

厚生省科学研究補助金（高度先端医療研究事業）

平成11年度研究報告書

マイクロマシン技術を利用した経
神経的循環器疾患治療の基盤技術
の開発に関する研究（H10-治療-003）

主任研究者：砂川 賢二

（国立循環器病センター研究所）

厚生省科学研究補助金（高度先端医療研究事業）

平成11年度研究報告書

マイクロマシン技術を利用した経
神経的循環器疾患治療の基盤技術
の開発に関する研究（H10-治療-003）

マイクロマシン技術を利用した経神経的循環器疾患治療の基盤技術の開発に関する研究

主任研究者 砂川 賢二（国立循環器病センター研究所 部長）

研究要旨：めざましい科学技術の進歩を背景に、病魔を克服すべく各種の人工臓器や機能代行装置が開発されつつあるが、現時点においてはこれらの装置と生体との機能的融合をめざした研究開発は全く行われていない。真に生体と融合した機能は、生体制御の中心的役割をになう神経系と人工臓器や機能代行装置が相互にインターフェイスし、生体によって経神経的に制御されて初めて可能となる。また、神経系とのインターフェイスが可能となれば、生体制御機構の失調が関与する疾患を経神経的な生体制御機構の最適化により治療できるようになる。

本研究は、近年著しく発展したマイクロマシン技術を利用して、

- (1) 埋め込み型微小神経電極（物理的インターフェイス）の開発に関する研究
ヒトにおける神経活動の記録および刺激を可能とするために、生体適合性の高い素材を用いて、きわめて微小な埋め込み型神経電極を開発する。
- (2) 神経活動に含まれている情報を生体情報へ翻訳する、あるいは生体情報を神経活動に符号化する規則（論理的インターフェイス）の解明に関する研究
生体制御中枢へ入力される求心性神経活動および中枢から出力する遠心性神経活動に含まれている情報を人工臓器や機能代行装置を制御するために必要な情報へと翻訳する規則、あるいは生体制御機能の最適化のために矯正情報を制御中枢に入力する際に必要な生体情報の神経活動への符号化の規則を解明する。

を官民共同で総合的に行い、生体と人工臓器や機能代行装置との機能的融合および生体制御機構の最適化治療に関する高度な基盤技術すなわち経神経的治療法を確立し、特に社会的ニーズの高い循環器疾患治療への応用技術を開発するために平成9年度から3年計画で開始された。

平成11年度は、最終年度にあたり、物理的インターフェイスのための微小神経電極を超LSIプロセス技術を応用して試作したり、また論理的インターフェイスとして、バイオニック動脈圧受容器反射の動作原理を開発し、中枢性動脈圧反射失調を克服するためのバイオニック動脈圧反射装置を試作し、数多くの経神経的循環器疾患治療のための基盤技術を創出することができた。

分担研究者

寺田 知之（株）日立超LSIシステムズ 部長
間野 忠明 名古屋大学環境医学研究所 所長

A. 研究目的

先天性奇形や事故により臓器欠損を有する患者や末期臓器不全に苦しむ患者に対する治療手段として、各種の人工臓器や機能代行装置の開発は、保健医療水準の向上にとって最重要課題であり、近年の工学・エレクトロニクス・マイクロマシン技術のめざましい進歩を背景に精力的に研究開発が進んでいるが、現時点においてはこれらの装置と生体との機能的融合をめざした研究開発は全く行われていない。真に生体と融合した機能は、神経系とインターフェイスして初めて可能となる。あるいはまた、高血圧や不整脈などの生体制御機構の失調が関与する疾患を経神経的な生体制御機構の最適化により治療できるようになる。

本研究は、生体と人工臓器や機能代行装置との機能的融合および生体制御機構の最適化治療に関する基盤技術すなわち経神経的治療法を確立することを目的とする。

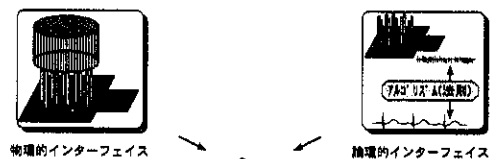


図 A-1 マイクロマシン技術を利用した経神経的循環器疾患治療のための二つの基盤技術

本研究は、図 A-1に示したように、二つの小課題を並行して推進することにより、基盤技術の開発を遂行する。

(1) マイクロマシン技術を利用した神経インターフェイスのためのプローブ（物理的インターフェイス）の開発に関する研究

神経活動の記録および刺激をするために、生体適合性の高い素材を用いた電気や光計測を利用した神

経プローブの開発の基礎研究を行うとともに、実際に生体に埋め込む技術を開発する。

(2) マイクロマシン技術を利用した神経活動に含まれている情報を生体情報へ翻訳する、あるいは生体情報を神経活動に符号化する規則(論理的インターフェイス)の開発に関する研究

生体制御中枢へ入力される求心性神経活動および中枢から出力する遠心性神経活動に含まれている情報を人工臓器や機能代行装置を制御するために必要な情報へと翻訳する規則、あるいは生体制御機能の最適化のために矯正情報を制御中枢に入力する際に必要な生体情報の神経活動への符号化の規則を解明する。

B. 研究方法

B-1. 物理的インターフェイス開発に関する研究

B-1-1. 試作装置

前年度日立超 LSI システムズでは Si-ULSi プロセス技術を応用した神経再生電極を作成した。

本電極は Si-Au 電極部とフレキシブル基板で構成され、フレキシブル基板に遮断周波数 50 Hz のバイパスフィルタと増幅率 100 倍のアナログ回路を組み込んだ。以下にその概要を示す。

B-1-1-1. 電極部

昨年度作成した電極の Si チップ構成図を図 B-1-1-1 にチップ外観を図 B-1-1-2 に示す。電極は約 $4 \times 1 \text{mm}^2$ の Si チップに形成した。チップは貫通電極が配置された薄膜ダイアフラムとそれを補強するリム部、フレキシブル基板を接続するためのボンディングパッド、パッドと電極を接続するためのメタル配線で構成した。切断された神経組織は、この貫通電極を通して再生する。貫通電極のホールサイズは 10、20、30、40、50 μm の種類を作成し、ホール周辺にはリング状に金属電極を配置して神経信号を検出する構造である。電極材料は生体への毒性、生体組織との接触電位の大きさを考慮し金 (Au) とした。ここで神経の再生を容易にするため電極部のダイアフラム厚さは 2.5 μm と薄膜化した。

また Si チップの強度を確保するため 30 μm 厚のリムをチップ周辺に形成した。

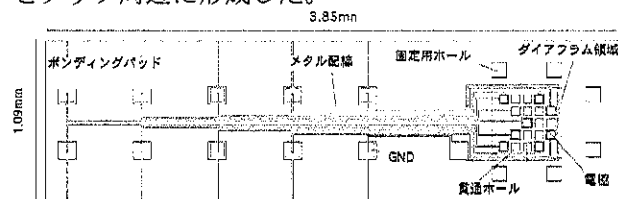


図 B-1-1-1 Si チップ構成図

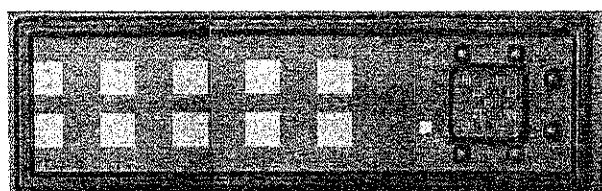


図 B-1-1-2 Si チップ外観図

B-1-1-2. アナログ増幅回路部

接触電位のドリフト成分による S/N 比の低下、また外部雑音の侵入による S/N 比低下を低減するため、アナログ増幅回路方式は電極からの信号と不関電極からの信号を入力とした差動増幅方式を採用した。

また差動増幅回路による同相信号除去比 (CMRR) を高めるため不関電極は神経活動電位測定用の電極と同一材質で形成するとともに、電極穴近傍に設置した。

神経の微弱な信号を検知する為、フレキシブル基板に遮断周波数 50 Hz のバイパスフィルタと増幅率 100 倍のアナログ回路を組み込んだ。

B-1-1-3. 接続部

接続部は生体内に埋め込まれた電極と体外に露出させたアナログ増幅回路を接続するもので、電極を埋め込んだ動物の運動により電極に歪み等の力が加わることも防ぐためポリイミドフレキシブル基板を用いた。

完成した神経再生型電極システムの外観を図 B-1-1-3 に示す。

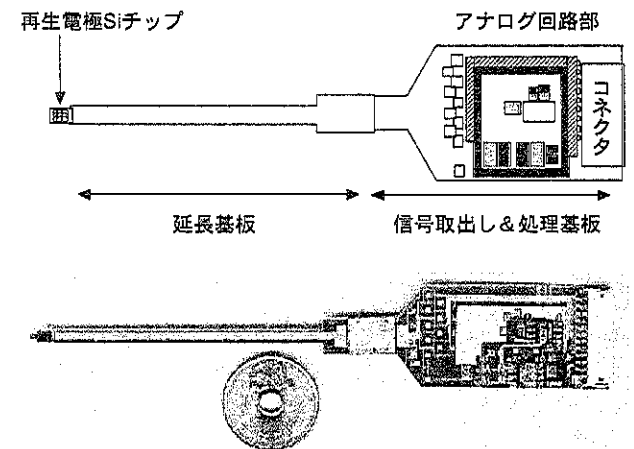


図 B-1-1-3 神経再生型電極外観

B-1-2. ラットへの埋め込み実験

試作した神経再生電極を用いて生体内埋め込み実験を行った。

実験目的は

- (1) 生体内への埋め込み技術の開発、
- (2) 生体内での電極信頼性に関する基礎データを得る、
- (3) 神経活動の記録を行うことである。

実験にはラットを用いた。

B-1-2-1 神経-電極固定方法の検討

神経活動の記録には、一度切断した神経線維を Si チップの両面に長期間安定に接続し、電極穴を通して神経組織の再生を図ることが絶対条件である。今回の実験では予め Si チップにガイドチューブを固定し、埋め込み時にチューブ内部に神経線維を導入する手法を用いた。チップ設計において、Si チップ

には固定用の $100\mu\text{m}$ のホールを設け、チューブ並びに、生体組織への固定を行なうこととした。今回作成した電極は神経の再生反応を最優先に設計したため、神経再生電極部のダイアフラム厚さは $2.5\mu\text{m}$ と極薄膜化してある。このダイアフラムは電極の絶縁性と組織内における安定性を考慮して Si_3N_4 と SiO_2 膜を用いた。ダイアフラムの機械強度を確保するため $30\mu\text{m}$ 厚の Si リムをチップ周辺に形成し、そのリム部に固定ホールが配置してある。図 B-1-2-1 に今回作成した断面構造図を、図 B-1-2-2 に今回作成した断面構造図を、図 B-1-2-2 に Si チップ先端部の拡大 SEM 像を示す。

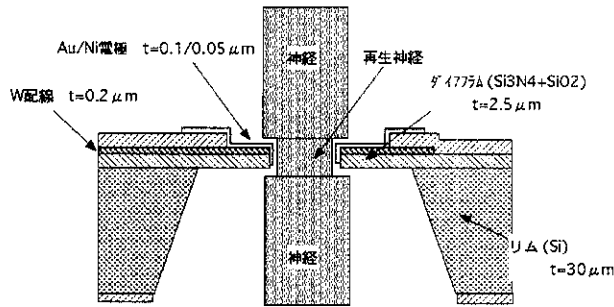


図 B-1-2-1 再生型神経電極の断面構造

実験には、迷走神経を用いた。ガイドチューブは神経束の径を考慮して外径 1.0mm 内径 0.5mm のシリコンチューブを選定した。Si チップとチューブの接続には $20\mu\text{m}$ の縫合糸を用いてシリコンチューブがダイアフラムの中心に位置するように固定ホール 4 箇所を縫合した。

図 B-1-2-3 に Si チップとチューブを固定した写真を示す。

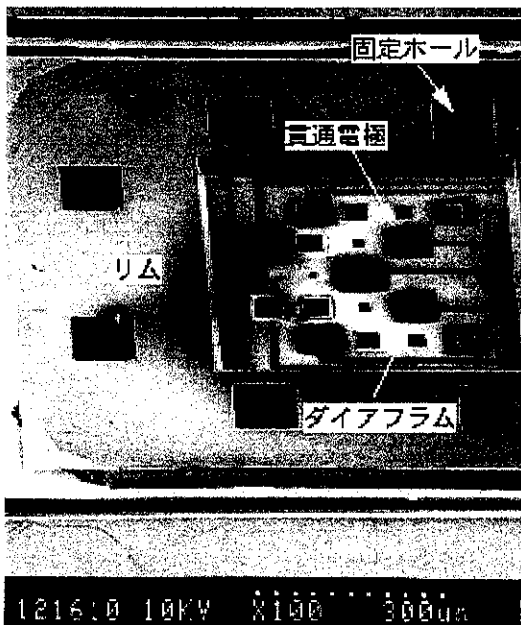


図 B-1-2-2 Si チップ先端部の SEM 像

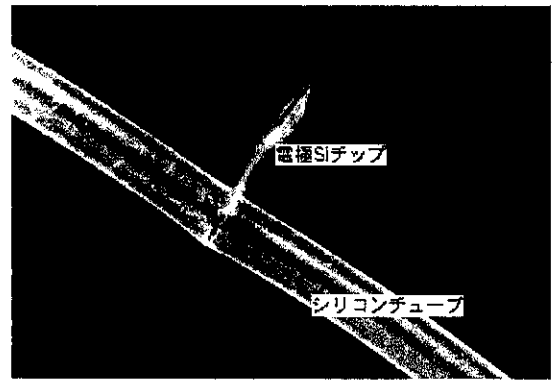


図 B-1-2-3 Si チップ単体とチューブの固定状態

アナログ増幅回路をアッセンブリーした Si チップでは、シリコンチューブ固定時にチップが破断し、機械強度が不足することが判明した。

この原因は

- (1) 神経の再生反応を最優先に設計したため、電極部の周辺ダイアフラムは $2.5\mu\text{m}$ 、リム厚さは $30\mu\text{m}$ と薄く機械強度が充分でない。
- (2) アナログ増幅回路をフレキシブル基板上に外付け部品で構成したため、その重量が増加し、埋め込み時にフレキシブル基板を通してチップに応力が加わった。
- (3) 耐ノイズ性を向上するためフレキシブル基板の裏面にシールド層として Au メッキを施した Cu 箔 $18\mu\text{m}$ を用いたことで、基板の柔軟性が低下した。

に起因することが判明した。

今回の実験では、補助的に高純度石英製のチップ保護カバーを作成し、チップの機械強度を確保して埋め込み実験を行なった。

石英保護カバーには半導体装置部品加工技術を用い、Si チップを保護しかつシリコンチューブが固定できる構造を $6 \times 10 \times 3\text{mm}$ のサイズで作成した。この石英カバーには中央部に 1.0mm のホールが開けられ、神経を導入するためのシリコンチューブが固定される。また端部には 0.4mm のホールが開けられ生体への固定可能な構造とした。

図 B-1-2-4 に石英カバーの外観と、図 B-1-2-5 には石英カバーを用いて電極とシリコンチューブの接続を行なった外観写真を示す。

本手法を用いてラット頸部への埋め込みを行なった。予めシリコンチューブには縫合糸を通しておき、切断した神経軸索をその縫合糸を用いて電極部へ導入した。神経並びに電極は、石英カバーに開設したホールを用いて周辺組織に固定した。図 B-1-2-6 にはラットへの埋め込み例を示す。

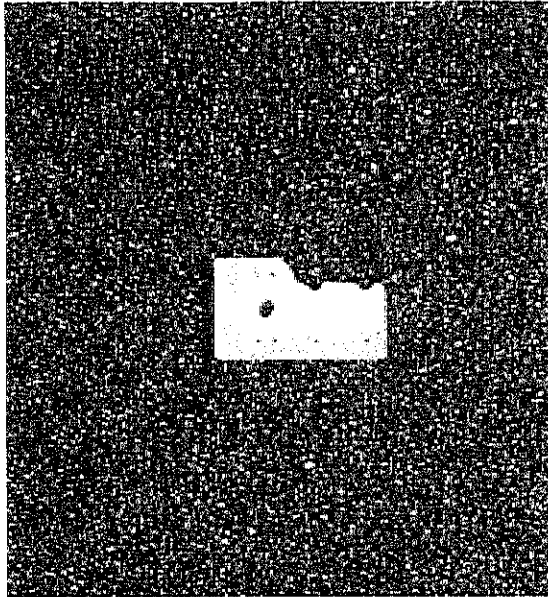


図 B-1-2-4 石英カバー外観



図 B-1-2-5 石英カバーを用いた Si 電極とシリコンチューブの接続

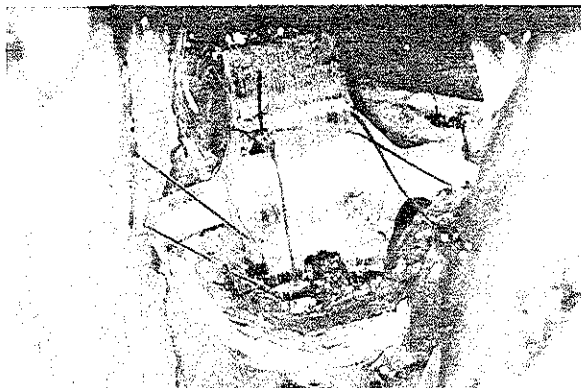


図 B-1-2-6 ラットへの埋め込み写真

B-1-2-2 電極埋め込み評価結果

ラットへの埋め込み開始後 50 日が経過したサンプルに関して神経組織の再生状況を観察した。その結果、図 B-1-2-7 に示すようにチューブ内部に導入された神経線維はダイアフラムの電極ホールを通して再生が進んでいることが確認された。

しかしながら埋め込み開始後 32 日が経過したサンプルで図 B-1-2-8 に示すように金属電極の剥離が認められた。詳細な解析の結果、Si チップの内部配線として用いている W が消失し、Au 電極の剥離を引き起こしたことが判明した。

さらにフレキシブル基板はラットの生体内に埋め込み後、時間経過とともに劣化が進み断線が発生した。これはラットの飼育時に基板にストレスが加わり断線に至ったものである。



図 B-1-2-7 埋め込み手術 50 日後の神経再生状態

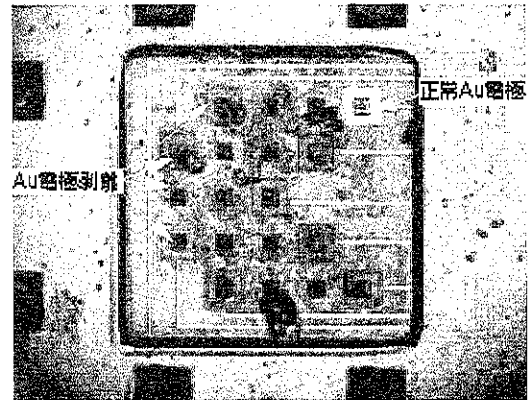


図 B-1-2-8 埋め込み手術 32 日後の Au 電極剥離不良

B-1-3 電極信頼性向上対策

前述の実験結果から Si チップ、フレキシブル基板の強度並びに Au 電極の接着性が不足することが判明した。

再生電極を実用化するには、生体内における電極信頼性向上が最重要課題と考え、2 次試作品の開発を進めた。

開発方針として

- (1) Si チップサイズと厚さを最適化し、チップ強度を増加させる。その際、埋め込み自由度を考慮し、チップ保護の石英カバーは用いず、チップに直接シリコンチューブが固定できる構造とする。
- (2) Si 電極部とアナログ増幅回路を小型化し、電極システム全体を生体内に埋め込み可能な構造とする。本年度は Si 電極部の神経信号検出を研究課題の中心に位置づけたため、チップと回路の接続を、SUS : 0.05mm Φ の細線を用いて、柔軟性を改善する変更を留めた。電極システムの実用化には Si 電極部とアナログ増幅回路等を 1 チップ化した構造が望まれるが、次年度以降の研究で開発を進めることとした。
- (3) Au 電極の剥離に対しては、電極ホールから W

配線を離す等のレイアウトを工夫し、W が腐食しないよう対策した。また Au の膜厚をこれまでの 100nm から 300nm に厚膜化して Au のピンホールを通して W が腐食しないよう改良を加えた。

- (4) 電極部の信頼性評価の手段として、神経電極部にテスト回路を組み込み、生体内埋め込み後も随時チェック可能な機構とした。

B-1-3-1 Si チップ強度向上対策

Si チップの機械強度を測定するためテストピースを作成しチップ形状と強度の関係を調査した。図 B-3-1 に強度試験用に作成した Si テストピースの一例を示す。チップ中央のホールはダイアフラム形成領域で神経束のサイズを考慮して 1mmφ、1.5mmφ とした。固定ホールはチップ端に 4 個配置することとし、ホール部の寸法は 0.5mm、0.7mm、1.0mmφ とした。Si エッチングには KOH 液を用いるためホール部分は内径が縮小するため注意が必要である。実験の結果、シリコンチューブを直接固定して 1mm のダイアフラムを保持するには Si チップ厚さは 200 μm 以上、チップ寸法は 3x7mm 程度必要であることが確認された。

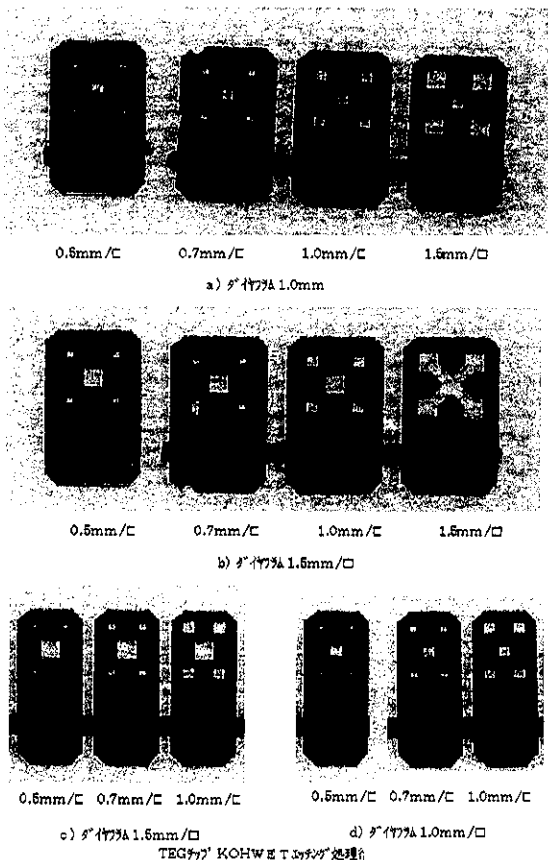


図 B-1-3-1 強度試験用 Si テストピース

前年度作成した電極は、図 B-1-3-2 (左図) に示す断面形状で、表面からのパターンニングでリム厚 30 μm、ダイアフラム厚 2.5 μm を形成した。このときのプロセスは、以下の通りである。

- (1) Si / SiO₂ / Si 張り合わせ基板(SOI 基板)を用いて、予めダイアフラム領域の SiO₂ 層を表面からエッチングする。
- (2) 所望のリム厚分 Epitaxial(Epi)単結晶 Si を堆積する。
- (3) 表面にダイアフラムとなる Si₃N₄、SiO₂ 膜を堆積したのち、神経ホールを開口する。
- (4) 裏面から KOH を用いた Si エッチングを行なう。その際予めエッチングしておいたダイアフラム領域部の Si がエッチングされ Epi 層がリムとなる。

本方式で Si チップ厚さを 200 μm 以上にするには Epi 膜を厚膜化する必要があるが、30 μm → 200 μm とする場合、Epi 成膜時にパターンシフトによるダイアフラム形状の変形と Epi 装置上の制約から現実的でない。そこで新たにダイアフラム・リム形成技術を開発した。

本年度の 2 次試作品の断面形状を図 B-1-3-2 (右図) に示す。本プロセスは、SOI 基板の表面 Si 層と裏面 Si を個別に加工するもので、表面 Si 層をダイアフラムに、裏面 Si をリムに形成した。ここでダイアフラム厚は SOI 基板表面の Si 膜厚を調節することで、リムはバックグラインドを行なうことで任意の所望の厚さが設定可能である。加工に用いる Si 基板厚さは 550 μm であることから、Si プロセス途中にバックグラインドを行ない 200 μm 厚に研削した。

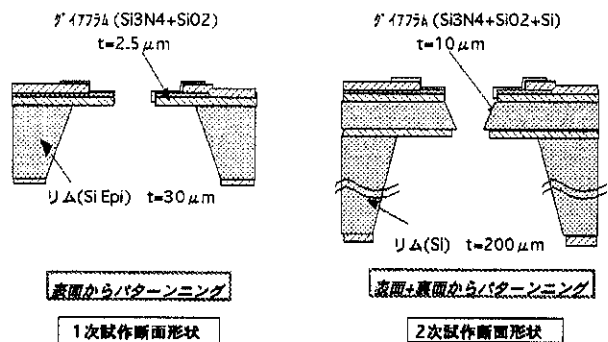


図 B-1-3-2 チップ強度改善前後の断面形状比較

新規に開発したプロセスフローを図 B-1-3-3 に基づき解説する。

新規に開発したプロセスは、Si エッチングを 2 度に分割して行なうもので、Si 膜厚に左右されず微細な神経ホールを形成できるメリットがある。

- (a) SOI 基板に KOH のマクとなる Si₃N₄ 膜を堆積し、予めチップ外形、神経貫通 Hole 及び、固定 Hole を表面からホトリソグラフィでパターンニングする。
- (b) F 系ガスのドライエッチングを行ない、基板表面の Si₃N₄ 膜をエッチングして Hole を開口する。レジスト膜を除去した後、再度、表面に Si₃N₄ 膜を薄く堆積し、裏面 Si エッチング時の保護膜を形成する。
- (c) ウェハ裏面に同様にホトリソグラフィを行い、

チップ外形、ダイヤフラム及び固定 Hole のパターン形成を行い Si₃N₄ 膜を F 系ガスを用いて、ドライエッチングを行う。

- (d) 裏面の Si₃N₄ 膜をマスクにベース Si を KOH 溶液を用いて、Wet エッチングを行い、ベース Si をチップ外形、ダイヤフラム及び固定 Hole の形に形成する。尚、表面 TopSi は予め(b)で堆積した Si₃N₄ 膜がある為、エッチングされない。
- (e) 表面保護の Si₃N₄ 膜を F 系ガスを用いドライエッチングを行う。その際、神経電極の Au をマスクとしてエッチングするため、神経電極と神経ホールの位置精度は自己整合的に決定される。引き続き TopSi を KOH 溶液にて Wet エッチングし、ホールの加工を行う。この TopSi のエッチングは、神経ホールの寸法精度向上のために、膜厚に応じてエッチング量を調整する。
- (f) Si エッチングのストッパーである、BoxSiO₂ 膜を HF 水溶液を用いて除去し、チップ外形、神経貫通 Hole 及び、固定 Hole を貫通させる。本手法を用いることで今回はリム厚 200 μm の電極を作成した。

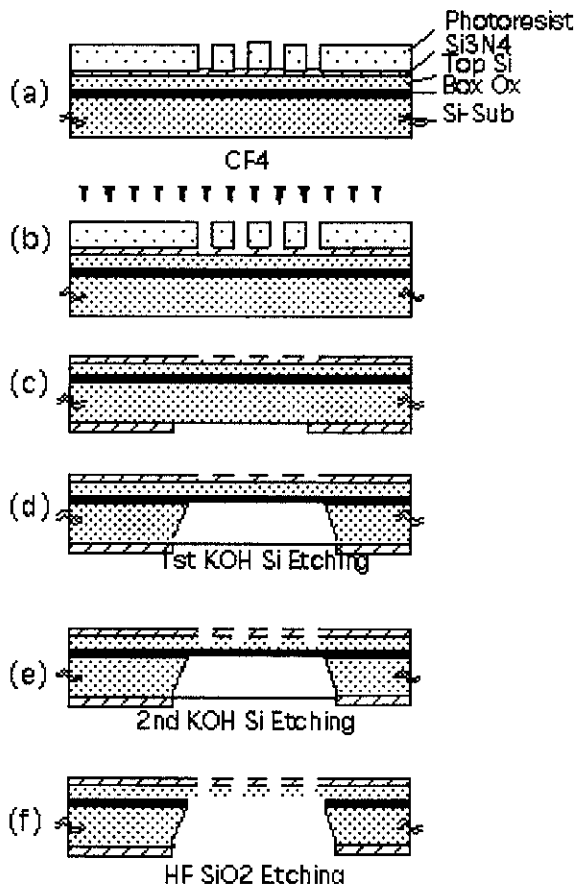


図 B-1-3-3 新規開発プロセスフロー（リム・ダイヤフラム形成）

B-1-3-2 Au 電極の接着強度改善

Au 電極の剥離は、Au 電極下部に位置する W 配線が消失したため発生した。W 配線はチップ表面の Si₃N₄ 膜で被覆されているため露出しにくい構造となっている。しかし貫通ホール周辺に位置する Au、

W の重なり部分から W が消失している。これは図 B-3-4（上図）に示す電解液染み込み箇所での Si エッチングに用いた KOH または生体内の電解質が染み込み下記の問題が発生した。

- (1) 貫通ホールの側面から電解液が染み込んで Au-W の重なり部分で W が腐食した。
- (2) Au 電極エッジの断差部分で Au が薄く、Au のピンホールを通して電解液が染み込んで腐食に至った。

対策として、本年度の試作品では Si チップのレイアウト設計を変更し、貫通ホール近傍から W 配線を離す工夫を行なった。同時に電極形成プロセスも表面保護膜の Si₃N₄ 膜の穴開け加工をテーパ状に仕上げ、断差部の Au のカバレッジを改善すると共に、Au の膜厚をこれまでの 100nm から 300nm に厚膜化して Au のピンホールを通して W が腐食しないよう改良を加えた。図 B-1-3-4（下図）

本施策を盛り込んだ電極形成プロセスフローを 図 B-1-3-5 に示す。

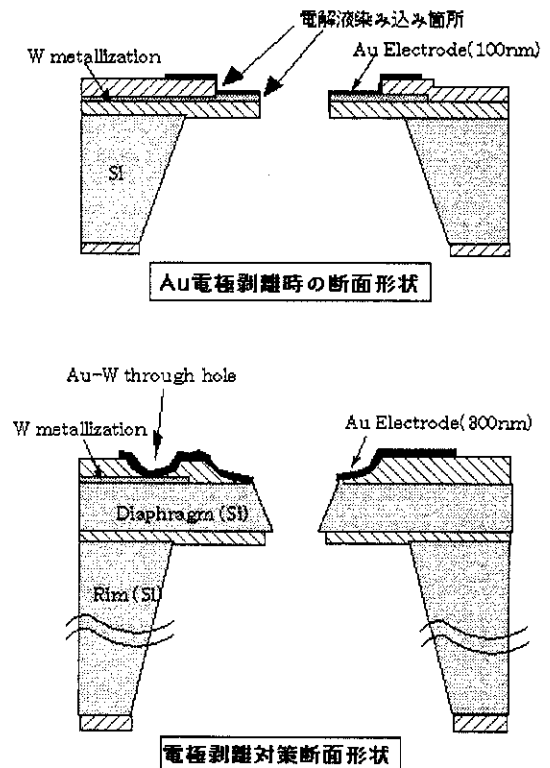


図 B-1-3-4 Au 電極剥離対策前後の断面形状

- (a) SOI 基板に配線下地膜として Si₃N₄ 膜を堆積し、ホトリソグラフィを行い神経電極 Hole 及び貫通 Hole のパターン形成を行う。
- (b) 堆積した Si₃N₄ 膜を F 系ガスを用いて、ドライエッチングを行う。
- (c) 金属をスパッタ法で薄膜に蒸着し、ホトリソグラフィとドライエッチングで配線に形成する。
- (d) 配線保護膜として Si₃N₄ 膜を堆積し、神経電極 Hole 及び神経貫通 Hole をホトリソグラフィと

ドライエッチングを用いて形成する。そして、再度 Si3N4 膜を堆積した後、Au 電極と配線を接続する Hole をホトリソグラフィとドライエッチングで開口する。この時、神経電極 Hole 及び神経貫通 Hole は開口していない。

- (e) 神経電極及びワイヤ接続用 Pad 部分にスパッタ法で Au を蒸着し、ホトリソグラフィと Wet エッチングで形成する。
- (f) Au 電極をエッチングマスクに神経電極 Hole 及び神経貫通 Hole 内部に残る Si3N4 膜をドライエッチングで除去し TopSi を露出させる。

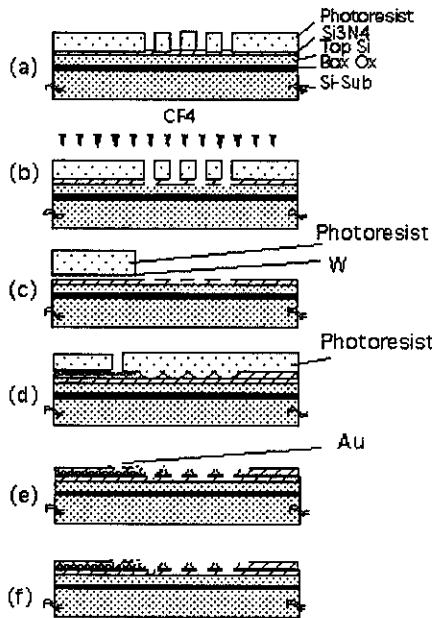


図 B-1-3-5 電極形成プロセスフロー

B-1-4 電極モニター回路の検討

前年度試作品は電極を生体内に埋め込んだ後は、その機能を確認する手段が無く、電極剥離、チップ破損等の問題が生じた場合に、即座に検出出来る機能が必要とされた。

今回の 2 次試作では、電極部の信頼性評価の手段として、神経電極部に W 配線ならびに Au 配線でテスト回路を組み、故障が発生した場合には回路が断線して生体外部からモニターできる構造とした。本構造で生体内埋め込み後も随時電極機能をチェック可能となった。

チェックパターンは 2 種類考案し、チップ破損を検出可能な回路と、電極部の剥離とチップ破壊が同時に検出可能な回路を準備した。図 B-1-4-1 に本回路のパターン図を示す。

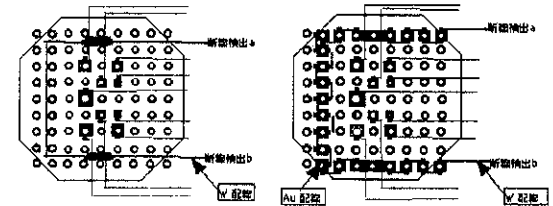
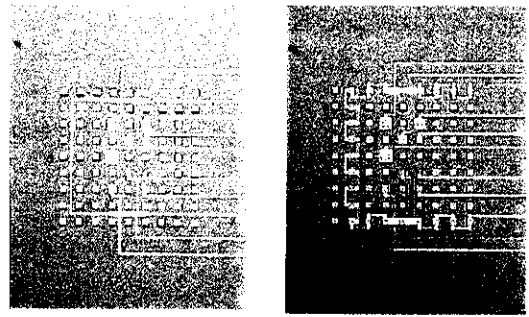


図 B-1-4-1 電極モニター回路パターン図

B-2. 論理的インターフェイス開発に関する研究

B-2-1. 自律神経系による循環調節の解析

平成 9 年度には、以下のような研究結果を得た。

- (1) 心臓交感神経と迷走神経活動の心拍数への翻訳における相互作用

心臓交感神経と迷走神経は、互いに拮抗的に心拍数を制御しているが、拮抗作用は、他方がある程度の緊張を保っている場合には強く現れた。この交互作用は定常応答、過渡応答の両者で認められた。

- (2) 迷走神経活動の心収縮性への翻訳

迷走神経の陰性変力作用は陰性変時作用を介した機序がほとんどで直接的な陰性変力作用は全陰性変力作用のうちたかだか数パーセント以内であった。

- (3) 血圧の圧受容器神経活動への符号化

圧受容器における圧から神経活動への伝達特性は微分的で入力周波数の増大に伴ってゲインは増加した。この性質は比較的単純であるため血圧情報の符号化が可能になった。

- (4) 圧受容器反射における設定値の解析的同定法の開発

頸動脈圧-交感神経関係および交感神経-体循環血圧関係の交点は、閉ループ時の動作点と一致した。この一致は、出血時、麻酔薬大量投与時にも見られた。

平成 10 年度は、ヒト前腕における交感神経活動記録法の確立や、バイオニック動脈圧反射装置開発の枠組みを確立した。

このようなことから、平成 11 年度は、バイオニック動脈圧反射装置の試作開発と圧反射失調動物を用いた有効性に関する研究を行った。

B-2-1-1. バイオニック動脈圧反射装置の概要

さまざまな外乱による脳の灌流圧変化を抑制する機構としてはたらく動脈圧反射は、極めて重要なフィードバック制御システムである。時々刻々と変化する動脈圧は、頸動脈洞や大動脈弓の圧受容器で検知され、圧受容器神経活動として血管運動中枢に

フィードバックされる。血管運動中枢はこの圧受容器神経活動に応じて交感神経活動を変化させる。その結果、血管の収縮・弛緩が生じ外乱の影響が抑制されることになる。したがって、動脈圧反射は、重力環境下での臥位から立位への体位変換時の血圧低下すなわち起立性低血圧を防止する血圧制御機構として必須である。中枢性動脈圧反射失調では、機能廃絶した血管運動中枢の機能代行装置として人工的血管運動中枢を有した血圧制御装置が必要となることから、本研究代表者は、バイオニック動脈圧反射装置の開発を計画した。動作原理は、図 B-2-1 に示すように、「血圧を常時監視しながら、実時間演算で交感神経の電気刺激頻度を決定する」というものである。すなわち、圧センサー→人工的血管運動中枢→電気刺激装置→交感神経→血管床からなるフィードバック血圧制御である。このような機能代行装置を開発するには、いわば手本となる正常の動脈圧反射の機能とりわけそのダイナミクスを体系的かつ定量的に同定し、機能代行装置にそのダイナミクスを移植することができてこそ、真に「機能代行」できたことになる。本研究代表者は、すでに、後述のごとく動脈圧反射の各要素のダイナミクスを体系的・定量的に伝達関数の形で同定し、詳細な特性の記述に成功している。これらの成果を基盤に、バイオニック動脈圧反射装置の動作原理の開発を行った。

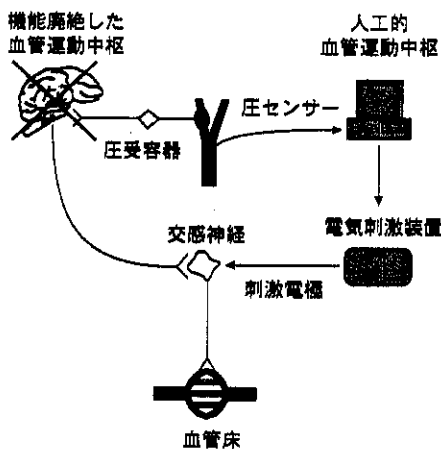


図 B-2-1 バイオニック圧反射装置

B-2-1-2. 動作原理開発の基本戦略

バイオニック動脈圧反射装置が機能的に生体固有の native な動脈圧反射を模倣することができるように（図 B-2-2）、次の手順でバイオニック動脈圧反射装置を開発・最適化し、ついで、その有効性を評価した。

(1) native な動脈圧反射の開ループ伝達関数(H_{native})の推定

native な動脈圧反射の開ループ伝達関数を求めるため、動脈圧反射を開ループにし、動脈圧受容器に任意の圧刺激が行えるよう、ラットの動脈神経を切断し頸動脈洞を体循環から isolation した。また体循環動脈圧測定用の圧センサーを大動脈弓に留置した。頸動脈洞圧を任意に制御するために頸動脈洞内にカニューレーションしたチューブを独自に開発した圧刺

激サーボポンプシステムにつないだ。サーボポンプシステムにホワイトノイズ様のコマンドを入力し、頸動脈洞圧(CSP)を入力、体循環動脈圧(SAP)を出力とした伝達関数を求めた。

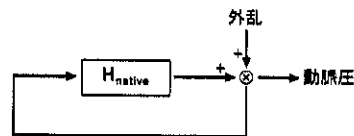
(2) 交感神経の電気刺激頻度変化から動脈圧変化までの開ループ伝達関数($H_{\text{STM-SAP}}$)の推定

動脈圧反射における血管床として腹部血管床がもっとも重要であることから、バイオニック動脈圧反射装置の血管運動神経として腹腔神経節を選び、これが刺激されるようワイヤー電極を埋込み、コンピュータ制御の電気刺激装置とつないだ。ホワイトノイズ様の刺激頻度変化にもとづいた電気刺激(STM)を与え、STM を入力、SAP を出力とした伝達関数を求めた。

(3) 人工的血管運動中枢の開ループ伝達関数($H_{\text{SAP-STM}}$)の決定およびバイオニック動脈圧反射装置への移植

$H_{\text{native}}/H_{\text{STM-SAP}}$ から人工的血管運動中枢の開ループ伝達関数($H_{\text{SAP-STM}}$)を決定し、その逆フーリエ変換によりインパルス応答関数を求めた。このインパルス応答関数を用いて、SAP の実時間畳み込み積分を行うよう、人工的血管運動中枢となるコンピュータをプログラムした。

生体固有の動脈圧反射



バイオニック動脈圧反射システム

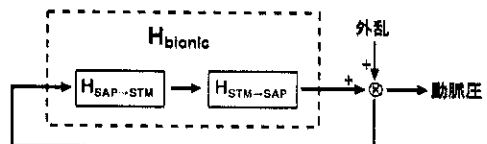


図 B-2-2 バイオニック圧反射の動作原理開発の戦略

B-2-1-3. バイオニック圧反射装置の有効性の評価

SAP 信号を AD 変換器を介して人工的血管運動中枢に入力し、バイオニック動脈圧反射装置を閉ループ実時間動作の状態にした。動脈圧受容器を破壊し、中枢性圧反射失調ラットを用い、バイオニック動脈圧反射装置の有効性を検討した。

B-2-2. ヒトにおける交感神経活動の解析

平成9および10年度には、以下のような研究結果を得た。

- (1) 立位負荷にともない、筋交感神経活動はその活動を増加させ、体位傾斜角度の正弦値との間には正の相関が成立した。
- (2) 経神経的治療により交感神経活動を、体位傾斜角度に依存して変化させることができれば、起立性低血圧の治療が可能となることが示唆された。

このようなことから、平成11年度は、加速度変化がヒトの交感神経活動にどのような影響を与えるか検討した。

B-2-2-1. 筋交感神経活動

ヒトの交感神経機能の検索は、従来から末梢効果器での反応を測定することにより、いわば間接的に行われてきた。すなわち心拍数、血圧、末梢血流量、発汗量、決勝ノルアドレナリン値などの安静時活動を測定し、Valsalva法、起立負荷、温熱負荷などを与えた際における反応を安静時活動との関係のもとに評価してきた。現在、日本自律神経学会が編集している自律神経機能検査のマニュアル(1995)には46にわたる生理学的検査法が記載されているが、マイクロニューログラフィー以外のすべての方法は基本的には従来からの間接的な測定法を踏襲している。

これに対し、マイクロニューログラフィー(microneurography:微小神経電図法)による交感神経活動の記録は、1968年にスウェーデンでHagbarthとVallboにより初めて報告され、ヒトの交感神経活動を電気生理的に直接記録する方法として用いられるに至っている。本法によってヒトの交感神経機能の変化をリアルタイムで直接観察し得るようになった。マイクロニューログラフィーによる交感神経活動の研究は、その後Wallinのグループにより進められた。日本でもわれわれの研究室をはじめ、各施設で本研究が行われている。最近、アメリカ合衆国、カナダ、ヨーロッパ諸国でもマイクロニューログラフィーによる研究が盛んとなり、特に循環器領域、高血圧領域での研究が多く行われている。日本においては、本研究法を発展させるためにニューログラム研究会が1988年に発足し、1998年で第11回を数えるが、毎年各分野からの発表が活発に行われている。

ヒトにおいてマイクロニューログラフィーにより記録可能な交感神経活動には、筋支配の交感神経活動(筋交感神経活動: muscle sympathetic nerve activity, MSNA)と皮膚支配の交感神経活動(皮膚交感神経活動: skin sympathetic nerve activity, SSNA)があり、両者はそれぞれ独立した活動を示す。筋交感神経活動は抵抗血管の括約筋を支配し血圧制御に重要な役割を果たす。これに対し皮膚交感神経活動は発汗と皮膚血管収縮を司り体温調節に寄与する。ここでは、筋および皮膚交感神経活動の記録方法と評価法について述べる(Mano 1991, Eckberg & Sleight 1992, Low 1993)。

B-2-2-2. 記録電極

マイクロニューログラム(微小電極神経電図、マイクロニューログラフィーにより得られた電氣的記録をさし、ニューログラムともいう)の記録には、先端直径約 $1\mu\text{m}$ 、軸直径 $10\sim 200\mu\text{m}$ 、インピーダンス $3\sim 5\text{M}\Omega$ のタングステン微小電極を用いる。我々は、軸直径 $100\mu\text{m}$ 、インピーダンス $3\sim 5\text{M}\Omega$ の電極を使用しているが、ときに $10\sim 12\text{M}\Omega$ の電極を使用することもある。この電極を無麻酔・経皮的に末梢神経

の神経束内に刺入する。今回は、脛骨神経から記録した。

B-2-2-3. 記録機器

マイクロニューログラムの記録には、タングステン微小電極、入力箱、プリアンプ、フィルター、オシロスコープ、サウンドモニター用のアンプとスピーカーなどが必要である。また、導出した記録を後に再生・解析するために、データレコーダーが必要となる。

プリアンプとしては、高インピーダンス・低雑音の差動型で、 $40\sim 60\text{dB}$ の利得を有するものが望ましい。フィルターには、報告者により差があるが、われわれは $500\sim 5,000\text{Hz}$ の帯域フィルターを用いているが、なるべく強力なフィルターを用いるようにし、特に低周波雑音の除去は重要で、 24dB/octave 以上のものが望ましい。

サウンドモニターは重要で、習熟すると音だけでも記録されている活動の種類を同定できるようになるが、このモニターには通常のオーディオ用のスピーカーとアンプを用いればよい。

データレコーダーは、DCから $5,000\text{Hz}$ まで収録できるものがよく、同時に血圧、心電図、血流量、発汗量などを同時に測定する必要があるため、マルチチャンネルのものが必要となる。われわれは14チャンネルのFM記録方式のものを使用している。

B-2-2-4. 記録方法

プリアンプへは、タングステン微小電極と基準電極との電位差を差動入力として入力する。基準電極としては、微小電極刺入部位の約 1cm 近傍に銀塩化銀表面電極を貼付するか、電極インピーダンスの低いタングステン電極を刺入部位の近傍の皮下組織に刺入する。

微小電極の刺入前に神経幹走行を皮膚上から確認する必要がある。目標とする神経の支配筋(正中神経では拇指球筋、脛骨神経では下腿三頭筋、腓骨神経では前脛骨筋)の最大収縮の得られる場所を何点か選び、刺入点とする。脛骨神経から記録する場合、皮下 $1.5\sim 2.5\text{cm}$ を走行しているため、神経への刺入の困難な場合が多い。このような時は下腿三頭筋(特にヒラメ筋がよい)に表面筋電図を貼付し、脛骨神経を低電圧で刺激するとH波が導出される。このH波の最大振幅の得られる点を刺入点とする。

刺入時には拇指と示指にて微小電極をつまむようにして、電極と皮膚が垂直になるように刺入する。皮膚の刺入時に電極が皮膚に対し斜めになっているとその先端が折れ曲がりやすいので注意を要する。通常は、電極を注意深く進めると、被験者がその支配領域の筋に重くだるいような感じ、あるいは支配領域の皮膚にしびれたような感じを訴えるので、神経幹に刺入されたことがわかる。微小電極が神経幹に刺入されると同時に $100\sim 200\mu\text{V}$ の高頻度バースト発射が観察され、実験者にも神経幹内に電極先端が刺入されたかを判別可能である。この被験者の自覚症状と高頻度バースト発射の観察を神経幹内刺入

の手がかりとする。

ヒトの末梢神経幹には、筋神経束と皮膚神経束があり、そのどちらに微小電極の先端が位置するかは、被験者の自覚症状と実験者が支配領域に対する体性感覚刺激を行ってどのような反応がマイクロニューログラムに導出されるかにより、判別可能である。電極先端が筋神経束内に刺入された時には、支配筋に重くだるい感覚が生じ、支配筋の筋腹を軽くタップすると、反応性の感覚神経複合求心性電位が観察される。微小電極の先端が皮膚神経束内に刺入された時には、支配されている皮膚に電流を流したときに感ずるような、びりびりとしたしびれ感が生じ、皮膚への軽い接触刺激により反応性の複合求心性電位が惹起される。筋支配の交感神経活動である筋交感神経活動は筋神経束から、皮膚支配の皮膚交感神経活動は皮膚神経束から導出されるため、電極先端をそれぞれの希望する神経束へ進める必要がある。

B-2-2-5. 筋交感神経活動の同定法

交感神経活動は、自発性のバースト活動として記録される。交感神経節後遠心性線維は無髄C線維であり、単一線維のインパルスとして導出することは極めて稀であり、通常多線維性の活動として記録される。このため、記録した交感神経活動を全波整流し、時定数 0.1 秒でアナログ積分した波形をペン書きして観察することが多い。

筋交感神経活動は、骨格筋を支配し、以下の基準により同定される。(1)筋神経束内から記録される持続時間 150~250msec の遠心性のバースト活動で、脈拍同期性の自発性、律動性活動を示す。(2)血圧の下降により促進され、上昇により抑制される。(3)呼吸性変動を示す。(4)Valsalva 法などの胸腔内圧を変化させる手技により、その第3相の血圧低下時に著明に亢進する。(5)音、電気などの覚醒刺激に対し一定潜時をもった反射性バーストの発射がみられない。

筋交感神経活動と皮膚神経束から記録しうる皮膚交感神経活動は、両者ともに自発性のバースト活動として観察されるため、時に両者の鑑別が困難なこともあるが、熟練するとサウンドモニターのみで両者を鑑別可能である。鑑別困難な場合には、同時に記録される求心性活動の受容野をもとに電極先端の刺入部位が筋神経束か皮膚神経束にあるかを前述のような方法で識別することにより、判別可能である。Valsalva 法、スタート用ピストルによる音刺激、急激吸期による鑑別は、後二者により皮膚交感神経活動が、前者により筋交感神経活動が明確に賦活化されるため、有用である。

B-2-2-6. 筋交感神経活動の評価法

筋交感神経活動は、脈拍同期性の多線維性バーストとして記録されるため、この活動の評価法には burst rate (1 分間のバースト数)、burst incidence (100 脈拍に対するバースト数)、交感神経総活動量(1 分間のバースト数×平均バースト振幅、すなわち全波整流積分波の振幅の総和)などが用いられる。

このうち、burst rate と burst incidence は、絶対値と

して表され、個人内の再現性が高いため、筋交感神経活動の個人間での比較に有用である。多少の電極先端の移動があっても、また再刺入を試みても評価が可能であることから、被験者の体動が起りやすい実験・検査に適する。Burst incidence は、burst rate を heart rate で除して 100 をかけても得られ、心拍数の影響を除去した評価法である。交感神経総活動量は、安静時値を測定した後、負荷時の変化値を相対値として表す必要がある。この際、電極の先端位置の移動がないことが条件であり、この条件下では筋交感神経活動の個人内変化を評価するのに最も適した方法である。

B-2-2-6. 航空機内での記録

B-2-2-6-1. パラボリックフライト

B-2-2-6-1-1. 定義

パラボリックフライトは、ジェット航空機に放物線飛行(弾道飛行)をさせ、その搭載物に相対的な微小重力を負荷する方法である。今回の研究に用いた航空機は、ダイヤモンドエアサービス社所有の三菱重工製 MU-300 で、1 日のフライトにおいては、最大 10 回のパラボラを行った。ここで言うフライトとは、名古屋空港から離陸し、航空自衛隊の訓練空域である熊野灘から遠州灘にかけての K 空域あるいは日本海上能登半島沖の G 4 空域において実験を行い、再び名古屋空港に戻ってくることをいう。また、パラボラとは 1 回のフライトにおいて行われる最高 10 回までの放物線飛行を指す。

B-2-2-6-1-2. 飛行パターン

1 回のフライトは通常 10 回のパラボラにより構成される。名古屋空港を離陸後、実験空域に到達すると、パイロットから到達合図が通知される。ジェット航空機は 2 分ほど水平飛行を続けた後に、高度 30,000 フィートの上空から 15,000 フィートまで急降下する。次に 30 秒にわたる「プルアップ」という急降下から急上昇に転ずる飛行を行う。この際に航空機内の物体には 2.0G の重力加速度が下方から上方に向け負荷される。「プルアップ」の後、航空機のエンジン出力を 60% ほどに絞ると 20 秒間にわたる「プッシュオーバー」という状態となり、この間に微小重力状態が得られる。20 秒間にわたる自由落下の後に、航空機は再びエンジン出力を上昇し、「プルアップ」を行い、水平飛行に戻る。この「プルアップ」の 30 秒間には、1.8G の過重力が航空機の内部物体に負荷される。

この 1 回のパラボラに要する時間は平均して 6 分で、重力変化が起こるのは約 1 分である。すなわち、1 回のパラボラから次のパラボラへは平均 6 分間の間隔をもって行っている。この場合、微小重力前に負荷される過重力は 2.0G である。

B-2-2-6-1-3. マイクロニューログラフィー

マイクロニューログラム記録は、名古屋空港を離陸する前のダイヤモンドエアサービス社の格納庫内において行い、電極を脛骨神経に刺入し、筋交感神

経活動を同定の後、記録した。以降のエプロンへの牽引、エプロンから滑走路へのタクシーイング、離陸、実験空域までの飛行中にも連続して記録し、もし途中で筋交感神経活動記録のSN比が低下した場合には、ヘッドフォンのサウンドモニターを頼りに再度の刺入を試みた。

B-2-2-6-1-4. 記録準備

被験者を航空機内の乗客用シートに進行方向に向かって着席させ、両脚膝関節を進展させた。両脚は下腿部で支持台（発泡スチロール製、自作）にて支え、膝窩部が露出するようにした。左脚はやや内旋し、膝窩部を外側に向け脛骨神経へのアプローチが簡単になるようにした。その後、両脚膝関節をベルクロ式膝関節固定ブレースにより大腿部と下腿部を固定した（図2-2-1）。

マイクロニューログラム記録用の基準電極は、記録用電極と同様の Frederick Haer & Co. Inc.、Bowdoinham, ME, US, #26-05-1 を使用し、記録部位近傍に刺入した。アース用電極は、3M 社製導電接着性対極板 1149 を同側大腿部に貼付した。記録用電極は、Frederick Haer & Co. Inc.、Bowdoinham, ME, US, #26-05-1 を皮膚をアルコール綿にて消毒し、皮膚と垂直方向に無麻酔・経皮的に電極針を刺入した。記録用電極と基準用電極の電位差を差動型生体用アンプ Kohno-II（河野医用電子研究所製）により記録し、プロセッサにより処理し、さらに携帯用オシロスコープに描出した。

B-2-2-6-1-5. 記録装置

この Kohno-II は、ヒトの末梢神経中から微小生体電位をタングステン微小電極を用いて、マイクロニューログラフイーによる検出を可能とする高感度の生体電位計測用増幅器で、本実験のために開発した機器である。

B-2-2-6-1-6. 記録

経皮的に刺入した記録電極を、外部からの音を遮蔽するために密閉型ヘッドフォンにてモニターしながら、脛骨神経に刺入した。

記録は、基準電極を近傍の皮下に刺入した後に、記録電極を神経走行の直上から皮膚に垂直に刺入することにより行った。刺入には注意を要し、先端を曲げないようにすることが肝要である。密閉型ヘッドフォンにより外界音を遮蔽しながらサウンドモニターと被験者の感覚を手がかりとして、記録電極を脛骨神経に刺入した

記録された筋交感神経活動のニューログラムは、サウンドモニターをプロセッサにより行いながら、ノイズ除去と0.1秒の積分を行い、オシロスコープに描出し、十分なSN比を有することを確認した後、データレコーダーに収録した。

B-2-2-6-1-7. 心電図

ジェット航空機 MU-300 が格納されている状態で、航空機内において心電図用電極に生体用アンプ AB-

621G に接続し、時定数 0.1 秒、ハイカット 30Hz で記録した。筋交感神経活動のニューログラムと同様に、十分なSN比であることをオシロスコープにより確認した後、データレコーダーに収録した。

B-2-2-6-1-8. 呼吸

サーミスターを利用した呼吸モニターを鼻腔部に装着した。温度が上昇した場合には下方に、下降した場合には上方に振れるように設定した。すなわち吸気で上方に、呼気で下方に振れるようにした。筋交感神経活動のニューログラムと同様に、十分なSN比を有することとオーバーレンジにならないことを確認した後に、データレコーダーに収録した。

呼吸法として、自然呼吸と統制呼吸を行わせた。自然呼吸は、なるべく自然に近いように無意識呼吸を、統制呼吸は2秒吸って2秒はく意識下呼吸をメトロノームを聞かせることにより行わせた。被験者が統制呼吸を指示通りに行っているかどうかは、データレコーダーの液晶モニターにより確認した。

B-2-2-6-1-9. 血圧

血圧は、指血圧波をフィナプレス（Ohmeda Finapres 2200）により記録した。フィナプレスのカフを左中指の中節骨部に装着し、装着部が右心房のレベルに来るような高さにガムテープにより固定した。筋交感神経活動のニューログラムと同様に、十分なSN比を有することとオーバーレンジにならないことを確認した後に、データレコーダーに収録した。

B-2-2-6-1-10. 胸部インピーダンス

胸部インピーダンスは、インピーダンスプレシスモグラフィイー（日本光電 AI-601G）により測定した。頸部周囲と胸郭周囲（上端を剣状突起部レベルになるように装着した）に5cmの間隔をおいて貼付したアルミ箔付きの粘着テープに高周波と電位を測定することにより、頸部と剣状突起部間のインピーダンスを推定した。

1Gにおける安静時インピーダンスを100%とし、その変化率を百分率表示した指数を胸腔内体液指数と呼び、この指数の変化を解析した。

B-2-2-6-1-11. 下腿周囲径

水銀封入式シリコンチューブを膝蓋骨下端から5cmほどの部分に装着し、キャリアアンプにより増幅し、その周囲径を計測した。

B-2-2-6-1-12. 記録上の問題点と解決法

B-2-2-6-1-13. 脚の固定

予備実験の最初には、記録する片脚のみを相対した座席の上に乗せ、なるべく坐位に近い状態で記録を行ったが、非常に電極が記録神経からずれやすいため、自作の発泡スチロール製足乗せ台に両脚を伸展した形で乗せるようにした。

両脚とも乗せるようにしたのは、片脚を床におろしていると、パラボラの過重力時、微小重力時に脚を踏ん張ってしまい、雑音が混入するからである。

この両脚伸展位を取るようになってからは、電極のほ
 ずれや過・微小重力時の雑音混入が激減した。

B-2-2-6-1-14. 音声モニター

予備実験の最初には、プロセッサーでの音声モニ
 ターを手がかりに刺入や再刺入を行っていたが、航
 空機内の騒音が予想外に大きく、音声モニターでは
 十分なSN比で記録できているか不明瞭であった。
 そのため、サウンドモニターを密閉型ヘッドフォン
 を用いて行ったところ、良好なモニターを得た。ス
 ピーカーからの出力が小さく、明瞭なモニターが得
 られない場合は、有効な手段であることが判明した。

B-2-2-6-1-15. ノイズ除去

インバーターノイズは、前述の通り基準電極を記
 録電極と同様のタングステン微小電極とすることで、
 激減したが、イグニッションノイズはなかなか解決
 できなかった。ある時、その周期が両翼の先に装着
 されているアンチコリジョンライトのストロボライ
 トと一致することに気づき、パラボラ中にストロボ
 ライトのスイッチをオフにしてもらったところ、イ
 グニッションノイズも激減した。交信ノイズに対し
 ては、パラボラ中に地上との交信を控えてもらった。

以上の3点を改善することにより、ノイズが激減
 した。

さて、ノイズの減少には、以下の2点が簡要である
 ことも判明した。

1. 生体アンプはDC駆動としてデータレコーダに
 入力する段階で十分なゲインを稼いでおくこ
 と、
2. 差動入力を徹底させるために基準電極もタン
 グステン微小電極とすることが必須である

B-2-2-6-2. 記録方法

すべての電極を装着し、記録器と接続した後、
 ニューログラム記録を行い、良好なSN比で記録で
 きた場合、5分間、地上でのコントロール記録を行っ
 た。格納庫からエプロンに出て、エンジンを回し始
 めるまで、電源は切れてしまうので、この間におけ
 るデータレコーダーへの記録はできない。名古屋空
 港から飛び立ち、実験空域に到着するまでは、記録
 をせず、実験空域到着3分前から再度記録を開始し
 た。各パラボラごとにサウンドモニターを行い、電
 極がはずれていないかを毎回チェックした。最大10
 回のパラボラ終了後、記録を停止し、名古屋空港へ
 帰着した。

B-2-2-6-3. 解析方法

DAT式データレコーダー（Sony-Magnescape社製
 PC-216Ax）に記録したデータは、帰還後にデータ解
 析ソフト、スパイク2（Cambridge Electronic Design
 Ltd., Cambridge, UK）によりサンプリング周波数
 16 kHz（筋交感神経活動）、100Hz（呼吸、胸部インピー
 ダンス、重力変化）、500 Hz（心電図）、200 Hz（フィ
 ナプレス波形）によりマイクロコンピュータ
 (Macintosh 7500/100, Apple, Cupertino, CA)に取
 り込んだ。筋交感神経活動は、ノイズリジェクター
 により中心部ノイズを除去し、0.1秒の時定数でア
 ナログ積分し、全波整流積分波として解析した。

筋交感神経総活動量は、ニューログラムの全波整
 流積分波のトレースの下とベースラインに囲まれた
 面積として、定義される。過重力状態に突入前90~30
 秒の1分間における筋交感神経総活動量を100%と
 して、2G、 μ Gの状態での増減を変化率として比較
 した（Sugiyama et al. 1996）。

筋交感神経活動が動脈圧受容器反射により支配さ
 れているか、心肺圧受容器反射により支配されてい

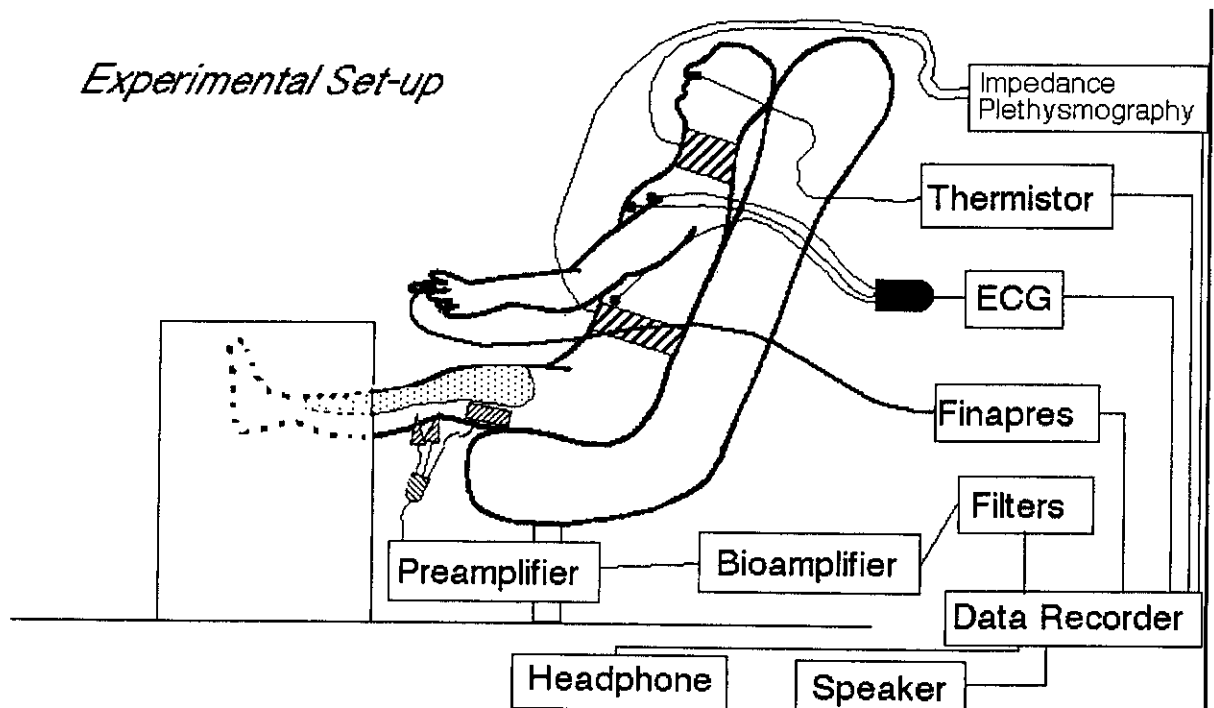


図 2-2-1 実験のセットアップ

るかを確かめるために、筋交感神経活動と、動脈圧変化、胸部インピーダンスの変化との関係を解析した。瞬時心拍数は、心電図の R-R 間隔より計算し、拍/分 (beats per min、 bpm) として解析した。

結果は、平均±標準偏差で表し、筋交感神経総活動量の変化と胸部インピーダンス、心拍数、収縮期血圧、拡張期血圧との変化の関係を解析した。

B-2-2-7. 直線加速度負荷装置内での記録

B-2-2-7-1. 被験者

被験者は、16名の男性(年齢: 20.8 ± 0.9 (SE) 歳、身長 169.8 ± 5.6 cm、 体重 64.3 ± 2.2 kg) を対象とした。

B-2-2-7-2. 直線加速度負荷装置

被験者を、名古屋大学環境医学研究所附属宇宙医学実験センターに設置された直線加速度負荷装置内で座位を取らせた。本負荷装置は、永久磁石による浮上方式により最大加速度 0.5G (4.9 m/sec²) を負荷できる。走行距離が 18m に限られているために、正負方向の加速度が繰り返して負荷できるが、その様式は余弦加速度変化、定加速度、段階的加速度のうちから選択でき、さらに外部の光、電磁波、音などから遮断されている。

B-2-2-7-3. 実験のセットアップ

被験者を、装置の上を走行するカプセル中に設置されたシートに着席し、4点式ベルトで、また、頭部もヘッドレストにベルクロテープにて固定した。両脚は伸展させ、水平位に保った。下腿を発泡スチロール製足台にて支え、カプセル内は暗黒に保った。

筋交感神経活動の記録は、余弦走行様式の方が安定するため、走行距離 14m にて本走行様式を採用した。10名の被験者においては、前後方向(±G_x)、6名では左右方向(±G_y)に加速度を負荷した。加速度の正負に付け方は、Glaister の命名法に従い、前方向への加速度を+G_x (眼球が陥没する方向)、右方向への加速度を+G_y (眼球が左方移動する方向) とした。各刺激においては、5回の連続する同加速度の反復する区間により構成され、その前後に 23秒にわたる安静区間を設けた。各被験者においては、ピーク加速度 ±0.10 G (0.98 m/sec²)、 ±0.15 G (1.47 m/sec²)、 ± 0.20 G (1.96 m/sec²) の3種類の加速度負荷を行った。各5回の反復運動総時間は、それぞれ 83.5、 66.5、 58.0 秒であった。刺激の間隔は5分とした。

B-2-2-7-4. 解析

全てのデータは 200Hz (16 ビット) のサンプリングレートでデジタル化 (National Instruments 社製 Lab View) し、コンピューターのハードディスクに収録した (アップル社製、パワーマック 7200)。平均血圧は、(収縮期圧+拡張期圧×2) ÷ 3により各拍毎に、瞬時心拍数は、R-R 間隔から 60/(R-R 間隔、秒) の式により算出した。加速度モードに入る1分前における平均血圧、心拍数、胸腔内インピーダンスを1分間測定し、その平均を対照値とした。

コンピューターにより、心電図 R 波からの筋交感神経活動積分波形のバースト頂点を検出し、一拍毎に血圧波から収縮期圧と拡張期圧を測定した。各拍の筋交感神経活動積分波形と基線の囲む面積を各拍における筋交感神経総活動量とした。これら各拍における筋交感神経活動総活動量を三次元スプライン補間し、時系列データとして1秒毎の値を補正した。対照データ記録区間における筋交感神経総活動量の値を 100% として、変化率により表した。

加速度の変化に応じた各循環器パラメーターの計測は、5回の往復測定を各1回のサイクルとして測定した。5回の往復測定時における総区間実施時(それぞれ 83.5、 66.5、 58.0 秒)における平均心拍数、平均血圧、平均胸部インピーダンスを合計した。ここで筋交感神経総活動量の計算式を次のように定義する。すなわち、MSNA%=(加速負荷時における積分バースト面積÷総区間の秒数)÷(対照時における筋交感神経総活動量÷60)×100 とした。総区間における1分間あたりの筋交感神経活動バースト数も数え、burst rate として表した。

往復の加速度を5回の総区間における往復測定時に筋交感神経総活動量を、積分波形の面積から+、-方向としてそれぞれ別に計算した。余弦走行様式時における加速度負荷の各相における筋交感神経総活動量を以下の様に定義した。すなわち、MSNA%=(ある相の積分バースト面積÷その相の長さ(秒))÷(対照時における筋交感神経総活動量÷60)×100 とした。5回の総区間における各相の、平均心拍数、平均血圧、平均胸部インピーダンスの対照時基礎活動に対する相対的変化をそれぞれ計算した。加速度の方向性反応を測定するため、筋交感神経総活動量、平均心拍数の相対的変化、平均血圧の+方向、-方向のそれぞれの平均も計算した。

得られた値は全て平均±標準偏差にて表し、一元配置分散分析 (one-way ANOVA) を加速度負荷中途中加速度負荷後の変化を評価するために適用した。有意差水準は 0.05 とした。

C. 研究結果

C-1. 物理的インターフェイス開発に関する研究

受動型神経電極の動物埋め込み実験を行ない、生体内における電極信頼性を評価した。実験にはラットの迷走神経を用い、50日間の埋め込みで電極ホールを通して神経組織の再生を確認し、電極の基本構造は神経インターフェースのプロープとしての可能性を確認できた。

しかしながら生体内に埋め込み後のストレスで、フレキシブル基板の破断、電極剥離を招き神経活動信号を記録するに至らなかった。

電極実用化にむけて、長期埋め込み時の信頼性向上改良を以下のとおり実施した。

- (1) チップ強度増加に対しては SOI 基板に両面ホトリソグラフィを用いた加工プロセスを開発し、Si リム厚さを従来の 30 μm から 200 μm に厚膜化して対策した。
- (2) 埋め込み中に加わる接続部へのストレス緩

和として、チップ回路間の接続を、ポリイミドケーブルからステンレス細線に変更した。フレキシビリティを改善して接続部への応力集中を防止した。

- (3) Au 電極剥離に対しては、電極ホールから W 配線を離す等のレイアウトを工夫し、W が腐食しないよう対策した。また Au の膜厚をこれまでの 100nm から 300nm に厚膜化して Au のピンホールを通して W が腐食しないよう改良を加えた。
- (4) 電極部の信頼性評価の手段として、神経電極部にテスト回路を組み込み、生体内埋め込み後も随時チェック可能な機構を導入した。

改良型電極システムを用いた評価は、引き続き国立循環器病センター研究所にて行われる。神経物理インターフェースの基礎技術として、本電極システムによる神経活動信号の記録を期待する。

C-2. 論理的インターフェイス開発に関する研究

C-2-1. バイオニック動脈圧反射装置の試作開発

C-2-1-1. バイオニック動脈圧反射装置の動作原理

H_{native} は、0.1 Hz 付近から利得が減少する低域通過特性を示した。 $H_{STM-SAP}$ も同様な低域通過特性を示したが、 H_{native} に比べ、減衰傾度が急峻であった (図 C-2-1-1)。

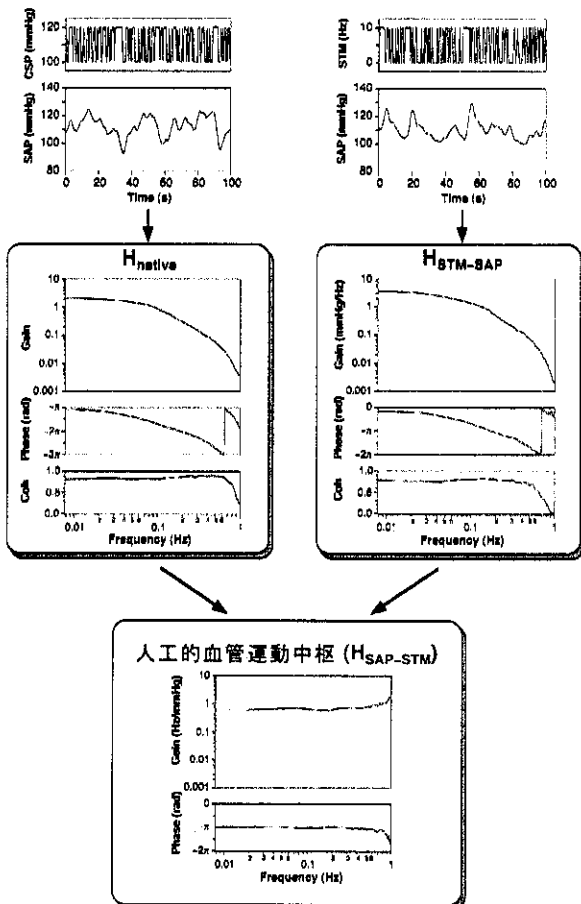


図 C-2-1-1 バイオニック圧反射装置の動作原理

したがって、バイオニック動脈圧反射装置における人工的血管運動中枢の動作原理をあらわす伝達関数 $H_{SAP-STM}$ には、高周波領域で利得が増加する微分的な特性が求められることが明らかになった。

C-2-1-2. バイオニック動脈圧反射装置の有効性

$H_{SAP-STM}$ を移植し、実時間駆動させた例を、図 C-2-1-2 に示す。10秒ほどで動脈圧が 50mmHg 低下するシャイ・ドレーガー症候群様の低血圧は、本装置により、迅速かつ十分に代償・防止された。この効果は、Native な動脈圧反射と統計学的には差がなかった (図 C-2-1-3)。

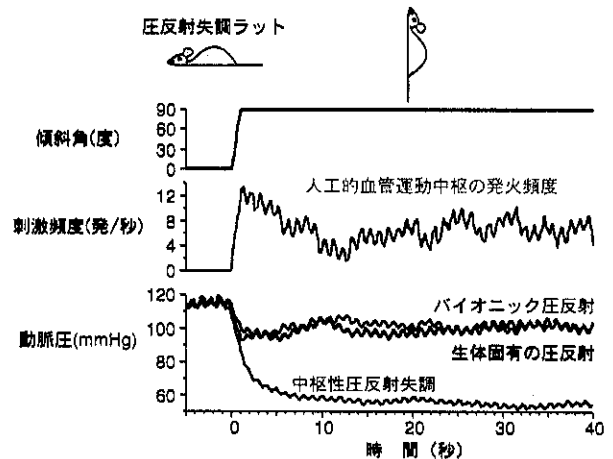


図 C-2-1-2 バイオニック動脈圧反射の動作例

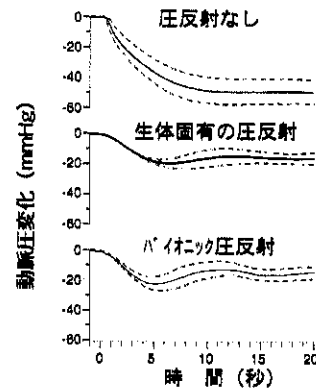


図 C-2-1-3 バイオニック動脈圧反射の有効性(n=16)

C-2-2. ヒトにおける交感神経活動の解析

C-2-2-1. 計測法の改善効果

航空機内では、①インバーターノイズ、②イグニッションノイズ、および③交信ノイズが混入したが、基準電極を皿電極から針電極に変更し、ボディアースの分極を十分に除くことにより解決した。

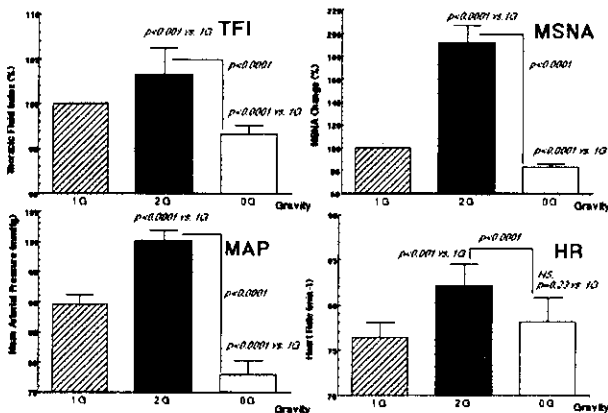
直線加速度付加装置内においては、モーターの回転による雑音が大きかったが、記録部位を極力シールドすることにより、雑音は激減した。

C-2-2-2. 微小重力下における筋交感神経活動の変化

筋交感神経活動は、重力が $1G \rightarrow 2G \rightarrow \mu G \rightarrow 1.5G \rightarrow 1G$ と変化するのに応じて、それぞれコントロール状

態→賦活化→抑制→賦活化→軽度の抑制と変化した。このパラボリックフライトにより生ずる過・微小重力状態における筋交感神経活動の変化は、過重力(2G)状態の前半で賦活化されるが、すぐにコントロールレベルに戻った。その後、 μ Gに突入し、抑制の後に徐々に軽度の賦活化が観察された。この軽度の賦活化は、 μ Gの後の1.5G状態に突入した後も数秒間持続した。

1Gにおける筋交感神経総活動量を100%とすると、過重力下においては有意に $191.4 \pm 62.0\%$ ($p < 0.0001$ 、対1G状態)に増加し、微小重力下においては有意に $82.8 \pm 11.0\%$ ($p < 0.0001$ 、対1G状態)に抑制された(図C-2-2-1、6名の被験者に19回のパラボラの平均±標準偏差)。



図C-2-2-1 胸部インピーダンス(TFI)、筋交感神経活動(MSNA)、平均動脈圧(MAP)、心拍数(HR)の負荷前の対照値(1G)、微小重力時(0G)、過重力時(2G)における変化

C-2-2-3. 微小重力下における循環動態の変化

C-2-2-3-1. 胸腔内血液量

胸部インピーダンスを1G状態におけるパラボリックフライト突入前1分間の平均を100%としたときの変化を比較すると、2G状態では $103.2 \pm 3.0\%$ に増加し、 μ G状態では96.6%に減少した。これは、胸腔内血液量が2Gでは $3.2 \pm 3.0\%$ の減少、 μ Gでは $3.4 \pm 1.0\%$ の増加を示すことを意味する(図C-2-2-1)。

C-2-2-3-2. 動脈圧

フィナプレスによる容積補償法で測定した動脈血圧は、過重力時、微小重力時を通じて動的な変化を示した。過重力時においては、一過性の血圧低下が2G突入時に観察され、10秒周期のリズムに乗った緩徐な増加が観察された。0G突入時には、動脈血圧は急激に増加し、緩徐な血圧低下が認められた。微小重力の後の1.5Gの過重力時においては、動脈血圧は緩徐に増加した。

パラボリックフライト時の血圧変化のアレイ表示(図C-2-2-2)をみると、定量的には一定方向の変化は認められなかった。同時に記録した呼吸曲線と比較すると、 μ G突入後に深い吸気を行い、その後息を

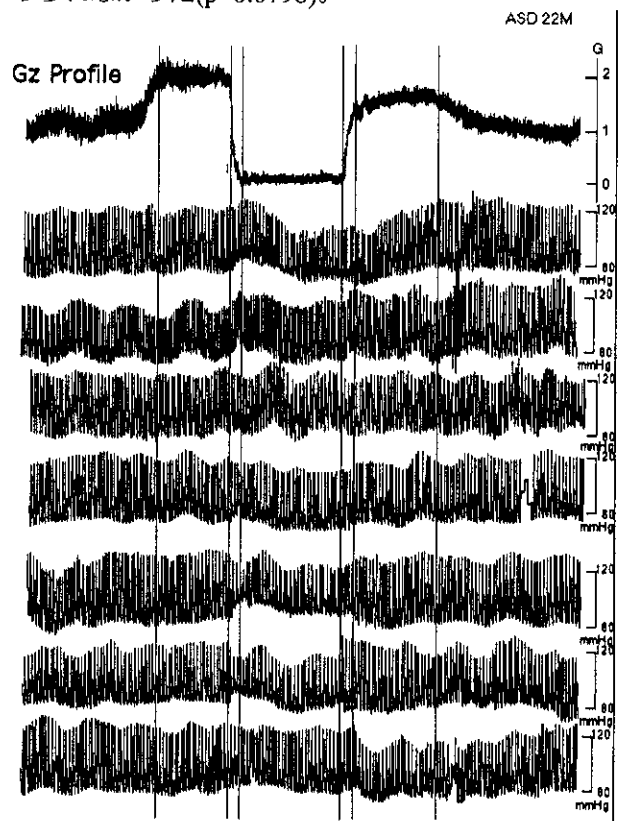
止めてしまう傾向が認められた。この息を止めるタイミングが早いと血圧の急激な上昇がみられ、遅いと血圧の上昇があまり明瞭でないことが判明した。

2Gと0G状態を13名の被験者において91回のパラボラを平均したところ、平均血圧は 89.5 ± 1.7 mmHg (1G)から 100.2 ± 1.7 mmHg (2G)に増加し、 77.9 ± 2.3 mmHg (0G)に低下していた。すなわち、微小重力下においては、急激な血圧上昇が観察される被験者があるにもかかわらず、約20秒間を平均すると、平均血圧は低下することが判明した。

C-2-2-3-3. 心拍数

2G突入時において、心拍数は1G状態に比較して軽度の上昇が観察されたが、有意ではなかった。 μ G突入後に、心拍数はしばらく変化を示さなかったが、数秒後に急激な血圧上昇に伴い低下した。すなわち、心拍数は μ G状態の後半では徐々に減少した。航空機を引き上げる際(プルアップ)の過重力状態では、徐々に心拍数の増加が観察された。

2Gと0G状態を13名の被験者で平均、比較すると、1Gから2Gへの変化時には心拍数の増加が 76.4 ± 1.6 拍/分から 82.1 ± 2.4 拍/分に増加したが、有意ではなかった($p=0.39$)。2Gから0Gへの変化時には 78.1 ± 2.7 拍/分と有意($p=0.0019$)な減少を示した。1Gと0G状態における心拍数には、有意差は認められなかった($p=0.0798$)。



図C-2-2-2 パラボリックフライト時における血圧変化のアレイ表示

D. 考察

D-1. 物理的インターフェイス開発に関する研究

D-1-1. システム構成

今回の試作品は前年度試作品に比べ電極近傍にアナログ増幅回路を有しているためS/N比の向上が期待できる。また、生体に埋め込まれた電極からの信号を導出するケーブルとしてフレキシブル基板を今回初めて適用した。これにより肉体の動き、外部からの力等が埋め込まれた電極部にかかることが軽減できるため長期にわたってデータの取得が可能になるものと考えられる。

D-1-2. 電極部

今回の試作品はSi単結晶をベースに作製しているため、今後電極部と信号処理部をモノリシック化したシステムLSI化実現への可能性を有している。しかしながら数10 μ mという薄い基板が、電極埋込み手術、その後の肉体の動き、外部からの力等によるどの程度信頼性を有するのかが現時点では不明である。

これらの点を明らかにするため早急な動物への埋込実験が望まれる。

D-2. 論理的インターフェイス開発に関する研究

D-2-1. バイオニック動脈圧反射装置の試作開発

Nativeな動脈圧反射をバイオニック動脈圧反射装置により機能的に再現することができた。本研究における最も重要な点は、バイオニック圧反射装置における人工的血管運動中枢の動作原理を伝達関数として、数式化することに成功したことである。

したがって、今回の試作開発は、まさに、経神経的循環器疾患治療を成功させるために不可欠な基盤技術として、われわれの用いた方法論が妥当であることを物語っていると考えられる。

D-2-2. ヒトにおける交感神経活動の解析

航空機やリニアモーター式の直線加速度付加装置のように雑音の多い状況において、筋交感神経活動のような微小電気活動を記録するには、低雑音型のバッテリー駆動型生体増幅器の開発が必要不可欠である。さらに混入する雑音を、電極・ポディアースの工夫、記録部位のシールド、記録電極と不関電極に同様の針電極を使用することなどで減少させた。

その結果、パラボリックフライトによる微小重力時には筋交感神経活動の抑制が認められ、さらに統制呼吸時にはその抑制がより著明に認められた。一方、直線加速度負荷時には加速度に応じた筋交感神経活動の抑制が観察された。

その原因として、過重力時には体液移動に伴う胸腔内心肺低圧受容器の免負荷、微小重力時には心肺低圧受容器の負荷および血圧変化に伴う圧受容器反射が原因として考えられた。

また、直線加速度負荷時には、耳石器官への刺激に伴う筋交感神経活動の抑制が推測されたが、前後方向への加速度負荷時には、血行力学的要素も無視できないことが判明した。

したがって、このような重力の循環動態への影響は、循環調節失調に対する経神経的治療を考える上で重要であると思われる。

E. 結論

「マイクロマシン技術を利用した経神経的循環器疾患治療の基盤技術の開発に関する研究」は、埋め込み型微小神経電極の開発と神経活動に含まれている情報を生体情報へ翻訳する、あるいは生体情報を神経活動に符号化する規則の解明という二つの課題を同時に推進することにより可能となる。

本事業推進により、半導体製造技術・神経科学・システム生理学・循環器学などに関する学際的かつ統合的研究が遂行されたことにより、平成11年度は、以下のような成果を得た。

- (1) 第2世代ともいえるべき能動型の神経再生型電極の試作開発
- (2) バイオニック動脈圧受容器反射装置の試作開発
- (3) 重力のヒト交感神経活動に及ぼす影響の解明

今後さらなる展開により、マイクロマシン技術を利用した経神経的循環器疾患治療が開発・確立され人類の福祉に貢献できることを願っている。

F. 研究発表

《論文発表》

1. Kawada T, Yamazaki T, Akiyama T, Sato T, Shishido T, Inagaki M, Tatewaki T, Yanagiya Y, Sugimachi M, Sunagawa K. Cyanide intoxication induced exocytotic epinephrine release in rabbit myocardium. *J Auton Nerve Syst* (In Press)
2. Hayashi K, Shigemitsu K, Shishido T, Sugimachi M, Sunagawa K. Single-beat estimation of Ees/Ea as an index of ventricular mechano-energetic performance. *Anesthesiology* (In press)
3. Yoshimura R, Sato T, Kawada T, Shishido T, Inagaki M, Miyano H, Nakahara T, Miyashita H, Takaki H, Tatewaki T, Yanagiya Y, Sugimachi M, Sunagawa K. Increased brain angiotensin receptor in rats with chronic high-output heart failure. *J Cardiac failure* 6: 66-72, 2000
4. Miyashita H, Sugimachi M, Sato T, Kawada T, Shishido T, Nakahara T, Yoshimura R, Takaki H, Miyano H, Sunagawa K. A novel servo-control system that imposes desired aortic input impedance on the in situ rat heart. *Am J Physiol* 278: H998-H1007, 2000
5. Takaki H, Tahara N, Miyazaki S, Sugimachi M, Sunagawa K. Exercise-Induced QRS Prolongation in Patients With Mild Coronary Artery Disease. *J Electrocardiology* 32: 206-211, 2000
6. Kawada T, Ikeda Y, Takaki H, Sugimachi M, Kawaguchi O, Shishido T, Sato T, Matsuura W, Miyano H, Sunagawa K. Development of a servo-controller of heart rate using a cycle ergometer. *Heart Vessels* 14: 177-184, 1999

7. Kawada T, Sunagawa G, Takaki H, Shishido T, Miyano H, Miyashita H, Sato T, Sugimachi M, Sunagawa K. Development of a servo-controller of heart rate using a treadmill. *Jpn Circ J* 63: 945-50, 1999
8. Shishido T, Sugimachi M, Kawaguchi O, Miyano H, Kawada T, Matsuura W, Ikeda Y, Sunagawa K. Novel method to estimate ventricular contractility using intraventricular pulse wave velocity. *Am J Physiol* 277: H2409-15, 1999
9. Chen SL, Kawada T, Inagaki M, Shishido T, Miyano H, Sato T, Sugimachi M, Takaki H, Sunagawa K. Dynamic counterbalance between direct and indirect vagal controls of atrioventricular conduction in cats. *Am J Physiol* 277: H2129-35, 1999
10. Kawada T, Sato T, Shishido T, Inagaki M, Tatewaki T, Yanagiya Y, Sugimachi M, Sunagawa K. Summation of dynamic transfer characteristics of left and right carotid sinus baroreflexes in rabbits. *Am J Physiol* 277: H857-65, 1999
11. Sato T, Kawada T, Shishido T, Sugimachi M, Alexander J Jr, Sunagawa K. Novel therapeutic strategy against central baroreflex failure: a bionic baroreflex system. *Circulation* 100: 299-304, 1999
12. Nakahara T, Kawada T, Sugimachi M, Miyano H, Sato T, Shishido T, Yoshimura R, Miyashita H, Inagaki M, Alexander J Jr, Sunagawa K. Neuronal uptake affects dynamic characteristics of heart rate response to sympathetic stimulation. *Am J Physiol* 277: R140-6, 1999
13. Sato T, Kawada T, Inagaki M, Shishido T, Takaki H, Sugimachi M, Sunagawa K. New analytic framework for understanding sympathetic baroreflex control of arterial pressure. *Am J Physiol* 276: H2251-61, 1999
14. Kawada T, Sugimachi M, Shishido T, Miyano H, Sato T, Yoshimura R, Miyashita H, Nakahara T, Alexander J Jr, Sunagawa K. Simultaneous identification of static and dynamic vagosympathetic interactions in regulating heart rate. *Am J Physiol* 276: R782-9, 1999
15. Toyofuku M, Takaki H, Sunagawa K, Kurita T, Shimizu W, Suyama K, Aihara N, Kamakura S. Exercise-induced ST elevation in patients with arrhythmogenic right ventricular dysplasia. *J Electrocardiol* 32: 1-5, 1999
16. Miyano H, Shishido T, Kawada T, Miyashita H, Sato T, Sugimachi M, Sunagawa K. Acute effect of tumor necrosis factor-alpha is minimal on mechanics but significant on energetics in blood-perfused canine left ventricles. *Crit Care Med* 27: 168-76, 1999
17. Sato T, Kawada T, Miyano H, Shishido T, Inagaki M, Yoshimura R, Tatewaki T, Sugimachi M, Alexander J Jr, Sunagawa K. New simple methods for isolating baroreceptor regions of carotid sinus and aortic depressor nerves in rats. *Am J Physiol* 276: H326-32, 1999
18. T. Mano, S. Iwase, A. Kamiya: Sympathetic nerve responses in humans to short and long term simulation of microgravity. *Journal of Gravitational Physiology* 5: 93-96, 1998.
19. C. Jian, S. Iwase, T. Mano, H. Kitazawa. *Am J Physiol* 276 (Regulatory Integrative Comp Physiol 45): R738-744, 1999.
20. C. Jian, S. Iwase, T. Mano, N. Kayayama, S. Mori: Muscle sympathetic nerve response to vestibular stimulation by sinusoidal linear acceleration in humans. *Neurosci Lett* 267: 181-184, 1999.
21. S. Iwase, T. Mano, C. Jian, et al.: Sympathetic outflow to muscle in humans during short period of microgravity produced by parabolic flight. *Am J Physiol* 277 (Regulatory Integrative Comp Physiol 46): R419-R426, 1999.
22. Y. Yamazaki, M. Suzuki, T. Ohkawa, H. Itoh, T. Mano: Monopolar surface EMGs capture initial dynamic features of muscle activation upon rapid isometric extensions of the elbow. *Environmental Medicine* 43: 72-74, 1999.
23. Q. Fu, S. Iwase, Y. Niimi, A. Kamiya, D. Michikami, T. Mano: Effects of aging on leg vein filling and venous compliance during low levels of lower body negative pressure in humans. *Environmental Medicine* 43: 142-145, 1999.
24. D. Michikami, A. Kamiya, Q. Fu, S. Iwase, T. Mano: Effect of local plantar heating on core temperature in humans. *Environmental Medicine* 43: 146-149, 1999.
25. Kamiya, S. Iwase, H. Kitazawa, T. Mano. Muscle sympathetic nerve activity after 120 days of 6° head-down bed rest. *Environmental Medicine* 43: 150-152, 1999.
26. Y. Niimi, T. Matsukawa, Y. Sugiyama, A.S.M. Shamsuzzaman, H. Ito, T. Mano: Seasonal variations in muscle sympathetic nerve activity in humans. *Environmental Medicine* 43: 153-155, 1999.
27. K. Inamura, T. Mano, S. Iwase: Isometric muscle contractions voluntarily synchronized with one-minute oscillations in postural sway improve orthostatic tolerance. *Advances in Exercise and Sports Physiology* 5: 89-100, 1999.
28. 佐藤 隆幸, 砂川 賢二 統合的な枠組みにおける神経性の動脈圧制御。 *BME* 12: 3-9, 1999
29. 砂川 賢二 バイオニック医療 *BME* 13: 1, 1999
30. システム制御理論に基づく動脈圧反射系の定量的同定 *循環器科* 46:446-452, 1999
31. 美和千尋, 岩瀬 敏, 小出陽子, 杉山由樹, 松川俊義, 間野忠明: 入浴時の浴室音が循環動態と体温調節機能に及ぼす影響. *総合リハビリテーション* 27: 353-358, 1999.
32. 江川賢一, 種田行男, 北畠義典, 真家英俊, 間野忠明, 岩瀬 敏, 美和千尋, Olga L. Vinogradova: 水浸条件がヒラメ筋H反射の姿勢

製調節に及ぼす影響. 体力研究 96: 34-39, 1999.

33. 杉山由樹, 小林章雄, 渡辺丈眞, 間野忠明: 老年者における血圧変動と筋交感神経活動. 自律神経 36: 193-197, 1999.
 34. 白水重尚, 柳 務, 高橋 昭, 岩瀬 敏, 間野忠明, 長谷川康博, 佐藤美貴, 清水宏: 感覚障害を認めない先天性家族性全身性無汗症の1例. 自律神経 36: 209-212, 1999.
 35. 北澤大樹, 崔 建, 岩瀬 敏, 湊 嘉三, 間野忠明: 局所加温が下腿腓腹筋の皮膚温, 皮膚血流量, 酸化ヘモグロビン濃度, 還元ヘモグロビン濃度に与える影響. 自律神経 36: 414-421, 1999.
 36. 美和千尋, 岩瀬 敏, 間野忠明: 41°C入浴時ミスト暖房が体温調節機能に及ぼす影響. 自律神経 36: 478-484, 1999.
 37. 道上大策, 神谷厚範, 傅 崎, 岩瀬 敏, 湊 嘉三, 間野忠明: 足底部局所加温の核温と皮膚交感神経活動に与える影響. 自律神経 36: 552-563, 1999.
 38. 新美由紀, 渡辺正樹, 西村 麗, 真野和夫, 渡邊英夫. Binswanger 脳症における圧受容器反射機能の検討. 臨床神経学 39: 700-704, 1999.
- 《学会発表》
1. Y. Yasuga, H. Takaki, Y. Goto. Percentage of predicted peak VO₂ and left ventricular ejection fraction are the two major predictors of survival in Japanese patients with dilated cardiomyopathy. 第3回日本心不全学会学術集会
 2. Y. Takeda, H. Takaki, Y. Goto, K. Sunagawa. VO₂ ejection fraction reserve in normal controls. 第3回日本心不全学会学術集会
 3. M. Fujimura, H. Takaki, Y. Yasumura, M. Sugimachi, K. Sunagawa. Beat-by-Beat QT Variability Is Markedly Sensitive to Respiration in Patients With Heart Failure. J Am Coll Cardiol 33(Suppl A): 213A, 1999
 4. N. Tahara, H. Takaki, T. Kurita, T. Kawada, M. Sugimachi, K. Sunagawa. Pronounced HR Variability After Exercise in Inferior Ischemia: Exercise-Induced Inferior Ischemia Invokes the Cardioinhibitory Reflex. J Am Coll Cardiol 33(Suppl A): 377A-378A, 1999
 5. N. Tahara, H. Takaki, T. Kawada, M. Sugimachi, K. Sunagawa. QRS width changes during exercise as an index of ischemia-high-resolution computer analysis in patients with false positive ST response. (口頭) XXIst Congress of the European Society of Cardiology (Barcelona, Spain) Eur Heart J 20: 122,1999
 6. Y. Takeda, H. Takaki, N. Tahara, Y. Goto, K. Sunagawa. Usefulness of VO₂ half-time after exercise as an indicator of functional status. (ポスター) XXIst Congress of the European Society of Cardiology (Barcelona, Spain) Eur Heart J 20: 693,1999
 7. N. Tahara, H. Takaki, T. Kawada, M. Sugimachi, K. Sunagawa. Pronounced post-exercise HRV in inferior ischaemia-determinants of its appearance and revascularization effects- (ポスター) XXIst Congress of the European Society of Cardiology (Barcelona, Spain) Eur Heart J 20: 694,1999
 8. S. Sakuragi, H. Takaki, M. Sugimachi, T. Kawada, K. Sunagawa, Y. Goto. Post-exercise VO₂ "hump" phenomenon as an indicator for myocardial ischaemia in patients with anterior myocardial infarction. (ポスター) XXIst Congress of the European Society of Cardiology (Barcelona, Spain) Eur Heart J 20: 695, 1999
 9. T. Kawada, T. Sato, T. Shishido, M. Inagaki, Y. Yanagiya, K. Sunagawa. Closed-loop identification of carotid sinus baroreflex Open-loop transfer function using electrical stimulation in rabbits. (口頭) 72nd American Heart Association (Atranta, U.S.A.) Circulation 100(Suppl): I-14, 1999
 10. T. Sato, T. Kawada, K. Sunagawa. Bionic baroreflex system: A novel therapeutic strategy against central baroreflex failure. (口頭) 72nd American Heart Association (Atranta, U.S.A.) Circulation 100(Suppl): I-14, 1999
 11. T. Sato, T. Kawada, K. Sunagawa. Original of Mayer's wave of arterial pressure: A resonance phenomenon in arterial baroreflex feedback. (ポスター) 72nd American Heart Association (Atranta, U.S.A.) Circulation 100(Suppl): I-134-135, 1999
 12. T. Sato, M. Sugimachi, K. Sunagawa. Baroreflex sensitivity in chronic heart failure: A shift in the operating point account for its apparent changes. (ポスター) 72nd American Heart Association
 13. S. Iwase, J. Cui, H. Kitazawa, A. Kamiya, S. Miyazaki, Y. Sugiyama, C. Mukai, M. Kohno, T. Mano, S. Nagaoka: Changes in muscle sympathetic nerve activity and effects of breathing maneuvers in humans during microgravity induced by parabolic flight. 20th Annual Gravitational Physiology Meeting (Orlando, Florida), 1999, 6. (Program p. 13)
 14. A. Kamiya, S. Iwase, D. Michikami, Q. Fu, T. Mano: Sympathetic vasoconstriction and orthostatic intolerance after simulated microgravity. 20th Annual Gravitational Physiology Meeting (Orlando, Florida), 1999, 6. (Program p. 16)
 15. Fu, Y. Sugiyama, A. Kamiya, T. Mano: A comparison of the effects of lower body positive pressure and head-down tilt on cardiovascular responses in humans. 20th Annual Gravitational Physiology Meeting (Orlando, Florida), 1999, 6. (Program p. 17)
 16. Y. Niimi, T. Matsukawa, Y. Sugiyama, A.S.M. Shamsuzzaman, T. Mano: Comparison of sympathetic nerve response to head-up tilt in summer and winter. 20th Annual Gravitational