- Schanker: *J. Pharmacol. & Exper. Therap.*, 125, 275 (1959)
- 4) Höber, R. and J. Höber: *J. Cell & Comp. Physiol.*, 10, 401 (1937)
 - 5) Wilson, T.H. and G. Wiseman: *J. Physiol.*, 123, 116(1954)
 - 6) Agar, W.T., F.J.R. Hird and G.S. Sidhu: *Biochim. Biophys. Acta*, 14, 80 (1954)
 - 7) 萩平 博: 医化学実験法講座 (山村雄一監修) 代謝および酵素 I 第 3 章 h 腸管 p. 278 (1971) 中山書店, 感染症学雑誌, 46, 23(1972)
 - 8) Kratzner, F.H.: *J. Biol. Chem.*, 153, 237 (1944)
 - 9) Johnston, M.W. and H.B. Lewis: *J. Biol. Chem.*, 78, 67 (1928)
 - 10) Schofield, F.A. and H.B. Lewis: *J. Biol. Chem.*, 168, 439 (1947)
 - 11) Elsdon, S.R., Q.H. Gibson and G. Wiseman: *J. Physiol.*, 111, p. 56 (1950)
 - 12) Gibson, Q.H. and G. Wiseman: *Biochem. J.*, 48, 426(1951)
 - 13) Wiseman, G.: *J. Physiol.*, 114, p. 7 (1951)
 - 14) Wiseman, G.: *J. Physiol.*, 120, 63 (1953)
 - 15) Nathans, D., D.F. Tapley and J.E. Ross: *Biochim. Biophys. Acta*, 41, 271 (1960)
 - 16) Jervis, F.A. and D.H. Smith: *J. Physiol.*, 170, 328 (1964)
 - 17) Lin, E.C.C., H. Hagihira and T.H. Wilson: *Am. J. Physiol.*, 202, 91 (1962)
 - 18) Milne, M.D., A.M. Asatoor and L.W. Loughridge: *Lancet* I, 51 (1961)
 - 19) Milne, M.D., A.M. Asatoor, K.D.G. Edwards and L.W. Loughridge: *Gut*, 2, 323 (1961)
 - 20) Hagihira, H., E.C.C. Lin, A.H. Sami and T.H. Wilson: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 4, 478 (1961)
 - 21) Thier, S.O., S. Segal, M. Fox, A. Blain and L.E. Losenberg: *J. Clin. Invest.*, 44, 442 (1965)
 - 22) McCarthy, C.E., J.L. Borland, Jr., H.J. Lynch, Jr., E.E. Owen and M.P. Tyor: *J. Clin. Invest.*, 43, 1518 (1964)
 - 23) Hagihira, H., T.H. Wilson and E.C.C. Lin: *Am. J. Physiol.*, 203, 637 (1962)
 - 24) Deren, J.J., E.W. Strauss and T.H. Wilson: *Develop. Biol.*, 12, 467 (1965)
 - 25) Crane, R.K.: *Federation Proc.*, 24, 1000 (1965)
 - 26) Parsons, D.S.: *Handbook of Physiology*, Section 6, Alimentary Canal, Vol. III, Intestinal Absorption, p. 1177, American Physiology Society (1968)

講話

生体膜と人工膜の物質透過現象*

花 井 哲 也**

ここでは人工膜として、水中で形成する脂質二分子層膜(黒膜)をおもに念頭において、物質透過能力という点についてこの人工膜と生体の細胞膜との関連を展望してみる。

* 昭和 49 年 4 月 5 日受理

** Tetsuya Hanai 京都大学 化学研究所

1. 生体膜の構造と、人工膜をそれに近づける過程

1・1 生体膜構造の模型

一概に生体膜といっても、膜の種類によって構造や性質がかなり異っている。そこであらまし二群に分けることが考えられる。一つは細胞の原形質を区別している表面膜であって、形質膜、または原形質膜(plasma membrane, cytoplasmic membrane, periplasmic membrane)といわれるものである。赤血球膜、イカの巨大神経軸索(giant axon)や、有髄神経線維に見られるミエリン鞘などはこの原形質膜の部類に入る。もう一つの群は、細胞内小器官類である。近年の電顕による観察結果から、これら小器官は、膜で包まれた構造体であることが判ってきたので、これらを総称して細胞質内の膜(endoplasmic membrane)と呼んでいる。例えば、mitochondrion, Gorgi 体, 核(nucleus), 小胞体(endoplasmic reticulum), 種々の酵素保有顆粒(lysosome, peroxisome, 酵素原顆粒など), あるいは葉緑体(chloroplast)などが、この細胞質内の膜群に含まれる。物質の透過能力の実測知見の多いのは、前者の原形質膜である。したがって本稿の標題である物質透過の議論においては、原形質膜をおもに念頭において考える。

生体膜、なかでも原形質膜(赤血球膜を念頭において)は、電気を通しにくいので、脂質を主とする構造であろうと想像された。さらに赤血球から脂質を抽出して、水面上の単分子膜に拡げてみると、あらましのところ、この単分子膜の面積は、はじめに脂質を抽出するのに用いた赤血球の全表面積の 2 倍であった。これは赤血球膜が 2 枚の単分子膜、すなわち二分子層膜からできていることを暗示するものである。このような実験事実がつかさねられて図 1-(i) に示すような脂質二分子層構造が、細胞膜構造の模型として提された。その後電子顕微鏡観察の知見から、タンパク質は単に脂質二分子層の外表面に付着しているばかりでなく、ポリペプチド鎖が脂質二分子層の中に入りこんでいるモデルが考えられた。また無極性、極性などいろいろな溶媒によって、赤血球膜の脂質を溶媒抽出する段階の検討などがなされた。その結果図 1-(ii) に示すような、脂質の球状ミセル構造が提案された。さらにタンパク質の α -ヘリックス部分が脂質の非極性炭素鎖部分に接触する図 1-(iii) のような構造も考えられた。

また生化学的側面その他から、脂質とタンパク質の結合したりポタンパク質複合体の存在が、膜の機能にとって重要な役割を果していることが指摘された。この点を考慮した膜構造モデルとしては、図 1-(iv), (v) などのような模型が考えられるに至った。

(i) 脂質二分子層構造 (Danielli, Davson)

(ii) 球状脂質ミセル構造 (Lucy)

(iii) タンパク質-脂質非極性部接触構造 (Lenard, Singer)

(iv) タンパク質を基盤とした構造 (Benson)

(v) 脂質層にタンパク質が埋没した構造 (Singer)

図1 細胞膜の分子的構造について提案された
いろいろな膜模型

(i) 単純な脂質二分子層膜 (黒膜) の構造

(ii) 単純黒膜に、水相よりタンパク質を添加した系の想像図

(iii) 脂質にタンパク質を混入した液で黒膜を形成した系の想像図

図2 人工膜 (脂質黒膜) の構造について想像される模型

これら図1-(i)~(v)などを通覧すると、実際の膜の挙動または機能を説明するために想像され得る構造の一面をそれぞれのモデルで強調しているようである。すなわち、生体膜が物質の自由な通過をささげり、膜のイオン透過をある程度おさえているというような性質を、連続した脂質二分子層構造に帰着させようとしている。また膜の特異的、選択的な物質透過能力に対しては種々の膜タンパク質の存在を必要とするようである。要するに図1において、考え方の共通な流れは、脂質の二分子層構造をある程度許しながら、膜の特異性質を発現させるために、タンパク質の存在を採り入れているという点である。

1.2 人工膜 (脂質黒膜) 系での構築

図1に通覧したような事情をふまえて、人工脂質黒膜系での膜構造再現 (再構成膜) の段階を考えると次のようにいえる。

まず脂質のみで水中二分子層膜を形成する。この場合の想像される膜構造は図2-(i)のような単純な二分子層構造である。これに、さらにタンパク質を添加する方

法として考えられる第一の方法は、黒膜形成後、水相にタンパク質を溶かし込んで、水相側からリン脂質二分子層の表面にタンパク質を吸着させるという手法である。これによって吸着したと思われる状態は図2-(ii)のようなものである。こういう手法でタンパク質の添加に成功した例も二、三あるが、一般には脂質層へのタンパク質の吸着または取り込みの効率極めて低く、あまり効果がないというのが実状である。

そこで第二の方法として、黒膜形成の油相にはじめから脂質とともにタンパク質を混入しておく。そしてこの混合油相を用いて脂質黒膜を形成するのである。前節でも生化学的側面からリポタンパク質複合体の存在を重要視すべきことを述べたが、この第二法によれば、リポタンパク質複合体も形成される機会に恵まれることになる。出来あがった黒膜の構造は図2-(iii)のように想像される。すなわち図2-(iii)のようになれば、図1-(iv), (v)などの状態——ひいてはそれに対応する膜機能も発現するであろうという期待がもてる。事実、前記第二法を用いて、かなり能率よくタンパク質添加の効果を生ず

表 1 水中脂質黒膜に及ぼす添加物質の効果

添 加 物 質	物 質 の 例	黒膜抵抗	膜透過イオンの選択性
A 無添加(単純黒膜)		高い	ない
B アミノ酸, 球状蛋白質			
i) 水溶性アミノ酸	L-Citrulline L-Cysteine HCl L-Glutamine L-Homoserine	高い	ない
ii) 親油性アミノ酸	L-Cystine L-Tyrosine	高い	ない
iii) 蛋白質	卵アルブミン ウシ血清アルブミン インスリン	高い	ない
C ポリペプチド類			
i) 直鎖ペプチド (アミノ酸残基 約8個以下)	Poly-L-Glutamic acid Poly-L-Lysine Poly-L-Arginine	高い	ない
ii) 直鎖ペプチド	Gramicidin A, B, C	低い	あり
iii) 環状ペプチド	Valinomycin Nonactin 類 Enniatin A, B Tyrocidine B Tyrocidine S	低い	あり
iv) ポリエン抗生物質	Filipin Nistatin Amphotericin	低い	
D 酵素蛋白	EIM Phospholipase A	低い 低い	あり
E 酵素-基質	抗血清-ウシ血清 アルブミンなど ATPase-ATP	低い 低い	あり あり

る例が、数多く報告されている。

表 1 には、水相または油相にいろいろな物質を添加した場合の、黒膜の電気抵抗の低下と、膜透過イオンの特異的選択性の発現とをまとめてある。イオンまたはイオン化物質が膜をよく透過するようになれば、膜の電気抵抗は低下することになるから、電気抵抗はイオン物質透過の有力なめやすになる。

表 1 によると、ポリペプチド類の中の抗生物質のあるもの、あるいは酵素タンパクなどを脂質黒膜に構造的に取り込んだときに、人工膜系にも著しい特異性や選択性のある透過能力が生ずる。これを拡張してゆくことによって、細胞膜らしい機能を人工膜系で発現させる可能性が増大するといえる。

2. 物質透過より見た生体膜と人工膜の現状

ここでイオンのみならず、もっといろいろな物質の膜透過について、生体膜と人工膜とを比較してみよう。ここでは、人工膜としては、前節の脂質二分子層黒膜のみならず、ミリポア膜に脂質をぬりこめた系をも含めてまとめてある。

透過物質としては、気体、低分子電解質、水、有機物質、生体高分子などを考える。生体膜をこれらの物質が透過

表 2 物質透過の現状

透過物質	生物細胞膜	ミニスケール (脂質黒膜 ミリポア膜)	マクロスケール (化学工学的)
I 気体, 酸素, 炭酸ガス	○	?	○
II 低分子電解質 一価イオン 一, 二価の区別	○ ○	×→○ ×→○	○
III 水	○	○	○
IV 有機物質 非イオン化物質 イオン化物質	○ ○	○ ×→○	
V 生体高分子 アミノ酸 タンパク質 酵素 抗生物質	○ ○ ○ ○	× × ×→○ ×→○	

することは、吸収、分泌、排泄などという現象として知られている。人工膜系ではそれらをすべて物質透過と呼んでいる。表 2 には、それら物質の透過の良(○印), 否(×印)をごく大まかに整理した。表の中で×→○という表現をしている箇所は研究の初期の段階ではその物質が透過しなかったが、人工膜にいろいろな工夫を施すことによって透過するようになったもの、あるいは現在その努力が続けられており、透過可能化の見込みのある場合である。×印だけで表わされているのは、現在まだ見込みもたないという状態である。表 2 にはマクロスケールの化学工学の分野でも取り上げられているものをあわせ示してある。

まず気体 O_2 , CO_2 などは化学工学的には人工肺臓としてかなり完成の域にあるといえよう。低分子電解質イオンの選択透過, 選別については、ミニスケールの脂質黒膜, ミリポアフィルター系などでは、抗生物質の添加によって可能になりつつある。化学工学の分野としては、人工腎臓の開発という問題でイオンの選択透過が取り上げられている。

水の透過については、脂質二分子層は生体膜に近い透過能力を示している。化学工学の分野ではやはり人工腎臓の開発として、研究が進みつつある。

有機物質の透過については、脂質黒膜系では、非イオン化物質は現状でも比較的よく透過するが、イオン化物質については研究すべき問題点が多い。たぶん、脂質黒膜の荷電状態を制御する技法が進歩すれば、イオン化する有機物質を適当に透過させることは可能となるであろう。

アミノ酸, タンパク質などの生体関連高分子については、脂質黒膜系では未着手の状態である。これらは薬学の面から、あるいは臨床面からも開発を迫られている問題である。

またミニスケールの脂質黒膜などの系での物質透過は、すべて受動輸送の範囲内にある。ところが生体関連

高分子物質類の生体膜透過には、能動輸送の性格を持った例がかなり認められる。このような能動輸送の性格を含んだ物質透過となると、ミンスケールの人工系では今のところ見通しが無い。

討 論 会

「生体膜と膜透過現象」

シンポジウムから

司 会 味 香 修*

唯今から討論に入ります。先ほど6人の講師の方々へ人工肺、人工腎臓、生体膜における能動輸送、逆浸透、ウルトラフィルトレーションなどの講演をして頂きました。これらの話は膜の透過という点に関しましては共通のものではありますが、内容は広い範囲に亘っておりますので、これらの討論はいくつかのテーマに区切って進めたいと思います。最初に中林先生、吉田先生の話を中心に、膜を用いた人工臓器として人工肺と人工腎臓の問題についてご討論願います。

人工膜の透過性

中谷（鐘淵化学）：中林先生にお伺いします。人工肺の所で、最後にCO₂の透過性の方がO₂の透過性よりも重要であると強調されておられましたが、表1の数値をみますとCO₂の透過性の方がO₂の透過性よりも大きくなっていますね。これは肺の膜としてはCO₂の透過性が大きくないといけないという理由で特に集められたということですか、それとも膜の一般的性質なのですか。

中林：私がCO₂の透過性を重要視しなくてはならないといったのは、結局生体からCO₂をとる時には推進力を高めるためにCO₂の分圧を上げることができないためです。はっきりした数値を覚えていないのですがたしか40mmHg、要するに低いわけです。O₂の方は760mmHg以上に上げることも可能です。私はそういう意味で申し上げたので、結局生体の環境は手を加えられないから、そちらは自然のままにプロセスを考えなければいけないということを強調したかっただけです。

中谷：それはよくわかるのですが、ここにあるようなCO₂の方が透過性が高いというのは膜として一般的

表 1 ポリアルキレンスルホンの酸素・炭酸ガス透過性

	O ₂	CO ₂	CO ₂ /O ₂ Ratio
シリコンゴム	69	307	4.4
シリコン/ポリカーボネート	18	112	6.2
C ₁₆ /C ₁₈ SO ₂	14	60	4.3
C ₁₈ SO ₂	9	39	4.5

な傾向にあるのですか。

中林：それは知りません。これはたまたまこういうデータがあったので参考までにのせただけです。

中谷：先程先生がいわれた生体がいじれないから生体膜としてはCO₂の透過性の方が重要であるということですが、もしこのようにCO₂の方が大分大きいということであるならば、むしろ膜を探す場合O₂の透過性の方が律速になるのではないかと思ったのですが。

中林：申し上げたいのは、たとえば4倍だとしますとCO₂の分圧40mmHgの場合、O₂は160mmHgなわけですね。O₂の方はコンプレッサーを使って、いくらでも推進力を上げることができるわけです。だからもっとよい膜を作りたければ、CO₂の透過性ということ念入りに考えて、CO₂の透過がべらぼうにより膜ができれば、メカニカルにO₂の分圧を上げて、すぐにでも使える可能性があるということです。たとえば人工血液の場合でもそういう話があって人工血液で動物が生きているという表現をよくマスコミの方がいわれますが、よく調べてみると高圧のO₂の中で生きているわけですね。私達は普通生きているといえど空気中で生きていると考えるわけです。だから同じ生きているという機能を持つという表現をしても、なかなか難しいところではないかと思います。

中谷：どうもありがとうございました。

吉田（京大）：実は先程中林先生と私、人工肺における膜の抵抗の重要性という問題について議論したのですが、化学屋と化学工学屋の意見の違うところがあります。少なくとも従来使われている膜を用いる限り、膜型人工肺ではO₂に対して膜の抵抗はあまり考える必要がないというのが私の結論です。血液へのO₂の吸収は非常に速い反応を伴う化学吸収でO₂で飽和された血液の境膜をO₂が純物理的に拡散する速度によって吸収速度が律速される。つまり血液境膜支配なんです。

問題はCO₂ですが実は血液の中ではCO₂は主として重炭酸イオンとして含まれていましてCO₂の放散は単純な拡散ではなく化学吸収の逆なんです。血液からのCO₂の放散速度は、まだあまりよく研究されていないのですが、面白い問題だと思います。血液とO₂を直接接触させる従来の人工肺の場合ですと、膜はないわけですが、むしろCO₂が抜け過ぎて困るので、O₂の中にわざわざCO₂を入れてあまり早く抜けないようにしているんです。膜型の場合どうなるか、私よく知りませんが

* Osamu AJica（正会員）武田薬品工業（株）本会編集企画委員