

「筋肉収縮の理論」への補足

三井利夫*

(2002年5月14日受理)

1. まえおき

2001年の物性若手夏の学校で「筋肉収縮の理論」という講演をし、そのテキストが本誌1月号に掲載された[1]。夏の学校およびその前後にはいろいろと啓発的な意見を聞くことができ、それらをめぐる議論はテキスト理解の一助になるかと思われるので、[1]への補足として述べさせていただきます。

夏の学校では“なぜこの理論が一般に認められないのか”という質問があった。これに対し研究者の持つ先入観の大きさについて触れたが、もう少し具体的に答えることにする。まず現状であるが、講演テキスト[1]はAdv. Biophys.の論説[2]を基本にしており、[2]は米国のJ. theor. Biol.に印刷された論文[3, 4]が基礎になっている。これら論文の読者のコメントはあまり論理的と言えないものが多く、同じコメントが繰り返されるので、編集者は読者の意見は自身の論文で論じるようにということで議論を打ち切りにしてくれた。そのような反論が現われるのをを待っているのが現状である。我々の論文が理解されないのは、次の点に一つの理由があるように思われる。よく知られているように、Yanagida et al. [5]はカニの筋肉を用い、Harada et al. [6]はウサギの筋肉を用い、ATP1分子の加水分解エネルギーあたりのミオシン頭部の運動距離がそれまで考えられていた5~10 nmよりもはるかに長いことを示した。しかしその後単一ミオシン頭部がATP1分子の加水分解エネルギーで5 nm程度しか動かないという欧米の研究者の実験結果が報告され、長距離走行のことはあまり強く主張されなくなったようである。しかし[1]に示したように、我々のモデルでは、ミオシンフィラメントに繋がった多ミオシン頭部の系では長距離走行が自然に導ける一方で、単一ミオシン頭部の短い走行距離も妥当ということになる。これは物理的にはかなり常識的な結論であるが、一般には先入観が邪魔して受け入れ難い考えとなっているようである。

2節では、筋肉中ではATP1分子の加水分解エネルギーでミオシン頭部が長距離走るというYanagida et al. [5]とHarada et al. [6]の主張を支持するめ、彼等のデータを原論文とは異なる立場から解析する。3節では長距離走行を支持する議論が“日本の神秘”などと呼ばれる原因について述べる。4節ではシンクロトン放射による実験データについて論じる。なお、著者名と出版年で引用した論文は[2]の参考文献リストに載っている。

2. 筋肉中のミオシン頭部の運動距離について

収縮中の筋肉のエネルギー放出率とフィラメントの滑り速度が実験で与えられ

*〒665-0875 宝塚市 中筋山手 3-6-24

た場合に、 D/r なる比が[1]の(3)式で計算できる。ここで D は ATP1 分子の加水分解エネルギーが消費される間の頭部の運動距離、 r は収縮中の筋肉の瞬間写真を撮ったと想像したときにアクチンに結合しているミオシン頭部の割合である。同式は少し異なる形で書くと

$$D/r = \varepsilon_{\text{ATP}} NV / (PV + H) \quad (1)$$

となる。ここで ε_{ATP} は ATP の加水分解エネルギー、 N は張力発生に関与するミオシン頭部の数、 V はフィラメント滑りの速度、 P は張力、 H は熱発生率である。Yanagida et al.[5]と Harada et al.[6]の実験では荷重がほとんど 0 なので、(1)式で $P=0$ とおいたものが適用できる。実験データとしてエネルギー放出率とフィラメントの滑り速度が与えられているので、これで D/r を計算できる。しかし(1)式とそれによる計算結果を容易には信じ難いという人もいたので、まず Yanagida et al.[5]と Harada et al.[6]の実験に則して[1]とは違う方法で(1)と等価な D/r の表式を求め、それによって D/r の値を計算することにする。論文[6]のデータからは D や r 自体も推定できるので、その議論を先にする。

2.1 Harada et al.のデータの議論

Harada et al. [6]はウサギの筋肉由来のミオシンフィラメントの“芝生”の上でのアクチンフィラメントの運動を観察した。その結果を議論するために使用する記号をまとめると次のようになる。

N_{MH} : ミオシンフィラメントの芝生で、アクチンフィラメント 1m 当たりの、アクチン分子と結合可能なミオシン頭部の数

t_{D} : ミオシン頭部がアクチンに結合して D だけ走る時間

h_{D} (J/s): 1つのミオシン頭部が D 走る間に ATP エネルギーを消費する速さの平均

V_{F} (m/s): フィラメントの滑り速度

H (J/s): 走行中のアクチンフィラメント 1m あたり、単位時間に放出されるエネルギー

dP_i/dt (分子数/s): H (J/s)を ATP の分子数で表したもの

L_{M} : ミオシンフィラメント上のミオシン分子間の距離

D/r の計算

t_{D} の定義から

$$t_{\text{D}} = D / V_{\text{F}} \quad (2)$$

となる。ミオシン頭部はアクチンに結合している状態および結合する瞬間か解離する瞬間に ATP の加水分解エネルギー ε_{ATP} を消費すると仮定すると、 h_{D} は $\varepsilon_{\text{ATP}} / t_{\text{D}}$ となり、(2)から

$$h_{\text{D}} = \varepsilon_{\text{ATP}} V_{\text{F}} / D \quad (3)$$

を得る。 r はアクチン頭部のミオシンへの結合確率なので、一つのミオシン頭部を長時間 T にわたって観測したとすれば、ATP エネルギーを消費している時間は大体 rT となる。よって T 秒の間に $h_{\text{D}} r T$ のエネルギーが消費され、 T 秒間の平均エネルギー消費速度は $r h_{\text{D}}$ となる。したがって 1m のアクチンフィラメントつまり N_{MH} 個のミオシン頭部によるエネルギー消費速度 H は

$$H = rh_D N_{MH} \quad (4)$$

で与えられる。(3)式を使うと、

$$H = r N_{MH} \varepsilon_{ATP} V_F / D \quad (5)$$

となり、

$$D/r = \varepsilon_{ATP} N_{MH} V_F / H \quad (6)$$

なる関係を得る。これは(1)式で $P=0$ と置いたものと同様である。一方定義から

$$H = \varepsilon_{ATP} dP_i/dt \quad (7)$$

なので、

$$D/r = N_{MH} V_F / (dP_i/dt) \quad (8)$$

となる。ミオシン頭部の周りにアクチン分子がどのように配列しているかがはっきりしないので、 N_{MH} の正確な値を求めるには難しいが、1本のアクチンフィラメントは平均して1本のミオシンフィラメントと相互作用していると仮定し、1 μm (10^3 nm) をミオシンフィラメントの軸投影の周期 $L_M(\text{nm})$ で割り、ミオシン頭部が双頭であることを考慮して2を掛ければおよそその値が得られるであろう。 L_M の値としては Harada et al. が電顕での観察で求めた値 12 nm を使うことにすれば、

$$N_{MH} = 2 \times 10^3 \text{ nm} / 12 = 1.7 \times 10^5 \quad (9)$$

となる。表1には Harada et al. [6] の Table 1 に載っている V_F と dP_i/dt の実験値と(8)と(9)を使って計算した D/r を示す。

表1

温度 (°C)	V_F ($\mu\text{ m/s}$)	dP_i/dt (分子数/s · nm)	D/r (nm)
22	8.3	1.1	1280
30	11.2	5.5	350

D/r の値 1280 nm と 350 nm は概略値であるが、[1]の(4)式で与えたカエルの $P=0, 0^\circ\text{C}$ での値 $D/r = 900 \text{ nm}$ 同様に大きな値である。

r と D の値

Harada et al. の実験では、長さ 40 nm 以下のアクチンフィラメントはミオシンの“芝生”から遊離し、40 nm くらいでは時々停止しながら動くことが観測されている。遊離はアクチンに結合しているミオシン頭部が無い場合に当たり、停止は1個の頭部だけが結合している場合に当たると思われる ([1]参照)。したがって動き廻る 40 nm のアクチンフィラメントには2つもしくは3つくらいミオシン頭部が結合していると想像するのは自然であろう。(9)式を導いたときと同じように考えて、40 nm のミオシンフィラメント上でアクチンと結合可能なミオシン頭部の数を $2 \times 40 / 12 = 6.7$ とすると

$$6.7r = 2 \sim 3 \quad (10)$$

となり、

$$r = 0.30 \sim 0.45 \quad (11)$$

となる。これは[1]で仮定した $r = 0.41$ に近い。この r と表1の D/r を使うと、

$$D = 380 \sim 580 \text{ nm}, \quad 22^\circ\text{C} \quad (12a)$$

三井 利夫

$$D = 110 \sim 160 \text{ nm}, \quad 30^\circ\text{C} \quad (12b)$$

となる。Harada et al.[6]は、上とは別の観点から 22°C で $D > 200 \text{ nm}$ 、 30°C で $D > 60 \text{ nm}$ と結論している。(12)の値はこの結論を支持している。

2.2 Yanagida et al.のデータの議論

Yanagida et al. [5]はカニの筋肉からZ膜を除いて、アクチンフィラメントとミオシンフィラメントの相互滑りが自由に起りうるようにした試料を用いた。2.1節で定義した記号に加え、原論文に沿って次のような記号を用いる。

$\langle N_m \rangle$: 太いフィラメント半分で細いフィラメントと重なっている部分のミオシン分子の数の平均 (ミオシン頭部の数は $2\langle N_m \rangle$ となる。[5]によれば $\langle N_m \rangle$ は 470 個である。)

$2r \langle N_m \rangle$: $2\langle N_m \rangle$ のミオシン頭部のうち同時にアクチンフィラメントに結合し ε_{ATP} を消費中のミオシン頭部の数

V_{ATP} (分子数/s) : 1 個のミオシン分子に割り当てられ ATP 分解速度 [論文ではミオシン 1 mol あたりの ATP 分解速度を mol/s で与えてある]

H (J/s) : 走行中のミオシンフィラメント 1/2 本あたりのエネルギー放出速度

(4), (5)式を導いたときと同様にして、太いフィラメント 1/2 本あたりのエネルギー放出速度 H は

$$H = 2r \langle N_m \rangle h_D = 2r \langle N_m \rangle \varepsilon_{\text{ATP}} V_F / D \quad (13)$$

となる。これを書き直すと

$$D/r = 2 \langle N_m \rangle \varepsilon_{\text{ATP}} V_F / H \quad (14)$$

なる関係を得る。これは(1)式で $P=0$ と置いたものと同等である。一方 H を V_{ATP} (分子数/s) で表すと

$$H = \varepsilon_{\text{ATP}} V_{\text{ATP}} (\text{分子数/s}) \langle N_m \rangle \quad (15)$$

となる。(14) と (15) から

$$D/r = 2V_F / V_{\text{ATP}} (\text{分子数/s}) \quad (16)$$

となる。表2には[5]の Table 1 に載っている V_F ($\mu \text{ m/s}$) と V_{ATP} (molecule/s) の実験値と (16) で計算した D/r を示す。

表2

温度 ($^\circ\text{C}$)	V_F ($\mu \text{ m/s}$)	V_{ATP} (分子数/s)	D/r (nm)
5	5.3	1.0	10600
15	20	4.1	9800

これらの D/r はテキスト[1]で求めたカエルの骨格筋の $P=0, 0^\circ\text{C}$ での値 (900 nm) に比べると 10 倍くらい大きい。その主な原因はZ膜が除かれた結果サルコメアが膨潤し r が減った結果ではないかと思われるが、カニの筋肉はサルコメアが長いから、サルコメア長が大きくなると D が大きくなるという傾向があるのかも知れない。とにかく[5]のデータからは大きな D/r が得られ、 r が極端に小さい値でなければ D が大きいことになる。Yanagida et al. [5]は $D \geq 60 \text{ nm}$ と結論しているが、上の大きな D/r はこの結論を支持している。

2.3 カエルの D の張力依存

(1) 式で計算したカエルの D の P/P_0 依存の計算結果[2]を図1に示す。 P は張力、 P_0 は等尺収縮での P である。(12) 式の 22°C と 30°C の D の値に見られるように、一般に温度が上がるにつれ D は減ることが予想される[2]。図1は 0°C での D であるが、室温ではこの数分の1になる可能性がある。

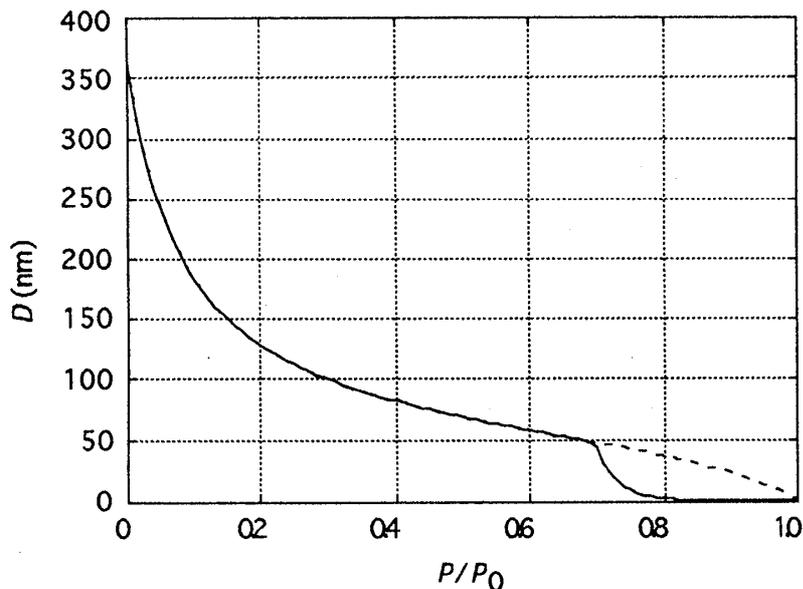


図1。(1) 式で計算した D と P/P_0 の関係[2]。 D ：筋肉中でミオシン頭部がATP 1分子の加水分解エネルギーを使っての走る距離。 P ：張力。 P_0 ：等尺張力。

3. “日本の神秘” などについて

前節で述べたように、ミオシン頭部がミオシンフィラメントに繋がって多体系を形成する場合走行距離が大きくなることに疑う余地がないが、欧米の学者にはこのことは受け入れ難いようである。ここではその理由を考える。欧米の学者は次のことを前提として議論しているように思われる。「蛋白分子では一定の内部エネルギーは一定の分子構造に対応する。内部エネルギーと構造は自発的に変るようなことはなく。内部エネルギーの放出は分子組成の化学的変化か外力のような外的刺激に誘発されて起る。」ATP加水分解によって励起されたミオシン頭部は溶液中に孤立して存在するときは励起状態を長く維持するから、これは妥当な考え方と思われる。

テキスト[1]で述べたように、筋収縮にはアクチンとミオシンという2つの蛋白が関与するので、筋収縮はこれらの蛋白分子の協力的相互作用で起ると考える方が自然である。図2はそのような考えに基づく筋収縮中のエネルギーの流れを示す。ミオシン頭部に蓄えられたギブス自由エネルギー G を四角い容器に溜められた水のように示す。我々のモデルでは収縮中の筋肉でアクチンに結合しているミオシン頭部にはミオシンフィラメントを通しての相互作用力 f_j (j : junction. [1]の図5参照、個々

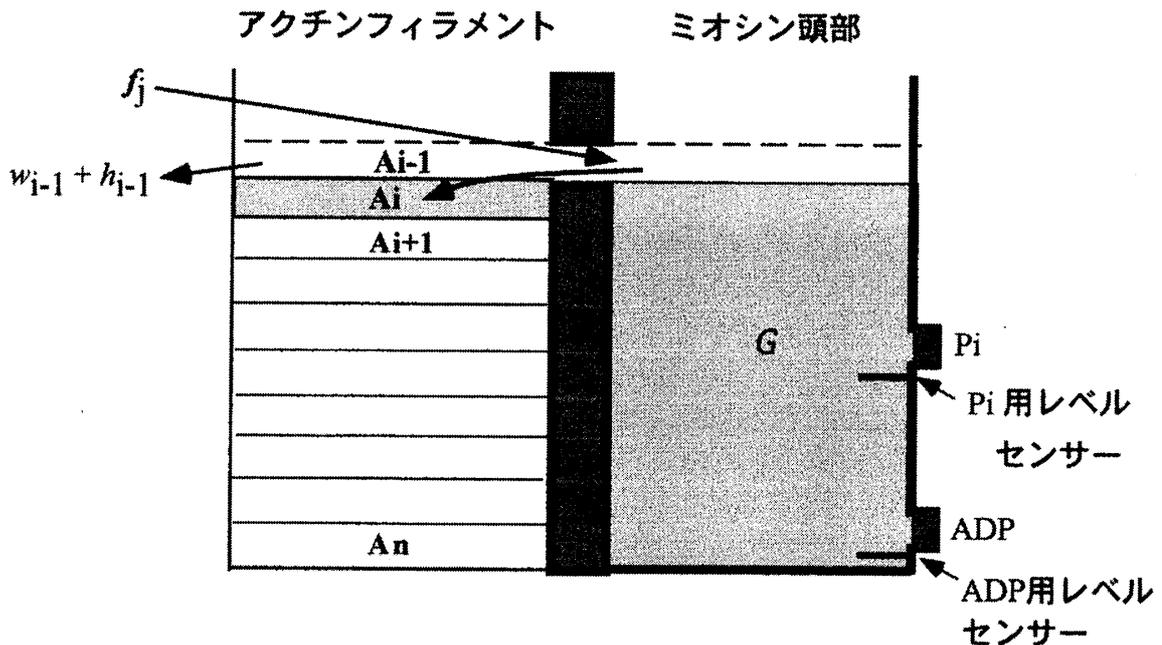


図2. 我々のモデル[1]におけるギブス自由エネルギー G の流れ
([1]の図12を改訂したもの)

の頭部にとって f_j は外力になる) が働く時間があり、それに誘発されて G の一部がアクチン分子に流れ、その一部が力発生に使われる。アクチンフィラメント上のアクチン分子に番号 i を付けて A_i と記し、 A_i を通して放出される G の一部を $w_i + h_i$ と記す。 w_i が張力発生に使われ、 h_i は熱として放出される。図2には A_{i-1} から $w_{i-1} + h_{i-1}$ が放出され、ミオシン頭部に f_j が働き、 f_j に促されて G の一部 ΔG が A_i に流れ込んだところを示す。次の段階では A_i から ΔG が $w_i + h_i$ として放出される。このようなことがアクチン $A_i, A_{i+1}, A_{i+2}, \dots$ と連続して起り、上の前提に反することなく長距離走行が可能となる。このモデルでは P_i と ADP の解離はエネルギー使用には直接関与しないので、図の右側に描いてある。 G が適当な量になるとこれらの解離が起るとし、図では P_i 用レベルセンサーと ADP 用レベルセンサーが G のレベルを感知して P_i と ADP が解離する時期を決めるように描いた。(なお、[1]で述べたように、単一ミオシン頭部の実験では、一般には f_j が働かないのでミオシン頭部は5 nm程度しか動かない。Ishijima et al. (1998)やKitajima et al. (1999)の実験ではミオシン頭部に弱い力が働き5 nmの数倍程度動くものと思われる。)

Huxleyのモデルは此の図の左半分の可能性を考えず右半分だけを考えてモデルと見ることができる。上記前提「内部エネルギーの放出は分子組成の化学的変化か外力のような外的刺激に誘発されて起る。」によれば、このモデルでは G の放出は P_i と ADP の解離と連動する他はない。したがってpower strokeとATP加水分解の1対1対応はほとんど必然的な結論となり、ミオシン頭部の長距離走行はあり得ないこととなる。このようなモデルに囚われて長距離走行を説明しようとすれば、上記前提を

否定する他はないが、これは無理な話のように思われる。欧米の学者がこういった議論を“日本の神秘”と呼んでいるとも聞いた。長距離走行を導くには、上記前提を受け入れた上で図2の左側の機構を考える方が物理的には自然な論理と思われる。

なお、筋肉の研究者から Huxley モデル無謬説といった意見を聞いたことがある。Huxley モデルは“筋肉が収縮する”ということをも分子レベルで言い替えたものであり、誤りのありようがない、といった意味らしい。そうわれれば、power stroke という能動的な働きをする蛋白分子を考えるのは昔精子論者が精子の中に小びとが前成されていると考えたのと似た感じがある。一般に分子機械の研究者の一部には生物機能を担う小びととしての蛋白分子を見つけないかという願望があるような気がする。一機能一酵素説にはそういう面があるのかも知れない。しかし分子機械とは一般に協力系としての超分子システムではないかと思われる。とにかく[1]で論じたように、Huxley の理論が基本のところでは内部矛盾を含んでいることは間違いないことである。

4. シンクロトロン放射を利用した実験結果

シンクロトロン放射を利用して収縮中の筋肉の構造が研究されているが、その結果も我々のモデルを支持している。

4.1 ミオシン頭部のアクチンへの結合の割合 r

張力 P が 0 から P_0 (等尺張力) へと増大するにつれ、Huxley モデルでは r は (0.0056 ~ 0.011) 程度から (0.016 ~ 0.032) 程度に変わる。一方我々のモデルでは r は常に 0.41 程度である ([1] の 2 節参照)。Podolsky et al. (1976) は通常の X 線源を用い、X 線赤道反射の研究から r が P に依存しないことを示した。H. Huxley (1979) や Yagi et al. (1993) はシンクロトロン放射を用いてより正確に r が P に依存しないことを確めた。これに対する Huxley モデルによる説明は、張力発生には関係せず弱くアクチンに結合している頭部がある、といった同語反復のようなものである。我々のモデルでは頭部は結合している以上正か負の力を発生すると考えたが、その方が自然であろう。Huxley が r が P に依存して変ると仮定したのは筋肉の stiffness の P 依存を説明するためであるが、[1] で述べたように、クロスブリッジは構造からみて弾性的に非線形と予想されるから、stiffness の P 依存はクロスブリッジ自体の弾性的非線形性から説明する方が自然であろう。

4.2 張力発生中のミオシン分子の傾き

図 3(a) に図式的に示すように、ミオシン頭部は neck domain と catalytic domain からなる。両者の結合角を θ で表す。ミオシン頭部がアクチンに結合した状態では右に傾いた θ_{eq} で安定で、張力発生に際しては左に傾いた θ から θ_{eq} へと傾きを変える。X 線反射のうち強度が θ に依存して変化するもので比較的測りやすいものとして 14.5 nm 子午線反射がある。Yagi や Wakabayashi ら [7] は張力発生中と硬直状態の筋肉に振動的筋長変化を与えながら、筋長に垂直にシンクロトロン放射からの強い X 線を当て、14.5 nm 子午線反射の積分強度 (以下で $I(14.5)$ と記す) の変化を調べた。図 4 には [7] から引用した $I(14.5)$ の測定結果を示す。(a) は振動的筋長変化、(b) は等尺収縮中の筋肉の $I(14.5)$ の変化で、筋長変化と反位相になっている。(c) は硬直筋の $I(14.5)$ の変化で、筋長変化と同位相となっている。

三井 利夫

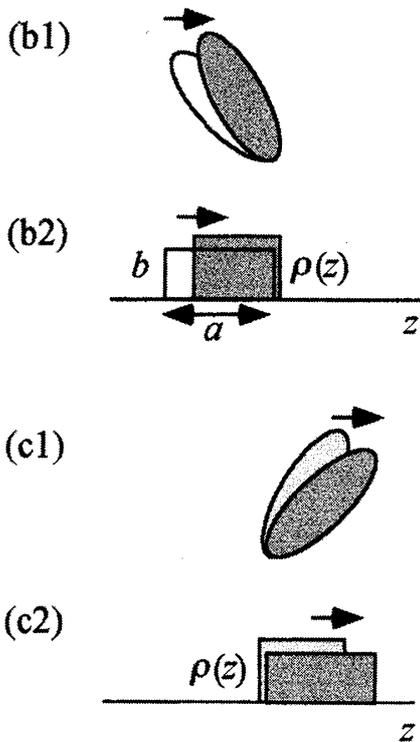
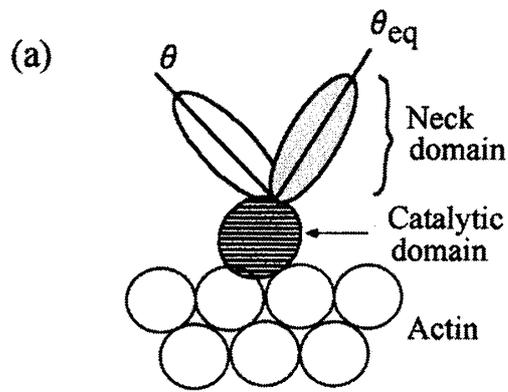


図 3。(a) 張力発生の際にミオシン頭部の neck domain の傾きは θ から θ_{eq} へと変る。(b1), (c1): θ と θ_{eq} で筋長を少し短くしたときの neck domain の傾きの変化。(b2), (c2): neck domain の電子密度のフィラメント軸 (z 軸) への投影 $\rho(z)$ の変化。

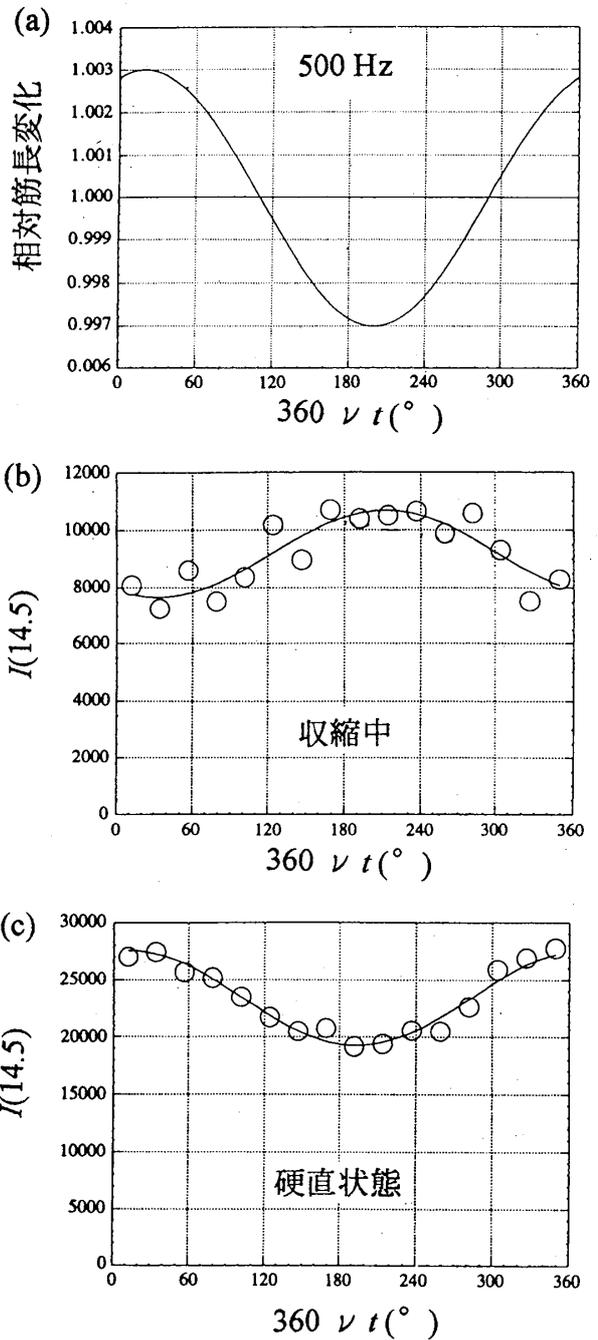


図 4。筋肉の長さを正弦波的に変えたときの X 線積分強度 $I(14.5)$ の変化。横軸は時間 t で、位相 $360 \nu t (^{\circ})$ 、 $\nu = 500 \text{ Hz}$ で与える。(a) 相対筋長変化。(b) 等尺収縮での $I(14.5)$ 。(c) 硬直状態での $I(14.5)$ 。

筋長を少し短くすることは図3でアクチンフィラメントを右に滑らせ neck domain の先端を少し右に動かすことに当たる。図(b1)には左側に傾いた θ での neck domain のこの際の傾きの変化を矢印で示す。(c1)には θ_{eq} での変化を示す。簡単のため neck domain だけを考えることにすると、積分強度 $I(14.5)$ は neck domain の電子密度のフィラメント軸 (z 軸) への投影のフーリエ変換の絶対値の自乗に比例する。neck domain の電子密度の z 軸への投影 $\rho(z)$ を z 軸上幅 a の間で $\rho(z) = b$ 、それ以外の z では 0 となる関数で近似し、(b2)と (c2)に矩形で示す。電子数は同じなので、積 ab は変らない。このような $\rho(z)$ のフーリエ変換は逆空間座標 z^* では $b \sin((a/2)z^*)/z^*$ に比例し、その自乗の z^* での積分は $a^2 b^2$ に比例する。 ab は定数なので、 $I(14.5)$ は b に比例することになる。したがって(b2)で矢印の方に密度投影が変ると $I(14.5)$ は増える。一方(c2)では $I(14.5)$ は減る。

我々のモデルの場合、張力発生中にミオシン頭部は左側の θ から θ_{eq} へと傾きを変える ([1]の図7参照)。強い張力では出発点の θ が大きいので、多くの頭部は左に傾いて(b1), (b2)の状態にあり、筋長が小さくなると $I(14.3)$ は増大する。したがって外力による筋長変化を正弦波で与えた場合は、等尺収縮では反位相となる。一方硬直状態は張力発生後の状態であるから頭部の傾きは θ_{eq} となり、(c1), (c2)からわかるように、 $I(14.3)$ の変化は同位相となる。つまり図4のような観測結果が期待される。Huxley の71年モデルではミオシン頭部が張力を発生するときは、まず急な power stroke を行って、傾きが左側の θ から θ_{eq} に変り、ばね (弾性要素) に張力発生のためのエネルギーを蓄える。この急な回転と弾性要素の仮定は57年モデルの定式化を生かすために必要である。したがって張力発生中の頭部の傾きは大体 θ_{eq} である。よって $I(14.5)$ の変化は等尺張力発生時でも硬直状態でも筋長変化と同位相になり、図4の結果の説明は困難となる。

謝辞

生理研の永山国昭教授と阪大基礎工学部の若林克三教授の有益な議論に感謝する。

文献

1. 三井利夫：物性研究 77 No.4 (2002) 674- 683.
2. T. Mitsui: Adv. Biophys. 36 (1999) 107-158.
3. T, Mitsui and H, Chiba: J.theor. Biol. 182 (1996) 147-159.
4. T. Mitsui, S. Kumagai, H. Chiba, H. Yoshimura, and H. Ohshima: J.theor.Biol. 192 (1998) 35-41.
5. T. Yanagida, T. Arata and F. Oosawa: Nature 316 (1985) 366-369.
6. Y. Harada et al.: J. Mol. Biol. 216 (1990) 49-68.
7. N.Yagi et al. : J.Synchrotron Rad. 3 (1996) 305-312.