

## 生理学ものがたり第7回 表面電位と炭酸ガスナルコースス

滋賀医大名誉教授 北里 宏

換気障害があり酸素不足状態になっているとき、高濃度の酸素を与えると呼吸が停止することがある。この呼吸抑制は炭酸ガスナルコーススによると説明されている。しかし炭酸ガス・ナルコーススと呼ばれるものの実体はあまりはっきりしていない。今回は、炭酸ガスナルコーススによるとされる現象の発生機構について考えてみることにしよう。

呼吸障害がある場合、動脈血の炭酸ガス分圧 ( $P_{CO_2}$ ) は上昇している。通常、呼吸運動は動脈血の  $P_{CO_2}$  の上昇にしたがって激しくなる。ところが、動脈血  $P_{CO_2}$  が 70mmHg 以上に上昇すると、かえって呼吸運動の抑制が起こり、さらに意識障害がおこる。高炭酸ガス分圧時に見られるこれらの症状は炭酸ガスの麻酔作用によるものとされ、炭酸ガスナルコーススという言葉が生まれた。炭酸ガスナルコーススとよばれる症状は、動脈血  $P_{CO_2}$  が 70mmHg 以下であっても、高濃度の酸素を突然吸入させた場合に現われることが多い。高濃度の酸素吸入が呼吸抑制を引き起こす可能性は、動脈血酸素分圧が 40mmHg 程度にまで低下しているときに高いようである。炭酸ガスナルコーススの発生機構を考える際、高炭酸ガス血症の状態にあることと動脈血酸素分圧が低下していること、この2つの条件を考慮に入れなければならない。呼吸運動の抑制および意識障害がどのようにして起こるかという問題を解く鍵は、脱酸素 hemoglobin の酸素化に伴う大量の  $H^+$  の解離および細胞外液中の  $H^+$  による膜表面極性基の解離の抑制、この2つの中にあると思える。

### 1. $Ca^{2+}$ の安定化効果

炭酸ガスナルコーススの際に見られる症状と丁度反対の症状は誤って副甲状腺が除去された場合に出現する。副甲状腺機能低下症では血中  $Ca^{2+}$  濃度が低下すると共に腱反射が亢進することは古くから知られており、この症状はテタニーと呼ばれている。同様の症状はビタミン D 欠乏の際にも認められる。腱反射の亢進は細胞外  $Ca^{2+}$  濃度が低下すると現われ、 $Ca^{2+}$  を投与すると消失する。この現象は、 $H^+$  による呼吸抑制の機構を考える上で、多いに参考になる。

細胞外  $Ca^{2+}$  濃度を下げると神経に活動電位が反復的に発生し、逆に  $Ca^{2+}$  濃度を高めると活動電位の発生が抑制されることはかなり前から実験によっても確かめられており、この作用は  $Ca^{2+}$  の安定化効果 (stabilizing effect) と呼ばれている。しかし  $Ca^{2+}$  の作用が定量的に検討されるようになったのは膜電位固定法の成功以後のことである。膜電位固定法を用いた研究の最大の成果は、活動電位発生時に細胞膜を貫いて流れるイオン電流の大部分は細胞膜にある選択性の高い  $Na^+$  チャネルを通して流れる  $Na^+$  電流と  $K^+$  チャネルを通して流れる  $K^+$  電流であり、これらのイオンチャネルのゲートの状態が膜電流の関数ではなく、膜電位の関数であることが明らかになったことである。ゲートの状態が膜電位の関数であることは、膜電位依存性イオンチャネルの電位センサーが膜内の電位勾配を検出していることを意味している。

1957年、Frankenhaeuser & Hodgkin はイカ巨大神経線維の細胞外  $Ca^{2+}$  濃度を5倍にすると

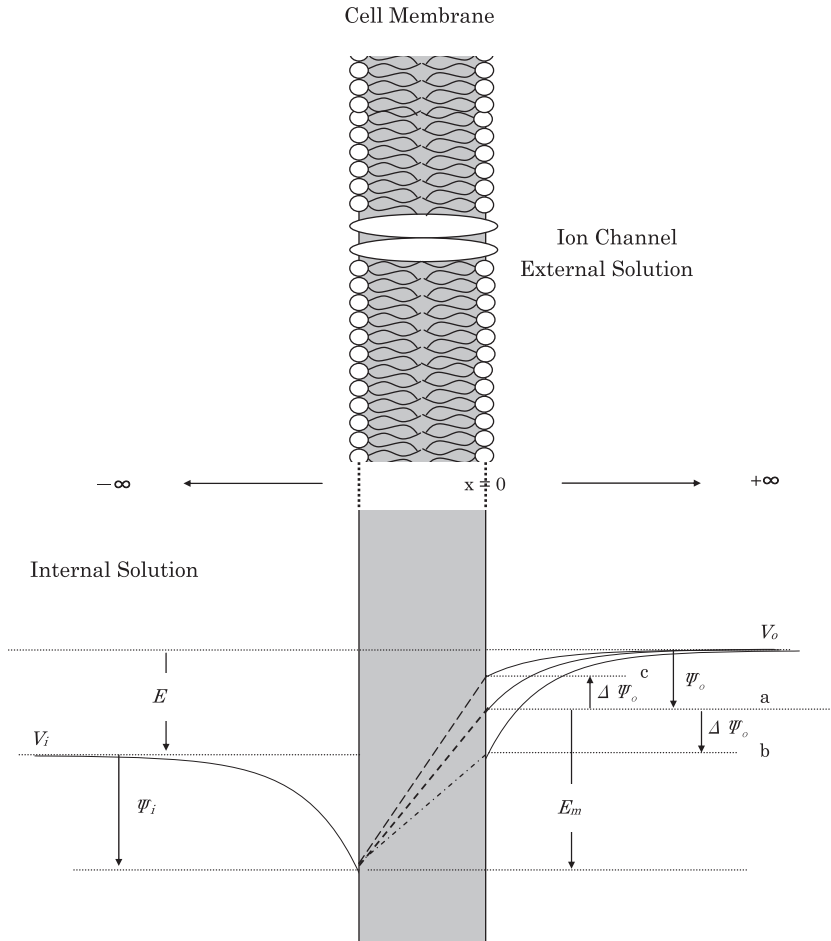


図1. 表面電位および脂質2分子膜内の電位勾配

図の上半分は細胞膜の脂質2分子膜とイオンチャネルを模式的に示したものである。下半分は膜電位、表面電位および脂質2分子膜内の電位勾配の関係を示したものである。

細胞膜外側表面に接する溶液相の電位と膜表面から離れた細胞外液中の電位との差  $\psi_o$  が細胞外側の表面電位である。同様に、細胞膜内側表面に接する溶液相の電位と膜表面から離れた細胞内液中の電位との差  $\psi_i$  が細胞内側の表面電位である。細胞内側膜表面の電位と細胞外側膜表面の電位の差  $E_m$  を膜の厚さで割ったものが脂質2分子膜内の電位勾配であり、膜電位依存性イオンチャネルの電位センサーはこの電位勾配を検出している。膜電位  $E$  は細胞内側膜表面から離れたところの細胞内液中の電位  $V_i$  と細胞外側膜表面から離れたところの細胞外液中の電位  $V_o$  との差である。膜電位が脱分極方向に変化すると、脂質2分子膜内の電位勾配は緩やかとなり、過分極方向に変化すると、膜内の電位勾配は急峻になる。膜電位が変化しない条件下では、細胞外側表面電位が  $a$  から  $b$  へ変化すると（負方向に大きくなると）、膜内の電位勾配は緩やかになる。逆に、細胞外側表面電位が  $a$  から  $c$  へ変化すると（零方向へ変化すると）、膜内の電位勾配は急峻になる。

Na<sup>+</sup> channel および K<sup>+</sup> channel のゲートの状態を示すパラメーター (m, h, n) と膜電位との関係を示す曲線が 10~15mV 脱分極方向に移動する (すなわち, あたかも 10~15mV だけ過分極させたかのように変化する) という実験結果を得た. この実験結果から考えられることは次の 2 点である.

第 1 の点は, 膜表面に負の固定電荷が存在する. この電荷によって膜表面は膜から遠く離れたところより電氣的に負になっている. 2 価の陽イオンである Ca<sup>2+</sup> は 1 価の陽イオンより強く膜表面に引き寄せられ, 膜表面の固定電荷が Ca<sup>2+</sup> によって覆われる. その結果, 膜表面の負の電位が零方向に変化すると考えられることである.

第 2 の点は, 膜電位が一定に保たれている条件下では膜表面負の電位の減少は膜内の電位勾配の増大をもたらす (図 1), この電位勾配の増大が膜電位依存性 Na<sup>+</sup> チャネルおよび膜電位依存性 K<sup>+</sup> チャネルの gating の状態を変化させ, あたかも過分極を与えたかの状態を神経線維にもたらしというものである.

ところで, 細胞膜表面に接する細胞外液の電位と同じ細胞外液中ではありながら膜表面から遙かに離れたところの電位との差を表面電位という. なお, Ca<sup>2+</sup> が膜表面の固定電荷による電場の作用を電氣的に弱め表面電位の変化を介して膜内の電位勾配に影響を与えるという考えは, 彼等の論文に, A.F. Huxley の suggestion に基づくものであると記されてある. Ca<sup>2+</sup> が膜表面の固定負電荷を電氣的に遮蔽して表面電位の変化をもたらす現象を Ca<sup>2+</sup> の遮蔽効果 (screening effect) という. イカ巨大神経線維について得られた所見とほぼ同様の実験結果はカエル有髄神経のランヴィエ絞輪についても得られている (B. Hille, 1968). また, 細胞膜表面の固定電荷の存在については, 赤血球について電気泳動法を用いた実験によっても確認されている. 次に膜表面の固定電荷と表面電位との関係を見てみよう.

## 2. 膜表面固定電荷密度と表面電位との関係

表面電位は膜表面に固定した電荷に由来する静電的な電位差である. 細胞膜は細胞の種類を問わ

ず脂質 2 分子膜を基本構造とする膜であり, ここに様々な蛋白分子が埋め込まれている. 細胞膜の基本構造である脂質 2 分子膜は極性基を水溶液相に向けている. これらの極性基の多くは pH7 付近において負の電荷をもっている. またこの他に膜表面にはシアル酸を持つ様々な糖鎖および種々の蛋白分子の極性基がある. 膜の内部は炭化水素鎖からなり, この油層は水およびイオンならびに親水性の溶質を殆ど通さない. 細胞外液の主な溶質は 1 価の陽イオンと 1 価の陰イオンである. 細胞内液の主な陽イオンは 1 価であるが, 陰イオンでは多価の陰イオンである蛋白質がかなりの割合を占めている. 膜表面の負の固定電荷に由来する表面電位の大きさと固定電荷密度との関係は Gauss の定理と Poisson の定理から導かれる. Gauss の定理は, 電荷を囲む閉曲面のすべてにわたって電場の強さを積分したものはこの閉曲面で閉ざされた空間内にある電気量 (電荷量) に比例するというものであり, Poisson の定理は, 溶液中の静電場において電場の強さ (電位勾配) の距離に関する微分はその部分にある電気量に比例するというものである. 細胞膜とそれに接する溶液からなる系においては電位勾配は膜表面からの一次的な距離の変数であるので, Poisson の定理は次の式で表される.

$$\frac{d^2\psi}{dx^2} = \frac{-4\pi\rho}{\epsilon_w} \quad (1)$$

$\psi$  は膜表面から距離  $x$  である点における電位であり,  $\rho$  はその点における電気量である.  $\epsilon_w$  は水の電媒定数 (dielectric constant:  $80.3 \times 8.8541 \times 10^{-12}$  Farad/m) である. 以下, 細胞外液について考える. 溶液の各部分における電気量はその部分に存在するイオンの電気量の和である. 負の固定電荷があるところには溶液中の陽イオンが集積し, 陰イオンは排除される. しかし膜表面から遠ざかるに従って陽イオンは減少し逆に陰イオンは増加して, 遂には陽イオン濃度の総和と陰イオン濃度の総和とは等しくなる. すなわち, 陽イオンの総電気量と陰イオンの総電気量の和は零になる. 陽イオンの総電気量と陰イオンの総電気量の和が零になる点ではもはや距離に関する電位勾配

はない。電位勾配がなくなった場所の電位を対照電位とし、その電位との差をもって溶液中の各部分の電位  $\psi$  の大きさを示す。なお、細胞外側膜表面と細胞外液が接する面を  $x=0$  とする (図1参照)。

膜表面から遠く離れたところのイオン濃度を  $c_j$  で表すと、膜表面から距離  $\chi$  であるところのイオン濃度  $(c_j)_x$  は Boltzmann の分布則にしたがって次の様に表される。

$$(C_j)_x = (C_j)_{x=\infty} \exp(-z_j \psi F/RT) \quad (2)$$

$z_j$  はイオン  $j$  のイオン価である。まず最初に極端に単純化して考えることにする。Ca<sup>2+</sup>濃度は1価の陽イオンの濃度の和に較べると1%強にしか過ぎないので、Ca<sup>2+</sup>を無視することになると、膜表面から遠く離れたところ ( $x = +\infty$ ) の陽イオン濃度の総和および陰イオン濃度の総和は次のように書き表すことができる。

$$\sum c^+ = \sum c^- = c \quad (3)$$

細胞外液のイオンがすべて1価のイオンであるとみなせる場合、膜表面から距離  $\chi$  であるところの電気量  $\rho$  は次の式で表される。

$$\rho = Fc [\exp(-\psi F/RT) - \exp(\psi F/RT)] \quad (4)$$

$F$  は Faraday 定数であり、 $R$  は気体定数、 $T$  は絶対温度である。上式を Poisson の式に代入すると次の式を得る。

$$\frac{d^2\psi}{dx^2} = -\frac{4\pi Fc}{\epsilon_w} [\exp(-\psi F/RT) - \exp(\psi F/RT)] \quad (5)$$

この式は Poisson-Boltzmann の式あるいは Debye-Hückel 式と呼ばれる。この2階の微分方程式を解くために、次の手続をとる。以下の数式の誘導は私のメモのようなものである。こんなものまで書く必要はないと思われる方は読み飛ばしていただきたい。

最初に補助的に  $(d\psi/dx)^2$  を考える。これを微分すると次の式が得られる。

$$\frac{d}{dx} \left( \frac{d\psi}{dx} \right)^2 = 2 \frac{d\psi}{dx} \frac{d^2\psi}{dx^2} \quad (6-1)$$

上式を変数分離し整理すると、次ようになる。

$$d \left( \frac{d\psi}{dx} \right)^2 = 2 \frac{d^2\psi}{dx^2} d\psi \quad (6-2)$$

(6-2) 式の右辺に (5) 式を代入すると、

$$d \left( \frac{d\psi}{dx} \right)^2 = -\frac{8\pi Fc}{\epsilon_w} [\exp(-\psi F/RT) - \exp(\psi F/RT)] d\psi \quad (6-3)$$

上式の左辺および右辺をそれぞれ積分する。

$$\left( \frac{d\psi}{dx} \right)^2 = \frac{8\pi Fc}{\epsilon_w} \frac{RT}{F} [\exp(-\psi F/RT) + \exp(\psi F/RT)] + \text{constant} \quad (6-4)$$

$x = +\infty$  では  $\psi=0$  であり、 $(d\psi/dx)=0$  であるので、constant の値は次のようになる。

$$\text{constant} = -2 \frac{8\pi cRT}{\epsilon_w} \quad (6-5)$$

(6-5) 式を (6-4) に代入すると、

$$\left( \frac{d\psi}{dx} \right)^2 = \frac{8\pi cRT}{\epsilon_w} [\exp(-\psi F/RT) + \exp(\psi F/RT) - 2] \quad (6-6a)$$

$$\left( \frac{d\psi}{dx} \right) = \left( \frac{8\pi cRT}{\epsilon_w} \right)^{1/2} [\exp(-\psi F/2RT) - \exp(\psi F/2RT)] \quad (6-6b)$$

膜表面の水溶液中における電位勾配  $(d\psi/dx)_{x=0}$  は次のようになる。

$$\left( \frac{d\psi}{dx} \right)_{x=0} = \left( \frac{8\pi cRT}{\epsilon_w} \right)^{1/2} [\exp(-\psi_0 F/2RT) - \exp(\psi_0 F/2RT)] \quad (7)$$

$\psi_0$  は細胞外側表面における表面電位である。

膜表面の言わば平面上の固定電荷は細胞膜の内部に向かっては炭化水素鎖の相に接しており、細胞外に向かっては細胞外液に接している。なお、膜表面に平行な方向には電位勾配は存在しない。固定電荷がもたらすこの一次元の電場に関して、Gauss の法則は次の様に表される。

$$-\epsilon_m \left( \frac{d\psi}{dx} \right)_{x=0m} + \epsilon_w \left( \frac{d\psi}{dx} \right)_{x=0w} = -4\pi\sigma_s \quad (8)$$

$\sigma_s$  は膜単位面積当たりの電荷量である。 $(d\psi/dx)_{x=0m}$  および  $(d\psi/dx)_{x=0w}$  はそれぞれ膜内部に向かう膜表面の電位勾配(単位面積の電場の強さ)および細胞外液に接する膜表面の電位勾配である。方向が逆であることに注意。油の誘電率は水の誘電率の約1/35であり、しかも膜内の脂質層の電位勾配は膜表面の細胞外液中の電位勾配よりかなり小さいと考えられるので、(8)式の第1項を省略して近似的に次のように書くことができよう。

$$\epsilon_w \left( \frac{d\psi}{dx} \right)_{x=0w} = -4\pi\sigma_s \quad (9)$$

膜表面の溶液中を自由に動き回れるイオンは水和しており、膜表面の固定電荷と溶液中のイオンとの間には水分子が存在すると考えられる。 $(d\psi/dx)_{x=0w}$ は膜表面の固定電荷に接している水分子の相を通る閉曲面の電位勾配であり、この閉曲面で閉ざされた空間内には膜表面の固定電荷以外に電荷は存在しない。しかし、この面を貫く電位勾配である $(d\psi/dx)_{x=0w}$ の値とこの面から少し遠ざかった水溶液中の拡散可能なイオンが存在する面を貫く電位勾配である(7)式の $x=0$ における溶液中の電位勾配 $(d\psi/dx)_{x=0}$ の値との間には実質的には違いは殆どないと考えて差し支えなからう。したがって、(7)式と(9)式から膜表面の固定電荷密度と膜表面の電位との関係は次のように示される。

$$\left(\frac{8\pi cRT}{\epsilon_w}\right)^{1/2} [\exp(-\psi_0 F/2RT) - \exp(\psi_0 F/2RT)] = -\frac{4\pi\sigma_s}{\epsilon_w} \quad (10)$$

$$\exp(\psi_0 F/2RT) - \exp(-\psi_0 F/2RT) = \left(\frac{2\pi}{cRT\epsilon_w}\right)^{1/2} \sigma_s \quad (11a)$$

$$\text{or } \sinh \frac{\psi_0 F}{2RT} = \left(\frac{\pi}{2cRT\epsilon_w}\right)^{1/2} \sigma_s \quad (11b)$$

これが Gouy-Chapman の式と呼ばれるものである。(11a, b)式は、表面電位 $\psi_0$ が溶質イオンの大部分を占める1価の陽イオンの総濃度 $c$ と膜表面の固定電荷密度 $\sigma_s$ のこの両方に依存することを示している。表面電位を横軸にとり縦軸に $(\pi/2cRT\epsilon_w)^{1/2}\sigma_s$ をプロットしたものを図2Aに示す。図2Bは陽イオン総濃度が150mMである場合の $\sinh(\psi_0 F/2RT)$ の値から電荷密度を計算し求め、この電荷密度の値を用いて逆に陽イオンの総濃度が75mM, 150mM および 300mMにおける表面電位を計算し、電荷密度を横軸にとり縦軸に表面電位をプロットしたものである。溶液中の総イオン濃度が上昇すると表面電位の絶対値が減少する。これがイオンの遮蔽効果である。

細胞内を総イオン濃度が僅か6mMの蔗糖溶液で灌流した際に起こる $\text{Na}^+$ チャネルのgatingに関するパラメーターの変化から、Chandler, Hodgkin & Meves (1965)はイカ巨大神経線維の細胞内側表面の表面電位の大きさを推定し、表面電位の大きさから固定電荷密度を $2.24 \times 10^{-6}$  coulomb/cm<sup>2</sup>

と計算している。この値を1価の極性基の密度に換算すると、 $1.4 \times 10^{13}$  electronic charges/cm<sup>2</sup>となる。すなわち、一辺26.7Åの正方形内に1個の割合で極性基が存在することになる。細胞外側の固定電荷密度もこれくらいの値であろう。

細胞外液に $\text{Ca}^{2+}$ が存在するときの表面電位を表す式を導出する手続は1価のイオンしか存在しない場合に較べていささか複雑である。電位勾配がある溶液中の各点における電荷量 $\rho$ は Boltzmann の分布則にしたがって次のように表される。

$$\rho = 2F[\text{Ca}^{2+}] \exp(-2\psi F/RT) + Fc^+ \exp(-\psi F/RT) - Fc^- \exp(\psi F/RT) \quad (12)$$

上式を Poisson の式に代入する。

$$\frac{d^2\psi}{dx^2} = -\frac{4\pi F}{RT} \left\{ 2[\text{Ca}^{2+}] \exp(-2\psi F/RT) + c^+ \exp(-\psi F/RT) - c^- \exp(\psi F/RT) \right\} \quad (13)$$

この微分方程式を積分すると、次の式が得られる。

(積分の方法については1価のイオンしか存在しない溶液中における Poisson-Boltzmann 式を導いたときに細字で述べてあるので、それを参考にさせていただきたい。以下に、ここでの要点をかいつまんで述べる。)

$$\left(\frac{d\psi}{dx}\right)^2 = \frac{8\pi F RT}{\epsilon_w} \left\{ [\text{Ca}^{2+}] \exp(-2\psi F/RT) + c^+ \exp(-\psi F/RT) + c^- \exp(\psi F/RT) \right\} + \text{constant} \quad (14a)$$

であり、 $x = +\infty$ では $\psi = 0$ であり、 $d\psi/dx = 0$ であるので、上式の constant は

$$\text{constant} = \frac{8\pi RT}{\epsilon_w} \left\{ [\text{Ca}^{2+}] + c^+ + c^- \right\}$$

一方、 $c^-$ は1価の陽イオンと対になっているものと2価の陽イオンである $\text{Ca}^{2+}$ と対になっているものと和であるので、 $c^- = c^+ + 2[\text{Ca}^{2+}]$ である。1価の陽イオンの総濃度である $c^+$ を $c$ で示すと、

$$c^+ = c$$

$$c^- = c + 2[\text{Ca}^{2+}]$$

となる。以上の関係を(14a)式に代入して次の式を得る。

$$\frac{d\psi}{dx} = \left(\frac{8\pi RT}{\epsilon_w}\right)^{1/2} \left\{ [\text{Ca}^{2+}] (\exp(-2\psi F/RT) - 2) + c \left( \sinh \frac{-\psi F}{2RT} \right)^2 \right\}^{1/2} \quad (14b)$$

$x = 0$ では $\psi = \psi_0$ であり、この電位勾配 $(d\psi/dx)$



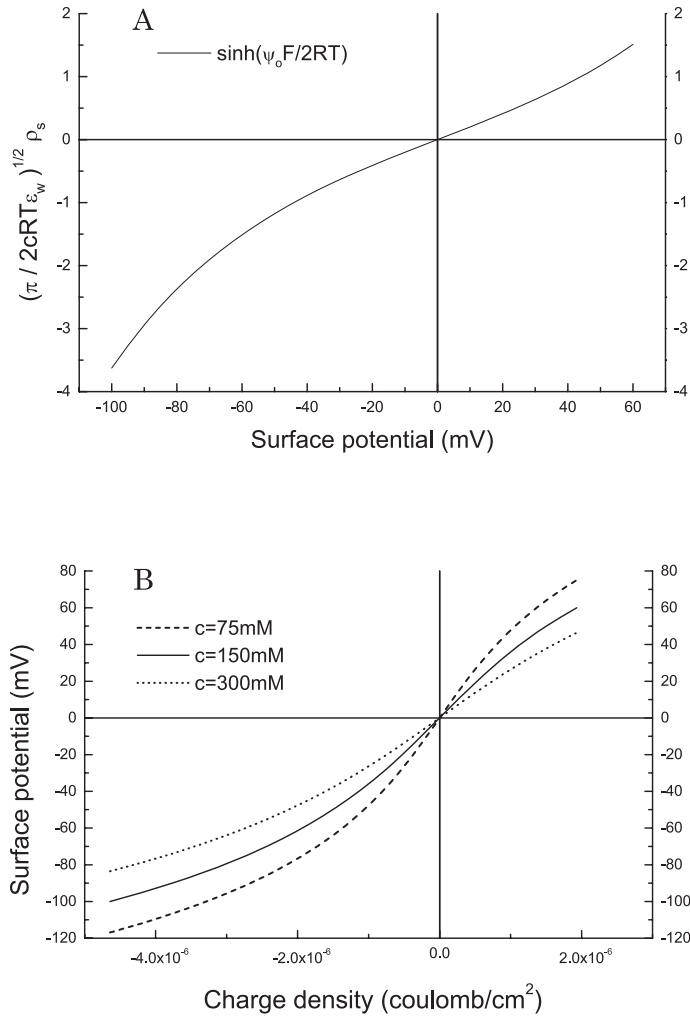


図2. 表面電位と固定電荷密度

陽イオン総濃度  $c$  を 150mM とした場合、 $(\pi/2cRT\epsilon_w)^{1/2}$  の値は  $7.825 \times 10^5 \text{cm}^2/\text{coulomb}$  となる。A は横軸に表面電位をとり、縦軸に  $\sinh(\psi_o F/RT)$  をプロットしたものである。B の実線は陽イオン総濃度が 150mM である場合の  $\sinh(\psi_o F/RT)$  の値から計算した電荷密度を横軸にとり、縦軸に表面電位をプロットしたものである。長破線は陽イオン総濃度が 75mM である場合の表面電位 vs 電荷密度曲線であり、短破線は陽イオン総濃度が 300mM である場合の表面電位 vs 電荷密度曲線である。陽イオン総濃度を高くすると、表面電位の絶対値は小さくなる。

$d\chi)_{x=0}$  と膜表面の固定電荷との関係は Gauss の定理によって (9) 式に示してある。(9) 式と (14 b) 式から、

$$-\left(\frac{\pi}{\epsilon_w RT 2c}\right)^{1/2} \sigma_s = \left\{ \frac{[Ca^{2+}]}{4c} (\exp(-2\psi_o F/RT) - 2) + \left(\sinh \frac{-\psi_o F}{2RT}\right)^{21/2} \right\} \quad (15)$$

この式を用いて描いた表面電位と細胞外

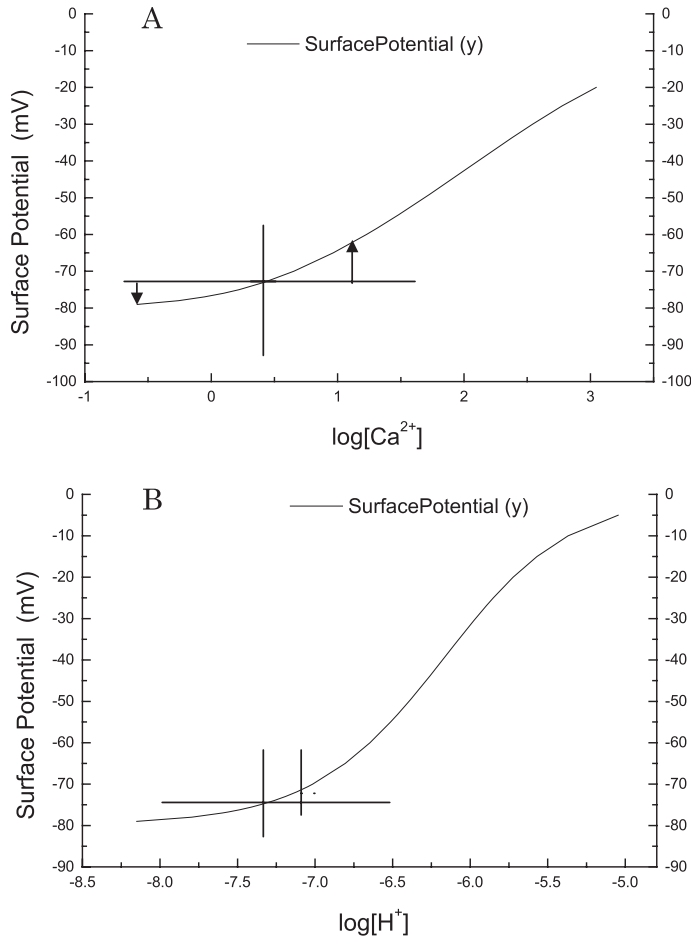


図3. 表面電位に及ぼす  $\text{Ca}^{2+}$  および  $\text{H}^+$  の影響

A:  $\text{Ca}^{2+}$  による遮蔽効果を示す. 1 価の陽イオン総濃度は 150mM である. 計算法については本文を参照されたい. 横軸は  $\text{Ca}^{2+}$  の濃度を mM で表したものの対数である.

B:  $\text{H}^+$  による極性基解離の抑制を示す. 極性基の  $\text{pK}_A$  を 6.4 として計算した. 陽イオン総濃度は 150mM である. 横軸は  $\text{H}^+$  濃度の対数である. なお, この値から負号を取り去ったものが pH である.

$\text{Ca}^{2+}$  濃度との関係を図 3A に示す. この図から分かるように, 細胞外  $\text{Ca}^{2+}$  濃度を正常の 2.5mM から 0.25mM に下げると表面電位は負方向に 7mV 大きくなる. 逆に, 細胞外  $\text{Ca}^{2+}$  濃度を 2.5mM から 12.5mM に高めると, 表面電位は 10mV だけ零方向に変化する.  $\text{Ca}^{2+}$  濃度が 10mM から 100mM の範囲では, 表面電位は  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の対数にほぼ比例して変化する (約 23mV/10 倍変化の割合). この変化の大きさは有髄神経線維絞輪部の  $m_\infty$  およ

び  $h_\infty$  について報告されて移動の値とよく一致する. gating 状態のパラメータ ( $h_\infty$ ,  $\alpha_m$ ,  $\beta_m$ ,  $n_\infty$ ) vs. 膜電位曲線の膜電位軸についての移動の大きさが  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の対数にほぼ比例することから, 遮蔽効果と関係している  $\text{Ca}^{2+}$  は, 膜表面の固定電荷と化学的に結合しているのではなく, 溶液相に存在し膜表面に電気的に集積しているだけであると考えられる.

余談ではあるが, 細胞内還流法は田崎一二先生

によって始められたものである。その方法はその後、Hodgkinらのグループが採用した方法と異なり、2本の毛細管を用いてその1本から人工細胞内液を流し込み他方から人工細胞内液を流し出す方法であった。当時、田崎先生はHodgkinのイオン説に異議をとらえられており、two-stable-states説を主張されていた。その説は、細胞膜には静止状態に対応する状態と脱分極状態に対応する状態の2つの状態があり、活動電位はこの2つの状態の一方から他方へ遷移し、再び速やかに元の状態に復帰する現象であるとするものである。丁度その頃、蛋白分子のコンフォーメーションの試薬と考えられていたANS (1-amino-8-naphthalenesulfonic acid)を細胞外液に加え、活動電位が発生するとANSの蛍光強度が増大することを観察したことから、この状態変化の実体は活動電位の発生時に起こる膜蛋白のコンフォーメーション変化であると考えておられた。のちにANSの蛍光強度の増大は膜電流とは関係なく脱分極の大きさを反映したものであることが明らかとなり、田崎先生の意図を必ずしも支持するものとはならなかったが、あらゆる手段を尽くしてTwo-stable-states theoryを実証しようと精力的に実験を進められていた田崎先生の声と姿を今でもはっきりと思い出すことができる。田崎先生の強烈な個性が時代を引っ張っていき、固定電荷がもたらす表面電位についての研究の深化を触発し、また副産物として膜電位感受性蛍光色素の開発およびそれを用いた研究の発展をもたらしたことは確かである。

### 3. 高濃度酸素吸入によるアシドーシスと神経症状

肺における換気が充分でない場合、肺胞内炭酸ガス分圧は上昇し、肺胞内酸素分圧は低下する。定常的に動脈血炭酸ガス分圧が上昇しているとき、動脈血 $H^+$ 濃度は炭酸ガス分圧の上昇から予想されるほどには上昇していない。ところで肺胞内の酸素分圧の低下は動脈血の酸素飽和度の低下をきたす。血漿 $H^+$ 濃度が正常の範囲内にあれば、動脈血酸素分圧が40mmHgであるときの動脈血の

酸素飽和度は70% (すなわち、脱酸素 hemoglobin が占める割合は30%) ほどである。動脈血の酸素飽和度が70%程度に低下している場合、組織を通り抜け静脈血となって肺に還流する血液の酸素飽和度は50%あるいはそれ以下になる (脱酸素 hemoglobin の割合は50%かそれ以上)。すなわち肺胞毛細血管に流入する血液の脱酸素 hemoglobin の濃度は正常人のその2倍近い。換気不全状態が持続していれば肺胞腔内酸素分圧は低いレベルに留まっているので、肺胞毛細血管を血液が通過する間に血液の酸素飽和度は約70%のレベルに上昇するにすぎない。しかし高濃度酸素吸入が施されると、肺胞腔内酸素分圧は100mmHg以上にも上昇するので、肺胞毛細血管を通過する間に血液の酸素飽和度はほぼ100%にまで上昇する。肺胞毛細血管に流入した血液が脱酸素 hemoglobin を多く含んでいれば、それだけ多くの酸素化 hemoglobin が新たに生じることになり、一挙に大量の $H^+$ が解離してくる。この大量の $H^+$ が血中の $HCO_3^-$ と結合し一時に大量の $CO_2$ が発生する。換気不全状態では肺胞腔内炭酸ガス分圧が高いため、 $CO_2$ は十分に肺胞腔内へ拡散していくことが出来ず、血中に $H^+$ の多くが残留することになる。その結果、動脈血の $H^+$ 濃度は急激に上昇し、全身の細胞がその影響を受ける。特に、神経細胞において、受けた影響は直ちに現われる。

有髄神経線維における $H^+$ 濃度変化の影響は詳しく調べられている (B. Hille, 1968)。カエル有髄神経において細胞外 $H^+$ 濃度を低くすると、 $m_{\infty}$  vs. 膜電位曲線も  $h_{\infty}$  vs. 膜電位曲線も共に過分極方向に移動する。つまり、細胞外 $H^+$ 濃度が低い場合、細胞外 $Ca^{2+}$ 濃度が低下した場合と同様、あたかも脱分極が与えられているかのように $Na^+$ チャネルは開きやすく不活性化も急速に進行することになる。逆に、細胞外 $H^+$ 濃度を高くすると、 $m_{\infty}$  vs. 膜電位曲線も  $h_{\infty}$  vs. 膜電位曲線も共に脱分極方向に移動する。すなわち、 $Na^+$ チャネルは開き難く不活性化の程度は低くなる。正常pH付近では $H^+$ 濃度の変化によってもたらされる  $m_{\infty}$  vs. 膜電位曲線および  $h_{\infty}$  vs. 膜電位曲線の移動の大きさは $H^+$ 濃度10倍変化 (1pH変化) あたり4.8~9.6



mVである。これに対して、細胞外 pH が 6.0 以下の領域では、これらの曲線の移動の大きさは  $H^+$  濃度 10 倍変化あたり 40mV にも増加する。

$H^+$  には gating の状態を変化させる作用の他に、単一チャネルコンダクタンスを減少させる作用もある。正常の pH 付近では  $H^+$  濃度を多少動かしても単一チャネルコンダクタンスは変化しないが、細胞外 pH 6.0 以下の領域では  $H^+$  濃度の上昇と共に減少する。ところで実際上、炭酸ガスナルコースの状態であっても、動脈血 pH が 7.0 以下に低下することはまずないので、 $H^+$  濃度上昇がもたらす単一チャネルコンダクタンスの減少の影響についてはこれ以上深入りしないことにする。

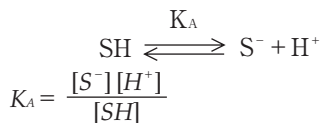
$H^+$  濃度上昇によってもたらされる  $Na^+$  チャネルおよび  $K^+$  チャネルの gating と膜電位との関係を示す曲線の移動といわゆる炭酸ガスナルコースの症状を考え合わせると、急激な高濃度酸素吸入によって引き起こされた動脈血  $H^+$  濃度の大きな上昇が神経細胞膜上の負の固定電荷と結合し、表面電位の大きさを減少させた、と見ることは極めて自然であろう。呼吸中枢に入る情報は神経線維を伝わる活動電位を媒体として送り込まれる。また吸息中枢から出る情報も活動電位を仲介とする。大動脈小体および頸動脈小体にある  $H^+$  受容器に発生する脱分極が如何に大きくなったところで、吸息中枢から出る神経線維に活動電位が発生しなければ呼吸は停止する。さらに意識とよばれるものも神経線維を伝わる活動電位を仲介として組み上げられる。活動電位の発生なくして意識活動はありえない。活動電位発生の抑制は、あたかも麻酔剤を与えたかのように、呼吸抑制のみならず意識の消失をももたらす。

#### 4. 神経細胞膜表面の固定電荷密度と細胞外 pH

ここで考えなければならぬことは  $H^+$  濃度が  $Na^+$  濃度の 100 万分の 1 に過ぎないことである。この極めて少ないイオンである  $H^+$  の濃度が変化したところで、遮蔽効果による表面電位の変化は殆ど認められないほど小さい筈である。ところが Hille の実験は、細胞外 pH を 7.3 から 8.3 に上昇させると ( $H^+$  濃度を更にその 1/10 に低下させる

と)、 $h_{\infty}$  vs. 膜電位曲線が 5.9mV 過分極側に移動することを示している。この移動の大きさから考えて、 $H^+$  の効果は遮蔽効果とは全く異なる機構を介して現われると推察せざるを得ない。

細胞膜表面の極性基は酸としての性質を持っている。酸としての極性基の解離は次の化学式であらわされる。



$$[S]_{total} = [S^-] + [SH]$$

$$\frac{[S^-]}{[S]_{total}} = \frac{1}{[H^+]/K_A + 1}$$

もし膜表面の極性基の  $pK_A$  が 6.0 であるならば、pH 7.0 においてこの極性基の 90% は解離し、負の固定電荷が膜表面に現われる。逆に pH 5.0 においては、この極性基の 90% が  $H^+$  と結合し、極性基の僅か 10% が解離しているだけである。極性基の大部分が電荷を失い、膜表面の固定電荷密度が零に近づくと、表面電位は零に近づく (図 2)。

膜表面の解離していない極性基も解離している極性基も全て合わせたものを固定電荷の総密度 ( $\sigma_s$ )<sub>max</sub> で以って表す。膜表面の極性基がただ 1 種類であれば、解離して固定電荷となっているものの密度  $\sigma_s$  と  $H^+$  濃度との関係は次式で表される。

$$\sigma_s = (\sigma_s)_{max} \frac{[S^-]}{[S]_{total}} \quad \text{すなわち、} \quad \sigma_s = (\sigma_s)_{max} \frac{1}{\frac{[H^+]}{K_A} + 1} \quad (16)$$

細胞外液には  $Ca^{2+}$  は存在するが、その濃度は 1 価の陽イオンの総濃度に較べて低く、しかも  $H^+$  濃度とは無関係とみなす事が可能であるので、(11b) 式をもちいて表面電位と固定電荷密度との関係を示すグラフを描くことにする。血液の正常 pH 付近において pH 変化によって引き起こされる  $h_{\infty}$  vs. E 曲線の移動について報告されている実測値に合うように  $K_A$  の値を選んで描いた曲線を図 3B に示す。この図では  $pK_A$  の値を 6.4 としている。細胞外 pH が 7.35 から 7.06 に低下すると、表面電位は 4mV 零方向へ変化する。この変化は活動電位発生をかなりの程度抑制する大きさである。

ところで膜表面の極性基をただ1種類であると仮定した場合には、計算から得た表面電位 vs. pH 曲線と報告されている gating 状態移動の大きさと pH との関係を示す曲線とを完全に一致させることは出来なかった。このことは膜表面には少なくとも2種類の極性基があることを示唆しているようである。おそらく極性基の種類はもっと多いであろう。

以上まとめると、高度の換気障害がある場合、静脈血における脱酸素 hemoglobin の占める割合が上昇している。このような時に肺胞腔内酸素分圧を 100mmHg 以上に高めると、大量の酸素化 hemoglobin が一挙に出現し、酸素化 hemoglobin から解離した  $H^+$  が動脈血に残留する。動脈血  $H^+$  濃度の上昇は全身の細胞に影響を与え、神経線維においては、活動電位発生の抑制をきたす。 $H^+$  は遮蔽効果を介して表面電位に影響を与えるのではなく、細胞外側膜表面の極性基が酸として解離することを抑制し、その結果である固定負電荷密度の減少を介して負の表面電位を零の方向に変化させ、膜電位依存性イオンチャネルの gating に過分極状態が存在するかの様な影響を与えると考えられる。

“アロステリック蛋白としてのヘモグロビン”から始まった血液の  $O_2/CO_2$  運搬能に関する話は炭酸ガスナルコーシスを理解する為の道のりであった。ここまで辛抱強く読んでくれた読者に感謝す

る。己が立っているところを深く理解すればするほど視野は広がっていく。その広がりを楽しんでいただければ幸いである。自分が知ったことは、他人に話したくなる。これは人間の性（さが）であろう。ときには他人に理解してもらうことに困難を覚えることもある。しかしそれは無理もないことである。自分自身が理解するのに渾身の力を振るったのであるから、そうたやすく他人がそれを理解できる筈はないと割り切るべきであろう。私の師は“生理学は彫刻のようなものである”と言っておられた。まず、それは一人で為すものである。そして磨けば磨くほど輝きを増してくるものである。

## 文 献

1. Frankenhaeuser B & Hodgkin AL: The action of calcium on the electrical properties of squid axons. *J Physiol* **137**: 218-244, 1957
2. Chandler WK, Hodgkin AL & Meves H: The effect of changing the internal solution on sodium inactivation and related phenomena in giant axons. *J Physiol* **180**: 821-836, 1965
3. Hille B: Charges and potentials at the nerve surface. *Divalent ions and pH*. *J Gen Physiol* **51**: 221-236, 1968
4. Overbeek JTh: The Donnan equilibrium. *Progress in Biophysics and Biophysical Chemistry*, Pergamon Press, London & New York, 6 pp 57-84, 1956