膜電位変化の伝播機構 —電気化学から見た神経伝導—

白井 理*, 加納 健司

Propagation of the Change in Membrane Potential

—Electrochemical Elucidation of the Nerve Conduction—

Osamu Shirai* and Kenji Kano

Received July 31, 2015

There are many unsolved phenomena in the nerve transmission, such as the threshold of the membrane potential to change from resting potential to action potential, the directionality of the nerve conduction, etc. Since it is difficult to measure local membrane potentials of an actual nerve cell, the propagation of a change in the potential difference across a liquid membrane from a potential-sending site to a potential-receiving site along the membrane surface was studied by using a cell system combined with several liquid membrane cells composed of two aqueous phases and 1,2-dichloroethane phases. The change in membrane potential began to be caused by the local circulating current and was gradually propagated to the distant area.

1. はじめに

本細胞膜は細胞内外を分ける仕切りとなっており、親水性イオンにとって脂質層は透過障壁になっている¹⁻³⁾。また、細胞内外ではイオン組成が大きく異なり、細胞膜は通常イオン透過選択性を有するため、細胞膜を介して膜電位が発生する。膜電位は様々な生体機能の発現において重要な役割を演じており、神経系統では膜電位の変化を軸策上で伝播させることで情報を伝えている。一般的には、膜電位の変化はチャネルの開閉で説明されており、神経細胞を一種の電気回路網とし

たコード理論に基づいて伝播機構は解釈されている⁴⁻¹⁰⁾。しかし、伝播の方向性の発現機構や過分極の出現など未解明の現象が数多くあり、現在でもそれらの解明が試みられている。

著者らも、膜電位だけでなく同時に界面電位差の変化が測定できる有機液膜系のセルを利用して、膜電位変化の伝播機構について検討してきた。本稿では、有機液膜系での膜電位変化の伝播機構を解説し、実際の神経伝導と比較することで、神経伝導における未解明の事象についても議論する。

2. 神経伝導についての概説⁴⁻¹⁰⁾

神経伝達は、外部刺激によって分泌される神経伝達物質の神経細胞外及びシナプス間における輸送過程と神経細胞における膜電位変化の伝播過程で議論されて

京都大学大学院農学研究科応用生命科学専攻
(〒606-8502 京都市左京区北白川追分町)
Graduate School of Agriculture, Division of Applied
Life Sciences, Kyoto University, Kitashirakawa
Oiwake-cho, Kyoto 606-8502, Japan.
*E-mail: shirai@kais.kyoto-u.ac.jp

きた。神経伝導の迅速さは主に神経細胞の軸索上における膜電位変化の伝播で説明されており、以下にそれを記載する。

平常時の神経細胞の膜電位は K^+ の細胞内外の濃度比で決定されており、静止電位と言われている。外部刺激を受けると神経伝達物質が放出され、それがシナプスのチャンネル型受容体に結合して膜電位変化を引き起こす。チャンネル型受容体では主に Na^+ が透過（細胞外へ流出）するため、シナプス周辺の膜電位は Na^+ の細胞内外の濃度比に起因した活動電位へと変化する。チャンネル型受容体が一定数以上開くと、シナプス部位だけでなく樹状突起、細胞体や軸索の部分まで膜電位が変化する。軸索上には膜電位依存性 Na^+ チャンネルが存在しており、周囲の膜電位がある値（閾値）を越えると開状態となり、 Na^+ が流入し始める。

無髄神経の場合、ある領域で膜電位依存性 Na^+ チャンネルが一定数以上開くと、その周辺部位も活動電位へ変化する。このようにして、隣接する領域の膜電位が次々に活動電位へと変化し、シナプス終末まで膜電位変化が伝播する。なお、膜電位依存性 Na^+ チャンネルの開寿命は 1 ミリ秒程度と短く、続いて遅延整流性 K^+ チャンネルが開くので、軸索上の膜電位は迅速に静止電位に戻るとされている。

有髄神経の場合、ミエリン鞘に覆われた部分は電気抵抗が大きいため、軸索上においては脂質二分子膜が露出しているランビエ絞輪部分のみイオン透過が可能となる。ランビエ絞輪に局在する膜電位依存性 Na^+ チャンネルの働きは無髄神経の場合と同様であるが、ランビエ絞輪部分の膜電位が跳躍するように変化する。なお、軸索上のランビエ絞輪部分の膜電位は迅速に静止電位に戻ると考えられているが、その際に過分極（オーバーシュート）とよばれる元の静止電位を超える現象が観察されている。また、電位依存性 Na^+ チャンネルは一度閉じるとしばらく開かないため、活動電位に変化する部

位は軸索上をシナプス終末方向へ進行するとされている。シナプス終末では、膜電位変化が伝わると細胞内のシナプス小胞が神経細胞膜と融合し、シナプス小胞内の伝達物質を細胞外へ放出する。放出された伝達物質が隣接する神経細胞のシナプスに到達し、チャンネル型受容体と結合することで、次の神経細胞にシグナルが伝わる。これらの繰り返して神経伝達が機能すると考えられている。

電気生理学的には、細胞内外における透過イオンの濃度およびチャンネルの開閉に伴う膜内透過係数の変化、細胞膜及び細胞内外の電気的特性（脂質二分子膜部分の電気容量、溶液抵抗）を念頭に置いたコード理論によって軸索における膜電位変化の伝播は説明されてきた。しかし、水相/膜界面におけるガルバニ電位差は考慮されておらず、膜電位変化に伴う界面電位差の変化は議論されていない。また、樹状突起や細胞体上のシナプスに存在するチャンネル型受容体の開寿命は電位依存性ナトリウムチャンネルより長く、シナプス部分では数ミリ秒間は Na^+ の流入による電流が流れる。そのため、活動電位を示す部位がシナプス終末へ到達するまでは膜電位変化の伝播に影響していると思われる（Fig. 1 参照）。未解決の事象としては、軸索上のある部位が静止電位から活動電位に変化する際に膜電位に閾値が存在すること、活動電位から静止電位に戻る際に過分極が現れること、神経伝導の伝播は軸索上を一方向へ進行することなどが挙げられる。

なお、軸索上での連続的な膜電位変化の測定には膜電位固定法（voltage-clamp 法）が一般的に用いられている。軸索中に多数の電極を同時に挿入することが困難であるため、外部溶液中の基準電極に対して膜内に挿入した電極の電位差（膜電位）を固定し、細胞表面に並列に接着した複数の電極と内部に挿入したもう一本の電極間に生じる電流を測定する手法である。つまり、同法は各部位の局所電

Fig. 1 神経細胞の概略とランビエ絞輪間での伝導と電気回路 (Ref. 13)

流を測定しており、直接膜電位を測定していない点に注意を要する。

2. 有機液膜型セルを用いた神経伝導モデル系の構築と膜電位変化の伝播

著者らのグループは、膜電位だけでなく各界面の電位差を同時に測定できる液膜系を導入して、膜電位変化の伝播について検討してきた¹¹⁻¹⁵⁾。U 字管型セル

(Fig. 2) あるいは複数個の有機液膜型セル (Fig. 3) を用いて、イオン添加によるイオン組成の急激な変化あるいはスイッチ切換による異なるイオン組成のセルへの接続によって、膜電位変化を引き起こすようにした。この膜電位変化が並列に接続された膜系にどのように伝播するかを調べることで、神経伝導に類似した膜電位変化の伝播について解明してきた。なお、全ての界面は 2 種類のイオンのどちらかの移動で複極されるように、各相のイオン組成を調整した。

U 字管セルの場合は水相 (W1, W1' および W2) と膜相 (M1 および M2) で構成され、W1 および W1' は塩橋で接続することで同一の水相として振る舞うようにした。膜相には 1,2-ジクロロエタン (DCE) 溶液を用いた。有髄神経のミエリン鞘によって隔てられた 2 箇所 (無髄神経では軸索上でシナプスからの距離が異なる 2 箇所) の部位のシナプス

Fig. 2 U 字管型ガラスセル (Ref. 12)

Fig. 3 スイッチ切換式有機液膜型セル. (a) 各セルの接続概略図, (b) 各セルの構造 (Ref. 13)

側（発信側）で発生した膜電位変化が、軸索の終末側の部位（受信側）へと伝導する現象を模擬する目的で、M1 および M2 を膜電位変化の発信側と受信側の膜になぞらえた。また、実在の神経細胞では、膜電位は K^+ と Na^+ の移動によって制御されているが、それらの W|DCE 界面での標準イオン移動電位はそれぞれ 0.518 および 0.591 V vs. TPhE (TPhE は互いに混じり合わない 2 液間の tetraphenylarsonium および tetraphenylborate の標準イオン移動エネルギーが等しいと仮定して定義された基準電位) と非常に近く、界面電位差の解析が困難になると予想された¹¹⁾。そこで、界面電位差の変化を容易に解析できるように、界面電位差を決定する移動イオンとして W|DCE 界面での標準移動電位が 0.019 V vs. TPhE である tetraethylammonium イオン (TEA^+) と Na^+ を選んだ。

U 字管型セルの各相を式 (1) に示すイオン組成にした場合、W1|M1 および W1'|M2 界面は Na^+ の移動で複極され、W2|M1 および W2|M2 界面は TEA^+ の移動で複極されている。Fig. 4(a) は、W1-W2 間電位差および W1'-W2 間電位差の時間変化を示す。 $TEA^+ Cl^-$ の添加前は、W1-W2 間電位差および W1'-W2 間電位差は等しく、W1|M1 および W2|M1 界面の電位差と W1'|M2 および W2|M2 界面の電位差もそれぞれ等しかった。

つぎに、W1' のみに $TEA^+ Cl^-$ を終濃度が 1.6 mM となるように添加した（添加時を $t = 0$ s）。W1' を攪拌すると、ただちに膜電位および各界面電位差が変化した。このときの各界面電位差の時間変化を Fig. 4 (b) に示す。なお、膜電位変化の伝播において W1' 中の添加イオン濃度に閾値が存在することを実験系は異なるが確認した¹¹⁾。あるイオンの移動で

Fig. 4 U 字管型セルにおける膜電位変化の伝播. (a) 膜電位 (E_{W1-W2} および $E_{W1'-W2}$) の変化, (b) 界面電位差 ($E_{W1|M1}$, $E_{W2|M1}$, $E_{W1'|M2}$, $E_{W2|M2}$) の変化

Ag	AgCl	W1	M1	W2	M2	W1'	AgCl	Ag	(1)
		0.1 M NaCl	10^{-3} M TEA^+ TFPB $^-$ 10^{-5} M Na^+ TFPB $^-$	0.1 M NaCl 5×10^{-3} M $TEA^+ Cl^-$	10^{-3} M TEA^+ TFPB $^-$ 10^{-5} M Na^+ TFPB $^-$	0.1 M NaCl			
		WE1	9×10^{-3} M BTTPA $^+$ TFPB $^-$ WE2	2% agar RE	9×10^{-3} M BTTPA $^+$ TFPB $^-$ WE3	WE4			

決定していた界面電位差がもう一方のイオンの移動電位に変化する場合、元の電位決定イオンの M2 中の濃度より電位変化を引き起こすイオンの W1' 中の濃度が高くなった際に大きく界面電位差および膜電位が変化した。このように電位決定イオンの濃度（拡散電流の大きさ）が閾値を決定していることを明らかにした。式 (1) に示す系では、添加イオン濃度の閾値は最初に W1|M1 および W1'|M2 界面の電位差を決めていた Na⁺ の膜中濃度と等しかった。また、W1 と W1' との接続を塩橋の代わりに銀|塩化銀電極 (S1 および S2) および導線に置き換え、その途中に電流計を設置すると、TEA⁺ の添加によって環電流が生じることが分かった (Fig. 4 (c))。

膜電位および界面電位差の変化と環電流の関係は、Fig. 5 に示す各界面での模式的な定常状態のイオン移動ボルタモグラムをみれば理解できる。TEA⁺ の添加前は、膜内の電極を基準にすれば、W1|M1 および W1'|M2 界面のボルタモグラムは同じであり、同様に、W2|M1 および W2|M2 界面のボルタモグラムも同じである。実際に得られた W1|M1 および W1'|M2 界面の電位差は 0.330 V vs. TEAE (膜中に挿入した TEA⁺-イオン選択性電極に対する電位差) を示し、M1|W2 および M2|W2 界面の電位差は 0.070 V vs. TEAE であった。これらは、Fig. 5 におけるそれぞれの界面でのボルタモグラムのゼロ電流電位 (A, B, C および D) に対応している。

次に、W1' のみに TEA⁺ を添加すると、TEA⁺ の W1' から M2 への移動による電流が発生するため、W1'|M2 界面のボルタモグラムだけが黒の実線のように変化する。そのため、W1 (W1')-W2 間では電流はみかけ上流れないが、それぞれのセルの各界面では同じ大きさで逆向きの電流が流れ、界面電位差も相互補完的に変化する。電流は Fig. 5(c) に示すように W1'→M2→W2→M1→W1→W1'

の向きへ環状に流れた。M1|W2 および M2|W2 界面の電位差は電流の向きに従って、それぞれ正側および負側へ約 30 mV 変化した (C' および D')。W1|M1 および W1'|M2 界面では TEA⁺ の W1' から M2 への移動によって負電位側へ大きく変化するが、環電流が生じるために W1|M1 界面電位差の方が W1'|M2 界面電位差より約 60 mV 負側にシフトしたと考えられる (A' および B')。また、TEA⁺ 添加直後に鋭いピーク状に環電流が生じるのは、界面近傍の移動イオンの濃度が高いことと急激な界面電位差の変化によって発生する充電電流によると思われる。

ところで、U 字管型セルではイオン添加による相内での組成変化が一様ではなく、均質となるのに時間を要する。したがって、予めイオン組成が異なる膜系を並列に配置しておき、各セル系の接続をスイッチで切り替えることにした。そこで、液膜を介した 2 水相を細胞の内部溶液および外部溶液に見立てたポリテトラフルオロエチレン (PTFE) 製セルを 3 個用意し、Fig. 3(a) のように設置した。PTFE セルの内部で水相と接する部分は、テトラエッチ®を用いて親水化処理をした。また、W|M 界面が安定に保持できるように、界面近傍の水相は寒天によ

Fig. 5 U 字管型セルの各界面におけるイオン移動ボルタモグラムの模式図 (Ref. 12)

て固化した。スイッチ切換型セルシステムにより、攪拌などの影響を避けるとともに再現性よく膜電位変化を引き起こすことが可能となった。

はじめに、各相のイオン組成が式 (2) である発信側セル (A) を受信側セル (C) に接続した。セル A およびセル C は膜電位が等しいので、この膜電位を神経系における静止電位に見立てた。つぎに、式 (3) に示すイオン組成で、セル A とは異なる膜電位を示す発信側セル (B) を準備した。ここで、セル B の膜電位を神経系における活動電位に見立てた。なお、有機液膜としては、特に記述のない限り、1,2-ジクロロエタン (DCE) を溶媒として用いた。そして、セル C との接続をスイッチによってセル A からセル B へ切り替えた。なお、各セルの W1 および W2 に銀|塩化銀電極を挿入して、各セルの W1 同士および W2 同士を接続した。

以上の準備を行った後、スイッチを静止電位側から活動電位へと切り替えて膜電位変化を発生させ、その際のセル B および C の膜電位、各界面の電位差と回路を流れる電流を記録した (Fig. 6)。U 字管型セルの場合と同様に、異なるイオン組成のセルとの接続により、各セルでは界面電位差が相互補完的に変化した。U 字管型セルに比べると、電位変化は早く、ばらつきは少なくなった。はじめはセル A とセル C の膜電位 ($E_{W1-W2,A}$ および $E_{W1-W2,C}$) はどちらも 330 mV 付近を示し、セル B の膜電位 ($E_{W1-W2,B}$) は 40 mV 付近であった。スイッチをセル A 側からセル B 側に切り替えると、

$E_{W1-W2,B}$ および $E_{W1-W2,C}$ は Fig. 6(a) に示すように変化した。スイッチ切り替え後約 0.5 秒で $E_{W1-W2,C}$ は 100 mV 付近に到達し、その後はほぼ一定値を示した。また、同時に記録した $E_{W1-W2,B}$ の変化は $E_{W1-W2,C}$ と比べて小さく、約 80 mV 正側にシフトした。M 中の TEA^+ 選択性電極と W1 および W2 中の銀|塩化銀電極の電位差より各界面における電位差変化を求めると、この $E_{W1-W2,C}$ の変化は主に W1|M 界面の界面電位差 ($E_{W1|M,C}$) の変化によるものであり、W2|M 界面の電位差 ($E_{W2|M,C}$) はほとんど変化していないことが分かった。また、セル B の W1|M 界面および W2|M 界面の電位差 ($E_{W1|M,B}$ および $E_{W2|M,B}$) はほとんど変化していなかった。

なお、膜電位変化と同時に、環電流 (セル B : W1→M→W2, セル C : W2→M→W1 の方向) が発生した (Fig. 6(c))。これは、異なる膜電位のセルを接続したため、2 つのセル間の電位差を解消するように界面電位差が変化し、電流が発生したためである。この現象は、神経伝導において活動電位を示す部分で Na^+ が流入し、隣接するそれ以外の部分で K^+ の流出が同時に生じるとされる従来説と合致している。

また、シナプスにおけるチャネル型受容体の働きによる膜電位変化が軸索に伝わり、ある電位 (閾値) 以上になると有髄神経のランビエ絞輪に存在する電位依存性チャネルが開き、その周辺部分が活動電位まで変化することが知られている⁴⁻¹⁰⁾。同様に、液膜系でも膜電位変化の伝播において、膜電位変化を引き起こす

イオン濃度が一定以上にならないと伝播しないことが判明した。これは、受信側に膜電位変化を伝播するために必要な電流値が決まっているためであり、セル B で活動電位を誘起するイオン種の移動電流が、セル C の静止電位を規定しているイオン種の移動によって生じる電流を上回ると界面電位差が大きく変化することに起因している。なお、接続を元のセル A に戻すと膜電位は元の静止電位に戻るが、電流は一旦逆向きに流れてやがてゼロ電流に近づいた。神経伝導において観察される過分極はこの現象をみているのではないかと考えている。

3. 膜電位変化の伝播に及ぼす抵抗とコンデンサーの影響

複数の PTFE 製セルを連結した系において、回路上にセルと並列に設置したコンデンサーあるいは直列に設置した電気抵抗の影響を調べた。これらのコンデンサーおよび電気抵抗は実際の神経細胞における液抵抗（特に神経細胞内部の軸索部分）および脂質二分子膜部分での容量成分に相当している。

Fig. 6 (a)-(c) には、それぞれ 0~567 k Ω の抵抗を回路上に接続した場合の膜電位 ($E_{W1-W2,B}$ および $E_{W1-W2,C}$)、W1|M 界面の電位差 ($E_{W1-W2,B}$ および $E_{W1|M,C}$) および環電流 (i) の時間変化を示す。なお、スイッチを切り換えた時を $t=0$ s とした。抵抗値が大きくなるにつれてスイッチ切り換え後の $E_{W1-W2,C}$ の変化が遅くなり、360 k Ω および 567 k Ω の抵抗を用いた場合には $E_{W1-W2,C}$ の変化はほとんどなくなった。回路上に流れる環電流の大きさは抵抗値が大きくなるにつれて小さくなった。

セル系は閉回路であるため、溶液抵抗が無視できるほど小さい場合は $E_{W1-W2,C} = E_{W1-W2,B} - iR$ (i : 環電流, R : 設置した電気抵抗) が成り立つ。したがって、 R の増大により電位降下が増大し、発信側が $E_{W1-W2,A}$ から $E_{W1-W2,B}$ へ変化

Fig. 6 膜電位変化の伝播に及ぼす抵抗の影響. (a) 膜電位 ($E_{W1-W2,B}$ および $E_{W1-W2,C}$) の時間変化, (b) 界面電位差 ($E_{W1|M,C}$) の時間変化, (c) 環電流の時間変化. 抵抗: 0, 11, 21, 31, 56, 110, 165, 360 および 567 k Ω (曲線 1-9 および曲線 10-18 ($E_{W1-W2,B}$ の時間変化)). (Ref. 13)

しても $E_{W1-W2,C}$ は変化しなくなったものと思われる。このように、抵抗値が大きい場合は、電位降下のために膜電位変化の伝播が抑制されることが分かった。また、抵抗がない場合あるいは小さい場合は、スイッチ切り換え直後に大きな電流が生じた。抵抗が大きい場合はスイッチ切り換え直後はとくに電位降下の影響が大きくなるので、伝播の遅延も観測された。

つぎに、抵抗は $21\text{ k}\Omega$ のものに固定し、電気容量が $44\sim 330\text{ }\mu\text{F}$ のコンデンサーを回路上にセルと並列に接続して、その影響を調べた。セル B およびセル C の膜電位、W1|M 界面の電位差および環電流の時間変化を Fig. 7 (a)-(c) に示す。

はじめはセル A とセル C の膜電位 ($E_{W1-W2,A}$ および $E_{W1-W2,C}$) はどちらも 330 mV 付近を示し、セル B の膜電位 ($E_{W1-W2,B}$) は 40 mV 付近であった。スイッチによって、セル C との接続をセル A 側からセル B 側へ切り替えた際の $E_{W1-W2,B}$ および $E_{W1-W2,C}$ の時間変化を Fig. 7(a) に示した。スイッチ切り換え後 0.5 秒で $E_{W1-W2,C}$ は 110 mV 付近に到達し、その後はほぼ一定となった。また、同時に記録した $E_{W1-W2,B}$ の変化は $E_{W1-W2,C}$ と比べて小さく、約 15 mV 正側へシフトした。M 中の TEA^+ 選択性電極と W1 および W2 中の銀|塩化銀電極の電位差より各界面における電位差変化を求めると、この $E_{W1-W2,C}$ の変化は主に W1|M 界面の界面電位差 ($E_{W1|M,C}$) の変化によるものであり、W2|M 界面の電位差 ($E_{W2|M,C}$) はあまり変化していないことが分かった。また、セル B の W1|M 界面および W2|M 界面の電位差 ($E_{W1|M,B}$ および $E_{W2|M,B}$) もあまり変化していなかった。コンデンサーの電気容量が大きいほど同じ膜電位、界面電位差および電流値まで変化するのに要する時間が長くなり、伝播の遅延が観察された。なお、セル C に流れ込む電流には、2 種類の電流成分が合わさったような変化が

Fig. 7 膜電位変化の伝播に及ぼすコンデンサーの影響. (a) 膜電位 ($E_{W1-W2,B}$ および $E_{W1-W2,C}$) の時間変化, (b) 界面電位差 ($E_{W1|M,C}$) の時間変化, (c) 環電流の時間変化. コンデンサー: 0, 44, 88 および $330\text{ }\mu\text{F}$ {(a)-(c) 曲線 1-4 及び (a) 曲線 5-8 に対応, (c) 曲線 5-7 は曲線 2-4 から曲線 1 を差し引いたもの}. (Ref. 13)

みられた。コンデンサーの電気容量が大きくなり電位変化の遅延が顕著になるほど、1つ目のピークが小さくなり、2つ目のピークが遅れた位置に現れるようになったことから、1つ目は W|M 界面の充電電流によるもの、2つ目は W|M 界面でのイオン移動電流によるものと考えられる。Fig. 7(c) の曲線 5-7 はコンデンサーの有無による差をプロットした。このようにスイッチ切り替え後に、コンデンサーの充電に環電流が消費されるので、伝播が遅延したことが判った。

実際の神経における活動電位の伝播では、細胞内の液抵抗による電位降下およびミエリン鞘で覆われていない細胞表面（脂質二分子膜）での充電電流によって膜電位変化の伝播が減衰することが知られており、液膜系で生じた現象と類似していることが分かった。

4. 膜電位変化の伝播に及ぼす面積比の効果

膜電位変化の発信側で生じる電流の大きさと膜電位変化の伝播特性について、各セルのイオン組成は同じにして、発信側および受信側セルの水相/液膜界面の面積比を変えることで検討した。

まず、発信側の活動電位セルとして、W|M 界面が 1.33 cm^2 及び 0.33 cm^2 のセルを用い、それぞれセル Ap 及びセル ap とした。受信側セルについても W|M 界面が 1.33 cm^2 および 0.33 cm^2 のセルをそれぞれセル Rec 及びセル rec と表した。初めに受信側セルと接続する静止電位セルは W|M 界面面積が 1.33 cm^2 のセル S を用いた。以下では、セル S からセル Ap あるいは ap へスイッチで切り替えた場合の 4 つの組み合わせ (Ap-Rec, Ap-rec, ap-rec, ap-Rec) の結果について述べる。

式 (2) および (3) に示した液膜系を用いたところ、Ap-Rec および ap-rec の組み合わせの場合と比べて、Ap-rec の組み合わせでは受信セルの膜電位がセル

Fig. 8 膜電位変化の伝播に及ぼす面積比の影響. (a) 受信側の膜電位の時間変化, (b) 発信側の膜電位の時間変化, (c) 環電流の時間変化. (Ref. 14)

Ap の初期膜電位に近い値に変化した (Fig. 8(a)). それとは逆に, ap-Rec の組み合わせでは, 受信セルの膜電位は 30 mV 程度しか変化せず, セル ap の膜電位はセル Rec の初期膜電位に近い値まで変化した (Fig. 8(b)). 流れた環電流は Ap-Rec の時が最も大きく, ap-rec の時が最も小さかった (Fig. 8(c)). Ap-rec および ap-Rec の場合, 環電流はほぼ同じ大きさであったが, スイッチ切換後の膜電位変化の差は最も大きかった。なお, 電流値は大きく異なったが, Ap-Rec および ap-rec の場合は膜電位および各界面電位差は全く同様に变化したことから, 相対的な面積比が伝播現象を制御していることが分かった。

さらに, セル ap の W1 中の TEACl 濃度を 1 mM に上げて同様の実験を行ったところ, ap-Rec の組み合わせであっても Rec の膜電位はセル ap の初期電位付近 (約 100 mV) へ変化した。以上のことから, 静止電位を規定しているイオン種が M から W1 へ移動する際の限界電流密度 (j_s) とその部分の面積 (A_s), 活動電位を生じさせるイオン種の W1 から M への移動による限界電流密度 (j_{Ap}) とその部分の面積 (A_{Ap}) の関係が $j_{Ap}A_{Ap} > j_sA_s$ であれば膜電位変化が伝播し, その差が大きければ大きいほど速やかに伝播することを意味している。

5. チャネル模倣型セルによる膜電位変化の伝播

神経細胞により近いモデル系の構築を目指して, 神経伝導と同様に Na^+ と K^+ の移動で膜電位変化を生じる系の構築を

試みた¹⁵⁾。

具体的には, K^+ チャネルおよび Na^+ チャネルを模して, 式 (4) および (5) に示す液膜系セルを準備した。ここで, DB18C6, BTPPA および TFPB はそれぞれ dibenzo-18-crown-6, bis(triphenylphosphoranylidene)ammonium および tetrakis-[3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl]borate である。DB18C6 は界面での Na^+ 移動を促進し, 界面電位差を Na^+ 移動で復極させるために添加した。全てのセルの W1 に銀塩化銀電極を挿入し, それらを導線で並列に接続することで, 同一水相として振る舞うようにした。同様にして, 全てのセルの W2 も電気的に接続した。

実際の神経細胞では, K^+ 濃度は細胞内が細胞外より約 20 倍高く, Na^+ 濃度は逆に細胞外が細胞内より約 20 倍高いことが知られている⁷⁾。そこで, 実際の神経細胞を模倣して, W1 を細胞外, W2 を細胞内とみなしてセル系を構築した。膜示した液膜系セルを設置し, 発信側には式 (4) および (5) に示した液膜系セルを設置した。発信側のセルとしては, 初めは式 (4) に示す K^+ の移動で膜電位が規定されている静止電位セル (S-K) を選び, 受信側の K^+ の移動で膜電位が規定されている静止電位セル (R-K) と接続した。つぎにスイッチを用いて, 発信側を S-K セルから式 (5) に示す Na^+ の移動で膜電位が規定されている活動電位セル (S-Na) に切り替えた。これら一連の操作の間に, 電流計を流れる電流, 各セルの膜電位変化および各界面の電位差変化を計測した。

接続前の R-K セルの膜電位 ($\Delta E_{m,R-K}$)

は -0.075 ± 0.005 V, S-K セルの膜電位 ($\Delta E_{m,S-K}$) は -0.074 ± 0.001 V, S-Na セルの膜電位 ($\Delta E_{m,S-Na}$) は $+0.076 \pm 0.001$ V であった。R-K セルとの接続を S-K セルから S-Na セルに換えると, $\Delta E_{m,R-K}$ は -0.075 V から約 $+0.040$ V まで急激に変化し, その後は緩やかに $+0.050$ V 付近まで変化した。さらに, S-Na セルから S-K セルに接続を戻すと, $\Delta E_{m,R-K}$ は -0.070 V まで変化した。

また, R-K セルとの接続を S-K セルから S-Na セルに換えると環電流が生じた。この環電流は, S-Na セルでは Na^+ が W1 から W2 へ移動し, R-K セルでは K^+ が W2 から W1 へ移動することで発生した。その後, スイッチを S-Na セル側からセル S-K 側に切り替えると, $\Delta E_{m,R-K}$ は元の $\Delta E_{m,S-K}$ に近づいた。このとき, 逆向き電流が一旦流れたが, しばらくするとゼロ電流に戻った。

受信側の R-K セルを複数個用意し, 抵抗を回路に接続することで発信側セルとの距離が異なることを表現したセル系を構築したところ, 発信側セルに近い受信側セルほど膜電位変化の影響を大きく受け, 流れる電流値も高いことが判明した。現在は, 電位応答リレーを使用して, それぞれの受信側 R-K セルに S-Na セルが接続されるようにして, 膜電位依存性 Na^+ チャネルを再現したセル系で伝播の方向性について検討している。

6. 実際の神経伝導との比較

本研究により, 液膜モデル系において局所的な環電流が生じることで膜電位変化が伝播することが明確となった。また, 回路上の抵抗は電位降下により膜電位変化伝導の減衰・遅延を引き起こし, コンデンサーは充電電流の増大により伝導の遅延を引き起こすことが分かった。

実際の神経細胞で環電流を伴った膜電位変化の伝播が起きる場合, 軸索は直径 $0.2 \sim 2 \mu\text{m}$ と細いため, 溶液抵抗による電位降下が生じると考えられる。実際に,

末梢神経の有髄神経では, 軸索の直径が大きいほど伝導速度が速いことが知られており, これは軸索の直径が大きい方が軸索内の液抵抗が小さいため, 電位降下によるロスが少ないためとされている⁷⁾。また, 同じ直径であれば, 有髄神経の方が無髄神経より 100 倍以上伝導速度が速いことも知られている。有髄神経では, 軸索の大半はミエリン鞘で覆われている。ミエリン鞘で覆われた部分は電気抵抗が大きく, ほとんど電流が流れず, 充放電による寄与が小さいため, 本稿の結果と同様に伝播の遅延が抑制されるものと考えられる。一方, 無髄神経では, 脂質二分子層が露出しており, 充放電の影響が大きいので, 遅延効果により伝播が抑制されることが考えられる。これが, 有髄神経の方が無髄神経より伝導しやすい理由と思われる。

活動電位が伝播する際, 発信側で生じる反応の限界電流が受信側で生じる反応の限界電流より大きくなることにより, 膜電位変化が伝播することが分かった。神経細胞では神経伝達物質を受容する部位(樹状突起のシナプス周辺)の表面積が大きくなっているのに対して, 受信側である軸索やシナプス終末の面積が小さいことが多い。さらに, 有髄神経ではミエリン鞘によってイオン移動できる部分が制限されている。何れの場合でも, 膜電位変化の発信側の電流量が大きいほど, 軸索方向への膜電位伝導を優位に引き起こしていると考えられる。

7. おわりに

神経伝導に類似した膜電位変化の伝播を再現できるセル系の構築に成功し, より実在の神経伝導に近い系へと改良を重ねてきた。最近では, 神経細胞に存在するチャネルと類似した機能を持つ実験系を組むことができるようになり, 充電電流や抵抗の影響, 閾値の存在, 過分極の出現, 伝播の方向性など神経伝導と同様な現象を再現できるようになった。

今後は薄膜、脂質二分子膜あるいは神経軸索を利用した系でも検討したい。付随する現象として、環電流が発生するため局所的な磁場の発生も確認しており、生体での磁場発生や外部磁場によって細胞体が影響を受けられる。また、環電流は周辺の細胞等にも影響を及ぼすので、多細胞系での同期現象を引き起こすと予想される。これらの現象についても検討したいと存じている、さらに、得られた知見をもとに、人工神経など人工生体組織の開発にも取り組みたいと考えている。

参考文献

1. S. G. Schultz (鈴木泰三, 星 猛, 鈴木裕一訳), 生体膜輸送の基礎, 東京化学同人 (1982).
2. 花井哲也, 膜とイオン, 化学同人 (1978).
3. R. B. Gennis (西島正弘 他訳), 生体膜, シュプリンガー・フェアラーク東京, (1990).
4. I. B. Levitan, L. K. Kaczmarek, The Neuron: Cell and Molecular Biology, 3rd ed., Oxford University Press, New York, 2002.
5. 岡 良隆, 基礎から学ぶ神経生物学, オーム社 (2012).
6. A. J. McComas (酒井正樹・高畑雅一訳), 神経インパルス物語, 共立出版 (2014).
7. 橋本修治, 臨床電気神経生理学の基本, 診断と治療社 (2013).
8. R. Phillips, J. Kondev, and J. Theriot, Physical Biology of the Cell, Garland Science, New York, 2009.
9. E. R. Kandel, J. H. Schwartz, and T. H. Jessell, Principles of Neural Science, 4th Ed., McGraw-Hill, New York, 1991.
10. J. Nolte (白尾智明訳), 神経科学, 東京化学同人 (2011).
11. N. Ueya, O. Shirai, Y. Kushida, S. Tsujimura, and K. Kano, *J. Electroanal. Chem.*, **673**, 8–12 (2012).
12. Y. Kushida, O. Shirai, Y. Kitazumi and K. Kano, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **87**, 110–112 (2014).
13. Y. Kushida, O. Shirai, Y. Kitazumi, and K. Kano, *Electroanalysis*, **26**, 1858–1865 (2014).
14. Y. Kushida, O. Shirai, Y. Takano, Y. Kitazumi, and K. Kano, *Anal. Sci.*, **31**, 677–683 (2015).
15. 高野能成, 白井 理, 北隅優希, 加納健司, 電気化学会第 82 回大会講演要旨集 (横浜国大), 3M04 (2015).