

総説

脂質ラフト 最近の考え方

馬場 健

山梨大学医学部解剖学講座第1教室

要旨：脂質ラフトは細胞膜上に形成されるスフィンゴ脂質とコレステロールに富んだ膜微小領域である。ここ数年の研究の発展により、脂質ラフトには多くのシグナル伝達分子やある種の病原体、さらにはアルツハイマー病の原因物質が集合し、その細胞内動態を支配する構造体であることが分かってきた。従来膜脂質は膜タンパク質の単純な溶媒と考えられ、ともすれば軽視されがちであったが、実際は複雑に組織化されており、細胞機能の維持に重要な役割を果たしていることが明らかになってきた。

キーワード 脂質ラフト, 細胞膜, カベオラ, コレステロール, スフィンゴミエリン

はじめに

細胞表面はその機能に応じて様々な形態に分化している。たとえば細胞突起としての微絨毛や細胞間結合装置、細胞陥凹としてはクラスリン被覆ピットやカベオラがそれぞれ栄養の吸収、細胞間コミュニケーション、およびエンドサイトーシスを行っている。これらの構造を含む細胞表面はすべて脂質二重膜と膜タンパク質からなる細胞膜で覆われている。

これまで細胞膜を形成する脂質膜は均質と考えられ、その中に浮遊している膜タンパク質のみが興味の対象となってきた。しかし、最近の研究成果により、細胞膜脂質は均質無構造ではなく高度に組織化された膜微小領域を含み、それが膜関連タンパク質の局在、しいては細胞の形態や機能を制御していることが明らかになってきた。この総説では代表的な膜微小領域である脂質ラフトの最近の考え方について紹介し、今後の展望について述べる。

従来の細胞膜の構造モデル

1. シンガー・ニコルソンの膜流動モザイクモデル

現在、一般的に認められている細胞膜の構造モデルの多くは、S. J. Singer と G. L. Nicolson による膜の流動モザイクモデル (fluid-mosaic model)¹⁾を基礎にしている。すなわち細胞膜はリン脂質分子が疎水基を内向きにして配列した脂質二重層 (lipid bilayer) が基本となり、その中に球状タンパク質がモザイク状に埋め込まれているというものである。脂質二重層は常温では流動性を示し、タンパク質分子は脂質内を膜面に沿って自由に流動できると考えられた。この優れたモデルから、脂質膜は均質でタンパク質の分布のみが細胞機能に応じて変化するという考えが、長年抵抗なく受け入れられてきた。

2. 細胞膜脂質の構成

細胞膜を構成する脂質は、主に各種のリン脂質、コレステロール、および糖脂質からなることが知られている。リン脂質は脂質成分の 50% 程度を占め、phosphatidylethanolamine

〒409-3898 山梨県中巨摩郡玉穂町下河東 1110

受付：2002年9月20日

受理：2002年9月24日

(PE), phosphatidylserine (PS), phosphatidylcholine (PC), sphingomyelin (SM) からなっている。コレステロールは隣り合ったリン脂質間に入り込み、膜の流動性を低下させ、脂質膜を物理的に安定させると考えられている。糖脂質は主に脂質二重層外葉にみられ、細胞外に糖鎖を伸ばしている。これらの脂質成分の構成は、組織や細胞によって異なることが知られている。

3. 蛋白質成分の構成

細胞膜に内在するタンパク質は細胞によって著しく異なり、それぞれの特殊な機能を担っている。細胞外に露出しているタンパク質の多くは受容体や酵素として働く。脂質二重膜を貫通するタンパク質は、細胞内外をつなぐチャネルや特異的な分子のトランスポーターとして働きうる。また、細胞質内に露出しているタンパク質は細胞膜を裏打ちし、機械的に支える細胞骨格や膜骨格線維の足場となりうる。特異的な脂質と強い関わりを持つタンパク質の例として、細胞表面に露出した glycosylphosphatidylinositol (GPI) と結合している GPI - アンカータンパク質が知られている。

4. 細胞膜脂質の不均衡分布

細胞膜を構成するリン脂質は脂質二重層の内葉と外葉で異なることが以前より知られていた。一般的に内葉には PS, PE などのアミノ基含有リン脂質が多く、外葉には PC, SM などのコリン含有リン脂質が多く存在する。この内外の脂質膜の不均一性は生体内で厳密に維持されており、内葉の PS がフリップ・フロップにより外葉に移行してしまった場合は PS フリッパーゼにより、速やかに内葉に移送される^{2,3)}。生理的にも血液凝固系の活性化は細胞表面に現れた PS に接触する事で始まるため、PS を内葉に限局させておくことは、異常な血液凝固を防ぐために重要である⁴⁾。赤血球に外部から PC を加えた場合、外葉の表面積が一時的に増加し、表面積のアンバランスにより有棘赤血球化する⁵⁾。また、よく知られた例としては、アポトーシス初期には細胞膜二重膜の不均一性が破

れ、PS が外葉に移行し細胞表面に露出する⁶⁾。したがって PS に特異的に結合するアネキシン V がアポトーシスのマーカーとしてよく用いられている⁷⁾。最近、PE もアポトーシスに際して細胞外に露出することが報告されている⁸⁾。

5. 細胞膜の特殊化

膜流動モザイクモデルで均一とされた細胞膜には、実際の細胞では明らかに他とは異なる特殊な領域が存在していることが知られている。細胞自由面ではカベオラ、クラスリン被覆ピットといった膜陥凹構造と微絨毛に代表される膜突起構造がよく知られている。

カベオラは 1950 年代に電顕的に記載された細胞表面の小さなくぼみで、しばしばこつぽ状ないし (オメガ) 状と記載される特徴的な形態をしている⁹⁾。直径は 60 nm 程度で、くぼみの細胞質面には縄状の被覆構造が見られることがある。カベオラは内皮細胞、平滑筋細胞、脂肪細胞などに多く見られ、小分子の取り込みや濃縮、また内皮細胞ではトランスサイトーシスに関与していると考えられている¹⁰⁾。1992 年にカベオラ被覆の構成タンパク質としてカベオリンが同定され¹¹⁾、1995 年にはカベオリンがコレステロール結合タンパク質であることが見いだされた¹²⁾。また、カベオラを構成する脂質成分は特徴的で、スフィンゴ脂質とコレステロールに富んでいることが知られている。クラスリン被覆ピットは径 100 nm 前後の細胞表面の窪みで、細胞質側を特徴的なサッカーボール状のクラスリン被覆に被われている。この構造を介して細胞表面の受容体は特異的に細胞内に取り込まれ (受容体介在エンドサイトーシス)、クラスリン被覆小胞となって細胞内に入る¹³⁾。クラスリン被覆の主要構成タンパク質の一つアダプチンは、細胞膜の phosphatidylinositoldiphosphate (PIP2) と特異的に結合することが知られている¹⁴⁾。最近の報告では細胞膜の PIP2 に結合したアダプチン分子は三次構造を変え、より安定化するという¹⁵⁾。そのほかにも上皮細胞の自由面にはアクチンマイクロフィラメントの芯をもった細胞膜の突出構造

である微絨毛が存在する。また細胞の側基底面にはいろいろな細胞間接着装置が存在している。このように多様に分化した表面構造を覆う細胞膜が、均一に分布する脂質膜から形成されるのか疑問視されていた。

・脂質ラフトの提唱

1. Kai Simons による脂質ラフトの提唱

EMBLの Kai Simons らは、極性細胞での小胞輸送を研究している過程で、輸送小胞とその輸送先の膜成分を検討し、低温で TritonX-100 に不溶性な分画のうち密度勾配遠心法で浮遊する軽い分画に注目した。この分画はコレステロールとスフィンゴ脂質が濃縮し、興味深いことにカベオラの被覆タンパク質、カベオリンを含んでいた。また、同時にいくつかのシグナル伝達分子もこの分画に集積していたため、細胞膜上にカベオラのような脂質 タンパク質構成からなる膜領域を想定し、脂質ラフトと名付けた¹⁶⁾。コレステロールとスフィンゴ脂質の複合体はリン脂質に比べコンパクトな構造を取るため、他の領域と混合しにくく、川を流れる筏(ラフト)のように脂質膜内を漂う構造になると考えたのである。

2. 脂質ラフトの大きさ

Simons らの報告をきっかけに、数多くの脂質ラフトに関する報告がなされたが、研究者ごと、あるいは材料とする細胞ごとに結果がまちまちで、脂質ラフトの存在自体が問題視された時期があった。また脂質ラフトがカベオラそのものであると考えられた時期もあったが、形態学的にカベオラが認められずカベオリンを発現していない細胞でも、TritonX-100 のようなデタージェントに不溶性の複合体(DIGs)が見られることより、現在では両者は異なる構造であると考えられている¹⁷⁾。生化学的に提唱された脂質ラフトが構造として実在するかどうか多くの検証がなされたが、確立したマーカーが少ないこと、分離精製時に相互に融合あるいは分離してしまう可能性があることより大きささ

え確定できず、報告により数 nm ~ 1000 nm と幅が大きく、実際の細胞内での局在も明確にできなかった。

しかし、ここ数年で FRET と 1 分子観察法により、細胞膜上での大きさが確定されつつある¹⁸⁾。それによると脂質ラフトは 50 nm 前後の微小な膜領域で、しかも一定の形を取らず、集合離散を繰り返している構造であることがわかってきた。したがって、このラフト構造に親和性を持つタンパク質が一過性に集合して相互作用を行い、また離れていくという、ある意味理想的なシグナル伝達の場合が想定されたということになる。

3. 脂質ラフトに存在する分子群

脂質ラフト・カベオラのマーカーとして、初期から知られていたタンパク質はカベオリンである¹¹⁾。最近ではそれ以外にも、プロミン¹⁹⁾、ストマチン、フロティリン²⁰⁾といったタンパク質がラフトに局在することが知られている。また、シグナル伝達分子としては Src ファミリーキナーゼ²¹⁾、PDGF 受容体²²⁾、MARCKS²³⁾ や、種々の GPI アンカータンパク質がある。病原体関連タンパク質としてはある種の細菌毒素²⁴⁾、HIV-1 gp120²⁵⁾ およびプリオンタンパク質²⁶⁾ がラフトに濃縮することが知られている。また病原因子としては、アルツハイマー病に関連するアミロイド β タンパク質²⁵⁾ の集積が知られている。

4. 脂質ラフトの機能

以上のような特殊な脂質組成とタンパク質構成をもった脂質ラフトは細胞内でどのような機能を果たしているのだろうか。研究当初から知られていたものは、タンパク質の選別と細胞内輸送における機能である¹⁶⁾。ER ゴルジ系で合成された脂質およびタンパク質はゴルジに存在するラフト構造により選別され、細胞頂部および細胞側基底部へと選択的に輸送される。しかし多くの研究者の興味を集めたのはシグナル伝達分子の出会いの場所としての脂質ラフトである²⁷⁾。ラフトへの親和性の有無でタンパク質の伝達パートナーの選別が可能であること

とラフトそのものが一過性の構造であることより、シグナル伝達の細かい調節ができると考えられている。

5. 脂質ラフトの修飾・改変

脂質ラフトを構成するスフィンゴ脂質とコレステロールは TritonX-100 で溶解されない強い結合をしている。しかし、メチルβサイクロデキストリン (MBCD) 処理により細胞膜のコレステロールを除去すると、ラフト構造は破壊され、集合していたタンパク質も解離してしまう²⁸⁾。また、スフィンゴミエリナーゼ処理によってもラフト構造が解離してしまう²⁹⁾。また、最近、私たちは合成脂質誘導体 PEG コレステロール処理により、ラフト構造が改変され、特にカベオラの窪みが消失してしまうことを発見した³⁰⁾。PEG コレステロールはコレステロールの親水基に巨大な PEG (ポリエチレングリコール) 分子を付加したもので、細胞膜外葉に組み込まれ蓄積されることがわかっている。このように異質な脂質成分の挿入によってもラフト構造が乱されてしまうことが考えられる。

6. 脂質ラフトの多様性

従来の脂質ラフトの定義は、低温で TritonX-100 に不溶性のスフィンゴ糖脂質とコレステロールに富んだ構造とされているが、最近これとは異なる性質を持ったラフト構造が報告され始めている。ハイデルベルグ大学の Huttner らは Triton X-100 には溶解するが、別のデタージェント Lubrol には不溶性のラフトを発見した¹⁹⁾。興味深いことにこの Lubrol ラフトは細胞表面の微絨毛に限局しており、同じ細胞頂部の膜でも、構造に応じて異なるラフトが混在していることが想定された。

・脂質ラフトの最近の考え方

これまで述べてきたように脂質ラフトは細胞表面で集合離散を繰り返す微小領域で、しかも性質の異なるラフトが混在していることがわかった。それでは、細胞膜に数多く存在する膜タ

ンパク質はどのように脂質膜内を移動して、これらのラフト構造に集合していくのだろうか。最近この疑問に答える魅力的な仮説が提唱された。それは膜タンパク質がごく少数の親和性を持つ脂質と小さな複合体 (リピッドシェル) を形成しているというものである¹⁸⁾。リピッドシェルは結合している脂質がごく少数なため、それだけでは膜ドメインを形成できないが、膜内を移動するときには脂質と同等の流動性をもって自由に拡散し、脂質同士の親和性にしたがって、既存のラフト構造に出入りすることができる。この仮説はまだ検証されていないが、膜タンパク質のラフトへの集合を考える上で一つの手がかりを与えていると思われる。

・まとめ

これまで均一無構造なものにとらえられていた膜脂質は不均一で、脂質ラフトに代表される特殊な領域がモザイク状に混在していることが明らかになった。脂質ラフトはシグナル伝達の場合を提供しているため、その改変・修飾は細胞内情報伝達機構の異常や細胞内物質輸送の障害を引き起こす。また、アミロイドβタンパク質やプリオンタンパク質が脂質ラフトに集積することから、アルツハイマー病やプリオン病の病態形成にも重要な役割を演じていると考えられる。今後、脂質ラフトの *in situ* の性状を明らかにすることでこれらの疾患に対する新たな治療アプローチが生まれる可能性がある。

文 献

- 1) Singer SJ, Nicolson GL: The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science*, **175**: 720-731, 1972.
- 2) Herrmann A, Muller P: A model for the asymmetric lipid distribution in the human erythrocyte membrane. *Biosci Rep*, **6**: 185-191, 1986.
- 3) Devaux PF: Static and dynamic lipid asymmetry in cell membranes. *Biochemistry*, **30**: 1163-1173, 1991.
- 4) Rosing J, Speijer H, Zwaal RF: Prothrombin activation on phospholipid membranes with positive electrostatic potential. *Biochemistry*, **27**: 8-11,

- 1988.
- 5) Daleke DL, Huestis WH: Erythrocyte morphology reflects the transbilayer distribution of incorporated phospholipids. *J Cell Biol*, **108**: 1375–1385, 1989.
 - 6) Fadok VA, Voelker DR, Campbell PA, Cohen JJ, Bratton DL, Henson PM: Exposure of phosphatidylserine on the surface of apoptotic lymphocytes triggers specific recognition and removal by macrophages. *J Immunol*, **148**: 2207–2216, 1992.
 - 7) Koopman G, Reutelingsperger CP, Kuijten GA, Keehnen RM, Pals ST, van Oers MH: Annexin V for flow cytometric detection of phosphatidylserine expression on B cells undergoing apoptosis. *Blood*, **84**: 1415–1420, 1994.
 - 8) Emoto K, Toyama-Sorimachi N, Karasuyama H, Inoue K, Umeda M: Exposure of phosphatidylethanolamine on the surface of apoptotic cells. *Exp Cell Res*, **232**: 430–4, 1997.
 - 9) Yamada E: The fine structure of the gall bladder epithelium of the mouse. *J Biophys Biochem Cytol*, **1**: 445–458, 1995.
 - 10) Razani B, Lisanti MP: Caveolins and caveolae: molecular and functional relationships. *Exp Cell Res*, **271**: 36–44, 2001.
 - 11) Rothberg KG, Heuser JE, Donzell WC, Ying YS, Glenney JR, Anderson RG: Caveolin, a protein component of caveolae membrane coats. *Cell*, **68**: 673–678, 1992.
 - 12) Murata M, Peranen J, Schreiner R, Wieland F, Kurzchalia TV, Simons K: VIP21/caveolin is a cholesterol-binding protein. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **92**: 10339–10343, 1995.
 - 13) Schmid SL: Clathrin-coated vesicle formation and protein sorting: an integrated process. *Annu Rev Biochem*, **66**: 511–548, 1997.
 - 14) Beck KA, Keen JH: Interaction of phosphoinositide cycle intermediates with the plasma membrane-associated clathrin assembly protein AP-2. *J Biol Chem*, **266**: 4442–4447, 1991.
 - 15) Rohde G, Wenzel D, Haucke V: A phosphatidylinositol (4,5)-bisphosphate binding site within mu2-adaptin regulates clathrin-mediated endocytosis. *J Cell Biol*, **158**: 209–214, 2002.
 - 16) Simons K, Ikonen E: Functional rafts in cell membranes. *Nature*, **387**: 569–572, 1997.
 - 17) Kurzchalia TV, Parton RG: Membrane microdomains and caveolae. *Curr Opin Cell Biol*, **11**: 424–431, 1999.
 - 18) Anderson RG, Jacobson K: A role for lipid shells in targeting proteins to caveolae, rafts, and other lipid domains. *Science*, **296**: 1821–1825, 2002.
 - 19) Roper K, Corbeil D, Huttner WB: Retention of prominin in microvilli reveals distinct cholesterol-based lipid micro-domains in the apical plasma membrane. *Nat Cell Biol*, **2**: 582–592, 2000.
 - 20) Salzer U, Prohaska R: Stomatin, flotillin-1, and flotillin-2 are major integral proteins of erythrocyte lipid rafts. *Blood*, **97**: 1141–1143, 2001.
 - 21) Anderson RG: Plasmalemmal caveolae and GPI-anchored membrane proteins. *Curr Opin Cell Biol*, **5**: 647–652, 1993.
 - 22) Liu P, Wang P, Michaely P, Zhu M, Anderson RG: Presence of oxidized cholesterol in caveolae uncouples active platelet-derived growth factor receptors from tyrosine kinase substrates. *J Biol Chem*, **275**: 31648–31654, 2000.
 - 23) Arbuzova A, Murray D, McLaughlin S: MARCKS, membranes, and calmodulin: kinetics of their interaction. *Biochim Biophys Acta*, **1376**: 369–379, 1998.
 - 24) Song L, Hobaugh MR, Shustak C, Cheley S, Bayley H, Gouaux JE: Structure of staphylococcal alpha-hemolysin, a heptameric transmembrane pore. *Science*, **274**: 1859–1866, 1996.
 - 25) Mahfoud R, Garay N, Maresca M, Yahi N, Puigserver A, Fantini J: Identification of a common sphingolipid-binding domain in Alzheimer, prion, and HIV-1 proteins. *J Biol Chem*, **277**: 11292–11296, 2002.
 - 26) Sanghera N, Pinheiro TJ: Binding of prion protein to lipid membranes and implications for prion conversion. *J Mol Biol*, **315**: 1241–1256, 2002.
 - 27) Hoessli DC, Ilangumaran S, Soltermann A, Robinson PJ, Borisch B, Nasir UD: Signaling through sphingolipid microdomains of the plasma membrane: the concept of signaling platform. *Glycocon J*, **17**: 191–197, 2000.
 - 28) Keller P, Simons K: Cholesterol is required for surface transport of influenza virus hemagglutinin. *J Cell Biol*, **140**: 1357–1367, 1998.
 - 29) Naslavsky N, Shmeeda H, Friedlander G, Yanai A, Futerman AH, Barenholz Y, et al.: Sphingolipid depletion increases formation of the scrapie prion protein in neuroblastoma cells infected with prions. *J Biol Chem*, **274**: 20763–20771, 1999.
 - 30) Baba T, Rauch C, Xue M, Terada N, Fujii Y, Ueda H, et al.: Clathrin-dependent and clathrin-independent endocytosis are differentially sensitive to insertion of poly (ethylene glycol)-derivatized cholesterol in the plasma membrane. *Traffic*, **2**: 501–512, 2001.

Current Concept of Lipid Rafts**Takeshi BABA***Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Yamanashi University 1110 Shimokato, Tamaho, Yamanashi 409-3898, Japan*

Abstract: Lipid raft is a membrane microdomain enriched in sphingolipid and cholesterol in the plasma membrane. Recent studies revealed that various signaling molecules, certain kinds of pathogen or amyloid beta proteins were accumulated in the lipid raft. Membrane lipids, which had been otherwise underestimated as a simple solvent of membrane proteins, are actually well-organized and play important roles in the maintenance of cellular functions.

Key words: lipid raft, plasma membrane, caveolae, cholesterol, sphingomyelin