない。たとえば遠藤ら^{2),4)}が示したように、名取筋線維(筋形質膜を除いた筋線維)に一定濃度の Ca を含んだ溶液を作用させると、図3に示すような張力が発生持続し、Ca 濃度をさげることによってのみ弛緩状態に復する。

以上の性格は収縮制御因子としての Ca の位置を明らかにするものであるが、殊に第3の性質は第1のそれと一見矛盾するかのようにも見え、極めて示唆的である。無機イオンによる細胞機能の制御の例として、興奮現象における Na イオンが挙げられる。しかし、この場合には、活動電位そのものが Na イオンに大きく依存することを認めるとしても、活性化および不活性化過程(activation and inactivation processes)の2つの組み合わせとして説明されているように、極めて複雑な時間経過を辿るものであることはよく知られている(ここに活性化および不活性化過程を区別するの

Troponin, the Ca-receptive protein;

※ Setsuro EBASHI, Faculty of Medicine, University of Tokyo

* 筋を50%のグリセリンに浸したもので、形質膜は壊れるが収縮系は生筋と同様保たれる。

** 脱分極時小胞体全部の Ca 結合能が失われるのか、一部は残っているのかは解っていない。

図 1. 筋線維構造模型図

図 2. アクトミオシン系の収縮と Ca による制御を示す模式図

 $\tilde{AM}$: 収縮状態 $A+M$: 弛緩状態

図 3. 名取筋線維の収縮と Ca 濃度

$I/2=0.15$, 1 mM Mg (A) 又は 12 mM Mg (B), 4 mM ATP, 0.02 M Tris-マレイン酸 (pH 6.8) よりなる溶液に種々の濃度の Ca を GEDTA-Ca 緩衝液として与えたもの。Uncorrected: Schwarzenbach による GEDTA の安定恒数よりの計算値。Corrected: 小川による同上条件下の実測値, 文献(2), (4)参照

は、全く解析の為の技術的な問題であって、これに対応する物質的過程が存在することが証明されたのではないことを注意する必要がある。上述のような Ca 作用の単純な作用経過は、その基盤に存在する反応がかなり単純であろうということを予想させるものがある。

収縮系の第 3 の因子としての

活性トロポミオシン

Ca による収縮弛緩の制御が、単純化された収縮系においても認められるであろうことは以上の推論からも予想できるところである。事実この推定はある程度まで正しい。上述の名取の筋線維における実験は、Ca による収縮弛緩制御が筋質膜の存在と全く関係のないことを示した。同様のことがグリセリン筋や Perry の筋原線維で認められることから、筋形質に存在する多くの因子もまた (ATP, Mg を除いて), Ca による制御と無縁であることが明らかである。さらに無構造の抽出蛋白であるミオシン B (天然アクトミオシン) が、上述の構造をもった筋模型と同様な Ca に対する反応性を呈することは (図 4), この性質が収縮蛋白系の内在的な性質の一つであることを示すものであり Ca の作用が多くの作用点への総合として現われるものでなく、収縮という現象のかなり本質的な部面に立ち入っていることを示唆するものである。

ところで、ミオシン B は天然アクトミオシンと呼ばれ慣わされ、アクトミオシンと等価であるとされてきた。では、アクチンとミオシンの相互作用もまた Ca に対して同様に反すると考えてよいであろうか。

Szent-Györgyi がアクチン・ミオシン・ATP 系が筋収縮の基本反応であると提唱してから 20 年余り、この学説の見事な成功は、収縮のすべてがこの反応系によって説明しつくされるのだという確信を人々に懐かせるようになっていた。アクチンが細いフィラメントに似たフィラメントを形成することは余りにも有名であるが、ミオシン分子自体も太いフィラメントによく似たフィラメントを形成する能力をもっていることが示されたことは、収縮が、筋の種類を問わず、両種のフィラメントの相互作用として説明されることを考えると、生きた筋に見られる収縮機構の細部までが、この 2 つの蛋白の相互作用の上に説明されると考えたくなるのは寧ろ自然のなりゆきであろう。

しかし、1962 年以後主として我々の研究室で行なわれた研究結果から、このような憶測が誤りで、生きた筋の収縮において極めて重要な意義をもつ収縮系の活性化機構、つまり Ca による活性化は、アクチン・ミオシン以外に新しい蛋白因子の存在を必要とすることが明らかにされた。^{1), 10), 11)} この蛋白因子は、1946 年に Bailey¹²⁾ によって発見され、その後 20 年近くその機能が

図 4. ミオシンBの超沈殿と Ca 濃度

$\frac{r}{2} = 0.08$, 1 mM ATP, 0.02 M Tris-マレイン酸 (pH 6.8) 及び上記 Mg 濃度,
Corrected, Uncorrected: 図 3 参照 文献(4)参照

不明であったトロポミオシンに物理化学的性質が類似していることから、 $\diamond$ 活性、トロポミオシンと仮称された。この名称には、Bailey のトロポミオシンは、一種の変性産物であり、活性トロポミオシンこそトロポミオシンの生理的な形であるという意味が含まれている。しかし、アミノ酸分析の結果などから (表1), Bailey 型と活性型との差は恐らく後者に別の蛋白が存在する為であろうと推定されるようになった。この線で研究を進めた結果、新しい構造蛋白トロポニンが^{1), 3), 14)}分離され、活性トロポニンの諸性質はすべてトロポミオシンとトロポニンの複合体の性質として理解されるようになった^{3), 15)} (図5)。

なおここで興味あることは、収縮蛋白に関係する研究者によって、 $\diamond$ 活性、(native), $\diamond$ 天然、(natural) などという言葉が使われてきたことである。この言葉は、ある一つの蛋白に、普通の状態と異なった不安定な活性状態があって、これが機能に関与し、生理的な意味からは、その安定な状態は一種の変性状態に他ならないと主張しているような印象を与え勝ちである。しかし、これは、収縮という通常の蛋白化学の概

表 1 トロポニン、トロポミオシン及び活性トロポミオシンのアミノ酸組成

	トロポニン (a)	トロポミオ シン* (b)	活性トロポ ミオシン	$\frac{0.6 \times (a) + (b)}{1.6}$ **
Asp	83	89	83	85
Thr	22	26	20	24
Ser	31	40	34	37
Glu	159	212	197	192
Pro	26	2	11	11
Gly	43	11	23	23
Ala	74	108	92	95
Val	37	27	31	32
Met	27	16	23	20
Ileu	33	29	36	31
Leu	65	95	82	84
Tyr	12	15	15	14
Phe	23	4	12	11
Hie	100	113	106	108
Lys	17	5	10	10
Arg	66	41	50	50

* Komin らによる(13)

** トロポニンとトロポミオシンの重量比を0.6:1の割合に混じたもののアミノ酸組成が活性トロポミオシンのそれに酷似することを示す。

図 5. トロポニンとトロポミオシンの協同作用下におけるアクトミオシン系の Ca 感受性

活性トロポミオシン (トロポニン・トロポミオシン) を除いたミオシン B を用いて、種々の濃度のトロポニン、トロポミオシンの組み合わせを検討したもの。(A) は実験方法とトロポニン、トロポミオシンが単独では作用のないこと、(B) は結果を示す。横軸：トロポミオシン濃度。グラフ中数字：トロポニン濃度 詳細は文献(4)、(5)参照。

念からはみ出した複雑な現象を扱う研究途上における、便宜的な用語と考えられるべきであって、実際にも、そのような活性状態が捉えられた事例はない。例えば、Szent-Györgyi はミオシンBはミオシンAの活性型と考えたが、Straub はミオシンBの中に新蛋白があることを主張し、アクチンの抽出に成功したという (F. B. Straub 私信)。Ca に対する反応性についても、一時、我々はアクチンに活性型があり、そのようなアクチンの分離に成功したと信じた。しかし、それは結局、¹¹⁾ 活性トロポミオシンとアクチンの複合体であった。活性トロヴミオシンと Bailey のトロポミオシンとの違いについては上に述べた通りである。複合収縮系、たとえばグリセリン筋や筋原線維と、その構成蛋白の再構成系の間には、活性トロポミオシンや最近見出された新しい構造蛋白を考慮に入れても、なお形態的な構成の差だけでは説明し得ないものが多く残っているが、これを解明する為には、上記の経験に照しても、新因子の存在をまず念頭におくのが常道と考えられる。

表2 調節性構造蛋白の局在と含量¹⁾

蛋白名	局在	含量
トロポニン (troponin)	細いフィラメント	mg/ml 3
トロポミオシン(tropomyosin)	同上	5
α -アクチニン (α -actinin)*	Z 帯	2
β -アクチニン (β -actinin)	—	<2
M-物質 (M-substance)	M線	微量

* 粗 α -アクチニンは6S成分と10S成分の2種の蛋白を含んでいる。いわゆる α -アクチニン作用は6S成分によって代表されるので、現在では α -アクチニンは6S成分を意味するものとされている。

トロポニンの2, 3の性質

前述のように、収縮系の Ca に対する反応性に与えるものが活性トロポミオシン、即ちトロポニン・トロポミオシン複合体であることが明らかとなったが、後述するように、Ca に対する反応機構において、より積極的な役割を果すのはトロポニンの方であることが示されている。以下トロポニンを主とし、トロポミオシンを従として、今までに知られたところを、機能的な立場から列挙して見たい。

- i) トロポニンはトロポミオシンに強い親和性¹⁴⁾をもち、トロポミオシンの凝集を強く促進する。たとえば、トロポミオシン溶液にトロポニンを加えると^{3), 16)}その粘度、複屈折が著しく上昇し、消光角が低下する。ト

ロポミオシンにトロポニンを加えていった場合、比粘度は1:1で約2~3倍に上昇し、3:1乃至4:1で最高値、7~8倍に達する。

- ii) トロポニンはF-アクチンの物理化学的性質^{16), 17)}にはほとんど影響を与えないがトロポミオシンの存在下には著明な作用を示す。その作用は異常で、粘度の著しい上昇、複屈折の低下、消光角の上昇が示されるが、強い速度勾配を与えることによりこれらの現象は非可逆的に消退し、もとのレベルに近づく。電子顕微鏡的には、トロポニンをトロポミオシンを含むF-アクチンに加えると、対照に比し太く且つ硬直化した像を示し、普通のアクチンフィラメントよりも、むしろATPの中で筋原線維から分離した細いフィラメント、つまり天然の細いフィラメントに類似⁴⁾してくる*。
- iii) トロポニンはトリプシン感受性^{11, 15, 18)}が高い。試験管内ではトロポミオシンも同様トリプシン感受性が高いが、アクチンと結合した状態殊にミオシンBおよび筋原線維に含まれた状態では、トリプシンの作用を受けがたい。したがって、この性質を利用して、ミオシンBおよび筋原線維からトロポニンを比較的選択的に除くことができる。
- iv) ii) に示した性質に対応して、トリプシン処理した筋原線維には、トロポニンが残っている限り細いフィラメントに結合するが、強いトリプシン処理によりトロポミオシンが除かれると、細いフィラメントに結合しなくなる。このような筋原線維をトロポミオシンで¹⁸⁾前処理すると、トロポニンが再び結合するようになる(トロポミオシンの存在は、蛍光抗体法により、トロポニンの結合は蛍光蛋白法——蛋白自体に蛍光色素をつける——^{4, 18)}によって確認された)。
- v) トロポニンは強い抗原性をもつ。その程度は略ミオシンのそれに匹敵し、トロポミオシン、 α -アクチニンなどより遥かに高い(なお、アクチンは抗原性が低く、まだ抗体の調製に成功していない)。
- vi) 免疫電子顕微鏡法により、トロポニンは細いフィラメント全体に^約400Åの周期をもって結合していることが示される(図6)。トロポミオシンは細いフィラメント全体に存在するか、抗体を結合させても、周期性を示さない。しかし多くの傍証から、400Åの周期は、細いフィラメントにトロポミオシンがこ

* Hanson ら¹⁹⁾が電顕で示した美しいアクチンフィラメントは、決して純粋のものでなく、恐らくかなりの量のトロポミオシンと少量のトロポニンを含んだものと思われる。

図 6. 抗トロポニンによる400 Å間隔の橋模様 フェリチンをラベルした抗トロポニンによって細いフィラメント領域に生じた縞模様を示す。細いフィラメント当り24個の縞が観察される。

図 7. 活性トロポミオシン (トロポニン・トロポミオシン) の準結晶(Paracrystal)

(a) トロポミオシン (b) 活性トロポミオシン (c) 活性トロポミオシン+フェリチン・抗トロポニン。
(a)では↓の部分が暗いが(即ち蛋白量が少いが) (b)では逆に明るくなり、蛋白がこの部分に加わったことを示す。(c)では(a)(b)の↓の位置にフェリチンが結合する。即ち↓の部分にトロポニンが結合することが示された。
×82,000

の周期をもって結合していること、トロポニンの周期はこのトロポミオシンの周期性を反映していることが結論される。

vii) トロポニン・トロポミオシン複合体は種々の条件下に結晶及び準結晶を作るこれに免疫電子顕微鏡を応用した結果、トロポニンはトロポミオシン分子の特定の位置に結合することが示されている(図7)。

viii) トロポニンとトロポミオシンの量比は、各々のアミノ酸組成を活性トロポミオシンのそれと比較した結果、凡そ0.6(重量比)である。⁴⁾ 前にはトロポニンの分子量は約80,000と推定されていたので、これと、トロポミオシンおよびトロポニンの含有量から、細いフィラメントの400 Åの周期当り、2つのトロポミオシン分子と1つのトロポニン分子から存

在すると考えた。しかし、最近トロポニンの分子量*は、約50,000であることが示されているので(若林健之、私信)、寧ろ、トロポミオシンおよびトロポニン共に一周期当り2個存在すると考えるのが妥当である。

ix) トロポニンはミオシンに結合しない。^{18,22)}

x) トロポニンは強い交換性 Ca 結合能をもつ(これについては次項で詳説する)。

Ca 受容蛋白としてのトロポニン

前述したようにトロポニンは強い Ca 結合能をもっている。^{4,23)}その性質は表3に要約された通りである。ところでこの事実、トロポニンが収縮系における Ca の受容体 (receptor) であることを意味するものであろうか。

表3 骨格筋トロポニンの Ca 結合についての2,3の性質

全 Ca 量	3.8モル/10 ⁵ g
交換性 Ca 量	3.7モル/10 ⁵ g
結合定数	{1.3×10 ⁶ M ⁻¹約2モル/10 ⁵ g 15×10 ⁴ M ⁻¹同上
他のカチオンの影響	Mg, Mn, Co は全く影響を与えない
SH 剤	
PCMB, NEM*, dithiothreitol)	無影響

* PCMB によって滴定される SH 基——約5モル/10⁵g。そのうち約1.5モル/10⁵g は NEM に結合しない

まず考えられることは、収縮蛋白の中には、他にも Ca を結合するものがありはしないかということである。ミオシンおよびアクチンは以前から、かなり多量の Ca を結合していることが知られている。しかしその大部分は非交換性であって、交換性のものは表4に示されたように量も少く、その結合定数も低い。その他の構造蛋白にも、トロポニンに匹敵する交換性 Ca 結合をもつものではなく、低 Ca 濃度²⁴⁾下ではトロポニンは交換性 Ca の80%以上を占めている。

しかし、このような事実はトロポニンが Ca 受容蛋白であることを決定づけるものでない。筋の収縮はいくつかの蛋白が ATP の存在下に相互作用を行なうことによって得られるものである。したがって、ある蛋白、たとえばミオシンが ATP の作用下に過渡的に Ca に対する親和性を生じ、この事が収縮の活性化過

表4 筋構造蛋白の交換性 Ca 量

蛋白名	外液Ca ⁺⁺ 濃度	2×10 ⁻⁵ M	3×10 ⁻⁶ M
ミオシンB	μmoles/g	1.03	0.86
合成アクトミオシン		0.20	0.09
F-アクチン		0.15	—
ミオシン		0.19	0.06
トロポミオシン		—	0.04
α-アクチニン		—	0.01
トロポニン		—	17.8

程として作用しているということは充分あり得ることである。Ca がミオシンに作用するだろうということは筋生化学者の多くが暗々裡に懐いてきた了解であって、事実このような仮定にたった筋収縮学説を公表しているものもある。しかし、このような考えも、ミオシンBのもつ Ca に対する親和性は ATP によって変化しないこと、トロポニンのもつ Ca に対する親和性が、他のいかなる蛋白によっても影響されないことなどから一応は否定される。

しかし、このような証明は何としても間接的で、我々を心から納得させるものでない。筋収縮が極めてダイナミックな蛋白の相互作用の上に立つ以上、このダイナミックな面に真正面からとり組んだ実験に基く証明が欲しいところである。このような実験が以下に示すように全く偶然な機会から得られた。^{4,24)}

Ca が収縮弛緩を制御することは、筋の種類を問わず真理である。ところで Sr は、他の多くの Ca が作用する面において、その代用となることが知られているが、収縮系の活性化の場合にもその通りである。ところが、この問題を少し定量的に検討してみると、筋の種類により Sr が Ca の代用となり得る程度がかなり異なることが明らかとなってきた。表5は Ca に対する感受性を単位とした際の骨格筋、及び心筋の Sr に対する感受性を示したものである。これから明らかなのは、骨格筋に比して心筋の収縮系は Sr に対する相対的感受性が非常に高いということである。この事実は、我々が当面する問題に対して自然が呈供した鍵ともいふべきものであった。すなわち、骨格筋および心筋からミオシン、アクチン、トロポミオシン、トロポニンを別々にとり出し、筋の種類にかかわらず再構成収縮系をつくり、その Sr に対する感受性が、どの蛋白によって決定されるかを決めれば、Ca の作用を受けとめるのがどの蛋白であるかを容易に決定

* トロポニンは濃度が高まると容易に会合する性質がある。この性質はまた Ca 濃度に依存する。こういったことが、その分子量の決定に大きな障礙となっている。

することができるわけである。その結果は表6に示すように、Sr に対する感受性はトロポニンによって一義的に決められること、すなわち心筋トロポニンを含む系の Sr 感受性は常に高い。重要なことは、結果がはっきり2つのグループに別れ、その中間型がないことである。

表5 骨格筋及び心筋ミオシンBの
Sr⁺⁺ 感受性* (Ca⁺⁺ 感受性との比較)

	Ca ⁺⁺	Sr ⁺⁺
骨 格 筋	(1)	1/34
心 筋	(1)	1/5

* Sr⁺⁺ 感受性は $1.8 \times 10^{-6} \text{M}$ Ca⁺⁺ と同じ超沈殿を示す Sr⁺⁺ 濃度との比で示した。

表6 心筋および骨格筋の各収縮蛋白から再構成された収縮系のSr⁺⁺に対する感受性

ミ オ シ ン B				Sr ⁺⁺ に対する	Sr ⁺⁺ 感受性のタイプ
活性トロポミオシンを除いたミオシンB				相対的感	(心筋型か骨格筋型か?)
ミオシン	アクチン	トロポミオシン	トロポニ	受性	
S				1/20	(S)
C				1/3	(C)
C		S		1/20	S
C		C		1/4	C
S		S		1/23	S
S		C		1/3	C
C		S	S	1/19	S
S		S	C	1/4	C
S	S	S	S	1/24	S
S	S	S	C	1/4	C
S	S	C	S	1/24	S
S	S	C	C	1/4	C

SおよびCは左半分のコラムでは蛋白がそれぞれ骨格筋及び心筋から得られたことを意味し右端コラムではSr⁺⁺ に対する感受性が、それぞれ骨格筋ミオシンBおよび心筋ミオシンBに似ることを意味する。

この結論は、前述のトロポニンのCa結合能が、定性的ばかりでなく、定量的にもそれを含む収縮系のCa感受性の示標となることを意味する。もし、そうならば、心筋トロポニンと骨格筋トロポニンとは、Srに対する親和性において、上述のSr感受性に見られた差が見られるはずである。実験の結果は表8に示す通り、上述の予想を完全に裏書きするものであって、表5および6に得られた収縮系としてのSrに対する相対的感受性と、表7に示されたトロポニンのSrに対する相対的親和性とが、非常によく一致することが明らかである(表8)。

この結果は、トロポニンという一蛋白のCaに対する親和性が、それを含む収縮系のCaに対する感受性

表7 骨格筋及び心筋トロポニンのCa⁺⁺及びSr⁺⁺に対する結合定数

	Ca ⁺⁺	Sr ⁺⁺
骨 格 筋	$9.3 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$	$3.5 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ (1/27)
心 筋	3.4×10^5	1.2×10^5 (1/3)

表に示した数字は、骨格筋および心筋トロポニンのCa結合位置は、10% 当りそれぞれ2および1個であると仮定して計算した。

表8 超沈殿のSr⁺⁺に対する相対的*感受性とトロポニンのSr⁺⁺に対する相対的*親和性

	骨格筋 (a)	心 筋 (b)	比 (a/b)	註
超沈殿				
ミオシンB	1/34	1/7	1/5	表5
再構成 アクトミオシン	1/22	1/4	1/3	表6
トロポニンのSr ⁺⁺ 親和性	1/27	1/3	1/9	表7

* Ca⁺⁺ に対する値との比較を意味する。

** トロポニンの所属によって分類した。

を完全に決定するというものであって、トロポニンがCaを結合することによって起こる変化によって、収縮として示されるATP下の蛋白の相互作用がほとんど一義的に規定されるということを意味するものである。

トロポニンを介するCaの収縮制御機構

このようにして、トロポニンが収縮系のCa受容体であることが決定された。ではどのようにしてトロポニンはCaの影響下に収縮現象を制御するのだろうか。収縮という現象の最も基本的な反応が、ATP下におけるアクチンとミオシンの相互作用であることは今も変らぬ真理である。したがって問題は、トロポニンがCaの作用下にどのようにしてアクチンとミオシンの相互作用を修飾するのかと問いかえられる。

実はこの問題に対して、今のところ我々は何とも答えることはできない。トロポニンの構造はCaによって大きな影響をうけるはずであるし、我々はそれについて、多少の事実を掴んでいるにしても、しかし、それを生理的現象に結びつけるにはほど遠い現状である。したがって、ここでは、現在の我々の知識の範囲内で可能性のある仮説を記述するに止めたい。

問題を考えるに当って最も重要なことは、i) トロポニンは球状の比較的小さい蛋白であること ii) 細い

フィラメントの上に約 400 Å の周期をもって存在していること iii) 細いフィラメントの主成分である F-アクチンへの結合は直接ではなく、トロポミオシンを介するものであることなどであろう。つまり、トロポニンが直接作用をおよぼしうる範囲は極めて狭い範囲であるということである。この様な前提のもとに

a) Ca によるトロポニンの構造変化はトロポミオシンを介してアクチンに伝えられ、F-アクチンの構造変化をきたし、その結果アクチンとミオシンの相互作用が修飾される*。

b) Ca によるトロポニンの構造変化が、隣接するアクチンがミオシンと反応するのを立体的に修飾する。この場合トロポニンから離れた位置にあるアクチン分子とミオシンとの反応は何らかの抑制をうけていなくてはならないが、これは、トロポミオシンを通じてなされる。このトロポミオシンを介する阻止作用は必ずしも Ca に依存する必要はない。

以上の2つの考え方のうちでももちろん (a) が自然であり、(b) には勝手な仮定が多すぎる。しかし、アクチンがすべて等価でなく、トロポニンに隣接するアクチンが特別な重要性をもつということ、つまり 400 Å の周期が生理的に重要な意義をもつということは、なかなか魅力的な仮説であって、今すぐこれを棄てる気になれない。

しかし、いずれの場合にせよ、我々としてかなりはつきりいい得ることが一つある。それは、Ca のない場合、トロポニンがアクチン・ミオシン相互作用に与える影響は抑制的でなければならないことである。つまり Ca はトロポニンに作用してこの抑制をとり除く方向に働くということである。収縮系全体として見た場合 Ca は確かに活性化物質であるけれども、分子的に見ればその作用は抑制の解除というように理解されることである。このことは一見逆説的であるが、生体現象には、前以ってかけられた抑制を外すことによって始動する例が多いことを考えれば、Ca 作用のこういった説明も、決して奇矯なものではない。

むすび

筋収縮の制御因子である Ca に対応して、トロポニンという蛋白因子が存在し、Ca の制御作用はすべて、この蛋白を介して行なわれるものであることが明らかになった。Ca は種々の生命現象の数多くの面に関係しているが、筋細胞一つとり上げて見ても、収縮系に

対する作用はいうまでもなく、興奮機構、興奮収縮連関、さらには、興奮代謝(解糖)連関に、それぞれユニークな調節因子として深く関与している⁴⁾。このような Ca のもつ多様性は、とすれば、一つの機能をとりあげた場合にも、Ca の分子レベルにおける作用点が多面的であり、その総合の結果として微妙な制御作用が発揮されるように考えられやすい。しかし、ここに Ca に対して、1つの、しかも、1つだけの蛋白が対応するという事実が明らかにされたことは、無機イオンによる生命現象の制御の機構全般に対して有力な示唆を提供するものであろう。

文 献

- 1) 江橋節郎: 生化学 38, 327 (1966)
- 2) 遠藤 実: 生化学 39, 797 (1967)
- 3) S. Ebashi: Symposium on Muscle, Budapest, 1966, Symposia Biologica Hungarica, 8, 77, Akadémiai Kiadó, Budapest (1968)
- 4) S. Ebashi, M. Endo: Progress in Biophysics and Molecular Biology, 18, 123, Pergamon Press Ltd., London (1968)
- 5) R. Natori: Jikeikai Med. J., 2, 1 (1955)
- 6) A.L. Hodgkin, A.F. Huxley: J. Physiol., 116, 497 (1952)
- 7) A. Szent-Györgyi: Chemistry of Muscular Contraction, 2nd ed., Academic Press, New York (1951)
- 8) H. Noda, S. Ebashi: Biochim. Biophys. Acta, 41, 386 (1960)
- 9) H.E. Huxley: J. Mol. Biol., 7, 281 (1963)
- 10) S. Ebashi: Nature, 200, 1010 (1963)
- 11) S. Ebashi, F. Ebashi: J. Biochem., 55, 604 (1964)
- 12) K. Bailey: Nature, 157, 368 (1948)
- 13) D. R. Kominz, F. Saad, J. A. Gladner, K. Laki: Arch. Biochem. Biophys., 70, 16 (1957)
- 14) S. Ebashi, A. Kodama: J. Biochem., 58, 107 (1965)
- 15) S. Ebashi, A. Kodama: J. Biochem., 60, 733 (1966)
- 16) K. Maruyama, S. Ebashi: J. Biochem., to be submitted; cf. 3)
- 17) S. Ebashi, A. Kodama: J. Biochem., 59, 425 (1966)
- 18) M. Endo, Y. Nonomura, T. Masaki, I. Ohtsuki, S. Ebashi: J. Biochem., 60, 605 (1966)
- 19) J. Hanson, J. Lowy: J. Mol. Biol., 6, 46 (1963)
- 20) I. Ohtsuki, T. Masaki, Y. Nonomura, S. Ebashi: J. Biochem., 61, 817 (1967)
- 21) Y. Nonomura, W. Drabikowski: J. Biochem., submitted
- 21 a) S. Higashi, T. Ooi: J. Mol. Biol., in press
- 22) D. R. Kominz, K. Maruyama: J. Biochem., 61, 269 (1967)
- 23) S. Ebashi, F. Ebashi, A. Kodama: J. Biochem., 62, 137 (1967)
- 24) S. Ebashi, A. Kodama, F. Ebashi: J. Biochem., in press
- 25) 江橋節郎: 細胞化学シンポジウム, 印刷中

* この線に沿った一つの仮説が示されている²⁵⁾。