

質疑応答

Microelectrode 法と Suction Electrode 法の長所と短所について

宗 像 一 雄* 後 藤 正 道*
井 野 威* 新 博 次*

神経、心筋細胞等の興奮性細胞 (excitable cell) は、細胞内外の電解質の出入により電氣的現象、活動電位(Action Potential, 以下 AP) を起こす。心臓において、AP は一方では興奮伝導という立場からまた他方では興奮収縮関連という立場から研究の対象となってきたが、これを記録するためにいろいろな方法が考案されてきている。現在の手法の中で最も正確に電気現象を記録する方法は、Glass Microelectrode 法(以下 GME 法)である。しかし GME 法が考案される以前より、心筋の電気現象の研究は心筋細胞を障害させその部位に電極を当てる方法によってなされてきた。Suction Electrode 法(以下 SE 法)は、この方法の一つである。GME 法および SE 法により記録される AP は、それぞれの原理が異なるため、類似点も多いが相異点もあり、研究対象や研究目的により何れの方法が適しているか考慮する必要がある。

1) Glass Microelectrode 法

GME 法については、ガラス電極の作製方法はじめ必要な器具等も成書に記載されておりほぼ確立している。概略は、GME 法とはガラス管を引き延ばすことにより作成した微小ガラス電極を目的とする細胞内に細胞膜を破り挿入し、その活動電位を記録する方法で、電極挿入による細胞の障害はほとんどなく電流のリークが無視できるほど僅かで細胞外電位に対する細胞内電位の絶対的変化を研究することが出来る。

2) Suction Electrode 法

SE 法では、SE そのものについて一定の規格

がなく各研究者が独自の電極を作成・使用している。我々が使用している SE は、KUO ら¹⁾ のオリジナルに改良を加えたもので、概要以下の如くである(図-1 参照)。内径 3 mm のシリコンチューブの先端を曲げ CUP (内径 3-5 mm) 状とし、心表面に容易に吸着し安定する様に工夫されている。この L 状のシリコンチューブに直径 0.18 mm のステンレス線コイル(コイルの外径がシリコンチューブの内径とほぼ同じ)を通し、先端を延ばし CUP のほぼ中央に位置するようにし、ステンレスワイヤーの先端を CUP より僅かに外に出るようにする。また CUP の外側に木綿糸を巻き付け、常時生理的食塩水にて湿るようにし、これに一方の電極を固定し不感電極とする。SE が安定して心表面に吸着しかつ安定した AP が記録される吸引圧は 55-60 mmHg であった。

SE の形は種々のものがあるが、原理は同じで、吸引部に一個の電極があり、吸引部の外側に不感電極がある。吸引部の心筋細胞は吸引により破壊されて、電位は不完全脱分極し一定の値になっており、興奮性も消失している。この吸引により傷害された細胞に電極を当てると傷害細胞の近傍の心筋の AP を記録することが出来る。これが SE 法によって記録される電気現象である。

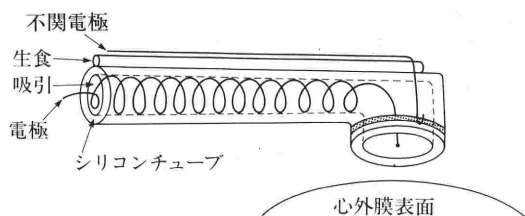


図-1 我々が使用している suction electrode

*日本医科大学第一内科

20分間 Hypoxia 液灌流および40分間 Normoxia 液再灌流による変化の1例

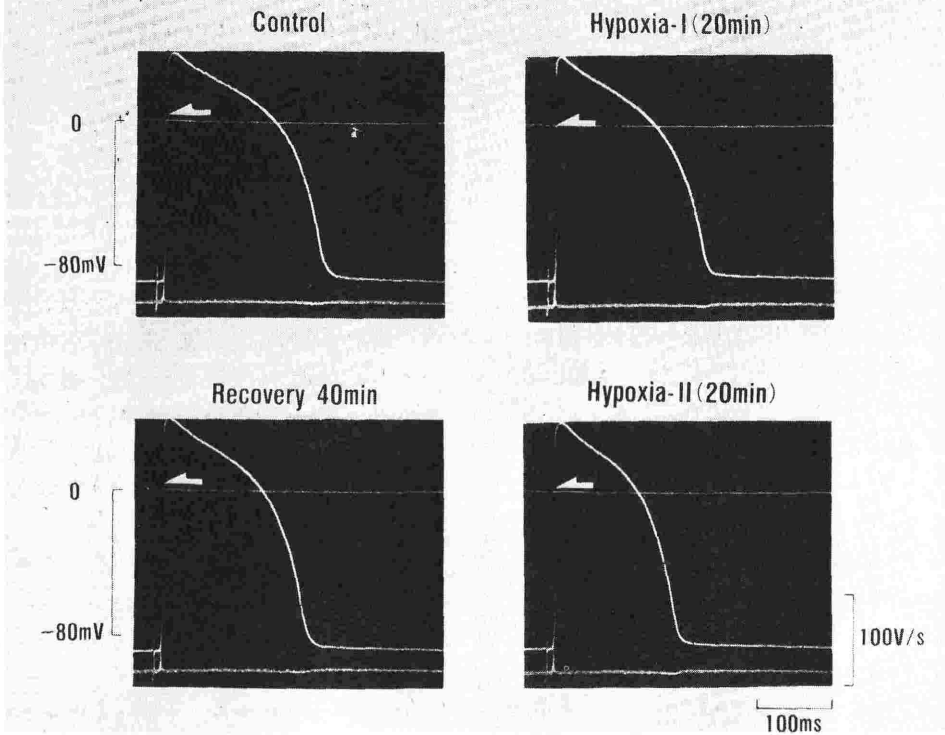


図-2 Glass microelectrode 法による action potential の記録 (日本医科大学第一内科 松尾省吾博士提供)

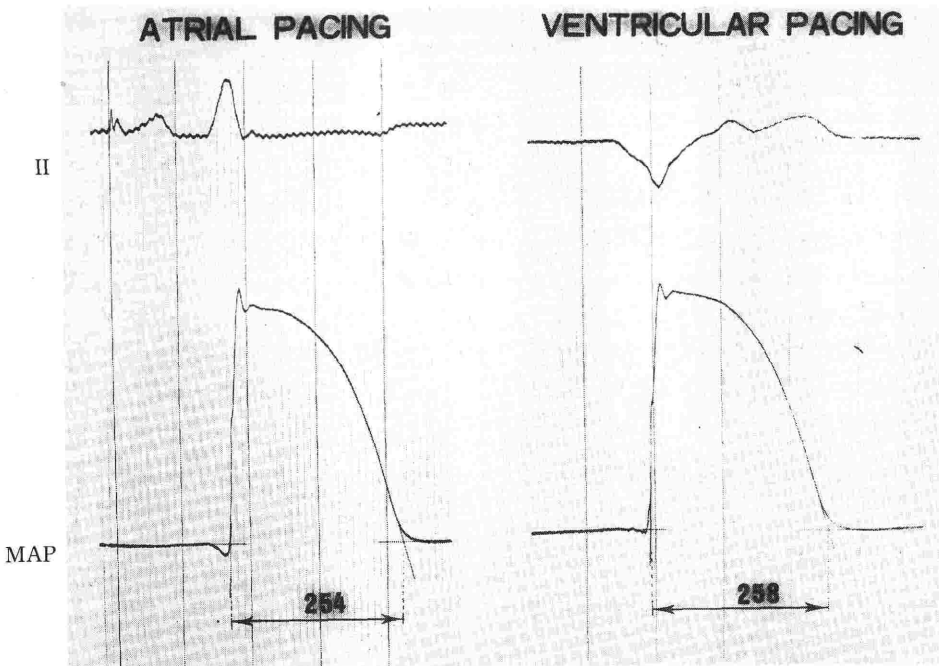


図-3 Suction electrode 法による monophasic action potential の記録

3) Glass Microelectrode 法と Suction Electrode 法の長所と短所

両者の方法について、利用できる研究対象、得られる AP の違いについて比較すると以下の如くである。

イ) 研究対象

GME 法では研究対象としては、乳頭筋やプルキニエ繊維などの摘出標本がおもで、大きさも 1-2 mm 位で、収縮も微弱かほとんど認められないぐらいでないと安定した AP が記録出来ない。

一方 SE 法では少なくとも吸引部よりも大きいものが対象となり、例えば心臓全体を対象とするような場合や収縮が著明でガラス電極のような微細なものを一定の位置に保持することが困難な場合である。

ロ) AP の違いについて

GME 法では、ガラス電極が挿入されている一つの細胞の電気現象をほぼ完全に記録出来ると考えられる。図-2 に摘出モルモット乳頭筋より GME 法により記録した AP を示すが、活動電位の各種パラメータを正確に測定することが可能

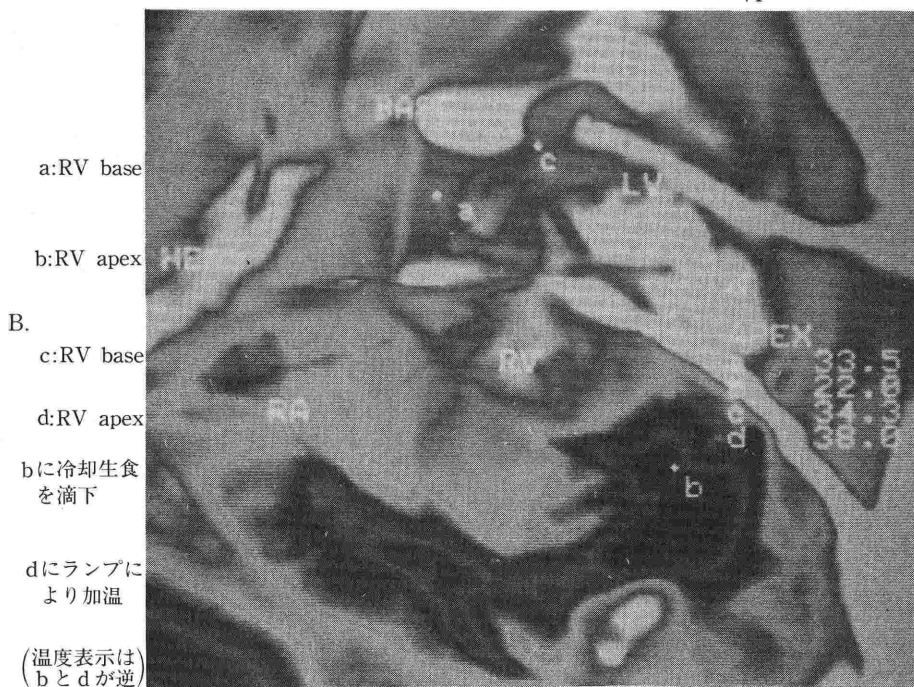
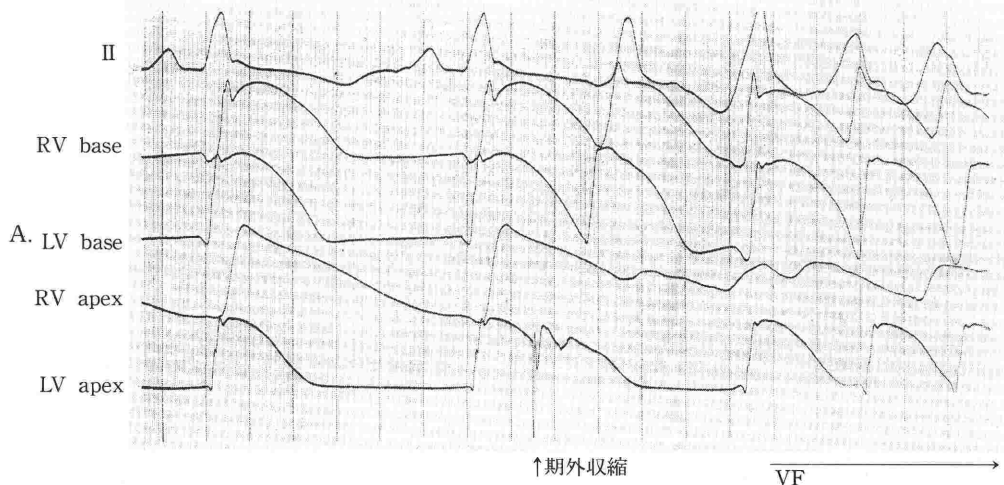


図-4 Suction electrode 法による実験の一つ

である。一方 SE 法で記録されるものは吸引部の障害心筋の近傍の心筋細胞の AP の合成されたものと考えられ、また電流のリークがかなり大であるとされる。Hoffman²⁾らは GME 法による AP と SE 法による AP を同時記録し、両者の類似点と相違点につき詳細に検討した。

SE 法の AP の振幅 (Action Potential Amplitude, APA) は、MGE 法の APA に比し、20-70%に減少する (例えば、犬で GME 法では 110 mV, SE 法で 75 mV; 猫で GME 法では 112 mV で、SE 法で 23.5 mV)。この様な電位の減少は AP の 0 mV より陰性の電位において著明であり、陽性の電位においては減少率は少なく、AP のオーバーシュートの APA に対する比率が SE 法では増大する。一方 AP の波形は、SE 法で得られるものと GME 法で得られるものとは概ね類似している。特にいわゆる第 2・3 相の再分極過程はほぼ同じである。図-3 に SE 法により犬の心外膜表面より記録した AP を示すが、図-2 に示した GME 法によるものと類似している。また心房ペーシングでも心室ペーシングでも安定している。しかし SE 法での AP の 0 相の立上がりは緩徐に記録され立上がり速度 (\dot{V}_{max})

は減少する。

以上のことは、SE 法は AP の種々のパラメータのうち持続時間 (APD) の研究には有用であるが、それ以外の研究には一定の限界があることを示唆する。図-4 に心臓の表面を局所的に冷却かつ他の部分で加温することにより APD の不均一性を生じせしめ、それと心室性不整脈発生との関係を検討した我々の実験の一部を示すが、上側 (A) は 4 個の AP の同時記録を、下側 (B) はそのときの心臓表面のサーモグラフィーを示す。高温の部位の APD が短く、低温度の部位では長いことがわかり、この様な APD の不均一性が存在するとき心室性期外収縮を入れると容易に心室細動を誘発することが出来た。

文 献

- 1) Kuo, C. S., Munakata, K., Reddy, C. P. and Surawicz, B.: Characteristics and Possible Mechanism of Ventricular Arrhythmia Dependent on the Dispersion of Action Potential Durations. *Circulation* 67(6):1356-1367, 1983
- 2) Hoffman, B. F., Cranfield, P. F., Lepeschkin, E., Surawicz, B. and Herrlich, H. C.: Comparison of cardiac monophasic action potentials recorded by intracellular and suction electrodes. *Am. J. Physiol.* 196(6):1297-1301. 1959