

講座

交感神経活動の測定法について (第2回)

小山省三*

〈第2回内容〉

c) 電極の作成法

4. 動物の管理と麻酔法に関して
5. 心臓及び腎臓を支配する交感神経のアプローチ法

a) 心臓交感神経

c) 電極の作成法

急性実験に用いる電極の作成に関して、我々は銀線、白銀線またはイリディウム線による双極電極を手作りしている。時にはカーボンファイバーを用いた電極で急性実験の交感神経活動の測定に用いている。まず、直径 0.15~0.25 mm の白金線や銀線で双極電極を作成する際の電極間距離は 3~5 mm である。まず長さ約 1.0~1.5 cm の2本の電線を用意する。さらに直径 5 mm ないし 6 mm のアクリル棒を加工し、先端を耳かき状に削り彎曲を付けるとともに、別の断端には電極支持器に装着できるように細く削る (図10)。このアクリル棒は約 15~20 cm の長さに切断し、耳かき状の先端の受け皿部分に電線を装着し白金線または銀線と誘導リード線 (3芯同軸ケーブル) を接合固定する。そしてリード線はアクリル棒に糸ならびに合成樹脂で固定して、リード線の他端にコネクターを接続する (図11)。この電極支持棒を作成する際に注意すべき点として、剥離した神経を電極に装着する際に、電極間距離ならびに耳かき状の先端の加工状態、すなわちその形状や大きさによって神経の装着が容易にできる場合や難しくなる場合があることである。耳かき状の先端を作成することの有益な点とすれば、神経に装着した際の電極の下方に存在する周辺組織の接触を阻止できることである。電極支持棒の支持装置

としては、実験の状況に応じて角度や方向を自在に変えることができる自在支持装置があれば便利である。著者らはサミットメディカル社の製品 (ボールジョイントクランプ A-2037V) を用いている。また、アクリル棒付きの電極を直線的に装着することが困難な実験設定では、剥離した神経にカーボンファイバー電極 (市販のX線透過性のある心電図導出用電極のリード線) を装着する。この場合には、そのリード線を被覆しているビニールチューブを約半周に渡って 0.8~1.0 cm 幅の側孔を開け (図12)、カーボンファイバーの露出部分を神経に密着するように装着し、カーボンファイバーの両端を結紮固定する (図13)。他の1本を約 2~5 mm の間隔を置いて同様に装着することによって、交感神経活動を導出することも可能である。この方法はリード線が易移動性であり、電極を直線的に留置できない場合などでは非常に有効な方法である。カーボンファイバーと神経の接触を正確に顕微鏡下でする限り、長時間にわたって血液や浸出液の影響を受けずに実験できる。難点とすれば、手術用顕微鏡下での非常に細かな手技が要求される。さらに別の方法としては、絶縁されているスティールワイヤーが市販されており、カーボンファイバーの替わりにこのスティールワイヤー型電線を用いることもあるが、周辺組織との接触に対する絶縁ができないために装着後シリコンなどで電線と神経を一塊として固定して絶縁する必要がある (図14)。また、慢性実験で使用する場合には、前述したカーボンファイバー、スティールワイヤー型の電線のほかに、電極部分として生体組織のコラーゲンを用いて導出する方法も報告されている。慢性実験で神経活動を長時間測定するための埋め込み電極に関しては、まだまだ改良しなければならないと思われる。

*信州大学医学部第2生理学教室

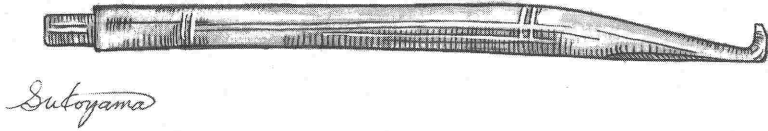


図10 アクリル棒の加工

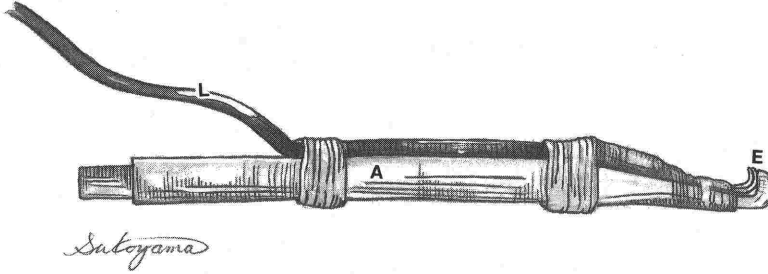


図11 アクリル棒 (A) に電極 (E) 及びリード線 (L) を装着した状態

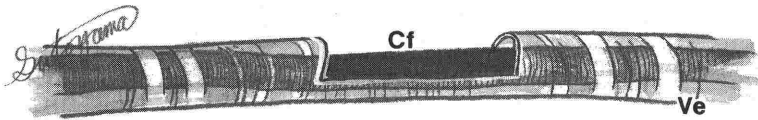


図12 カーボンファイバー (Cf) を被覆するビニールチューブ (Ve) を半周に渡って側孔を開けた状態

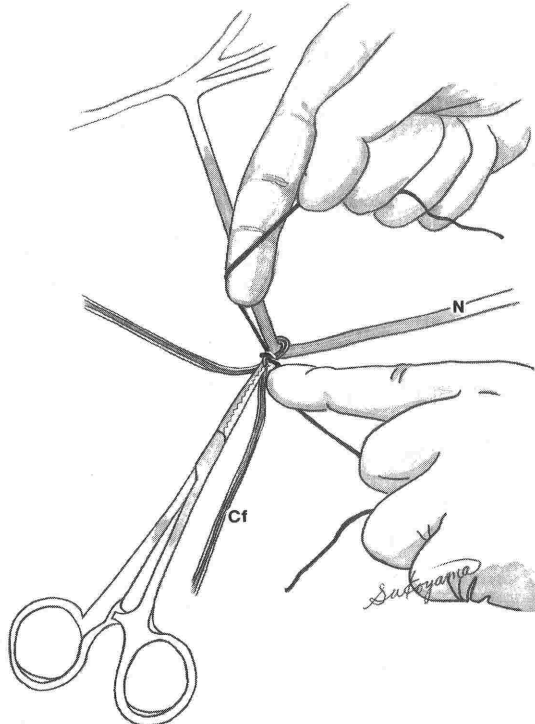


図13 神経に (N) にカーボンファイバー (Cf) を結紮装着している状態

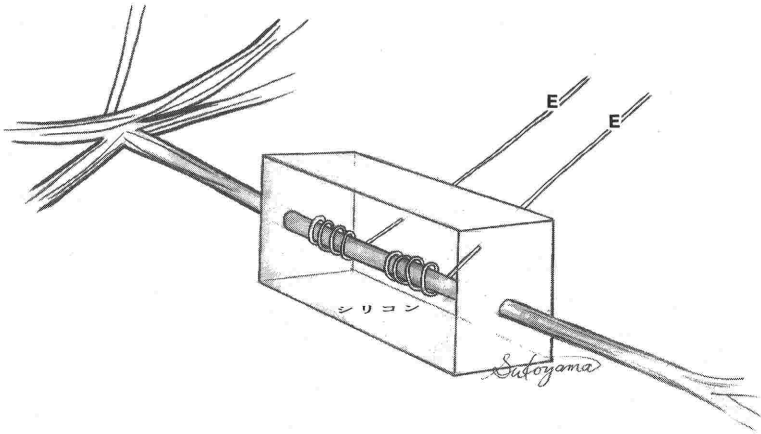


図14 神経に装着した電極 (E) シリコンで固定した状態

4. 動物の管理と麻醉法に関して

交感神経活動を測定する場合、理想的には覚醒、無麻酔の状態で測定することが望ましい。しかしながら、著者らが現在行っている多臓器交感神経活動の同時測定や各種のショック状態において検討する場合、さらには覚醒状態での実験では侵襲ならびにその刺激が強いため、動物愛護の観点からその強度を制限する必要がある。そのため動物実験は多くの場合は麻酔状態での検討をせざるを得ない。一般的にペントバルビタールは交感神経活動を抑制し、さらに迷走神経活動の低下などをきたすことが知られている。ペントバルビタールで麻酔状態を得る場合には麻酔深度を非常に注意深くコントロールしなければならない。我々は、通常、体重 1 kg 当り 25 mg ペントバルビタールを静脈内に投与することによって麻酔状態を得ている。しかし、麻酔前の犬の状態によっては、この計算量の麻酔量では多い場合もあり、麻酔前の計算量の 60~70% を静脈内投与し、腰部~下肢の筋力が低下し、いわゆる“腰くだけ”状態になったのち徐々に前肢や頸部の筋の緊張性が低下する (図15) ことを確かめながら、ゆっくりと残りの 30~40% を投与しながら、眼瞼反射が残っている程度の麻酔量にとどめる。麻酔が深すぎたような場合に呼吸の一時的な停止を認めことがある。このような際には速やかに呼吸管理をする必要がある。麻酔深度が深い場合には交感神経活動の抑制が起こっており、後述する神経剥離時に合併し易い神経損傷によって神経活動が認められな

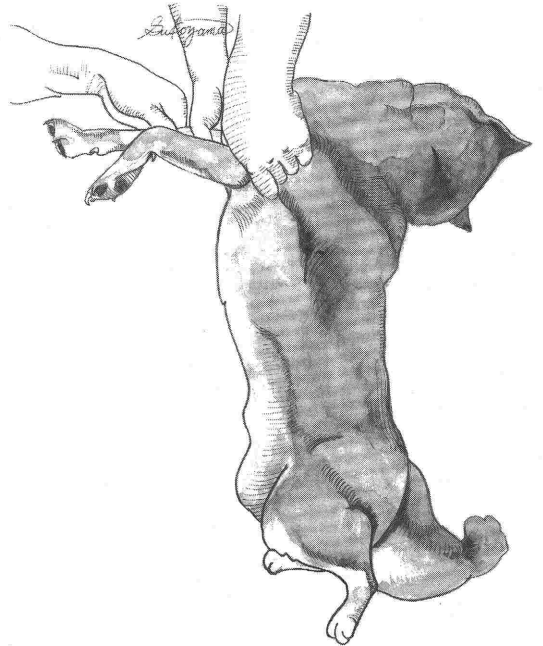


図15 適度の麻酔状態を得た状態

い場合と区別し難い場合がある。また実験前に一時的な呼吸停止が起こり、呼吸管理を行うことができ、また循環系モニターに変化がないように思える際にも、交感神経反射系はすでに障害されていることがあり、非常に注意深く麻酔をかけなければならない。そのような交感神経反射が正常に作動しているか否かを検討するために、我々はフェニレフリン (2~4 $\mu\text{g}/\text{Kg}$) やナイトロプルシド (2~5 $\mu\text{g}/\text{Kg}$) を静注することにより、昇圧ならびに降圧反応の際の反射性交感神経の低下または増加が起こることを実験のプロトコールを進める

前に確認している。しかしながら、この反射性交感神経反応の温存の有無を確かめるために薬物によって血圧を変化させると、薬物が頻回に使用されるために末梢血管系に変化をきたし、その後の実験成績に影響を及ぼすこともある。最近我々は横隔膜上の下大静脈を機械的に閉塞(30秒以内)することによって血圧を50 mmHgに低下させた際の反射性反応の出現を確認するようにしている。この場合も、長時間(約5分以上)の下大静脈閉塞を行うと反射性応答は減弱するので注意が必要である。

また、同じ麻酔薬といえどもケタミンでは交感神経の基礎値を高めることがあり、ケタミンを使用した際には血圧上昇によってそれぞれの切離面からの後出血が起こることも考慮し、適切な止血を行っておく必要がある。また動物実験の麻酔薬としてウレタンやクロラローゼも使用されており、これらの麻酔薬は交感神経活動の抑制程度が少ない麻酔薬とされている。しかしながら、どの麻酔法と言えども覚醒時での交感神経活動と麻酔状態での交感神経活動には質的量的な差異があることは明白であり、実験計画を立てる際にどのような麻酔薬を選択するかについては実験開始前に充分考慮しておかなければならない。また、吸入麻酔も循環系の抑制や圧反射系を障害するので、吸入麻酔薬によって麻酔の深度をコントロールする場合は脳波の活動レベルを指標にして吸入麻酔量を持続的にフィードバック・コントロールしている施設などもある。この吸入麻酔薬を使用する場合の利点は吸入麻酔を中止すると速やかに元のレベルに回復し、調節性に富むという点が特徴的である。いずれにしても、実験計画をたてる際に、前述したようにどのような麻酔薬を用いるかを十分に検討して、さらに実験成績の評価をする場合には常に麻酔薬の特徴を考慮する必要がある。

5. 心臓及び腎臓を支配する交感神経のアプローチ法

a) 心臓交感神経

通常、著者らは左側臥位の犬で実験をすることが多く、左開胸でのアプローチを説明する。第2肋間もしくは第3肋間、また初心者などによっては術野が狭いために第2肋骨切除によって左開胸をする。開胸器で創部を大きく広げると左上葉を

認める。この上葉は開胸によって縮小するために、通常、我々は PEEP をかけることによって胸腔内に充満する程度の大きさまで肺を膨らませる。このような状態で肺尖部を結紮したのち、結紮糸を尾側に牽引固定する。この操作では無気肺を起こさないように注意する。ついで手術野には半奇静脈ならびに腕頭動脈、鎖骨下動脈を認め、半奇静脈の周辺には1~2個のリンパ節を認める。さらに白く光った束状の2本の太い神経を背側部と腹側部に観察することができる。この太い神経のうち背側部に位置するものが迷走神経であり、腹側に認める神経は横隔膜神経である。さらに背側部の脊椎方向には下行大動脈とその上方に交感神経幹を認めることができる。第2-3肋間のレベルの交感神経幹から出る交感神経枝を腹側にたどると、先ほど述べた半奇静脈ならびにリンパ節の存在している周辺に一本の背側から腹側に向って横走している神経が認められる。さらにその神経をたどると星状神経節ならびに頸部交感神経節が迷走神経の分枝と一塊になって存在しているのを観察することができる(図16)。そのような解剖学的位置関係を術野で充分に観察した後、縦隔に付着する胸膜を切開し、迷走神経に伴走し腹側に向かって走行する2-3本の細い線維を確認する。この線維は、頭側部においては頸神経ワナと星状神経節さらに上頸部神経節から起始していることが確認できる。これらの細い神経線維は腹外側または腹内側心臓交感神経と解剖学的には言われるものであり、我々は通常この枝を心臓交感神経枝と総称している(図17)。このようにして確認された細い交感神経は神経剥離針を用いて周辺組織から剥離する。剥離針は、昆虫標本用の標本作成棒の先端に27Gの注射針を固定し、その針先の50~80ミリを直角に曲げて作成する(図18)。この剥離針の利点は、27Gの注射針の先端が非常に鋭利であり、また適当な強度と太さをもったスチールであるために、神経そのものを損傷しないように周辺組織を剥離するのに有効である。そのような神経剥離針を2本用意し、左右の手に神経剥離針を保持して、神経線維周辺に付着している脂肪組織ならびに栄養血管、リンパ管、さらに交感神経の神経被膜を神経を損傷しないように約1.5~3 cmの長さにわたって剥離する。交感神経活動の測定に際してこのような剥離操作が良好な

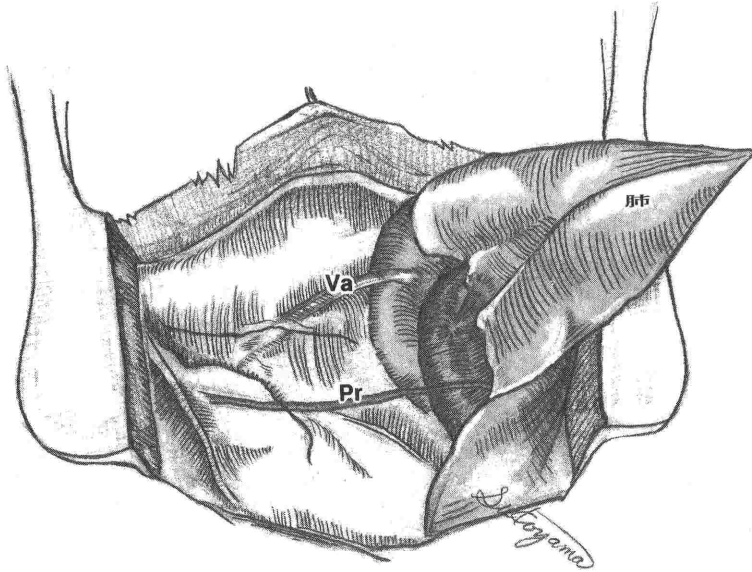


図16 開胸によって左肺上葉を反転した際の迷走神経 (Va), 横隔膜神経 (Pr) の走行

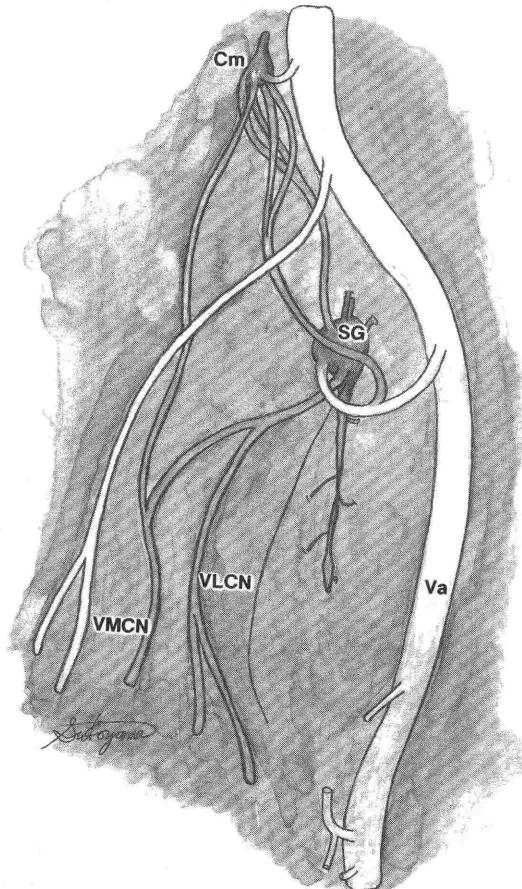


図17 心臓交感神経 (Ventral medial nerve; VMCN と Ventral lateral nerve; VLCN) の位置. Cm は中頸部交感神経節, SG は星状神経節, そして Va は交感迷走神経幹である.

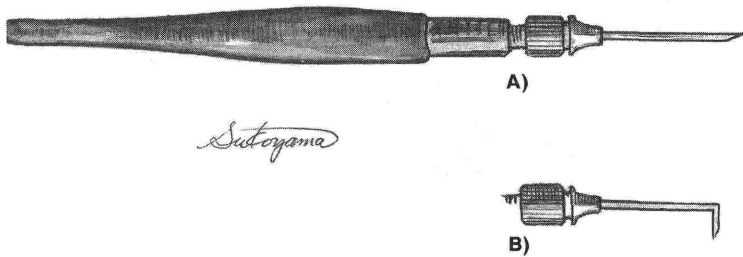


図18 神経剥離針

A) は27Gの注射針を装着した状態であり, B) はその先端を直角に曲げた状態を示している

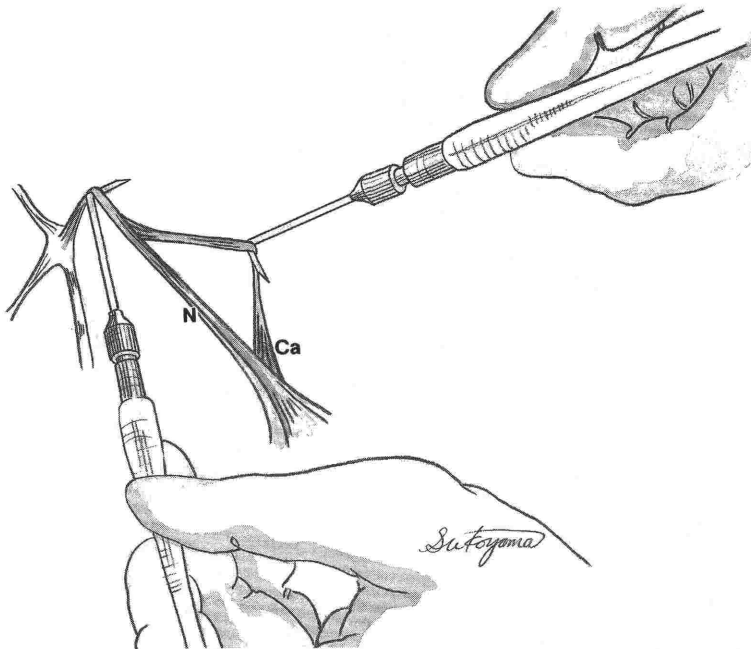


図19 剥離針で神経(N)を挙上保持しながら神経被膜(Ca)を剥離している状態

SN 比を得るための非常に大切な手術操作である。神経の走行の剥離針の操作は慣れると肉眼で充分に操作することができる。しかし、初心者では少なくとも2~4倍に拡大することができるルーペや手術用顕微鏡を用いると神経を損傷しない。神経を剥離する場合に、常に神経を牽上保持しないと被膜の剥離が困難である(図19)。神経を牽上保持するには、先ほどの神経剥離針で神経を軽く牽上させる操作を適時繰り返すことが必要である。しかしながら、ピンセットや剥離針で強く牽上すると神経を損傷する。一見、神経線維は無傷のように思われても、電気現象としては挫滅神経のために活動電位を導出することができない

ので注意が必要である。このようにして剥離した神経は双極電極に装着し、約2~3mmのたわみを持たせた後、交感神経としての活動が導出されているかどうかを確認する。交感神経であるかどうかは、心拍ならびに呼吸に同期したパースト(burst)活動が出現していると同時に、心電図が混入していないこと、さらに呼吸性動揺等によって基線動揺が無いことを確認する(図20)。それぞれの実験条件の設定に問題が無いことを確認できれば、神経の乾燥を防止するためにプラスチックベース(和光純薬)を被覆し(図21)または流動パラフィンで創部を満したのち実験を始める。

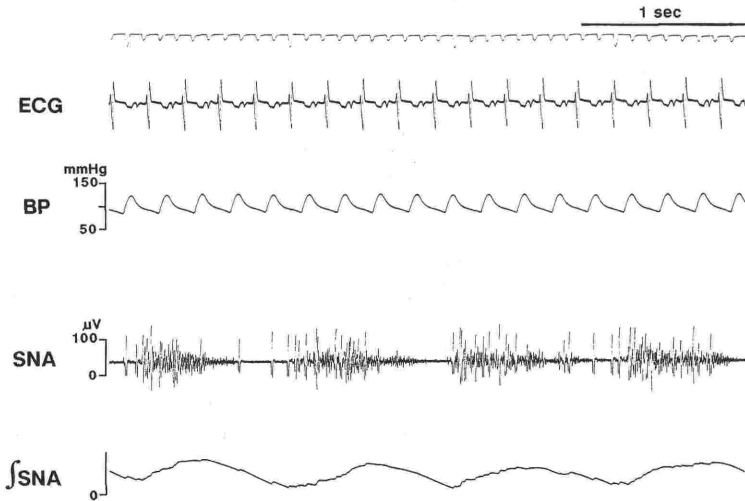


図20 心拍及び呼吸に同期した交感神経活動 (SNA) の burst 波形とその積分波形 (\int SNA), ECG (心電図), BP (血圧)

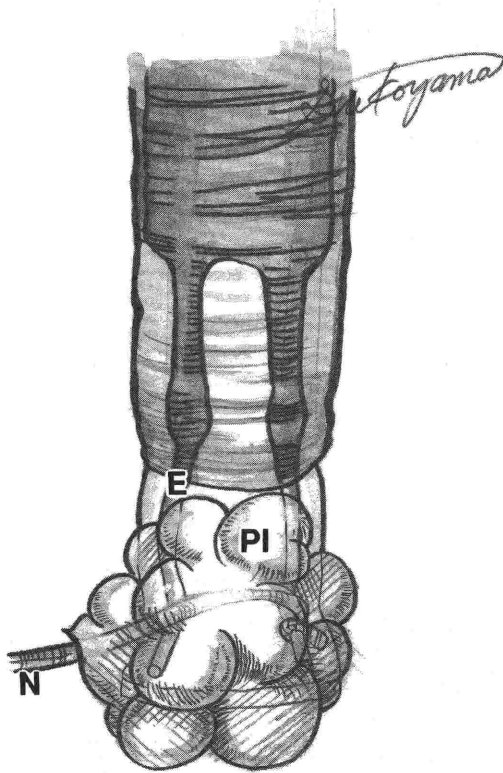


図21 電極 (E) に神経 (N) を装着したのちプラスチックベース (PI) で神経の乾燥を防止している状態