

図B-1-1 bi-domainモデルの模式図

興奮の伝播を表す数値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つがあるが、除細動解析では細胞外からの通電を取り扱うため bi-domainモデルを用いる必要がある。bi-domainモデルでは、細胞内、細胞外領域を表す図B-1-2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の法則とオームの法則を適用すると、次式が成り立つ。

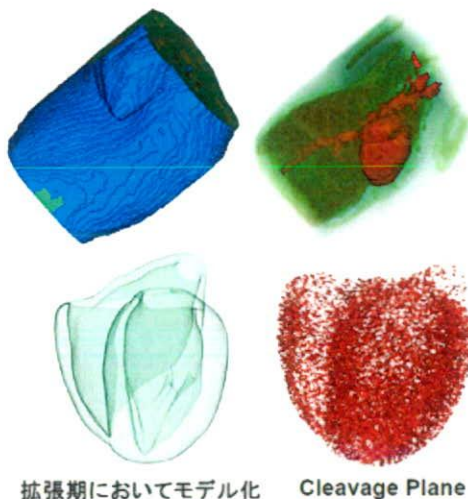
$$\beta \left(C_m \frac{\partial V}{\partial t} + I_{ion} \right) = I_{stim} - \frac{\partial}{\partial x_i} \left(G_{ij}^E \frac{\partial \phi^E}{\partial x_j} \right)$$

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

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

B-2 有限要素モデル化

本研究で用いるモデルは体重 23kg の犬の心臓を 0.53mm ごとに撮影した MR 画像をもとに 0.4mm のボクセル有限要素メッシュを作成した(図 B-2-1)。



図B-2-1 形状モデル

DTMRI のデータを用いて、作成した形状モデル線維方向とシート方向を定義する。さらにシート方向にあわせて cleavage plane を心臓モデルに組み込んだ。cleavage plane の位置は、人間モデル同様乱数を用いて心筋

内にランダムに配置した。

B-3 開発方針

オリンパス(株)が電極設計に用いている CAD データから東大 ICD 解析プログラムの入力データを効率的に作成する枠組みを考案した。このシステム開発は東京大学が行い、ごく簡単な入力ファイルのみから電極の各種パラメータの変更が可能となる計算環境を整備した。以上により、オリンパス(株)がネットワーク経由で東大の計算機システムを利用する事により、効率的な ICD 開発を行うことを可能とした。

以上のシステムに基づき電極の形状・通電タイミング・負荷電圧・ICD のキャパシタンス・設置位置・電極面積等の各種設計変数の除細動閾値に対する寄与率を OR 手法により評価した。そして寄与率の大きい設計変数を詳細に検討することにより最適化を図った。

C. 研究結果

犬モデルにおいて試験的に心室細動を発生させた際の様子を図 C-1 に示す。除細動解析 1 回に必要な計算時間は、PC クラスタ (Pentium4 3.2GHz 32CPU) で 80min./s 程度であった。また、実験と同様の電極配置において除細動閾値を評価し比較したところ、解析と実験は概ね一致した。

電極の形状・通電タイミングなどの最適化に関する検討を前記のシステムにより行い新たな知見を含む多くの結果が得られた。

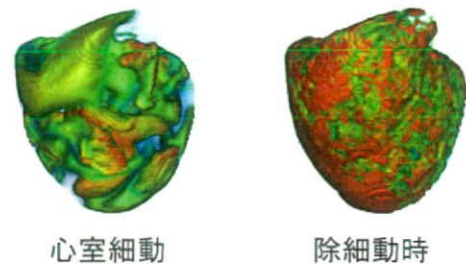


図 C-1 犬モデルを用いた除細動解析

D. 結論

高精度かつ高速な犬心臓除細動シミュレーションシステムを開発し、膨大な数に及ぶケーススタディを通じて有用な結果を得た。

E. 研究発表

2009

E-1. 論文

1. 陳 献, 杉浦清了, 砂川賢二, 久田俊明, 混合体理論に基づく冠循環数理モデルの定式化, 日本機械学会論文集 A, 74(747), 2008
2. 岡田純一, 鷺尾 巧, 久田俊明, 非線形問題に対する低計算負荷均質化法の提案, 日本機械学会論文集 A, 74(738), pp.191-200, 2008
3. Washio T, Okada J, Hisada T, A parallel multilevel technique for solving the bidomain equation on a human heart with Purkinje fibers and a torso model, SIAM J Sci Comput, 30(6), pp. 2855-2881, 2008
4. Hirabayashi S, Inagaki M, Hisada T, Effects of wall stress on the dynamics of ventricular fibrillation: A simulation study using a dynamic mechanoelectric model of ventricular tissue, J Cardiovasc Electrophysiol, 19(7), pp. 730-739, 2008
5. Chen X, Sunagawa K, Hisada T, Development of a Finite Element Contact Analysis Algorithm for Charged-Hydrated Soft Tissues with Large Sliding, Int J Numer Meth Engi, Published Online:18Nov. 2008
6. Katayama S, Umetani N, Sugiura S, Hisada T, The sinus of Valsalva relieves abnormal stress on aortic valve leaflets by facilitating smooth closure, J Thorac Cardiovasc Surg, 136(6), pp. 1528-1535, 2008
7. Okada J, Hisada T, Study on Compressibility Control of Hyperelastic Material for Homogenization Method Using Mixed Finite Element Analysis, JCST, 3(1), pp. 89-100, 2009
8. Okada J, Washio T, Hisada T, Nonlinear Homogenization Algorithms with Low Computational Cost, JCST, 3(1), pp. 101-114, 2009
9. 瀬尾欣也, 稲垣正司, 平林智子, 高 一郎, 杉町 勝, 杉浦清了, 久田俊明, 機械的伸展に対する心筋組織の膜電位応答とその数理モデルによる不整脈シミュレーション, 生体医工学, 47 (1), pp. 77-87,

E-2. 学会発表

1. 瀬尾欣也, 黒川洋, 西村智, 細谷弓子, 久田俊明, 杉浦清了, 原子間力顕微鏡・共焦点顕微鏡の重ね合わせによる心筋細胞のT管構造の可視化, 日本顕微鏡学会 第 64 回学術講演会, 京都, May 2008
2. 鷺尾 巧, 久田俊明, ILU 分解の安定性評価を有限要素解析の安定化にフィードバックする方法について, 第 13 回日本計算工学講演会, 仙台, May 2008
3. 布引英治, 渡邊浩志, 杉浦清了, 久田俊明, 大動脈有限要素モデルによる異方性超弾性構成式の検討, 第 13 回日本計算工学講演会, 仙台, May 2008
4. Sugirua S, Washio T, Okada J, Watanabe H, Hisada T, Multi-scale heart simulation by supercomputer, ULTRA-HIGH FIELD WHOLE-BODY MRI: Concepts and Applications NeuroSpin/CEA-University of Tokyo Workshop, France, May, 2008
5. 杉浦清了, 岡田純一, 鷺尾 巧, 渡邊浩志, 久田俊明, 冠循環と心筋収縮の関係へのモデルによるアプローチ, 第 47 回日本生体医工学会, 神戸, May 2008
6. 瀬尾欣也, 稲垣正司, 平林智子, 日高一郎, 杉町 勝, 杉浦清了, 久田俊明, 心臓の機械的伸展により誘発される不整脈の機序解明のための医工学的アプローチ, 生体医工学シンポジウム, 大阪, Sep. 2008
7. Washio T, Hisada T, A measure of extendability of Krylov subspaces and its relation to residual reduction rate, International Kyoto-Forum on Krylov Subspace method, Kyoto, Sep. 2008
8. Seo K, Inagagi M, Nishimura S, Sugimachi M, Hisada T, Sugiura S, Contribution of structural heterogeneity to stretch-induced arrhythmias examined in ventricular tissues and isolated myocytes, Yokohama, Dec. 2008

9. Sugiura S, Washio T, Okada J, Watanabe H, Hisada, T Multi-scale, multi-physics heart simulator as a tool to link bench and bedside, Mendel Symposium II Genes and the Heart, from bench to bedside, Czech Republic, Sep. 2008
10. 鷺尾 巧, 久田俊明, 超弾性体解析で現れる剛性行列の性質とその解法に関して, 日本応用数理学会, 行列・固有値問題の解法とその応用研究部会 第6回研究会, 千代田区, Nov. 2008
11. Fukano H, Seo K, Nishimura S, Yamashita H, Sugiura S, Is the contractile dysfunction of detubulated cardiomyocytes caused only by the asynchrony of Ca²⁺ regulation?, The 25th Annual Meeting of International Heart Research Japanese Section, Yokohama, Dec. 2008

E-3.新聞報道

なし

F.知的所有権の取得状況

なし

厚生労働省科学研究補助金
(医療機器開発推進研究事業 (活動領域拡張医療機器開発研究事業))
平成20年度分担研究報告書

慢性心不全の予後を改善するための非侵襲で安全・安心な無痛性 ICD の実用化臨床試験
不整脈高速検出アルゴリズムの実装

分担研究者 吉澤 誠 (東北大学 サイバーサイエンスセンター 教授)

研究要旨:

本研究では、以前提案した左右心室内心電図の2次元の統計的性質に基づいた致死性不整脈検出アルゴリズムの有効性を、データ数を増やすことによって評価した。すなわち、左右心室心電図信号の同時度数分布から相互情報量 MI 、 χ^2 統計量 T 、および標準偏差 σ を計算し、SR/AT と VT/VF の鑑別には MI あるいは T を適用し、SR/AT/VT と VF の鑑別には σ を適用する。3 匹のイヌを用いた不整脈誘発実験から得られるデータに対して上述の方法を適用したところ、SR/AT と VT/VF の鑑別は、 χ^2 統計量を用いた方法が最も優れており、ROC 面積で 0.978 のある程度高い鑑別精度を持つことがわかった。また、左右心電図の同時頻度に基づいた SR/AT/VT と VF の鑑別法では、ROC 面積で 0.998 の非常に高い精度での鑑別ができることがわかった。以上の方法を組み合わせることにより、SR/AT、VT、VF の3種類の鑑別が精度よく可能であり、実装化も容易であることが確認された。

A. 研究目的

本研究では、植込み型除細動器 (ICD) における心室細動や心室頻拍などの致死性不整脈の検出をできる限り早期に、しかも確実に検出するためのアルゴリズムを開発するとともに、そのマイクロプロセッサへの実装を目的としている。

従来の植込み型除細動器は、不整脈の検出を主として心電図の間隔情報に基づいて行っているため、VF と VT を確実に区別することが困難であった[1-4]。また、付加的情報として心室容積を利用する方法も提案されているが、個人差の問題が解決できていない[5-7]。

これに対して著者らは先に、左右両心室の2つの心電図信号の同時確率分布に基づく新しい不整脈検出法を提案した[8]。この方法では、2つの心電図信号の統計的独立性あるいは分散を利用することにより、心房頻拍などのような上室性不整脈と心室性不整脈の鑑別ばかりでなく、VF と VT の鑑別を可能としている。しかも本方法には従来のような心電図の R 波の正確な認識を必要としない利点がある。ただし、まだ検討した

データ数が少ないため、本方法の有効性がまだ十分確かめられていない。

そこで平成20年度では、本提案方法のデータ数を増やして本方法の有効性を確認するとともに、左右両心室の心電図信号ばかりでなく、心房内電極信号を処理対象とした場合の検出可能性について報告する。

B. 研究方法

B-1. 不整脈の分類法

著者らは先に、同時刻の右心室内および左心室内 (冠状動脈洞) 心電図に基づき、2つの心電図の独立性および不規則性に着目し、ピーク検出精度にはあまり依存しない不整脈の検出手法を図1のように提案した。

まず、左右室心電図の独立性の基準として、洞調律 (SR)/心房頻拍 (AT) と心室細動 (VF)/心室頻拍 (VT) の鑑別を行う。すなわち、両心室の興奮が非同期であり独立性が高いときには VF/VT とし、独立性が低いときには SR/AT とする。

一方、VT の心電図には QRS 群が存在し、

両心室心電図の同時確率密度関数は主に基線部分に集中するため分散が大きくなるのに対し、VF ではランダムな正弦波状の波形が出現し、同時確率密度関数は幅広く平坦に分布するため分散値が小さくなる。この性質を利用して、同時確率密度関数の分散が大きいときには VT、小さいときには VF であると判定する。

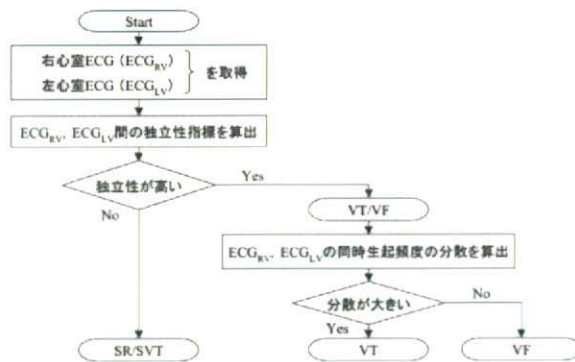


図 1 本研究で提案する不整脈の分類基準

B-2. 独立性に関する評価指標

本研究では独立性に関する評価指標として、相互情報量 MI および χ^2 統計量 T を用いる。

B-2-1. 相互情報量

相互情報量 (mutual information: MI) とは、ある 2 つの事象 (確率変数) に対して片方の事象からもう片方の事象をどの程度予測できるかを定量化する手法である [9]。

いま、2 つの事象を A と事象 B を考える。表 1 のように、すべての標本数が N で、事象 $a_i \in A$ と事象 $b_j \in B$ が同時に起きた度数が k_{ij} であるとする。ここで、

$$\sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n k_{ij} = N \quad (1)$$

である。

表 1 事象 a_i と事象 b_j の同時度数分布

	b_1	b_2	\dots	b_n	計
a_1	k_{11}	k_{12}	\dots	k_{1n}	$k_{1\bullet}$
a_2	k_{21}	k_{22}	\dots	k_{2n}	$k_{2\bullet}$
\vdots	\vdots	\vdots	\ddots	\vdots	\vdots
a_m	k_{m1}	\dots	\dots	k_{mn}	$k_{m\bullet}$
計	$k_{\bullet 1}$	$k_{\bullet 2}$	\dots	$k_{\bullet n}$	N

このとき相互情報量 MI は、

$$MI = \log N + \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n k_{ij} \log \frac{k_{ij}}{k_{i\bullet} k_{\bullet j}} \quad (2)$$

で計算される。

B-2-2. χ^2 統計量

2 つの確率変数の観測値が互いに独立であるかどうかはピアソンの χ^2 検定によって検定することができる [10]。 χ^2 統計量 T は

$$T = \frac{1}{N^2} \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n \frac{(Nk_{ij} - k_{i\bullet} k_{\bullet j})^2}{k_{i\bullet} k_{\bullet j}} \quad (3)$$

のように計算される。 T が小さいほど 2 つの事象が非同期で独立性が強い。

B-3. 不規則性に関する評価指標

2 つの心電図信号 A, B の不規則性を、 k_{ij} の標準偏差 σ により評価する。

$$\sigma = \sqrt{\frac{1}{mn} \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n (k_{ij} - \bar{k})^2} \quad (4)$$

ここで、

\bar{k} は k_{ij} の平均値である。

B-4. データの処理方法

アルゴリズムの検証にあたり、表 2 のような 3 匹のイヌの不整脈誘発実験から取得した左室および右室心電図をテストデータとして用いた。実験では右心房ペーシングにより心房頻拍 (AT) を模擬し、右心室ペーシングまたは左心室ペーシングにより VT を

模擬した。また、VFはR波後の期外刺激、またはT波上への期外刺激により誘発した。

心電図はサンプリング周波数 250Hz でサンプリングした。これを図 2 のようなサンプル数 $K = 250$ の時間窓 (1 秒) で分割し、その時間窓を 50 サンプル (0.2 秒) ずつシフトしながら生起度数分布を求めた。またヒストグラムは時間窓内の最大値と最小値の間を $n = m = 5$ 分割 (5 個のビン) して算出し、度数を入れる $n \times n = 25$ 個のボックスを作った。

ボックス分割には、次のような非線形分割法を採った。すなわち、図 4 のように、ウィンドウ中での最大値から最小値までを 5 等分した後、波形の絶対値が最大値の 20% 以下の点を 1 つのビンに集約するようにした。こうすることによって、P 波、T 波、雑音等の独立性基準に寄与しないものが無視されることになる。

表 2 検証に用いたデータ

イヌA		
パターン	エピソード数	合計時間 [s]
SR	14	221.8
AT	5	41.6
VT	7	61.4
VF	3	54.8

イヌB		
パターン	エピソード数	合計時間 [s]
SR	1	37.8
VT	1	8.8
VF	1	15.0

イヌC		
パターン	エピソード数	合計時間 [s]
SR	2	36.2
VF	2	27.2

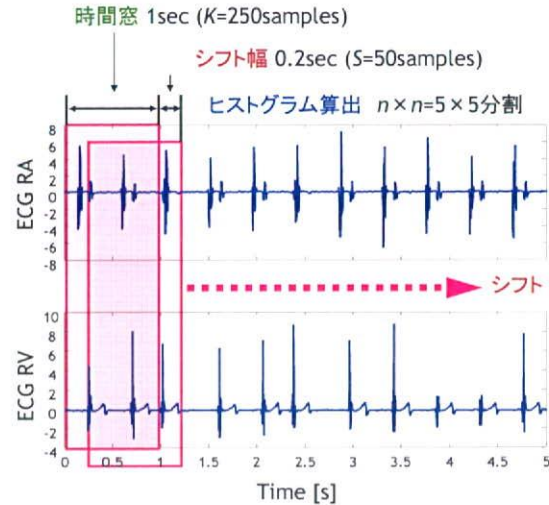


図 2 サンプリング用ウィンドウ

(倫理面への配慮)

実験に用いたイヌは、国立循環器病センター研究所の倫理委員会の規定に従って適切に管理され、実験は苦痛を与えない麻酔下で行われた。

C. 結果

C-1. 度数分布

図 3 は、T/VF と SR/AT のそれぞれに対して (2) 式の相互情報量 MI の度数分布を 3 匹のイヌ毎に図示したものである。また同様に、図 4 は、(3) 式の χ^2 統計量 T の度数分布を図示したものである。

図 5 は、VF と SR/AT/VT のそれぞれに対して、(4) 式の同時確率密度に基づく標準偏差 σ の度数分布を示したものである。

一方図 6 は、3 匹すべてのデータに対して、相互情報量 MI 、 χ^2 統計量 T 、および標準偏差 σ の度数分布を示したものである。同図 a) と b) は T/VF と SR/AT について図示したものであり、同図 c) は VF と SR/AT/VT について図示したものである。

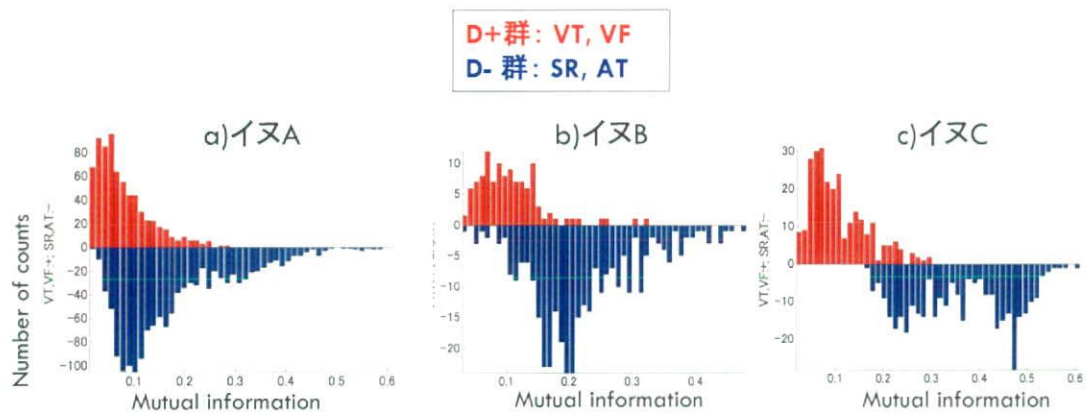


図3 T/VF と SR/AT に対する相互情報量 MI の度数分布

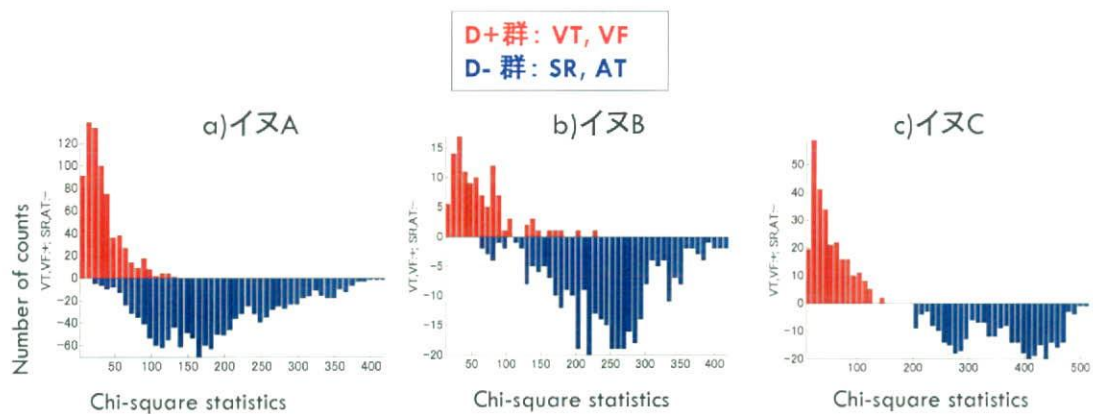


図4 T/VF と SR/AT に対する χ^2 統計量 T の度数分布

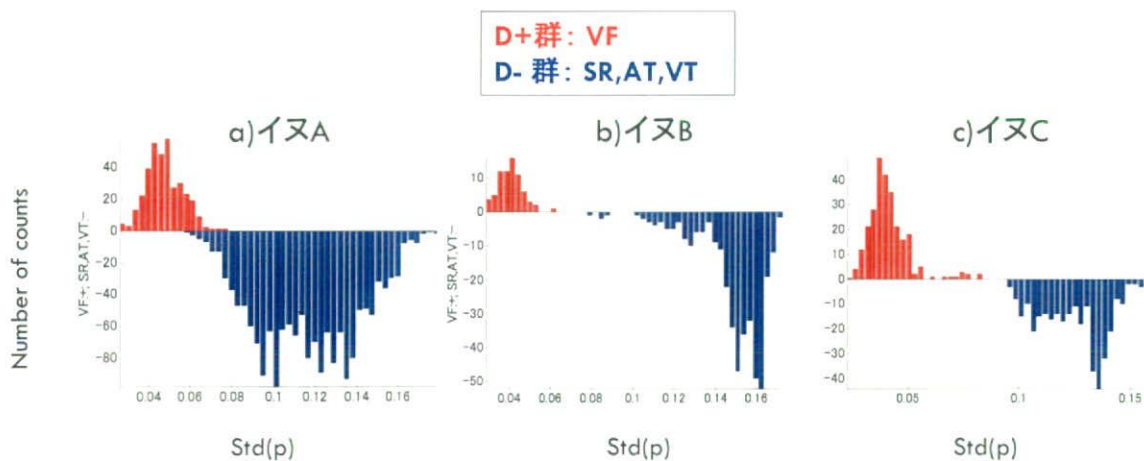


図5 VF と SR/AT/VT に対する同時確率密度に基づく標準偏差 σ の度数分布

全てのデータ(イヌA,B,C)を対象

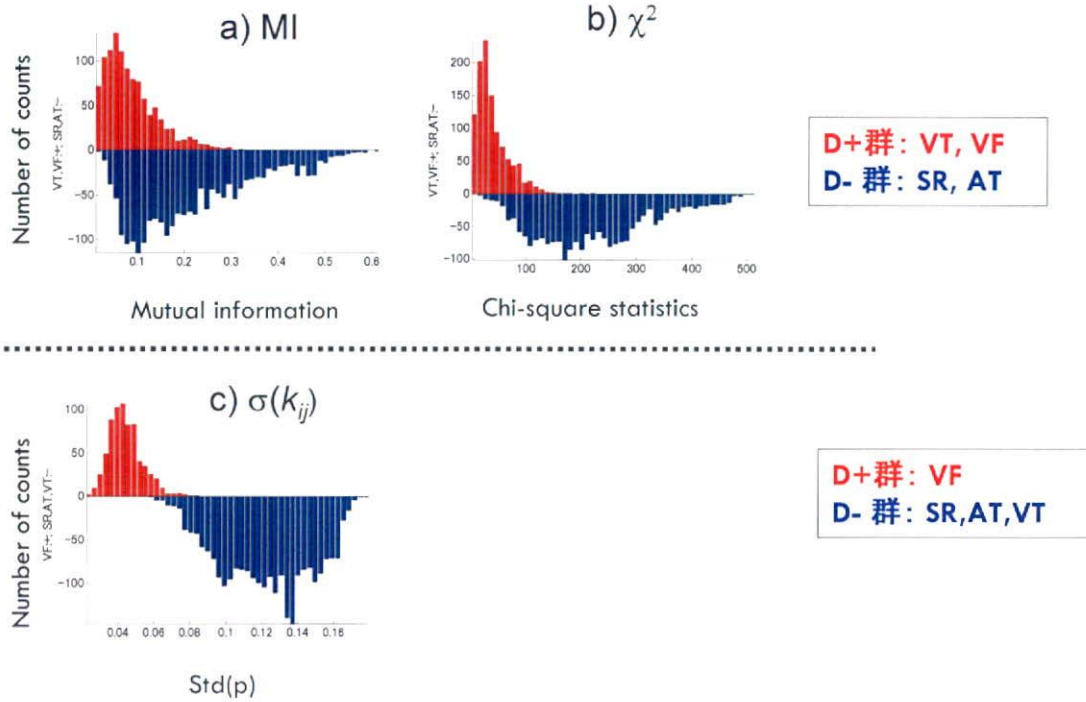


図6 3匹すべてのデータに対する相互情報量 MI , χ^2 統計量 T , および標準偏差 σ の度数分布

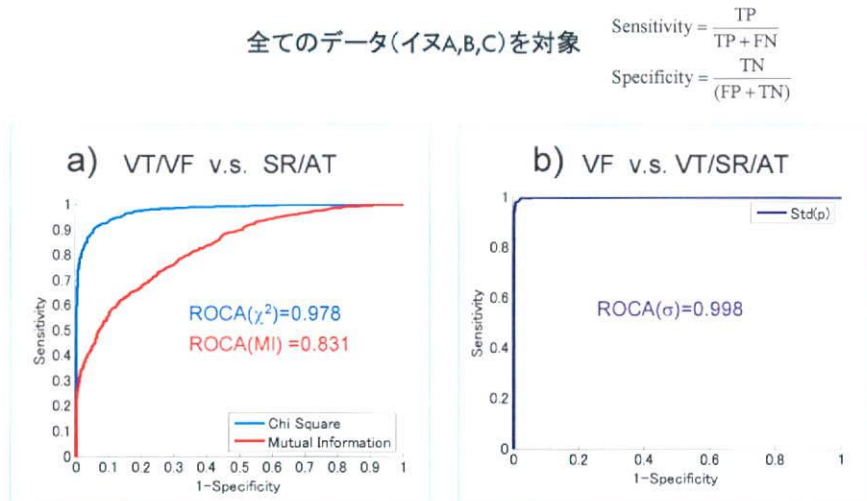


図7 3匹すべてのデータに対する相互情報量 MI , χ^2 統計量 T , および標準偏差 σ の度数分布から計算したROC曲線

C-2. ROC 曲線

図7は、図6に対応する3匹のイヌ全体のデータに対してROC曲線(receiver operating

characteristic curve) [11]を図示したものである。それぞれに対応するROC曲線の右下の面積(ROC面積)を計算すると、 MI で0.831、

I で0.978、 \cdot で0.998であった。

D. 考 察

図3の相互情報量 MI では、どのイヌの場合でも、VT/VF と SR/AT の度数分布が重複している領域が広いのに対して、図4の χ^2 統計量 I の場合では重複の度合いが少ないことがわかる。このことは、VT/VF と SR/AT を鑑別する能力は相互情報量 MI より χ^2 統計量 I の方が高いことを示している。

一方、図5のVFとSR/AT/VTに対する同時確率密度に基づく標準偏差 σ の度数分布では、どのイヌの場合でも2つの度数分布の重複が少なく、VFとSR/AT/VTを鑑別する能力が高いと判断できる。また、イヌが変わっても両者を分離する閾値は0.07程度で一定している。

図6a)およびb)の、3匹すべてのデータに対する相互情報量 MI および χ^2 統計量 I の度数分布をみると、既に図3と図4からも示されていたように、VT/VFとSR/ATの鑑別には相互情報量 MI より χ^2 統計量 I の方が有効であるが、 I の場合であっても重複領域が広く、正確な鑑別は困難であると言える。

一方、図6c)の標準偏差 σ の度数分布を見ると、図5と同様に、やはり重複が非常に少なく、この指標によりVFとSR/AT/VTの鑑別がかなり確実に行える可能性があると言える。また、そのときの閾値は0.065付近であることがわかる。

以上は、図7のROC面積の結果と対応している。

すなわち、ROC面積が MI で0.831であり、 I で0.978であることから、左右両心室の心電図だけから得られる χ^2 統計量 I に基づいてVT/VFとSR/ATを鑑別することはある程度実用的であると言える。ただし、右心房心電図が直接利用できる場合に、その信号処理から上室性不整脈を検出する場合よりも精度が高いかどうかを検討する必要がある。

一方、 \cdot のROC面積は0.998で非常に広く、VFとSR/AT/VTを区別する能力が非常に高いことがわかる。以前の結果から、左右心室心電図のどちらか一方の標準偏差の値と比較して、2次元の同時確率分布に基づく標準偏差の方が優れていることがわかっているため、左右心室の心電図が両方得られる場合には、後者の指標を使用すべきであると思われる。

E. 結 論

本研究では、以前提案した左右心室内心電図の2次元の統計的性質に基づいた致死性不整脈検出アルゴリズムの有効性を、データ数を増やすことによって評価した。

3匹のイヌを用いた不整脈誘発実験から得られるデータに対して、上述の方法を適用したところ、SR/ATとVT/VFの鑑別は、 χ^2 統計量を用いた方法が最も優れており、ROC面積で0.978の高い鑑別精度を持つことがわかった。また、左右心電図の同時頻度に基づいたSR/AT/VTとVFの鑑別法では、ROC面積で0.998の非常に高い精度での鑑別ができることがわかった。したがって、以上の方法を組み合わせることにより、SR/AT、VT、VFの3種類の鑑別が精度よく可能であることが示唆される。

さらに本方法では、心電図波形の正確なピーク検出を必要とせず、鑑別に要する時間も1秒程度（イヌの場合は2拍程度）で十分である。このことは、心房電極を用いずに、左右心室内の2つの電極だけで高速かつ正確な致死性不整脈の診断ができることを意味している。これはICDへの実装にとって有利である。

ただし本方法は、以前も指摘したことであるが、両心室の同期性が期待できない脚ブロックなどのような伝導系障害には不向きであると思われるので注意が必要である。

一方、心房電極を利用できる場合には、心房電極および両心室電極の合計3つの心電図相互の同時確率分布に基づく方法も開発することが可能であり、今後検討すべきであると思われる。

参考文献

1. Eberhardt F, Peters W, Bode F, et al.: Wave Undersensing Caused by an Algorithm Intended to Enhance Sensing Specificity in an Implantable Cardioverter Defibrillator. PACE, 2003; 26(8): 1776-1777.
2. Aliot E, Nitzsche R, Ripart A: Arrhythmia detection by dual-chamber implantable cardioverter defibrillators. A review of current algorithms, Europace, 2004; 6(4): 273-286.
3. Brugada J, Mont L, Figueiredo M, et al.: Enhanced detection criteria in

implantable defibrillators. J Cardiovasc Electrophysiol, 1998; 9, 261-268.

4. Neuzner J, Pitschner HF, Schlepper M: Programmable VT detection enhancements in implantable cardioverter defibrillator therapy. PACE, 1995; 18, 539-547.
5. Kinoshita H, Yoshizawa M, Inagaki M, Uemura K, Sugimachi M, Sunagawa K: Development of an algorithm for early detection of fatal cardiac arrhythmia for implantable cardioverter-defibrillator using a self-organizing map. Proc. of International Symposium on Bio- and Nano-Electronics in Sendai, 2006; 101-102.
6. Kinoshita H, Yoshizawa M, Inagaki M, Uemura K, Sugimachi M, Sunagawa K: Development of an algorithm for detection of fatal arrhythmias for implantable cardioverter-defibrillator using a self-organizing map. Proc. of 28th Annual International conference IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, 2006; 4370-4373.
7. Kinoshita H, Yoshizawa M, Inagaki M, Uemura K, Sugimachi M, Sunagawa K: An algorithm for fatal arrhythmia detection in a new implantable cardioverter-defibrillator. Proc. of the Second International Symposium on Bio- and Nano-Electronics in Sendai, 2006; 61-62.
8. Yoshizawa M, H Kinoshita, Sugai TK, Shimizu K, Inagaki M, Uemura K, Sugimachi M, Sunagawa K: Detection algorithm of fatal arrhythmia for implantable cardioverter defibrillators using joint probability. Nano-Biomedical Engineering 2009, Proc. of the Tohoku University Global Nano-Biomedical Engineering Education and Reseach Network Centre, 2009; 399-410.
9. Hoyer D, Leder U, Hoyer H, et al.: Mutual information and phase dependencies: measures of reduced nonlinear cardiorespiratory interactions after myocardial infarction. Med Eng Phys, 2002; 24, 33-43.
10. 小寺平治: 新統計入門, 裳華房, 2000.

11. 田中良久, 上村保子: 信号検出理論, 講座心理学 第2巻 計量心理学 (田中良久編), 東京大学出版会, 1964, 105-140.

F. 研究発表

F-1. 論文

1. Santos Filhoa E, Saijo Y, Tanaka A, Yambe T, Yoshizawa M: Fractal dimension of 40 MHz intravascular ultrasound radio frequency signals. Ultrasonics, 2008; 48(Issue 1): 35-39
2. Sugita N, Yoshizawa M, Tanaka A, Abe M, Chiba S, Yambe T and Nitta S: Quantitative evaluation of effects of visually-induced motion sickness based on causal coherence functions between blood pressure and heart Rate. Displays, 2008; 29: 167-175
3. 吉澤 誠, 杉田典大, 阿部 誠, 田中 明, 山家智之, 仁田新一: 多変数制御装置としての循環中枢—心拍数調節と血管抵抗調節の役割分担—. 臨床脳波, 2008; 36(7): 347-353

G-2. 学会発表

1. Yoshizawa M, H Kinoshita, Sugai TK, Shimizu K, Inagaki M, Uemura K, Sugimachi M, Sunagawa K: Detection algorithm of fatal arrhythmia for implantable cardioverter defibrillators using joint probability. Yamaguchi T ed, Nano-Biomedical Engineering 2009, Proc. of the Tohoku University Global Nano-Biomedical Engineering Education and Reseach Network Centre, Imperial College Press, 2009; 399-410.

G-3. 新聞報道

該当なし.

H. 知的所有権の取得状況

該当なし.

厚生労働省科学研究補助金
(医療機器開発推進研究事業(活動領域拡張医療機器開発研究事業))
平成20年度分担研究報告書

慢性心不全の予後を改善するための非侵襲で安全・安心な無痛性ICDの実用化臨床試験
植え込み型突然死防止装置の開発(分担課題名)

分担研究者 高山修一(オリンパス株式会社 研究開発統括室 室長)

研究要旨:

無痛性除細動機能を実現するため、仕様を検討し、装置の開発を行った。過去開発してきた植え込み型突然死防止装置(ICD)本体の構成を見直し、装置の小型化、低消費電力化を実現した。既存機能としてVVI,DDD、CRT(両心室再同期療法)等の最新のペースメーカー機能、頻拍治療、除細動治療の各機能を実現した。

電極に関してはシミュレータを利用して、効率的開発を実現する環境の構築を行い、シミュレーションにより確認しながら、効率的に開発することができるようになった。

また、小型、低消費電力化に関しては、信号検出用LSIの開発をすすめ、検証用チップが完成した。来年度は、このLSIの検証を行い、非侵襲で安全・安心な無痛性ICD装置全体の小型、低消費電力化をさらに進めていく予定である。

A.研究目的

植え込み型除細動器の高性能化を図りつつ、使用する患者の負担を軽減するには、小型化と長寿命化が重要である。

既存ICDの実現に必要な技術を確立した上で、痛くない除細動機能、及び超小型低消費電力化電子回路の実現を目指す。

弊社分担業務として、植え込み可能なICD本体の試作機開発、及びICD本体を制御する為のプログラムの開発を行い、機能の確認を行うことを目的とする。

作実験機の試験は、実験シミュレーション系環境による試験を行い、この試験にて有効性が確認された後、動物実験を行い性能評価を行った。

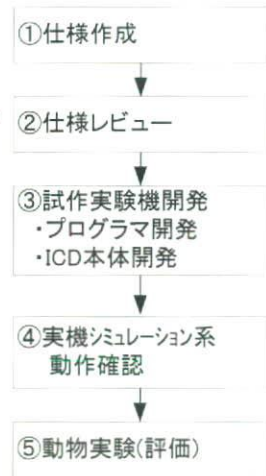


図 B-1 開発手順

B. 研究方法

B-1.開発手順

機器の開発手順を図 B-1 に示す。心電図を解析した結果と九州大学、国立循環器病センター研究所の研究成果に基づいて仕様を作成した。

また、過去5年間、厚生労働省科学研究補助金により、植え込み型突然死防止装置の開発(H15-フィジー001)を行ってきた成果に基づき、試作実験機の開発を行った。試

B-2.倫理面への配慮

動物実験については、九州大学、国立循環器病センター研究所にご協力を頂き、動物実験に関する指針に準拠して行った。

B-3.植え込み型突然死防止装置の研究

B-3.1 痛くない除細動機能の研究

シミュレータにより、電極構造を最適化し、

超低エネルギーで除細動できる電極を設計、試作して実験検証を実施した。また、電極試作にあたり、生体との適合性を考慮した材料を検討し、試作を行った。

B-3.2 植込み型除細動器の開発

過去の成果をベースに、小型低消費電力になるように回路設計を見直し、開発を行った。

C. 研究結果

C-1. 痛くない除細動機能の研究

痛くない除細動実現のため、実装可能な電極を試作し、低エネルギーでの除細動が可能であることを確認した。また、シミュレータと電極構造データの融合を実現し、シミュレーションが可能な環境を実現した。これにより、電極構造の最適化をはかり、効率よく最適設計を実施し、実験回数を最小限にすることができた。

C-3. 植込み型除細動器の開発

機能試作機を実現した。機能に関してはVVI,DDDの徐脈ペーシング機能、CRT機能、及び細動検出・除細動機能が仕様通り動作していることを動物実験により確認した。

試験結果を表1にまとめる。

表1 試験項目及び試験結果

分類	試験名	試験結果
単機能 確認	体表面心電図機能	○
	A波、V波の捕捉 (ATC機能によるピーク値検出)	○
	リードインピーダンス測定	○
	ペーシング閾値測定 (自動閾値テスト機能を使用)	○
徐脈 機能	DDDペースメーカー基本機能 CRT機能	○
徐細動	RV-Def除細動(右心室)	○
自動 診断 治療	正常な心電図の場合に誤診断 しないことの確認	○
	心室細動の誘発～細動認識～ 除細動治療	○

D. 考察

過去5年間で開発してきたICD装置の構成

を見直し小型化と低消費電力化を実現したが、LSI化により、さらなる小型、低消費電力を実現する予定である。装置の小型化についてはアナログ部、デジタル部、ドライバー部のIC化が必要である。アナログ部は今回LSIを開発したので、来期に機能検証を実施する予定である。また、来期はドライバー部のIC化に取り組む予定である。ドライバー部は高電圧のため、耐性試験等の評価が必要となる。

デジタル部に関しては全機能のアルゴ検証後、IC化に取り組む予定である。

E. 結論

本年度は期初に予定していた開発を予定通り実施し、機能検証用試作装置を開発した。

来年度はこの装置を使って、差別化機能の確認実験を行いつつ、さらに長期間植込み可能な装置を開発するためIC化を実施していく。

電極に関してはシミュレータをさらに活用し効率よく開発を実施していく予定である。

アルゴリズムの開発並びに動物実験を行うにあたり、九州大学、国立循環器病センター研究所、東京大学、東北大学の関係者の皆様より、多大なるご助言、ご協力をいただきました。

関係者の皆様に心より感謝申し上げます。

F. 研究発表

F-1. 論文

特になし。

F-2. 学会発表

特になし。

F-3. 新聞報道

特になし。

G. 知的所有権の取得状況

特になし

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

なし

雑誌

1. Inanaga K, Ichiki T, Matsuura H, Miyazaki R, Hashimoto T, Takeda K, Sunagawa K. Resveratrol attenuates angiotensin II-induced interleukin-6 expression and perivascular fibrosis. *Hypertens Res*. In press, 2009.
2. Kubo M, Egashira K, Inoue T, Koga JI, Oda S, Chen L, Nakano K, Matoba T, Kawashima Y, Hara K, Tsujimoto H, Sueishi K, Tominaga R, Sunagawa K. Therapeutic Neovascularization by Nanotechnology-Mediated Cell-Selective Delivery of Pitavastatin Into the Vascular Endothelium. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. In press, 2009.
3. Kimura Y, Hirooka Y, Kishi T, Ito K, Sagara Y, Sunagawa K. Role of inducible nitric oxide synthase in rostral ventrolateral medulla in blood pressure regulation in spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Hypertens*. 31: 281-286, 2009
4. Kishi T, Hirooka Y, Konno S, Sunagawa K. Cilnidipine inhibits the sympathetic nerve activity and improves baroreflex sensitivity in patients with hypertension. *Clin Exp Hypertens*. 31: 241-249, 2009
5. Kimura S, Egashira K, Chen L, Nakano K, Iwata E, Miyagawa M, Tsujimoto H, Hara K, Morishita R, Sueishi K, Tominaga R, Sunagawa K. Nanoparticle-mediated delivery of nuclear factor kappaB decoy into lungs ameliorates monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension. *Hypertension*. 53: 877-883, 2009.
6. Ito K, Hirooka Y, Sunagawa K. Acquisition of brain Na sensitivity contributes to salt-induced sympathoexcitation and cardiac dysfunction in mice with pressure overload. *Circ Res*. 104: 1004-1011, 2009.
7. Kawada T, Shimizu S, Yamamoto H, Shishido T, Kamiya A, Miyamoto T, Sunagawa K, Sugimachi M. Servo-controlled hind-limb electrical stimulation for short-term arterial pressure control. *Circ J*. 73: 851-859, 2009.
8. Tian Q, Miyazaki R, Ichiki T, Imayama I, Inanaga K, Ohtsubo H, Yano K, Takeda K, Sunagawa K. Inhibition of tumor necrosis factor-alpha-induced interleukin-6 expression by telmisartan through cross-talk of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma with nuclear factor kappaB and CCAAT/enhancer-binding protein-beta. *Hypertension*. 53: 798-804, 2009.
9. Hiasa K, Takemoto M, Matsukawa R, Matoba T, Kuga T, Sunagawa K. Chest pain without significant coronary stenosis after implantation of sirolimus-eluting stents. *Intern Med*. 48: 213-217, 2009.
10. Koga J, Matoba T, Egashira K, Kubo M, Miyagawa M, Iwata E, Sueishi K, Shibuya M, Sunagawa K. Soluble Flt-1 gene transfer ameliorates neointima formation after wire injury in flt-1 tyrosine kinase-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 29: 458-464, 2009.
11. Higo T, Takemoto M, Ogawa K, Inoue S, Eshima K, Tada H, Sunagawa K. Intracardiac echocardiography-guided cardiac tumor biopsy. *Circ J*. 73: 381-383, 2009.
12. Inoue T, Ide T, Yamato M, Yoshida M, Tsutsumi T, Andou M, Utsumi H, Tsutsui H,

- Sunagawa K. Time-dependent changes of myocardial and systemic oxidative stress are dissociated after myocardial infarction. *Free Radic Res.* 43: 37-46, 2009.
13. Uemura K, Sunagawa K, Sugimachi M. Computationally managed bradycardia improved cardiac energetics while restoring normal hemodynamics in heart failure. *Ann Biomed Eng.* 37: 82-93, 2009.
 14. Kashihara K, Kawada T, Sugimachi M, Sunagawa K. Wavelet-based system identification of short-term dynamic characteristics of arterial baroreflex. *Ann Biomed Eng.* 37: 112-128, 2009.
 15. Okada J, Hisada T. Study on Compressibility Control of Hyperelastic Material for Homogenization Method Using Mixed Finite Element Analysis *JCST* 3(1): 89-100, 2009.
 16. Okada J, Washio T, Hisada T. Nonlinear Homogenization Algorithms with Low Computational Cost. *JCST* 3(1): 101-114, 2009.
 17. 瀬尾欣也、稲垣正司、平林智子、高 一郎、杉町 勝、杉浦清了、久田俊明 機械的伸展に対する心筋組織の膜電位応答とその数理モデルによる不整脈シミュレーション *生体医工学* 47(1): 77-87, 2009.
 18. Kimura S, Egashira K, Nakano K, Iwata E, Miyagawa M, Tsujimoto H, Hara K, Kawashima Y, Tominaga R, Sunagawa K. Local delivery of imatinib mesylate (STI571)-incorporated nanoparticle ex vivo suppresses vein graft neointima formation. *Circulation.* 118: S65-S67, 2008.
 19. Ito K, Kimura Y, Hirooka Y, Sagara Y, Sunagawa K. Activation of Rho-kinase in the brainstem enhances sympathetic drive in mice with heart failure. *Auton Neurosci.* 142: 77-81, 2008.
 20. Miyamoto T, Kawada T, Yanagiya Y, Akiyama T, Kamiya A, Mizuno M, Takaki H, Sunagawa K, Sugimachi M. Contrasting effects of presynaptic alpha2-adrenergic autoinhibition and pharmacologic augmentation of presynaptic inhibition on sympathetic heart rate control. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 295: H1855-1866, 2008.
 21. Hayashi Y, Yoshida M, Yamato M, Ide T, Wu Z, Ochi-Shindou M, Kanki T, Kang D, Sunagawa K, Tsutsui H, Nakanishi H. Reverse of age-dependent memory impairment and mitochondrial DNA damage in microglia by an overexpression of human mitochondrial transcription factor a in mice. *J Neurosci.* 28: 8624-8634, 2008.
 22. Yamamoto K, Kawada T, Kamiya A, Takaki H, Shishido T, Sunagawa K, Sugimachi M. Muscle mechanoreflex augments arterial baroreflex-mediated dynamic sympathetic response to carotid sinus pressure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 295: H1081-H1089, 2008.
 23. Nishi J, Minamino T, Miyauchi H, Nojima A, Tateno K, Okada S, Orimo M, Moriya J, Fong GH, Sunagawa K, Shibuya M, Komuro I. Vascular endothelial growth factor receptor-1 regulates postnatal angiogenesis through inhibition of the excessive activation of Akt. *Circ Res.* 103: 261-268, 2008.
 24. Imayama I, Ichiki T, Patton D, Inanaga K, Miyazaki R, Ohtsubo H, Tian Q, Yano K, Sunagawa K. Liver X receptor activator downregulates angiotensin II type 1 receptor expression through dephosphorylation of Sp1. *Hypertension.* 51: 1631-1636, 2008.
 25. Hirooka Y, Kimura Y, Sagara Y, Ito K, Sunagawa K. Effects of valsartan or amlodipine on endothelial function and oxidative stress after one year follow-up in patients with essential hypertension. *Clin Exp Hypertens.* 30: 267-276, 2008.
 26. Takemoto M, Nishizaka M, Matsukawa R, Kaji Y, Chishaki A, Sunagawa K. CARTO images

after heart transplantation. *Intern Med.* 47: 813-814, 2008.

27. Miyazaki R, Ichiki T, Hashimoto T, Inanaga K, Imayama I, Sadoshima J, Sunagawa K. SIRT1, a longevity gene, downregulates angiotensin II type 1 receptor expression in vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 28: 1263-1269, 2008.
28. Tsutsumi T, Ide T, Yamato M, Andou M, Shiba T, Utsumi H, Sunagawa K. Effect of anaesthesia-induced alterations in haemodynamics on in vivo kinetics of nitroxyl probes in electron spin resonance spectroscopy. *Free Radic Res.* 42: 305-311, 2008.
29. Kishi T, Hirooka Y, Shimokawa H, Takeshita A, Sunagawa K. Atorvastatin reduces oxidative stress in the rostral ventrolateral medulla of stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Hypertens.* 31: 3-11, 2008.
30. Ohtsubo H, Ichiki T, Imayama I, Ono H, Fukuyama K, Hashiguchi Y, Sadoshima J, Sunagawa K. Involvement of Mst1 in tumor necrosis factor-alpha-induced apoptosis of endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 367: 474-478, 2008.
31. Tsutsumi T, Ide T, Yamato M, Kudou W, Andou M, Hirooka Y, Utsumi H, Tsutsui H, Sunagawa K. Modulation of the myocardial redox state by vagal nerve stimulation after experimental myocardial infarction. *Cardiovasc Res.* 77: 713-721, 2008.
32. Nakano K, Egashira K, Ohtani K, Gang Z, Iwata E, Miyagawa M, Sunagawa K. Azelnidipine has anti-atherosclerotic effects independent of its blood pressure-lowering actions in monkeys and mice. *Atherosclerosis.* 196: 172-179, 2008.
33. Kamiya A, Kawada T, Yamamoto K, Mizuno M, Shimizu S, Sugimachi M. Upright tilt resets dynamic transfer function of baroreflex neural arc to minimize the pressure disturbance in total baroreflex control. *J Physiol Sci* 58: 189-198, 2008.
34. Kawada T, Yamazaki T, Akiyama T, Kitagawa H, Shimizu S, Mizuno M, Li M, Sugimachi M. Vagal stimulation suppresses ischemia-induced myocardial interstitial myoglobin release. *Life Sci* 83: 490-495, 2008.
35. Mizuno M, Kamiya A, Kawada T, Miyamoto T, Shimizu S, Shishido T, Sugimachi M. Accentuated Antagonism in Vagal Heart Rate Control Mediated through Muscarinic Potassium Channels. *J Physiol Sci.* 58: 381-388, 2008.
36. Sugimachi M, Kawada T, Yamamoto H, Kamiya A, Miyamoto T, Sunagawa K. Modification of autonomic balance by electrical acupuncture does not affect baroreflex dynamic characteristics. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 1: 1981-1984, 2008.
37. Yamamoto H, Kawada T, Kamiya A, Kita T, Sugimachi M. Electroacupuncture changes the relationship between cardiac and renal sympathetic nerve activities in anesthetized cats. *Auton Neurosci.* 144: 43-39, 2008.
38. Washio T, Okada J, Hisada T. A parallel multilevel technique for solving the bidomain equation on a human heart with Purkinje fibers and a torso model. *SIAM J Sci Comput* 30(6): 2855-2881, 2008.
39. Hirabayashi S, Inagaki M, Hisada T. Effects of wall stress on the dynamics of ventricular fibrillation: A simulation study using a dynamic mechanoelectric model of ventricular tissue. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 19(7): 730-739, 2008.
40. Chen X, Sunagawa K, Hisada T. Development of a Finite Element Contact Analysis Algorithm for Charged-Hydrated Soft Tissues with Large Sliding. *Int J Numer Meth Eng.* 78(4): 483-504, 2008.
41. Katayama S, Umetani N, Sugiura S, Hisada T. The sinus of Valsalva relieves abnormal stress on aortic valve leaflets by facilitating smooth closure. *J Thorac Cardiovasc Surg.*

136(6): 1528-1535, 2008.

42. Filho ES, Saijo Y, Tanaka A, Yambe T, Yoshizawa M. Fractal dimension of 40 MHz intravascular ultrasound radio frequency signals. *Ultrasonics*. 48: 35-39, 2008.
43. Sugita N, Yoshizawa M, Tanaka A, Abe K, Chiba S, Yambe T, Nitta S. Quantitative evaluation of effects of visually-induced motion sickness based on causal coherence functions between blood pressure and heart rate. *Displays*. 29: 167-175, 2008.
44. 陳 献、杉浦清了、砂川賢二、久田俊明 混合体理論に基づく冠循環数理モデルの定式化 日本機械学会論文集 A 74(747): 1389-1397, 2008.
45. 岡田純一、鷺尾巧、久田俊明 非線形問題に対する低計算負荷均質化法の提案 日本機械学会論文集 A 74(738): 191-200, 2008.
46. 吉澤誠、杉田典大、阿部誠、田中明、山家智之、仁田新一脳波。筋電図の臨床多変数制御装置としての循環中枢一心拍数調節と血管抵抗調節の役割分担一 50: 347-353, 2008.

Role of Inducible Nitric Oxide Synthase in Rostral Ventrolateral Medulla in Blood Pressure Regulation in Spontaneously Hypertensive Rats

YOSHIKUNI KIMURA, YOSHITAKA HIROOKA,
TAKUYA KISHI, KOJI ITO, YOJI SAGARA,
AND KENJI SUNAGAWA

Department of Cardiovascular Medicine, Kyushu University Graduate School of Medical Sciences, Fukuoka, Japan

Nitric oxide (NO) in the brainstem modulates blood pressure (BP). Overexpression of inducible NO synthase (iNOS) in the rostral ventrolateral medulla (RVLM) increases BP in normotensive Wistar-Kyoto rats (WKY), but its role in BP regulation in spontaneously hypertensive rats (SHR) is unknown. We examined iNOS expression and the effect of iNOS inhibitors in the RVLM on BP and heart rate in SHR and WKY. iNOS levels in the RVLM were significantly higher in SHR than in WKY. Bilateral microinjection of aminoguanidine into the RVLM dose-dependently decreased BP and heart rate in SHR, but not in WKY. These findings suggest that iNOS expression in the RVLM of SHR contributes to increase BP.

Keywords blood pressure, heart rate, brain, nitric oxide, sympathetic nervous system

Introduction

Nitric oxide (NO) in the brainstem plays an important role in cardiovascular regulation via the autonomic nervous system (1,2). In general, NO in the brainstem inhibits sympathetic nerve activity (1,2). The rostral ventrolateral medulla (RVLM) in the brainstem is responsible for maintaining the tonic excitation of the sympathetic nervous system in cardiovascular regulation (3,4). Thus, the functional integrity of the RVLM is essential for maintaining basal vasomotor tone, and abnormalities of the RVLM might be involved in the pathogenesis of hypertension (3,4).

There are three types of NO synthase (NOS): neuronal NOS (nNOS), endothelial NOS (eNOS), and inducible NOS (iNOS) (5,6). nNOS is normally abundant in the brain (5,6). nNOS and eNOS are constitutively expressed, but iNOS expression is induced by inflammatory stimuli (5,6). Hypertension may be, in part, an inflammatory disorder (7–9).

Submitted September 6, 2007; revised December 17, 2007; accepted February 4, 2008.

Address correspondence to Yoshitaka Hirooka, MD, PhD, Department of Cardiovascular Medicine, Kyushu University Graduate School of Medical Sciences, 3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582, Japan; E-mail: hyoshi@cardiol.med.kyushu-u.ac.jp

We previously demonstrated that overexpression of iNOS in the RVLM elicits hypertension in normotensive rats by activating the sympathetic nervous system (10). The aim of the present study was thus to examine whether iNOS expression levels in the RVLM are enhanced in spontaneously hypertensive rats (SHR) compared to Wistar-Kyoto rats (WKY), and if so, whether inhibiting iNOS in the RVLM reduces blood pressure (BP) in SHR.

Material and Methods

The present study was approved by the Committee on Ethics of Animal Experiments, Faculty of Medicine, Kyushu University, and conducted according to the Guidelines for Animal Experiments of the Faculty of Medicine, Kyushu University.

General Preparation

Male SHR and WKY (14 weeks old, SLC Japan, Hamamatsu, Japan) were placed on standard feed and had free access to drinking water.

Western Blot Analysis for iNOS in the RVLM

The animals were deeply anesthetized with sodium pentobarbital (100 mg/kg IP) and perfused transcardially with phosphate-buffered saline. Western blot analysis for iNOS protein was performed on tissue obtained from the RVLM, anatomically identified using a punch-out technique, as previously described (11). We used mouse immunoglobulin G monoclonal antibody to iNOS (1:2500, Transduction Laboratories, Lexington, KY).

Microinjection into the RVLM

Rats were placed in a stereotaxic frame and the dorsal surface of the medulla was exposed under anesthesia induced by sodium pentobarbital (50 mg/kg, IP followed by 20 mg/kg per h, IV). The pressor site of the RVLM was identified as described previously (10,12). We microinjected aminoguanidine (50, 125, or 250 pmol) or 2-amino-5,6-dihydro-6-methyl-4H-1,3thiazine (AMT; 5 pmol) bilaterally into the RVLM of SHR and WKY.

Statistical Analysis

All values are expressed as means \pm SEM. An unpaired *t*-test was used to compare the values between the two groups. Differences were considered to be significant at the level of $P < 0.05$.

Results

Expression Level of iNOS in the RVLM

The results of the Western blot analysis indicated that iNOS protein expression levels in the RVLM were significantly higher in SHR than in WKY (Figure 1).

Effect of Microinjection of iNOS Inhibitors Into the RVLM on BP and Heart Rate

The time courses of changes in BP and heart rate (HR) induced by bilateral microinjection of aminoguanidine into the RVLM are shown in Figure 2.

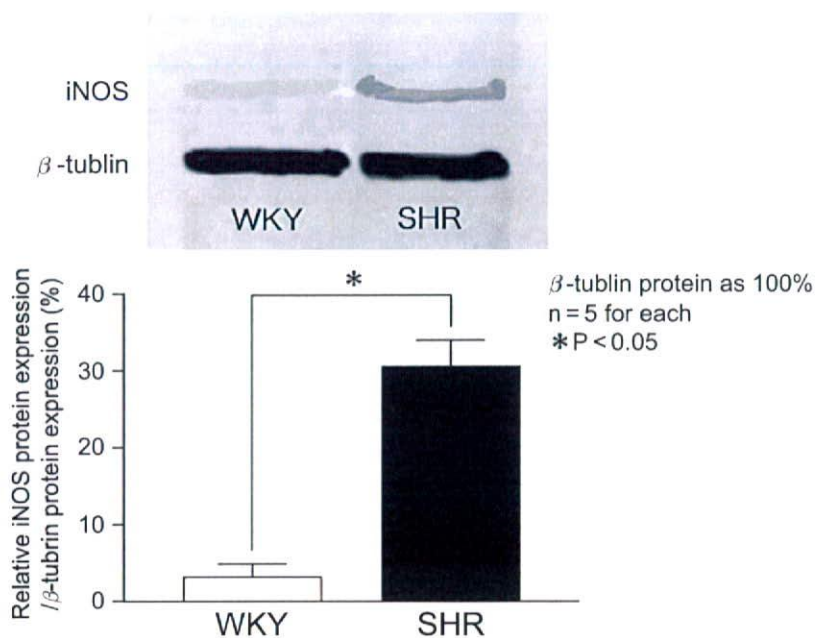


Figure 1. Western blot analysis for iNOS protein in RVLM tissues taken from WKY and SHR (n = 5 for each). *P < 0.05 between the groups. Abbreviations: iNOS- inducible No Synthase, RVLM- rostral ventrolateral medulla, WKY- Wistar-Kyoto rats, SHR- Spontaneously hypertensive rats.

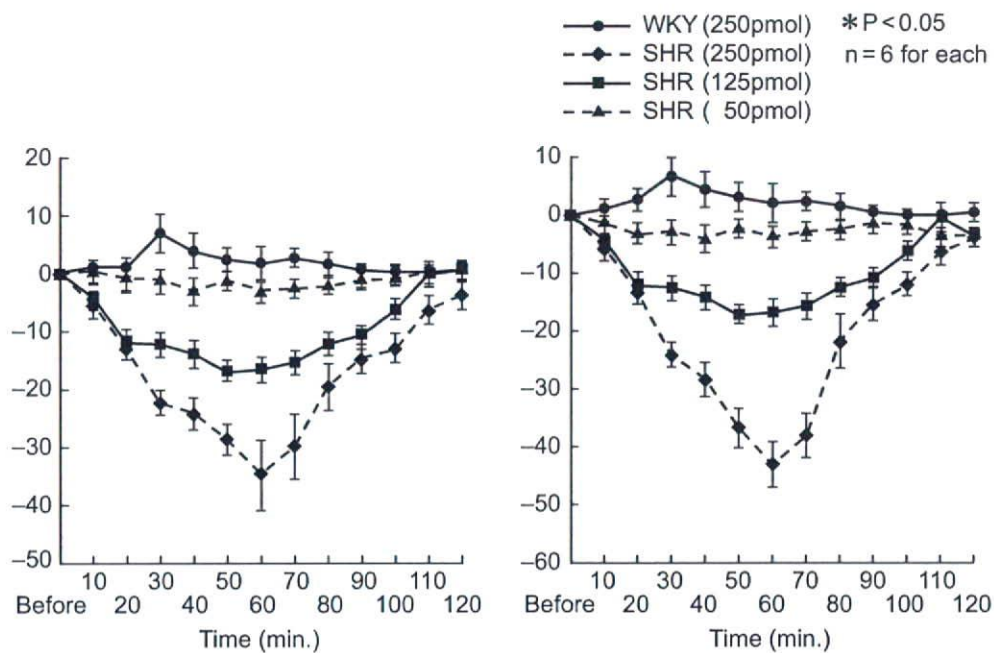


Figure 2. Time courses of mean blood pressure and heart rate induced by bilateral microinjection of aminoguanidine into the RVLM of WKY and SHR (n = 6 for each). *P < 0.05. Abbreviations: RVLM- rostral ventrolateral medulla, WKY- Wistar-Kyoto rats, SHR- Spontaneously hypertensive rats.

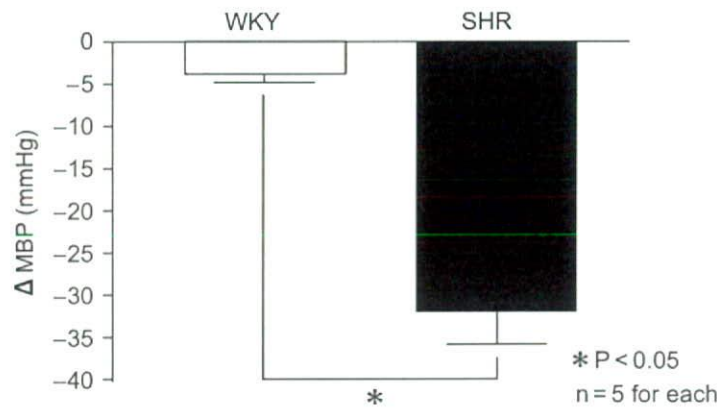


Figure 3. Changes in mean blood pressure evoked by bilateral microinjection of 2-amino-5,6-dihydro-6-methyl-4H-1,3thiazine (AMT) into the RVLM of WKY and SHR ($n = 5$ for each). * $P < 0.05$. Abbreviations: RVLM = rostral ventrolateral medulla, WKY- Wistar-Kyoto rats, SHR- spontaneously hypertensive rats.

Aminoguanidine elicited dose-dependent decreases in BP and HR in SHR. The highest dose of aminoguanidine (250 pmol), however, did not affect BP or HR in WKY (Figure 2). Bilateral microinjection of AMT into the RVLM also decreased BP in SHR, but not in WKY (Figure 3).

Discussion

The major findings of the present study were that 1) iNOS expression levels in the RVLM were greater in SHR than in WKY, and 2) inhibition of iNOS in the RVLM elicited a depressor response in SHR, but not in WKY. Together, these findings suggest that increased iNOS expression in the RVLM might be involved, at least in part, in hypertension in SHR.

The expression of iNOS protein in the RVLM was higher in SHR than in WKY. In a previous study, we demonstrated that iNOS expression levels in the brainstem were also greater in stroke-prone SHR (SHRSP) than in WKY (13). In the present study, we did not compare the expression levels of constitutively expressed NOS, such as eNOS and nNOS. The expression levels of eNOS and nNOS in the RVLM of SHRSP do not differ, however, between SHRSP and WKY (12). Moreover, overexpression of eNOS in the RVLM decreases blood pressure in SHRSP (12), suggesting that NO produced by eNOS behaves differently from that produced by iNOS.

Hypertension may be, in part, an inflammatory disorder (7–9). There is increased iNOS expression in the aorta of SHR, which is attenuated by anti-hypertensive therapy, suggesting that abnormal expression of iNOS is associated with hypertension (9).

Interestingly, there is a smaller decrease in eNOS activity and expression in the aorta of SHR compared with that of WKY (9). This smaller decrease in eNOS is also observed in brain microvessels in SHR (6). Our findings are consistent with the results of these previous studies and further suggest that the inhibition of iNOS in the RVLM reduces blood pressure in SHR, but not in WKY. Overexpression of eNOS in the RVLM decreases blood pressure in SHRSP (12). In contrast, overexpression of iNOS in the RVLM increases blood pressure in WKY (10), which might be due to an increase in oxidative stress in the RVLM (10). Therefore, we hypothesize that an increase in oxidative stress in the RVLM of SHR is associated with an increase in iNOS expression, although we did not examine