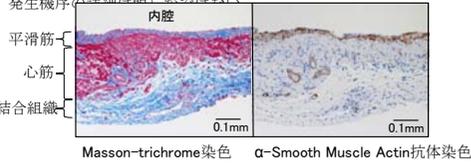
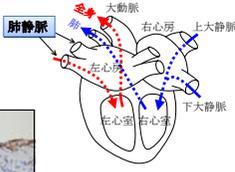


背景

肺静脈は、心臓の心房と肺をつなぐ血管で、左右の肺から2本ずつ、計4本存在する。この肺静脈の基部には組織学的に心筋細胞が存在していることが知られている。肺静脈で発生する期外収縮は、心房細動の原因の一つと示唆されているが (Haïssaguerre et al., 1998)、発生機序(詳細は明らかでない)。

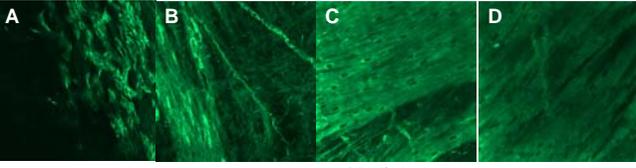


目的

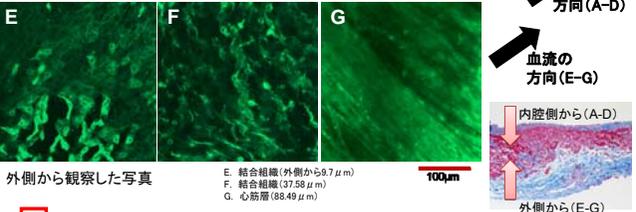
モルモットの抽出肺静脈標本に高速イメージング法および微小電極法を適用し、この部位の形態および自発的電気活動の性質とCa²⁺動態を検討する。

結果①～モルモット肺静脈組織の共焦点顕微鏡観察～

di-2-ANEPEQを用いて染色した。



A. 内皮層(内腔から12.73 µm)
 B. 平滑筋層(27.27 µm)
 C. 1層目に見えてきた心筋層(44.24 µm)
 D. 2層目に見えてきた心筋層(67.88 µm)

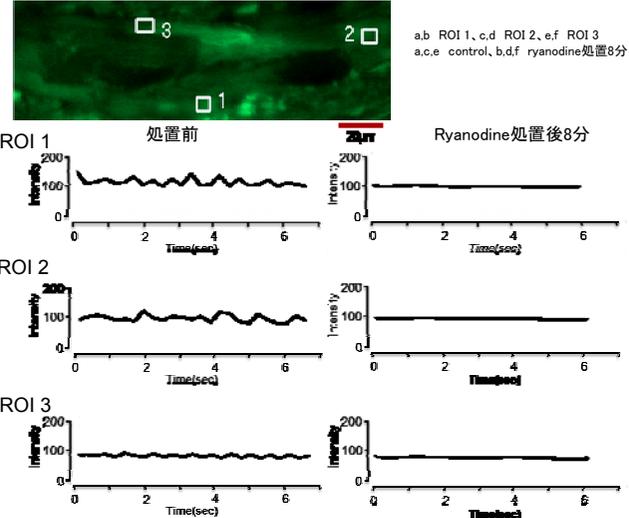


E. 結合組織(外側から9.7 µm)
 F. 結合組織(37.58 µm)
 G. 心筋層(88.49 µm)

1 モルモット肺静脈には様々な層が存在している。

結果② ～モルモット肺静脈組織のCa²⁺動態～

内腔から観察した。Calcium greenを用いて染色した。

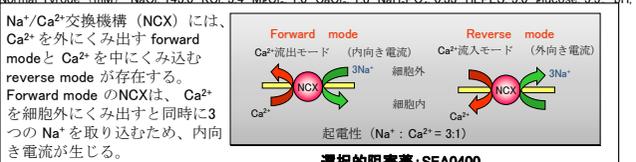


モルモット肺静脈では、Ca²⁺濃度の自発的なoscillationが観察できた。このCa²⁺濃度のoscillationはryanodineによって抑制された。

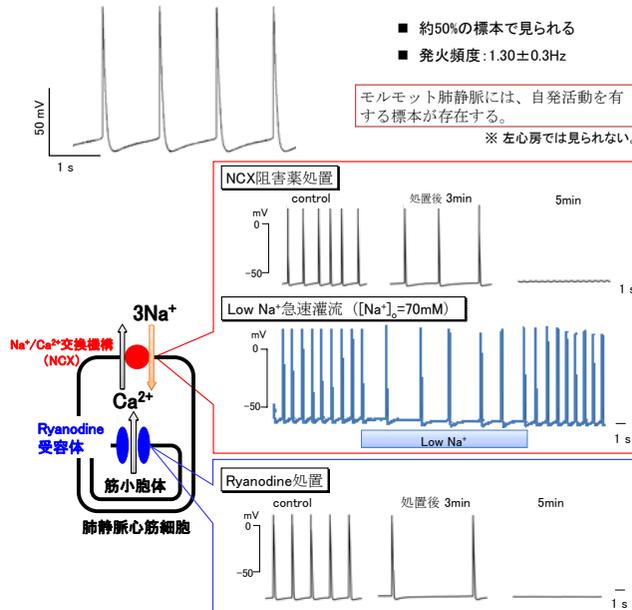
2 肺静脈組織では自発的な筋小胞体からのCa²⁺放出が起きていることが示唆された。

実験方法

活動電位波形の取得・・・Hartley系モルモット(250～500g,雌雄)から心臓をすばやく摘出し、左心房および肺静脈組織標本を製作した。細胞内活動電位の測定は定法に従い、3 M KClで満たしたガラス微小電極(抵抗値20～30Ω)を電極内に刺入した。
 Ca²⁺イメージング・・・細胞:単離肺静脈心筋細胞にfluo-4 (5µM)を導入し、共焦点レーザー顕微鏡(LSM510META)を用いてline scan画像(line/960µsec)を取得した。
 組織:肺静脈の基部から約6mmを3等分し、幅約1mm長さ3mmの標本を製作した。TritonX (0.01%)で処理し、その後プロベネド、F-127、各種蛍光プローブに36°C、3時間浸透させた。標本の観察は、内腔もしくは外側から筋起光を当てて軽く抑え共焦点顕微鏡で観察した。
 栄養液の組成・・・Krebs-Henseleit (mM) NaCl: 118.4 KCl: 4.7 MgSO₄: 1.2 CaCl₂: 2.5 KH₂PO₄: 1.2 NaHCO₃: 24.9 glucose: 11.1, pH: 7.4
 Low Na⁺ Krebs-Henseleit (mM) LiCl: 118.4 KCl: 4.7 MgSO₄: 1.2 CaCl₂: 2.5 KH₂PO₄: 1.2 NaHCO₃: 24.9 glucose: 11.1, pH: 7.4
 Normal Tyrode (mM) NaCl: 143.0 KCl: 5.4 MeCl: 1.0 CaCl₂: 1.8 NaH₂PO₄: 0.33 HEPES: 5.0 glucose: 5.5 pH: 7.4



結果③ ～肺静脈組織の電気的自発活動に対する薬理的処置の影響～



● 約50%の標本で見られる
 ● 発火頻度: 1.30±0.3Hz
 モルモット肺静脈には、自発活動を有する標本が存在する。
 ※ 左心房では見られない。

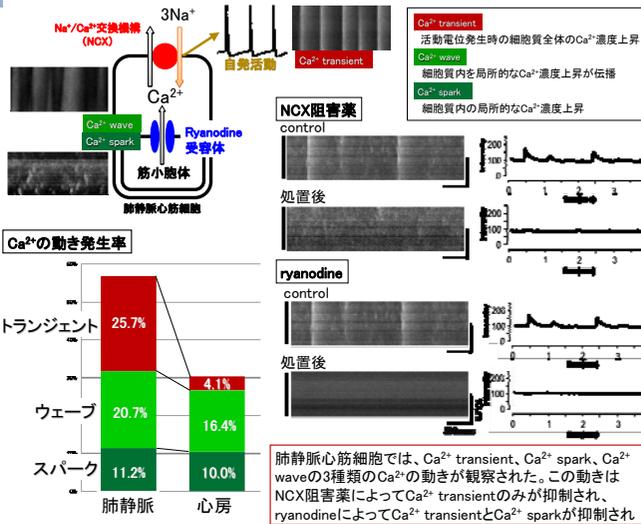
	0 min	5 min	10 min	Average of cessation time (min)	Cessation of 10 min (%)
control	1.1 ± 0.2	1.1 ± 0.2	1.2 ± 0.3	—	0/7 (0%)
NCX阻害薬(1 µM)	1.1 ± 0.5	0.6 ± 0.6	0*	5.7 ± 1.5	6/6 (100%)*
Ryanodine(0.1 µM)	0.9 ± 0.1	0.6 ± 0.2*	0.2*	6.2 ± 1.5	5/6 (83.3%)*

	control	Low Na ⁺
n=6	—	—
Frequency (Hz)	1.2 ± 0.1	0.6 ± 0.1 *

自発活動は、Na⁺/Ca²⁺交換機構阻害薬および ryanodine によって抑制された。また、自発活動は、細胞外液を急速に low Na⁺ 液に置換することで、置換している間だけ頻度が低下するのが確認された。

3 自発活動の発生に筋小胞体からのCa²⁺放出とNa⁺/Ca²⁺交換機構が関与していることが示唆された。

結果④ ～肺静脈心筋細胞の自発活動～



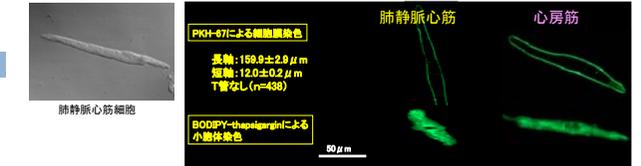
Ca²⁺の動き発生率

カテゴリー	肺静脈 (%)	心房 (%)
トランジエント	25.7%	4.1%
ウェーブ	20.7%	16.4%
スパーク	11.2%	10.0%

肺静脈心筋細胞では、Ca²⁺ transient、Ca²⁺ spark、Ca²⁺ waveの3種類のCa²⁺の動きが観察された。この動きはNCX阻害薬によってCa²⁺ transientのみが抑制され、ryanodineによってCa²⁺ transientとCa²⁺ sparkが抑制された。

4 肺静脈心筋の自発活動(活動電位発生)にNCXと筋小胞体からのCa²⁺放出が関わっていることがCa²⁺の点からも示唆された。

結果⑤ ～肺静脈心筋細胞の形態～



5 肺静脈心筋は心房筋と比較して自発活動と関連する形態学上の特徴は見られなかった。

