

魚類の心電図に関する研究—I

心電図導出方法の検討

難波 憲二・村地 四郎・河本 真二・中野 義久
(広島大学水畜産学部)

Studies on Electrocardiograms of Fishes I—Test
of method to detect the ECG from fish

Kenji NANBA, Shiro MURACHI, Shinji KAWAMOTO
and Yoshihisa NAKANO

*Department of Fisheries, Faculty of Fisheries and Animal
Husbandry, Hiroshima University, Fukuyama*

(Figs. 1-8; Table 1)

目 的

魚類の心電図 (Electrocardiogram 以下 ECG と略す) に関しては、幾多の研究がなされてきたが、その多くのは下等脊椎動物の代表的材料の一つとして魚類を選び、比較生理学的な目的のもとに ECG の解析を行っている。従って高密度養殖に於ける養魚の健康管理や水質汚濁が魚類に及ぼす影響など、病態生理学的な目的で魚類の ECG の解析を行う場合には、従来の導出方法では不十分な点が多い。著者らは各種の導出方法について吟味を行い、ついで今まで導出されなかった游泳状態のハマチ及びマダイの ECG を導出する事ができたので報告する。

材料及び方法

材 料:

材料としては、コイ (*Cyprinus carpio*)、フナ (*Carassius carassius*)、ニジマス (*Salmo gairdnerii irideus*)、ハマチ (*Seriola quinqueradiata*)、マダイ (*Chrysophrys major*) を、それぞれ目的に応じて使用した。コイは広島県淡水魚指導所から購入したマゴイ (体重98~350g) で、本学部附属水産実験所に蓄養し、使用に当っては、本学部内実験水槽に持ち帰り、一週間以上の馴致期間をおいた後に実験に供した。フナ (体重95~145g) は広島県福山市郊外にある養魚場から購入し、本学部内の実験水槽で飼育したものである。ニジマス (体重約200g) は広島県北部の養魚場から購入し、広島大学水畜産学部附属水産実験所熊野実験所で二週間以上の馴致をした後、実験に使用した。ハマチは広島県水産試験場で飼育された体重90~140g のものと、山口県外海水産試験場で飼育された体重520~600g のものを、マダイは広島県水産試験場で種苗から飼育された養殖マダイ (体重130~170g) を用いた。尚、ハマチ及びマダイを用いた実験は両

試験場内で行った。

導出装置：

心電図導出装置として次の機器を Fig. 1 に示す様な構成で使用した。即ち増幅装置には生体用前置増幅器（日本光電 APB-20）、直結三段直流増幅器（日本光電 AD3-2）及び A 電源用安定化電源（日本光電 APB-20S）を、波形監視装置にはオシロスコープ（菊水電子 553 型）記録装置にはインク書オシログラフ（日本光電 W1-180）及びカメラ（ポラロイド）をそれぞれ使用した。以上の機器の他に熱ペン式心電計も適時用いた。

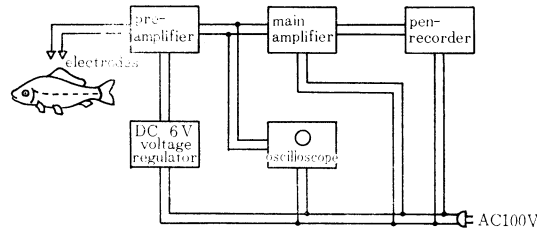


Fig. 1 Diagram of apparatus used for recording ECG of fish

電極は以下に述べる 4 種のものを目的に応じて使用した。

- 1) 銀—塩化銀電極：直径 0.6mm の銀線の一端をガスバーナで熔解し、先端を直径約 0.8mm の球状にし、これを冷却した後、塩化銀をメッキする。
- 2) 木綿糸電極：銀—塩化銀電極にリンガー液を充分に含ませた長さ約 5mm の木綿糸を結びつけその先端を導出部位に接触させる。
- 3) はさみ電極：塩化銀メッキを施した直径約 4mm の銀盤を市販のプラスチック製洗濯ばさみの先端の片側内面に接着剤で固定する。
- 4) 埋め込み電極：市販の二本纏のビニール被覆イヤホンコードを、電極とリード線として併用するのが最も便利である。即ちイヤホンコードの一端 20~30cm の纏を戻して各線を分離し、分離した 2 本のコードの先端寄り 1/3 程度の部位のビニール被覆を約 5~15mm に亘り除去して銅線を露出させる。此の露出部分を電極とする。此の胸心腔内への接着方法については、図を示して後述する。

導出方法：

本研究に於いて、吟味した導出方法、並びにそれに用いた魚種などの一覧を Table 1 にまとめた。以下それぞれについて多少詳しく説明する。

Table 1. Materials and methods used for recording ECG

| Lead | Electrode | Electrode emplacement | Fish |
|-------------|-------------------------|-----------------------|---|
| Unipolar L. | Cotton thread electrode | Surface of heart | Carp |
| | Ag-AgCl electrode | Body surface | |
| Bipolar L. | Ag-AgCl clip electrode | pectoral fins | Carp Crucian carp Rainbow trout Yellow tail Sea bream |
| | Earphone cord electrode | chest cavity | |

露出心臓表面からの ECG 導出法：材料のコイを 100 ppm の MS-222 で鰓蓋運動が完全に停止するまで麻酔し、胸部を切開して心臓を露出させる。次に micromanipulator を用いて心臓表面の導出部位に木綿糸電極の木綿糸の先端を接触させ ECG を導出する。導出中に心臓表面の乾燥を防ぐためにリンガー液を適宜滴下した。

体表面からの ECG 導出法：材料のコイをあらかじめ 100 ppm の MS-222 で麻酔した後に木製の台に固定し、還流装置により、コイの口腔内に MS-222 (30~60 ppm) を含んだ還流水を注ぐ。此の流量はピンチコックの操作により 150~500 ml/min に適宜調節した。

単極導出の場合は銀—塩化銀電極を用い Fig. 2 に示す魚体の各部から ECG を導出した。此の場合の不関電極には Fig. 2 の内 3・4・7 の三点を結ぶ Wilson の結合電極を用いた。

双極導出は左右の胸鱗に「はさみ電極」をとりつけ左側胸鱗を陽極に右側胸鱗を陰極に接続した。

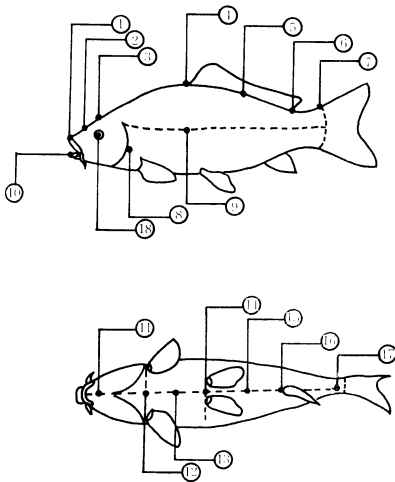


Fig. 2 Positions of electrode emplacement

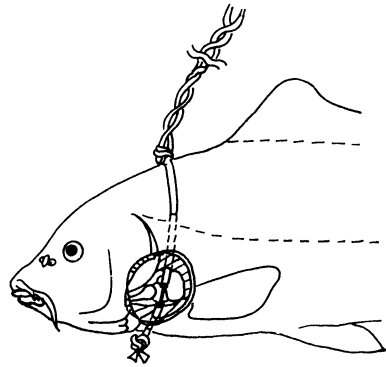


Fig. 3 Diagram of Carp with inserted electrodes into chest cavity

体内(囲心腔)からの ECG 導出法：埋め込み電極を囲心腔内に挿入するための手術時には供試魚を MS-222 で麻酔するが、その濃度は、フナ、ニジマス、及びマダイの場合は 80~100 ppm ハマチの場合は 40~50 ppm を用いて鰓蓋運動が僅かに残る程度になった時点で施術した。此の施術は模式的な図 (Fig. 3) で明らかな通り上述の縫を戻したイヤホンコードの部分に魚体内に貫通し、銅線露出部の電極が丁度囲心腔内の左右に埋め込まれる様にするのであるが、その概略の具体的方法を次に説明する。先ず魚の胸鱗基部やや前方から心室側面に出きるだけ接近させる様に囲心腔内にルンパール針を刺し込み先端を側線付近の体側へ出す。此のルンパール針の中を通してエナメル線を腹側より背側に向けて出してその先にイヤホンコードの分離した先端を結びルンパール針と一緒に腹側に突き出す。此の様にして腹側に貫通させた左右のイヤホンコードを図の様にしっかり結び合わせて固定する。尚、本実験では、心室左側の電極を陽極に右側の電極を陰極に接続した。

結 果

露出心臓表面からの ECG :

魚類の心臓には厳密な意味での心嚢がなく、代って囲心膜が心臓を包んでいる。心臓各部から直接 ECG を導出する場合には、この囲心膜を除去する必要がある。一方囲心腔内から ECG を導出する場合には、この囲心膜を隔てて導出する事になる。従って囲心膜の存在が ECG に何らかの影響を与えるか否かを検討す

る為に心尖の一定部位に於て囲心膜の外側と内側とのECGを比較したところ、両者にはほとんど差異が認められなかったので、コイ心臓の心房、心室、動脈球についてECGを導出する場合には囲心膜を除去して実験した。尚、静脈洞からの導出は位置的關係から難しいので本実験では行なわなかった。得られたECGはFig. 4に示した。



Fig. 4 ECG directly recorded on the surface of Carp heart
1. auricle, 2. ventricle, 3. bulbus arteriosus.

心房から導出されるECGは部位によって波形は異なるが、共通している特徴は、P波の振幅が非常に大きく(約1~2.5mV)QRS群は小さい(約0.5~1mV)事である。この事は明らかにP波が心房に起因する事を示している。

心室から導出されるECGではP波が小さく(0.4mV以下)陽性あるいは陽-陰性の二相性の波である。QRS群の波形は導出部位によって様々に変化するが、振幅が大きく他の部位に比較して最も大きな電位(3~9mV)を記録した。心室の拍動が停止するとP波のみ現われ、QRS群及びT波は消失する。(Fig. 5)。これらの結果からQRS群及びT波は心室に起因していると考えられる。

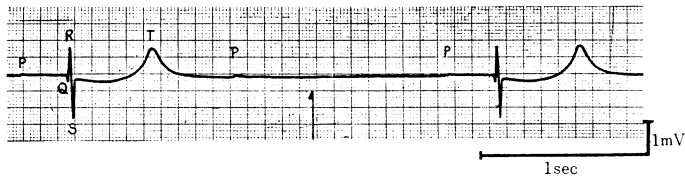


Fig. 5 ECG of Carp, lacking QRS complex and T wave, by direct unipolar lead from the surface of heart, The arrow indicates the lack of QRS complex and T wave.

動脈球から導出されるECGはP波及びQRS群ともにその振幅は小さく、導出部位が心室に近づくにしたがいQRS群の振幅は大きくなるのに対し、P波の振幅にはほとんど変化が認められなかった。又、Oers¹⁾がウナギで記録した静脈洞の興奮波であるV波はコイでは見られなかった。

体表面からのECG：

単極導出により記録されたECGは、頭部及び胸部では比較的明瞭(P波7~12 μ V, QRS群22~50 μ V)であるが、その他の部位では2~3 μ V程度の痕跡的なP波及びQRS群になった。(Fig. 6)

体表面の単極導出の結果、心臓近傍で最も高い電位が得られる事が明らかになったので両胸鱗に電極をとり付け双極導出を試みた。(Fig. 7) 此の場合はP波(10~20 μ V)は陽性、或は陽-陰性の二相性である。QRS群(20~100 μ V)に関して12個体について吟味したところQS形を示す個体が7尾、QR形が4尾、

R S 形が 1 尾となり、Q S 形乃至 R 形を示すものが多い結果となった。T 波は陽性か或は、陰—陽性の二相性の波形であった。

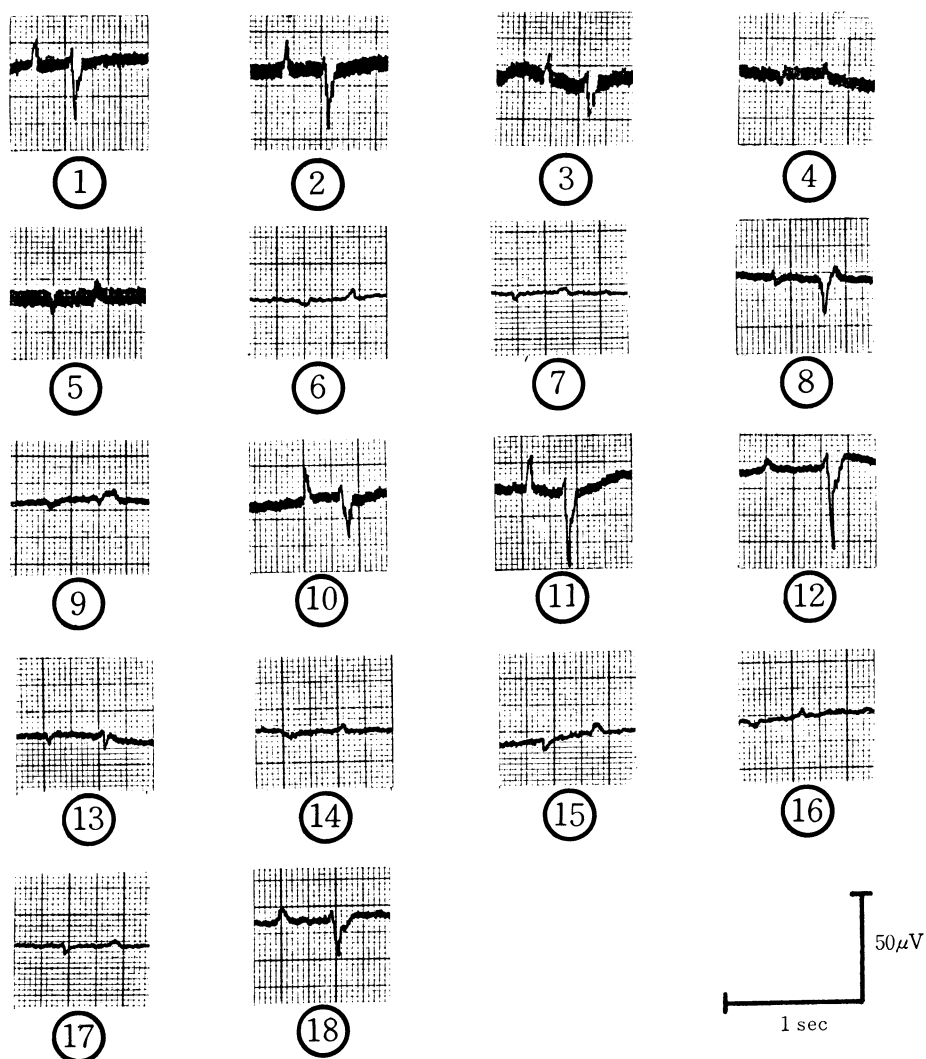


Fig. 6 ECGs of Carp by unipolar lead from the body surface

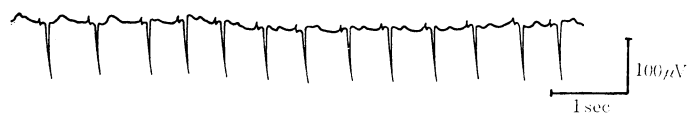


Fig. 7 ECG of Carp detected from pectoral fins by bipolar lead

体内（囲心腔）からのECG：

コイ、フナ、ニジマス、ハマチ、マダイについて試みた結果、各魚種とも基線の動揺が少く安定したECGが得られた。(Fig. 8) 波形はコイの胸膈からの双極導出の場合と良く類似し、P波はいずれの魚種も陽性、或は陽一陰性の二相性を示し、QRS群はニジマス以外の魚では、QS形或はQR形であった。ニジマスの場合はしばしばRS形を示すものが見られた。QRS群の電位の大きさは通常コイでは約1.12mV、フナでは約0.40mV、ニジマスでは約1.15mV、ハマチでは約0.88mV、マダイでは約0.12mVであった。T波はほとんどの実験例で陰性を示したが、中にはT波がほとんど認められない個体もあった。これは電極と心臓の相対的な位置関係に依るものであろうと考えられる。

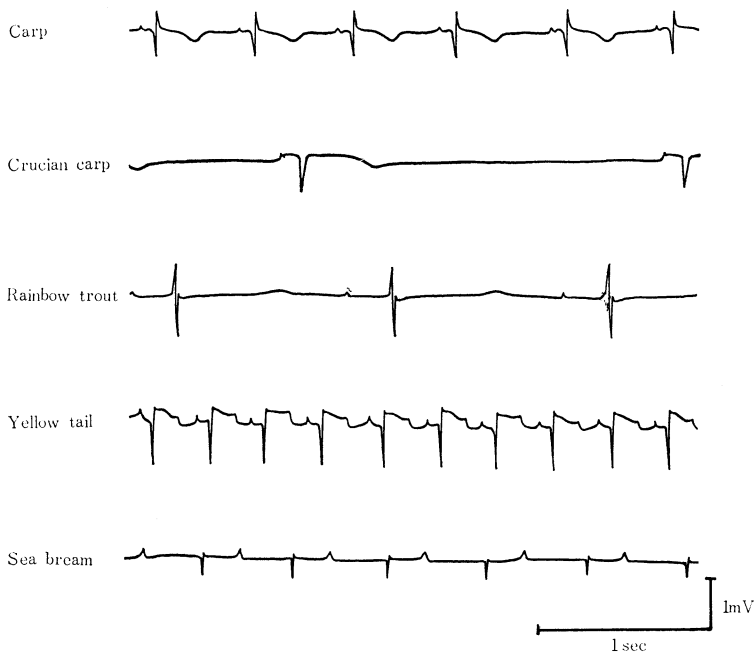


Fig. 8 ECGs of fishes by bipolar lead from chest cavity

考 察

露出心臓表面からのECG単極導出法

摘出、或は露出した硬骨魚心臓表面からのECGに関してはすでに OETS¹⁾ がウナギ、森口²⁾ がフナ、NOMURA *et al.*³⁾ がニジマスについて報告している。これらの研究結果と同様に本実験のコイについても心房波Pと心室波QRS-Tを記録した。露出心臓表面からECGを導出するに際しては、NOMURA *et al.*³⁾ は、ニジマスの露出心臓ECG導出に際し、心臓表面の乾燥がその波形に影響を及ぼす事を指摘している。本実験ではリンガー液を心臓表面に加えて乾燥を防ぐ様努力したが、それでも尚、かつ同一の導出条件を維持する事は難しかった。即ち心室の一定部位で連続してECGを導出した場合、時間経過に伴いECGの波形に変化が認められた。従って、本法は、ECGを解析する場合の基礎的知見を得る為には欠かせない導出法ではあるが、病態生理学的、或は生態学的な追究には不適と考える。

体表面からのECG単極及び双極導出法

体表面からのECGの導出は、ウナギ、ナマズの様に心臓起電力の大きい魚種においてさえも魚体の運動

による筋電図の混入あるいは基線の動揺が有り、又、麻酔によってこれらを除去しても記録できる電位はせいぜい 100~500 μV 位であるといわれ、従来用いられる事が少なく、僅かに Oets¹⁾ 山森⁴⁾ がウナギについて報告しているのみである。本実験ではコイの様に心臓起電力の比較的小さい魚からも ECG を導出する事に成功した。特に両胸鰭から双極導出し、交流障害などのノイズを注意深く取り除き、導出装置の増幅度を高める事に注意すれば十分に判読可能な ECG が記録出来る事を明らかにした。この双極導出法では、導出部位を正確に定める事が可能で有り、得られた ECG も個体差が少ないので、導出条件をさらに吟味する事により、臨床医学で用いられている標準肢導出に相当する導出法が開発実用化される可能性が大きいと考える。

体内（囲心腔）からの ECG 双極導出法

露出心臓或いは、体表面から導出する場合は、麻酔やその他の方法で魚の運動を停止させなければならない。病態生理学的、或いは生態学的研究では、魚を傷つける事なく又、拘束する事なく自由に遊泳させながら導出する事が最も理想的であろう。山森⁵⁾らはウナギが、円筒内を好む性質を利用して、円筒内に電極を置き、自然な状態で ECG を導出する事を試みている。しかし、この方法では、鰓蓋運動による基線の動揺、ウナギが円筒内でその位置をかえる事による ECG の変化等が有り、精密な波形の解析にはいまだ不十分である。又、心臓起電力が小さい魚種、或は円筒内に入らない遊泳性に富んだ魚種には適用が難しく、ウナギの場合でも海水中では海水が多量の電解質を含んでいるため導出が難しいという。NOMURA *et al.*³⁾ は、GAREY⁶⁾ が、開発した埋め込み電極による体内（囲心腔）からの双極導出法を改良して、自由遊泳中の心臓起電力の小さい魚種からの ECG 導出に成功しているが、筆者らも此の方法を検討し淡水魚のコイ、フナ、ニジマスのみならず、今まで試みられていなかった海産魚の、ハマチ、マダイについても筋電並びに、鰓蓋運動の影響の少ない ECG の導出に成功した。然ながら本法では電極を埋め込む際に魚体、特に心室を傷つけ易いので注意しなければならない。又、電極を埋め込む際にその位置を肉眼で確かめる事ができないので、電極を厳密に目的とする部位に置く事がかなり困難である。従って ECG の波形を解析する為には、実験終了後に魚体を解剖し電極の位置を確認する必要がある。本実験では NOMURA *et al.*³⁾ がニジマスで用いたイヤホンコードを電極としたが、海産魚の場合、電極部分の腐食が早く（水温 25~30°C で 2 日~1 週間）電極部分で切断してしまう場合も有ったので海産魚で長期間の導出を続ける際には、より強度な腐食しにくい電極が必要であろう。とはいえ、この導出方法は以上に述べた様な難点があるにせよ魚類の病態生理学的研究、或は運動生理学的研究さらには生態学的研究に広く用いる事ができ、現在得られる最良の方法であると言えよう。

本研究を行なうに当り魚類心電図の導出方法について、御懇切な御指導を賜りました。東京大学教授、野村晋一博士、ならびに種々御便宜を頂きました広島県水産試験場及び山口県外海水産試験場の所員各位に対し厚く謝意を表します。

要 約

病態生理学的な目的で魚類の ECG を解析する場合に、最も適当な導出方法を得る為、従来の各種導出方法について吟味した。

露出心臓表面からの ECG 単極導出法

- 1) コイの露出心臓表面から単極導出法より ECG を記録した。
- 2) コイの露出心臓表面から得られた ECG は P、Q S 群、T の各波からなっており、その他の波は記録されなかった。
- 3) 心臓表面の各部位から得られた ECG の波形と心室運動が停止した場合の ECG に見られる QRS 群、及び T 波の消失から、P 波は心房に、QRS 群、及び T 波は心室に由来する事を確認した。

体表面からの ECG 単極及び双極導出法

- 1) 麻酔したコイの体表面から単極導出法によって、比較的明瞭な ECG を導出する事ができた。

2) 麻酔液を含む水を鰓に還流したコイの両胸鰭から双極導出法により、個体差の比較的少ない、安定したECGが得られた。従ってこの両胸鰭からの双極導出法は病態生理学的研究に用いる事が可能であろう。体内(開心腔)からのEC双極導出法

1) 電極をコイ、ニジマス、フナ、ハマチ、マダイの開心腔内に挿入し、双極導出法によりECGを導出した。

2) 各魚種とも基線の動揺が少なく安定したECGが得られ、その波形はコイの胸鰭からの双極導出の場合と良く類似した。

3) この方法^{3),6)}は電極を挿入する場合に魚体を傷つける、電極の挿入位置を正確に定める事が難しいなどの欠点があるが、心臓起電力が小さい魚や游泳状態にある魚からも安定したECGの導出が可能であり、魚類の病態生理学的研究、或は運動生理学的研究、さらには生態学的研究に現在、用いる事ができる最適の方法であるといえよう。

引用文献

- 1) OETS, J.: *Physiol. comp. et Decolog.* **2**, 181-186 (1950).
- 2) 森口静夫: 電気生理学研究, **22**, 99-107 (1960).
- 3) NOMURA, S., IBARAKI, T. and SHIRAHATA, S.: *Jap. J. vet. Sci.*, **31**, 135-147 (1969).
- 4) 山森邦夫・羽生功・日比谷京: 日水誌, **37**(2), 90-93 (1971).
- 5) 山森邦夫・羽生功・日比谷京: 日水誌, **37**(2), 94-97 (1971).
- 6) GAREY, W. F.: *Biol. Bull.*, **122**, 362-368 (1962).

SUMMARY

Examinations have been made to find out the suitable method of detecting the ECG from fish for the purpose of pathological physiology study. The results obtained can be summarized as follows;

Unipolar leads of ECG from the surface of the heart.

ECGs, directly recorded on the surface of the Carp heart, consisted of P wave followed by QRS complex and a T wave (Fig. 4). Other waves derived from the heart could not be detected.

Unipolar lead and bipolar lead of ECG from the body surface.

- i) ECG could be recorded from almost all the body surface of Carp by using unipolar lead. The amplitude of the QRS complex was about 40 μV in the vicinity of the heart.
- ii) ECGs obtained by using bipolar leads from pectoral fins of Carp were stable and the QRS complex appeared as a QS type ordinarily and exceptionally as a QR type. This method may be useful for the pathological physiology study of fish. The amplitude of QRS complex was 70 μV on the average.

Bipolar lead of ECG from within the body.

Electrodes were inserted into the chest with operation. ECGs by this method were easily detected from Carp, Crucian carp, Rainbow trout, Yellow tail, Sea bream under swimming condition in aquariums. The patterns of ECGs from the chest cavity were similar to those from pectoral fins of Carp. The amplitudes of the QRS complex were 1.12 mV in Carp, 0.40 mV in Crucian carp, 1.15 mV in Rainbow trout, 0.88 mV in Yellow tail, 0.12 mV in Sea bream.

From the above results, it is apparent that the bipolar lead from the chest cavity is the most useful and suitable method to study fish ECG pathophysiologically and ecologically.