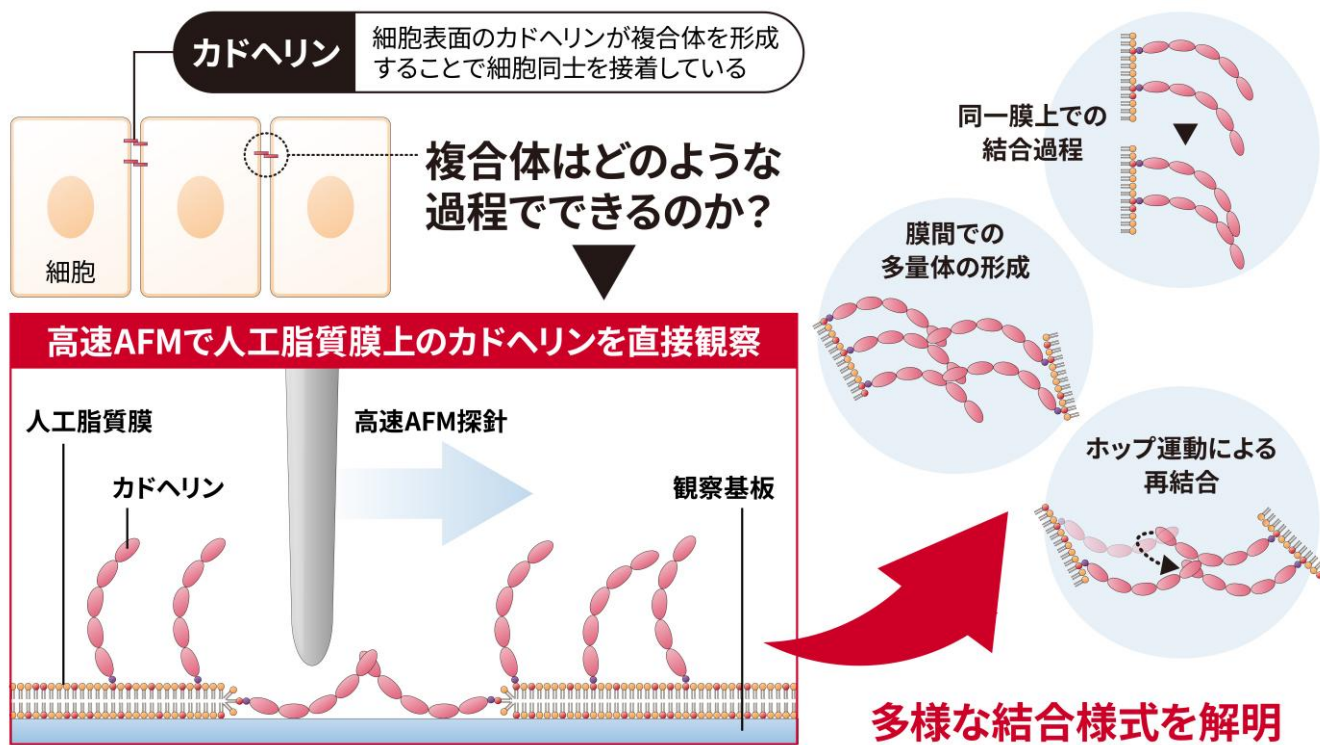


細胞間接着分子がつながる瞬間を膜の上でとらえた

細胞膜を模した人工脂質膜を用いて解き明かすカドヘリン複合体の結合過程

ポイント

- 細胞膜に近い環境を人工脂質膜上で再現し、細胞間接着分子カドヘリンの結合・解離を直接観察
- 高速原子間力顕微鏡（高速 AFM）により、カドヘリン複合体の動的な結合過程を分子レベルで可視化
- 静的な構造情報では説明できない多様な動的結合様式を解明し、細胞間接着・関連疾患に新たな知見



概要

国立研究開発法人産業技術総合研究所（以下「産総研」という）モレキュラーバイオシステム研究部門 西口 茂孝 主任研究員と、国立大学法人東京科学大学 生命理工学院 古田 忠臣 助教、国立大学法人東海国立大学機構名古屋大学 大学院理学研究科 内橋 貴之 教授（大学共同利用機関法人自然科学研究機構 生命創成探究センター 客員教授）の研究チームは共同で、細胞膜を模した人工脂質膜上でカドヘリン複合体の結合過程を再現し、高速原子間力顕微鏡（高速 AFM）によって、その動きを分子レベルで直接観察しました。

カドヘリンは、細胞表面に存在する膜タンパク質で、隣り合う細胞同士をつなぎとめる役割を担います。細胞膜上では多数のカドヘリンが集まり複合体を形成することで、細胞同士の接着が安定し、組織の形や構造が保たれま

す。一方、こうした複合体が膜上でどのように結合・解離するのかを分子が動く状態のまま直接捉えることは難しく、細胞間接着の実際の過程には未解明の点が残されていました。

今回、研究チームは、細胞膜を模倣した人工脂質膜上にカドヘリンを配置することで、これまで観察が困難だったカドヘリン複合体の結合過程の観察を可能にしました。液中における分子の構造や動きをナノメートル・ミリ秒の時空間分解能で観察可能な高速 AFM を用いた直接観察により、従来の静的な構造モデルだけでは十分に説明できない、カドヘリンの多様な配置や結合過程の存在が明らかになりました。本成果は、細胞間接着の基本原理の理解を深めるとともに、発生異常やがん細胞の浸潤など関連する疾患メカニズムの解明にもつながる可能性があります。今回の観察手法は、カドヘリン以外の細胞間接着分子や膜タンパク質の相互作用解析にも応用が期待されます。

なお、この技術の詳細は、2026 年 10 月 7 日に「*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)*」にオンライン掲載されました。

下線部は【用語解説】参照

研究の社会的背景

多細胞生物のからだでは、細胞が単に集まっているだけでなく、互いに接着し、位置関係を保ちながら組織を形作っています。細胞間接着は、発生の過程で組織や臓器が正しく形成されるためだけでなく、成体になった後も皮膚や上皮、神経組織などの構造と機能を維持するために重要です。

カドヘリンは、こうした細胞間接着を担う代表的な膜タンパク質です。隣り合う細胞の膜表面にそれぞれ存在するカドヘリン同士が結合することで、細胞同士のつながりが安定し、組織としてのまとまりが保たれます。また、カドヘリンを介した接着は、細胞の形や並び方、移動、増殖などにも関わるため、単なる「接着剤」ではなく、組織形成を支える重要な情報伝達の間としても注目されています。

一方、カドヘリンの働きや発現のバランスが乱れると、細胞同士の接着が弱まり、細胞の配置や移動が変化することがあります。こうした変化は、発生異常に加え、がん細胞が周囲の組織へ広がる浸潤や転移の過程にも関わると考えられています。そのため、カドヘリンが細胞膜上でどのように結合し、解離するのかを詳しく理解することは、基礎生物学だけでなく、疾患メカニズムの解明にもつながる重要な研究課題です。

研究の経緯

カドヘリン同士の結合はからだの形態形成に必須であり、その結合異常はがん細胞の浸潤やさまざまな疾患にも関与することから、カドヘリンの結合メカニズムは 1970 年代から半世紀近く研究されています。従来、カドヘリンのようなタンパク質の結合構造は、タンパク質を大量に精製して結晶化したり凍結した状態にして調べられていました。この方法で得られるのは結合した状態の静的な構造で、分子が実際にどのように動きながら結合しているのかは分かりません。高速 AFM は、液中でタンパク質が結合する様子を、ナノメートル・ミリ秒の時空間スケールで動的に調べることができます。

細胞間接着は、2 つのカドヘリンの二量体形成から始まり、その後に複数のカドヘリンが多量体を形成することで強化されると考えられています(図 1)。研究チームは、これまでに精製したカドヘリンが二量体を形成する様子を、高速 AFM で直接観察することに成功し、カドヘリンがフリップしながら二量体を形成する結合過程を明らかにしていました[1] (図 1)。しかし、精製したカドヘリンのみの観察では実際の細胞膜上で生じると言われている多量体形

成を確認することはできず、カドヘリンがどのように多量体を形成するのかは明らかにできていませんでした。そこで今回、新たに細胞膜環境を模倣した人工脂質膜を使用した観察技術を開発することで、カドヘリンの多量体形成を誘導して観察できるのではないかと考え、人工脂質膜と高速 AFM を用いたカドヘリンの多量体観察手法の開発に取り組みました。

なお、本研究は、JSPS 科研費（JP22K14577、JP24K01309、JP26H01626）、文部科学省 共同利用・共同研究システム形成事業 ～学際領域展開ハブ形成プログラム～（JPMXP1323015482）による支援を受けています。

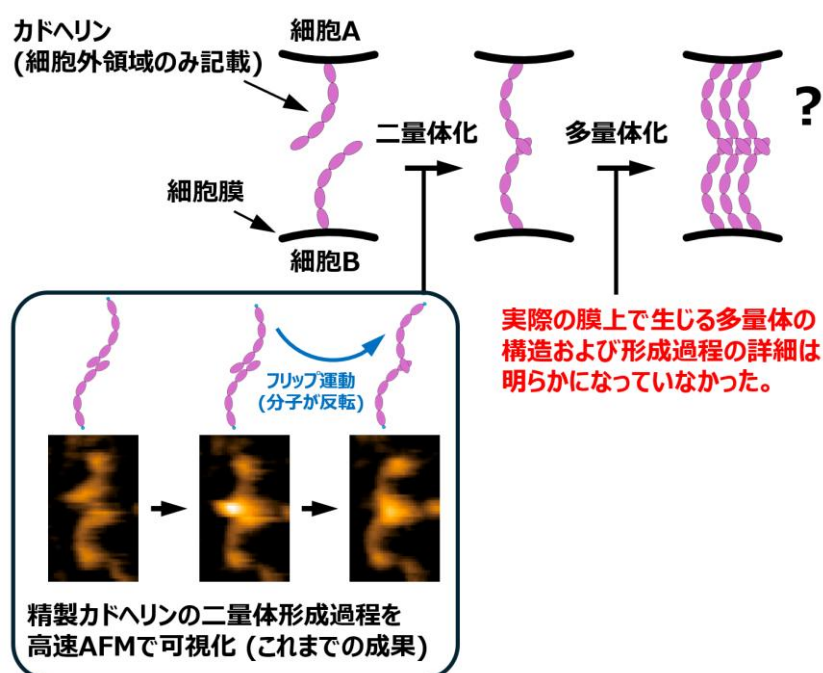


図 1 高速 AFM で観察された精製カドヘリンの二量体形成（これまでの成果[1]）

研究の内容

これまで、人工脂質膜上における膜タンパク質の高速 AFM 観察は、他の研究者らによっても取り組まれてきましたが、カドヘリンが細胞外に大きく露出した構造をもつことから、脂質膜-タンパク質間の高低差や脂質膜上でのタンパク質の活発な運動により、高速 AFM 観察におけるカンチレバー探針によるスキャンが阻害されるため観察できないという技術的課題がありました（図 2）。そこで、研究チームは、カドヘリンを脂質膜に固定化するためのタンパク質と脂質の化学修飾、流動性の低い脂質を主成分とした混合脂質膜の組成、観察基板上における人工脂質膜の配置など、さまざまな条件を検討し、パッチ状に配置した人工脂質膜の端面に精製カドヘリンを固定化することで、カドヘリンの配向や運動に起因するカンチレバー探針のスキャンの阻害を低減して観察する方法を新たに開発しました（図 2）。

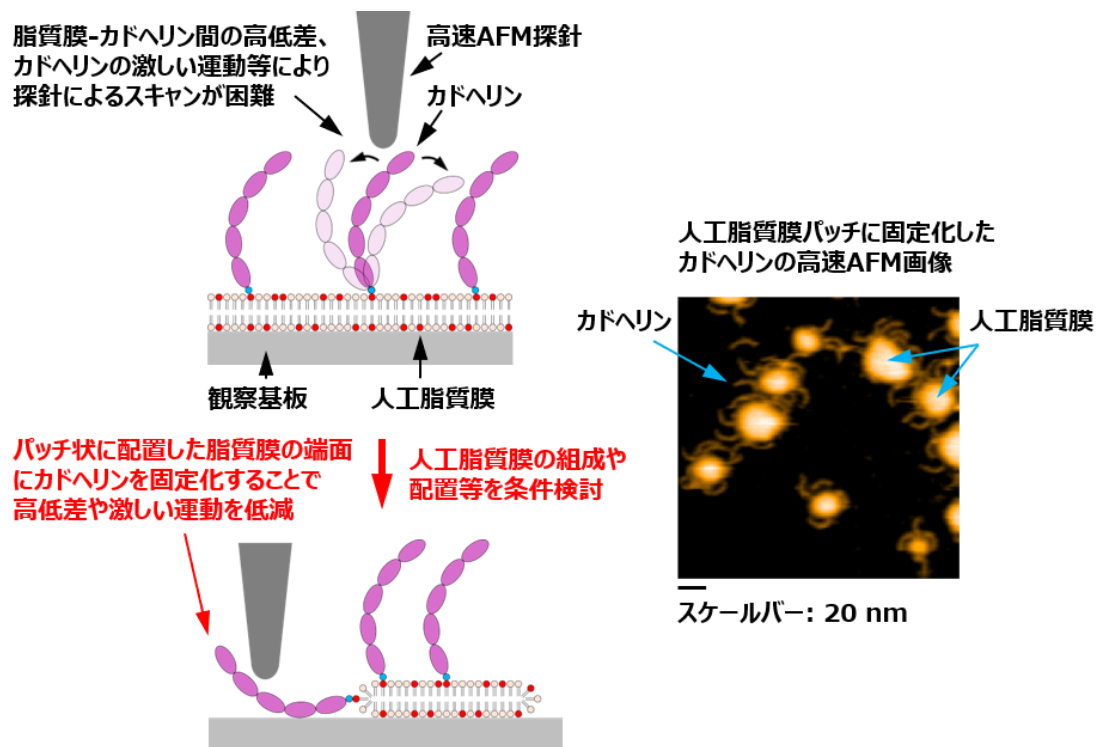


図2 本研究で開発した人工脂質膜上におけるカドヘリンの高速 AFM 観察手法

※研究データをもとに作成

人工脂質膜上でのカドヘリンの高速 AFM 観察の結果、人工脂質膜への固定化によりカドヘリンが多量体を形成することが明らかになりました。これは、膜の有無によって細胞間接着タンパク質にとって重要な結合機能が変化することを示す成果です。また、過去に報告されたカドヘリンの結晶構造解析では、カドヘリンは相対する膜間における結合（トランス結合）と同一膜上における結合（シス結合）によって多量体を形成する可能性が示唆されていました（図3）。しかし、実際の膜上で同様の構造を形成するかについては分かっていませんでした。そこで、過去に報告された結晶構造モデルから再構成したシミュレーション AFM 画像と実際に人工脂質膜上で観察したカドヘリンの高速 AFM 画像を比較した結果、カドヘリンは人工脂質膜上でも結晶構造モデルと同様の多量体を形成することが分かりました（図3）。さらに、シミュレーション AFM 像とは異なる、これまでに報告されていない新規の構造の多量体も観察されました（図4）。これらの結果は、脂質膜上において、カドヘリンが既知の多量体構造だけでなく、多様な結合様式の多量体を形成することを示す新しい発見です。

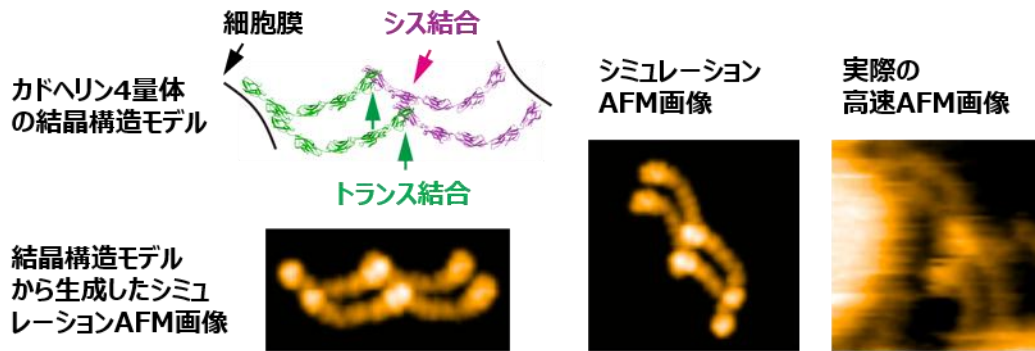


図3 カドヘリン多量体のシミュレーション AFM 画像と高速 AFM 画像

※研究データをもとに作成

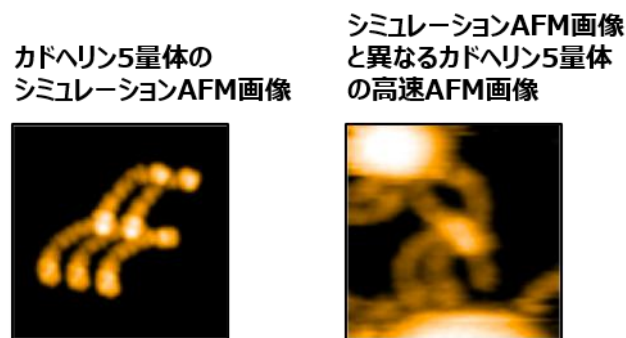


図4 新たに発見された結晶構造モデルとは異なるカドヘリン多量体の高速 AFM 画像

※研究データをもとに作成

さらに、脂質膜上におけるカドヘリンの多量体形成過程を観察した結果、カドヘリンは研究チームがこれまでに観察した分子が反転するフリップ運動による結合（図1）だけでなく、相対する脂質膜間において、フリップ運動を経ずに相手側のカドヘリンにトランス結合することも明らかになりました（図5）。分子がホップするように相手側のカドヘリンに結合していることから、この運動をホップ運動と名付けました。これは、カドヘリンのトランス結合過程に、これまでに知られていたフリップ運動による結合経路だけではなく、ホップ運動による結合経路も存在することを示す新たな知見です。また、カドヘリンが多量体を形成する際に、相対する膜間におけるトランス結合と、同一膜上におけるシス結合がどのような順序で進行するかについても長年議論されてきましたが、今回の高速AFMによる直接観察により、単一の結合経路ではなくさまざまな順序を経て多量体を形成し得ることが初めて明らかになりました（図6）。これらの結果は、カドヘリンの結合メカニズムやカドヘリンの結合異常による疾患発生メカニズムを理解するための重要な研究成果です。

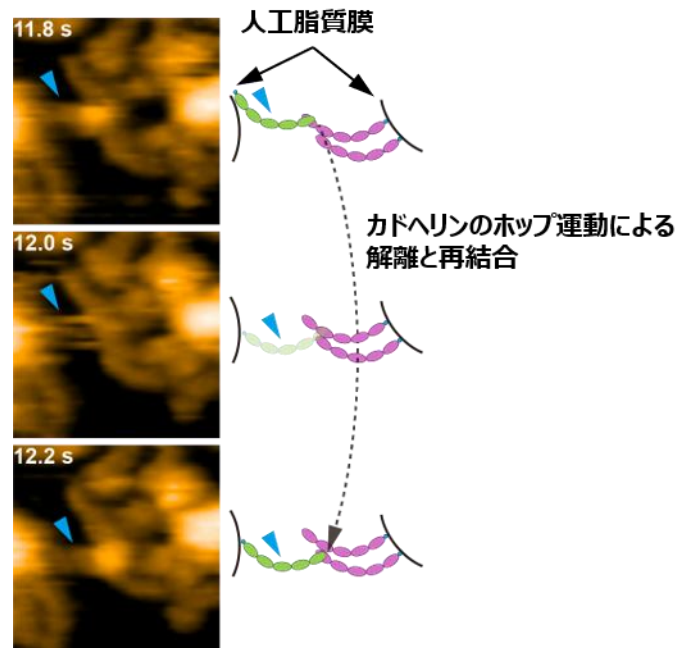


図5 高速 AFM で観察された相対する膜間におけるホップ運動によるトランス結合過程

※研究データをもとに作成

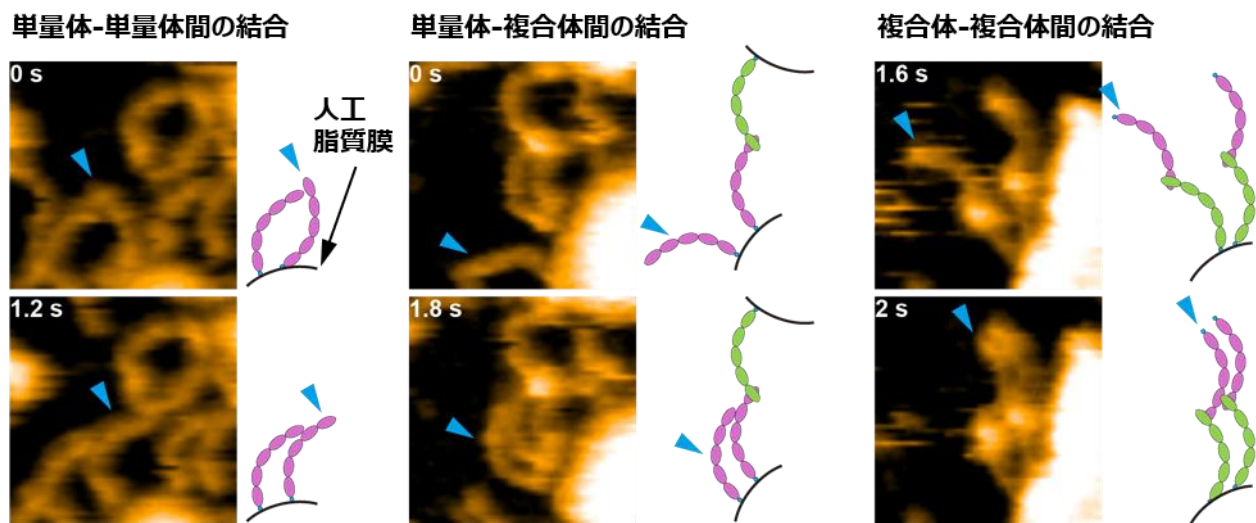


図6 高速 AFM で観察された同一膜上における多様なシス結合過程

※研究データをもとに作成

今後の予定

実際の細胞膜上では、カドヘリンだけでなく、さまざまな種類の細胞間接着タンパク質によって細胞同士がつながれており、これらのタンパク質の結合機能の異常が、がん細胞の浸潤、白血病、心疾患などの疾患を引き起こすことが知られています。カドヘリン以外の細胞間接着タンパク質が結合する様子を直接観察した先行研究はなく、本研究成果はさまざまな細胞間接着タンパク質の結合メカニズムの解明に有用な技術となることが期待できます。今後はカドヘリン以外の細胞間接着タンパク質にも本技術を適用することで、これらのタンパク質の結合メカニズム

の解明や結合異常を制御するための薬剤評価への応用を目指します。また、実際の細胞膜上では細胞間接着タンパク質の結合状態が細胞で生じる力によってコントロールされていることが知られています。今回開発した人工脂質膜上におけるタンパク質の観察技術にさらに力を加える技術を追加することで、より細胞膜上に近い環境での解析技術開発も目指します。

論文情報

掲載誌：*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)*

論文タイトル：*Trans- and cis-interaction dynamics of cadherin complexes on membranes visualized by high-speed atomic force microscopy*

著者：Shigetaka Nishiguchi, Tadaomi Furuta, Takayuki Uchihashi

DOI：<https://doi.org/10.1073/pnas.2620441123>

参考情報

[1] Nishiguchi, S. et al. Multiple dimeric structures and strand-swap dimerization of E-cadherin in solution visualized by high-speed atomic force microscopy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)*. 2022, vol. 119, no. 30, e2208067119. DOI: 10.1073/pnas.2208067119.

用語解説

カドヘリン

細胞と細胞をつなぐカルシウム依存性の細胞間接着タンパク質。カドヘリンは細胞外領域、膜貫通領域、細胞質領域から構成されており、細胞外領域が細胞間における結合を担っている。

高速原子間力顕微鏡（高速 AFM）

AFM は観察基板に吸着したタンパク質などの観察対象物を先鋭な探針でなぞる（スキャンする）ことにより、試料の表面形状をナノメートル分解能で画像化できる顕微鏡である。高速 AFM ではサブ秒（～100 ms/frame）の時間分解能でリアルタイムイメージングが可能であり、液中におけるタンパク質やナノ材料の構造変化などの動態観察に利用されている。