

## 活動電位を発生する味細胞システム

著者	佐々木 直幸, 神原 武志
雑誌名	日本歯科大学紀要. 一般教育系
巻	23
ページ	23-32
発行年	1994-03-20
URL	<a href="http://doi.org/10.14983/00000417">http://doi.org/10.14983/00000417</a>



# 活動電位を発生する味細胞システム

## Generating System of Active Potential in Taste Receptor Cells

歯学部 佐々木 直 幸

電気通信大学電子物性工学科 神 原 武 志

Naoyuki SASAKI

The Nippon Dental University, Fujimi, Chiyoda-ku, Tokyo 102, JAPAN

Takeshi KAMBARA

Department of Applied Physics and Chemistry,

The University of Electro-Communications, Chofu, Tokyo 182, JAPAN

(1993年11月30日 受理)

### 1. 序 論

これまでの生体内での細胞内電位記録実験によって明らかになり、定説となっていたことは、味細胞の静止電位は比較的浅く ( $-30 \sim -50$  mV)、入力抵抗も低く (数十メガオーム)、電流電圧 ( $I-V$ ) 関係は直線的で、活動電位を発生しないということであった。

しかし、最近、マッドパピーやカエルの単離味細胞についてのパッチクランプ実験<sup>1-4</sup>において、これまで生体内の味細胞から記録された値に比べて、味細胞はもっと深い静止電位を持ち、脱分極性のパルス通電、また、HCl や NaCl などの化学刺激によっても、活動電位を発生することが明らかになった。この活動電位は電位依存性 Na チャンネルを抑制するテトロドトキシンによって阻害される。したがって、味細胞の活動電位の発生も神経細胞などと同じように Na イオンの流入による。活動電位の発生に続いて持続的な後電流が発生するが、これは K チャンネルを阻止する tetraethylammonium bromide (TEA) によって増強される。したがって、後電流の発生には外向き K 電流が関与していることが分かる。

しかし、この活動電位が味受容プロセスにおいてどのような役割を持っているのかについてはまだ分かっていない。それについていくつかの考えが出されている。

- (1) 味細胞において、味受容膜から基底膜のシナプス部位への刺激伝達の増幅をする
- (2) 急激で強い味刺激によって生じる受容膜電位変化のための速く強力なブースターとして働く
- (3) 受容膜脱分極の phasic response の原因となる
- (4) 味刺激応答プロセスにおける直接の関与はない

などである。

このように、活動電位の役割について明確なことは何も分かっていないので、その役割を明らかにする目的で、いくつかの電位依存性のイオンチャンネルと passive なイオンチャンネルが存在するモデル膜に、化学刺激を与えた場合の膜電位応答を計算機実験により求める。

このモデルを用いて、外部電流刺激、HCl, KCl, NaCl などの化学刺激によって、どのような条件下で活動電位が発生し、味細胞内の刺激伝達へどのような効果を持つのかについて報告する。

## 2. モデル

脊椎動物味蕾内の味細胞は、唾液や粘液によって覆われた舌表面に味孔を通じて露出している先端部膜 (apical membrane), または、受容膜 (receptive membrane) と基底側方膜 (basolateral membrane) とに、堅い細胞間接合部 (tight junction) によって隔てられている。したがって、舌表面の液が味蕾内に入ることは、あるいは味蕾内の液が表面に出ることに制限がある。その結果、種々の味刺激液は味細胞先端部膜のみに作用し、そこで発生した電位変化が何らかのメカニズムで基底側方膜に伝達され、基底側方膜すなわち細胞体膜の電位変化を起こすものと考えられる。

我々の味受容細胞モデルを図1に示す。apical 膜には、電位依存性の Na イオンチャンネルと K イオンチャンネル、saturation を伴う amiloride sensitive な Na イオンチャンネル、K と Cl のリークチャンネルが存在する。basolateral 膜には、電位依存性の Na イオンチャンネル、saturation を伴う c-AMP sensitive な K イオンチャンネル、そして、Na と Cl のリークチャンネルがある。tight junction には、Na と K と Cl のリークチャンネルを考える。図2はこのモデルの等価回路である。 $\phi_A$ ,  $\phi_B$ ,  $\phi_T$  は、それぞれ、apical, basolateral, tight junction 各膜の膜電位である。 $\phi_{\alpha}^X$  ( $\alpha = \text{Na, K, Cl}$ ;  $X = \text{A, B, T}$ )

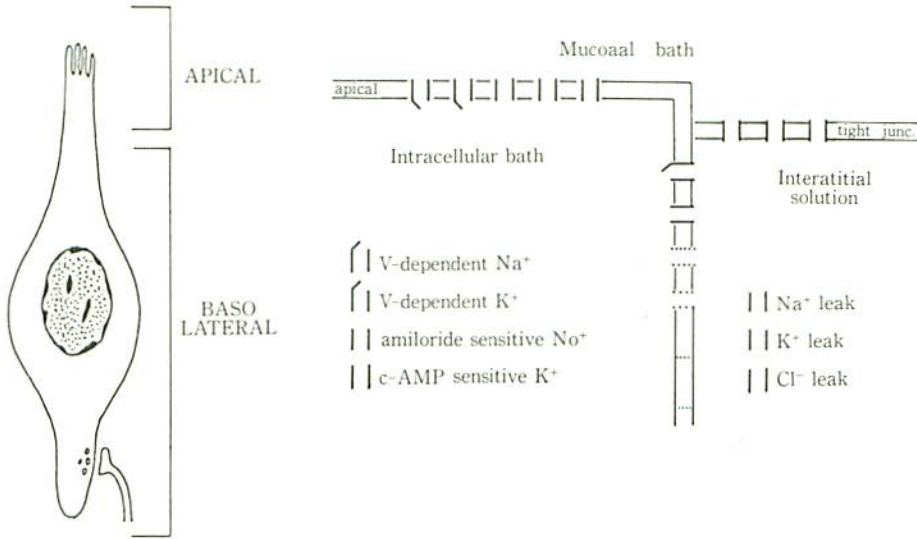


図 1 味受容細胞のモデル

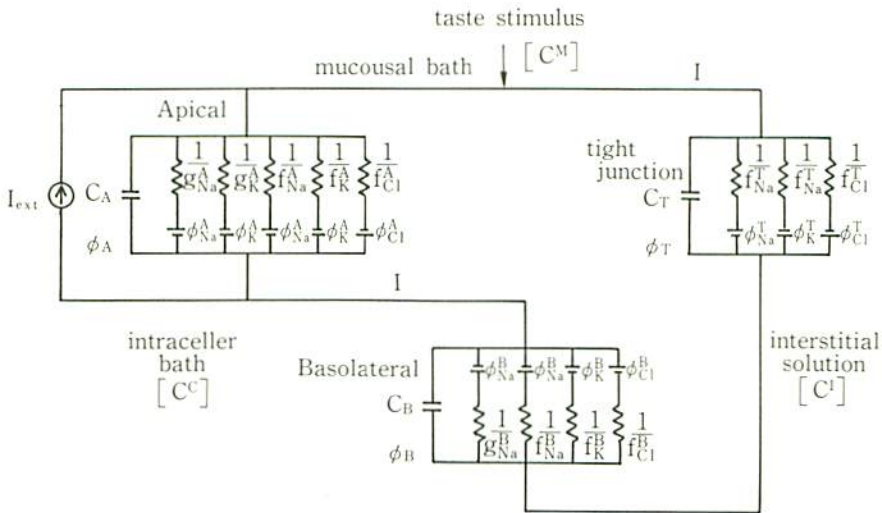


図 2 味受容細胞の等価回路

B, T) は各イオンチャンネルの平衡電位である。g<sub>a</sub><sup>x</sup> は active なイオンチャンネルのコンダクタンス, f<sub>a</sub><sup>x</sup> は passive なチャンネルのコンダクタンスである。C<sub>a</sub><sup>M</sup>, C<sub>a</sub><sup>C</sup>, C<sub>a</sub><sup>I</sup> は、それぞれ、α イオンの mucosal, intracellular, interstitial solution 内での濃度であ

る。また、 $I_{ext}$  は刺激電流である。saturation を伴う passive なイオンチャンネルは、two barrier-one site モデル<sup>5</sup> で表す。リークに対しては Goldman-Hodgkin-Katz (GHK) 近似で考える。このようなモデルのもとでの、図2の回路に対する時間発展方程式はつぎのように書ける。

$$\phi_T = \phi_A - \phi_B \quad (1)$$

$$I = I_{ext} + C_A \frac{d\phi_A}{dt} + g_{Na}^A (\phi_A - \phi_{Na}^A) + g_K^A (\phi_A - \phi_K^A) + f_{Na}^A (\phi_A - \phi_{Na}^A) + f_K^A (\phi_A - \phi_K^A) \quad (2)$$

$$-I = C_B \frac{d\phi_B}{dt} + g_{Na}^B (\phi_B - \phi_{Na}^B) + f_{Na}^B (\phi_B - \phi_{Na}^B) + f_K^B (\phi_B - \phi_K^B) + f_{Cl}^B (\phi_B - \phi_{Cl}^B) \quad (3)$$

$$-I = C_T \frac{d\phi_T}{dt} + f_{Na}^T (\phi_T - \phi_{Na}^T) + f_K^T (\phi_T - \phi_K^T) + f_{Cl}^T (\phi_T - \phi_{Cl}^T) \quad (4)$$

$C_A$ ,  $C_B$ ,  $C_T$  はそれぞれ, apical, basolateral, tight junction 各膜の静電容量である。各項の具体的な表式を以下に与える。

#### A apical 膜のイオンチャンネル

##### ① active Na, K イオンチャンネル

Hodgkin と Huxley が神経細胞において用いた表現を使う。

$$g_{Na}^A (\phi_A - \phi_{Na}^A) = \eta \sigma_{Na}^A g_{Na}^0 m_A^3 h_A (\phi_A - \phi_{Na}^A) \quad (5)$$

$$g_K^A (\phi_A - \phi_K^A) = \eta \sigma_K^A g_K^0 n_A^4 (\phi_A - \phi_K^A) \quad (6)$$

ここに、 $\sigma_{Na}^A$ ,  $\sigma_K^A$  は apical 膜にある active Na チャンネルと active K チャンネルの数、 $g_{Na}^0$ ,  $g_K^0$  は最大 Na コンダクタンスと最大 K コンダクタンスである。 $m_A$ ,  $h_A$ ,  $n_A$  は、apical 膜の Na イオンチャンネル開閉確率 (活性因子), Na イオンチャンネル開閉確率 (不活性因子), K イオンチャンネル開閉確率 (活性因子) である。 $\eta$  は温度に依存する因子で、経験的に

$$\eta = 3^{(T-279.5)/10} \quad (7)$$

と表すことができる<sup>5</sup>。

$m_A$ ,  $h_A$ ,  $n_A$  を決める方程式は

$$\frac{dm_A}{dt} = \alpha_m^A - (\alpha_m^A + \beta_m^A) m_A \quad (8)$$



$$\frac{dh_A}{dt} = \alpha_n^A - (\alpha_n^A + \beta_n^A) h_A \quad (9)$$

$$\frac{dn_A}{dt} = \alpha_n^A - (\alpha_n^A + \beta_n^A) n_A \quad (10)$$

$$\alpha_m^A = \frac{-0.1(\phi_A - \phi_R^A - 25)}{\exp\{(25 + \phi_R^A - \phi_A)/10\} - 1} \quad (11)$$

$$\beta_m^A = 4.0 \exp\left(-\frac{\phi_A - \phi_R^A}{18}\right) \quad (12)$$

$$\alpha_h^A = 0.07 \exp\left(-\frac{\phi_A - \phi_R^A}{20}\right) \quad (13)$$

$$\beta_n^A = \frac{1}{\exp\{(30 + \phi_R^A - \phi_A)/10\} + 1} \quad (14)$$

$$\alpha_n^A = \frac{-0.01(\phi_A - \phi_R^A - 10)}{\exp\{(25 + \phi_R^A - \phi_A)/10\} - 1} \quad (15)$$

$$\beta_n^A = 0.125 \exp\left(-\frac{\phi_A - \phi_R^A}{80}\right) \quad (16)$$

ここで、 $\alpha$ 、 $\beta$  は  $(\text{msec})^{-1}$  単位、 $\phi_A$ 、 $\phi_R^A$  は mV 単位である。また、 $\phi_R^A$  は apical 膜の静止電位である。

## ② passive Na イオンチャンネル

Amiloride sensitive Na channels は two barrier-one site モデル<sup>6</sup> で表す。

$$f_{Na^A}(\phi_A - \phi_{Na^A}) = \frac{FV_{Na^A}\{C_{Na^C} \exp(F\phi_A/2RT) - C_{Na^M} \exp(-F\phi_A/2RT)\}}{(C_{Na^C} + K_{Na^A}) \exp(F\phi_A/4RT) + (C_{Na^M} + K_{Na^A}) \exp(-F\phi_A/4RT)} \quad (17)$$

$V_{Na^A}$  は Na チャンネル数と Na イオンの dissociation rate constant の積、 $K_{Na^A}$  は Na チャンネルの結合サイトに対する平衡 dissociation constant、 $F$  はファラデー定数である。

## ③ passive K, Cl イオンチャンネル

Goldman-Hodgkin-Katz (GHK) 近似で表す。

$$f_X^A(\phi_A - \phi_X^A) = \frac{z_X \rho_X^A F^2}{RT} P_X^A \phi_A \frac{C_X^M - C_X^C \exp[z_X F \phi_A / RT]}{1 - \exp[z_X F \phi_A / RT]} \quad (18)$$

$X = K, Cl$ 。  $z_X$  は  $X$  イオンの電荷、 $\rho_X^A$  は apical 膜にある passive  $X$  イオンチャンネル

の数,  $P_X^A$  は X イオン passive チャンネルの permeability である。

### B bassolateral 膜のイオンチャンネル

#### ① active Na イオンチャンネル

Hodgkin と Huxley が神経細胞において用いた表現を使う。

$$g_{Na}^B (\phi_B - \phi_{Na}^B) = \eta \sigma_{Na}^B g_{Na}^0 m_B^3 h_B (\phi_B - \phi_{Na}^B) \quad (19)$$

$m_B$ ,  $h_B$  を決める方程式は

$$\frac{dm_B}{dt} = \alpha_m^B - (\alpha_m^B + \beta_m^B) m_B \quad (20)$$

$$\frac{dh_B}{dt} = \alpha_h^B - (\alpha_h^B + \beta_h^B) h_B \quad (21)$$

$$\alpha_m^B = \frac{-0.1(\phi_B - \phi_R^B - 25)}{\exp\{(25 + \phi_R^B - \phi_B)/10\} - 1} \quad (22)$$

$$\beta_m^B = 4.0 \exp\left(-\frac{\phi_B - \phi_R^B}{18}\right) \quad (23)$$

$$\alpha_h^B = 0.07 \exp\left(-\frac{\phi_B - \phi_R^B}{20}\right) \quad (24)$$

$$\beta_h^B = \frac{1}{\exp\{(30 + \phi_R^B - \phi_B)/10\} + 1} \quad (25)$$

#### ② passive K イオンチャンネル

Fidelman-Mierson と同様に two barrier-one site モデル<sup>6</sup> で表す。

$$f_K^B (\phi_B - \phi_K^B) = \frac{FV_{KB} \{C_K^c \exp(F\phi_B/2 RT) - C_K^i \exp(-F\phi_B/2 RT)\}}{(C_K^c + K_K^B) \exp(F\phi_B/4 RT) + (C_K^i + K_K^B) \exp(-F\phi_B/4 RT)} \quad (26)$$

#### ③ passive Na, Cl イオンチャンネル

Goldman-Hodgkin-Katz (GHK) 近似で表す。

$$f_X^B (\phi_B - \phi_X^B) = \frac{z_X \rho_X^B F^2}{RT} P_X^B \phi_B \frac{C_X^i - C_X^c \exp[z_X F \phi_B / RT]}{1 - \exp[z_X F \phi_B / RT]} \quad (27)$$

X = Na, Cl。  $\rho_X^B$  は bassolateral 膜にある passive X イオンチャンネルの数である。

## C tight junction のイオンチャンネル

## ① passive Na, K, Cl イオンチャンネル

Goldman-Hodgkin-Katz (GHK) 近似で表す。

$$f_x^T(\phi_T - \phi_x^T) = \frac{z_x \rho_x^T F^2}{RT} P_x^T \phi_T \frac{C_x^M - C_x^I \exp[z_x F \phi_T / RT]}{1 - \exp[z_x F \phi_T / RT]} \quad (28)$$

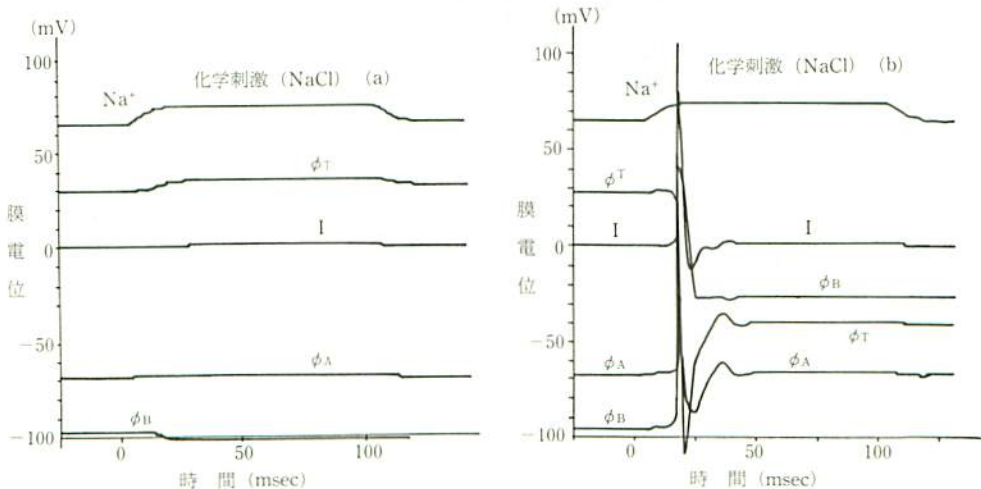
$X = \text{Na, K, Cl}$ 。  $\rho_x^T$  は tight junction 膜にある passive X イオンチャンネルの数である。

これらの方程式を解くことによって、電流、化学刺激に対する膜電位応答を調べる。

## 3. 計算結果および議論

電流刺激、あるいは、化学刺激に対する膜電位応答の計算結果は、味細胞膜上の電位依存性  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  イオンチャンネルの密度に大きく依存する。このチャンネル密度が神経細胞における値よりずっと小さい(約二十分の一以下の)場合には、刺激の大きさに関わらず活動電位を発生しない。この電位依存性イオンチャンネルの密度を次第に大きくしていくと、活動電位を1発、2発、……と発するようになる。図3(a)~(d)は、この模様を  $\text{NaCl}$  刺激(順応液濃度 150 mM, 刺激液濃度 500 mM) に対して示したものである。

図4は、 $\text{KCl}$  刺激に対する応答の計算結果である。Kinnamon 等<sup>3</sup>の実験結果と定性的に同じである。図5は、脱分極方向にパルス電流刺激を加えた場合の膜電位応答である。これも実験結果<sup>1</sup>と定性的に同じものである。図6は、過分極方向にパルス電流刺激を加えた場合の膜電位応答である。刺激印加と共に膜電位は過分極方向に変化し、電流オフのとき静止電位に戻らずに、オーバーシュートするという、栗原ら<sup>6</sup>の実験を再現している。





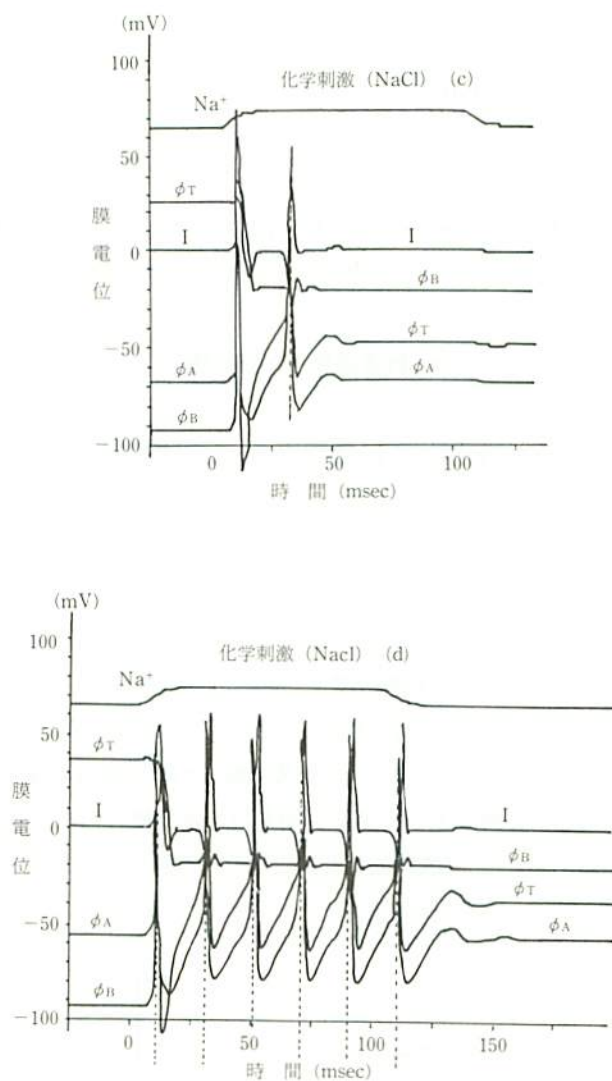


図3 NaCl刺激(順応液150 mM, 刺激液500 mM)に対する膜電位応答  
 (a)  $\rho = 1/20$  (b)  $\rho = 1/15$  (c)  $\rho = 1/12$  (d)  $\rho = 1/10$   
 $\rho$ は神経細胞と比べた味受容細胞の active ion channel 密度の比

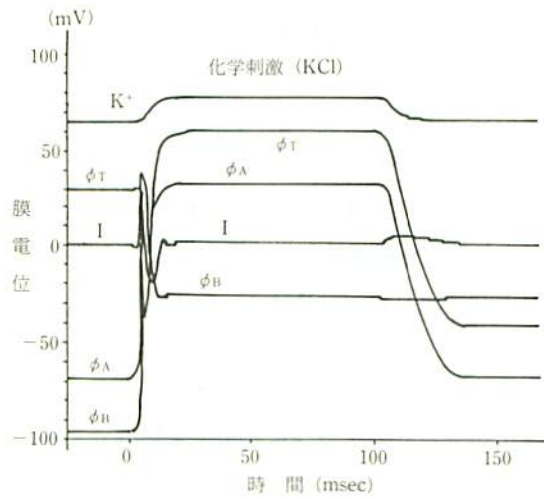


図 4 KCl 刺激 (順応液 2 mM, 刺激液 500 mM) に対する膜電位応答

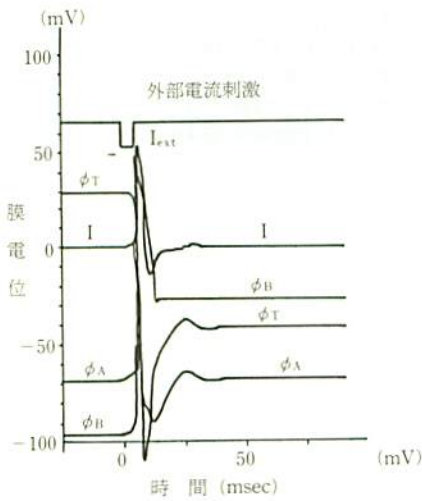


図 5 脱分極性外部電流刺激に対する膜電位応答

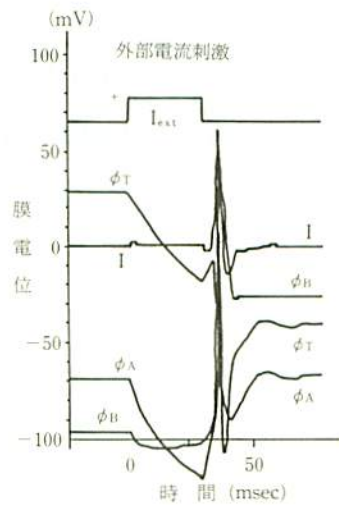


図 6 過分極性外部電流刺激に対する膜電位応答

#### 4. 結 論

(1) 電流刺激,あるいは,化学刺激に対する膜電位応答は,電位依存性イオンチャンネルの密度に大きく依存する。この密度が神経細胞における値の十数分の一以下の場合には,刺激の大きさに関わらず活動電位を発生しない。電位依存性のイオンチャンネルの密度が大きくなるにつれて,発生する活動電位の数が増大する。

(2) 活動電位が膜電位脱分極の phasic response の原因では,という説もあるが,ここで現れる活動電位は 10 msec のオーダーであるのに対し, phasic response は 100 msec のオーダーである。しかし,今回は間に合わずに考慮しなかったが, Ca イオンチャンネルを考えれば,活動電位がもっと幅を持つことが十分期待できる。Ca イオンチャンネルのチャンネル開閉の時定数は Na や K に比べて, 1桁大きいからである。

また,細胞間相互作用を考えれば活動電位の幅が大きくなることも考えられる。

#### 参考文献

- 1) S.C. Kinnamon and S.D. Roper, *J. Physiol.* **383**, 601/614 (1987).
- 2) S.C. Kinnamon and S.D. Roper, *J. Gen. Physiol.* **91**, 351/371 (1988).
- 3) S.C. Kinnamon and S.D. Roper, *Chemical Senses.* **13**, 115/121 (1988).
- 4) P. Avent and B. Lindemann, *J. Membr. Biol.* **977**, 222/240 (1987).
- 5) M.L. Fidelman and S. Mierson, *Am. J. Physiol.* **257**, G475/G487 (1989).
- 6) M. Kashiwayanagi, M. Miyake and K. Kurihara, *Am. J. Physiol.* **244**, C82/C88 (1983).