単一步調取り細胞の活動電位と細胞内通電との関係

後 藤 鹿 島・小 松 美 鳥

群馬大学医学部第一生理学教室 (主任：三浦光彦教授)

(昭和51年10月1日 受付)

I 緒 言

心臓における歩調取り細胞がどのようにして周期的な興奮を繰り返すかは、古くから多くの学者の研究対象となり、その報告も枚挙にいとまがない。(特に McWilliam¹²⁾, Keith & Flack⁷⁾, Draper & Weidmann²⁾, Trautwein & Zink²²⁾, Trautwein & Kassebaum²¹⁾, West²⁴⁾, Hoshi & Matsuda⁴⁾ ら)。従って結果もいろいろであるが、現在の段階において、問題は歩調取り細胞に特有な弛緩期脱分極のイオン機構に集中された観がある。

最近の Brooks¹⁾ らのモノグラフによると、 K^+ の透過性の減退、 Na^+ の透過性の増大、 Na -pump の低下といった条件をあげているが、併せて機械的伸展⁶⁾, catecholamine⁹⁾, acetylcholine²⁰⁾ もそのパラメーターと考えられている。

イオン説に立脚した Noble¹³⁾¹⁴⁾ 等によれば、 K^+ の透過性の減退は主に gK_2 の遅延整流が関係し同時に gX_1 も浅い膜電位で関与するともいわれ、一方 plateau の成因にも関係する Ca^{++} 電流もからんで来て一層入り組んだ様相を示している。(Reuter¹⁵⁾¹⁶⁾, Rougier¹⁷⁾ 等)。

歩調取りのリズムについては、迷走神経を刺激したり洞結節の部分に直接電気刺激を与えたり、acetylcholine, adrenaline 等を作用させて、そのリズムがかえられることは広く知られた事実であるが、単に外液の K^+ 濃度をかえることによって、dominant の歩調取り細胞が移動してかえられることも Lu⁸⁾ や、Vassalle²³⁾ によって報告されている。

この歩調取りを支配する特定の部分の細胞の活動電位は true potential と呼ばれ latent potential と区別されているが、その true と latent の間に細胞構成、その他において区別があるものかないものか大きな問題である。

Kaufmann⁶⁾ や Sperelakis¹⁸⁾ らによれば両者の差はなく、何時でも外部環境の状態によって true にも

latent にもなりうるというのがまだ明確な解答は与えられていない。ここにおいて true の歩調取り細胞がその心臓の歩調を支配するのに最小限度どの程度の細胞群を必要とするか、又 dominant の部分は一般的にはどのような条件で一定の部位に固定し得るものか、もし dominant の細胞群が極めて狭い範囲、即ち単一又はそれに近い状態であるなら、これを他の近接部位と区別し比較検討してみることは自動能の研究上、非常に興味あることである。

そこで我々は二連式微小電極を dominant の部分にさして、一つの電極から true の potential を記録しながら他の一つの極を通じて、外向き内向きの閾下の電流を流して歩調取り電位のリズムとその変化を観察し、更に通電電極をへて acetylcholine, adrenaline や K^+ その他の薬物を細胞内注入してその効果をみようとしたものである。

II 実験方法

実験材料としては食用カエル (*Rana catesbiana*) の心臓を使用した。Fig. 1. に示すように洞及び心室に出入りする血管を色の異なった糸で結紮、洞の位置を確認しながら摘出した。摘出後洞と房の間において切断し洞の内面に微小電極を刺せるように Ringer 液中で固定した。洞標本は一般には摘出直後数時間内に使用したが、実験によっては24時間、4℃の冷室に保存後使用することもあった。

電位の記録、通電の方法、機械的曲線の描記及び標本の灌流の状態は Fig. 2. に示してある。電位の記録及び通電に際して two barrels microelectrodes を用い 3M-KCl を充填して抵抗が20MΩ 前後のものを使用した。記録電極は常に 3M-KCl が充填されたが、通電電極の場合は時に 2M-NaCl, 又は 2M- $CaCl_2$ が充填された。通電電極を通じて細胞内通電される電流の強さは $2 \sim 5 \times 10^{-7}$ A の範囲であった。Acetylcholine を通電により細胞内に入れる実験に際しては 1 ml の中に NaCl 10mg, Ach 100mgを含む溶

Fig. 1. Isolated frog's heart. The preparation is used after cutting between atrium and sinus. Each vessel is ligated with a thread in different colors for distinction. Broken lines indicate sites of the dominant pacemaker cells.

- T.a. : Truncus arteriosus
 V.c.a.s. : Vena cava anterior sinistra
 V.c.a.d. : Vena cava anterior dextra
 V.p. : Venae pulmonales
 V.c.p. : Vena cava posterior
 V.h.s. & d. : Vena hepatica sinistra & dextra

Fig. 2. Arrangement used in recording the pacemaker potential and mechanical movement from the sinus preparation.

- A₁ : Amplifier for action potential
 A₂ : Amplifier for mechanical movement
 C : Piezoelectric crystal
 H : Holder for sinus preparation
 R, R + O₂ : Ringer's solution, Ringer's and oxygen
 O₂ + CO₂ : 95% O₂ + 5% CO₂ mixed gas.

液を充填した。Adrenaline の場合は 1 ml 中に NaCl 10mg, epinephrine 1 mg, NaHSO₃ 1.5mg の溶液を使用した。この際の抵抗は 3M-KCl に比較して多少増

大したが 1.5 倍をこえることはなかった。

細胞レベルの極く微小な運動を記録するには、piezoelectric crystal が使用された。crystal に付着された直径 0.8mm, 長さ 20mm のガラス管の先端は細くなっているが更にその先端に電解研磨されたタングステン線の針が接着され、この先端が歩調取り細胞のわずかの動きをとらえた。このトランスデューサーから前置増巾器を通じて増巾するため、日本光電製の AV B-8 が使用された。活動電位の増巾にあたっては同社製の AVZ-8 が用いられた。

Ringer 液の組成は、NaCl 111mM, KCl 1.9mM, CaCl₂ 1.1mM, NaHCO₃ 2.4mM, NaH₂PO₄ 0.08mM, ブドウ糖 11.2mM, pH 7.2 に調製された。液は 95% O₂ + 5% CO₂ の混合ガスを十分に含ませた。温度は 18~24°C の間の室温によって行われた。

III 実験成績

1. 洞における活動電位の形

カエルの静脈洞において歩調取り電位は比較的広い範囲から取れる。1 つは V.c.a.d. の洞入口、1 つは V.c.a.s. の洞入口、今 1 つは V.c.p. の入口の腹側壁の部分である (後藤³⁾)。これらの部分では true の歩調取り電位に近いものが取れるが、その中で心

Fig. 3. Action potentials of the frog's sinus.

- A & B : Records from different fibres near the entrance of V.c.a.d. and V.c.a.s. (true & latent potentials).
 C : Records from ordinary muscle fibre in the sinus (ordinary potentials).

Time scale : 250 msec. Cal. : 25mV

臓の pace を支配するものは V.c.a.d. の入口付近のものが多い³⁾。又洞の部分でも全く歩調取り電位とは異なった作業筋に発生する活動電位を示す部分もあり, dominate する電位とその中間の活動電位 latent potential が取れる部分もある。Fig. 3. はこの部の三種の活動電位の形を示している。

2. 細胞内通電が ordinary potential に及ぼす影響

心室筋の大部分や洞房の一部の心筋細胞では、歩調取り電位とは明らかに異なる一般の筋の電位即ち ordinary potential が記録できる。Fig. 4. A, B 及び C, D に示された potential は夫々心室及び房における ordinary potential である。両者とも記録の途中で外向き電流 (A, C) 及び内向き電流 (B, D) を流した。写真上部の線がその期間を示している。両者とも通電により膜電位の上下は現われているが prepotential 及び plateau には何ら変化が認められない。ただ通電直後、第一番目の potential では基線に動揺の認められることがある。

Fig. 4. Effects of applied transmembrane current during the action potentials of ventricle (A, B) and auricle (C, D).

A, C. : Outward current

B, D. : Inward current

Time scale : 250 msec., Cal. : 25mV

3. 細胞内通電が true 或は latent potential に及ぼす影響

Fig. 5. において true potential に相当する活動電位の取れる細胞で前述と同様に細胞内通電する。A と C は外向き通電で、B と D は内向き通電であることは前と同様であるが、A, B の場合は最初の、C, D の場合は第 3 回目の通電である。共に外向き通電

の場合 plateau が上向きにとび出し、逆に内向き通電の場合は下向きにへこんでいる。prepotential の変化はこの場合、plateau の変化の影響をうけ明確に現われていない。

Fig. 5. Effects of applied transmembrane current during the true potential of pacemaker.

A, B. : The first apply.

C, D. : The third apply.

A, C. : Outward current.

B, D. : Inward current.

Time scale : 250 msec., Cal. 25mV

Fig. 6. Effects of applied transmembrane current during the latent potential of pacemaker.

A, A'. : Outward current, A' is enlargement of A.

B, B'. : Inward current, B' is enlargement of B.

Time scale : 250 msec., Cal 25mV.

4. 細胞内通電による true あるいは latent potential における notch の発生

これはむしろ latent potential に近い時に発生するが、通電による plateau の変化が余り著明でない時に plateau の初めと終わりに notch となって発生する。しかもその notch は外向き電流の時は上向きに、内向き電流の時は下向きに現われる。第1の notch は急峻な活動電位の立ち上がりから150~200 msec で第2の notch は400msec の所である。Fig. 6. A, B, A', B' に示してあるが、A', B' はA, Bの拡大図である。

5. 通電電極の内部溶液を 2M-NaCl にかえた時の変化

歩調取り細胞に通電すると plateau に増減の変化及び notch が発生することは前の実験で証明されているが、この場合は通電電極内の KCl 溶液を2M-NaClにかえて K^+ の影響を受けない状態で通電する。この時に特有なのは、plateau の変化が通電で現われず、prepotential の変化が明確に現われることである。外向きでは傾斜がゆるやかになり、内向きでは急になる。しかしリズムの変化は認められない (Fig. 7.).

Fig. 7. Effect of applied transmembrane current during the true potential when 3 M-KCl of the applying electrode is exchanged with 2 M-NaCl.

A : Outward current
B : Inward current

Time scale : 250 msec., Cal. : 25mV.

6. 通電電極の内部溶液を 2M-CaCl₂ にかえた時の変化

これも同様歩調取り細胞 (true potential) にさしたわけであるが、外向き電流では変化なく内向き電流の時、plateau が少し増大し prepotential の傾斜が平坦になって、突然急峻な上昇にかわる変化を示している。 (Fig. 8.)

Fig. 8. Effect of applied transmembrane current during the true potential when 3 M-KCl of the applying electrode is exchanged with 2 M-CaCl₂.

A : Outward current
B : Inward current

Time scale : 250 msec., Cal. : 25mV.

7. 通電電極の内部溶液を acetylcholine, adrenaline 溶液にかえた時の変化

Fig. 9. A, Bは Ach. を充填して電流を外向き、内向きに流したものである。通電時間が長いので記録は中途を省略してある。外向き通電では初め少し potential の大きくなる時期があり、次いで安定した状態で記録が続くが、prepotential 及び plateau には何の変化もみられない。内向き電流に対しても長時

Fig. 9. Effect of applied transmembrane current during the true or latent potential when 3 M KCl of the applying electrode is exchanged with acetylcholine (A, B) or adrenaline (C, D) solution.

A, C : Outward current
B, D : Inward current

Time scale : 250 msec., Cal. : 25mV.

間の記録で、リズムは勿論の事、何の変化も認められない。Fig.9 C, Dは adrenaline を充填した通電電極を使用したもので、歩調取り細胞は latent potential を示しているが歩調取りのリズムに対し何等の影響もない。prepotential, plateau にも変化は現われていない。

8. 歩調取り細胞の活動電位とその機械的動きとの関係

Fig. 10. Aは洞における歩調取り電位(上の曲線)とその細胞に最も近接した部位(半径200 μ 以内)の機械的運動を同時記録したもので、立ち上がりは両者殆ど一致する。消失は機械的曲線の方がやや早い。Fig. 10 Bは control として心室筋細胞の活動電位(高い方)と機械的曲線を同時記録したものであるが、両者の間には時間的なずれがかなりある。C, Dは A, B の二倍の速さで掃引されている。

Fig. 10. Relationship pacemaker potential and mechanical movement.

- A : Pacemaker potential (upper tracing) and its cell's mechanogram
 B : Ventricle's potential (higher one) and its cell's mechanogram
 C, D : Sweep speed is twice A and B.
 Time scale : 250 msec., Cal. : 25mV.

9. 細胞内通電による電位変化と機械的曲線との関係

Fig. 11. Aは前と同様に歩調取り細胞の電位を記録すると同時に機械的曲線を記録したものである。

これを control として KCl で充填された通電電極をへて外向き, 内向き電流を流す(B, C). 通電によって活動電位の方には plateau の著明な変化が現われ, 特に逐次的に増大している。しかし機械的曲線には変化は出現していない。

Fig. 11. Relationship between pacemaker potential and its cell's mechanogram when the transmembrane current is applied.

- A : Pacemaker potential (upper tracing) and its cell's mechanogram
 B : Outward transmembrane current
 C : Inward transmembrane current
 Time scale : 250 msec., Cal. : 25mV.

IV 考 案

歩調取り細胞に閾下の電流を流した時の変化について ordinary の細胞と比較検討してみると、まず、ordinary の細胞は外向き, 内向き電流のいずれに対しても、prepotential 及び plateau 共に特別な変化を現わさない。通電直後の搏動で基線の乱れの出たものもあるがこれは artefact で全体として通電による変化はない。これに対して歩調取り細胞は外向き電流に際して prepotential の傾斜がゆるやかになり、内向き電流に際しては傾斜が急になる。これは NaCl の電極にした時に明確である。KCl の電極の時の plateau についていえば外向き電流では大きさの増大があり内向き電流では減少がある。この増大・減少の変化する度合は通電を繰り返すにつれて増強しており、しかもその変化する部分は特別の2点で区分されている。notch についていえば外向き電流の時は上向きに出て、内向き電流の時は下向きに出て plateau の変化の境界点を形成している。従来、spike 様の活動電位から plateau に移る部分を

1 相, plateau を 2 相, plateau から回復の状態に入る時期を 3 相として分けている (Woodbury²⁵⁾). その 1 相と 2 相の境目と 3 相の部分に相当するところが前述の 2 点である. 最初の点は Purkinje 線維の研究では gK_1 の減少が最低に達し gK_2 は増大の極に達する時点である. 第 2 の点は gK_1 の増大と共に gK_2 の減少しはじめる時点である. このことは Purkinje 細胞と同じく洞細胞について明確にいえるかどうか未だ確実な成績は得られていないが, いずれにしろ, これに準ずるものと思われる. ただ洞細胞が心室筋やその他と異なって常に定常的な静止電位ではないためイオンの出入に關係する電流は常に流動的であって静止している時期がない. こういった状況にあるものに対して細胞外のイオン濃度をかえる代りに細胞内の濃度を直接かえることによって活動電位の變動を見られるわけで, この際人工的に細胞内にはいる K^+ の存在が plateau 相の境界に強く作用し, 又 Na^+ の存在が prepotential の傾斜に特異的に作用する現象がみられる. 又, Ca^{++} が内向き電流で特異的な変化を来す点, 即ち plateau の増大と prepotential の消失があるのも興味深い. これらにより voltage clamp による実験とは別の方面から歩調取り細胞の特性を観察し得る.

次に acetylcholine 溶液, adrenaline 溶液の電極内充填による通電効果であるが, これらを dominant の true cell, latent cell に刺して通電してもリズムを変えないことはできない. 特に adrenalin の時の通電に対して pacemaker の促進を期待したが得られなかった. これは一見奇異にみられるが細胞内注入では薬物の受容体がないので受け入れ効果を表わし得ないと考えられる. Acetylcholine が細胞内ではその効果を發揮出来ない Matsuda¹⁰⁾ の報告とも一致する.

最後に歩調取り電位とその機械的曲線との關係であるが, この電位と mechanogram は時間的によく一致する. 両者の立ち上がりの差は, 数 msec 以内である. しかし prepotential の部分は明らかではない. 機械的曲線も prepotential と一致してわずかに上昇している結果も得られている. 機械的曲線の頂点は歩調取り電位の plateau のほぼ中央に来ておりその消失は電位よりわずかに早い時点である. これに反して心室筋の場合 potential より機械的曲線はかなりおくれて, 頂点は potential の plateau の消失する時期であり, 機械的曲線の方が活動電位より長

引いている. 真島¹¹⁾, Schmidt & Change¹⁹⁾ 等の報告で Purkinje の細胞の mechanical の曲線は極めて短く活動電位の数分の一で終わっているがこれは例外的で一般には骨格筋でみられるように, 活動電位の方が機械的曲線に比して短いのが普通である. 活動電位と機械的曲線が殆ど一致するのは歩調取り細胞に特有なことである. これは細胞自身が小さいため, 細胞内での伝搬が少ないからである.

興奮中, 細胞内通電を行なって plateau の増大や減少の変化が起こっても機械的曲線に何らの影響も与えぬことはすでに入沢⁵⁾ 等の報告もあるが歩調取り細胞においても potential の方が収縮の trigger 作用をして trigger 後の Ca^{++} の移動に大きな影響を加えるものがなければ, 機械的曲線に特別な変化はないものと思われる.

V 要 約

単一の歩調取り細胞に二連式微小電極をさし, 一方の電極で細胞の自発的活動電位を記録しながら他の電極で閾下の細胞内通電をすると, 歩調取り細胞に特有な変化が観察される.

- 1) 細胞膜を横切る電流によって plateau 電位に 2 つの notch が現われ, 第 1 の notch は急激な upstroke から 150~200msec の点で, 第 2 の notch は 400msec の部位である.
- 2) この 2 つの notch は外向き電流では上向きに出て plateau を増大させ, 内向き電流では下向きに出て plateau を減少させる.
- 3) 通電電極の充填液を KCl から NaCl にかえるとこの notch は出現しなくなる.
- 4) prepotential の変化は外向き電流では傾斜がゆるやかになり, 内向き電流では急になる. しかし本来のリズムに変化はない.
- 5) 以上の変化は ordinary fibre では認められない.
- 6) 通電電極の充填液を acetylcholine, adrenaline にかえて通電しても自動能のリズムに変化はない.
- 7) 歩調取りの細胞においては potential と mechanogram はよく一致したが potential の変化は mechanogram には大きな影響を与えない.

以上の要約から a) カエル静脈洞の単一步調取り細胞へ種々の刺激を加えてもそのリズムをかえることはできず, 歩調を支配するのは相当数の歩調取り

細胞の組み合わせによるものである, b) 自動能を有する細胞に閾下の電流を細胞内通電することによって, 細胞の起こす興奮の相の境界を明確にすることが出来る, c) 歩調取り細胞の mechanical の動きは potential と時間的によく一致はするが, plateau の中途における変動は mechanogram に変化を与えない, ということがいえよう.

REFERENCES

- 1) Brooks, C. McC., and H.H. Lu : The sinoatrial pacemaker of the heart. Charles C. Thomas, Springfield, Ill. 1972.
- 2) Draper, M.H., and S. Weidmann : Cardiac resting and action potentials recorded with an intracellular electrode. J. Physiol., 115 : 74-94, 1951.
- 3) 後藤鹿島, 大羽利治 : Pacemaker potential と Pacemaker cell. 日本生理学雑誌, 36 : 325, 1974.
- 4) Hoshi, T., and K. Matsuda : Excitability cycle of cardiac muscle examined by intracellular stimulation. Jap. J. Physiol. 12 : 433-446, 1962.
- 5) 入沢 広 : 活動電位の持続と筋張力との関係. 生体の科学, 14 : 129-138, 1961.
- 6) Kaufmann, R., and U. Thesphile : Automatie-fördernde Dehnungseffekte an Purkinje-Fäden, Papillarmuskeln und Vorhoftrabekeln von Rhesus-Affen. Pflügers Arch. ges. Physiol., 297 : 174-189, 1967.
- 7) Keith, A., and M. Flack : The form and nature of the muscular connections between the primary divisions of the vertebrate heart. J. Anat. Physiol., 41 : 172-189, 1906-07.
- 8) Lu, H.H. : Shifts in pacemaker dominance within the sinoatrial region of cat and rabbit hearts resulting from increase of extracellular potassium. Circ. Res., 26 : 339-346, 1970.
- 9) Lu, H.H., Lange, G. and C. McC. Brooks : Factors controlling pacemaker action in cells of the sinoatrial node. Circ. Res., 17 : 460-471, 1965.
- 10) Matsuda, K. : The effect of electrophoretically applied acetylcholine on the membrane potential of canine atrial muscle. XXIII Intern. Physiol. Congress Tokyo., 1965.
- 11) 真島英信 : 心筋収縮機構, 診療, 16 : 1762-1771, 1963.
- 12) McWilliam, J.A. : On the rhythm of the mammalian heart. J. Physiol., 9 : 167-198, 1883.
- 13) Noble, D. : A modification of the Hodgkin-Huxley equations applicable to Purkinje fibre action and pacemaker potentials. J. Physiol., 160 : 317-352, 1962.
- 14) Noble, D. and R.W. Tsien : Outward membrane currents activated in the plateau range of potentials in cardiac Purkinje fibres. J. Physiol., 200 : 205-231, 1969.
- 15) Reuter, H. : The dependence of slow inward current in Purkinje fibres on the extra cellular calcium concentration. J. Physiol., 192 : 479-492, 1967.
- 16) Reuter, H. : Slow inactivation of currents in cardiac Purkinje fibres. J. Physiol., 197 : 233-253, 1968.
- 17) Rougier, O., Vassort, G., Garnier, D., Gargouil, Y.M. and E. Coraboeuf : Existence and role of a slow inward current during the frog atrial action potential. Pflügers Arch. ges. Physiol. 308 : 91-110, 1969.
- 18) Sperelakis, N., and D. Lehmkühl : Ionic interconversion of pacemaker and nonpacemaker cultured chick heart cells. J. Gen. Physiol., 49 : 867-895, 1966.
- 19) Schmidt, R.F., and J.J. Chang : Aktionspotential und Mechanogramm von Purkinje Fäden in tiefer Temperatur. Pflügers Arch. ges. Physiol., 272 : 393-399, 1961.
- 20) Trautwein, W., and J. Dudel : Zum Mechanismus der Membranwirkung des Acetylcholin an der Herzmuskelfaser. Pflügers Arch. ges. Physiol., 266 : 324-334, 1958.
- 21) Trautwein, W., and D.G. Kassebaum : On the mechanism of spontaneous impulse generation in the pacemaker of the heart. J. Gen. Physiol., 45 : 317-330, 1961.

- 22) Trautwein, W., and K. Zink : Über Membran- und Aktionspotentiale einzelner Myokardfasern des Kalt- und Warmbluterhezeno. Pflügers Arch. ges. Physiol., 256 : 68-84, 1952.
- 23) Vassalle, M. : Cardiac pacemaker potentials at different extracellular and intracellular K concentrations. Amer. J. Physiol., 208 : 770-775, 1965.
- 24) West, T.C. : Ultramicroelectrode recording from the cardiac pacemaker J. Pharmacol. Exp. Ther., 115 : 283-290, 1955.
- 25) Woodbury, L.A., Hecht, H. and A.R. Christopherson, : Membrane resting and action potentials of single cardiac muscle fibres of the frog ventricle. Am. J. Physiol., 164 : 307-318, 1951.

**ON THE RELATIONSHIP BETWEEN
DOMINANT PACEMAKER POTENTIALS
AND APPLIED TRANSMEMBRANE CURRENT
BY USE OF TWO BARRELS GLASSMICROELECTRODES**

KASHIMA GOTO AND MIDORI KOMATSU

Department of Physiology,
School of Medicine, Gunma University
Maebashi, Japan

(Director : Prof. Mitsuhiro Miura)

On the isolated frog's S-A node is investigated the relationship between dominant pacemaker potentials and applied transmembrane current by use of two barrels glassmicroelectrodes. namely, the dominant pacemaker potentials are recorded with one electrode, while the transmembrane current is simultaneously applied to the same cell through the other electrode. The direction of transmembrane current is alternated and the KCl solution with which is filled in the other electrode is also exchanged for many other solutions. The following results are obtained.

1) Two notches which show the phase boundary of excitation appear on the plateau when the transmembrane current is applied to true or latent pacemaker cell. The one is at the site of 150-200 msec. from the upstroke of action potential, the other at the site of 400 msec.

2) Applying the outward current, the notches project upward, and make the plateau increase. On the contrary, the inward current, the notches depress downward and make the plateau decrease.

3) When the transmembrane current is applied through the microelectrode filled with 2M-NaCl solution instead of 3M-KCl, it is difficult to get these notches. On that occasion the prepotentials show slight changes.

4) Changes above mentioned can not be seen on the ordinary cardiac muscle fibre.

5) Even if the microelectrode for transmembrane current is filled with acetylcholine or epinephrine solution instead of 3M-KCl, the rhythm during and after the transmembrane current is not changed.

6) Mechanical movement in the pacemaker cell shows the similar change as the pacemaker potential timely, but variations of action potential induced by transmembrane current are independent mechanogram.

The main conclusions to be drawn from these results are as follow.

a) The dominant pacemaker rhythm is not changed even if one cell of the dominant pacemaker is stimulated.

b) The phase boundary of excitation of the pacemaker cell is clearly shown by applying subthreshold transmembrane current to the exciting cell.

c) It is needless to say that there is a fundamental difference between pacemaker potential and its mechanical movement in view of the fact that the variations of action potential induced by transmembrane current are independent of mechanogram.