

筋肉運動とエネルギー

Muscle Movement and Energy

丸 山 工 作*

Kosack Maruyama

はじめに

DNAの生物学がはなばなしい進展をとげ、5万個にのぼるヒト遺伝子全部の解明が国際的な協力プロジェクトとして強力に推進されている。遺伝子解析は、その産物である蛋白質のアミノ酸配列を明らかにする。

生命現象のかぎともいえる蛋白質の構造がわかったとしても、その働きの仕組みについてはほんの手がかりを得るにすぎない。分子量にして数万から数百万におよぶ巨大分子の多彩なダイナミクスを理解するのは容易ではない。しかし、その効率のよさは将来のバイオテクノロジーの目指すところとなろう。

生体内エネルギー変換の効率のよさは目を見張るばかりである。ミトコンドリア膜での水素イオン浸透による生体エネルギー物質ATP合成の効率は40%である。筋収縮でATPの化学エネルギーが機械エネルギーに変えられるときには、ときに60%以上におよぶ。本稿では筋運動のエネルギー変換について述べるが、わかっていることのあまりにとぼしい点をまず指摘しておきたい。

1. 筋収縮のエネルギー源

1930年まで、筋収縮のエネルギー源は筋肉に含まれているグリコーゲンが乳酸に分解される酵素過程（解糖系）によってまかなわれるものとみなされていた。カエルの脚の筋肉を用いた実験では無酸素下でも収縮をつづけ、乳酸を生成する。この乳酸学説で、ドイツのOtto Meyerhof (1884—1951) は1922年度のノーベル医学生理学賞を受賞したほどである。

ところが、解糖を阻害するモノヨード酢酸で処理したカエルの筋肉が無酸素下で70回ほど収縮できることをデンマークのEinar Lundsgaard (1899—1968)

が1930年に発見し、乳酸学説は崩壊してしまった。Lundsgaardは、モノヨード酢酸処理筋が収縮できなくなったとき、クレアチリン酸含量がゼロになることを示し、クレアチリン酸が筋収縮のエネルギー源であろうと示唆した。クレアチリン酸(図-1)は、アメリカのCyrus Fiske (1890—1978) とYellapragada SubbaRow (1896—1948) がネコの筋肉で1926年に発見した非常に不安定なリン酸化合物である。

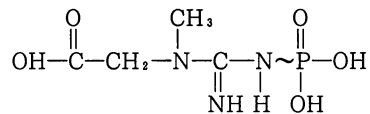
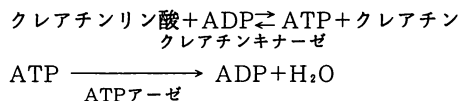


図-1 クレアチリン酸

Meyerhof門下のKarl Lohmann (1898—1978) は、1934年にクレアチリン酸とアデノシン三リン酸(ATP)との間でリン酸をやりとりする酵素クレアチンキナーゼを発見した。ATPは、1929年にFiske, SubbaRow およびLohmannが発見したリン酸化合物である(図-2)。Lohmannはカニの筋肉がATPの3つのリン酸のうち末端のものを分解してアデノシン二リン酸(ADP)にすることを発見した(1935年)。そこで、筋収縮の直接エネルギー源はATPではないかと思われるようになった。



1939年、旧ソ連のVladimir Engelhardt (1894—1984) は筋収縮蛋白質ミオシンがATPアーゼ活性をもっていることを示した。つづいて、ハンガリーのAlbert Szent-Györgyi (1893—1986) が筋収縮の分子的仕組みはミオシン、アクチン、ATPの相互作用であると提唱した(1942—46年)。

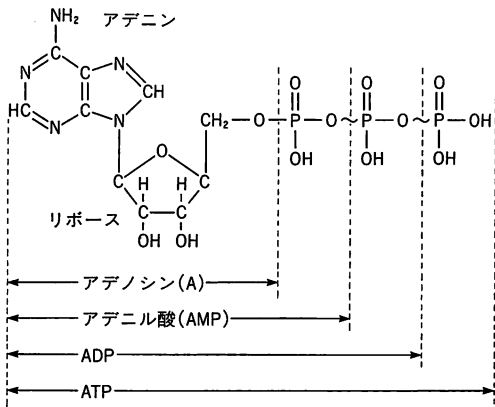


図-2 ATP

表1 カエル腹直筋の1回の収縮にともなうリン酸化合物含量の変化¹⁾

	ATP	ADP	AMP	Pi
収縮前	1.25	0.64	0.10	—
収縮後	0.81	0.90	0.24	—
差	-0.44	+0.26	+0.14	+0.64

筋肉1gあたりのμmole数で示してある。

ようにして筋肉はATPの化学エネルギーを仕事のエネルギーに変えるのであろうか？

2. 滑り説

1954年5月22日号のNatureに発表されたHugh Huxley (1922~), Jean Hanson (1919~1972) および Andrew Huxley (1918~), Rolf Niedergerke (1925~) の2論文ほど生体運動の分野でインパクトをあたえたものはないであろう。筋収縮とはペプチド・コイルの伸縮によるのではなく、ミオシンフィラメントとアクチンフィラメントの相対的な滑りによるというのである。

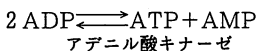
骨格筋の収縮構造は直径1μmの円筒状の筋原線維で、Z線によって仕切られたサルコメアの繰り返し単位が連ってできている。サルコメアは明るいI帯、暗いA帯、明るいI帯からなる(図-3)。I帯はZ線から伸びた全長では1μmのアクチンフィラメント、A帯は長さ1.5μmのミオシンフィラメントおよび両側から入ってきているアクチンフィラメントからできている。滑り説によると、収縮時にはアクチンフィラメントがミオシンフィラメントの中央に向かって両側から滑り込む。サルコメアの長さは短くなるが、狭くなるのはI帯部だけでA帯の長さは変らない(図-3)。すべてのサルコメアが同調して短くなるので、筋原線維全長にわたって短縮が起こり、両端のけんを通じて骨を動かすことになる。

滑り説の第一の假定は、ミオシン、アクチンともにその運動性に一定の方向性があることである。ミオシンフィラメントから突きでている頭部(クロスブリッジともよばれる)は、中央のシャフトをへだてた両側から、アクチンフィラメントを中央方向に動かすと假定する。すなわちミオシンフィラメントの両側でその運動方向が反対である。一方、アクチンフィラメントにはミオシン分子が結合すると矢じり構造をつくり、サルコメア内の両側のZ線から走っているアクチンフィラメントはそれぞれサルコメアの中央方向に矢じり端

1941年、Meyerhof一門でアメリカに亡命した Fritz Lipmann (1899—1986) は高エネルギーリン酸(〜P)の概念を提出し、ATPの末端高エネルギーリン酸結合が分解されるときに放出されるエネルギーが筋収縮でも使われることを示唆した。

そこで、だれしもATP説を認めるようになったが、その実証はなかなかできなかった。というのは、筋収縮の前後でATP含量の減少を示すことは、クレアチリン酸含量がATPのその5倍以上あるため困難だったからである。1962年になって、アメリカの Robert Davies (1919~) がジニトロフロロベンゼン(サンガー試薬)を導入してこの問題を解決した¹⁾。この試薬はクレアチンキナーゼを阻害するが、ATPアーゼやアデニル酸キナーゼには影響しない。

表1にみられるように、サンガー試薬処理したカエル縫工筋では、1回の収縮で1gあたり約0.6μmoleのATPが消費された。ATPそのものは約0.4μmoleしか減少していないが、それは生成されたADPからATPとAMPがアデニル酸キナーゼの作用によってつくられたためである。この酵素は1944年アメリカの Herman Kalckar(1908—1991)によって発見された。



この際、筋肉は125g cm相当の仕事をした。この仕事は熱量であらわすと、約3mcalにあたる。0.6μmoleの〜Pは約5mcalの自由エネルギーに相当する。したがって、60%の高い効率で化学エネルギーが機械エネルギーに変換されたことになる。筋収縮の際、1gの骨格筋あたり約2mcalの熱を発生することが知られているので、計算値は一致する。

筋肉は、まさに超能率的な機械である。では、どの

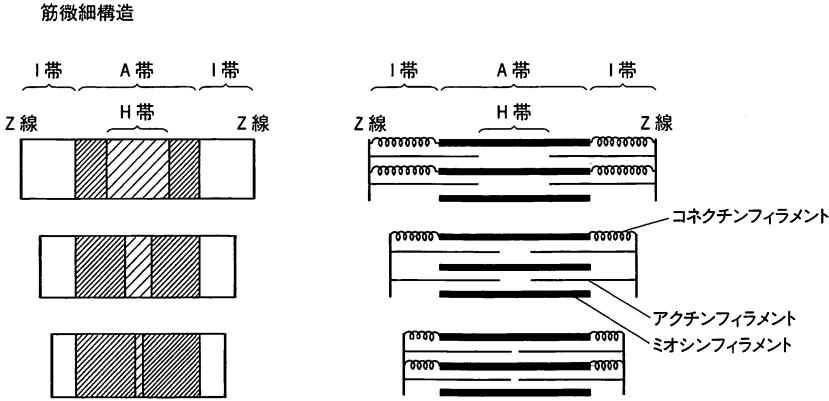


図-3 滑り説

があり、その方向は反対である。アクチンフィラメントは、矢じり方向に向って滑走する(図-4)。

筋肉のサルコメア内では、ミオシンフィラメントはZ線からのバネ(コネクチンフィラメント)で支えられてサルコメア中央に位置している。そこで、両側からアクチンフィラメントがミオシンフィラメント中央に向って滑走する。逆に、アクチンフィラメントが固定されていると、ミオシンフィラメントは反矢じり方向に滑走する。まるでアクチンのレール上をミオシンのトロックが走るかのようである(図-4)。このことは、シャジクモのゲル層に方向性をそろえて並んでいるアクチンフィラメントを用いて実証された²⁾。すなわち、ミオシンでコートとしたプラスチック球はATP存在下で反矢じり方向に滑走した。このミオシンの運動が水流を起こし、いわゆる原形質流動の原因とみなされている。

滑り説は、静止時の長さ(約2.4 μ m)からサルコ

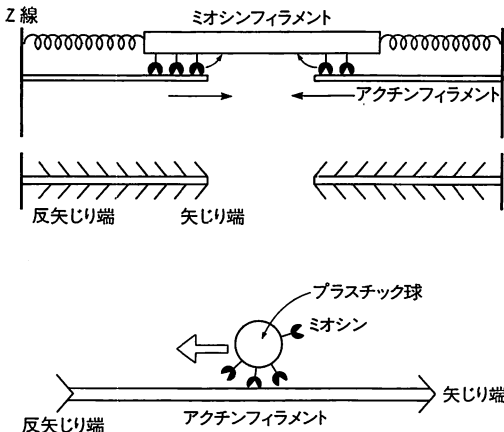


図-4 滑りの方向性

メアを伸長させて等長性収縮させると、ミオシンとアクチンの重なり合いがなくなる3.6 μ mまで発長張力が直線的に減少してゼロとなることから生理学的に実証された(A. F. Huxleyら, 1963)。張力発生とミオシンとアクチンの重なり合いの程度が比例する。また、H. E. Huxley (1968—90)の丹念なX線回折による解析は筋収縮のさいにミオシンとアクチンの相互作用が基本的反応であることを支持した。

3. モーター蛋白質

ミオシンがアクチンフィラメント上を一定方向に滑走することが1983年に示されて以来、キネシンやダイニンが微小管上を走ることが確認され、ミオシン、キネシン、ダイニンなどは運動蛋白質(motor protein)とよばれるようになった。いずれも、エネルギー源としてはATPが利用される。

3.1 ミオシン

ミオシンは、筋肉では、双頭の細長い分子である(図-5)。アメーバや脳などには単頭のミオシンがある。双頭のミオシンは、2本の重鎖(鎖量約22.4万、6035個アミノ酸)と3種数4個の軽鎖(鎖量1.7, 2.0, 2.5万)からなる。合わせて分子量54万の大きな蛋白質である。全長は160nmにおよび、頭部は長さ20nm、幅9nm、尾は直径2nm、長さ140 μ mである。トリプシンなど蛋白分解酵素で切断されやすく、双頭のHメロミオシン(Hはheavyの略)と棒状のLメロミオシンに分れる。Hメロミオシンは水溶性で使いやすいため実験に用いられる。さらに頭部(S1)と首(S2)に切断される。HMMやS1は運動蛋白質ミオシンの人工的な断片である。

ミオシンはアクチンと反応して運動をおこなうが、

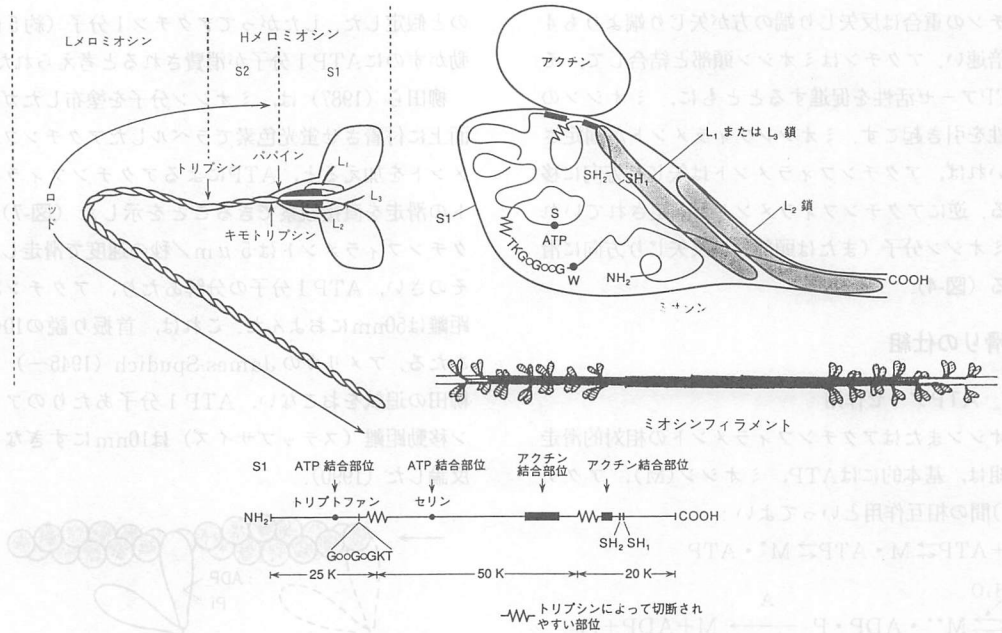


図-5 ミオシンとミオシンフィラメント

その活性は頭部にある。頭部は首からの α 螺旋につながっており、この部分は2個の軽鎖 (L_2 と L_1 または L_3)で支えられている。 L_2 または L_1 が失われると失活する。頭部にはATPアーゼ部位とアクチン結合部位がある(図-5)。ミオシン頭部の立体構造はごく最近明らかにされたばかりで、そのATPアーゼ活性などの機能の理解はこれからである(Raymond, 印刷中)。

ミオシンの尾部は、低イオン強度下で会合してフィラメントを形成する。0.6M KClに溶解したミオシン分子を0.1Mでいどに薄めると両端に近い部分で頭部を突出させたフィラメントができる。条件によっては直径12nm、長さ1.5 μ mの筋肉内のミオシンフィラメントと同じ構造が自己集合によってつくられる。

3.2 アクチン

アクチンは8.0 \times 4.5 \times 3.0nmほどの球状蛋白質で、375個のアミノ酸からなり、分子量約4.2万である。1990年その立体構造が解明された¹⁾(図-6)。4つのドメインからなり、中央部にATPが結合している。塩を加えると重合して二重螺旋のフィラメントが形成される。そのさい、ATPは分解してADPとなる。アクチンのモノマーはGアクチン、ポリマーはFアクチンとよばれる(Gはglobular, Fはfibrousの略)。ガラス器内で重合したFアクチンの長さは指数分布を示すが、筋肉内は1 μ mと一定している。これは分子量

80万のネブリンという長さ1 μ mの細長い蛋白質によって規定されると考えられている。

アクチンフィラメントには方向性がみられる。Hメロミオシンを結合させると矢じり構造ができる(図-4)。

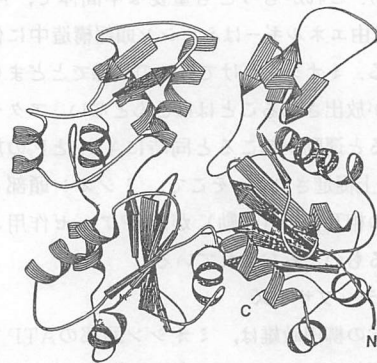


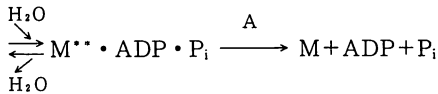
図-6 アクチンとアケチンフィラメント

アクチンの重合は反矢じり端の方が矢じり端よりも4～5倍速い。アクチンはミオシン頭部と結合して、そのATPアーゼ活性を促進するとともに、ミオシンの運動性を引き起こす。ミオシンフィラメントが固定されていれば、アクチンフィラメントは矢じり方向に移動する。逆にアクチンフィラメントが固定されていれば、ミオシン分子(または頭部)は反矢じり方向に滑走する(図-4)。

4. 滑りの仕組み

4.1 ATPアーゼ作用

ミオシンまたはアクチンフィラメントの相対的滑走の仕組みは、基本的にはATP, ミオシン(M), アクチン(A)間の相互作用というよい:



ATPがミオシン頭部のトリプトファン, セリンなど結合部位に結合すると(図-5), 頭部の構造に変化を生ずる($M^* \cdot ATP$)。ATPが分解してADPと無機リン酸(P_i)が生成されると, さらに構造の変化が起こるが, 分解産物はそのままと結合している($M^{**} \cdot \text{ADP} \cdot P_i$)。これがもっとも重要な中間体で, ATPの $\sim P$ の自由エネルギーはミオシン頭部構造中に保存されている。ミオシンだけではこの状態とどまり, 分解産物が放出されることはほとんどない。アクチンが結合すると運動が起こると同時にADPと P_i の放出が100倍以上促進される。そこで, ミオシン頭部とアクチンとの相互作用(運動)がATPアーゼ作用と共役しているものとみなされている。

4.2 ステップサイズ

大阪大学の柳田敏雄は, ミオシン頭部のATPアーゼ作用に関するシスティン残基に蛍光色素をラベルして, 筋収縮のさいに頭部の角度が一定に保たれており首振り運動はおこらないと結論した(1985)。また, 液体ヘリウムを用いた急速凍結法による電子顕微鏡像でも, 等長性収縮中にミオシンの頭部はアクチンフィラメントに垂直であることが示された(1987)。これらの結果は, 1957年にA. F. Huxleyによって提出されたミオシン首振り説に否定的である。H. E. Huxleyも, ミオシン頭部はアクチン1分子づつ移動させていくものと主張しつづけてきた。そのさい, ミオシン頭部は方向性をもった首振り運動をおこなうも

のと仮定した。したがってアクチン1分子(約5nm)動かすのにATP1分子が消費されると考えられた。

柳田ら(1987)は, ミオシン分子を塗布したガラス面上に付着させ蛍光色素でラベルしたアクチンフィラメントを加えると, ATPによるアクチンフィラメントの滑走を直接観察できることを示した(図-7)。アクチンフィラメントは5 μm /秒の速度で滑走した。そのさい, ATP1分子の分解あたり, アクチン移動距離は50nmにおよんだ。これは, 首振り説の10倍にあたる。アメリカのJames Spudich(1945-)らは柳田の追試をおこない, ATP1分子あたりのアクチン移動距離(ステップサイズ)は10nmにすぎないと反論した(1990)。

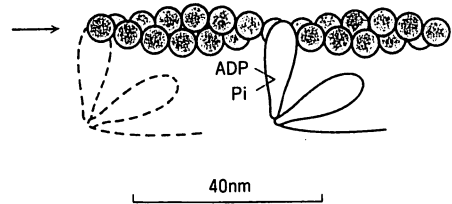


図-7 ミオシン頭部によるアクチンフィラメントの移動

ステップサイズの大きさが大問題となったのは, $M^{**} \cdot \text{ADP} \cdot P_i$ 1個が首振り運動によってアクチンフィラメントを動かす距離は10nm以下と考えられていたからである。それは, 1分子のATPの分解とアクチン1分子の移動とが共役するという化学量論的な解釈にもとづいている。しかし, 柳田らは, 条件を改良して, ステップサイズが100nm以上にもなることを実証し(1990), しだいに受け入れられるようになった。したがって, ミオシン頭部の動きはパワーstrokeではなく, ミオシン頭部($\text{ADP} \cdot P_i$ 結合体)はエネルギーを少しづつ出してアクチンフィラメントを動かすとしか考えられない。ただし, このアクチンフィラメントの移動はまったく負荷のかかっていない条件下であることを述べておかななければならない。

4.3 収縮中の力

あらかじめ不活性化したミオシンをつけたごく細いガラス針に1本のアクチンフィラメントの一端を付着させ, 他端をATP存在下でミオシン頭部でコートしたカバーガラスに近づけさせる。すると, アクチンフィラメントは滑走すると同時に, しなやかなガラス針を引っばる(図-8)。そのたわみから発生した張力は, 0.5~1.5pNと測定された。その大きさは, 収縮中の

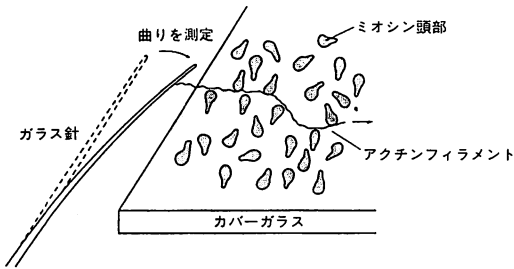


図-8 カバーガラスに固定したミオシン分子の頭部だけで発生する力を測定する

ミオシン・アクチン相互作用による張力発生と同じ程度である。

比較的固いガラス針を用いて、アクチンフィラメントがほとんど動けないようにすると（等長性収縮）、ガラス針にかかる力は最大張力と張力ゼロと大きくゆらいでいることがわかった。このことは、ミオシン頭部が力をだすON状態と出さないOFF状態のいずれかをとる、すなわちATP 1分子の分解ごとに1回力を発生すると仮定すると説明できる。これに対してやわらかい針を使ってアクチンフィラメントに約4 $\mu\text{m}/\text{s}$ の滑走を起こさせると、力のゆらぎは0.1pN程度に過ぎなかった。しかも、アクチンフィラメントはATP分解1回ごとに100 μm 以上滑走した。おそら

く、1個のATP分解の過程でミオシン頭部はアクチンと次々に結合解離を繰り返すのであろう。

滑走力の発生の仕組みはまったくといってよいほどわかっていない。静電的なアクチン・ミオシン相互作用によるリアモーター説やミオシン頭部の構造変化説、また、Richard Feynman (1918—1989) のラチェット熱運動説 (1964) の適用などがいわれているが、想像の域をでていない⁶⁾。蛋白質の構造がわかっても、ダイナミックな機能はなかなかわからない現状を反映している。

参考文献

- 1) Infante, A. A., Davies, R. E. ; ATP breakdown during a single isotonic twitch of frog sartorius muscle. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 9 (1962) 410~415.
- 2) Sheetz, M. P., Spudich, J. A. ; Movement of myosin-coated fluorescent beads on actin cables in vitro. *Nature* 303 (1983) 31~35.
- 3) Kabsch, W., Mannherz, H. G., Suck, D., Pai, E. F., Holmes, K. C. ; Atomic structure of actin : DNase I complex. *Nature* 347 (1990) 37~44.
- 4) Harada, Y., Sakurada, K., Aoki, T., Thomas, D. D., Yanagida, T. ; Mechanochemical coupling in actomyosin energy transduction studied by in vitro. *J. Mol. Biol.* 216 (1990) 40~68.
- 5) 神谷 律, 丸山工作 ; 細胞の運動 (1992) 培風館.

