

Ca²⁺ダイナミクスと細胞モデル

道川 貴章

東京大学 医科学研究所 基礎医科学大部門 脳神経発生・分化分野

1. はじめに

ホルモンや成長因子、神経伝達物質などの外界からの刺激に応答する際に、多くの細胞ではスパイク状の Ca²⁺上昇が周期的に起きる Ca²⁺振動や、Ca²⁺上昇が細胞内または周辺の細胞へと広がっていく Ca²⁺波のように、細胞質の Ca²⁺が複雑な時間・空間的パターンを取って増加することが知られている。Ca²⁺は受精、筋収縮、開口放出、外分泌、形態変化、細胞分化、細胞膜の興奮性、シナプス可塑性、遺伝子発現、細胞死など、さまざまな細胞機能を調節する細胞内情報伝達物質（メッセンジャー）として働いている。Ca²⁺という極めてシンプルな物質がこのように多様な生命現象に関わっているのは、細胞内に Ca²⁺受容タンパク質が多種類存在することに加え、Ca²⁺上昇が時間・空間的にさまざまなパターンを取りうることに決して無関係ではないであろう。つまり、細胞質の Ca²⁺濃度上昇のパターンそのものに本質的な情報がコードされていて、パターンに依存して細胞内に存在する Ca²⁺受容タンパク質のうち、ある特定のタンパク質のみがある決められた時系列に沿って活性化（もしくは不活性化）されるような制御が行われていると考えられる。

2. Ca²⁺シグナル

Ca²⁺が情報を運ぶ方法には、少なくとも2通りあることが実験的に示されている。一つは **Frequency modulation**、つまり Ca²⁺振動の周波数によって情報が運ばれているというものである。多くの細胞で見られる Ca²⁺振動は、一般に以下のような特徴を有している。(1) Ca²⁺スパイクを生成するための細胞外アゴニスト濃度には閾値が存在する。(2) 閾値以上では細胞外アゴニストの濃度が高くなるほど Ca²⁺振動の周波数は上昇し、さらにアゴニスト濃度が高くなると一過性の大きな Ca²⁺上昇、および持続的な Ca²⁺濃度上昇へとパターンが変化する。(3) 異なる刺激は異なるパターンの Ca²⁺振動を生じる。実際に Ca²⁺振動の周波数に依存して、顎下腺からの唾液分泌のタイミング、肝細胞でのグリコーゲン代謝の速度、神経細胞の分化、T細胞での遺伝子転写の効率や特異性が変化することが示されている。つまり、アゴニスト濃度というアナログ値が、Ca²⁺振動の周波数というデジタル値に変換されて細胞内に伝えられていることになる。一方、**Amplitude modulation** と呼ばれる、Ca²⁺濃度上昇の振幅によって情報が運ばれている例も知られている。抗原刺激を受けたB細胞では、細胞内 Ca²⁺濃度上昇の振幅に依存して転写される遺伝子に違いが生じる。

もちろん、このように Ca^{2+} シグナルによる情報伝搬について理解されているのはほんの氷山の一角であって、まだまだ我々の知らない方法で情報の伝達が行われている可能性は十分にあるが、上記の例からも細胞質の遊離 Ca^{2+} 濃度の時空間パターンに情報がコードされているのは間違いないであろう。

それでは、 Ca^{2+} 濃度の変動パターン、特に細胞外刺激の強度に依存して Ca^{2+} 振動の周波数が変わるような Ca^{2+} シグナルは、一体どのような分子機構で形成されているのであろうか。通常、静止状態の細胞において細胞質の遊離 Ca^{2+} 濃度は 100 nM 程度と非常に低く保たれており、細胞外に存在する数 mM の Ca^{2+} に対して 10,000 倍以上もの濃度勾配が形成されている。細胞質の Ca^{2+} イオンが長時間上昇し続けると細胞は生きることが出来ないため、細胞は自らの生存のために常にエネルギーを消費して細胞質の Ca^{2+} 濃度を低く保つ必要がある。 Ca^{2+} イオンは他の細胞内メッセンジャー分子と異なり分解・代謝して取り除くことが出来ないため、細胞は細胞質の遊離 Ca^{2+} イオンを (1) 細胞外に汲み出す、(2) 細胞内 Ca^{2+} 貯蔵器官に取り込む、(3) Ca^{2+} 結合タンパク質によってキレートするという 3 種類の方法を用いて低濃度に保っている。そして細胞外から刺激を受けると、細胞外から、もしくは細胞内 Ca^{2+} 貯蔵部位から濃度勾配を利用して細胞質へ瞬時に Ca^{2+} が動員される。このように、細胞質の遊離 Ca^{2+} 濃度変動とは、ATP のエネルギーを用いることで濃度勾配に逆らって Ca^{2+} を輸送する Ca^{2+} ポンプ、細胞膜を隔てた Na^+ イオンの濃度勾配のエネルギーを利用して Ca^{2+} を細胞外に排出する $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交換機構、細胞質 (および細胞内 Ca^{2+} 貯蔵器官内) に存在する Ca^{2+} 結合タンパク質、細胞膜上に存在する電位依存性もしくはリガンド作動性 Ca^{2+} チャネル、細胞内 Ca^{2+} 貯蔵器官上に存在する Ca^{2+} 放出チャネル、および細胞外刺激をこれらの Ca^{2+} チャネルに伝え開口を引き起こす細胞内メッセンジャーといったさまざまな分子が相互に関与し、細胞質という 3 次元空間で実現される極めて複雑な生命現象である。この中でも特に、細胞内 Ca^{2+} ダイナミクス形成において中心的役割を担う細胞内 Ca^{2+} 放出チャネルに着目し、以下に細胞内 Ca^{2+} ダイナミクスの形成機構についてこれまでに得られた知見およびそれらの問題点について解説してみたい。

3. 細胞内 Ca^{2+} 放出チャネルと Ca^{2+} 誘導 Ca^{2+} 放出

小胞体などの細胞内 Ca^{2+} 貯蔵器官上に存在する細胞内 Ca^{2+} 放出チャネルとして、これまでにリアノジン受容体とイノシトール 3 リン酸 (IP_3) 受容体が知られている。両者は 1 次配列上の相同性を有し、ともに 4 量体を形成して Ca^{2+} 放出チャネルとして機能している。リアノジン受容体は植物アルカロイドであるリアノジンと結合することから名付けられたチャネルで、骨格筋、心筋、平滑筋などの筋肉細胞で筋収縮の際の細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇に関与するほか、中枢神経系でも発現している。一方 IP_3 受容体は細胞外刺激によって細胞膜の構成成分であるホスファチジルイノシトール 2 リン酸から産生される IP_3 によって開口す

る Ca^{2+} 放出チャネルで、中枢神経系を含むほぼすべての細胞に発現し、さまざまな生理現象に関与している。細胞内 Ca^{2+} 貯蔵器官からの Ca^{2+} 放出によって起きる Ca^{2+} 上昇は、例えば受精時の卵細胞のようにある点から始まり次第に細胞全体へ広がっていく Ca^{2+} 波として観察される。細胞質には非常に多くの Ca^{2+} 結合タンパク質が存在するため、 Ca^{2+} イオン自身の拡散は限られており、 Ca^{2+} 波の形成には自己再生的な Ca^{2+} 動員が必要であると考えられている。リアノジン受容体と IP_3 受容体に共通する重要な機能上の相似点は、ともに細胞質の Ca^{2+} によって活性化、および不活性化されることであり¹、この二相性の Ca^{2+} による活性調節によって以下に示すように自己再生的な細胞質の Ca^{2+} 濃度上昇や周期的な Ca^{2+} 濃度上昇が起きていると考えられている。なお、両者はともに $0.1\sim 1\ \mu\text{M}$ といった静止状態からやや高い濃度の Ca^{2+} で活性化されるが、不活性化を受ける Ca^{2+} 濃度に違いがあり、 IP_3 は数 μM の Ca^{2+} で抑制されるのに対し、リアノジン受容体は数百 μM といったより高濃度の Ca^{2+} まで活性が保たれている¹。なお、リアノジン受容体は Ca^{2+} によって Ca^{2+} 放出を起こす (Ca^{2+} -induced Ca^{2+} release: CICR) チャネルであり、一方 IP_3 受容体は IP_3 存在下で CICR チャネルとして働く分子であるといえる。

4. 細胞モデル

1992 年、De Young と Keizer は IP_3 受容体の二相性の Ca^{2+} 依存性を考慮した 8 状態モデルを作成し、細胞内 Ca^{2+} 貯蔵部位からの Ca^{2+} 放出による Ca^{2+} 振動の形成機構について解析を行った²。モデルを作成するに当たり、彼らが用いた主な仮定は以下の通りである。

- 1) IP_3 受容体は 3 つの同一のサブユニットからなる。
- 2) 各サブユニットは IP_3 結合部位、チャネル活性化に関与する Ca^{2+} 結合部位、不活性化に関与する Ca^{2+} 結合部位をそれぞれ 1 か所ずつ持つ。
- 3) すべてのサブユニットそれぞれに IP_3 が結合し、さらに活性化部位に Ca^{2+} が結合し、かつ不活性化部位に Ca^{2+} が一つも結合していないチャネルのみが開口する。
- 4) IP_3 が結合することで不活性化に関与する結合部位の Ca^{2+} に対する親和性が低下する。
- 5) 不活性化に関与する結合部位に Ca^{2+} が結合すると IP_3 に対する新和性が低下する。
- 6) 活性化に関与する Ca^{2+} 結合部位の Ca^{2+} に対する親和性は、他の部位へのリガンド結合に影響されない。
- 7) 活性化に関与する部位への Ca^{2+} の結合は、不活性化に関与する部位への Ca^{2+} の結合よりも 100 倍早い。
- 8) 細胞内外で Ca^{2+} の移動は起きない。
- 9) 細胞内 Ca^{2+} 貯蔵器官からの Ca^{2+} 放出はリークを除けば IP_3 受容体によってのみ起きる。

以下に、De Young & Keizer モデルを示す。

$$\begin{aligned}
 \frac{d[Ca_i^{2+}]}{dt} &= J_1 - J_2 \\
 J_1 &= c_1 (v_1 x_{110}^3 + v_2) ([Ca_{ER}^{2+}] - [Ca_i^{2+}]) \\
 J_2 &= \frac{v_3 [Ca_i^{2+}]^2}{[Ca_i^{2+}]^2 + k_3^2} \\
 \frac{d[IP_3]}{dt} &= I_r ([IP_3]^* - [IP_3]) + I_p f(t)
 \end{aligned} \tag{1}$$

ここで Ca_i^{2+} は細胞質の遊離 Ca^{2+} 、 Ca_{ER}^{2+} は小胞体内腔の遊離 Ca^{2+} 、 J_1 は IP_3 受容体による小胞体から細胞質への Ca^{2+} flux、 J_2 は Ca^{2+} ポンプによる細胞質から小胞体内腔への Ca^{2+} flux、 c_1 は小胞体と細胞質の体積比、 v_1 は IP_3 受容体による最大 Ca^{2+} flux、 x_{110} は IP_3 が結合しさらに活性化部位に Ca^{2+} が結合した IP_3 受容体の割合、 v_2 はリークによる Ca^{2+} flux、 v_3 は Ca^{2+} ポンプの最大 Ca^{2+} flux、 k_3 は Ca^{2+} ポンプの Ca^{2+} に対する解離定数、 I_r は IP_3 分解の速度定数、 $[IP_3]^*$ は定常状態の IP_3 濃度、 I_p は IP_3 パルスの振幅、 $f(t)$ は IP_3 パルスを与えるタイミングを表している。

このモデルはある特定のパラメータの組み合わせで安定した振動を示し、このことから IP_3 受容体の二相性の Ca^{2+} によるフィードバック調節のみによって Ca^{2+} 振動が起きうることが示された。なお、このモデルは IP_3 濃度に依存した Ca^{2+} 振動の周波数変化も再現している。また、このモデルから活性化部位への Ca^{2+} の結合と不活性化部位への Ca^{2+} の結合は速度が大きく異なり、前者が後者よりも少なくとも 2 オーダー早いことが Ca^{2+} 振動形成に必須であることが示された。さらに、このモデルから Ca^{2+} 振動の周波数は Ca^{2+} による IP_3 受容体の不活性化の速度によって規定されていることが示された。Li & Rinzel はこの 8 状態モデルをもとに、 IP_3 および Ca^{2+} の IP_3 受容体に対する結合速度の違いを考慮して 2 変数にまで縮約した Hodgkin-Huxley 型方程式を構築した³。

De Young & Keizer モデル、および Li & Rinzel モデルはともに IP_3 受容体を介した Ca^{2+} 振動をよく表し、特に Li & Rinzel モデルは扱いの容易さから Ca^{2+} ダイナミクスモデルを構築する際に多用されている。しかし、上記の仮定の多くは必ずしも実験によって裏付けられておらず、また、これらのモデルが作成された後に明らかとなった実験事実⁴と、いくつかの点で食い違いが見られるようになってきた。講義では、最近の IP_3 受容体の構造機能相関に関する実験データ、およびそれらをもとに新たに構築したモデルを小脳プルキンエ

細胞で観察される棘突起での Ca^{2+} ダイナミクス⁵ に適用した例について紹介したい⁶。

参考文献

1. Bezprozvanny I., Watras J., and Ehrlich B.E.
Bell-shaped calcium-response curves of $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$ - and calcium-gated channels from endoplasmic reticulum of cerebellum
Nature, **351**, 751-754, 1991
2. De Young G., and Keizer J.
A single-pool inositol 1,4,5-trisphosphate-receptor-based model for agonist-stimulated oscillations in Ca^{2+} concentration
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **89**, 9895-9899, 1992
3. Li Y-X., and Rinzel J.
Equations for InsP_3 receptor-mediated $[\text{Ca}^{2+}]_i$ oscillations derived from a detailed kinetic model: A Hodgkin-Huxley like formalism
J. Theor. Biol. **166**, 461-473, 1994
4. Michikawa T., Hirota J., Kawano S., Hiraoka M., Yamada M., Furuichi T., and Mikoshiba K.
Calmodulin mediates calcium-dependent inactivation of the cerebellar type 1 inositol 1,4,5-trisphosphate receptor
Neuron **23**, 799-808, 1999
5. Wang S., Denk W., and Hausser M.
Coincidence detection in single dendritic spines mediated by calcium release
Nat. Neurosci. **3**, 1266-1273, 2000
6. 土居智和, 黒田真也, 道川貴章, 川人光男
小脳プルキンエ細胞への入力タイミングを Ca^{2+} 濃度に変換するシグナル伝達のシミュレーション
信学技報, 102,13-18, NC 2002-21