

体液中のイオンに関する一考察(第二報)

—特にNa⁺およびK⁺について

舟木行雄

A consideration of Ions in the Body fluid (especially about Na⁺ and K⁺ part 2)

By Yukio Funaki

生体内の溶液は、膠質溶液を除いては、大部分が希薄溶液である。ここでいう希薄溶液とは、Henryの法則(1803)が成り立つ濃度の希薄溶液のことであり、具体的には、0.2 M以下の濃度であるならば、だいたいこの条件を満足している。そして、その条件を満足するような溶液においてはそれにさらに溶媒を加えて希釈しても、熱の出入がなく、また体積は、加えた溶媒の体積だけは増加するが、その外には、膨張あるいは収縮も伴わない。したがって、このこともまた、希薄溶液の一つの定義であるとする事ができよう。また、Raoultの法則(1871)、すなわち、沸点上昇および氷点降下の大きさは、溶解している溶質のモル数に比例するという関係は、同時に考えなければならないと思う。

以上のような希薄溶液の電解質およびイオンを生体内に関して論ずる場合には、第一に希薄溶液に関する物理化学的な法則を基本として考えると同時に、生体なるが故の特有な法則、または現象を合わせて考えなくては成立しない。また、溶液中のイオンが、単一で存在する場合はともかく、二種以上存在する場合は、溶液論からいっても、イオン間に複雑な関係が生じるし、さらに膠質溶液との関係を考えると、増々複雑化してくる。また、生体膜をはさんで両側にある異った濃度・イオンの種類・膠質溶液および酵素などは、それらの溶液間の関係や、膜との関係は、非常に有機的に意味づけられたありかたである。

このような種々な条件のもとで細胞は生活しているが、単細胞生物でも、また、ある組織の一つの細胞でも、その生活は実に巧妙な仕組によってなされている。

その仕組については、まだ明らかにされていないことが多くあるが、まず、細胞の生活維持の基本的なことから考

えると、細胞を構成している物質が一定の状態に配列され、組織化される必要がある。そしてその構成物質、あるいは細胞が生活するために要求される種々な物質(タンパク質・糖質・塩類など)が一定の立体的空間に区画されること、が生物学的に調節のとれた機能を発揮するための基本的条件であると考えられる。

生体内のイオンに関することからについては、イオン価・原子量・分子量・濃度・共存する膠質その他の有機化合物との関係、および、生体膜との関係など、非常に複雑な条件下にあり、無生物系では、イオン・水分子・および膜の間の関係を計算することが可能であり、それはある物理学的な意味をもっているが、生物系では、実験による測定可能な要素のどれとも一見関係ない何組かのOnsager係数を考えなくてはならない。

そこで、まず、物理化学的にイオンを動かす力を考えると、物理学における種々な力と同じように、あるポテンシャルの勾配を考えなければならない。たとえば、熱伝導の速さは温度の勾配に比例するし、単位の電荷に働く力は電位勾配によって生じる。そしてイオンの移動に有効なポテンシャルは、電気化学ポテンシャルである。すなわち、 μ_j^0 を標準状態における化学ポテンシャル、 R を気体定数、 T を絶対温度、 r_j を活動度係数、 c_j を濃度、 z_j を原子価、 F をファラデー定数、 ψ を電位、 P を静水圧および V_j を部分モル体積とすると、あるイオン粒子 i に対して、電気化学ポテンシャル μ_j は

$$\mu_j = \mu_j^0 + RT \ln \gamma_j c_j + z_j F \psi + P V_j \dots \dots \dots (1)$$

であり、積 $\gamma_j c_j$ は化学活動度であり、 $RT \ln \gamma_j c_j$ と μ_j^0 との和は化学ポテンシャルである2)。

生活している細胞にみられる電位差は、ある一種類または他種のイオンによる拡散電位であると思われる。生活している細胞系においては、系内の一つあるいはそれ以上の界面で、イオンの電荷がわずかに離れることにより電位差が生じ、この電位差を酸化還元電位と考えることもできる。すなわち、生体外で酸化還元測定に使用される貴金属電極と同じような意味の電極が細胞内に存在し、これと電解質との接触によって生じる酸化還元電位であるとみなすことができる。このことは、現在イオン説を支持する学説が多く知られているが、決して酸化還元反応が、細胞の物質代謝を通して、膜の電位差に関連していることを否定するものではない³⁾。

ここで、イオンと生体膜の関連についてのべる。まず、膜電位から K^+ と Na^+ の透過性をHodgkinら⁴⁾の実験例を基にして考えると、10.4mNの K^+ を含んだ海水中に入れた *Sepia* の神経線維では、 K^+ コンダクタンスの計算を混乱させるおそれがある K^+ の能動的内向きフラックスを除くため、あらかじめ、0.2mM、DNP(ジニトロフェノール)を加えたときの平均電位差は63mVであり、細胞の内側が外液に対して負であった。この電位差は、 K^+ 濃度を K_0 、 Na^+ 濃度を Na_0 とすると、 K_0+Na_0 を490mNに一定に保ちながら K_0 を変換することにより変化させることができた。

神経線維形質内の平均濃度は、原形質1ℓあたり、270 mequiv. K^+ および58mequiv. Na^+ であった。一次近似として、神経線維は K^+ のみに対して透過性であるとみなしてよいと思われる。そこで、膜の電位差 ϕ_m は、

$$\phi_m = 58 \log_{10}(K_0/270) \dots\dots\dots(2)$$

である。これはNernst電位の式

$$\Delta\phi = (RT/z_j F) \ln(a_j^0/a_j^i) \dots\dots\dots(3)$$

と一致する。

この式は高濃度のときだけ観察値と一致するが、低濃度のところは一致しないことが明らかである(図-I)。 Na^+ に対して、おそらく透過性があるとみて、その効果を ϕ_m の式に入れてみると、両者がよく一致するように改めることができる。すなわち、透過係数を P とすると、

$$\phi_m = 58 \log_{10} \frac{P_K K_0 + P_{Na} Na_0}{P_K K_i + P_{Na} Na_i} \dots\dots\dots(4)$$

であり、この式はGoldman⁵⁾の膜電位差と透過係数に関する式から誘導された式

$$\phi_m = \frac{RT}{F} \ln \frac{a_K^0 + \alpha a_{Na}^0}{a_K^i + \alpha a_{Na}^i} \dots\dots\dots(5)$$

(但し、 $\alpha = u_{Na}/u_K = P_{Na}/P_K$ であり定数である)

に相当する。図-Iの実線では $P_{Na}/P_K = \alpha = 0.03$ である。 K_i の値は上記の神経線維形質1ℓあたり270mequiv. ではなくて、310mequiv. とおいてある。したがって二次近似として、神経線維膜は、広範囲の K_0 と ϕ_m にわたって、 K^+ と Na^+ を30:1の一定比で透過させる。 Na^+ の効果は、 K_0 が小さいほど大きくなる。

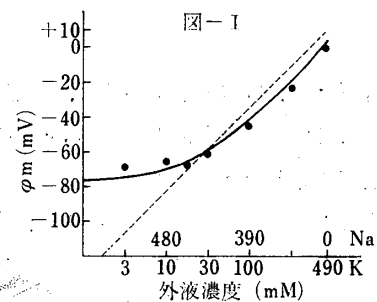


図-I DNP処理した*Sepia*の神経線維の電位差が、外液のカリウム濃度によって変わる状態を示す。 K_0+Na_0 の合計値は490mequiv. l^{-1} と一定に保った。黒点は実験値；点線は式(2)から計算した ϕ_m と K_0 の関係；実線は式(4)から計算した値。(Hodgkin & Keynes, (1955 b)から)

また、HodgkinとHorowitz⁶⁾は、*Rana temporaria* から切り出した単一筋線維を用いて、前記の*Sepia*の実験と同じような実験をおこなった。この細胞は、 K^+ と Cl^- の両方に対して非常に大きい透過性を示すが、単に外の K^+ を Na^+ に、あるいは Cl^- を SO_4^{2-} に変えるだけで、 KCl の正味の流出、あるいは流入、および水の流入、あるいは流出がみられる。この系は、一種のDonnan系のように考えられ、 K^+ と Cl^- に対する筋形質膜の透過性と、おそらく筋線維の原形質内におけるこれらのイオンの拡散速度とによって決定する速度で平衡に達するであろう。

この筋線維において、 $K_0 \times Cl_0$ を一定にしたままで、 K_0 と Cl_0 を互に逆に変化させても(Na^+ と SO_4^{2-} で中性を維持した)、塩類あるいは水の正味のフラックスが起こることは、期待されない。この理はDonnan平衡の性質にある。すなわち、平衡では、

$$\phi_K = 58 \log_{10}(K_0/K_i)$$

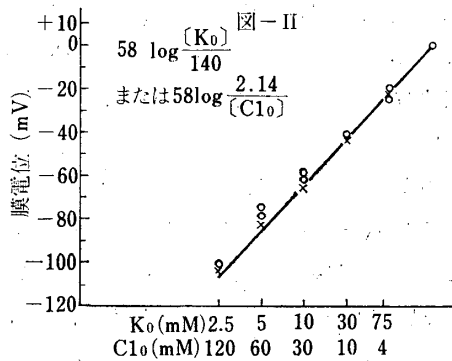
$$\phi_{Cl} = 58 \log_{10}(Cl_i/Cl_0)$$

つまり平衡では、 $\psi_m = \psi_k = \psi_{ci}$ ；したがって、もし平衡を維持したままで ψ_m だけが変わったとすると、次の式が成立する。

$$K_o/K_i = Cl_i/Cl_o$$

または、 $K_o Cl_o = K_i Cl_i = \text{一定}$

図- II は電位差が期待どおりに変化し、変化量は、 K_i と Cl_i から計算したものと一致したことを示す。このときの K_i 、 Cl_i は線維中の水:1kg あたり、それぞれ 140mequiv. K^+ 、および 2.14mequiv. Cl^- である。



単一筋線維における K_o および Cl_o と膜電位の関係。この実験では、 $K_o \times Cl_o$ を一定値、300mM に保った。+印は溶流を入れてから 10~60 分後の膜電位、○印は急に入れ換えてから 20~60 秒後の値である。

(Hodgkin & Horowicz (1959 a) から)

陰イオンとして、 Cl^- をなくして SO_4^{2-} にしておき、 K_o を変化させると、電位差はほとんど正確に次式に従って変化する。

$$\psi_m = 58 \log_{10} \frac{K_o + 0.01Na}{140}$$

これは、筋形質膜が Na^+ に対してわずかに透過性をもつことを示したものである。この線維を K_o 2.5mN、 Cl_o 120mN を含んだ Ringer 液中に入れた場合、 P_k/P_{cl} は 0.5 であった。この比の値は、他の溶液中では変化する。

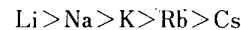
次いで、膜の選択性を考えると、細胞外液のイオンを変えることによって、細胞内液と細胞外液の間の電位差は変化する。これは、Hodgkin ら⁴⁾によって証明されているが、ここでみられる効果の一部は、Donnan 相と、その外液の間の境界で生じたものがあると思われる。しかし、大部分は細胞膜および、それがイオンに対して示す比透過性に関係していると考えられる。したがって、陽イオンに対して選

択的に透過性をもつ膜、および、負に荷電した開放相において、その外液の濃度を増加させたとき、定性的には同じ電位差変化がみられることになり、両方とも、濃度を高くした側の電位がより負になることが考えられる。

種々な陽イオンを類別できる選択性が、イオンの側、あるいは膜の側のどのような性質に起因するのか考えてみると、たとえば、細胞表面では、 $P_k > P_{Na}$ の場合も、 $P_{Na} > P_k$ の場合も考えられる。しかし、 K^+ の選択性が大きい場合が一般に考えられている⁷⁾。フルイ効果では、より小さく水和したイオンの方がよく透過するので、 K^+ の方が、いつも Na^+ よりもよく透過することになる⁷⁾。

膜、あるいは巨視的な相におけるイオンの選択性は、あるイオンが水溶液から離れて、他の相の中にある対イオンと交換する確率は、その交換が起るときの自由エネルギーの変化によって決定する。この自由エネルギーの変化は、イオンが吸着したり離れたりするときに、イオンの水和の変化が起る程度によって差ができてくるであろうし、固定負イオンと吸着された対イオンとの間に生じる相互作用の静電エネルギーは、固定イオンと対イオンの両方によって決定されることが考えられる⁸⁾。

このようなことから陽イオン選択性がラスなどの種々なイオン交換体は、陽イオンを吸着するとき、たとえば、



のような二つの極端な順序、あるいは二つの間の種々な中間的な型で選択性を示すことがわかった。この選択性の順序を決定するのに、陰イオンの電場強度が最も重要な要因である。そしてイオン交換体の水和程度が、選択性の大きさに対して大きな効果をもつ。すなわち、 P_i/P_j はイオン交換体が水和している程度によって決定するが、 $P_i > P_j$ であるか、 $P_i < P_j$ あるいは、 $P_i = P_j$ であるかは、その陰イオンおよび隣りあわせた原子の性質によって決定されることが認められている⁹⁾。

Eisenman¹⁰⁾は、この理論を生物により実験した結果、静止電位とコンダクタンスから、そしてまた、静止時のフラックスから計算した陽イオン選択性の順序は、陰イオン電場強度の弱い領域における順序と一致し、選択性の順序は大體、 $K > Rb > Cs > Na > Li$ となる結果を得ている。また、膜が興奮したときにみられる選択性の順序は、陰イオン電場強度の強い領域に対応し、 $Na > Li > K > Rb > Cs$ の順序である。

一般に一価イオンについて考えたとき、イオンの吸着にクーロンが圧倒的に大きな影響をもつことは、注目すべきことと思う。

以上は、主にイオンの透過性と細胞膜または組織膜の選択性についての考察であったが、次に細胞内部の細胞質およびミトコンドリアなどのイオンの透過性について考察を述べる。

多くの場合、細胞質中の陽イオンのうち、 Na^+ より K^+ が多く含まれていることは周知のことと思う⁷⁾。細胞質中でこのようなイオン組成がみられるのは、細胞質の固定負電荷に K^+ が選択的に吸着される結果であると考えられるが^{7), 11), 12)}、ある植物細胞の液胞と外液の間のイオン分布を論ずる場合、 K^+ が選択的に吸着されるという仮説だけでは不十分であることは単純な熱力学的根拠からもいえる。したがって多くの場合、膜が透過速度を制御しているということに考えがおよぶ。

細胞質中の K^+ の存在の状態を考えてみると、 K^+ が選択的に吸着されるように考えられる場合において、 K^+ と吸着部位との間には、静電力による結合がなされていると考えられるが、このような状態のもとでも、 K^+ は容易に交換され得るし、動きやすい。たとえば、*Sepia*の神経線維形質中の K^+ の拡散係数は、水溶液中のそれに比較して、わずかに小さいが、このことは、あらかじめ神経表面上の限られた面積の部分で神経線維形質の K^+ と入れかえておいた、 $\text{K}-42$ の放射能が、その後、神経線維の内部に沿って広がるのを追跡している。電位勾配を与えたときも、与えないときも再配分の拡散係数 D_K は、 $D_K \approx 1.3 \times 10^{-5} \text{ Cm}^2 \text{ s}^{-1}$ という一致した値（水溶液中では、 0.5M 、 18°C で $D_{\text{KCl}} \approx 1.5 \times 10^{-5}$ ）である¹³⁾。神経線維形質中の K^+ のうち、推定して90%が交換可能であるとすると、神経線維中に導入された放射性カリウムが特に動きやすいということは全く考えられない¹⁴⁾。

このように考えてくると、 K^+ は細胞質の固定電荷の格子と、それに隣接して順序よく配列した水分子の中に正確に入り込み¹⁵⁾。細胞質中では、その移動度、あるいは活動度は、小さくなるという考えは、現在のところ否定されることになる。また Na^+ については、まだ解決していないことが多く、報告もない。

細胞内と細胞外との間には一般に電位差がみられるが⁷⁾、血漿のような培液の中では、動物細胞の内側は電氣的に負であるが、植物細胞の場合にはもっと複雑である。液胞と外部溶液との間での電位差は、正のこともあり、負のこ

もある。そして、この電位差は、原形質膜を介しての電位差と、液胞膜を介しての電位差から成立している。一般的にいて、細胞質は、外液に対して負であり、その大きさは、大体外液中の K^+ の活動度に対する細胞中の K^+ の活動度の比によって決定する。

外液の濃度を変化させると、一般に電位差変化が現われる。細胞は正常なときは、外液の K^+ 濃度を増大することによって脱分極し、細胞内外の電位差が小さくなる。

$\text{K}_o + \text{Na}_o$ を一定にしたまま、 K_o の変化による電位差の変化については、 K_o と αNa_o (α は、外側の膜(原形質膜)の Na^+ に対する透過性と K^+ に対する透過性の比)を含んだ式により表現することができるが、その結果、 Na^+ に対する選択性が大きい膜、あるいは表面は、ほとんど認められていない⁴⁾。

このような選択性は、おそらく細胞の外側の性質によるものであり、その膜の中でイオンは、水溶液中に比較してかなり異った移動度や溶解度をもっていることが考えられる。細胞質中の K^+ の活動度は、水溶液中での同一な濃度のときの活動度と同程度であると思われるが、 Na^+ の活動度は、表現しにくいほど低いことが推測される¹⁵⁾。

上記のことから考えると、能動機構が介在していると考えざるを得ない。

能動輸送と受動輸送については、第一報⁷⁾で述べているが、さらに深く Na^+ の能動輸送を考えると、多数の系で、電気化学ポテンシャルの勾配に逆らって Na^+ のフラックスが起ること、あるいは短絡してこの勾配をゼロに減少しても、フラックスが起ることは、能動輸送が存在するか否かを確かめる方法の一つである。すなわち、輸送膜、あるいは細胞の両側に同じ液を入れ、これを短絡するのに必要な電流を測定することで(膜の両側に発生した電位差をなくするように、外部から適当な電流を流すと、受動的に単純拡散するイオンの正味のフラックスはゼロになる);同時に、短絡電流に寄与しているフラックスを知るために、イオンのフラックスを測定する。このとき、もしあるイオンの正味のフラックスが検出されたとすれば、短絡法によって、すべてのイオンに対する電気化学勾配はゼロにしてあるから、それは能動輸送によるものではないかと考えられる¹⁶⁾。このフラックスが二つの水溶液の間で起る場合は、 Na^+ の能動輸送があると考えざるを得ない。

また、 Na^+ の能動的排出は酸化的代謝に関係しているということが、上記の*Sepia*の神経線維の実験などから示さ

れている。これによると、0.2mM DNPはNa⁺の外向きフラックスを約1/30に減少させる効果があり、1mM NaCNおよび3mM NaN₃も同じ効果がある。同時にK⁺の内向きフラックスも強く影響を受けたことが認められている¹⁷⁾。しかしこの結果とは対照的に、*Rana temporaria*の縫工筋に2mM CN⁻+5mMヨード酢酸を加えても、Na⁺の外向きフラックスの速度定数は緩慢に減少することも認められている¹⁸⁾。

これらの阻害物質は共同して、吸呼と解糖作用の両方におけるATPの生成を阻害すると思われる。おそらく筋肉中のATPの貯蔵量が、電気化学ポテンシャル勾配に逆ってNa⁺を排出するのに必要なエネルギーを供給するのに十分であったからであると考えられる。

さらに重要なことは、細胞のリン酸化作用がNa⁺排出と密接に関係していることが考えられる。*Loligo*の神経線維では、Na⁺の外向きフラックスに対するCN⁻阻害を、神経線維形質中に有機リン酸を注射すると一時的に回復させることができる。すなわち、神経線維形質中に約10~20mMの濃度で注射したとき、アルギニンリン酸が最も効果があり、ATPもほとんど同じ効果を示す。フォスフォエノールピルビン酸は効果が少なく、クレアチンリン酸は効果が示されない。ATPやアルギニンリン酸は、外液に加えても効果は示されないことが報告されている^{19), 20)}。これらのことから、ある種のイオン輸送と、細胞あるいは細胞膜で起こるリン酸化反応および、アデノシンリン酸の加水分解を含む反応との間に関係があることが考えられる。そして輸送ATP_{-ase}が存在するという事も考えられる。

このことについてはSkou²¹⁾の報告がある。それによると、末梢神経から特殊なATP_{-ase}が分離される。これがNa⁺+K⁺と連結した形の能動輸送に直接関係していることが種々な方法によって認められている。すなわち、このATP_{-ase}の活性は、Mg²⁺、K⁺およびNa⁺に依存していること、このATP_{-ase}は、高濃度のNa⁺が存在するとき、K⁺に対して高い親和性を示すこと、基質としてのATPの代わりに、ウリジン3リン酸、あるいはグアノシン3リン酸では活性化は起こらないこと、およびウアバイン(g-ストロファチン)のような強心配糖体は、ATP_{-ase}活性のうち、K⁺とNa⁺によって高まった部分を阻害すること、などである。ある場合にはATP_{-ase}活性(ATPの加水分解)の濃度依存性と、能動輸送の濃度依存性との間に量的な一致が認められている。ウアバインは、ほとんど同じ濃度のと

ころで、これら両機能のそれぞれを阻害している²²⁾。

一方、他の考えでは、Mitchell²³⁾によれば、ATP_{-ase}は膜構造の中に存在し、酸化還元反応鎖と共役している。また加水分解されるATP 1分子について、2個までプロトン運ぶことができる。この系が働く結果プロトンに対して非透過性の膜の両側にプロトン勾配が生じ、また同じく膜の両側に電位差が生じるといわれている。この考えで膜がプロトンに対して非透過性であるとするれば、膜の上に静電荷を生じさせることは考えられるとしても、プロトン勾配をどうして電位差と関連させるかについては、全く明らかでない。この膜が事実上イオンに対して幾分でも透過性をもっているとするれば、電位差は、

$$\psi^{\delta} - \psi^{\circ} = \psi_m = \frac{RT}{F} \ln \frac{u_K C_K^{\delta} + u_{Na} C_{Na}^{\delta}}{u_K C_K^{\circ} + u_{Na} C_{Na}^{\circ}} \dots \dots \dots (6)$$

の式で表わされるように、少なくとも膜が通すあらゆるイオン種の勾配の複雑な関数となることであろう。

植物組織では、酸性フォスファターゼに類似し、塩類によって活性化するATP_{-ase}が分離されている。この酵素はウアバイン感受性がなく、また他の理由もあわせて考えると、動物組織からどったK⁺、Na⁺によって活性化するATP_{-ase}とは異っていると思われる²⁴⁾。

次にミトコンドリア内のイオン平衡について考えてみると、まず、ミトコンドリア内には、Na⁺、K⁺、Fe²⁺、Ca²⁺、Mg²⁺、ATP、ADP、AMP、ピリジンヌクレオチド、無機リンなどの含量がほぼ一定に保持されている²⁵⁾。この一定量のイオンを保持するためには、ミトコンドリア膜にイオンを結合する基が存在していることと考える。また一方、能動的にイオンをミトコンドリア内に取り込むか、またはミトコンドリア膜のエネルギー状態に応じてイオンの結合能力が変化することであるが、このことは直接的証明がない。ミトコンドリアのK⁺含量は、0°Cで安定し呼吸基質のない条件下で23~37°Cで処理すれば極めて速やかにミトコンドリア外に排出する。ミトコンドリア内のK⁺と反応液中のK⁺の交換反応から、結合型と遊離型を分別すると、遊離型のそれは、ミトコンドリアを嫌氣的に25°Cで処理したり、呼吸基質を除くと、ミトコンドリアのエネルギー状態を低下させる時、ミトコンドリア外に放出される²⁶⁾。またK⁺もコハク酸酸化によって、ゆるやかな速度ではあるが、能動的にミトコンドリア内に取り込まれる²⁷⁾。したがってミトコンドリア内の一部のイオンは明らかにエネルギーに依存してミトコンドリア内に取り込まれ、ゆる

やかな受動的 out flux との間に平衡状態にある⁷⁾。

ミトコンドリアは一種の袋であるから、物理的に膜を破壊したり、膨潤させた場合は、ミトコンドリア内のイオン平衡は変化することは当然考えられることである。

上記のようにミトコンドリア内に大量に存在する K^+ は、ミトコンドリアのエネルギー状態によって変化し、ミトコンドリア内の K^+ 含量は能動的に一定レベルに保持されている。

エネルギーに依存した速度の高い K^+ や Na^+ の透過性に関しては、 K^+ 電極、 Na^+ 電極を使用して、 K^+ 、 Na^+ などの絶対値の変化を測定すると、ある程度のことは解決される²⁸⁾。たとえば、いままで ATP-ase 活性を促進し、脱共役物質と考えられていたある抗生物質（バリノマイシンなど）は、ミトコンドリアの一個イオンの透過性を特異的に促進し、その透過エネルギーとして、呼吸によって生じたエネルギーが消費されるため、脱共役のような反応を示すことが明らかにされている²⁹⁾。したがって特異的に透過亢進をもたらされるイオンの存在しない反応液中では、これら物質によって脱共役されないことが考えられる。

このほかにも、一個イオン透過の促進をするものには、EDTA、ヒストンおよびポリカチオンなどがある^{30),31)}。

これらの物質からミトコンドリアの一個イオン能動透過を促進することは、特定条件、すなわち、呼吸基質、無機リン、 K^+ などの存在下に抗生物質ノンナクチン (nonnactin) を添加すると、ミトコンドリアの呼吸は促進され、ミトコンドリア内へ K^+ は取り込まれ、 H^+ は排出される。そしてミトコンドリア内浸透圧の亢進に伴ってミトコンドリアは膨潤する³²⁾。もちろんこの K^+ の取り込みは、能動的で呼吸または ATP に依存し、呼吸依存性の取り込みは、呼吸阻害物質ならびに DNP タイプの脱共役物質で阻害され、ATP 依存性取り込みは、オリゴマイシンと脱共役物質で阻害される。そして、そのエネルギー依存は、 K^+ / ATP がほぼ 3~4 で³³⁾、 K^+ 濃度が 2.5mM の反応液中で 16 倍の濃度に K^+ を蓄積するのに 1.64Kcal/mol が要求される。このような K^+ の能動的取り込みは、超音波処理の酸化リン酸化能をもつ亜ミトコンドリア粒子においても認められている³⁴⁾。

なお、 K^+ の取り込みと平行して排出される H^+ との比は $K^+ / H^+ = 1$ であるが³⁵⁾、反応液中に無機リン酸や酢酸などの permeant anion があれば、 K^+ 、 H^+ のいずれの取り込みも増加し、呼吸開放がもたらされ、 K^+ / H^+ の比が増

加する³⁶⁾。

ミトコンドリア内のイオン蓄積に依る浸透圧の増加で膨潤する場合と、膨潤しない場合とがある³⁷⁾。たとえば、無機リン、As、酢酸、プロピオン酸、乳酸、ギ酸などはミトコンドリアを膨潤させ、 Cl^- 、 NO_3^- 、 SO_4^{2-} などはこの作用がない。このことは、これら陰イオンがミトコンドリア内に取り込まれるか否か、ということのほか、取り込まれたイオンがミトコンドリア膜に結合するか、または何かと結合し、塩を形成し、不溶性の沈殿を生じ、浸透圧に不活性となって、ミトコンドリアの膨潤はもたらされなくなるためではなからうかと考える³⁸⁾。

これに反して、ミトコンドリアの膨潤には収縮性タンパクや他の因子が関与するであろうと考える説もある³⁹⁾。

次にミトコンドリア内の Ca^{2+} の反応に伴う K^+ の関係を考える。

ミトコンドリア内には大量の Ca^{2+} が蓄積されているが、 Ca^{2+} の転位に伴って無機リンが取り込まれる以外に、 H^+ 、ADP、酢酸、呼吸基質などの転位反応が知られている。まず、permeant anion として、酢酸は無機リン同様にミトコンドリア内に入り、酢酸カルシウムとなるが、その溶解度は高く、浸透圧の増大を伴ってミトコンドリアは膨潤する。また、理由は明らかでないが、 Cl^- 、 Br^- 、 NO_2^- などはミトコンドリア内に入らず、TCA サイクルの呼吸基質は、 Ca^{2+} と共にミトコンドリア内に入る^{40),41)}。

Ca^{2+} の取り込みと H^+ の排出の間に一定の量的関係があり、permeant anion のない場合、 $H^+ / Ca^{2+} \approx 1$ となり、単なるイオン交換反応でないことが考えられる。この H^+ / Ca^{2+} 比は反応液の塩や pH によっても変化し、permeant anion の存在によって著しく低下する事実が認められている^{42),43)}。

ところが、 K^+ 濃度が 320mM で無機リンのない反応液中では $Ca^{2+} / H^+ \approx 5 \sim 10$ で、 Ca^{2+} / H^+ が非常に高い値を示すようになる。これは、 K^+ によって代謝に無関係な Ca^{2+} 結合部位が増加するためか、あるいは、一度取り込まれた Ca^{2+} の排出が外液中の K^+ によって防止されるためであろうと考えられる。このような Ca^{2+} の取り込みで H^+ が放出されれば、ミトコンドリア内の pH は必然的にアルカリ方向に傾むくことになる⁴⁴⁾。 Ca^{2+} を取り込んだミトコンドリアを界面活性物質で破壊すれば反応液はアルカリ化し、ミトコンドリア内で、ほぼ pH 1 unit のアルカリ化が起きていたことが測定されている⁴⁵⁾。このミトコンドリアのアルカリ化部位は、マトリックスであるか、ミトコンドリア内

膜であるかは明らかではないが、ミトコンドリア内膜のpHを測定した報告によると、 Ca^{2+} 取り込みの時の最も強いアルカリ化において、pH 1.6 unitの変化しか認められていない(46), (47)。

また、ミトコンドリア内の K^+ は Ca^{2+} 取り込みによって、わずかに排出するが、もし、反応液にバリノマイシンが存在し、 K^+ が能動的にミトコンドリア内に蓄積している場合は、たとえ呼吸阻害物質が Ca^{2+} と共に反応液に添加されても、 K^+ の放出を伴ってそれに見合うだけの Ca^{2+} の取り込みが起こることが認められている(48)。

以上は、細胞のイオンを動かす力、イオンの透過性、膜の選択性に関する諸問題ならびに細胞質およびミトコンドリアのイオンのあり方などについての考察を述べた。

細胞は、そこに生じた電気化学ポテンシャルの勾配を基礎に考えて、それから期待される方向とは反対の方向に、あるイオンを移動させるように働きかける機能的構成をもっている。細胞のなにかほかの機能によって生じるエネルギーが、そのために供給されるに違いない。現在では、能動輸送と代謝反応との関連についてはまだ、ばく然とした概念が形成されているにすぎないであろう。上記の Na^+ - K^+ -活性化ATP-aseは、それがイオンと阻害物質によって影響されるという点で、 K^+ の能動輸送と連結した Na^+ の能動輸送と、多くの共通点をもっている。したがって、この特殊な酵素とイオン輸送とは生体内で密接な関係があるように思われる。膜中のATP-aseの作用機作を考えると、まだ多くの詳細な点については未知である。

文 献

- 1) Onsager, L. : *Phys. Rev.* I, **37**, 405., *Phys. Rev.* II, **38**(2), 2265(1931).
- 2) Guggenheim, E. A. : *J. Phys. Chem.*, **33**, 842(1929).
- 3) Lund, E. J. & collaborators : *Bioelectric fields and growth*, University of Texas Press, Austin (1947).
- 4) Hodgkin, A. L. & Keynes, R. D. : *J. Physiol.*, **128**, 61 (1955b).
- 5) Goldman, D. E. : *J. gen. Physiol.* **27**, 37(1943).
- 6) Hodgkin, A. L. & Horowitz, P. : *J. Physiol.*, **148**, 127(1959a).
- 7) Funaki, Y. : *The Faculty Journal of Komazawa Women's Junior College.*, **8**, 9(1974).
- 8) Eisenman, G. : *Symposium on membrane transport and metabolism*, Academic Press, New York (1960).
- 9) Eisenman, G. : *Biophys. J.*, **2**(2,2), 259(1962).
- 10) Eisenman, G. : *Bulletin del Instituto de Estudios y Biologicos.(Mexico)* **XXI**(2), 155(1963).
- 11) Ling, G. N. : *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **152**(2), 401 (1965).
- 12) Ling, G. N. : *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **137**(2), 837 (1966).
- 13) Hodgkin, A. L. & Keynes, R. D. : *J. Physiol.*, **119**, 513 (1953).
- 14) Troshin, A. S. : *Biophysics.*, **5**, 104(1960).
- 15) Hope, A. B. : *Ion Transport and Membranes - A Biophysical Outline - Butterworth & Co. (Publishers) Ltd, London* (1971).
- 16) Ussing, H. H. & Zerahn, K. : *Acta. Physiol. scand.*, **23**, 111(1951).
- 17) Hodgkin, A. L. & Keynes, R. D. : *J. Physiol.*, **128**, 28 (1955a).
- 18) Frazier, H. S. & Keynes, R. D. : *J. Physiol.*, **148**, 362 (1959).
- 19) Caldwell, P. C., Hodgkin, A. L., Keynes, R. D. & Shaw, T. I. : *J. Physiol., London.* **152**, 561(1960a).
- 20) Caldwell, P. C., Hodgkin, A. L., Keynes, R. D. & Shaw, T. I. : *J. Physiol.*, **152**, 591(1960b).
- 21) Skou, L. C. : *Biochem. biophys. Acta.*, **23**, 394 (1957).
- 22) Skou, J. C. : *Physiol. Rev.*, **45**, 596(1965).
- 23) Mitchell, P. : *Biol. Rev.*, **41**, 445(1966).
- 24) Atkinson, M. R. & Poiya, G. : *Aust. J. biol. Sci.*, **20**, 1069(1967).
- 25) Gamble, J. L. Jr. : *Biol. Chem.*, **240**, 2668(1965).
- 26) Stanburg, S. W. & Mudge, G. H. : *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **82**, 675(1953).
- 27) Rottenberg, H. & Solomon, A. K. : *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **20**, 85(1965).
- 28) Pressman, B. C. : *Proc. N. A. S.* **53**, 1076(1965b).
- 29) Chappell, J. B. & Croft, A. R. : *Biochem. J.*, **95**, 393(1965b).
- 30) Settlemire, C. T., Hunter, G. R. & Brielry, G.

P.: *Biochem. Biophys. Acta.*, **162**, 487(1968).

31) Schwartz, A., Johnson, C. L. & Starbuck, W.: *J. Biol. Chem.*, **241**, 4505(1966).

32) Lardý, H. A., Grávn, R. N. & Estrada, O. S.: *Federation Proc.*, **26**, 1355(1967).

33) Róssi, C. S. & Azzone, G. F.: *Europ. J. Biochem.*, **107**, 418(1969).

34) Cockrell, R. S. & Racker, E.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **35**, 414(1969).

35) Moore, C. L. & Pressman, B. C.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **15**, 562(1964).

36) Chappell, J. B. & Croft, A. R.: *B. B. A. Library*, **7**, 292(1966).

37) Azzone, G. F. & Azzi, A.: *Prod. Ni A. Sa U. S.*, **53**, 1084(1965).

38) Croft, A. R. & Chappell, J. B.: *Biochem. J.*, **95**, 387(1965).

39) Harris, E. J., Cockrell, R. & Pressman, B. C.: *Biochemistry*, **5**, 2326(1966a).

40) Chance, B.: *J. Biol. Chem.*, **240**, 2729(1965).

41) Lehninger, A. L., Carafoli, E. & Rossi, C. S.: *Adv. Enzymol.*, **29**, 259(1968).

42) Greenawalt, J. W., Rossi, C. S. & Lehninger, A. L.: *J. Cell Biol.*, **23**, 21(1964).

43) Rasmussen, H., Chance, B. & Ogata, E.: *Proc. N. A. S.*, **53**, 1069(1965).

44) Lynn, W. S. & Brown, R. H.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **114**, 260(1966b).

45) Rossi, C. S., Bielawski, J. & Lehninger, A. L.: *J. Biol. Chem.*, **241**, 1919(1966).

46) Chance, B. & Mela, L.: *Nature*, **212**, 369(1966a).

47) Chance, B. & Mela, L.: *Nature*, **212**, 372(1966b).

48) Azzone, G. F. & Azzi, A.: *B. B. A. Library*, **7**, 332(1966).