

交感神経活動の測定法について (第1回)

小山省三*

〈第1回内容〉

1. はじめに
2. 交感神経活動測定の基本事項
3. 測定方法に関する環境設定
 - a) 雑音の除去
 - b) 機材の組合せ

1. はじめに

生体の各臓器の血流量の調節やそれぞれの臓器のもっている特殊な機能は、自律神経系ならびに内分泌系のホルモンによって調節され、生体全体としての正常な恒常性が維持(ホメオスターシス)されていることはよく知られている。このような心血管反応などのさまざまな機能に対する自律神経系の影響を検討する際には、古くから神経切除実験でその神経の役割を検討する方法やまた血管抵抗などの指標を利用して自律神経系の役割を間接的に検討する方法、さらには血液中のカテコラミン(特にノルエピネフリン濃度)を測定することによって交感神経活動は間接的に評価されてきている。しかし末梢静脈からの採血による全身の血中ノルエピネフリンの濃度から各臓器の交感神経活動について検討をすることはさまざまな問題点を含んでいる。

本講座で論述する自律神経活動の測定法は神経線維束からの電気活動を直接測定することであり、情報伝達系の情報量とすれば電気放電そのものが一番正確に評価できるものである。また生体の各臓器を支配している交感神経活動を同時にさらに非観血的に測定評価することはヒトではほとんど不可能である。このために動物実験で交感神

経活動を検討することは、生体の巧妙なる適応現象ならびに病態反応を知ることであり、より正確なヒトでの病態解析を行い治療方針を立て、より快適な生活状況を創り出すための理論的根拠を与えるものである。

2. 交感神経活動測定の基本事項

交感神経系は脊髄の中間外側核より前角を通過して脊髄神経節でシナプスを形成する節前線維(preganglionic fiber)と、神経節からそれぞれの効果器に分布する節後線維(postganglionic fiber)

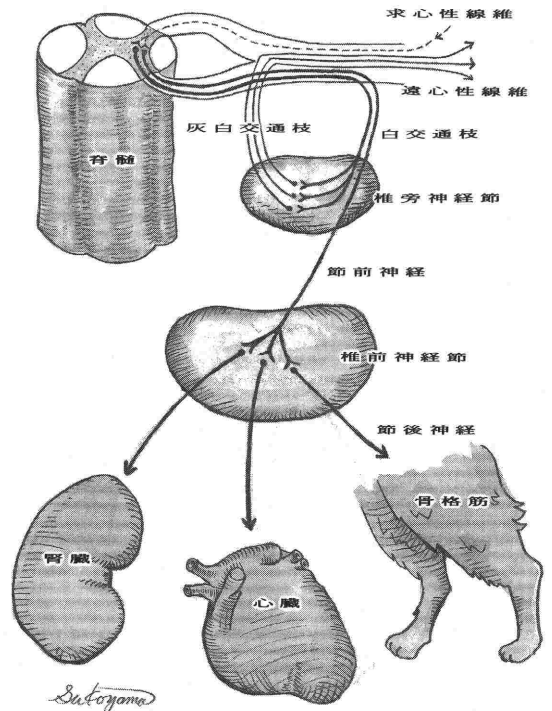


図1 交感神経節前線維と節後線維の概観模式図

*信州大学医学部第2生理学教室

から構成されている。節前線維は脊髄の中間外側核や中間内側核に細胞体を持っており、その線維は白交連枝を通り交感神経節に達している (図1)。節前神経は有髄であり 3~6 μm の直径をもった線維が多く、3 μm 以下の直径を持つ神経線維は少ない。またこれらの節前線維は大半がコリン作動性線維である。節後線維は交感神経節より起始し、無髄神経である上に直径 1.5 μm 以下と非常に細い線維群である。またこの節後交感神経はアドレナリン作動性であることが特徴的でもある。ここで問題となる点は、節後線維は 1.5 μm 以下の線維であり無髄神経であるということが、同じ神経系といえども、体性神経系に比べて単一神経線維を用いた電気生理学的検討ができず、その実験成績の評価をクリアカットにできないことが困る点である。本講座では、このような自律神経系のうちでも心臓交感神経や腎交感神経を中心にして、その電気放電を電気生理学的に測定し、出力電位を測定する際の評価方法の問題点、さらには現在著者らが交感神経活動を評価する際に用いている設備、雑音に対する処理方法と注意点、さらには動物を麻酔する際の麻酔法の問題点、手術操作上の問題点を著者らの経験を基にしながら、読者が容易にそれぞれの実験室において測定することができるように論述に努めるつもりである。

3. 測定方法に関する環境設定

この項目は腎交感神経活動を測定する際に発生し得る雑音の除去、ならびに測定の機械の組合せ、さらに電極の作成および電極の装着方法などについて、著者が現在試みている方法を中心にしながら説明したい。

a) 雑音の除去

雑音を除去することは、自律神経系を含む神経生理学で電気現象を測定する際に注意深く行われなければならない基本的な点である。その雑音の有無を認識するために、後述するようにブラウン管オシロスコープならびにオーディオスピーカーは必要な機材である。雑音のうちで特に多いのは電源供給にともなう交流雑音である。この雑音は関東地区においては 50 Hz、関西地区においては 60 Hz の周期的な正弦波を示し、ブラウン管上で確認できるとともに、オーディオスピーカーから

も一定の音調を持った連続音(ブー)として認識することができる。このような交流雑音が入ると、小さな電位の神経信号の電気現象を測定する場合、神経活動が小さくなればなるほど信号に対する雑音の占める割合が高くなり、Signal-Noise ratio (SN 比) が低くなる。通常の場合は SN 比を10倍以上にすることが望ましい。

雑音を除去するためには、シールドルームいわゆる他の雑音が混入しないように天井、床、壁面を含め実験室全体を、銅板ないし銅の金網でシールドする方法が従来から行われている。そのシールドルーム内にはできる限り電源を必要とする機材を持ち込まないことが原則である。もちろん動物と電源コードが接触するようなことも防止しなければならない。完全にシールドされている部屋であったとしても、何等かの電源供給源さらにシールドルーム内に電線また電源スイッチが入っている時も雑音源になることがある。その原因を突き止めるために、一つ一つの電線の特徴(3芯同軸ケーブルを推める)や電源スイッチを on, off することによって雑音発生源を突き止め、その除去に努めなければならない。我々の教室ではシールドルームでなくても十分に良好な SN 比を得ることができるようにしている。まず、1) 蛍光灯ならびに電気メスやモーター等の電気機器が動物実験台に接触しないように配置すること、2) それぞれの電気機器より確実にアースを取ること、3) さらに天井などに電灯がある場合、電灯や電源を銅の金網で覆いアースを確実に取ること(図2)、4) 動物に接触する手術台を木製にし、木製のテーブルの上に銅板を張り付け、張り付けた銅板を確実にアースをすること(図3)の4項目が雑音を除去する際の基本的手順である。実験台としての木製のテーブルの使用は、金属製の手術台に比べると雑音の発生が少ない。また、交流除去のためには入力ボックスをできる限り動物に近づけ、電極からのリード線(3芯同軸ケーブル)をできるだけ短くし、さらに入力ボックス全体をアルミホイルで囲い、アルミホイルからアースを取ることによって完全になる(図4)。入力ボックスはもちろん手術台の上には直接置かず、さらに動物に接触しないように手術用木製テーブルに固定した方が良い。交流波以外の雑音またはドリフトは電極の呼吸性移動によって発生することが

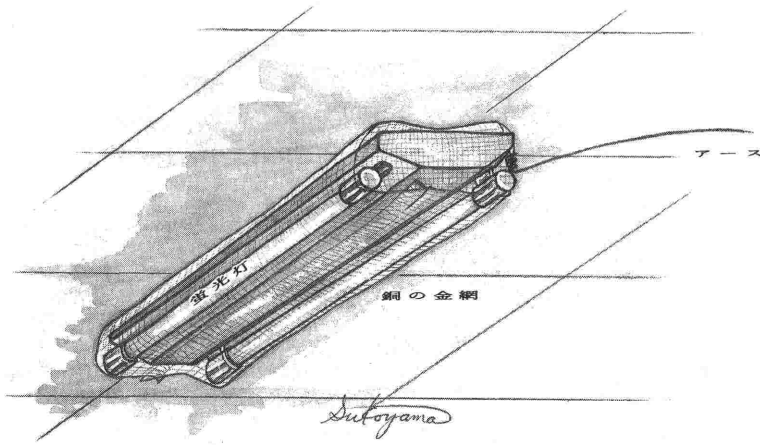


図2 室内電灯等のシールド

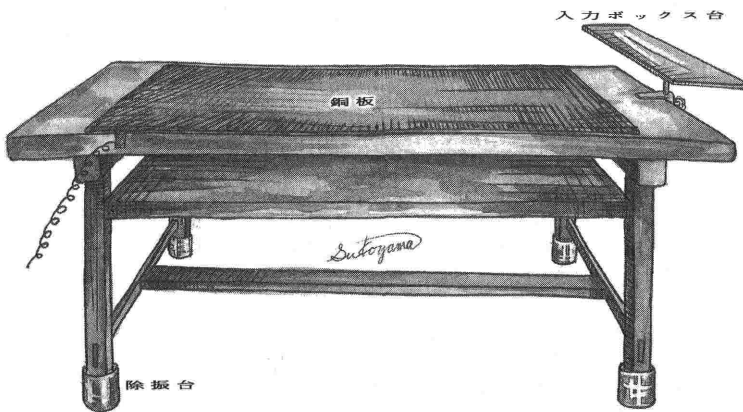


図3 木製実験台と除振

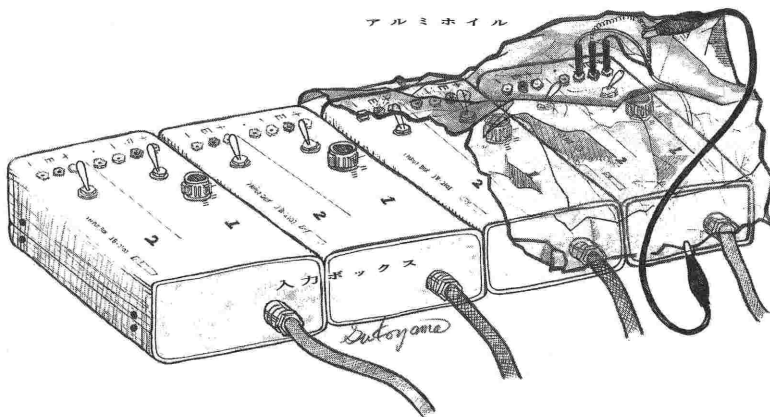


図4 入力ボックスに対する雑音除去

主であり、呼吸によって起こる交感神経線維と電極の接触面の移動や動脈波などの脈波に同期した低周波の雑音、さらに手術台が実験者の歩行で揺れるために雑音が発生する場合、また開創器などの金属製手術用機材が互いに接触することなどによって発生する。この呼吸に同期した雑音の除去には呼吸性動揺が起こらないようにすることが望ましい。そのためには、神経をできる限り長く剥離し、呼吸運動によっておこる組織の偏位に対処するのに充分なたるみを作ることが一つの解決法である(図5)。また1回換気量などの呼吸条件の設定を変えるなど、さらに気胸を加えるなどを試みる必要もある。大部分の例においては、剥離した神経周辺の組織が電極や剥離した神経に接触

しないように正確な手術操作をすることが最も必要である。交感神経が主として動脈に沿って走行しているために、動脈圧によって神経と電極の接触面が偏位して起こるドリフトは、先に述べたように、剥離した神経をある程度たるみを持った状態に剥離しておくこと、かなりこの基線動揺を除去することができる。手術台の揺れを除くためには、専用の除振装置を用いるのが最良であるが高価である。簡単には、手術台の脚をエアーマットまたは砂囊の上に置き脚を支持するようにすることで除振することができる(図3)。さらに心電図そのものを測定することもあり、この心電図の混入の防止には、確実に神経切離を行い、電極に神経を固定し周辺組織に電極が接触しない状態を作り出す必要がある。また、高周波の雑音が認められるような場合には、近くに超遠心器などの機器が作動している際や、高周波電気メス等を使っている場合、また動物に電磁流量計等を装着した場合などにはそれぞれの機器に応じた特殊な雑音の混入がある。これもSN比を低下させる大きな原因である。この雑音の発生源の確認には周辺の別の研究室での実験状況を観察し、その機器を一時的に停止または作動させながら、ブラウン管上に出現する波形変化を確認し、その発生源を突き止める必要がある。いま一つの雑音源としては、多くのFM放送やFM放送以外の通信用電波の混入が地域によって起こることである。電極ならびに電極のリード線がアンテナとなりそれぞれの電波をキャッチすることがある。この雑音の場合は、非常に不規則でありかつスピーカー上からは何等かの音声として確認することができる。電極やリード線の状態を再確認する必要がある。いずれにしても交感神経活動を測定する場合の基本的な点としては、いかにSN比を高めるかということが大切なことである。またこの雑音の発生を少なくするためには次に述べる機器の選択も重要になってくる。

b) 機材の組合せ

著者らは図6のような機械を組み合わせで使用している。基本的には電極からのリード線をできる限り短くし、入力ボックスを動物に近づけた状態で測定し、入力信号に対して、先ほど述べたような雑音を発生させず、かつ低電圧信号を充分な電力電位に変換させる高感度高性能の増幅器が必

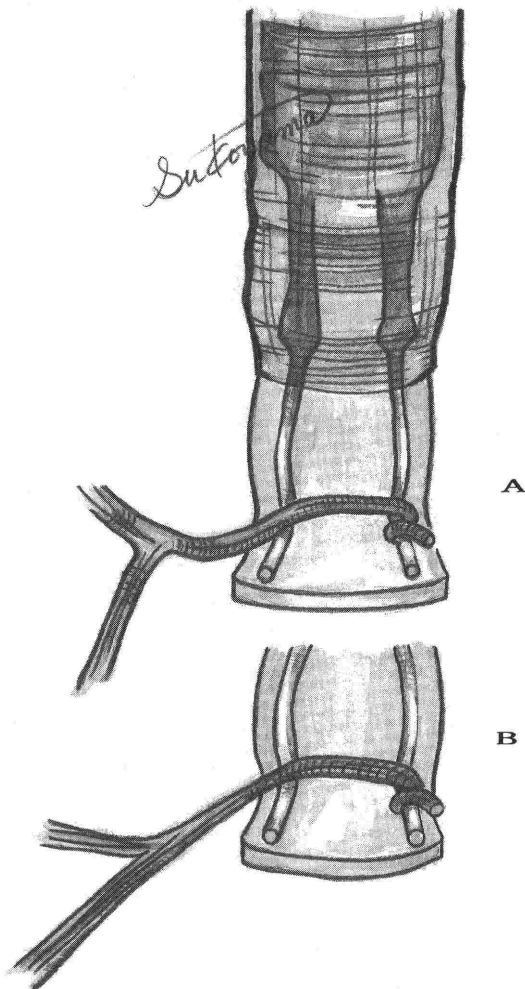


図5 神経の電極装着図
(A) たわみ状態とB) 緊張状態を示す)

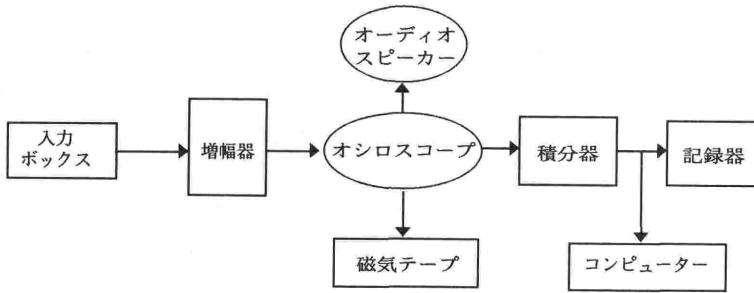


図6 測定用機器の組合せチャート図

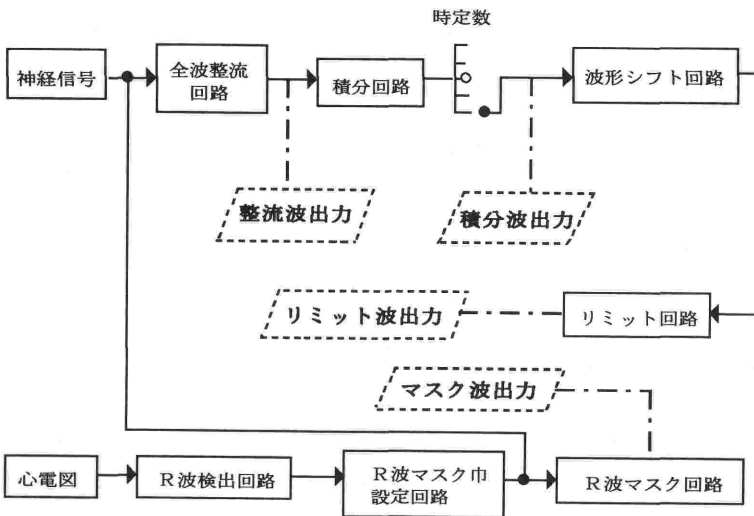


図7 積分器の回路チャート図

要である。増幅器として日本光電製の高感度増幅器 (ABV-10 または ABV-21) を使用し、ブラウン管オシロスコープとしては VC-10 または VC-11 を使用している。これらの機器はかなり安定しており、シールドされていない実験室で交感神経活動を測定する場合でも、充分満足できる性能を持っている。また増幅器は 0.08 Hz~10 kHz の Band-Pass フィルターを持っており、通常 Low-Pass として 15~50 Hz, High-Pass として 1~3 kHz のフィルターをかける。入力された生体電気信号を充分な程度に増幅し、その波形出力を積分器ならびにスピーカーに分配している。通常の増幅器を内蔵した多くのオーディオスピーカーは入力インピーダンスが低いものが市販されている。この低インピーダンスのために記録器な

どに十分な出力を供給することができない。著者らは市販のオーディオスピーカーを改良し、高インピーダンスのスピーカーに作り変えている。このスピーカーの改造は安い値段で改造することができる。また、積分器に関しては著者らの教室で作成した積分器を用いており、その概略を図示しておく (図7)。この積分器は、原波形を整流したのち出力する整流波出力端子、さらに整流波形を0.1秒~2秒で積分する積分回路を作成し、時定数に応じた積分波形を出力する積分波出力端子をもっている。また、それぞれの時定数によって出力される積分波形のゼロレベルを調整するためのシフト量調整つまみを設けている。ゼロレベルが実験前に決定できた際には、このリミット回路を用いることによりゼロレベルからの正味の変化

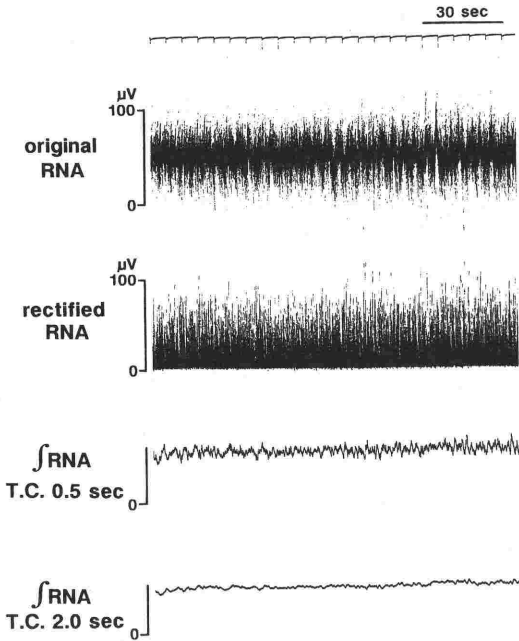


図8 積分器を介した出力波形の一例
(下段のRNAは腎交感神経活動の時定数
0.5秒と2秒での積分波形出力を示している)

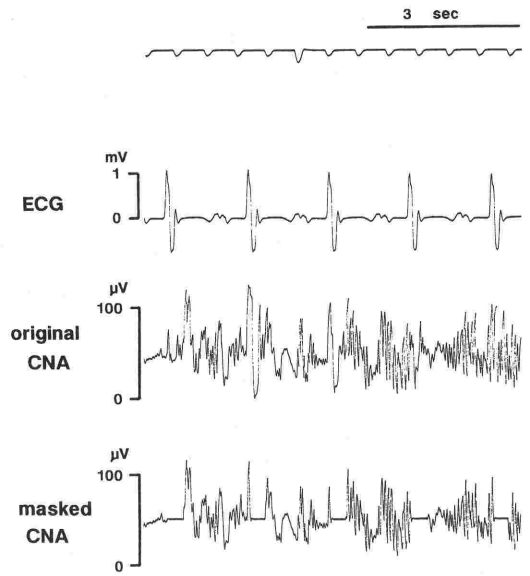


図9 積分器のマスク回路を用いて心電図 (ECG)
成分を除去した一例

量を出力することができる。これをリミット出力端子と称している。通常、SN比が良好な状態では整流波形を記録紙上に出力しながら、さらに積分波形を記録させる(図8)。また特殊な条件下としては入力信号に心電図が重なることがある。この場合には心電図波形上のR波の検出回路を用いる。この回路はR波の幅を10 msec~100 msecの幅で任意に除去することができる回路である。この回路に入力信号を入れることによって入力信号内に含まれている心電図を除去することができる。この信号出力端子をマスク出力端子とっている(図9)。この回路は通常、慢性実験でR波が信号に重なるような場合に使う回路であり、急性実験ではまず使用することはない。このようにして積分回路からの出力は熱ペン式記録器さらに

は電磁記録器などの記録器に接続し、記録紙上に記録する。原波形はオーディオスピーカーに接続すると同時に磁気テープ、DATテープまたはビデオテープに保管する。さらに記録紙上に描記するすべての出力は、パソコンによるオンライン処理のために分配する。簡単な電気工学的な知識があれば、何等問題はなく、接続分配できると思われる。もちろん、測定機器を多く用いれば用いるほど、機器そのものが雑音の発生源となることが多くなる。すべての実験機器の設定が正確にできているか否かは、実験開始前に注意深く検討しておかなければならない。それぞれの電気機器の本体のみならず、配線経路にも雑音をキャッチする部分が有るか否かを充分注意しておく必要がある。