

### 心筋細胞における温度応答性の解析

OYAMA, Kohei / 大山, 航平

---

(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. 理工学研究科編

(巻 / Volume)

63

(開始ページ / Start Page)

1

(終了ページ / End Page)

2

(発行年 / Year)

2022-03-24

(URL)

<https://doi.org/10.15002/00025413>

# 心筋細胞における温度応答性の解析

## ANALYSIS OF TEMPERATURE RESPONSIVENESS OF CARDIOMYOCYTES

大山航平

Kohei OYAMA

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

Cooling heart during the transplant and hypothermia therapy are provided, however, low temperature can cause arrhythmia. Thus, the transition process of beating pattern during rapid or gradual temperature change should be revealed. In this study, we investigated Inter-Spike Interval (ISI) and Short-Term Variability of ISI (STV<sub>ISI</sub>) within temperature change from 37 to 5°C and from 5 to 37°C by using Multi-Electrode Array (MEA) system. ISI, stabled at 37°C, increased to at 13°C and disappeared. STV<sub>ISI</sub> which is fluctuation of ISI also increased with temperature rise. Stopped beating at lower temperatures resumed at 26°C and ISI decreased to at 37°C. STV<sub>ISI</sub> decreased with temperature drop too, however, STV<sub>ISI</sub> increased at around 30°C. More gradual temperature rise to 30°C resulted in decreasing of STV<sub>ISI</sub> at all temperatures. It is considered that gradual temperature change can inhibit arrhythmia caused by temperature change.

**Key Words** : cardiomyocytes, temperature responsiveness, arrhythmia

### 1. 緒言

虚血性心疾患や拡張型心筋症などの心疾患は重篤な疾患であり、これに対する治療として心臓の臓器移植が行われている。その際、ドナーから摘出した心臓をその代謝の抑制・バイアビリティーの保護を目的として、冷生理食塩水などを用い冷却することがある[1]。また、臓器を冷却し保護することは、臓器の保護を目的とし低温(低体温)下で治療を行う低体温療法でも注目されている。その一方で近年では、心臓に対する低温の影響として、QT間隔の延長や房室ブロックの発生といった不整脈性を示すような現象が起きているという報告がされてきている[2]。そのため、低温や温度変化が心臓・心筋細胞に対してどのような影響を与えるのかを明らかにする必要がある。しかしながら、短時間での温度変化による拍動変化の様子は解明されていない。本研究では、心臓を構成する心筋細胞に着目し、シート状心筋細胞集団における環境温度が37°Cから5°Cまで低下した際と、5°Cから37°Cまで上昇した際の心筋細胞外電位をMulti-Electrode Array (MEA) システムを用いて測定した。そして、拍動間隔(Inter-Spike Interval : ISI)とISIのゆらぎ(Short-Term Variability of ISI : STV<sub>ISI</sub>)の変化を算出し解析した。さらに、温度の変化を緩やかにした条件でも同様の解析を行い、その比較を行った。

### 2. 実験方法

#### (1) 温度変化に伴う心筋細胞の細胞外電位変化の測定

MEA システムを用いて心筋細胞集団の温度変化に伴う細胞外電位の変化を測定した。はじめに37°Cの環境下で通常細胞外電位を測定し、次に温度を37°Cから5°Cまで18分で低下させた際の細胞外電位の変化を測定した。そして5°Cから37°Cまで18分で温度を上昇させた際の細胞外電位の変化を測定した。この温度低下/上昇のサイクルを3回行った(Fig. 1)。さらに、MEAシステムのサンプリングレートを変更し測定可能時間を延長することによって、温度を5°Cから30°Cまで30分で上昇させた際の細胞外電位変化も同様に測定した。

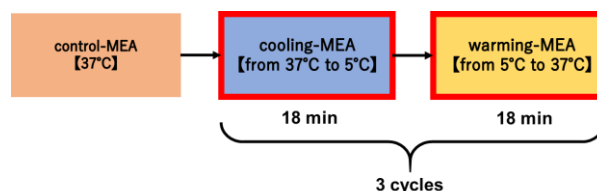


Fig. 1 MEA システムによる細胞外電位測定プロトコル

#### (2) 温度変化に伴う細胞外電位変化の解析

MEA システムを用いて測定した細胞外電位変化からISIとSTV<sub>ISI</sub>を算出した。MEA システムにより記録される波形中のNa<sup>+</sup>の細胞内への流入によるピーク(Na<sup>+</sup> peak)から次のNa<sup>+</sup> peakまでの間隔をISIとし、隣接す

る ISI の差の絶対値の合計をその個数と $\sqrt{2}$ の積で割ったものを  $STV_{ISI}$  とした (Fig. 2, 式 1)。

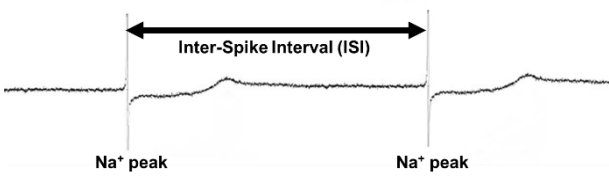


Fig. 2 MEA システムにより記録される波形と ISI

$$STV_{ISI} = \frac{\sum_{n=1}^k |ISI_{n+1} - ISI_n|}{k \times \sqrt{2}} \quad \dots(1)$$

### 3. 結果と考察

#### (1) 短時間での温度変化に伴う拍動間隔のゆらぎ

37°Cから 5°Cまで温度を低下させると、温度低下に伴い ISI,  $STV_{ISI}$  がともに増加することが示された。ISI は 37°C で安定した拍動を行っていた control では 0.9 秒であったものが拍動の停止した 13°C 付近では 10-15 秒になった。 $STV_{ISI}$  は control の  $STV_{ISI}$  が 0.05 であったのに対し、13°C 付近では 2.75 と約 55 倍の値をとった (Fig. 3 (a))。5°Cから 37°Cまで温度を上昇させると、ISI は拍動の再開した 26°C 付近では 10 秒程度であったものが、温度上昇に伴い control の ISI へと近づいた。 $STV_{ISI}$  は 26°C 付近で 2.47 であったものが 37°C になると 0.41 と control の  $STV_{ISI}$  へと近づくように減少していった。しかし、 $STV_{ISI}$  が増加し続けた温度低下の際と比較すると、温度上昇に伴う  $STV_{ISI}$  の減少は 26°C 付近で拍動が再開してから単に減少し続けていくのではなく、30°C 付近で一度増加することが示された (Fig. 3 (b))。温度低下/上昇に伴う ISI の変化について複数サンプルについても同様に解析した結果、温度低下では ISI が徐々に上昇し、温度上昇では ISI は拍動再開後 30°C 付近で一度大きくなるというヒステリシスを示す結果が得られた (Fig. 4)。この差は、心筋細胞内に発現するイオンチャネルの温度感受性が温度変化の方向により異なるために生じると考えられる。

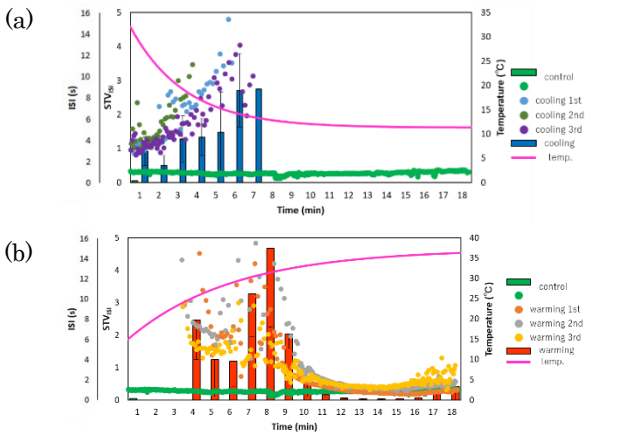


Fig. 3 温度変化に伴う ISI,  $STV_{ISI}$  の変化

(a) 37°Cから 5°Cまでの温度低下に伴う ISI,  $STV_{ISI}$  の変化。(b) 5°Cから 37°Cまでの温度上昇に伴う ISI,  $STV_{ISI}$  の

変化。散布図は ISI を、棒グラフは  $STV$  を示す。エラーバーは 1st~3rd の 3 サンプルの SD を示す。

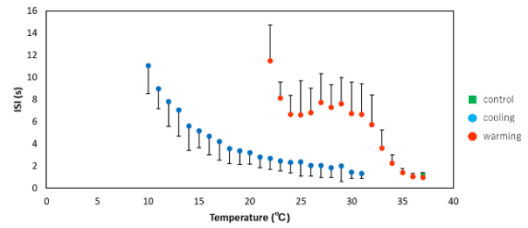


Fig. 4 温度上昇と低下における ISI のヒステリシス 各温度帯における ISI の変化。control は 37°Cでの ISI を示す。エラーバーは SD を示す。n=9

#### (2) 温度変化を緩やかにした条件での拍動間隔のゆらぎ

短時間での温度上昇の際に生じた 30°C 付近での  $STV_{ISI}$  の増加が、温度の上昇を緩やかにし 30°C までの上昇とした際にも生じてしまうのかを、MEA システムのサンプリングレートを変更し測定可能時間を延長することで調べた。その結果、30 分かけ温度を 5°Cから 30°Cまで上昇させると、30°C 付近で確認されていた  $STV_{ISI}$  の上昇は認められなかった。また、拍動が再開した 28°C 付近での  $STV_{ISI}$  も 0.28 と、control の  $STV_{ISI}$  である 0.05 の 5 倍程度にとどまった (Fig. 5)。このような  $STV_{ISI}$  変化の差から、イオンチャネルへの温度変化の影響はその変化速度も大きく影響を与えていることが示唆された。

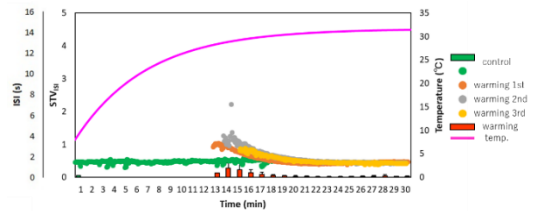


Fig. 5 緩やかな温度変化による ISI,  $STV_{ISI}$  変化 5°Cから 30°Cまでの温度上昇に伴う ISI,  $STV_{ISI}$  の変化。散布図 ISI を、棒グラフは  $STV$  を示す。control の  $STV_{ISI}$  は control 測定中に得られた ISI 全ての  $STV$  を示す。エラーバーは 1st~3rd の 3 サンプルの SD を示す。

### 4. 結言

心筋細胞集団の環境温度を短時間で 37°Cから 5°C、5°Cから 37°Cへと変化させると、その拍動間隔のゆらぎは、温度低下では徐々に大きくなったのに対し、温度上昇の際には徐々に小さくなるのではなく一度大きくなるという違いがあることが観察された。さらに、温度上昇を緩やかに行う事により、ゆらぎが一度大きくなる現象を抑え、ゆらぎそのものを小さくすることに成功した。

### 参考文献

- 1) 松本 光司, *J Nippon Med Sch*, (2001), **68** (3), 288
- 2) Andrew D, *CMAJ*, (2017), **189** (43), E1337-E1340