

培養心筋細胞の興奮リズムに対する octanol の効果

○諸橋裕、片山統裕、中尾光之、山本光璋
東北大学大学院情報科学研究科生体情報学研究室

1 はじめに

心室細胞など異常な拍動リズムを呈する心臓では、興奮旋回 (リエントリー) 等の複雑な時空間ダイナミクスが生じていることが知られている。この現象には、細胞間のギャップジャンクションが密接に関係しており、培養系においても類似した現象が観測される [1][2]。本研究では、ニワトリ胚心筋細胞の初代培養系において、ギャップジャンクションを抑圧した時の心筋細胞の興奮活動の変化を、 Ca^{2+} イメージング法を用いて計測、解析した。

2 実験方法

4 日齢のニワトリ胚から心臓を摘出し、トリプシン処理を行い心筋細胞培養標本を作成した。8 日目以降の標本に対し、 Ca^{2+} 蛍光プローブ Fluo-3 AM (Molecular Probes) を 30 分間負荷し細胞内へ導入した。キセノンランプの照射光により励起された蛍光 (excitation 488nm/emission 525nm) を冷却 CCD カメラにより取り込むことにより (0.095frame/sec)、心筋細胞の興奮活動に伴う Ca^{2+} 濃度変化を計測した。また、ギャップジャンクションを抑圧するためには octanol (50 μM 、100 μM) を負荷した。蛍光画像内の細胞を囲う矩形領域を指定し、その領域の平均蛍光強度を時系列として解析に用いた。

3 結果

図 1 に心筋細胞の Ca^{2+} 濃度変化の例を示す。このようにコントロール条件下では、計測されたほぼ全ての細胞の振動が同期していた (1.2 \pm 0.30Hz, mean \pm SD)。octanol 50 μM を負荷すると、振動周期は変わらないもの (cell A)、周期が長くなるもの (cell B)、振動が停止するもの (cell C)、が観察された。別の標本であるが、octanol の濃度を 100 μM にした場合は、コントロール時と周期が変わらなかった細胞は観察されず、振動周期が長くなるか振動が停止した。図 2 に octanol 負荷に伴う振動の平均インターバル分布の変化を示す。octanol を負荷する

とインターバルが長くなり、またばらつきが大きくなるのが分かる。

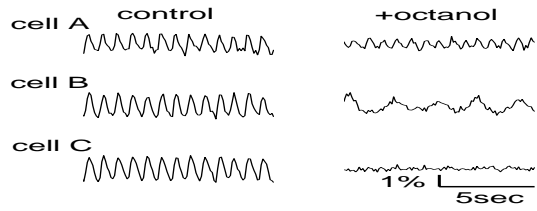


図 1: 心筋細胞の興奮に伴う蛍光強度変化。左:コントロール。右:50 μM octanol 負荷時。

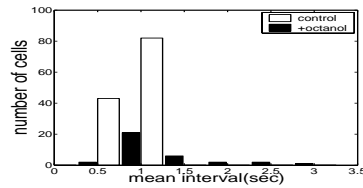


図 2: 50 μM octanol 負荷時 (塗り潰し) とコントロール (白抜き) の Ca^{2+} 振動の平均インターバルの分布

4 結論

octanol 負荷により、多くの心筋細胞において振動周期の延長や停止が観察された。これはギャップジャンクションの抑圧により、細胞間の結合が減弱したためであると考えられる。

謝辞

本研究で使用した心筋細胞培養標本は、東北大学大学院工学研究科末永教授、西澤助教授、梶氏の提供による。記して謝意を表する。

参考文献

- [1] K Kawahara et al., Biol. Cybern. 86, 147-154(2002).
- [2] G Bub et al., Physical Review Letters 88 No.5 58101,1-4(2002).