

細胞的電氣生理學研究與展望

翁國榮教授

1 前言

細胞的電氣生理學研究由於微小電極法之開拓已有輝煌的進展，它是欲解明細胞之電氣現象的一門基礎生理學。現代細胞學的發展成果可歸功於引進生化及物理學的方法去探討生命現象，並使其實驗結果能求到定量化。雖然現代生物學已進步到分子、量子的地步，但這樣細分後之生命物質基礎的知識也無法解釋複雜完整之生命現象，所以在機能上生命的最小單位之探討還是應以細胞 Level 去解釋生命現象纔合理。生物電的存在早已經過 Galvani 與 Volta 之論爭後被近代科學所承認，它在生物界已普遍地存在，且構成生物機能之本質作用，尤其是如興奮組織的神經、肌肉系，一旦撇開生物電就無法解釋生理機能，所以一切組織之活動無法脫離生物電而存在。腦之活動、心肌、內臟平滑肌之自動能、肌肉活動等都不能例外。換言之，如果從生物除去生物電，細胞就引起大混亂，神經的傳遞、心搏即刻停止，生命也告終了。筆者這次獲得國科會資助赴日本國立東京教育大學理學部動物生理研究室，對於細胞內微小電極法 (Intra-cellular electrical recording) 技術做為期一年的研鑽，茲借本欄，將細胞電氣生理學研究概況與展望做一些概括性的介紹，以供參考。

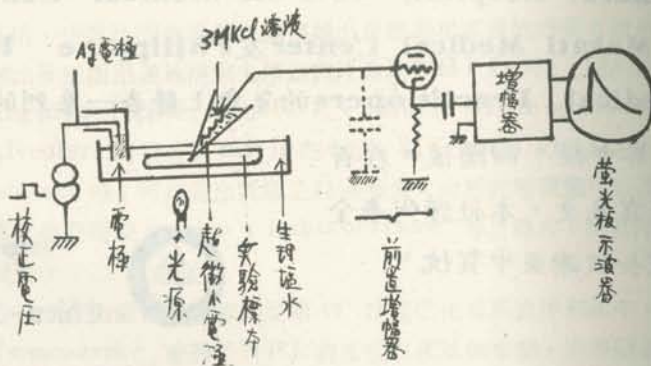


圖1 微小電極法之電位誘導記錄裝置

2 歷史考察

自意大利之 Galvani 從吊在銅鈎下之蛙肌被風吹後接觸到鐵製手把，引起蛙肌的收縮，遂發現了動物電 (Animal electricity)。後來經過 Du-Bois Reymond 的証實已被衆人所承認。細胞的電氣活動再經 Bernstein 之薄膜學說，及 Hodgkin 之鈉學說等已確立興奮本質的理論基礎，但細胞內之具體的電氣活動，還是無法做記錄。到了 1923 年 Erlanger 與 Gasser 纔利用螢光板之示波器 (Oscilloscope) 記錄電氣活動，使生理學研究進入 Electronics 時代。目前細胞之活動狀態，可由細胞內、外做記錄。所謂細胞外電位，即由許多神經原所產生之一種質量電位 (Mass potential)，它是由多種原因綜合產生之電位，雖然簡便地可記錄細胞活動狀態的電位變化，但其因果關係的分析，難免有困擾。此法對於感覺器至大腦皮質的求心性神經傳遞徑路的研究方面常被採用。至於細胞內誘導法，則直接能將細胞內之電氣活動狀態做記錄，雖然方法較難，但結果之分析較客觀，在細胞自動能及一切興奮性細胞之研究方面應用廣泛。該法於 1948 年經 Ling 與 Gerard，首先利用烏賊 (Loligo) 之巨大神經纖維；把微小電極插入後直接測定靜止電位 (Resting P-

potential) 及動作電位 (Action potential)，後來再由 Nastuk 及 Hodgkin (1949) 改進微小電極 (直徑 0.5μ 以下) 及若干技術，能做到毫無損傷地把電極插進細胞內，做電位記錄了。這種方法；後來經 Eccles (1955) 充分地運用，發揮效果，且嘗試貓之脊髓運動神經系之研究，獲得良好的結果。他們 (Hodgkin, Huxley, Eccles) 在此領域貢獻頗大，因此先後獲得諾貝爾醫學獎。

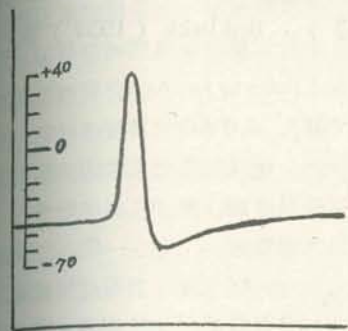


圖 2 由細胞內微小電極記錄之烏賊巨大神經的動作電位 (Hodgkin & Huxley)
靜止電位 -45mv ，動作電位 $+40\text{mv}$
時間 500 CPS

3 目前的研究概況

細胞的電氣生理學研究，至目前已相當廣泛，就細胞的自動能研究而言，有 Berger 的人的腦波，Gerard 的蛙之嗅腦研究；無脊椎動物的心肌神經細胞之自動能研究有 Maynard、Matsui、Hagiwara 等，先後利用不同材料 (如蝦蛄、龍蝦、蟹) 之甲殼類心臟神經細胞來研究，都獲得良好結果。其他有對平滑肌，如哺乳類之子宮、腸、尿管、骨骼肌、有髓及無髓神經纖維、神經及肌之聯接部，及感覺器之電氣現象 (視、聽、嗅、味覺，平衡覺及內臟覺) 的研究。這些現象在不同的動

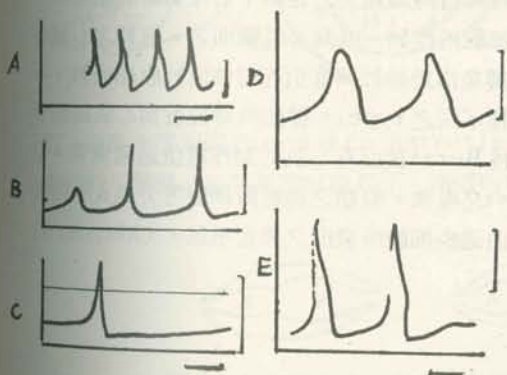


圖 3 各種自動興奮性細胞之動作電位
A: 蛙之嗅腦 (高木)
B: 龍蝦心臟神經節 (Bullock)
C: R_{+} 之子宮肌 (G_{++})
D: 家兔之寶耳結 (山岸)
E: 羊之 Purkinje 纖維 (Weidmann)

物，結果並非一致，故也可從低等至高等動物以比較生理學之方法去探究。目前研究之成就有如，英國之 Hodgkin、Katz，美國之 Tasaki、Nastuk、Woodbury、Grundtest、Brooks、Weidman，澳洲之 Eccles，瑞典之 Svaetichin 等均以自己特殊之材料做相當高深之研究。所以細胞內的誘導可證實生物體所產生的電氣現象，並且解釋細胞膜之電氣生理機序。其他有關細胞之化學物質研究及細胞質與代謝之因果關係等問題，不僅可從純粹的電氣生理方面着手，也可從介於境界領域之問題，如微細構造學與生理學及生物工程學、醫學工程學等漸漸聯合不同領域課程，去做一個集體廣泛的整體研究了。

4 無脊椎動物心肌之自動能研究和留日研鑽

從廣泛的研究領域裡，特別以甲殼類與軟體動物為材略述心肌的自動能研究概況。蓋科學的研究

在選材為一件重要項目，若能取得適材等於成功了一半。最初尋找研究材料的開拓者，往往花了很多心血與年月才能找到一種適當材料。雖然我們喜歡選取接近人類之高等動物；但高等動物之神經原非常小，研究較難；相反地，利用無脊椎動物，如甲殼類（龍蝦）及軟體動物（牡蠣）等，細胞較大，應用微小電極之技術頗為合適，是值得一提之良好材料。

龍蝦（*Panulirus japonicus*）屬於節肢動物之甲殼類，它的心臟由橫紋肌所構成，內側具有神經細胞所成之心臟神經節幹（Nerve trunk），其心搏乃由於神經節細胞所產生之週期性興奮所致，所以叫神經原性心臟（Neurogenic heart）。這些神經節細胞之生理機序，經Welsh & Maynard (1951)，Matsui (1955)，Hagiwara (1957)，Bullock (1957) 等之研究已有詳細的觀察，並証實它具有自動能。

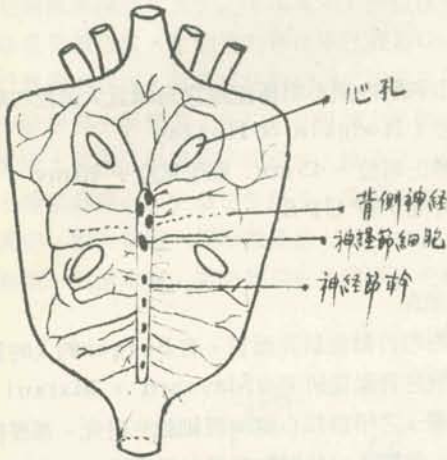


圖4 龍蝦心肌之神經節細胞及神經節幹（背面觀）（Alexandrowicz）

假如切斷心臟內之神經節幹，則前後端之心臟各部可獨自搏動且失去協調；若僅切斷心臟鞘時，並不影響雙方之協調。上述實驗可知，心搏均受神經節細胞所控制。就其心電圖而言，蝦類之心臟在某一種條件之下都有興奮性，Garrey 分析結果認為心搏是由於神經興奮引起的強直性收縮所致。一般而言，不同動物之細胞內電位的變化也往往出現了種種不同之 type。譬如將神經幹與心肌細胞之電位變化，做同時記錄時發現神經幹之 Spike 的週期性 Burst 後面有心肌的動作電位追隨現象。甲殼類的蟹、蝦離體心臟的神經節幹常具有反覆產生 Burst 之現象。蝦類之神經節細胞可分為大小兩種，其數目隨動物種類而異。這種 Burst 之 spike 經常由這些細胞所發出之興奮所致。（Maynard）

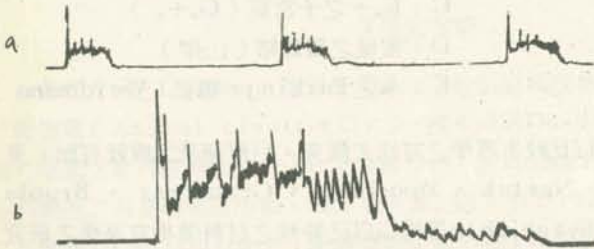


圖5 龍蝦神經節細胞之 Burst（Bullock & Terzuolo）
b：係 a 之放大圖
10 mv：500 msec

據 Heinbecker 研究（*Limulus sp.*）認為該類細胞多見於第 4、5、6 節，它有強力的自動性。大型細胞有 Pacemaker 作用，小型細胞即屬於運動性細胞，至於龍蝦心臟內側即共有 9 個細胞，有 4 個較大，位於前端，剩餘 5 個在後端，較小，均具自動能（Matsui 1955）且常呈週期性 Burst。此類心搏起源來自小型細胞後激起大型細胞的興奮。它的 Burst 是由 Synaptic potential 與 Spik 所構成。這種興奮傳遞到整個心肌可喚起正常之心搏。由此觀之，小細胞可能有 Pacemaker 之作用，但細胞過小尚無法記錄小細胞內之電位來証實。

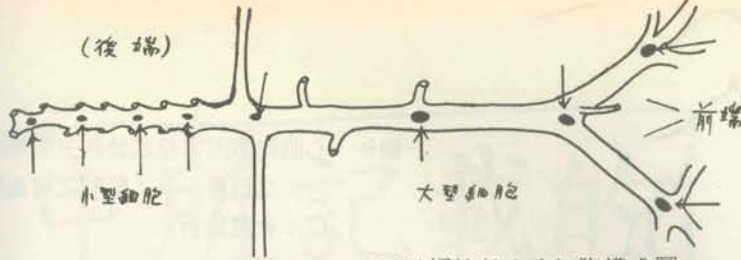


圖6 龍蝦心臟神經節幹上之細胞模式圖

心臟之神經控制，在多數的節肢動物，多見於頭部，具有促進與抑制神經。就甲殼類而言，調節神經可增加緊張性，切斷時可使心搏降低；促進神經可增加心搏、振幅及心臟神經節的興奮頻率與間隔，屆時在神經節細胞體可產生 Synaptic potential 之加重，然後使細胞膜毀極化。甲殼類之神經促進物質有如 Acetylcholine，但效果不一，其他如 Eserine 也可加強 Acetylcholine 之作用。抑制物質有如 GABA 之類，但尚未完全証實，其他心臟又可見具有反射作用，譬如由於身體各部或環境因素之改變或刺激，均可影響心搏。

軟體動物之牡蠣心臟也是研究細胞內電氣活動之良好材料。牡蠣 (*Crassostrea gigas*) 心臟有二心房一心室，一般實驗常用心室部分，切開心室後將標本固定於隔絕盒內就可開始實驗。此類心臟屬於肌原性心臟 (Myogenic heart) 與脊椎動物所不同者為 pacemaker (節律點) 不限於一定位置，在整個心肌都具備 Pacemaker 之功能 (Krijgsman 1955) 且在各心肌又具備 Pacemaker 之性質 (Ebara 1964)，同時偶而有 Pacemaker 的轉移現象出現 (Ebara 1965)。

軟體動物心臟與脊椎動物所不同者有下列幾點：(Hoffman & Cranefield 1960) ①具有緩慢的毀極化電位，但缺乏一定之靜止電位。②動作電位一般較小。③ Plateau phase 不顯著。④毀極化後之上升速度較緩慢。

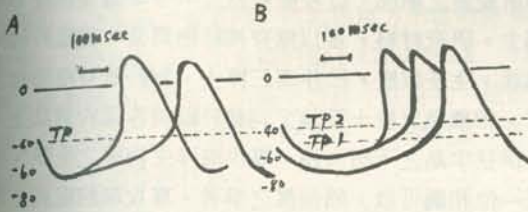


圖7 心臟週期變動之模式圖

Hoffman & Cranefield (1960)

T.P 表示閾電位之程度

T.P₁, T.P₂, 表示閾電位之變化。

以上幾點也可說明 Pacemaker potential。它的產生，完全由於細胞膜之不安定所引起的。軟體動物的心房與心室在適當的條件下，兩者的收縮時差約有 0.5 秒，且有協調。

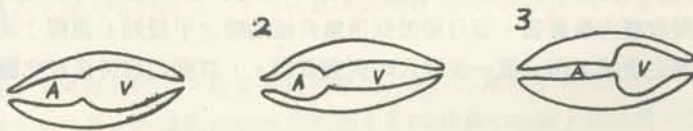


圖8 軟體動物之心臟活動的三相 (Willems)

1: 靜止期。2: 心房收縮期。3: 心室收縮期: A: 心房. B: 心室。

牡蠣的心肌細胞的靜止電位平均 32 mv，動作電位係 17.5 mv，其動作電位無 overshoot 之出現，在 Slow depolarization 之後有明顯的 Spike potential，所以極似溫血動物的內臟平滑肌細胞內電位。

上面所述，軟體動物的心肌細胞內電位經常靜止電位較大，動作電位反而較小，不過，因種類的差異其結果自有不同，所以不能一概而論。

總之，從細胞內電位所觀察到的肌原性心臟與神經原性心臟之活動狀態的最大差異係前者在一次搏動只能產生單一的活動電位，而後者在每次搏動可產生 1 至數個針形放電現象。但肌原性心臟對於若干藥物之影響效果則相反。(如使用 adrenal ine 於牡蠣心肌時可呈現神經原性心臟之效果)

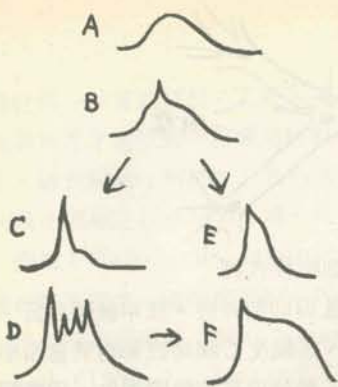


圖9 心肌細胞內電位之比較生理學的考察模式圖

- A: 文昌魚 B: 蚯蚓之背血管
C: 軟體動物
D: 蝦蛄
E: 脊椎動物之心房
F: 脊椎動物之心室

牡蠣的細胞內電氣活動也可從二個細胞做同時記錄之觀察，並將其一利用種種藥物或改變種種條件做細胞間之互相作用 (interaction) 的研究。

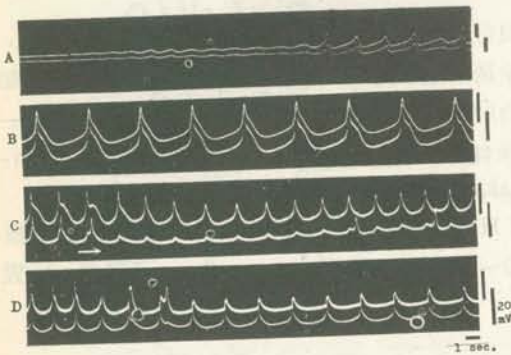


圖10 同時記錄二個細胞內之動作電位

- (材料: 牡蠣: *Crassostrea gigas*)
A: 先以K過剩溶液停止搏動後再換正常生理食鹽水，等待恢復。
B: 從恢復正常狀態之二細胞內誘導之動作電位
C: 從箭頭部分開始在下面部分加入Acetylcholine。
D: 另一(上面)又加入Acetylcholine後之變化。

最後筆者略加以介紹東京教大理學部動物生理研究室之概況。該校歷史悠久，今年適逢創校100週年。動物生理研究室，主要設備，以電氣生理為主，研究材料，都以無脊椎動物為常，偏重於純粹的基礎生理方面，研究設備有五套微小電極用之儀器。主任教授，松井喜三博士，對於無脊椎動物之循環生理研究，已有卅年之經驗，其成果頗為卓著，相繼發表幾十篇論文刊載於歐美各國的雜誌上，引起學界的矚目，其他附屬一所臨海實驗所，設於伊豆半島之下田海邊，專供海洋生物學之生理、生態、發生、生化等科研究。所長江原有信博士也是一位和藹可敬，頗認真之學者，專攻細胞電氣生理，備有二套微小電極用之儀器。教大動物生理，另有兩位，涉谷達明、藍尙禮博士，留美2~3年返國後繼續從事感覺生理(嗅覺的電氣生理)的研究，頗為活躍。

筆者到該研究室後承蒙他們的殷切指導，加上個人日以繼夜，聚精會神的研修，所以對於細胞內微小電極法之技術習得收獲尚稱豐富，留日期間採用無脊椎動物之甲殼類(龍蝦)及軟體動物之牡蠣為材，從事心肌之電氣生理學方面，做一番深入的研究實驗。(詳細內容待後在北醫學報介紹)。

5. 將來之展望

綜合所述，細胞的電氣生理學研究，雖然已有長足進展，但未能解決的問題也頗多，譬如細胞內之電位誘導，在材料與技術方面均有限，過於細小，或困難材料則毫無辦法，所以適材之尋找，儀器、電極之改良，方法與技術的改進等都很重要。例如固定電壓法(Voltage clamp)之多方面運用(該法由人工可隨意改變細胞內外之電位差對於離子之通透，能做仔細客觀的研究，但目前均限於某些材料)對細胞膜，synapse，及細胞之電氣生理課題做進一步的研究。其他如具有立體構造之腦神經系，離體的神經細胞之電氣機能方面研究的開發，及細胞微細構造部分與生理所發生之直接關係尋求立刻解明。這種問題均介於境界領域問題，都需要各方面的合作。今後的研究發展，可能從更多材料去追究某一現象之比較研究，或境界領域問題之加速開展，甚至如生物學(Biological Engineering)，醫學工程(Medical Engineering)等，兩種不同學問的通力合作，纔能使生命現象，及醫學研究，在基礎與臨床應用方面，更能達到合作無間，做到整體研究發揮更大成果。