

OPINION

システムの認識と統合 5

大阪医科大学生理学第1講座

今井雄介

第5章 上皮膜輸送のシミュレーション

5. 1 段階的モデル化

生体膜は環境との障壁として機能し、また物質輸送の機能をも持っている。生体膜は決して均質なのではなく各種の輸送機構が並列に埋め込まれたモザイク的なものである。それに対して人工膜は基本的に均質である。生体膜を人工膜を比較した場合、生体膜は複雑であり、人工膜は単純であるともいえる。並列複合膜の例としては、前章で水と溶質を同時に透す輸送経路(ポアー)と水のみを透す輸送経路とが並列に存在する系を紹介した。このような並列複合膜の理論的取扱についてはすでに1963年に Kedem-Katchalsky が報告している[41]。しかし生体膜はさらに多種多数のチャネル、キャリアー、ポアー、能動輸送酵素等のトランスポーターを存在させている不均質な並列複合膜である。またこのことが細胞が均質な環境下にあっても成分の取り込みと放出を可能としている。今回導入した回路網熱力学によれば、こうした複雑な複合膜の取扱が可能となることを述べる。

前章の細胞モデル(図4—6)で定常状態や環境変化に対する応答をシミュレートすることができる。例えば膵臓の内分泌機構も持つランゲルハンス島と呼ばれる組織の β 細胞の挙動を Miwa と Imai[42]はシミュレートしている。

β 細胞は血糖に応じてインシュリンを放出する。インシュリンの放出時に、この細胞はスパイクバーストと呼ばれる膜電位変化と細胞内のCa濃度のゆっくりした振動が実験的に見られる。この現象についての Kitasato らは次の作業仮説を立てている[43]。 β 細胞は糖流入によって糖代謝が促進し、これによって細胞内のATP濃度が上昇する。ATP濃度上昇はATP sensitive K^+ チャネルを閉鎖す

る。これによって緩徐な脱分極が起こる。脱分極は膜電位依存性のCaチャネルとKチャネルを次々と開き、膜電位のスパイクバーストを起こす。同時にインシュリンが放出される。Caチャネルが開くため細胞内Ca濃度は上昇する。上昇したCaは膜にあるNa-Ca交換ポンプにより細胞外へ、Naは細胞内へ輸送される。細胞へ入ったNaはNa-K-ATPポンプを活性化してNaを細胞外へ、Kは細胞内へと輸送し、ATPを消費する。その結果細胞内のATP濃度は減少して膜電位は過分極し元の条件になる。しかしまた糖代謝促進によりATP濃度が上昇して上記のサイクルを繰り返すことになる。

この Kitasato ら[43]の作業仮説を結合枝グラフ法で回路化すると図5—1となる。ここでは容積流回路はないものとして省略してある。また幾つかの略式記号を用いている。回路からは数学モデルを導くことができるのでシミュレートできる。このシミュレーション結果が実験結果を忠実に再現するものであったことから Kitasato らの仮説の妥当性が示されたと考えている[42]。

しかし結合枝グラフ表現はシステムが大きくなると極めて煩雑なものになっていく。これは当然のことであって、システムは物理的にそれ以下の全ての下位システムを含むものであり、基本エネルギー過程から大きなシステムを描き上げていくことは、あたかも小さい単位の地図を繋ぎ合わせて大きな単位の地図を作ることと同等になる。したがって、結合枝グラフを階層化して単純化する段階的モデル化法を工夫する必要がある[44]。ここで膜輸送回路モデルは直感に訴える階層化表現法を考える。

単純表現のために膜輸送および区画過程の各々を結合枝グラフでモジュール化する[31,44]。膜および区画の各々をモジュールで表現する。膜は散逸的な輸送とパワー連結輸送の起こす場であるので、抵

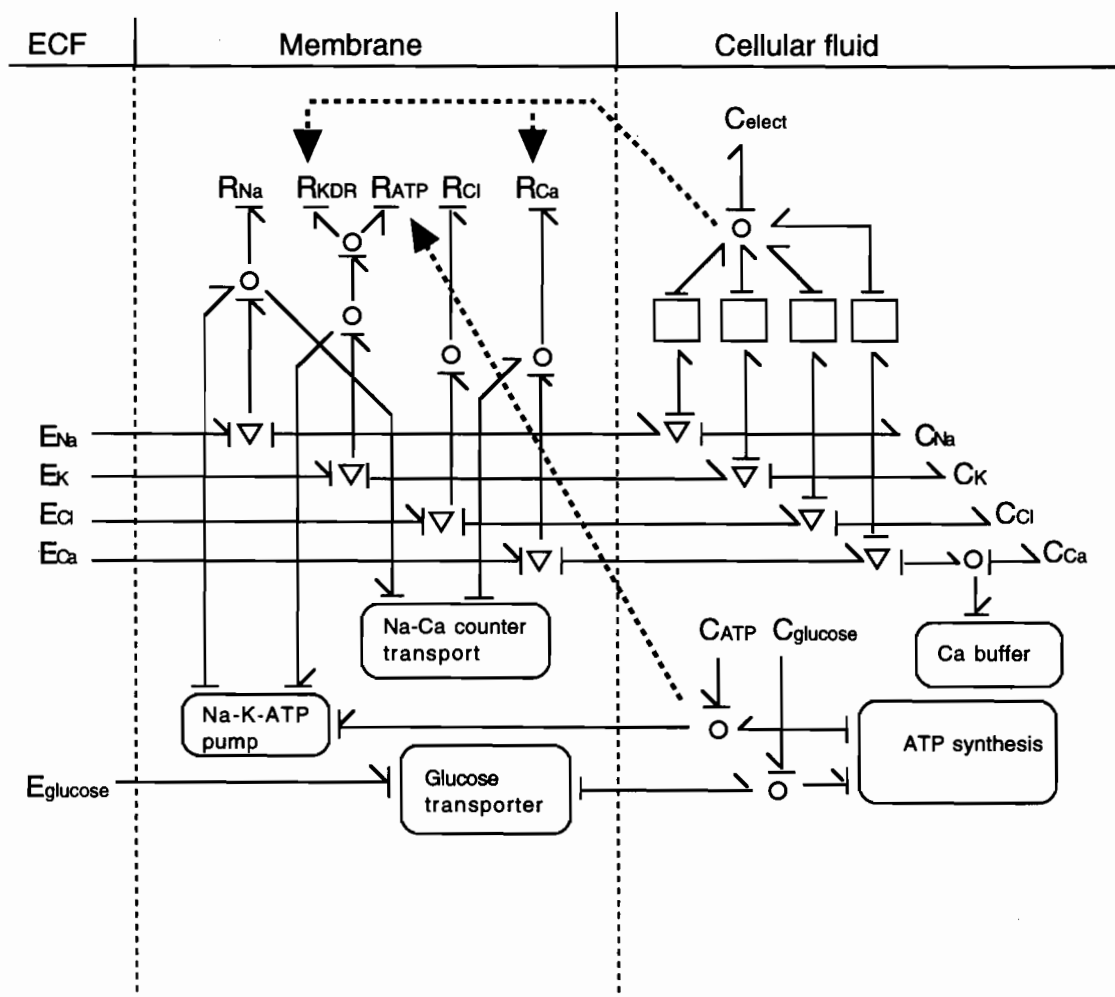


Fig. 5-1. Bond graph representation of pancreatic β cell.

抗的モジュール (Resistive Module :RM) で表現する。膜モジュールは数個の抵抗体と変換体で描き上げることができ、抵抗関係を表現する連立輸送方程式を導き出すものである。

溶液区画モジュールは数個の容量体と変換体で描き上げることができ、そこでの数種の成分の流れが成分ポテンシャルを変化させる過程を記述するもので、容量的性質を持つモジュールであり容量的モジュール (Capacitive Module :CM) で表現する。これらモジュールを段階的に組み上げて大きなモデルとする。

結合枝グラフで作った回路モデルからはシミュレーションに必要な連立微分方程式が導出できる。このモデルはコンピュータ上でシミュレートでき、

現実のシステムのように挙動する。各種の実験条件をコンピュータ上で課して現実を再現することを可能とする。またモデルが正しければ実験の予想も可能となる。

図 4-6 および図 5-1 の膜区画は抵抗的モジュールの一例である。図 4-6 の抵抗的モジュールの結合枝グラフ表現を図 5-2 a) の中央に示した。抵抗的モジュールが導出する方程式は数組の連立輸送方程式である。この抵抗的モジュールから出てくる連立輸送方程式は数組の力変数が各流を決定する抵抗関係になる。(5-1)式 1 番目は前章でも紹介した。ここで膜面積を A 、膜内酵素濃度を $[E]$ としている。Na-K-ATP pump 反応速度 J_R は膜面積、酵素濃度、反応基質濃度、内外のイオン濃度、電位

差の関数として表現される。2番目の共輸送速度 J_c はやはり膜面積、酵素濃度と内外のイオン濃度の関数として表現される。3番目以降はさらに具体的に抵抗的モジュールから導かれている。

$$\begin{aligned}
 J_R &= f(A, [E], [ATP]_i, [ADP]_i, [Pi]_i, [Na]_o, \\
 &\quad [Na]_i, [K]_o, [K]_i, \Delta\Psi) \\
 J_c &= f(A, [E], [Na]_o, [Na]_i, [K]_o, [K]_i, [Cl]_o, [Cl]_i) \\
 J_V &= AL_P(\Delta p - \Delta\pi + \sum_i(1 - \sigma_i)c_i(\Delta\mu_i + z_iF\Delta\Psi)) \\
 J_{Na} &= (1 - \sigma_{Na})c_{Na}J_V + A\omega_{Na}c_{Na}(\Delta\mu_{Na} + F\Delta\Psi) - 3J_R + J_c \\
 J_K &= (1 - \sigma_K)c_KJ_V + A\omega_Kc_K(\Delta\mu_K + F\Delta\Psi) + 2J_R + J_c \\
 J_{Cl} &= (1 - \sigma_{Cl})c_{Cl}J_V + A\omega_{Cl}c_{Cl}(\Delta\mu_{Cl} - F\Delta\Psi) + 2J_c \\
 I &= \sum_i z_i F J_i \tag{5-1}
 \end{aligned}$$

グラフから導かれる輸送方程式は流れ J が駆動力 X の関数になっているので、全ての式を駆動力または力変数で表現して、一般的な相反性を持つ Onsager の現象論的方程式とすることができる [23]。

$$\mathbf{J} = \mathbf{LX} \tag{5-2}$$

ここで、抵抗的モジュールの流変数や駆動力変数はそれぞれベクトルであって、抵抗的モジュール関係はその逆行列であるコンダクタンス行列で示される。

$$\mathbf{J} = \begin{bmatrix} J_1 \\ J_2 \\ \dots \\ J_n \end{bmatrix}$$

$$\mathbf{X} = [X_1 \ X_2 \ \dots \ X_n]$$

$$\mathbf{L} = \begin{bmatrix} L_{11} & L_{12} & \dots & L_{1n} \\ L_{21} & L_{22} & \dots & L_{2n} \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ L_{n1} & L_{n2} & \dots & L_{nn} \end{bmatrix}$$

区画モジュールの容量関係を表現する結合枝グラフは連立ポテンシャル変化速度式を導き出す。前章図4-6の右側の細胞区画は容量的モジュールの一例であり、同じものを図5-2a)の右端に示した。容量的モジュール CM からでてくる方程式は幾組かの流変数が力変数変化を決定する連立ポテンシ

ヤル変化速度式である。ここで容量的モジュールに入りする抵抗体流 J の総和を正味容量体流 f としている。

$$\begin{aligned}
 d(p - \pi)/dt &= f_V(1/k - \sum \pi_i/V) + \sum f_i RT/V \\
 d\mu_{Na}/dt &= f_{Na}RT/n_{Na} - f_V RT/V \\
 d\mu_K/dt &= f_K RT/n_K - f_V RT/V \\
 d\mu_{Cl}/dt &= f_{Cl} RT/n_{Cl} - f_V RT/V \\
 d\Psi/dt &= \sum_i z_i F J_i / C_m \tag{5-3}
 \end{aligned}$$

ポテンシャル変化速度 de/dt が容量体流 f の関数になり、一般化容量体を C で示せば結合枝グラフから次のように一般的なポテンシャル変化速度式が導かれる。

$$d\mathbf{e}/dt = \mathbf{Sf} \tag{5-4}$$

ここでポテンシャル変数の変化速度、容量体流変数はそれぞれベクトルであって容量的モジュール関係はその逆行列であるサセプタンス行列となる。

$$d\mathbf{e}/dt = \begin{bmatrix} de_1/dt \\ de_2/dt \\ \dots \\ de_n/dt \end{bmatrix}$$

$$\mathbf{f} = [f_1 \ f_2 \ \dots \ f_n]$$

$$\mathbf{S} = \begin{bmatrix} 1/C_{11} & 1/C_{12} & \dots & 1/C_{1n} \\ 1/C_{21} & 1/C_{22} & \dots & 1/C_{2n} \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ 1/C_{n1} & 1/C_{n2} & \dots & 1/C_{nn} \end{bmatrix}$$

したがって、

$$\mathbf{e} = \mathbf{e} + d\mathbf{e} \tag{5-5}$$

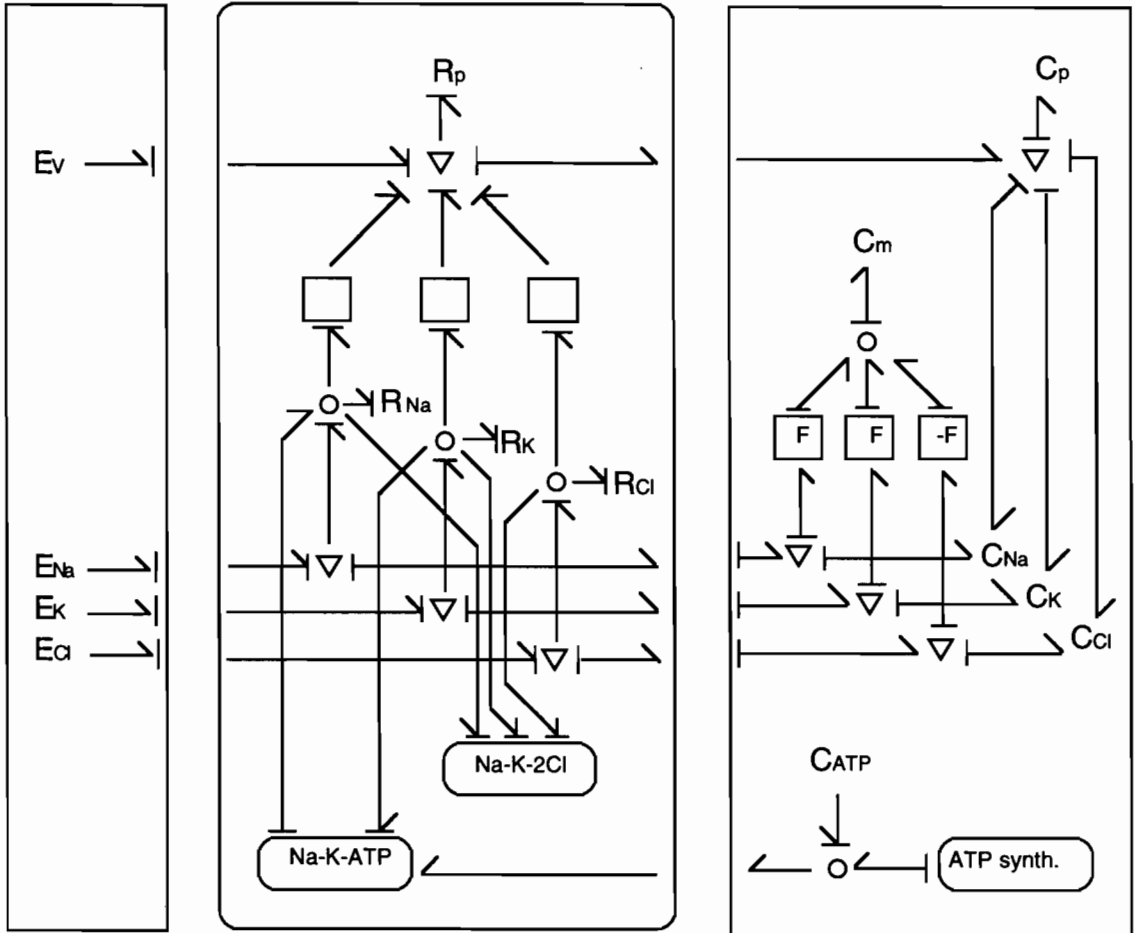
$$\mathbf{X} = \Delta \mathbf{e} \tag{5-6}$$

結合枝グラフ法で内容を記述した抵抗的モジュールからは、単一の流れと単一の力の関係ではなく、流れの集合と力の集合の関係である成分輸送過程を示す連立方程式の集合が導出できる。容量的モジュールからは、容量体流変数の集合がポテンシャル変数の変化過程の集合を決定するという連立常微分方程式が導出できる [30]。

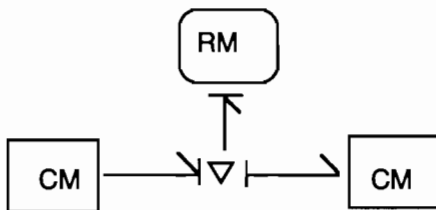
ECF module

membrane module : RM

fluid module : CM



a.



b.

Fig. 5-2. Bond graph representation of modules; middle is a resistive module of membrane, right is a capacitive module of cellular compartment and left is a compartment module having constant force variables.

抵抗的モジュールの駆動力ベクトル, 抵抗流ベクトル, および容量的モジュールのポテンシャルベクトルおよび容量体流ベクトルから過程を記述する連立方程式群が得られた. これら連立微分方程式をシミュレーションで時間積分することにより状態を見ることができる. すなわち(5-1)と(5-3), または(5-2)と(5-4), および(5-5)と(5-6)式を繰り返し計算できることになる. シミュレーションでは step by step に Euler 法または Runge-Kutta 法による数値計算して行くことで求められる.

細胞モデルを容量的モジュールと抵抗的モジュールおよび容量的モジュールの直列接続で示すと図5-2b)のように単純なものとなる. 抵抗的および容量的モジュールの結合枝グラフができるとその組み合わせで上位のモデルが検討可能となる. これが段階的モデル化である. RM-CMモジュールの繋ぎ合わせる手段としても結合枝グラフの接続表現を用いている. ここでの一本の結合枝は数種のパワーに対応するものである.

5. 2 上皮膜組織

動物の体表を覆う上皮膜組織は表面に位置する膜状の組織で, 内界と外界を仕切る障壁の機能を持つ. 上皮膜組織は基本的には一層の細胞が平面上に接合したものであり, また細胞間隙は僅かながらに輸送する. この上皮膜細胞層は障壁機能と同時に吸収または分泌といったある種の成分輸送機能を持つ. すなわち目的論的に言えば, 必要なものは透すが, 不必要なものは通さないという機能を持つ. こうした合目的な機能はどのような機構で可能となっているものであろうか?

上皮膜は表層液, 細胞内液および組織液でその組成は異なり, 細胞の基底側方細胞膜と表層細胞膜および細胞間隙で成分輸送機能が異なる. すなわち3つの輸送経路と3つの蓄積区画があり, それぞれに数種の成分の輸送過程が関係する. すなわち数十の相互作用する輸送と蓄積の過程の刻々の変化を考えることになる. こうした複雑なシステムはシステムとして認識し, またシステムとして統合する対象にふさわしい. この輸送上皮の機能と機構を回路網熱力学によって表現し, シミュレートすることを考える.

まず表層細胞膜モジュール, 基底側方細胞膜モ

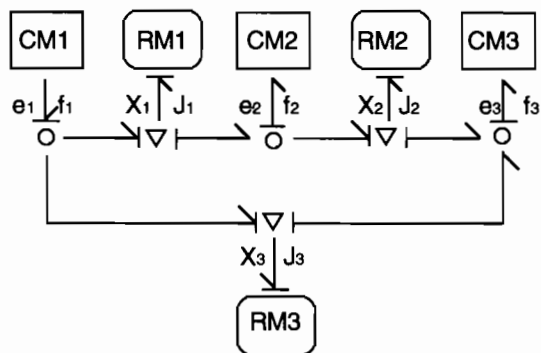


Fig. 5-3. Graded model for epithelial transport system using modules. Three resistive modules and three capacitive modules are connected in series and parallel.

ジュール, 細胞間隙経路モジュールおよび細胞内液, 組織液, 表層液の区画モジュールを作る [44]. 上皮膜輸送モデルを RM-CM モジュール群を用いて段階的モデルを表現すると図5-3になる. 各モジュールは過程を連立方程式で記述するものであり, 組合せもまた過程を連立方程式の集合で記述するものになる. 並列, 直列接続素子の各々についても数種の成分のパワーに対応するものになる. 図5-3の上皮膜輸送の一般的モデルは, そのモジュールの内容によって次章の蛙上皮膜のモデルになり, また唾液腺の腺房細胞のモデルにもなる.

図5-3において容量体モジュールへ出入りする正味流 f は抵抗体モジュールからの流れ J の総和になる ($f = \sum J$; an example $f_2 = J_1 - J_2$). パラメータおよび初期値としての結合枝グラフの抵抗値, 容量値, 変換値には実験的に得られている値, または推定値を入れる. 素子は一般に非線形であって, その非線形性は(5-5)式の中のコンダクタンス行列, および式(5-6)のサセプタンス行列の中の素子パラメータに刻々と変化する平均濃度または濃度として組み込む.

シミュレーションの妥当性は異なる二つの手段で検討する. 一方は言うまでもなくモデルが各種条件付加時の現実の現象を忠実に再現するかどうかにある. 他方はシステムのパワーの消費速度 (ATP 消費速度) または抵抗体でのパワー散逸がモデルと実験とで一致するかどうかを検討することにある.

上皮膜輸送システムは数十の過程の複合現象であり, システム論的に考えて始めてよく理解できる. これを回路網熱力学の応用例として述べる. 具体的

に蛙皮イオン輸送と唾液腺腺房分泌について結合枝グラフで回路モデルを作り検討した。モデルには制御情報を記入することで各種の実験条件を検討し、輸送を調節する仮想的な上皮膜となることを示す。またコンピュータ上での仮想実験を実験事実と対応させて検討した。

モデル化とそのシミュレーションのためにはまず内部機構を熟知する必要がある。そのため多くの分析の実験成果が必要である。さらに妥当な作業仮説も必要とする。まず対象とする蛙皮のイオン輸送現象の実験成果と作業仮説について述べる。

5. 3 蛙皮のイオン輸送現象

水中脊椎動物は体液のイオン環境および浸透圧を維持するため各種の機構を持っている。海水硬骨魚類は鰓から NaCl を能動的に放出する機構を持っている。淡水硬骨魚類は鰓から NaCl を能動的に取り込む機構を持っている。同じく淡水に棲む両生類の幼生(おたまじゃくし)は鰓から NaCl を能動的に取り込む機構を持っている。しかし幼生期を過ぎた蛙では鰓はなくなり、その代わり蛙の皮膚が淡水から体内に能動的に NaCl を取り込む機能を持つようになる。したがって蛙の皮膚は非常に特殊な上皮膜であるが、イオン輸送の原理の研究に適している[45,46]。蛙皮でイオン流束を直接測定する方法としてはラジオアイソトープの利用があり、また電気現象から輸送動態を検討することもできる。

Ussing による蛙皮での電氣的能動輸送測定法を紹介する[45,46,47]。蛙の皮膚を剝離し試料とする。蛙皮を Ussing Chamber (透明アクリルの二つの液槽でできたもの)の間に挟み込む。両側の Chambers に Ringer 溶液を入れる。蛙皮を介する両液は常に同組成のものを用いる。両液槽には電位測定用と通電用の電極計四本を寒天橋を通じて接続する。一組で蛙皮膜電位を、他組で通電電流を記録する(図5-4)。

正常 Ringer 液による実験で、開放条件(通電しない条件)での膜電位(E_m)の測定する。これは体液側を正とする数十ミリボルトの電位が見られる。膜を介する安定な膜電位は膜を介するイオン荷電の片寄りがあることが維持されていることを示している。安定な膜電位の存在はイオン荷電の片寄りを示し、荷電の片寄りは濃度差があつて膜を介する持続

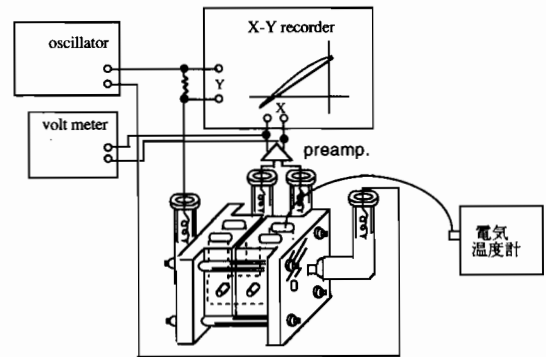


Fig. 5-4. Ussing chamber and circuit connection.

的なイオンの受動輸送により維持されるものか、または能動輸送により維持されるもののいずれかと考えられる。イオンに対する透過性は異なる膜であっても、膜を介する両側の溶液組成はまったく同じものとする、受動輸送はなく膜電位差は0となる筈である。この実験装置では膜を介するイオン濃度差をなくしているから受動的輸送を起す原因はない。したがって、蛙皮での能動的なイオン輸送が膜電位発生の原因であると結論できる。表皮液側がマイナスになっているので、体表側から体液側に能動的に正イオンが入るか、逆に体液側から体表側に能動的に陰イオンが出てくるかのいずれかである。我々は蛙皮が NaCl 吸収機能を持っていることを知っている。吸収方向の能動的 Na 輸送が膜電位発生の原因であると結論できる。

次に通電電極から直流電流を流して蛙皮膜電位を零とする。このときの電流値を短絡電流(Short Circuit Current: I_{sc})と呼ぶ。このために通電電極に 0.1 Hz 以下の低周波発振器を接続して通電する。蛙皮を介する電位と通電電流は XY レコーダーで同時に測定記録する[47]。通電電流が零のときの電位は先の開放条件の膜電位である。また電位差が零となるときの電流値は短絡電流である。

この電位差零の短絡条件では、両液槽に同一溶液を用い、静水圧を揃えている。またあらゆるイオンに対して濃度差が零とし、浸透圧差も零、また静水圧差も零、さらに電位も零となっている。したがって受動的なイオン駆動力は存在しない。すなわちすべてのイオンに対して電気化学拡散および対流(溶媒牽引)がない条件であるので、短絡電流として測定されるイオン流は能動的なイオン輸送となる。実際ラジオアイソトープを利用すると Na イオンの能

動輸送と短絡電流として測定されるイオン流は一致することが知られている。Na イオンのない条件、および Na イオンの輸送されない条件では短絡電流は零になる。

Ussing Chamber 実験でイオン置換の効果を見ることも容易である。Na-free 液にすると膜電位、短絡電流および膜コンダクタンスは減少し、ことに短絡電流は零になる。Cl-free 液では短絡電流に変化はないが、膜電位は上昇し、膜コンダクタンスが減少する。また薬物効果もみることができ、表層細胞膜での Na のチャネルを阻害するアミロライドを添加したときの効果や、基底側方膜にある Na-K pump を阻害するウバイン効果を検討することができる [45,46]。アミロライド添加では急激な膜電位減少と膜コンダクタンス減少が見られ、短絡電流は零になる。この現象は可逆的であってアミロライドを除くと正常に復帰する。ウバイン添加では緩徐な経過で膜電位および短絡電流が減少していき、1 時間程で消失する。この経過は細胞内イオン組成の変化を伴い不可逆的である。さらに Ringer 液の温度を変えてイオン輸送に対する温度の影響を見ることができる。

Keofoed-Johnsen Ussing [45] はこの蛙皮イオン輸送機構について巧みな作業仮説を作った (図 5—5 a 参照)。蛙皮は上皮細胞が直列かつ並列に平面状に並んでいる上皮膜組織であって、最表層の並列に並んだ細胞は相互に強固に接着されていて外液と内液を仕切っている。蛙皮上皮細胞の表層細胞膜には Na を透過させるチャネルがあり、Na の電気化学ポテンシャル差があって Na チャネルによる拡散 Na 流入がある。Na チャネルはアミロライドで抑制される。また基底側方細胞膜に Na-K ATPase 反応による Na-K pump 機構と K チャネルがある。Na-K pump は基底側方細胞膜で Na を放出して K を細胞内に取り込んでいる。基底側方膜では K のポンプとリークが釣合って細胞内高 K 条件となり、細胞内低 Na 条件となっている。Cl は電気化学拡散で受動的に輸送される。

この仮説にしたがって回路モデルを組み立てていく。原理的に三つの抵抗的モジュールと、三つの容量的モジュールからなる蛙皮輸送のモデルを用いてシミュレートする (図 5—3)。または溶液区画は大きくて濃度変化は無視できるとすれば三つの抵抗的

モジュールと、細胞区画の一つの容量的モジュールを用いてシミュレートできる。

まず蛙皮上皮膜細胞の基底側方細胞膜モジュールと細胞内液モジュールの結合枝グラフ表現を紹介する。基底側方膜の膜モジュールの結合枝グラフ表現は図 5—2 a 中央の Na-K-2Cl 輸送装置を省略したものとなる。ここでは体積流と Na, K, Cl の電気化学拡散の連結輸送過程がある。またそれと並列に ATP 反応で駆動される Na-K pump が存在する。Na-K pump は ATP 反応親和力 A_{ATP} とイオンの電気化学ポテンシャル $\Delta\mu_i$ の総和といった駆動力変数によって速度が決まる。

ここで図 5—2 a の結合枝グラフ表現上から、蛙皮上皮膜輸送系における 1 要素である Na イオンの役割を考えて見る。Na イオンは膜輸送系の電気化学的拡散に関係し、浸透圧を介して容積流に関係し、さらに Na-K-ATP 反応と関係するといった複数のサブシステムの要素となっている。他の成分についても同様に格子状の網目構造の関係が結合枝グラフで良く表現されていることが解る。

膜モジュールの結合枝グラフより基底側方細胞膜での輸送と反応の連立方程式が導かれる。表層細胞膜や細胞間隙経路の表現には水—イオン拡散の連結輸送のみがある結合枝グラフになり、各々から各種成分の輸送方程式が導かれる。

図 5—2 a の左側は細胞内溶液区画モジュールの結合枝グラフ表現である。ここには Na-K pump を駆動する ATP 反応を維持する容量反応体を書き加えている。ここで ATP 反応親和力は一定であるとしている。細胞内溶液区画には基底側方細胞膜と表層細胞膜を介して体積流、Na, K, Cl 出入りがあり、それぞれ細胞体積、イオンの電気化学ポテンシャルを刻々と変化させるがその回路網構造を結合枝グラフが良く表現している。

すなわち体積流により区画の浸透圧、静水圧、各種イオンの化学ポテンシャルが変化し、また各種イオン流が区画の電位、化学ポテンシャルおよび水ポテンシャルである浸透圧を変化させる過程を表現している。溶液区画でのポテンシャルまたは濃度変化を示す連立常微分方程式が (5-3) 式または (5-6) 式のように導かれる。組織液および表層液の区画モジュールについても同様の結合枝グラフ表現を用いる。

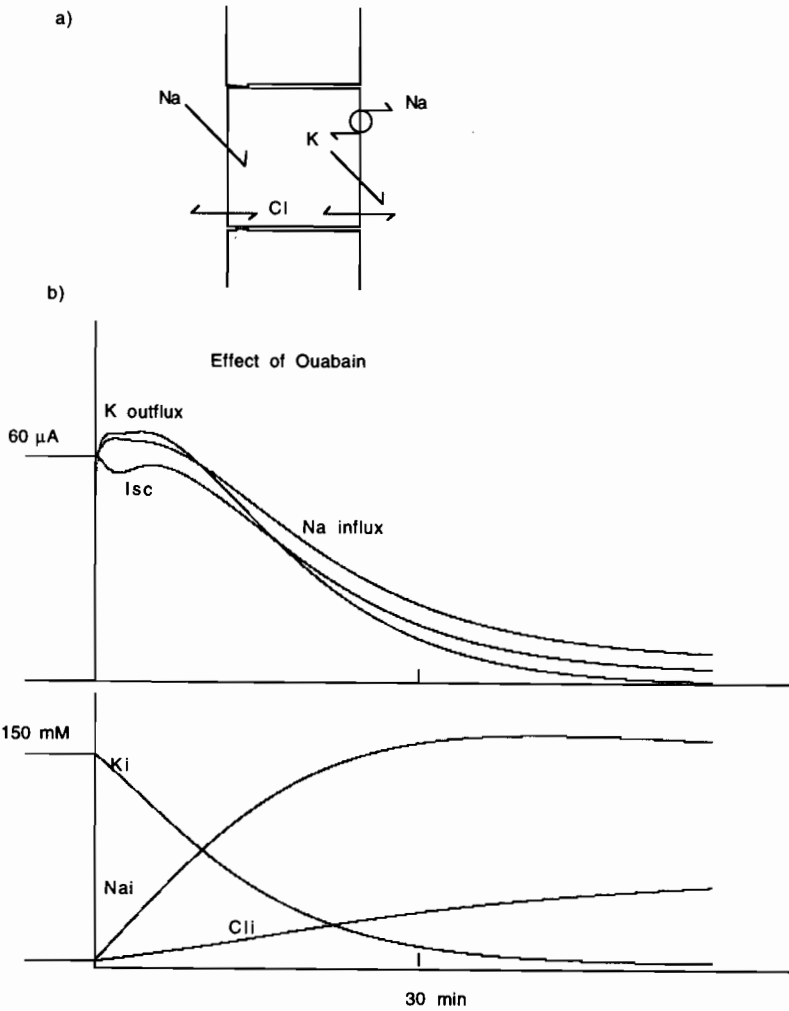


Fig. 5-5. a) Keofed-Johnsen Ussing hypothesis for ion transport system across the frog skin. b) Effect of ouabain on short circuit current and cellular ionic concentration by simulation.

蛙皮輸送モデルのシミュレーションにおいて、細胞内液定常状態の維持に必要なとされる代謝パワーはATP反応から供給される。全体としてのパワー散逸はこのATP反応速度から求められる。シミュレーションでは、ウバイン効果、すなわち代謝反応(ATP反応)の停止でNa-K pumpが直ちに停止するが、このとき短絡電流は緩徐な経過で減少する[46]。シミュレーションでは反応速度定数を零にする。この条件は生物学的に死である。したがってこの残留する短絡電流はNaの表層膜からの流入とKの基底側方膜からの受動的な流出によるものであり、いずれ平衡条件に至る。このATP反応停止後の非定常条件におけるパワー供給源は細胞のイオンの電気化学的ポテンシャルエネルギーであり、この

非定常条件での短絡電流は能動輸送と無関係であることが理解できる(図5-5b)。

代謝反応の停止は不可逆過程であるが、シミュレーションでは反応速度定数を元に戻すだけで元の定常条件が再現できる。これは死んでいるシステムを生き返らせることに相当する。生体システムの熱力学的な死とは平衡になることであり、熱力学的な生とは有効エネルギーの流の中で各種ポテンシャルエネルギーを高く維持していることであることが理解できる。

アミロライド効果、すなわち急激な表層膜Naコンダクタンスの低下とかその他各種の条件を課すことが可能である。蛙皮は能動的なNa輸送システムとして捉えることができるが複合システムのどの過

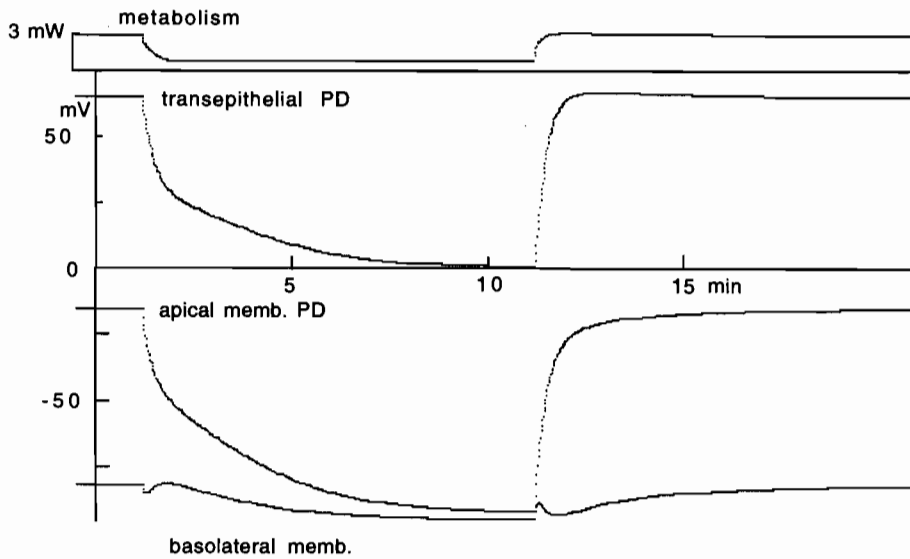


Fig. 5-6. Effect of amiloride on membrane potentials of open circuit condition and ATP metabolism of the frog skin.

程が全体の速度制限因子になるのでしょうか？ このことはモデル化とシミュレーションにおいて検討することが可能となる。アミロライド効果で膜電位変化と代謝抑制を惹き起こすという実験結果をコンピューター上に再現することができる(図5-6)。

図5-6では開放条件での表層膜 Na コンダクタンスの減少が経皮電位差の減少、細胞内への Na 流入減少を引き起こし、Na-K pump 速度が低下して代謝を抑制する状況、さらに表層細胞膜電位差の過分極、比較的安定な基底側方膜電位差がシミュレートされている。このことから Na コンダクタンスは速度制限因子の一つであることが解る。

5. 4 腺の分泌現象

哺乳類の唾液腺は分泌を行う上皮膜器官であって、刺激に応じて大量の水溶液を体内液側から体外液側に輸送する。麻酔下の犬の唾液腺の導管に垂直に立てたポリエチレン管を接続し、分泌神経を刺激すると、唾液は垂直の管中を上昇し、その高さは3.5メートルにも達することを著者らは報告してきた[48]。この静水圧に逆らった能動的な溶液輸送現象のモデル化とそのシミュレーションを対象とする。

唾液腺は腺房および導管からなり、いずれも上皮膜組織であって分泌と吸収を行う上皮膜輸送系である。腺房組織で原唾液を分泌し、これが主導管に至

る線条部導管組織を通過するときイオンが再吸収される。原唾液はやや高張液か等張液であるが最終唾液は低張液となる。腺房組織での分泌現象についての作業仮説(図5-7)は分泌刺激によってイオンが組織液から腺房細胞を介して腺腔へ輸送され、このイオン輸送に水輸送が浸透現象として伴い、分泌が起こるとしている[48,49]。

分泌時の腺房細胞のイオン輸送はまず基底側方細胞膜で組織液から細胞内に2次能動輸送によって

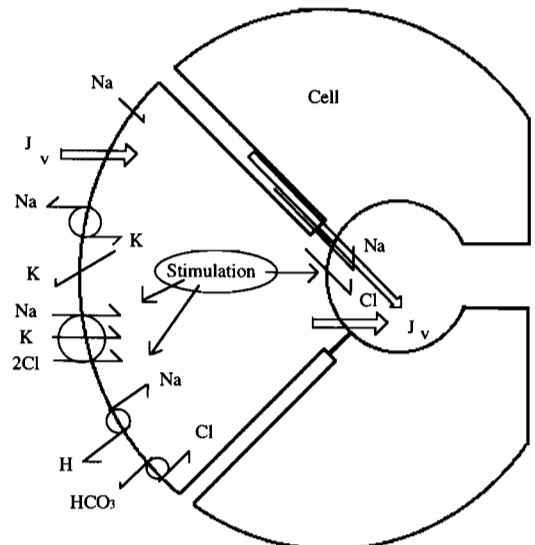


Fig. 5-7. Working hypothesis on acinar secretion of saliva.

Cl を取込み、腺腔側膜を介して腺腔内へ Cl は電気化学拡散力で放出する。基底側方膜を介しての Cl の輸送には Na-K pump による Na のポテンシャル差を用いる。すなわち Na-K-2Cl 共輸送機構と Cl-HCO₃ 交換輸送機構による 2 次能動輸送による取込み機構がある(図 5—7)。さらに細胞基底側方膜にある Cl-HCO₃ 交換輸送機構と Na-H 交換輸送機構が対になって働き Cl と Na を取込む。

分泌刺激は細胞内情報伝達系としての細胞内 Ca を上昇させ、基底側方細胞膜の K 透過性を上げる。これは膜電位を過分極させ、K は基底側方細胞膜を介して組織液にでてその濃度を上げる。分泌刺激は細胞基底側方膜にある Na-K-2Cl 共輸送機構を活性化し、Na, K, 2Cl を細胞内に取り込む。これを駆動する Na のポテンシャル差は Na-K pump によって組織液側に Na を放出することで維持される。組織液の K は Na-K-2Cl 共輸送機構を促進する。K は Na-K pump によって細胞内に取り込まれる。

細胞内に取り込んだ Na は Na-K pump を活性化し、ATP の消費を増大させる。この作業仮説によれば、Na-K-2Cl 共輸送、Na-H, Cl-HCO₃ 交換輸送およびイオンの電気化学ポテンシャル、イオン透過性等によって、静止時および分泌時の Na-K pump の速度(ATP 代謝)に依存する代謝速度が決定される。電気化学拡散力で細胞から腺腔内へ放出された Cl は、Na を細胞間隙を介して腺腔内に取り込むのに役立つと考えられている。この腺腔内の NaCl が浸透圧成分として体積流を引き起こす。

今回はこの作業仮説、すなわち基底側方膜に共存する Na-K-2Cl 共輸送と一対となった Na-H, Cl-HCO₃ 交換輸送、Na-K-ATP ase pump, 各種イオン透過性をいれた基底側方膜回路網モデルを用いて検討する。上皮細胞は組織液に接する基底側方細胞膜、腺腔内液に接する腺腔側細胞膜、および細胞間隙を三つの抵抗的モジュールと、組織液、細胞内液と腺腔内液の三つの溶液区画を容量的モジュールで表現する。すなわち図 5—3 の上皮膜モデルのモジュールの内容を結合枝グラフで書き換えることで腺房分泌に対して用いられる。シミュレーションに必要な連立輸送方程式群は結合枝グラフ表現を持つモジュール群から導かれる。

腺房分泌のシミュレーションにおいて再現されね

ばならない分泌に関する実験的現象は、Na, K, Cl 輸送、体積流および代謝に関連するものに限って箇条書にすると少なくとも次の 20 項目になる。

静止状態については、1) 分泌はなく、2) 2~3 mW/g の ATP 代謝があり、3) 一定の細胞容積を維持して、4) 細胞内で K が高く、Na は低い、Cl も存在する。5) また腺房細胞膜電位は -40~-60 mV の範囲にある。

分泌状態については、6) 分泌刺激が腺房を介する分泌(水輸送)を起し、7) その量は 1 分当りの腺細胞重量の数%になる。8) 分泌は 2 相性で、高分泌速度の初期分泌と速度の低い定常分泌がある。9) このとき腺房細胞の容積は 70~80% まで収縮する。10) 分泌液のイオン組成は主として NaCl の溶液であり、わずかに K, HCO₃ を含む。11) 原分泌液はやや高張か、ほぼ等張である。12) エネルギー代謝は静止時の数倍から十数倍となる。13) 腺房細胞の膜電位は過分極する。14) 腺房細胞は K イオンを分泌液中のみならず、組織液中にも放出する。15) 腺房細胞内のイオン組成は分泌時に変化する。

回復期については、16) 分泌刺激を停止すると分泌は停止し、17) 腺房細胞の膜電位は静止時のレベルに復帰し、18) 腺房細胞のイオン組成も静止時のレベルに復帰する。19) また腺房細胞の容積は静止時のレベルに復帰する。20) 腺房細胞の代謝も静止時のレベルに復帰する。回路モデルを用いてこれら腺房細胞の静止状態、分泌過程および復帰過程についての以上 20 項目の現象をシミュレートすることを試みる。

分泌レスポンスとして分泌の発現と持続、代謝の増大、過分極電位、腺細胞収縮を考える。このため刺激条件として、腺腔側の Cl 透過性増大と基底側方膜での K 透過性増大および 2 次能動輸送による Cl 輸送の増大が必須となる。シミュレーションで基底側方膜の K 透過性を数十倍、共輸送または対交換輸送を数倍上昇させ、腺腔側膜の Cl の透過性を 10 倍上昇させた。それにより代謝増大を含む分泌レスポンスを再現することができた。シミュレーションにおいても実験と同様に分泌時にエネルギー代謝は静止時の十数倍になる(図 5—8)。すなわち腺の分泌速度制限因子としては K 透過性、Cl 透過性および共輸送または対交換輸送の複数の変化が必要であるように見える。

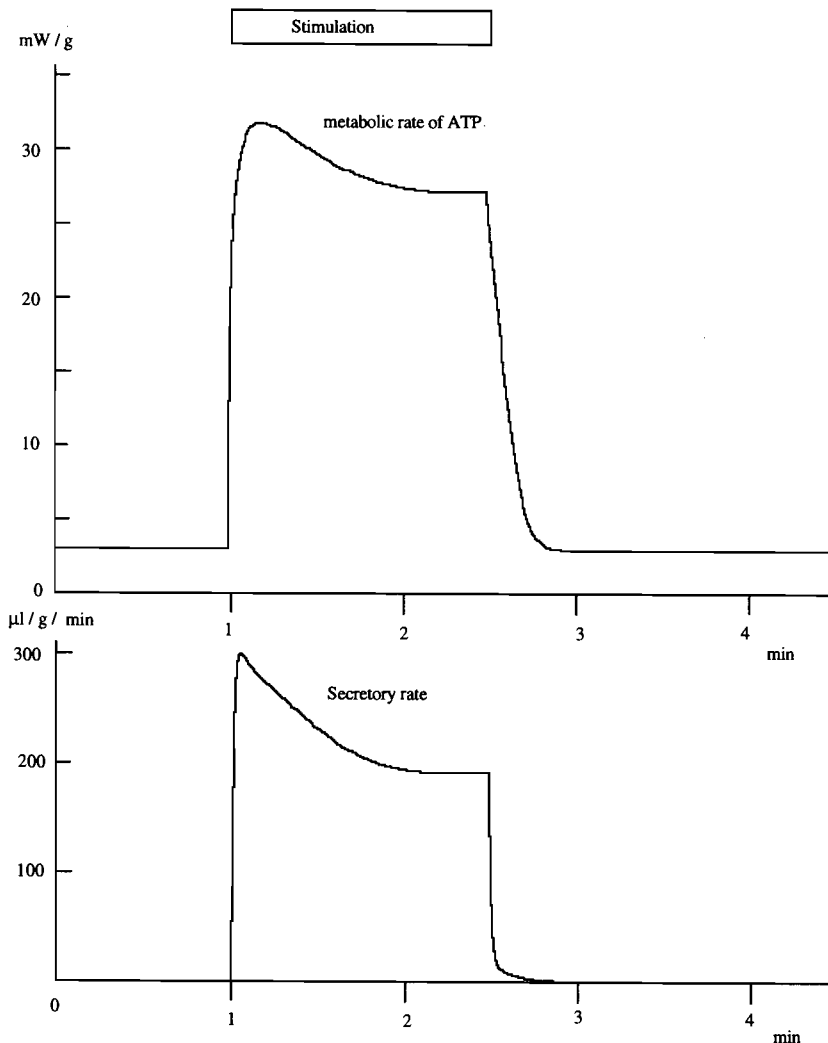


Fig. 5-8. Simulation of salivary secretion; upper is the change of ATP metabolism and lower is the change of volume flow by stimulation.

シミュレーションにおいて分泌の増大と持続，腺房細胞の基底側方膜電位の $20\sim 30\text{ mV}$ 程度過分極が再現される．腺房の原分泌液の組成は Na Cl を主とするやや高張な液となる．分泌初期に組織液中への K 脱出が見られ，さらに分泌時に腺細胞は実験に見られるように収縮する(図5—9)．

唾液腺の分泌条件を停止し，パラメータを静止時の値に戻すとシミュレーションの腺細胞は静止状態に復帰する．すなわちコンピューター上で分泌は停止し，膜電位は元のレベルに戻り，同時にイオン組成も細胞容積も代謝も元のレベルに復帰するシミュレーションができた．このシミュレーションから分泌刺激が共輸送または対交換輸送を上昇させること

が予測されたが，最近唾液腺腺房細胞の Na-K-2 Cl 共輸送が刺激で活性化されるとの実験結果が報告された[50]．

以上の回路網手段はその他の上皮膜輸送にも応用が可能である．膵臓は消化液を分泌する外分泌腺である．膵臓の腺房上皮組織と腺導管上皮組織からなり，腺房は消化酵素を多く含む液を分泌し，導管は重炭酸イオンを多く分泌する．腺導管分泌機構について現在までに数多くの実験が行われ，腺導管上皮細胞の基底側方膜には Na-H 交換輸送および Na-HCO_3 共輸送の装置があり，これらによって細胞内に重炭酸イオンが取り込まれ，腺腔側膜にある Cl-HCO_3 交換輸送装置によって腺腔内へと輸送さ

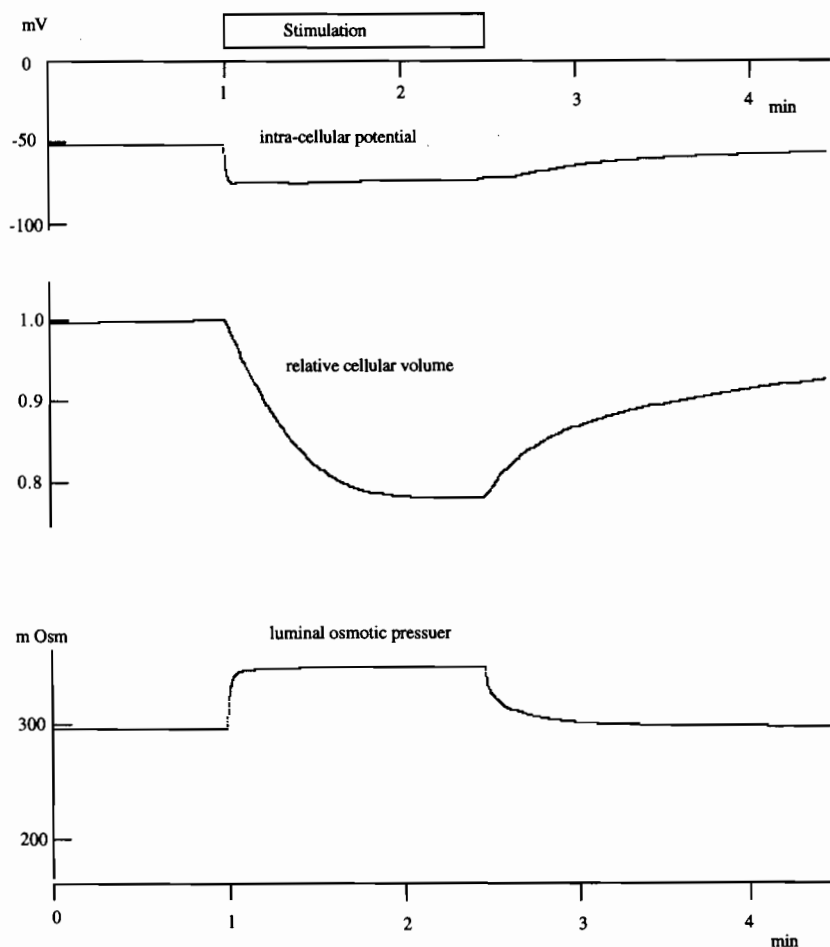


Fig. 5-9. Simulation of salivary secretion; upper is the change of membrane potential, middle is the acinar cell volume and lower is the luminal osmotic pressuer.

れると考えられている。さらに重炭酸輸送は腺腔側膜にある CFTR-Cl コンダクタンスの変化によって調節されるという仮説がある。

この唾液腺導管上皮組織での重炭酸分泌は Sohma らによる回路網熱力学を用いた数学的モデルでシミュレートされている [51]。すなわち CFTR-Cl コンダクタンスによる重炭酸分泌の調節をシミュレートできた。またラットなどの比較的低濃度 (70 mM) の重炭酸分泌をよく説明できた。このシミュレーションから、人やモルモットの唾液にみられる高濃度 (150 mM) の重炭酸分泌には、重炭酸によって CFTR-Cl チャンネルが阻害されることが必要な条件となるが、この予測はその後の実験で確かめることができた [52]。

以上の回路網熱力学によるモデル化とシミュレー

ションは膜輸送機構の解明についての妥当性と予想性を示したものと考えている。これは今後も新しい知識を求め、修正改善しなければならないが、知識を求め修正する場合にも、回路網熱力学は有効な手段となると期待できる。

第5章 「上皮膜輸送のシミュレーション」 のまとめ

一般に生体膜は環境との障壁として機能し、かつ物質輸送の機能を持つ。膜には各種の輸送機構がモザイク的に並列に埋め込まれている。上皮膜組織は表面に位置する膜状の組織で、内界と外界を仕切る障壁の機能を持ち、同時に吸収または分泌といった成分輸送機能を持つ。これは上皮膜細胞の表層膜と基底側膜で機構を異にし、細胞内の代謝系からパ

ワーを供給されて機能している複雑なシステムであるからであり、まさにシステムとして認識し、またシステムとして統合する対象にふさわしい。

今回上皮膜について現在持っている実験的知識から、回路網熱力学のモデル化とそのシミュレーションをする手段について述べてきた。その結果少なくとも「そのモデルは十分にありうるモデルである」、または「そのモデルはありえないモデルである」の判定が可能となる。今回の膜輸送モデルはいずれも作業仮説として十分にありうるモデルであって、多くの実験事実を説明し、かつ組織のエネルギー代謝とも一致することが示された。今回のシミュレーションにおいて実験結果の多くが再現できかつ説明できたことは、回路網熱力学が益々複雑化する各種の生理学的対象に対しても分析と統合の手段となりうることを示すものと考ええる。

文 献

- 41) KEDEM, O. and KATCHALSKY, A. (1963) Permeability of composite membranes. Part II. Parallel elements. *Trans. Faraday Soc.* **59**, 1931-1940
- 42) MIWA, Y. and IMAI, Y. Simulation of spike-burst generation and Ca^{2+} oscillation in pancreatic β -cells. (in preparation). 日本生物物理学会第35回年会(1997)講演予稿集, S 197
- 43) KITASATO, H., KAI, R., DING, W. AND OMATU-KANBE, M. (1996) The intrinsic rhythmicity of spike-burst generation in pancreatic β -cells and intercellular interaction within an islet. *Jpn. J. Physiol.* **46**, 363-373
- 44) IMAI, Y. (1990) : Graded modelling of exocrine secretion using network thermodynamics. in "Epithelial Secretion of Water and Electrolytes" (Eds. J. A. Young and P. Y. Wong), Springer-Verlag Berlin, pp 129-139
- 45) USSING, H. H. and LEAF, A. (1978) : in "Membrane Transport in Biology III" (eds. Giebisch, Tosteson, Ussing), pp 1-26. Springer-Verlag, Berlin.
- 46) TANAKA, H. and IMAI, Y. (1989) Passive trans-epithelial cationic fluxes across the frog skin under short-circuit condition. *Jpn. J. Physiol.* **39**, 43-50
- 47) 今井雄介(1991) 蛙皮における Na 能動輸送の実験, 「新・生理学実習書」南江堂, 東京, pp 1-6
- 48) IMAI, Y., NISHIKAWA, H., YOSHIZAKI, K. and WATARI, H. (1973) Evidence for the osmotic flow across dog submaxillary gland epithelia as a cause of salivary secretion. *Jpn. J. Physiol.* **23**, 635-644
- 49) YOUNG, J. A. and VAN LENNEP, E. W. (1979) Transport in Salivary and Salt Glands. in "Membrane Transport in Biology IV B" (eds. Giebisch, Tosteson, Ussing) pp 563-692. Springer-Verlag, Berlin.
- 50) PAULAIS, M. and TURNER, R. J. (1992) Activation of the $Na^+ - K^+ - 2 Cl^-$ cotransporter in rat parotid acinar cells by aluminum fluoride and phosphate inhibitors. *J. Biol. Chem.* **267**, 21558-21563
- 51) SOHMA, Y., GRAY, M. A., IMAI, Y., ARGENT, B. E. (1996) A mathematical model of the pancreatic ductal epithelium. *J. Membrane Biol.* **154**, 53-67
- 52) ARGENT, B. E., WINPENNY, J. P., SOHMA, Y., IMAI, Y., GRAY, M. A. (1997) The role of the ductal cell in CF pancreatic disease. *Pediatric Pulmonology. suppl.* **14**, 112-113