

# コレステロールはいかにして細胞膜を破れにくくするか?

## ～生体膜分子動力学が明らかにする分子の世界～



研究ノート

重松 大輝\*, 越山 顯一朗\*\*, 和田 成生\*\*\*

How Does Cholesterol Enhance Toughness of Biological Cell Membrane?:  
A Molecular Dynamics Simulation Study

Key Words : Phospholipid bilayer, Phase transition, Interdigitation

## はじめに

“コレステロール”と聞いて何を思い浮かべるだろうか。健康診断の際の血中コレステロール値を気にし、あまりいい印象を持たない方もいるかもしれない。しかし、コレステロールは生体にとって、生理的な側面からだけでなく、物理的、さらに言うと力学的な側面からもとても重要な分子である。

いわゆる血中コレステロールは血液の血漿成分中のコレステロールとタンパク質の複合体のことを指



\* Taiki SHIGEMATSU

1990年3月生まれ  
大阪大学 大学院基礎工学研究科 機能創成専攻博士後期課程（2015年）  
現在、大阪大学 大学院基礎工学研究科 機能創成専攻 助教 博士（工学）  
TEL：06-6850-6550  
E-mail : shigematsu@bpe.es.osaka-u.ac.jp



\*\* Kenichiro KOSHIYAMA

1979年4月生まれ  
北海道大学 大学院工学研究科 機械科学専攻博士後期課程（2007年）  
現在、徳島大学 大学院社会産業理工学研究部 理工学域 機械科学系 准教授  
博士（工学）  
TEL：088-656-9187  
E-mail : koshiyama@tokushima-u.ac.jp



\*\*\* Shigeo WADA

1963年10月生まれ  
大阪大学 大学院基礎工学研究科 物理系専攻博士後期課程（1991年）  
現在、大阪大学大学院 基礎工学研究科 機能創成専攻 教授 博士（工学）  
TEL：06-6850-6170  
E-mail : shigeo@me.es.osaka-u.ac.jp

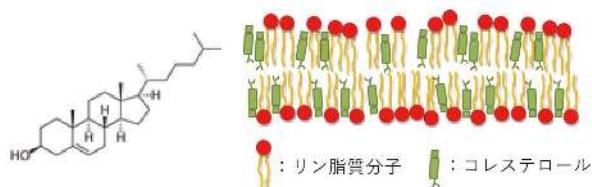


図1 コレステロール分子の化学構造（左）とリン脂質二重膜の模式図（右）

ですが、ここで話題とするコレステロールは細胞膜中に存在するコレステロールである。細胞膜は細胞の内外を隔てている要素であり、その厚さは5-10 nm程度である。主にリン脂質分子が二層に並んだ構造から成り、その部分は特にリン脂質二重膜と呼ばれる（図1）。コレステロールはそのリン脂質二重膜の隙間を埋めるように存在している。膜内におけるコレステロールの含有率は、生物種・細胞種などによって大きく異なるが、特に哺乳類のリン脂質二重膜中には豊富に存在し、多くの細胞で20-30 mol%，赤血球では40-50 mol%程度と非常に高い[1]。

これまでに数多くの実験により、コレステロールの含有は、リン脂質二重膜の様々な力学的な特性に影響を与えることが明らかになっている。例えば、コレステロールが含有すると、膜が引張を受けても破れにくくなる[2]。さらに、コレステロール含有率が40 mol%の膜が、最も大きな膜面積の増加率（面積ひずみ）が負荷された状況に対して破れずに耐えうることが示されている[2]。興味深いことに、この最も破れにくいコレステロール含有率は、血液中を流れながら常に変形を繰り返している赤血球の膜での含有率と概ね一致している。

他にコレステロールが膜に与える影響としてよく知られているものに、膜の面積弾性率の増加がある。つまり、コレステロールを含む膜は膜面積の変化が起こりにくいわけだ。前述の膜が破断する面積増加

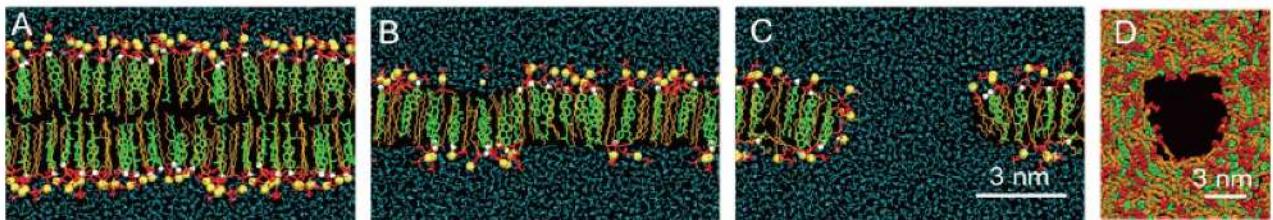


図2 コレステロールを40 mol%で含むリン脂質二重膜のスナップショットの一例。パネルA,B,Cはそれぞれ引張前、引張下の孔形成前、引張下の孔形成後における膜の断面図。パネルDはパネルCにおける上面図。リン脂質分子の親水性頭部を赤、疎水性尾部をオレンジ、リン脂質分子のリン原子を黄、コレステロールを緑、コレステロールのヒドロキシ基の水素を白、水分子を青で表示。パネルDにおいては、水分子は非表示。図は[5]より改変。

率の上昇と合わせて考えると、コレステロールの含有は膜面積の増加を抑えるとともに、破れずに耐えることができる膜面積の増加量も増やすことができるうことになり、膜をよく丈夫にするといえるだろう。多くの材料においては、これら2つの特性はトレードオフの関係にあり、コレステロールの含有がそれらの両立を成し遂げていることは非常に興味深い。

以上のようにコレステロールは膜の変形や破断に對して大きな影響を与える。しかし、膜の破断はリン脂質分子やコレステロールの再配列を伴う分子スケールかつ進行が非常に速い現象である。そのため、実験による直接的な観察は難しく、その破断の過程においてコレステロールが果たしている役割には分からことが多い。我々は分子スケールの現象を数値的に再現する手法である分子動力学法を用いて、力学的な負荷による膜破断過程にコレステロールが与える影響を分子レベルで明らかにしてきた。本稿では、膜破断の初期段階である微小孔の形成について我々が取り組んできた研究について、破断の初期段階[4,5]、引張による指構造相への相転移メカニズム[6]の順に紹介していく。

### 破断の初期段階：微小孔の形成

リン脂質二重膜の破断は、微小な孔（図2CおよびD参考）が膜に形成されることから始まる[3]。この微小孔は不安定な存在で、孔径や膜にかかっている張力の大きさなどによって、孔が自発的に縮小して閉じたり、拡大が止まらなくなったりする。後者の場合というのが膜の破断だと考えられている。つまり、膜が破断する第一段階である微小孔の形成に対してコレステロールはどのような影響を与えていているのか、分子レベルでは何が起こっているのかを明らかにすることが重要である。

我々は、まず、分子動力学シミュレーション中で、リン脂質二重膜を引張り、孔形成の過程を数値的に再現することに取り組んだ[4,5]。ここで引張は膜に面積ひずみを与えることで表現した。図2に引張前後および孔形成前後の膜のスナップショットを示す。膜が受けている面積ひずみが増えると、膜厚が減少し（図2AおよびB）、やがて膜の内部に水分子が数個侵入した。それが呼び水となり、多数の水分子が膜内に入りだし、その後、膜に孔が形成された（図2CおよびD）。この引張シミュレーションを様々なコレステロール含有率の膜に対して行った結果、コレステロールを含む膜の方が含まない膜より大きな面積ひずみに耐えられることが分かった。また、コレステロールを含む膜の中では、コレステロールを40 mol%で含む膜が最も孔が形成されにくくことも分かった。この結果から、実験から報告されているコレステロールが膜の破断に与える影響[2]と同じような影響が孔の形成に対しても見られることが明らかになった。

さらに、この40 mol%の膜において、分子レベルで何が起こっているかを詳しく観察した（図2）。引張前では膜は二層構造をとっているが（図2A）、孔形成直前の膜が大きな引張を受けた状態では、上下の層が互いに噛み合い、リン脂質分子とコレステロールが膜に垂直な方向に秩序だって配向していることがわかる（図2B）。この膜構造はリン脂質二重膜がとりうる相状態の一つである指構造相と呼ばれる相状態の構造とよく似ていた。この相状態では、膜が二層構造から一層構造へと変化するため、見かけの膜面積が増加する。これらの知見より、この相転移による膜面積の増加により、コレステロールを含む膜は破れずに大きく変形できることが予測できた。

## 引張による指組構造相への相転移メカニズム

さて、何故、引張を受けたコレステロールを含む膜において、指組構造相への相転移が起きたのだろうか。これまで、指組構造相はリン脂質二重膜を高静水圧や低級アルコールに晒した場合に観察されてきたが、引張がこのような相転移を引き起こすという実験報告は未だない。そこで、どんな条件で相転移が起こるのか、どんな原理で起こるのかを明らかにするために、引張による指組構造相への相転移を膜の自由エネルギーのバランスから説明できないか試みた[6]。ここでは、引張下の膜がもつ自由エネルギーを膜の弾性変形、水一膜の界面での表面張力、指組構造相と他の相との境界の3つのエネルギーの和としてモデル化し、モデル上でどの程度の面積ひずみを与えると相転移が起こるのかを調べた。結果として、このモデルから得られた相転移の相図は分子動力学シミュレーションから得られた相図とよく一致し、この相転移現象がこれら3つのエネルギーのバランスから説明できることが示された。さらに、このモデルを用いることで、面積弾性率が高い膜ほど相転移しやすいことが分かり、コレステロールの膜面積弾性率を上げる効果がこの相転移とそれが引き起こすコレステロール含有膜特有の破れにくさにつながったのではないかと考えられた。

## おわりに

コレステロールがリン脂質二重膜を破れにくくする原因是、引張が指組構造相への相転移を引き起こし、膜破断の初期段階である微小孔の形成を妨げているのではないかということを分子動力学シミュレーションの結果から示した。さらに、膜の自由エネルギーモデルを提案し、引張による指組構造相への相転移メカニズムを明らかにした。これらの研究から、数値計算上および理論上で、「引張による指組構造相への相転移」という現象が見つかったわけだ。しかし、前述の通り、この相転移の直接の実験観察

は未だ報告されておらず、今後、実験的手法による検証が待たれる。

分子動力学シミュレーションを含む分子シミュレーションは、現状では観測できない分子の世界に隠れている面白い現象を“数値計算上”で見つけ出すことができる。この数値計算上の発見は、現実での発見を促し、いざ分子の世界を実際に観察できるようになれば、そこでの現象の理解を助ける確かな知見となるだろう。

## 謝辞

本研究は一部JSPS科研費17K13033および15K01284の援助を受けた。

## 参考文献

- 1) B. Alberts et al., 1994. Molecular Biology of the Cell, third ed. Garland Publishing, New York.
- 2) D. Needham and R.S. Nunn, 1990. Elastic deformation and failure of lipid bilayer membranes containing cholesterol, *Biophys. J.* 58, 997-1009.
- 3) J.D. Litster, 1975. Stability of lipid bilayers and red blood cell membranes, *Phys. Lett. A* 53, 193-4.
- 4) T. Shigematsu et al., 2014. Molecular dynamics simulations of pore formation in stretched phospholipid/cholesterol bilayers, *Chem. Phys. Lipids* 183, 43-9.
- 5) T. Shigematsu et al., 2015. Effects of Stretching Speed on Mechanical Rupture of Phospholipid/Cholesterol Bilayers: Molecular Dynamics Simulation, *Sci. Rep.* 5, 15369.
- 6) T. Shigematsu et al., 2018. Stretch-Induced Interdigitation of a Phospholipid/Cholesterol Bilayer, *J. Phys. Chem. B*, 122, 2556-63.