

## 新しい材料システム構築のための 分子シンクロナイゼーション

赤池 敏宏・丸山 厚

今や、工学システム全体が大きな変革期を迎えている。効率性や機能性の追求は引き続き重要な課題であるが、同時に高度情報化社会への対応や高齢化社会に照準を当てた生命・医用工学の進展とも相まって、新しい材料コンセプトの創成を重視すべき方向に向かっている。例えば、人工臓器に代表されるような生体内埋め込みデバイスにおいては、その大きさにおおずと制限があり、しかも使用される材料自体に高い生体適合性が要求される。光エレクトロニクスデバイスについては、高速化、高機能化への要請が高まり、マイクロ化・集積化の研究が推進されている。一方では、集積度を高めることによる発熱の問題、微細加工の限界、材料機能の限界など、克服すべき問題も顕在化してきた。モーターなどの運動機能に関連した工学デバイスにおいても、使用環境の高度化・特殊化とともに、マイクロマシンに代表されるようなデバイスの微小化や省エネ化が活発に検討されている。以上の例に挙げたように、先進的な工学デバイスを設計・開発していく過程において発生する、サイズや用いる材料の種類に関するさまざまな制約は、必然的にシステムそのものを構成する材料、すなわち材料システムの必要性をきわめて大きくしている。さらに、図1に示すように、弱い相互作用のネットワーク(弱相関系材料)からなる分子やその集合体といったマイクロな機能団の同調的な相互作用の積算を介し、マクロな機能や物性の変化を誘起する「分子シンクロナイゼーション」の原理を材料システムの設計にもちこむことによって、空間と時間の両方の軸について刺激応答の増幅伝搬が可能となる。これにより図2に示すようなすぐれた物質輸送機能、情報変換・伝達機能、運動リズム機能をもった革新的な工学デバ

イスの実現に大きく貢献することが期待される。

近年、材料工学の分野においては、従来のような金属材料、無機材料、有機材料といった枠を超えて、広く材料をその機能の面から捉え直そうという機運が産業界・学界を問わず急速に盛り上がってきている。このような動きに対する学術的な裏付けとして、機能材料に対する新しいコンセプトを打ち立てることが急務である。分子シンクロナイゼーションによる材料システムの構築は、従来からの工業材料を横断的に捉えるのみならず、生物学やシステム工学的な考え方も導入することによって、機能発現システムの面から材料の新しいコンセプトを打ち立てるものである。まさしく材料工学の新しい道を開拓しようとするものである<sup>1)</sup>。

### 1. なぜ生体の分子シンクロナイゼーションシステムに学ぶ材料システムの設計が必要か？

生体系のもつ重要な機能をインテリジェンスに溢れた材料システムとしてみたとき、運動機能、物質の放出・取り込み機能、情報変換・伝達機能を抽出することができる。運動機能の例として、心臓をみてもみると、アクチン-ミオシンからなるタンパク質収縮運動素子がサルコメアを構成し、さらにそれが集合して、心筋のもつ単純な伸縮運動が、部位によって位相差をもつ刺激の伝搬によって、心臓の収縮による血液の送り出しというマクロな運動に結びついている(図3)。放出・取り込み機能に関しては、例えばホルモンという情報伝達物質が受容細胞のレセプターに特異的に結合し、さらにその刺激が同期して細胞内に伝搬し、必要物質の放出を誘起している。情報変換・伝達機能に着目すると、例えば視覚は、網膜内のロドプシン中のレチナールの光異性化が、視覚細胞のイオンチャネルの開閉を通して、膜電位変化として神経細胞に伝達される。このような

東京工業大学大学院生命理工学研究科生体分子機能工学専攻(〒226-8501 横浜市緑区長津田町 4259)  
E-mail: takaike@bio.titech.ac.jp

マイクロな刺激がマクロな物性変化に帰結するというプロセスは、生体構造中の分子や分子集合体というマイクロな機能団に生じた変化が、ある刺激に同調（シンクロナイズ）して、ドミノ的に、さらにはカスケード的に増幅伝搬し、マクロな物性変化をもたらしているために引き起こされるのである。すなわち「分子シンクロナイゼーション」とも呼ぶべき、材料が刺激に呼応して材料システムとして機能するメカニズムが存在している。このようなメカニズムをもった材料システムを人工系で構築しようとする系統的な試みは、これまでになかったといっても過言ではない。エレクトロニクスシステムにおける電子、機械システムにおける力といった情報伝達媒体は、材料システムにおいては分子シンクロナイゼーションであると考えられる。紙数の都合上、無数にある生命現象の中でよい例をひとつだけ紹介してみよう。

体のシステムで最も代表的な恒常性（ホメオスタシス）維持の例として血糖値の維持があることは、よくご存知のことだろう。本稿でまず紹介したいのは、そのシステムの中で最も重要なもののひとつである。図4は、骨格筋細胞あるいは肝実質細胞の形質膜ならびに細胞質におけるグリコーゲン代謝のシステムの概要図を示している。細胞膜に埋め込まれているカギ穴を有するホルモンレセプターは、

血液中よりカギに対応するホルモン（この場合はエピネフリンあるいはグルカゴン）の分子構造ならびに立体構造を特異的に認識し、高い結合定数を使って捕獲する。膜中には、レセプタータンパク質に隣接してGタンパク質や不活性型のアデニル酸シクラーゼが存在し、これらが集合してひとつのシステムを構成している。ホルモンがレセプターに結合されたという情報は、立体構造の変化を通じて膜タンパク質の集合したシステムに伝達され、アデニル酸シク

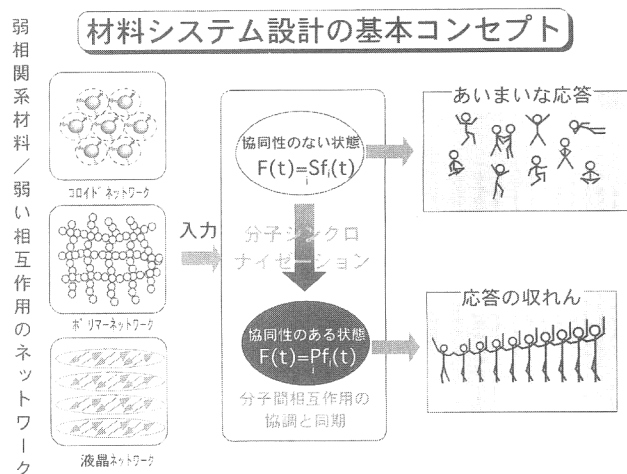


図1 弱相関系材料/弱い相互作用のネットワークを利用した材料システム設計の基本コンセプト。

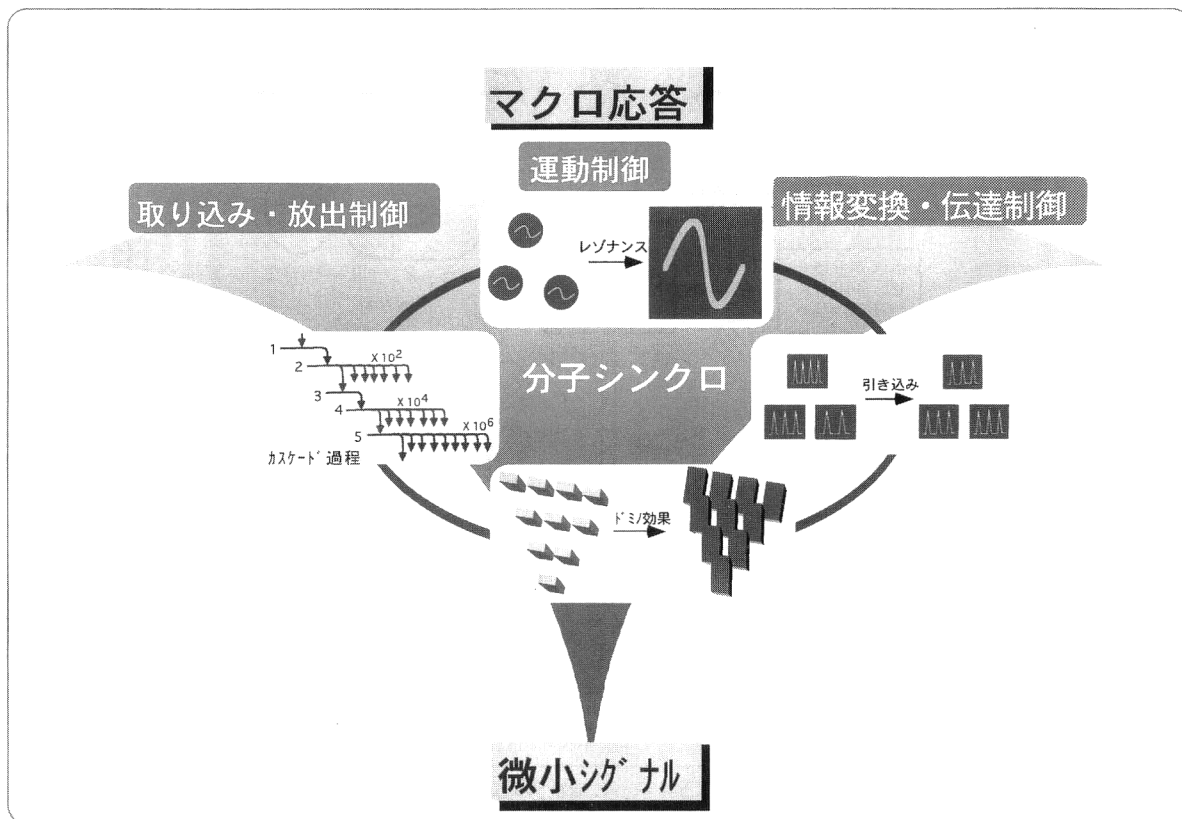


図2 分子シンクロナイゼーション手法による材料システムの構築。

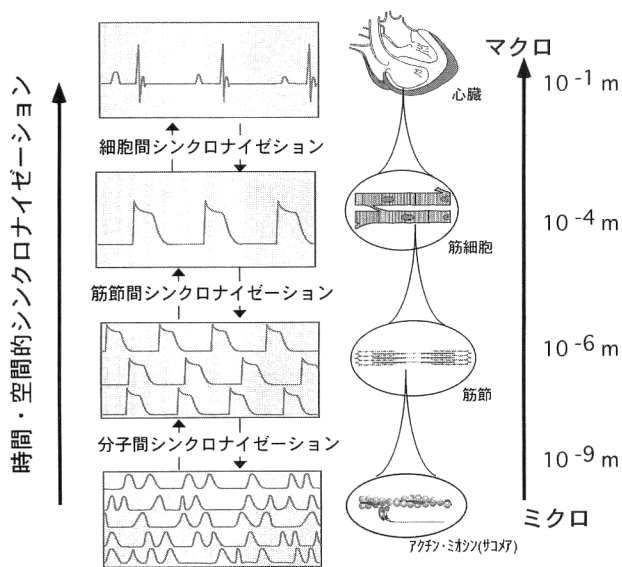


図3 心筋の分子シンクロナイゼーションによる心臓機能の発現。

ラーゼを活性化する。この酵素は、ATPから情報の2次メッセンジャーであるサイクリックAMP (cAMP)へ変換する反応を触媒し、大量のcAMPが生成する。cAMPは次に控える不活性型プロテインキナーゼ (PK) に特異的に結合し、活性型PKへの転換を促進する。活性型PKはもうひとつのATPを基質として不活性型ホスホリラーゼキナーゼ (PHK)をリン酸化し、活性化する反応を触媒する。こうして生じた活性型PHKは、さらに不活性型ホスホリラーゼ (PH)をリン酸化して活性型PHとする。最終的にはこれが細胞内にプールされていたグリコーゲン (グルコースポリマー)を次々に末端から分解し、グルコースとして細胞内外へ放出する。肝細胞の場合は血中に放出し血糖値を上昇させる。この一連のカスケード機構の中に、今後のわれわれが追求すべき理想的な材料システムの実例がみられるだろう。肝細胞あるいは骨格筋の細胞膜レセプターは1nM (ナノモル濃度, M=mol/l) という極低濃度のホルモンをキャッチし、前述の酵素反応や特異的アセンブリープロセスを組み合わせた反応カスケードにより、驚くべき

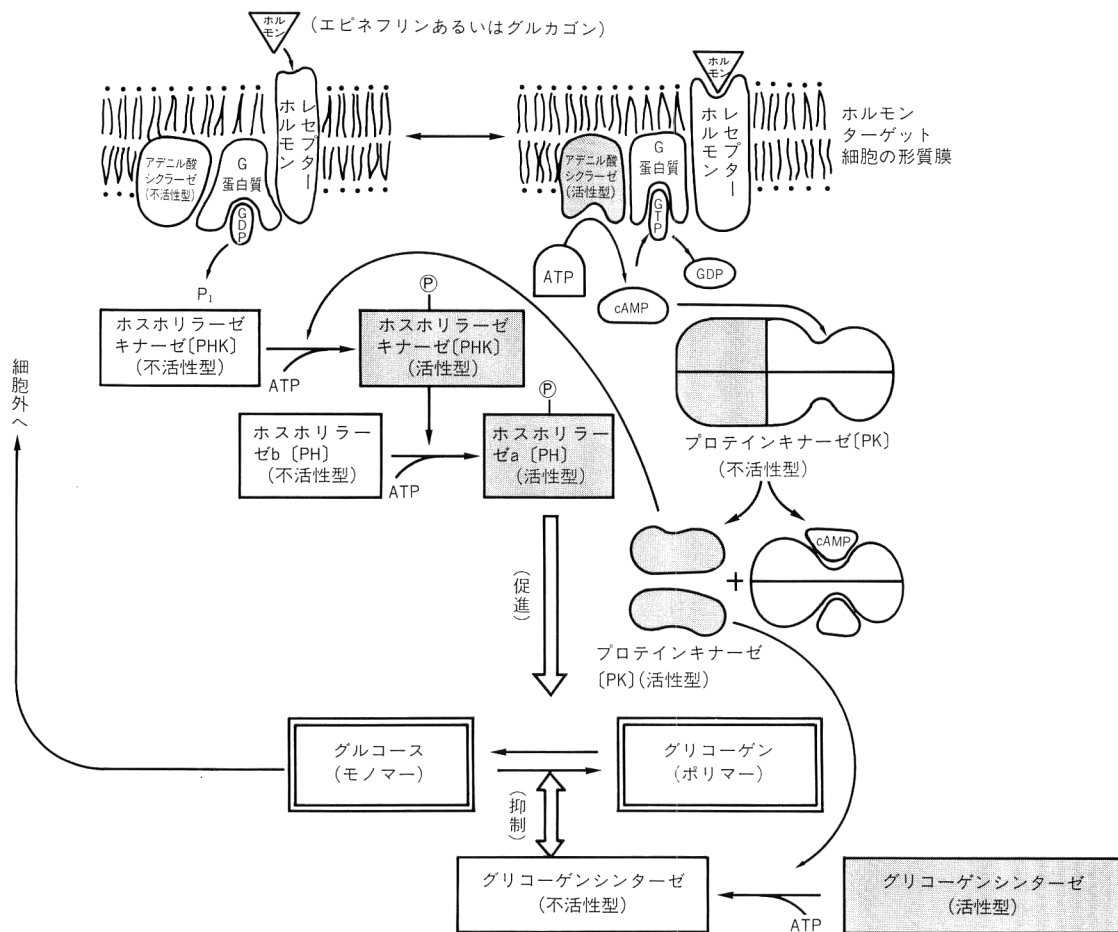


図4 細胞 (肝実質細胞・骨格筋細胞) のグリコーゲン代謝にみられる分子シンクロナイゼーション。分子シンクロ材料システム設計のひとつは、ここにみられるような高性能のセンサー、情報交換、増幅、エネルギー産出の機能を追求することにもおかれている。

ことに約 $5 \times 10^6$ の増幅をなしとげ、5 mMのグルコースとして放出するのである。

ここでバイオミメティック（生物に学ぶ）な立場からわれわれが学ぶべきことは、まず第一に、エピネフリンに対してはエピネフリンレセプターが、そしてグルカゴンに対してはグルカゴンレセプターが、これを見事に認識し結合させるシステムを生体が備えていることである。次に、こうして発生した情報をカスケード式に化学増幅して、最終的な応答情報（グルコース産生）として伝達させる機構をも合わせて備えていることである。工学的に模倣する立場からみて、さらに驚くべきことには、これらのシステムを駆動するのに必要な全エネルギーを、他の系から補給されることなく自ら調達していることである。

## 2. 生体内分子シンクロナイゼーションのモデル化

分子シンクロナイゼーションによる材料システムの設計コンセプトで、ミクロな機能性分子や原子団を空間的あるいは時間的にシンクロナイズ（協奏）させて小さな刺激（微小入力信号）からマクロな材料機能を発揮させることは可能であろうか。動植物の構成材料である生体系材料（バイ

オマテリアル）には、この目的に沿うモデルとなったり、ヒントを与えてくれる例が多数存在する。コラーゲン繊維（図5）が空間的にシンクロナイズして、高張力配向材料として機能しているアキレス腱やニューロトランスミッター（神経伝達系の最終メッセンジャー）の刺激をレセプターに受容後増幅しつつ引き込み現象などにより能動的な収縮活動を誘起する筋肉などは、その典型的な例である。これらの例にみられる分子シンクロナイゼーションのメカニズムを解明し、類似機能を発現しうる人工的な高分子材料への設計指針を得ることはきわめて有効なアプローチである。

例えば、生体の「運動機能」、「情報変換・伝達機能」および「取り込み・放出機能」等における分子シンクロナイゼーションの機構解析とそのモデル化を推進することは、分子シンクロナイゼーション手法構築のための基礎的知見を得る上で効果的であると考えられる。

運動機能とりわけ心筋収縮系では、すでに図3に示したように、アクチン、ミオシン間の1分子レベルの相互作用が、組織化とともに見事にシンクロナイズし機能発現に結びついている。しかしながら、分子レベルの確率的に生じる相互作用が、多分子的かつ時間的にシンクロナイズする

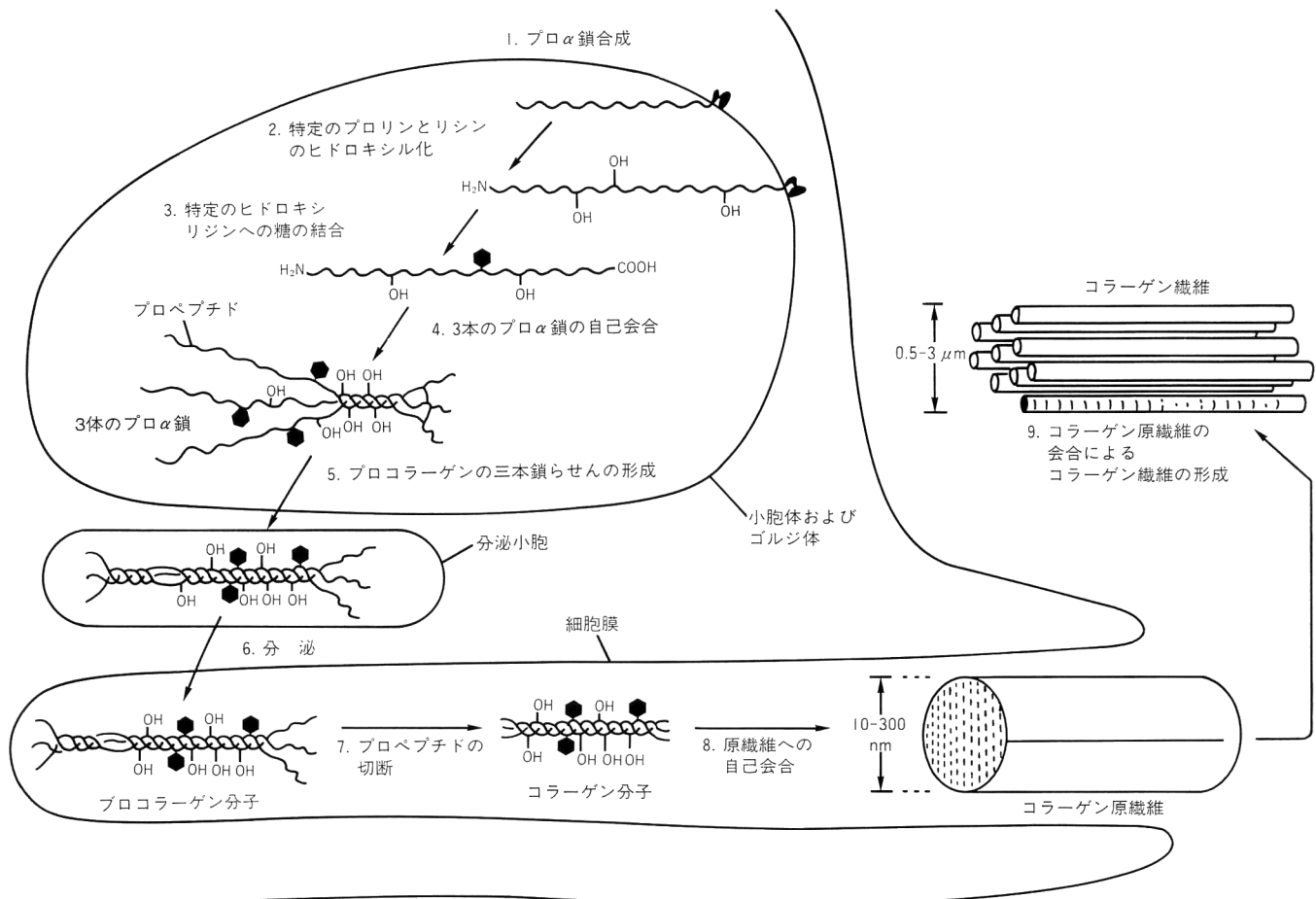


図5 コラーゲン繊維の構造と形成過程。（教育社 細胞の分子生物学第3版より）

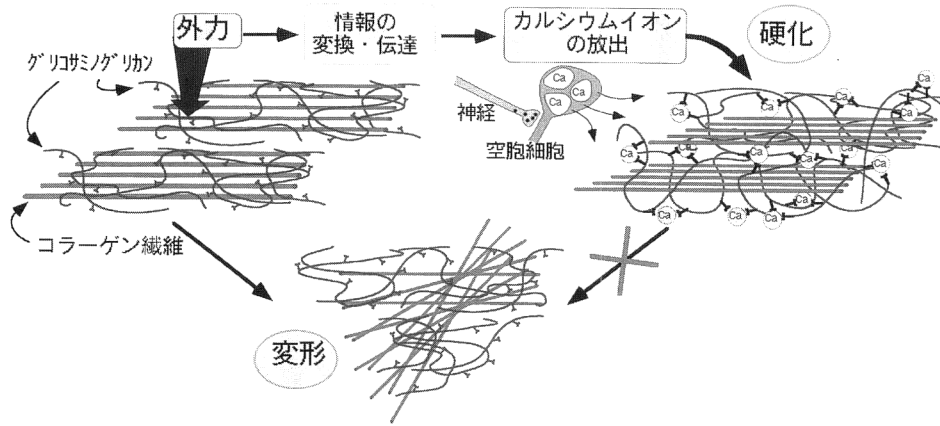


図6 結合組織（キャッチ構造）とその刺激応答硬化モデル。ナマコは異物との接触（外力の作用）により瞬時に空細胞からカルシウムイオンを放出する。カルシウムイオンは剛直な繊維の隙間を埋める多糖に配位して結合組織全体を硬化させる。

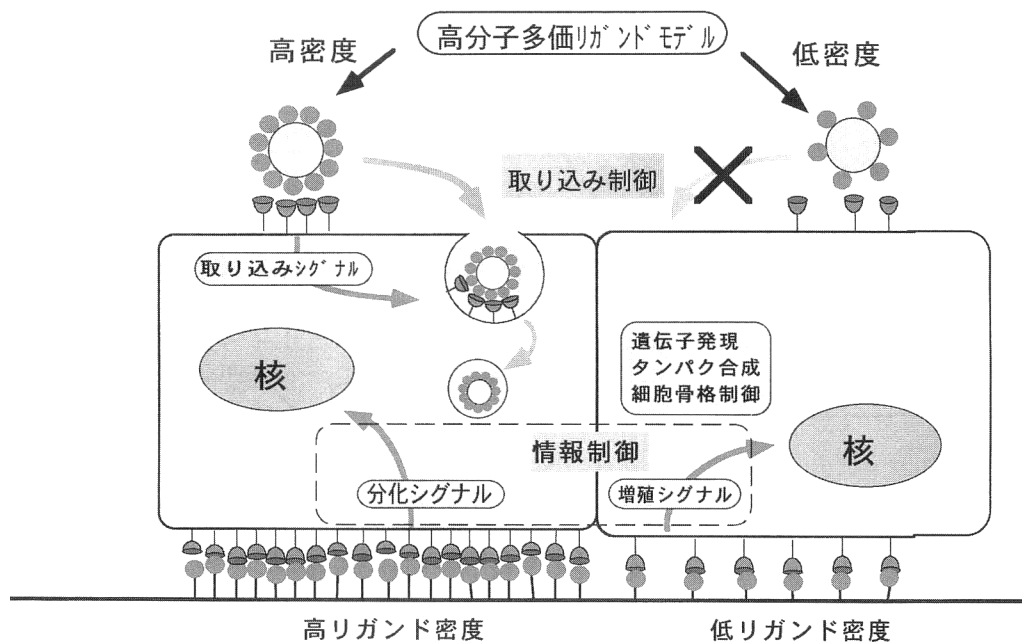
機構は、十分には解明されていない。筋フィラメント集合体そのものの中に、シンクロナイゼーションの機構があるはずである。石渡らは、心筋収縮系において、精製アクチンからフィラメントをほぼ完全な形で再構築した上、収縮機能を元のもの以上に回復させることに成功している<sup>2)</sup>。また、筋収縮系に、環境より自発的に変動する自励振動現象が出現することを見いだしている。さらに、自励振動現象を互いに時間的にシンクロナイズさせることにも成功した。このような人工再構成系を駆使し、筋収縮系が示す分子機能のシンクロナイゼーションおよび機能の秩序化の分子メカニズムを解明することは、インテリジェント材料システムを設計・開発する上できわめて有用である。このようなアプローチをとることによって、筋フィラメントとその集合体の機能発現、機能制御、そして、そこにある物理・化学的な原理を明らかにすることが可能になるであろう。

生体はさまざまな物理量を化学量あるいは化学量を物理量に変換する情報変換、さらにこれらの情報を伝達することにより、外的刺激に応答し、あるいは恒常性を維持している。たとえば、ナマコなどの結合組織は、外的刺激に対し即座に剛直化する。本川らは、力学的性質が秒～分のオーダーで変わる結合組織が棘皮動物（ウニ、ナマコ、ヒトデの仲間）に広く存在することを発見し、この結合組織をキャッチ結合組織と命名している<sup>3)</sup>。硬さ変化の幅は大きく、ドロドロの融けた状態からゴリゴリの硬い状態にまで変化し、変化は可逆的である。このような結合組織は、コラーゲン繊維という硬い材料が、しなやかなグリコサミノグリカンの接着剤で貼り合わされてできた複合材料とみなすことができる（図6）。接着剤がサラサラしていれば、コラーゲン繊維同士はお互いに滑って位置を変えることができ、組織はしなやかで軟らかい。接着剤がベタベタで硬くなれば、コラーゲン繊維はしっかりと貼り合わされ、全

体として変形しにくく硬い組織となる。しかしこれらの詳細な機構については、不明な点が多い。このように刺激により瞬間的に剛直化する構造をヒントにして、情報の変換および伝達における分子シンクロナイゼーション機構の解析とモデル化ができれば、刺激応答性のインテリジェント材料システムの開発に寄与するところ大である。すなわち、工学的な視点からみると、外界から加わる力を感じて即座に力学的性質を大きく変える材料には、すぐれたインテリジェント材料としての展開が期待される。

細胞レベルの分子認識、接着、食食などにおける細胞膜レセプターのシンクロナイゼーションの制御も、細胞生物学の基礎のみならず医薬・遺伝子の細胞特異的デリバリー、さらには、ハイブリッド型人工臓器の設計上の重要課題のひとつとなっている。たとえば、細胞の物質取り込みは、リガンドシグナルに対し多数のレセプター分子および細胞骨格系分子が、空間的、時間的にシンクロナイズし機能することにより実現される。筆者らは、ガラクトース、グルコースや RGD など各種の糖やペプチドを構成成分とする高分子多価リガンドを合成設計することにより、レセプターのシンクロナイゼーション（クラスタリング、キャッピング）を制御し、細胞の接着現象や取り込み現象、さらには、形態変化や分化増殖などの細胞機能を制御できることを明らかにした（図7）。本稿の以下で、これら高分子多価リガンドに対する細胞応答を詳しく解析し、レセプターシンクロナイゼーション機構について検討した筆者らの研究を紹介しよう。

細胞-マトリックス材料間相互作用の制御を目指す細胞特異性材料設計の原理と多方面にわたる応用分野には、実にいろいろな医療・バイオテクノロジーへの応用の可能性がある。各種細胞は各々独特の細胞外マトリックス（ベッド材料）を認識しながら、最も居心地のよい環境をつくつ



### 高分子接着基質モデル

図7 種々の高分子化リガンドを用いたレセプターシンクロナイゼーションのモデル化。多数のリガンドを有するシャーレや微粒子に対して肝細胞のレセプターは認識・接触する。このときのリガンド密度を変えることによりリガンド・レセプター間の相互作用がシンクロナイズし、細胞応答（接着・分化・増殖・取り込み等）が見事にコントロールされる。

ている。細胞の認識に関わる糖脂質や糖タンパクに注目してバイオメティックスを推進しようとする研究は、特に重要な課題のひとつとなっている。筆者らは肝細胞を上手に飼育してバイオリクターやハイブリッド人工肝臓をつくることを目標とし、肝細胞の特異的な認識を模倣する材料の設計をおこなった。血液中に存在する通常糖タンパクは末端部にシアール酸・ガラクトース基を有する複雑なマルチアンテナ型のオリゴ糖鎖構造を側鎖に配し複雑な階層構造をなす複合体タンパク質である。それらが古くなり寿命が尽きるとともにアンテナ糖側鎖の最先端に位置するシアール酸が切れ、前末端基のガラクトースが露出したアシアロ糖タンパク質になる。肝臓のアシアロ糖タンパク質レセプターはその末端構造の変化を識別しながら取り込み、細胞内で消化する機能をもっている。

このレセプターによる複雑な天然の糖タンパク質の認識をできる限り単純にミミック（模倣）してみようという発想で、合成マトリックス（バイオメティックな糖タンパク質）の設計が追求された。ガラクトース糖鎖をスチレンモノマーにカップルさせてしまい、それを重合するというアプローチの結果合成された高分子PVLAは、分子シンクロナイゼーションのコンセプトに基づくよい成功例である。

疎水性の高いポリスチレン主鎖に親水性の高いラクト

ス（ガラクトース- $\beta$ 1.4-グルコース）が側鎖としてモノマー単位毎に結合している構造であるので、このポリマーは両親媒性を示す。水中で高分子ミセルとなって存在しており、いろいろなプラスチック材料に吸着法により安定にコートできる。いろいろな糖鎖のモノマーを共重合することもできるし、他の全く異なったペプチド系のビニルモノマーと共重合させることもできるので、スーパー合成マトリックスの設計も期待できる。このように、合成化学的に新しい細胞マトリックス設計するアプローチはハイブリッド型人工臓器分野において今後も有効な方法となるといえる。

これまでも筆者らは、このスーパー合成マトリックス(PVLA)の肝細胞に対するいろいろな機能制御の例や組織工学的応用についてしばしば紹介している<sup>4-9)</sup>ので、ここでは要約を図8に示すにとどめる。例えばまず第一に、PVLAコート表面は、肝細胞にのみ認識される性質を応用して肝臓を構成する他の非実質細胞（類洞内皮細胞、星細胞、クッパー細胞等々）との混合集団から、容易に肝細胞のみを接着させ分離することが可能である。その接着構造であるアシアロ糖タンパク質(ASGP)レセプターと $\beta$ ガラクトースポリマー(PVLA)との相互作用には $Ca^{2+}$ イオンが必須であるので、EDTAなどのキレート剤処理によって接着細胞を簡単に脱着・回収して再利用することができ

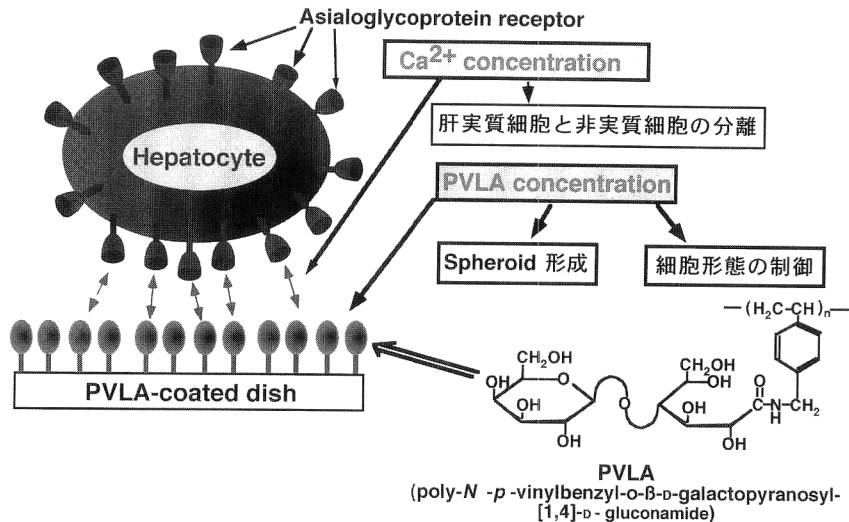


図8 アシアロ糖タンパク質モデル (PVLA) を用いた肝細胞の機能制御。

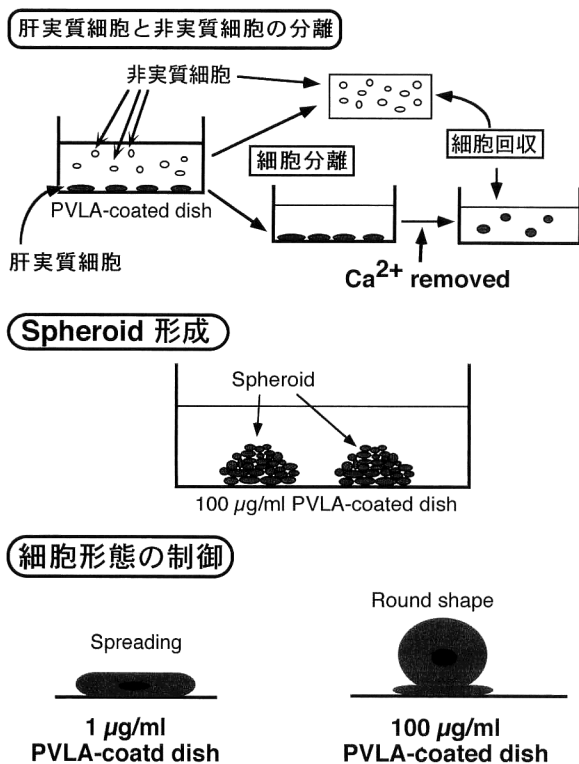


図9 PVLA を用いた肝細胞の種々のプロセッシングや形態制御。

る。もちろんそのままの接着状態で肝細胞培養システムとして利用することも可能である。ここで用いたコーティング条件 (PVLA 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) にサイトカイン EGF を加えると、EGF の細胞移動促進因子 (motogen) としての活性が強調的に誘導され、2~3 日後には肝細胞内分化機能と生存性の高まるスフェロイド (Spheroid, 細胞の球状集合体) が形成される。これは人工肝臓として現在最も有望な肝細胞の存在状態と考えられている。一方、上記条件 (100  $\mu\text{g}/$

ml) からより低濃度の PVLA コート条件 (1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) に変えると、接着肝細胞の形態が伸展 (spreading) し、ここに EGF をくわえると EGF の増殖因子 (mitogen) としての活性が強調的に発現し、接着肝細胞の DNA 合成 (細胞増殖への指標) が高まることを見いだされている。すなわち EGF という外部シグナルの細胞内への経路を PVLA のコーティング濃度の制御によってスイッチさせることに成功したことになる。これは細胞生物学的に重要なブラックボックスの解明に人工マトリクス工学がツールを提供した実例とも考えられる。PVLA のポリスチレンディッシュへコーティング濃度を前述の低濃度 (1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) からさらに2桁近く希釈し、15~20  $\text{ng}/\text{ml}$  としたり PVLA 濃度を 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の通常使用濃度のままにして、 $\text{Ca}^{2+}$  イオン濃度を通常の 2 分の 1 程度 (20  $\mu\text{M}$ ) に下げて細胞側の ASGP レセプター発現を弱めたりすると、接着しない肝細胞が 5~10% 程度得られることがわかった。この細胞分画は検討の結果 ASGP-レセプターの発現 (m-RNA および細胞表面レセプター数) が顕著に少ないことが確認された。しかも驚くべきことに DNA 合成能が接着細胞に比べ高く、分化度が低いことが判明した。こうして PVLA の新たな用途として増殖細胞の高い細胞分画の濃縮 (enrichment) が浮かび上がってきた。PVLA を用いた肝細胞プロセッシングに関わるさまざまな成果を PVLA のコーティングに注目して整理したものが図 9 である。本稿ではメカニズムの評価には触れないが、これらの現象は肝細胞の ASGP レセプターのシンクロナイゼーションの様相が分子シンクロ材料である PVLA によってコントロールされたものとみなすことができる。

先に述べたように、生体系でみられる精緻な分子シンク

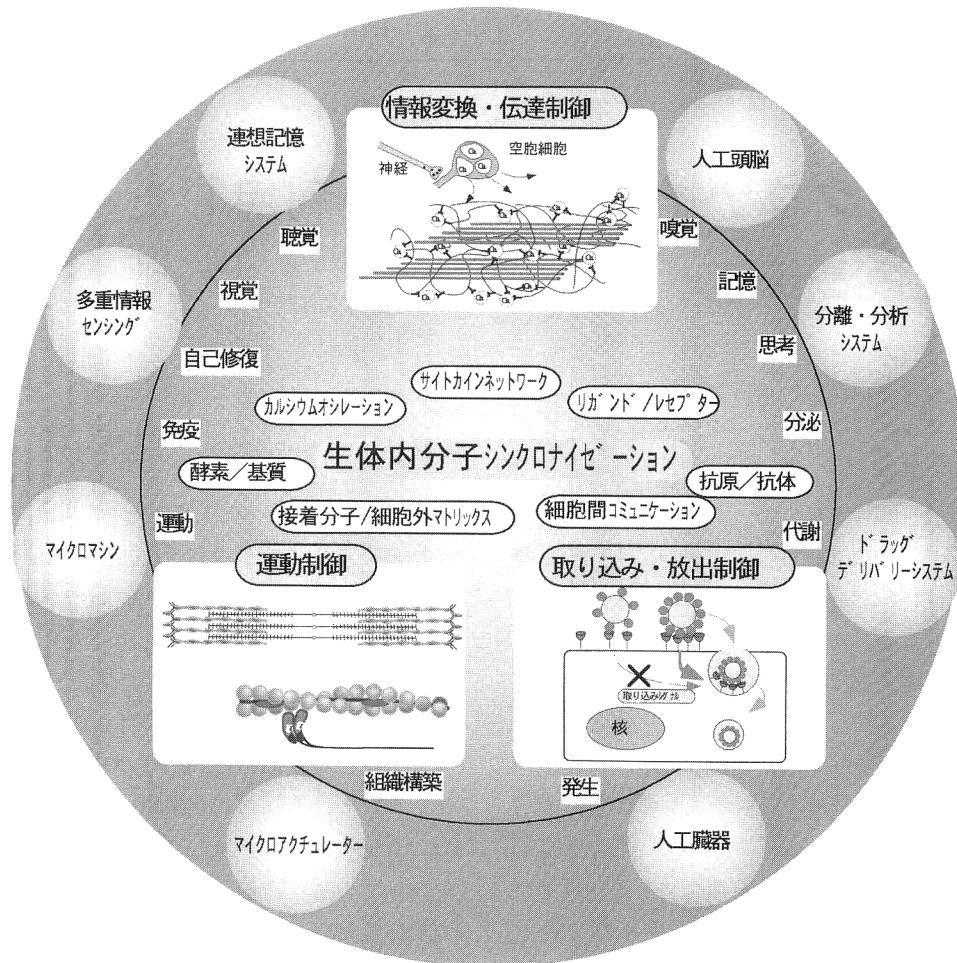


図10 生体内分子シンクロナイゼーションのモデル化。筋肉の収縮運動機能およびナマコのキャッチ構造に至る情報変換・伝達機能，肝細胞の高分子多価リガンド認識に伴う取り込み・放出機能等々は，生体内分子の空間的・時間的シンクロナイゼーションによって発現される。

ロナイゼーションを手本とし，工学的に十分意味のあるマクロな物性・機能の変化をさまざまな刺激に対する応答として取り出すことのできる材料システムを構築することが強く要請されている。この目的を達成することによって，図10に示すように，しなやかで強い運動デバイス，特異的な刺激に応じてカスケード的に情報を変換・伝達するデバイス，そして，望ましい時間に望ましい場所で望ましい量だけ物質を放出供給するデバイスなど環境と生体に調和する高性能工学デバイスの作成が可能となり，社会生活の質的向上に計り知れないインパクトを与えるものと確信される。

#### 文 献

1) 赤池敏宏，丸山 厚：“分子シンクロナイゼーションによる新しい材料システム的设计”，ポリファイル，34，No. 399 (1998) 13-23.

2) H. Fujita, K. Yasuda, S. Niitsu, T. Funatsu and S. Ishiwata: “Structural and functional reconstitution of thin filaments in the contractile apparatus of cardiac muscle,” *Biophys. J.*, **71** (1996) 2307-2318.  
 3) R. Birenheide and T. Motokawa: “To be stiff or to be soft—Dilemma of the echinoid tooth ligament I,” *Morphol. Biol. Bull.*, **190** (1996) 218-230.  
 4) K. Kobayashi, A. Kobayashi, S. Tobe, T. Akaike: “Carbohydrate-containing polystyrenes,” *Neoglycoconjugates-Preparation and Applications* (Academic Press, New York, 1994) pp. 261-284.  
 5) 赤池敏宏，小林一清，後藤光昭，小林 明：“糖鎖工学と人工臓器”，入村達郎編，糖鎖と細胞，別冊日経サイエンス 111 (日経サイエンス社，1994) pp. 114-129.  
 6) K. Kobayashi, A. Kobayashi, T. Akaike: “Culturing hepatocyte on lactose—Carrying polystyrene layer via asialoglycoprotein receptor-mediated interactions,” *Methods Enzymol.*, **247** (1994) 409-418.

(1999年3月31日受理)