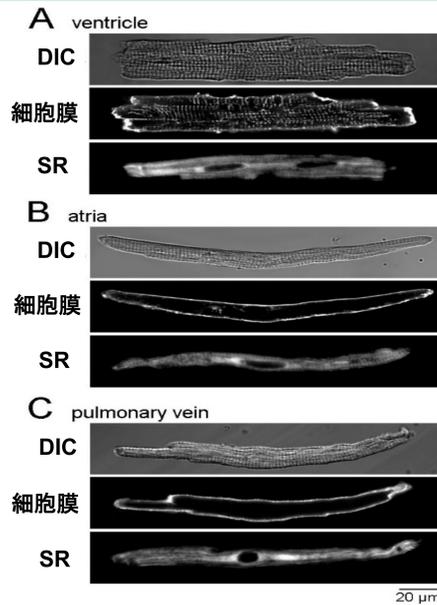


モルモット肺静脈心筋細胞の形態およびCa²⁺ transientの観察: 心房および心室筋細胞との比較

背景

心筋細胞膜の活動電位が引き金となって筋収縮に至る過程には、細胞外から細胞膜を通して流入するカルシウムイオン(Ca²⁺)や、筋小胞体(SR)から放出されるCa²⁺が重要な役割を果たしている。しかしCa²⁺濃度の上昇と活動電位発生の関係性は未知な点も残されている。高速かつ高解像度の共焦点レーザー顕微鏡はCa²⁺濃度の上昇と活動電位発生の前後関係などを詳細に追うことが出来る。そこで、T管構造を有している心室筋細胞、T管構造を有していない心房筋細胞、不整脈との関係が注目されている肺静脈心筋細胞のCa²⁺動態を観察した。



目的

高速スキャン型共焦点レーザー顕微鏡を用いてCa²⁺ transient やCa²⁺ sparkの時空間パターンを分析し、肺静脈心筋のCa²⁺ transient 発生における細胞内Ca²⁺の役割を検討する。

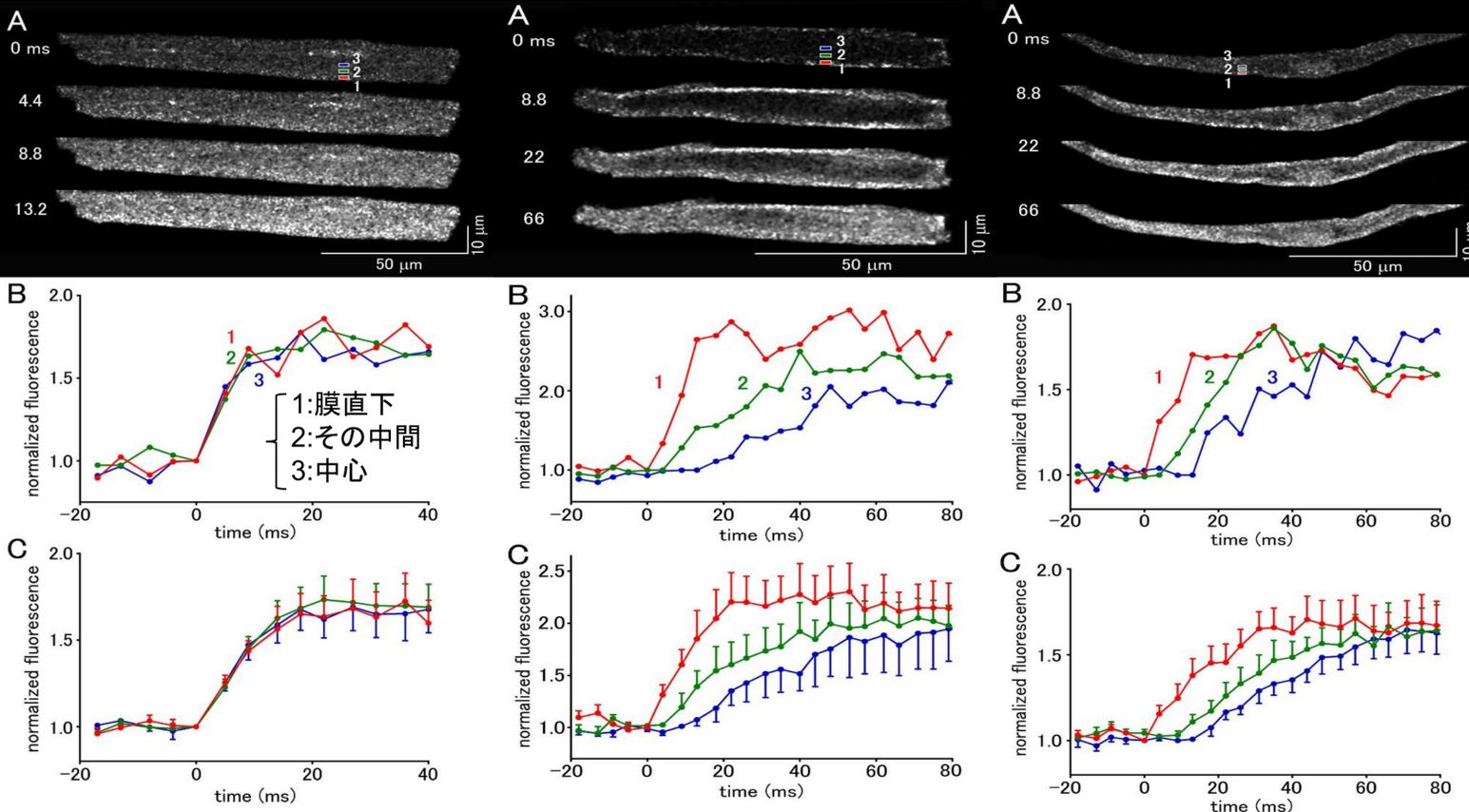
総括

- T管を有する心室筋細胞において、Ca²⁺ transient は細胞質全体で蛍光強度が同時に上昇した
- T管を欠く心房筋細胞や肺静脈心筋細胞において、Ca²⁺ transient は細胞膜直下から中心部へ向かってwave状の伝播が見られた
- 肺静脈心筋細胞の自発的Ca²⁺ transient はCa²⁺ sparkの発火頻度増加を伴ったことから、Ca²⁺ spark は肺静脈心筋細胞の自発的Ca²⁺ transient の発生に原因的に関与していると考えられる

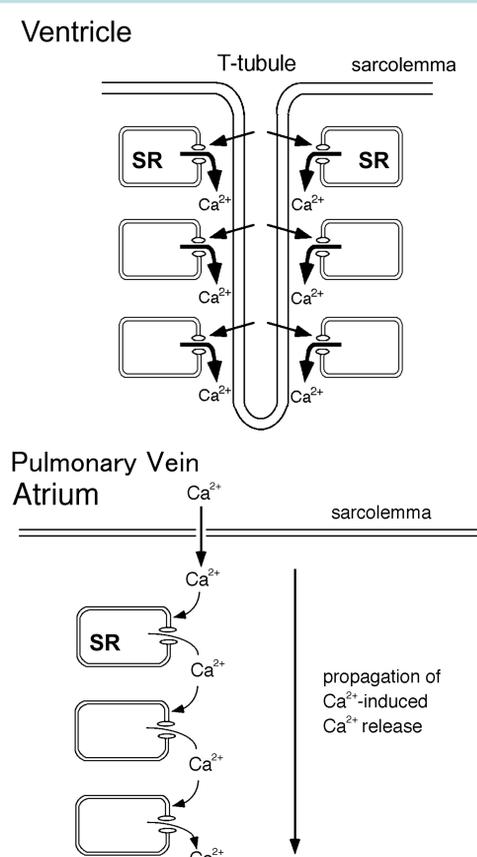
結果: 定頻度刺激によるCa²⁺ transient の誘発

心室筋細胞は細胞全体で
蛍光強度が同時に上昇

心房筋細胞・肺静脈心筋細胞は
細胞膜からの距離に応じて蛍光強度が遅れて上昇



参考

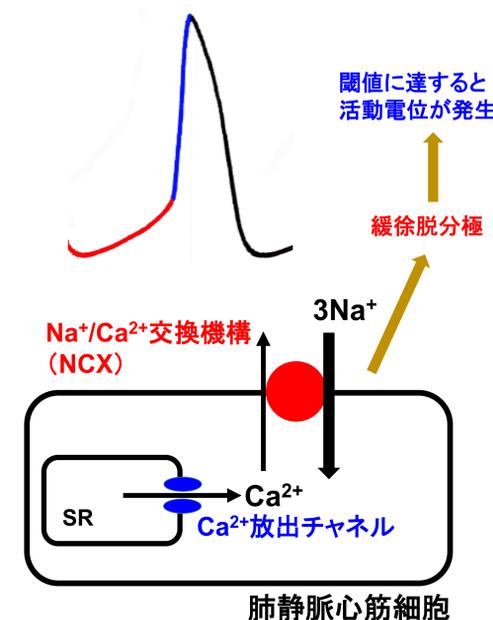
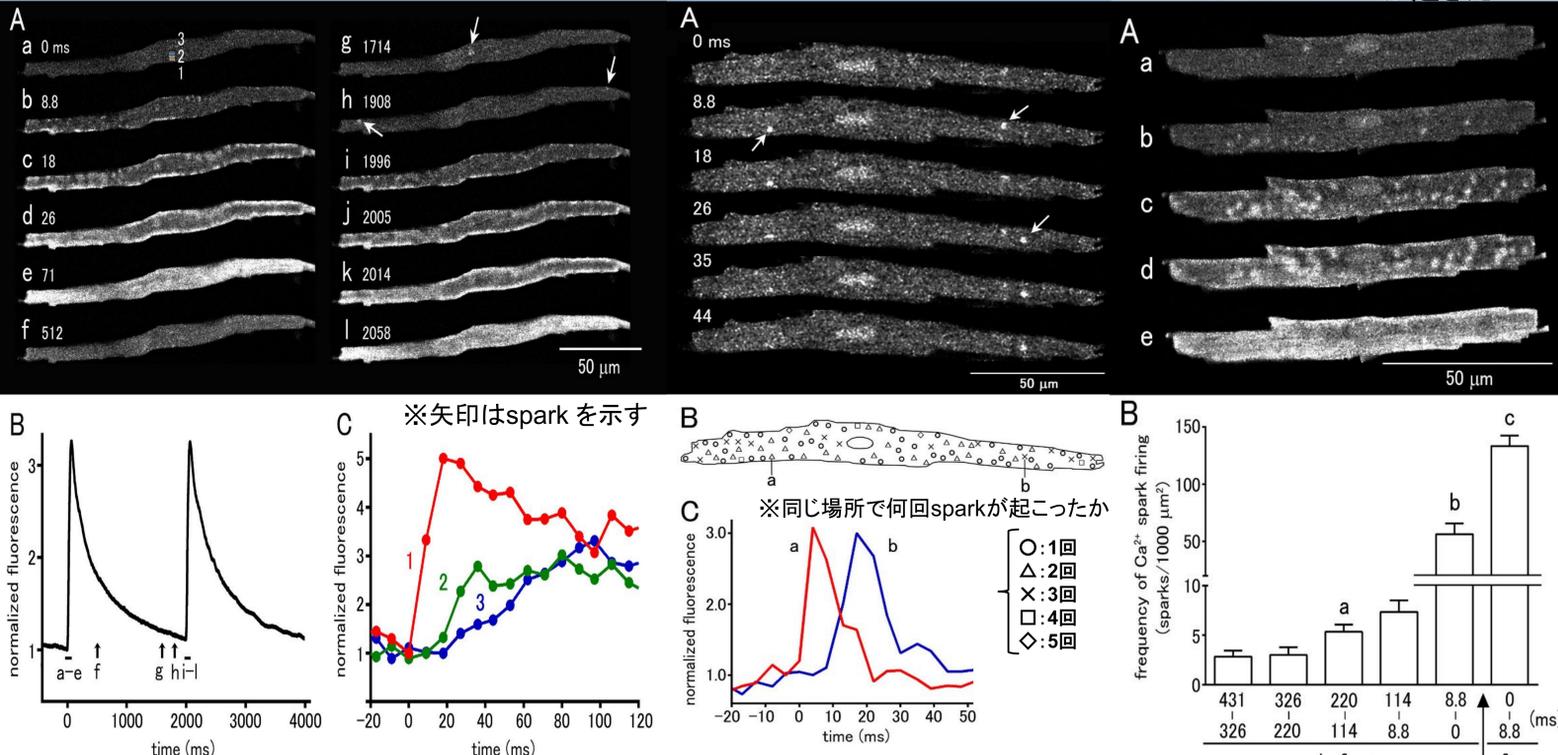


結果: 肺静脈心筋細胞での自発的oscillation

Ca²⁺ transient の間にCa²⁺ spark が観察された

Ca²⁺ spark は
細胞全体で発生した

Ca²⁺ spark の急激な増加から
Ca²⁺ transient が起きた



Ca²⁺ transient
活動電位発生時の細胞質全体でのCa²⁺濃度上昇

Ca²⁺ spark
細胞質内の局所的なCa²⁺濃度上昇

Ca²⁺ wave
細胞質内を局所的なCa²⁺濃度上昇が伝播

実験方法

〈心筋細胞の単離〉ランゲンドルフ灌流心を作成し、冠動脈よりcollagenaseおよびproteaseを灌流し、単离心筋細胞を調整した。
〈Ca²⁺ 蛍光イメージング〉単离心筋細胞にfluo-4(5 μM)を導入し、共焦点レーザー顕微鏡(A1R)を用いて画像を取得した。