

E. 研究発表

1. 論文

1. Exercise training augments the dynamic heart rate response to vagal but not sympathetic stimulation in rats. Mizuno M, Kawada T, Kamiya A, Miyamoto T, Shimizu S, Shishido T, Smith SA, Sugimachi M. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2011 (in press).
2. Involvement of the mechano-receptors in the sensory mechanisms of manual and electrical acupuncture. Yamamoto H, Kawada T, Kamiya A, Miyazaki S, Sugimachi M. *Auton Neurosci* 2010 (in press).
3. Peak systolic mitral annulus velocity reflects the status of ventricular-arterial coupling. Theoretical and experimental analyses. Uemura K, Kawada T, Sunagawa K, Sugimachi M. *J Am Soc Echocardiogr* 2011 (in press).
4. Dynamic characteristics of baroreflex neural and peripheral arcs are preserved in spontaneously hypertensive rats. Kawada T, Shimizu S, Kamiya A, Sata Y, Uemura K, Sugimachi M. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 300: R155-R165, 2011.
5. Both skeletonized and pedicled internal thoracic arteries supply adequate graft flow after coronary artery bypass grafting even during intense sympathoexcitation. Une D, Shimizu S, Kamiya A, Kawada T, Shishido T, Sugimachi M. *J Physiol Sci* 60: 407-413, 2010.
6. Early short-term vagal nerve stimulation attenuates cardiac remodeling after reperfused myocardial infarction. Uemura K, Zheng C, Li M, Kawada T, Sugimachi M. *J Card Fail* 16: 689-699, 2010.
7. Open-loop dynamic and static characteristics of the carotid sinus baroreflex in rats with chronic heart failure after myocardial infarction. Kawada T, Li M, Kamiya A, Shimizu S, Uemura K, Yamamoto H, Sugimachi M. *J Physiol Sci* 60: 283-298, 2010.
8. Dynamic characteristics of heart rate control by the autonomic nervous system in rats. Mizuno M, Kawada T, Kamiya A, Miyamoto T, Shimizu S, Shishido T, Smith SA, Sugimachi M. *Exp Physiol* 95: 919-925, 2010.
9. Large conductance Ca²⁺-activated K⁺ channels inhibit vagal acetylcholine release at the rabbit sinoatrial node. Kawada T, Akiyama T, Shimizu S, Kamiya A, Uemura K, Sata Y, Shirai M, Sugimachi M. *Auton Neurosci* 156: 149-151, 2010.
10. Parallel resetting of arterial baroreflex control of renal and cardiac sympathetic nerve activities during upright tilt in rabbits. Kamiya A, Kawada T, Mizuno M, Shimizu S, Sugimachi M. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 298: H1966-H1975, 2010.
11. Right ventricular stiffness constant as a predictor of postoperative hemodynamics in patients with hypoplastic right ventricle: a theoretical analysis. Shimizu S, Shishido T, Une D, Kamiya A, Kawada T, Sano S, Sugimachi M. *J Physiol Sci* 60: 205-212, 2010.

12. Telemetry and telestimulation via implanted devices necessary in long-term experiments using conscious untethered animals for the development of new medical treatments. Sugimachi M, Kawada T, Uemura K. *IEICE Trans Commun* E93-B (4): 796-801, 2010.

2. 学会発表

1. 心筋梗塞ラットにおける迷走神経を介する交感神経活動抑制の欠如. 川田 徹、清水 秀二、神谷 厚範、宍戸 稔聡、杉町 勝. 第 87 回日本生理学会大会.
2. 心臓交感・副交感神経活動に対する $\alpha 2$ アゴニストの影響. 清水 秀二、秋山 剛、川田 徹、神谷 厚範、宍戸 稔聡、白井 幹康、杉町 勝. 第 87 回日本生理学会大会.
3. マグネシウム静脈内投与の副腎交感神経節伝達に及ぼす影響. 秋山 剛、川田 徹、清水 秀二、曾野部 崇、杉町 勝、白井 幹康. 第 87 回日本生理学会大会.
4. 心筋梗塞ラットにおける迷走神経を解する交感神経抑制作用の消失. 川田 徹、李 梅花、清水 秀二、上村 和紀、神谷 厚範、宍戸 稔聡、杉町 勝. 第 31 回日本循環制御医学会総会.
5. 急性期からの迷走神経の慢性電気刺激は心筋梗塞ラットの致死性不整脈と心臓リモデリングを抑制する. 李 梅花、稲垣 正司、鄭 燦、川田 徹、上村 和紀、宍戸 稔聡、杉町 勝. 第 31 回日本循環制御医学会総会.
6. 徒手および通電鍼刺激に対する循環応答における機械受容器の関与. 山本 裕美、川田 徹、神谷 厚範、宮崎 俊一、杉町 勝. 第 31

回日本循環制御医学会総会.

7. 電氣的迷走神経求心路刺激は動脈圧反射に関わらず交感神経活動を抑制する. 細川 和也、川田 徹、村山 佳範、砂川 賢二. 第 31 回日本循環制御医学会総会.
8. Dynamic characteristics of the arterial baroreflex in spontaneously hypertensive rats. 川田 徹、清水 秀二、神谷 厚範、宍戸 稔聡、佐田 悠輔、杉町 勝. 第 49 回日本生体医工学会大会.
9. Development of training device for endovascular aneurysm repair under pulsatile hydrodynamics. 清水 秀二、中井 幹三、丸山 良浩、町野 圭治、川田 徹、神谷 厚範、宍戸 稔聡、杉町 勝. 第 49 回日本生体医工学会大会.
10. Afferent vagal nerve stimulation suppresses sympathetic nerve activity regardless of baroreflex sympathoexcitation. 細川 和也、川田 徹、村山 佳範、砂川 賢二. 第 49 回日本生体医工学会大会.
11. Medetomidine, an $\alpha 2$ adrenergic agonist, enhances acetylcholine release from cardiac vagal nerve endings through central action. Shimizu S, Akiyama T, Kawada T, Inagaki M, Kamiya A, Shishido T, Sano S, Shirai M, Sugimachi M. ESC (European Society of Cardiology) Congress 2010.
12. Slow head-up tilt causes lower activation of muscle sympathetic nerve activity: loading speed-dependence of orthostatic sympathetic activation in humans. Kamiya A, Kawada T, Shimizu S, Sugimachi M.

13. Peak systolic mitral annulus velocity depends on status of ventricular-arterial coupling. Uemura K, Kawada T, Sugimachi M. CSDS (Cardiovascular System Dynamics Society) Conference 2010.
 14. Vagal stimulation markedly suppressed arrhythmic death and prevented cardiac dysfunction in rats after acute myocardial infarction. Li M, Inagaki M, Zheng C, Kawada T, Uemura K, Shishido T, Sugimachi M. CSDS (Cardiovascular System Dynamics Society) Conference 2010.
 15. 呼吸循環制御の動作原理からみた慢性心不全病態の定量的理解. 宮本 忠吉、中原 英博、宍戸 稔聡、川田 徹. 第 25 回生体・生理工学シンポジウム.
 16. 高血圧に伴う動脈圧反射系の変化—圧反射系への介入治療に与える影響—. 佐田 悠輔、川田 徹、杉町 勝. 第 25 回生体・生理工学シンポジウム.
 17. 中枢投与したグレリンは麻酔下ウサギの心臓迷走神経活動を亢進させる. 清水 秀二、秋山 剛、川田 徹、神谷 厚範、白井 幹康、杉町 勝. 第 103 回近畿生理学談話会.
 18. システム工学的視点による高血圧の病態解明. 佐田 悠輔、清水 秀二、川田 徹、杉町 勝. 第 103 回近畿生理学談話会.
 19. $\alpha 2$ アゴニストによる心臓交感神経活動抑制と心拍数調節. 清水 秀二、川田 徹、秋山 剛、杉町 勝. 第 8 回交感神経とアンジオテンシン II 研究会.
 20. 自然発症高血圧ラットにおける動脈圧受容器反射の平衡線図解析. 佐田 悠輔、川田 徹、杉町 勝. 第 11 回 Neurocardiology Workshop.
 21. 起立動作時の血圧維持における圧受容器と前庭系の関与. 安部 力、川田 徹、田中 邦彦、杉町 勝、森田 啓之. 第 11 回 Neurocardiology Workshop.
 22. Centrally administered ghrelin enhances acetylcholine release from cardiac vagal nerve endings. Shimizu S, Akiyama T, Kawada T, Sonobe T, Kamiya A, Shishido T, Tokudome T, Hosoda H, Shirai M, Kangawa K, Sugimachi M. AHA (American Heart Association) Scientific Sessions 2010.
 23. グレリン側脳室投与が心臓迷走神経活動に及ぼす影響. 清水 秀二、秋山 剛、曾野部 崇、川田 徹、神谷 厚範、宍戸 稔聡、寒川 賢治、白井 幹康、杉町 勝. 第 40 回日本心脈管作動物質学会.
3. マスコミなどへの発表
なし。
- F. 知的財産権の出願・登録状況**
1. 特許取得
なし。
 2. 実用新案登録
なし。
 3. その他
なし。

厚生労働科学研究費補助金
医療機器開発推進研究事業：低侵襲・非侵襲医療機器（ナノテクノロジー）研究事業

平成22年度 研究終了報告書（分担）

神経医療システムによる心不全治療に関する研究

研究分担者 杉町 勝（国立循環器病研究センター循環動態制御部）

研究要旨：

わが国の慢性心不全患者は100万人を越え、高齢化社会において増加中であるが、その死亡率は悪性癌に匹敵するほど高い。慢性心不全では、脳が不合理に働いて自律神経が異常（交感神経増加・迷走神経低下）となり、心臓を過剰刺激して病勢を増悪させる。これを是正する実験的神経治療が生存率を格段に改善した（Circulation 2004）。しかし現存のヒト薬物治療や神経医療は治療効果不十分であり、全身の循環系自律神経を適切に制御する方法の開発が、ヒト心不全抑制の鍵を握る。

研究チームは、血圧調節のシステム神経循環生理研究によって、圧反射求心路（頸動脈洞神経）を刺激して脳を合理的に調節し、全身の循環器系臓器（心臓血管腎臓等）の交感神経を全て抑制し、且つ迷走神経のうち心臓枝を選択刺激し、消化管刺激による副作用のない方法を開発し（Circulation 2005）実際に心筋梗塞急性期死亡を激減する動物治療実験に成功した。これを土台とし、MEMS超微細技術による医療機器の開発実績を総動員して、本研究では、臨床実用化を目指したマイクロマシン神経医療による心不全治療システムの開発を目的とする。この開発においては、血圧情報の脳幹部における情報処理を理解する必要がある。そこで平成21-22年度に試作開発した神経マイクロマシン（刺激部）、計測部および制御部の構成の閉ループ制御型の神経治療システムを開発した。これを急性動物実験（正常心・心不全動物）で試した所、実際に、頸動脈洞等の刺激（電流・周波数等）を自動調節して、脳に血圧ダミー信号（実圧より高い仮想圧信号）を送り、圧反射性に全身の循環系自律神経を調節治療（交感神経抑制・迷走神経刺激）した結果、急性心不全の死亡率を低減し、心臓や循環動態を改善するような治療効果（不整脈抑制・循環動態維持等）を観察した。

研究代表者

神谷 厚範
国立循環器病センター研究所
循環動態機能部 室員

研究分担者

杉町 勝
国立循環器病センター研究所
循環動態機能部 部長

川田 徹
国立循環器病センター研究所
循環動態機能部 室長

A. 研究目的

わが国は約100万人の慢性心不全患者を有し、各種薬物療法の進歩にも関わらず死亡率は依然として高い（5年生存率50%）。慢性心不全では自律神経異常（交感神経増加・迷走神経低下）が病態の発症と増悪に深く関与し、これを是正する自律神経治療が生存率を格段に改善する（動物実験, Circulation 2004）。しかしながら現行の薬物医療は十分でなく、全身の循環系自律神経を適切に制御する方法の開発がヒト心不全を抑制する鍵を握る。

そこで研究チームはまず、圧反射のシステム神経循環生理研究（世界トップ）を礎に、頸動脈洞（圧反射求心路）へ介入して全身（心臓・腎臓・血管）の自律神経を制御する方法を開発し、心筋梗塞性心不全を発症抑制するのに成功した（Circulation 2005）。これを土台として本研究は、真に臨床実用化を目指したマイクロマシン神経医療による心不全治療システムの開発を目的とする。（長期安定に低侵襲刺激）

研究期間内に、産学官の連携下にマイクロマシン神経医療の動物装置を開発し、心不全モデル動物の治療実験を行う。まず、神経を神経線維毎にモニターや刺激できる神経マイクロマシン（超小型電極アレイ、長期耐用保護チューブ等、特許出願済）を開発する。これを用いて、頸動脈洞や神経中枢を刺激して、脳に血压ダミー信号（実圧より高い仮想圧信号）を送り、圧反射性に全身の循環系自律神経を自動制御（交感神経の抑制・迷走神経の刺激）して、心不全の発症や重症化を抑制する。実用化には、患者個人特性や病態変化、電極ズレ等への適応が必要なため、生体信号計測（診断）-治療の閉ループ型生体制御（特許出願済）を利用して、神経刺激治療に対する心拍血圧や自律神経の応答を神経マイクロマシン等で計測し、これを刺激条件（電流・周波数）に負帰還して刺激を連続的に最適化し、自律神経を自動制御する。

圧反射神経求心路の治療応用は、圧反射システムの複雑性や、頸動脈洞を長期安定低侵襲に刺激する神経機械インターフェイスの未開発の故に、国内研究は皆無であり欧米でも実現していない。本研究は、数理工学、圧反射システム生理研究、超微細MEMS技術による頸動脈洞長期安定刺激マイクロマシン、患者個人への適応制御、閉ループインテリジェント自動医療によって、上記課題を克服し実用化を目指すものであり、国内外に類似研究のない独創的融合研究である。

本研究は神経機能異常を機械で代替するバイオニック医療であり、生体機能異常を人類がテクノロジーで克服する新時代の幕開けとなる。研究終了後の心不全治療臨床実用の期待が高い。

また本装置は将来的には、自律神経治療のみでなく、末梢神経障害、痒み、慢性疼痛等の難治性疾患治療にも応用できる可能性を秘める。

B. 研究方法

研究全体の計画の概要（3年間）は以下の通りである。

- ①刺激部の試作：身体低侵襲で耐用性の高い神経刺激治療マイクロマシン
- ②計測部の試作：治療効果を定量化するための心拍血圧モニター、自律神経モニター
- ③制御部の試作：計測生体信号を受けて神経刺激治療（電流・周波数）を自動調節する回路
- ④刺激部－計測部－制御部よりシステム神経医療を構築・試作・改良し、動物体内（頸動脈洞等・自律神経等）に植込み、システム作動を検討する。
- ⑤試作装置により急性心不全モデル動物の治療実験を行い、治療効果と安全性を検討する。
- ⑥試作装置を用いて、慢性心不全モデル動物の治療実験を行い、装置改良（長期耐用性含む）、治療効果と安全性を検討する。

平成21年度計画

平成21年度計画

上記全体計画の①②③を行う。

- ①研究チームは現在までに、MEMS(micro electronics machine system)技術を専門とする企業（（株）メムスコア等）と連携して超小型MEMS神経装置を開発した。本研究ではこの神経装置や産学管連携実績を土台として、頸動脈洞神経を長期安定に刺激するのに特化した神経マイクロマシン（超小型刺激電極・保護固定

チューブ等）を開発する。

- ②治療効果を定量化する計測部については、試作済みの心拍（血圧）モニター、マイクロマシンによる自律神経モニターを改良し、また取得生体信号を高速演算処理する回路を開発する（AD621等）。

- ③システム神経生理学を用いて、頸動脈洞刺激（電流・周波数等）に対する生体応答（心拍血圧と自律神経）を動物実験で実測しシステム同定する。刺激治療と生体応答の全体をコンピューター上に再現し、独自開発済みの閉ループ型生体信号制御技術を応用して、頸動脈洞刺激（電流・周波数等）を自動調節して脳に最適な血圧ダミー信号（実圧より高い仮想圧信号）を送り、圧反射性に全身の循環系自律神経を設定値に制御（交感神経抑制・迷走神経心臓枝刺激）するための制御部を設計する。この制御部は、患者個々の特性や病態変化、電極ズレにも適応する安心安全なインテリジェント医療を目指す。また長期の頸動脈洞刺激やその効果、装置装着等による線維化抑制等を細胞移植や生化学分子生物学的方法等によって検討しシステム開発を加速する。

平成22年度計画

上記全体計画の④と⑤を行う。

- ④刺激部－計測部－制御部を統合して、診断治療論理を内部搭載したインテリジェント神経医療システムを試作する。急性動物実験（ウサギ・イヌ等）で、簡単な手術によって、試作装置を動物（ウサギ・ラット等）の体内（頸動脈洞・自律神経等）に植込み、頸動脈洞刺激によって自律神経を設定値に自動制御できるか等、システム作動を検討する。

⑤急性心不全モデル動物（冠動脈結紮による心筋梗塞・doxorubicin投与による心筋症様等）を対象に治療実験を行い、治療効果（自律神経活動・循環動態・ポンプ機能・心臓リモデリング・生化学等）を検証して、心不全の抑制効果を確認する。治療結果を受けて装置を改良すると共に、組織解析等で神経障害の有無を検討して装置の低侵襲性や安全性を確認する。

平成23年度計画

上記全体計画の⑥を行う

⑥慢性心不全モデル動物（同上）を対象に長期治療実験を行い、急性実験と同様に治療効果を検証して、心不全の発症や重症化を抑制する効果を確認する。長期使用の耐用性や作動安定性等を含め、治療結果を受けて装置を改良する。また組織解析等によって、長期使用の低侵襲性安全性を確認する。さらにシステム頸動脈神経医療の実用化を目指して、制御部の回路構成（増幅器・演算器）等を工夫して可能な限り装置の小型化に取り組む。

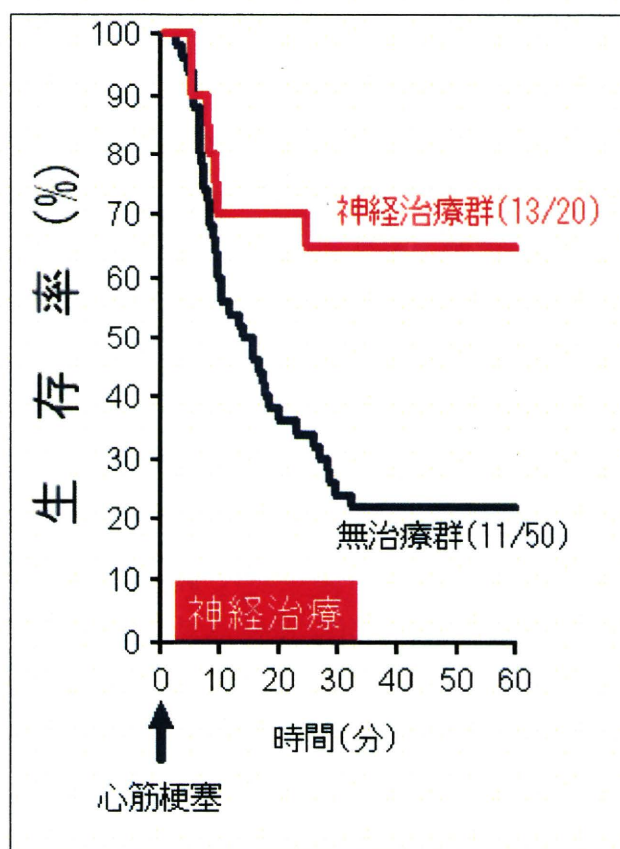
C. 研究結果

試作開発した神経医療システムを用いて、心不全モデル動物（ラット）を対象として、圧反射求心路神経の刺激治療実験を行った。

麻酔下に神経刺激のための手術をした後、除脳化（中脳レベル）し、さらに麻酔を中止し、3時間ほど待つて麻酔薬の影響をほとんど消失させた。左第4肋骨と左第5肋骨の間の肋間筋を切断してその間隙から、左冠動脈主幹部(Left main trunk; LMT)あるいは、左冠動脈前下行枝(Left anterior descending coronary artery; LAD)を結紮して、心筋梗塞モデルを作成し

た。予備実験で、無治療では、モデル作成の1時間後までに8割が死亡するような重症モデルを得た。これを対象に、モデル作成（冠動脈結紮）の2分後から圧反射求心路神経の刺激治療を行った。刺激条件は、パルス幅1 msの定電圧刺激とし、電圧は動物個々において、20Hz刺激で平均血圧が60mmHg低下するような電圧に調整した（0.8 から1.3 Vとなった）。刺激周波数は制御調節した。

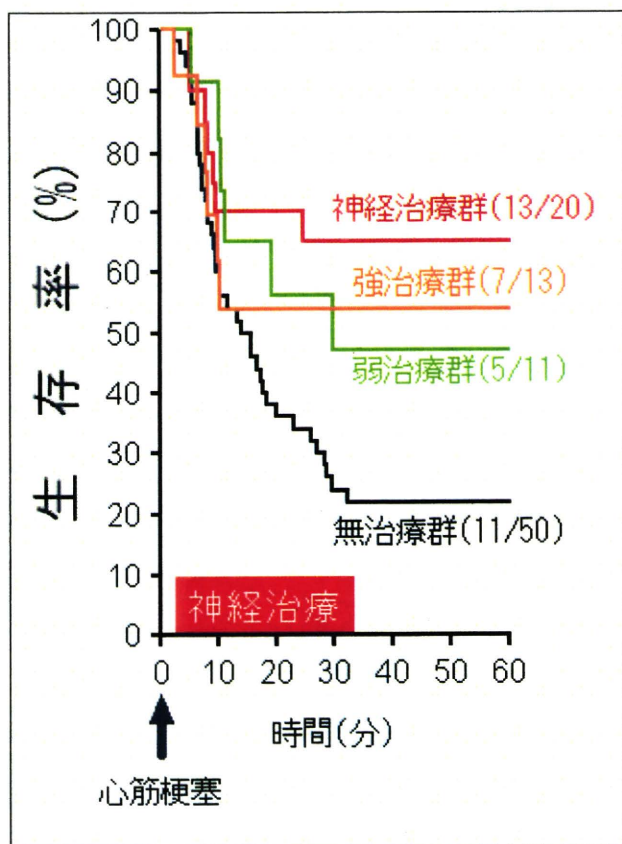
その結果、モデル作成（冠動脈結紮）の1時間後の時点で、無治療群（n=50）は2割しか生存出来なかったのに対し、神経治療群（n=20）は7割が生き残り、大幅な生存率の改善を認めた。



次に、開発した神経治療の強度の適切性を検討するため、強度が2倍の神経治療（強治療、刺激周波数が2倍）、さらに、強度が0.5倍の神経治療（弱治療、刺激周波数が0.5倍）を行い、治

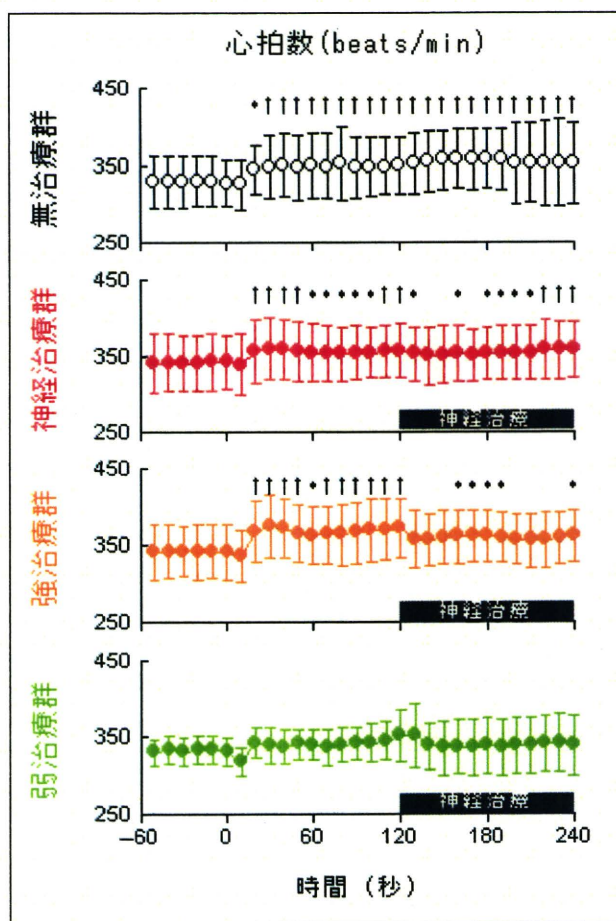
療効果を比較した。

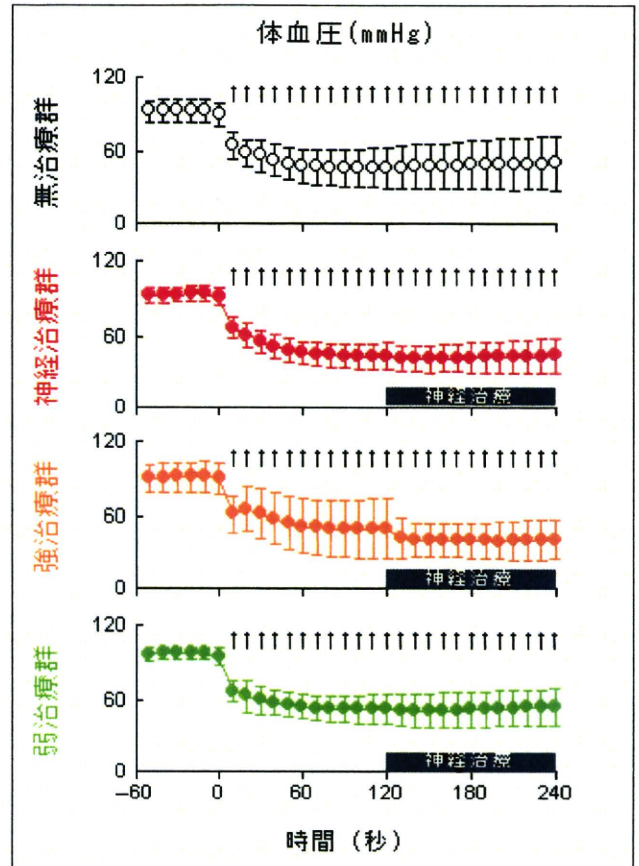
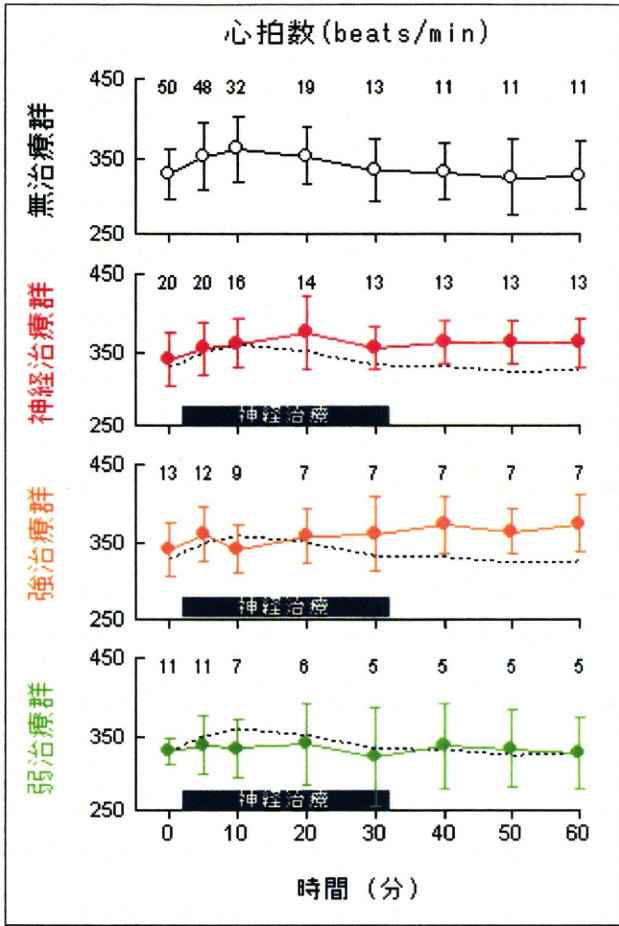
その結果、強治療群 (n=13) も弱治療群 (n=11) も、無治療群と比して、高い生存率を示したものの、元の強度の神経治療ほどの治療効果には至らなかった。この結果は、神経治療には強すぎもせず弱すぎもしないような至適な治療な強度があり、この時に最も生存率を改善できることが分った。



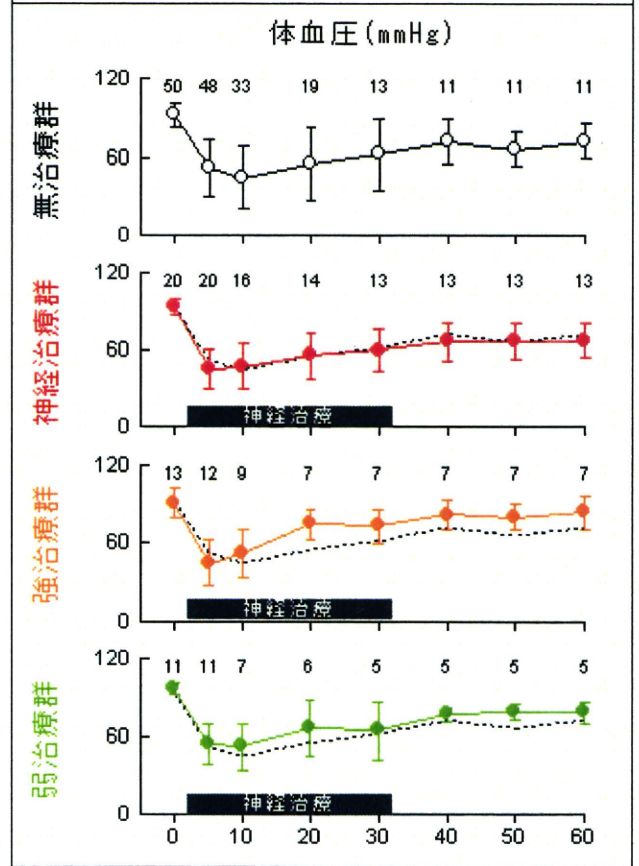
次に、神経治療中の循環動態を示す。心筋梗塞性心不全では、心拍数が増加した（下図の最上段）。モデル作成2分後から開始した神経治療は、個々の例においては、治療強度に応じて心拍数を低下させた。しかしながら、1時間の経過中の群間比較では、無治療群に比して心拍数低下効果をはっきりとは認められなかった。これは、データ表示においては生き残った個体のデータのみが反映されること、急性期死亡の主原因である致死性不整脈は明確な予兆（パラメ

タ変化) なく突発的に生じること、心拍数の個体差などが原因として考えられた。しかし、神経治療中に、刺激を試験的に中断一再開すると、すべての例において心拍数は増加-低下したことより、個体の個々においては、神経治療は心拍数を低下させており、また治療期間中にこの除脈効果が消失することはなかった。





次に血圧の結果を示す。神経治療は、心拍数の場合と同様に、個々の例においては、治療強度に応じて血圧を低下させた。神経治療中に、刺激を試験的に中断—再開すると、すべての例において血圧は増加—低下した。しかし、やはり心拍数の場合と同様に、1時間の経過中の群間比較では、無治療群に比して血圧低下効果をはっきりとは認められなかった。この理由として、無治療群では死亡前に血圧が低下するため、これが神経治療群の血圧低下効果を見た目に区別しにくいことが上げられる。

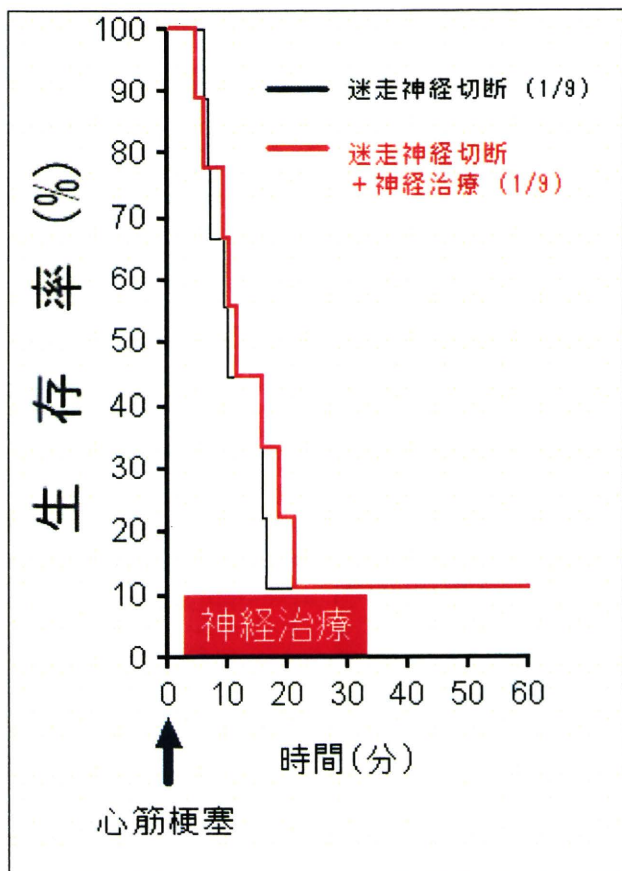


この神経治療は、圧反射求心性神経の刺激であるため、脳へ血圧が高いというダメー信号を送

り、脳の情報処理を介して、交感神経抑制と迷走神経刺激を引き起こしていると考えられる。研究チームは、本研究とは別に、頸部迷走神経の直接刺激が、心不全を抑制し生存率を改善することを観察した。そこで、本神経治療が、迷走神経刺激を介して治療効果を発揮するのかどうかを検討した。

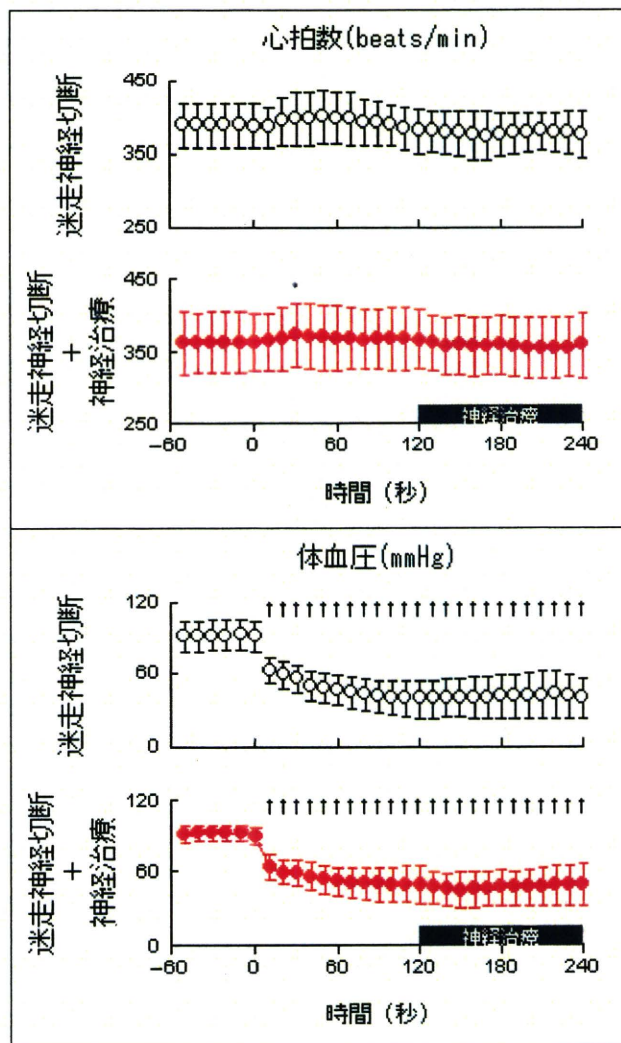
その方法として、頸部で両側迷走神経を切断した上で本神経治療を行い、上述の治療効果（特に生存率の改善効果）が消失するか残るかを調べた。

その結果、迷走神経を切断すると、神経治療を行っても生存率が改善しないことが分かった。これより、本神経治療は迷走神経（刺激）を介して治療効果を発揮していると解釈された。



さらに、迷走神経を切断すると、本神経治療による心拍数低下がほとんど消失した。この結果

より、本神経医療による除脈効果もまた、迷走神経を介するものと解釈された。



以上より、開発した神経医療システムによって、心筋梗塞モデル動物の心不全を抑制し、生存率を大きく改善した。この治療効果の機序として、迷走神経刺激が考えられた。

<倫理面への配慮>

本研究の動物実験は、国立循環器病センター研究所および日本生理学学会の動物実験の指針に沿い、実験動物の数と侵襲を最小にするよう、また、動物愛護上においても、十分配慮して行われた。また、国立循環器病研究センター実験動物委員会に承認のもとに、行われた。

D. 健康危険情報

健康危険情報は特にない。

E. 研究発表

1. 論文

13. Exercise training augments the dynamic heart rate response to vagal but not sympathetic stimulation in rats. Mizuno M, Kawada T, Kamiya A, Miyamoto T, Shimizu S, Shishido T, Smith SA, Sugimachi M. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2011 (in press).
14. Involvement of the mechanoreceptors in the sensory mechanisms of manual and electrical acupuncture. Yamamoto H, Kawada T, Kamiya A, Miyazaki S, Sugimachi M. *Auton Neurosci* 2010 (in press).
15. Peak systolic mitral annulus velocity reflects the status of ventricular-arterial coupling. Theoretical and experimental analyses. Uemura K, Kawada T, Sunagawa K, Sugimachi M. *J Am Soc Echocardiogr* 2011 (in press).
16. Dynamic characteristics of baroreflex neural and peripheral arcs are preserved in spontaneously hypertensive rats. Kawada T, Shimizu S, Kamiya A, Sata Y, Uemura K, Sugimachi M. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 300: R155-R165, 2011.
17. Both skeletonized and pedicled internal thoracic arteries supply adequate graft flow after coronary artery bypass grafting even during intense sympathoexcitation. Une D, Shimizu S, Kamiya A, Kawada T, Shishido T, Sugimachi M. *J Physiol Sci* 60: 407-413, 2010.
18. Early short-term vagal nerve stimulation attenuates cardiac remodeling after reperfused myocardial infarction. Uemura K,

- Zheng C, Li M, Kawada T, Sugimachi M. *J Card Fail* 16: 689-699, 2010.
19. Open-loop dynamic and static characteristics of the carotid sinus baroreflex in rats with chronic heart failure after myocardial infarction. Kawada T, Li M, Kamiya A, Shimizu S, Uemura K, Yamamoto H, Sugimachi M. *J Physiol Sci* 60: 283-298, 2010.
20. Dynamic characteristics of heart rate control by the autonomic nervous system in rats. Mizuno M, Kawada T, Kamiya A, Miyamoto T, Shimizu S, Shishido T, Smith SA, Sugimachi M. *Exp Physiol* 95: 919-925, 2010.
21. Large conductance Ca²⁺-activated K⁺ channels inhibit vagal acetylcholine release at the rabbit sinoatrial node. Kawada T, Akiyama T, Shimizu S, Kamiya A, Uemura K, Sata Y, Shirai M, Sugimachi M. *Auton Neurosci* 156: 149-151, 2010.
22. Parallel resetting of arterial baroreflex control of renal and cardiac sympathetic nerve activities during upright tilt in rabbits. Kamiya A, Kawada T, Mizuno M, Shimizu S, Sugimachi M. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 298: H1966-H1975, 2010.
23. Right ventricular stiffness constant as a predictor of postoperative hemodynamics in patients with hypoplastic right ventricle: a theoretical analysis. Shimizu S, Shishido T, Une D, Kamiya A, Kawada T, Sano S, Sugimachi M. *J Physiol Sci* 60: 205-212, 2010.
24. Telemetry and telestimulation via implanted devices necessary in long-term experiments using conscious untethered animals for the development of new medical

2. 学会発表

24. 心筋梗塞ラットにおける迷走神経を介する交感神経活動抑制の欠如. 川田 徹、清水 秀二、神谷 厚範、宍戸 稔聡、杉町 勝. 第 87 回日本生理学会大会.
25. 心臓交感・副交感神経活動に対する $\alpha 2$ アゴニストの影響. 清水 秀二、秋山 剛、川田 徹、神谷 厚範、宍戸 稔聡、白井 幹康、杉町 勝. 第 87 回日本生理学会大会.
26. マグネシウム静脈内投与の副腎交感神経節伝達に及ぼす影響. 秋山 剛、川田 徹、清水 秀二、曾野部 崇、杉町 勝、白井 幹康. 第 87 回日本生理学会大会.
27. 心筋梗塞ラットにおける迷走神経を解する交感神経抑制作用の消失. 川田 徹、李 梅花、清水 秀二、上村 和紀、神谷 厚範、宍戸 稔聡、杉町 勝. 第 31 回日本循環制御医学会総会.
28. 急性期からの迷走神経の慢性電気刺激は心筋梗塞ラットの致死性不整脈と心臓リモデリングを抑制する. 李 梅花、稲垣 正司、鄭 燦、川田 徹、上村 和紀、宍戸 稔聡、杉町 勝. 第 31 回日本循環制御医学会総会.
29. 徒手および通電鍼刺激に対する循環応答における機械受容器の関与. 山本 裕美、川田 徹、神谷 厚範、宮崎 俊一、杉町 勝. 第 31 回日本循環制御医学会総会.
30. 電氣的迷走神経求心路刺激は動脈圧反射に関わらず交感神経活動を抑制する. 細川 和也、川田 徹、村山 佳範、砂川 賢二. 第 31 回日本循環制御医学会総会.
31. Dynamic characteristics of the arterial baroreflex in spontaneously hypertensive rats. 川田 徹、清水 秀二、神谷 厚範、宍戸 稔聡、佐田 悠輔、杉町 勝. 第 49 回日本生体医工学会大会.

32. Development of training device for endovascular aneurysm repair under pulsatile hydrodynamics. 清水 秀二、中井 幹三、丸山 良浩、町野 圭治、川田 徹、神谷 厚範、宍戸 稔聡、杉町 勝. 第49回日本生体医工学会大会.
33. Afferent vagal nerve stimulation suppresses sympathetic nerve activity regardless of baroreflex sympathoexcitation. 細川 和也、川田 徹、村山 佳範、砂川 賢二. 第49回日本生体医工学会大会.
34. Medetomidine, an α_2 adrenergic agonist, enhances acetylcholine release from cardiac vagal nerve endings through central action. Shimizu S, Akiyama T, Kawada T, Inagaki M, Kamiya A, Shishido T, Sano S, Shirai M, Sugimachi M. ESC (European Society of Cardiology) Congress 2010.
35. Slow head-up tilt causes lower activation of muscle sympathetic nerve activity: loading speed-dependence of orthostatic sympathetic activation in humans. Kamiya A, Kawada T, Shimizu S, Sugimachi M. CSDS (Cardiovascular System Dynamics Society) Conference 2010.
36. Peak systolic mitral annulus velocity depends on status of ventricular-arterial coupling. Uemura K, Kawada T, Sugimachi M. CSDS (Cardiovascular System Dynamics Society) Conference 2010.
37. Vagal stimulation markedly suppressed arrhythmic death and prevented cardiac dysfunction in rats after acute myocardial infarction. Li M, Inagaki M, Zheng C, Kawada T, Uemura K, Shishido T, Sugimachi M. CSDS (Cardiovascular System Dynamics Society) Conference 2010.

38. 呼吸循環制御の動作原理からみた慢性心不全病態の定量的理解. 宮本忠吉、中原 英博、宍戸 稔聡、川田 徹. 第 25 回生体・生理工学シンポジウム.
39. 高血圧に伴う動脈圧反射系の変化—圧反射系への介入治療に与える影響—. 佐田 悠輔、川田 徹、杉町 勝. 第 25 回生体・生理工学シンポジウム.
40. 中枢投与したグレリンは麻酔下ウサギの心臓迷走神経活動を亢進させる. 清水 秀二、秋山 剛、川田 徹、神谷 厚範、白井 幹康、杉町 勝. 第 103 回近畿生理学談話会.
41. システム工学的視点による高血圧の病態解明. 佐田 悠輔、清水 秀二、川田 徹、杉町 勝. 第 103 回近畿生理学談話会.
42. $\alpha 2$ アゴニストによる心臓交感神経活動抑制と心拍数調節. 清水 秀二、川田 徹、秋山 剛、杉町 勝. 第 8 回交感神経とアンジオテンシン II 研究会.
43. 自然発症高血圧ラットにおける動脈圧受容器反射の平衡線図解析. 佐田 悠輔、川田 徹、杉町 勝. 第 11 回 Neurocardiology Workshop.
44. 起立動作時の血圧維持における圧受容器と前庭系の関与. 安部 力、川田 徹、田中 邦彦、杉町 勝、森田 啓之. 第 11 回 Neurocardiology Workshop.
45. Centrally administered ghrelin enhances acetylcholine release from cardiac vagal nerve endings. Shimizu S, Akiyama T, Kawada T, Sonobe T, Kamiya A, Shishido T, Tokudome T, Hosoda H, Shirai M, Kangawa K, Sugimachi M. AHA (American Heart Association) Scientific Sessions 2010.
46. グレリン側脳室投与が心臓迷走神経活動に及ぼす影響. 清水 秀二、秋山 剛、曾野部 崇、川田 徹、神谷 厚範、宍戸 稔聡、寒川 賢治、白井 幹康、杉町 勝. 第 40 回日本心脈管作動物質学会.

3. マスコミなどへの発表

なし。

F. 知的財産権の出願・登録状況

4. 特許取得

なし。

5. 実用新案登録

なし。

6. その他

なし。

厚生労働科学研究費補助金
医療機器開発推進研究事業：低侵襲・非侵襲医療機器（ナノテクノロジー）研究事業

平成 22 年度 研究終了報告書（分担）

心不全ラットおよび高血圧ラットの頸動脈洞圧反射のシステム解析に関する研究

分担研究者 川田 徹（国立循環器病研究センター循環動態制御部）

研究要旨

頸動脈洞圧反射は自律神経系を介して循環系を調節する主要な負帰還系である。本研究では頸動脈洞マイクロマシンのような循環器疾患の治療に関して、心筋梗塞作成後 8 週目の心不全ラットを用いて麻酔下に実験を行い、迷走神経の切断前後で頸動脈洞圧反射のシステム特性の変化を調べた。その結果、正常ラットでは迷走神経切断前に、迷走神経求心路を介すると思われる交感神経活動の抑制と、迷走神経遠心路を介すると思われる心拍数の低下が観察されたのに対し、心不全ラットではこれらの迷走神経による調節が欠如していた。この結果は、心不全治療における迷走神経の再賦活化の重要性を示唆する。次に、新たな病態モデルとして、自然発症高血圧ラットを用いて麻酔下に実験を行い、頸動脈洞圧反射の動特性を推定した。その結果、圧受容器への高い入力圧が持続している高血圧ラットにおいても、正常血圧対照ラットと同じく、動脈圧反射中枢弓の微分特性は維持されており、動的ゲインの低下は認められなかった。また、動脈圧反射末梢弓の動特性にも大きな変化はなかった。高血圧の病態は多様であるので一概にはいえないが、本結果は高血圧においても動脈圧反射の機能が維持されており、頸動脈洞マイクロマシンを利用して交感神経活動を制御し、降圧治療を行うことが可能であることを示唆する。

A. 研究目的

心不全や高血圧などの循環器疾患においては自律神経系のバランスが崩れ、交感神経活動の亢進と迷走神経活動の低下が生じることが知られている。本プロジェクトでは頸動脈洞マイクロマシを用いて圧反射経路で交感神経を抑制し、迷走神経を賦活化させることで、これらの循環器疾患を治療することを目指している。

頸動脈洞圧反射は自律神経系を介して血圧を調節する重要な生体システムの1つであり、その調節機構をシステム解析の手法を用いて解き明かすことは、圧反射を利用した治療方法の開発に不可欠である。前年度は心筋梗塞後のラット慢性心不全モデルを作成して、頸動脈洞圧反射の静的および動的システム解析を行い、正常ラットとの比較を行った (Kawada et al. *J Physiol Sci* 60: 283-298, 2010)。

本年度は動脈圧反射性の血圧調節における交感神経と迷走神経の相互作用を明らかにするために、心不全ラットと正常ラットにおいて、迷走神経の切断前後で頸動脈洞圧反射の静特性および動特性がどのように変化するかを検討した。これまでの研究から、迷走神経の電気刺激によって心筋梗塞後慢性心不全ラットの生存率が飛躍的に向上することが知られている (Li et al. *Circulation* 109: 120-124, 2004)。正常および心不全における迷走神経のはたらきを理解する上でも、迷走神経切断によって動脈圧反射による血圧調節がどのように修飾されるかを調べることは重要である。

また、新しく疾患モデルの1つである自然発症高血圧ラットと正常血圧対照ラットにおいて頸動脈洞圧反射の動特性を評価し、高血圧における動脈圧反射を利用した血圧調節の可能性について検討した。

B. 研究方法

B-1. 慢性心不全ラットの作成

8週令の雄性 Sprague-Dawley ラットを用い、ハロセン吸入麻酔下に経口挿管を行い、人工呼吸を実施した。清潔手術操作下に左第4肋間を切開して心臓に到達し、左冠動脈を5-0プロリン糸で結紮した。冠動脈閉塞後1時間にわたって心電図をモニターし、心室細動が生じたときは直ちに綿棒で機械的に心臓マッサージを行って除細動した。その後、胸腔内を脱気して閉胸し、麻酔から回復させた。手術後は自由摂食、自由飲水、自由行動下に飼育し、心筋梗塞作成後8週まで生存したラットを用いて、次に述べる急性実験を行った。

B-2. 急性実験の手術手技

心不全ラットと正常対照ラットを用いて急性実験を行った。ウレタン (250 mg/ml) + α クロラロース (40 mg/ml) の混合液を腹腔内投与 (2 ml/kg) して麻酔を施した。気管切開を行い、挿管して人工呼吸を実施した。右大腿動脈および大腿静脈にカテーテルを挿入し、血圧と心拍数の測定と、麻酔薬の持続投与を行った (0.1 ml/kg/h)。左大腿静脈より別のカテーテルを挿入し、下大静脈まで進行させ、大気圧との差分から中心静脈圧を測定した。

左側腹部切開を行い、後腹膜的に内臓交感神経に到達した。腹腔神経節よりも遠位側にある内臓交感神経の枝に双極神経電極を装着し、二液混合シリコンで絶縁固定した。神経活動は150~1000 Hzの帯域フィルターをかけて前置増幅した後、全波整流し、遮断周波数30 Hzの低域通過フィルターを通して定量化した。実験終了後に神経節遮断薬ヘキサメソニウム 60 mg/kg を静脈内投与し、神経活動の信号が消失するのを確認して、その後にノイズレベルを記録した。

頸部正中切開を行い、頸部迷走神経を周囲組織から丁寧に剥離して、後から切断できるように絹糸で輪を作成した。頸部に走行する大動脈減圧神経および交感神経は切除した。7-0プロリン糸を用いて、

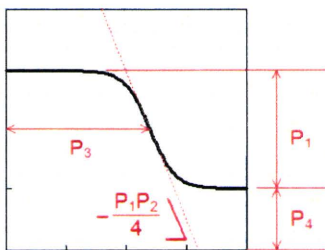
外頸動脈を内頸動脈との分岐直後で結紮した。次に、総頸動脈側から直径 0.8 mm のステンレスボールを 2~3 個注入して内頸動脈を閉塞させ、最後に、総頸動脈にカニューレーションすることで頸動脈洞を体循環から完全に分離した (Sato et al., *Am J Physiol* 276: H326-H332, 1999)。最終的にステンレスボールを閉塞させる直前にヘパリンを静脈投与し、椎骨動脈などから脳への血流が停滞しないように配慮した。

B-3. 頸動脈洞圧反射の静特性の推定

実験データは 200 Hz で A/D 変換してコンピュータに記録した。サーボポンプを用いて頸動脈洞内圧を制御し、まず、60 mmHg まで頸動脈洞内圧を低下させ、血圧が新たな定常値に達するまで 4~6 分間待機した。次に、頸動脈洞内圧を 20 mmHg ずつ階段状に 180 mmHg まで上昇させ、交感神経活動と体血圧の応答を記録した。階段状入力の 1 ステップの持続時間は 1 分間とした。各入力圧において、最後の 10 秒間のデータを平均して、各入力圧に対する交感神経活動と体血圧の値とした。

得られたデータを元に、頸動脈洞内圧と交感神経活動の関係性を求め、動脈圧反射の中樞弓の静特性としてプロットした。中樞弓はシグモイド状の非線形入出力関係を示すことから、次に示す 4 係数ロジスティック曲線を用いて近似し、非線形最小二乗法でパラメータを推定した。

$$y = \frac{P_1}{1 + \exp[P_2(x - P_3)]} + P_4$$



図B-3-1. ロジスティック曲線の係数の図解.

P_1 は出力の応答範囲 (最大応答と最小応答の差)、 P_2 はロジスティック曲線の傾きの係数 (最大の傾き $= -P_1 \times P_2 / 4$)、 P_3 は入力側の中心点、 P_4 は出力の最小値を示す (図B-3-1)。

次に、交感神経活動と体血圧の関係を求め、動脈圧反射の末梢弓の静特性としてプロットした。末梢弓はほぼ直線的な入出力関係を示したことから、直線回帰してその傾きと y 切片を推定した。

B-4. 頸動脈洞圧反射の動特性の推定

頸動脈洞圧反射の動特性を推定するために、サーボポンプを用いて頸動脈洞に平均 120 mmHg、標準偏差 20 mmHg のガウス白色雑音を入力した。ガウス白色雑音はヒストグラムが正規分布し、そのパワースペクトルが周波数に関わらず一定の信号である。入力値の切り替え時間を 500 ms とすることで、最高 1 Hz までの周波数範囲でシステムの動特性を推定した。

得られたデータを元に、次の手順でシステムの動特性を示す伝達関数を計算した。動脈圧反射全体の動特性を求めるときは「頸動脈洞内圧を入力、体血圧を出力」として伝達関数を推定した。動脈圧反射の中樞弓の動特性を求めるときは、「頸動脈洞内圧を入力、交感神経活動を出力」として伝達関数を推定した。動脈圧反射の末梢弓の動特性を推定するときは、「交感神経活動を入力、体血圧を出力」として伝達関数を計算した (図B-4-1)。

まず、200 Hz の記録データを加算平均によって 10 Hz にリサンプリングし、1024 点ずつのセグメントに分割した。各セグメントは 512 点ずつオーバーラップさせた。各セグメントから直線トレンドを除去した後、入力信号と出力信号をフーリエ変換し、12 セグメントの平均値から入力のパワースペクトル $S_{XX}(f)$ 、出力のパワースペクトル $S_{YY}(f)$ 、入出力のクロススペクトル $S_{YX}(f)$ を推定した。これらを元に、入出力間の伝達関数 $H(f)$ を次の式で計算した。

$$H(f) = \frac{S_{YX}(f)}{S_{XX}(f)}$$

伝達関数は複素数値であるので、その実数部 $H_R(f)$ と虚数部 $H_I(f)$ から絶対値 $gain(f)$ と位相 $phase(f)$ を求めてボード線図に表示した。

$$gain(f) = \sqrt{H_R(f)^2 + H_I(f)^2}$$

$$phase(f) = \arctan(H_I(f), H_R(f))$$

また、入出力間のコヒーレンス $Coh(f)$ を次の式で計算した。

$$Coh(f) = \frac{|S_{YX}(f)|^2}{S_{XX}(f)S_{YY}(f)}$$

コヒーレンスは 0 から 1 の値をとる。コヒーレンスが 1 のとき、入力と出力は完全に線形相関しており、出力変動はすべて入力変動で説明できる。コヒーレンスが 0 のとき入力と出力は無相関である。

伝達関数は周波数軸における入出力関係の記述であり、直感的に入出力関係を把握しにくい。そこで、伝達関数を逆フーリエ変換して時間軸におけるインパルス応答 $h(\tau)$ を求めた後、それを時間積分することでシステムのステップ応答 $s(t)$ を推定し、伝達関数とともに表示した。

$$s(t) = \int_0^t h(\tau) d\tau$$

B-5. 自然発症高血圧ラットにおける動脈圧反射の動特性の推定

自然発症高血圧ラット (spontaneously

hypertensive rat; SHR) および正常血圧対照ラット (Wistar Kyoto rat; WKY) を用いて、B-2、B-4 と同様の実験および解析を行った。SHR においては高血圧が持続しているため、頸動脈洞圧反射の動特性を求めるための入力として、平均 120 mmHg、標準偏差 20 mmHg のガウス白色雑音に加えて、平均 160 mmHg、標準偏差 20 mmHg のガウス白色雑音も用いた。

(倫理面への配慮)

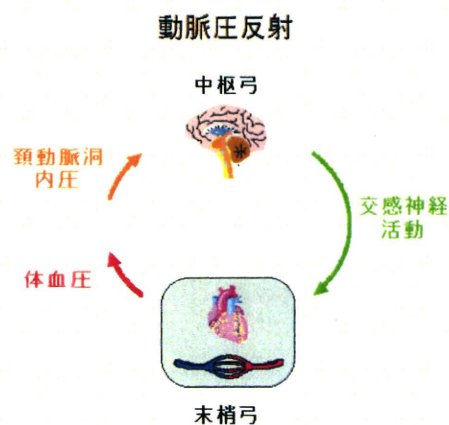
冠動脈閉塞手術は麻酔下を実施し、手術回復後は自由摂食、自由飲水、自由行動下に飼育した。急性実験はすべて麻酔下で実施し、実験終了後は直ちに大量の麻酔薬 (ペントバルビタール) の静脈投与によって安楽死させた。

実験は国立循環器病研究センターの実験動物委員会の審査と承認を受けた上で、日本生理学会の示す動物実験指針にしたがって実施した。

C. 研究結果

C-1. 迷走神経切断が正常ラットの動脈圧反射の静特性に及ぼす影響

Sprague-Dawley 系の正常ラットにおいて、頸動脈洞圧受容器を体循環系より分離し、内臓交感神経



図B-4-1. 動脈圧反射による血圧調節の概念図。動脈圧反射は大きく中枢弓(制御部)と末梢弓(被制御部)のサブシステムに分けて解析できる。