

細胞外電位計測によるニワトリ胚由来心臓組織片同士の拍動同期メカニズム解析

KAMEI, Yosuke / 亀井, 陽介

(出版者 / Publisher)

法政大学大学院理工学研究科

(雑誌名 / Journal or Publication Title)

法政大学大学院紀要. 理工学・工学研究科編

(巻 / Volume)

59

(開始ページ / Start Page)

1

(終了ページ / End Page)

2

(発行年 / Year)

2018-03-31

(URL)

<https://doi.org/10.15002/00021624>

細胞外電位計測によるニワトリ胚由来心臓組織片同士の 拍動同期メカニズム解析

ANALYSIS OF BEAT SYNCHRONIZATION MECHANISM IN EMBRYONIC CHICK CARDIAC TISSUE PIECES BY FIELD POTENTIAL MEASUREMENT.

亀井陽介

Yosuke KAMEI

指導教員 金子智行

法政大学大学院理工学研究科生命機能学専攻修士課程

In cardiac regenerative medicine, synchronization between artificial cardiac tissue sheet and original cardiac tissue is important. However, synchronization process is unclear. Therefore, the synchronization process between chick embryo-derived cardiac tissue pieces was investigated. In the heart, there are various parts such as the ventricle, the atrium, the sinoatrial node, etc., and the process of synchronization may be different at each parts. Two cardiac tissue pieces were placed on the Multi Electrode Array (MEA) and the synchronization process of the ventricular pair, the atrial pair or the ventricle and the atrial pair was compared. In conclusion, the synchronization process was different between the ventricular pair and the atrial pair. In addition, the ventricular and the atrial pair did not synchronize completely. Further elucidation of the beating synchronization mechanism between cardiac tissue pieces might be useful in cardiac regenerative medicine.

Key Words : cardiac tissue pieces, synchronization, ventricle, atrium, multi electrode array systems

1. 緒言

心臓組織同士の拍動同期メカニズムの解明は心臓の再生医療において重要な課題となっている。現在、iPS 細胞から人工的に作製された心筋細胞シートを心臓の損傷部に移植し、心機能回復を目指す研究が行われている。その際に心筋細胞シートと移植先の心臓組織との拍動同期が重要となるが、心筋細胞シートと移植先の心臓組織の詳しい同期過程は解明されていない。そこで本研究では、心臓の拍動同期メカニズムを組織レベルで解明し、心臓の再生医療への貢献を目的とした。我々はニワトリ胚由来の心臓組織片を用い、心室組織片同士の拍動同期に成功した[1]。また、単一心筋細胞同士の拍動の同期現象はゆらぎの小さい細胞に拍動が追従していくことが分かっている[2]。しかし、心臓には大きく分け心房と心室があり各部位で同期の仕方が異なる可能性がある。そこで、各部位の組織片同士の同期過程を解析し比較した。

2. 実験方法

(1)心臓組織片の配置

ニワトリ胚から採取した心臓を心室組織片と心房組織片に大きく切り分けた後、さらに電極に乗るサイズに細

かくカットした。カットした心臓組織片をコラーゲンコートした電極に接着させるために培地を加え CO₂ インキュベーター内に 30 分程置いた(図 1)。

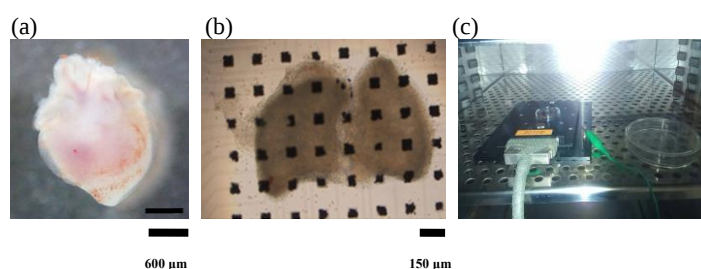


図 1. ニワトリ胚から採取した心臓組織片の配置
ニワトリ胚から心臓(a)を採取し、心室と心房に切り分け電極に乗るサイズにカットし、2つの心臓組織片同士を並べて配置した(b)。その後、DMEM 培地を加えインキュベーター(c)に 30 分程置き接着を待った。

(2)同期過程の測定と解析

オンチップマルチ電極アレイ(MEA)システムを用いて心臓組織片同士の細胞外電位を 1 時間置きに 2 分間測定し MEA システムで観測された 64 の波形から解析に適した 2 つのチャネルを選び解析を行った。また、解析は生

の波形データから組織片ペアの拍動同期が観察された際に、心臓組織片の拍動間隔を示す、 Na^+ 流入のピークから次の Na^+ ピークまでの Inter Spike Interval (ISI (s))(図 2)、組織片ペアの拍動時間差(図 3)を同期前後において解析した。

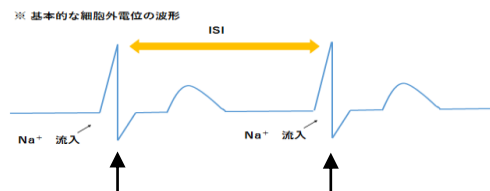


図 2. 基本的な細胞外電位の波形

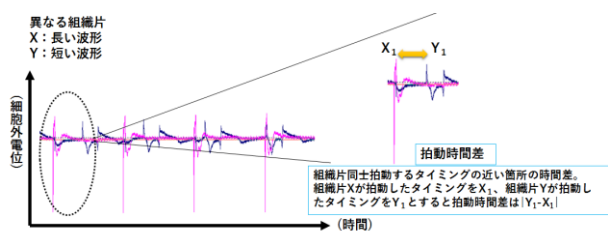


図 3. 同期解析の指標とした拍動時間差

組織片 X が拍動したタイミングを X_1 、組織片 Y が拍動したタイミングを Y_1 とし、拍動時間差を $|Y_1 - X_1|$ で算出した。

3. 結果と考察

(1)心室組織片同士、心房組織片同士の同期解析

心室組織片同士のペアと心房組織片同士のペアの拍動同期解析を行った結果、同期過程において差異がみられた(図 4)。心室組織片ペアが測定開始から 46 時間から 48 時間にかけて急激に拍動時間差を縮め同期に至るのに対して、心房組織片ペアは測定開始 52 時間で同期に至り、同期後も測定開始 90 時間までゆっくりと拍動時間差を縮めていった(表 1)。拍動時間差の縮め方に心房組織片と心室組織片で差異が観察された理由として、心房と心室に発現するギャップジャンクションを構成するコネキシン蛋白室の違いがあることや心室筋と心房筋の構造の違いが差異を生み出している可能性がある。

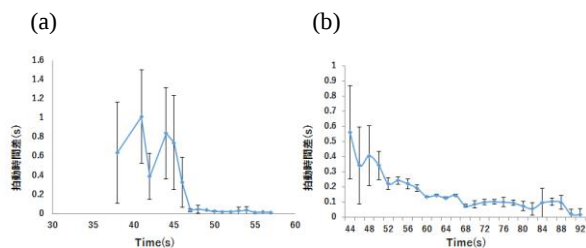


図 4. 心室組織片ペア同士(a)と心房組織片ペア同士(b)の時間経過における拍動時間差の変化

表 1.心室組織片ペア同士(左)と心房組織片ペア同士の同期前後における拍動時間差変化の比較

	同期前							同期後						
時間 (h)	46	48	50	52	54	56		50	52	56	60	70	80	90
拍動時間差 (s)	0.33	0.05	0.03	0.02	0.04	0.02		0.34	0.22	0.22	0.14	0.09	0.08	0.02

(2)心室組織片と心房組織片ペアによる同期解析

心室組織片と心房組織片ペアでの同期解析を行った結果、心室組織片と心房組織片ペアは拍動時間差を縮め測定開始 48 時間から一部同期を示したが、完全同期には至らなかった(図 5)。また、測定開始から 50 時間を過ぎてても一部同期に至らない組織片ペアも多く見られた。

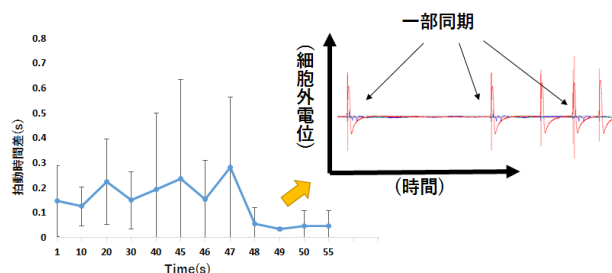


図 5. 一部同期を示した心室組織片と心房組織片ペア

測定開始から 48 時間で拍動時間差は大きく縮まり同期を示したが、ペースメーカーとなる組織の拍動が速くなると 1~5 拍置いて拍動の同期を示した。

4. 結言

本研究により、心房組織片ペア同士、心室組織片ペア同士、心室組織片と心房組織片ペア同士の拍動同期に成功した。各組織片ペアは測定開始から 40 時間以降に同期に至り、心房組織片同士のペアは拍動時間差をゆっくり縮め、心室組織片同士のペアは拍動時間差を急激に縮めるなど同期過程において差異が見られた。また、心房と心室組織片ペアは同期に至りにくいことが分かった。

謝辞： 本研究は金子智行教授のご指導を始め、MEA システムをご提供して下さった早稲田大学安田賢二教授、貴重なご意見をいただいた青山学院大学三井敏之教授、東京医科歯科大学野村典正准教授のご協力のもとで行われました。深く感謝を申し上げます。

参考文献

- 1)S .Yamazaki *et al.*,法政大学卒業論文(2014)
- 2)K Kojima *et al.*, *Biochemical and Biophysical Research Communications* 351, 209-215 (2006)