

カエル坐骨神経電気刺激実験の解説

目白大学理学療法学科 照井直人

第1版 平成23年 9月

第2版 平成25年10月

第3版 平成26年10月

第4版 平成29年10月

無断転載、無断転用を禁ずる。terui@mejiro.ac.jp まで連絡すること。レポート作成も参考に使ってもいいが、コピペではなく、読んで理解して、自分の言葉でここに記載してあることを短く要約し記述するとともに、このページのURLと著者名を引用する必要がある。引用がない場合は剽窃と判断され諸君のレポートの評価は最低になるであろう。

実習で、カエル坐骨神経を切り出し、刺激箱に入れて電気刺激を与えたときの活動電位の記録を行った。この実習の解説である。実習の結果の参考にしてほしい。ここで図に示した活動電位は例であって、必ずしもこのような形にはならないことがある。なぜ記録した活動電位がここに上げた図とちがうのかを考えること。PowerLab(<http://www.brck.co.jp/>)を用いた記録例が一部ある、この機器を使わない場合でも実習結果は同じである。

中学や高校で学んだ電気の常識の復習から。

1-1) オームの法則

電圧を E 、電流を I 、抵抗を R とすると $E = I \cdot R$ になる。

この法則の意味するところは、抵抗に電圧がかかると電流が流れる、抵抗に電流がながれると電圧が生じる ということである。これを頭に覚えておいてほしい。

1-2) 抵抗とコンデンサーで組み合わされた回路

抵抗とコンデンサーが直列に接続されている回路に矩形波の電圧が加わると、コンデンサーの電圧(負荷に加わる電圧)はコンデンサーに電荷が充電される時間がかかるので、次第に上昇する。加わる電圧がなくなると、コンデンサーに蓄えられた電荷が負荷に流れ徐々に放出される。この状況は四角い加え

た電圧(矩形波)の角がなくなるようになるので、「なまった」という。電気刺激は矩形波で行われるのでこのコンデンサーと抵抗の組み合わせを考える必要がある。細胞膜は抵抗とコンデンサーで電気的な性質を置き換えることができるが、今回は考慮する必要はない。

1-3) 定電圧と定電流

PowerLab では電気刺激は定電圧と定電流2つの方式で行うことができる。定電圧とは前面パネルの左にある OUT PUT という端子を使った刺激である。定電流は ISOLATED STIMULATOR とある赤と黒の端子(穴)を使った刺激である。

定電圧とは、負荷の抵抗が変化しても一定の電圧を出力するというものである。オームの法則から考えてもわかるように負荷の抵抗が変化すると定電圧だと電流が変化する。したがって定電圧刺激では流れる電流が一定でない。勿論、限度があつて、もし負荷の抵抗が小さいと、定電圧にするためには流れ出る電流が大きくなり、機械が出せる電流の限界に達してしまう。

定電流とは負荷の抵抗が変化しても一定の電流を流すということであり、電圧が変化することである。刺激装置からみた負荷の大きさが変わると電圧が変化するが電流は一定であるということである。定電流刺激のときは、定電圧刺激とは逆に、負荷の抵抗が大きいと、電圧が高いことになる。機械に限度があつて最大出力電圧に達してしまつたら、定電流は維持できない。

機械を作成する側からは、定電圧出力装置は容易に作成できるが定電流出力装置は難しいという歴史があつた。現在ではどちらも簡単に作れる。したがって生理学では過去の研究との比較を行うためには定電圧で刺激するのが普通であつた。いまではそのような縛りはない。したがって、刺激装置(PowerLab)の能力に応じて刺激を定電圧にするか定電流にするかを定めることになる。たとえば PowerLab では2発の刺激パルス、その間隔を変化させて、出力できるのは定電圧刺激のほうで、定電流刺激(Isolated Output)の方ではできない。

生理学の講義で学習したことから。

- 1) 坐骨神経は多数の感覚神経、運動ニューロン、交感神経の節後線維の軸索から成る神経である。神経束の中には有髄、無髄の線維が混在している。軸索だけだから、通常の活動電位の伝導方向は結果に関係しない。

2) 遊離した坐骨神経の一端を電気刺激すると、刺激強度に応じて軸索が活動電位を発生する（発火するともいう）。1本1本の軸索は全か無かの法則（All or Nothing）で活動電位を発生する。有随線維のほうが無随線維より低い刺激強度で活動電位を発生する（有随線維のほうが閾値が低い）。有随線維の中でも軸索が太い程、低い強度の刺激で発火する（太いほど閾値が低い）（後述）。

3) 軸索が活動電位を発生するのは、軸索の膜電位が閾膜電位を越える脱分極に達したときである。閾膜電位を越えるか越えないかが全か無かを定めることになる。単一軸索（ニューロン）では活動電位の大きさは、軸索の太さに関係なく同じであるが、発生する電流量は、ナトリウムチャンネルの数の多い＝細胞表面積のおおきい＝軸索が太い神経ほど大きい。細胞外の電極で発生した電位の記録では、電流量の大小で発生電位（電圧）の大小が決まるので軸索の太さの太い神経ほど大きな電位となる。また記録電極との距離が近い程大きな電圧として記録される。坐骨神経からの記録は太さが異なる複数の軸索の興奮の結果である。

1) 刺激部位では何が生じる？

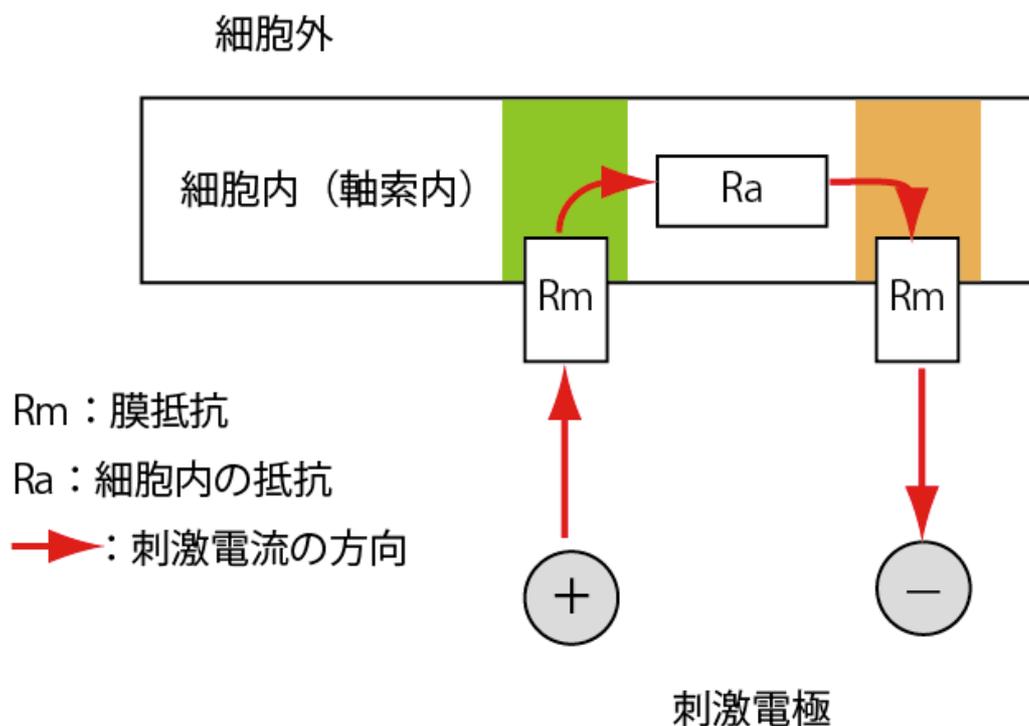


図1. 刺激電流の流れ

軸索に電流を図1のように刺激電極から流す（電気刺激する）と、電流は刺激電極の陽極（+）から陰極（-）へ流れる。この電流のうち軸索を興奮させるのに有効な電流は、細胞膜を通り抜けた電流だけである。陽極から膜抵抗を通して細胞内（軸索内）に電流が流れる。オームの法則：電圧＝電流 X 抵抗 でわかるように、電流と抵抗（ R_m ）との積で電圧が発生する。電流の方向から考えると細胞内のほうが低い電位（マイナス）になる。細胞内はマイナスになっている（静止電位）ので、この電流によって、図1の緑の部分はより過分極することになる。過分極するので図1の緑の部分では、興奮しにくく、活動電位が発生しない。

一方、刺激電極の陰極側では、細胞内に入った電流が、細胞内の抵抗（ R_a ）を通して膜抵抗を通り電流が陰極に流れる。ここでも膜抵抗を介して電流がながれるので電圧が生じる、このときは電流の方向からみて細胞内が細胞外に比べプラスとなる。つまり静止電位であった膜電位が脱分極する（図1のオレンジの部分が脱分極する）。この脱分極電位が閾膜電位を越えると活動電位が発生する。越えなければ発生しない。活動電位が発生するのは刺激電極の陰極に近い部分である。

2) 太い線維のほうが閾値は低い

膜抵抗を作っているのは細胞膜で、軸索のどこの膜でも単位面積あたりの抵抗の大きさは同じである。脱分極の大きさ決めるのは電流の大きさである。図1のオレンジの部分を流れる電流量は細胞内（軸索内）の抵抗と膜の抵抗で決まる。軸索内の抵抗が大きければ流れる電流は少なく、抵抗が小さければ流れる電流が多い。つまり軸索内の抵抗（ R_a ）の大きさを陰極側の膜電位（オレンジの部分）が脱分極する量が決まる。

軸索内抵抗は、軸索内を構成している物質（タンパクやイオン等）で決まり、軸索のどの部分でも、異なった軸索でも差がない。太い電線の方が抵抗が低いのも同じで、軸索が太ければ抵抗が低いことになる。したがって陰極の部分に接している軸索の脱分極量は軸索の太さに依存する。太い軸索ほど、刺激電流

が同じなら脱分極の大きさが大きい。あるいは太い軸索のオレンジの部分で膜電位まで脱分極するための電流は、小さくてすむ。したがって、太い線維のほうが活動電位を発生させるための刺激強度＝閾値は低いことになる。

3) 太い軸索のほうが伝導速度は大きい

活動電位は、細胞内にナトリウムイオンが流れ込む事で発生する。ナトリウムは陽イオンなので、電流が細胞内に流れ込むことになる。

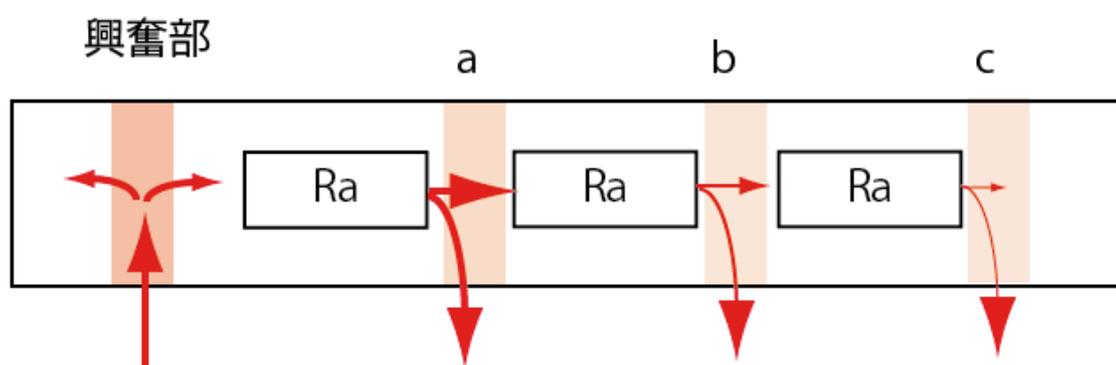


図2. 活動電位の伝導

図2の興奮部で流れ込んだ電流は軸索内の抵抗 (R_a) を通して隣の膜の部分で細胞内から細胞外に流れる。つまり隣(図2の a)の部分では脱分極が生じる。

脱分極の結果、aの部分で活動電位が発生する。同じことが、b、cと隣り合う部分にどんどん伝わり次々に活動電位が発生する部分が移動していくことになる。これが活動電位の伝導である。この活動電位の発生部位が次々に移動する速度より、電流が流れる速度のほうがはるかに早いので、もし軸索内の抵抗が小さく、aよりさらに遠いbの部分で流れる電流が、bの部分で脱分極させるのに十分であれば、aで活動電位が発生するのとほぼ同時にbでも活動電位が発生する。さらに遠いcの部分でも十分な電流量があればcでも活動電位が発生する。つまり一カ所で活動電位が生じたとき、脱分極する量は、距離に、あるいは軸索内の抵抗 (R_a) の大きさに依存することになる。

太い軸索は軸索内の抵抗 (R_a) が小さいのでより遠くの細胞膜を脱分極させることになる。これが太い軸索の方が伝導速度は大きいことの一つであ

る。

さらに、もう一つ理由がある。太い軸索ほど、軸索の細胞膜の表面積が大きいことになる。活動電位を発生させるナトリウムの流入はナトリウムチャンネルである。細胞表面積が大きければナトリウムチャンネルの数が多くなる。つまり太い軸索では興奮部位（活動電位を発生している部分）で流れ込むナトリウムイオンの量が多い＝電流量が多いことになる。興奮部を流れる電流量が多ければ、より遠いところまで、活動電位を発生するために十分な電流量が流れることになる。したがって太い軸索のほうが伝導速度は大きくなる。

図2では無髄の神経線維のように見えるが、aとb、bとcの間が髓鞘で覆われていても同じである。有髄線維の場合、髓鞘（ミエリン）で覆われているところには電流が流れないので、軸索内を通る電流は次の髓鞘で覆われていない部分（ランビエの絞輪）から細胞外に流れ出る。このときも軸索内の抵抗が低ければ、さらに隣のランビエの絞輪のところで大きな脱分極を引き起こし活動電位が発生する。実際にはランビエの絞輪を数個飛ばして活動電位は伝導する。無髄線維にくらべより伝導速度が大きいことになる。無髄線維はもともと軸索の径が小さい。仮に軸索の径が同じであっても無髄線維にくらべ有髄線維の方が伝導速度は大きい。

太い軸索のほうが細胞表面積は大きい＝ナトリウムチャンネルが多い＝電流量が大きいことは、細胞外で活動電位を記録しているとき、太い軸索から大きな活動電位を記録できる理由でもある。筋電図でも同じで大きな筋線維が発生する活動電位は細胞外で記録すると大きな活動電位として記録される。

太い軸索ほど、閾値は低く、伝導速度は速く、細胞外で記録される活動電位は大きい。

伝導速度の測定

尺骨神経の運動ニューロン軸索の伝導速度の測定では2カ所の刺激部位の違いから求めた。カエルの坐骨神経の場合、尺骨神経のときと同様に2カ所の異なる刺激をした場合と、一カ所の刺激で反応潜時から求めた場合と大きな差はあまりない。尺骨神経の場合、反応潜時には、神経伝導時間に加え、神経筋接合部での化学的伝達時間と筋が活動電位を発生するまでの時間が含まれる。したがって2カ所刺激で神経筋接合部での化学的伝達時間と筋が活動電位を発生するまでの時間を差し引いて神経伝導速度を求める必要がある。神経刺激で神経の活動電位の記録から伝送速度を求める場合、神経筋接合部での化学的伝達時間と筋が活動電位を発生するまでの時間はそもそもないので考

慮する必要はなく、刺激電極と記録電極の距離と反応時間から伝導速度を求めてもかまわない。本来は神経が活動電位を発生するための時間が含まれるから2カ所刺激で、尺骨神経のときと同じようにすべきだが、神経が活動電位を発生するための時間は伝導時間にくらべ著しく小さいので無視できるだろう。

神経も筋も興奮部は電流が流れ込む。Naチャンネルが開きNa⁺が流れ込むのが興奮性細胞だからだ。従って非興奮部位と興奮部位の電位差を記録すると興奮部位に電流が流れ込む(sink)のでマイナスになる。皮膚表面から記録する表面筋電図の電極は、最も興奮する細胞が多い(大きい)であろう筋腹にマイナス側の記録電極を貼り付け、プラス側の電極は3cm程度離して、あるいは非興奮部である腱等に貼り付ける。陰極電極に近い部分に電流が流れ込むので、陰極電極近傍がマイナスになる。すなわち電位差の記録はプラスに振れることになる(15ページ 注 参照)。

刺激電極の陰極部で興奮が発生し、最大の興奮は記録電極の陰極部なので、伝導距離は刺激電極の陰極から記録電極の陰極までとする。

4) 観察される活動電位は刺激の強さを変えるとどうなる？

坐骨神経は太さの異なる有髓線維や無髓線維から構成されている。太い軸索ほど、閾値が低く伝導速度が早いので、記録部位では軸索の太さのグループ(群)毎の活動電位が記録される。これを複合活動電位という。坐骨神経内には同じような太さの軸索のグループがあってそのグループの数だけ記録される電位の山の数ができる。刺激強度を増やしていくと、軸索の太い伝導速度の大きいグループの活動電位がまず始めに発生し、そのあと軸索の細い伝導速度の小さいグループの活動電位が記録される。グループ内でも軸索の閾値が少しずつことなるので、グループの活動に由来する電位は刺激強度の僅かな違いで大きさが変化する(図4左)。

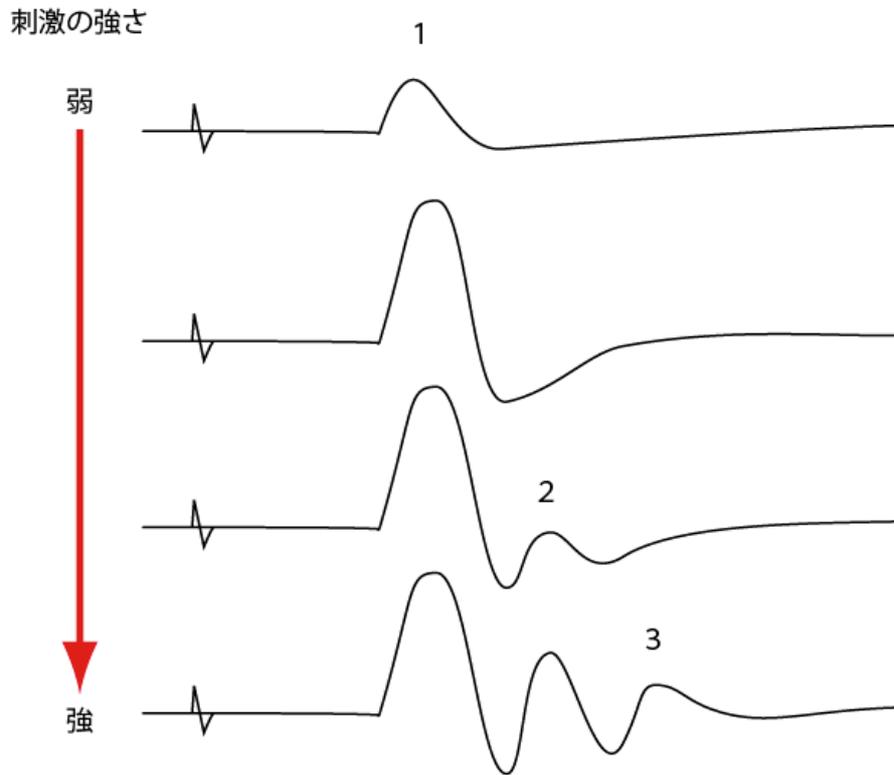


図3. 刺激を次第に強くしていくと
この例では3つのグループが存在することを示している

刺激強度が弱いと閾値の低い太い軸索群が興奮する。閾値の低い太い軸索群の軸索の太さは均一ではないので、その中でもより太い軸索はより低い閾値を持つのでより小さな刺激で興奮する。さらに刺激電極に近い方がより刺激電流が大きいので、より小さな刺激で活動電位を発生する。したがって、軸索の太さで分けた1つのグループ内でも、軸索の太さのわずかな違いと刺激電極からの距離に応じて、活動電位を発生させるので、刺激の強度に応じて、神経から記録される活動電位の大きさは変化する（図4左）。

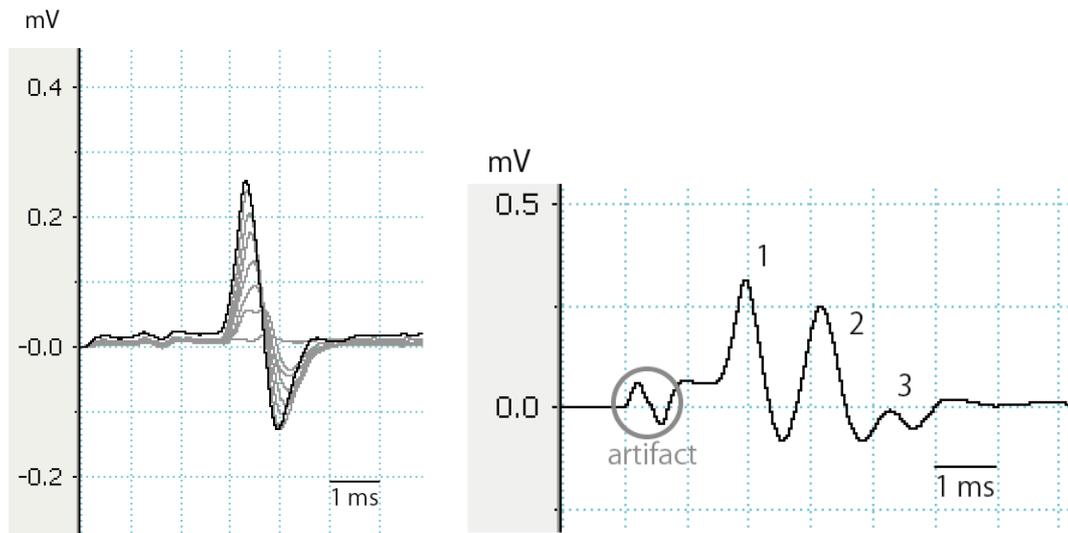


図4．実際のカエル坐骨神経からの記録。左：最も軸索が太いグループ（1）の活動電位、刺激強度の異なる結果を重ね書きにしてある。右：さらに強い刺激強度を与えた時の複合活動電位。artifact とある丸の中の波形は電気刺激が記録されたもので、反応ではない。少なくとも軸索の太さの異なる3つのグループが存在していることがわかる。

さらに刺激を強くすると、最初のグループ（1）のほとんどが興奮するので活動電位の大きさは変わらなくなり、次の太さの軸索群（2）の活動電位が出現する。2のグループは伝導速度が遅いので1の後に出現する。さらに刺激を強くすると3番目のグループの活動が誘発される。軸索の太い線維（閾値の低い、伝導速度の大きな線維）の発生する電流は大きいので、1のグループによる活動電位がもっとも大きい（図4右）。

教科書には「刺激強度を強くしていくと複数の活動電位が発生する」と書いてある場合がある。間違いではないが誤解を招き易い。軸索径の異なる複数のグループで神経束が構成されているので、刺激強度を強くしていくと、複数の活動電位が‘神経束’では出現するのであって、1本の軸索が複数回活動電位を発生するわけではない。

このような**複数のグループの線維（軸索）の活動によって生じた波形を複合活動電位**という。

5) 刺激電極の極性を変えると記録される活動電位はどうなる？

刺激電極のプラス・マイナスを入れ替える（極性を変える、逆転する）とどうなるか。

先に述べたように、刺激電極の陰極（マイナス）側に近い軸索が脱分極し、活動電位を発生させる。陽極（プラス）側は過分極し、活動電位が発生しにくくなる。記録電極に近い方の電極を陰極にするほうが活動電位を記録電極側に伝導させるのに適しているので、実験は図5上のように設定して実施する。

刺激電極の極性を入れ替えると（図5下）陰極側で発生した活動電位が陽極側に伝導してきたとき、陽極に近い部分は過分極しているため、脱分極の大きさが活動電位を発生させる閾膜電位に達せず、陽極側では活動電位の伝導が阻止される。このような場合、記録電極まで過活動電位が伝導してくる軸索がないので活動電位は記録できない。実験に使っている坐骨神経は多数の軸索で構成されているので、陽極側で活動電位の発生が阻止された軸索と阻止されず発生する軸索がでてくる。刺激の大きさに依存してその数が決まる。阻止される軸索が多いと記録電極付近で活動電位を発生する軸索の数が少ないので、記録される活動電位の大きさは小さくなる（図5下黒実線）。

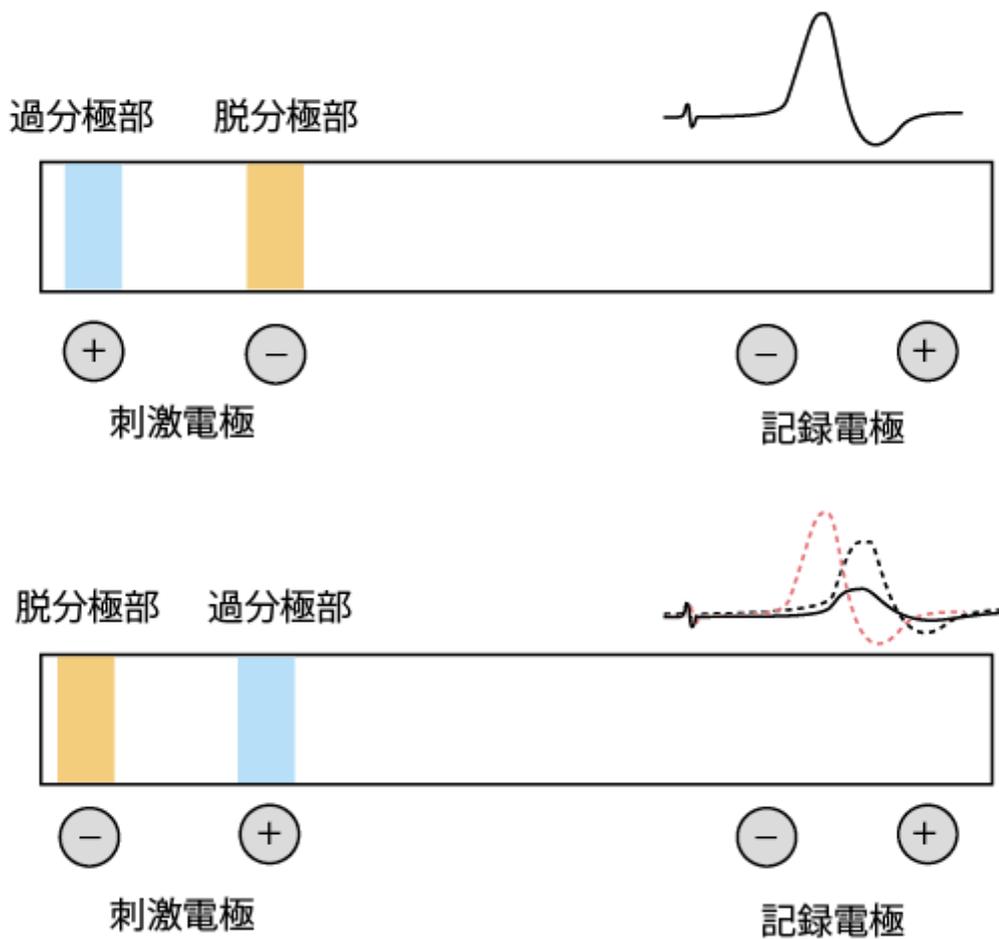


図5. 刺激電極の極性を入れ替える。赤点線は入れ替える前の活動電位。黒線は電極を入れ替えて刺激強度が同じ場合、点線は入れ替えて刺激強度を大きくした場合。

刺激が十分大きいと阻止されない軸索の数が増え、記録される活動電位の大きさが、刺激電極の極性を変える前のときに近くなる。ただし、陽極側の軸索は過分極しているので閾膜電位に達するまでの時間が大きくなり、さらに興奮が始まるのは陰極側なので、刺激電極間の長さ分だけ伝導距離が長くなり、記録部位での活動電位が発生するまでの時間（伝導時間）は大きくなる（図5下、黒点線）。

6) 不応期

続けざまに2回刺激を繰り返すと2回目の刺激に対して、応答（反応）がないあるいはあっても小さいという現象がある。この2回目の応答がないあるいは小さいような期間を不応期という。2回目の刺激に全く応答しない場合、この間隔を絶対不応期といい、2回目の刺激に対して1回目の応答より小さな応答の場合、この刺激間隔を相対不応期という。

1つの興奮性細胞で、このような現象が生じる理由は、ナトリウムチャネルの性質による。ナトリウムチャネルは一度開いてナトリウムイオンを細胞内へ通過させ、細胞内が脱分極する（活動電位が発生する）とその後一定期間、開くことができない（不活性化）。したがって、1回目の刺激で活動電位が発生したあと、2回の刺激間隔が短いと、ナトリウムチャネルは再度開くことができず2回目の刺激に応答できないことになる（絶対不応期）。もう少し、間隔が長いと、一部のナトリウムチャネルが不活性化から脱して、再度開くことができる。このような不活性化から脱したチャネルの数で、2回目の刺激に対する脱分極の電位の大きさが決まる。つまり時間が経過するにしたがい、より多くのナトリウムチャネルが不活性化から脱するので、より多くのチャネルが開く＝より大きな電流が流れるちということになる。間隔が十分長ければ、全てのチャネルが開くことができるので、1回目の反応と同じ大きさの反応が生じる。

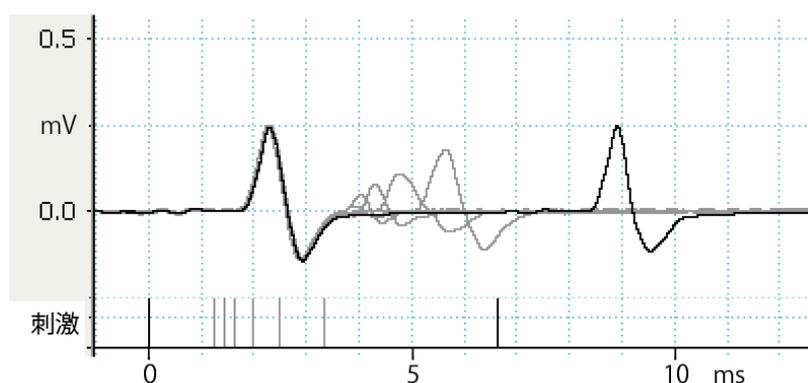


図6. 間隔を変えて2発の刺激を与えたときの反応。様々な間隔で2回刺激した結果を重ね書きしてある。下の刺激は刺激パルスを与えた時を示している。0 ms時に1回目の刺激が与えられている。

カエルの坐骨神経の場合は、個々の軸索が絶対不応期、相対不応期にあることに加え、その複数の軸索の活動の総和として活動電位の大きさが決まるので、軸索の数も活動電位の大きさに反映してくる。つまり、ある軸索は不応期から脱していても、他の軸索は絶対不応期にあった場合でも、坐骨神経に誘発された活動電位が相対不応期にあるように見えることになる。

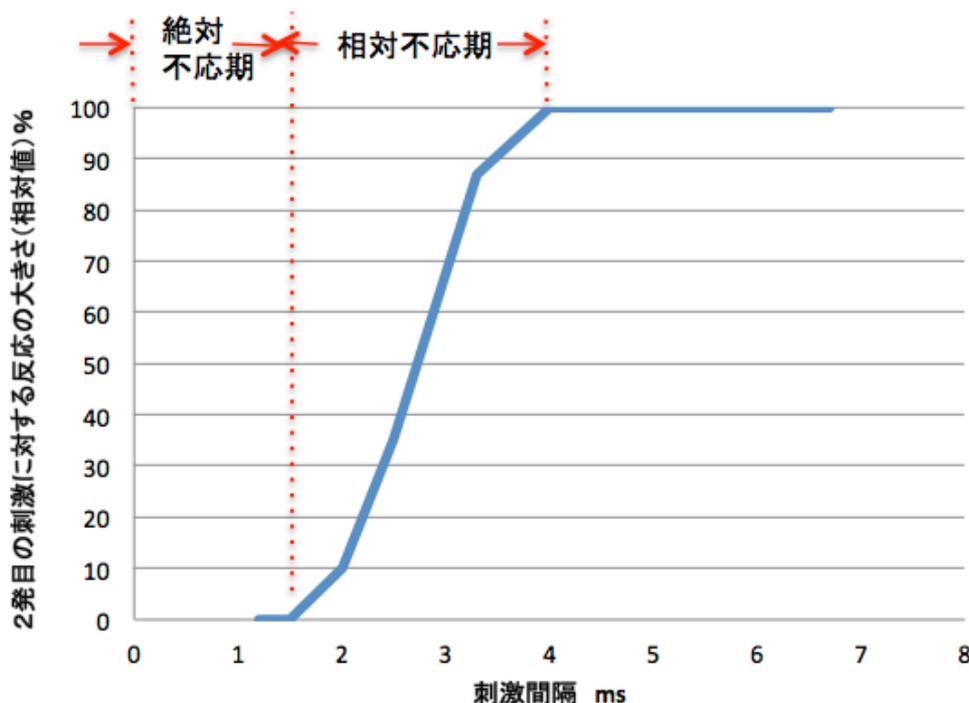


図7. 不応期。1発目の刺激に対する反応の大きさを100%として2発目の刺激に対する反応の大きさを縦軸に、刺激間隔を横軸にした。

7) 記録電極の刺激電極から遠い方の軸索の活動電位の発生を阻止したら記録される活動電位の形はどうなる？

記録される活動電位（複数の軸索の束から得られる電位；複合活動電位）の形を考えてみる。単純にするため、最初のピークだけについて考える。今、記録電極の陰極を刺激電極側（伝導してくる側）に設定したとする。

記録は記録電極間で陽極の電位が陰極に比べより電位が高い（よりプラスになる）と（あるいは、陰極の電位がよりマイナスになると【注1】）上に振れるように行う。

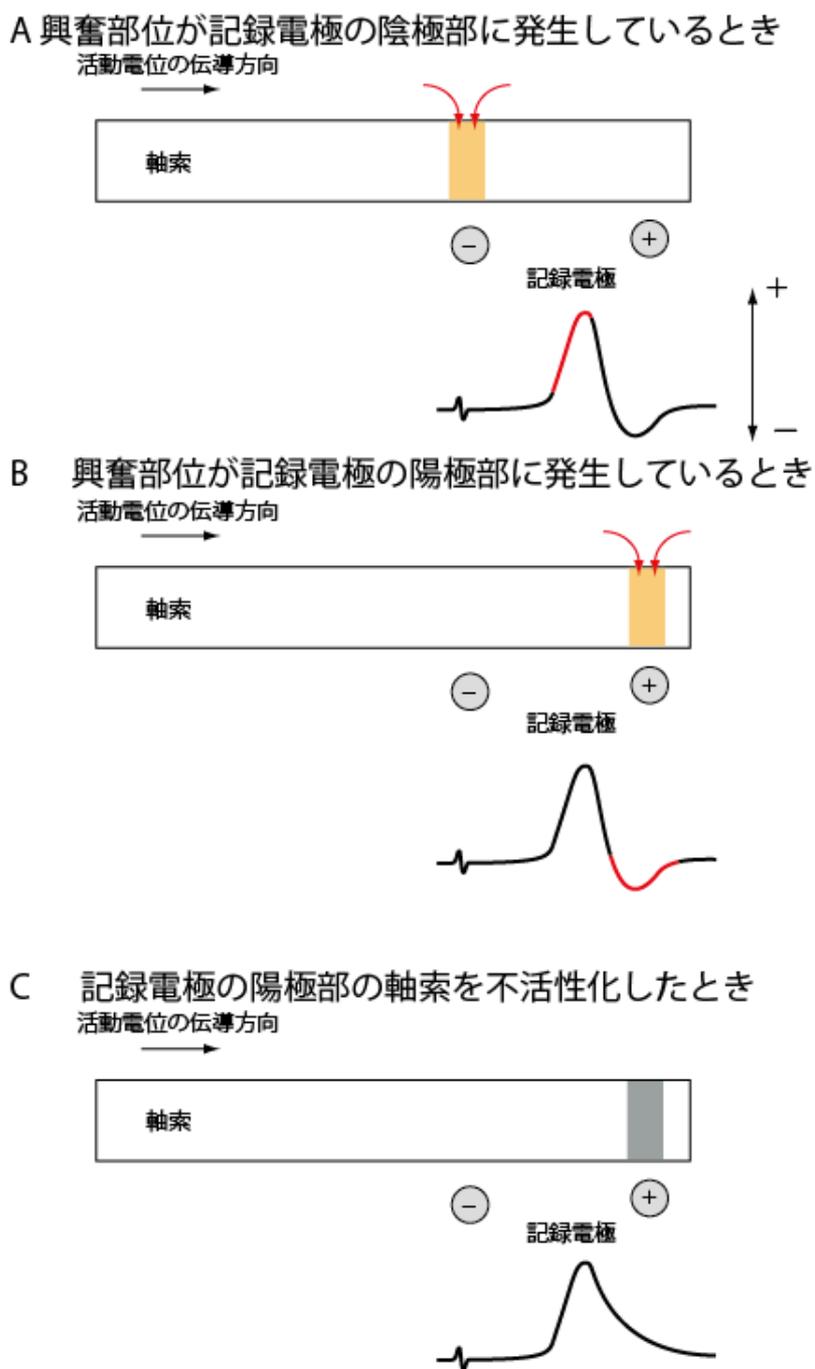


図 8. 刺激電極から遠い部分の軸索を不活性化させたとき

興奮部は、電流が周りから流れ込むので他の部位（+の記録電極を含む周囲）に比べマイナスになる。つまり陽極側がよりプラス、陰極部がよりマイナスになる。したがって記録では波形が上昇して行く部分に相当する（図8A、活動電位の赤の部分）。

次に興奮が伝導して陽極に近い部分が興奮すると陽極の部分がよりマイナスになり、記録される電位は逆転する（図8B、活動電位の赤の部分）。つまり波形は最初プラスに次にマイナスに変化する。このような波形を一般に二相性（biphasic）であるという。もし完全に陰極側と陽極側が対称的であればプラスに振れる部分とマイナスに振れる部分の大きさが同じになるはずだが通常マイナスに振れる方が小さい事が多い。

刺激電極から遠い電極（+の電極）を半田ごてで熱くし、電極に触れている神経の部分のタンパクを凝固させ、ここのナトリウムチャンネル等が働かないようにする（不可逆的不活性化）と、この部分では活動電位が生じない。つまりマイナスに振れる部分がなくなり、電位変化は陰極側で生じた活動電位による電位のみ記録されることになる。つまり、上に振れるだけの波形（単相性、monophasic）になる。

興奮性細胞の近傍に電極を置くと、興奮部に電流が流れ込む＝興奮部は周囲に比べマイナスになる。

【注1】電池1個の電圧を測定したら 1.5 V だった。

電池のプラス側にもう一つの電池を直列に加えても（下図右、プラス側をよりプラスにする）、マイナス

側にもう一つの電池を直列に加えても（下図左、マイナス側をよりマイナスにする）、合計の電圧は 3V で同じでしょ？

