

## 質疑応答

# 微小電極法と吸引電極法の違いについて

解答：来馬明規\* 平山悦之\* 井野 威\*  
新 博次\* 宗像一雄\*

### 1. はじめに

心臓電気生理学の研究には心筋細胞の膜電位を記録する装置が不可欠である。しかし細胞膜を出入りするイオン電流を記録し得なかった時代には主に吸引電極 suction electrode を用いて障害電流を記録し活動電位を推定するにとどまっていた。

1940年代のガラス微小電極法 glass microelectrode の開発によって、活動電位 action potential が直接記録できるようになり、心筋細胞の電気的現象の解明に多くの知見をもたらした。しかし吸引電極法は微小電極法に完全に取って代えられた訳ではなく、研究目的や対象によっては微小電極法より吸引電極法が適している場合もあり、現在でも多くの研究に使用されている。本稿ではそれぞれの原理、方法および特徴について述べる。

### 2. 原 理

微小電極法：電解質液を満たした微小なガラス管を細胞内に刺入し細胞内外の電位差を記録する方法である。細胞の電気現象を直接とらえることが可能で、電極挿入による細胞の障害はほとんどなく、電流のリークは無視できる範囲であるとされている。

吸引電極法：心内膜または心外膜表面の一部に陰圧を加えて細胞を傷害し、その近傍の2点間の電位を計測すると単一細胞の活動電位波形に類似した電位を記録することができる。これは単相活動電位 monophasic action potential (MAP) と呼ばれ、障害部位近傍の心筋細胞の活動電位の総和と考えられている。MAP の電位持続時間は微小

電極法で求められる活動電位の持続時間ときわめて近似している。

### 3. 作 成 法

微小電極法：外径約 1-2 mm のガラス管をヒーターで加熱しながら先端を数  $\mu\text{m}$  となるまで引き伸ばしさらに先端をヒーターで整形する。こうして得られた微小ガラスピペットの中に電解質液（通常 3 M 塩化カリウム）を注入、さらに銀塩化銀電極を挿入し関電極としたものが微小電極である。これを切り出し標本や単離した心筋細胞に、肉眼または顕微鏡下にマニピュレーターを用いて挿入し、電位を記録する。

吸引電極法：一定の規格はなく各研究者が独自の電極を工夫して使用しているのが現状である。我々が使用しているものは Kuo ら<sup>1)</sup>の電極に改良を加えたもので、主に麻酔下で開胸したイヌの心外膜表面に装着して使用している（図1）。

概説すると、内径 3 mm のシリコンチューブの先端を90度曲げてカップ状とし、外径約 3 mm、直径 0.18 mm のステンレス製コイルを中に通す。コイルの先端をほどいてカップの中央におき、僅かに外にできるようにしこれを関電極とする。次に不関電極のリードをカップ上方におき、カップに巻き付けた木綿糸と電氣的に交通するよう生理食塩水をビニールチューブで送り込む。さらにシリコンチューブの近位端に吸引器を接続し、55-60 mmHg で吸引しつつ心外膜表面に設置する<sup>2)</sup>。

### 4. 長所と短所（表）

微小電極法は細胞内の電位を直接記録し得ることが最大の利点であり活動電位の各種パラメーターを正確に測定することが可能である。しかし

\*日本医科大学第一内科

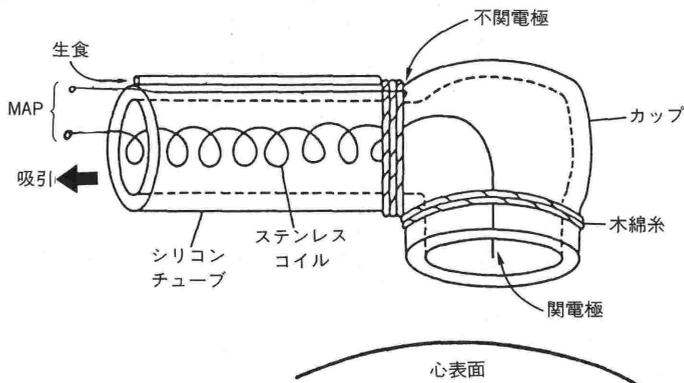


図1 我々が用いている吸引電極の模式図 (文献8より改変)

表 ガラス微小電極法と吸引電極法の比較

	ガラス微小電極法	吸引電極法
対象	摘出した組織片または単離心筋細胞に限られる	広い 摘出した組織片または拍動心でも可能
記録の安定性	拍動の強い細胞では電極が安定しない	拍動心でも安定して記録が得られる。
得られる電位	細胞内の電気現象を直接証明することができる	細胞内電気現象の間接的な観察にすぎない
得られるパラメーター	活動電位の立ち上がり持続時間, 再分極過程など詳細なデータが得られる	電位持続時間などに限られる 誘発活動の記録も試みられている
同時多重記録	困難	複数の電極から同時記録が可能 空間的变化の検討により
長時間記録	困難 電極のはずれ, 電極内の電解質液と細胞内液が混合	装着部の血腫形成により修飾されるが比較的安定
電極の先端径	1-2 μm	約 1-3 mm
電極の耐久性	脆弱で拍動心には適用困難	再使用可能
誘導法	単極誘導 不関電極は細胞外	双極誘導

電極が脆弱であるため心室乳頭筋やプルキンエ線維などの摘出標本に限られ、拍動心に挿入することは困難である。安定した記録を得るためにはある程度の大きさ (1-2 mm) があり収縮の微弱な細胞を選ばねばならない。記録のための装置は標準化されており市販品を購入することができるが、良い電極を作成し安定した記録を得るには熟練を要する。

吸引電極法は摘出標本でも拍動心でも記録可能で、より生理的な条件で実施し得る。電極も耐久性があり吸引力によって安定して付着しているた

め長時間、複数の部位から記録することができる。電極は自作しなくてはならないが、汎用の増幅器、記録器で十分である。

一方記録された MAP は細胞内の電気的現象の間接的な観察にすぎず、その解釈に当たっては注意が必要である。

Hoffman ら<sup>3)</sup> は摘出したネコ右室乳頭筋、および灌流したウサギ心筋の MAP と細胞内電位を同時記録して比較検討し、吸引電極法では微小電極法で記録される活動電位に比べ立ち上がり速度が遅く、電位の高さ、overshoot が異なるがスロー

プや電位持続時間は類似していたと述べている。また Surawicz ら<sup>4)</sup> はカリウム、カルシウムの減少が MAP に及ぼす影響を検討し、活動電位と同様の变化を示したとしている。

新ら<sup>2)</sup> は MAP 持続時間のペーシング周期依存性の変化ならびに温度依存性の変化を拍動心につき検討したが、微小電極法により記録される活動電位と同様の態度を示したという。

以上より吸引電極法によって記録される MAP は、間接的で活動電位のすべてを充分には反映しないものの心筋細胞の再分極過程は比較的良好に反映していると考えられる。

5. 電極と記録の工夫

微小電極法：電極作成技術の向上にともない色々な電極が作成され実験に用いられている（図2）。たとえば①電極内にイオン選択性物質を充填して単一のイオン電流を測定する方法<sup>5)</sup> ②電極内の電解質液を灌流し電極内液を置換する方法等である<sup>6)</sup>。また③パッチクランプ法はイオンチャンネルを通過するイオンの動態を詳細に観察することを可能にした<sup>7)</sup>。

吸引電極法：我々は拍動心に対して複数の場所から MAP 持続時間を記録できる長所を利用し図

3のようなモデルで実験を行っている。すなわち①冷生食を心表面に滴下して温度差をつくる<sup>8)</sup> ②カテーテルを心内に挿入して心外膜側と心内膜側の MAP を同時に記録③冠動脈を結紮して虚血状態となった部分と非虚血部との比較④冠動脈にカニューレションして薬液を注入し灌流部と非灌流部を比較、などを行っている。

6. 臨床応用

微小電極法：切りだした組織や単一細胞を対象としており、拍動心には適さないため臨床での応用は困難である。但し手術で摘出したヒト心筋の標本から活動電位を記録した成績はいくつか報告されている<sup>9)</sup>。

吸引電極法：拍動心に対して実施できるため以前から臨床応用がなされている。しかし吸引によって装着部に血腫が発生するため、現在ほとんど実施されていない。近年カテーテル電極を強く押しつけることで吸引法と同様に安定して MAP が記録できるようになり<sup>10)</sup>、臨床でも電気生理学検査の際に盛んに記録がなされている。Ino ら<sup>11)</sup> は微小電極法によって得られた細胞内電位と押しつけ法によって得られた MAP を同時記録し、吸引電極法の MAP と同様よい相関性を証明している。

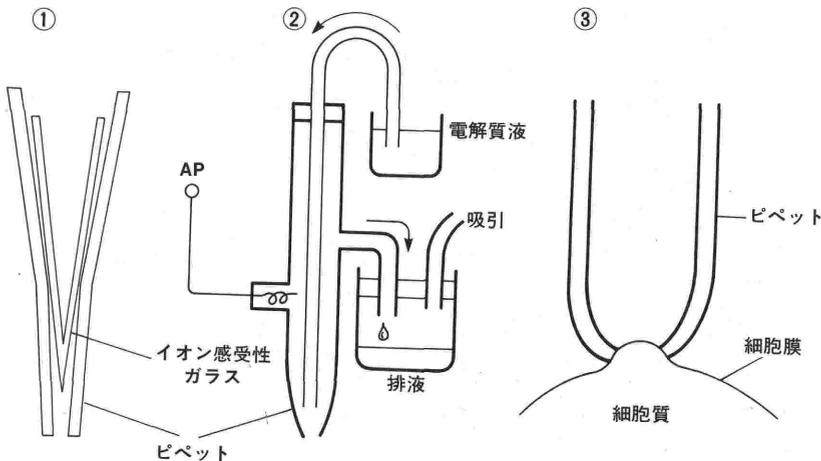


図2 微小電極の工夫（文献5、6より改変）

- ①イオン選択性微小電極法：微小ピペットにさらにイオン選択性のガラスを入れ子にし単一イオン電流を選択的に記録できる。
- ②電極内灌流法：微小ピペット内の電解質液を灌流、置換することにより電極の特性を連続的に変化させることができる（AP：関電極）。
- ③パッチクランプ法：電極に細胞膜を吸着させることにより、単一イオンチャンネルの研究が可能となった。

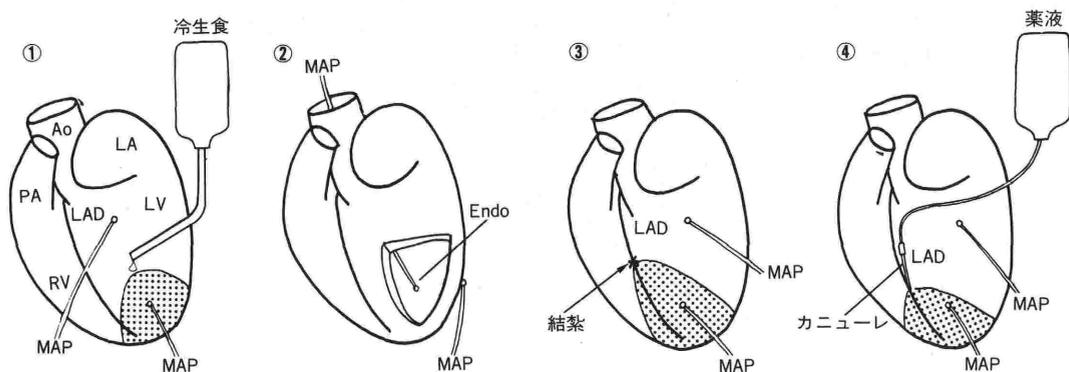


図3 吸引電極による研究方法

- ①冷生食を心表面に滴下し部分的に心筋を冷却すると心室の不応期が不均一となり、リエントリー性不整脈が発生し易くなる。
- ②心内膜および心外膜からの同時記録：心室筋の電気生理学的特性は内膜側、外膜側で異なることが知られており、これらの差異の検討に有用である。
- ③冠動脈の結紮：前下行枝を結紮し虚血部位と健常部位で電位を比較できる。
- ④冠動脈内投与：冠動脈内にカニキュレを挿入し薬物を灌流させる。非灌流域と比較することにより薬物の作用を検討することができる。

Ao：大動脈，LA：左房，LV：左室，RV：右室，PA：肺動脈，LAD：前下行枝，MAP：吸引電極，Endo：心内膜。

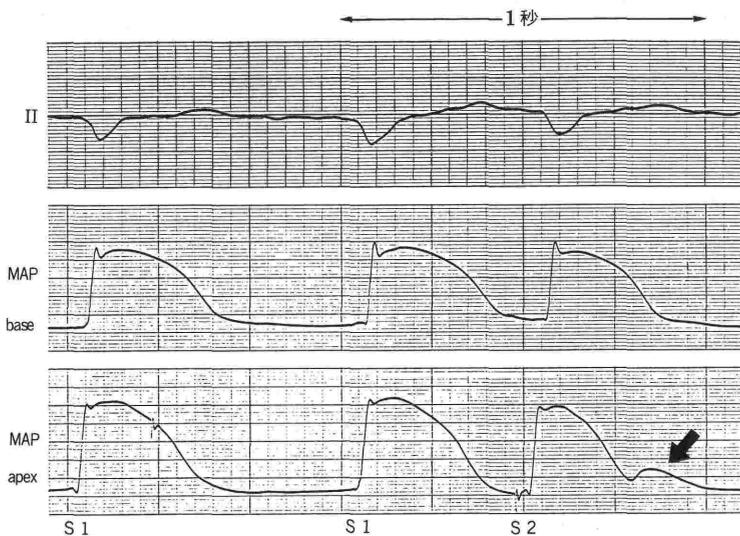


図4 吸引電極による誘発活動の記録

麻酔下に開胸したイヌの心外膜から単相活動電位 (MAP) を記録し塩化セシウムを静注，心室期外刺激 (S<sub>2</sub>) を加えたところ，心尖部より記録した MAP の終末に誘発活動と思われる電位が発生した (矢印)。

II：第II誘導，MAPbase：左室心基部，MAPapex：左室心尖部。

近年不整脈発生機序の一つとして誘発活動 triggered activity が注目されているが，MAP は誘発活動の観察にも有用であることが示されている (図4)。Levine<sup>12)</sup> らはバリウムやアセチルスト

ロファンチジンで誘発された早期及び後期脱分極を微小電極法と押しつけ法で同時記録し，MAPでも誘発活動が記録し得ることを示した。Xie<sup>13)</sup> らも同様の結果を示し，MAPの振幅が15mV

以上であることが必要であると述べている。

## 文 献

- 1) Kuo, C. S., Munakata, K., Reddy, C. P. et al.: Characteristics and possible mechanism of ventricular arrhythmia dependent on the dispersion of action potential durations. *Circulation* 67: 1356-1367, 1983.
- 2) 新 博次, 後藤正道, 平山悦之ら: 吸引電極を用いた单相活動電位の検討: ペーシング周期依存性の変化について. *心臓ペーシング* 3: 291-297, 1987.
- 3) Hoffman, B. F., Cranefield, P. F., Lepeschkin, E. et al.: Comparison of cardiac monophasic action potentials recorded by intracellular and suction electrodes. *Am. J. Physiol.* 196:1297-1301, 1959.
- 4) Surawicz, B., Lepeschkin, E., Herrlich, H. C., et al.: Effect of potassium and calcium deficiency on the monophasic action potential, electrocardiogram and contractility of isolated rabbit hearts. *Am. J. Physiol.* 196:1302-1307, 1959.
- 5) 佛淵信夫, 矢野敏之, 西 勝英: 心筋細胞内イオン動態と心作動物質: イオン選択性微小電極法による測定. *蛋白質核酸酵素* 35: 1909-1916, 1990.
- 6) 小原正裕, 亀山正樹, 野間昭典ら: Giga-seal 吸引電極の製作と単一心筋細胞への応用. *日本生理誌* 45: 629-639, 1983.
- 7) 野間昭典: 心筋のパッチクランプ. *実験医学* 7: 719-723, 1989.
- 8) 後藤正道: 吸引電極法による心室細動発生における Dispersion の関与についての実験的研究: 心表面温度差モデルによる. *日医大誌* 56: 349-360, 1989.
- 9) Chen, S. A., Chang, M. S., Chiang, B. N., et al.: Electromechanical effects of angiotensin in human atrial tissues. *J. Moll. Cell. Cardiol.* 23: 483-493, 1991.
- 10) Franz, M. R.: Long-term recording of monophasic action potentials from human endocardium. *Am. J. Cardiol.* 51:1629-1634, 1983.
- 11) Ino, T., Karagueuzian, H. S., Hong, K., et al.: Relation of monophasic action potential recorded with contact electrode to underlying transmembrane action potential properties in isolated cardiac tissues: a systematic microelectrode validation study. *Cardiovasc. Res.* 22:255-264, 1988.
- 12) Levine, J. H., Spear, J. F., Guarnieri, T., et al.: Cesium chloride-induced long QT syndrome: demonstration of afterdepolarizations and triggered activity in vivo. *Circulation* 72:1092-1103, 1985.
- 13) Xie, J., Xie, L.: Can the MAP technique be applied to study triggered activities of the heart? Intracellular evidence in vivo. *Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol.* 12:419-424, 1990.