

(ACh+CoCl₂) コントロールと同様にミトコンドリア内にチトクローム C が保持され細胞質への放出が抑制されることがわかった (図 C-6)。細胞全体におけるチトクローム C の量に変化はなかった。

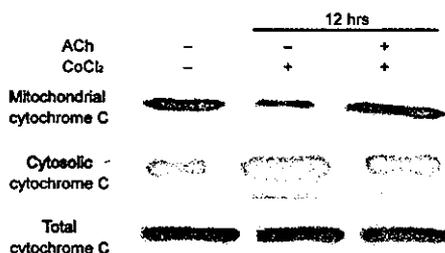


図 C-6. 化学的低酸素負荷に対する ACh の Cytochrome C を指標にした抗アポトーシス作用の証明

C-3.ACh による TNF- α の誘導作用

化学的低酸素負荷条件下 (CoCl₂) で ACh を投与しておく、時間経過に伴い TNF- α タンパク質の発現量が増加することがわかった (図 C-7)。CoCl₂ のみでは 24 時間目に若干その発現量が増加する程度であった。

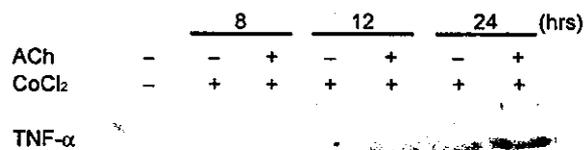


図 C-7. 化学的低酸素負荷に対する ACh の TNF- α の誘導作用

図 C-7 で確認された ACh による TNF- α の発現が、実際に心筋細胞由来であるのか否かを確認するため、免疫組織化学でその局在を調べた。ACh の添加により (ACh+CoCl₂)、アクチン陽性 (緑) の心筋細胞に抗 TNF- α 抗体の強い陽性シグナル (赤) が観察された (図 C-8)。

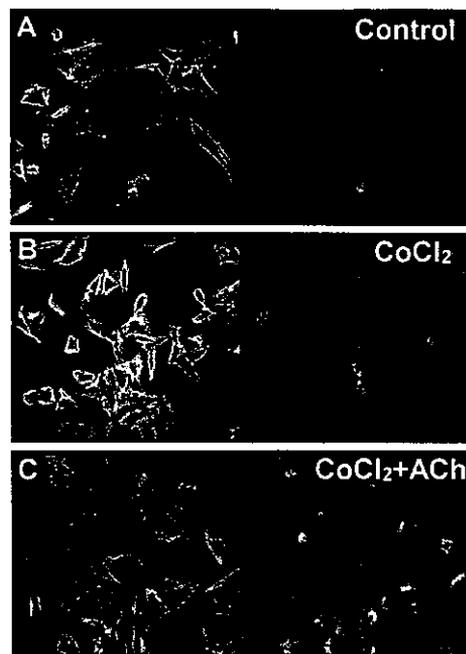


図 C-8. 化学的低酸素負荷に対する ACh の TNF- α の誘導作用とその局在

心筋細胞に発現している TNF- α の受容体の存在とそのサブタイプを明らかにするために、化学的低酸素負荷 (CoCl₂) に対する TNF- α の受容体である TNFR1 と TNFR2 の mRNA の発現を RTPCR により調べた。CoCl₂ により時間経過とともに TNFR1 の mRNA の発現量が増加したのに対して、ACh の投与により (ACh+CoCl₂) TNFR2 の mRNA の発現量が増加することがわかった。

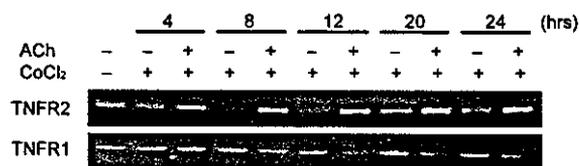


図 C-9. 化学的低酸素負荷に対する ACh の TNF- α 受容体 mRNA の誘導作用

D. 考察

D-1. ACh による電気的リモデリング抑制効果

研究分担者らはこれまでに、虚血モデル動

物を用いて、虚血心で減少するリン酸化ギャップ結合タンパク質 Cx43 の発現量が迷走神経の電気刺激により保存されることを明らかにした。この事実から、虚血心における電氣的興奮の伝導異常（電氣的リモデリング）が迷走神経刺激により劇的に改善していることが容易に予想される。次のステップとして、心臓表面の興奮伝導を光学マッピングにより解析する手法が考えられるが、現段階で迷走神経を保存した状態での摘出心の標本作製技術が未完成であるため、この手法をそのまま本研究に適用することはできない。

そこで、本年度は単離心筋細胞を一端培養系におとしてギャップ結合を再構築させた後、迷走神経の神経伝達物質である ACh を作用させるという *in vitro* 解析系を確立した。In vivo 実験での左冠状動脈結紮による虚血の誘導に相当する刺激として、*in vitro* 培養系では窒素ガス置換による低酸素負荷、あるいは CoCl₂ による化学的低酸素負荷をかけた。図 C-1 に示されたように、培養実験系でも虚血モデル動物と同様な ACh による PCx43 発現の保存効果が証明された。またその保存効果は ACh による Cx43 の翻訳後修飾すなわちタンパク分解系の抑制作用によることが推察された。Cx43 の半減期は 1 時間以内でそのターンオーバーは非常に速いとするこれまでの報告と矛盾しない。

Cx43 の発現とその実際の機能との相関を調べたところ、図 C-3 に示されたように、ACh によりギャップ結合を介する細胞間情報伝達機能が增强されることがわかった。この作用を心臓に当てはめれば、虚血心における

ギャップ結合のダウンレギュレーション（電氣的リモデリング）が迷走神経刺激により抑制されリン酸化ギャップ結合タンパク質が保存されることにより、心室における電氣的興奮の伝導が正常に保たれる、と考えられた。今後は、マイクロパターンニング技術を応用して心筋細胞を規則的に配列させ機械刺激や電気刺激を加えることにより、ギャップ結合の局在の変化とそれに伴う電氣的興奮伝導の変化を解析し、それらの変化に対して ACh がどのような作用を示すのかを検討する予定である。

D-2.ACh による細胞生存シグナルの增强作用

ACh により心筋細胞の PI3K/Akt カスケードを介する抗アポトーシス作用が活性化されることがわかった。特に、低酸素条件下であるにもかかわらず ACh 存在下では、ミトコンドリアの機能不全が改善されること、細胞間の同期性が著しく高まることなどから、心臓全体としての消費エネルギーはむしろ節約の方向に作用するものと考えられた。すなわち、虚血心において迷走神経刺激をおこなうと、虚血領域の心筋細胞がより細胞生存の方向に傾くと予想される。

現段階で、虚血急性期における ACh の効果をそのまま慢性心不全動物における迷走神経刺激の心機能改善効果に当てはめることはできない。しかしながら、少なくとも今回判明した ACh による細胞生存シグナルの增强作用が、後々心不全の慢性期へ移行する際に、長期にわたって心機能を温存するための基盤

を提供するものと考えられる。

D-3.ACh により誘導される TNF- α の生理学的意義

図 C-7,8 に示されたように本研究の結果からは、予想に反して迷走神経刺激により心筋細胞から TNF- α が発現されることがわかった。これまでの報告から TNF- α については細胞死の誘導や炎症反応惹起作用などどちらかといえば細胞や組織への障害性がクローズアップされてきた。しかしながらその受容体には 2 つのアイソタイプ TNFR1 と TNFR2 があり、TNFR1 はいわゆる death domain を有しておりカスパーゼカスケードを介してアポトーシスを誘導すると考えられているが、TNFR2 については death domain を持たないことから抗アポトーシス（細胞生存シグナル）として作用するという報告がある。

そこで、心筋細胞において ACh によって誘導される TNF- α 受容体のアイソタイプの解析をおこなったところ、図 C-9 に示されたように、化学的低酸素負荷条件下で ACh を投与すると TNFR2 の mRNA の発現量が増加し、逆に TNFR1 については減少する傾向であることがわかった。すなわち、ACh により心筋細胞から産生された TNF- α は TNFR2 を介してシグナル伝達が進行するため、心臓においては TNF- α は細胞生存シグナルとして作用している可能性が高い。今後、TNF- α と TNFR2 から下流のカスケードを明らかにするとともに、抗 TNF- α 抗体の中和作用によって TNF- α による細胞生存シグナル増強作用がどの程度抑制されるのかを検討する予定である。

E. 結論

虚血心におけるマクロな心臓リモデリングに対する迷走神経刺激の抑制効果は、アセチルコリンから始まる一連の細胞内情報伝達系の活性化による、①ギャップ結合タンパク質（コネキシン 43）の翻訳後修飾すなわちタンパク質分解系の抑制による電氣的安定性の維持、②細胞生存シグナル（PI3K/Akt）を介する抗アポトーシス作用の増強、③心筋細胞からの TNF- α 産生とその受容体 TNFR2 の mRNA の誘導、というタンパク質および遺伝子の発現調節を介するこれまでにない全く新しい作用機序による表現型であることが判明した。

次年度は、本年度の細胞レベルの研究で明らかとなった迷走神経刺激による活性化分子を指標にして、慢性期の心不全モデルに対しても心機能改善効果を有する迷走神経刺激の作用機序を解明する予定である。また、細胞工学的手法を用いて心筋組織の 2D あるいは 3D モデルを作製し（図 E-1）、機械的・電氣的刺激を加えて再組織化を促すことにより、正常な組織形態に近い、あるいは逆に慢性期の心不全動物の病態組織モデルとして再構築し、これらの人工心筋組織が ACh によってどのように修飾されるのかを明らかにする予定である。

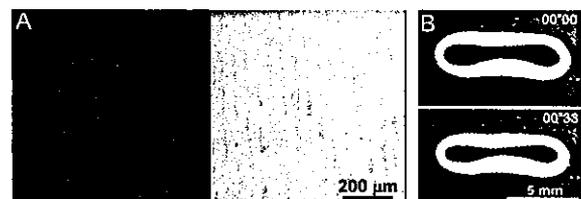


図 E-1. マイクロパターンニングおよび細胞工学的手法により作製した 2D (A) あるいは 3D (B) 心筋組織

F.健康危険情報

なし

G.研究発表

G-1.論文

1. Kakinuma Y, Ando M, Kuwabara M, Katare RG, Okudela K, Kobayashi M, Sato T. Acetylcholine from vagal stimulation protects cardiomyocytes against ischemia and hypoxia involving additive nonhypoxic induction of HIF-1 α . *FEBS Lett*, in press, 2005
2. Kudo Y, Kakinuma Y, Mori Y, Morimoto N, Karashima T, Furihata M, Sato T, Shuin T, Sugiura T. HIF-1 α is involved in the attenuation of experimentally induced rat glomerulonephritis. *Nephron Exp Nephrol*, in press, 2005
3. Zhang D, Ando M, Yamasaki F, Sato T. Neural reflex hypotension induced by very small dose of hypertonic NaCl solution in anesthetized rats. *Jpn J Physiol*, in press, 2005
4. Uemura K, Kawada T, Sugimachi M, Zheng C, Kashihara K, Sato T, Sunagawa K. A self-calibrating telemetry system for measurement of ventricular pressure-volume relations in conscious, freely moving rats. *Am J Physiol*, 287: H2906-H2913, 2004
5. Kakinuma Y, Zhang Y, Ando M, Sugiura T, Sato T. Effect of electrical modification of cardiomyocytes on

transcriptional activity through 5' AMP-activated protein kinase. *J Cardiovasc Pharmacol*, 44: S435-S438, 2004

6. Yanagiya Y, Sato T, Kawada T, Inagaki M, Tatewaki T, Zheng C, Kamiya A, Takaki H, Sugimachi M, Sunagawa K. Bionic epidural stimulation restores arterial pressure regulation during orthostasis. *J Appl Physiol*, 97: 984-990, 2004

G-2.学会発表

1. 佐藤隆幸, 安藤元紀, 李 梅花, 鄭 燦, 砂川賢二, 山崎文靖. 神経インターフェイス技法を用いた心不全治療と術中血圧制御. 循環制御 25(Supple): 36-37, 2004. 第25回日本循環制御医学会総会, 函館, 2004.06
2. 李 梅花, 鄭 燦, 川田 徹, 稲垣正司, 佐藤隆幸, 杉町 勝, 砂川賢二. Chronic vagal stimulation therapy exerts beneficial effects on failing hearts through a different mechanism from its adrenergic antagonism. 循環制御 25(Supple): 96, 2004. 第25回日本循環制御医学会総会, 函館, 2004.06
3. 有海秀人, 李 梅花, 鄭 燦, 神谷厚範, 川田 徹, 稲垣正司, 佐藤隆幸, 杉町 勝, 砂川賢二. 大動脈減圧神経刺激による急性心筋梗塞後生存率の改善. 循環制御 25(Supple): 97, 2004. 第25回日本循環制御医学会総会, 函館, 2004.06
4. 安藤元紀, 柿沼由彦, カタレ ラジェシユ, 山崎文靖, 佐藤隆幸. 迷走神経刺激は急性心筋虚血によるキャップ結合タンパク質コネキシン43のリン酸化タイプの減少を防ぐ. 循環制御 25(Supple): 98, 2004. 第

- 25 回日本循環制御医学会総会, 函館, 2004.06
5. 佐藤恭子, 北岡裕章, 土居義典, 山崎文靖, 杉浦哲朗, 安藤元紀, 佐藤隆幸. 心不全における血流再分布の調節異常: 軽運動負荷による皮膚温と中心温からの評価. 第5回 Neurocardiology Workshop, 東京都, 2004.07
 6. Li M, Zheng C, Kawada T, Inagaki M, Shishido T, Sato T, Sunagawa K. Chronic vagal stimulation exerts its beneficial effects on the failing heart independently of its anti-b-adrenergic mechanism. *Circulation* 110 (Supple III): 84, 2004. American Heart Association, New Orleans, USA, 2004.11
 7. Zheng C, Li M, Sato T, Inagaki M, Aiba T, Sugimach M. Vagal stimulation markedly suppresses arrhythmias in conscious rats with chronic heart failure after large myocardial infarction. *Circulation* 110 (Supple III): 85, 2004. American Heart Association, New Orleans, USA, 2004.11
 8. Kakinuma Y, Kuwabara M, Doi Y, Ando M, Sato T. Vagal nerve stimulation and acetylcholine protect cardiomyocytes from acute ischemia and hypoxia through non-hypoxic induction of hypoxia-inducible factor-1 α . *Circulation* 110 (Supple III): 201, 2004. American Heart Association, New Orleans, USA, 2004.11
 9. Ando M, Katare RG, Kakinuma Y, Yamasaki H, Shishido T, Zheng C, Li M, Sato T. Vagal stimulation suppresses ischemia-induced arrhythmias by preserving connexin43 protein from dephosphorylation and degradation. *Circulation* 110 (Supple III): 296-297, 2004. American Heart Association, New Orleans, USA, 2004.11
 10. 佐藤隆幸, 安藤元紀, 川田 徹. 動脈圧反射系の平衡線図解析. 日本病態生理学会雑誌, 13: 30 第15回日本病態生理学会大会, 岐阜市, 2005.01
 11. 安藤元紀, 佐藤隆幸. 圧受容器反射系の動特性: マウスからヒトまで. 日本病態生理学会雑誌, 13: 42, 第15回日本病態生理学会大会, 岐阜市, 2005.01
 12. 安藤元紀, 佐藤隆幸. 迷走神経刺激とギャップ結合. 日本病態生理学会雑誌, 13: 43, 第15回日本病態生理学会大会, 岐阜市, 2005.01
 13. Sato K, Yamasaki F, Ando M, Kitaoka H, Sugiura T, Sato T, Doi Y. Opposite response of core temperature and blunted response of forearm skin temperature to bicycle ergometer exercise in chronic heart failure. American College of Cardiology, Orland, USA, 2005.03
 14. Kakinuma Y, Ando M, Kuwabara M, Katare RG, Sato T. Acetylcholine from vagal nerve stimulation protects cardiomyocytes against acute ischemia and hypoxia by additive induction of hypoxia-inducible factor-1 α through nonhypoxic pathway. 第69回日本循環器学会総会・学術集会, 横浜市, 2005.03
 15. Kakinuma Y, Ando M, Katare RG, Sato T. A HIF-1 α -regulated gene, a factor involved in anti-apoptosis and cardioprotection against hypoxia through depression of cardiac energy

metabolism. 第 69 回日本循環器学会総会・学術集会, 横浜市, 2005.03

16. Kuwabara M, Kakinuma Y, Ando M, Katare RG, Yamasaki F, Doi Y, Sato T. Granulocyte colony · stimulating factor activates cell survival signaling cascade to protect cardiomyocyte from cell death. 第 69 回日本循環器学会総会・学術集会, 横浜市, 2005.03
17. Katare RG, Ando M, Kakinuma Y, Yamasaki F, Sato T. Vagal nerve stimulation activates TNF α and protects heart against acute ischemic injury. 第 69 回日本循環器学会総会・学術集会, 横浜市, 2005.03
18. Yamasaki F, Sato K, Ando M, Doi Y, Sugiura T, Sato T. Noninvasive approach for manipulating arterial pressure(AP) using abdominal air shock pants. 第 69 回日本循環器学会総会・学術集会, 横浜市, 2005.03
19. Sato K, Yamasaki F, Furuno T, Sato T, Sugiura T, Doi Y. Prognostic value of nonlinear heart rate dynamics in chronic atrial fibrillation patients. 第 69 回日本循環器学会総会・学術集会, 横浜市, 2005.03
20. Sato K, Yamasaki F, Ando M, Kitaoka H, Takata J, Sugiura T, Sato T, Doi Y. Abnormal response of core and skin temperature to mild exercise in chronic heart failure: relation to BNP level. 第 69 回日本循環器学会総会・学術集会, 横浜市, 2005.03

G-3.総説

1. 佐藤隆幸. 神経インターフェイス技法を用いた心

不全治療と術中血圧制御. 循環制御 25: 348-351, 2004

2. 佐藤隆幸. 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. 循環制御 25: 23-27, 2004

G-4.新聞報道

1. バイオニック医療「血圧を電気信号で制御」について紹介された。2004年6月1日付 日経産業新聞
2. 「血圧低下を秒単位で回復 バイオニック医療の新装置 高知大、最先端を走る」として共同通信社の医療新世紀最新医療情報記事で紹介された (2004.10.12)。岩手日報(2004.10.04), デーリー東北 (2004.10.05), 西日本新聞(2004.10.06), 高知新聞(2004.10.16), 熊本日日新聞 (2004.11.24) 他多数

H.知的所有権の取得状況

1. 発明人: 小椋敏彦, 佐藤隆幸, 山崎文靖, 発明の名称: 生体圧迫装置および血圧測定装置, 出願番号: 特願 2004-171876
2. 発明人: 小椋敏彦, 佐藤隆幸, 山崎文靖, 発明の名称: 自動血圧制御装置, 出願番号: 特願 2004-171875

植込み型突然死防止装置の開発
自律神経刺激による急性虚血時不整脈の治療法の開発

分担研究者 砂川 賢二（九州大学大学院 教授）

研究要旨：

交感神経活動の異常亢進や迷走神経活動の低下は、急性心筋梗塞の予後の増悪因子と考えられている。これまでに、迷走神経刺激が、致死性不整脈の抑制と血行動態の維持によって、急性心筋梗塞後の生存率を劇的に改善することが明らかとなっているが、その詳細な機序は不明である。一方、迷走神経刺激は肝臓でのサイトカインの合成・放出などの炎症作用を抑制することが知られている。本研究では、抗炎症作用が迷走神経刺激による心筋梗塞急性期の血行動態の改善に関与するかどうかを検討した。その結果、迷走神経遠心路の電気刺激による心筋梗塞急性期の血行動態の改善に、腹部迷走神経による抗炎症作用が関与していると考えられた。

A. 研究目的

重症心不全は発達した現代医療をもってしてもなお予後の不良な疾患である。心臓移植や人工心臓はまだ多くの問題点があり、心不全患者の治療には、画期的な治療戦略が求められている。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治療機器の開発に向けて、神経刺激による致死性不整脈の予防的治療法を確立することである。

急性心筋梗塞後の致死性不整脈の発生には、交感神経活動の異常亢進や交感神経活動と迷走神経活動の異常バランスが関与していると考えられる。現在、臨床治療法として β 遮断薬が広く用いられるようになり、亢進した交感神経活動を抑制することで、致死性不整脈による突然死が予防されることが明らかとなってきたが、 β 遮断薬による治療には限界もある。これまでに、私たちは迷走神経の直接電気刺激が、ラットにおける急性心筋梗塞や慢性心不全の生存率を大幅に改善することを

報告した。しかしながら、その詳細な機序は不明である。最近、迷走神経刺激が肝臓でのサイトカインの合成・放出などを抑制し、抗炎症作用を示すことが報告されている。そこで、本研究では、この抗炎症作用が迷走神経刺激による心筋梗塞急性期の血行動態の改善及び生存率改善に関与するかどうかを検討した。

B. 研究方法

12週令の雄性 Spregue-Dawley ラットを用い、腹部迷走神経非切断+頸部迷走神経刺激群（IVNS, n=20）、腹部迷走神経切断+頸部迷走神経刺激群（DVNS, n=19）、迷走神経非刺激群（SHAM, n=20）における急性心筋梗塞後の血行動態および生存率を検討した。1%ハロセン吸入麻酔下に、右頸静脈よりポリエチレンチューブを右心房に挿入し、右大腿動脈よりカテ先血圧計（2Fr）を挿入して、右房圧、動脈血圧を計測した。開胸後、左室心尖部よりカテ先血圧計（2Fr）を挿入し、超音波血

流計 (2.5mm) を上行大動脈に装着して、左室圧、心拍出量を計測した。また、同時に体表表面心電図も記録した。頸部において右迷走神経を剖出して切断し、迷走神経遠心端に白金電極を装着しシリコン接着剤で固定した。DVNS 群では、さらに、横隔膜直下で迷走神経を切断した。左冠状動脈の基部から2~3mmの部位を結紮して、梗塞面積が左心室断面積の40%以上になる重症急性心筋梗塞を作成した。結紮2分後から右迷走神経遠心路を60分間電気刺激した。刺激は2.0V、刺激パルス幅2ms、刺激頻度は5 Hzに固定し、この間の血行動態を連続的に記録した。迷走神経刺激の終了後、ラットを安楽死させ肝臓を摘出し、肝臓組織のTNF- α とIL-1 β を測定した。

(倫理面への配慮)

動物実験は、「動物の保護及び管理に関する法律」(昭和48年10月1日法律第105号)、及びこの法律を受けた「実験動物の飼育及び保管等に関する基準」(昭和55年3月27日総理府告示第6号)に基づき、当該施設の動物委員会で承認された方法で行った。適切な麻酔剤を用い動物の苦痛の軽減に努め、実験計画を綿密に練ることにより不必要な動物実験を避けた。

C. 研究結果

C-1. 迷走神経刺激が腹部迷走神経を介して急性心筋梗塞後の生存率に及ぼす影響

心筋梗塞作成後1時間まで観察した結果、SHAM 群は心筋梗塞作成後30分以内に全例死亡し、生存率は0%であった。これに対して、心筋梗塞後に迷走神経刺激治療を行なったところ、IVNS 群での生存率は90%、DVNS 群での生存率は79%であった。迷走神経刺激治療は心筋梗塞後の生存率を劇的に改善した(図C-1)。IVNS 群とDVNS 群の生存率の差は有意ではなく、腹部迷走神経を介した迷走神経刺激の生存率への影響は明らかでなかった。

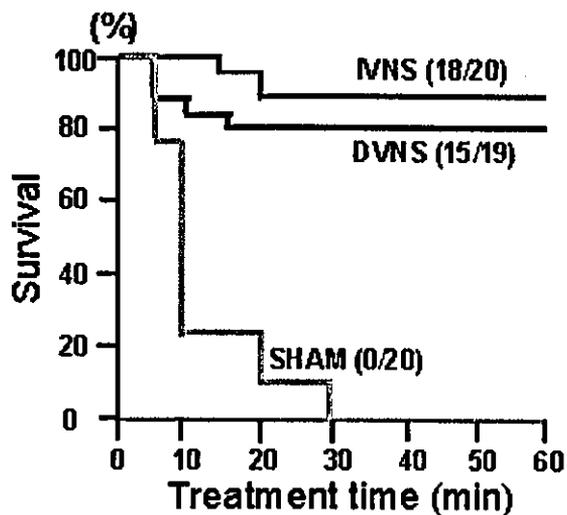


図 C-1 迷走神経刺激による急性心筋梗塞後生存率の改善

C-2. 頸部迷走神経刺激が腹部迷走神経を介して急性心筋梗塞後の血行動態に及ぼす影響

最後まで血行動態が測定できたラットは、IVNS 群で18頭、DVNS 群では15頭であった。心拍数の経時的推移は、IVNS 群とDVNS 群に有意差を認めなかった。平均血圧は、IVNS 群ではDVNS 群と比し有意に高値で推移した (IVNS 群: 88 ± 9 vs DVNS 群: 71 ± 10 mmHg, $p < 0.01$)。

心拍出量(体重当たり)は、IVNS 群とDVNS 群ともに、心筋梗塞作成前と比し心筋梗塞後1時間で有意に低下した (IVNS 群: 93 ± 13 (梗塞前) vs 114 ± 8 ml/min/kg (梗塞後), $p < 0.01$, DVNS 群: 77 ± 11 (梗塞前) vs 108 ± 6 ml/min/kg (梗塞後), $p < 0.001$)。心筋梗塞後1時間の心拍出量は、IVNS 群で有意に高かった (IVNS 群: 93 ± 13 vs DVNS 群: 77 ± 12 ml/min/kg, $p < 0.01$)。

左心室収縮性の一指標である左室圧の一次微分最大値 (dp/dt_{max}) はIVNS 群で有意に大きかった (IVNS 群: 3122 ± 483 mmHg/sec vs DVNS 群: 2688 ± 226 mmHg/sec, $p < 0.05$) (図C-2)。

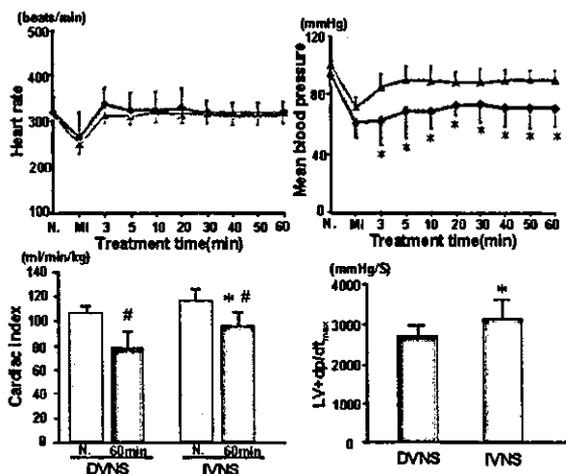


図 C-2 迷走神経刺激が腹部迷走神経を介して急性心筋梗塞後の血行動態に及ぼす影響

C-3. 頸部迷走神経刺激が腹部迷走神経を介して肝臓組織内サイトカインの合成・放出に及ぼす影響

心筋梗塞作成 60 分後の肝臓組織内の TNF- α 濃度は IVNS 群では有意に低く (IVNS 群: 128 ± 8 ng/g vs DVNS 群: 138 ± 5 ng/g, $p < 0.05$)、IL-1 β 濃度も IVNS 群で有意に低かった (IVNS 群: 2174 ± 481 pg/g vs DVNS 群: 2739 ± 774 pg/g, $p < 0.05$) (図 C-3)。迷走神経刺激は、腹部迷走神経を介して、肝臓組織内炎症性サイトカインの合成・放出を抑制していると考えられた。

迷走神経刺激治療による急性心筋梗塞後生存率の改善効果は主に心臓迷走神経を介したものと考えられるが、腹部迷走神経は肝臓組織内サイトカイン合成・放出を抑制して、抗炎症作用を介して血行動態の改善に関与していると推測された。

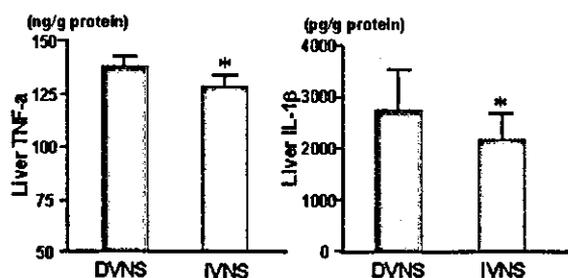


図 C-3 頸部迷走神経刺激が腹部迷走神経を介して肝臓組織内炎症性サイトカイン濃度に及ぼす影響

D. 考察

自律神経活動の異常は心筋梗塞直後の血圧維持や致死性不整脈の発生と深く関わっていると考えられている。

本研究では、迷走神経の電気刺激による心筋梗塞急性期の血行動態の改善に、腹部迷走神経が関与するか否かを検討した。その結果、頸部迷走神経刺激による心筋梗塞急性期の血行動態の改善に、腹部迷走神経の活性化が関与していることが推測された。しかしながら、頸部迷走神経刺激による心筋梗塞急性期生存率の改善は、主として心臓迷走神経を介した直接効果によるものであり、腹部迷走神経を介した影響は少ないことが示唆された。

近年、迷走神経系が肝臓など末梢網内系のサイトカインの合成・放出などを調節するという報告がなされている。本研究の検討でも、心筋梗塞急性期における肝臓での炎症性サイトカインの放出が迷走神経刺激によって抑制されることが明らかとなった。これは、腹部迷走神経終末から放出されるアセチルコリンが、末梢網内細胞系組織内のニコチン様受容体と結合して、組織内のサイトカイン合成・放出を抑制することによると考えられている。これらの炎症性サイトカインは循環障害をもたらすことが知られており、これらのサイトカインの放出を抑制する抗炎症作用が迷走神経刺激による血行動態の改善に関与している可能性がある。また、この抗炎症作用は慢性心不全における迷走神経刺激による心臓リモデリング防止効果にも関与している可能性があるため、今後の検討が必要である。

今後、迷走神経刺激による治療効果の機序

に関する検討をさらに進めるとともに、臨床応用をめざして、動物種差による効果の差を含め大動物での有効性及安全性を調べる必要がある。

E. 結論

心不全の生命予後は現在も不良であり従来の概念を超えた新たな治療体系が求められている。心疾患の重症化には循環調節機能の破綻が深く関与することから、私たちは破綻した自律神経系に介入して致死性不整脈や突然死を予防する方法を開発している。

本研究では、頸部迷走神経刺激による心筋梗塞急性期の血行動態の改善に、腹部迷走神経を介した抗炎症作用が関与している可能性を明らかにした。一方、頸部迷走神経刺激による心筋梗塞急性期生存率の改善は主に心臓迷走神経を介した直接効果によると考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

G-1. 論文

1. Uemura K, Kawada T, Kamiya A, Aiba T, Hidaka I, Sunagawa K, Sugimachi M. Prediction of circulatory equilibrium in response to changes in stressed blood volume. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* in press 2005
2. Aiba T, Shimizu W, Inagaki M, Noda T, Miyoshi S, Ding WG, Zankov DP, Toyoda F, Matsuura H, Horie M, Sunagawa K. Cellular and ionic mechanism for drug-induced long QT syndrome and effectiveness of verapamil. *J Am Coll Cardiol* 45: 300-307, 2005
3. Tahara N, Takaki H, Taguchi A, Suyama K, Kurita T, Shimizu W, Miyazaki S, Kawada T, Sunagawa K. Pronounced HR variability after exercise in inferior ischemia: evidence that the cardioinhibitory vagal reflex is invoked by exercise-induced inferior ischemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 288: H1179- H1185, 2005
4. Kashihara K, Kawada T, Li M, Sugimachi M, Sunagawa K. Bezold-Jarisch reflex blunts arterial baroreflex via the shift of neural arc toward lower sympathetic nerve activity. *Jpn J Physiol* 54: 395-404, 2004
5. Uemura K, Kawada T, Sugimachi M, Zheng C, Kashihara K, Sato T, Sunagawa K. A self-calibrating telemetry system for measurement of ventricular pressure-volume relations in conscious, freely moving rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 287: H2906-H2913, 2004
6. Kashihara K, Kawada T, Uemura K, Sugimachi M, Sunagawa K. Adaptive predictive control of arterial blood pressure based on a neural network during acute hypotension. *Ann Biomed Eng* 32: 1365-1383, 2004
7. Sugimachi M, Okamoto H, Hoka S, Sunagawa K. Faster oscillometric manometry does not sacrifice the accuracy of blood pressure determination. *Blood Press Monit* 9: 135-141, 2004
8. Yanagiya Y, Sato T, Kawada T, Inagaki M, Tatewaki T, Zheng C, Kamiya A, Takaki H, Sugimachi M, Sunagawa K. Bionic epidural stimulation restores arterial pressure regulation during orthostasis. *J Appl Physiol* 97: 984-990, 2004
9. Miyamoto T, Kawada T, Yanagiya Y,

- Inagaki M, Takaki H, Sugimachi M, Sunagawa K. Cardiac sympathetic nerve stimulation does not attenuate dynamic vagal control of heart rate via alpha-adrenergic mechanism. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 287: H860-H865, 2004
10. Kawada T, Uemura K, Kashihara K, Kamiya A, Sugimachi M, Sunagawa K. A derivative-sigmoidal model reproduces operating point-dependent baroreflex neural arc transfer characteristics. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 286: H2272-H2279, 2004
 11. Kawada T, Miyamoto T, Uemura K, Kashihara K, Kamiya A, Sugimachi M, Sunagawa K. Effects of neuronal norepinephrine uptake blockade on baroreflex neural and peripheral arc transfer characteristics. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 286: R1110-R1120, 2004
 12. Uemura K, Sugimachi M, Kawada T, Kamiya A, Jin Y, Kashihara K, Sunagawa K. A novel framework of circulatory equilibrium. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 286: H2376-H2385, 2004
 13. 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
 14. Yamamoto K, Kawada T, Kamiya A, Takaki H, Miyamoto T, Sugimachi M, Sunagawa K. Muscle mechanoreflex induces the pressor response by resetting the arterial baroreflex neural arc. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 286: H1382-H1388, 2004
 15. Aiba T, Shimizu W, Inagaki M, Satomi K, Taguchi A, Kurita T, Suyama K, Aihara N, Sunagawa K, Kamakura S. Excessive increase in QT interval and dispersion of repolarization predict recurrent ventricular tachyarrhythmia after amiodarone. *Pacing Clin Electrophysiol* 27: 901-909, 2004
 16. Sakuragi S, Takaki H, Taguchi A, Suyama K, Kurita T, Shimizu W, Kawada T, Ishida Y, Ohe T, Sunagawa K. Diagnostic value of the recovery time-course of ST slope on exercise ECG in discriminating false-from true-positive ST-segment depressions. *Circ J* 68: 915-922, 2004
 17. Kimura Y, Hirooka Y, Sagara Y, Ito K, Kishi T, Shimokawa H, Takeshita A, Sunagawa K. Overexpression of inducible nitric oxide synthase in rostral ventrolateral medulla causes hypertension and sympathoexcitation via an increase in oxidative stress. *Circ Res* 96: 252-360, 2005
 18. Nishida T, Shimokawa H, Oi K, Tatewaki H, Uwatoku T, Abe K, Matsumoto Y, Kajihara N, Eto M, Matsuda T, Yasui H, Takeshita A, Sunagawa K. Extracorporeal cardiac shock wave therapy markedly ameliorates ischemia-induced myocardial dysfunction in pigs in vivo. *Circulation* 110: 3055-3061, 2004
 19. Ohtani K, Egashira K, Hiasa K, Zhao Q, Kitamoto S, Ishibashi M, Usui M, Inoue S, Yonemitsu Y, Sueishi K, Sata M, Shibuya M, Sunagawa K. Blockade of vascular endothelial growth factor suppresses experimental restenosis after intraluminal injury by inhibiting recruitment of monocyte lineage cells. *Circulation* 110: 2444-2452, 2004
 20. Zhao Q, Egashira K, Hiasa K, Ishibashi M, Inoue S, Ohtani K, Tan C, Shibuya M, Takeshita A, Sunagawa K.

- Essential role of vascular endothelial growth factor and Flt-1 signals in neointimal formation after periadventitial injury. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 24: 2284-2289, 2004
21. Sakuragi S, Takaki H, Taguchi A, Suyama K, Kurita T, Shimizu W, Kawada T, Ishida Y, Ohe T, Sunagawa K. Diagnostic value of the recovery time-course of ST slope on exercise ECG in discriminating false from true-positive ST-segment depressions. *Circ J* 68: 915-922, 2004
 22. Ito K, Hirooka Y, Sagara Y, Kimura Y, Kaibuchi K, Shimokawa H, Takeshita A, Sunagawa K. Inhibition of Rho-kinase in the brainstem augments baroreflex control of heart rate in rats. *Hypertension* 44: 478-483, 2004
 23. Ishibashi M, Egashira K, Zhao Q, Hiasa K, Ohtani K, Ihara Y, Charo IF, Kura S, Tsuzuki T, Takeshita A, Sunagawa K. Bone marrow-derived monocyte chemoattractant protein-1 receptor CCR2 is critical in angiotensin II-induced acceleration of atherosclerosis and aneurysm formation in hypercholesterolemic mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 24: e174-e178, 2004
 24. Aiba T, Shimizu W, Inagaki M, Satomi K, Taguchi A, Kurita T, Suyama K, Aihara N, Sunagawa K, Kamakura S. Excessive increase in QT interval and dispersion of repolarization predict recurrent ventricular tachyarrhythmia after amiodarone. *Pacing Clin Electrophysiol* 27: 901-909, 2004
 25. Akiyama T, Yamazaki T, Mori H, Sunagawa K. Simultaneous monitoring of acetylcholine and catecholamine release in the in vivo rat adrenal medulla. *Neurochem Int* 44: 497-503, 2004
 26. Akiyama T, Yamazaki T, Mori H, Sunagawa K. Effects of Ca²⁺ channel antagonists on acetylcholine and catecholamine releases in the in vivo rat adrenal medulla. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 287: R161-R166, 2004
 27. Nishimura S, Yasuda S, Katoh M, Yamada KP, Yamashita H, Saeki Y, Sunagawa K, Nagai R, Hisada T, Sugiura S. Single cell mechanics of rat cardiomyocytes under isometric, unloaded, and physiologically loaded conditions. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 287: H196-H 202, 2004
- G-2.学会発表
1. Toru Kawada, Toji Yamazaki, Tsuyoshi Akiyama, Atsunori Kamiya, Kenji Sunagawa. Vagal stimulation suppresses ischemia-induced myocardial norepinephrine release. *Experimental Biology* 2004. The FASEB Journal A262, 2004
 2. Kazunori Uemura, Koji Kashihara, Toru Kawada, Masaru Sugimachi, Kenji Sunagawa. A comprehensive physiological model of circulation for automatic piloting hemodynamics in patients with acute heart failure. *Experimental Biology* 2004. The FASEB Journal A647, 2004
 3. Toru Kawada, Kenta Yamamoto, Kazunori Uemura, Atsunori Kamiya, Kenji Sunagawa. Simple summation with threshold explains the interaction between the arterial baroreflex and muscle mechanoreflex in determining sympathetic nerve activity.

- Experimental Biology 2004. The FASEB Journal A1079, 2004
4. Atsunori Kamiya, Toru Kawada, Kenta Yamamoto, Masaru Sugimachi, Kenji Sunagawa. Muscle sympathetic nerve activity parallels cardiac and renal sympathetic nerve activity. Experimental Biology 2004. The FASEB Journal A1081, 2004
 5. 神谷 厚範、川田 徹、杉町 勝、砂川 賢二 圧反射性交感神経調節の動的静的中枢特性を評価する無侵襲的方法の開発：フェニレフリン・ニトロプルシド法の新展開 第43回日本エム・イー学会大会 医用電子と生体工学 第42巻 115、2004
 6. 宮本 忠吉、稲垣 正司、高木 洋、川田 徹、山元 健太、杉町 勝、砂川 賢二 身体コンディショニングが呼吸化学調節系の運動適応機構に及ぼす影響 第43回日本エム・イー学会大会 医用電子と生体工学 第42巻 218、2004
 7. 高木 洋、猪野 靖、川田 徹、杉町 勝、砂川 賢二 慢性心不全患者における運動時呼吸異常による予後予測 第43回日本エム・イー学会大会 医用電子と生体工学 第42巻 221、2004
 8. 上村 和紀、柏原 考爾、川田 徹、杉町 勝、砂川 賢二 覚醒・非拘束ラットにおける、Bluetooth 無線を用いた植込み型心室圧容積遠隔測定システム 第43回日本エム・イー学会大会 医用電子と生体工学 第42巻 368、2004
 9. 柏原 考爾、川田 徹、上村 和紀、杉町 勝、砂川 賢二 ニュートラルネットワークによる適応予測制御方式を用いた自動薬剤投与システムの開発 第43回日本エム・イー学会大会 医用電子と生体工学 第42巻 381、2004
 10. 杉町 勝、稲垣 正司、川田 徹、高木 洋、佐藤 隆幸、砂川 賢二 完全植込型のバイオニック治療機器の開発 第43回日本エム・イー学会大会 医用電子と生体工学 第42巻 382、2004
 11. 神谷 厚範、川田 徹、杉町 勝、砂川 賢治 圧反射性交感神経制御の伝達特性を推定する新しい非侵襲的方法：体血圧から交換神経活動を高精度に推定する 第43回日本エム・イー学会大会 医用電子と生体工学 第42巻 443、2004
 12. 上村 和紀、柏原 考爾、川田 徹、杉町 勝、砂川 賢二 血行動態の解析および予測を正確にする、新たな統合的循環平衡の枠組み 第43回日本エム・イー学会大会 医用電子と生体工学 第42巻 440、2004
 13. 田辺 慎一、植村 俊雄、鄭 燦、川田 徹、杉町 勝、砂川 賢二 シリコンシーブ電極の自律神経系への応用 第43回日本エム・イー学会大会 医用電子と生体工学 第42巻 427、2004
 14. 稲垣 正司、杉町 勝、砂川 賢二 超ICD 開発プロジェクト 第43回日本エム・イー学会大会 医用電子と生体工学 第42巻 383、2004
 15. Takeshi Aiba, Wataru Shimizu, Kazuhiro Satomi, Kazuhiro Suyama, Takashi Kurita, Naohiko Aihara, Kengi Sunagawa, Shiro Kamakura. Clinical implication of body surface mapping for predicting reentrant circuits of atrial tachycardia after surgery for congenital heart disease. 25th Annual Scientific Sessions of NASPE – Heart Rhythm Society. Heart Rhythm S102, 2004

16. Toru Kawada, Toji Yamazaki, Masaru Sugimachi, Kenji Sunagawa. Disruption of cardiac vagal nerve terminal function in the ischemic myocardium. The Proceedings of the 81th Annual Meeting. Japanese Journal of Physiology S61, 2004
17. Masaru Sugimachi, Kazunori Uemura, Koji Kashihara, Toru Kawada, Kenji Sunagawa. Construction of comprehensive cardiovascular model to guide optimal treatment of acute left heart failure. The Proceedings of the 81th Annual Meeting. Japanese Journal of Physiology S95, 2004
18. Atsunori Kamiya, Toru Kawada, Masaru Sugimachi, Kenji Sunagawa. Muscle sympathetic nerve activity (SNA) parallels renal and cardiac SNAs in response to baroreflex. The Proceedings of the 81th Annual Meeting. Japanese Journal of Physiology S202, 2004
19. 佐藤 隆幸、安藤 元紀、李 梅花、鄭 燦、砂川 賢二、山崎 文靖 神経インターフェイス技法を用いた心不全治療と術中血圧制御 第 25 回日本循環制御医学会総会 循環制御 36、2004
20. 上村 和紀、川田 徹、柏原 考爾、杉町 勝、砂川 賢二 血行動態の解析および予測を正確にする、新たな統合的循環平衡の枠組み 第 25 回日本循環制御医学会総会 循環制御 90、2004
21. 上村 和紀、川田 徹、柏原 考爾、杉町 勝、砂川 賢二 覚醒・非拘束ラットにおける、Bluetooth を用いた埋め込み型心室圧容積遠隔測定システム 第 25 回日本循環制御医学会総会 循環制御 91、2004
22. 山元 健太、川田 徹、神谷 厚範、高木 洋、宮本 忠吉、杉町 勝、砂川 賢二 交感神経活動調節における動脈圧反射と筋機械受容器反射との相互作用は閾値付き加算モデルで説明できる 第 25 回日本循環制御医学会総会 循環制御 93、2004
23. 道上 大策、川田 徹、神谷 厚範、山元 健太、有海 秀人、杉町 勝、砂川 賢二 低周波鍼刺激は動脈圧反射の中樞弓をシフトさせる 第 25 回日本循環制御医学会総会 循環制御 94、2004
24. 李 梅花、鄭 燦、川田 徹、稲垣 正司、佐藤 隆幸、杉町 勝、砂川 賢二 Chronic vagal stimulation therapy exerts beneficial effects on failing hearts through a different mechanism from its adrenergic antagonism 第 25 回日本循環制御医学会総会 循環制御 96、2004
25. 有海 秀人、李 梅花、鄭 燦、神谷 厚範、川田 徹、稲垣 正司、佐藤 隆幸、杉町 勝、砂川 賢二 大動脈減圧神経刺激による急性心筋梗塞後生存率の改善 第 25 回日本循環制御医学会総会 循環制御 97、2004
26. Masaru Sugimachi, Kazunori Uemura, Toru Kawada, Atsunori Kamiya, Kenji Sunagawa. A comprehensive physiological model of circulation enables automatic piloting of hemodynamics in patients with acute heart failure. Cardiovascular System Dynamics Society, XVI International Congress. 45, 2004
27. Hideyuki Sasaki, Hiroshi Takaki, Yoichi Goto, Kenji Sunagawa.

- Spontaneous breath-by-breath variations (fast but random) in exercise VO_2 are reduced in patients with chronic heart failure. ESC Congress. European Heart Journal 162, 2004
28. Hideyuki Sasaki, Hiroshi Takaki, Yoichi Goto, Kenji Sunagawa. Incidence of symptomatic hypotension after strenuous exercise is reduced after exercise training in patients with acute myocardial infarction. ESC Congress. European Heart Journal 322, 2004
 29. Hiroyuki Yamamoto, Hiroshi Takaki, Jun Tamai, Yoichi Goto, Kenji Sunagawa. Slow VO_2 oscillations during exercise is attenuated immediately after PTMC even when peak VO_2 did not significantly increased. ESC Congress. European Heart Journal 362, 2004
 30. Koji Kashihara, Toru Kawada, Kazunori Uemura, Masaru Sugimachi, Kenji Sunagawa. Adaptive predictive control using a neural network in acute hypotension. IFAC Workshop on Adaptation and Learning in Control and Signal Processing, and IFAC Workshop on Periodic Control Systems. 499, 2004
 31. Masashi Inagaki, Ichiro Hidaka, Takashi Aiba, Teiji Tatewaki, Kenji Sunagawa, Masaru Sugimachi. High resolution optical mapping of cardiac action potentials in freely beating rabbit hearts. 26th Annual International Conference of the IEEE EMBS. 371, 2004
 32. 稲垣 正司、杉町 勝、日高 一郎、野田 崇、相庭 武司、立脇 禎二、砂川 賢二 肺静脈入口部付近の解剖学的構造と心房細動の機序：コンピューター・シミュレーションによる検討 第 21 回日本心電学会学術集会 心電図 24 (5) 366, 2004
 33. 日高 一郎、稲垣 正司、杉町 勝、砂川 賢二 多点オーバードライブペーシングを用いた超低電流除細動法の開発 第 21 回日本心電学会学術集会 心電図 24 (5) 373, 2004
 34. Kenta Yamamoto, Toru Kawada, Atsunori Kamiya, Hiroshi Takaki, Masaru Sugimachi, Kenji Sunagawa. Arterial baroreflex and muscle mechanoreflex mutually change the response range of sympathetic nerve activity in the other reflex. 2004 APS Intersociety Meeting: Integrative Biology of Exercise. The Physiologist 47(4) 275, 2004
 35. 稲垣 正司、平林 智子、久田 俊明、日高 一郎、野田 崇、相庭 武司、立脇 禎二、砂川 賢二、杉町 勝 心臓の機械-電気帰還現象と機械的刺激により誘発される不整脈 第 18 回日本エム・イー学会秋季大会 生体医工学 第 42 巻 特別号 II 87, 2004
 36. Meihua Li, Can Zheng, Toru Kawada, Masashi Inagaki, Toshiaki Shishido, Takayuki Sato, Kenji Sunagawa. Chronic Vagal Stimulation Exerts its Beneficial Effects on the Failing Heart Independently of its Anti- β -Adrenergic Mechanism. AHA. Circulation, Supplement III, Vol 110(17) III-84,

- 2004
37. Takeshi Aiba, Ichiro Hidaka, Wataru Shimizu, Kazunori Uemura, Masashi Inagaki, Masaru Sugimachi, Kenji Sunagawa. Steep Repolarization Gradient is Required for Development of Phase 2 Reentry and Subsequent Ventricular Tachyarrhythmias in a Model of the Brugada Syndrome: High-Resolution Optical Mapping Study. AHA. Circulation, Supplement III, Vol 110(17) III-318, 2004
38. Takeshi Aiba, Ichiro Hidaka, Wataru Shimizu, Masashi Inagaki, Kazunori Uemura, Masaru Sugimachi, Kenji Sunagawa. Steep repolarization gradient in the epicardium develops phase-2 reentry and subsequent ventricular tachyarrhythmias in a model of the brugada syndrome. 第 69 回 日本循環器学会 Circulation Journal Supplement I, Vol.69, 165, 2005
39. Meihua Li, Can Zheng, Toru Kawada, Masashi Inagaki, Masaru Sugimachi, Takayuki Sato, Kenji Sunagawa. Effects of abdominal vagal nerve activation on hemodynamics of acute myocardial infarction. 第 69 回 日本循環器学会 Circulation Journal Supplement I, Vol.69, 265, 2005
40. Meihua Li, Can Zheng, Masashi Inagaki, Toru Kawada, Masaru Sugimachi, Takayuki Sato, Kenji Sunagawa. Chronic vagal stimulation decreased vasopressin secretion and sodium ingestion in heart failure rats after myocardial infarction. 第 69 回 日本循環器学会 Circulation Journal Supplement I, Vol.69, 266, 2005
41. Teiji Tatewaki, Masashi Inagaki, Masaru Sugimachi, Kenji Sunagawa. Intravascular parasympathetic cardiac nerve stimulation prevents ventricular arrhythmias during acute coronary ischemia. 第 69 回 日本循環器学会 Circulation Journal Supplement I, Vol.69, 270, 2005
42. Toru Kawada, Toji Yamazaki, Tsuyoshi Akiyama, Kazunori Uemura, Toshiaki Shishido, Can Zheng, Meihua Li, Masaru Sugimachi, Kenji Sunagawa. Acute myocardial ischemia causes local glutamate release via retrograde transport of glutamate transporters. 第 69 回 日本循環器学会 Circulation Journal Supplement I, Vol.69, 278, 2005
43. Can Zheng, Meihua Li, Takayuki Sato, Masashi Inagaki, Toru Kawada, Masaru Sugimachi, Kenji Sunagawa. Vagal stimulation markedly suppresses arrhythmias in conscious rats with chronic heart failure after large myocardial infarction. 第 69 回 日本循環器学会 Circulation Journal Supplement I, vol.69, 408, 2005
44. Kazunori Uemura, Toru Kawada, Toshiaki Shishido, Takeshi Aiba, Kenji Sunagawa, Masaru Sugimachi. Estimation of preload recruitable stroke work relationship from steady-state hemodynamics without recording ventricular pressure-volume relationship. 第 69 回 日本循環器学会 Circulation Journal Supplement I,

- vol.69, 522, 2005
45. Takashi Noda, Masashi Inagaki, Takeshi Aiba, Ichiro Hidaka, Teiji Tatewaki, Can Zheng, Wataru Shimizu, Kenji Sunagawa, Masaru Sugimachi. Ischemia induced conduction delay plays a key role in predisposing the heart to ventricular fibrillation. 第69回日本循環器学会 Circulation Journal Supplement I, vol.69, 608, 2005
46. Tadayoshi Miyamoto, Masashi Inagaki, Hiroshi Takaki, Toshiaki Shishido, Toru Kawada, Kenji Sunagawa, Masaru Sugimachi. Regular exercise training attenuates exercise hyperpnea through desensitization of the respiratory central controller. 第69回日本循環器学会 Circulation Journal Supplement I, vol.69, 643, 2005
47. Hideto Ariumi, Toru Kawada, Takayuki Sato, Kenji Sunagawa, Masaru Sugimachi. Aortic depressor nerve stimulation markedly improves the survival rate after acute myocardial infarction in rats. 第69回日本循環器学会 Circulation Journal Supplement I, vol.69, 646, 2005

G-3.新聞報道

なし

H.知的所有権の取得状況

1. 国際特許出願

心疾患診断システム

出願日 2004年11月18日出願

発明者 上村 和紀、神谷 厚範、杉町

勝、砂川 賢二

出願番号 PCT/JP04/17153

2. 国際特許出願

心疾患治療システム

出願日 2004年11月18日出願

発明者 上村 和紀、神谷 厚範、杉町

勝、砂川 賢二

出願番号 PCT/JP04/17154

3. 国際特許出願

頸部圧力負荷による自律神経治療装置

出願日 2005年1月27日出願

発明者 神谷 厚範、川田 徹、杉町 勝、

砂川 賢二

心臓シミュレータの開発、シミュレーションによる電極・通電法の設計に関する研究

分担研究者 久田 俊明（東京大学大学院 教授）

研究要旨：

植え込み型除細動装置(ICD)の通電方法、電極配置を合理的に決定するため、計算機上に致死性不整脈を高精度にシミュレートすることのできる胸部部を含む仮想心臓モデルを開発した。これを用いてICD作動時の除細動現象をシミュレートすることが出来た。また除細動成功時と失敗時のトルソ内電位勾配に関する比較を行い知見を得た。さらに仮想電極現象を再現し分析を行った。

A. 研究目的

植え込み型除細動装置(ICD)の通電方法、電極配置を合理的に決定するためには、計算機上に致死性不整脈を高精度にシミュレートすることのできる仮想心臓モデルを開発する必要がある。このシミュレーションを行うためには、心臓と接する胸部領域の有限要素法によるモデル化、並びに細胞外電位も未知変数とするbi-domainモデルの使用が不可欠となるため、大規模な連立一次方程式を高速で解くソルバの開発と、効率的に細胞電気生理モデル(Luo-Rudyモデル^[1])を計算するための高速化、並列化の工夫が実用上重要な課題となる。本年度、研究分担者らのグループでは、マルチグリッド法^[2]、選択型時間積分などの諸手法を適用する事により、ICD設計の実用に耐え得る高精度かつ高速なシミュレータを開発した。

B. 研究方法

B-1 有限要素法を用いた定式化

B-1-1 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^[3]の神経線維活動電位モデルを原型として始まり、1991年には、LuoとRudyにより心筋細胞の活動電位、各イオンのdynamicsを表現する「Luo-Rudyモデル」として発展を見た。LRモデルはその後改良が繰り返され、筋小胞体、Ca結合蛋白を加えたものも発表されている^[4]が、植え込み型除細動シミュレータの開発においては心筋細胞の興奮、回復過程が記述されていれば十分であると考えられる事から、今回は計算量の少ないLR91モデル^[1]を採用した。

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(V)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 ゲートの数を表す指数

H : h ゲートの数を表す指数

この活性化変数 m および不活性化変数 h は、イオンチャンネルの状態を制御する因子であるためゲート変数と呼ばれ、その時間発展は次の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。 α および β 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} は膜電位に依存して時間発展的に定まるが、同時にイオン電流の生じる時間長さや膜電位は g_{ion} の特性に支配されることになる。

LR91モデルでは、心筋細胞の6種類のイオン電流(I_{Na} :Na⁺電流、 I_{Si} :Caイオンによる遅い内向き電流、 I_K :時間依存性の外向きK⁺電流、 I_{K1} :時間非依存性の外向きK⁺電流、 I_{Kp} :プラト-相において働く外向きK⁺電流、 I_b :漏洩電流)をHodgkin-Huxley方程式と同様の形式でモデル化し、膜電位、細胞内の各種イオン濃度の時刻歴を記述する。一方、ICDに起因する高電位差が細胞膜に付加された場合を考慮し、本研究では I_{ep} :Electroporation電流を表す項を付け加えた^[5]。また、LR91は、モルモットの心筋細胞のモデルであるため、モデルのパラメータを人間のAPDに合うよう調整した。使用したパラメータを表1に、得られた活動電位の時刻歴を図1に示す。

$$\frac{dV}{dt} = -\frac{1}{C} (I_{Na} + I_{Si} + I_K + I_{K1} + I_{Kp} + I_b + I_{ep})$$

$$I_{Na} = 23m^3 \cdot h \cdot j \cdot (V - E_{Na})$$

$$I_{Si} = G_{Si} \cdot d \cdot f \cdot (V - E_{Si})$$

$$I_K = G_K \cdot X \cdot X_i \cdot (V - E_K)$$

$$I_{K1} = G_{K1} \cdot K_{1\infty} \cdot (V - E_{K1})$$

$$I_{Kp} = 0.0183 \cdot K_p \cdot (V - E_{Kp})$$

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

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

$$\frac{dx}{dt} = \alpha_x \cdot (1-x) - \beta_x \cdot x$$

$$I_{ep} = G_{ep} V$$

$$\frac{dG_{ep}}{dt} = \alpha \cdot e^{\beta(V)^2} (1 - e^{-\gamma(V)^2})$$

V : membrane potential

I_{ion} : ion current

x : gating variable (m,h,j,d,f,X,X_i,K₁)

Ca : calcium concentration

表1 解析において用いたパラメータ
(単位:mS/cm²)

G_{Si}	0.054
G_K (心内膜)	0.269
G_K (Mcell)	0.141
G_K (心外膜)	0.282

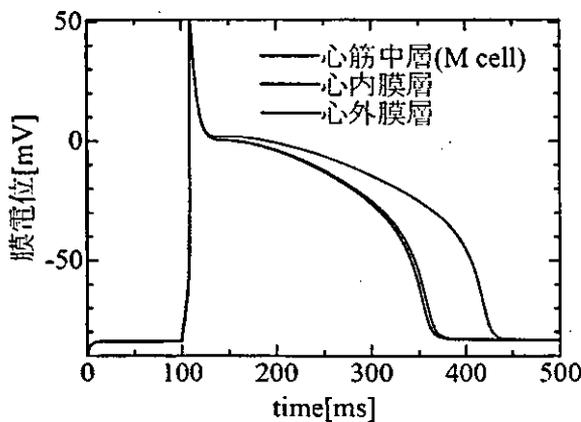


図1 活動電位の時刻歴

B-1-2 除細動現象のモデル化

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。

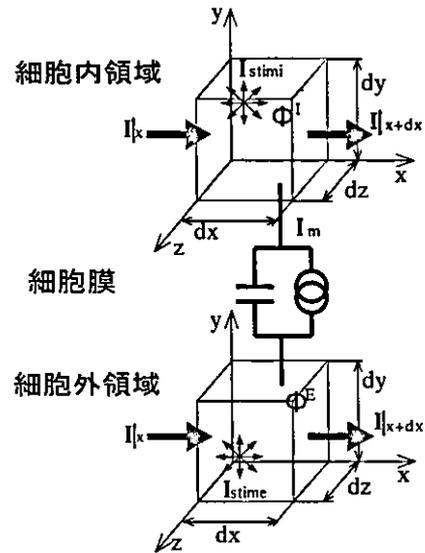


図2 bi-domainモデルの模式図

bi-domainモデルでは、細胞内、細胞外領域を表す図2に示すような電位場を考える。細胞内領域、細胞外領域における電位場は細胞膜のキャパシタンスと細胞モデル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、次式が成り立つ。

$$\beta \left(C_m \frac{\partial V}{\partial t} + I_{ion} \right) = I_{stima} - \frac{\partial}{\partial x_i} \left(G_{ij}^E \frac{\partial \phi^E}{\partial x_j} \right) \quad (4)$$

$$\beta \left(C_m \frac{\partial V}{\partial t} + I_{ion} \right) = -I_{stima} + \frac{\partial}{\partial x_i} \left(G_{ij}^I \frac{\partial \phi^I}{\partial x_j} \right)$$

$$V = \phi^I - \phi^E$$

図2のbi-domainモデルにおいて細胞外電位は総ての点で一律に0と仮定すると以下ようになる。

$$\beta \left(C_m \frac{\partial V}{\partial t} + I_{ion} \right) = I_{stim} + \frac{\partial}{\partial x_i} \left(G_{ij}^I \frac{\partial V}{\partial x_j} \right) \quad (5)$$

これがmono-domainモデルであり、単純な問題に対しては、bi-domain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bi-domainモデル、mono-domain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ICD設計では重要な役割を果たすためバイメインモデル用いる。

除細動解析では、心臓のみならず心臓と接するトルソ、心腔内血液領域の電気伝導を含めたモデル化が必要となる。概念図を図3に示す。Bは血液領域、Cはトルソ領域、Hは心筋領域を表す。電極は、胸部と心室内に設置し、除細動装置の作動時には、両電極間に電位差を与える。トルソ、血液

部は、単純な抵抗場と仮定し、電気伝導を表す下記のLaplace型方程式を用いた。

・胸部の支配方程式

$$\frac{\partial}{\partial x_i} \left(G_{ij}^C \frac{\partial \phi^C}{\partial x_j} \right) = 0 \quad (6)$$

・血液部の支配方程式

$$\frac{\partial}{\partial x_i} \left(G_{ij}^B \frac{\partial \phi^B}{\partial x_j} \right) = 0$$

ここで G_{ij}^B , G_{ij}^C は、血液、トルソ領域の伝導率とする。 G_{ij}^C は、各組織・器官において異なり、空間的に分布している。各領域間の境界条件を以下に示す。トルソ、血液は心筋の細胞外領域と電気的に結合している。

$$n \cdot (G^C \nabla \phi^C) = 0 \quad x \in \partial C \quad (7)$$

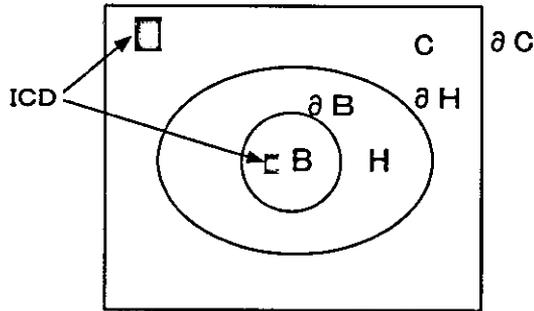
$$n \cdot (G^E \nabla \phi^E) = n \cdot (G^B \nabla \phi^B), \phi^E = \phi^B \quad x \in \partial B$$

$$n \cdot (G^E \nabla \phi^E) = n \cdot (G^C \nabla \phi^C), \phi^E = \phi^C \quad x \in \partial H$$

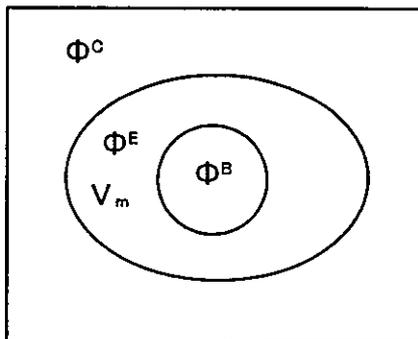
ICD 起動時には、付加電圧を V_{ICD} として、

$$\phi_{ICD}^B = \phi_{ICD}^C + V_{ICD} [V] \quad x \in ICD_B \quad (8)$$

とする。



(a) 除細動現象のモデル化



(b) 電位(未知数)の定義

図3 除細動解析の概念図

B-1-3 有限要素離散化

式(4),(6)~(8), を有限要素法で離散化する。式(4)を弱形式に変換して発散定理を用いると、以下のようになる。

$$\int_{\Omega} \delta \phi^I \beta \left(C_m \frac{\partial V_m}{\partial t} + I_{ion} \right) d\Omega = \int_{\Omega} \delta \phi^I I_{stim} d\Omega + \int_{\Gamma} \delta \phi^I G_{ij} n_i \frac{\partial \phi^I}{\partial x_j} d\Gamma - \int_{\Omega} G_{ij} \frac{\partial \delta \phi^I}{\partial x_i} \frac{\partial \phi^E}{\partial x_j} d\Omega \quad (9)$$

$$\int_{\Omega} \delta \phi^E \beta \left(C_m \frac{\partial V_m}{\partial t} + I_{ion} \right) d\Omega = - \int_{\Omega} \delta \phi^E I_{stim} d\Omega - \int_{\Gamma} \delta \phi^E G_{ij} n_i \frac{\partial \phi^E}{\partial x_j} d\Gamma + \int_{\Omega} G_{ij} \frac{\partial \delta \phi^E}{\partial x_i} \frac{\partial \phi^E}{\partial x_j} d\Omega \quad (10)$$

6 面体要素により離散化すると以下のマトリクス表記が得られる。

$$\begin{aligned} \beta \{ I_m \} &= \{ F^I \} - [K^I] \{ \phi^I \} \\ \beta \{ I_m \} &= - \{ F^E \} + [K^E] \{ \phi^E \} \end{aligned} \quad (11)$$

$$I_m = C_m \frac{\partial V_m}{\partial t} + I_{ion}$$

血液、トルソ領域においても同様に離散化すると、

$$\begin{aligned} [K^C] \{ \phi^C \} &= 0 \\ [K^B] \{ \phi^B \} &= 0 \end{aligned} \quad (12)$$

となる。式(7)の境界条件の基で各式を連成すると系全体のマトリクス表記として下式が得られる。

$$\begin{bmatrix} A & B & 0 & 0 \\ B^T & C & F & G \\ 0 & F^T & D & 0 \\ 0 & G^T & 0 & E \end{bmatrix} \begin{bmatrix} V_m \\ \phi^E \\ \phi^C \\ \phi^B \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \alpha \\ \beta \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix} \quad (13)$$

$$A = vol \cdot \frac{\beta \cdot C_m}{\Delta t} \cdot [I] + [K^I], \quad B = [K^I],$$

$$C = [K^I] + [K^E], \quad D = [K^C], \quad E = [K^B],$$

F, G は連成部

$$\alpha = \{ F^I \} + vol \cdot \beta \cdot \left(\frac{C_m}{\Delta t} \{ V_{old} \} + \{ I_{ion} (V_{old}) \} \right),$$

$$\beta = \{ F^I \} + \{ F^E \}$$

トルソ、心臓系での除細動の数値計算は上記の巨大な連立1次方程式を解く問題に帰着する。式(13)は、細胞外電位と膜電位の時間刻みをずらし、式