特集

バイオミメティクス ―自然に学ぶ―

二枚貝キャッチ運動の分子メカニズム*

船原 大輔**

The Molecular Mechanism of Catch Contraction in Bivalve Adductor Muscle*
by FUNABARA Daisuke**

キーワード キャッチ運動, トウITCHン, 閉殻筋, リン酸化, ミオシン, アクチン

二枚貝のキャッチ運動

アサリやハマグリなどの二枚貝は2枚の殻を持ち、それを状況に応じて開けたり閉じたりして、外環境からの情報を獲得したり遮断したりしている。2枚の殻はちょうつがい部分の靱帯でつながっていて、その弾力によって自然に殻が開く構造になっている。貝の内部では貝柱が2枚の殻をつないでいる。貝柱は閉殻筋と呼ばれる筋肉で、それが収縮することによって2枚の殻が閉じられるのである。多くの人が経験しているように、いったん殻を固く閉じてしまった貝を人の手でこじ開けるのは不可能に近い。閉殻筋が非常に大きな力で収縮して殻を閉じているからである。実際のところどれくらいの力で殻を閉じているのだろうか。筆者は図1に示すような装置で殻を閉じたアサリがどれくらいの重さに耐えられるのかを調べた。少しずつ重りをのせていき、1.5kgまでのせても殻は閉じたままであった。それ以上重くすると閉殻筋が破断して殻が開いてしまった。アサリの閉殻筋は大変小さい。それが1.5kgもの重さに悠々と耐えられることは驚嘆に値する。人に換算すると1本の腕で数百kgもの重さに耐えていることになる。さらに驚くべきことには、二枚貝閉殻筋が収縮を持続しているあいだ、つまり二枚貝が殻を閉じ続けているあいだは、エネルギーをほとんど必要としないということである。一般に筋肉が収縮を持続しようとする、エネルギーとしてATPを消費しなければならない。ところが、二枚貝閉殻筋はATPをほとんど消費しないのである。エネルギーを使わないということは、閉殻筋は疲労知らずの省エネルギーな筋肉といえる。このような二枚貝閉殻筋の収縮現

図1 二枚貝の閉殻力測定装置。

象は19世紀末から知られ、その収縮の様子はまるでとびらが留め金で固定されたようであることから、キャッチ（英語で留め金の意）運動と名付けられた。キャッチ運動は100年以上にわたって研究対象となっているものの、いまだにその全貌は明らかとなっていない。

筋収縮の基本メカニズム

筋収縮の基本構造は地球上の全生物において共通であると考えられている。収縮性タンパク質であるミオシンとアクチンが滑り運動を行うことによって筋肉が全体として収縮するというものである。横紋筋を例にとりて簡単に

*原稿受付 平成21年2月5日

** 三重大学大学院生物資源学研究科 Graduate School of Bioresources, Mie University

図2 横紋筋の微細構造とミオシンおよびアクチン分子の模式図。

図3 キャッチ状態の筋肉の特徴。

説明する(図2)。ミオシンは2つの洋梨状の頭部と棒状の尾部をもち、多数のミオシンが尾部領域で結合してミオシンフィラメントを形成している。アクチンは球状で、やはり多数のアクチンが結合してアクチンフィラメントを形成している。ミオシンの頭部はATP分解活性とアクチン結合能をもち、ATPを分解しながらアクチンフィラメントを引き込むことで滑り運動が生じる。筋収縮はカルシウムによって制御されるが、その様式は筋肉の種類や生物種によって複数のタイプが存在する。キャッチ筋は平滑筋に分類され、横紋筋とは形態が異なるが、ミオシンとアクチンによって収縮するという点では同じである。いずれにせよ筋収縮にはATPというエネルギーが必要であり、エネルギーをほとんど(あるいは全く)消費しないキャッチ運動がいかにか特異的であるかがわかる。

キャッチ運動の特徴

キャッチ状態にある筋肉はふつうの収縮状態にある筋肉とは違った様相を呈する(図3)。たとえば貝から取り出したキャッチ筋の長さを一定にしたまま実験的に収縮させて張力を発生させたのち、キャッチ状態にする。その状態で筋肉の長さを短くすると張力を失う。筋肉を元の長さに戻すと、再び張力を発生するようになる。この現象は、キャッチ状態にある筋肉は積極的に収縮していないことを示している。もし積極的に収縮しているのであれば、筋肉長を短くするとその長さに戻って筋肉は縮むからである。キャッチ状態の筋肉はまるで筋収縮のサイクルのどこかで止まってしまっているようにみえる。この現象は生きた貝でも観察することができる。殻を開けている二枚貝に、例えば木片のような物を挟んで殻を閉じさせた後、しばらく放置して木片を取り除くと、木片の幅だけ殻を開けたままの状態になる。これは閉殻筋がキャッチ状態にな

図4 ムラサキガイ前足牽引筋およびホタテガイ閉殻筋。

図5 キャッチ筋の細胞内カルシウム濃度変化、張力変化およびトウイチチンの状態。

っていることを示している。このようなことからキャッチ運動はふつうの筋収縮とは異なる収縮機構によるものと考えられた。

キャッチ筋

キャッチ運動の研究材料としては、二枚貝閉殻筋の他にムラサキガイの前足牽引筋 (ABRM, anterior byssus retractor muscle) がよく用いられる (図4)。ABRM は足糸 (ムラサキガイが岸壁などに付着するために分泌している緑色の糸のようなもの) を引っ張る筋肉で、岸壁に付着したムラサキガイが波にさらわれないようにするためにキャッチ運動を行っていると考えられる。ABRM は細長い筋線維を持ち張力測定などの生理学的実験に適している。上に述べたように閉殻筋はキャッチ運動によって殻を閉じ続ける働きをするが、実のところ閉殻筋全体でキャッチ運動を行っているわけではない。閉殻筋は2つの異なる筋組織である横紋筋とキャッチ筋から構成されている。ホタテガイ閉殻筋を考えるとわかりやすい。ホタテガイ閉殻筋はクリーム色をした大きく発達した部分と、その脇にくっついた白い部分からなる。前者が横紋筋で、後者がキャッチ筋である。殻を閉じ続ける際には小さなキャッチ筋の方が用いられる。ホタテガイ・キャッチ筋は比較的大きく、容易に採取できることから主に生化学的実験の材料として用いられている。ここで紹介するキャッチ運動に関する知見のほとんどはABRM かホタテガイ閉殻筋を用いた実験から得られたものである。

キャッチ運動の制御機構

キャッチ運動の張力変化を図5に示した。キャッチ筋はコリン作動性ニューロンとセロトニン作動性ニューロンの二重支配を受けていると考えられている¹⁾。まずコリン作動性ニューロンからアセチルコリンが分泌されると、細胞内カルシウム濃度が上昇し、その結果、筋肉は収縮を開始し張力が発生する。上述のようにカルシウムによる制御機構には様々なタイプがあるが、キャッチ筋の場合は、ミオシンにカルシウムが直接結合することでミオシンが活性化され、ミオシンフィラメントとアクチンフィラメントが滑り運動を開始し、筋肉が収縮すると考えられている。この段階は活性状態と呼ばれATPは消費されている。こののち、細胞内カルシウムの濃度が弛緩レベルにまで低下すると、筋肉はキャッチ状態に入り、張力が保たれる。キャッチ状態はセロトニンの分泌によって終了し、筋肉は弛緩する。このとき筋細胞内では、サイクリックAMP (cAMP) 濃度が上昇し、それによってcAMP依存性タンパク質リン酸化酵素が活性化され、トウイチチンというタンパク質がリン酸化される。再びアセチルコリンが分泌されると筋収縮を開始する。筆者らの研究によって、トウイチチンがリン酸化状態でなければ再度筋収縮を行えないこと、トウイチチンが脱リン酸化状態でなければキャッチ状態にはいることができないことが明らかとなり、トウイチチンがキャッチ運動を制御している因子であることが分かった²⁾。トウイチチンのキャッチ運動における具体的な役割については未知な部分が残されているが、筆者らの最近の研究によってその分子メカニズムの一端が見えてきたので紹介したい。

図6 ムラサキガイキャッチ筋トウITCHINのモチーフ構造の模式図および D2 リン酸化部位の働き。

図7 キャッチ運動の分子メカニズム。

トウITCHINの機能

キャッチ運動の最大の謎は、キャッチ状態にあるときミオシンやアクチンはどうなっているのか、ということである。先に述べたようにキャッチ状態は細胞内カルシウム濃度が弛緩レベルまで低下していることから、ミオシンからはカルシウムが解離し、ミオシンは不活性化状態にあると推測される。筋収縮の常識から考えれば、活性化されていないミオシンはアクチンと滑り運動を起こさないものであるから張力は発生しないことになる。であるならば、ミオシンが不活性にもかかわらず張力が保たれているキャッチ状態というのは、どういう機構が働いているのだろうか。筆者らはキャッチ運動の制御タンパク質であるトウITCHINに注目した。トウITCHINが物理的にミオシンやアクチンに働きかけて、張力の維持に大きな役割を果たしているのではないかと予測した。トウITCHINはキャッチ状態が終わる際に特異的にリン酸化されることから、トウITCHINのリン酸化される部位を中心に解析をすすめた^{3,4)}。トウITCHINは分子量約53万の1本のポリペプチド鎖からなる細長いタンパク質である(図6)。ミオシンフィラメントに沿って存在していると考えられている。トウITCH

INのリン酸化される部位(D1, D2)は既に同定されており、分子の両末端付近に存在する。これまでの実験から、C末端付近のD2リン酸化部位が主にキャッチ運動の制御に関与していることが分かってきた。遺伝子工学的手法を用いてトウITCHINのリン酸化部位周辺(TWD2-S)を大腸菌を用いて合成した。まずTWD2-Sが結合する成分を探した。TWD2-Sはミオシンとアクチンとにリン酸化依存的に結合することが分かった。TWD2-Sは非リン酸化状態の時にミオシン頭部やアクチンと結合し、リン酸化状態では全く結合しない。そこで筆者らはTWD2-Sがミオシン頭部とアクチンの両方に同時に結合することで、ミオシンとアクチンの動きを止めて、キャッチ状態を形成できるのではないかと考えた。実験を行ったところ、果たしてTWD2-Sはミオシンとアクチンの両方に同時にリン酸化依存的に結合した⁵⁾。この事実によってキャッチ状態における分子メカニズムを明快に説明できるようになった。

キャッチ運動の分子メカニズム

最新のデータを加えてキャッチ運動の分子メカニズムを考察した。概要図を図7に示した。弛緩時、細胞内カルシウム濃度は低く、ミオシン頭部とアクチンは離れてい

る。トウITCHINはリン酸化状態にあり、ミオシン頭部とアクチンに結合しない。細胞内カルシウム濃度が上昇すると、ミオシンが活性化し、アクチンと滑り運動を起こし、筋収縮が起こる。このときトウITCHINはカルシウム依存性のタンパク質脱リン酸化酵素（ホスファターゼ）によって脱リン酸化されると考えられている。ホスファターゼについては現在のところカルシニューリンが有力視されているが、詳細についてはこれからの課題である。この状態でカルシウム濃度が低下するとキャッチ状態に入り、トウITCHINがミオシンとアクチンの両方に結合し複合体を形成し、ミオシンとアクチンの動きを止める。ミオシンは不活性な状態であるのでATPは消費されない。ミオシンとアクチンが固定されているので、張力は保たれている。ここでトウITCHINがリン酸化されるとミオシン・アクチン・トウITCHINの複合体は壊れ、筋肉は弛緩する。

哺乳類平滑筋のラッチ機構

キャッチ運動は二枚貝にしかみられない現象なのだろうか。今のところ二枚貝以外でキャッチ運動が観察されたという報告はない。他生物にはキャッチ運動を行うものがないのだろうか。二枚貝と同じ軟体動物はキャッチ運動を行うものがある可能性が高いように思う。ただ、キャッチ筋であると判断するためには、生理学的実験により証明しなければならず、それに適した筋組織でなければキャッチ筋であることを示すのは技術的に難しい。そこで現在、様々な筋肉を調べられるような新しい張力測定技術の開発を試みているところである。一方で、哺乳類の平滑筋の筋収縮機構がキャッチ運動とよく似ていることが知られている。ラッチ機構と呼ばれる。ラッチとはキャッチと同じく留め金という意味である。ラッチ機構においてもキャッチ状態と同じくミオシンが不活性な状態にもかかわらず、張力が持続する現象がみられる。ラッチ機構の分子メカニズムについてはキャッチ運動以上に不明な点が多く、解決すべき課題が多い。筆者らのキャッチ運動に関する研究成果が何らかの形でラッチ機構解明の一助となるのではないかと期待している。

最 後 に

キャッチ運動の分子メカニズムの解析については、筆者らの研究によって少しずつ明らかになってきたものの、まだまだ不明な点が多い。筆者らの現在の関心は、トウITCHINがどのようにしてミオシンとアクチンと複合体を形成しているのかについてである。そこにはタンパク質のダイナミックな動きがあるのではと予想している。筋収縮という組織レベルでの現象を、タンパク質という分子レベルで説明することはそうたやすいことではないが、横紋筋においては既に分子1つの動きの解析による収縮機構の解析がかなり進んでいる。キャッチ運動のその特異性をタンパク質分子の動きで説明できるようにすることが筆者の今後の課題である。

参考文献

- 1) D. Funabara, S. Kanoh, M. J. Siegman, T. M. Butler, D. J. Hartshorne and S. Watabe. Twitchin as a regulator of catch contraction in molluscan catch muscle. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, 26 (2005), 455-460.
- 2) M. J. Siegman, D. Funabara, S. Kinoshita, S. Watabe, D. J. Hartshorne and T. M. Butler. Phosphorylation of a twitchin-related protein controls catch and calcium sensitivity of force production in invertebrate smooth muscle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95 (1998), 5383-5388.
- 3) D. Funabara, S. Kinoshita, S. Watabe, M. J. Siegman, T. M. Butler and D. J. Hartshorne. Phosphorylation of molluscan twitchin by the cAMP-dependent protein kinase. *Biochemistry*, 40 (2001), 2087-2095.
- 4) D. Funabara, S. Watabe, S. U. Mooers, S. Narayan, C. Dudas, D. J. Hartshorne, M. J. Siegman and T. M. Butler. Twitchin from Molluscan Catch Muscle: Primary structure and relationship between site-specific phosphorylation and mechanical function. *Journal of Biological Chemistry*, 278 (2003), 29308-29316.
- 5) D. Funabara, C. Hamamoto, K. Yamamoto, A. Inoue, M. Ueda, R. Osawa, S. Kanoh, D. J. Hartshorne, S. Suzuki and S. Watabe. Unphosphorylated twitchin forms a complex with actin and myosin that may contribute to tension maintenance in catch. *Journal of Experimental Biology*, 210 (2007), 4399-4410.