

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 3 月 31 日現在

機関番号：18001

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22590787

研究課題名（和文）摘出心房展開標本を用いた異常自動能にともなう
不整脈発現機構の光イメージング解析

研究課題名（英文）Optical imaging studies of the generation of atrial arrhythmia
evoked by abnormal automatism

研究代表者

酒井 哲郎 (SAKAI TETSURO)

琉球大学・医学研究科・教授

研究者番号：40153845

研究成果の概要（和文）：ラット摘出心房標本において、不整脈(頻拍様興奮 tachycardia-like excitation)を電気刺激により誘発し、その際の興奮波伝播の時間的・空間的パターンを膜電位の光学的イメージング法により解析した。その結果、興奮波の伝播パターンには誘発のイベントごとに大きな違いが見られ、これらは誘発時の生理学的条件の微小な揺らぎによるものと考えられた。このことから、ここで見られた不整脈は時空カオスとしての特徴を持っていることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：Using optical imaging methods together with voltage-sensitive dye, we analyzed spatio-temporal patterns of excitation spread during the tachycardia-like excitation evoked by electrical stimulation in the isolated rat atrium. Event-to-event variations, which seem to result from physiologically trivial difference(s) of the initial conditions, were always observed among the excitation spread patterns. Based on these results, we consider that tachycardia-like excitation is an example of a spatio-temporal chaos in the physiological system.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・循環器内科学

キーワード：光イメージング、膜電位感受性色素、心房、不整脈、カオス、
event-to-event variations

1. 研究開始当初の背景

心房細動・粗動といった心房性不整脈は、臨床の場で多く見られる疾患であるが、その病態の電気生理学実体の全貌は未だに必ずしも明らかにはなっていない。これは、実験的に心房性不整脈を発現させて、その際に現れる電気現象を電気生理学的に解析す

る優れた実験法がまだ十分に確立されていないことによるものである。本研究では、膜電位感受性色素を用いた光学的膜電位イメージングの技法を、ラットから摘出した摘出心房展開標本に適用して、*in vitro*条件下で心房性不整脈を誘発しその過程における心電活動を詳細なマッピングにより解析をお

こなう。

2. 研究の目的

本研究ではこれまでの成果を踏まえ、光学的イメージングの技法を駆使して心房における不整脈発現の機構、特に異常自動能の関与を明らかにしていくことを目指している。われわれがこれまでに起こってきた膜電位イメージング法を用いた興奮波伝播パターンの mapping により、不整脈発現直前および不整脈誘発時から発現時にかけての興奮波伝播の時間的・空間的パターンの詳細な map を作成していく。この研究で得られた膜電位 map により、心房性不整脈発現の機構を明らかにしていく。

3. 研究の方法

- (1) 膜電位の光学的測定法によるイメージング：細胞の膜電位変化にともなう光学的性状が変化する膜電位感受性色素と多素子フォトダイオードアレイを用いた膜電位活動の光学的測定法には、標本に対して侵襲を与えず、標本上の多数の領域から活動電位を同時に記録できるという大きな特徴がある。さらに得られた光学シグナルをもとにイメージング[画像化]をおこなうことにより、心臓の興奮波の伝播パターンのダイナミックな可視化 [visualize] をおこなう。
- (2) 膜電位イメージングによる tachycardia-like excitation(頻拍様興奮)発現の解析：膜電位感受性色素で染色したラット摘出心房標本に短時間の高頻度刺激を与えることにより、刺激停止後も持続する高頻度の興奮発現(tachycardia-like excitation)を誘発することができる。この現象の誘発期および維持期における標本内の興奮波伝播パターンのマップを作成する。
- (3) 異常自動能発現の膜電位イメージングによる解析：刺激により誘発される不整脈の他に、薬剤(Blebbistatin など)により誘発される異常自動能(triggered activity および自発性異所性リズム)の発現部位とその特性(発現のタイミング、リズム、持続性・安定性等)を明らかにしてゆく。
- (4) 膜電位イメージングに加えカルシウムイオンイメージングの技術を導入し、二種類のイメージングを組み合わせた実験をおこない、不整脈発現と細胞内カルシウム動態の関係を明らかにしてゆく。

4. 研究成果

- (1) 摘出心房標本で誘発された不整脈発現時の興奮波伝播パターンの膜電位感受性色素を用いた光学的マッピングをおこない、その結果、tetanus 刺激により誘発される頻拍性不整脈(tachycardia-like excitation)において、刺激の過程および刺激終了後の 1~2 秒間の

時期に興奮伝播の不規則な block(blocked area)や異所性自動能の focus が出現する複雑な("chaotic")興奮伝播パターンが現れ、その後準安定的な興奮の circus movement あるいは異所性ペースメーカーが発現するパターンに移行することが明らかにされた。さらにこの過程における興奮伝播パターンは不整脈のイベントによってひとつひとつ異なっていることが時間的・空間的マッピングにより明らかとなった。これらの実験結果で見られるイベント間の発現パターンの違い(event-to-event variations)に注目し、ここで見られる現象がカオス的ではないかという着想を得た。

(2) 一方、ブレビスタチン誘発性不整脈(撃発活動および異所性自動能)についても光学的マッピングをおこない、ブレビスタチン誘発性撃発活動においては、電気刺激により誘発された最初の活動電位に続いて発現する第二の活動電位の発生源およびその伝播範囲が、やはり、撃発活動のイベントによって異なっていることが明らかにされた。さらにその伝播の空間的パターンにおいても、時に変則的な変化がみられることが明らかとなった。また、異所性自動能についても、その発現のイベントによって異所性ペースメーカーの位置が異なる例がみられた。

(3) 上の結果から、これらの variations は不整脈・自動能の発現時における生理学的初期条件のわずかな違いによって引き起こされるものであることが示唆された。この「複雑系」としての特徴はここで見られる不整脈が「機能的自己組織化」的現象であるという考えを強く支持するものである。これらの事からこの不整脈が"physiology-specific attractor"と呼ぶべきものであることが明らかになった。

(4) なお計画の当初においては膜電位イメージングに加えカルシウムイオンイメージングを組み合わせた実験を計画していたが、本研究で用いる大型顕微鏡では対物レンズの倍率が小さいため、落射蛍光の光学系ではカルシウムイオンプローブに照射する励起光を充分得ることができないため、光学系の改造が必要であることが明らかとなった。そのためカルシウムイメージングの導入は次期計画の課題となった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

1. Kanlop N, Sakai T Optical mapping study of blebbistatin-induced chaotic electrical activities in isolated rat atrium preparation. J Physiol Sci 60: 109-117. 2010

〔学会発表〕(計5件)

1. 酒井哲郎 摘出心房標本の頻拍様興奮における時空カオス発現の光学的イメージング解析 第90回日本生理学会大会 2013年3月 東京
2. T. Sakai Kamino K Chaotic electrical excitation in the rat atrium revealed by optical mapping studies. The 4th Internatinal Interdisciplinary Symposium on Chaos and Complex Systems 2012年5月 Antalya,Turkey
3. 酒井哲郎 摘出心房標本における吸光変化による膜電位光学測定的光センサーとしてのフォトダイオードアレイと CCD カメラの比較 第89回日本生理学会大会 2012年3月 松本
4. 酒井哲郎 摘出心房標本における細胞内Ca²⁺過負荷時に見られた興奮旋回の光学的解析 第88回日本生理学会大会・第116回日本解剖学会総会・全国学術集会 2011年3月 横浜
5. 酒井哲郎、Kanlop N 摘出心房標本におけるブレビスタチン誘発性異常心電活動の光学的解析 第87回日本生理学会大会 2010年5月 盛岡

〔図書〕(計1件)

1. Sakai T and Kamino K Chaotic electrical excitation in the rat atrium revealed by optical mapping studies. In Chaos and Complex Systems ed. by Stavros G et al. (分担執筆) Springer 2013. pp. 315-318

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

酒井哲郎 (SAKAI TETSURO)

琉球大学・医学研究科・教授

研究者番号：40153845

(2)研究分担者

なし ()

研究者番号：

(3)連携研究者

なし ()

研究者番号：