

の事実が存在するからである。上記のようなこれまでの経緯を踏まえて、致死性不整脈における治療戦略については現在下記の2つに限られる。すなわち、エビデンスに基づいて使用可能なIII群の抗不整脈薬と植え込み除細動器のみである。不整脈死はポンプ機能低下と異なり心機能が著明に低下していない場合においても起こり、またその発症予測および危険予測についても現在のところ非常に困難である。またIII群抗不整脈薬と比較し、すでに植え込み型除細動器においてその不整脈死減少効果が勝っていることが大規模臨床試験によって証明されていることから、その発症メカニズムの解明以前に少なくとも植え込み型除細動器で十分という印象も少なからず存在することは否めないのが現状である。しかし、不整脈死に対する治療戦略という観点から見ると、植え込み型除細動器のみでは不整脈死の直接的な原因への治療的介入を行っているわけではないという根本的な問題と、致死性不整脈の発生を予防することは不可能であるという問題をクリアできないのが現状である。すなわち、新たな治療戦略的視点が不可欠であると考えられる。

### A-3. 新たな致死性不整脈に対する予防戦略の根拠

抗不整脈薬を使用せずにかつ致死性不整脈を予防するという観点、しかも出来る限り内在性の本来生体に備わっているものを利用する形での予防的治療戦略を考える観点から、

我々は交感神経系のカウンターパートである副交感神経系に着目すに至った。その根拠としては以下の通りである。1) 不整脈の発生における交感神経系の亢進の役割は、その活動電位時間への影響および細胞内カルシウム濃度への影響から明らかである。2) 交感神経系の亢進は、その心不全の進行において心筋細胞に対してカルシウム負荷などにより、アポトーシスなどの細胞障害作用を惹起し、心筋細胞数の減少と繊維化領域への置換により、リエントリー誘発のための環境形成を容易にする。3) 交感神経系に対して拮抗作用を持ち、この作用を抑制させよう的手段としては、これまでβブロッカーによる受容体レベルでの作用遮断が行われてきていた。4) さらにもう一つの方法論としては副交感神経系すなわち迷走神経に対する直接的介入が、心臓の場合可能である。これまで冠動脈疾患における自律神経系の役割は従来交感神経の心臓刺激作用による相対的心臓虚血と期外収縮の増加が重視され、それに基づく治療戦略がなされてきた。しかも心臓における迷走神経と交感神経の作用は両者のバランスのみで決定されるという概念が支配的であったがために、冠動脈疾患における副交感神経系である迷走神経の役割は、最近まであまり注目はされてこなかった。

### A-4. 迷走神経刺激がもたらす効果

そこで我々は、新たな致死性不整脈に対する予防的治療戦略の一つに、迷走神経の直接刺激がなりうるという仮説のもとにこれまで研究を行ってきた。その中で明らかになってきたことは以下の通りである。1) 迷走神経刺激は、心筋梗塞後におこりうる致死性不整脈

(心室頻拍、心室細動)の発症を、心筋梗塞直後の急性期および心筋梗塞後14日目以降の慢性期のいずれにおいても著しく抑制する。すなわち迷走神経による抗不整脈作用は、心筋梗塞の発症時期に関わらず、その効果が認められた。2) 迷走神経刺激の効果は、抗不整脈作用のみに限らず、その作用はムスカリニック受容体を介した情報伝達系の中で心筋細胞保護作用を持ちうるカスケードを活性化させることが明らかとなった。これから下記において、本研究によって明らかとなった迷走神経刺激作用の持つ心臓に対する新たな作用効果について言及する。

## B. 研究方法

### B-1. 迷走神経刺激による心臓への作用効果に関する研究 (gap junction 構成タンパクリン酸化を介する抗不整脈作用に関する研究)

心不全患者の死因の40~50%は突然死であり、そのほとんどが心室頻拍や心室細動などの致死性不整脈が原因となる。また、心不全では生体の調節系のバランスが崩れ、交感神経活動の亢進と迷走神経活動の低下が起これ、病態の持続・悪化の悪循環に陥ると考えられている。近年、Liら<sup>1)</sup>は慢性心不全動物を用いて、迷走神経刺激が心不全動物の相対的死亡率を大幅に改善し、心臓リモデリングの抑制作用を示すことを報告した。この効果は、これまでの心不全動物を用いた薬物療法による治療効果を大きく上回るもので、臨床応用への期待が高まりつつある。しかしながらその作用機序は未だ不明であり、迷走神経刺激療法の有効性・安全性を検討する上で、実際に生体内で迷走神経刺激により調節される標的

となる分子を同定することが必要である。またこうした標的分子を明らかにすることによって、その発現を指標にした刺激条件の最適化などが容易になり、ヒトへの臨床応用に向けた重要なステップになるものと考えられる。

そこで我々は、この迷走神経刺激療法の死亡率の劇的改善効果の1つとしてその抗不整脈作用に着目し、その作用機序を明らかにすることを試みた。心筋虚血時の不整脈発生の原因としては、カリウムチャンネルをはじめとした心筋の電気活動を担う様々な膜輸送タンパク質の関与が示唆されており、これら膜輸送分子の機能不全によってリエントリー性の心室性頻拍が誘発されると考えられている。これら標的分子の候補の中で、近年の遺伝子ターゲティング法をもちいた一連の研究成果<sup>2-4)</sup>から、心室に大量に発現しているギャップ結合タンパク質ファミリーの1つであるコネキシン43の機能障害が致死性不整脈の発生機序に深くかかわっていることが明らかになりつつある。本研究ではこの細胞-細胞間コミュニケーション装置であるギャップ結合タンパク質が迷走神経刺激療法における標的分子の候補のひとつとして重要な働きをしていると考えた。ギャップ結合を構成するヘミチャンネルはその構成要素であるコネキシン分子の6量体からなり、心臓においては、となりあう心筋細胞同士を繋ぎ、それぞれの細胞内のおよそ1000 Da以下の分子はすべて通す非選択性チャンネルの様相を呈する。心室筋ではおもにコネキシン43が大量に発現しており、心室縦方向の興奮の電気伝導性および細胞-細胞間の液性因子の情報伝達を担う。そこで

急性心筋虚血により誘発される不整脈の発生頻度にあたる迷走神経刺激の影響を検討するとともに、迷走神経刺激がコネクシン43の発現調節を実際におこなっているのか否かを調べた。

### B-1-1. 急性心筋虚血モデルの作成および迷走神経刺激の条件設定

ラットの左冠状動脈起始部の結紮により、急性心筋虚血 (MI) 動物を作製した。実験群を虚血-偽刺激群 (MI-SS)、虚血-刺激群 (MI-VS)、偽手術-偽刺激群 (SO-SS) に分けた。右迷走神経刺激はその中枢側を切断し求心性成分の影響を除外、刺激強度は心拍数が10%低下する程度に調整した。

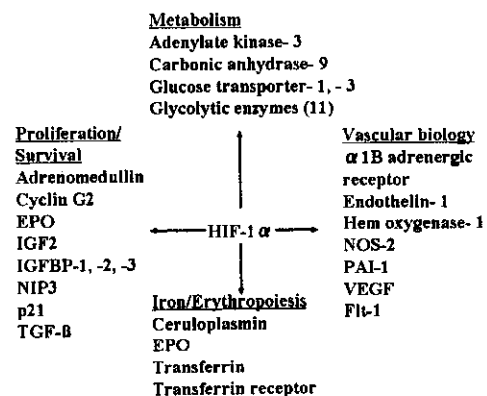
### B-1-2. コネクシン43の発現とその局在の解析

心筋梗塞作成後、心室性の頻脈性不整脈 (VT+VF) の発生率を調べ、30分後に心室筋のサンプリングを行いウエスタンブロットおよび免疫組織化学法によりリン酸化コネクシン43の発現とその局在を検討した。

### B-2. 迷走神経刺激による心臓への作用効果に関する研究 (PI3Kを介した心筋細胞保護作用に関する研究)

心不全の病態における主要要因として考えられている交感神経系の亢進は、細胞死を誘導することがこれまでに報告されてきた。その原因には細胞内カルシウム負荷による種々の細胞死誘導タンパクの活性化などがあげられる。しかし一方でこれを解除させるシステムが、本来の心筋細胞において保持されているか否かについてはこれまで報告がなかった。

もしそのようなシステムが備わっているとすれば、その内在性システムを活性化させることで、心筋細胞に対するストレス耐性を高め、その細胞死抑制効果が期待できる。心筋細胞におけるストレス耐性についてはさまざまな標的分子が考えられるが、我々はその中でも虚血性心疾患に代表されるような低酸素刺激に対する代償機構として広く知られている低酸素誘導型転写因子 hypoxia-inducible factor (HIF)-1 $\alpha$ について着目した。すなわち、副交感神経系の神経伝達物質であるアセチルコリンが、心筋細胞において HIF-1 $\alpha$ を介して細胞障害性ストレスを回避できるか否かを検討した。HIF-1 $\alpha$ は bHLH-PAS ドメインを持つ転写因子であり、このファミリーに属する転写因子の多くは細胞の分化決定にかかわるきわめて重要な因子であることが知られている。その中でもこの HIF-1 $\alpha$ は、血管新生や解糖系酵素の誘導における中心的役割を果たしている<sup>5</sup>。図Bは HIF-1 $\alpha$ によって、その転写調節が行われている一群の標的遺伝子が示されている。



図B HIF-1 $\alpha$ が調節する遺伝子群

すなわち HIF-1 $\alpha$ は、細胞における低酸素暴露によって引き起こされる細胞死から回避する

ためのシステムの中心的役割を担っていると考えられる。さらに HIF-1 $\alpha$  は細胞保護作用に関係する、各種増殖・成長因子の発現調節にも深く関わっている。したがって、この因子がなんらかの機序によって誘導されるということは、少なくとも細胞に対する情報伝達メッセージとしては、細胞障害性というよりはむしろ細胞保護作用に働くことが知られている。さて HIF-1 $\alpha$  の調節機構についてであるが、従来このタンパクは転写調節というよりはむしろユビキチンリガーゼである von Hippel Lindau (VHL) タンパクによる翻訳後調節によって行われていることが報告されてきた。すなわち低酸素刺激により、VHL による HIF-1 $\alpha$  のタンパク分解抑制が生じ HIF-1 $\alpha$  の安定性が増加し、それによる低酸素応答が生じるというメカニズムである。しかし近年になって低酸素経路を介さない非低酸素経路による HIF-1 $\alpha$  の安定化が見出されてきた<sup>6</sup>。

#### B-2-1. ラット心筋細胞における HIF-1 $\alpha$ の作用

ラット心筋細胞初代培養系およびそれ由来のラット心筋セルラインである H9c2 細胞を用いて、アセチルコリン (ACh) による HIF-1 $\alpha$  の発現を検討した。

#### B-2-2. ラット心筋細胞における HIF-1 $\alpha$ 発現とその情報伝達系

ラット心筋細胞における HIF-1 $\alpha$  の情報伝達経路を調べるために ACh による刺激に対する wortmanin の効果を調べた。

#### B-2-3. ACh によるミトコンドリア膜電位に対する効果

ACh によるミトコンドリア膜電位に対する影響を、膜電位色素により検討した。

#### B-3. 迷走神経刺激による心臓への作用効果に関する研究 (炎症調節因子に対する迷走神経の作用に関する研究)

自律神経系制御の破綻は、心筋梗塞における致死性不整脈の発生に大きく関係している<sup>7,8</sup>。特に最近の報告では心筋梗塞後慢性期において迷走神経刺激がその生存率を上昇させることが明らかにされた<sup>9</sup>。さらに他の報告によれば、迷走神経刺激がマクロファージにおける TNF- $\alpha$  産生の抑制を介して抗炎症作用を持つことが明らかとなった<sup>10</sup>。そこで我々は急性期における心筋梗塞における迷走神経刺激の、炎症系調節因子である TNF- $\alpha$  や iNOS に対する効果を調べるために以下の研究を行った。ラットを 1) コントロール (非心筋梗塞) 群、2) 30 分の左冠動脈結紮による心筋梗塞群、3) 心筋梗塞かつ迷走神経刺激群、4) 迷走神経刺激のみ行ったコントロール (非心筋梗塞) 群の 4 群に分け、心臓における RT-PCR を行った。

#### C. 研究結果

##### C-1. 迷走神経刺激による心臓への作用効果に関する研究 (gap junction 構成タンパクリン酸化を介する抗不整脈作用に関する研究)

C-1-1. 急性心筋虚血により誘発される心室性不整脈の発生と迷走神経刺激によるその予防効果についての検討

図 C-1 に示されているとおり、MI-SS 群（非刺激群）では約 70%の動物で心室性頻拍が発生しているのに対して、MI-VS 群（刺激群）では約 10%の動物のみ心室性頻拍が発生するにとどまっております。迷走神経刺激の抗不整脈作用が確認できた。あらかじめアトロピン投与をおこなうと、この抗不整脈作用は消失した。

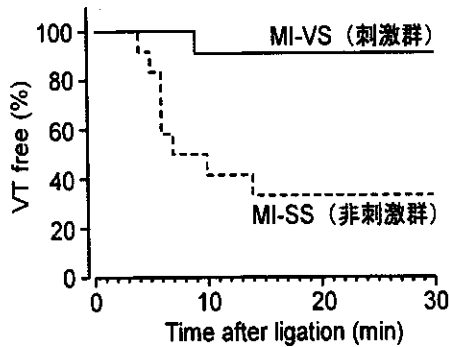


図 C-1. 冠状動脈結紮後の心室性頻拍の発生頻度

### C-1-2. 急性心筋虚血によるギャップ結合タンパク質コネキシン 43 の発現低下と迷走神経刺激によるコネキシン 43 の発現調節の可能性についての検討

図 C-2 に示されているとおり、MI-SS 群（非刺激群）では S0-SS 群（コントロール群）に比べてリン酸化コネキシン 43 の発現量が減少しているのに対して、MI-VS 群（刺激群）ではその発現量が S0-SS 群のレベルまで回復していることがわかった

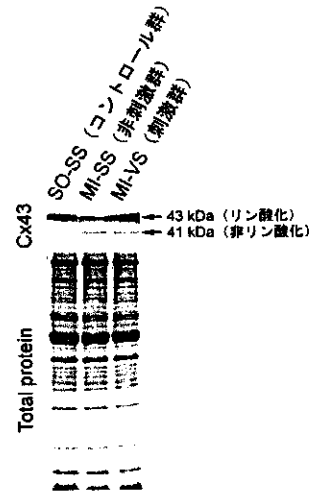


図 C-2. コネキシン 43 の発現と迷走神経刺激の関係

迷走神経刺激によりリン酸化コネキシン 43 の発現量が調節されていることが示唆された。

### C-1-3. 迷走神経刺激による心筋虚血時におけるギャップ結合タンパク質コネキシン 43 の局在の変化についての検討

免疫組織化学法によりその局在を検討したところ（図 C-3）、MI-SS 群（非刺激群）では、虚血部位に限局してコネキシン 43 の陽性シグナルが減弱しているのに対して、MI-VS 群（刺激群）では S0-SS 群（コントロール群）と同様に介在板に局在して陽性シグナルが観察された。



図 C-3. コネキシン43の局在と迷走神経刺激の関係

## C-2. 迷走神経刺激による心臓への作用効果に関する研究 (PI3K を介した心筋細胞保護作用に関する研究)

### C-2-1. ラット心筋細胞における HIF-1 $\alpha$

ラット心筋細胞初代培養系およびそれ由来のラット心筋セルラインであるH9c2細胞を用いて、HIF-1 $\alpha$ の非低酸素経路による誘導が認められるか否かを検討したところ、低酸素刺激非存在下においてもアセチルコリン (ACh) により転写調節に依存しない HIF-1 $\alpha$  のタンパク発現が認められた (図 C-4)。

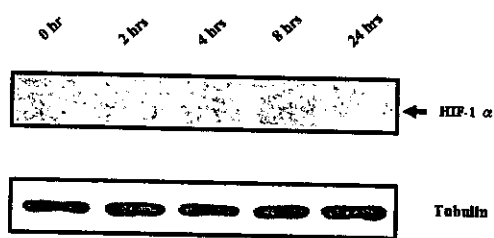


図 C-4 心筋細胞において ACh は HIF-1 $\alpha$  を誘導する

## ラット心筋細胞における HIF-1 $\alpha$ 発現とその情報伝達系

ラット心筋細胞における HIF-1 $\alpha$  のタンパク発現の情報伝達経路を調べるために ACh による刺激に対して wartmanin の効果を調べたところ、HIF-1 $\alpha$  の誘導が抑制された。また ACh により Akt リン酸化が起こり、同様に wartmanin によって抑制された。この情報伝達経路は、ACh 受容体のうちムスカリニック受容体遮断薬であるアトロピンで抑制された (図 C-5)。

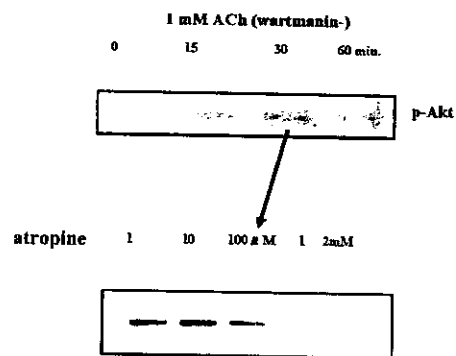


図 C-5 ACh は Akt のリン酸化をおこす

## ACh によるミトコンドリア膜電位に対する効果

ACh によるミトコンドリア膜電位に対する効果を調べるために、塩化コバルトによる低酸素刺激を行ったところ、ACh 前処理によりその膜電位低下作用は一部抑制され、ミトコンドリア機能の低下を抑制した (図 C-6)。

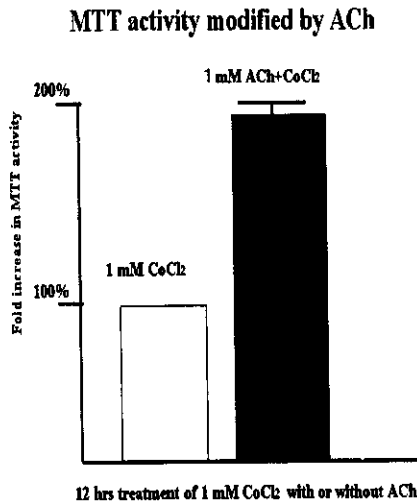
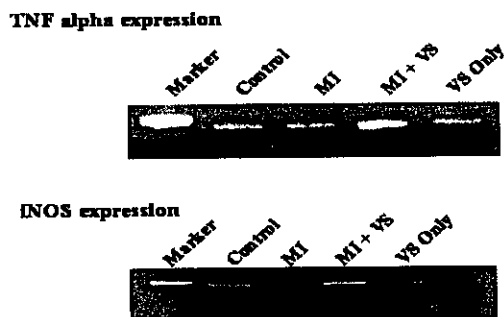


図 C-6 心筋細胞において ACh はミトコンドリア機能を保護する

### C-3. 迷走神経刺激による心臓への作用効果に関する研究 (炎症調節因子に対する迷走神経の作用に関する研究)

心筋梗塞かつ迷走神経刺激群においてのみ TNF- $\alpha$  mRNA の発現の上昇が認められた。一方心筋梗塞群では TNF- $\alpha$  mRNA の発現は増加しなかった。TNF- $\alpha$  と同様、iNOS mRNA の発現についても心筋梗塞かつ迷走神経刺激群においてのみ認められ、他群では認められなかった。



図C-8 迷走神経はTNF $\alpha$ とiNOSの発現を亢進する

## D. 考察

### D-1. gap junction 構成タンパクリン酸化を介する抗不整脈作用に関する研究

これまで迷走神経刺激による抗不整脈作用機序は不明であった。今回の結果から、急性心筋虚血による高い心室性不整脈の発生率と心室に大量に発現しているギャップ結合タンパク質ファミリー1つであるコネキシン43のリン酸化アイソフォームの減少が連動していること、迷走神経刺激によりこのリン酸化コネキシン43の減少が抑制されることがわかった。これらのことは、心筋虚血時に迷走神経刺激をおこなうと心室筋においてギャップ結合の機能が保たれ、介在板を通過する縦方向の電気的な伝導性が正常時に近い状態で維持されていることを意味する。コネキシン43のヘテロノックアウトマウス (Cx43<sup>-/-</sup>/Cx43<sup>-/-</sup>) を用いた研究<sup>2</sup>によると、このマウスに心筋梗塞を作成すると野生型に比べて心室性頻拍の発生率が3倍増に加すること、コンディショナルノックアウトマウス (Cx43<sup>-/-</sup>/Cx43<sup>-/-</sup>) を用いた研究<sup>3,4</sup>では、電気活動の伝導速度が有意に低下するとの報告がある。以上のことから、不整脈の発生とリン酸化コネキシン43の発現量とが極めて密接に関連していることが示唆され、少なくとも急性期の心筋虚血時には、迷走神経刺激はコネキシン43の正常機能の維持に役立ち、心室における縦方向の興奮の伝導を保ちつつリエントリー性の心室性不整脈の発生を予防している可能性が考えられた。今後は、心筋細胞の初代培養系を用いた実験により迷走神経刺激からコネキシン43への細胞内シグナル伝達系を明らかにするとともに、迷走神経刺激条件の最適化およびその長期刺激の生体への影響などコネキシン43を含めた機能分子の発現を指標にした解析が必要である。

## D-2. PI3K を介した心筋細胞保護作用に関する研究

以上の結果より迷走神経刺激による心臓への作用は、1) マクロ的には期外収縮や心室頻拍の抑制による抗不整脈作用、ミクロ的にはその効果はコネクシン43のリン酸化保持による電気的カップリングの維持、2) それに加えて細胞生物学的意義としては、細胞生存シグナル活性化によるミトコンドリア機能保持、さらには心筋細胞保護作用を持つことが、本研究によって明らかとなった。これまで迷走神経による心臓への作用、特に心筋細胞レベルでの直接効果についての研究は少なかったが、本研究によりその直接的作用が見出されしかも細胞生存シグナルの活性化という結果が得られた。このことは、少なくとも迷走神経刺激による心臓への作用について言及する場合、古典的な心拍数の減少効果、心収縮力低下作用による心筋酸素消費量の減少効果などのこれまでの報告に加え、新たに細胞レベルにおいて心筋細胞の電気的カップリング作用の促進つまり電気的安定性と心筋細胞そのものの保護効果という、より積極的意義が存在するということが明らかとなった。

## D-3. 炎症調節因子に対する迷走神経の作用

TNF- $\alpha$ についてはその生物学的作用について、細胞死誘導や炎症反応惹起作用など多くの報告があるが、しかしその一方で TNF- $\alpha$ は、その受容体欠損マウスの解析などから、抗細胞死作用をもつことが示唆されている<sup>8</sup>。さらに iNOS の誘導は心筋梗塞による細胞死を抑制することも報告されている<sup>9</sup>。すなわち本研究

における迷走神経刺激による TNF- $\alpha$  および iNOS mRNA 発現上昇作用はいずれにおいても、急性期の心筋梗塞に対して保護的作用を持ちうることを示唆している。今後この迷走神経刺激が NF- $\kappa$ B を介して *in vivo* においても心臓全体においてカスパーゼの活性化を抑制しうるか否かを検討する予定である。

## E. 結論

- 1) 急性心筋虚血により誘発される心室性頻拍の発生率とリン酸化コネクシン43の発現量が相関し、迷走神経刺激によってリン酸化コネクシン43の減少が抑制されることが判明した。
- 2) 迷走神経伝達物質である ACh は、細胞生存シグナルを活性化し HIF-1 $\alpha$  を介して細胞保護作用を持つことが判明した。
- 3) 迷走神経刺激により心臓での保護作用をもつことが示唆される TNF- $\alpha$ ・iNOS 系の遺伝子発現が上昇した。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### G-1. 著書

1. 佐藤隆幸. 起立性低血圧の機序と治療. 「Annual Review 神経 2004」(柳澤信夫、篠原幸人、岩田 誠、清水輝夫、寺本 明編) XV. 自律神経疾患、p301-306、中外医学社、2004
2. Sato T, Diedrich A, Sunagawa K. Bionic Baroreflex in PRIMER ON THE AUTONOMIC NERVOUS SYSTEM Second Edition. edited by Robertson D et al. Elsevier Science (USA), in press, 2003



3. 佐藤隆幸. 橈骨動脈と大動脈の脳波の比較－伝達関数の意義. 「脈をどう診るか－新しい脈波の臨床応用」(臨床動脈波研究会 小澤利男, 増田善昭, 山科章編) p48-p55, メジカビル社, 2003

## G-2. 論文

1. Zhang D, Ando M, Yamasaki F, Sato T. Carotid-sinus baroreflex modulation of core and skin temperatures in rats: an open-loop approach. *Jpn J Physiol* 56: in press, 2004
2. Zhang D, Ando, Yamasaki F, Sato T. Neural reflex hypotension induced by very small dose of hypertonic NaCl solution in anesthetized rats. *Jpn J Physiol* 56: in press, 2004
3. Li M, Zheng C, Sato T, Kawada T, Sugimachi M, Sunagawa K. Vagal nerve stimulation markedly improves long-term survival after chronic heart failure in rats. *Circulation* 109: 120-124, 2004
4. Tatewaki T, Inagaki M, Kawada T, Shishido T, Yanagiya Y, Takaki H, Sato T, Sugimachi M, Sunagawa K. Biphasic response of action potential duration to sudden sympathetic stimulation in anesthetized cats. *Circ J* 67: 876-880, 2003
5. Sato T, Kawada T, Sugimachi M, Sunagawa K. Dynamics of sympathetic baroreflex control of arterial pressure in rats. *Am J Physiol* 285: R262-R270, 2003

## G-3. 学会発表

1. Furuno T, Yamasaki F, Zhang D, Zhang Y, Sato K, Sato T, Sugiura T, Doi Y. Effects of various doses of aspirin on platelet activity and endothelial function. 第 68 回日本循環

器学会総会・学術集会, 2004

2. Sato K, Yamasaki F, Ando M, Kitaoka H, Takata J, Sugiura T, Sato T, Doi Y. Opposite response of core temperature(Tcore) and blunted response of forearm skin temperature(Tskin) to bicycle ergometer exercise in chronic heart failure(CHF). 第 68 回日本循環器学会総会・学術集会, 2004
3. Kakinuma Y, Zhang Y, Sugiura T, Sato T. Functional analysis of hypoxia inducible factor-1a dependent anti stress gene. 第 68 回日本循環器学会総会・学術集会, 2004
4. Zheng C, Li M, Kawada T, Sato T, Sunagawa K. Splanchnic nerves are essential efferent in the chronic baroreflex control of arterial pressure. 第 68 回日本循環器学会総会・学術集会, 2004
5. Li M, Zheng C, Inagaki M, Kawada T, Sugimachi M, Sato T, Sunagawa K. Abdominal vagal nerve activation does not account for the beneficial effects of vagal stimulation on mortality of myocardial infarction. 第 68 回日本循環器学会総会・学術集会, 2004
6. Li M, Zheng C, Kawada T, Inagaki M, Sugimachi M, Sato T, Sunagawa K. Chronic vagal stimulation exerts its beneficial effects on the failing heart through a non-adrenergic mechanism. 第 68 回日本循環器学会総会・学術集会, 2004
7. Yamasaki F, Ushida T, Yokoyama T, Yamashita K, Sato K, Ando M, Doi Y, Sugiura T, Sato T. Clinical application of bionic baroreflex system (BBS) for automatic control of arterial pressure (AP). 第 68 回日本循環器学会総会・学術集会, 2004

8. Yamasaki F, Sato K, Ando M, Doi Y, Sugiura T, Sato T. Different roles of vagal and sympathetic systems in heart rate control for stabilizing arterial pressure (AP) against orthostatic stress. 第 68 回日本循環器学会 総会・学術集会, 2004
9. Zhang Y, Kakinuma Y, Ando M, Sugiura T, Sato T. Identification of acetylcholine that induce phosphorylation of CX43 in H9c2 cells. 第 68 回日本循環器学会総会・学術集会, 2004
10. 柿沼由彦, 張 亜南, 三浦正幸, 佐藤隆幸. Hypoxia inducible factor (HIF)-1 関連抗ストレス蛋白の機能解析. 第 8 回臨床ストレス蛋白質研究会, 2003
11. Kakinuma Y, Zhang Y, Ando M, Sato T. The effect of electrical modification of cardiomyocytes on transcriptional activity through 5'AMP-activated protein kinase. Eighth International Conference on Endothelin, Tsukuba, Japan, 2003
12. Li M, Zheng C, Kawada T, Sato T, Sunagawa K Short-term vagal nerve stimulation markedly improves long-term survival of rats with chronic heart failure . American Heart Association, Orlando, USA, Circulation 108(Supple IV): 95, 2003
13. Li M, Zheng C, Sato T, Sunagawa K. Chronic vagal stimulation prevents ventricular remodeling in rats after myocardial infarction. American Heart Association, Orlando, USA, Circulation 108(Supple IV): 243, 2003
14. Yamasaki F, Ushida T, Yokoyama T, Yamashita K, Sato K, Ando M, Sugiura T, Sato T. Clinical application of bionic baroreflex system for automatic control of arterial pressure during surgery. American Heart Association, Orlando, USA, Circulation 108(Supple IV): 267, 2003
15. Li M, Zheng C, Kawada T, Sato T. Vagal stimulation improved acute-phase survival after myocardial infarction in conscious rats. American Heart Association, Orlando, USA, Circulation 108(Supple IV): 268, 2003
16. Yamasaki F, Sato K, Ando M, Sato T. Analytic and integrative framework for understanding of human sympathetic baroreflex. American Heart Association, Orlando, USA, Circulation 108(Supple IV): 630, 2003
17. 張 冬梅, 安藤元紀, 齊田光彦, 柿沼由彦, 山崎文靖, 佐藤隆幸. 麻酔下ラットにおける高張食塩水投与に対する神経反射性降圧反応. 第 55 回日本生理学会中国四国地方会予稿集 20, 2003
18. Yokoyama T, Yamasaki F, Ushida T, Yamashita K, Manabe M, Sato T. A new system to manipulate blood pressure with epidural catheter. 13th Asean Congress of Anestaesiologists, Surabaya, Indonesia, 2003
19. 佐藤隆幸, 李 梅花, 鄭 燦, 砂川賢二. バイオニックラットからの提言: 迷走神経の電気刺激療法. 第 24 回日本循環制御医学会総会, シンポジウム, 循環制御 24(Supple): 37, 2003
20. 安藤元紀, 山崎文靖, 佐藤隆幸. 心臓の圧ブースター効果: 中心静脈圧から体循環動脈圧への伝達特性. 第 24 回日本循環制御医学会総会, 循環制御 24(Supple): 54, 2003
21. 安藤元紀, 山崎文靖, 佐藤隆幸. 圧反射系の動特性を評価するあたらしい枠組み.

- 第 24 回日本循環制御医学会総会, 循環制御 24(Supple): 58, 2003
22. 李 梅花, 鄭 燦, 川田 徹, 稲垣正司, 金 殷鉄, 佐藤隆幸, 杉町 勝, 砂川賢二. Novel therapeutic strategy against ventricular remodeling after myocardial infarction: Chronic vagal stimulation prevents ventricular remodeling. 第 24 回日本循環制御医学会総会, 循環制御 24(Supple): 90, 2003
23. 柳谷雄介, 佐藤隆幸, 川田 徹, 杉町 勝, 砂川賢二. 脊髄電気刺激を用いたバイオニック圧受容器反射. 第 24 回日本循環制御医学会総会, 循環制御 24(Supple): 92, 2003
24. 柿沼由彦, 宮内 卓, 佐藤隆幸. エネルギ-代謝変換系がおよぼす ET-1 発現調節における影響. 第 24 回日本循環制御医学会総会, 循環制御 24(Supple): 96, 2003
25. 柿沼由彦, 佐藤隆幸. 低酸素誘導型転写因子 (HIF-1 alpha) によるストレス解除機構. 第 24 回日本循環制御医学会総会, 循環制御 24(Supple): 97, 2003
26. 斉田光彦, 北村和雄, 江藤胤尚, 河南 洋, 佐藤隆幸. 中枢性アドレノメデュリンの昇圧作用機序と延髄最後野の関与. 第 24 回日本循環制御医学会総会, 循環制御 24(Supple): 99, 2003
27. 斉田光彦, 北村和雄, 江藤胤尚, 河南 洋, 佐藤隆幸. 中枢性アドレノメデュリンの腎交感神経抑制作用の意義と脳内オキシトシン受容体の関与. 第 24 回日本循環制御医学会総会, 循環制御 24(Supple): 100, 2003
28. 佐藤隆幸. 神経刺激で心臓死を予防する. 市民公開講座:「甦る ひかり・おと・いのち -未来を開くバイオニック医療-, 第 24 回日本循環制御医学会総会, 市民公開講座, 2003
29. Sato T, Ando M. Equilibrium-diagram analysis of human baroreflex system for quantitative understanding of pathophysiology of orthostatic hypotension with supine hypertension in multiple system atrophy. Jpn J Physiol: 53(Supple) S157, 2003
30. Ando M, Yamasaki F, Yuto J, Sato T. Baroreflex dynamics in mice and rats: white-noise system identification during random head-up tilting. Jpn J Physiol: 53(Supple) S168, 2003
31. Zhang D, Ando M, Yamasaki F, Sato T. Arterial baroreflex modulation of core and skin temperatures in rats: an open-loop approach. Jpn J Physiol: 53(Supple) S170, 2003
32. Yanagiya Y, Sato T, Kawada T, Sugimachi M, Sunagawa K. Bionic baroreflex system with epidural spinal cord stimulation prevents orthostatic hypotension. Jpn J Physiol: 53(Supple) S170, 2003
- G-4. 新聞報道  
なし
- H. 知的所有権の取得状況  
なし
- I. 参考文献
1. Li M, Zheng C, Sato T, et al. Vagal nerve stimulation markedly improves long-term survival after chronic heart failure in rats.

- Circulation* 109:120-124, 2004
2. Lerner DL, Yamada KA, Schuessler RB, et al. Accelerated onset and increased incidence of ventricular arrhythmias induced by ischemia in Cx43-deficient mice. *Circulation* 101:547-552, 2000
  3. Gutstein DE, Morley GE, Tamaddon H, et al. Conduction slowing and sudden arrhythmic death in mice with cardiac-restricted inactivation of connexin43. *Circ Res.* 88:333-339, 2001
  4. Yao JA, Gutstein DE, Liu F, et al. Cell coupling between ventricular myocyte pairs from connexin43-deficient murine hearts. *Circ Res.* 93:736-743, 2001
  5. Kakinuma Y, Miyauchi T, Yuki K et al. Novel molecular mechanism of increased myocardial endothelin-1 expression in the failing heart involving the transcriptional factor HIF-1  $\alpha$  induced for impaired myocardial energy metabolism. *Circulation* 103:2387-2394, 2001
  6. Page EL, Robitaille GA, Pouyssegur J, Richard DE. Induction of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  by transcriptional and translational mechanisms. *J Biol Chem* 277:48403-48409, 2002
  7. Wang H, Yu M, Ochani M et al. Nicotinic acetylcholine receptor  $\alpha$ 7 subunit is an essential regulator of inflammation. *Nature* 421:384-388, 2002
  8. Ferrari, Tumor necrosis factor in CHF: a double facet cytokine. *Cardiovasc Res* 37: 554-559, 1998
  9. Zingarelli B, Hake PW, Yang Z et al. Absence of inducible nitric oxide synthase modulates early reperfusion-induced NF-kappaB and AP-1 activation and enhances myocardial damage. *FASEB J.* 16(3):327-342, 2002 .

植込み型突然死防止装置の開発  
コンピュータシミュレーションにおける効率的な電極配置・除細動波形の設計

分担研究者 久田 俊明 (東京大学新領域創成科学研究科 教授)

研究要旨:

植込み型細動装置開発の電極位置と通電方法の合理的決定を、有限要素法を中心とする計算科学手法により行い、設計に資することを目的とする。本年度は左心室シミュレータプロトタイプにおける細胞の電気的興奮や興奮収縮連関モデルの高度化を行い、その妥当性を検証した。また今後の大規模解析に備えて、電気現象、機械現象解析のためのメッシュ粗さに関する検討を行った。

A. 研究目的

本研究の目的は、心臓性突然死防止のための植込み型除細動装置開発にあたり、電極位置と通電方法を計算科学手法により合理的に決定することである。そのための重要な課題は、致死性不整脈の電気現象と機械現象を高精度にシミュレートすることのできる計算機上の仮想心臓モデルを開発することである。本分担研究課題の概念を図1に示す。

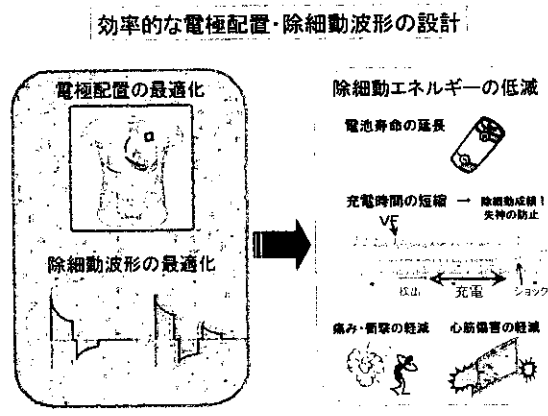


図1 効率的な電極配置・除細動波形の設計

最終的には同図にも示されるように、生体における除細動効果を合理的にコンピュータ上に再現するための胸郭モデルも仮想心臓と組み合わせる予定であるが、その計算科学手法自体は比較的容易であり、計算機負荷に問題が集約されてくると考えられる。なお本研究におけるもう一つの重要な課題は、超大規模解析を現実的な計算時間で達成し、多くのケーススタディを通じて設計の実用に供することが出来るようにすることであるが、シミュレータの高速化については次年度仮想心臓の計算と合わせて行う

予定となっている。本年度はまず仮想心臓の理論的开发を進めることを主眼とした。具体的には、(1)既に分担研究者らが開発を進めてきた左心室シミュレータプロトタイプにおける細胞の電気的興奮や興奮収縮連関モデルを生理学的に意味の高いモデル(Luo-Rudy2000モデルとNegroneiモデル)に置き換え、不整脈などの電気現象・機械現象の解析を通じて、その妥当性の検証すること、(2)今後の大規模計算に備えて、電気現象と機械現象のおおのを離散化解析するためのメッシュ粗さに関する検討を加え、解の精度に関する凡その目安を定めること、を目標として研究を進めた。

B. 研究方法

B-1 解析手法の概要

前述のように、ICDの合理的設計に供することの出来るシミュレータの開発を先ず行う必要があり、その第一段階として既に存在するプロトタイプの高度化を行った。以下に本年度開発したシミュレータの概要を述べる。

図2に示されるように、細胞の電気現象と興奮収縮連関については、LR2000モデル<sup>[1]</sup>とNegronei<sup>[2]</sup>モデルを用いて計算する。LRモデルとNegroneiモデルの連成は変数であるCa<sup>2+</sup>値を共用させることにより行う。そして得られた収縮力の時刻歴をLinYinの構成式<sup>[3]</sup>に入力し、心臓の拍動を計算する。なお機械・電気帰還現象については今後導入する予定であり本年度は考慮していない。

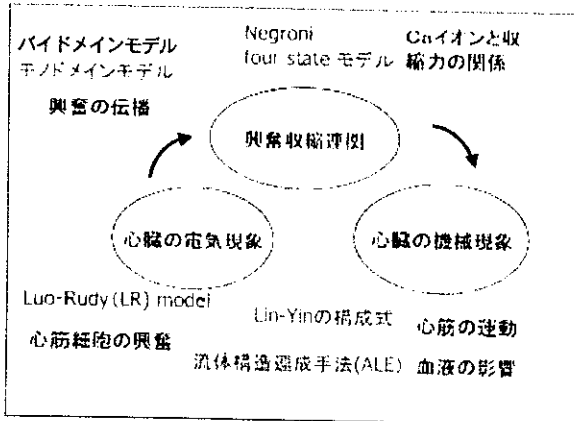


図2 心臓シミュレータの概要

### B-2 心筋細胞電気生理モデル

心筋細胞の電気生理モデルは、Hodgkin と Huxley<sup>[4]</sup>の神経線維活動電位モデルを原型として始まり、1977年にBeelerとReuter<sup>[5]</sup>によってプラトーの存在をも式中に表現したモデルが考案され、その後LuoとRudyにより筋小胞体、Ca結合蛋白を加えた「Luo-Rudyモデル」として発展を見た。

HodgkinとHuxleyは、各イオン電流の値をチャンネルコンダクタンス( $g_{ion}$ )、及び膜電位に比例するとした。また、チャンネルコンダクタンス特性を活性化、不活性化という2つの独立したプロセスの積として、次のように記述した。

$$g_{ion}(t, V) = G_{ion} \cdot m(t, V)^M \cdot h(t, V)^H \quad (1)$$

$G_{ion}$ :コンダクタンスの最大値を表す定数

$m$ :イオンチャンネルが活性化状態となる確率(0~1)

$h$ :イオンチャンネルが不活性化状態となる確率(0~1)

$M$ : $m$ のゲート数を表す指数

$H$ : $h$ のゲート数を表す指数

この活性化変数 $m$ および不活性化変数 $h$ は、イオンチャンネルを制御するゲート因子を仮定しており、その動作は次の1次常微分方程式で記述される。

$$\frac{dx(t, V)}{dt} = \alpha_x(V) \cdot (1 - x(t, V)) - \beta_x(V) \cdot x(t, V) \quad (2)$$

ただし、 $x$ は $m$ あるいは $h$ を表す。つまり、 $m$ 、 $h$ はゲート因子がチャンネルを開放する状態にある確率を表し、 $(1 - m)$ 、 $(1 - h)$ はチャンネルを閉鎖する状態にある確率を表す。 $\alpha$ および $\beta$ は、これらの状態間を遷移する速度を表すパラメータであり、一般に膜電位に対して非線形の特性をもち、このように、 $g_{ion}$ は一般には時間及び膜電位に依存し、イオン電流の時間、膜電位依存性は $g_{ion}$ の特性に帰着される。

LR2000モデルでは、心筋細胞の16種類のイオ

ン電流( $I_{Na}$ : $Na^+$ 電流、 $I_{Na,b}$ :漏洩 $Na^+$ 電流、 $I_{Ca(L)}$ :L型Caチャンネル電流、 $I_{NaCa}$ : $Na/Ca$ 交換輸送系、 $I_{p(Ca)}$ :細胞膜のCaポンプ、 $I_{Ca(T)}$ :T型Caチャンネル電流、 $I_{Ca,b}$ :漏洩 $Ca^{2+}$ 電流、 $I_{Kr}$ :遅延整流 $K^+$ 電流の速い成分、 $I_{Ks}$ :遅延整流 $K^+$ 電流の遅い成分、 $I_{K1}$ :内向き整流 $K^+$ 電流、 $I_{Kp}$ :プラトー相において働く外向き $K^+$ 電流、 $I_{to}$ :一過性外向き電流、 $I_{NaK}$ : $Na/K$ 交換輸送系、 $I_{K(Na)}$ : $[Na^+]$ に依存する外向き整流 $K^+$ 電流、 $I_{K(ATP)}$ :ATP感受性 $K^+$ チャンネル、 $I_{ns(Ca)}$ :一過性内向き $Ca^{2+}$ 電流)をHodgkin-Huxley方程式と

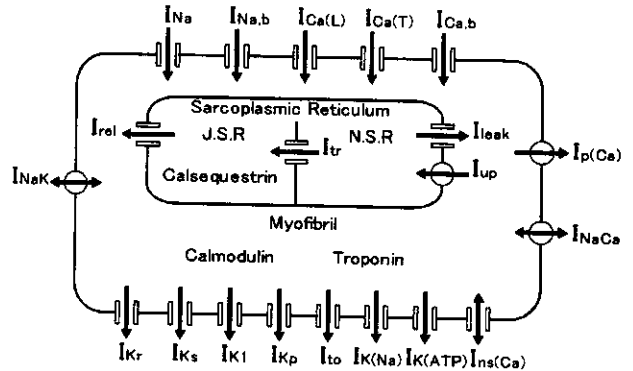


図3 LR2000モデルの概念図

同様の形式でモデル化し、これに細胞内の筋小胞体を巡る $Ca^{2+}$ フラックス、 $Ca^{2+}$ 結合蛋白の項を加えることにより膜電位、細胞内の各種イオン濃度の時刻歴を記述する。図3にその概念図を示す。

### B-3 興奮伝播モデル

心筋は、電気的には抵抗場と見なすことが出来る。興奮の伝播を表す数理モデルは大きく分けて、細胞間のギャップ結合に加えて細胞外間質液を通じての伝播までを考慮したbi-domainモデルと、細胞外間質液を通じての伝播を無視したmono-domainモデルの2つがある。

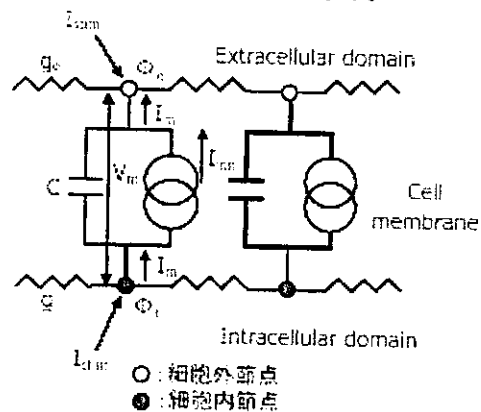


図4 バイドメインモデルの模式図

bi-domainモデルでは、細胞内、細胞外領域を表す図4に示すような電気回路を考える。この

際、細胞内節点は単一細胞又は細胞集合の細胞内電位を、細胞外節点は細胞外電位を代表し、両節点は細胞膜を表現するキャパシタンスによって結合されている。この電気回路に対し、細胞内、細胞外の各領域においてKirchhoff 法則とオームの法則を適用すると、任意の節点kについての式が成り立つ。

$$\beta \left( C_m \frac{\partial V}{\partial t} + I_{ion} \right) = I_{stim} + \sum_j g_j^i (\phi_j^i - \phi_k^i)$$

$$\beta \left( C_m \frac{\partial V}{\partial t} + I_{ion} \right) = -I_{stim} - \sum_j g_j^e (\phi_k^e - \phi_j^e)$$

$$V = \phi^i - \phi^e$$
(3)

図4のバイドメインモデルにおいて細胞外電位は総ての点で一律に0と仮定すると以下のようになる。

$$\beta \left( C_m \frac{\partial V}{\partial t} + I_{ion} \right) = I_{stim} + \sum_j g_j (V_j - V_k)$$
(4)

これがモノドメインモデルであり、単純な問題に関しては、バイドメインモデルと大差のない解を求めることが出来るとされている。本シミュレータではバイドメインモデル、モノドメインモデルの両者をインプリメントしてあるが、外部からの刺激電流が今後のICD設計で重要な役割を果たすため主にバイメインモデルを採用する。

#### B-4 興奮収縮連関の数学モデル

心筋を含めた筋肉は、電気刺激を受けて興奮すると細胞内部のカルシウムイオン濃度が上昇することで収縮運動を行う。この一連の機構は興奮収縮連関と呼ばれる。ここでは、本研究で興奮収縮連関モデルとして用いるNegroniの4-Stateモデルについて述べる。

このモデルによると、CaイオンとTnCの結合によってクロスブリッジの形成は開始するが、CaイオンがTnCから離れた後もクロスブリッジは結合状態にあり得る。そのため、TnCとCaイオンの結合状態、クロスブリッジの形成状態により以下の4つの状態が定義できる。

1. TnCがCa<sup>2+</sup>と結合しかつクロスブリッジが結合している。(TnC\*)
2. TnCはCa<sup>2+</sup>と結合していないが、クロスブリッジが結合したまま残っている。(T\*)
3. TnCがCa<sup>2+</sup>と結合しているが、クロスブリッジが解離している。(TCa)
4. TnCは、Ca<sup>2+</sup>と解離しクロスブリッジも解離している。(T)

各状態の遷移は、図5に示す時間発展型の連立微分方程式で表現され、反応速度定数はY1~4, Z1~3, Ydで与えられている。

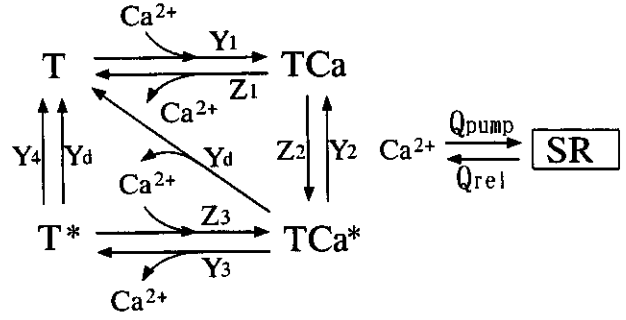


図5 Negroniモデル

$$\frac{d[Ca^{2+}]}{dt} = Q_{rel} - Q_{pump} - Q_1 + Q_2 + Q_3$$

$$\frac{d[TCa]}{dt} = Q_1 - Q_2$$

$$\frac{d[T^*]}{dt} = Q_1 - Q_2 - Q_3$$

$$\frac{d[TCa^*]}{dt} = Q_2 - Q_3 - Q_4$$

$$[T] = [T_0] - [TCa] - [TCa^*] - [T^*]$$

$$T \rightarrow TCa : Q_1 = Y_1 [Ca] [T] - Z_1 [TCa]$$

$$TCa \rightarrow TCa^* : Q_2 = Y_2 [TCa] \alpha - Z_2 [TCa^*]$$

$$TCa^* \rightarrow T^* : Q_3 = Y_3 [TCa^*] - Z_3 [T^*] [Ca]$$

$$T^* \rightarrow T : Q_4 = Y_4 [T^*]$$

$$T \rightarrow TCa^* : Q_{41} = Y_4 \left( \frac{dX}{dt} \right) [T^*]$$

$$TCa^* \rightarrow T : Q_{42} = Y_4 \left( \frac{dX}{dt} \right) [TCa^*]$$
(5)

$$\frac{dX}{dt} = B(L - X - h_0)$$

$$\alpha = \exp(-R(L - L_0)^2)$$

- Q<sub>rel</sub> SRからのCaイオン取出量(μM/s)
- Q<sub>pump</sub> SRへのCaイオン吸収量(μM/s)
- X 太いフィラメントの半長+細いフィラメントの半長(μm)
- B, R 定数
- L 筋節の半分の長さ(μm)

筋肉が発生する収縮力は結合クロスブリッジの数に比例するので、TCa\*, T\*が発生収縮力に寄与し、単位面積当たりの筋節のactiveな特性(Fb)は、

$$F_a = A \cdot ([TCa^*] + [T^*]) \cdot h$$
(6)

となる。ここでA: 比例定数, h:クロスブリッジの伸びとする(図6)。クロスブリッジとは、平行な弾性要素によって表される筋節のPassiveな特性(Fp)は、

$$F_p = K \cdot (L - L_0)^2$$
(7)

ここで, K: 定数, L:筋節の半分の長さ, L<sub>0</sub>:Lの無負荷長とする。筋肉の繊維方向の構成式はactiveな特性とpassiveな特性の合計で表され、

$$F = F_a + F_p$$
(8)

となる。

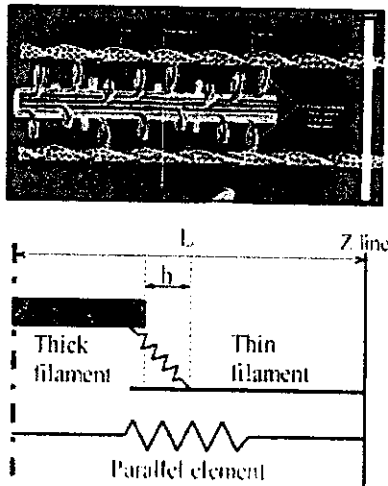


図6 Negroni モデルにおけるクロスブリッジの理想化

### B-5 心筋の構成方程式

心筋の特性を描くために、本研究では構成方程式として Lin-Yin モデルを用いた。これは超弾性体理論に基づくアプローチである。超弾性材料とは、変形の経路に依存しない弾性ポテンシャル  $W$  をもつ材料のことである。応力テンソルは、共役な歪みテンソルに関して  $W$  を微分することにより導かれる。Lin-Yin モデルでは、 $W$  は次の2つの成分に分割される。一つは受動的ポテンシャル( $W_{pass}$ )、もう一つは能動的ポテンシャル( $W_{act}$ )である。

$$W_{pass} = c_1 (e^Q - 1)$$

$$Q = c_2 (I_1 - 3)^2 + c_3 (I_1 - 3)(I_4 - 1) + c_4 (I_4 - 1)^2 \quad (9)$$

$$W_{act} = c_5 + c_6 (I_1 - 3)(I_4 - 1) +$$

$$c_7 (I_1 - 3)^2 + c_8 (I_4 - 1)^2 + c_9 (I_1 - 3) + c_{10} (I_4 - 1)$$

上記式において  $I_1 = \text{tr } \mathbf{C}$ ,  $I_4 = \text{NCN}$  と定義する。ただし、 $\mathbf{C}$  は右 Cauchy-Green 変形テンソル、 $\mathbf{N}$  は無荷重状態での筋繊維の向きを定める単位ベクトルとする。非圧縮性を仮定すれば、第2種 Piola-Kirchoff 応力は次のように導き出せる。

$$\begin{aligned} S_{ij} &= -p (C^{-1})_{ij} + 2 \frac{\partial W}{\partial C_{ij}} \\ &= -p (C^{-1})_{ij} + 2 \left( \frac{\partial W_{pass}}{\partial C_{ij}} + \frac{\partial W_{act}}{\partial C_{ij}} \right) \quad (10) \\ &= -p (C^{-1})_{ij} + \end{aligned}$$

$$2 \left( \frac{\partial W_{pass}}{\partial I_1} \frac{\partial I_1}{\partial C_{ij}} + \frac{\partial W_{act}}{\partial I_1} \frac{\partial I_1}{\partial C_{ij}} + \frac{\partial W_{pass}}{\partial I_4} \frac{\partial I_4}{\partial C_{ij}} + \frac{\partial W_{act}}{\partial I_4} \frac{\partial I_4}{\partial C_{ij}} \right)$$

先に述べた通り、心筋の機械的特性は結合クロスブリッジの生成量、すなわち式(8)  $F$  に依存し

て変化するから、能動的成分の係数である  $c_5 \sim c_{10}$  は  $F$  の関数であり、一方受動的成分の係数である  $c_1 \sim c_4$  は定数であるはずである。そこで係数  $c_5 \sim c_{10}$  を次のように置き、心周期における応力 - 歪みの関係の変化をモデル化した。

$$\begin{aligned} c_5 &= F_R c_5^{\max}, & c_6 &= F_R c_6^{\max}, & c_7 &= F_R c_7^{\max}, \\ c_8 &= F_R c_8^{\max}, & c_9 &= F_R^2 c_9^{\max}, & c_{10} &= F_R^2 c_{10}^{\max} \end{aligned} \quad (11)$$

なお、 $F_R$  は  $F_R = F/F_{\max}$  で定義される相対的な力である。図7は、 $F_R$  を変化させたときの応力 - 歪みの関係を表したものである。

### B-6 流体構造連成解析

以下に、流体構造連成解析の主要な公式について述べる。詳細については、Zhang&Hisada を参照されたい<sup>(6)</sup>。

有限要素法を流体領域に適用する。体積弾性率を  $B$ 、圧力を  $P$ 、質量密度を  $\rho$  とし、粘性流体は等温で  $\partial P / \partial \rho = B / \rho$  であると仮定すれば、連続の式と Navier-Stokes 方程式の ALE (Arbitrary Lagrangian-Eulerian) 表示は次のようになる。

$$\frac{1}{B} \frac{\partial P}{\partial t} \Big|_x + \frac{1}{B} c_i \frac{\partial P}{\partial x_i} + \frac{\partial v_i}{\partial x_i} = 0 \quad \text{in } R_t^f \quad (12)$$

$$\rho \frac{\partial v_i}{\partial t} \Big|_x + \rho c_j \frac{\partial v_i}{\partial x_j} = \frac{\partial \sigma_{ij}}{\partial x_j} + \rho g_i \quad \text{in } R_t^f \quad (13)$$

ただし、 $\partial(\cdot) / \partial t|_x$  は ALE 座標系における時間変化率、 $c$  は速度  $v_m$  を持つ ALE 座標系に対する流体の相対速度  $v - v_m$  を表す。 $\sigma$  は Cauchy 応力、 $g$  は重力加速度、 $R_t^f$  は時刻  $t$  における流体領域を表す。また右肩の記号  $f$  は、流体の成分を示す。なお、流体は Newton 流体であると仮定する。式(12)、(13)に対し Galerkin 法に基づく有限要素離散化を行うと、以下のマトリクス方程式が得られる。

$$\mathbf{M}^P \cdot \dot{\mathbf{P}} + \mathbf{\Lambda}^P \cdot \mathbf{P} + \mathbf{G}^T \cdot \mathbf{V} = 0 \quad (14)$$

$$\mathbf{M} \cdot \dot{\mathbf{V}} + \mathbf{\Lambda} \cdot \mathbf{V} + \mathbf{K}_\mu \cdot \mathbf{V} - \mathbf{G} \cdot \mathbf{P} = \mathbf{F} \quad (15)$$

なお、 $\mathbf{M}^P$  と  $\mathbf{M}$  は圧力と速度の質量マトリクス、 $\mathbf{\Lambda}^P$  と  $\mathbf{\Lambda}$  は圧力と速度の対流項のマトリクスである。また、 $\mathbf{K}_\mu$  は粘性マトリクス、 $\mathbf{G}$  は発散についてのマトリクス、 $\dot{\mathbf{P}}$  と  $\dot{\mathbf{V}}$  は ALE 座標系における圧力と速度ベクトルの時間的変化率、 $\mathbf{F}$  は外力ベクトルである。

$R_t^s$  を時刻  $t$  における構造領域とする。構造の平衡方程式は次式で与えられる。

$$\rho \frac{d^2 u_i}{dt^2} = \frac{\partial \sigma_{ji}}{\partial x_j} + \rho^s g_i \quad \text{in } R_t^s \quad (16)$$

ただし、右肩の符号  $s$  は、構造の成分を意味する。total Lagrange 法に基づく有限要素離散化を行い、非線形方程式の増分分解を行うと次のマ



トリクス方程式が得られる。

$$M\Delta\ddot{U} + K\Delta U = {}^{t+\Delta}F - {}^tQ^s \quad (17)$$

ここで、 $M$ は構造の質量マトリクス、 $K$ は接線剛性マトリクス、 $F$ は外力ベクトル、 $Q$ は構造の内力と慣性力に対応する等価接点力ベクトルである。また、 $\Delta\ddot{U}$ と $\Delta U$ は加速度増分と変位増分ベクトルである。

流体・構造間の造境界面での幾何学的連続条件は次式で、

$$v_i^f = v_i^s \quad (i=1, 2, 3) \quad \text{in } \partial R_i^c \quad (18)$$

また、境界面での平衡条件は次式で与えられる。

$$\sigma_{ji}^f n_j^f + \sigma_{ji}^s n_j^s = 0 \quad (i=1, 2, 3) \quad \text{in } \partial R_i^c \quad (19)$$

ただし、 $n^f$ と $n^s$ はそれぞれ境界面での流体と構造の外向き単位法線ベクトル、 $\partial R_i^c$ は流体・構造境界面の領域を表す。

従って境界面での流体要素と構造要素の節点を一致させることにより、これらの幾何学連続条件と節点平衡条件が自動的に満足される。その場合、連成系の方程式は次のように表され、本研究ではこれを一括して解く強連成法 (strong coupling method) を採用する。

$${}^tM^s \Delta f^s + {}^tC^f \Delta f^s + {}^tK^s \Delta U^s = {}^{t+\Delta}F - {}^tQ^s \quad (20)$$

ただし、 $f^s$ と $U^s$ は連成系の変数ベクトルであり、次のように定義される。

$$\varphi^s = \begin{Bmatrix} P \\ V_i^f \\ V_c \\ V_i^s \end{Bmatrix}, \quad U^s = \begin{Bmatrix} - \\ - \\ U_c \\ U_i^s \end{Bmatrix} \quad (21)$$

ここで、 $P$ は流体の圧力ベクトル、 $V_i^f$ は流体の構造に独立な速度ベクトル、 $V_c$ は流体と構造に共通なベクトル、 $V_i^s$ は構造の流体に独立な速度ベクトル、 $U_c$ は流体と構造に共通な変位ベクトル、 $U_i^s$ は構造の流体に独立な変位ベクトルである。式(20)における $F$ は連成系の外力ベクトル、 $Q^s$ は連成系の等価節点力 (内力と慣性力を含む) ベクトルである。また $M^s$ は流体・構造の質量マトリクス、 $C^f$ は流体の発散、粘性、対流項を含むマトリクス、 $K^s$ は構造の接線剛性マトリクスである。

心臓の数値解析では、境界条件はオープン境界と流体・構造連成境界から成る。そこで流体領域のメッシュ制御を次のように行う。

オープン境界での節点制御は $v_m = 0$ で与える。また構造との境界面での節点制御は $v_m = v_m^s$ と仮定し、構造の物質点に固着させる Lagrange 型制御を適用する。ここで、 $v^s$ は境界面での構造の節点速度である。言い換えれば、ALE 座標系を境界面での Lagrange 座標系と等しくするのである。

また、時間積分法として、Newmark- $\beta$ 法に基

づく拡張 predictor-multicorrector algorithm を採用し、 $\beta = 0.6$ 、 $\gamma = 0.3025$ に設定した。

## B-7 循環器系モデル

左心室の力学的機能評価を定量的に行うためには、左心室の自身の形状や大きさ、心筋繊維の収縮力などだけではなく、それを取りまく循環器系との相互作用を考慮に入れることが不可欠となる。

### B-7-1 Windkesselモデル

左心室から駆出された血液は大動脈を通り、その後数多くの分岐を経て細動脈に到達する。心臓により送り出された拍動流が血管中をよどみなく輸送されるために、やわらかい血管が拍動流を受けることで拡がった後、次に収縮することで血液を前方へ送り出す、という仕組みがある。この時の血管の緊張をトーンス tonus と呼ぶ。そのため、心臓からの血液の断続的拍出が血管系内の連続的な血液に変えられ、動脈血圧は心臓の弛緩期にも0とはならない。即ち、末梢血流の駆動力としての血圧の発生、圧波形の決定には弾性血管と抵抗血管の機能が重要な役割を持つ。動脈系におけるこれらの効果をシミュレーションするため、次のように定式化される windkessel モデル<sup>(7)</sup>を用いた(図8)。

$$P = P_1 + P_2 \\ q = \frac{P_1}{R_1} \quad (22)$$

$$q = q_R + q_C = \frac{P_2}{R_2} + C \frac{dP_2}{dt}$$

なお、 $P$ は大動脈圧、 $q$ は血流、 $R_1$ は特性インピーダンス、 $R_2$ は末梢血管抵抗、 $C$ は静電容量をあらわす。本研究では、これらのパラメータを $R_1 = 1.0E+6 \text{ Pa Sec / m}^3$ 、 $R_2 = 150.E+6 \text{ Pa Sec / m}^3$ 、 $C = 1.6E-8 \text{ m}^3 / \text{Pa}$ とした。

### B-7-2 Alexander モデル

右心室から駆出された血液は肺動脈を通り、肺の毛細管を通過した後肺静脈を経由して左心房に入り、左心室の弛緩に起因する僧帽弁の開放まで左心房に蓄えられる。この肺循環器系を血液が通ることによって、各所でのトーンスの効果や、抵抗を受ける。これらの効果と血液の慣性力を表す数学モデルとして Alexander モデル<sup>(8)</sup>がある。このモデルでは肺動脈から僧帽弁までの血管系を図8に示すような電気回路モデルで置き換える。当初この並列型の Alexander モデルを用いていたが、生理学的に妥当な挙動が得られなかった為に以下の直列型の Alexander モデ

ルに修正し使用した。修正Alexanderのモデルは以下のように表される。ここで、 $F'_{LP}$ は時刻 $t'$ にコイルを通る血流、 $q'_p$ 、 $q'_{LA}$ は時刻 $t'$ におけるそれぞれのコンデンサ内の血液量を表している。

$$\begin{bmatrix} \frac{1}{\Delta t} + \frac{1}{C_p R_p} & 0 & 1 & 0 \\ 0 & \frac{1}{\Delta t} & -1 & 0 \\ -\frac{1}{L_p C_p} & \frac{E'_{LA}}{L_p} & \frac{1}{\Delta t} + R_p & 0 \\ 0 & -\frac{E'_{LA}}{L_p} & 0 & \frac{1}{L_{av}} \end{bmatrix} \begin{pmatrix} q'_p \\ q'_{LA} \\ F'_{LP} \\ F'_{LV} \end{pmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{P'_v + q'_p}{R_p} + \frac{q'_p}{\Delta t} \\ \frac{q'_{LA}}{\Delta t} - F'_{LV} \\ \frac{F'_{LP}}{\Delta t} \\ \frac{F'_{LV}}{\Delta t} - \left( \frac{1}{\Delta t} + \frac{R_{av}}{L_{av}} \right) F'_{LV} \end{bmatrix} \quad (23)$$

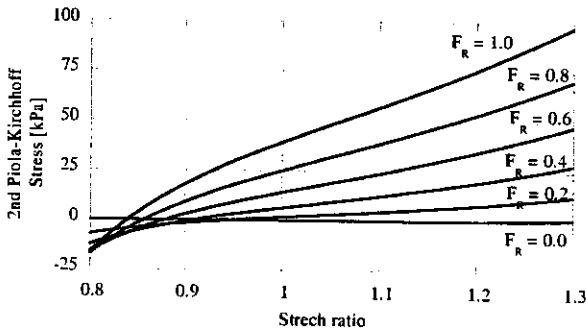


図7 心筋の応力歪関係

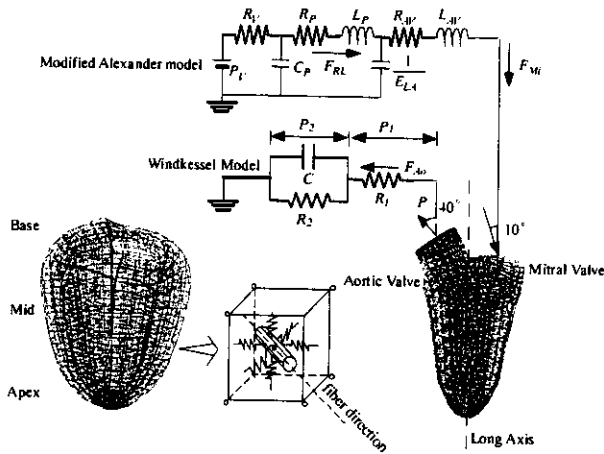


図8 有限要素メッシュと境界条件

## B-8 左心室の有限要素モデル

### B-8-1 流体構造連成解析用モデル

本年度のプログラム開発で暫定的に使用した左心室有限要素モデルは左心室拡張期のMRI断層写真を基に大幅に理想化して作成したものである。このMR画像は10(mm)間隔で撮影されたもので、各断層写真の上下を楕円で近似して輪郭を抽出した。有限要素解析では、応力ゼロにおける左心室メッシュ(初期形状)を定める必要がある。本研究では左心室体積初期値(左心室圧が0 Paの時の体積)は60mlと仮定し、その有限要素メッシュを生成するため、拡張末期

の成人左心室のMR画像から生成した有限要素モデルに適当な負の圧力を与えた。その結果得られた有限要素メッシュを図8に示す。この左心室モデルは、構造のみの簡易解析(流体力を圧力のみで限定、質量の効果を見捨てた解析)及び流体・構造連成解析でも同じモデルを用いる。このようにして求めた左心室有限要素モデルの構造部及び流体部を図8に示す。本研究では8/1d(流速又は変位双1次補間、圧力一定)の混合六面体要素を流体と構造の両方に用いた。

大動脈先端の境界は、解析に応じて境界条件を負荷する。なお、左心室から流出する血流を安定させるため、流出口から短い流体要素をモデル化した。その際、流出方向が心室の長軸に対して40度の角度になるようにした。このため、解析の都合上本解析では、流出口、大動脈弁という場合は、本来大動脈弁がある場所ではなく、流体要素の先上端部分を指す。

心筋層の数	6層
構造要素数	9792要素(各ごとに各1608要素、他心筋部に144要素)
節点数	35761節点
構造繊維方向	筋内層から順に90°、60°、30°、0°、-30°、-60°
拘束条件	壁輪弁、大動脈弁の縁部周囲を3方向固定
流体の要素数	15976要素
流体の特性	非圧縮性Newton流体

表1 心臓左心室有限要素モデル(流体・構造)の概要

### B-8-2 左心室の興奮伝播解析用ボクセルモデル

本研究の興奮伝播解析は図9に示すようなボクセルモデルを用いて行った。このモデルは前述の有限要素モデルの心筋形状を基に作成した。モデルの概要を下表に示す。メッシュサイズの詳細については結果で述べる。

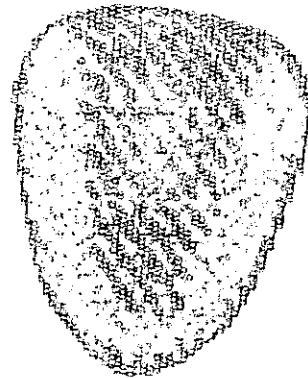


図9 左心室ボクセルモデル

要素数	3391279	要素(線要素)
節点数	1156125	節点
メッシュサイズ	0.5	mm

表2 心臓左心室ボクセルモデルの概要

### B-9 計算条件

本章の流体・構造連成有限要素法では、前節の構造解析で用いた心筋の有限要素モデルに、流体領域を強連成手法により結合した。流出部では流れを安定させる為に、大動脈部分の一部が含まれている。大動脈部分は流体要素しかなく、構造要素は存在しないが、円柱形をしている流体領域の周上に流速0の境界条件を与えている。

密度	1.603E3 Kg/m <sup>3</sup>
粘性係数	4.71E-3 Kg/(m·s)
体積弾性率	2.06E9 Pa

表3 流体要素のパラメータ

	流入口	流出口
phase1	閉(流速0)	閉(流速0)
phase2	閉(流速0)	開(圧力条件: windkesselモデル)
phase3	閉(流速0)	閉(流速0)
phase4	開(圧力条件: Alexanderモデル)	閉(流速0)

表4 心臓左心室流体・構造シミュレーションの概要

以下、次の方法に従って解析を行った。Phase1では、僧帽弁、大動脈弁とも流速を0に固定して、筋肉を収縮させる。Phase2では、大動脈弁の圧力境界条件を windkessel によって制御する。Phase3では、Phase1と同じように僧帽弁、大動脈弁とも流速を0に固定する。Phase4では、僧帽弁の圧力境界条件を Alexander によって制御する。また、流体・構造連成解析で用いた、windkesselの値を表6に、Alexanderの値及び左心房エラストランスの時刻歴をそれぞれ表7、図10に示す。これらは前節の構造のみの解析と同様である。なお興奮伝播はここでは簡略化してモノドメインモデルを用いる。

$R_v$	12.0	mmHg
$R_a$	0.01	mmHg·sec/ml
$C_p$	7.0	ml/mmHg
$L_p$	0.001	mmHg·sec <sup>2</sup> /ml
$R_p$	0.11	mmHg·sec/ml
$R_{av}$	0.02	mmHg·sec/ml
$L_{av}$	0.002	mmHg·sec <sup>2</sup> /ml

表5 Alexanderモデルのパラメータ

$R_1$	0.075	mmHg·sec/ml
$R_2$	1.20	mmHg·sec/ml
$C$	2.13	ml/mmHg

表6 windkesselモデルのパラメータ

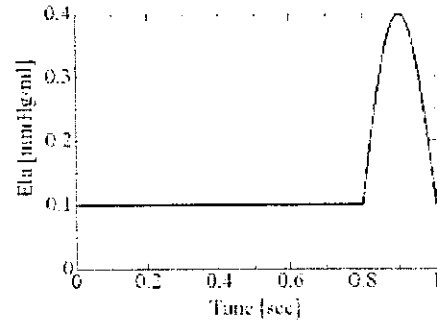


図10 左心房エラストランスの時刻歴

### B-10参考文献

- [1]G.M.Faber, Y.Rudy. Action Potential and Contractility Changes in  $[Na^+]_i$  Overloaded Cardiac Myocytes: A Simulation Study. Biophysical Journal, Vol.78(2000) p.2392-2404
- [2]J.A.Negroni, E.C.Lascano. A Cardiac Muscle Model Relating Sarcomere Dynamics to Calcium Kinetics. J. Mol. Cell Cardiol., Vol.28(1996), p.915-929
- [3]D.H.S.Lin and F.C.P.Yin. A multi-axial constitutive law for mammalian left ventricular myocardium in steady-state barium contracture or tetanus. Trans. ASME J. Biomech. Eng., Vol.120(1998) p.504.
- [4]A.L.Hudgin, A.F.Huxley. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. J. Physiol., (1952) p.500-
- [5]544G.W.Beeler, H.Reuter. Reconstruction of the action potential of ventricular myocardial fibers. J. Physiol., Vol.268(1977) p.177-210.
- [6]Q.Zhang, T.Hisada. Analysis of Fluid-Structure Interaction Problems with Structural Buckling and Large Domain Changes by ALE Finite Element Method, Comput. Methods Appl. Mech. Engrg., Vol.190(2001), p.6341-6357.
- [7]N.Westerhof, G.Elzinga, P.Sipkema. An Artificial Arterial System for Puping Hearts, J. Appl. Physiol., Vol.36(1971), p.776-781.
- [8]Joe Alexander Jr, Kenji Sunagawa, Nancy Chang, and Kiichi Sagawa. Instantaneous Pressure-Volume Relation of the Ejecting Canine Left Atrium. Circ. Res., Vol.61(1987), No2, p. 209-219

### C. 研究結果

#### C-1 流体構造連成解析結果

図11は流体構造連成解析結果のモデル断面図である。流体部には流速ベクトル(青～赤)、構造部には心筋の収縮力(青:0～赤:1)が示されている。この図から、等容収縮期、拍出期等、それぞれのphaseが表現できていることがわかり、臨床的に見られる結果と定性的に良好な一致を示した。しかし、充満期のE波とA波を見

ると、前節の構造のみの解析結果と同様にA波の方が大きくなるという結果になり、今後改良の余地があると考えられる。

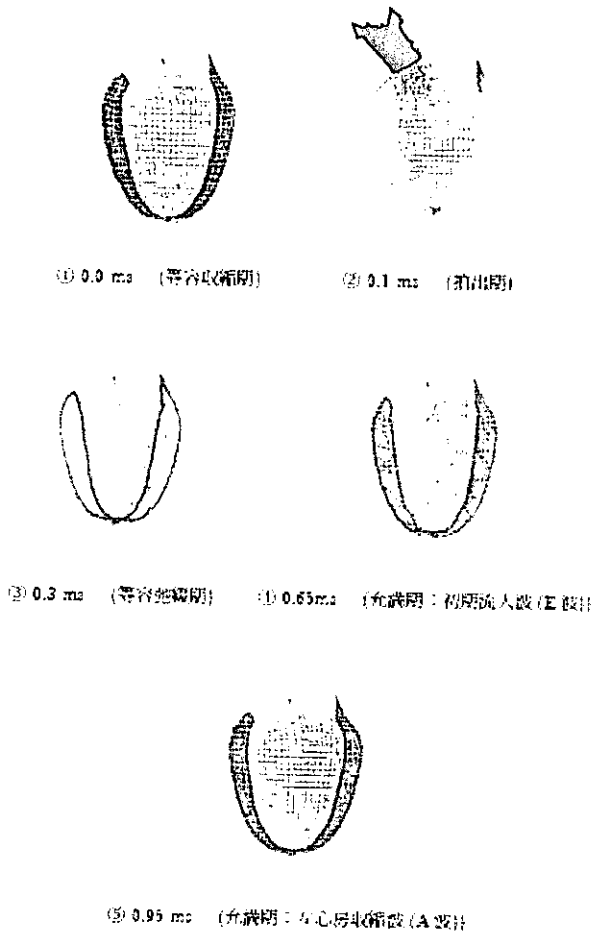


図1 流体・構造連成解析結果

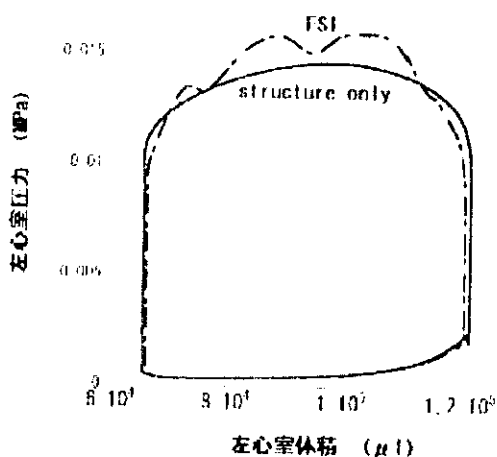


図2 圧力容積ループ

図1 2に圧力容積ループを示す。構造のみの解析結果と比較すると、Phase2(拍出期)において、左心室圧力が構造のみの解析の場合よりも高く、且つ振動していることが分かる。以上のように、

心筋細胞の興奮(LRモデル)と伝播、興奮収縮連関(Negroniモデル)、心筋の収縮(Lin-Yinの構成式)、血液との連成(流体構造連成手法)を含めた心臓拍動シミュレーションが実現できた。

### C-2 不整脈のシミュレーション<sup>1)</sup>

不整脈の中でも心室細動が起こると血液循環が完全に停止し、数分間以上持続すると死に至る。単なる頻拍から細動までの不整脈の機序のひとつとして、心臓に発生する渦巻型の興奮波活動(スパイラルリエントリ)が注目されている。本研究ではこのspiral waveの再現を試みた。spiral waveは媒質内に伝導遅延等の局所的に不均質な領域がある場合に発生することが知られている。しかしながら、本研究で用いている左心室ボクセルモデルのような均質な媒質においても2つの連続した刺激の位置とタイミング等を工夫して与えることでspiral waveを発生させることができる。

spiral waveの発生方法は以下のとおりである。まず、第一の刺激(S1)を与えて興奮波を発生させ、その興奮波の不応領域を一部含むように第二の刺激(S2)を与えることによって、不応期による一方向性の伝導ブロックが生じ、spiral waveとなる。つまり、S2によって生じた興奮波の一部がS1による不応領域によって伝播を妨げられ、興奮波に特異点(興奮波の前面と後面が交差する点)ができることでspiral waveが発生する。この方法は一般に「S1-S2法」と呼ばれており、様々なバリエーションがある。

本シミュレーションではspiral wave発生方法として、crossfield stimulation法と呼ばれる方法を用いる。この方法は、S1によって平面興奮波を発生させ、これに直交するようにS2を与えるもので、ほぼ確実にspiral waveを発生させることができる。図1 3にspiral waveの発生過程及び渦巻型興奮波が持続する過程を示す。この解析では、まず、左心室大動脈側の側面に第一の刺激(S1)を5(ms)与え、興奮が全体に伝播且つ刺激開始部分の興奮が冷めた時点(約250ms)で第2の刺激(S2)を左心室上半分に5(ms)与えている。図1 4に左心室中央部分の最内外節点の膜電位履歴及び収縮力履歴を示す。

また、この解析によって得られた収縮力を基に構造解析を行った。図1 5に、圧力容積ループを示す。さらに流体構造連成解析結果を図1 5に示す。両者を観察すると、まず、期外収縮(S1)によって等容収縮が始まり、その後拍出期となる。そして、等容弛緩期が一旦開始されるが直ぐに拍出期に移行する。これはspiral waveによって心筋の収縮力が低下する時間間隔が与えら