

Arrhythmic Activity in Reoxygenated Guinea Pig Papillary Muscles and Ventricular Cells

メタデータ	言語: jpn 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-23 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 林, 秀晴 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1310

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 33号	学位授与年月日	昭和62年11月6日
氏名	林 秀 晴		
論文題目	Arrhythmic Activity in Reoxygenated Guinea Pig Papillary Muscles and Ventricular Cells (モルモットの乳頭筋および心室筋細胞における再酸素化不整脈)		

Arrhythmic Activity in Reoxygenated Guinea Pig Papillary Muscles and Ventricular Cells

(モルモットの乳頭筋および心室筋細胞における再酸素化不整脈)

論文の内容の要旨

再灌流時不整脈の電気生理学的機序としてリエントリーおよび自動能の亢進が示唆されているが、詳細は不明である。一方、心筋の再酸素化障害は、組織学的および生化学的に再灌流障害と類似していることが報告され、両者の機序としてCa overloadが重要と考えられている。近年、Ca overloadにおける後収縮(aftercontraction: AC)および遅延後脱分極(delayed afterdepolarization: DAD)とDADによるtriggered activityが頻脈性不整脈の成因の一つとして注目されている。再灌流時不整脈の機序を解明する目的で、再酸素化不整脈の機序を心室筋と単一心室筋細胞を用いて電気生理学的に検討した。

【方法】(1)乳頭筋標本: モルモット右室乳頭筋をクレブス液(95%O₂, 5%CO₂)で灌流し、3M KClで満たされた抵抗8-10MΩの微小ガラス電極で活動電位を記録し、張力も同時に測定した。標本を30-60分間低酸素灌流(95%N₂, 5%CO₂)した後、5mMグルコースを含むクレブス液で再酸素化した。(2)単一心室筋細胞: モルモットの心臓をラングンドルフの方法で灌流し、500U/mlのコラゲナーゼ、200U/mlのトリプシンと25-50μMのCaを含むクレブス液で3-4分間灌流した。遊離された心室筋細胞を抵抗25-50MΩのガラス電極を用いて活動電位を記録した。(3)ATP含量: モルモット乳頭筋のATPをfirefly luminescence法で測定した。

【結果】(1)無グルコース低酸素灌流60分後に75%再分極時点での活動電位持続時間(APD)はコントロールの18%に、張力は25%に、ATPは0.8mM/kg.w.w.(コントロールの約20%)に減少し、静止張力は約200mg上昇した。再酸素化後APDはコントロールに復したが、張力、静止張力およびATPはいずれも完全には回復しなかった。(2)再酸素化後にAC、DADを認め、不整脈の頻度は再酸素化後3-5分後に最大となり、16分後まで漸減した。(3)AC、DADの高さと不整脈の頻度は再酸素化後の刺激の頻度に依存し、再酸素化後刺激をしなかった5例ではいずれも異常活動を認めなかった。(4)無グルコース低酸素灌流60分後の再酸素化時に27例中22例で不整脈を認め、低酸素灌流終了時の静止張力の上昇が150mg以上の18例全例で不整脈を認めた。5mMグルコースを含む低酸素灌流60分後、または無グルコース低酸素灌流30分後では静止張力の上昇は100mg以下で、不整脈も認めなかった。(5)再酸素化後の乳頭筋表面のマッピングにより、DADの高さの不均一性を認めた。(6)筋小胞体からのCa放出を抑制するライアノディン1μMを再酸素化10分前より投与した5例全例ではAC、DAD、不整脈ともに認めなかった。(7)単一心室筋細胞において低酸素灌流に1mMの塩化シアンを投与して60分後に再酸素化すると、DADおよびtriggered activityが出現した。

【考案】乳頭筋において再酸素化時に認めたAC、DADおよび不整脈はいずれもライアノディンの投与により消失したことより、筋小胞体からのCa放出によるものと考えられた。再酸素化時の心筋へのCa蓄積は、低酸素時のATPの低下または静止張力の上昇の程度と相関するとされている。低酸素灌流中の静止張力の上昇の少ない条件で再酸素化時の不整脈を認めなかったことから、再酸素化時のCa蓄積と不整脈の出現が関連していると考えられた。単一心室筋細胞で著明なDADを認め、再酸素化後の乳頭筋においてDADの高さの不均一性があったことより、乳頭筋の他の部位でDADがtriggered activityをきたし伝導されたと考えられた。

以上より、再酸素化不整脈の機序は、再酸素化時のCa overloadによる筋小胞体からの振動性Ca放出(oscillatory Ca release)が刺激により同期化されてACおよびDADが発生し、DADによりtriggered activityによる不整脈をおこしたためと考えられた。

論文審査の結果の要旨

心筋梗塞発症後の早期線溶療法は現在最もよい治療法と考えられ施行されている。しかし、血液再灌流に伴う不整脈や心筋障害の発生が危惧されており、その機序の解明、予防法の発見が待たれている。

特に不整脈の発生は致死的であるだけに重要な問題である。その発生メカニズムとして reentry, automaticity, delayed afterdepolarization などが考えられているが、その機序の解明には細胞内電極法が用いられる。この方法による特殊心筋プルキンエ線維についての研究はすでになされているが、心筋自体にもこれらのメカニズムが働く可能性もあり、心室筋細胞を用いて申請者は実験を行った。

モルモットの摘出心筋細胞を用いたが、reperfusionは出来ないので reoxygenation を採用した。reoxygenation は reperfusion と同一ではないが類似点の多いこともよく知られている。乳頭筋および単一心筋細胞の細胞内電位記録と ATP 含量の測定を行った。

その結果、プルキンエ線維のみならず、心筋細胞でも delayed afterdepolarization による不整脈の発生が起こりうること、また reoxygenation に先立つ低酸素灌流の時間が影響すること、また sarcoplasmic reticulum (SR) からの Ca 放出を抑制する ryanodine を前もって投与しておくこと、これらが抑制されることより、この reoxygenation による不整脈発生のメカニズムは Ca イオンの SR からの放出が増し細胞内での Ca イオン増加によるという結論を得た。

申請者からの論文内容説明後、審査員より次のような質問がなされた。

1. ATP 測定法
2. 乳頭筋実験の具体的方法
3. 単離細胞の固定と電極刺入について
4. reoxygenation をしなくても自動能の出現するケースの有無
5. 摘出心臓と非摘出心臓での不整脈発生の違い
6. 虚血時間を 60 分にした理由
7. 単一心筋細胞の大きさ

これら質問に対し申請者は明解な解答を行った。

この仕事は、心筋虚血後の血液再灌流に際し発生する不整脈や障害を防止するのに役立つ研究であり、学位論文にふさわしいと審査員全員一致で判定した。

論文審査担当者	主査	教授	中島	光好			
	副査	教授	森田	之大	副査	教授	山崎 昇
	副査	助教授	佐藤	一雄	副査	助教授	原田 幸雄