

「生理学ものがたり」第8回 イオンチャネルの構造と電流-電圧曲線

滋賀医大名誉教授 北里 宏

今ではチャネルが細胞膜に存在するということは自明のことと受け取られ、チャネル病といった言葉すら日常的に聞かれる。しかし Hodgkin & Huxley が活動電位発生の機構を説明するモデルを発表した50年以上も前、チャネルはその存在すら疑われていた。チャネルの存在に物質的根拠を与えたものは三共製薬のフグ毒テトロドトキシンをはじめ幾つかの神経毒を用いた実験であった。この分野での植橋先生はじめ日本の研究者の貢献は非常に大きい。

チャネルがあつてはじめて Hodgkin & Huxley のモデルは成り立つ。その考えの根幹となっているものは、細胞膜単位面積当たりのコンダクタンスは開いているチャネルの数に比例するというものである。開いているチャネルの数は、特定のイオン種を通し得るチャネルの総数と開いているチャネルの割合（すなわち個々のチャネルの開いている確率）の積である。そしてもう1つ重要な概念は、チャネルが開く確率は膜電位の関数であるというものである。実験データから開いているチャネルの数を推定するにあたって、彼らは膜電流の値を駆動力（具体的には、膜電位とそのイオンの平衡電位との差）で割ったもの、つまりコンダクタンスを用いた。この方法は、チャネル数が一定である場合の電流-電圧関係が直線的であれば、全く問題ない。しかし開いているチャネルの数に変化がないと明らかに推測される条件であっても、その電流-電圧曲線が直線的でない場合、異なった膜電位のもとで得られたコンダクタンスに修正を加えなければ、異なった膜電位レベルにおいて得られた膜電流値から推定したチャネルの開

いている割合は互いに直接比較できない。

開いているチャネル数が一定に保たれていると考えて差し支えない状況の電流-電圧曲線は、膜電位をある任意のレベルから突然様々なレベルに変化させたときに瞬間に流れる膜電流から容量性電流を差し引いたもの、すなわち instantaneous current, を用いて描くことができる。私もその頃、カエル有髄神経線維および単細胞植物であるニテラについて instantaneous current を記録することに相当な精力を費やした。当時は膜電位固定装置も自分で作らなければならなかった。Instantaneous current を記録することは机上で考えるほど容易なことではない。容量性電流が可能な限り少なくなるように装置に工夫を加えなければならない。脱分極時の Na^+ 電流に関しては、電流が大きく、しかも電流値は時間的に急速に変化するので、信頼性の高い instantaneous 電流-電圧曲線を得るのは困難であった。 K^+ 電流に関してはかなり信頼性の高いものが得られた。 K^+ 電流の instantaneous 電流-電圧曲線は細胞の種類を問わず Goldman-Hodgkin-Katz 式 (GHK 式) を用いて描かれる曲線と比較的よく似ているが、必ずしも一致しない。Goldmann-Hodgkin-Katz 式と完全に一致していれば、GHK 式を用いてコンダクタンスを補正することができる。しかし完全に一致しなければ適当な補正用の経験式を用いなければならない。現在ではパッチクランプ法が普及し、ホールディングポテンシャルを変えるだけで、様々な膜電位レベルにおける単一チャネルを通る電流の大きさを測定することは比較的容易にになった。単一チャネル電流の記録においても従前の膜電位固定法を用い

る実験から得られたものと同様に、細胞外 K^+ 濃度が細胞内濃度より低い条件のもとでは、外向きに電流が流れる領域において電流-電圧曲線の勾配は大きくなる。すなわち外向き整流現象が認められる。何故細胞外の K^+ 濃度が細胞内の濃度より低いときに外向き整流現象が現われるのか。この現象は、多分、チャネル内のイオン濃度の変化に由来しているものであろう。それならばチャネルを流れるイオン流とチャネル内イオン濃度との間にはどのような関係があるのだろうか。こういった点は未だ充分に解明されていない。もう1つ具体的な問題がある。細胞膜の外側表面電位が正方向に変化したと考えられるときに静止電位が脱分極方向に変化することがある。この問題についてもその機構は未だ明確にされていない。

実験によって証明することができない場合にも、物理化学の知識と論理の力を借りて推測していく道が残されている。この稿では従来とは異なった観点からチャネル内のイオンの動きを構造と関係付けて解析し、チャネル内のイオン濃度およびチャネル内の電位と表面電位との関係を出来る限り明らかにしたい。これを契機としてチャネルの構造についての研究がいっそう深まれば幸いである。

1. イオンチャネルの構造と各種電位差

最初に注目されたイオンチャネルは先に述べたように膜電位依存性のチャネルであった。その後、非選択性陽イオンチャネル、内向き整流性 K^+ チャネル、更に陰イオンチャネルの存在が次々と明らかとなった。いまでは分子生物学的手法を用いてチャネル分子のアミノ酸配列も解明されている。イオンチャネルの構造、電気生理学的性質、薬理的性質およびこれらの知見に基づく分類は、倉知嘉久教授のモノグラムに詳しいので、それを参照されることを勧める。

膜電位依存性 Na^+ チャネルは電気ウナギの発電器官、ラット脳、ラット骨格筋、雛の心筋から神経毒との結合を指標とした蛋白精製法を用いて先ず分離生成され、その後遺伝子工学的手法を用いてアミノ酸配列が確定されている。電気ウナギ発

電器官の Na^+ チャネルは単一のポリペプチドからなり、その分子量は 260,000~300,000 と報告されている。1884 年、沼正作らは recombinant DNA technique を用いて、電気ウナギ発電器官の Na^+ チャネル蛋白をコードする mRNA に相補的な DNA sequence をクローニングし、その結果を報告した。これが Na^+ チャネルの全アミノ酸配列を解明した最初の報告である。その手法は彼らの長年磨きあげた蛋白化学の技術の上に築き上げられたものである。彼らの仕事により、電気ウナギ発電器官の Na^+ チャネルは 1,820 のアミノ酸残基からなり、これは 4 つの互いによく似た sequence が連結したものであることが明らかとなった。この互いによく似た sequence をそれぞれリピートと呼ぶ。各リピートは 6 つの膜貫通セグメントからなる。この膜貫通部分はそれぞれ α ヘリックスを形成しているものと思われる。セグメント 4 には規則的に正の電荷をもったアミノ酸が存在し、これが gating の膜電位センサーの役割を果たしているのだらうとのことである。各リピートの 5 番目のセグメントと 6 番目のセグメント合計 8 本の膜貫通セグメントがチャネル分子内腔の側壁を形成しているものと想像される。

膜電位依存性 K^+ チャネルのサブユニットも 6 つの膜貫通セグメントからなり、チャネル分子はこれらのサブユニットが 4 つ集合して形成する 4 量体であり、各サブユニットの 4 番目のセグメントに正の電荷を持つアミノ酸が規則的に配列している。このチャネル分子でも各サブユニットの 5 番目と 6 番目の膜貫通セグメントが 8 本集まり、チャネル内腔の側壁を形成しているのであろう。膜電位感受性 gating 機構を持たない内向き整流性 K^+ チャネルでは、サブユニットは 2 つの膜貫通セグメントからなり、このサブユニットが 4 つ集合して 1 つの K^+ チャネル分子を形成し、合計 8 本の膜貫通セグメントがチャネル内腔壁を形成していると考えられている。

Na^+ チャネルにしる K^+ チャネルにしるチャネル内腔壁の化学的性質は一樣ではない。またチャネル内腔には狭いところも広いところもあるに違いない。狭いところ、あるいは親水性の低いところ

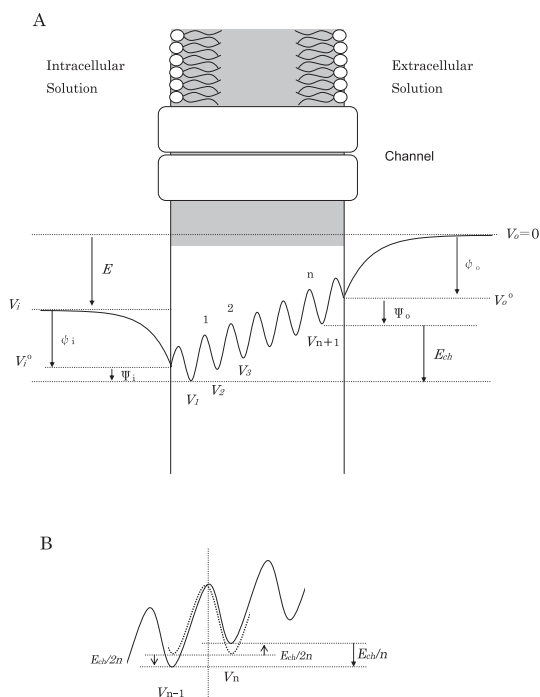


図1 イオンチャネルに関するポテンシャルプロフィール.

Aはチャネルに関する全てのポテンシャルプロフィールを示す。この図では山の数 n は5であり、谷の数は6である。 E_{ch} はチャネル両端間の電位差である。 ϕ_i および ϕ_o はそれぞれ細胞内側および細胞外側の表面電位であり、 Ψ_i および Ψ_o は細胞内側および細胞外側の界面電位である。 E は細胞内外液間の電位差すなわち膜電位である。Bはチャネル内の隣り合った谷の間の電位差とチャネル両端間の電位差との関係を示す。隣り合った谷の間に電位差が無い場合の速度係数が κ^0 である。 κ^0 の値は山が高いほど、小さくなる。

ろはイオンの通り難いところであり、ここにイオンは長く留まることは出来ない。これに対して広いところにはイオンは暫くの間とどまることが出来る。イオンが通り難いところを山といい、比較的広く、イオンがしばし留まることの出来るところを谷と呼ぶことにする。図1にチャネルに関するポテンシャルプロフィールを示す。

細胞内液と細胞外液の間には細胞内側表面にまず表面電位があり、細胞膜内側表面とチャネル内の最も細胞内側の谷との間に界面電位がある。

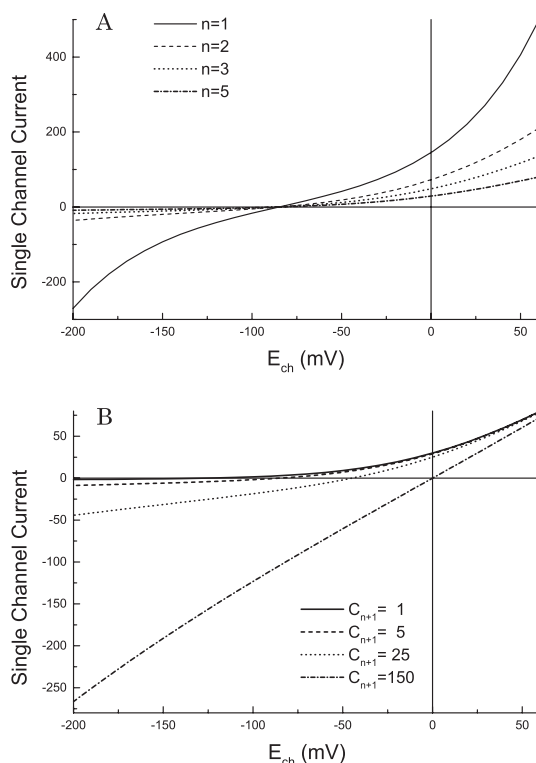


図2 単一チャネルの電流とチャネル両端間の電位差との関係.

Aはチャネル内の山の数 n が1, 2, 3, および5である場合の各々について、最も細胞内側の谷のイオン濃度を150mMとし、最も細胞外側のイオン濃度を5mMとした場合の単一チャネル電流-電圧曲線である。チャネル内の山の数 n が1である場合、電流-電圧曲線は双曲線となる。山の数が増加するにしたがって、電流-電圧曲線はGoldman-Hodgkin-Katz型の曲線に近づく。Bは最も細胞内側の谷のイオン濃度が150mMであり、最も細胞外側の谷のイオン濃度が1, 5, 25, および150mMである場合の各々について、電流-電圧曲線を示したものである。最も細胞外側の谷のイオン濃度が最も細胞内側の谷のイオン濃度と等しくなると、電流-電圧曲線はほぼ直線となる。

チャネル内の最も細胞内側の谷と最も細胞外側の谷との間にも、通常、電位差がある。この電位差を E_{ch} で示すことにする。チャネル内の最も細胞外側の谷と細胞外側表面の細胞外液との間に細胞外側界面電位があり、同じ細胞外液ではあるが細胞外側表面から遠く離れた所 (bulk の細胞外

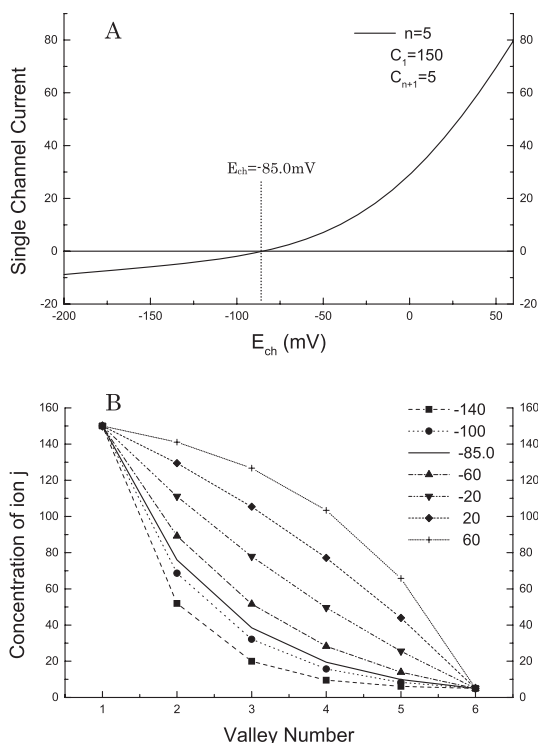


図3 チャンネル内の谷におけるイオン濃度におよぼすチャンネル両端間の電位差。

最も細胞内側の谷におけるイオン濃度は150mMであり、最も細胞外側の谷におけるイオン濃度は5mMである。チャンネル内の山の数5である。

Aは単一チャンネルを流れる電流の大きさとチャンネル両端間の電位差との関係を示す。チャンネル電流が零となるときのチャンネル両端間電位差は-85.0mVである。チャンネル電流が外向きに流れる領域では、コンダクタンスは増加し、チャンネル電流が内向きに流れる領域では、コンダクタンスは減少する。Bの横軸はチャンネル番号、縦軸は谷におけるイオン濃度を示す。チャンネル両端間の電位差は-140、-100、-60、-20、20、および60mVである。各々の谷におけるプロットはイオン濃度を示す。実線はチャンネル両端間の電位差が-85.0mVであるときの谷のイオン濃度を結んだものである。チャンネル電流が外向きに流れる領域ではチャンネル内の各谷のイオン濃度は上昇し、逆に、チャンネル電流が内向きに流れる領域ではチャンネル内のイオン濃度は低下する。つまりコンダクタンスは増加している領域ではチャンネル内イオン濃度は高い。

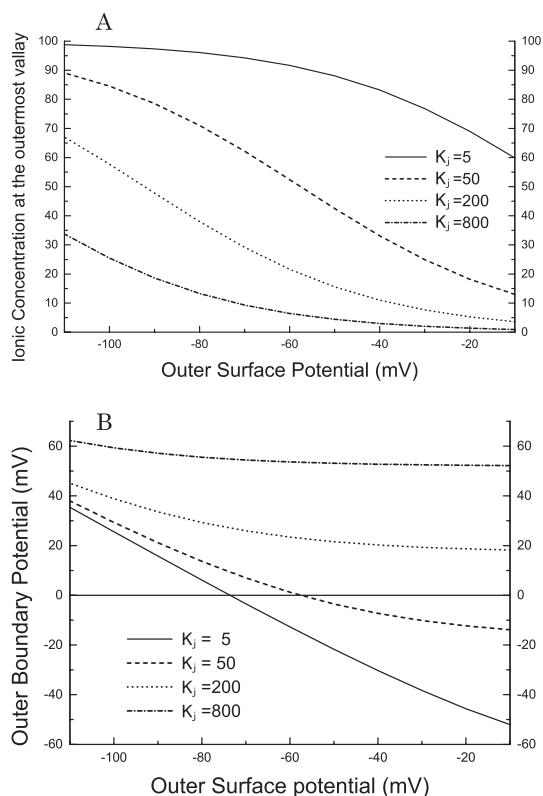


図4 細胞外側界面におけるチャンネル内イオン濃度および界面電位と表面電位との関係。細胞外液中のイオンjの濃度は5mMである。

Aはチャンネル内の谷のイオン濃度(あるいは飽和度)と表面電位との関係を示す。谷内のホールとイオンとの結合の解離定数 K_j の値は5, 50, 200, および800mMの各々の場合について、チャンネル内イオン濃度を表面電位についてプロットした。表面電位が負の方向に大きくなるにしたがってチャンネル内のイオン濃度は上昇する。この傾向はチャンネルのイオン親和性が低い程(K_j の値が大きい程)著しい。Bは界面電位と表面電位との関係を示す。 K_j の値が800mMでは表面電位が変化しても界面電位は殆ど変化しない。これとは対照的に、 $K_j=5$ mMである場合、表面電位の変化に対して界面電位は反対方向へ表面電位の変化分とほぼ同じ大きさだけ変化する。チャンネルのイオン親和性に変化が無い限り、表面電位が変化しても界面電位が変化しない条件下では、表面電位の変化にしたがってチャンネル内のイオン濃度が変化し、表面電位が変化してもチャンネル内イオン濃度が変化しない条件下では、表面電位の変化にしたがって界面電位が変化する。すなわちチャンネルのイオン親和性が変化しない限り、チャンネル内のイオン電気化学活度は表面電位が変化しても同一の値に留まる。

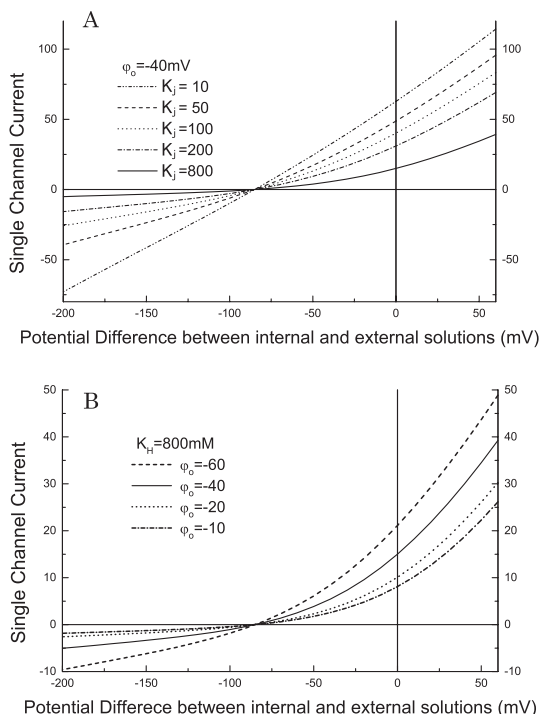


図5 単一チャネル電流-膜電位曲線とチャネルのイオン親和性および表面電位との関係。この図ではチャネル内の山の数は5であり、細胞内液におけるイオン濃度は150mM、細胞外液におけるイオン濃度は5mMである。

Aは表面電位が -40mV である場合の単一チャネル電流-膜電位曲線を示す。 K_j の値は10, 50, 100, 200, および800mMである。なお膜電位は細胞内外液間の電位差である。チャネルのイオン親和性が上昇するにしたがって(K_j の値が低下するにしたがって)、電流-電圧曲線はGoldman-Hodgkin-Katz型から直線に近いものに近づく。チャネルのイオン親和性が変化してもチャネル電流が零となるところの膜電位の値には変化はない。Bはチャネルのイオン親和性が低い場合(K_j が800mVである場合)の単一チャネル電流-膜電位曲線を示す。細胞外側表面電位は -60 , -40 , -20 , および -10mV である。表面電位が負の方向に大きくなると、全ての領域においてコンダクタンスが増加する。特に内向きに電流が流れる領域におけるコンダクタンスの増加は大きい。表面電位が変化しても、チャネル電流が零となるところの膜電位の値には変化はない。すなわち、表面電位の変化が単一チャネル電流-電圧曲線を膜電位軸に沿ってシフトさせることはない。

液)と膜表面との間に細胞外側の表面電位がある。膜電位 E はbulkの細胞外液の電位 V_o に対するbulkの細胞内液の電位 V_i である。

$$E = V_i - V_o$$

一方、細胞内側の表面電位はbulkの細胞内液の電位に対する細胞内側表面の電位 V_i^0 である。すなわち細胞内側表面電位は、すなわち、

$$\psi_i = V_i^0 - V_i$$

である。細胞内側の界面電位は細胞内側表面の電位に対するチャネル内の最も細胞内側の谷の電位 V_1 である。

$$\Psi_i = V_1 - V_i^0$$

同様に細胞外側の界面電位は細胞外側表面の電位 V_o^0 に対するチャネル内の最も細胞外側の谷の電位 V_{n+1} の電位である。

$$\Psi_o = V_{n+1} - V_o^0$$

細胞外側の表面電位はbulkの細胞外液の電位に対する細胞外側膜表面の電位である。

$$\psi_o = V_o^0 - V_o$$

したがって、膜電位は次のようにも表現できる。

$$E = -\psi_i - \Psi_i + E_{ch} + \Psi_o + \psi_o$$

E_{ch} はチャネルの最も細胞外側の谷の電位に対する最も細胞内側の谷の電位、すなわちチャネル両端間の電位差である。細胞内側の表面電位および界面電位に負記号がついていることに注意。これは、座標軸上の、細胞内側の表面電位および界面電位の定義の方向がその他の電位差の定義の逆の方向であることに因る。上式からチャネル両端間の電位差を示す式がつぎのように導き出せる。

$$E_{ch} = E + \psi_i + \Psi_i - \Psi_o - \psi_o \quad (1)$$

(1)式の右辺の各項がそれぞれ独立であれば、表面電位が変化するに伴ってチャネル両端間の電位差も変化することになる。しかし各項は必ずしも独立であるとは限らない。この点について考察

する前に、まずチャンネルを流れる電流とチャンネル両端間の電位差の関係について調べることにする。

2. チャンネル内の山の数と電流-電圧曲線

チャンネル内の山には細胞内側から 1, 2, 3 というように番号をつけ、チャンネル内の各々の山を通り越すイオンの流れ（フラックス）を速度論的に扱うことにする。なお、各々の山の高さは均一であるとする。チャンネル内の隣り合った谷の間に電位差がない場合に一方の谷から他方の谷に移動する一方向性フラックスの速度係数を k^0 で示す。チャンネル内の各々の山の高さが皆おなじであれば、隣り合った谷と谷との間の電位差はチャンネル両端間の電位差を山の数 n で割ったものとなる。山が対称的であるならば、ある谷から 1 つ細胞外側の谷に移動する動きの速度係数 k は

$$k = k^0 e^{z_j F E_{0j} / 2nRT} \quad (2a)$$

となり、逆に 1 つ細胞外側の谷から細胞内側へ移動する動きの速度係数 k' は

$$k' = k^0 e^{-z_j F E_{0j} / 2nRT} \quad (2b)$$

となる（図 1B 参照）。なお、細胞内から細胞外方向への流れを正とする。速度係数の比は

$$\frac{k}{k'} = e^{z_j F E_{0j} / nRT} \quad (2c)$$

となる。

最も細胞内側の谷、すなわち 1 番目の谷におけるイオン j の濃度を C_1 で表し、2 番目の谷におけるイオン j の濃度を C_2 で表すと、最も細胞内側の谷と 2 番目の谷の間の山 1 を乗り越え移動する正味の移動量 J_{12} （フラックス）は

$$J_{12} = kC_1 - k'C_2 \quad (3-1)$$

であり、3 番目の谷におけるイオン j の濃度を C_3 で表すと、同様に 2 番目の谷と 3 番目の間の山 2 を乗り越える正味の移動量 J_{23} は

$$J_{23} = kC_2 - k'C_3 \quad (3-2)$$

以下同様に

$$\begin{aligned} & \dots\dots\dots \\ J_{nn+1} &= kC_n - k'C_{n+1} \end{aligned} \quad (3-n)$$

と表される。定常状態では

$$J_{12} = J_{23} = \dots\dots\dots J_{nn+1} = J \quad (4)$$

である。

(4) 式と (3-1) 式から C_2 を求め、その C_2 を (3-2) 式に代入して C_3 を求める。このようにして次々と代入していくと次の式が得られる。

$$C_2 = \frac{k}{k'} C_1 - \frac{J}{k'} \quad (5-1)$$

$$C_3 = \left(\frac{k}{k'}\right)^2 C_1 - \left(\frac{k}{k'} + 1\right) \frac{J}{k'} \quad (5-2)$$

$$C_4 = \left(\frac{k}{k'}\right)^3 C_1 - \left[\left(\frac{k}{k'}\right)^2 + \frac{k}{k'} + 1\right] \frac{J}{k'} \quad (5-3)$$

.....

$$C_n = \left(\frac{k}{k'}\right)^{n-1} C_1 - \left[\left(\frac{k}{k'}\right)^{n-2} + \left(\frac{k}{k'}\right)^{n-3} + \dots\dots + 1\right] \frac{J}{k'} \quad (5-n-1)$$

最終的に (3-n) 式に C_n を代入し整理すると、次の式を得る。

$$J = \frac{K \left(\frac{k}{k'}\right)^{n-1} C_1 - k' C_{n+1}}{\left(\frac{k}{k'}\right)^{n-1} + \left(\frac{k}{k'}\right)^{n-2} + \dots\dots + 1} \quad (6)$$

数列 $\alpha^{n-1} + \alpha^{n-2} + \dots\dots\dots + 1$ は $\frac{\alpha^n - 1}{\alpha - 1}$ の形に書き替えられるので、(6) 式はつぎのように変形される。

$$J = \left(\frac{k}{k'} - 1\right) \frac{k \left(\frac{k}{k'}\right)^{n-1} C_1 - k' C_{n+1}}{\left(\frac{k}{k'}\right)^n - 1} \\ = (k - k') \frac{\left(\frac{k}{k'}\right)^n C_1 - C_{n+1}}{\left(\frac{k}{k'}\right)^n - 1} \quad (7)$$

上式に (2) 式に示した速度係数を代入すると次の式を得る。

$$J = k^0 (e^{z_j F E_{ch}/2nRT} - e^{-z_j F E_{ch}/2nRT}) \frac{C_1 e^{z_j F E_{ch}/RT} - C_{n+1}}{e^{z_j F E_{ch}/RT} - 1} \quad (8)$$

これがチャンネル両端間の電位差とイオンフラックスの関係を表す一般的な式である。この式の特徴はチャンネルの最も細胞内側の谷におけるイオン j の電気化学活度と最も細胞外側の谷におけるそれとの差 $C_1 e^{z_j F E_{ch}/RT} - C_{n+1}$ が式のおもてに現われ、電気化学活度の差の係数に相当する $k^0 (e^{z_j F E_{ch}/2nRT} - e^{-z_j F E_{ch}/2nRT}) / (e^{z_j F E_{ch}/RT} - 1)$ は常に正であることである。イオンの流れは1モル当たり $z_j F$ の電気量を運ぶので、チャンネル電流は次のようになる。

$$I_j = z_j F J_j \\ I_j = z_j F k^0 (e^{z_j F E_{ch}/2nRT} - e^{-z_j F E_{ch}/2nRT}) \frac{C_1 e^{z_j F E_{ch}/RT} - C_{n+1}}{e^{z_j F E_{ch}/RT} - 1} \quad (9)$$

この式がイオン電流とチャンネル両端間の電位差との関係を示す一般的な式である。この式を用いて C_1 のイオン濃度を 150mM, C_{n+1} のイオン濃度を 5mM とし、山の数が 1, 2, 3, および 5 の場合について計算し、描いた電流-電圧曲線を図 2A に示す。

山の数 n が 1 である場合、電流-電圧曲線が双曲線となることに注目して欲しい (図 2A に実線で示す)。このことに関して、 $n=1$ である場合、(9) 式は次のようになる。

$$I_j = z_j F k^0 (C_1 e^{z_j F E_{ch}/2RT} - C_2 e^{-z_j F E_{ch}/2RT}) \\ I_j = z_j F k^0 (C_1 \cdot C_2)^{1/2} (e^{z_j (E_{ch} - E_j) F/2RT} - e^{-z_j (E_{ch} - E_j) F/2RT}) \quad (10)$$

となる。つまりこの場合、電気化学活度の差である $C_1 e^{z_j F E_{ch}/RT} - C_{n+1}$ は式の表面から消え失せ、双曲線関数が現われてくる。上式中の E_j はチャンネル内のイオン濃度 C_1 と C_2 の比に平衡するチャンネル両端間の電位差 (平衡電位に相当する) である。ここで指摘しておかなければならないことは、山の数 n が 1 であるということは、チャンネル内に山で挟まれた谷がないということである。つまりチャンネル電流の変化にしたがって濃度の変化しうる谷がないということである。なお、このことは内向き整流性 K^+ チャンネルの機構を考える際に大きなヒントとなるであろう。

山の数が増加するにしたがって電流-電圧曲線は双極線型から Goldman-Hodgkin-Katz 型の曲線に近づく。山の数 n が 5, C_1 のイオン濃度は 150mM とし、最も細胞外の谷のイオン濃度 C_{n+1} を 1, 5, 25, および 150mM とした場合の各々について計算して描いた電流-電圧曲線を図 2B に示す。細胞外側のイオン濃度が細胞内側の谷のイオン濃度に近づくに従って、電流-電圧曲線が x 軸を横切る点は零方向へ移動すると共に、内向きに電流が流れる領域では電流の増大が著しい。最も細胞外側の谷のイオン濃度が 150mM であると、電流-電圧曲線は原点をとおり、ほぼ直線となる。パッチクランプ実験においても細胞内外のイオン濃度を等しくすると、チャンネル電流-電圧曲線は殆どすべて直線的になることが認められる。

越えなければならない山の数が増加すると $E_{ch}/2n \ll RT/2F$ となる。この場合、(9) 式は次のようになる。

$$I_j = z_j F k^0 \frac{z_j F E_{ch}}{nRT} \cdot \frac{C_1 e^{z_j F E_{ch}/RT} - C_{n+1}}{e^{z_j F E_{ch}/RT} - 1} \quad (11)$$

もし Hodgkin & Katz が仮定したように、 C_1 および C_{n+1} が次のように表され、

$$C_1 = \beta_j [j]_i \quad (12a)$$

$$C_{n+1} = \beta_j [j]_o \quad (12b)$$

また $E_{ch} = E$ であるならば、(11) 式は、細胞内外液中のイオン濃度および細胞内外液間の電位差 E を用いて次のよう書き換えられる。

$$I_j = z_j F k^0 \beta_j \frac{z_j F E}{n R T} \cdot \frac{[j]_i e^{z_j F E / R T} - [j]_o}{e^{F E / R T} - 1} \quad (13)$$

すなわち速度論的に導いたチャネル電流の式は Goldman-Hodgkin-Katz の式とまったく同じ形になる。このことは GHK 式が成り立つ条件は、細胞内外界面におけるチャネル内のイオン濃度がそれぞれ細胞内液および細胞外液のイオン濃度に単純に比例すること、チャネル両端間の電位差が細胞内外の電位差に等しいことの他に、チャネル内の山の数がかなり多い場合であることを意味している。

さて、チャネル内の山の数が多く細胞内側の谷のイオン濃度が細胞外側のイオン濃度より高い場合、チャネル両端間の電位差が正方向に変化すると電流は著しく増加する。チャネルを通る電流はイオンによって運ばれるので、電流が大きいということはチャネル内のイオン濃度が上昇していることを意味するであろう。次に、電流-電圧曲線の勾配とチャネル内イオン濃度との関係を見ることにしよう。

3. チャネル内の谷のイオン濃度に及ぼすチャネル両端間の電位差の影響

チャネル内に多数の山がある場合の 1 例として、山の数が 5、最も細胞内側の谷のイオン濃度が 150mM、最も細胞外側の谷のイオン濃度が 5mM である場合の電流-電圧曲線を図 3A に示す。この曲線は図 2B に破線を以って示したものと同一ものである。この条件ではいわゆる外向き整流現象に相当する電流の増加が認められる。この電流特性を示すチャネルの各谷におけるイオン濃度を図 3B に示す。

チャネル内の谷 2 から 5 までのイオン濃度は、(8) 式と (5-n-1) 式を用いて計算することができる。図 3B に示す各谷のイオン濃度はチャネル両端間の電位差が -140, -100, -85.0, -60, -20, 20, および 60mV におけるものである。-85.0mV ではイオン電流は零である。この場合、谷のイオン濃度は最も細胞内側から細胞外側に向かって等比級数的に低くなっている。チャネル両端間の電位差がこれより負の方向に変化するに

たがって、各谷のイオン濃度は低下する。逆に、チャネル両端間の電位差が -85.0mV より正の方向に変化するに従って各谷のイオン濃度は高くなる。すなわち外向き電流の大きさが増加するにしたがってチャネル内のイオン濃度は上昇する。言い換えると、外向き整流現象の出現に必要な条件は、外向きに電流が増大するにしたがってチャネル内のイオン濃度が上昇し得ることである、ということになる。実際の細胞膜のチャネルにはそのイオン濃度が変化し得るだけの余裕があるに違いない。

4. 溶液-チャネル界面におけるイオンの分配

a) チャネルのイオン親和性と界面電位

ここまでの解析ではチャネル内の 2 番目の谷から n 番目の谷までのイオン濃度は変化し得るが、最も細胞内側の谷および最も細胞外側の谷のイオン濃度は常に一定であるとして話を進めてきた。これからいよいよ溶液-チャネル界面におけるチャネル内のイオン濃度ならびに界面電位とチャネルのイオン親和性との関係について考えてみることにする。

議論を簡単にするために、イオン j は 1 価の陽イオンであるとする。問題としているイオンは K^+ であると考えると最も容易に具体的イメージを掴むことが出来よう。界面において平衡が成り立っておれば、チャネル内の谷にあるイオンの電気化学活度は細胞膜表面にあるイオンの電気化学活度と等しい。この状態は次の様に書き表される。

細胞内側界面では、

$$C_i e^{V_i F / R T} = [j]_i^0 e^{V_i^0 F / R T} \quad (14a)$$

であり、細胞外側界面では、

$$C_{n+1} e^{V_{n+1} F / R T} = [j]_o^0 e^{V_o^0 F / R T} \quad (14b)$$

である。 $[j]_i^0$ は細胞膜内側表面に接する溶液中のイオン j の濃度であり、 $[j]_o^0$ は細胞膜外側表面に接する溶液中のイオン j の濃度である。先に定義したように、 V_i はチャネル内の最も細胞内側に位置する谷の電位であり、 V_{n+1} は最も細胞外側にある谷の電位である。また、 V_i^0 は細胞内側表面の電

位であり、 V_o^0 は細胞外側表面の電位である。細胞内側表面の電位に対するチャンネル内の最も細胞内側の谷の電位すなわち細胞内側の界面電位は (14 a) 式から次のように導かれる。

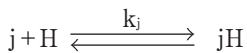
$$\Psi_i = V_i - V_i^0 = \frac{RT}{F} \ln \frac{[j]_i^0}{C_i} \quad (15a)$$

同様に、細胞外側の界面電位は (14b) 式から導かれる。

$$\Psi_o = V_{n+1} - V_o^0 = \frac{RT}{F} \ln \frac{[j]_o^0}{C_{n+1}} \quad (15b)$$

次に、界面におけるチャンネル内の谷にあるイオンの濃度が問題である。チャンネル内の空間は限定されているので、膜表面に接する溶液中のイオン濃度が高くなるにしたがってチャンネル内では飽和と言う現象が起これと予想される。

チャンネル内腔壁には親水性のアミノ酸残基があり、内腔には水分子が存在する。イオンはチャンネル内においても水分子と一種の結合状態にあると考えられる。界面においてイオンが安定して留まることの出来る谷の中で水と結合して存在するイオン j の最大濃度を $[Cj]_{\max}$ とする。なお、チャンネル内の水構造の中のイオン j と結合する座をホール hole と呼ぶことにすると、チャンネル内のイオンと膜表面のイオンとの化学的な関係は次のように表されるであろう。この結合はイオン交換樹脂におけるイオンと H^+ との交換のようなものである。



j は膜表面のイオン j を示し、 jH はホールと結合したイオン j すなわちチャンネル内のイオン j を示す。ホールとイオン j との結合定数を K_j で表すことにする。

$$K_j = \frac{[j]_i^0 [H]_i}{[jH]_i} \quad (16)$$

この定義から、最も細胞内側の谷のイオン濃度は次のように表される。

$$C_i = [jH]_i = \frac{[H]_{total}}{1 + \frac{K_j}{[j]_i^0}} = \frac{C_{\max} [j]_i^0}{[j]_i^0 + K_j} \quad (17a)$$

同様に、細胞外側に最も近い谷のイオン濃度は

次の式で表される。

$$C_{n+1} = [jH]_{n+1} = \frac{[H]_{total}}{1 + \frac{K_j}{[j]_o^0}} = \frac{C_{\max} [j]_o^0}{[j]_o^0 + K_j} \quad (17b)$$

$[H]_{total}$ は谷におけるイオン j の飽和濃度であるので、 $C_{\max}$ と書くことにする。なお、 $[j]_i^0$ および $[j]_o^0$ はそれぞれ Boltzmann の分布則から次のように表される。

$$[j]_i^0 = [j]_i e^{-\Psi_i F / RT}$$

$$[j]_o^0 = [j]_o e^{-\Psi_o F / RT}$$

$[j]_i$ および $[j]_o$ はそれぞれ bulk の細胞内液中および bulk の細胞外液中のイオン濃度である。膜表面のイオン j の濃度が K_j の値より遥に高い場合、界面に最も近い谷にあるイオン j の濃度は $C_{\max}$ に限りなく近い。細胞外液中のイオン j の濃度が 5 mM であり、 K_j の値が 5, 50, 200, および 800mM である場合のそれぞれについて (17b) 式を用いて計算により得た細胞外側界面におけるチャンネル内の谷のイオン濃度-表面電位曲線を図 4A に示す。

表面電位が正方向へ変化するにしたがって、チャンネル内のイオン濃度は低下する。チャンネルのイオン親和性が低ければ低いほど、表面電位の変化による影響は大きくなる。

次に界面電位と表面電位との関係を調べてみることにする。(17a) 式に示した C_i を (15a) 式に代入すると、膜表面の電位に対する一番目の谷の電位 (細胞内側の界面電位) を表す式は次のようになる。

$$\Psi_i = \frac{RT}{F} \ln \frac{[j]_i^0}{C_i} = \frac{RT}{F} \ln \frac{[j]_i^0 + K_j}{C_{\max}} \quad (18a)$$

同様に (18b) 式と (16b) 式から、細胞外側の界面電位を表す式のようになる。

$$\Psi_o = \frac{RT}{F} \ln \frac{[j]_o^0}{C_{n+1}} = \frac{RT}{F} \ln \frac{[j]_o^0 + K_j}{C_{\max}} \quad (18b)$$

細胞外液のイオン j の濃度を 5mM とし、 K_j の値が 5, 50, 200, および 800mM である場合のそれぞれについて、(18b) 式を用いて計算した細胞外側の界面電位-表面電位曲線を図 4B に示す。表面電位が正方向に変化するにしたがって、界面電位は負方向へ変化する。チャンネルのイオン親和性が低ければ、表面電位が変化しても界面電位の変

化は小さいが、チャネルのイオン親和性が高ければ、すなわちチャネルが飽和状態に近ければ、界面電位は表面電位の変化とは反対方向へほぼ同じ大きさだけ変化する（図 4A および 4B の実線）。以上まとめると、チャネルのイオン親和性が低ければ、表面電位の正方向への変化に伴ってチャネル内イオン濃度は大きく低下するが、界面電位は殆ど変化しない。これとは対照的に、チャネルのイオン親和性が高ければ、表面電位の正方向への変化はチャネル内イオン濃度に大きな影響を与えないが、界面電位には大きな影響を与える、ということになる。

b) 表面電位とイオン流の駆動力

内外両界面電位および内外の両表面電位の値を (1) 式に入れると細胞内外液間の電位差の各々の値についてチャネル両端間の電位差が求まる。チャネル内の山の数は 5、細胞外側の表面電位は -40mV 、細胞内イオン濃度は 150mM 、細胞外イオン濃度は 5mM であるとし、 K_j の値が 10, 50, 100, 200, および 800mM の場合の各々について、細胞内外両界面におけるチャネル内イオン濃度および界面電位を計算によって求め、(1) 式に表面電位の値および界面電位の値を代入して E_{ch} の値を計算し、それらの値を (9) 式に代入してえた単一チャネル電流-細胞内外液間電位差曲線を図 5A に示す。なお、細胞内外液間電位差を、以後、膜電位ということにする。

K_j の値とは無関係に、全ての電圧-電流曲線は細胞内外のイオン濃度に平衡する電位（イオン j の平衡電位）において x 軸を横切る。 $K_j=800\text{mM}$ である場合、電流-電圧曲線は GHK 型であるが（図に実線で示す）、チャネルのイオン親和性が増大するにしたがって（ K_j の値が小さくなるにしたがって）、電流はおおきくなり、電流-電圧曲線は直線に近づく。先に述べたように、チャネル内のイオン流の駆動力は $C_i e^{E_{ch}F/RT} - C_{n+1}$ で表される。これを細胞内外液中のイオン濃度を用いて単純な美しい形に書き換えることは、一般的には不可能である。しかし、チャネルのイオン親和性が極端に低い場合と極端に高い場合のこの 2 つの場合に限って、単純な形に書き換えることが可能である。チャネ

ルのイオン親和性が極端に低い場合、 C_i 、 C_{n+1} 、および E_{ch} は次のようになる。

$$C_i = \frac{C_{\max} [j]_i}{K_j} e^{-\psi_i F/RT}$$

$$C_{n+1} = \frac{C_{\max} [j]_o}{K_j} e^{-\psi_o F/RT}$$

$$E_{ch} = E + \psi_i - \psi_o$$

この関係を駆動力を示す式に代入すると、次のように書き換えられる。

$$C_i e^{E_{ch}F/RT} - C_{n+1} = \frac{C_{\max}}{K_j} e^{-\psi_o F/RT} ([j]_i e^{EF/RT} - [j]_o)$$

すなわち、イオン流の駆動力は細胞内液におけるイオンの電気化学活度と細胞外液におけるそれとの差で以って表される。一方、表面電位が関係する指数は駆動力にかかる係数部分に移動する。つまり、この場合表面電位の変化は細胞内外液中の電気化学活度の差で表される駆動力それ自体には影響をあたえず、電気化学活度の差にかかる係数に影響を与える。このように、チャネルのイオン親和性が極端に低い場合、電流-電圧曲線は GHK 型となるので、細胞膜単位面積あたりの開いているチャネル数の指標としてはいわゆる透過係数が相応しい。

もう 1 つの極端な例であるチャネルのイオン親和性が極端に高い場合、 C_i 、 C_{n+1} 、および E_{ch} は次のようになる。

$$C_i = C_{\max}$$

$$C_{n+1} = C_{\max}$$

$$E_{ch} = E - \frac{RT}{F} \ln \frac{[j]_o}{[j]_i}$$

これらの関係を (11) 式に代入すると、 $C_i e^{E_{ch}F/RT} - C_{n+1}$ の形のは消失し、つぎのように駆動力は膜電位と平衡電位の差の形で表されることになる。

$$I_j = Fk^0 \frac{F \cdot C_{\max}}{nRT} (E - E_j)$$

つまりこの式がチャネルが飽和状態にある場合のイオン電流と膜電位との関係を示す式である。したがって、チャネルのイオン親和性が極端に高いとき、細胞膜単位面積あたりの開いているチャネル数の指標として、電気的なコンダクタンスが

相応しい。

図 5B は $n=5$, K_i の値が 800mM (チャネルのイオン親和性が極端に低い例), 細胞外側の表面電位が -60 , -40 , -20 , および -10 mV である場合の電流-電圧曲線である。表面電位が負方向へ変化するに従って電流は大きくなる。重要なことは、細胞外側の表面電位の変化にともなってチャネル電流の大きさは変化するが、表面電位の大きさが変化してもチャネル電流-膜電位曲線が x 軸を横切るところの膜電位の値は変化しないことである。言い換えると、表面電位が変化しても電流-電圧曲線が膜電位軸に沿ってシフトすることは決していない、ということである。表面電位が負方向に変化するとコンダクタンスは上昇する。これはチャネル内のイオン濃度が上昇した結果である。逆に表面電位が正方向に変化するとイオンチャネルのコンダクタンスは減少する。これはチャネル内のイオン濃度の低下の結果である。静止状態において開いている K^+ チャネルは多い。その個々の K^+ チャネルのコンダクタンスが減少すると、その細胞は脱分極する。表面電位が変化する際に観察される脱分極は表面電位の変化がそのまま膜電位の変化として現われるのではなく、 K^+ コンダクタンスの減少を介した現象である。この現象は静止時に開いている K^+ チャネルのイオン親和性が低い場合に現われる現象である。

5. チャネル内腔の広さ

単一チャネルのコンダクタンスは数 pS から数 10pS, 大きいものでは 200pS にも達する。20pS のチャネルを例にとると、10mV の駆動力が働いたときに 1 秒間にチャネルを通り抜けるイオンの数は

$$\frac{20 \times 10^{-12} \times 10 \times 10^{-3}}{1.6 \times 10^{-19}} = 1.25 \times 10^6 \text{ ions/sec}$$

である。この数値は厚さ 50-100Å の細胞膜を貫くチャネル分子の中に形成されている狭い通路を通過してイオンが移動しなければならないことを考慮すると、驚くほど多い。この数の多さは、イオンがチャネル内を移動するとき、その通路の全長にわたって大きな抵抗を受けるのではなく、極め

て短い部分において抵抗を受け、その他の部分では比較的自由に動き回れることを意味しているように思われる。イオンが抵抗を受ける部分がこの稿における山であり、比較的自由に動き回れる場所が谷である。

チャネル蛋白は、4つのリピートのそれぞれ5番目と6番目の膜貫通セグメント、合計8本の膜貫通セグメントが1つのイオン通路を形成し、これらのセグメントは α ヘリックス構造をとっていると考えられている。各セグメントのアミノ酸の数は約65である。 α ヘリックスの螺旋1回転当たりのアミノ酸残基数は3.6であるので、1つのセグメントの螺旋数は18となる。螺旋のピッチ、つまりある回転のアミノ酸と次の回転の同じ部位に或るアミノ酸の距離は5.4Åである。したがってセグメントの端から橋までの距離は $5.4 \times 18 = 97$ Åと計算され、細胞膜の厚さに相当する値である。 α ヘリックスの直径を2Åと見積もり、隣り合った α ヘリックス間の距離を5Å程度とすると8本の α ヘリックスが作るチャネル内腔の直径は13Å程度であろう。これだけの広さがあれば、複数のイオンがかなり自由に動けると考えられる。この内腔壁からは所々アミノ酸の側鎖が突き出し、所々狭くなっているであろう。ここが山であり、ここを通過する早さがイオンの移動速度を決定する。あるいは山の1つがチャネルのイオン選択性を決定しているのかも知れない。いずれにしろ山がイオンを通し得る限り、そのチャネルをイオンは通過できる。チャネル全体のイオンに対する抵抗は山の数に依存する。言い換えるとチャネルの全長が同じであっても谷の部分が長ければ、山の数は少なくなり抵抗は低くなる。

ところで、細胞内から細胞外へ流れる K^+ の一方向性フラックス (efflux) と細胞外から細胞内へ流れるイオンの一方向性フラックス (influx) は、イオンの動きが互いに独立したものであるならば、次の式で表される。

$$\text{Influx/efflux} = e^{(E - E_K)F/RT}$$

上式の E_K は K^+ 平衡電位である。1950 年台 Hodgkin & Keynes は神経細胞における Na^+ 排

出/ K^+ 取り込み, すなわち能動的イオン輸送についての仕事を開始するに先立って, 代謝阻害剤 DNP (dinitrophenol) を作用させることによって酸化 ATP 合成を抑制した神経線維について, ラベルした K^+ の細胞内から細胞外方向の一方向性フラックス (efflux) と細胞外から細胞内方向の一方向性フラックス (influx) を測定し, 膜電位が K^+ 平衡電位と等しければ, 予想通り efflux と influx の比は 1 となるが, 膜電位と K^+ 平衡電位との差が大きくなるに従って, 測定された値の比は予想値から大きく外れることを発見した. 膜電位と K^+ 平衡電位との差が 58mV では予想される efflux/influx 比は 10 であるが, 実験から得られた比は 10^{25} であった. これを数式で示すと次のようになる.

$$\text{Efflux/influx} = e^{25(E - E_K)F/RT}$$

彼らは, イオンが長いチャネルを通り抜ける間にイオンが互いに衝突を繰り返すことによるのではないかと考え, その考えを証明すべく非常に興味深い物理的な実験をしている. ところで, この現象はチャネルが長いことに起因すると思えるので, long pore effect と呼ばれ, 長いチャネル内腔ではイオンは 1 列になって動く (single file movement) と想像する. しかしこの現象をそのように理解するより, 正味の K イオン流が外向きであるとき, 電流の増加に従ってチャネル内の各谷における細胞内由来の K^+ の割合が増加する結果であると考えerのうが事実即しているのではないかと思う. K イオン流に long pore effect が見られることはチャネル内の谷には複数の K^+ が同時に存在し得ることを示しているように思える.

最後に, チャネル内の山の数が多く, イオン親和性が低ければそのチャネルの電流-電圧曲線は Goldman-Hodgkin-Katz 型となる. もし内向き整流性 K^+ チャネルもそのような性質のチャネルであれば, 内向きに電流が流れる膜電位領域における電流の大きさは極めて小さい. 外向きに電流が流れるとき, 正の電荷を持つ細胞内のポリアミンによってチャネルがブロックされるのであるならば, 外向きの電流が抑制されることは理解できる

が, 内向きの電流は小さいはずである. 内向き整流性 K^+ チャネルの内向き電流は大きい. ATP 感受性 K^+ チャネルも内向き整流性であり, そのコンダクタンスは 80pS である. このようにコンダクタンスが大きいことは不思議である. 内向き整流性 K^+ チャネルにおいてはおそらくチャネル内の幾つかの山のうち 1 つの山だけが高く, その他の山はこの山に較べると遥かに低いのではないかと考えられる. チャネル内の山の 1 つだけが高ければ, 電流-電圧曲線は双曲線となる. 外向きに電流が流れる膜電位領域においてこのチャネルがブロックされれば, 外向きには電流は殆ど流れないが, 内向きには依然として大きな電流が流れ得ることになる. このようなチャネルでは, (10) 式が示すように, コンダクタンスは細胞外液中の K^+ 濃度の平方根に比例することが予想される.

おわりに

この稿は私がまだ若い頃に考え, 幾つかのメモに書いておいたものをまとめたものである. まとめ上げるに際して, 何度も計算し直し考えに誤りがないかを幾度も検討したので, 予想外に時間がかかってしまった. 永い間考えてきたことを書き上げる機会が与えられたことを有難く思っている. ここに述べたことを学生に話したところで, 直ちに理解してもらえるかということについては甚だ自信がない. しかし論理の糸を手繰ってもらえば, 最終的には理解してもらえると思う.

電流-電圧曲線が平衡電位を通らなければ, 実験に間違いがあるか, さもなければ測定した電流にイオンポンプの電流が混じっているかの何れかである. 実験にあたって, ときに実験結果が欺くことがあることに充分注意しなければならない. 頭を冷静に保ち, あらゆる可能性を考え, 過ちを避けなければならない. 考えることが生理学の“理”たる所以である. よく考える者のみが学生に考えることを教えることができる. 現在, あまりにも容易に“考える教育”という言葉を使いすぎである.

生理学研究者は生理学を専門とする者でなければ出来ない仕事に打ち込むべきであろう. 他の分

野の進展に関心を持つことは大切であり、またそれを理解しようと努めなければならない。しかし、他の分野の華々しさに心をうばわれ、生理学を専門としない人でも出来る仕事に生理学を専門とするはずの人が取り組んでも、生理学を失うだけであろう。一般に、医学関係者の生理学の知識は決して充分ではない。生理学という概念そのものすら明治時代の域を出ていない。極めて曖昧である。これは生理学者自身の怠慢の結果である。自分の知識を磨き、生理学周辺の人たちの生理学に関する知識を高めることが生理学の発展のみならず科

学の発展に必要である。

文 献

1. 倉知嘉久：心筋細胞イオンチャネル—心臓のリズムと興奮の分子メカニズム，文光堂，東京，2000
2. Noda M, Shimizu S & Tanabe T, et al: Primary structure of *Electrophorus electricus* sodium channel deduced from cDNA sequence. *Nature* 1984 **312** (5990): 121-127, 1984
3. Hodgkin AL & Keynes RD: The potassium permeability of a giant nerve fibre. *J Physiol* **128**: 61-88, 1955