

Vision

トロポニン発見40周年記念シンポジウム

九州大学大学院医学研究院薬理学講座臨床薬理学分野

大槻 磐 男

江橋節郎先生が筋収縮に關与するカルシウム調節タンパク質トロポニンを発見されたのは1965年のことであり、その後の筋収縮調節研究がこの蛋白質を中心に発展を遂げてきたのは周知の通りである。昨年の秋（2005年の10月25—28日）には、岡崎コンフェレンスセンターにおいてトロポニン発見40周年記念国際シンポジウム“筋収縮の調節蛋白質—構造と機能および疾患—”が開催された。このシンポジウムでは、トロポニン研究発展の経過をまとめるとともに、最近特に進歩が著しい構造生物学および医学的な側面に焦点を当てて講演と活発な討論が行われた。またミオシン連関調節、興奮収縮連関と疾患、生筋X線回折、モータータンパク質、などの筋収縮関連分野の代表的な研究者による講演も行われた。

江橋先生が筋収縮研究を志したきっかけは、戦後まもなく出版されたセントジョルジの著書“Chemistry of Muscle Contraction”を読み感激したことにあつたと伺っている。この中に描かれている筋収縮タンパク質のミオシンとアクチンが織り成す動的な世界は、この基本的な生命機能が確固とした分子的な基礎に基くことをはっきりと示していた。これに触発された先生は収縮に次いで起こる弛緩過程に焦点をあてて生化学的な研究を進め、筋肉からグリセリン筋の弛緩を引き起こす弛緩因子画分を分離することに成功したのである（1955年）。その後、先生は米国のロックフェラー大学のリップマン教授の研究室に留学し、当

地で最新の機器を使って弛緩因子がATP存在下でCaイオンを取り込む性質を持つことを見出した。同時にこの因子が筋小胞体であることもパラディ教授によって電子顕微鏡的に証明されている（1962年）。またCaの作用の確立に大きな役割を果たしたのものとして、種々のキレート試薬の弛緩効果の検討を挙げる事が出来る。グリセリン筋の弛緩がキレート試薬のCa結合強度によく平行するという所見は、弛緩因子のCa取り込みこそが生理的な弛緩に他ならないことを強く指示していた（1960年）。これらの所見から先生は興奮収縮連関の最終的な因子がCaイオンであると結論された。

さらに収縮系に対するCaの効果については、江橋先生は天然アクトミオシンの超沈殿を用いてCaが収縮反応を活性化することを見出した。しかしながら1962年に米国で行われた筋収縮の国際会議では、このCaの収縮活性化作用は広く認知されるどころとはならなかった。当時精製したアクトミオシンがCa感受性を示さないことがわかってこれが大きな障害として立ちばだったのである。闘志を掻き立てられた先生はこの原因が精製過程でのアクチンの不活化にあると考えて、活性アクチンの調製法の検討を開始したが、まもなくミオシン、アクチン以外のタンパク因子がCa感受性に關与するというまったく予想外の結論に到達したのである（1963年）。このタンパク因子は従来存在は知られていたが作用が不明で

あった筋肉蛋白質トロポミオシンに性質が似ていたため、その活性型と考えて活性トロポミオシンと呼ばれた。その後この因子からトロポミオシンが分離されたほか、新しいタンパク質が発見されてトロポニンと名付けられた（1965年）。生体機能におけるCa受容タンパク質のはじめての報告であった。

かくしてそれまでミオシン・アクチンとスライド説を中心に動いていた筋収縮研究の領域が一挙に広がり、この時点で生きた筋肉の分子生物学の新しい時代が始まったと言って過言でない。筆者が関与した構造面では筋肉のアクチンフィラメント上にトロポニンが見事な周期性を持って分布することが判明し（1967年）、カルシウム-トロポニン・トロポミオシン系の作用を説明する細いフィラメントの分子構造を提出している（1969年）。これらの1960年代に行われた一連の成果によって現在の筋収縮カルシウム調節機構の基礎が確立されたことは周知の通りである。

その後の研究によってトロポニンは三成分で構成される複合蛋白質であることが判明し、さまざまな角度から検討が続けられてきた。最近では、ヒト心筋のトロポニン複合体のコアドメイン構造の結晶構造解析が我国で行われ（2003年）、引き続き骨格筋について同様の結果（2005年）が報告されて構造生物学的な基盤が構築された。機能性複合タンパク質研究の典型的な例として今後大きく研究の進展が見込まれる状況になってきている。シンポジウムでもカルシウムによるトロポニン複合体内部の相互作用と構造の変化などの問題について、結晶解析のほかNMRなどの構造研究の最近の知見が討論された。

長い間不明の状態が続いていたトロポニンの医学的な側面については、1990年代初頭から心臓の難病の家族性心筋症を引き起こすトロポニン遺伝子異常が相次いで見出され始めて、わが国を始めとして各国で系統的な機能解析が行われて発症の鍵を握るカルシウム調節機構の異常が解明されてきた。従来判明していた肥大型と拡張型心筋症に加えて、新たに拘束型心筋症を引き起こすトロポニンI遺伝子異常も見出され（2003年）、膨大

な解析結果が蓄積されてきている。拡張型心筋症を引き起こすトロポニンT変異ノックインマウスも最近作成されている。なお崩壊した心筋細胞から血中に流出してくるトロポニンを免疫化学的に検出する方法は、心筋障害に対する最も鋭敏な診断法である。心筋トロポニンアイソフォームに対する特異的モノクローン抗体を用いるこの方法は、特に急性心筋梗塞の診断に必須の手法として臨床医学において日常的なものとなっている。これらの医学的な問題は従来筋収縮の会合では取り上げられなかったこともあり今回のシンポジウムでも大きな反響を呼び活発な討論が繰り広げられた。

現在、トロポニンの機能蛋白質としての新しい研究領域が国際的に展開されつつあり、構造生物学を基礎とした分子的な生理学から病態生理と医学につながる側面が大きく進展する状況になってきている。トロポニンの発見された1965年は、奇しくもわが国ではじめて国際生理学会が開催された年でもある。わが国で生まれ発展してきた筋収縮カルシウム調節機構の分子レベルの生理学とその医学的な領域が、再び我国において国際的にまとめられることを期待したい。

追記：

7月17日早朝に、江橋節郎先生が亡くなられた。享年83歳。2000年に脳梗塞で左半身と言葉が不自由になり、以来療養を続けていらっしやっただが、昨年のシンポジウムでは会場にいらっしやって旧知の方々と再会を楽しまれるまで回復してきていた。会のなかばのトロポニン発見40周年祝賀の席でなされたゆっくりとではあるものの往年を彷彿とさせる英語のスピーチは満場の感動を誘う素晴らしいものであった。その後、先生は見違えるように回復してこられて会議録の出版を心待ちにされていた。この秋には出版される予定であっただけに突然のご逝去が残念でならない。

ここで編集部からのお勧めもあり、トロポニン研究の初期の頃の江橋先生の思い出を多少個人的なことも交えて付け加えておくことにしたい。

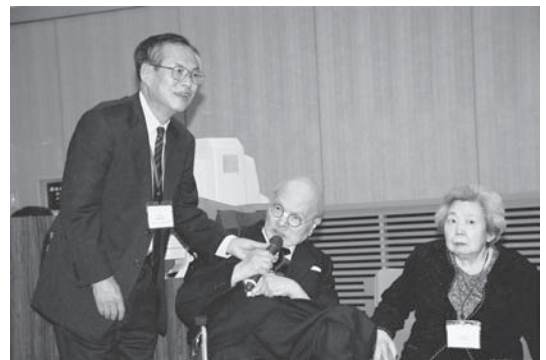
私が医学部を卒業して薬理学教室の大学院生になったのは1963年の春である。40歳になられた



1. シンポジウム参加者の集合写真。岡崎コンフェレンスセンター会場前で撮影。

ばかりの江橋先生は教授に就任されて4年目に入ったところで、前年の夏には活性トロポミオシンを見つけて仕事に油が乗り切っておられた時期である。当時、先生は昼夜を問わず実によく実験をされていた。教授室の隣が生化学用の実験室となっており、ここで皆と一緒にアイスボックスの中でピーカーに入れたひき肉に抽出液を加えて攪拌したり、あるいは分光光度計でじっと超沈殿を見ていらっしやっった先生の姿が懐かしく思い出されてくる。

電子顕微鏡でトロポニンの局在がわかったのが1966年の4月5日の夜のことであった。当時の電子顕微鏡はまだ性能がよくなく、電圧の変動や建物の振動の少なくなる夜しか安定した状態で使用できなかった。トロポニンの抗体処理をしたニワトリ骨格筋グリセリン筋の筋原繊維標本の超薄切片を準備して電子顕微鏡で観察したのは夜10時過ぎになっていたのではないかと思う。最初低倍率でみたところでは筋原繊維に特徴的な筋節の縞模様ははっきりしなかった。どうも普通なら透けて見えるアクチンの部分が逆に濃くなっているらしい。倍率を上げていくと一様に抗体が付いていると見えた部位に、驚いたことにきれいな横縞模様ができていく様子が見えてきた。トロポニンは



2. 岡崎のシンポジウムで挨拶中の江橋先生（中央）。右が江橋夫人。左は筆者。

アクチンフィラメント全体に周期的に分布していたのである。すぐに飛んでこられた江橋先生は電子顕微鏡を覗いた後、一言も言わずに後ろ手を組んで電子顕微鏡の周りを歩き回り始めた。これは実験室で何かに興奮したときに出る先生のおなじみの仕草であった。しばらくして先生は“大槻君も大変なことになったね。”と云われた。この日以来、米国留学の2年間を除くと、私は現在に至るまでトロポニンを相手に研究生生活を送り続けている。