

心室容積測定装置及び心室容積測定方法

出願日 2004年3月15日出願

発明者 砂川 賢二、杉町 勝、川田 徹

出願番号 特願 2004-72234

植込み型突然死防止装置の開発
心機能モニタ（コンダクタンス容積測定法の信号処理）の開発

分担研究者 杉町 勝（国立循環器病センター研究所・循環動態機能部 室長）

研究要旨：

交流電圧を直接に標本化してフィルタ処理と実効値算出をすべてデジタル処理によって行い、交流分離の際の実効値の経年変化や回路構成の複雑さを克服する方法を検討した。さらに、2周波数の交流発生とサンプリングを同期させ、デジタル処理のアルゴリズムを改良させることによりきわめて計算負荷の少ない実効値算出法を考案することができた。このシステムにより装置の経年変化を防ぎ、小型低消費電力の心機能連続測定装置を実現することが可能となった。無線測定を併用すれば完全植え込みの長期測定装置を開発することも可能と考えられる。

A.研究目的

心室機能の診断に必要な連続容積測定には、心室腔内の電気インピーダンスを測定する方法が現在最も一般的である。心室腔内カテーテル両端の電極対から交流定電流を流し、それにより生ずる交流電圧を別の電極対で測定して実効値を求めることで容積を算出する。従来は交流の分離のために狭帯域バンドパスのアナログフィルタと実効値算出のアナログ回路を用いていたが、回路の周波数応答の経年変化によって実効値が変動したり、心室内腔を複数のセグメントに分割して測定する場合には回路構成が複雑になるという欠点があった。

そこで、本研究では交流電圧を直接に標本化してフィルタ処理と実効値算出をすべてデジタル処理によって行い、交流分離の際の実効値の経年変化や回路構成の複雑さを克服する方法を検討した。さらに、2周波数の交流発生とサンプリングを同期させ、デジタル処理のアルゴリズムを改良させることによ

りきわめて計算負荷の少ない実効値算出法を考案することができた。

B.研究方法

B-1. コンダクタンス法による容積測定

図1で示すように、心室（1）内腔の血液（2）に挿入したカテーテル（3）両端の電極対（4）から2種類の交流電流を加算して印加し、他の電極対（5）間で交流電圧を標本化する。

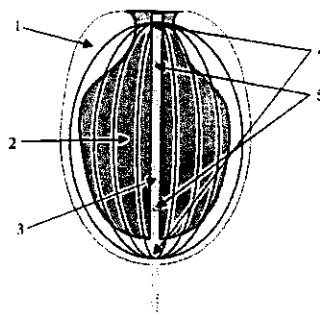


図1 連続コンダクタンス測定による心室容積測定法

1 心室 2 心室内の血液 3 カテーテル
4 電流印加用の電極対 5 電圧測定用の電極対

B-2. 印加する交流および標本化の設定

印加する2つの交流の周波数 f_1 および f_2 は一方が他方の整数倍 ($f_1 = f_2 \times n$) となるように設定した (図2)。周波数 f_1 および f_2 の交流は位相を同期させた。本研究では $f_1 = 20 \text{ KHz}$ 、 $f_2 = 2 \text{ KHz}$ 、 $n = 10$ に設定した。正確な周波数や位相の設定を行うために印加交流の発生もデジタル方式で行った。

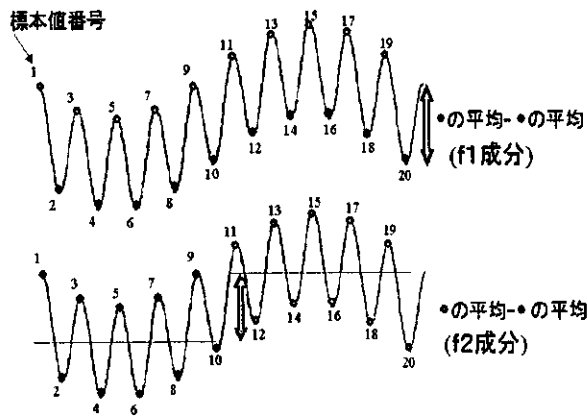


図2 2つの交流周波数成分の分離と実効値の算出アルゴリズムの模式図

標本化 (サンプリング、AD 変換) は f_1 の2倍の周波数でかつ f_1 の最大値および最小値に同期して行うように設定した。本研究では、 f_1 が 20 KHz であるので、標本化周波数は 40 KHz に設定した。最大値および最小値に同期して標本化することにより、 f_1 に近い周波数でありながら標本化を正確に行うことができるようになった。

B-3. デジタル処理による交流分離と実効値算出アルゴリズム

デジタル処理のためのアルゴリズムを図2に示す。 f_2 が正より負に移行する時点より f_2 の1周期に相当する $2n$ 個の標本値を用いて、奇数番目の値 n 個の和 S_o と偶数番目の値 n 個の和 S_e の差から周波数成分 f_1 の実効値を、後半の値 n 個の和 S_2 と前半の値 n 個の和 S_1 の差から周波数成分 f_2 の実効値を求める (図2)。

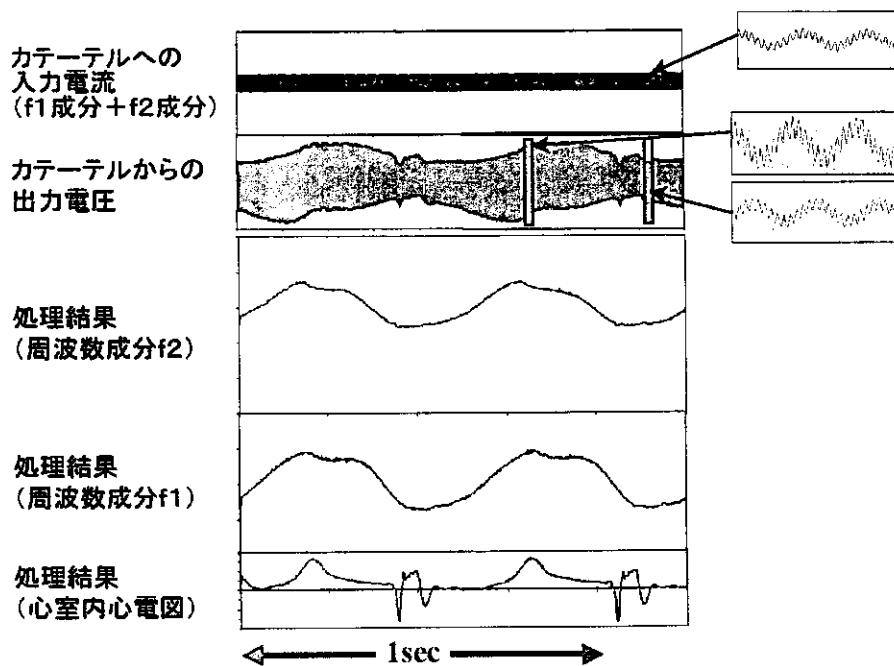


図3 新しいアルゴリズムによる2つの交流周波数成分分離と実効値算出の測定例

すなわち f_2 が正より負に移行する時点を基準として k 番目の標本値を P_k とすると

$$S_0 = P_1 + P_3 + P_5 + P_7 + P_9 \\ + P_{11} + P_{13} + P_{15} + P_{17} + P_{19}$$

$$S_e = P_2 + P_4 + P_6 + P_8 + P_{10} \\ + P_{12} + P_{14} + P_{16} + P_{18} + P_{20}$$

$$S_2 = P_{11} + P_{12} + P_{13} + P_{14} + P_{15} \\ + P_{16} + P_{17} + P_{18} + P_{19} + P_{20}$$

$$S_1 = P_1 + P_2 + P_3 + P_4 + P_5 \\ + P_6 + P_7 + P_8 + P_9 + P_{10}$$

であり、 f_1 、 f_2 の実効値 (RMS) は次のように求められる。

$$RMS(f_1) = S_0 - S_e$$

$$RMS(f_2) = S_2 - S_1$$

C. 研究結果

図3に測定例を示す。最上段で示すように2つの周波数 (2 KHz および 20 KHz) の交流を重畳してカテーテル両端の電極間に印加する。2段目はそれと同時にカテーテルの記録電極から測定した電圧である。同じ実効値の電流を印加しているにもかかわらず、心臓容積の変化に応じて出力電圧の実効値が 2 KHz、20 KHz とともに変化している。3段目、4段目は本研究で開発したアルゴリズムによって求めた各周波数の実効値である。これは従来のアナログ回路で求めたものと精度よく一致した (図4)。

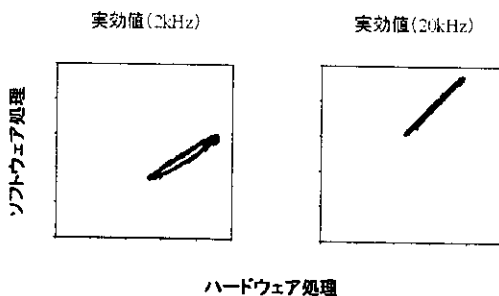


図4 新しいアルゴリズム (ソフトウェア) とアナログ回路 (ハードウェア) による2つの交流周波数成分実効値の比較

D. 考察

心室機能の診断には、心室腔の圧と容積を連続的に同時測定する必要がある。従来から、心室容積の連続測定には心室腔内の電気インピーダンスを測定する方法が最も多く用いられてきた。このためには心室腔内に挿入したカテーテル両端の電極対から交流定電流を印加して、別の電極対で交流電圧の実効値を測定する。また2つの周波数の交流電流を同時に印加することによりコンダクタンスへの心筋の寄与を除去することができる。従来のコンダクタンス測定法では交流の分離のために狭帯域バンドパスのアナログフィルタと実効値算出のアナログ回路を用いていた。しかしながら一致させていた交流発生装置とフィルタの周波数が経年変化によって差を生じ実効値を変動させるという欠点があった。また回路構成が複雑になるという欠点もあった。

そこで、本発明では心室腔内で測定した交流電圧を直接に標本化してフィルタ処理と実効値算出をすべてデジタル処理によって行い、交流分離の際の実効値変動や回路構成の複雑さを克服した。特に2周波数の交流発生とサンプリングを同期させ、デジタル処理のアルゴリズムを改良させることによりきわめて計算負荷の少ない実効値算出法を考案した。

本発明により狭帯域アナログフィルタおよび実効値算出のための複雑な回路を用いずに2周波数の交流の各々について実効値を算出することができ、回路周波数の経年変化による実効値の変動を克服することができる。かつデジタル処理は、各々の周波数について $(2n-1)$ 回の加減算のみで行うことができ計算負荷をきわめて低減可能である。

E. 結論

このシステムにより装置の経年変化を防ぎ、小型低消費電力の心機能連続測定装置を実現することが可能となった。無線測定を併用す

れば完全植え込みの長期測定装置を開発することも可能と考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

G-1. 論文

1. A Novel Framework of Circulatory Equilibrium. Uemura K, Sugimachi M, Kawada T, Kamiya A, Jin Y, Kashihara K, Sunagawa K. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2004 (in press)
2. Vagal nerve stimulation markedly improves long-term survival after chronic heart failure in rats. Li M, Zheng C, Sato T, Kawada T, Sugimachi M, Sunagawa K. Circulation, 109: 120-124, 2004.
3. Intravenous angiotensin II does not affect dynamic baroreflex characteristics of the neural or peripheral arc. Kashihara K, Takahashi Y, Chatani K, Kawada T, Zheng C, Li M, Sugimachi M, Sunagawa K. Jpn J Physiol, 53: 135-143, 2003.
4. Reduced oxygen uptake increase to work rate increment ($\Delta/\Delta WR$) is predictable by response to constant work rate exercise in patients with chronic heart failure. Toyofuku M, Takaki H, Sugimachi M, Kawada T, Goto Y, Sunagawa K. Eur J Appl Physiol, 90: 76-82, 2003.
5. Bezold-Jarisch reflex attenuates dynamic gain of baroreflex neural arc. Kashihara K, Kawada T, Yanagiya Y, Uemura K, Inagaki M, Takaki H,

Sugimachi M, Sunagawa K. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 285: H833-H840, 2003.

6. High plasma norepinephrine attenuates the dynamic heart rate response to vagal stimulation. Miyamoto T, Kawada T, Takaki H, Inagaki M, Yanagiya Y, Jin Y, Sugimachi M, Sunagawa K. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 284: H2412-H2418, 2003.

G-2. 学会発表

1. Self-calibratable ventricular pressure-volume telemetry system for rats. Uemura K, Sugimachi M, and Sunagawa K. Scientific Sessions 2003, American Heart Association (2003, 11.9-12)
2. A BLUETOOTH based telemetry system for the measurement of ventricular pressure-volume relationship in conscious, freely moving rats. Uemura K, Kawada T, Sugimachi M, Zheng C, Sunagawa K. The 68th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society (2004.3.27-29)
3. Single Point Swan-Ganz Cardiac Output (CO), Right (P_{RA}) and Left (P_{LA}) Atrial Pressures Enables Accurate Prediction of Changes in Hemodynamics. Uemura K, Sugimachi M, Kawada T, Kashihara K, Sunagawa K. The 68th Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society (2004.3.27-29)

G-3. 新聞報道

1. 致死的不整脈の研究について紹介された。
2004年2月18日 読売新聞

H. 知的所有権の取得状況

1. 国内特許出願
心室容積測定装置及び心室容積測定方法
出願日 2004年3月15日出願
発明者 砂川 賢二、杉町 勝、川田 徹
出願番号 特願 2004-72234

植込み型突然死防止装置の開発
新しい除細動方法の開発

分担研究者 稲垣 正司（国立循環器病センター研究所 室長）

研究要旨：

低エネルギーの通電による新しい除細動法の開発によって、従来の植え込み型除細動器（ICD）を超える治療効果が期待できる。本研究では、VF中のspiral waveを低エネルギー通電によってコントロールしてVFを停止させる新しい除細動方法についてコンピュータ・シミュレーションによる理論的検討を行った。Luo-Rudy Iモデルを用いてバイドメインの2次元媒質を作り、spiral waveを誘発した。媒質中の1点から記録される心電図のタイミングをfeedbackして媒質の両端の電極から刺激閾値以下の低エネルギー反復刺激を行うことによって、spiral waveの核を媒質境界に向かって移動させ、核を媒質境界に衝突させてspiral waveを停止させることが可能であった。刺激強度や刺激のタイミングの違いによって、spiral waveが停止しない場合や分裂する場合が確認された。心電図トリガによるfeedback反復刺激によって、刺激閾値以下の通電によって心室細動を短時間に停止できる可能性が示唆された。従来の直流通電法に替わる新しい低エネルギー除細動法として期待される。

A.研究目的

本研究の目的は、従来の植え込み型除細動器（ICD）を超える突然死防止効果を持つ装置の開発に向けて、新しい除細動機序に基づく低エネルギー除細動法を開発することである。

心室細動（VF）などの致死性不整脈による心臓性突然死は、米国で年間40万人、我が国においても年間5万人と推測され、その克服は国家的な急務と位置づけられている。大規模臨床試験によって植込み型除細動器（ICD）が致死性不整脈に対して極めて高い有効性を持つことが明らかとなり、特に心筋梗塞後の低心機能患者に対しては突然死の一次予防効果を持つことも報告されている（N Engl J Med, 2002）。しかしながら、従来の高エネルギーショックによる除細動法では、致死性不

整脈を停止させるまでに10秒以上の診断および充電時間を要し、不整脈に伴う失神を防ぐことはできない。また、高エネルギーショックによる心筋傷害は低心機能患者にとっては時に致命的になり、電池寿命にとっても大きな障害となっている。このため、より低エネルギーの通電による新しい除細動法が開発が求められている。

一方、高解像度マッピングによって得られたVF中の興奮伝播様式の検討から、VFの主な機序は核と呼ばれる非興奮領域を中心として渦巻き様に回転する興奮波（spiral wave）が離散と集合を繰り返す機能的リエントリーであることが明らかとなってきた。

本研究では、VF中のspiral waveを低エネルギー通電によってコントロールしてVFを停止させる新しい除細動法を開発する。本年度の研究では、コンピュータシミュレーショ

ンによって、2次元心筋媒質内の spiral wave を外部からの脱分極閾値以下の低エネルギー通電によってコントロール (spiral wave の核を媒質外に追い出す) して VF を停止させる方法の理論的確立を行う。

本研究により開発される低エネルギー除細動法の基盤技術は、突然死予防効果のより高い ICD の開発につながる。また、脱分極閾値以下の低エネルギー除細動が可能となればエネルギーチャージの必要がなくなり、診断後直ちに治療を開始することによって失神を起こす前に VF を停止できる可能性がある。また、ショックによる痛みも解消されるため、患者が全く気づかないうちに VF 治療を行う ICD の開発につながる。

B. 研究方法

B-1. コンピュータ・シミュレーションに使用した数理モデル

本研究では、心筋の活動電位モデルとして Luo-Rudy I モデルを使用した。Luo-Rudy I モデルは、Hodgkin-Huxley 型の 8 変数からなる心筋活動電位モデルである。(下式)

$$dV/dt = -1/C(I_{Na} + I_{si} + I_k + I_{K1} + I_{kp} + I_b)$$

$$dCa/dt = -10^{-4} \cdot I_{si} + 0.07(10^{-4} - Ca)$$

$$dX/dt = \alpha_x(1-X) - \beta_x X$$

$$dm/dt = \alpha_m(1-m) - \beta_m m$$

$$dh/dt = \alpha_h(1-h) - \beta_h h$$

$$dj/dt = \alpha_j(1-j) - \beta_j j$$

$$dd/dt = \alpha_d(1-d) - \beta_d d$$

$$df/dt = \alpha_f(1-f) - \beta_f f$$

V : 細胞の活動電位

Ca, X, m, h, j, d, f: イオンチャンネル等の状態

$$I_{Na} = G_{Na} \cdot m^3 \cdot h \cdot j \cdot (V - E_{Na}) \quad E_{Na} = 54.4$$

$$I_{si} = G_{si} \cdot d \cdot f \cdot (V - E_{si}) \quad E_{si} = 7.7 - 13.0287 \cdot \ln(Ca)$$

$$I_k = G_k \cdot X \cdot X_i \cdot (V - E_k) \quad E_k = -77$$

$$(V < -100) \quad X_i = 2.837$$

$$\frac{\exp[0.04(V+77)] - 1}{\exp[0.04(V+35)]}$$

$$\exp[0.04(V+35)]$$

$$(V < -100) \quad X_i = 1$$

$$I_{K1} = G_{K1} \cdot K1_{\infty} \cdot (V - E_{K1})$$

$$K1_{\infty} = \alpha_{K1} / (\alpha_{K1} + \beta_{K1}) \quad E_{K1} = -87.26$$

$$I_{kp} = G_{kp} \cdot Kp \cdot (V - E_{kp})$$

$$E_{kp} = E_{K1}$$

$$Kp = 1 / \{1 + \exp[(7.488 - V) / 5.98]\}$$

$$I_b = 0.03921 \cdot (V + 59.87)$$

Luo-Rudy I モデルは、単純化されたモデルであるが、変数が少なく計算負荷が少ないため古くから多くのシミュレーション研究に用いられており、興奮伝播の動態に関する基礎研究には適している。

興奮伝播のシミュレーションを行うために、Luo-Rudy I モデルを用いて 100×100 ユニット (2cm×2cm に相当) からなる 2次元媒質を構築した。媒質を一部覆うように幅 25 ユニット長さ 100 ユニットの刺激用電極を設定し、陰極電極の端に心電図記録用の電極を設定した (図 B)。

本シミュレーションでは外部から電流を印加するため、心筋線維方向による異方性を設定したバイドメインモデルによって媒質を構築した。バイドメインモデルでは、細胞膜内と細胞膜外の 2 つの領域を設定して電流密度や導電率も独立に定義し、それぞれの領域にオームの法則を適応して得られる連立微分方程式を解くことになる。

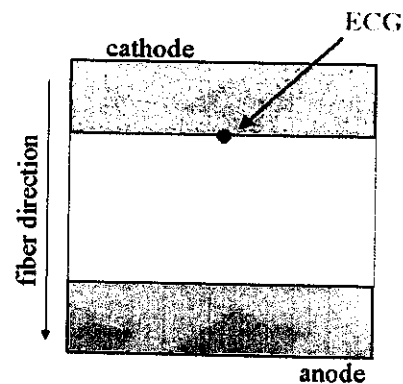


図 B 2次元媒質上での刺激電極および心電図記録用電極の配置

B-2. 媒質の電気生理学的特性

Luo-Rudy I モデルの G_{si} および媒質の導電

率を調整することにより、周期 500msec で定常刺激を行った際の活動電位持続時間 (APD) が 173msec、線維方向と平行方向の伝導速度が 41cm/sec、線維方向と垂直方向の伝導速度が 18cm/sec となるように条件を設定した。

B-3. 心室細動の誘発

クロスフィールド刺激法によって媒質中央に反時計回りに回旋する spiral wave を誘発した。spiral wave は媒質中央に安定して定在し、平均周期は 130msec であった。

B-4. 反復低エネルギー刺激による除細動

spiral wave 誘発後 1500msec 後より刺激電極から反復する低エネルギー通電を行い、spiral wave の停止を試みた。反復刺激法には、定常反復刺激と心電図トリガによる feedback 反復刺激の 2 種類の刺激方法を用い、刺激タイミングをそれぞれ 0msec (0) ~ 130msec

(2 π) の間で 10.83msec ($\pi/6$) づつ遅延させた刺激を行った。刺激パルス幅は 10msec に固定し、刺激電圧は刺激閾値の 1/8 から刺激閾値までの 8 段階の強度の刺激を行った。

C. 研究結果

反復低エネルギー通電に対して、spiral wave の挙動は次の 3 種類の応答を示した。①反復低エネルギー刺激により spiral wave の核は媒質境界に向かって徐々に移動し、最終的に核が媒質境界に衝突して spiral wave は停止する (図 C-1)。②反復低エネルギー刺激により spiral wave の核は meandering を起こすが媒質境界まで移動することはなく、spiral wave は持続する。③反復低エネルギー刺激により spiral wave は分裂し、複数の spiral wave が持続して存在する。

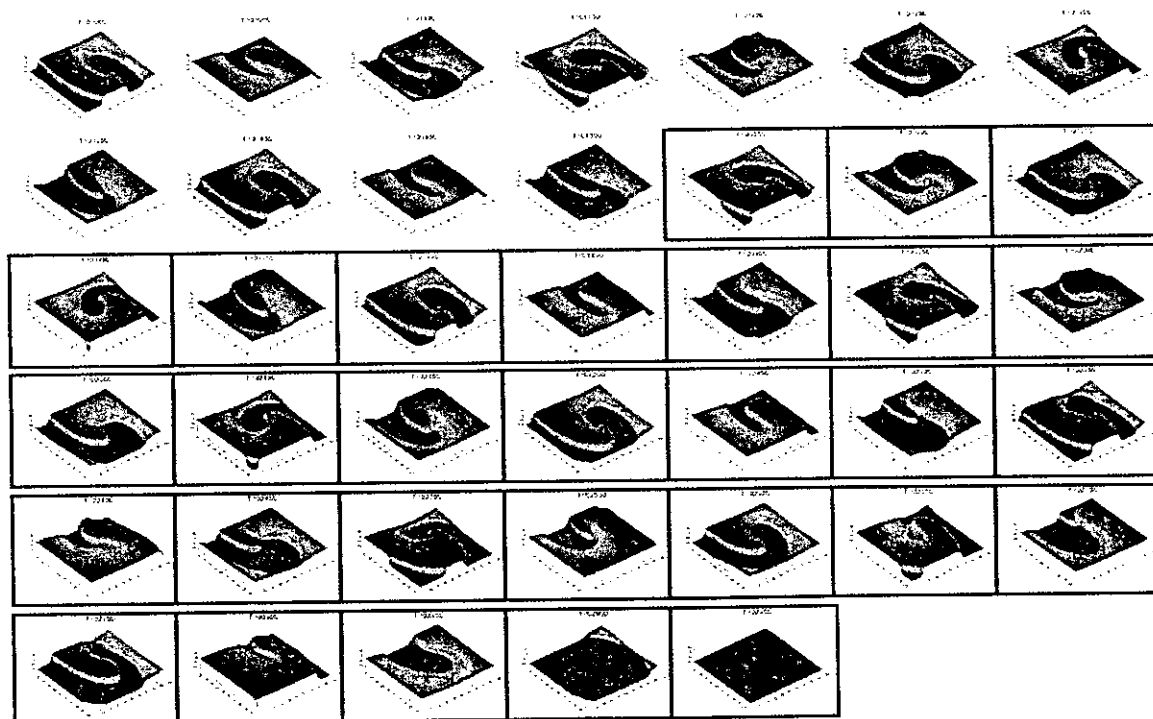


図 C-1 spiral wave の誘発後 1500msec 後より、刺激閾値の 1/2 の強度で心電図トリガによる反復刺激を行った (赤枠)。反復刺激により spiral wave の核は徐々に媒質境界に向かって移動し、約 1.4 秒後に核が媒質境界に衝突し spiral wave は停止した。

刺激周期 130msec の定常反復刺激に対しては、spiral wave が停止することは稀で、多く

の刺激条件で spiral wave は分裂するか、持続するかのどちらかであった (図 C-2)。

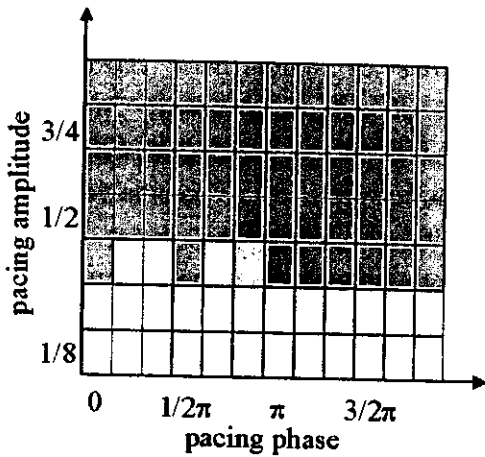


図 C-2 定常反復刺激に対する spiral wave の応答。刺激条件は縦軸：刺激閾値で正規化した刺激強度、横軸：刺激タイミングの遅れ。水色領域：spiral wave 停止。黄色領域：spiral wave 持続。赤色領域：spiral wave 分裂。

心電図トリガによる feedback 反復刺激を行った場合、spiral wave が停止する刺激条件が広がった (図 C-3)。

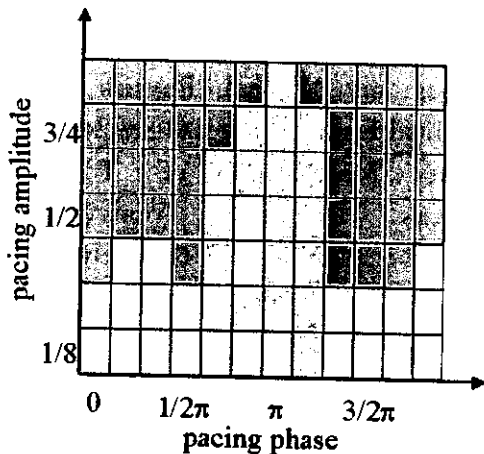


図 C-3 心電図トリガによる feedback 反復刺激に対する spiral wave の応答。刺激条件は縦軸：刺激閾値で正規化した刺激強度、横軸：刺激タイミングの遅れ。水色領域：spiral wave 停止。黄色領域：spiral wave 持続。赤色領域：spiral wave 分裂。

D. 考察

媒質に外部から微弱な刺激を加えることによって、2次元および3次元媒質中に生じた渦巻き様興奮波をコントロールできることは Resonant Drift 現象として数理的には古くから知られている。最近では、3次元化学媒質において、渦巻き様興奮波をコントロールできることが実験的にも確認されている。しかしながら、生体内に見られる時空カオス現象としての渦巻き様興奮波を同様の方法でコントロールできるかについては明らかでない。

本研究では、適切なタイミングで微弱な刺激を繰り返し行うことで、心筋の特性を持つ2次元興奮媒質においても Resonant Drift 現象によって渦巻き様興奮波をコントロールできる可能性を示した。また、刺激タイミングの決定に媒質中の1点から得られる興奮波の情報を利用することによって、停止をもたらす刺激条件を飛躍的に拡大することができると明らかとなった。本研究の結果から、非常に菲薄化した心筋に発生する1つの spiral wave が原因となる心室細動であれば、刺激閾値以下の微弱な feedback 反復刺激によって約8秒以内に除細動可能であると予測される。しかしながら、3次元的な渦巻き様興奮波による心室細動や複数の渦巻き様興奮波が存在する心室細動を同様の機序で停止できるかどうかについては更なる理論的検討が必要である。今後、3次元心室形状媒質内に発生させた複数の spiral wave を2電極間の低エネルギー通電を繰り返すことによってコントロールする方法の理論的検討を進める予定である。さらに、光学的活動電位マッピングを用いて、本法によって spiral wave を低エネルギー通電によってコントロールできることを実験的に確認する。

一方、本研究の結果から、本法による除細動法は僅かな刺激条件の違いによって spiral wave の分裂をもたらし、心室細動を悪化させる可能性も示唆された。今後、刺激条件の設

定に際して、如何に安全域を広く確保できるかが課題となると考えられる。

E. 結論

心電図トリガによる feedback 反復刺激によって、刺激閾値以下の通電によって心室細動を短時間に停止できる可能性が示唆された。従来の直流通電法に替わる新しい低エネルギー除細動法として期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

G-1. 論文

1. Biphasic response of action potential duration to sudden sympathetic stimulation in anesthetized cats. Tatewaki T, Inagaki M, Kawada T, Shishido T, Yanagiya Y, Takaki H, Sato T, Sugimachi M, Sunagawa K. *Circ J*. 2003.67.876-880
2. Transmural heterogeneity of the action potential configuration in the feline left ventricle. Aiba T, Shimizu W, Inagaki M, Hidaka I, Tatewaki T, Sunagawa K. *Circ J*. 67.449-454 2003
3. Bezold-Jarisch reflex attenuates dynamic gain of baroreflex neural arc. Kashihara K, Kawada T, Yanagiya Y, Uemura K, Inagaki M, Takaki H, Sugimachi M, Sunagawa K. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*.285.H833-H840 2003
4. High plasma norepinephrine attenuates the dynamic heart rate response to vagal stimulation. Miyamoto T, Kawada T, Takaki H, Inagaki M, Yanagiya Y, Jin Y, Sugimachi M, Sunagawa K. *Am J Physiol Heart Circ*

Physiol .284.H2421-H2418 2003

5. Dynamics of sympathetic baroreflex control of arterial pressure in rats. Sato T, Kawada T, Inagaki M, Shishido T, Sugimachi M, Sunagawa K. 285.R262 -R2702003
6. Cardiac sympathetic nerve stimulation does not attenuate dynamic vagal control of heart rate via the α -adrenergic mechanism. Miyamoto T, Kawada T, Yanagiya Y, Inagaki M, Takaki H, Sugimachi M, Sunagawa K. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004

G-2. 学会発表

1. Cardiac Geometry Itself Is A Substrate Of Ventricular Fibrillation: Vortex-Like Reentry Created By Geometry In 3-Dimensional Computer Model. Inagaki M, Sugimachi M, Nakazawa K, Kadawa T, Watanabe H, Sugiura S, Hisada T, Sunagawa K. World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering (2003.8.24-29)
2. Cellular Mechanism of T-Wave Alternans Preceding Ventricular Fibrillation in Model of the Brugada Syndrome-High Resolution Optical Mapping Study. Aiba T, Hidaka I, Shimizu W, Inagaki M, Uemura K, Sunagawa K. Scientific Sessions 2003 (2003.11.9-12)
3. High-Resolution Optical Mapping Reveals Cellular Mechanism of T-wave Alternans Preceding Ventricular Fibrillation in a Model of the Brugada Syndrome. Aiba T, Aiba T, Hidaka I, Shimizu W, Inagaki M, Uemura K, Sunagawa K. The 68th Japanese Circulation Society general meetings and a scientific meeting (2004.3.27-29)
4. Abdominal vagal nerve activation does

not account for the beneficial effects of vagal stimulation on mortality of myocardial infarction. Li M, Zheng C, Inagaki M, Kawada T, Sugimachi M, Sato T, Sunagawa K. The 68th Japanese Circulation Society general meetings and a scientific meeting (2004.3.27-29)

5. High Resolution Optical Mapping of Cardiac Action Potentials in Freely Beating Rabbit Hearts. Hidaka I, Inagaki M, Aiba T, Sugimachi M, Sunagawa K. The 68th Japanese Circulation Society general meetings and a scientific meeting (2004.3.27-29)
6. Sodium Channel Block with Pilsicainide Accentuates the Arrhythmogenic Substrate in a Model of the Brugada Syndrome. Aiba T, Shimizu W, Hidaka I, Inagaki M, Uemura K, Sunagawa K. The 68th Japanese Circulation Society general meetings and a scientific meeting (2004.3.27-29)
7. Chronic vagal stimulation exerts its beneficial effects on the failing heart through a non-adrenergic mechanism. Li M, Zheng C, Kawada T, Inagaki M, Sugimachi M, Sato T, Sunagawa K. The 68th Japanese Circulation Society general meetings and a scientific meeting (2004.3.27-29)

G-3.新聞報道

なし

H.知的所有権の取得状況

なし

植込み型突然死防止装置の開発

心室ペーシングによる致死性不整脈の治療法の開発

分担研究者 高木 洋（国立循環器病センター研究所 室長）

研究要旨：

心室ペーシングによる致死性不整脈の予防的治療法を開発するための準備として、拍動下の心臓においても詳細な心筋活動電位のマッピングが可能な光学的心筋活動電位マッピングシステムの開発を行った。従来の光学的膜電位記録法は心臓の収縮を抑制した非生理的な条件下で記録を行わなければならない、機械的負荷の影響を解析することも不可能であった。開発したシステムでは、膜電位の変化に応じて輝度が逆相に変化する2つの波長の蛍光比を計測することによって観測対象の前後方向の動きによるアーチファクトを除去し、観測面内の動きをアフィン変換を利用したモーショントラッキングにより補整することによって、モーシオンアーチファクトを除去した。微小ガラス電極法による膜電位記録との比較によってシステムの精度を評価したところ、本システムにより記録した膜電位記録は微小ガラス電極法による膜電位記録と良好に一致した。

A.研究目的

本研究の目的は、従来の植え込み型除細動器（ICD）を超える突然死防止効果を持つ装置の開発に向けて、心室ペーシングによって致死性不整脈の予防および停止を行う治療法を開発することである。

心室細動（VF）などの致死性不整脈による心臓性突然死は、米国で年間40万人、我が国においても年間5万人と推測され、その克服は国家的な急務と位置づけられている。心臓性突然死の80～90%は心室細動などの致死性不整脈が原因であることから、致死性不整脈に対しては精力的な研究が行われている。しかしながら、大規模臨床試験の結果、これまでに開発された抗不整脈薬の多くは突然死の予防に無効であるのみならず、場合によっては致死性不整脈を誘発することが明らかになった。一方、大規模臨床試験によって植込み型除細動器（ICD）が致死性不整脈に対し

て極めて高い有効性を持つことが明らかとなり、特に心筋梗塞後の低心機能患者に対しては突然死の一次予防効果を持つことも報告されている。しかしながら、従来のICDはあくまでも発生した致死性不整脈を停止させる装置であり、不整脈を予防する効果はない。したがって、不整脈予防機能を従来のICDに付加することができれば、ICDの治療効果の飛躍的改善が期待できる。

一方、動物実験による心臓電気活動の高解像度マッピングやコンピュータ・シミュレーションによる不整脈モデルの研究により、代表的な致死性不整脈である心室細動の本態は、電気的興奮媒質である心臓（心筋組織）に生じた渦巻き様の興奮波が形・大きさ・場所を変えて離散と集合を繰り返すリエントリー現象であることが明らかとなってきた。このような機能的リエントリーの発生と維持には、媒質である心臓の電気生理学的性質の空間的分布状況が極めて重要であり、ペーシングを

用いてこれらの空間的分布を修飾することによってリエントリーの発生を直前で予防できる可能性がある。本研究では、心室ペーシングによって心室の活動電位分布を積極的にコントロールすることにより致死性不整脈を予防または停止させる方法を開発する。

心室ペーシングによる致死性不整脈の予防的治療法を開発するためには、病態に近い条件で心臓の電気生理学的性質の空間的分布を詳細に計測する技術を開発し、心臓の電気生理学的性質の空間的分布と致死性不整脈発生との関係を定量的に解析する技術を開発することが不可欠である。近年、光学的膜電位記録法を用いた心臓電気活動の詳細なマッピング実験によって、心室細動や心室頻拍の理解に新たな展開がもたらされてきている。しかしながら、光学的膜電位記録法は観測対象の動きにより大きなアーチファクトが生じるため、これまでの研究では薬剤やガラス面への圧迫によって心臓の動きを止め、非生理的な状態で観測が行われてきた。このような状態での観測は非生理的であるばかりでなく、心臓の電気現象と機械現象の関連については全く評価することができない。また、心筋の収縮を抑制する薬剤による膜電位の修飾も記録上の問題となっている。本年度の研究では、これまでの光学的心筋活動電位記録法の限界を克服するため、拍動下の心臓においても詳細な心筋活動電位のマッピングが可能な光学的心筋活動電位マッピングシステムの開発を行った。

B. 研究方法

本研究では、膜電位の変化に応じて輝度が逆相に変化する2つの波長の蛍光比を計測することによって観測対象の前後方向の動きによるアーチファクトを除去し、観測面内の動きをアフィン変換を利用したモーショントラッキングにより補整することによって、拍動下の心臓においても詳細な心筋活動電位のマッピングが可能な光学的心筋活動電位マッピ

ングシステムの開発を行った。

B-1. 2波長同時記録カメラシステムの作成

心筋を膜電位感受性色素 (di-4-ANEPPS) で染色すると、色素からの蛍光光量は細胞膜の電位に依存して変化するため、細胞膜電位の変化を光学的シグナルとして記録することが出来る。記録する蛍光波長により細胞膜の電位変化に伴う光量の変化量が異なり、特に、640nm以上の波長の蛍光光量は細胞膜電位の上昇とともに減少するのに対し、600nm以下の波長の蛍光光量は細胞膜電位の上昇とともに増加することが知られている (図 B-1)。

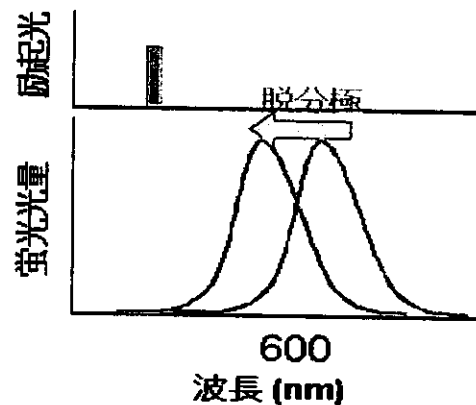


図 B-1 脱分極により di-4-ANEPPS の蛍光パターンは短波長側にシフトする

下記に示すように、膜電位変化に伴って逆相に変化する2つの波長の蛍光量の比を計測することにより、前後方向の動きによる蛍光光量の変化によるアーチファクトを除去することが可能である。

$$\begin{aligned}
 & \text{心筋活動電位を } V(x, y, t)、\text{ 観測面に対して前後方向の動きによる蛍光光量の修飾を } M(x, y, t)、\text{ 緑色帯域の蛍光光量を } F_{\text{green}}、\text{ 赤色帯域の蛍光光量を } F_{\text{red}} \text{ とすると、} \\
 & F_{\text{green}} = (a V(x, y, t) + b) * M(x, y, t) \\
 & F_{\text{red}} = (c V(x, y, t) + d) * M(x, y, t) \\
 & F_{\text{green}}/F_{\text{red}} = (a V(x, y, t) + b) / (c V(x, y, t) + d) \\
 & = \dots = e V(x, y, t) + f \\
 & (a, b, c, d, e, f \text{ は定係数})
 \end{aligned}$$

本研究では、CMOS センサーを用いて2波長同時記録が可能な高速ビデオカメラシステムを構築した。光学フィルターを様々に変

更し、600nm 以下の帯域と 640nm 以上の帯域それぞれについて、心筋活動電位を形成する膜電位レベルに対してもっとも良好な S/N 比の得られる記録帯域を検索した。

B-2. 蛍光比計算とモーション・トラッキング機能のシステムへの導入

観測対象の観測面内の上下左右方向の動きによるアーチファクトをアフィン変換を利用したモーション・トラッキングによって除去した後、膜電位の変化に伴い逆相に変化する 2 波長の蛍光光量の比を計算することで観測対象の前後方向の動きによるアーチファクトを除去するソフトウェアをシステムに導入した。これにより、拍動下の心臓でも記録が可能な光学的心筋活動電位マッピングシステムを構築する。また、ソフト的に記録画像に含まれるノイズを除去するために、ウェーブレット・フィルタ、中央値フィルタ等の時間軸フィルタ、空間フィルタの効果と比較し最適なフィルタを選択した。

B-3. 摘出心臓標本での評価

ウサギのランゲンドンドルフ灌流心を用いて記録システムの評価を行った。ランゲンドンドルフ灌流心を di-4-ANEPPS を加えた Tyrode 液で 10 分間灌流した後、心筋収縮を抑制せずに、微小ガラス電極法による膜電位記録と同時に、フレームレート 500/sec で光学的膜電位記録を行った。心尖部よりペーシング周期を変えて (200msec~2000msec) ペーシングを行った。ガラス微小電極による記録部位を変えて、同時記録を繰り返した。ガラス微小電極法による記録と光学的計測によって得られたガラス電極周囲の活動電位波形と比較し、記録システムの検証を行った。

C. 研究結果

C-1. 2 波長同時記録カメラシステムの作成

励起用光源は青色発光ダイオードを用いて作成した。記録する蛍光と波長のオーバー

ラップが生じないように 480nm のバンドパス・フィルタを使用した (図 C-1A)。

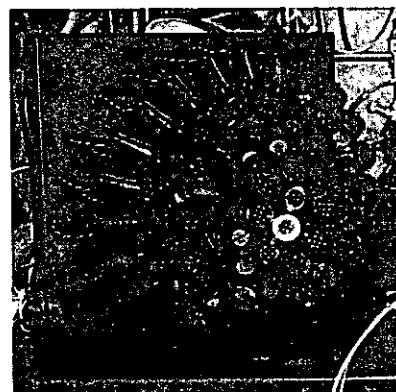


図 C-1A 青色ダイオードを利用した励起用光源

観測対象からの蛍光は 580nm のダイクロイック・ミラーで分岐させた後、中心波長 540nm のバンドパス・フィルタと中心波長 660nm のバンドパス・フィルタを通過させてイメージ・インテンシファイアで増幅した後 CMOS センサに入力した。センサは空間分解能 256×256 ピクセル、最大フレームレート 2 KHz の CMOS センサを使用した。10 ビットに量子化された画像は、8 ビットのデータとしてカメラ内のメモリに記録され、パーソナル・コンピュータによって読み出しを行う。光学的膜電位記録と同時に、心電図およびガラス電極法による膜電位などを 8 Ch 記録できるものとした (図 C-1B)。

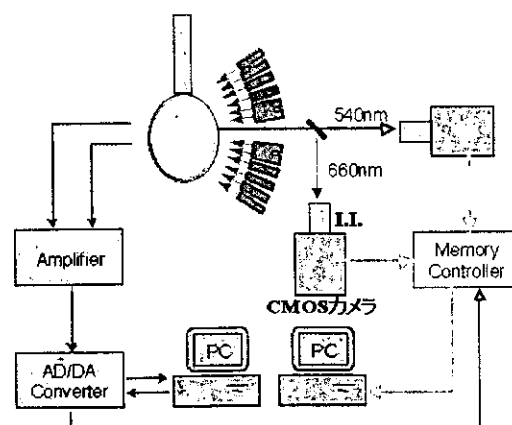


図 C-1B 2 波長同時記録カメラシステム

C-2. 蛍光比計算とモーション・トラッキング

機能のシステムへの導入

モーション・トラッキングのために、直径 0.5mm のジルコニア製ビーズを心表面に散布し、マーカーとした。心拍動に伴うマーカーの移動を画像の相互相関を用いて追跡した。3点のマーカーの移動前後の座標からアフィン行列を作成して、アフィン変換によって3点のマーカーの作る三角形内部の点を移動前の座標に変換することによって、仮想的に静止した画像を作成した。ノイズ除去のために、空間フィルタとして中央値フィルタおよび重み付け平均フィルタを用いた。時間軸フィルタとしてウェーブレット・フィルタと中央値フィルタを用いた。

C-3. 摘出心臓標本での評価

モーション・トラッキングと蛍光比計算によって、光学的膜電位記録波形は微小ガラス電極法による膜電位記録波形とよく一致した(図 C-3A)。

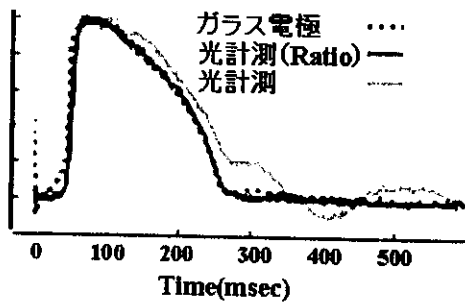


図 C-3A 光学的記録法による膜電位波形と微小ガラス電極法による膜電位波形の比較。点線：微小ガラス電極による記録波形。実線(黒)：モーション・トラッキング後に比計算を適応した光学的記録波形。実線(灰色)：モーション・トラッキング後の光学的記録波形。

拍動心においても、心臓の広い範囲で光学的膜電位計測が可能であったが、心臓の辺縁ではノイズの混入が大きかった(図 C-3B)。

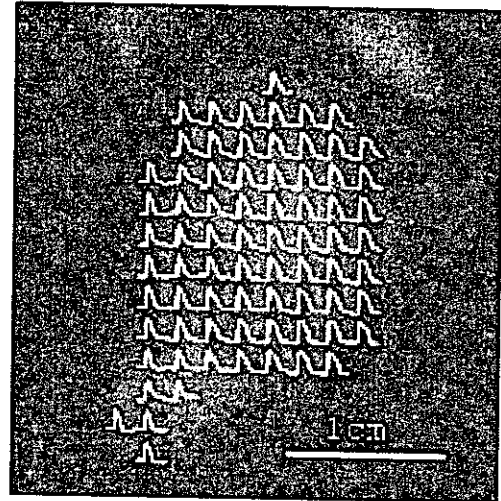


図 C-3B ウサギのランゲンドルフ灌流心における光学的膜電位マッピング。

微小ガラス電極法によって記録された膜電位波形から計測した 50%再分極までの活動電位持続時間 (APD_{50}) と、微小ガラス電極の周囲で記録された光学的膜電位波形から計測した APD_{50} は非常によく一致した(図 C-3C)。

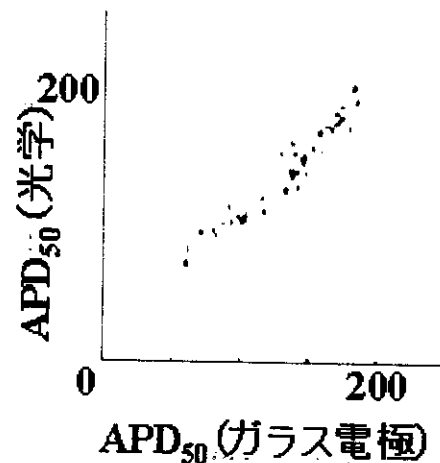


図 C-3C ガラス電極法によって記録した膜電位波形から計測した活動電位持続時間と光学的記録法によって記録した膜電位波形から計測した活動電位持続時間の比較。

D. 考察

心筋の電気生理学的性質の空間的分布は、疾病によって変化するのみならず、自律神経活動や電解質・ホルモンなど多くの因子の影

響を受ける。また、一般に mechano-electrical feedback といわれる機序を介して、心筋にかかる機械的負荷は心筋の電気生理学的特性に影響を及ぼすことも知られている。特に、致死性不整脈を発生する患者では基礎心疾患として虚血性心疾患（心筋梗塞）や心不全を持つものが多く、これらの病態では心筋に対する機械的負荷が心臓各部で上昇していることから、機械的負荷が心臓の電気生理学的特性に及ぼす影響は重要と考えられる。

光学的膜電位計測法によって活動電位マッピングの空間分解能は飛躍的に向上したが、これまでの方法では心筋の収縮を抑制した状態で記録しなければならず、機械的負荷が病態に及ぼす影響を解析することはできなかった。本年度の研究で開発したシステムによって、拍動心での光学的膜電位マッピングが初めて可能になった。今後、本法を用いてより実際の病態に近い状態で致死性不整脈の発生につながる活動電位の空間分布を解析し、ペーシングによって異常な空間分布を補正することによって致死性不整脈の発生を予防したり致死性不整脈を停止させる手法を開発する。

E. 結論

2 波長同時記録法によって、拍動心での記録が可能な光学的心筋活動電位マッピングシステムを開発した。微小ガラス電極法による記録と比較することによってシステムの評価を行い、十分な精度を持つことを確認した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

G-1. 論文

1. Muscle mechanoreflex induces the pressor response by resetting the arterial baroreflex neural arc. Yamamoto K, Kawada T, Kamiya A, Takaki H, Miyamoto T, Sugimachi M,

Sunagawa K. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2003 (in press).

2. Biphasic response of action potential duration to sudden sympathetic stimulation in anesthetized cats. Tatewaki T, Inagaki M, Kawada T, Shishido T, Yanagiya Y, Takaki H, Sato T, Sugimachi M, Sunagawa K. Circ J, 67: 876-880, 2003.
3. Reduced oxygen uptake increase to work rate increment (Delta/DeltaWR) is predictable by response to constant work rate exercise in patients with chronic heart failure. Toyofuku M, Takaki H, Sugimachi M, Kawada T, Goto Y, Sunagawa K. Eur J Appl Physiol, 90: 76-82, 2003.
4. Bezold-Jarisch reflex attenuates dynamic gain of baroreflex neural arc. Kashihara K, Kawada T, Yanagiya Y, Uemura K, Inagaki M, Takaki H, Sugimachi M, Sunagawa K. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 285: H833-H840, 2003.
5. Attenuation of hypercapnic carbon dioxide chemosensitivity after postinfarction exercise training: possible contribution to the improvement in exercise hyperventilation. Tomita T, Takaki H, Hara Y, Sakamaki F, Satoh T, Takagi S, Yasumura Y, Aihara N, Goto Y, Sunagawa K. Heart, 89: 404-410, 2003.
6. High plasma norepinephrine attenuates the dynamic heart rate response to vagal stimulation. Miyamoto T, Kawada T, Takaki H, Inagaki M, Yanagiya Y, Jin Y, Sugimachi M, Sunagawa K. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 284: H2412-H2418, 2003.
7. Epinephrine unmasks latent mutation carriers with LQT1 form of congenital long-QT syndrome. Shimizu W, Noda T,

Takaki H, Kurita T, Nagaya N, Satomi K, Suyama K, Aihara N, Kamakura S, Sunagawa K, Echigo S, Nakamura K, Ohe T, Towbin JA, Napolitano C, Priori SG. *J Am Coll Cardiol*, 41: 633-642, 2003.

8. Patients with large myocardial infarction gain a greater improvement in exercise capacity after exercise training than those with small to medium infarction. Sakuragi S, Takagi S, Suzuki S, Sakamaki F, Takaki H, Aihara N, Yasumura Y, Goto Y. *Clin Cardiol*, 26: 280-286, 2003.
9. Exercise training without ventricular remodeling in patients with moderate to severe left ventricular dysfunction early after acute myocardial infarction. Otsuka Y, Takaki H, Okano Y, Satoh T, Aihara N, Matsumoto T, Yasumura Y, Morii I, Goto Y. *Int J Cardiol*, 87: 237-244, 2003.

G-2. 学会発表

1. Oxygen uptake kinetics faithfully reflect the presence and extent of left-ventricular dysfunction in dilated cardiomyopathy patients with preserved functional capacity. Asada K, Takaki H, Ino Y, Sunagawa K. Scientific Sessions of The European Society of Cardiology. World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering (2003.8.24-29)
2. Combined analysis of VE/CO₂ slope and slow periodic oxygen uptake oscillations accurately predicts future cardiac events in patients with dilated cardiomyopathy. Takaki H, Ino Y, Goto Y, Sunagawa K. Scientific Sessions of The European Society of Cardiology (2003.8.30-9.4)
3. Changes in oxygen uptake oscillations after 3-month concurrent in patients

with heart failure. Yamamoto H, Takaki H, Suzuki S, Nagaya N, Yasumura Y, Aihara N, Goto Y, Sunagawa K. Scientific Sessions of The European Society of Cardiology (2003.8.30-9.4)

4. High-resolution analysis for exercise-induced negative U-wave is highly sensitive for localization of left-anterior-descending coronary artery ischaemia especially in patients with single-vessel disease. Hirose E, Takaki H, Satomi K, Shimizu W, Kurita T, Suyama K, Sugimachi M, Sunagawa K. Scientific Sessions of The European Society of Cardiology (2003.8.30-9.4)
5. Post-exercise ST-slope analysis accurately identifies false-positive ST responses even in subjects with resting ST depression. Asada K, Takaki H, Shimizu W, Suyama K, Kurita T, Kawada T, Sugimachi M, Sunagawa K. Scientific Sessions of The European Society of Cardiology (2003.8.30-9.4)
6. High-resolution analysis for exercise-induced negative U-wave in the recovery identifies the presence of anterior ischaemia even in patients with false-negative ST responses. Hirose E, Takaki H, Satomi K, Shimizu W, Kurita T, Suyama K, Sugimachi M, Sunagawa K. Scientific Sessions of The European Society of Cardiology (2003.8.30-9.4)
7. Homogeneous Sodium Channel Dysfunction Accentuates Repolarization Abnormalities in the Right Ventricular Outflow Tract in Brugada Syndrome. Yokokawa M, Shimizu W, Takaki H, Noda T, Nakagawa E, Otomo K, Sutama K, Kurita T, Kamakura S. Scientific Sessions 2003 (2003.11.9-12)

8. Combined Analysis of VE/VCO₂ Slope and Slow periodic VO₂ Oscillations Accurately Predicts Future Cardiac Events in Patients with Dilated Cardiomyopathy (DCM). Takaki H, Ino Y. Scientific Sessions 2003 (2003.11.9-12)
9. Post-Exercise ST Slope Analysis Accurately Identifies False-Positive ST Responses Even in Subjects with Resting ST Depression. Asada K, Takaki H, Satomi K, Shimizu W, Kurita T,utama K. Scientific Sessions 2003 (2003.11.9-12)
10. High-Resolution Analysis for Exercise-Induced Negative U-Wave in the Recovery Identifies the Presence of Anterior Ischemia Even in Patients with False-Negative ST Responses. Hirose E, Takaki H, Satomi K, Shimizu W, Kurita T,utama K. Scientific Sessions 2003 (2003.11.9-12)
11. Muscle Mechanoreflex Induces a Parallel Upward-Shift of the Arterial Pressure-Sympathetic Nerve Activity (SNA) Relation. Yamamoto K, Kawada T, Kamiya A, Takaki H, Miyamoto T, Sugimachi M, Sunagawa K. The 68th Japanese Circulation Society general meetings and a scientific meeting (2004.3.27-29)
12. Muscle Mechanoreflex Induces the Pressor Response by Resetting the Arterial Baroreflex Neural Arc. Yamamoto K, Kawada T, Kamiya A, Takaki H, Miyamoto T, Sugimachi M, Sunagawa K. The 68th Japanese Circulation Society general meetings and a scientific meeting (2004.3.27-29)
13. High-resolution analysis for exercise-induced negative U-wave is highly sensitive for localization of LAD ischemia especially in patients with single-vessel disease. Hirose E, Takaki H, Satomi K, Shimizu W, Kurita T,utama K, Sugimachi M, Sunagawa K. The 68th Japanese Circulation Society general meetings and a scientific meeting (2004.3.27-29)
14. Is left ventricular (LV) dysfunction an essential prerequisite for the genesis of slow VO₂ oscillations during exercise? Yamamoto H, Takaki H, Ohya H, Noguchi T, Yokoya T, Ozaki M, Nishi I, Inagawa Y, Tsutsumi Y, Goto Y, Sunagawa K. The 68th Japanese Circulation Society general meetings and a scientific meeting (2004.3.27-29)
15. Prediction of Symptomatic Hypotension after Maximal Exercise Using a Post-exercise Rapid, Excessive HR Decrease. Ohnishi E, Takaki H, Satomi K, Shimizu W,utama K, Kurita T, Kamakura S, Sunagawa K. The 68th Japanese Circulation Society general meetings and a scientific meeting (2004.3.27-29)
16. Sympatho-Vagal Interaction via the α -Adrenergic Mechanism Is Negligible in Dynamic Vagal Control of Heart Rate *in Vivo*. Miyamoto T, Kawada T, Yanagiya Y, Inagaki M, Takaki H, Sugimachi M, Sunagawa K. The 68th Japanese Circulation Society general meetings and a scientific meeting (2004.3.27-29)
17. Slow VO₂ oscillations during exercise is attenuated immediately after PTMC even when peak VO₂ insignificantly increased. Yamamoto H, Takaki H, Ohya H, Noguchi T, Yokoya T, Ozaki M, Nishi I, Inagawa Y, Tsutsumi Y, Goto Y, Sunagawa K. The 68th Japanese Circulation Society general meetings and a scientific meeting (2004.3.27-29)
18. Exercise-induced ST-segment elevation indicates severe ventricular dysfunction and predicts future cardiac

- events in dilated cardiomyopathy. Takahama H, Takaki H, Ohya H, Noguchi T, Yokoya T, Ozaki M, Nishi I, Inagawa Y, Tsutsumi Y, Goto Y, Sunagawa K. The 68th Japanese Circulation Society general meetings and a scientific meeting (2004.3.27-29)
19. Incidence of Symptomatic Hypotension after Strenuous Exercise Is Reduced after Exercise Training in Patients with Acute Myocardial Infarction. Ohnishi E, Takaki H, Tsutsumi Y, Ohya H, Aihara N, Yasumura Y, Goto Y, Sunagawa K. The 68th Japanese Circulation Society general meetings and a scientific meeting (2004.3.27-29)
20. Spontaneous breath-by-breath variations (fast but random) in exercise VO₂ are reduced in patients with chronic heart failure. Sasaki H, Takaki H, Noguchi T, Yokoya T, Ozaki M, Nishi I, Inagawa Y, Tsutsumi Y, Ohya H, Goto Y, Sunagawa K. The 68th Japanese Circulation Society general meetings and a scientific meeting (2004.3.27-29)

G-3.新聞報道

なし

H.知的所有権の取得状況

なし