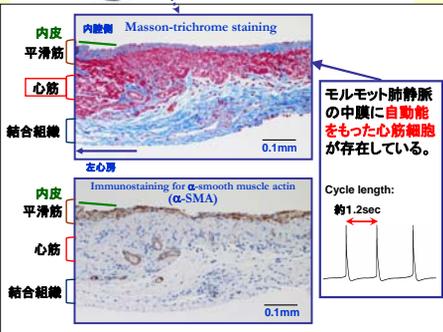
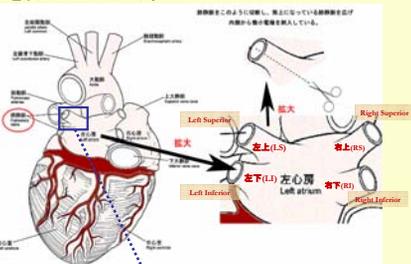


モルモット肺静脈心筋の自発活動 に対する伸展刺激の影響

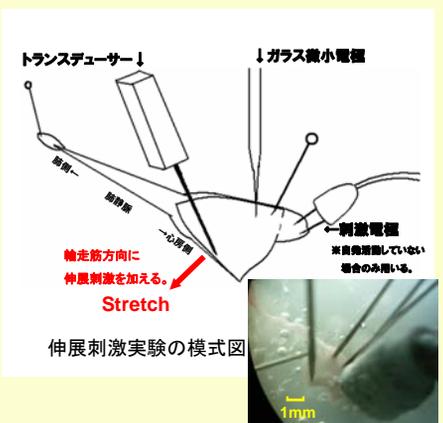
○疋田康、恒岡弥生、行方衣由紀、田中光
東邦大・薬・薬物

研究背景

肺静脈組織には伸展刺激によって自発的に電氣的興奮を引き起こす心筋層が存在し、そこからの異所性電氣的興奮が心房細動の開始や維持に関与することが示唆されている。
本研究は、伸展刺激による自発活動発生仕組みを理解し、心房細動の新規治療薬開発に貢献することを目的としている。



実験方法



自発活動していない場合

- 1Hz刺激で駆出する。
2. 安定待ち15分。
3. 刺激を止めて伸展刺激を与える。
→止まるまで記録
→次の伸展刺激

[Tension 100mgずつ漸増]

栄養液組成<Normal-Tyrode>

NaCl	137mM
KCl	4.0mM
CaCl ₂	2.7mM
MgCl ₂	0.5mM
NaH ₂ PO ₄	0.5mM
NaHCO ₃	15.0mM
dextrose	11.0mM

97% O₂ - 3% CO₂ mixture

自発活動している場合

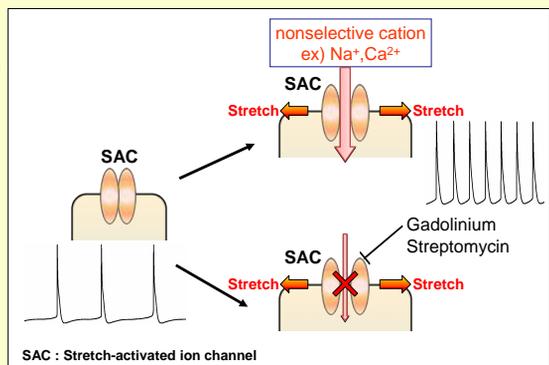
1. 15分記録 (自発活動)
2. Gadolinium処置 20分記録 (Controlは溶媒のみ処置)
3. 伸展刺激を与える。
→刺激後1, 3, 5分値を記録
→10分後に次の伸展刺激

[Tension 0~300mg 100mgずつ漸増]

Hartley系モルモット オス 350-550g から肺および心臓を素早く取り出し、肺静脈は、心臓と肺を分離後、4本ある肺静脈を左上、左下、右上、右下に分け、実顕微鏡下で肺組織と丁寧に分離して標本を作製した。その後、筒状の肺静脈を切り開き、organ bath 内にステンレス製ピンで固定した。organ bath はNormal-Tyrode 栄養液で満たした。97% O₂ - 3% CO₂ のガスで通気しておく(pH 7.4)。なお、栄養液中の温度は 36±0.5℃に保った。細胞内活動電位は3M KCl溶液を充填したガラス微小電極を肺静脈内腔側から細胞内に刺入し、電極内のプローブから得た電気信号を高インピーダンス型アンプで増幅後、Power Lab (AD Instruments) からの電気信号をパーソナルコンピュータに取り込み、Lab Chart v7.1 (AD Instruments) により記録、解析を行った。伸展刺激のための張力測定には、トランスデューサーを介して歪力用アンプ (AP-621G 日本光電) により増幅し、活動電位と同様に Power Lab (AD Instruments) からの電気信号をパーソナルコンピュータに取り込み、Lab Chart v7.1 (AD Instruments) により記録、解析を行った。0mg 静止張力は、標本固定前にゼロ点調整したものに合わせ、標本固定後のゼロ点調整はおこなわない。以降は上記の実験手順で行う。

結論

- モルモット肺静脈心筋の伸展刺激実験系を構築し、伸展刺激によるいくつかの自発活動パターンを観測した。
- Stretch-activated ion channel (SAC) の blocker である Gadolinium、Streptomycin は持続的な高頻度自発活動に対して抑制効果を示した。SAC を抑制することが心房細動発生抑制に有効であることが示唆された。



1. 伸展刺激による自発活動誘発パターン

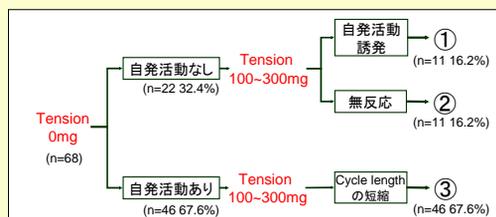


Fig.2 無反応



Fig.1 自発活動の誘発

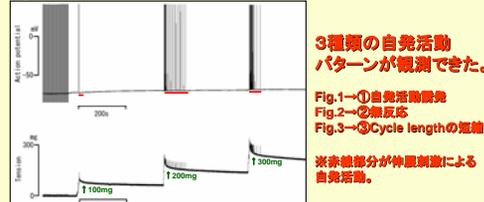
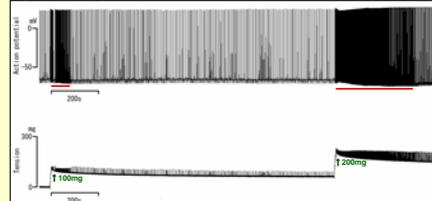
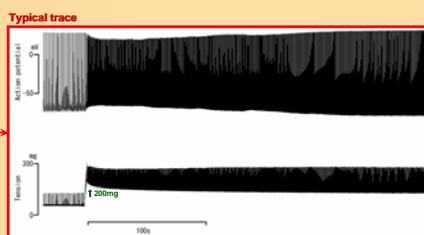
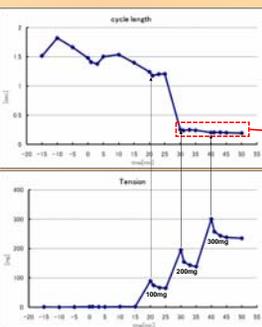


Fig.3 Cycle lengthの短縮



2. 高頻度自発活動への移行の抑制 <SAC blocker>

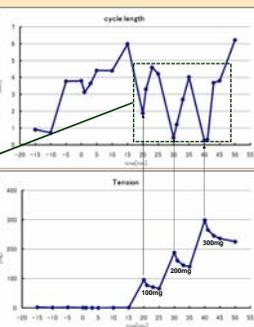
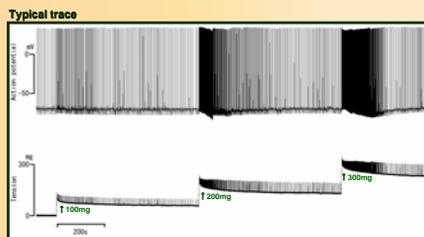
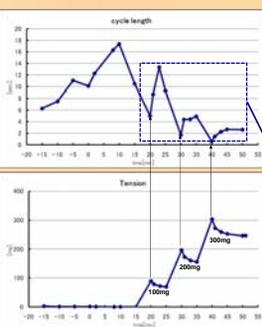


SAC blocker を処置していない例

伸展刺激によって、持続的な高頻度自発活動 (Cycle length=200msec) に移行する。(n=4)

Gadolinium 10 μM を処置した例

Gadolinium 10 μM 処置により、持続的な高頻度自発活動は現れなくなり、Cycle length の短縮は一過性になった。(n=4)



Streptomycin 400 μM を処置した例

Streptomycin 400 μM 処置により、持続的な高頻度自発活動は現れなくなり、Cycle length の短縮は一過性になった。(n=3)

