— 原 著 —

イモリ赤血球膜電位について

福島 真知世

日本医科大学第1生理学教室 (主任: 小西喜久治教授)

Membrane potential of the newt red cell

Machiyo Fukushima

The First Department of Physiology, Nippon Medical School

1) The membrane potential of the newt red cell was measured with the intracellular microelectrode. The mean membrane potential was -15.2 ± 0.7 mV ($n=133$, mean $\pm$ standard deviation of mean).

2) The membrane potential was almost linearly related (gradient: 1.2 mV/10 mM/L) to the concentration of Cl^- of the external medium, but not to the logarithm of the changes in $[\text{Cl}^-]_{\text{in}}/[\text{Cl}^-]_{\text{out}}$ as was expected from Nernst equation. The concentration of the external cations (Na^+ , K^+ , Ca^{++}) had no effect on the membrane potential.

3) Oxygenation of the medium increased the membrane potential (-18.9 ± 0.7 mV) whereas deoxygenation decreased it (-11.5 ± 0.3 mV).

4) The membrane potential depended on pH of the external medium. It decreased on the acid side (-11.7 ± 0.4 mV at pH 5.7) and increased on the alkaline side (-19.9 ± 1.2 mV at pH 8.1).

5) As the temperature of the external Ringer solution was reduced from 18°C to 1°C , the membrane potential increased linearly at the ratio of 4.1 mV/ 10°C .

6) The origin of the red cell membrane potential and the role of this potential in the respiratory function were discussed.

Key words: membrane potential, newt red cell, chloride distribution, respiratory function

緒 言

ガラス毛細管電極による細胞膜電位の測定は、周知のように電気生理学史上画期的な発展を遂げ、初期の神経・筋細胞への適用以来あらゆる興奮性細胞について行われ、大きな成功を収めた。検索は非興奮性細胞にも及んで、例えば皮膚メラニン保有細胞 (-80 mV, カエル¹⁾), 線維芽細胞 (-72 mV, ヒト²⁾), 脂肪組織細胞 (-51 mV, ネズミ³⁾), 星状グリア細胞 ($-50 \sim -70$ mV, ネズミ⁴⁾), 肝細胞 (-30 mV, シロネズミ⁵⁾), 肝癌細胞 ($-24 \sim -30$ mV, シロネズミ⁶⁾), そして赤血球 (-15 mV 前後, ヒト^{7,8)}), *Amphiuma*⁹⁾, イモリ^{10,11)}) など、ほとんどすべての細胞種が、程度

の差はあれ例外なしに静止膜電位を持つことが知られている。

一般に生物電気の研究には、二つの問題方向がある。一つはその発生機序を探ろうとするもの、ほかはその生物学的意義を求める方向である。すなわち測定された静止電位なり活動電位なりが、その細胞固有の働きとどういふかかわりをもつかを問題とするもので、赤血球でいえばその呼吸機能、塩素移動、生理的非凝集性、あるいは電場における陽極移動現象などにおけるその静止膜電位の意義を問うものである。一般に、およそ生命現象にして無意味なるものきわめてまれなることを考えると、非興奮性細胞の膜電位も、主役ではなくともなんらかの役割を演じているに違いない。かくて上述の第2の問題は、第1のそれと並んで解明さるべき重要な課題である。本研究はかかる問題意識をもって企てられた。

Present address: The First Department of Physiology, Nippon Medical School, 1-1-5, Sendagi, Bunkyo-ku, Tokyo, 113 Japan

赤血球膜電位の直接測定はすでに、ヒト^{7,9)}, *Amphiuma* (両生綱鰐孔亜目)⁹⁾ およびイモリ^{10,11)} についての報告があり、また間接法として蛍光光度法による測定もある^{12,13)}。著者は Endo ら¹¹⁾ と同じくイモリの赤血球を対象とし、微小電極法による膜電位の直接測定を手掛かりに、第1には上記先人の研究を追う方向をとって主要無機イオン (Na, K, Ca, Cl) の濃度効果を、第2には種々の環境要因 (O_2 分圧, CO_2 , pH, 温度など) の膜電位に与える影響を検討した。

実験材料および方法

実験材料のイモリ (*Triturus pyrrhogaster pyrrhogaster*) の赤血球は循環血中にも有核、楕円板状で大型 (平均長径 40μ , 短径 20μ , 厚さ 2μ)、また冷血動物ゆえ室温が生理的であるなど実験対象としての利点をもつ (ただ、厚さはヒトの血球なみに薄い)。頸動脈より採取した血液をあらかじめ O_2 を bubbling させておいた両生類用 Ringer 液 (pH 7.3~7.4, 組成は NaCl 111.1 mM, KCl 2.7 mM, $CaCl_2$ 1.8 mM, Glucose 5.5 mM, 3 mM リン酸 buffer を含む) でおよそ 250 倍に希釈し、これを 2,500 rpm (1分以内) で遠沈し血球を分離する。同じ方法で血球の洗浄をさらに1回繰り返す、それを目的にしたがった組成の試験液 (各実験の項で述べてある) に浮遊せしめ試料とした。対照は上記 Ringer 液による血球浮遊液である。特に断りのない場合、実験は室温 ($18\sim 23^\circ C$) 下で行われた。

実験装置の概要を Fig. 1 に示す。スライドガラス上に 15% Ringer グラチンを約 2mm の厚さに流し固め、その上に試料をのせる。観察用の光は、試料の加熱防止のために約 1m 離れた光源から、胃カメラ用の glass fiber によってスライド下方まで導いた。双眼実体顕微鏡には working distance が大きく (倍率 320 で 3cm)、刺入操作に便なるものを用いた (Wide-field Stereo Microscope, 西ドイツ Leitz 製)。グラチン板上の試験液に少量の血液を落とし、血球が着床するのを待って直ちに微小電極を刺入する。その電極は tip potential の介入を避けるため注入液は 0.5M KCl とし¹⁴⁾、抵抗 $20 M\Omega$ 前後のものを用いた。電極抵抗は実験後にも測定し、刺入前と大差ある場合はデータを廃棄した。なお電極間電位差は前置増幅器からの補償用電圧 (Fig. 1 compens) により標本浸液中にて補償した。

電極の刺入は micromanipulator の手動操作によ

Fig. 1 Experimental arrangements for recording the intracellular potential of red cells

から、電極先端の血球貫通を免れなかった。このため撮影は刺入直前より連続的に行い、そのような記録によって得られた急速にピークに達する陰性電位を血球膜刺入の瞬間と考えその値を測定した。

実験結果

1. 膜電位の記録

上述の理由から、観察される電位変動の経過は数 msec ないし数十 msec と短かった。その典型的な電位記録を Fig. 2 に示す (各 trace は下左から上右へと経過し、右端の矩形波 5mV, 2msec は記録回路の浮遊容量補償のコントロールを、点線はゼロ電位、その間隔は 2msec を表す。図にみられるように、膜電位記録時間の短い場合 (a, 約 2msec)、比較的長い場合 (b, 約 33msec) とともに、上述のごとく急速にピークに達する負電位の出現をもって電極が細胞内に刺入されたと考えた。正常 0.2msec 以内にピーク (a で $-21mV$, b で $-17mV$) に達して、以後は急速に減小した。電極先端の細胞貫通とともに電位はゼロに戻るが、これに対応して血球が電極先端に串ざしの状態になっているのが観察された。電極を単に Ringer 液からグラチン板へ刺した時は、このような電位変動は見られなかった。したがって Fig. 2a, b の電位変動は赤血球膜電位を表す。

Fig. 2a における刺入直前のゆるやかな電位変動は、電極先端が細胞膜に密着した状態においてみられるもので、おそらくあらかじめ与えた電極間電位差補

Fig. 2 Membrane potentials in newt red cells (see from bottom upwards). The 3rd trace in *a* shows a transient impalement (2 msec). The 2nd and 3rd traces in *b* shows a longer impalement (33 msec). In both cases, the peak potential which was observed at the moment of penetration was regarded as representing the membrane potential. Dotted lines denote reference potential whereas the interval between the neighboring dots shows 2 msec.

慣用の電圧と回路抵抗の変化とによって生じたものと思われる。また Fig. 2b のピーク電位後の浅い電位 (5~10 mV) の持続は、電極刺入速度のやや遅い場合、全例の約半数近くに観測された。それが何を表すかは興味ある問題であるが——その階段的発現消滅の整った形からみて、細胞核に起因するものか、あるいは単なる人工産物か——いずれにしても本研究の主題を外れるゆえ、今は立ち入らぬことにする。かくて本実験では、刺入直後のピーク電位をもって正常膜電位とした。

正常 Ringer 液中で測定された 133 例の膜電位は、 $-6.7 \sim -31.7$ mV のかなり広い範囲に分散していた。それは短命にして老若様々な赤血球細胞の血中分

布に対応している可能性がある。その平均は -15.2 ± 0.7 mV (±: 平均値の標準偏差) であった。

2. 外液イオン濃度と膜電位

一般に細胞膜電位の成立には、 Na^+ , K^+ , Cl^- の膜透過性が問題であり、ヒトの赤血球では $P_{\text{Na}} < P_{\text{K}}, P_{\text{Cl}}$ ^{12,15)}, また $P_{\text{K}} < P_{\text{Cl}}$ (約 100 倍¹⁶⁾) であることから、その膜電位は Cl^- の平衡電位

$$E = \frac{RT}{F} \ln \frac{[\text{Cl}]_i}{[\text{Cl}]_o} \quad (\text{Nernst の式})$$

で表されると考えられている^{7,8,12,13)}。これを検するには、二つの方法がある。一つは、細胞内クロールイオン濃度 $[\text{Cl}]_i$ を測定し、これと細胞外クロールイオン濃度 $[\text{Cl}]_o$ とから、上式によって求めた膜電位が微小電極法の実測値と合うか否かをみるのであるが、著者のイモリ赤血球では方法として適当といえない。 $[\text{Cl}]_i$ の測定に、膜電位に無関係の細胞核の成分も含

まれてしまうからである。よってもっぱら第2の方法をとった。すなわち外液の種々なクロールイオン濃度 $[\text{Cl}]_o$ における膜電位の実測と、Nernst 式からの期待値の比較検討である。この際、神経・筋細胞において問題となる Na , K の濃度効果は、ここでは一応問題外と考えられるが、念のためこれらを含め、また Ca イオンをも加えて総合検討することにした。結果を Fig. 3, 4 に示す。

(1) 陽イオン濃度の影響

外液 Na^+ , K^+ , Ca^{++} 濃度を正常 Ringer のそれ (Fig. 3 横軸の矢印) の 0.5, 2, 10 倍等々に変えるのに、 Cl^- 濃度を一定に保つため Na^+ ではメタンスルフォン酸ソーダ (NaMeSO_3) および choline chlo-

Fig. 3 Influence of external Na^+ , K^+ and Ca^{++} concentration on the membrane potential. Points and bars represent the mean of membrane potentials and the standard error of the mean. Arrows on the abscissa indicate the concentration in normal Ringer. pH of the medium: 7.4, room temperature: 18°C

ride を, K^+ , Ca^{++} では NaCl を用いた. 各測定値はおおよそ 40~100 例の平均および平均値の標準偏差を表す. 結果は図から明らかなように, Na では濃度変化の効果はなく, K では K-free で膜電位がわずかに減小, high-Ca で逆に軽度増大の傾向をみたに止まった. 統計的にも対照値との間に有意の差は見られなかった.

(2) Cl^- 濃度による影響

Cl^- では明らかに結果が違った (Fig. 4). すなわち正常濃度 117 mM における -15.2 ± 0.7 mV ($n=133$) を中にして, 30 mM の -7.8 ± 0.4 mV ($n=49$) から 170 mM の -24.5 ± 0.9 mV ($n=65$) まで, 膜電位は濃度に対しほぼ直線的に増大した. 図の直線は, 膜電位の各平均値をもとに最小二乗法で求めた回帰直線を表し, その勾配は 1.2 mV/10mM/L であった. 点の曲線は, Nernst の式における $[Cl]_i$ を仮りに 64.3 mM/L (この数値は著者が, 英エバンズ社クロライドメーターを用いて測定したイモリ赤血球のクロールイオン濃度で, 細胞核成分を除外したものではないが, それに近似のものとしてここに引用した) にとって, $[Cl]_o$ に対して求めた膜電位の期待値を表す曲線であり, 基準の $[Cl]_i$ が 64.3 からずれるとしても, その対数関係に変わりはない. かくて, 実測の膜電位—濃度関係がこのように Nernst 式の対数

Fig. 4 Membrane potential as function of the external Cl^- concentration. The straight line shows the regression line of the membrane potential to the abscissa. The dotted curve indicates the membrane potential as estimated from the Nernst equation. pH of the medium: 7.4, room temperature: $18^\circ C$

関係と相違したこと, その相違が外液 Cl^- の低濃度の領域で大きかったことは注目に値する.

なおこの実験で Cl^- 濃度の減少には $NaMeSO_4$ を用い, 増大には NaCl を用いたが (Na^+ が膜電位に影響しないことは前述のごとく確かめられている), 後者の場合, 外液の浸透圧が高まるので, 顕微鏡下で観察しながら形態的变化の現れないうちにすばやく実験を行って, その影響を避けるようにした. 図にみられるように各測定値の平均値のまわりの分散が, 対照の 117 mM のそれと同様に小さいのでそのような影響は少なかったものと考えている.

3. O_2 分圧と膜電位

以上で膜電位の外液 Cl^- 濃度依存性が, したがって膜の Cl^- 透過性が承認される. この透過性が重炭酸イオンのそれとともに, 赤血球の陰イオン移動の基礎をなす. しかるとき探求さるべき次の問題は, 膜電位と血液ガスとの関係でなければならない. これを追求するため, Fig. 1 に示した実験装置全体を気密 chamber の中に入れ, O_2 , CO_2 , N_2 などの環境下で膜電位を測定した. 結果を Fig. 5 に示す.

Bubbling による CO_2 飽和環境下では膜電位は -11.5 ± 0.3 mV ($n=58$) となり, 大気中の対照値 -16.2 mV ($n=126$) から有意の減少を示した ($p < 0.01$). これは島本ら¹⁰⁾ の報告と同じ傾向である. CO_2 の作用には medium pH 低下の影響を無視できないが (次項に述べる), pH に無影響の N_2 で低酸素化したところ, 図にみられるとおりやはり膜電位の減少がみられ, 大気中との差 3 mV は有意であった

Fig. 5 Influence of oxygenation and deoxygenation of the medium on the membrane potential. Membrane potential increased when the medium was saturated with O_2 , as compared with the control. It was distinctly reduced when the red cell was deoxidized with CO_2 , N_2 and deoxidizer, sodium hydrosulfite.

($p < 0.01$). 結果は可逆的であった。赤血球自身は N_2 環境下でもまだ 40~50% の O_2 を離していない点を考慮して、念のため還元剤 sodium hydrosulfite を用いて完全に赤血球を脱酸素させ、その上で N_2 環境下に測定すると (Fig. 5 右端), 膜電位は前と同じく減小した。逆に O_2 環境下では膜電位は -18.9 ± 0.7 mV ($n=41$) と有意の増大を示した (Fig. 5 左端)。

4. 外液の pH, 温度と膜電位

外液 pH がヘモグロビンの O_2 親和性に、したがって血球の呼吸機能に影響することは周知の事実である (Bohr 効果)。よって pH と膜電位の関係を追求した (Fig. 6)。イモリ血液の正常 pH を一応 7.4 とし、これをリン酸 buffer を用いて 5.4~9.0 の範囲で変えた。図に明らかなように酸性側では膜電位の減小が、アルカリ側では増大がみられたが、今 pH 6.0~8.0 を起こりうる変動範囲とすれば、それは膜電位で

Fig. 6 Membrane potential at different pH values of the medium. The membrane potential decreased as pH decreased.

Fig. 7 Membrane potential against the temperature of the external medium. As the temperature decreased, the membrane potential linearly increased (gradient: 4.1 mV/ 10°C).

およそ $-13 \sim -20$ mV に対応することが分かる。すなわち前項の -12 (CO_2) ~ -19 mV (O_2) にほぼ一致する。

最後に純物理的要因、温度の影響を調べた (Fig. 7). Gelatine-plate を使用しているため高温の実験は避け、Ringer 液温 $18 \sim 1^\circ\text{C}$ の範囲で測定を行った。図に示すごとく、温度の“低下”とともに膜電位はほぼ直線的に 16 mV (18°C) から 23 mV (1°C) まで“増大”した。その勾配は 4.1 mV/ 10°C であった。

考 察

1. 膜電位の測定法と測定値

赤血球はその小型と遊離性によって微小電極刺入の最も困難な細胞の一つである。このため、先達研究者はさまざまな工夫をしている。Lassen and Sten-Knudsen⁷⁾ は piezoelectric transducer を開発して刺入の機械化に成功した。Jay & Burton⁸⁾ は、赤血球がガラス板表面に固着する性質を利用して細胞の固定化を図った (いずれも人血)。それより十数年前、島本ら¹⁰⁾ はリングル寒天上に細い溝を作って、そこに血球を沈着させるという方法をとっている (イモリ)。

著者が用いた方法もこれに近いが、スライドガラス上に Ringer ゲラチンを薄く延ばすことによって、寒天の場合よりも血球の固定を良好ならしめたこと、電極先端がガラス板に当たることなく 1 本の電極が数回の刺入操作に耐えたこと、そして下方よりの透過光で個々の細胞を目視しつつ刺入を行なったことなどの利点があった。また高倍率でありながら working distance の大きい binocular、そして低抵抗電極 (20 M Ω 前後) の使用も改良点である。

さて、このような方法で膜電位は測定されたが、対象はなにせ小さな細胞であるため、長時間の安定な記録は不可能であった。それゆえ、Fig. 2 にみられるような電極刺入に際して、いわば一過性に得られた記録が赤血球の膜電位をどの程度忠実に反映していたかということは問題となる。本実験で得られた多数の細胞からの記録を測定したところ上述のごとく、各データには規則性がみられた。このことから本実験で得られた記録は、赤血球の膜電位をかなり忠実に反映していたのではないかと著者は考えている。

今までに報告された赤血球膜電位の測定値を Table 1 に示す。この表から、人血では測定者によりかなりのばらつきがあるが、両生類では著者のも含めて膜電位の平均は $-15 \sim -19$ mV の範囲内にあること、そ

Table 1 Measured values of the membrane potentials of red cells

author	membrane potential (mV)	material and method
Shimamoto et al. (1956)	-16.5	newt, micro electrode
Lassen & Sten-Knudsen (1968)	-14	human, micro electrode
Jay & Burton (1969)	-8	human, micro electrode
Endo et al. (1971)	-15	newt, micro electrode
Hoffman & Lassen (1971)	-15	Amphiuma, micro electrode
Hoffman & Laris (1974)	-5~-8	human, fluorescent probe
Hoffman & Laris (1974)	-19	Amphiuma, fluorescent probe
Fukushima (Present work)	-15	newt, micro electrode

れは人血の最高値 -14 mV に近いことが分かる。いずれにしても緒言で引用したように、非興奮性細胞の静止電位中最低のものに属する。

2. 膜電位と外液 Cl^- 濃度ならびに温度効果

膜電位と外液無機イオンの関係について、著者の得た結果は意外であった。すなわち膜電位は Cl^- 濃度に対してほぼ“直線的”依存性を示したのである (Fig. 4)。意外というのは、一般に興奮性細胞の静止膜電位が外液 K^+ の濃度と“対数”関係にあり、この関係が赤血球では Cl^- について当てはまるのが Lassen¹⁷⁾ や Hoffman ら¹²⁾ によりいわれているからである。しかるに著者のイモリ赤血球膜電位は、 $\log[\text{Cl}]_o$ に比例せずに $[\text{Cl}]_o$ に直接比例して変わり、その対数からの外れは殊に低濃度の範囲で著しく、例えば 30 mM の $[\text{Cl}]_o$ に対して膜電位は逆転しなかった (Fig. 4)。

もう一つの意外な結果は、Fig. 7 にみる温度効果である。すなわち膜電位は、実験温度 $^{\circ}\text{C}$ の低下とともに、 $(273+t)^{\circ}\text{K}$ に比例して“減小”すべきところ、“増大”したのであった。それも 17°C の低下により 7 mV、すなわち 10°C 低下に対し約 4 mV (25%) という大きな率をもって。

以上、二つの事実、膜電位の $[\text{Cl}]_o$ に対する直線性ならびに低温下の増大は、イオン説でいう平衡電位や Donnan の平衡電位 (いずれも Nernst の式で表される) からでは理解が難しい。これは一般に非興奮性細胞の電気発生に関連して重要な問題であるが、その解明は今後の研究に待たねばならない。今は問題の提起に止める。

なお Fig. 4 についても一つ興味あることは、その直線の勾配、約 1.2 mV/10 mM/L である。イオン

濃度恒常性をもつ血液、特に高等動物血液では、10 mM/L のクロール濃度変化は非生理的であろうが、この割合での膜電位変化は考え得る。今、この勾配から赤血球の生理的塩素移動に伴う膜電位の変化を考えてみよう。

便宜上、ヒトの赤血球について、その塩素イオン濃度変化から血漿中のそれを算出することにする。ヒトの安静時呼吸量から考えて、平均して Hb 1 分子が O_2 1 分子と結合・解離するとすれば (理論的 maximum は O_2 4 分子であるが)、それは血球における CO_2 0.7~0.8 分子の出入りに対応し、簡単のため呼吸商を 1 とれば CO_2 1 分子に対応することになる。血球では CO_2 1 分子が H_2O , H^+ , HCO_3^- を介して Cl^- 1 分子の移動となるから、chloride shift による塩素の平均的赤血球内濃度変化は、Hb の平均的赤血球内濃度と当量である。後者は、その血中濃度 16 g/dl 血液 (イモリでは 9.4 g/dl 血液)、ヘマトクリット 44% (39%)、Hb 分子量 65,000 (65,000)¹⁸⁾ から、5.6 mEq/l・赤血球 (3.7 mEq/l・赤血球) と計算される。よって血漿中の塩素イオン濃度変化は 4.4 mEq/l・血漿 (2.4 mEq/l・血漿)。これに上記 1.2 mV/10 mM/L の勾配を適用すれば、赤血球膜電位の平均的变化分は約 0.5 mV (イモリ 0.3 mV) となる。

この数値の理論的 maximum はその 4 倍、約 2 mV (イモリ 1.2 mV) であり、また循環血液では臓器により数値に多少の変動があり (酸素利用度の相違による)、さらにまた組織と肺とで膜電位増減の方向が変わるが、いずれにせよ生理的变化分がこのように 1 mV 前後と小さいことは、赤血球機能の安定性になんらかの意味をもつのであろう。

3. 膜電位と血液ガス、その他の要因

赤血球膜電位が血液の無機イオンないし塩素移動に影響されないとしても、血液ガスに対してもそうであるとは考え難いこと、緒言に触れたごとくであるが、Fig. 5 の結果はこのことを示した。すなわち大気下正常リンゲル液の -16.2 mV を中にして、高 O_2 環境で -18.9 mV に上昇、高 CO_2 で -11.5 mV に低下した。その差約 7 mV はわずか 16 mV の膜電位を中にしての変動であるから、 O_2 , CO_2 の影響は甚大といわねばならない。これだけの電位変化は実験的には外液 $[\text{Cl}]$ によって、それも約 60 mM/L の大幅な増減によって起こしえても、生理的血中では起こりえないものである。同時にその 7 mV は、Fig. 6 (pH)、Fig. 7 (温度) の結果からみて、生理的に起こりうる

変動の限界を示すものと思われる。

最後に、これらの結果から赤血球膜電位は総じて肺呼吸の条件、血液の O_2 飽和・pH 上昇・温度低下で増大し、逆に組織呼吸の条件下で低下するといえる。すなわちそれは細胞本来の機能と密接に関連している。ただ注意すべきは血液ガス条件が主、膜電位は従の結果とは必ずしも断定できないことである。それは膜電位を自由に種々のレベルに変えて、それが O_2 結合能をどう変えるかという逆方向の研究を待って明らかになるであろう。

結 論

微小電極法によりイモリ赤血球の膜電位を測定し、その成因について検討するため、主要無機イオン (Na , K , Ca , Cl) の濃度効果および種々の要因 (O_2 分圧, CO_2 , pH, 温度) の膜電位に与える影響を追求した。

- 1) 膜電位の平均値は -15.2 ± 0.7 mV (133 例) であった。
- 2) 外液陽イオン (Na , K , Ca) 濃度の増減は膜電位にほとんど影響しなかった。 Cl^- では濃度増大に伴い膜電位はほぼ直線的に増大した (勾配 1.2 mV/10 mM/L)。
- 3) O_2 環境下では膜電位は -18.9 ± 0.7 mV に増大, CO_2 環境下では -11.5 ± 0.3 mV と減小し、その差約 7 mV であった。
- 4) 外液の pH を変化させるに、酸性側では膜電位の減小が (pH 5.7 で -11.7 ± 0.4 mV), アルカリ側では増大が (pH 8.1 で -19.9 ± 1.2 mV) 見られた。
- 5) リンゲル液温 $18 \sim 1^\circ C$ の範囲で膜電位を測定すると、温度低下とともに膜電位はほぼ直線的関係をもって増大した (勾配 4.1 mV/ $10^\circ C$)。

以上の結果から、赤血球膜電位の成因およびその呼吸機能における役割について若干の考察を加えた。

文 献

- 1) Martin, A.R., and Snell, R.S.: A note on transmembrane potential in dremal melanophores of the frog and movement of melanin granules. *J. physiol.*, **195**, 755~759, 1968.
- 2) Swift, M.R., and Todaro, G.J.: Membrane potentials of human fibroblast strains in culture. *J. Cell. Physiol.*, **71**, 61~64, 1968.
- 3) Girardier, L., Seydoux, J., and Clausen, T.: Membrane potential of brown adipose tissue. *J. gen. Physiol.*, **52**, 925~940, 1968.
- 4) Hild, W., and Tasaki, I.: Morphological and physiological properties of neurons and glial cells in tissue culture. *J. Neurophysiol.*, **25**, 277~304, 1962.
- 5) Williams, J.A.: Origin of transmembrane potentials in non-excitabile cells. *J. theor. Biol.*, **28**, 287~296, 1970.
- 6) 菅野義信: 肝癌細胞の電気生理学. 生体の科学, **17**, 191~198, 1966.
- 7) Lassen, U.V., and Sten-Knudsen, O.: Direct measurements of membrane potential and membrane resistance of human red cells. *J. Physiol.*, **195**, 681~696, 1968.
- 8) Jay, A.W.L., and Burton, A.C.: Direct measurement of potential difference across the human red blood cell membrane. *Biophys. J.*, **9**, 115~121, 1969.
- 9) Hoffman, J.F., and Lassen, U.V.: Plasma membrane potentials in Amphiuma red cells. "Abstracts of XXV International Congress of Physiological Sciences", p. 253, Munich, 1971.
- 10) 島本多喜雄, 前沢秀憲, 小泉実: 超微小電極法による血球の電気生理学的研究 (第2報). 日血会誌, **19**, 183, 1956.
- 11) Endo, A., Fukushima, M., Ibuki, C., and Kawaguchi, K.: Intracellular recording of membrane potential in the newt red cells. "Abstracts of XXV International Congress of Physiological Sciences", p. 162, Munich, 1971.
- 12) Hoffman, J.F., and Laris, P.C.: Determination of membrane potentials in human and Amphiuma red blood cells by means of a fluorescent probe. *J. Physiol.*, **239**, 519~552, 1974.
- 13) Hladky, S.B., and Rink, T.J.: Membrane potentials and properties of human erythrocytes and ghost assessed with a fluorescent dye, 3, 3'-dipropyl-2, 2'-thiadicarbocyanine, dis- C_3 -(5). *J. Physiol.*, **258**, 100~101, 1976.
- 14) Küchler, G.: Zur Frage der Übertragungseigenschaften von Glasmikroelektroden bei der intracellulären Membranpotentialmessung. *Pflügers Arch.*, **280**, 210~223, 1964.
- 15) Dalmark, M., and Wieth, J.O.: Chloride and sodium permeabilities of human red cells. *Biochim. Biophys. Acta.*, **219**, 525~527, 1970.
- 16) Hunter, M.J.: A quantitative estimate of the non-exchangerestricted chloride permeability of the human red cell. *J. Physiol.*, **218**, 49~50, 1971.
- 17) Lassen, U.V.: Electrical potential and conductance of the red cell membrane. "Membrane Transport in Red Cells" (Ellory, J.C., and Lew, V.L. eds.), p. 137~172, Academic Press, New York, 1977.
- 18) Deparis, P., Nouvel, H., et Beetschen, J.C.: Taux d'hémoglobine et valeur de l'hématocrite chez des individus diploides et triploides du Triton Pleurodeles waltlii. *C.R. Soc. Biol. (Paris)*, **160**, 416~419, 1966.

(受付: 1981年2月20日)