

図5 AChによる細胞生存シグナル

この細胞生存シグナルをはじめとした ACh の作用をその時間的経過から分単位で起こる急性期の作用、比較的短い時間で起こる亜急性期の作用、さらに十数時間後に起こる非急性期に分けて考える。

C-2.1. ACh の細胞生存シグナル

図6のように、AChは心筋細胞に対してアポトーシス抑制作用をもつ Akt をリン酸化させた。このリン酸化は15分でおこり、このリン酸化には PI3K が関与することが特異的抑制剤によって明らかになった。

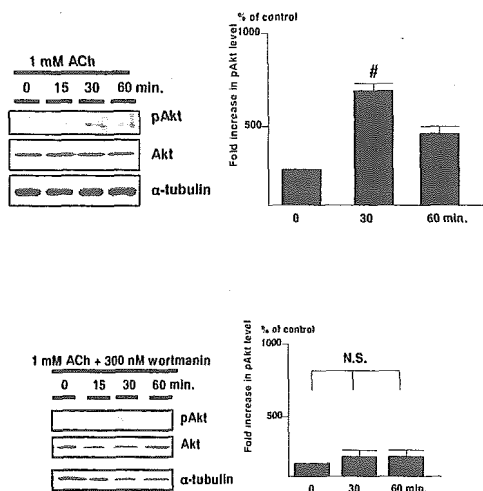


図6 AChはPI3Kを介してAktをリン酸化する

AChによって活性化されたPI3K/Aktシグナル伝達系はその後のHIF-1αの蛋白発現に重要な役割を持ち、ACh作用後8時間でHIF-1αタンパク増加のピークが認められた(図7)。またNOドナーSNAPも同様にHIF-1α蛋白を増

加させた。

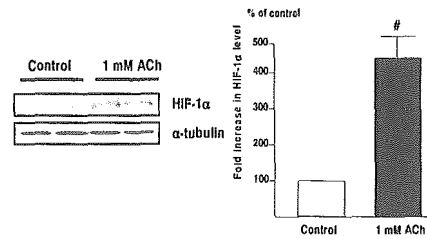


図7 AChはHIF-1αの蛋白レベルを非低酸素存在下で上昇させる

AChによるHIF-1αの制御は、分解系抑制による翻訳後調節であることが転写抑制剤を用いた実験で示唆された。

C-2.2. AChの細胞保護作用についてのin vitroでの検討

低酸素暴露に対する抵抗性、虚血耐性能が高いほど細胞は低酸素状態での長い生存が可能である。これにはHIF-1αの誘導が不可欠である。そこでACh処理がその後の低酸素刺激に対して細胞保護作用を持つか否かを検討したところ図8のように1%低酸素処理でも、ミトコンドリア機能を保ち細胞保護作用を持つことが認められた。さらに低酸素によるカスパーゼ3の活性化もAChは抑制した。

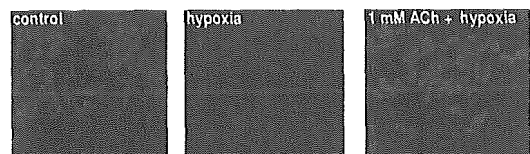


図8 AChは低酸素下でもミトコンドリア膜電位の低下を抑制し、その機能を保護する

C-3. ACh刺激に対する心筋細胞の多様の反応性についての研究

C-3.1. AChによる心筋細胞でのTNF-α産生の有無についての検討

心筋細胞のTNF-α産生能を調べるために、ACh処理後心筋細胞でのTNF-αの蛋白発現を検討した。AChによりTNF-α産生は時間単位

で増加し、TNF- α は細胞質に認められた(図9)。

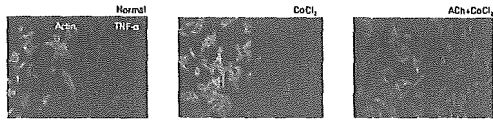


図9 AChは心筋細胞でのTNF- α 産生を促進する

C-3.2. AChにより産生される心筋細胞由来TNF- α の生物学的作用についての検討

TNF- α の受容体サブタイプのAChによる影響を調べるために受容体遺伝子発現を検討したところ、R2受容体の遺伝子発現レベルに対するAChの影響がより顕著であった(図10)。

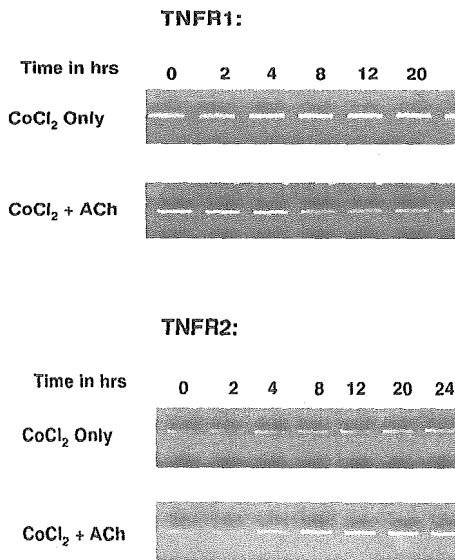


図10 TNFR2はAChにより遺伝子発現が増加する

さらにその後の研究によりTNF- α はR2を介して心筋細胞保護作用があることも示唆された。

C-3.3. ACh刺激による心筋細胞でのNO産生についての検討

培養心筋細胞においてACh刺激時のNOを直接可視化した報告は少ない。そこで1mM AChで心筋細胞を処理し産生されるNOを経時的に観察したところ図11のように、NOの産生は1mM ACh処理後約30分で認められ、その

後も持続して細胞質内でNOが認められた。

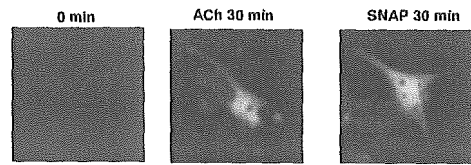


図11 AChにより心筋細胞で産生されるNO

これはブラディキニンによる心筋細胞での短時間(10分以内)のNO産生パターンとは明らかに異なった。さらにNOドナーSNAPでも同様であった。以上よりAChは心筋細胞にはたらきNOを産生し、このNOを介してHIF-1 α の誘導に関与することが示唆された。

C-3.4. AChによる心筋細胞でのVEGF産生についての検討

ACh・NO系の血管新生作用への関与を検討するために、HUVECのチューブフォーメーション促進作用の有無を検討した。

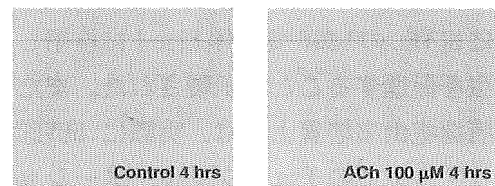


図12 AChはHUVECのチューブフォーメーションを促進する

図12のようにACh非存在下のチューブフォーメーションと比べて、ACh処理(1mM-10 μ M)HUVECではチューブフォーメーションは促進された。この現象はAChのみでなくニコチン、SNAPでも同様に認められた。チューブフォーメーション促進作用はアトロピンおよび α -bungarotoxinの両者によって一部抑制された。よってニコチンおよびムスカリン受容体がこの効果に関与していることが示唆された。以上からACh・NO系の血管新生への直接関与が明らかとなった。血管新生促進因子の中で重要なものとしてVEGFが知られているが、心筋細胞でのVEGFの産生の有無を確かめ

るために SNAP で心筋細胞を刺激した。NO ドナーによる心筋細胞での VEGF 産生が認められた (図 13)。さらに心筋細胞由来 VEGF が、心筋以外に HUVEC の Flk-1 受容体に作用するか否かを確認するために、培養心筋細胞の培地上清を HUVEC へ添加したときの Flk-1 受容体のリン酸化について検討した。

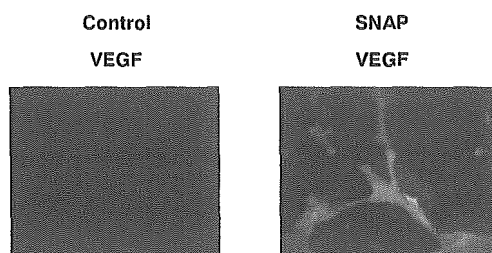


図 13 心筋細胞で VEGF は SNAP により産生される

図 14 のように SNAP 処理心筋細胞の培地上清は、HUVEC の Flk-1 リン酸化を起こした。以上から心筋細胞に ACh がはたらくと、心筋細胞自身から VEGF が産生され、それがパラクラインに HUVEC の VEGF 受容体 Flk-1 に作用し血管新生を促進することが示唆された。またこの心筋細胞由来培養上清は、実際に HUVEC のマトリゲル上でのチューブフォーメーションを ACh と同様に促進させることも明らかとなった。

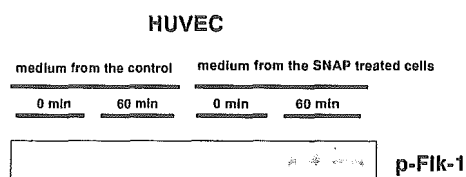


図 14 心筋細胞由来 VEGF は HUVEC にはたらいて VEGF 受容体 Flk-1 をリン酸化する

D. 考察

ACh は神経伝達物質として知られてきたが、本研究によって多くの知見が明らかとなり、これらをもとに新たな治療法の臨床への応用が期待される。

D-1. ACh のギャップ結合制御を介した細胞相互作用に関する研究

本研究の結果から ACh は心筋細胞に作用し、コネクシン 43 の蛋白量を分単位で調節することが明らかとなった。すなわち低酸素によって減少するコネクシン 43 およびそのリン酸化を ACh は抑制した。通常蛋白量が増加するには、mRNA から蛋白合成が増加する場合と、蛋白の分解系が抑制される場合とが考えられる。前者の場合はおよそ十数時間かかるのに対して、後者ではより短い時間で蛋白量が増加することが知られている。コネクシンはプロテアソームで分解することが報告されており、今回の研究結果から ACh がこの分解系を制御している可能性が示唆された。しかし以下の点についてはまだ未解決であり今後の課題である。

1) ギャップ結合の機能回復は、コネクシン 43 の全蛋白量またはリン酸化のどちらに依存するのか？

2) ACh によるコネクシン 43 のリン酸化部位はどの部位か？それは既知のリン酸化部位と異なるのか？そのリン酸化部位は、単独でギャップ結合の機能回復に重要であるのか？

3) ACh はコネクシン分解系のプロテアソーム系にどのように作用し分解を抑制するのか？

D-2. ACh の心筋細胞への直接作用として、心拍数に依存しない細胞生存シグナルおよび抗アポトーシス作用に関する研究

ACh による細胞生存シグナル活性化を介した細胞保護作用は、分単位の急性期、数時間単位の亜急性期そして十数時間以上経てから起こる非急性期反応など、これらすべてを合わせた結果として観察される。急性期の反応としては、ACh 刺激による心筋細胞の NO 産生、PI3K/Akt のリン酸化、亜急性期反応としては TNF- α 産生および R2 受容体の遺伝子発現変化、非急性期反応としては HIF-1 α の誘導および下流遺伝子群の転写であり、その一部には血

管新生が含まれる。

ACh による HIF-1 α 誘導のメカニズムには、ACh により放出される NO の重要性が考えられる。なぜならば NO ドナーである SNAP と ACh は、同じ情報伝達経路を共有し HIF-1 α を誘導するからである。また転写阻害剤アクチノマイシン D 存在下でも HIF-1 α の蛋白量に変化がみられなかったことから、ACh・NO 系は蛋白分解系を抑制して蛋白量を調節していると考えられるが、その詳細なメカニズムについては明らかではない。しかし NO は大量に産生されて高濃度で作用した場合、ニトロシル化により VHL による HIF-1 α の分解を抑制するメカニズムが考えられておりこの可能性が考えられる。

D-3. ACh に対する心筋細胞の多様の反応性について

1) ACh による心筋細胞での TNF- α 産生とその意義

本研究で明らかのように、心筋細胞は ACh に応答して細胞内で TNF- α を産生したが、これは心筋細胞にとってどのような意味をもつかが疑問であった。TNF- α は免疫応答細胞で炎症惹起物質として産生されるサイトカインであり、循環器領域では TNF- α は心機能抑制因子として考えられてきた。しかし一方で TNF- α は炎症過程では特に創傷治癒の進行に重要な役割をしていることが知られていた。つまり TNF- α には相反する作用があり、その病態生理学的意義は、受容体サブタイプ (R1, R2) の分布や発現量の違いに影響されることが推察された。実際に心筋細胞の ACh 刺激時における TNF- α 受容体サブタイプの経時的発現変化はむしろ R2 において明らかであり、TNF- α の作用は R2 を介してはたらく可能性が考えられた。前述のように R2 はアポトーシス抑制機能を持ち R1 と拮抗することが知られており、ACh の細胞生存シグナルの一端を担うことが示唆された (図 15)。

Hypothetic mechanism of action in vagal nerve stimulation induced protection against acute myocardial ischemia

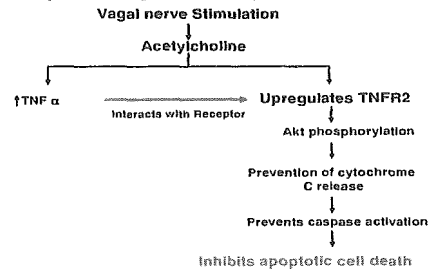


図 15 TNF- α は R2 受容体を介してアポトーシスを抑制する

2) ACh による血管新生促進作用についての検討

ACh の非急性期反応の一つとして、血管新生作用が明らかとなった。これは、ACh の血管内皮細胞への直接作用のほかに ACh・NO 系が心筋細胞で VEGF 産生を亢進させ、これがパラクライン的に血管内皮細胞に作用し血管新生を促進させることが明らかとなった。心臓の構成細胞の中で血管内皮細胞よりも著しく多い心筋細胞が心臓での血管新生因子の源となりうることを直接示した報告はこれまでになかった。以上より ACh を含めてコリン作動系に血管新生作用があることが示唆された。

E. 結論

迷走神経刺激により放出される ACh の多種多様な生理学的作用が本研究により明らかとなった。特に致死性不整脈抑制作用および心筋細胞保護作用については、両者ともに心不全治療の主要な目標点であり、これに介入可能という点で ACh をツールとした場合の効果および臨床応用は多くの利点をもつ可能性が考えられる。

また細胞保護作用を担うシグナルは最終的には血管新生作用をもつことが明らかとなった。しかも血管内皮細胞への直接作用に加え、心筋細胞から VEGF を産生させ血管内皮細胞の VEGF 受容体を介して作用することが示された。このように ACh には血管新生という

新たな作用があることが示されたが、このような観点から、コリン作動系に血管新生促進作用がある可能性が示唆されるが、その評価については今後の研究が待たれる。

F.健康危険情報

なし

G.研究発表

G-1.著書・総説

1. Sato T, Diedrich A, Sunagawa K. Bionic Baroreflex. In: Robertson D et al. editors. Primer on the autonomic nervous system. 2nd ed. p.423-425, Elsevier Academic Press, 2004
2. 佐藤隆幸. バイオニック動脈圧反射による血圧コントロール. 循環器科 58: 600-605, 2005

G-2.論文

1. Yamasaki F, Ushida T, Yokoyama T, Ando M, Yamashita K, Sato T. Artificial baroreflex: Clinical application of a bionic baroreflex system. Circulation 113: 634-639, 2006
2. Ando M, Katare RG, Kakinuma Y, Zhang D, Yamasaki F, Muramoto K, Sato T. Efferent vagal nerve stimulation protects heart against ischemia-induced arrhythmias by preserving connexin43 protein. Circulation 112: 164-170, 2005
3. Yamasaki F, Furuno T, Sato K, Zhang D, Nishinaga M, Sato T, Doi Y, Sugiura T. Association between arterial stiffness and platelet activation. J Hum Hypertens 19: 527-533, 2005
4. 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 579: 2111-2118, 2005
5. 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 100: e95-e103, 2005

G-3.学会発表

1. 安藤元紀, カタレ G ラジエシュ, 柿沼由彦, 佐藤隆幸. 神経インターフェイス技法による心筋細胞死および致死性不整脈防止療法. 第20回生体・生理工学シンポジウム, 東京 (2005.09.05-07)
2. Katare RG, Ando M, Kakinuma Y, Yamasaki F, Sato T. Vagal nerve stimulation differentially regulates TNF receptors and protect the heart against acute ischemic injury. Circulation 112(SuppleII): 195-196, 2005. 78th Annual Scientific Sessions of American Heart Association. Dallas, USA (2005.11.13-16)
3. Kakinuma Y, Ando M, Katare RG, Yamasaki F, Sato T. Acetylcholine regulates a HIF-1 α -mediated gene, involved in cardiac energy metabolism suppression and cardioprotection against hypoxia. Circulation 112(SuppleII): 284, 2005. 78th Annual Scientific Sessions of American Heart Association. Dallas, USA (2005.11.13-16)

4. Ando M, Katare RG, Kakinuma Y, Li M, Zheng C, Yamasaki H, Sato T. Donepezil, acetylcholinesterase inhibitor, promotes angiogenesis over infarct area in rats after chronic coronary occlusion. *Circulation* 112(SuppleII): 288, 2005. 78th Annual Scientific Sessions of American Heart Association. Dallas, USA (2005.11.13-16)
5. Sato K, Yamasaki F, Furuno T, Sato T, Sugiura T, Doi Y. Prognostic value of nonlinear heart rate dynamics in patients with chronic atrial fibrillation. *Circulation* 112(SuppleII): 97, 2005. 78th Annual Scientific Sessions of American Heart Association. Dallas, USA (2005.11.13-16)
6. 坂井 修, 岡 えんみん, 飴谷彰洋, 佐藤隆幸, 神田圭一, 夜久 均, 中山泰秀. 生体内組織化促進技術の開発:形態学的・生化学的アプローチによる機能性バイオチューブ人工血管の短期作成. 第43回日本人工臓器学会 34: S-156, 2005. 東京 (2005.11.30-12.02)
7. 佐藤隆幸, 山崎文靖, 安藤元紀. 神経インターフェイス技法による血圧制御と心不全治療. 第43回日本人工臓器学会 34: S-40, 2005. 東京 (2005.11.30-12.02)
8. Kakinuma Y, Ando M, Katare GR, Kuwabara M, Yamasaki F, Sato T. Activation of the non-neuronal cholinergic system by donepezil, an acetylcholinesterase inhibitor, involves angiogenesis through VEGF. 第70回日本循環器学会総会・学術集会. 名古屋 (2006.03.24-26)
9. Katare RG, Ando M, Kakinuma Y, Kuwabara M, Yamasaki F, Sasaguri S, Sato T. Acetylcholine inhibits mitochondrial permeability transition pore and protects myocardium against acute ischemia-reperfusion injury. 第70回日本循環器学会総会・学術集会. 名古屋 (2006.03.24-26)
10. Katare RG, Ando M, Kakinuma Y, Kuwabara M, Yamasaki F, Sato T. Vagal nerve stimulation differentially regulates TNF receptors and protects the heart against acute ischemic injury. 第70回日本循環器学会総会・学術集会. 名古屋 (2006.03.24-26)
11. Katare RG, Ando M, Kakinuma Y, Kuwabara M, Yamasaki F, Sato T. Acetylcholine inhibits mitochondrial permeability transition pore and enhances the functional recovery after long time hypothermic heart preservation. 第70回日本循環器学会総会・学術集会. 名古屋 (2006.03.24-26)
12. Katare RG, Ando M, Kakinuma Y, Kuwabara M, Yamasaki F, Sasaguri S, Sato T. Gap junctional communication between cardiomyocyte and fibroblast improves electrical conduction in the remodeled heart. 第70回日本循環器学会総会・学術集会. 名古屋 (2006.03.24-26)

H.知的所有権の取得状況

1. 発明者:杉町 勝, 李 梅花, 鄭 燦, 佐藤隆幸, 砂川賢二. 発明の名称:心不全治療薬. 出願番号:特願 2005-286284, 出願日:平成17年9月30日
2. 発明者:中山泰秀, 佐藤隆幸. 発明の名称:虚血性疾患に対する血管新生促進治

療薬, 出願番号:特願 2005-310277, 出願日:平成 17 年 10 月 25 日

3. 発明者:中山泰秀, 佐藤隆幸, 根本 泰.
発明の名称:組織体の製造方法及び生体埋入物, 出願番号:特願 2005-339639, 出願日:平成 17 年 11 月 25 日
4. 発明者:中山泰秀, 佐藤隆幸, 根本 泰.
発明の名称:血管新生材及びその製造方法, 出願番号:特願 2005-339640, 出願日:平成 17 年 11 月 25 日
5. 発明者:中山泰秀, 佐藤隆幸, 岡本吉弘.
発明の名称:生体埋込部材及び人工組織, 出願番号:特願 2005-341995, 出願日:平成 17 年 11 月 28 日

植込み型突然死防止装置の開発

神経刺激による致死性不整脈の予防的治療法の開発

分担研究者 砂川 賢二（九州大学大学院 教授）

研究要旨：

本プロジェクトでは、心不全や不整脈の病態を連続的にモニタしながら自律神経系に積極的に介入することによって致死性不整脈の発生を予防する方法を開発し、植込み型突然死防止装置に搭載することを予定している。頸部迷走神経刺激には頸部迷走神経への電極リードの装着が必要であり、植え込みには頸部への外科的処置が必要となるため、臨床応用には大きな困難がある。本研究では、上大静脈内の経静脈的迷走神経刺激に最適な刺激部位を検討し、経静脈的迷走神経刺激による急性虚血時の不整脈抑制効果を検討した。電極リードを用いて経静脈的に迷走神経刺激を刺激することが可能であった。経静脈的迷走神経刺激は、心拍数の抑制によって、心筋梗塞急性期の致死的不整脈の発生を抑制した。経静脈的迷走神経刺激のための電極リードは、ペーシングおよび除細動リードの植え込みと同様の手技によって植え込みが可能であり、植え込み型突然死防止装置における迷走神経刺激法への応用が期待される。

A. 研究目的

自律神経活動は、致死性不整脈の発生と深い関連があることは古くから知られている。本プロジェクトでは、心不全や不整脈の病態を連続的にモニタしながら自律神経系に積極的に介入することによって致死性不整脈の発生を予防する方法を開発し、植込み型突然死防止装置に搭載することを予定している。本プロジェクト研究では、これまでに、ラットの急性虚血モデルにおいて迷走神経刺激が急性虚血時の致死性不整脈の発生を抑制すること、また、ラットの心筋梗塞慢性期心不全モデルにおいて迷走神経刺激が心臓リモデリングを抑制するとともに不整脈の発生を減少させ長期予後を改善することを示してきた。これらの研究では、迷走神経刺激は頸部迷走神経の電気刺激によって行われた。しかしながら、頸部迷走神経刺激には頸部迷走神経への

電極リードの装着が必要であり、植え込みには頸部への外科的処置が必要となるため、臨床応用には大きな困難がある。現在の植込み型除細動器では、前胸部への本体植え込みと鎖骨下静脈などの静脈からの経静脈的電極リード植え込みが行われている。このため、迷走神経刺激も経静脈的に行うことができれば、臨床応用が容易になると考えられる。

本研究では、電極リードによる経静脈的な迷走神経刺激法を確立し、経静脈的迷走神経刺激による急性虚血時の不整脈抑制効果を検討した。

B. 研究方法

B-1. 経静脈的迷走神経刺激に最適な刺激部位の検討

麻酔下雑種成犬（n=23、体重：18-28Kg）を用いた。大腿動脈から挿入したカテーテルによ

って動脈圧をモニターし、体表面心電図を記録した。心房ペースング用カテーテルを左大腿静脈より挿入し、右心耳に留置した。経静脈的な迷走神経刺激には、長径 38mm の 64 極 (8 極/列×8 列、電極間距離 3mm) バスケットカテーテルを用いた (図 1 左)。右外頸静脈よりバスケットカテーテルを挿入し、電極列の最遠位-最近位電極間で刺激 (パルス幅 2ms, 32V, 10Hz) を行った。上大静脈内において、第 1 肋間から心房接合部の間で心拍数減少効果が最も大きい部位および刺激電極列を検索した (図 1 右)。

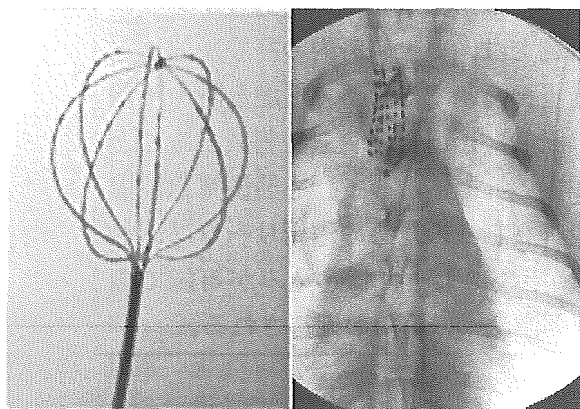


図 1 バスケットカテーテル (左) と上大静脈に留置されたカテーテル (右)

B-2.1 経静脈的迷走神経刺激が活動電位持続時間に及ぼす影響の検討

B-1 で用いたイヌのうち 5 頭を用いて、迷走神経刺激が活動電位持続時間に及ぼす影響を検討した。定常ペースング (CL: 400msec) 下で右室心内膜側より単相性活動電位 (MAP) を記録し、90%活動電位持続時間 (MAPD₉₀) を計測した。ノルエピネフリン (NE) 非投与下および投与下 (0.25mg/kg/min) で、経静脈的迷走神経刺激が MAPD₉₀ に及ぼす影響を検討した。

B-2.2 経静脈的迷走神経刺激による抗不整脈効果の検討

B-1 で用いたイヌのうち 18 頭を用いて、

迷走神経刺激が心筋梗塞急性期の不整脈発生に及ぼす影響を検討した。18 頭をコントロール群 (n=6)、経静脈的迷走神経刺激群 (IPS 群, n=6)、経静脈的迷走神経刺激+ペースング群 (IPS+P 群, n=6) に割り振った。経静脈的迷走神経刺激+ペースング群では、迷走神経刺激と同時に 180/min で心房ペースングを行い、迷走神経刺激が心拍数低下効果を介さずに不整脈を抑制する効果について検討した。胸骨正中切開後、左冠動脈前下行枝を結紮し急性心筋梗塞を作成した。その後、60 分間の体表面心電図を観察し、心室性期外収縮 (PVC)、心室頻拍 (VT) および心室細動 (VF) の発生頻度を比較検討した。また、心筋梗塞作成前と 60 分後で、血圧および心拍数の変化を比較した。

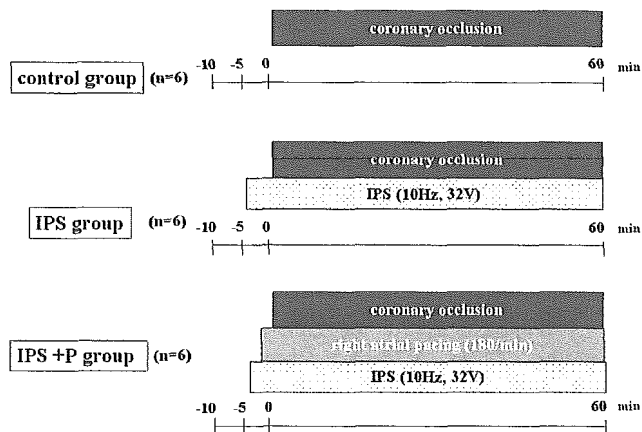


図 2 実験プロトコール

C. 研究結果

C-1. 経静脈的迷走神経刺激に最適な刺激部位

最適刺激部位は第 1 肋間から第 3 肋間に分布し、多くの例では第 2 肋間付近であった (図 3)。経静脈的迷走神経刺激により、全例で心拍数は 20/min 以上低下した。最適刺激部位の決定は 30 分以内に可能であった。

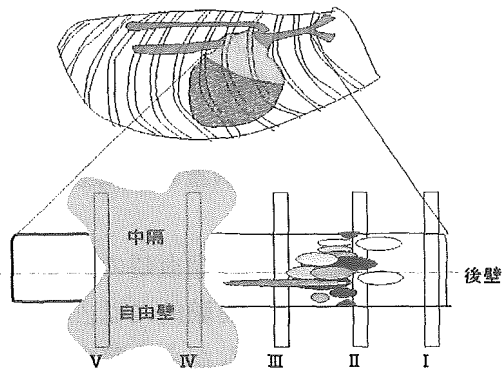


図3 心拍数減少効果の大きい部位

C-2.1 経静脈的迷走神経刺激が活動電位持続時間に及ぼす影響

経静脈的迷走神経刺激によって $MAPD_{90}$ は有意な変化を示さなかった。ノルエピネフリン投与下においても、経静脈的迷走神経刺激によって $MAPD_{90}$ は有意な変化を示さなかった(図4)。経静脈的迷走神経刺激が直接的に心筋の活動電位持続時間に及ぼす影響は少ないと考えられた。

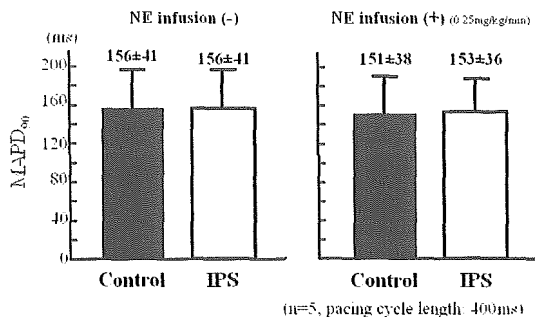


図4 経静脈的迷走神経刺激が心室活動電位持続時間に及ぼす影響

C-2.2 経静脈的迷走神経刺激による急性虚血時の不整脈抑制効果

冠動脈結紮前には、全例で不整脈は観察されなかった。冠動脈結紮後のPVCの発生頻度は、経静脈的迷走神経刺激により減少した(コントロール群: 9.1 ± 4.6 /min、IPS群: 0.2 ± 0.4 /min、 $p < 0.05$)。心房ペースングにより心拍数を固定した群では、経静脈的迷走神経刺激によるPVC抑制効果が消失した(IPS+P群: 10.6 ± 4.2 /min)。VTは経静

脈的迷走神経刺激により完全に抑制された(コントロール群: 1.5 ± 1.8 /min、IPS群: 0 ± 0 /min、 $p < 0.05$)。心房ペースングにより心拍数を固定した群では、経静脈的迷走神経刺激によるVT抑制効果も消失した(IPS+P群: 1.7 ± 1.2 /min)(図5、6、7)。

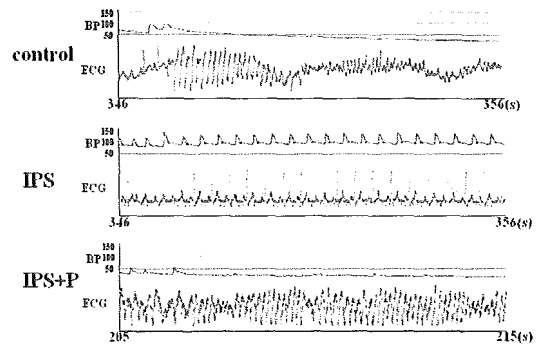


図5 冠動脈結紮後の体表面心電図と血圧

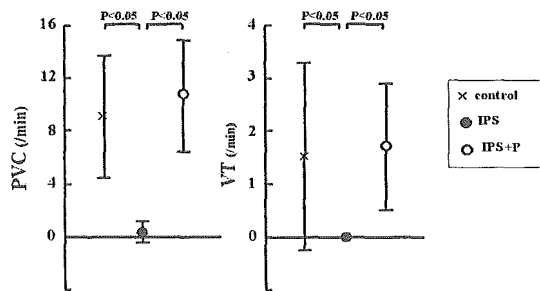


図6 心室性期外収縮(PVC)および心室頻拍(VT)の頻度

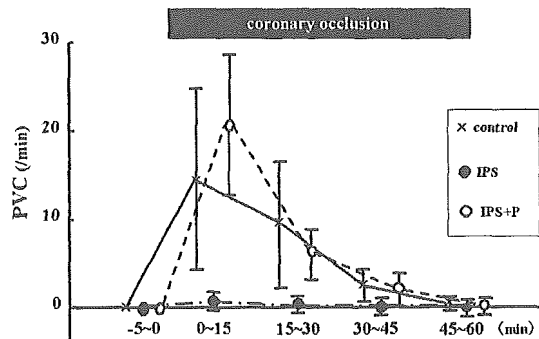


図7 心筋梗塞作成後の心室性期外収縮発生頻度の時間経過

経静脈的迷走神経刺激によって、冠動脈結紮

後のVFの発生頻度は抑制された。心房ペーシングにより心拍数を固定した群では、経静脈的迷走神経刺激によるVF抑制効果が消失した(図8)。

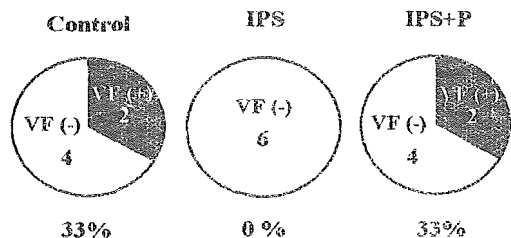


図8 心室細動(VF)の発生頻度
経静脈的迷走神経刺激は、冠動脈結紮前には、心拍数を有意に低下させた(コントロール群: $179.0 \pm 21.3/\text{min}$ 、IPS群: $133.2 \pm 44.9/\text{min}$ 、 $p < 0.05$)。コントロール群、IPS群ともに、冠動脈結紮によって心拍数は変化しなかった。血圧は、IPS+P群で高い傾向があったが、3群間に有意な差はなかった。冠動脈結紮によって血圧は変化しなかった(図9)。

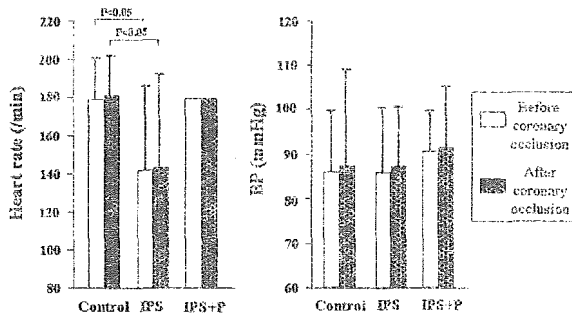


図9 血行動態の変化

D. 考察

D-1. 経静脈的迷走神経刺激に最適な刺激部位

雑種成犬においては、第2肋間付近で経静脈的迷走神経刺激が可能であった。最適部位の検索に必要な時間は30分以内であり、臨

床での植え込み手術に許容できる時間であった。今後、静脈内で刺激電極の固定が可能であるか、長期刺激が可能かどうかを検討する必要がある。

D-2. 経静脈的迷走神経刺激の電気生理学的効果

迷走神経刺激によって急性虚血時の致死性不整脈が抑制されることは実験的には古くから報告されている。しかしながら、臨床的な迷走神経刺激法が確立されていないため、未だ実用化されるには至っていない。本研究では、臨床的に実現が容易な経静脈的迷走神経刺激によっても、急性虚血時の致死性不整脈が抑制されることを示した。経静脈的迷走神経刺激が心室筋の活動電位持続時間にほとんど影響を与えなかったこと、心拍数を固定することによって経静脈的迷走神経刺激による不整脈抑制効果が消失することから、経静脈的迷走神経刺激の抗不整脈効果は、主に心拍数の抑制を介した効果であると推測された。

E. 結論

電極リードを用いて経静脈的に迷走神経刺激を刺激することが可能であった。経静脈的迷走神経刺激は、心拍数の抑制によって、心筋梗塞急性期の致死的不整脈の発生を抑制した。

経静脈的迷走神経刺激のための電極リードは、ペーシングおよび除細動リードの植え込みと同様の手技によって植え込みが可能であり、植え込み型突然死防止装置における迷走神経刺激法への応用が期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

G-1. 論文

1. Uemura K, Kamiya A, Hidaka I, Kawada T, Shimizu S, Shishido T, Yoshizawa M,

- Sugimachi M, Sunagawa K. Automated drug delivery system to control systemic arterial pressure, cardiac output, and left heart filling pressure in acute decompensated heart failure. *J Appl Physiol*. (In press) 2006
2. Fukumoto Y, Ito A, Uwatoku T, Matoba T, Kishi T, Tanaka H, Takeshita A, Sunagawa K, Shimokawa H. Extracorporeal cardiac shock wave therapy ameliorates myocardial ischemia in patients with severe coronary artery disease. *Coron Artery Dis*. 17(1):63-70.2006
 3. Kawada T, Yamazaki T, Akiyama T, Li M, Ariumi H, Mori H, Sunagawa K, Sugimachi M. Vagal stimulation suppresses ischemia-induced myocardial interstitial norepinephrine release. *Life Sci*. 18;78(8):882-7. 2006
 4. Traub M, Aochi T, Kawada T, Shishido T, Sunagawa K, Knuepfer MM. Contribution of baroreflex sensitivity and vascular reactivity to variable haemodynamic responses to cocaine in conscious rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 32(11):911-8. 2005
 5. Takaki H, Sakuragi S, Nagaya N, Suzuki S, Goto Y, Sato T, Sunagawa K. Postexercise VO(2) "Hump" phenomenon as an indicator for inducible myocardial ischemia in patients with acute anterior myocardial infarction. *Int J Cardiol*. 2005
 6. Mashiba J, Koike G, Kamiunten H, Ikeda M, Sunagawa K. Vasospastic angina and microvascular angina are differentially influenced by PON1 A632G polymorphism in the Japanese. *Circ J*. 69(12):1466-71. 2005
 7. Sun H, Fukumoto Y, Ito A, Shimokawa H, Sunagawa K. Coronary microvascular dysfunction in patients with microvascular angina: analysis by TIMI frame count. *J Cardiovasc Pharmacol*. 46(5):622-6. 2005
 8. Sugimachi M, Sunagawa K. Bionic cardiovascular medicine. Functional replacement of native cardiovascular regulation and the correction of its abnormality. *IEEE Eng Med Biol Mag*. 24: 24-31. 2005
 9. Kawada T, Yamamoto K, Kamiya A, Ariumi H, Michikami D, Shishido T, Sunagawa K, Sugimachi M. Dynamic characteristics of carotid sinus pressure-nerve activity transduction in rabbits. *Jpn J Physiol* 55(3):157-63. 2005
 10. Kamiya A, Kawada T, Yamamoto K, Michikami D, Ariumi H, Miyamoto T, Shimizu S, Uemura K, Aiba T, Sunagawa K, Sugimachi M. Dynamic and static baroreflex control of muscle sympathetic nerve activity (SNA) parallels that of renal and cardiac SNA during physiological change in pressure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 289(6):H2641-8. 2005
 11. Ito K, Hirooka Y, Hori N, Kimura Y, Sagara Y, Shimokawa H, Takeshita A, Sunagawa K. Inhibition of rho-kinase in the nucleus tractus solitarius enhances glutamate sensitivity in rats. *Hypertension*.46(2):360-5. 2005
 12. Ikeri M, Matsusaka H, Kang D, Matsushima S, Ide T, Kubota T, Fujiwara T, Hamasaki N, Takeshita A, Sunagawa K, Tsutsui H. Overexpression of mitochondrial transcription factor a ameliorates mitochondrial deficiencies and cardiac failure after myocardial infarction. *Circulation* .2;112(5):683-90. 2005
 13. Sakai K, Hirooka Y, Shigematsu H, Kishi T, Ito K, Shimokawa H, Takeshita A, Sunagawa K. Overexpression of eNOS in brain stem reduces enhanced sympathetic drive in mice with myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*.289(5):H2159-66. 2005
 14. Ito K, Hirooka Y, Hori N, Kimura Y, Sagara Y, Shimokawa H, Takeshita A, Sunagawa K. Inhibition of Rho-Kinase in the Nucleus Tractus Solitarius Enhances Glutamate Sensitivity in Rats. *Hypertension*. 46(2):360-5. 2005
 15. Kamiya A, Kawada T, Yamamoto K, Michikami D, Ariumi H, Miyamoto T, Uemura K, Sugimachi M, Sunagawa K. Muscle sympathetic nerve activity averaged

- over 1 minute parallels renal and cardiac sympathetic nerve activity in response to a forced baroreceptor pressure change. *Circulation*.19;112(3):384-6. 2005
16. Ono H, Ichiki T, Ohtsubo H, Fukuyama K, Imayama I, Hashiguchi Y, Sadoshima J, Sunagawa K. Critical role of Mst1 in vascular remodeling after injury. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 25(9):1871-6. 2005
 17. Matsusaka H, Ikeuchi M, Matsushima S, Ide T, Kubota T, Feldman AM, Takeshita A, Sunagawa K, Tsutsui H. Selective disruption of MMP-2 gene exacerbates myocardial inflammation and dysfunction in mice with cytokine-induced cardiomyopathy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 289(5):H1858-64. 2005
 18. Kamiya A, Hayano J, Kawada T, Michikami D, Yamamoto K, Ariumi H, Shimizu S, Uemura K, Miyamoto T, Aiba T, Sunagawa K, Sugimachi M. Low-frequency oscillation of sympathetic nerve activity decreases during development of tilt-induced syncope preceding sympathetic withdrawal and bradycardia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 289(4):H1758-69. 2005
 19. Kishi T, Hirooka Y, Masumoto A, Ito K, Kimura Y, Inokuchi K, Tagawa T, Shimokawa H, Takeshita A, Sunagawa K. Rho-kinase inhibitor improves increased vascular resistance and impaired vasodilation of the forearm in patients with heart failure. *Circulation*.31;111(21):2741-7.2005
 20. Kawano S, Kubota T, Monden Y, Kawamura N, Tsutsui H, Takeshita A, Sunagawa K. Blockade of NF-kappaB ameliorates myocardial hypertrophy in response to chronic infusion of angiotensin II. 1;67(4):689-98. *Cardiovasc Res*.2005
 21. Kawamura N, Kubota T, Kawano S, Monden Y, Feldman AM, Tsutsui H, Takeshita A, Sunagawa K. Blockade of NF-kappaB improves cardiac function and survival without affecting inflammation in TNF-alpha-induced cardiomyopathy. *Cardiovasc Res*.1;66(3):520-9.2005
 22. Yamamoto K, Kawada T, Kamiya A, Takaki H, Sugimachi M, Sunagawa K. Static interaction between muscle mechanoreflex and arterial baroreflex in determining efferent sympathetic nerve activity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*.289(4):H1604-9.2005
 23. Nishimura S, Yamashita H, Katoh M, Yamada KP, Sunagawa K, Saeki Y, Ohnuki Y, Nagai R, Sugiura S. Contractile dysfunction of cardiomyopathic hamster myocytes is pronounced under high load conditions. *J Mol Cell Cardiol*.39(2):231-9. 2005
 24. Kamiya A, Kawada T, Yamamoto K, Michikami D, Ariumi H, Uemura K, Zheng C, Shimizu S, Aiba T, Miyamoto T, Sugimachi M, Sunagawa K. Resetting of the arterial baroreflex increases orthostatic sympathetic activation and prevents postural hypotension in rabbits. *J Physiol*.566(Pt 1):237-46.2005
 25. Kitagawa H, Yamazaki T, Akiyama T, Sugimachi M, Sunagawa K, Mori H. Microdialysis separately monitors myocardial interstitial myoglobin during ischemia and reperfusion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 289(2):H924-30. 2005
 26. 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*. 289(1):H301-7.2005
 27. Fujiki T, Shimokawa H, Morikawa K, Kubota H, Hatanaka M, Talukder MA, Matoba T, Takeshita A, Sunagawa K. Endothelium-derived hydrogen peroxide accounts for the enhancing effect of an angiotensin-converting enzyme inhibitor on endothelium-derived hyperpolarizing factor-mediated responses in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 25(4):766-71. 2005

28. 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.* 18;45(2):300-7.2005

G-1. 学会発表

1. Kimura Y, Hirooka Y, Sagara Y, Nozoe M, Sunagawa K. Activation of the Rho/rho-kinase pathway in the brainstem is involved in enhanced sympathetic drive in mice with myocardial infarction. *FASEB J.* 19: A1595, 2005.
2. Mashiba J, Koike G, Inoue S, Kamiunten H, Ikeda M, Tsutsui H, Egashira K, Sunagawa K. GATA specifically regulates cardiac hypertrophy related L-NAME-induced actin cytoskeleton related protein gene expression in cardiomyocytes. *FASEB J.* 19: A206, 2005.
3. Sagara Y, Hirooka Y, Kimura Y, Nozoe M, Sunagawa K. Effect of long-term treatment with telmisartan on reactive oxygen species in the brain of stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *FASEB J.* 19: A1292, 2005.
4. Sunagawa K. Left ventricular hypertrophy and diastolic function in hypertension: Roles of arterial pressure waveform revisited. Satellite Symposium. The Role of CCB on Diastolic Function and Left Ventricular Hypertrophy in Essential Hypertension.
5. Sunagawa K. Impact of autonomic neural link on clinical cardiology. Satellite Symposium. The Role of CCB on Diastolic Function and Left Ventricular Hypertrophy in Essential Hypertension.
6. Kubota T, Kawano S, Monden Y, Sunagawa K. Blockade of NF- κ B improves cardiac function and survival after myocardial infarction. The 1st Sino-Japan Cardiovascular Forum (SJCF)
7. Monden Y, Kubota T, Sunagawa K. Treatment with soluble TNF receptor prevents apoptosis but promotes ventricular rupture and remodeling after myocardial infarction. The 1st Sino-Japan Cardiovascular Forum (SJCF)
8. Matsusaka H, Ikeuchi M, Matsushima S, Ide T, Kubota T, Sunagawa K, Tsutsui H. Target deletion of matrix metalloproteinase-2 attenuates cardiac remodeling and failure in mice with chronic pressure overload. The 78th Annual Scientific Meeting of the American Heart Association. *Circulation.* 112 (Suppl II): 42. 2005.
9. Matsushima S, Matsusaka H, Ikeuchi M, Ide T, Kubota T, Sunagawa K, Hattori F, Hasegawa Y, Kurihara T, Oikawa S, Tsutsui H. Overexpression of mitochondrial peroxiredoxin-3 ameliorates left ventricular remodeling and failure after myocardial infarction in mice. The 78th Annual Scientific Meeting of the American Heart Association. *Circulation.* 112(Suppl II): 256, 2005.
10. Ide T, Tsutsui H, Kubota T, Sunagawa K. A contribution of oxidative stress from mitochondria on remodeling after myocardial infarction: Evaluation by in vivo ESR. *J Mol Cell Cardiol.* 39: 1014, 2005.
11. Matsushima S, Ide T, Matsusaka H, Ikeuchi M, Kubota T, Sunagawa K, Kinugawa S, Tsutsui H. Overexpression of glutathione peroxidase attenuates cardiac remodeling and diastolic dysfunction in diabetic mice. *J Mol Cell Cardiol.* 39: 1026, 2005.
12. Matsushima S, Matsusaka H, Ikeuchi M, Ide T, Kubota T, Sunagawa K,

- Hattori F, Hasegawa Y, Kurihara T, Oikawa S, Kinugawa S, Tsutsui H. Overexpression of mitochondrial peroxiredoxin-3 ameliorates left ventricular remodeling and failure after myocardial infarction in mice. *J Mol Cell Cardiol.* 39: 1000, 2005.
13. Matsushima S, Matsusaka H, Ikeuchi M, Ide T, Kubota T, Sunagawa K, Tsutsui H. Angiotensin II receptor blockade ameliorates myocardial remodeling and dysfunction in diabetes by inhibiting connective tissue growth factor. *J Mol Cell Cardiol.* 39: 1023, 2005.
 14. Symposium 13: How to make Japanese original evidence in cardiology. Makaya M, Tsutsui H, Sunagawa K, Takeshita A. Nationwide registry of patients with chronic heart failure in Japan -JCARE Study-. *Circ J.* 69(Suppl 1): 43, 2005.
 15. Morikawa K, Shimokawa H, Takeshita A, Sunagawa K. Endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF): Identification, mechanisms of synthesis, and influence of risk factors. *Circ J.* 69(Suppl 1): 53, 2005.
 16. Oi K, Shimokawa H, Uwatoku T, Abe K, Hizume T, Sunagawa K. Extracorporeal shock wave therapy ameliorates severe hindlimb ischemia in rabbits. *Circ J.* 69(Suppl 1): 105, 2005.
 17. Ikeuchi M, Tsutsui H, Matsusaka H, Matsushima S, Wen J, Kubota T, Takeshita A, Sunagawa K. Overexpression of mitochondrial transcription factor a prevents mitochondrial deficiencies and cardiac failure after myocardial infarction. *Circ J.* 69(Suppl 1): 130, 2005.
 18. Kawano S, Kubota T, Monden Y, Kawamura N, Tsutsumi T, Inoue T, Tsutsui H, Sunagawa K. Effects of NF- κ B blockade on cardiac dysfunction and remodeling after myocardial infarction. *Circ J.* 69(Suppl 1): 646, 2005.
 19. Kimura Y, Hirooka Y, Nozoe M, Sagara Y, Sunagawa K. Activation of the rho/rho-kinase pathway in the brainstem is involved in enhanced sympathetic drive in mice with myocardial infarction. *Circ J.* 69(Suppl 1): 265, 2005.
 20. Kishi T, Hirooka Y, Masumoto A, Ito K, Kimura Y, Inokuchi K, Tagawa T, Shimokawa H, Takashita A, Sunagawa K. Rho-kinase inhibitor improves increased vascular resistance and impaired vasodilation of the forearm in patients with heart failure. *Circulation.* 111: 2741-2747, 2005. (Cardiovascular Pharmacotherapy International Symposium 賞)
 21. Makaya M, Tsutsui H, Chishaki A, Koike G, Sunagawa K. Depressive symptoms are the strongest predictor of quality of life in patients with atrial fibrillation. *Circ J.* 69(Suppl 1): 328, 2005.
 22. Matsusaka H, Tsutsui H, Ikeuchi M, Matsushima S, Wen J, Kubota T, Sunagawa K. Target deletion of p53 attenuates apoptosis and left ventricular rupture after myocardial infarction in mice. *Circ J.* 69(Suppl 1): 373, 2005.
 23. Matsusaka H, Tsutsui H, Ikeuchi M, Matsushima S, Wen J, Kubota T, Sunagawa K. Blockade of matrix metalloproteinase (MMP)-2 exacerbates myocardial inflammation

- and dysfunction in tumor necrosis factor (TNF)- α -induced cardiomyopathy. *Circ J*. 69(Suppl D): 157, 2005.
24. Monden Y, Kubota T, Kawano S, Kawamura N, Inoue T, Tsutsumi T, Tsutsui H, Sunagawa K. Blockade of tumor necrosis factor- α prevents apoptosis but promotes ventricular rupture and remodeling after myocardial infarction. *Circ J*. 69(Suppl D): 204, 2005.
25. 榑木晶子、土橋みゆき、小池城司、砂川賢二、加治良一、伊東裕幸、原田実根、丸山徹：発作性および慢性心房細動における血栓塞栓症とその危険因子。第2回不整脈薬物治療フォーラム（平成17年4月23日、東京）
26. 砂川賢二：先駆的医学工学による循環器疾患の新たな治療戦略第8回心不全治療研究会（平成17年6月18日、米子）
27. 富田英春、増田征剛、小池城司、榑木晶子、砂川賢二：多剤無効の難治性心室頻拍・心室細動にプロカインアミドが著効した急性心筋梗塞の1症例。第98回日本循環器学会九州地方会（平成17年6月25日、福岡）
28. 日浅謙一、小池城司、山本博昭、榑木晶子、砂川賢二：Burgada症候群による心室細動に対してアミオダロンの静注が著効した1症例。第16回九州不整脈研究会（平成17年7月16日、福岡）
29. Matsusaka H, Ikeuchi M, Matsushima S, Ide T, Kubota T, Sunagawa K, Tsutsui H. Angiotensin II type 1 receptor blocker attenuates the exacerbation of left ventricular remodeling and failure in diabetes-associated myocardial infarction. *Journal of Cardiac Failure*. 11(Suppl): S275, 2005.
30. Matsusaka H, Ikeuchi M, Matsushima S, Ide T, Kubota T, Sunagawa K, Tsutsui H. Target deletion of matrix metalloproteinase-2 attenuates cardiac remodeling and failure in mice with chronic pressure overload. *Journal of Cardiac Failure*. 11(Suppl): S278, 2005.
31. Matsusaka H, Ikeuchi M, Matsushima S, Ide T, Kubota T, Sunagawa K, Tsutsui H. Target deletion of p53 attenuates apoptosis and left ventricular rupture after myocardial infarction in mice. *Journal of Cardiac Failure*. 11(Suppl): S288, 2005.
32. 砂川賢二：衝撃のバイオニック医学：見えてきた21世紀の循環器疾患の新たな治療戦略。第12回日本FES研究会学術講演会（平成17年12月3日、仙台）
33. 日浅謙一、多田英生、小池城司、榑木晶子、砂川賢二：心室細動が原因と考えられる低酸素脳症に対し、低体温療法が有効であったと考えられた症例。第18回心臓性急死研究会（平成17年12月17日、東京）

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：従来ICDで用いられている基本的な電極配置をベースに網羅的な静電場解析を行い、最適電極配置に関する知見を得た。また心臓を包囲するような新しい電極様式の可能性についても検討を加えた。次に、心臓に致死性不整脈を起こしてICDを作動させた場合のシミュレーションを行い、従来実験的に知られている除細動閾値との比較を行うことにより心臓モデルの妥当性を検討すると共に改良を図った。さらに、心臓モデルの精密化を図るため、新たに刺激伝道系のモデル化も行った。

A. 研究目的

昨年度は、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シミュレートすることのできる仮想心臓モデルを開発した。このシミュレータでは、心臓と接する胸郭領域の有限要素法によるモデル化もなされている。また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計算手法や、bi-domainモデルから生じる大規模な連立一次方程式を高速で解くマルチグリッドソルバ^[2]、選択型時間積分などの諸手法を開発した。

本年度は、先ず従来ICDで用いられている基本的な電極配置をベースに網羅的な静電場解析を行い、最適電極配置に関する知見を得る。また心臓を包囲するような新しい電極様式の可能性についても検討を加える。次に、心臓に致死性不整脈を起こしてICDを作動させた場合のシミュレーションを行い、従来実験的に知られている除細動閾値との比較を行うことにより心臓モデルの妥当性を検討すると共に改良を図る。さらに、心臓モデルの精密化を図るため、新たに刺激伝道系のモデル化も行う。

B. 研究方法

B-1 有限要素法を用いた定式化の概要

B-1-1 心筋細胞電気生理モデル

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、LR91モデル^[1]を採用した。

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^[3]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^[4]。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。

$$\begin{aligned} \frac{dV}{dt} &= -\frac{1}{C}(I_{Na} + I_{Si} + I_K + I_{K1} + I_{Kp} + I_b + I_{ep}) \\ I_{Na} &= 23m^3 \cdot h \cdot j \cdot (V - E_{Na}) \\ I_{Si} &= G_{Si} \cdot d \cdot f \cdot (V - E_{Si}) \\ I_K &= G_k \cdot X \cdot X_i \cdot (V - E_K) \\ I_{K1} &= G_{K1} \cdot K_{1\infty} \cdot (V - E_{K1}) \\ I_{Kp} &= 0.0183 \cdot K_p \cdot (V - E_{Kp}) \\ I_b &= 0.03921 \cdot (V + 59.87) \\ \frac{dCa}{dt} &= 10^{-4} I_{Si} + 0.07(10^{-4} - Ca) \\ \frac{dx}{dt} &= \alpha_x \cdot (1-x) - \beta_x \cdot x \\ I_{ep} &= G_{ep} V \\ \frac{dG_{ep}}{dt} &= \alpha \cdot e^{\beta(V)^2} (1 - e^{-\gamma(V)^2}) \end{aligned} \quad (3)$$

V : membrane potential

I_{ion} : ion current

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

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}	0.065
G _k (心内膜)	0.282
G _k (Mcell)	0.1974
G _k (心外膜)	0.282

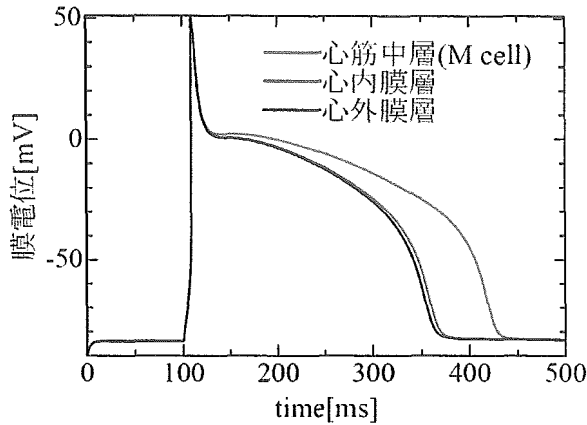


図1 活動電位の時刻歴

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。

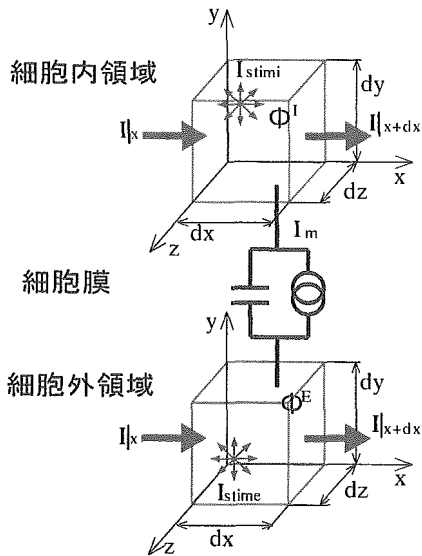


図2 bi-domainモデルの模式図

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。

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

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

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

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と仮定すると以下のようなになる。

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

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

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

・血液部の支配方程式

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

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氣的に結合している。

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

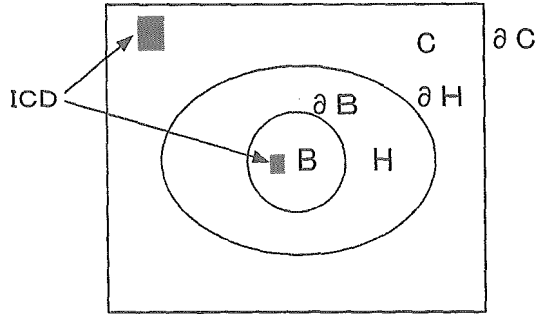
$$n \cdot (G^E \nabla \phi^E) = n \cdot (G^B \nabla \phi^B), \phi^E = \phi^B \quad x \in \partial B$$

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

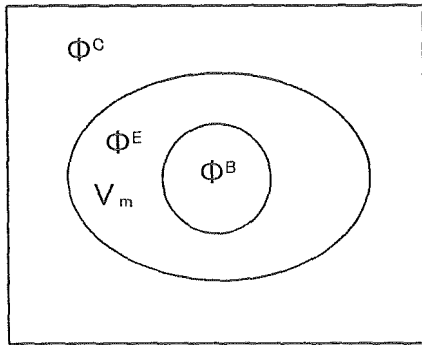
ICD 起動時には、付加電圧を V_{ICD} として、

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

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.

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

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

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

F, G は連成部

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

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

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(11)を用いる事により, 以下の2式のように書き直すことか出来る.

$$\begin{bmatrix} C & F & G \\ F^T & D & 0 \\ G^T & 0 & E \end{bmatrix} \begin{Bmatrix} \phi^E \\ \phi^C \\ \phi^B \end{Bmatrix} = \begin{Bmatrix} \alpha \\ \beta - B^T V_m \\ 0 \end{Bmatrix} \quad (14)$$

$$V = \frac{\Delta t}{C_m} \left[\frac{1}{\beta} \left(-\{F^E\} + [K^E] \{\phi^E\} \right) \right] + V_{old} \quad (15)$$

式(14)を解いた後, 式(15)を用いて膜電位を更新する. これにより, 連立方程式の未知数は細胞外電位のみとなり式(13)をそのまま解く場合に比べ, 計算量の削減が可能となる.

B-2 計算の高速化手法

本解析の計算負荷は主に, 1)式(14)の, 巨大な連立1次方程式を解く. 2)LR91モデルを計算する. の2つの部分から成っている. LR91モデルは, 時空間的に無駄のない選択的な時間積分を行い, 組み込み関数の部分を look up table に置き換える

事により負荷の軽減を行った。連立一次方程式の解法には、複合メッシュを用いた並列化マルチグリッド(多重格子)法を採用した。また、この計算を実現するためには、高速通信の可能な並列計算機が必要となる。そのシステム構成については後述する。

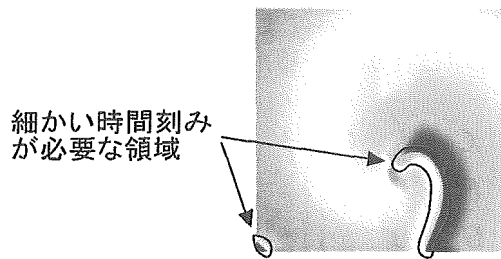
これらの高速化の工夫により、PC クラスタ (Pentium4 3.2GHz 120CPU) で1心周期の計算を40分程度で終了させることが可能となった。

B-2-1 選択型時間積分

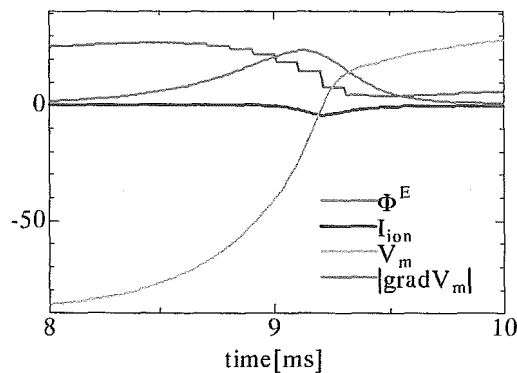
LR91モデルは、速いNaイオンチャネルの急峻な時間変化を捕らえるために脱分極相において、極めて細かい時間刻み(0.01[ms])で解析する事が必要となる。しかし、脱分極相は空間的には、極めて少ない領域に限られる(図4(a)参照)。そこで、以下のパラメータを用い脱分極領域の特定し、時間刻みに空間分布を持たせる事により、計算量の削減を行った。

$$|\text{grad } V_m| = \sum_{i=1}^{26} \frac{|V_m^i - V_m^j|}{\Delta x} \quad (14)$$

図4(b)に $|\text{grad } V_m|$ 、膜電位、細胞外電位、イオンの時刻歴を示す。脱分極に先立ち $|\text{grad } V_m|$ が上昇している事が分かる。そのため、 $|\text{grad } V_m|$ に閾値を設ける事により、脱分極領域の特定が可能となる。脱分極領域以外の領域においては、10倍の時間刻み(0.1[ms])とした。



(a) 脱分極領域



(b) $|\text{grad } V_m|$, 膜電位, 細胞外電位, イオンの時刻歴

図4 空間選択型時間積分

細胞外電位は、細胞内電位に比べ変動が小さいため、粗い時間刻みでも捉えることができる。そこで、ICD作動時のみ総ての時間刻み毎に細胞外電位を更新し(完全なbi-domainとして取り扱い)、それ以外では、細胞外電位の更新は時々行うことにより計算の効率化を図る。図5は、細胞外電位の更新頻度(グラフ右上の数字は1秒当たりの更新回数を表す。)と電位時刻歴の関係を示す。本解析では100[step]に一度、細胞外電位を更新するものとする。これにより連立方程式を解く回数を削減でき、計算量の大幅な削減が可能となる。解析のflow chartを図6に示す。

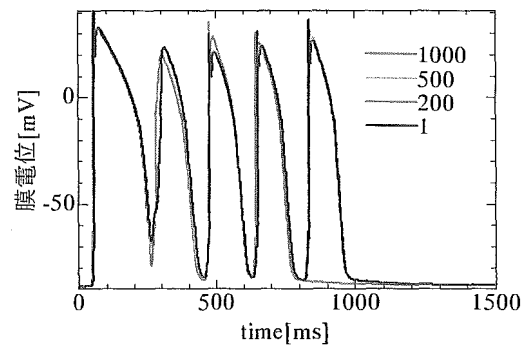


図5 時間選択型時間積分

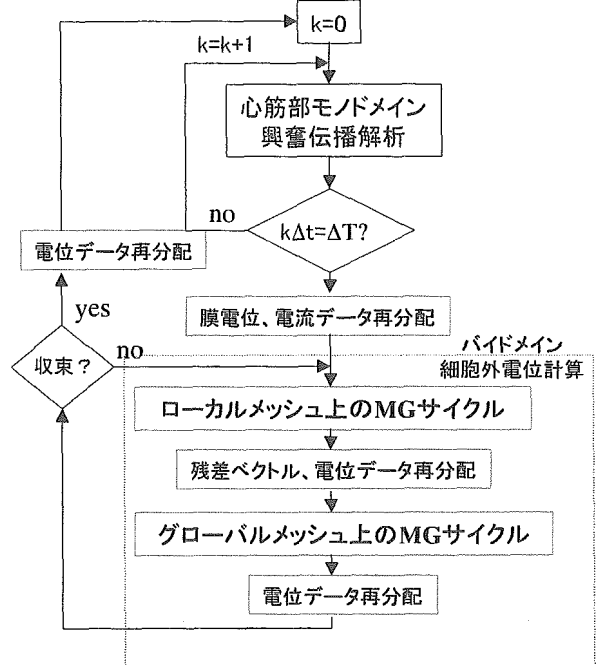


図6 flow chart

B-2-2 細胞外電位方程式の複合メッシュを用いた解法

細胞外部電位 ϕ^E の方程式