

〔原著〕

細胞外電位と細胞内電位の微分波形との関係

猪股 孝四郎¹⁾, 太田 勲²⁾, 倉橋 昌司³⁾¹⁾北海道医療大学歯学部口腔生理学²⁾北海道医療大学心理科学部言語聴覚療法学科³⁾北海道医療大学看護福祉学部生命基礎科学講座

Relationship between extracellular potential and pattern of differentiated intracellular potential

Koshiro INOMATA¹⁾, Isao OOTA²⁾ and Masashi KURAHASHI³⁾¹⁾Department of Oral physiology, School of Dentistry²⁾Department of Communication Disorders, School of Psychological Science³⁾Department of Medical Science, School of Nursing & Social Services, Health Sciences University of Hokkaido

Abstract

Intracellular and extracellular potentials from one cell that spontaneously discharged in the Aplysia abdominal ganglion (R10, 11, 12, L10, 12, 13) were recorded simultaneously and summarized as follows :

1. The amplitude of intracellular action potential was 50-70mV and the amplitude of extracellular potential was about 0.3mV.
2. The pattern of extracellular action potential was similar to the differential pattern of intracellular action potential.
3. In the time course, there was a time lag between the pattern of extracellular action potential and differential pattern of intracellular action potential. It became clear that this time lag depended upon the time constant in the electrical circuit.
4. From the above results, we concluded that the intracellular action potential was differentiated by the electrical circuit in the cell membrane and shown as extracellular action potential.
5. The hypothesis of Inomata et al. was supported by the results.

Key words : Differentiated pattern of intracellular potential, extracellular potential, time constant in cell membrane, cell in abdominal ganglion of Aplysia.

緒 論

唾液が唾液腺から分泌されるとき、電位変動がみられることは犬について報告されている (Bayliss and Bradford, 1885). Iwataらは、ヒトについて報告し、その電位は約10mVあり、さらに電位の発生源は唾液腺にあると報告している (Iwama and Shinjo, 1950). 猪股らによれば、ヒトの耳下腺開口部に装着した採唾管内の関電極と耳垂に装着した不関電極から舌背刺激時に記録される電位変化は約10mVであるのに対し、耳下腺開口部近傍上の粘膜と耳垂との間、及び耳下腺上の皮膚と耳垂との間

のそれぞれの電位変化は小さく、0.2~0.5mVにすぎないと報告している (猪股ら, 1984). さらに、猪股らはこれらの粘膜上及び皮膚上から得られた電位の波形は、耳下腺開口部から得られた電位波形の微分波形との関係を調べる必要があると報告している (猪股ら, 1999). このような関係は1個の細胞が活動したときに見られる細胞内電位の波形と細胞膜を隔てて得られる細胞外電位との間にも成立している可能性が示唆されるので、この点を確認する必要があると考え以下の実験を行った。

受付：平成17年10月

実験方法

実験には海産軟体動物アメフラシ (*Aplysia kurodai* 三陸海岸で採取) の腹部神経節にある細胞を用いた。染井らの方法に従い腹部神経節を取り出し、アメフラシ用の還流液を用いて還流した (染井ら, 1981)。この神経節の内、自発放電を繰り返している神経細胞を一個選び出した (R10, 11, 12, L10, 12, 13 のうち自発放電を繰り返している細胞: Frazier et al., 1967)。選んだ細胞が自発放電をしていることは、微小電極を細胞体内に挿入し確認した。このようにして選出した細胞の近くに、さらに別の微細電極を置き、この電極から記録される電位変化を細胞外電位とした。このような細胞内・外の二つの電極から導出された電位変化は微小電極用前置増幅器 (日本光電社製MEZ7200) に接続した (Fig. 1)。前置増幅器からの出力を加算器 (日本光電社製MEN4104: Neuropack Fourの加算機能部) と同時にデータレコーダ (テアック社製SR-30) に導いた。必要に応じてデータレコーダを減速し、この出力を記録器 (三栄測器, Pen-oscillograph 8 K14) に導き記録紙に記録する場合もあった。

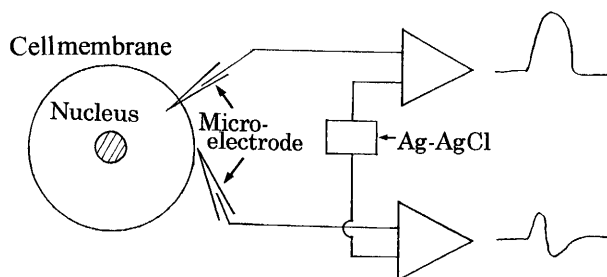


Fig. 1 Diagram of the experiments.
Setting of the intra cellular electrode and extra cellular electrode.

実験結果ならびに考察

単一細胞の自発放電時の電位変動について、細胞内・外の二つの電極によりこの変動を導出し、両者を同時記録した。Fig. 2にその1例を示した。この図から明らかなように、細胞内電位の振幅は約60mV (Fig. 2の上段) を示したが、細胞外電位の振幅は小さく約0.3mV (Fig. 2の下段) を示すにすぎなかった。しかも細胞外電位の変動には不正電位 (雑音に相当) が加重されている可能性が高い。従って記録されたままの細胞外電位の変動と細胞内電位の変動とを直接比較検討することは不適当である。そこで、細胞内および細胞外電位の変動を連続50回加算した。

Fig. 3には連続した50回の細胞内および細胞外電位変動を加算した結果を上段に細胞内電位、下段に細胞外電

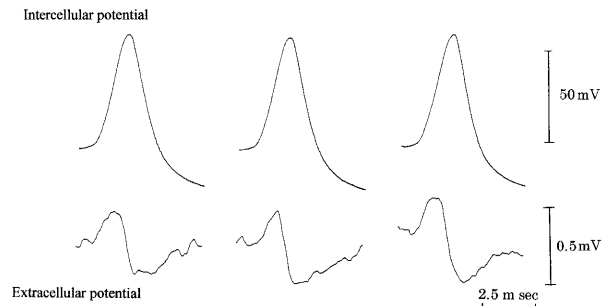


Fig. 2 Intracellular potential and extracellular potential.
Intracellular action potential (intracellular potential) was recorded from intracellular electrode (upper) and extracellular action potential (extracellular potential) was recorded from extracellular electrode (under) respectively. And the pair of intracellular and extracellular potentials were recorded simultaneously.

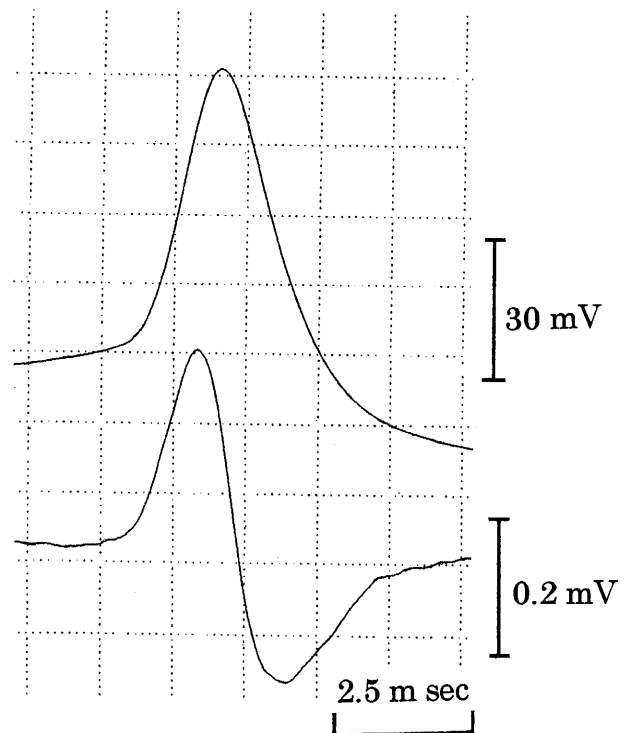


Fig. 3 Average response of 50 trials.
Upper: intracellular action potentials (spontaneous).
Under: extracellular action potentials (spontaneous).

位をそれぞれ示した。上段の曲線はFig. 2の上段と同様に滑らかな曲線となったが、下段の曲線はFig. 2の下段よりは滑らかであるものまだ十分とは言い難い。しかし、これらの曲線を用いて、細胞内および細胞外の電位変動を比較検討した。この二つの曲線を比較すると細胞内電位の変動曲線を微分したときの波形と細胞外電位の変動曲線とは近い関係にあるのではないかと考えられた。この関係の有無を調べるために、細胞内電位の変動曲線の頂点時と細胞外電位の基線を横切る時点を比較した。これをFig. 4に示した。Fig. 4からも判明するように細胞内の電位曲線の頂点時よりも細胞外電位が基線を横切る時間の方が約0.3msec遅れていた。このような遅延が起こる可能性についても考察する必要があるが生じてきた。

細胞内電位の微分波形が細胞外電位の変化に相当する

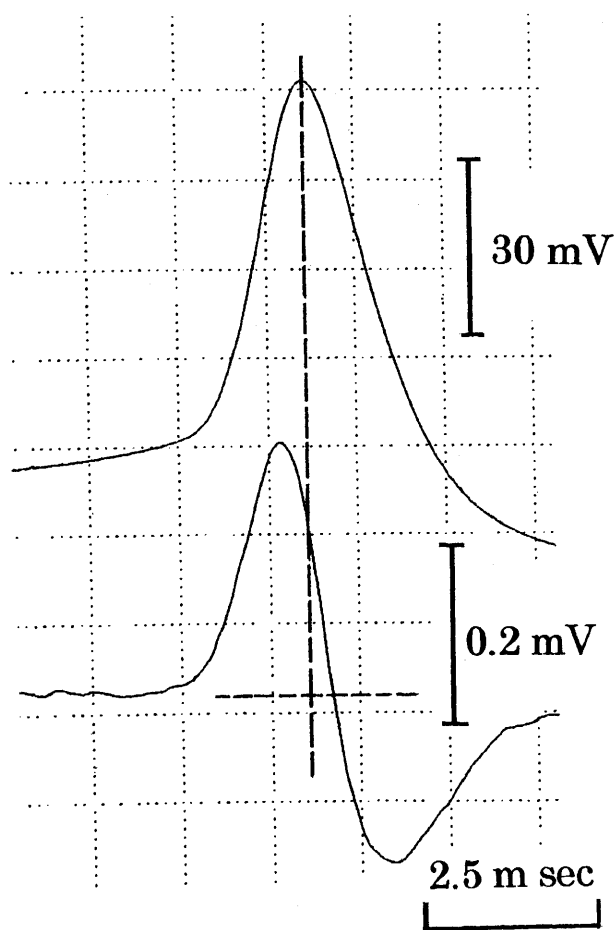


Fig. 4 Disparity between culmination time and crossing time.
Disparity between culmination time of intracellular potential (vertical broken line) and time at crossing extracellular potential to base line (horizontal broken line).

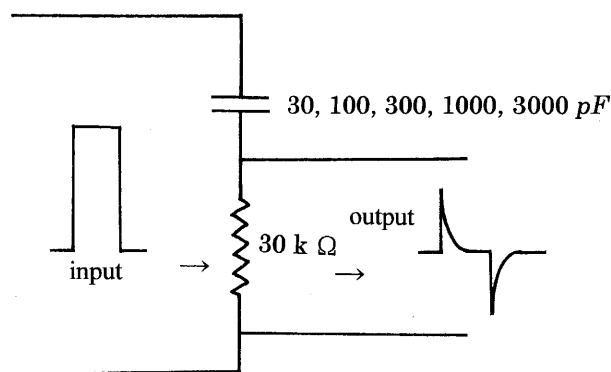


Fig. 5 RC differentiated circuit

か否かを確認するためにFig.5に示すような微分回路を用いて検討した。この微分回路には30kΩを用いたが、この値は組織の抵抗値を想定したものである。この回路に用いた入力 (input) 波形はFig.3およびFig.4に用いた細胞内電位をデータレコーダから再生したものである。

Fig.6の上段(左・右とも)は、データレコーダに記録した細胞内電位変動を再生し、連続50波形を加算したものである。下段左側は微分回路のコンデンサーの

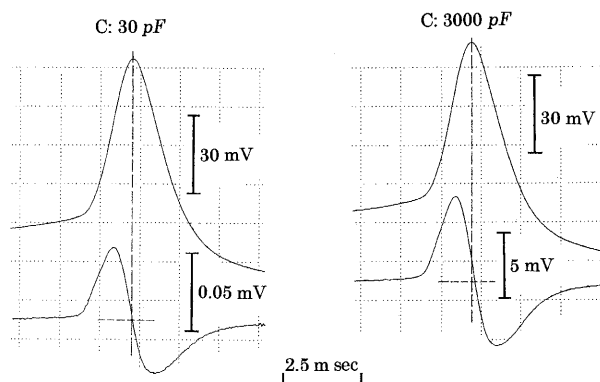


Fig. 6 Relation between culmination time of intracellular potential and crossing time at differentiated this potential.

Culmination time : vertical broken line

Base line : horizontal broken line

Left : condenser capacity = 30pF

(time constant \approx 1 μ s)

Right : condenser capacity = 3000pF

(time constant \approx 0.1ms)

容量を30pFに、下段右側はコンデンサー容量を3000pFにした場合の微分細胞内電位を加算(50波形)したものである。

微分回路のコンデンサーの容量は30, 100, 300, 1000および3000pFと順に変化させたとき、微分波形の振幅の大きさには変化が認められたが波形の型(pattern)には特に変化を認めることはできなかった。したがって、コンデンサーの容量が30と3000pFの場合の微分波形についてのみ考察した。

Fig.3およびFig.4の下段に示した細胞外電位の変化とFig.6の左・右の下段に示した細胞内電位の微分波形を比較すると、両波形はよく似ている。このことは細胞外電位を細胞内電位の微分波形と考えることには妥当性があると考えられる。しかし、Fig.4の細胞内電位の頂点時よりも細胞外の基線との交点の方が少し遅れることに関しては、十分に説明できない。この点には、Fig.6の下段の左右の波形を比較することによって説明が可能であると考えられる。

微分回路でコンデンサーの容量を30pFにしたとき(Fig.6 下段・左)の、この回路の時定数(time constant)は計算上では約1 μ secである。3000pFのとき(Fig.6 下段・右)の時定数は約0.1msecである。次にFig.6の両波形の時間的な関係を測定すると、左側上段の細胞内電位の頂点時と下段左側の微分波形と基線との交点を比較すると両者間にはほとんど時間的なずれが見られない。一方、右側上段の頂点時と下段の基線との交点との両者の間には約0.1msecの遅れが認められた。即ち、微分回路の時定数が1 μ secの場合は図の記録からは時間的な遅れは測定不能ということになり(Fig.6の左側上・下)、また回路の時定数が0.1msecになると図から

も測定出来、その測定値もほぼ0.1msecとなった (Fig. 6の右側上・下)。この事実は微分回路の時定数値も図に明確に現れていることが明らかになった。このことを参考にしてFig. 4にみられる0.3msecの遅れは、この被験単一神経細胞の膜が有している時定数の値と考えるのが妥当である。しかし、ここで新たな問題はこのような小さな細胞の膜が上述のような時定数を有しているか否かということである。

過去の研究によれば、細胞膜には電気抵抗の性質やコンデンサーの性質が有り、これによって電気回路的な時定数が存在すると報告している (Hodgkin and Rushton, 1946; Boyd and Martin, 1959; Ruch and Patton, 1965)。これらの報告は我々の上述の推定を、より妥当性が有ることの証しとなる。

このように細胞膜が時定数を有するという考えを生体内全ての膜にも当てはまると仮定するなら猪股らが考えているように (猪股ら, 1984), 耳下腺開口部の近く粘膜上および耳下腺上の皮膚上から記録される電位変動の波形は耳下腺開口部にみられる電位変動の微分波形と密接な関係があると考えのが妥当である。しかし猪股らの記録波形からも明らかなように (猪股ら, 1984), 耳下腺から得られた波形には不正電位の加重が著しく、時間的關係を測定するには不適當であることは明らかである。

結 語

アメフラシ (*Aplysia kurodai*) の腹部神経節 (R 10, 11, 12, L10, 12, 13) の内の一つの神経細胞に電極を挿入し、さらにこの細胞膜の外にも電極を一つ置き細胞の内・外から電位変化を同時的に記録し次のような結果を得た。

1. 細胞内の電位変動は約60mVであった。一方、細胞外の電位変動は約0.3mVであったが不正電位 (雑音に相当) が加重されており、このままで細胞の内・外の電位を比較検討することは不可能であった。それ故、内・外の電位変動の50連続波形を加算し、この波形について比較検討した。同様に細胞内電位お

よびその微分波形を加算したものについても検討を加えた。

2. この細胞内電位の微分波形と、細胞外の電位の波形とはよく似ていることが判明した。しかしこの微分波形よりも細胞外電位の波形の方が少し時間的に延長していた。
3. この少しの時間的遅延は電気回路の抵抗とコンデンサーによる時定数 (time constant) の値に関係していることが判明した。
4. これらのことから細胞内電位の変動経過の微分波形が細胞外電位の基となっていると考えられる。
5. 上述のことがらは猪股らの考えを支持している。即ちこのことがらは口腔内粘膜および皮膚上から導出された電位変動波形は耳下腺開口部の電位変動の微分波形と考えることの妥当性を明確にしている。

文 献

- Bayliss WM and Bradford JR. Proceeding of the physiological society. *J Physiol (Lond)* 6: 13-16, 1885.
- Iwama K and Shinjo T. A method for leading off action currents from human salivary gland and for recording velocity of secretion. *Tohoku J Exp Med* 52: 223-229, 1950.
- 猪股孝四郎, 高桑光代, 玉川恭子, 倉橋昌司, 中村治雄. 耳下腺唾液分泌と電位変動について, II. ヒト耳下腺の分泌電位経過における疑問点. *東日本歯学雑誌* 2: 21-26, 1984.
- 猪股孝四郎, 太田勲, 石井久淑, 赤坂徹, 倉橋昌司. 唾液分泌に伴う皮膚及び粘膜上の電位変動の記録について. *東日本歯学雑誌* 18: 363-370, 1999.
- 染井宏祐. 種々のAch-receptorの機能に対するpentforbital-及びPhonobarbital-sodiumの阻害効果並びに阻害様式の比較. *日本生理誌* 43: 529-541, 1981.
- Frazier WT, Kandel ER, Kupfermann I, Waziri R and Coggeshall R E. Morphological and functional properties of identified neurons in the abdominal ganglion of *Aplysia Californica*. *J Neurophysiol* 30: 1288-1351, 1967.
- Hodgkin AL and Rushton WAH. The electrical constants of a crustacean nerve fibre. *Proc Roy Soc B* 133: 444-479, 1946.
- Boyd IA and Martin AR. Membrane constants of mammalian muscle fibres. *J Physiol (Lond)* 147: 450-457, 1959.
- Ruch TC, Patton HD. *Physiology and Biophysics*. 19th ed. Philadelphia and London: Saunders; 1965, p64-66.