

連載講座

細胞の完全理解は可能か？—生物物理学的視点からの問い
(第3回)

細胞空間のリアルとナゼ

市川 一寿

Key words : 実細胞空間, 空間伝搬, 反応の場, 量と濃度, 空間蓄積

1945年に電子顕微鏡による細胞観察が報告され、その後次々と細胞構造が明らかになっていった。しかし、その直後からこれを凌ぐスピードで発展してきたのが分子生物学であった¹⁾。それはあまりにも速くて大きく、細胞構造が置き去りになった感すらある。この状況は、細胞構造との関連で、分子とその相互作用を考えることに意識が向きにくいことに端的に現れる^{*1)}。

しかし、細胞の化学反応は試験管のような均一空間での反応ではなく、複雑な構造を有する非均一空間での反応である。この当然すぎる事実が、このまま意識外に置かれ続けてよいはずがない。最大の問題は、どう重要なのか、なぜ重要なのかをはっきりしないことにあり、この状況では議論が進まないのは当然である。そこで連載第3回では、多少なりともこの問題の糸口を見いだすべく、細胞空間を考える。

I マウス肝細胞の実細胞空間

まず、細胞内空間全体の高解像度画像を示す。教科書に掲載されている細胞の図は極端にデフォルメされていてリアルな細胞構造が伝わらない。一方、電子顕微鏡写真は一部の拡大であり、局所構造を詳細にみることはできても、それを全体のなかに位置づけることができず、やはりリアルな全体像が伝わらない。これはどちらも無理はなく、そもそも細胞は三次元の複雑な構造体であ

り、それを二次元で表現することが困難であるだけでなく、オルガネラの形が不定形で多岐にわたり、かつ大きさが4桁(数nm~10 μ m以上)の範囲に及び、しかもそれらが高密度に細胞内にパッキングされている非常に複雑な実体として存在することが原因である。この問題は最後に改めて触れるが、まずはマウス生体肝細胞全体の高精細画像を図1Aに示す(赤い曲線は細胞境界)。

これはマウスの肝臓から厚さ50nmの連続切片約500枚を作製し、走査電子顕微鏡(scanning electron microscope; SEM)で撮像した250枚目(ほぼ細胞の厚さ方向の真ん中)で、細胞は一辺30 μ m程度の直方体中に納まる大きさである^{*2)}。画像全体の画素数は3,072 $\times$ 2,304であり、1画素の大きさは14nm $\times$ 14nmである。まず、ひとことと言えば複雑である。様々な形、様々な大きさの、不定形なオルガネラがごちゃごちゃと混雑している。核膜を注意深く観察するとランダムに配置されている複数の核膜孔が見える(その1つを青色矢頭で示す)。核膜孔の直径は45nm程度なので、画素約3個分である。ミトコンドリア(緑色)、小胞体(黄色)、ゴルジ体(紫色)、脂肪滴(橙色)、ペルオキシソーム(水色)、ファゴソーム(赤色)、ライソソーム(茶色)の代表も矢頭で示した。

3D的にオルガネラの微細構造をみるために、図1A白色破線内の前後11枚の画像から、核(青色輪郭)、ミトコンドリア(緑色輪郭)、小胞体(灰

True intracellular space and its role in cell functions

Ichikawa Kazuhisa : 株式会社 True Cell Simulations (〒107-0062 東京都港区南青山2-2-15 WIN 青山531)

0370-9531/06/¥500/論文/JCOPY

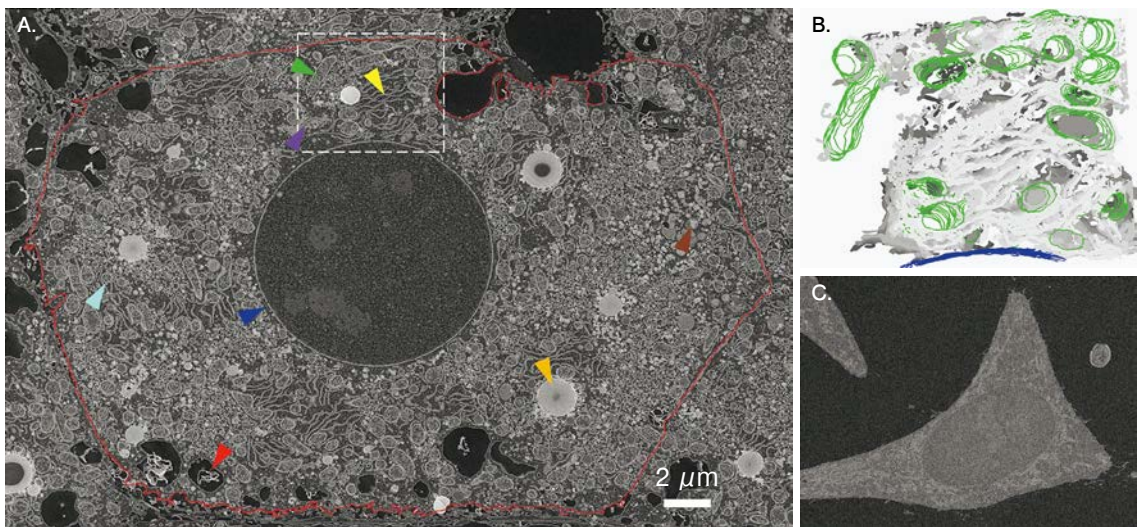


図 1 実細胞空間

- A. 約 500 枚のマウス生体肝細胞の連続切片 (厚さ 50 nm) の中央付近の 1 枚の SEM 画像。オルガネラで非常に混雑している。オルガネラの代表を矢頭で示す (青色：核膜孔, 緑色：ミトコンドリア, 黄色：小胞体, 紫色：ゴルジ体, 橙色：脂肪滴, 水色：ペルオキシソーム, 赤色：ファゴソーム, 茶色：ライソソーム)。
- B. A の破線領域の前後 11 枚の重ね合わせ (灰色：小胞体, 緑色：ミトコンドリア, 青色：核)
- C. HeLa 細胞切片の SEM 画像。A の生体肝細胞に比べて非常にスカスカである。

色塗りつぶし)を描画し, その重ね合わせを図 1B に示す。小胞体の局所的な形態変化が特に著しく, 50 nm を隔てるだけで外形が大きく変化していることがわかる。

図 1A は生体中の細胞であるが, 培養系細胞はこれとどう違うだろうか。図 1C に二次元培養した HeLa 細胞の, 同じく連続切片の真ん中あたりの画像を示す。切片枚数から計算される細胞全体の厚さは, 図 1A 生体内肝細胞の 5 分の 1 程度である。電子顕微鏡が異なるので正確な比較はできないが, 図 1A と比べると驚くほど細胞内構造が単純で, スカスカとも言える状況である。そのうえ, オルガネラは核周辺部には存在するが細胞周辺部ではごく少ない。核の形も楕円形で (二次元培養のために細胞全体が扁平になっていることが大きな原因であろう), 突起もある^{*3)}。

このように, 生体中の細胞は培養系の細胞に比

べて細胞内構造がはるかに密集していて複雑かつ豊富である。核の形も球形である。しかし, 培養系細胞では核の形が生体細胞から乖離してクロマチンの諸状態の違いを誘因し, 遺伝子発現に影響するのではないかという懸念は杞憂であろうか。細胞実験では培養系細胞が多用されるが, 図 1 に示すように, 生体細胞との構造の違いが実験に影響を与える可能性が気になる。

II 実細胞空間における信号伝搬

図 1A のようにオルガネラで込み入った細胞における信号伝搬はどのようなものであろうか? ごく単純な例として, 図 1A の核, ミトコンドリア, 小胞体, ゴルジ体, 脂肪滴, ペルオキシソーム, ファゴソーム, ライソソームを含む細胞内空間で, 細胞膜直下で活性化された分子の拡散をシミュレーションする。シミュレーションは簡単

* 1) 筆者が専門とする分子細胞生物シミュレーションでも空間を含めた研究は非常に少なく, 加えて 2009 年 Science の特集 "Spatial Cell Biology"^{2,3)} もほとんど注目されなかった。近年は改善に向かっているとの見解もある。

* 2) 試料作製と SEM 画像の取得は, 東京大学医科学研究所の相良洋博士のご尽力による。

* 3) 図は示さないが, このような特徴は培養系細胞のマウス胎児線維芽細胞でも同じで, 二次元培養系細胞に共通していると思われる。

で、細胞外からの刺激によって細胞膜直下の可溶性タンパク質が面密度 $1 \mu\text{M}/\mu\text{m}^2/\text{s}$ の割合で活性化され、オルガネラで混雑する細胞内をどの程度拡散するかを調べた。拡散シミュレーションはオルガネラを拡散障壁とし、約 500 万の画素を拡散の単位領域として行った。

その結果、活性化 5 秒後では核にはほとんど到達せず、細胞内の最も高濃度な画素でも 20 nM 以下であった(図 2)。拡散による信号伝搬が遅いことは議論されていたが、想像以上である。5 秒間のシミュレーションなので断定はできないが、これでは細胞外刺激による信号が核周辺まで届かず、遺伝子発現には至らないと予想される^{*4)}。しかし、これは実験とは一致しない。どう考えるべきであろうか。

III 実細胞内での信号伝搬

1. 障害物それとも促進装置？

通常、オルガネラは分子やイオンによる信号伝搬の障害物として捉えられる。しかし、むしろ伝搬を促進する装置として働く可能性はないだろうか？ 図 1 をみると、細胞膜から核までの細胞質はオルガネラによって非定型区画に細かく区切られている^{*5)}。これだけみれば拡散の障害物だが、非定型区画は相互につながり、分子が漏れ出す。仮に活性化の各段階の分子が非定型区画に配置されていれば、オルガネラで区切られた非定型区画には前段階の活性化分子が貯留して次段階の分子が活性化され、次の区画に漏れ出す。これが繰り返されてリレー活性伝搬が行われれば、促進装置として働く可能性があるのではないだろうか？

これを単純化した一次元シミュレーションで検討してみよう。細胞膜から核に至る長さ $15 \mu\text{m}$ 、断面 $1 \mu\text{m} \times 1 \mu\text{m}$ の直方体空間を考え、核に向かって 21 個のコンパートメント(小区画)に分割して拡散を離散化して計算する(図 3)。更に複数のコンパートメントをまとめて 0-4 の 5 領域にグ

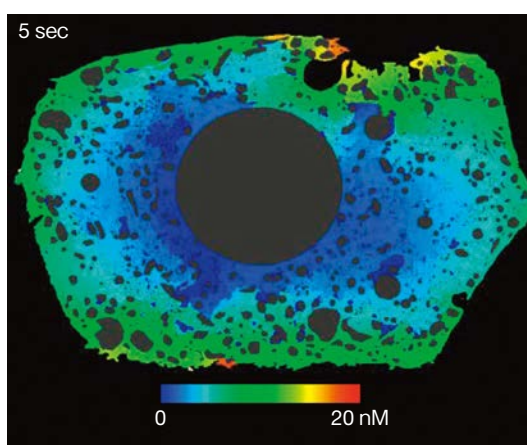


図 2 図 1 の実細胞空間における細胞膜直下で活性化された分子の伝搬
非常に低濃度のままであることに注意

ループ化し、領域 0 の左端のコンパートメントで分子 A を継続的に活性化させる。各領域の境界コンパートメントは次領域と重なっており、それを B, C, D, E の 4 種の分子の活性化領域とする(4 回のリレー活性伝搬)。各活性化領域前の分子はそれ以降へは拡散できず、活性化領域中で活性化された分子は次の活性化領域まで拡散できるとした。これを、図 2 で行ったような単なる拡散伝搬と比較する^{*6)}。

シミュレーション結果は図 3 に示すとおりで、リレー活性伝搬(赤色線)では単なる拡散伝搬(黒色線)よりはるかに速く信号が最終コンパートメントに到達する。オルガネラが細胞内を領域分割した結果、リレー分子が境界コンパートメントで迅速に活性化されて次に拡散し、これが B~E で繰り返され、はるかに速い信号伝搬が行われたのである。このように拡散伝搬は遅いが、局所に存在する分子のリレー活性伝搬は、はるかに速く信号を空間伝搬する。すなわち、オルガネラは信号伝搬の促進装置として働き得るのである。

2. 全空間活性伝搬による速い伝搬

次に考えるべきは、全空間の至るところで活性伝搬が生じるケースである(全空間活性伝搬)。

* 4) 3D の実細胞に対してシミュレーションは 2D であるが、この状況は 3D ではより深刻であると推察される。

* 5) このことは、教科書のデフォルメされた図や電子顕微鏡の局所拡大像では思い至ることができないだろう。

* 6) モデル構築とシミュレーションは、A-Cell ソフトウェアを用いた(<https://tc-simulations.com/homepage/a-cell/>)。

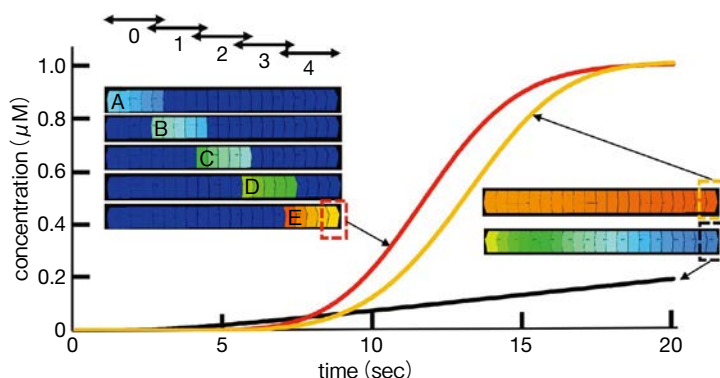


図 3 細胞質における可溶性分子のリレーによる信号伝搬の促進

細胞膜から核に至る 1D 空間を 5 領域に分割し、各領域で A~E の分子活性化が生じるリレー活性伝搬の場合 (赤色線)、全空間で活性化が生じた場合 (橙色線)、細胞膜直下でのみ分子活性化が生じた場合 (黒色線)。リレー活性伝搬や全空間活性化伝搬は、はるかに素早く信号が伝搬する。

これは細胞内空間のあらゆるところでリレー活性化が生じることに相当する。シミュレーションは簡単で、活性伝搬に関わるすべての分子を全コンパートメントに割り付ければよい。結果は図 3 の橙色線で示すとおりで、やはり拡散伝搬よりはるかに速く信号が伝搬する。しかし、リレー活性伝搬と全空間活性化伝搬には違いがある。第一に、リレー活性伝搬ではオルガネラがより積極的に伝搬速さの制御を行い得る。第二に、必要な総分子量が全空間活性化伝搬より少ない (図 3 の例では 4 分の 1)。

以上の簡単な検討から、細胞における信号伝搬では空間を意識することが重要であることが明らかになる。なぜなら、空間の構造が信号伝搬に強く影響し、かつ複数のタンパク質の多段階活性化は従来言われていた活性分子数の増幅だけでなく、迅速な伝搬にも必要であることが理解できるからである^{*7)}。

IV 細胞における反応の場

細胞の生化学反応は、細胞質でも、細胞膜でも、アクチン線維や微小管、DNA 上でも進行する。空間次元で考えれば、細胞質中の分子間反応

は 3D、細胞膜上は 2D、アクチン線維、微小管、DNA 上は 1D ということになる^{*8)}。これにタンパク質複合体中での反応も付け加えるべきで、本稿の粒度では点反応 (0D) とみなせる。では、なぜ細胞はこのような次元が異なる反応の場を利用するのであろうか？ これを、反応の速さという点から考える。

まず、水分子の存在に関わる視点である。水溶性タンパク質は水分子によって水和状態にあるので、2つのタンパク質が反応するためには、それぞれを取り囲む水分子を排除する必要がある、このために多くのエネルギーを必要とする^{*9)}。ピアコアなどで分子間相互作用の測定に詳しい研究者には周知のことであろうが、タンパク質間の結合速度定数は $10^6/\text{M}/\text{s}$ 程度が多い。論文で報告されている値も同様で、これは可溶性分子の水和の結果と推察される。膜系での反応やタンパク質複合体中での反応はこの水和の影響が排除できるため、はるかに速く進むであろう。

一方、反応の空間次元そのものの効果も考える必要がある。水溶液中の 3D の反応と膜の 2D の反応では、2D の反応のほうが速く進みそうである。これを定量的に評価するためには分子の混雑

* 7) このような簡単な検討でも、核への効率的で迅速な信号伝搬メカニズムの可能性を示せることは、シミュレーションが細胞の疑問に応えることができる有効なツールであることの証左である。

* 8) もちろん、3D-2D や 3D-1D 間の反応も存在する。

* 9) 無機分子を対象にした実験であるが、真空中の反応速度は水中の 10^{15} 倍も速いとされる⁴⁾。

度(3Dでは濃度, 2Dでは面密度)を等しくしなければならない。そこで, 次元が異なっても比較できる分子間距離を指標にして, 単位時間内の分子衝突回数を確率論的粒子シミュレーションで比較した^{*10)}。結果を図4に示す。

縦軸は2Dと3Dでの単位時間当たりの衝突回数の比(N_{c2D}/N_{c3D}), 横軸は3D空間での混雑度(濃度)で, 2Dでは3Dと同じ平均分子間距離になるように面密度を設定してシミュレーションした。赤い破線は $N_{c2D}/N_{c3D}=1$, すなわち2Dと3Dでの単位時間内衝突回数が等しい状況を示す。図4は10回のシミュレーションの平均である(SD図示せず)。

まず3D濃度が100 μM 以下では2Dでの衝突回数が3Dより多く, 3D濃度が低くなるほどその差が広がる。これは, 2Dでは次元低減の結果として粒子の動きに制限がかかり, 探索効率が上昇したためである。細胞質中でのタンパク質の濃度としてイメージされる0.1-1 μM では, 2Dは3Dの20倍以上の衝突回数である。すなわち, この領域では分子間距離が同じなら3Dより2Dでの反応が速く進み, 低濃度ほどその差は大きい。

このように, 膜タンパク質の反応は次元低減効果により, また膜貫通タンパク質の膜貫通部分間の反応と, タンパク質複合体中での反応は次元低減効果と水和の排除の両方の効果により, 反応が速く進むと考えられる。ミトコンドリア内膜の電子伝達系におけるキノンと複合体I, II, IIIとの反応では, この効果が生まれていると考えられる。

V 細胞空間は細胞機能にどう影響するか？

ここまで実細胞空間でのオルガネラの混雑の問題, 反応における水和の問題, 空間次元の問題といった基本的な生物物理的条件を, 伝搬と反応の速さの点で検討した。しかし, 考慮すべき条件はまだある。以下に, 濃度と量の問題, および空間蓄積の問題を例で示す。

1. 濃度ではなく量(がん浸潤の例)

がん細胞は, 細胞外マトリックス(extracellu-

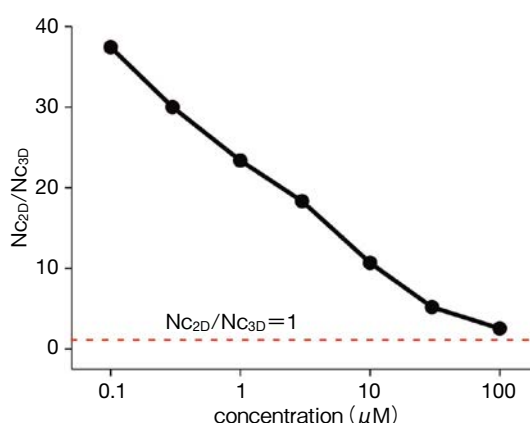


図4 同じ平均分子間距離での2D(膜面)と3D(細胞質)の分子衝突頻度の比

2Dの分子間距離は, 対応する3D濃度の分子間距離と一致させた。

lar matrix:ECM)を分解する酵素を高発現する浸潤突起を伸ばして周囲のECMを分解し, 遊走スペースをつくり出して浸潤する。浸潤突起は, それよりはるかに広大な細胞外空間に囲まれていることに留意して, ECMの分解をシミュレーションで検討しよう^{5,6)}。

細胞膜に発現してECMを分解する酵素MT1-MMP, それを阻害する細胞外タンパク質TIMP-2, MT1-MMPとTIMP-2で活性化する可溶性ECM分解タンパク質MMP-2のパスウェイモデルを構築し(図5A左), 実験に合致するECM分解のシミュレーション結果を得た(図5B黒色線)。そこでこれを3D空間モデルに拡張し, 実験(図5A右)に即して浸潤突起部分とその周辺を含めた3D形態モデルの対応領域にそれぞれのパスウェイを割り付け(図5A中), 4D(時空間)シミュレーションを行った。ところが, 同じ反応パラメーターであるにもかかわらず, ECMはほとんど分解されなかった(図5B青色線)。この単純なコンセプトに基づいて現実を反映したモデル拡張は, 実験との大きな乖離を生んだのである。

これはなぜか? 詳細は論文に譲って要点だけをまとめれば, TIMP-2は拡散するためMT1-MMPの存在領域よりはるかに大きな周辺領域か

* 10) A-Cell ソフトウェアの粒子シミュレーション(stochastic シミュレーション)パッケージを用いた。

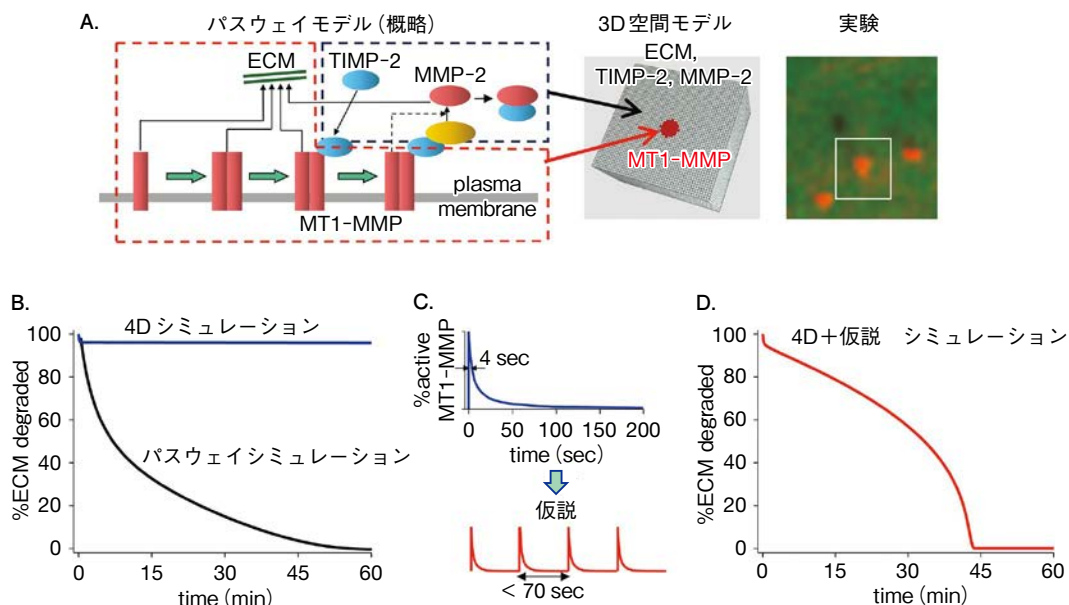


図 5 がんの浸潤における ECM 分解酵素 MT1-MMP の空間制御

- A. パスウェイモデル (左) と 3D 細胞モデルへの割り付け (中), および実際の実験 (右, 橙色部分が MT1-MMP の発現領域)
- B. パスウェイシミュレーション (黒色線) と 4D シミュレーション (青色線) 結果。全く同じ反応パラメーターにもかかわらず, 4D シミュレーションでは ECM が分解されない。
- C. 4D シミュレーションでは, 4 秒という短時間に MT1-MMP 活性が失われる。実験に一致する ECM 分解を 4D シミュレーションで得るためには, 周期 70 秒以下の MT1-MMP の繰り返し活性化が必要 (予言)
- D. 予言に基づく 4D シミュレーションでは ECM が分解される。

ら補充され, その結果として, MT1-MMP の活性が急速 (4 秒) に落ちることが原因である (図 5C 青色線)。パスウェイシミュレーションは濃度だけに注目したシミュレーションであるために補充はなく, MT1-MMP との相互作用の結果 TIMP-2 濃度が減少し, 相対的に MT1-MMP の ECM 分解活性が保たれたのである。しかし, 仮に MT1-MMP が繰り返し活性化されれば ECM は分解されるはずで (仮説, 図 5C 赤色線), 予想どおりの結果を得た (図 5D 赤色線)。

これはメカニズムとしてはごく簡単であるが, 細胞を考えるとときに見落としがちなのは, 濃度ではなく量に注目すべき場合があることを指摘する。なお, シミュレーションでは繰り返し活性化の間隔が 70 秒以下でなければならないことが予言され (図 5C 下), 複数のラボによる異なる対象の異なる実験で, これが確認された⁷⁾。

2. リザーバーとしての細胞質 (NF- κ B による遺伝子発現の例)

転写因子 NF- κ B は, TNF- α 受容体 $\rightarrow$ TRAF $\rightarrow$ TAK1/MEKK3 $\rightarrow$ IKK $\rightarrow$ NF- κ B $\rightarrow$ NF- κ B 核という多段階経路で核移行し, NF- κ B の抑制タンパク質 I κ B をはじめとする多くの遺伝子発現に関わり (図 6A 左), NF- κ B は細胞質と核の間で逆位相の振動をする。このパスウェイシミュレーションは報告されていたが⁸⁾, 細胞質, 核膜, 核内のそれぞれに対応するパスウェイをそれぞれに対応する空間に割り付けた細胞内 3D 空間モデルを構築して 4D シミュレーションを行い, NF- κ B の振動を再現した (図 6A 中, 右)。

一方, オルガネラの配置は細胞環境によってダイナミックに変化する。例えばミトコンドリアは, 細胞の低酸素状況では核周辺に凝集するため⁹⁾, NF- κ B をはじめとするタンパク質の拡散による移動に変化を生じることが予想された。そこで, モデル中の可溶性タンパク質の拡散定数を

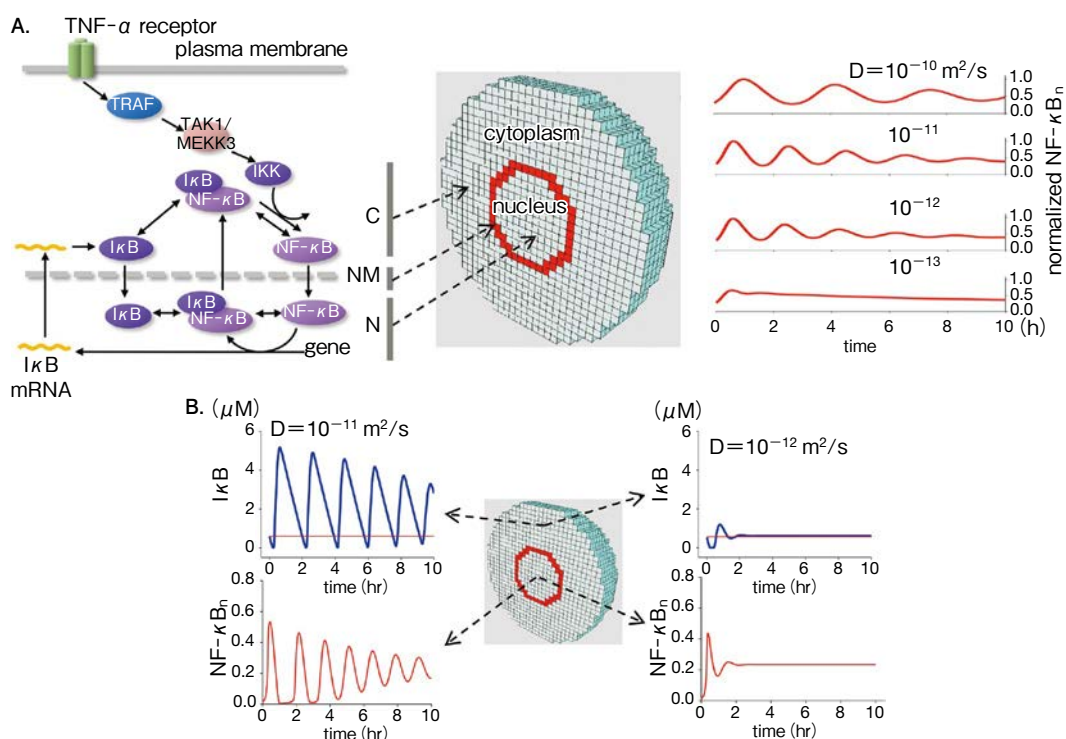


図 6 転写因子 NF-κB の細胞質-核間移行振動の 4D シミュレーション

A. パスウェイモデル (左) と 3D 細胞モデルへの割り付け (中), および拡散定数の変化による振動の変化 (右)

B. IκB の拡散定数, すなわち核周辺へのオルガネラの凝集度の変化が IκB の細胞質内の貯留を変化させ (左右の青色線を比較), その結果 NF-κB の振動が変化する (左右の赤色線を比較)。

変化させてシミュレーションを行うと, 拡散定数の違い (すなわちオルガネラの核周辺への凝集度合の違い) で, NF-κB の振動パターンが大きく変化した (図 6A 右)。

この原因を探るため, IκB の拡散定数だけ 1 桁小さくしてシミュレーションした。すると他の拡散定数に変化がないにもかかわらず, NF-κB の振動がダンプした (図 6B 右下の赤色線)。そこで細胞周辺領域の IκB の濃度を比較すると, 拡散定数が小さい場合にはピーク濃度が非常に低いことが判明した (図 6B 左上の青色線)。IκB は核外の翻訳で合成されるが, NF-κB を抑制するためには, それに相当する量が核移行する必要がある。そのためには, 核から離れた細胞内領域に IκB を蓄え, その後遅れて核内移行しなければならないが, 小さい拡散定数では十分量の IκB が細胞質内に蓄えられなかったのである。すなわち, 細胞質は遺伝子発現制御に重要なタンパク質

のリザーバーとして機能しており, その能力を核周辺へのオルガネラの凝集度が制御するのである^{10,11)}。NF-κB の振動パターンは発現遺伝子を制御するとの報告があるが¹²⁾, この結果はオルガネラの凝集度が遺伝子発現を制御する重要な機能を担っていることを強く示唆する。このことは, 再び, 図 1C のようにオルガネラが核周辺に集まっている培養細胞での遺伝子発現と生体細胞との差に杞憂を生じさせる。

おわりに

分子細胞生物学において細胞空間を意識する糸口として, 4つのトピックス (オルガネラによる信号伝搬の促進, 水和の排除と空間次元低減による信号伝搬の促進, 濃度ではなく量の重要さ, 細胞内空間のリザーバーとしての役割) を議論した。しかし, これらは全体のごく一部にすぎない。例えば, オルガネラ間の近接領域 (membrane con-

tact sites ; MCS) で分子交換を行うネットワークが形成されるが、それが細胞機能との関連で議論されている¹³⁾。今後、細胞空間と分子動態を1つの枠組みで捉えることが進めば、細胞理解が更に深化するに違いない。

そのためには、教育現場が伝える細胞のイメージは重要である。冒頭に述べたとおり、イラストや画像では十分な理解に至らない。図 1A のような連続画像を 3D 再構成してムービー表示したり、使用者自ら拡大、縮小、任意断面化、自由ナビゲーションなどが行えるシステムを提供すれば大いに役立つと思うのだが、いかがであろうか。

●文 献

- 1) 市川一寿 : 生体の科学. 77 : 90-96, 2026
- 2) Hurtley S : *Science*. 326 : 1205, 2009
- 3) Chang HY : *Science*. 326 : 1206-1207, 2009
- 4) McIver RT Jr : *Sci Am*. 243 : 186-196, 1980
- 5) Hoshino D, Koshikawa N, Suzuki T et al : *PLoS Comp Biol*. 8 : e1002479, 2012
- 6) Watanabe A, Hoshino D, Koshikawa N et al : *PLoS Comp Biol*. 9 : e1003086, 2013
- 7) Hagedorn EJ, Kelley LC, Naegeli KM et al : *J Cell Biol*. 204 : 1209-1218, 2014
- 8) Hoffmann A, Levchenko A, Scott ML, Baltimore D : *Science*. 298 : 1241-1245, 2002
- 9) Al-Mehdi AB, Pastukh VM, Swiger BM et al : *Sci Signal*. 5 : ra47, 2012
- 10) Ohshima D, Inoue J, Ichikawa K : *PLoS One*. 7 : e46911, 2012
- 11) Ohshima D, Ichikawa K : *PLoS One*. 10 : e0127633, 2015
- 12) Ashall L, Horton CA, Nelson DE et al : *Science*. 324 : 242-246, 2009
- 13) Cheng AY, Simmonds AJ : *Genome*. 68 : 1-12, 2025