研究

膜電位の光学的測定法を用いた巡回性頻拍の研究

沢登 徹* 平野裕司* 広田秋彦**

膜電位感受性色素メロサイアニン・ローダニン色素 (Dye XVIIや NK2761) を用い、巡回性頻拍につき検討した。蛙心房のリング状標本の異なる 8 カ所より興奮波を光学的に同時記録を行い、 Ca^{2+} free 液下で活動電位持続時間を短縮するためアセチルコリン (Ach) を用いた。その結果比較的低濃度 Ach ($10^{-10} \sim 10^{-9}$ g/ml) で標本の約 60% に頻拍を生じさせ得た。頻拍を発生させる要素には 1) 持続時間が適当に短縮すること 2) 特に近接領域に持続時間の不均一が生じること 3) これらの領域に期外刺激を与えることが重要であった。発生した頻拍の初期は beat 間隔の不規則が目立ち、以後その不規則は消失した。自発的に停止する場合突然であるが、その前に beat 間隔の動揺を示す場合であった。期外刺激で停止する場合、先行周期の 47~78% の間に刺激が与えられた時であった。

A study of circus movement tachycardia using potentiometric dyes Tohru Sawanobori*, Yuji Hirano*, Akihiko Hirota**, *Department of Cardiovascular Diseases, Medical Research Institute **Department of Physiology, Tokyo Medical and Dental University

Re-entry の一種 circus movement は Mayer¹⁾ のクラゲを用いた実験で初めて示された。哺乳動物の心臓でも、その後証明され、この概念は今日临床上各種不整脈の成因に考えられている²⁾。この概念および特徴を明らかにするため、今日まで種々の方法、すなわち数百カ所に及ぶ部位からの細胞外記録³⁾⁴⁾や微小電極による多数カ所からの記録が行われてきた⁵⁾。ところが活動電位発生後に生じる振動様電位からの Triggered activity⁶⁾が異常自動能としてクローズアップされた。しかもこの異常自動能が単発刺激で誘発され、また単発刺激で停止させられる事実は逆に re-entry との区別を困難にしている。それゆえこれらとの鑑別には膜電位をモニターすることが有利であ

る。最近光学的膜電位測定法が導入されて種々の組織で多数カ所より同時記録ができるようになった^{7)~9)}。我々はこの方法を不整脈に応用し、特に巡回性頻拍の発生とその特長を調べることを目的とした。

I. 方 法

食用蛙を麻酔ないし pith し、心臓を速やかに摘出・塩類溶液下で心房のみとし、図 1 に示すリング状標本を作成した。静脈洞および A-V リングを切除し、刺激が与えられなければ拍動しない標本とした。塩類溶液の組成 (mM) : NaCl 118, KCl 3.0, CaCl_2 1.8, グルコース 5.5, トリスクロライド

(1983年 7 月 14 日 原稿受領)

*東京医科歯科大学難治疾患研究所循環器病部門

**東京医科歯科大学医学部生理学教室

(〒113 東京都文京区湯島 1-5-45)

Keywords

Optical recording of action potential
Voltage-sensitive dye
Circus movement tachycardia
Initiation and termination of tachycardia

図1 蛙心房標本(A)とそのシエーマ(B)
 右シエーマの点線：静脈洞および房室輪のペースメーカー領域の切除を示す。
 黒丸と数字：8本のライトガイドの位置
 Aにおける横棒：1 mm

10, で PH は7.4に調整された。動きを減じるため CaCl_2 のみ除き Ca^{2+} free 液とした。不応期や活動電位持続時間を変化させるためアセチルコリン (Ach) ($10^{-10} \sim 10^{-7} \text{g/ml}$) + フィズスチグミン (10^{-6}g/ml) が Ca^{2+} free 液に加えられた。膜電位感受性色素としてメロシアン・ローダニン系色素 Dye X VII¹⁰⁾ および NK2761¹¹⁾ (日本感光色素研究所, 岡山) を用いて, それぞれ 1.0 mg/ml, 0.1 mg/ml の濃度で標本を15分間室温で刺激を与えずに染色した。染色後は速やかに Ca^{2+} free 液で過剰色素を洗い流し, 容器をオリンパス・Vanox 顕微鏡 (Type, AHB-LB-I, オリンパス) のステージに固定, 標本の辺縁に直径 50μ の双極刺激電極を置いた。刺激装置 (ME2100 と ME6200, エム・イー・コマーシャル) により 1 Hz で閾値の2倍の刺激を与えた。プログラムされた刺激は基本刺激 1,000 msec で3拍刺激後, 種々の連結期の期外刺激を用いた。膜電位の光学的測定は藤井ら⁸⁾, 広田ら¹³⁾ に記載されている。すなわち標本は5~10倍に拡大され, その実像面にできる被検体の像の所定の部位にフォトダイオード (Bell 2 Howell, Type 509-10, Bridgeport, USA) に接続したライトガイド (直径 4 mm) 8本を置き (図1, 黒丸と数字), 被検体からの透過光量の変化を得る。その際色素は波長依存性¹²⁾を示し, 最大シグナルが得られる干渉フィルター $700 \pm 11 \text{ nm}$ を通して行われた。そ

してフォトダイオードの出力を I-V 変換後増幅して, その出力を RC フィルター ($\tau = 10 \text{ msec}$) を通してオシロスコープ (Tektronix 5113, Beaverton, Oregon, USA) に描記しボラロイドカメラ (C-5B Tektronix, Beaverton, USA) で撮影するとともにエル・カセット・データ・レコーダー (FE3000 シリーズ, ソニー) に集録した。膜電位記録は従来の微小電極法に従った。

II. 結 果

1. 光学的シグナル持続時間と伝導速度

図2-Aは被検体からの興奮時の透過光量の変化と同時記録の活動電位を示した。光シグナルの波形は活動電位の時間経過によく一致した。光シグナルの持続時間はその立ち上り時点から終るまでの時間として求められた。その平均値は $491 \pm 97 \text{ msec}$ ($n=10$), 活動電位持続時間のそれは $441 \pm 80 \text{ msec}$ ($n=10$) で, 光シグナルの方が長い両者間には有意差はなかった。右は早い掃引でみた光シグナルと活動電位の立ち上りであるがその速度は前者は後者に比べ遅く, また立ち上り時点も遅かった。用いた色素の反応時間は $30 \sim 50 \text{ msec}$ ¹⁰⁾ と短いので, 立ち上り速度の遅れは色素そのものではなく, 光シグナル増幅後, 記録の手前に用いたローパスフィルター ($\tau = 10 \text{ msec}$) を介して記録したことおよび光シグナルが単一細胞の膜電位を観

察しているのではなく、多数細胞の立ち上りの平均をみているためと考えた。光シグナルの立ち上がり時点が活動電位のそれに比べ遅れているが、10例中3例で同時点を示した。このずれは0~5 msec (平均 2.7 msec) であった。この遅れは光シグナルの記録領域内のどの部位に電極刺入が行われるかが関係した。そこで興奮到達時点を推測する目安として光シグナルの立ち上がり時点を選び伝導速度を求めた。標本は平行に走る筋束、それを連絡する筋束とでメッシュ状をなすが、心筋束上にライトガイドを一直線上に並べ同時記録した。図2-B右に記録を示した。記録1を距離0とし各ライトガイド中心までの距離と伝導時間の関係をプロットした。伝導速度は直線の勾配の逆数で示され、この例では0.29 M/秒、5例の平均は 0.25 ± 0.1 M/秒であった。リングの一部を切断し、一方向伝導を行う状態として、リングを一周したときの興奮波の伝導時間と電極間距離より求めた平均伝導速度は 0.21 ± 0.1 M/秒 ($n=4$) と心筋束上で得られた伝導速度にはほぼ一致した。一般に興奮波が巡回する径路の長さは伝導速度と不応期との積より求められる。用いた標本で必要とする巡回径路を伝導速度と持続時間より計算すると約13 cmとなった。実際の標本の大きさからの径路は3~5 cmであり、この状態下では巡回の発生は困難であった。従って興奮巡回を発生させるためには活動電位の持続時間を短縮させるか、あるいは伝導速度を遅くすることが必要である。

2. 光シグナル持続時間に及ぼす Ach の効果

図3は種々の Ach 濃度における光シグナルの変化を示した。Ach 使用により速やかに持続時間は短縮し、4~5分後には安定した。Ach 10^{-6} g/ml (図3-b)ではコントロールに比べ持続時間は短縮し、点線で示すごとく記録部位により光シグナル終了時点はばらついてみられた。しかし濃度を上げると持続時間はさらに短縮するが、かえって終了時点のばらつきは少なくなった。(図3-c,d)。Ach 洗浄後は持続時間は回復して、終了時点のばらつきは残った。表1は各条件下の持続時間の変化をまとめたものである。左房と右房で持続時間を比較すると左房の方が持続時間は長いが統計的には有意差は示さなかった。標準偏差は標本毎のばらつきおよび同一標本でのばらつきを表現していると考え、Ach 濃度を上げると持続時間は

図2 蛙心房の吸光変化と活動電位の同時記録(A)と伝導速度(B)

標本はメロサイアニン・ローダニン色素 (dye XVII) で15分間染色、 Ca^{2+} free 液下30分後

A a : 700±11 nm の干渉フィルターを介した準単色光での記録

b : 微小電極で記録された活動電位 両者の時間経過はよく一致し、光シグナルの立ち上がり時点は活動電位のそれに比べ僅かに遅れている。

B 右挿入図：心房束上一直線に置かれた7本のライトガイドより得られた記録

記録1を0として求めた距離と伝導時間をプロットしてある。

この例の伝導速度は0.29 M/秒である。

有意に短縮を示したが、標準偏差をみると Ach ($10^{-8} \sim 10^{-7}$ g/ml) の値に比べ Ach ($10^{-10} \sim 10^{-9}$ g/ml) で大きな値を示した。このことは比較的低濃度の Ach の方が持続時間のばらつきを示す。以上のごとく Ca^{2+} free 液下で Ach を用い持続時間を変化させ得た。各 Ach 濃度における心筋束での伝導速度の変化を図2で示した方法で比べた。 Ca^{2+} free 液下 0.24 ± 0.02 M/秒 ($n=6$) Ach 10^{-10} g/ml 0.24 ± 0.03 M/秒, Ach (10^{-9} g/ml) で 0.24 ± 0.03 M/秒, Ach (10^{-8} g/ml) で 0.23 ± 0.02 M/秒, Ach (10^{-7} g/ml) で 0.20 ± 0.03 M/秒, Ach 洗浄後

表1 Ca^{2+} free, Ach 共存下, Ach洗浄後における光学的シグナル持続時間

	Ca^{2+} free	+ Ach 10^{-10}g/ml	+ Ach 10^{-9}g/ml	+ Ach 10^{-8}g/ml	+ Ach 10^{-7}g/ml	Ach avash Ca^{2+} free
記録場所	53	21	22	18	18	56
右房 OSD (msec)	437 ± 154	182 ± 55	115 ± 46	87 ± 41	72 ± 17	318 ± 150
記録場所	51	19	18	13	18	56
左房 OSD (msec)	486 ± 160	194 ± 57	135 ± 73	98 ± 39	84 ± 23	359 ± 205

OSD: 光学的シグナル持続時間

図3 Ca^{2+} free 液, 種々濃度の Ach 共存下および Ach 洗浄後における光シグナルの同時記録, 点線は光シグナルの終了時点を示す。

A: Ca^{2+} free B: Ach 10^{-10}g/ml C: Ach 10^{-9}g/ml D: Ach 10^{-8}g/ml
E: Ach 洗浄後

光シグナルの持続時間は Ach 濃度に従い短縮し, 終了時点のばらつきは逆に少なくなっている。Ach 洗浄後は持続時間は回復し, 終了時点のふぞろいがみられる。矢印の方向と大きさ: 吸光変化の減少と変化した強度を背景光の強度 (静止電位の状態) で割った fractional change を示す。標本は色素 NK2761 で染色されている。

は $0.23 \pm 0.03 \text{ M/秒}$ で Ach (10^{-7}g/ml) で伝導速度は抑えられ, Ach 洗浄後は回復した。Ach による伝導速度の変化は $\pm 20\%$ 以下であった。そこで各条件下で期外刺激法による頻拍の発生頻度をみた。 Ca^{2+} free 液では 4.5% (1/22), Ach 10^{-10}g/ml では 60% (3/5), Ach (10^{-9}g/ml) では 58.3% (7/12), Ach 10^{-8}g/ml では 42.9% (3/7), Ach 10^{-7}g/ml では 33.1% (1/3), Ach 洗浄後は 35% (7/20)

を示した。Ach 使用により持続時間は短縮し, 頻拍の発生頻度は増加した。それも比較的低濃度の方が有効であった。また Ach 洗浄後は光シグナルの持続時間は回復するが Ca^{2+} free 液下より頻拍の発生頻度は高かった。この場合頻拍がみられた例とみられなかった例の持続時間を比較すると前者では平均 282 msec , 後者では 402 msec で明らかに頻拍発生例で短かく, 前者は後者の約 70% 程

度を示していた。図4はCa²⁺free Ach使用, Ach洗浄後の同一標本での実例を示した。Ca²⁺free液下では持続時間終了の軽度のばらつきを示してはいるものの, 種々の連結期の期外刺激を与えても頻拍は発生しなかった。Ach10⁻⁹g/ml使用で持続時間は短縮かつばらつきを示し, 連結期140 msecの期外刺激を与えることで頻拍が発生した。Ach洗浄後は持続時間は延長し, 連結期200 msecの期外刺激で頻拍は再び発生した。

3. 頻拍の発生状態

図5は頻拍の発生状態を示した。Ach共存下連結期160 msecの期外刺激を記録部位1と8領域の間に与えた。その早期興奮は3方向に伝導せず, それと反対方向に進み, *印の所で頻拍への移行を示した。頻拍が発生した標本を調べてみると期外刺激は光シグナル持続時間に差を有する領域に与えられていた。そこで各標本の刺激電極近傍2カ所の持続時間の差と持続時間の比を調べた(図6-I, II)。持続時間の短い方をa, 持続時間の長い方をbとすると, Ca²⁺free液では持続時間の差(b-a)は0~125 msec(平均54 msec)を示したが頻拍の発生をみると1例に過ぎなかった。持続時間の比(a/b)では2例を除き0.8以上を示した。頻拍を生じた1例をみると持続時間の差(b-a)は31 msecで持続時間の比a/bは0.92を示したが持続時間は332 msecと比較的短かった。Ach共存下でb-aおよびa/bを調べると頻拍発生例で56.6±36.9 msec, 0.64±0.16, 頻拍の発生をみなかった例で23.2±23.3 msec, 0.82±0.14を示した。両者間ではいずれも, 有意差(P<0.02, P<0.01)を示した。すなわち持続時間の差が大きく, 比が小さい状態で頻拍は発生しやすかった。Ach洗浄後をみると, b-aでは頻拍発生例と非発生例の間には有意差を示さなかったが, a/bは頻拍発生例で有意(P<0.05)に小さかった。以上のことは持続時間に差のある部位に刺激を与えることが一方向性ブロックを生じやすく, 頻拍発生に有利である。その場合興奮波が巡回したときにその場所の興奮性が回復していることが重要で, この関係が持続時間の比として表わされており, 0.8以下は頻拍発生に有利であった。

4. 巡回性頻拍のrateと終息

リング状標本で基本刺激による興奮波の伝導速度は0.29 M/秒であるのに対し, 頻拍発生後の興

図4 各種条件下で期外刺激による巡回性頻拍の発生

- A: Ca²⁺free液下, S₁は基本刺激, S₂は期外刺激, 種々の連結期でS₂を与えても頻拍はみられない。
- B: Ach10⁻⁹g/ml共存下, 持続時間は短縮。連結期140 msecのS₂で頻拍の発生がみられている。
- C: Ach洗浄後, 持続時間は回復, 連結期200 msecのS₂で頻拍は発生している。

奮波のそれは0.09 M/秒を示し, 約68%の減少を示した。頻拍が発生した後のbeat間隔の変化を図7に示した。Aは頻拍発生初期の状態, B, C,

図6 種々条件下旋回性頻拍 (CMT) の有無と刺激電極近傍の光シグナル持続時間の差および比の関係
○: 頻拍発生例
●: 頻拍がみられなかった例
a: 短い方の持続時間
b: 長い方の持続時間

Dはそれぞれ50拍目, 100拍目, 200拍目を示した。8カ所で記録されているがbeat 間隔は初期では一定せず, 記録部位 6, 7, 8では1拍目が短く, その後急に長くなり, 逆に4では最初長く, 2拍目はかえって短く記録部位での変化が大きかった。それにもかかわらず頻拍が進行するに従い, B, C, Dに示したようにbeat 間隔は点線のごとく, いずれの記録場所でもほぼ一定となり, しかもその間隔はC, Dの段階で拍動数に対する変化を示さなくなった。以上のことは頻拍発生初期は旋回性興奮波が不安定な複数経路を通るが, 頻拍が進行するに従いある優位経路を旋回するようになる。図7-IIはbeat 間隔とbeat 数の関係を300 beat 以上続いた8例でまとめたものである。8例中5例で頻拍発生初期に動揺を示した。ここでは8カ所のうちの1カ所を選び, しかも初期の点は

図7 頻拍発生後のbeat 間隔の変化
上段は実例を示す。A: 頻拍の初期
B: 50拍目 C: 100拍目 D: 200拍目 点線は興奮波の進行を示し, 点線の間はbeat 間隔を表わす。横棒: 200 msec
下段は8標本のbeat 間隔の変化
●は前後数拍の平均値, beat 間隔は頻拍進行とともに増加, 100拍目から200拍目でプラトーに達する。

図5 旋回性頻拍の発生初期状態
標本はNK2761で染色, $Ach10^{-9}g/ml$ 共存下, 右模式図は記録部位と刺激電極の位置を示す。連結期160 msecの期外刺激 S_2 による興奮波は2より先でブロック, 7の方向に伝播し, *印で旋回波が生じ頻拍に移行している。

図8 期外刺激による頻拍の終息
 ●：頻拍出現後期外刺激により停止した場合
 ×：期外刺激により頻拍停止がみられない場合
 縦軸：刺激を与えた時期の先行周期間隔
 横軸：光シグナルの立ち上がり時点より刺激まで
 点線で囲まれた範囲内で頻拍は停止

8カ所での変化の平均をとった。50拍以後は1カ所の記録で3拍間の平均を示した。いずれの例もbeat間隔は頻拍進行とともに増し100~200 beatでプラトーに達した。初期とプラトーに達したときのbeat間隔の差をみると45~100 msec (平均72 msec)であった。以上のことは旋回性径路が著しく変わらない状態では、この現象は一つの旋回性頻拍の特長と思われる。

頻拍は適当な時間と与えられた期外刺激で停止する。図8は同一標本で連結期190 msecの期外刺激を与えることにより頻拍が生じ、50拍以上続いたときに期外刺激を適当な timing で与え停止させた。繰り返し、ほぼ同じ type の頻拍を発生できたこの例で、先行周期と刺激が与えられた間隔との関係を示した。●印で示す時期に刺激が与えられると頻拍は停止した。それはこの時期に与え

た刺激が旋回径路の一部を興奮し、その領域を不応期とし、旋回波がこの部に侵入することができず旋回波は停止したと思われる。停止させ得た範囲は2つの点線の内側であった。4例の平均では先行周期の47~78%の範囲であった。×印は期外刺激が与えられても旋回は停止しなかった。1例では停止範囲を越えた所で与えた刺激が旋回波をresetし、逆方向に数拍続いて自然停止または旋回を続ける状態が観察された。頻拍はまた刺激によらず自発的にも停止する。その場合停止前に beat 間隔を変化させずに突然停止したもの9例、停止前 beat 間隔が動揺して長い間隔のときに停止したもの4例、逆に短い間隔の所で停止したもの4例であった。また同一標本で自然停止および頻拍維持がみられた場合(図9)をみると、自然停止の場合その停止前に beat 間隔が動揺する時期がみられた。頻拍が維持された場合、この beat 間隔の動揺が示された時期には一定した beat 間隔を示していた。頻拍の維持、自然停止の条件は明らかではないが、僅かな不応期の変化や伝導速度の変化が関係すると思われる。

III. 考 察

今回の仕事の結論の一つは旋回性頻拍を光学的にモニターできたことである。頻拍が旋回性であることは以下の事実によった。すなわち1)興奮波がリング標本を一定方向に進行する。2)頻拍は期外刺激一発で出現しまた停止した。3)適当な間隔の連結期を有した期外刺激を与えることで頻拍を繰り返し誘発できた。4)リングの一部を切断すると頻拍の出現が抑制された。

この光学的膜電位の測定は神経¹⁰⁾や心筋¹⁴⁾での電圧固定実験により光学的シグナルが膜電位変化に対し直線的に変化することが示され、しかも細胞内記録で得られる活動電位の時間経過に一致した光学的シグナルが得られる¹⁰⁾¹⁴⁾¹⁵⁾ことに基づいている。その際問題は光シグナルはある領域内に含まれる細胞群の活動をモニターしているのに対し、微小電極はその中の1個の細胞の変化を表わす点にある。しかし記録領域内がほぼ同じ活動電極波形を示し、伝導速度0.3 M/秒を有する場合であれば、今回用いたライトガイド(直径4 mm)の記録領域内端から端に到る迄の活動電位立ち上りの遅れおよび活動電位終了の遅れは数 msec に過

図9 頻拍の自然停止

同一標本で繰り返し頻拍を発生している例

矢印と数字：頻拍の停止場所とそのときまで続いた beat 数

○：頻拍が維持されている場合

○●×：いずれも自然停止

自然停止の際、停止前に beat 間隔の動揺がみられている。

ぎない。すなわち光シグナルの波形と活動電位波形とはほぼ一致する(図2)。光シグナルの立ち上りや再分極の速度は活動電位のそれより遅れを示す¹⁴⁾。また電気的活動が0.7~1.2 msec 先行する⁹⁾報告はみられるが差は少ない。光シグナルの立ち上りが活動電位のそれに比し著しく遅い(図2)理由に色素の反応時間が考えられるが、用いた色素の反応時間は30~50 μsec ¹⁰⁾といわれておりこれでは考えにくい。僅かな差は多細胞でのシグナルの averaging による¹⁴⁾かもしれないが、光シグナル増幅後に用いたローパスフィルター($\tau=10$ msec)の関与が大きい。光シグナルの立ち上り時点と活動電位の立ち上り時点の関係は微小電極が記録領域内のどこに刺入されるかが重要である。我々の場合立ち上り時点は光シグナルが活動電位に比べ0~5 msec の遅れを示した。興奮到達時点を推測するのに光シグナルの立ち上り時点を用いた。これで測定した Ca^{2+} -free 液下の伝導速度は0.25~0.29 M/秒で、微小電極との比較でもほぼ一致

し¹⁶⁾、Salama ら¹⁷⁾は光学的に測定した蛙での伝導速度を0.23~0.35 M/秒と報告している。この伝導速度は頻拍出現後約 $\frac{1}{2}$ に減じた。この減少の一部は刺激間隔の急激な短縮すなわち1,000 msec より約200 msec が関係する。山岸と佐野¹⁸⁾は刺激間隔を330 msec から100 msec に変えることで伝導速度が45%減少する報告や頻拍出現後の dv/dt 観察でもその大きさを次第に減じている¹⁹⁾。このこと以外にも頻拍経過後の細胞内抵抗の増加²⁰⁾や細胞外に蓄積した $\text{K}^{21)}$ などが作用すると思われるが今のところ確証はない。これらが頻拍発生後 beat 間隔を次第に延長させ、頻拍進行後にプラトーに達する現象を説明すると考えられる。リング状標本に限らず、心房シート標本³⁾でもこの経過が示されていることはこの現象は巡回性頻拍の一つの特徴といえる。しかし頻拍発生初期はしばしば beat 間隔は不規則となる。30~50 beat 以後その不規則が消失する。このことは巡回経路は初期には固定されず、巡回が進むに従い優位経路をと

る。またこの経過中先行周期間隔が長いときには伝導時間が短かく、beat 間隔が短いときには伝導時間が長くなり、房室結節の二重径路を利用した旋回性頻拍の交互性変化²²⁾に似た現象もみられた。これは標本上に不応期や伝導速度の異なる径路の存在を示唆するが確証はない。

旋回性頻拍の発生条件にはすでに1) 不応期の不均一、2) 遅い伝導、3) 一方向性ブロックの存在が指摘されている。標本では Ca^{2+} -free 液下で持続時間が長くて頻拍は発生しにくい、Ach を用い持続時間を適当に短縮し、その上持続時間に差を生じさせたことが頻拍発生を容易にしている。従って我々の標本でも1) 旋回径路に合った持続時間(不応期の代り)と伝導速度が必要、2) 光シグナル終了時点の不均一、3) 一方向性ブロックの出現が重要である。Ach は家兎や犬の心房で不応期の不均一を生じる¹⁹⁾²⁴⁾が、この不均一も Allesie らによれば近接領域に11~16 msec の差があれば期外刺激による一方向性ブロックが生じ得るという。我々の場合400~800 μ 離れた近接領域間の持続時間の差を比較しているが、頻拍を生じた例では刺激の連結期と持続時間の関係で、45°の直線で短い持続時間と長い持続時間とを分けることができた(今回発表していない)。すなわち適当な連結期の刺激により一方向性ブロックが生じることが示し、持続時間の差は一方向性ブロックを生じるかどうかをみる場合の指標となり得る。もし記録領域内でブロックが生じた場合、光シグナルの肩にスパイクないしノッチがみられる可能性がある¹²⁾。

発生した頻拍が旋回性であることは上記によっても明らかであるが、triggered activity を否定する必要がある。この標本では刺激停止後振動性後電位がみられなかったことや振動性後電位は低CaやCa遮断剤で抑制される²⁴⁾がこの条件下でも頻拍が発生していることは頻拍発生がtriggered activity によるという考えは否定的である。最後に Allesie ら³⁾は解剖学的障害部のないシート標本で旋回性頻拍の発生をみている。リング状標本のリングの一部を切断した場合、期外刺激により頻拍の発生はみられず、10例中1例で1~2拍のextra beatsがみられている。また左右各心房シート標本で期外刺激を与えたが頻拍の発生はみなかった。このことは心房シート標本で頻拍の

可能性は完全には否定できないが、今回の方法ではきわめて稀と思われる。臨床的に観察され、旋回性頻拍として認められてきた特長を実験的に示し得たが、さらに詳細に検討するにはさらに多くの部位より記録することが必要となろう。

本研究は文部省科学研究費助成(56570326, 57570338)および総合研究A委託による。また研究の場を与え、助言を下さった第2生理学教室神野耕太郎教授ならびに教室員の方々に感謝します。

[文 献]

- 1) Mayer AG: Rhythmical pulsation in scyphomedusae Part II. Papers Tortugas Lab Carnegie Institution of Washington 1:115, 1908
- 2) Hoffman BF & Rosen MR: Cellular mechanisms for cardiac arrhythmias. Circ Res 49: 1, 1981
- 3) Allesie MA, Bonke FIM & Schopman FJG: Circus movement in rabbit atrial muscle as a mechanism of tachycardia. Circ Res 33:54, 1973
- 4) Boineau JP, Schuessler RB, Mooney CR, Miller CB, Wylds AC, Hudson RD, Borremans JM & Brockus CW: Natural and evoked atrial flutter due to circus movement in dogs.
- 5) Janse MJ, Van Capelle FJL, Freud GE & Durrer D: Circus movement within the A-V node as a basis for supraventricular tachycardia as shown by multiple microelectrode recording in the isolated rabbit heart. Circ Res 28: 403, 1971
- 6) Ferrier GR, Saunders JH & Mendez C: A cellular mechanism for the generation of ventricular arrhythmias by acetylcholine. Circ Res 32: 600, 1973
- 7) Grinvald A, Cohen LB, Leshner S, & Boyle MB: Simultaneous optical monitoring of activity of many neurons invertebrate ganglia using a 124-element photodiode array. J Neurophysiol 45: 829, 1981
- 8) Grinvald A, Mankner A & Seagal M: Visualization of the spread of electrical activity in rat hippocampal slices by voltagesensitive optical probes. J Physiol 333: 219, 1982
- 9) Dillon S & Morad M: A new laser scanning system for measuring action potential propagation in the heart. Science 214: 435, 1981
- 10) Ross WN, Salzberg BM, Cohen LB, Grinvald A, Davila D, Waggoner AS & Wang CH: Changes in absorption, fluorescence, dichroism and birefringence in stained giant axons.

- Optical measurement of membrane potential. *J Memb Biol* 33:141, 1977
- 11) Kamino K, Hirota A & Fujii S: Localization of pacemaking activity in early embryonic heart monitored using voltage-sensitive dye. *Nature (Lond)* 209:595, 1981
 - 12) Fujii S, Hirota A & Kamino K: Action potential synchrony in embryonic precontracture chick heart: Optical monitoring with potentiometric dyes. *J Physiol* 319:529, 1981
 - 13) Hirota A, Fujii S, Sakai T & Kamino K: Temperature dependence of spontaneous electrical activity in early embryonic heart monitored optically with a potential-sensitive dye. *Jap J Physiol* 33:85, 1983
 - 14) Morad M & Salama G: Optical probes of membrane potential in heart muscle. *J Physiol (Lond)* 292:267, 1975
 - 15) Salama G & Morad M: Merocyanine 540 as an optical probe of transmembrane electrical activity in the heart. *Science* 191:485, 1976
 - 16) Sawanobori T, Hirota A, Fujii S & Kamino K: Optical recording of conducted action potential in heart muscle using a voltage sensitive dye. *Jap J Physiol* 31:369, 1981
 - 17) Salama G, Sanger J & Cohen LB: Optical recordings of action potential propagation in intact heart. *Biol Bull (Woods Hole, Mass)* 161:316, 1981
 - 18) Yamagishi S & Sano T: Effects of temperature on pacemaker activity of rabbit sinus node. *Am J Physiol* 212:829, 1967
 - 19) Allesie MA, Bonke FJM & Schopman FJG: Circus movement in rabbit atrial muscle as mechanism of tachycardia. II The role of nonuniform recovery of excitability in the occurrence of unidirectional block as studied with multiple microelectrodes. *Circ Res* 39:168, 1976
 - 20) Bredikis J, Bukauskus F & Veteikis R: Decreased intracellular coupling after prolonged rapid stimulation in rabbit atrial muscle. *Circ Res* 49:815, 1981
 - 21) Baumgarten CM & Isenberg G: Depletion and accumulation of potassium in the extracellular clefts of cardiac Purkinje fibers during voltage clamp hyperpolarization and depolarization. *Pflugers Arch* 368:19, 1977
 - 22) Ross DL, Dassen WRM, Vanagt EJ, Brugada P, Bar FWHM & Wellens HJJ: Cycle length alternation in circus movement tachycardia using an atrioventricular accessory Pathway. A study of the role of the atrioventricular node using a computer model of tachycardia. *Circulation* 65:862, 1982
 - 23) Zipes DP, Mihalick MJ & Robbins GT: Effects of selective vagal and stellate ganglion stimulation on atrial refractoriness. *Cardiovas Res* 8:647, 1974
 - 24) Wit AL & Cranefield PF: Triggered and automatic activity in the canine coronary sinus. *Circ Res* 41:435, 1977