動物細胞における糖輸送の調節

山 田 一 夫

広島大学医学部生化学第一教室 〒734 広島市南区霞 1-2-3

国立生理学研究所能動輸送部門 〒444 岡崎市明大寺町字西郷中 38

Regulation of hexose transport in animal cells

Kazuo YAMADA

Department of Biochemistry, Hiroshima University, School of Medicine, Hiroshima 734

Laboratory of Active Transport, National Institute for Physiological Sciences, Myodaiji, Okazaki 444

Simple diffusion, sodium-dependent (active) and-independent (facilitated) transports are generally involved in hexose transport in animal cells. The regulation of facilitated hexose transport has been briefly reviewed. Hexose transport regulation is observed in most cells where the rate of hexose transfer is rate limiting for hexose metabolism. Experimental methods used for assay of transport activities and identification of glucose carrier are very important to deduce any definitive conclusion regarding the regulation of glucose transport. Possible mechanisms of transport regulation might involve 1) control of the carrier synthesis and/or turn over 2) recycling of the carrier 3) modification of the carrier 4) interaction between the carrier and its lipid environment.

key words : Hexose transport, Regulation, Hexose carrier, Protein synthesis, Membrane lipid

- 1 はじめに
- 2 糖輸送調節機構の解析
 - 2・1 輸送活性の測定
 - 2・2 分離, 同定, 精製
- 3 糖輸送調節機構
 - 3・1 タンパク質合成系を介する機構
 - 3・2 糖輸送担体のリサイクリングによる調節
 - 3・3 糖輸送担体の修飾 (活性化、不活性化) による調節
 - 3・4 細胞膜の脂質組成変化による調節
- 4 おわりに

Ca²⁺, Cl⁻ など), 低分子化合物 (糖, アミノ酸, 核酸 など) に対して不透過である。したがって, 細胞が代謝活動を営むためには, 外部から栄養物を取り込む機構を持つ必要があり, 細胞膜はそれぞれ特定の物質を特異的に輸送する機能が存在する。このように選択的に物質を速やかに透過させる機構として, 担体(キャリア)やチャネルと呼ばれる特異的な膜タンパク質が存在する。

動物細胞における糖輸送系は, エネルギーを必要とせず, 細胞内外の糖濃度差によって輸送される促進拡散 (facilitated diffusion) と細胞外 Na⁺ 濃度に依存したエネルギー共役による濃度勾配に反した能動輸送とが存在する。両者ともに, 細胞膜に存在する特異的な輸送担体タンパク質 (carrier protein) によって媒介される。前者は線維芽細胞, 脂肪細胞, 赤血球, 骨格筋細胞など多くの細胞に存在し^{1, 2)}, 後者は小腸上皮細胞, 尿細管上皮細胞の刷子縁膜にみられる^{3~5)}。

生体における糖代謝の最も重要な意義は, エネルギー

1. はじめに

細胞膜は外界と隔てる障壁を形成することにより, 細胞独自の内部環境を形成させる機能を有する。細胞膜はリン脂質分子の二重層より成り, イオン (Na⁺, K⁺,

産生にある。この糖代謝の第一段階は、糖の細胞外から内への細胞膜透過過程であり、糖代謝の重要な調節段階の一つである。したがって、細胞は細胞自身の状態（増殖速度、成長、分化、腫瘍化など）や細胞外環境（細胞外糖濃度、ホルモン、成長因子、pH、イオンなど）に応じて糖輸送活性を変化させることにより動的に調節している⁶⁾。

本稿では促進拡散による糖輸送系の調節機構について、筆者らの成績と最近の知見を述べる。

2. 糖輸送調節機構の解析

2・1 輸送活性の測定

糖輸送調節機構の解析には、一般的に遊離細胞、あるいは組織培養細胞が用いられる。この実験系では細胞自身の状態、外部環境を容易に変化させることができる。

調節機構を解析するためには、まず輸送活性の変化を実験系に応じて正確に測定する必要がある。生細胞を用いる実験系では、糖輸送に対する細胞内代謝の影響を除くため、非代謝糖である3-O-メチルグルコース (3-OMG) または2-デオキシグルコース (2-DOG) が輸送基質として用いられる⁷⁾。しかしながら、3-OMGを用いた場合、その取り込みが短時間（秒単位）でほぼ飽和点に達するため正確なキネティクスを得るのに工夫が必要であることと、D-グルコースに比べ輸送担体を介さないとと思われる3-OMGの取り込み量（単純拡散+吸着）が無視できない値を示す場合があることである^{8, 9)}。一方、2-DOGを用いた場合、この基質が細胞内でリン酸化を受けることにより、リン酸化活性を測定しているのか、真の糖輸送活性を測定しているのかを検討する必要がある¹⁰⁾。

このような問題点を解決するため、細胞質成分を除去して輸送活性の変化を細胞膜の変化として確かめ得る膜小胞 (membrane vesicle) が輸送解析に用いられる^{11, 12)}。さらに、可溶化した輸送担体を含む膜タンパク質を人工膜 (liposome) に組み込み、輸送活性を測定する再構成法も用いられる^{13, 14)}。

サイトカラシン B (cyt B) は糖輸送担体と特異的に結合して輸送活性を非拮抗的に阻害する。この結合は高濃度の糖輸送系の基質および輸送阻害剤により阻害される。この性質を利用し、D-グルコース感受性³H]-cyt B 結合活性により糖輸送担体の量を測定し、糖輸送活性の変化を検討することが行われる^{15, 16)} (Fig. 1)。

Fig. 1 ニワトリ胎児線維芽細胞膜小胞の³H]サイトカラシンB結合能に対する Scatchard plot¹⁶⁾。挿入図はグルコース感受性結合能をプロット ●, 500 mM D-ソルビトール, ○, 500 mM D-グルコース

2・2 分離、同定、精製

すべての輸送系において、その輸送担体の合成と分解との平衡状態でその輸送活性は規定される。さらに輸送担体そのものの修飾（活性化、不活性化）によっても活性は変化し得る。したがって、糖輸送担体を分離、同定、精製し、糖輸送担体の代謝回転、分子構造上の変化を明らかにする必要がある。

2・2・1 膜の修飾法

細胞膜小胞をアルカリ低張液、トリプシン、無水ジメチルマレイン酸 (DMMA) などの処理により、ある程度膜タンパク質を除去したのち、膜小胞の糖輸送活性と残存タンパク質との関係を検討し、輸送担体を同定する方法である¹⁷⁾。

この修飾方法では完全に担体を同定することは不可能である。

Fig. 2 ニワトリ胎児線維芽細胞膜小胞の ^3H サイトカラシンB フォトアフィニティラベル¹⁶⁾.
●, 500 mM D-ソルビトール. ○, 500 mM D-グルコース

2・2・2 アフィニティラベリング法

$[\text{^3H}]$ -フルオロジニトロベンゼン¹⁸⁾, $[\text{^3H}]$ -グルタチオンマレイミド¹⁹⁾を糖輸送担体と共有結合させ測定する方法である. その特異性については, 前者の場合, その結合能がD-グルコース, 2-DOGにより促進されること, また前者, 後者とも糖輸送系の阻害剤であるcyt B, エチリデングルコース, D-マルトースにより阻害されることによるものである.

さらに前述したように, cyt Bは糖輸送担体に特異的に結合するが, 最近, このcyt Bの結合が紫外線照射により共有結合に変化することが示された^{20, 21)}. これらの点を利用して $[\text{^3H}]$ -cyt Bのフォトアフィニティラベル法が用いられる¹⁶⁾ (Fig. 2). 同様なフォトアフィニティラベル法として, $[\text{^3H}]$ -マルトシルイソチオシアナート²²⁾も用いられているがその特異性については疑問がもたれている²³⁾. その他, $[\text{^{125}I}]$ -6-N-(4-アジド-2-ヒドロキシ-3, 5-ジヨードベンゾイル)-D-グルコサミン²⁴⁾, $[\text{^{14}C}]$ -N-(4-アジド-2-ニトロフェニル)-マルトシルアミン²⁵⁾や $[\text{^3H}]$ -ホルスコリン²⁶⁾を用いた方法も報告されている.

2・2・3 再構成法

可溶化した膜タンパク質, 精製した膜タンパク質をリン脂質の人工膜に組み込み輸送活性を測定する方法である¹³⁾. この再構成法は, 精製した膜タンパク質による

糖輸送活性を直接測定できる唯一の方法であり, 輸送担体の同定には最も重要な方法である.

2・2・4 抗体法

精製したヒト赤血球糖輸送担体に対する抗体を調製し, 免疫学的手法により輸送担体を同定, 定量することが行われる^{27, 28)}. それは種々の細胞の促進拡散による糖輸送担体とヒト赤血球糖輸送担体とに共通性が認められ, 抗体の交叉性が認められることによる²⁹⁾. しかし, Na^+ 依存性能動輸送担体とは交叉性が認められていない. 促進拡散による糖輸送担体に対するモノクロナル抗体も報告されている^{30, 31)}.

3. 糖輸送調節機構

現在, 糖輸送調節においてある程度その機構が判明しているのは適応調節およびホルモン(インスリン)による調節である. 糖輸送調節機構を4つの様式に大別して述べる.

3・1 タンパク質合成系を介する調節

このタンパク質合成系を介する調節機構にはふたつの機構が考えられる. 1) 糖輸送担体タンパク質の合成そのものの速度を変化させて調節する機構, 2) あるタンパク質性調節因子が存在し, そのタンパク質の合成速度を変化させることにより, 糖輸送系が調節される機構とである.

3・1・1 糖輸送担体タンパク質合成の調節

腫瘍化に伴う糖輸送活性の上昇は, 生細胞^{7, 8, 32)}, 膜小胞^{33, 34)}を用いた輸送キネティクスの実験より V_{max} の増大によることが認められ, 糖輸送担体の数の増加であるとされている. 実際, cyt B結合活性の増加が認められ¹⁵⁾, さらに, ヒトの赤血球の糖輸送担体のモノクロナル抗体を使用して担体数の増加を確認した報告³⁵⁾もある. 以上のように, 腫瘍化に伴い V_{max} は増大するが K_m 値は有意に変化しないという報告が多い. しかし, 腫瘍細胞では正常細胞に比べ K_m 値が低いとの報告もある^{36, 37)}.

腫瘍化による糖輸送調節機構について, Kawai³⁸⁾らはラウス肉腫ウィルス温度感受性変異株を感染させたニワトリ胎児線維芽細胞(CEF)について検討した. すなわち増殖温度を非許容温度(41°C)から許容温度(37°C)へ変化させた時に起こる糖輸送活性の増加を, シクロヘキシミドおよびピュロマイシンが阻害することを示し, さらにこの逆の過程をピュロマイシンが阻害したことから, 腫瘍化に伴う糖輸送変化にタンパク質合成の関与が

Fig. 3 Ts-68 感染細胞による 2-デオキシグルコース取り込みに対する培養温度およびタンパク質合成阻害剤の影響³⁸⁾.
○, 37°C. ●, 41°C. ◐, 37°C→41°C.
◑, 41°C→37°C.
(a) 無処理, (b) ピュロマイシン (2 µg/ml) 処理, (c) シクロヘキシミド (2 µg/ml) 処理

示された (Fig. 3). 最近, Flier³⁹⁾ らは, 培養ラット線維芽細胞において, ras, src 遺伝子により誘導される糖輸送活性の上昇と, 糖輸送担体 mRNA の上昇との直接的な相関性を, 糖輸送担体に対する cDNA を用いて示した. すなわち腫瘍化による糖輸送活性の上昇は糖輸送担体タンパク質合成の増加によることが判明した. さらに彼らは, 腫瘍プロモーターによる糖輸送系の調節機構 (ラット線維芽細胞) は, 上述の腫瘍化と同様に糖輸送担体タンパク質合成の増加であることを示した.

3・1・2 タンパク質性調節因子による調節

増殖培地中の糖濃度により逆相関的に糖輸送活性は変化する (適応調節)^{9, 40)}. 培地中から糖を除くと, 数時間以内に糖輸送活性が数倍上昇する (up regulation). 逆に, 高い糖輸送活性を有する糖飢餓細胞に糖を再添加すると糖輸送活性は低下し, 数時間以内に元のレベルにもどる事実がある (down regulation)^{9, 41)}. この糖輸送活性の変化はキネティクス解析により, K_m 値の変化ではなく V_{max} 値の増加または減少による^{9, 42)}. さ

らに, この V_{max} 値の変化は輸送担体の数の変化であることが確かめられている^{16, 44)}. 糖輸送活性に及ぼす糖飢餓効果は, タンパク質合成阻害剤であるシクロヘキシミド (Cx), ピュロマイシン, エメチンなどにより阻害される^{9, 40, 42~44)}. このことは, up regulation に新しい輸送担体の合成が関与することを意味する. しかし, 輸送活性は輸送担体タンパク質の合成と分解との平衡状態により決定されるものであり, 前述の実験結果から up regulation の機構が輸送担体の合成速度を促進することのみによると結論するのは早計である. 言いかえると, 輸送担体の合成速度は一定でその分解系のみが阻害されても同様の結果となる.

糖添加による糖輸送活性の低下過程にもタンパク質合成系が関与する^{9, 41, 43~45)}. 筆者ら⁴⁶⁾ はニワトリ胎児線維芽細胞を用い, 糖輸送の適応調節におよぼす増殖培地中の Cx 濃度の影響を調べた. その結果, 低濃度の Cx (Cx-L, 0.5 µg/dl) では合成系のみが阻害され, 高濃度の Cx (Cx-H, 50 µg/dl) では合成系, 分解系共に阻害されることが判明した (Fig. 4). 具体的には, 糖飢餓状態の細胞 (S) の糖輸送活性は, Cx 濃度変化の影響を受けないことよりその輸送担体の代謝回転は遅いと考えられた. すなわち飢餓状態の細胞では, 輸送担体の分解過程はほとんど働かず, したがって高い輸送活性を示す. 一方, 糖添加培地で培養した正常細胞では, 糖輸送担体の代謝回転が速く, その合成と分解過程の平衡状態によって低い輸送活性を示す. 正常細胞 (F) を低濃度 Cx 存在化で培養すると, 急速な糖輸送活性の低下がみられたが高濃度の Cx ではゆるやかな低下がみられた (Fig. 5). この正常細胞から飢餓状態への変化 (up regulation) では, 輸送担体の分解過程が遅くなり, 合成系のみ働くため輸送活性が上昇する. この合成系を Cx が阻害するため, 糖輸送活性の up regulation は Cx の濃度に応じて阻害された. 一方, 糖飢餓状態の細胞に糖を再添加すると, 糖輸送担体の分解過程が促進される結果輸送活性は低下する. この時同時に Cx-L を

Fig. 4 ニワトリ胎児線維芽細胞における糖輸送の適応調節および腫瘍化, 腫瘍プロモーターによる調節機構.

←..... stimulation ←===== inhibition

Fig. 5

ニワトリ胎児線維芽細胞の正常および糖飢餓細胞による 3-O-メチルグルコース取り込みに対するシクロヘキシミドの影響⁴⁶⁾.

F, 正常細胞、糖再添加, S, 糖飢餓状態

Cx-L, 低濃度シクロヘキシミド (0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$)

Cx-H, 高濃度シクロヘキシミド (50 $\mu\text{g}/\text{ml}$)

Fig. 6 ニワトリ胎児線維芽細胞による 3-O-メチルグルコース取り込みに対するシクロヘキシミド濃度の影響⁴⁶⁾.

シクロヘキシミド処理時間は 6 時間

添加すると、この低下はさらに促進され、Cx-H ではこの低下は阻害されるという Cx 濃度変化の影響に二相性がみられた (Fig. 6). 糖存在下 (正常細胞、糖再添加) で Cx 濃度変化の影響が二相性を示すのは、低濃度 Cx では合成過程のみが阻害され、高濃度 Cx では合成、分解両過程ともに阻害されるとすれば説明できる。これらの事実より、糖輸送における適応調節は、主に糖輸送担体の分解過程で調節され、その過程にはタンパク質合成系の関与が考えられた。この仮説は、最近の Haspel⁴⁷⁾らのラット線維芽細胞を用いた適応調節機構を調べた結果により支持される。彼らは糖輸送担体に対する cDNA および糖輸送担体に対する抗体を用いて、糖輸送担体に対する mRNA 量を測定したところ、糖飢餓状態にしても糖輸送担体の mRNA の増加はみられなかったこと、さらに、 $[^3\text{S}]$ -メチオニンによるパルスラベル法により、糖輸送担体の合成速度も変化がなかったことを示した。

以上のように糖輸送の適応調節において、輸送担体の分解 (不活性化) 過程が重要な役割をしていること、こ

の過程にタンパク質合成系が関与することが判明したが、このことはある種のタンパク質性調節因子がこの分解過程を促進させることを示唆する。

腫瘍に伴う糖輸送能変化は糖輸送担体タンパク質の合成の上昇によることは述べた。筆者ら⁴⁸⁾も Kawaiらと同様の実験系を用いて、Cx の濃度変化の影響を調べた結果、前述の適応調節の場合 (Fig. 6) と同様、腫瘍に伴う糖輸送活性の上昇は Cx 濃度に応じて阻害された。逆に、腫瘍化した細胞の正常化に伴う糖輸送活性の低下に対しては、Cx 効果の二相性が観察された。以上の結果は、腫瘍に伴う糖輸送系の調節は、輸送担体の合成の増加と、輸送担体の分解過程の阻害とにより調節されている可能性を示す (Fig. 4). 腫瘍プロモーターによる糖輸送の調節もある細胞では輸送担体の合成の増加⁴⁹⁾と輸送担体の分解過程の阻害⁴⁹⁾とにより調節されていると思われる (Fig. 4).

3・2 糖輸送担体のリサイクリングによる調節

生体内において糖輸送系を調節する最大因子はインスリンである。インスリンは種々の細胞の糖輸送活性を上昇させることにより血糖値を一定のレベルに低下させる。インスリンによる糖輸送活性の上昇は、 K_m 値に変化がほとんど認められず、 V_{max} 値の増加がみられたことより糖輸送担体の数の増加によるとされていたがその機構は不明であった。

1978 年、Kono ら⁵⁰⁾、Cushman ら⁵¹⁾は、インスリン作用前後における脂肪細胞の細胞膜、ミクロゾーム画分中の糖輸送担体数の変化を測定 (それぞれ再構成実験、サイトカラシン B 結合実験) し、糖輸送担体のリサイクリング説 (translocation theory, recycling theory) を述べた。インスリンがその受容体に結合すると、細胞内プール (ミクロゾーム画分) から糖輸送担体が細胞膜へ転移する。この過程には ATP が必要であり、タンパク質合成系の関与はみられず、温度に依存する⁵²⁾。その

Table 1 ラット脂肪細胞における糖輸送担体のインスリンによるリサイクリング (文献 54 の Table 2 を改変)

Treatment	Glucose transporter		
	Plasma membrane (%)	Low density microsome fr. (%)	Total (%)
Basal	21±2.0	79±2.0	100
Insulin	71±3.5	29.9±3.5	100±10
Removal of insulin	35±2.2	65±2.2	92±5
Readdition of insulin	73±5.6	27±5.6	—

イムノプロット法により定量

Fig. 7

ラット脂肪細胞における糖輸送のホルモンによる調節機構

結果、糖輸送活性は上昇すると同時に細胞内糖輸送担体プールは減少する。この事実はインスリンによる糖輸送活性の促進が K_m 値の変化よりも V_{max} の増加によることを支持する結果である。インスリンの作用が消失すると、糖輸送担体が ATP 依存性に細胞内プールにもどることにより元のレベルにまで輸送活性は低下する。このようなサイクル形成による糖輸送活性調節は、最近糖輸送担体に対する抗体を用いた実験でも証明されている^{53, 54)} (Table 1)。注目すべき点は適応調節と違いタンパク合成系が全く関与していないことである (Fig. 7)。

インスリンによる糖輸送活性促進作用の細胞内シグナルが何であるかということは非常に興味のあるところである。現在、そのシグナルとして考えられているものとしては、①細胞内 cAMP 濃度¹⁾ ②細胞内 $[Ca^{2+}]$ の変動^{1, 55, 56)} ③細胞内 $[Mg^{2+}]$ の変動^{57, 58)} ④細胞内アルカリ化⁵⁹⁾ ⑤細胞膜に存在する Ca^{2+} -ATPase 活性変化⁶⁰⁾ ⑥ C-kinase の活性化^{61, 62)} ⑦インスリン受容体のリン酸化⁶³⁾ があげられている。①②④については現在否定的な報告がみられるが⁶⁴⁻⁶⁷⁾、⑤については追試がなされていない。⑦については最近、インスリン受容体のリン酸化と糖輸送活性との相関性について、受容体

のアミノ酸残基置換によりリン酸化され得ない受容体を細胞膜に組み込んだ実験より、インスリン受容体のリン酸化がインスリン作用に必須であることを証明した報告⁶⁸⁾ がある。さらに、自己リン酸化した後のインスリン受容体のチロシンキナーゼの活性化がインスリン作用に必須であるとの報告^{69, 70)} もある。このような報告とは逆に Forsayeth ら⁷¹⁾ はヒトインスリン受容体に対するモノクロナル抗体がインスリン受容体のチロシンキナーゼを活性化せずに糖輸送活性を上昇させた実験結果を得ている。もしリン酸化が必須だとして、リン酸化後の変化、すなわち受容体がリン酸化された後、チロシンキナーゼの活性の上昇がどのようにして糖輸送担体の細胞膜への転移をうながすのかは不明であり、今後の課題である。最近、C-kinase が赤血球⁷²⁾、3T3-L1 脂肪細胞⁷³⁾ の糖輸送担体をリン酸化することが判明した。しかし、糖輸送活性と輸送担体のリン酸化との相関性については明らかでない。同じ 3T3-L1 脂肪細胞においてインスリンは糖輸送担体をリン酸化しなかった⁷¹⁾。

インスリン受容体および糖輸送系が細胞膜に存在することが証明されているにもかかわらず、肝細胞⁷⁴⁾、脳神経細胞⁷⁵⁾、胎盤⁷⁶⁾ においては、インスリンによる糖輸送促進効果がみられない。その原因は不明であるが、

Fig. 8 ラット脂肪細胞膜小胞における 3-O-メチルグルコース取り込み活性とサイトカラシンB結合活性におよぼすインスリンとシクロヘキシミドの影響.
(文献 80 の Fig. 1 と Table 2 より作製)
B, Basal. Cx, シクロヘキシミド ($10 \mu\text{g}/\text{ml}$)
Ins, インスリン (7 nM)
a) 3-O-メチルグルコース取り込み量
b) サイトカラシンB結合活性

これらインスリン非感受性細胞とインスリン感受性細胞を比較検討することにより、インスリンによる糖輸送促進機構を解明する手がかりが得られるかもしれない。

3・3 糖輸送担体の修飾 (活性化, 不活性化) による調節

前述のインスリンによるリサイクリング説は現在広く認められているが、この説で充分説明できない点が観察されている。それはインスリンによって促進される糖輸送活性の上昇の倍率と、転移されて増加する細胞膜の糖輸送担体の増加倍率との間に解離があることである。最近、赤血球⁷⁷⁾、脂肪細胞^{78, 79)}を用いて詳細に糖輸送キネティックスを調べた結果、インスリンが V_{max} を増加させることに加えて、 K_m 値も減少させることが判明した。この事実はインスリンが細胞膜の担体の数を増加させると同時に輸送担体タンパク質の構造をも変化させることを意味する。

Baly ら⁸⁰⁾ はインスリン効果に対する Cx の影響について調べた結果、ラット脂肪細胞に Cx を作用させた後、インスリンを作用させると、3-OMG の取り込み能は Cx 非処理群と Cx 処理群との間に有意差なく上昇することを示した。しかし、細胞膜の糖輸送担体数をサイトカラシンB結合法、および抗体 (イムノブロッティング法) で調べると、インスリン単独群に比し、Cx/イン

スリン群の方が少なかった。すなわち糖輸送担体の量と輸送活性との間に解離がみられた (Fig. 8)。この結果より、彼らはインスリンが糖輸送担体を直接修飾して活性化している可能性を考えている。一方、カテコールアミン、グルカゴン、ACTH など脂質分解ホルモンは、アデノシン非存在下 (細胞外アデノシンはこれらのホルモン作用を阻害するためアデノシンデアミナーゼによって除く) において、インスリンによる糖輸送活性の上昇を阻害する事実がある⁸¹⁾。イソプロテレノールのインスリン効果に対する阻害機構について、Joost ら⁸²⁾ は、輸送活性の低下に見合う細胞膜糖輸送担体数の減少がないことより、この阻害作用は細胞膜に存在する輸送担体を直接不活性化することによると述べている (Fig. 7)。

糖適応調節に対するタンパク合成系の関与を前述したが、Franch ら⁸³⁾ は腫瘍性肺線維芽細胞を用い、糖飢餓効果 (up regulation) に対して Cx が無効であったことより、糖輸送担体が直接活性化されることを推測している。

以上、糖輸送担体が直接活性化、不活性化されると思われる事実を述べたが、担体そのものが直接修飾されているとの直接証拠はまだ得られてない。

3・4 細胞膜の脂質組成変化による調節

糖輸送調節はその担体の数および担体自身の修飾によって行われることは述べた。さらに、糖輸送活性は担体周囲の細胞膜脂質変化によっても変化し得る。細菌を用いた実験系では細胞膜脂質組成の変化に伴う膜流動性の変化と物質輸送活性の変化との相関関係についての研究は多くみられる。動物細胞ではこの分野の研究は少ない。Melchior ら⁸⁴⁾ は脂肪細胞より糖輸送担体を分離し、リン脂質リポソームに再構成した後、膜の流動性と輸送活性とを測定した。その結果、膜の流動性と糖輸送活性との間に相関性のあることをみいだした。さらに、同グループは他の実験⁸⁵⁾ で、脂肪細胞より細胞膜小胞を調製し、流動性を増す不飽和脂肪酸を細胞膜小胞に組み込むと、糖輸送活性は上昇するがインスリンによる最大活性の増加は影響されず、逆に流動性を減少させる飽和脂肪酸を組み込むと、元々の糖輸送活性には変化がみられず、インスリンによって促進されるべき輸送活性が抑制される結果を得ている。同様に、細胞膜の脂肪酸、リン脂質、コレステロールなどの脂質組成変化が糖輸送活性を変化させることが他にも観察されている⁸⁶⁻⁸⁹⁾。

このように、糖輸送担体を取りまく脂質組成により輸送活性は変化するが、はたして生理的にどの程度細胞膜

脂質が糖輸送の調節に働いているか、また糖輸送担体に特異的な脂質要求性があるのかは明らかでない。

4. おわりに

糖輸送調節機構を4分類して述べたが、それぞれ単独の機構で調節を行う場合と2種類以上の機構が共同して調節する場合とが考えられる。例えば、グルココルチコイドは正常な糖輸送活性を低下させるし、インスリンによる促進効果も阻害する⁹⁰⁾。このグルココルチコイドの作用はアクチノマイシン D, Cx により阻害されることより mRNA, タンパク質合成系が関与することが判明している⁹¹⁾。さらに cyt B 結合活性の測定より、グルココルチコイド処理脂肪細胞全体の糖輸送担体数には変化がなく、細胞膜に存在する担体の数のみが減少していることがわかった⁹²⁾。このことはグルココルチコイドによって誘導されるタンパク質がリサイクリングのステップのうち、細胞内プールから細胞膜への輸送担体の転移を阻害するか、あるいは逆のステップを促進させている可能性がある⁹³⁾ (Fig. 7)。さらにグルココルチコイドは脂質代謝を変化させることが知られており⁹⁴⁾、膜の流動性に変化を与えて糖輸送活性を低下させる可能性も否定できない。ある一種類の調節物質が細胞の種類によって異なる糖輸送調節機構によりその作用を示す場合がある。例えば、前述の腫瘍プロモーターの糖輸送活性促進作用は、CEF⁴⁹⁾、Balb/c 3T3 細胞⁹⁵⁾ではその作用発現に時間を要し、タンパク質合成阻害剤により阻害される。一方、Hela 細胞⁹⁶⁾、Swiss 3T3 細胞⁹²⁾においては、腫瘍プロモーターは短時間で作用し、タンパク質合成阻害剤により阻害されず、インスリンと同様の機構で糖輸送活性を上昇させると考えられている⁹⁷⁾。このように細胞によって反応性が違うことは非常に興味のあるところだが、その詳細は不明である。

以上、現在判明している糖輸送系の調節機構について述べたが、依然として不明な点が多く存在する。最近ヒト肝腫瘍細胞⁹⁸⁾、ラット脳⁹⁹⁾の糖輸送担体の一次構造が cDNA から求められ、また細胞内プロセッシングも徐々に解明されつつあり¹⁰⁰⁻¹⁰²⁾、今後この分野における発展が期待される。

引用文献

- 1) A. Carruthers : *Prog. Biophys. Molec. Biol.*, **43**, 33-69 (1984)
- 2) T.J. Wheeler, P.C. Hinkle : *Ann. Rev. Physiol.*, **47**, 503-517 (1985)
- 3) G. Semenza, M. Kessler, M. Hosang, J. Weber, U. Schmidt : *Biochim. Biophys. Acta*, **779**, 343-379 (1984)
- 4) R. Kinne, M.E.M. Da Cruz, J.T. Lin : *Current Topics in Membrane and Transport*, **20**, 245-258 (1984)
- 5) 武居能樹：代謝, **23**, 395-403 (1986)
- 6) 山田一夫：生化学, **58**, 34-40 (1986)
- 7) R.F. Kletzien, J.F. Perdue : *J. Biol. Chem.*, **249**, 3375-3382 (1974)
- 8) M.J. Weber : *J. Biol. Chem.*, **248**, 2978-2983 (1973)
- 9) R.J. Gay, R. Hilf : *J. Cell. Physiol.*, **102**, 155-174 (1980)
- 10) R.F. Kletzien, J.F. Perdue : *J. Biol. Chem.*, **249**, 3366-3374 (1974)
- 11) J. Hochstadt, D.C. Quinlan, R.L. Rader, C. Li, D. Dowd : *Methods in Membrane Biology.*, **5**, 117-162 (1975)
- 12) 西野輔翼, 乾 賢一：蛋白質・核酸・酵素, **26**, 881-895 (1981)
- 13) M. Kasahara, P.C. Hinkle : *J. Biol. Chem.*, **253**, 7384-7390 (1977)
- 14) G.D. Eytan : *Biochim. Biophys. Acta*, **694**, 185-202 (1982)
- 15) D.W. Salter, M.J. Weber : *J. Biol. Chem.*, **254**, 3554-3561 (1979)
- 16) J.E. Pessin, L.G. Tillotson, K. Yamada, W. Gitomer, C. Carter-Su, R. Mora, K.J. Isselbacher, M.P. Czech : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**, 2286-2290 (1982)
- 17) M.N. Jones, J.K. Nickson : *Biochem. Biophys. Acta*, **650**, 1-20 (1981)
- 18) G.E. Lienhard, F.R. Gorga, J.E. Orasky, M. A. Zoccoli : *Biochemistry*, **16**, 4921-4926 (1977)
- 19) E.R. Batt, R.E. Abbott, D. Schachter : *J. Biol. Chem.*, **251**, 7184-7190 (1976)
- 20) M.F. Shanahan : *J. Biol. Chem.*, **257**, 7290-7293 (1982)
- 21) C. Carter-Su, J.E. Pessin, R. Mora, W. Gitomer, M.P. Czech : *J. Biol. Chem.*, **257**, 5419-5425 (1982)
- 22) R.E. Mullins, R.G. Langdon : *Biochemistry*, **19**, 1199-1205 (1980)
- 23) W.D. Rees, J. Gliemann, G.D. Holman : *Biochem. J.*, **241**, 857-862 (1987)
- 24) T.M. Weber, A. Eichholz : *Biochim. Biophys. Acta*, **812**, 503-511 (1985)
- 25) J.M. May, R. Horuk, J.M. Olefsky : *Molec. Cell. Endocrinol.*, **49**, 181-188 (1987)
- 26) M.F. Shanahan, D.P. Morris, B.M. Edwards : *J. Biol. Chem.*, **262**, 5978-5984 (1987)
- 27) S.A. Baldwin, G.E. Lienhard : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **94**, 1401-1408 (1980)
- 28) D.C. Sogin, P.C. Hinkle : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **77**, 5725-5729 (1980)

- 29) M. Kasahara, K. Inui, M. Takano, R. Hori : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **132**, 490-496 (1985)
- 30) W.J. Allard, G.E. Lienhard : *J. Biol. Chem.*, **260**, 8668-8675 (1985)
- 31) C. Chen, T. Kurokawa, S. Shaw, L.G. Tillotson, S. Kalled, K.J. Isselbacher : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**, 2652-2656 (1986)
- 32) S. Venuta, H. Rubin : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **70**, 653-657 (1973)
- 33) K. Inui, D.E. Moller, L.G. Tillotson, K.J. Isselbacher : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **76**, 3972-3976 (1979)
- 34) K. Inui, L.G. Tillotson, K.J. Isselbacher : *Biochim. Biophys. Acta*, **598**, 616-627 (1980)
- 35) D.W. Salter, S.A. Baldwin, G.E. Lienhard, M.J. Weber : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**, 1540-1544 (1982)
- 36) M.K. White, M.E. Bramwell, H. Harris : *Nature*, **294**, 232-235 (1981)
- 37) M.A. Gray, M.H. James, J.C. Booth, C.A. Pasternak : *Arch. Virol.*, **87**, 37-48 (1986)
- 38) S. Kawai, H. Hanafusa : *Virology*, **46**, 470-479 (1971)
- 39) J.S. Flier, M.M. Mueckler, P. Usher, H.F. Lodish : *Science*, **235**, 1492-1495 (1987)
- 40) R. Martineau, M. Kohlbacher, S.N. Shaw, H. Amos : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **69**, 3407-3411 (1972)
- 41) C.W. Christopher, W.W. Colby, D. Ullrey : *J. Cell. Physiol.*, **89**, 683-692 (1976)
- 42) R.F. Kletzien, J.F. Perdue : *J. Biol. Chem.*, **250**, 593-600 (1975)
- 43) R.J. Germinario, H. Rockman, M. Oliveira, S. Manuel, M. Taylor : *J. Cell. Physiol.*, **112**, 367-372 (1982)
- 44) L.G. Tillotson, K. Yamada, K.J. Isselbacher : *Federation Proc.*, **43**, 2262-2264 (1984)
- 45) H. Amos, T.A. Musliner, H. Asdonrrian : *J. Supramol. Struct.*, **7**, 499-513 (1977)
- 46) K. Yamada, L.G. Tillotson, K.J. Isselbacher : *J. Biol. Chem.*, **258**, 9786-9792 (1983)
- 47) H.C. Haspel, E.W. Wilk, M.J. Birnbaum, S. W. Cushman, O.M. Rosen : *J. Biol. Chem.*, **261**, 6778-6789 (1986)
- 48) K. Yamada, L.G. Tillotson, K.J. Isselbacher : 未発表
- 49) K. Yamada, L.G. Tillotson, K.J. Isselbacher : *J. Cell. Physiol.*, **127**, 211-215 (1986)
- 50) K. Suzuki, T. Kono : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **77**, 2542-2545 (1980)
- 51) S.W. Cushman, L.J. Wardzala : *J. Biol. Chem.*, **255**, 4758-4762 (1980)
- 52) T. Kono, K. Suzuki, L.E. Dansey, F.W. Robinson, T.L. Blevins : *J. Biol. Chem.*, **256**, 6400-6407 (1981)
- 53) T.J. Wheeler, I.A. Simpson, D.C. Sogin, P. C. Hinkle, S.W. Cushman : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **105**, 89-95 (1982)
- 54) O. Ezaki, M. Kasuga, Y. Akanuma, K. Takata, H. Hirano, Y.F. Yamaguchi, M. Kasahara : *J. Biol. Chem.*, **261**, 3295-3305 (1986)
- 55) T. Clausen : *Cell Calcium*, **1**, 311-325 (1980)
- 56) Y. Shecter : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **81**, 327-331 (1984)
- 57) J. Eckel, G. Pandalis, H. Reinauer : *Biochem. J.*, **212**, 385-392 (1983)
- 58) K. Kitagawa, H. Nishino, A. Iwashima : *Experimentia*, **43**, 323-324 (1987)
- 59) K. Kitagawa, Y. Ogiso, H. Nishino, A. Iwashima : *Cell Structure and function*, **12**, 115-119 (1987)
- 60) E. Schoenle, E.R. Froesch : *FEBS Letters*, **123**, 219-221, (1981)
- 61) R.L. Christensen, D.L. Shade, C.B. Graves, J.M. McDonald : *Int. J. Biochem.*, **19**, 259-265 (1987)
- 62) D.R. Cooper, T.S. Konda, M.L. Standaert, J. S. Davis, R.J. Pollet, R.V. Farese : *J. Biol. Chem.*, **262**, 3633-3639 (1987)
- 63) R.A. Kohanski, S.C. Frost, M.D. Lane : *J. Biol. Chem.*, **261**, 12272-12281 (1986)
- 64) V.R. Lavis, R. Davenport, P. Pontier, W.J. Thompson, S.J. Strada : *J. Cell. Physiol.*, **112**, 373-375 (1982)
- 65) M. Kuroda, R.C. Honnor, S.W. Cushman, C. Londos, I.A. Simpson : *J. Biol. Chem.*, **262**, 245-253 (1987)
- 66) J.Y. Cheng, J.M. Constantine, J.V. Bonventre : *Am. J. Physiol.*, **252**, C163-C172 (1987)
- 67) A. Klip, T. Ramlal, E.J. Cragoe Jr. : *Am. J. Physiol.*, **250**, C720-C728 (1986)
- 68) L. Ellis, E. Clauser, D.O. Morgan, M. Edery, R.A. Roth, W.J. Rutter : *Cell*, **45**, 721-732 (1986)
- 69) Y. Ebina, E. Araki, M. Taira, F. Shimada, M. Mori, C.S. Craik, K. Siddle, S.B. Pierce, R.A. Roth, W.J. Rutter : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**, 704-708 (1987)
- 70) C.K. Chou, T.J. Dull, D.S. Russell, R. Gherzi, D. Lebowhl, A. Ullrich, O. M. Rosen : *J. Biol. Chem.*, **262**, 1842-1847 (1987)
- 71) J.R. Forsayeth, J.F. Caro, M.K. Sinha, B.A. Maddux, I.D. Goldfine : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**, 3448-3451 (1987)
- 72) L.A. Witters, C.A. Vater, G.E. Lienhard : *Nature*, **315**, 777-778 (1985)
- 73) E.M. Gibbs, W.J. Allard, G.E. Lienhard : *J. Biol. Chem.*, **261**, 16597-16603 (1986)
- 74) T.P. Ciaraldi, R. Horuk, S. Matthaei : *Biochem. J.*, **240**, 115-123 (1986)
- 75) F.K. Gorus, E.L. Hooghe-Peters, D.G. Pipe-

- leers : *J. Cell. Physiol.*, **121**, 45-50 (1984)
- 76) P. Trauman, H.C. Ford : *Biochim. Biophys. Acta*, **779**, 139-160 (1984)
- 77) M.L. Dustin, G. Jacobson, S.W. Peterson : *J. Biol. Chem.*, **259**, 13660-13663 (1984)
- 78) R.R. Whitesell, N.A. Abumrad : *J. Biol. Chem.*, **261**, 15090-15096 (1986)
- 79) N. Toyoda, J.E. Flanagan, T. Kono : *J. Biol. Chem.*, **262**, 2737-2745 (1987)
- 80) D.L. Baly, R. Horuk : *J. Biol. Chem.*, **262**, 21-24 (1987)
- 81) A. Green : *FEBS Letters*, **152**, 261-264 (1983)
- 82) H.G. Joost, T.M. Weber, S.W. Cushman, I. A. Simpson : *J. Biol. Chem.*, **261**, 10033-10036 (1986)
- 83) A. Franchi, P. Silvestre, J. Pouyssegur : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **85**, 1526-1534 (1978)
- 84) D.L. Melchior, M.P. Czech : *J. Biol. Chem.*, **245**, 8744-8747 (1979)
- 85) P.F. Pilch, P.A. Thompson, M.P. Czech : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **77**, 915-918 (1980)
- 86) S.J. Masiak, P.G. LeFevre : *Arch. Biochem. Biophys.*, **162**, 442-447 (1974)
- 87) I. Yuli, W. Wilbrandt, M. Shinitzky : *Biochemistry*, **20**, 4250-4256 (1981)
- 88) T. Fujii, A. Tamura, H. Fujii, I. Miwa, J. Okuda : *Biochem. Int.*, **12**, 873-879 (1986)
- 89) D.H. Nelson, D.K. Murray : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **138**, 463-467 (1986)
- 90) N. Watanabe, M. Kobayashi, H. Maegawa, O. Ishibashi, Y. Takata, Y. Shigeta : *J. Biochem.*, **96**, 1893-1902 (1984)
- 91) C. Carter-Su, K. Okamoto : *Am. J. Physiol.*, **248**, E215-E223 (1985)
- 92) C. Carter-Su, K. Okamoto : *J. Biol. Chem.*, **260**, 11091-11098 (1985)
- 93) C. Carter-Su, K. Okamoto : *Am. J. Physiol.*, **252**, E441-E453 (1987)
- 94) D.H. Nelson, D.K. Murray : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**, 6690-6692 (1982)
- 95) T.G. O'Brien : *J. Cell. Physiol.*, **110**, 63-71 (1982)
- 96) L.S. Lee, I.B. Weinstein : *J. Cell. Physiol.*, **99**, 451-460 (1979)
- 97) K. Kitagawa, H. Nishino, A. Iwashima : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **128**, 1303-1309 (1985)
- 98) M. Mueckler, C. Caruso, S.A. Baldwin, M. Panico, I. Blench, H. R. Morris, W. Jeffrey, G.E. Lienhard, H.F. Lodish : *Science*, **229**, 941-945 (1985)
- 99) M.J. Birnbaum, H.C. Hapsel, O.M. Rosen : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**, 5784-5788 (1986)
- 100) H.C. Haspel, M.J. Birnbaum, E.W. Wilk, O. M. Rosen : *J. Biol. Chem.*, **260**, 7219-7225 (1985)
- 101) M. Mueckler, H.F. Lodish : *Cell*, **44**, 629-637 (1986)
- 102) M. Mueckler, H.F. Lodish : *Nature*, **322**, 549-552 (1986)

膜 物 理 化 学

中垣 正幸：星薬科大学教授；京都大学名誉教授

1987, A 5 判 200 ページ, 定価 2,800 円, 喜多見書房, 東京

日本膜学会が約 10 年前に発足し, 今日まで生体膜と人工膜の分野の交流を計り, お互いの研究を理解し, それによって相互の研究の発展を計ろうとして活動してきたその基礎になる考え方は, その基本となる物理化学は, 共通であるという信念である。その膜学会の会長を発足以来勤めてこられた中垣先生が, 京都大学を定年退官されるに当たり, 長年続けてこられた, 膜に関するご自分の研究に基づきつつ, その物理化学の体系をまとめられたのが本書である。

その内容は以下の 12 章からなっている。1) 膜とその機能, 2) 成膜仕事, 3) 脂質単分子膜, 4) 2 分子膜の安定性と非対称性, 5) 界面反応化学, 6) 物質輸送の速度論と熱力学, 7) 膜輸送現象の基礎, 8) 溶質の拡散と膜透過, 9) 電解質の拡散, 10) 膜電位, 11) 電解質の荷電膜透過, 12) 非対称膜の膜電位と膜透過

このようにその内容は, まず歴史的発展の順にコロイド化学の基礎から始まり, 最近再び大きく注目されるようになった単分子膜, 2 分子膜, LB 膜, の成果を紹介し, 次に, 膜透過の輸送現象に基礎となる不可逆過程の熱力学から輸送方程式について解説されている。またここに現われる輸送係数, 例えば拡散係数などについては, 速度論に基づく透過機構と関連づける必要があり, またこれは膜電位とも関係する。これらについていねいに解説されている。

現在膜に関する研究は, 各方面で注目され, 研究開発が行われているが, その基礎になるのは物理化学であり, 物性論であることは言うまでもない。膜の研究は先を急ぐ余り, 膜探しに追われて, 基礎を振り返ることを忘れてはならない。本書の一読を是非お勧めしたい。

(東京大学工学部 木村尚史)