

科学研究費補助金（学術創成研究費）公表用資料
〔事後評価用〕

平成16年度採択分

平成22年3月31日現在

研究課題名（和文） **機械受容チャネルを核とした
メカノバイオロジーの創成**

研究課題名（英文） **Creation of Mechanobiology Based on
Mechanosensitive Channels**

研究代表者

曾我部 正博 (SOKABE MASAHIRO)

名古屋大学・大学院医学系研究科・教授



推薦の観点： 創造的・革新的・学際的学問領域を創成する研究

研究の概要：細胞の機械刺激受容・応答能（細胞力覚）は生命を支える根幹機能であるが、その分子・物理機構の多くは未解明であった。本研究では、①細菌機械刺激受容チャネルの変異体を用いた実験とシミュレーションにより、その張力感知部位を同定し、膜脂質との相互作用を通じた張力感知の物理化学機構、および張力感知とチャネル開閉の連関の詳細を明らかにした。②高等生物では、細胞骨格であるストレス線維が、チャネルや接着斑と複合体を形成し、機械刺激の伝達・収斂媒体として働くこと、さらにはそれ自体が機械刺激感知センサーであるという画期的な発見をした。③応用研究として機械刺激受容チャネルブロッカーの探索を行い、心房細動治療薬の候補分子を見出した。

研究分野： 生理学

科研費の分科・細目： 生物化学・生物物理学

キーワード： メカノバイオロジー、細菌 MS チャネル、メカノセンサー、細胞骨格、接着斑、チャネル・ブロッカー、蜘蛛毒、心房細動

1. 研究開始当初の背景

細胞の機械刺激感知能（細胞力覚）は広範な生命現象に関わる基本機能であるが、これまで、基礎生物学、臨床医学などの多くの分野では力覚研究が未成熟なために通底意識が低く、相互交流もなされていなかった。研究代表者である曾我部は 1991 年に機械受容（Mechano Sensitive, MS）チャネルが張力で活性化することを初めて証明した。その後も、世界初の真核生物 MS チャネル遺伝子の同定など、先導的成果を挙げてきた。

2. 研究の目的

細胞の機械刺激受容・応答のメカニズムの大半は謎である。本研究では、最近明らかになった代表的メカノセンサーである MS チャネルを核にして、1) MS チャネル活性化機構の詳細解明、2) 細胞力覚における細胞骨格の役割解明、及び、3) 新規 MS チャネル・ブロッカーの探索と応用、を中心に研究を進めた。さらに、非チャネル型の新規メカノセンサーの同定や、将来性のあるシーズ課題に取り組み、広範な生命現象にかかわる“メカノバイオロジー”という新学問領域創成の基盤確立を目指した。

3. 研究の方法

(1) 細菌 MS チャネル作動機構の詳細解明を目指して、点突然変異体の電気生理学的解析と分子動力学(MD) シミュレーションを行った。また、電子顕微鏡による一分子構造解析により開閉構造を比較した。
(2) 高等生物の MS チャネルが細胞骨格(ストレス線維)・接着斑と複合体を形成することに着目し、細胞骨格のナノ操作と接着斑・チャネル活性の同時イメージングを行い、細胞骨格の張力とチャネル活性の関連を解析した。
(3) MS チャネル特異的なブロッカー・蜘蛛毒由来ペプチドをリード化合物として、より簡単な構造のブロッカーの開発を目指した。また心房細動が誘発できる灌流心モデルを開発し、既存の薬物のスクリーニングも行った。

4. 主たる研究成果

(1) 細菌 MS チャネル MscL の膜張力感知部位が脂質膜外葉のグリセロール基近傍にあるアミノ酸群であることを見出した。それらは細胞膜が伸展したときに膜内張力が集中する油水界面の近傍に位置し、膜脂質に引っ張られて硬い膜貫通部位全体が膜面方向に引き倒されることで開口することが予想された。実際に、常時開状態にあるチャネル変異体分子を作製して電子顕微鏡による一

分子構造解析を行い、この予想と一致する結果を得た。また、MD 計算による膜伸展に伴う活性化過程のシミュレーションを行い(図 1)、主要な張力感知部位が F78 であること、ゲートの開口はタンパク質の構造変化に伴う水分子とタンパク質カルボニル酸素の水素結合が本質的に重要であることを明らかにした。MscS についても張力感知部位を同定し、開口過程における細胞質ドメインの構造変化を実験的に明らかにした。

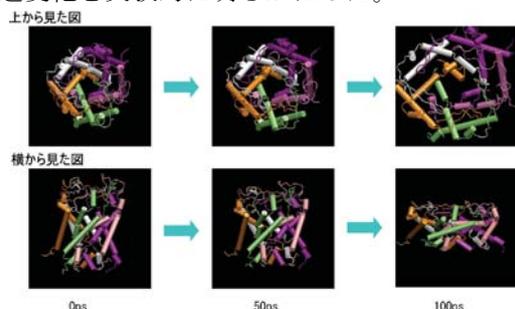


図 1 細菌 MS チャンネル MscL が細胞膜を引っ張ることによって開口する様子

(2) 高等生物細胞では、細菌 MS チャンネルとは異なり、チャンネル単独ではなく MS チャンネル・接着斑・ストレス線維から成る分子複合体がメカノセンサーとして機能することを、世界に先駆けて明らかにした(図 2)。このとき細胞骨格(ストレス繊維)が力刺激の伝達・収斂媒体として機能し、力の遠隔感知に寄与することを見いだすとともに、骨格自身がベクトル型メカノセンサーとして機能することを見出した。

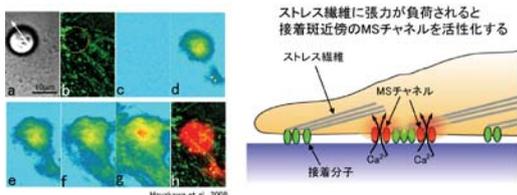


図 2 (左) ビーズを通してストレス繊維に張力を負荷すると、接着斑の近傍においても Ca^{2+} 流入が見られた。(右) MS チャンネル・ストレス線維・接着斑複合体から成るメカノセンサーのモデル図。

(3) 唯一の MS チャンネル特異的なブロッカーである蜘蛛毒由来ペプチド GsMTx-4 の部分構造を模擬した数種のペプチドが、心筋 MS チャンネル SAKCA を GsMTx-4 よりも強く抑制することを見出し、その作用機序の詳細を明らかにした。臨床応用を目指して開発した灌流心心房細胞モデルに対する効果を調べたが、抑制効果は認められなかった。しかし、この灌流心モデルを使い有望な既存薬物を探索したところ、ある種のスタチンが心房細胞を急性に抑制することを見いだした。

5. 得られた成果の世界・日本における位置づけとインパクト

この 10 年で、多くの国々でメカノバイオロジという新学問領域が興隆してきた。我々は、この分野において、MS チャンネルの活性化の生物物理学と細胞力覚における細胞骨格の役割解明という世界をリードする成果を挙げ、国内外の学術集会から多くの招待講演を依頼された。また 2009 年度から科研費の時限つき細目としてメカノバイオロジーが採択された。これらの流れに本研究の成果が、少なからず貢献したと自負している。

6. 主な発表論文

(研究代表者は二重線、研究分担者は一重下線、連携研究者は点線)

- ① Machiyama H, Tatsumi H, Sokabe M. Structural changes in the cytoplasmic domain of the mechanosensitive channel MscS during opening. *Biophys J*, 97:1048-1057 (2009).
- ② Fujiu K, Nakayama Y, Yanagisawa A, Sokabe M, Yoshimura K. Chlamydomonas PPR2 encodes a voltage-dependent calcium channel required for the flagellar waveform conversion. *Curr Biol*, 19:133-139 (2009).
- ③ Hirata H, Tatsumi H, Sokabe M. Mechanical Forces Facilitate Actin Polymerization at Focal Adhesions in a Zyxin-Dependent Manner. *J Cell Sci*, 121: 2795-2804 (2008).
- ④ Hayakawa K, Tatsumi H, Sokabe M. Stress fiber acts as a force-transmitting and -focusing structure to activate MS channels in endothelial cells. *J Cell Sci*, 121:496-503 (2008).
- ⑤ Nomura T, Sokabe M, Yoshimura K. Interaction between the cytoplasmic and transmembrane domains of the mechanosensitive channel, MscS. *Biophys J*, 94:1638-45 (2008).
- ⑥ Yoshimura K, Usukura J, Sokabe M. Gating-associated conformational changes in the mechanosensitive channel, MscL. *PNAS*, 105:4033-4038 (2008).
- ⑦ Nomura T, Yoshimura K, Sokabe M. Lipid-protein interaction of the MscS mechanosensitive channel examined by scanning mutagenesis. *Biophys J*, 91:2874-81 (2006).

ホームページ等

<http://www.med.nagoya-u.ac.jp/physiol2>