

# 私のRI 歴書

## カルシウムと過ごした半世紀

唐木 英明

Karaki Hideaki

(東京大学名誉教授、(公財)食の安全安心財団理事長)



1960年4月、私は東京大学に入学した。その3か月前、日本政府は米国との間で安保条約を調印し、承認のための国会審議が始まっていた。まだ戦争の記憶が生々しい時代であり、“安保条約は日本を米国の戦争に巻き込む”という反対派のキャンペーンが浸透して日本中を巻き込む安保闘争に発展していった。東大駒場キャンパスは安保反対の集会とデモに出掛ける学生集団で騒がしく、教職員の多くもこれらに参加したためほとんどの授業が休講という状況。想像とかけ離れた大学生活に戸惑いながらも風潮に流され、“安保は悪、岸総理は米国の手先”と信じてデモに参加する毎日だった。5月には衆議院で安保条約の承認が強行採決され、反対運動はますます燃え盛り、6月には国会周辺でデモに参加していた女子学生が圧死し、騒然とする中で参議院の議決がないまま条約は自然成立し、岸内閣は7月に退陣して安保闘争は終わった。その後半世紀の日本の繁栄の歴史からみると、安保条約に反対する意味があったとはとても思えないし、今夏かまびすしかった集団的自衛権問題に対する“戦争法廃案運動”は当時の再現にも見えるのだが、それは本題ではないので話を先に進めよう。

秋から授業が始まり、毎日をデモとマージャンで過ごしていた私にもやっと大学生らしい生活が始まった。実は私は理科1類に入学して工学部に行きたかったのだが、開業医だった父親

の命令で医学部進学コースである理科2類(当時は理科3類はなかった)を受験した。多分落第するので、2年目には理科1類を受験しようという腹積もりだった。ところが運悪く(?)理科2類に合格してしまい、医師になる気がないので進学先に困り、結局、北海道で牧場をしていた叔父の薦めで、本郷キャンパスでは一番不人気だった農学部獣医学科に進学した。定員15名のところ、進学者は私を含めてたった3名。1962年4月のことだった。

ちょうどその頃、私の将来の研究を決める大きな出来事が米国で起こっていた。その顛末を東大医学部薬理学教室の故 江橋節郎教授が書き残されているので、その一部を引用する。なお、全文は“サイエンティスト・ライブラリー：特別編”のホームページで読むことができる([http://www.brh.co.jp/s\\_library/j\\_site/scientistweb/no12/](http://www.brh.co.jp/s_library/j_site/scientistweb/no12/))。

### 「カルシウムと私」

江橋節郎 (東京大学名誉教授)

カルシウムがトロポニンというたんぱく質と反応することで、筋肉が伸びたり、縮んだりするという事は、今では教科書に載っている常識である。しかし、30年以上前、私が筋収縮カルシウム説を主張していた頃は、世界のほとんど誰も信じようとしなかった(という話は今では誰も信じな

いくらい、当たり前のことになっている)。

1962年ボストン郊外で大規模な筋収縮の国際会議が開かれた。私は、私とともに筋収縮のカルシウム説を唱えている唯一の同志アンネマリー・ウェーバーとともに、この会議に臨んだ。私は筋肉がカルシウムによって収縮することを示す十分な実験データを得ている、と自信満々だった。だが、会議は私の思惑とは正反対の方向に進んだ。この会議の現場に居合わせた故ジーン・ハンソン(筋肉の滑り説をH.ハックスリーとともに唱えた)は、そのときの風景をきわめて印象的に書いている。

“座長のハンス・ウェーバーが「討議の結果、カルシウム説は明らかに否定された」と宣言するや、娘のアンネマリー・ウェーバーは激昂して絶叫し、エバシは日本語でわめいた。皆は腹をかかえて笑った”

座長は、皮肉なことにアンネマリーの父であり、当時筋研究の泰斗として世界に知られるハンス・ウェーバーだった。アンネマリーが激昂して絶叫したのも本当だし、私がわめいたのも本当である。しかし、いかに興奮したとはいえ、日本語を使うはずがない。私の英語が誰も理解できなかったのである。この会議で、2人はまさにピエロだった。厳格な父親のウェーバーは、娘が変な日本人に引っ掛かって困っていると言っていたようだ。

(中略)

カルシウム説が本当に認知されたのは、さらに3年後の65年、カルシウム結合能力の極めて高いたんぱく質を私が発見、トロポニンと名づけてからである。筋肉は、いつもバネのように収縮しようとしていて、トロポニンはそのバネを抑えるブレーキ役としてはたらいている。筋小胞体からカルシウムが放出されて筋肉内の濃度が $10^{-5}$ モルになると、カルシウムがトロポニンに結合してブレーキがはずれ、筋が縮

む。逆にカルシウムが筋小胞体にとりこまれて $10^{-7}$ モルと低くなると弛緩する。

獣医学科に進学した翌1963年に私は家畜薬理学教室に入室した。獣医学は国家試験があるため卒業論文を書く必要はなかったが、テーマを与えられて実験を行い、レポートを書かなくてはならなかった。そして私に与えられたテーマが筋肉の収縮とイオン濃度の関係だった。

江橋先生が研究されたのは骨格筋だが、私が使ったのは消化管、血管、子宮など内臓系の筋肉である平滑筋だった。骨格筋は自分の意志で動かすことができるのだが、平滑筋は自動運動をしていて、自律神経系が“勝手に”その運動を調節するので、自分の意志では動かせない。さらに、骨格筋では運動神経の指令により筋小胞体からカルシウム(Ca)が放出されて収縮が起こるが、平滑筋には運動神経も小胞体もない。したがって、平滑筋の収縮を調節しているのがCaかどうかも分かっていなかった。

私が最初に使った実験材料はモルモットの小腸だった。切り出した小腸を栄養液に入れると収縮・弛緩を繰り返す。モルモットは死んでも腸は生きているのだ。栄養液に副交感神経系を刺激するアセチルコリンを添加すると消化管は強く収縮し、交感神経系を刺激するアドレナリンを加えると小腸は弛緩する。そこで次に栄養液からCaを抜いてみた。ところが収縮はほとんど変わらない。これは面白い。骨格筋と違って平滑筋の運動はCaにより制御されているのではないかもしれない。これは大発見! と思ったが、念のため確認の実験を行った。実験には筒状の小腸片の両端を縛ったものを使ったのだが、小腸内腔には栄養液が入っている。小腸の外側のCaを除去しても、内腔にあるCaが細胞に取り込まれているかもしれない。そこで小腸片を縦割りにして、外側と内腔側を同じ栄養液に接触するようにした。そしてCaを除去すると小腸の運動は止まり、弛緩した。

こうして、平滑筋の収縮もCaに依存するこ

と、それは細胞内ではなく外液の Ca に大きく依存することが分かった。翌 1964 年に私は大学院に進学したのだが、この実験が私の最初の学会発表になった。私と同様のデータはほぼ同時に幾つかの研究室から発表され、私の結果は確認されたのだが、Ca がどのように平滑筋収縮を制御しているのか、正確な仕組みは誰も知らなかった。

平滑筋での Ca の役割は 3 つの方向から研究されていた。その 1 つは電気生理学的方法を使って、膜電位や活動電位に対する Ca の影響を調べる研究。2 番目は生化学的方法を使った平滑筋の収縮タンパク質に対する Ca の作用の研究。そして 3 番目は細胞における Ca の動きを知ろうとする努力で、私が行ったのは 3 番目の研究だった。

大学院進学直後、米国に留学中だった浦川紀元博士が研究室に帰ってきた。米国での研究は、平滑筋収縮の間に放射性 Ca ( $^{45}\text{Ca}$ ) の取り込みが増えることを示したものだ。この研究を日本で続けることになり、私が浦川博士の手伝いをすることになったのが放射性物質との出会いだった。

実は私はこの実験をしたくなかった。なにしろ 1945 年の広島・長崎への原爆投下、1954 年の第五福竜丸の被ばくと放射能マグロ騒動、そして 1960 年代の大気圏内核実験による放射性降下物の恐怖を身近に見聞してきた私にとって、放射性物質は絶対に取扱いたくないものだった。とはいえ研究室に入った以上、先輩の命令には従わざるを得ない。私が使った核種は  $^{45}\text{Ca}$ 、 $^3\text{H}$ 、 $^{14}\text{C}$  などで、いずれもトレーサレベルに過ぎなかったのだが、実験中は緊張が続き、終わるとぐったり疲れた。その後、放射線生物学を勉強し、毎日の実験で取扱いに慣れると、恐怖感と疲労感は次第に軽減していった。しかし、新たに大学院生が研究に加

わるたびに彼らも私と同じ経験をし、ある院生は実験終了後は疲労で階段を登れなくなったほどだった。「あの研究室に行くとは放射能を使わされる」、そんな噂が立って、大学院生に敬遠されたこともある。それほど放射能に対する恐怖が蔓延していた時代だったのだが、それは現在もそれほど変わっていないのかもしれない。

修士 1 年の途中の 1965 年に私は助手に採用され、浦川博士は講師から助教授に昇進し、研究は本格化していった。複雑な話を分かりやすくするために、最初に平滑筋組織の Ca の分布と量を図に示しておく。平滑筋組織の Ca 量は約 2.0 mM。細胞表面には約 1.55 mM の Ca が結合し、細胞内には約 0.25 mM の Ca がある。また生化学の実験から収縮タンパクの制御を行う細胞内 Ca は静止時には 0.0001 mM、収縮時には 0.001 mM の範囲と考えられる<sup>1,2)</sup>。したが

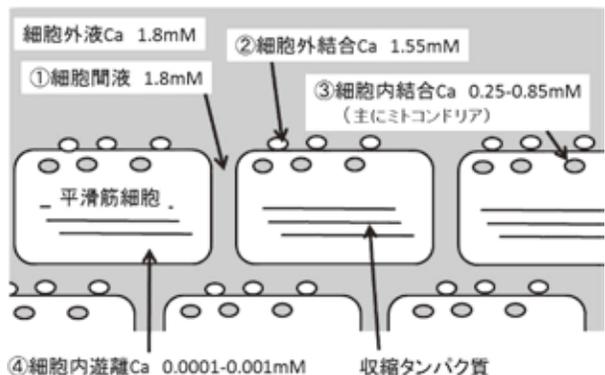


図 平滑筋細胞のカルシウム (Ca) の分布

表 平滑筋細胞のカルシウム (Ca) の定量法

測定項目	測定方法	測定される部位 (図を参照)
組織 Ca 総量	原子吸光法	①+②+③+④
細胞間隙量	$^{14}\text{C}$ -ソルビール法	①
組織 $^{45}\text{Ca}$ 取込み量	$^{45}\text{Ca}$ 取込み法	①+②+③+④
組織結合 $^{45}\text{Ca}$ 量	取込み後洗浄法	②の一部+③+④
細胞内結合 $^{45}\text{Ca}$ 量	取込み後 La 洗浄法	③+④
細胞内遊離 Ca 量	蛍光 Ca 指示薬法	④

って、細胞内遊離 Ca を測定しようという試みは組織が含む 2 mM の Ca の海の中から、その 1/1,000 のわずかな Ca の動きを検出しようという無理難題ともいえる。

無理は承知の上で、まずは組織の総 Ca 量を測定してみた。これは当時、農芸化学科に導入された最新式の原子吸光分光光度計で比較的簡単に測定できた。その結果、総 Ca 量は細胞外液 (1.8 mM) よりやや多い 2.0 mM であること、そして驚いたことに、総 Ca 量が収縮の間にゆっくり増えることが分かった。これが収縮時の組織の体積変化の結果である可能性があるもので、細胞間隙の変化も測定した。そのために使った  $^{14}\text{C}$ -ソルビトールは水溶性物質で細胞間隙には溶け込むが、細胞膜に結合せず、細胞内に取り込まれることもない。測定の結果、平滑筋組織には約 40% の細胞間隙があるが、収縮によりその値は変化しないことが分かった。こうして、収縮の間に細胞膜の表面あるいは細胞内に Ca が蓄積していくことが分かった。

次に、 $^{45}\text{Ca}$  を使って細胞内外の Ca の動きをつかもうという実験を行ったが、これは困難を極めた。平滑筋組織に  $^{45}\text{Ca}$  を取り込ませてその量を測ると、 $^{45}\text{Ca}$  は 1~2 分で組織に取り込まれて外液とほぼ等しくなる。その大部分が細胞間隙と細胞外結合 Ca である。そこで組織に  $^{45}\text{Ca}$  を取り込ませて、その後  $^{45}\text{Ca}$  を含まない栄養液で組織を 4 分間洗い、細胞間隙と細胞膜表面の  $^{45}\text{Ca}$  を除去することを考えた。その結果、収縮時に  $^{45}\text{Ca}$  が徐々に増えることが分かった。この方法で測定できた増加もまた細胞内に蓄積する Ca と推測された。要するに、細胞内にながりの量の Ca が流入し、これが収縮を引き起こし、その後 Ca は細胞内のどこかに取り込まれるものと考えられた。

1972 年に私は助教授に昇任し、これを機会に消化管平滑筋から血管平滑筋に研究の範囲を広げた。そして 1978 年から 2 年間、テキサス大学ダラス医学研究所のジョージ・ワイス教授の下に留学した。ワイス教授は 3 価の陽イオン

であるランタン (La) が細胞膜の結合部位から Ca を追い出すとともに、細胞膜を通過する Ca の動きを止める作用があることを発見していた。この発見を利用して、マイアミ大学のコーネリス・バンブリーメン教授は  $^{45}\text{Ca}$  を取り込ませた組織を La を含む液で洗い、細胞外に付着した  $^{45}\text{Ca}$  を除去して細胞内の Ca を測定する方法を開発した。

この方法は“バンブリーメンの La 法”と呼ばれ、細胞内 Ca を測定する目的で多くの研究者が利用し、彼は平滑筋研究の世界では有名人になった。一方、La の作用を見付けながらこれを応用に結び付けようと考えなかったワイス教授はトンビに油揚げをさらわれてしまい、面白くないはずがない。学会でバンブリーメン教授を見掛けても顔も見なかった。私にとっては両方とも友人だったので何とかしたいと思い、米国薬理学会で私を真ん中にして両側に彼らを立たせて写真を 1 枚撮ったのだが、多分これは両者が一緒に写っている唯一の写真だと思う。科学の世界にも人間関係の面倒が付きまとう。

話は戻って、私は嫌がるワイス教授を説き伏せて、バンブリーメン教授の方法の改良を行った。そして La 液を低温にして細胞からの Ca の流出を更に少なくすることで細胞内 Ca をより正確に定量することに成功し、米国滞在中に多くの発見をすることができた。さらに、この方法でとらえられた収縮中の Ca の増加がミトコンドリアの阻害剤で抑制されることから、これがミトコンドリアに蓄積した Ca であることも明らかにした。しかし、この方法でも収縮を制御する細胞内の遊離 Ca の動きをとらえることはできなかった<sup>1,2)</sup>。

転機が訪れたのは 1985 年だった。この年に米国のロジャー・ツェン博士らは Ca が結合すると蛍光を発する試薬を発見し、これを細胞に取り込ませることで、蛍光の量から細胞内 Ca 量を測定する画期的な方法を発表したのだ。彼は一連の蛍光指示薬の開発の功績が評価され、オワンクラゲの緑色蛍光タンパク質を発見した

下村修博士と共に2008年ノーベル化学賞を受賞している。この発見を知って私は日本の企業と相談して試薬の製造と測定機器の開発を行い、研究室の尾崎博助手（現 東京大学教授）と大学院生の佐藤晃一君（現 山口大学教授）と共に、血管平滑筋に試薬を取り込ませて収縮と蛍光を同時に測定することに成功し、最初の論文を1987年に発表した。私が助教授から教授に昇進した年だった。

この方法を使って、平滑筋の収縮と弛緩はCa濃度の変化により制御されていることを証明することができた。さらに、刺激の種類によってはCa濃度から予測されるより大きな収縮が発生し、一部の弛緩薬はCa濃度を下げずに弛緩を引き起こすことから、Ca濃度だけでなく、収縮タンパク系のCa感受性の変化もまた収縮を制御していることを見付けることができた。

教授就任後は自分で実験をすることが少なくなり、放射性物質を取り扱う機会も減ったが、1999年に東京大学アイソトープ総合センター長に就任してからは利用者の立場から管理者の立場に変わり、放射線管理の勉強をし直して利用者の安全と利便を考える日々になった。2003年に東大を定年退職した後も、日本アイソトープ協会理事、ライフサイエンス部会長として放射性物質との付き合いは続いたが、2011年3月の

福島第一原子力発電所事故発生時には日本学術会議副会長としてこの問題にかかわることになり、低線量放射線の健康影響に関する議論に巻き込まれて、学術会議会員を含む一部の研究者から科学ではなく感情に基づく批判を浴びることになった。結局この半世紀、放射性物質との付き合いは終わることがなかったことになる。

最後に、私はCaの研究を楽しんだが、それだけで終わったわけではない。細胞内Caが増加すると平滑筋が収縮することは説明したが、血管の収縮は血流の低下や血圧の上昇という深刻な病態を招く。だから、細胞内へのCa流入を防ぐ薬物は高血圧や心筋梗塞の治療薬になる。それだけではない。男性機能不全は局所の血流の増加が不十分なため起こるので、血流改善薬はその治療薬にもなる。それはCaチャンネル阻害薬、Kチャンネル開口薬、一酸化窒素関連薬などだが、これらの薬物の開発と作用機序の解明に私の研究が多少は役に立っていることを付け加えておきたい。

#### 参考文献

- 1) 唐木英明, 細胞内Ca測定法の有用性と問題点 (1), 日薬理誌, **116**, 204 (2000)
- 2) 唐木英明, 細胞内Ca測定法の有用性と問題点 (2), 日薬理誌, **116**, 256 (2000)