赤血球と血小板の細胞膜における 膜リン脂質の多彩な役割

藤 井 達 三

京都薬科大学第2生化学教室 ☎ 607 京都市山科区御陵中内町 5

Various functional roles of phospholipids in the plasma membranes of the erythrocytes and platelets

Tatsuzo Fujii

Department of Biochemistry Kyoto Pharmaceutical University
Yamashina-ku, Kyoto 607, Japan

Recent informations on the functional roles of plasma membrane phospholipids in two major blood cells, the erythrocytes and platelets, are described, including the following subjects ; 1) membrane lipid bilayer as a described, including the following subjects ; 2) asymmetric distribution of phospholipids in the membrane lipid bilayer, the mechanism of its maintenance and its physiological significances ; 3) participation of membrane lipid bilayer in the cell shape changes, and 4) regulatory actions of membrane lipids on the functions of membrane proteins, especially on the roles of membrane lipids and their metabolites in the transmembrane signal transduction system.

Key words : membrane lipids, membrane phospholipids, plasma membrane, blood cells, erythrocyte, platelet

1. はじめに

細胞膜のリン脂質は、膜脂質二重層の主要な成分として、膜の構成上必須の物質であることは、いまさら言うまでもない。それは、膜のいわば骨格として、水溶性メジウムを二つの区画に分けるための障壁となると同時に、多彩な膜タンパク質をその内部や表面に格納するという基本的な役割を果たしている。しかしながら、哺乳動物細胞などの進化した細胞の膜では、膜リン脂質は決してただ一つの種類のものから成るのではなく、たとえば赤血球膜について表1に示すように、多種類のリン脂質クラスからなり、さらにそれらの各々が膜の脂質二重

表1 ヒト赤血球膜におけるリン脂質の分布
膜脂質二重層の各層に存在する割合 (%)

	内 層	外 層	膜全体
総リン脂質	50	50	100
sphingomyelin	6	20	26
phosphatidylcholine	9	23	32
phosphatidylethanolamine	25	6	31
phosphatidylserine	10	0	10
phosphatidylinositol	1	0	1

図1. リン脂質の構造式

層の内外に関して不均質に分布している（膜内でのトポロジーがことなる）。何のためにこのような多種類のリン脂質が存在するのか、また何のためにそれらが膜の内外に関して非対称的に存在するのか、上記の基本的な役割では説明できない問題について主として考えてみたい。

形質膜の脂質二重層は、リン脂質を主成分として、これにかなり多量のコレステロールと、少量ではあるが分子的認識などにおいてきわめて重要な糖脂質からなる。ここでは頁数の制限から後二者には触れず、リン脂質とそれに深く関連する脂肪酸に限定して述べることにする。

赤血球や血小板などの血液細胞(血球)の形質膜¹⁾は、生体膜研究において最も良く用いられる材料であると同時に、血球の機能や病気に関連するその異常においても重要な役割を演じている。ここでは、これら血液細胞の膜に重点をおき、膜リン脂質の生理的な役割を展望して

みたい。

膜を構成するリン脂質の主要なクラスの構造は、図1に示すとおりである。これらの名前は長いので、以後は図1に示す略号を用いることにする。

2. 膜タンパク質を係留する骨格としての膜脂質二重層

膜タンパク質は、その疎水性部分と膜脂質二重層の疎水性部分との相互作用で膜に固く結合する内在性タンパク質と、その親水性基とリン脂質の親水性基または内在性タンパク質の表面の親水性基との間の相互作用で膜に弱く結合する表在性タンパク質の二つに大別される。しかしながら、最近になって、生体膜におけるタンパク質の膜脂質二重層への結合の様式には、これら以外に、タンパク質自身が脂質と共有結合し、この脂質グループと膜脂質二重層との親和性によって膜に結合する場合も含

まれることが分かってきた。ここでは、これらのさまざまな膜タンパク質の膜への結合の様式について、おもに血液細胞を例として挙げながら、展望して行きたい。

2.1 膜タンパク質の疎水性部分と膜脂質二重層との相互作用

ヒト赤血球の形質膜のタンパク質は、図2に示すようなものから成る。膜を SDS-PAGE にかけたときに分離されるタンパク質を、泳動速度の遅い順に番号で表したのが図の数字であり、たとえばバンド3タンパク質などとよばれる。GP だけは名前があり、多量の糖鎖を含む glycophorin である。この GP とバンド3タンパク質とが、主要な内在性タンパク質であり、バンド4.1や

図2. ヒト赤血球膜における膜タンパク質と細胞骨格タンパク質
GP : Glycophorin
数字は SDS-PAGE によるバンドの番号

2.1 の表在性タンパク質を介して、バンド1, 2, 5 から成る細胞骨格系と結合している。これら二つの内在性タンパク質は、疎水性アミノ酸残基が集まって α -ヘリックスを形成する部分によって膜を貫通し、この部分と脂質二重層との相互作用によって膜と結合している。膜貫通部分は、グリコフォリンでは1個であるが、バンド3タンパク質では少なくとも7個以上（おそらく10個）とされている（図3）。

このようにポリペプチド鎖が膜脂質二重層を10回前後も貫通することにより膜に結合するのは、決して珍しいことではなく、すでに構造の決定された膜のレセプターやイオンチャンネルのタンパク質について普通にみられることである⁴⁾。このような場合、膜を貫通するヘリックス部分は、22個のアミノ酸残基から成ると一般には考えられているが、必ずしもそうとは限らないことが分かってきた。なぜなら、膜貫通ヘリックスが多数集まってリングを形成することがあり、その内側に接触する貫通部分（チャンネルを形成することがある）は、外側のヘリックスとの相互作用で結合できるので、その長さは膜の厚さに相当するアミノ酸22個分へのヘリックスである必要が必ずしもないからである⁴⁾。

図3. ネズミ赤血球のバンド3タンパク質のトポロジー（アミノ酸929個より成る）
CHO は糖鎖結合部位を示す。
……はまだ確定的でない部分。

D. Jay and L. Cantley : Ann. Rev. Biochem., 55, 511-538 (1986) より簡略化して引用。

2. 2 Glycosyl-phosphatidylinositol anchor で膜と結合するタンパク質

図4に模式的に示すように、ポリペプチド鎖のC末端アミノ酸のCOOHを介してエタノールアミンのアミノ基とアミド結合し、さらにエタノールアミンを介してグリカン（マンノースとグルコサミンなどよりなる）およびホスファチジルイノシトール（PI）を結合している。

図 4. GPI アンカータンパク質の構造

VSG: *Trypanosoma brucei* からの variant surface glycoprotein (表在性変異抗原タンパク質)

AChE : acetylcholinesterase

Thy-1: マウス T 細胞の表面抗原

M. G. Low : Biochim. Biophys. Acta, **988**, 427-454 (1989) より引用.

膜タンパク質の存在が知られている⁵⁾。この glycosyl-PI (GPI) 部分を anchor (錨) として、膜脂質二重層につなぎとめられるので、それらは GPI-anchor protein と呼ばれる。グリカン部分の側鎖には、ガラクトースや *N*-アセチルガラクトサミンなどの糖の結合している場合もある。これらの表在性膜タンパク質は、一般に形質膜の外表面に存在する (図 5)。

このようなタンパク質は、PI に特異的に働いて水解するホスホリパーゼ C によって、細胞膜表面から離脱する。ウサギの耳静脈にこの酵素を注入すると、GPI-anchor 型の膜酵素（アルカリホスファターゼなど）が組織細胞から離脱して血液中に現れるが、この事実がこの種のタンパク質の研究の端緒となったのである⁶⁾。

ヒト赤血球の膜には、少なくとも 4 種の GPI-anchor protein の存在が確認されている⁷⁾(表 2)。このうち、AChE はアセチルコリンを水解する酵素、DAF と HRF は補体系の活性化を制御する因子、LFA-3 は T 細胞の膜上の CD 2 抗原と結合する成分である。

免疫系細胞の表面にある Fc レセプター (FcR) は、免疫グロブリンの Fc 部分と結合することにより、抗原抗体複合体の貪食、抗体依存性の細胞障害作用の発現に参与するとされているが、3 種の FcR のうち、好中球

図5. 膜タンパク質の疎水性修飾の種類

表2 ヒト赤血球膜の糖脂質結合型 (GPI-アンカー型) タンパク質

	分子量 (kDa)	糖含量 (重量%)	細胞あたりの 分子数**
Acetylcholinesterase (AChE)	150**	?	500
Decay-accelerating factor (DAF)	70	40	3,300
Lymphocyte function associated antigen-3 (LFA-3)	40~70	55	3,000
Homologous restriction factor (HRF)	65	?	18,000

**精製収率からの概算

**ジスルフィド結合によるホモダイマー

杉田雄二：生化学, 60, 441-445 (1988) より引用

表3 アシル化タンパク質の特徴比較

	パルミトイル化	ミリストイル化
アシル化部位	ペプチド鎖内部の Cys	ペプチド鎖N末端の Gly
結合の種類	エステル結合	アミド結合
結合の代謝回転	動的：結合離脱を繰り返す	静的：結合すれば離れない
関与する酵素	protein fatty acyltransferase	N-myristoyl transferase
生理的役割 (推定)	主として膜貫通性タンパク質の 貫通部分に結合し、情報伝達や 膜融合を調節(?)	膜の特定の部位へタンパク質を つなぎとめる(多くは細胞膜の 細胞質側へ)

表面の $\text{Fc}\gamma\text{R III}$ は大部分が GPI-anchor 型として存在することが報告されている⁹⁾。

このように、血液細胞膜にある GPI-anchor protein は、免疫系や補体系などの生体防御機構において重要な機能を果たしていることが推定されるが、このほかにも、細胞同士の粘着などの細胞間相互作用、および細胞の活性化への関与を示唆する研究もある⁹⁾。

この種のタンパク質の研究の進展の上で大きく貢献したのが、溶血性貧血の一種の paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH, 夜間発作性血色素尿症) の患者血球についての研究であった^{6, 7)}。この患者の赤血球は、補体に高い感受性をもち、血液 pH の下がる夜間に活性化された補体によって溶血され、遊離したヘモグロビンが尿中に現れる。このような溶血による貧血を起こすだけでなく、血栓症や感染症を高率に発して、死亡することもある。その赤血球膜にはアセチルコリンエステラーゼが欠損していることが発見されたのを初めとして、赤血球系の細胞のみならず、血小板(栓球)系、顆粒球系、単球系の細胞においても、広く GPI-anchor protein が選択的に欠損していることが見いだされた⁹⁾。とくに DAF や FcR III の欠損でもって、この患者の溶血、血栓症、感染症への高い感受性がよく説明さ

れるようになった。

2.3 アシル化タンパク質

膜結合性タンパク質のなかには、ポリペプチド鎖の中のシステイン残基の SH 基とのエステル結合によりパルミチン酸をもつもの、および N-末端のグリシン残基とのアミド結合によりミリスチン酸をもつものがあることが、近年明らかにされてきた¹⁰⁾。このように共有結合によって高級脂肪酸を結合したタンパク質が、そのアシル基と膜脂質二重層との間の親和性によって膜に結合すること、そしてそれらが主として形質膜の内側(細胞質側)に存在することが報告されている(図5)。これらの脂肪酸はどちらも炭素 16 および 14 個よりなる飽和酸で、性質も似ているにもかかわらず、これらのタンパク質への結合の性状や動態が互いに異なるのは興味深い(表3)。そしてそれらの生理的役割として、ミリストイル化タンパク質は膜への anchoring にあるらしいが、パルミトイル化タンパク質の場合は、それだけではなく、膜タンパク質の情報伝達や膜融合などの機能に対して調節作用を発揮するためではないかと考えられるようになった¹⁰⁾。

赤血球膜のパルミトイル化タンパク質としては、細胞

骨格系を膜につなぎとめる役割を演じる ankyrin やバンド 4-1 タンパク質が知られ^{10, 11)}, また Rh ポリペプチド¹²⁾ およびアニオン輸送タンパク質 (バンド 3)¹³⁾ もこれに属するとの報告がある。血小板では、膜糖タンパク質 I b, IX¹⁴⁾, II b-III a 複合体¹⁵⁾ がこれに属するとされている。最近の報告では、血小板をトロンビンなどで活性化したときに、放射性パルミチン酸のこの糖タンパク質や 38 kDa タンパク質への取り込みが著しく促進される (ミリスチン酸の取り込みは促進されない) という¹⁶⁾。

これらのアシル化タンパク質は、血液細胞よりも一般の組織細胞の膜タンパク質について、また細胞性およびウイルス性の oncogene の産物 (oncogene product) のタンパク質について、一層詳細に調べられている^{10, 17)}。これらの結果を以下にごく簡単に述べる。パルミトイル化タンパク質としては、多数の細胞膜レセプター (インスリン, インターロイキン-1, トランスフェリン, アセチルコリン, アドレナリンなどのレセプター) がこれに属し, そのうちニワトリ赤血球の β -adrenergic receptor protein のシステイン残基を変異によってグリシンに変えると, パルミトイル化がおこらず, レセプターが膜に結合はするが G タンパク質とのカップリングが起こらず, したがってアゴニスト刺激による cAMP 生成促進がみられなくなるという。他方, ミリスチル化については, protein kinase A, および G-タンパク質 (G_0 , G_i) などの巨大なタンパク質複合体の subunit にみられる。これらの結果より, 表 3 に挙げたような両者の違いにもかかわらず, これらのアシル化タンパク質は, たとえばレセプターと G タンパク質間, あるいは G タンパク質の subunit 間の結合を調節する役割を演じるとの可能性が考えられる¹⁷⁾。すなわち, 膜脂質二重層への anchoring の機能に加えて, これらのアシル基の導入により, 細胞膜の情報伝達系のタンパク質-タンパク質間の相互作用を制御することが可能となるのではないかと考えが生まれてきたのである。この方面の最近の進歩ははやいので, 明確な結論は近い将来にくだされるであろう。

3. 膜脂質二重層におけるリン脂質の非対称性分布, その維持の機構, および生理的意義

3.1 膜脂質二重層におけるリン脂質の非対称性分布 真核細胞の細胞膜は多種類のリン脂質から成るのみで

なく, それらの分布において脂質二重層の間で差のあること, すなわち, それらが非対称的に分布していることは, 主として哺乳動物の細胞について報告されている¹⁸⁾。この事実が初めて証明されたのは, ヒト赤血球膜であった¹⁹⁾。表 1 に示すように, 膜リン脂質の 30% 前後を占める SM, PC, PE のうち, コリン含有リン脂質である前二者の大部分は二重層の外層に存在し, 他方, アミノリン脂質である PE の大部分は内層に存在する。酸性リン脂質の PS の分布はもっと極端にかたより, すべてが内層に局在している。SM, PC, PE の分布の割合については, この値が常に他の形質膜にも当てはまるわけではないが, コリン含有リン脂質が外層に偏在する傾向は一般的にみられる。PS が内層にのみ存在することは, 血小板の形質膜などについても証明され, 普遍的な事実と考えられている。

このような研究がなされたのは 1970 年代のことで, 細胞の外から加えて膜脂質二重層の外層のリン脂質のみをほぼ完全に水解する酵素 (ハチ毒やコブラ毒より精製したホスホリパーゼ A_2 , ときには, スフィンゴミエリナーゼを併用) を用いての実験, および膜不透過性のアミノ基反応試薬を外側から作用させる実験などの手法が用いられた。Van Deenen 一派をはじめとする多数の研究があるが, もう既に確立されている事実であるので, 総説を一つ挙げるにとどめる¹⁸⁾。

3.2 膜脂質二重層間でのリン脂質の移動と輸送系

リン脂質分子の二重層の一方から他方への移動はきわめて遅い。なぜなら, そのためには, それと交換して反対方向へのリン脂質の移動が行なわれなければならない (とんぼがえり運動, flip-flop), このような一対の脂質分子の移動は, 極性基の疎水性領域の通過という大きいエネルギー障壁を越えなければならないからである。生体膜でも膜タンパク質の存在による影響が多少はあるものの, 事情は人工的なリン脂質二重層の場合とあまり変わらないとされている。

われわれは, ^{14}C 標識 PC をヒト赤血球に加えて膜脂質二重層の外層へ挿入させ, 37°C でインキュベイトしたときに, そこから内層へ移行する量を測定することにより, 移行速度を求めた²⁰⁾。外層の PC の 10% が内層へ移行するのに, C_8 の脂肪酸 2 個をもつ PC では 4 時間, C_{10} では 6.5 時間, C_{12} では 18 時間を要し, それ以上長いアシル鎖をもつ PC では, 10 時間の観察でも移行が認められなかった。TEMPO-PC を spin probe

図6. ヒト赤血球の膜脂質層外層に貫入した中鎖リン脂質の内層への移行

として用いた ESR 測定でも、同じ傾向の結果が得られた²¹⁾。このように、長鎖脂肪酸 2 本をもつ天然の PC の二重層間の移動がきわめて遅いことが分かるが、他方、アシル鎖が 1 本の lysoPC の二重層間の移動は、PC と比べて著しくは早かった²⁰⁾。

ところが、最近になって、膜リン脂質のなかでも、PS や PE などのアミノリン脂質は例外で、細胞膜での外層から内層への移動が、コリン含有リン脂質に比べて著しくは早いことが明らかにされてきた。図 6 はこのことを示す実験の一例であるが、上記のようにして赤血球膜に取り込ませた ^{14}C 標識リン脂質 (C_{10} アシル鎖 2 本をもつものを用いた) の、外層から内層への移行を 37°C で経時的に測定したものである。PC は 30 分後ではほとんど動いていないのに対して (120 分でようやく 4% ほどが移行)、30 分で PE は 27%、PS は 73% が内層へ移行するのがわかる。

このアミノリン脂質のはやい移動が、温度および細胞内部の ATP 濃度に依存し、一部の膜タンパク質の SH 基が還元状態にある場合にのみ行われることなどが次々と明らかになり、この移動がある種の酵素による能動輸送によってなされることが推論されるようになった。これに関しては、1987 年頃からの赤血球膜についての Zwaal 一派²²⁾、Devaux 一派²³⁾、および Connor と Schroit²⁴⁾ の精力的な研究におうところが多く、その結果、アミノリン脂質に特異性をもち (特に PS への

特異性が高い) これを二重層間で輸送する、“amino-phospholipid translocase” の存在が推定されるに至ったのである。さらに、この酵素が血小板でも同様な輸送に関与することが報告されている^{25, 26)}。最近、“Assembly of lipids into membrane” という題目の multi-author review の一部として、この酵素を含む “Transmembrane movements of lipids” についての総説²⁷⁾が出たので、参照されたい。

このような酵素は、タンパク質として分離精製すれば輸送活性を証明することが不可能となるので、その本態を証明することは難しいが、最近の報告によると、細胞膜の ATPase 中で機能の不明であった vanadate と fluoride に感受性の Mg^{2+} ATPase との極めて高い性質上の類似性から、アミノリン脂質トランスロケースはこれと同じタンパク質によるものではないかとの推察がなされている²⁸⁾。

3.3 膜脂質二重層におけるリン脂質非対称性分布の維持機構

細胞膜の脂質二重層間でのリン脂質の非対称性分布の生起に、上記のアミノリン脂質トランスロケースが重要な役割を果たすであろうことは、容易に推察できるが、これだけでそのような非対称性分布が保たれているかどうかについては、まだ意見が分かれている。スペクトリンのような細胞骨格タンパク質が PS と親和性をもつことから²⁹⁾、これらの細胞骨格タンパク質が運ばれてきた PS などを内層につなぎとめるように働き、トランスロケースと共同して非対称性分布を維持するのに貢献するとの考え³⁰⁾がある一方、種々の実験事実からこの可能性を否定する研究者も多い^{31, 32)}。この点に関しての決着がつくまでには、しばらくの時間が必要であろう。

3.4 膜脂質二重層のリン脂質非対称性分布の生理的意義の推定

ヘモグロビン S の存在による鎌状赤血球では、その膜リン脂質の非対称性分布が消失し、PS と PE の多くが外層にきて外表面へと露出することは、すでに 1981 年に報告されていた³³⁾。その結果、PS による prothrombinase の活性化を通じて血液凝固系の活性化が起こると考えられるが³⁴⁾、それに加えて、赤血球の血管内皮細胞への粘着も起こることが報告されている³⁵⁾。これらのことは、鎌状赤血球症患者に見られる微小血管内での栓塞の発作をよく説明すると思われる。

図7. ヒト赤血球の変形現象

赤血球よりゴースト(膜標品)を作るとき、条件によってはリン脂質が対称的に分布したものが得られるが、このようなゴーストは、monolayer に培養した血管内皮細胞に粘着しやすいことが知られている³⁶⁾。また、赤血球の膜に人工的に PS analogue を導入すると、二重層外層にもあらわれるその PS 類似物質のために、マクロファージによる認識と捕捉が促進されるという事実も、報告されている³⁶⁾。

血小板が活性化を受けると、リン脂質の非対称性分布が消失することが知られているが³⁴⁾、これが自然凝集を起こしたインスリン依存性糖尿病患者の血小板でもみられる³⁷⁾。その結果、procoagulant activity の促進や、血管内皮への粘着が見られるという³⁷⁾。

これらの事実と考え合わせると、これらの血液細胞が血管内壁に粘着することなく、またマクロファージによって貪食されることなく、血流中を循環できるのは、細胞膜の PS が脂質二重層の内層中に隔離され、外表面に露出しないためともいえるようである。

さらに、細胞の分泌機能におけるアミノリン脂質トランスロケースの役割を推察させるような知見も得られている。ヒトの血小板や赤血球は、大量の Ca^{2+} 流入によって shedding を起こして小胞を形成するが、これと平行して prothrombinase 活性の促進が起こる³⁸⁾。これは、小胞にも残りの細胞にも、膜外表面への PS の露出が起こるためとされるが、メジウムより Ca^{2+} を除くと、細

胞ではアミノリン脂質トランスロケースの再活性化により、PS は再び内層へと戻り、血液凝固活性は減退するという³⁸⁾。小胞形成の際には、膜融合の過程で膜リン脂質の非対称性分布が一旦消失するので、これを回復するためにこのトランスロケースが存在すると思われるのである。細胞が内部のオルガネラ中の物質を分泌する際には、同じような膜融合による exocytosis が起こるので、それによって失われる形質膜でのリン脂質非対称性を回復することが、このトランスロケースの役割ではないかという説³⁸⁾で、将来の一層の検討に値するであろう。

4. 細胞変形における膜脂質二重層の関与

赤血球は形質膜を唯一の膜系としてもつ特殊な細胞なので、その細胞としての形はこの膜およびその裏打ち構造としてのスペクトリン-アクチン細胞骨格系によって決定される。赤血球は図7の左端に示すような中くぼみの円盤状(biconcave disc)の形の細胞であるが、流液中では自由に形を変える。これは一時的な物理的外力によるもので、その外力が除かれれば元の形に戻る。このような一時的の変形は deformation とよばれる。これとは別に、赤血球は種々の化学的および物理的要因によって形を変え、長時間にわたってその異常な形をとり続ける。これは変形現象(shape change)とよばれる。

その典型的なものが、図7に示すような、echinocyte-stomatocyte 型の変形現象³⁹⁾である。これらの形態は、種々の血液疾患患者の赤血球にみられるが、一方、in vitro では次のような因子によって誘起される。1) 両親媒性の脂質や薬物の膜への貫入、2) 膜脂質の化学的修飾、3) 細胞内 ATP 濃度の低下、4) 細胞内外の pH およびイオン強度の変化など。

これらのうち、両親媒性薬物の作用機構の説明として“bilayer couple”説⁴⁰⁾が提唱された。この説によれば、膜脂質二重層の内層に局在する PS などの酸性リン脂質のために、アニオン性薬物はそれに反発して外層に多く入り込み、カチオン性薬物はそれに引かれて内層に多く入り込む。カップルしているこれら二つの層のうち、アニオン性薬物は外層をのみ膨脹させるので、echinocyte 型変形を起こし、カチオン性薬物は内層をのみ膨脹させるので、stomatocyte 型変形を誘起する。このように、膜脂質二重層の内外二層間の占有表面積の不均衡に基づいて、それぞれのタイプの変形を生じるとの説である。

この説は、多くの薬物による変形現象⁴¹⁾をよく説明するものであるが、薬物の内外層への局在の証明が困難である。そこで、われわれは、まず膜脂質二重層へ貫入しやすい中鎖脂肪酸含有リン脂質（前記3.2参照）を用いて、この説があてはまることを示した^{42, 43)}。C₈, C₁₀, C₁₂の脂肪酸2個をもつPCをヒト赤血球に加えると、PCは膜脂質二重層の外層に入り、細胞は直ちにechinocyte 型の変形を示す。この細胞を37℃におくと、入ったPCは徐々に外層から内層へと移行し、それに平行して細胞の形は正常形に戻って行った。PSの場合は、外層から内層への急速な移行に伴って、echinocyte から正常形への戻りも急速であり、さらにそれを通り越してstomatocyte に達した。このような事実は後に確認され、より詳しく検討されている⁴⁴⁾。

一方、赤血球を溶血を起こさない条件下でホスホリパーゼA₂, CあるいはDで処理し、外層のリン脂質のみを水解させると、A₂ではechinocyteを、CまたはDではstomatocyteを生じること、またこのような変形は外層のリン脂質の僅か数%程度の水解で起こることを、われわれは初めてみいだした⁴⁵⁾。この説明として、ホスホリパーゼA₂の作用では膜脂質二重層外層のPCが水解されてlysoPCと脂肪酸が生じ、それらがそのまま外層に留まるので、polar headによる占有面積が増加して外層の膨脹をもたらす。反対に、ホスホリパーゼCまたはDの作用でPCのpolar headがはずれる

と、外層の収縮をもたらすはずである。これらがそれぞれechinocyteとstomatocyteをもたらす。

このように、赤血球膜リン脂質層のmanipulationの実験から、この種の変形現象にはリン脂質二重層のバランスが関与していることが推察され、その生起の機構としてのbilayer couple説の妥当性が明らかとなった。ただし、これは膜リン脂質層のみが関与することを意味するものではなく、細胞骨格系の関与を否定するものでもない。事実、細胞骨格系タンパク質の異常や欠損の場合には、種々の要因によるechinocyte型変形が起こり難いことが報告されている⁴⁶⁾。たとえば、膜脂質二重層の不均衡が一つの引き金となり、それが何らかの方法で細胞骨格系に伝えられ、そのコンフォーメーション変化によって変形の起こるというような可能性も考えられる。

血小板の膜についても、上記のechinocyte変形に似た突起が活性化時に生じ、偽足と呼ばれている。同じような突起が、赤血球にechinocyte型変形を起こさせるlysoPCを加えた時にもみられること（活性化による他の応答はなしに）、またstomatocyteを生じる薬物のクロールプロマジンを作作用させると、血小板は球状化することを、著者は初めて報告した⁴⁷⁾。これらの現象は、その後、他の研究者達によってより深く研究され、膜脂質二重層のバランスが細胞形態に影響をおよぼす例と解釈されている^{48, 49)}。

5. 膜タンパク質の機能に対する膜脂質の調節作用——とくに情報伝達系における膜脂質とその代謝産物の役割

形質膜のリン脂質と、それからホスホリパーゼCやA₂の作用のもとで生じる代謝産物が、膜情報伝達系で重要な機能を発揮することは、もはや周知の事実となっている。とくに重要なイノシトールリン脂質の代謝産物のdiacylglycerol (DG)やinositol trisphosphate (IP₃)の膜レセプター活性化における役割については、本誌に竹縄氏の総説⁵⁰⁾があり、また血小板の情報伝達系については、最近のLapetinaの総説⁵¹⁾があるので、詳しくはそれらを参照されたい。

血小板での膜リン脂質の代謝で生じるおもな産物は、図8に示すようである。Phosphatidylinositol 4, 5-bisphosphate (PIP₂)から、これに特異的なホスホリパーゼCの作用によって生じたDGとIP₃は、それぞれ

図8. 血小板の膜リン脂質よりの代謝産物の生成とそれらの役割

protein kinase C の活性化と, dense tubular system (普通の細胞の小胞体に相当)よりの貯蔵 Ca^{2+} の動員のためのチャンネルの解放を行う。これとは別のホスホリパーゼ C が膜の PC や PE に作用して生じる DG も、これと同様に C キナーゼの活性化物質として作用する。C キナーゼの活性化には、DG に加えて PS のような酸性リン脂質の関与を必要とするが、それはこの酵素が細胞質から形質膜の内表面へと結合し、そこに露出する PS と接触することによって可能となる。DG はリン酸化を受けてホスファチジン酸 (PA) となるが、このリン脂質も一種のメチエイターとして血小板の活性化を促進する作用をもつ⁵²⁾。膜の PC, PE などからホスホリパーゼ A₂ の作用によって生じるアラキドン酸 (AA) は、アラキドン酸カスケードを介して thromboxane A₂ (TXA₂) などのプロスタノイドとなり、血小板の活性化などの役割を演ずる。

これらのほかにも、膜酵素にはリン脂質の存在下で活性を著しく増大するものが多い。たとえば、 Na^+ , K^+ -ATPase⁵³⁾ やホスホリパーゼ A₂⁵⁴⁾ は、酸性リン脂質の添加によって活性の増大を示すが、これは特定の脂質の特異的な作用によるものではなく、PS, PA, PI, PIP₂ などの酸性リン脂質が強度の差はあっても有効である。

このことは、タンパク質をとりまく脂質の環境によって、酵素活性発揮に必要なコンフォーメーションが確保されるためと考えられている。Protein kinase C もその活性が周辺の脂質環境に依存する酵素である⁵⁵⁾。

参考文献

- 1) 藤井達三：細胞膜，中外医学社 (1985)
- 2) J. V. Cox and E. Lazarides : *Mol. Cell Biol.*, **8**, 1327-1335 (1988)
- 3) D. Jay and L. Cantley : *Ann. Rev. Biochem.*, **55**, 511-538 (1986)
- 4) H. F. Lodish : *Trends Biochem. Sci.*, **13**, 332-334 (1988)
- 5) M. G. Low : *Biochim. Biophys. Acta*, **988**, 427-454 (1989)
- 6) 池沢宏郎：生化学，**59**, 1334-1339 (1987) (新しい総説が近く蛋白質核酸酵素に掲載)
- 7) 杉田雄二：生化学，**60**, 441-445 (1988)
- 8) P. Selvaraj, T. A. Springer, et al. : *Nature*, **333**, 565-567 (1988)
- 9) M. P. Lisanti, E. Rodriguez-Boulan and A. R. Saltiel : *J. Membr. Biol.*, **117**, 1-10 (1990)
- 10) M. F. G. Schmidt : *Biochim. Biophys. Acta*, **988**, 411-426 (1989)
- 11) D. Maretzki, M. Mariani and H. U. Lutz : *FEBS Lett.*, **259**, 305-310 (1990)

- 12) M. P. de Vetten and P. Agre : J. Biol. Chem., **263**, 18193-18196 (1988)
- 13) E. Zdebska, J. Antoniewicz and J. Koscielak : Arch. Biochem. Biophys., **273**, 223-229 (1989)
- 14) L. Muszbek and M. Laposata: J. Biol. Chem., **264**, 9716-9719 (1989)
- 15) C.S. Cierniewski, J. Krzeslowska, Z. Pawlowska, H. Witas and M. Meyer : J. Biol. Chem., **264**, 12158-12164 (1989)
- 16) E. M. Huang : Biochim. Biophys. Acta, **1011**, 134-139 (1989)
- 17) R. A. J. McIlhinney : Trends Biochem. Sci., **15**, 387-391 (1990)
- 18) J. A. F. Op den Kamp : Ann. Rev. Biochem., **48**, 47-71 (1979)
- 19) A. J. Verkleij, R. F. A. Zwaal, et al. : Biochim. Biophys. Acta, **406**, 83-96 (1975)
- 20) T. Fujii, A. Tamura and T. Yamane : J. Biochem., **98**, 1221-1227 (1985)
- 21) A. Tamura, K. Yoshikawa, T. Fujii, et al. : Biochim. Biophys. Acta, **855**, 250-256 (1986)
- 22) E. Middelkoop, E. E. Van der Hoek, E. M. Bevers, et al. : Biochim. Biophys. Acta, **981**, 151-160 (1989)
- 23) G. Morrot, P. Herve, A. Zachowski, P. Fellmann, and P. F. Devaux : Biochemistry-USA, **28**, 3456-3462 (1989)
- 24) J. Connor and A. J. Schroit : Biochemistry-USA, **29**, 37-43 (1990)
- 25) A. Sune, P. Bette-Bobillo, A. Bienvenue, P. Fellmann and P. F. Devaux : Biochemistry-USA, **26**, 2972-2978 (1987)
- 26) E. M. Bevers, R. H. J. Tilly, J. M. G. Senden, P. Comfurius and R. F. A. Zwaal : Biochemistry-USA, **28**, 2382-2387 (1989)
- 27) A. Zachowski and P. F. Devaux : Experientia, **46**, 644-656 (1990)
- 28) G. Morrot, A. Zachowski and P. F. Devaux : FEBS Lett., **266**, 29-32 (1990)
- 29) C. W. M. Haest : Biochim. Biophys. Acta, **694**, 331-352 (1982)
- 30) E. Middelkoop, B. H. Lubin, E. M. Bevers, et al. : Biochim. Biophys. Acta, **937**, 281-288 (1988)
- 31) J. Y. Calvez, A. Zachowski, A. Herrmann, G. Morrot and P. F. Devaux: Biochemistry-USA, **27**, 5666-5670 (1988)
- 32) S. R. P. Gudi, A. Kumar, V. Bhakuni, S. M. Gokhale and C. M. Gupta : Biochim. Biophys. Acta, **1023**, 63-72 (1990)
- 33) B. Lubin, D. Chiu, J. Bastacky, B. Roelofsen and L. L. M. van Deenen : J. Clin. Invest., **67**, 1643-1649 (1981)
- 34) R. F. A. Zwaal, E. M. Bevers, P. Comfurius, et al. : Mol. Cell Biochem., **91**, 23-31 (1989)
- 35) N. Mohandas and E. Evans : Blood, **64**, 282-287 (1984)
- 36) R. A. Schlegel and P. Williamson : J. Cell. Physiol., **132**, 381-384 (1987)
- 37) F. Lupu, M. Calb and A. Fixman : Thromb. Res., **50**, 605-616 (1988)
- 38) P. Comfurius, J. M. G. Senden, R. H. J. Tilly, A. J. Schroit, E. M. Bevers and R. F. A. Zwaal : Biochim. Biophys. Acta, **1026**, 153-160 (1990)
- 39) 藤井達三 : 細胞膜, 115-131, 中外医学社 (1985)
- 40) M. P. Sheetz and S. J. Singer : Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **71**, 4457-4461 (1974)
- 41) T. Fujii, T. Sato, et al : Biochem. Pharmacol., **28**, 613-620 (1979)
- 42) T. Fujii and A. Tamura : Cell Biochem. Funct., **2**, 171-176 (1984)
- 43) A. Tamura, T. Sato and T. Fujii : Cell Biochem. Funct., **5**, 167-173 (1987)
- 44) D. L. Daleke and W. H. Huestis : J. Cell Biol., **108**, 1375-1385 (1989)
- 45) T. Fujii and A. Tamura : J. Biochem., **86**, 1345-1352 (1979)
- 46) W. H. Reinhart, L. A. Sung, K. L. P. Sung, S. E. Bernstein and S. Chien : Amer. J. Haematol., **29**, 195-200 (1988)
- 47) Y. Kanaho and T. Fujii : Biochem. Biophys. Res. Commun., **106**, 513-519 (1982)
- 48) J. E. Ferrell, Jr., K. T. Mitchell and W. H. Huestis : Biochim. Biophys. Acta, **939**, 223-237 (1988)
- 49) A. Sune and A. Bienvenue : Biochemistry-USA, **27**, 6794-6800 (1988)
- 50) 竹縄忠臣 : 膜, **12**, 191-199 (1987)
- 51) E. G. Lapetina : FEBS Lett., **268**, 400-404 (1990)
- 52) N. H. Kroll, G. B. Zavoico and A. I. Schafer : J. Cell. Physiol., **139**, 558-564 (1989)
- 53) J. L. Dahl and L. E. Hokin : Ann. Rev. Biochem., **43**, 327-356 (1974)
- 54) C. C. Leslie and J. Y. Channon : Biochim. Biophys. Acta, **1045**, 261-270 (1990)
- 55) R. M. Epand and D. S. Lester : Trends Pharmacol. Sci., **11**, 317-320 (1990)

(受付 1991. 1. 18.)