

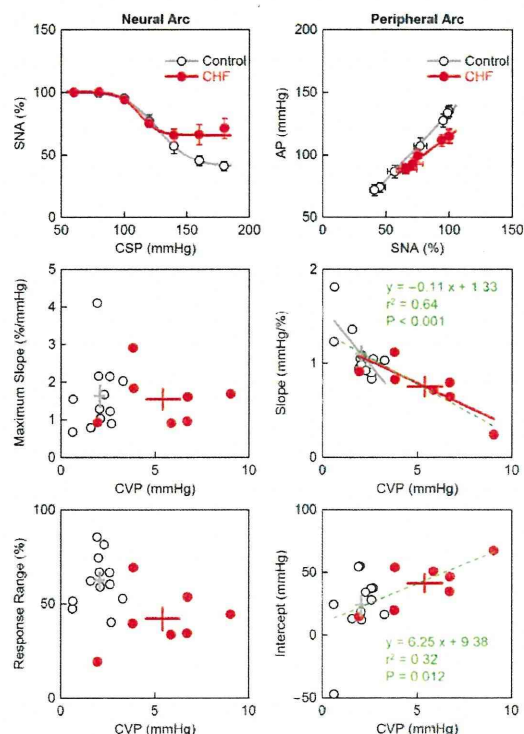
図C-2-2上段は12匹の正常ラットと7匹の心不全ラットの圧反射全体の静特性と心拍数制御の静特性をまとめたものである。圧反射全体の静特性では、心不全ラットにおいて血圧の応答範囲の低下が顕著であった(対照群:  $64 \pm 4$  mmHg, 心不全群:  $31 \pm 6$  mmHg,  $P < 0.01$ )。また、心拍数についても応答範囲の低下が観察され(対照群:  $49 \pm 5$  beats/min, 心不全群:  $30 \pm 6$  beats/min,  $P < 0.05$ )、予測に反して心不全ラットにおいて心拍数が低値を示した。

図C-2-2中段はロジスティック曲線の傾きの最大値( $P_1 \times P_2 \div 4$ )と測定された中心静脈圧の関係を示したものである。心不全群では中心静脈圧が高かったが、中心静脈圧と傾きの最大値との間に有意な相関は見られなかった。

図C-2-2下段はロジスティック曲線の応答範囲( $P_1$ )と測定された中心静脈圧との関係を示したものである。心不全群と対照群の全体をまとめて解析すると、中心静脈圧が高いほど応答範囲が小さくなる有意な相関を示した。しかし、心不全群単独の解析では、相関は有意ではなかった。

図C-2-3上段は圧反射の中樞弓と末梢弓の静特性をまとめたものである。交感神経活動の絶対電位の記録は個体によって大きくばらつくため、心不全群と対照群のいずれにおいても、頸動脈洞内圧が60 mmHgのときの交感神経活動を100%として表示してある。中樞弓の静特性では、心不全群において高い頸動脈洞内圧に対してあまり交感神経活動が抑制されず、応答範囲が縮小した(対照群:  $62 \pm 4$  %, 心不全群:  $42 \pm 6$  %,  $P < 0.01$ )。末梢弓の静特性では、交感神経活動の同じパーセント変化に対し

て、体血圧の応答が小さく、末梢弓の入出力関係を示す直線の傾きが緩やかであった(対照群:  $1.10 \pm 0.08$ , 心不全群:  $0.75 \pm 0.10$ ,  $P < 0.05$ )。

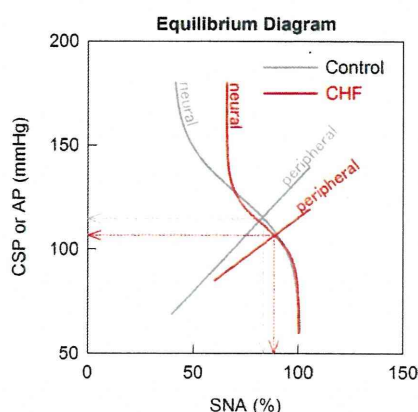


図C-2-3. 圧反射の中樞弓(Neural Arc)と末梢弓(Peripheral Arc)の静的な入出力関係. CSP: 頸動脈洞内圧, SNA: 交感神経活動, AP: 血圧, CVP: 中心静脈圧, Control: 対照群, CHF: 心不全群.

図C-2-3中段左は中樞弓を示すロジスティック曲線の傾きの最大値( $P_1 \times P_2 \div 4$ )と中心静脈圧の関係を示したものであるが、両者に有意な相関はなかった。中段右は末梢弓の傾きと中心静脈圧の関係を示したものである。末梢弓の傾きについては、心不全群と対照群をまとめて解析しても個別に解析にしても有意な負の相関が認められた。

図C-2-3下段左は中樞弓を示すロジスティック曲線の応答範囲( $P_1$ )と中心静脈圧の関係を示したものであるが、両者に

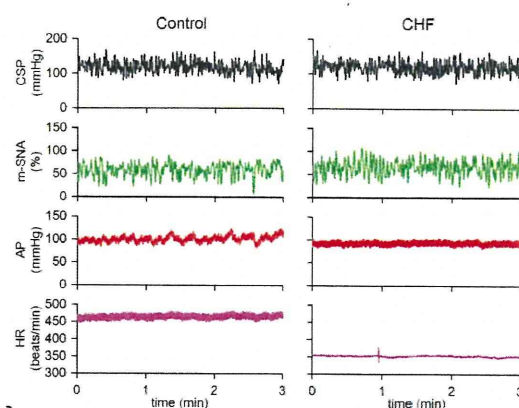
有意な相関はなかった。下段右は末梢弓を直線回帰したときの y 切片と中心静脈圧の関係を示したものである。心不全群と対照群をまとめて解析すると、有意な正の相関が認められた。しかし、心不全群単独の解析では相関は有意ではなかった。



図C-2-4. 動脈圧反射の平衡線図(Equilibrium Diagram). CSP: 頸動脈洞内圧, AP: 体血圧, SNA: 交感神経活動, neural: 中枢弓, peripheral: 末梢弓, Control: 対照群, CHF: 心不全群.

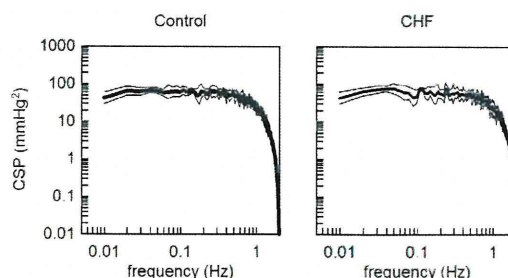
図C-2-4は頸動脈洞圧反射の平衡線図を示したものである。平衡線図では中枢弓の横軸と縦軸は入れ替えて表示されている。この図における中枢弓と末梢弓の交点から、動脈圧反射を閉ループ状態にしたときの交感神経活動（垂直矢印の先）と血圧（水平矢印の先）が分かる。動作点における交感神経活動に差はなかったが（対照群:  $84 \pm 3\%$ , 心不全群:  $90 \pm 4\%$ ）、血圧は心不全群で有意に低かった（対照群:  $116 \pm 3$  mmHg, 心不全群:  $106 \pm 3$  mmHg,  $P < 0.05$ ）。一方、中枢弓と末梢弓の傾きの積から計算した動作点における動脈圧反射の開ループゲインには有意差がなかった（対照群:  $1.2 \pm 0.3$ , 心不全群:  $1.0 \pm 0.4$ ）。

### C-3. 心不全ラットにおける頸動脈洞圧反射の動特性



図C-3-1. 動特性を求める実験例. CSP: 頸動脈洞内圧, m-SNA: 平均交感神経活動, AP: 体血圧, HR: 心拍数, Control: 対照ラット, CHF: 心不全ラット.

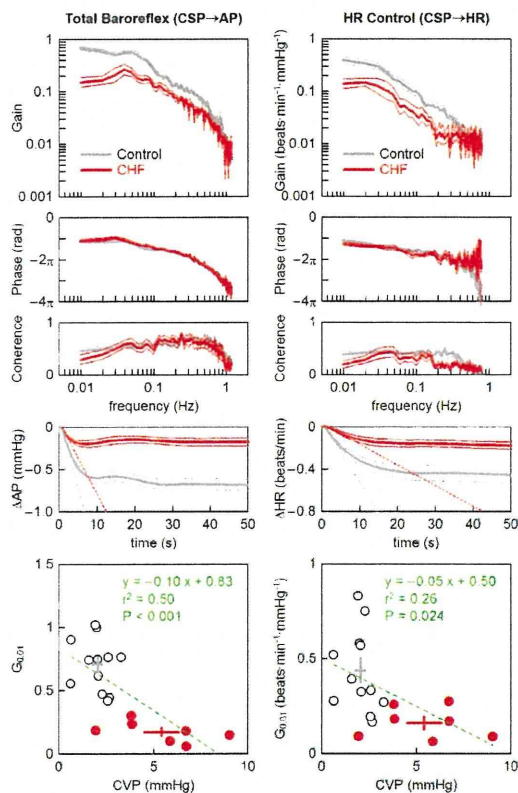
図C-3-1に実験例を示す。頸動脈洞にガウス白色雑音入力を加えると、それに応じて交感神経活動が変化した。交感神経活動の変動は正常ラットでも心不全ラットでも認められた。一方、正常ラットでは血圧や心拍数に変動がみられたが、心不全ラットではほとんど血圧や心拍数の変動はみられなかった。動脈圧反射の動特性を求め実験においても、予測に反して平均心拍数は心不全ラットで低値を示した。



図C-3-2. 頸動脈洞圧受容器に印加したガウス白色雑音のパワースペクトル. CSP: 頸動脈洞内圧, Control: 対照群, CHF: 心不全群.

図C-3-2に今回の実験で入力したガウス白色雑音のパワースペクトルを示す。

500 ms でコマンドを切り替えているので、それに対応する 2 Hz の周波数で入力パワーは消失する。その半分の約 1 Hz まではほぼ平坦な入力パワーが得られた。伝達関数の計算において、入出力のクロススペクトルを入力のパワースペクトルで除するので、入力パワーが極端に小さくなる周波数帯域では伝達関数の推定は不正確になる。本研究では、頸動脈洞圧反射の伝達関数を約 1 Hz まで推定した。



図C-3-3. 圧反射全体(Total Baroreflex)と心拍数制御(HR Control)の動的な入出力関係を示す伝達関数とコヒーレンスおよびステップ応答を示す。CSP: 頸動脈洞内圧, AP: 体血圧, HR: 心拍数,  $\Delta$ AP: 血圧変化,  $\Delta$ HR: 心拍数変化,  $G_{0.01}$ : 周波数 0.01 Hz における伝達関数のゲイン, CVP: 中心静脈圧, Control: 対照群, CHF: 心不全群。

図C-3-3は圧反射全体および心拍数制御の伝達関数を示したものである。上段はゲイン線図、二段目は位相線図、三段目はコヒーレンスを示す。圧反射全体の伝達

関数(図C-3-3左)について、対照群と心不全群のいずれにおいても、周波数が高くなるにつれてゲインが小さくなり、位相が遅れるローパスフィルターの性質が観察された。位相線図およびコヒーレンスには大きな差はなかったが、心不全群において動的ゲインが著しく低下した(対照群:  $0.70 \pm 0.06$ , 心不全群:  $0.17 \pm 0.03$ ,  $P < 0.01$ )。

体血圧のステップ応答においては、応答開始の傾きが心不全群で約 1/2 であり(対照群:  $-0.166 \pm 0.014$  mmHg/s, 心不全群:  $-0.086 \pm 0.009$  mmHg/s,  $P < 0.01$ )、定常応答は約 1/3 に低下した(対照群:  $-0.69 \pm 0.07$  mmHg, 心不全群:  $-0.18 \pm 0.05$  mmHg,  $P < 0.01$ )。また、心不全群と対照群をまとめて解析すると、最下段に示すように、周波数 0.01 Hz における動的ゲインと中心静脈圧の間に有意な負の相関がみられた。

心拍数制御の伝達関数(図C-3-3右)においても、周波数が高くなるにつれてゲインが小さくなり、位相が遅れるローパスフィルターの性質が観察された。心不全群では応答が小さいため、もしくは不整脈の発生のために、0.2 Hz 以上でコヒーレンスの低下が起こり、ゲインや位相の推定が悪くなった。心拍数制御の動的ゲインは心不全群で 1/2 以下に低下した(対照群:  $0.43 \pm 0.06$  (beats/min)/mmHg, 心不全群:  $0.16 \pm 0.03$  (beats/min)/mmHg,  $P < 0.01$ )。

心拍数のステップ応答では応答開始の傾きが 1/2 以下に(対照群:  $-0.059 \pm 0.009$  (beats/min)/s, 心不全群:  $-0.020 \pm 0.004$  (beats/min)/s,  $P < 0.01$ )、定常応答も 1/2 以下に低下した(対照群:  $-0.46 \pm 0.08$

beats/min, 心不全群:  $-0.18 \pm 0.03$  beats/min,  $P < 0.05$ )。心不全群と対照群をまとめて解析すると、周波数 0.01 Hz における心拍数制御の動的ゲインと中心静脈圧の間に有意な負の相関がみられた。

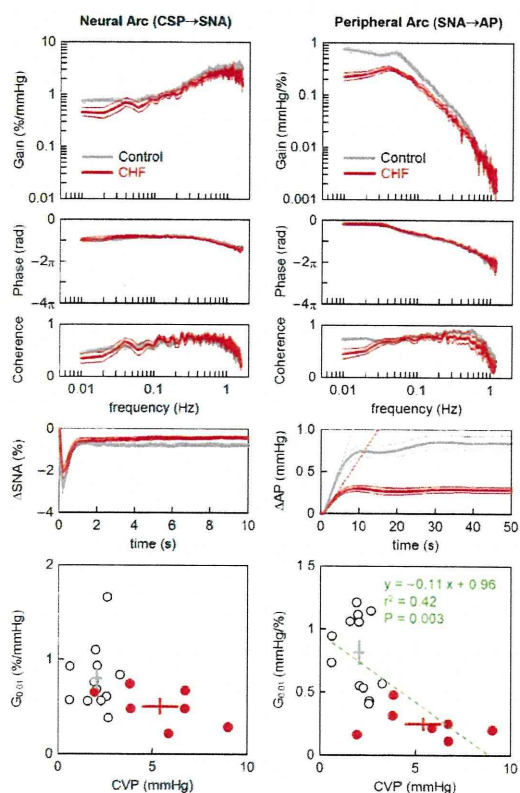


図 C-3-4. 圧反射中枢弓 (Neural Arc) と末梢弓 (Peripheral Arc) の動的な入出力関係を示す伝達関数とコヒーレンスおよびステップ応答を示す。CSP: 頸動脈洞内圧, SNA: 交感神経活動, AP: 体血圧,  $\Delta$ SNA: 交感神経活動変化,  $\Delta$ AP: 血圧変化,  $G_{0.01}$ : 周波数 0.01 Hz における伝達関数のゲイン, CVP: 中心静脈圧, Control: 対照群, CHF: 心不全群。

図 C-3-4 は圧反射の中枢弓および末梢弓の伝達関数を示したものである。上段はゲイン線図、二段目は位相線図、三段目はコヒーレンスを示す。圧反射中枢弓の伝達関数 (図 C-3-4 左) について、対照群においても心不全群においても、周波数が高くなるほど動的ゲインが大きくなる微分特性が観察された。位相線図は 0.01~1

Hz の範囲でほぼ  $-\pi$  ラジアンを示しており、圧入力と交感神経活動の関係が中枢性に反転することを示している。位相線図およびコヒーレンスには大きな差はなかったが、もっとも低い周波数において、心不全群で動的ゲインが低下する傾向がみられた (対照群:  $0.80 \pm 0.10$  %/mmHg, 心不全群:  $0.50 \pm 0.08$ ,  $P = 0.051$ )。

圧反射中枢弓による交感神経活動のステップ応答においては極小応答 (対照群:  $-2.88 \pm 0.25$  %, 心不全群:  $-2.13 \pm 0.30$  %) および極小応答までの時間 (対照群:  $0.29 \pm 0.01$  秒, 心不全群:  $0.31 \pm 0.01$  秒) に、対照群と心不全群とで差はなかった。ただし、交感神経活動のステップ応答における定常応答は心不全群で有意に低下した (対照群:  $-0.75 \pm 0.09$  %, 心不全群:  $-0.39 \pm 0.06$  %,  $P < 0.05$ )。図最下段に示すように、対照群と心不全群をまとめて解析しても、周波数 0.01 Hz における交感神経制御の動的ゲインと中心静脈圧との間には有意な相関はみられなかった。

圧反射の末梢弓の伝達関数 (図 C-3-4 右) について、対照群と心不全群のいずれにおいても、周波数が高くなるほど動的ゲインが小さくなるローパスフィルターの性質が観察された。末梢弓の動的ゲインは心不全群で約 1/3 に低下した (対照群:  $0.81 \pm 0.09$  mmHg/%, 心不全群:  $0.24 \pm 0.05$  mmHg/%,  $P < 0.01$ )。位相線図に大きな違いは見られなかった。心不全群のコヒーレンスは 0.01 Hz 付近で対照群よりも小さい傾向を示した。

圧反射末梢弓による血圧のステップ応答では、心不全群において応答開始の傾きが約 1/2 に (対照群:  $0.134 \pm 0.014$  mmHg/s,

心不全群:  $0.071 \pm 0.009$  mmHg/s,  $P < 0.01$ 、定常応答が約 1/3 に低下した (対照群:  $0.84 \pm 0.08$ , 心不全群:  $0.28 \pm 0.03$ ,  $P < 0.01$ )。図最下段に示すように、心不全群と対照群をまとめて解析すると、周波数 0.01 Hz における末梢弓の動的ゲインと中心静脈圧との間に有意な負の相関がみられた。

## D. 考察

### D-1. 心不全ラットにおける頸動脈洞圧反射の静特性

#### D-1-1. 開ループ実験について

頸動脈洞圧反射は生理的状态では、血圧が上昇すれば交感神経活動が低下し、交感神経活動が低下すれば血圧が低下するといった閉ループ状態で動作している。閉ループ状態では交感神経活動と血圧のいずれが入力でいずれが出力かを分離できないので、単に交感神経活動や血圧を測定する観察的実験ではシステムの入出力関係を明らかにすることができない。

そこで、本研究では頸動脈洞圧受容器の領域を体循環から分離する開ループ実験法を用いた。頸動脈洞圧受容器を体循環から分離することによって、体血圧が変化しても入力圧が影響を受けることがなくなり、圧反射中枢弓 (入力圧→交感神経活動) および圧反射末梢弓 (交感神経活動→体血圧) の入出力関係を入力範囲にわたって定量化することができる。

#### D-1-2. 心不全における圧反射全体の静特性の変化

本研究では、心不全群において圧反射全体の応答範囲が小さくなり、対照群と心不全群をまとめて解析すると、圧反射ゲイン

と中心静脈圧との間に有意な負の相関がみられた (図 C-2-2 左)。また、心拍数応答についても同じで、応答範囲が小さくなり、心拍数制御のゲインと中心静脈圧との間に有意な負の相関がみられた (図 C-2-2 右)。

#### D-1-3. 心不全における中枢弓と末梢弓の静特性の変化

圧反射の中枢処理と心臓血管系の末梢応答のいずれが心不全における圧反射ゲインの低下に関与しているかを調べるために、圧反射中枢弓と末梢弓の入出力関係を定量化した。心不全群において中枢弓の応答範囲の低下がみられたが、シグモイド関数の示す最大ゲインに有意な差はなく、中心静脈圧との有意な相関もみられなかった (図 C-2-3 左)。これに対して、末梢弓の傾きは心不全群で有意に低下しており、対照群と心不全群を独立に解析しても、まとめて解析しても、末梢弓の傾きは中心静脈圧と有意な負の相関を示した (図 C-2-3 右)。

以上のことから、交感神経活動を%表示したとき、心不全において中枢弓の最大ゲインは低下しないが応答範囲が縮小する。一方、末梢弓の直線性は保たれるものの、その傾きが低下する。圧反射全体のゲインは中枢弓と末梢弓の積で決まるので、圧反射全体にみられるゲインの低下は末梢弓の傾きの低下、すなわち、交感神経活動の変化に対する血圧応答の低下で説明できる。末梢弓がほぼ直線的であることから、末梢弓の傾きの低下は、同じ交感神経活動の変化に対する体血圧の応答範囲の縮小にも寄与する。一方、中枢弓において交感神経活

動の応答範囲が縮小することから、圧反射全体における応答範囲の縮小には、中枢弓も寄与すると考えられる。

ただし、本研究では交感神経活動を刺激するなどして直接的に変化させたわけではないので、交感神経活動の変化が保たれたとき、心不全群で末梢弓の直線性が失われるかどうかは不明である。

## D-2. 心不全ラットにおける頸動脈洞圧反射の動特性

### D-2-1. ガウス白色雑音入力について

本研究では体循環から分離した頸動脈洞にガウス白色雑音を入力することで頸動脈洞圧反射の動特性を同定した。これまでのウサギを用いた研究から、圧反射の中枢弓は微分特性+シグモイド状非線形特性で近似できることが分かっている (Kawada et al., *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 286: H2272-H2279, 2004)。圧反射中枢弓に存在する非線形特性は動特性の推定に影響を与えうる。たとえば、入力が二値白色雑音であるとき、入力の振幅が大きくなるほど中枢弓の微分特性の性質が失われる (Kawada et al., *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 284: H404-H415, 2003)。

しかし、入力がガウス白色雑音であるときはシステムの線形特性は定数倍されて推定されるだけである (Bussgang, *MIT Res Lab Elec Tech Rep* 216: 1-14, 1952)。伝達関数上はゲイン線図が上下に平行移動するが、周波数依存性の変化は影響を受けない。したがって、入力にガウス白色雑音を用いたときは、システムの微分特性あるいはローパスフィルターの特性などの周波数依存的な変化は、非線形特性の存在に関わらず

正しく推定できることが期待される。

### D-2-2. 正常ラットにおける中枢弓による圧反射の高速化

正常ラットにおける圧反射中枢弓の動特性の特徴は、入力周波数が高くなるほど動的ゲインが高くなる微分特性を持つことである。この微分特性の存在によって、圧反射末梢弓のローパスフィルターの性質（入力周波数が高くなるほど動的ゲインが小さくなる性質）が補償され、圧反射全体で捉えたときは、高周波数領域における動的ゲインの低下が緩和される。これを時間軸で表現すると、圧反射中枢弓の微分特性は圧反射全体の応答の高速化に寄与していると言える (Ikeda et al., *Am J Physiol* 271: H882-H890, 1996)。しかしながら、心不全の状態において、そのような中枢弓の微分特性による圧反射特性の補償が保たれているかどうかは不明であった。

### D-2-3. 心不全ラットにおける中枢弓による圧反射の高速化

本研究において、心不全群においても対照群と同様に圧反射中枢弓の動特性は、入力周波数が高くなるほど動的ゲインが大きくなる微分特性を示した (図C-3-4左)。これによって、ステップ応答でみた場合、末梢弓による血圧変化の応答開始の傾きよりも、圧反射全体による血圧変化の応答開始の傾きの絶対値が大きくなり、血圧応答が高速化されていることが判明した。したがって、心不全においても中枢弓は微分特性を維持しており、圧反射全体の応答を高速化するのに役立っていると言える。しかしながら、応答開始の傾きは心不全群にお

いて対照群よりも小さく、中枢弓による補償が存在しても、依然として血圧応答は正常群に比べて遅いことが示唆された。

### D-3. 実験に関する制限事項など

#### D-3-1. 迷走神経について

本研究では他の反射系の影響をできるだけ除外して、頸動脈洞圧反射の静特性および動特性を同定することを目的としたので、急性実験では迷走神経を切断した。これによって、心肺受容器領域に存在する低圧受容器からの迷走神経を介する反射を除くことができる。しかしながら、心不全増悪の一因は迷走神経の活動消失にあると考えられるため、迷走神経制御を含めた圧反射特性の推定が必要になってくる。特に、迷走神経は心拍数調節に深く関わるため、今回の実験で観察した心拍数制御の応答範囲の縮小やゲインの低下が、迷走神経の存在下でも観察できるかどうかは今後の研究課題である。

#### D-3-2. 交感神経活動の定量化について

交感神経活動の絶対電位は記録する神経の太さや記録電極と神経との接触の程度によって個体ごとに大きく異なるので、本研究では対照群と心不全群の交感神経活動を絶対電位で比較しても両者に差はみられなかった。そこで、頸動脈洞内圧を 60 mmHg に保ったときの交感神経活動を 100%、神経節遮断薬を投与した後のノイズレベルを 0% として交感神経活動を記述した。そのため、圧反射の静特性において交感神経活動の最大値は、対照群も心不全群もほぼ 100% になっている。

血中カテコラミンの高値などから心不全においては交感神経が過剰に活動していると考えられているが、本研究の平衡線図(図 C-2-4)では、そのことが図に反映されていない。交感神経活動を絶対電位で記述できたとすると、心不全群において絶対電位が大きいことが期待されるので、心不全群の平衡線図は横軸方向に拡大されると考えられる。その場合、心不全群において、圧反射中枢弓のゲインは現在の方法よりも大きく評価され、圧反射末梢弓の傾きは現在の方法よりも小さく評価されることになる。今後、交感神経活動の解析についてはより良い正規化法の開発が必要である。

#### D-3-3. 麻酔の影響

本研究では慢性心不全ラットを用いたが、頸動脈洞圧反射の静特性および動特性を求める急性実験は麻酔下で行った。麻酔下において、予測に反して心不全群において対照群よりも平均心拍数が低値を示した。実験では体重当たり同量の麻酔薬を用いたが、心不全群では循環不全によって麻酔薬の代謝が遅延し、麻酔のレベルが相対的に深くなった可能性は否定できない。しかし、心不全群においても、血圧や心拍数が経時的に低下していくことはなかった。

### E. 結論

本年度は心筋梗塞後ラット慢性心不全モデルを作成し、頸動脈洞圧反射の静特性および動特性を定量化した。これにより、圧反射静特性について、①心不全群における血圧応答範囲の縮小は圧反射中枢弓と末梢弓の両方で生じること、②交感神経活動を%表示したとき、圧反射中枢弓の最大ゲ

インは保たれていること、③圧反射末梢弓において交感神経活動の変化に対する血压応答が低下していること、が明らかになった。また、圧反射動特性については、①心不全群においても中枢弓の微分特性は維持されていること、②末梢弓の動的ゲインが低下していること、③中枢弓の補償があっても圧反射全体としては、正常群に比べて血压応答の速さも大きさも小さくなっていること、が判明した。

頸動脈洞マイクロマシを用いた自律神経制御において、圧反射中枢の機能が維持されていることが必要となる。本研究において、圧反射中枢弓の応答範囲の縮小がみられたが、シグモイド曲線の最大ゲインおよび微分特性は維持されており、圧反射を用いて自律神経活動に介入することが可能であることが確認された。一方、本研究では圧反射中枢弓の機能を圧入力に対する交感神経活動の応答として評価しており、応答範囲の縮小が圧受容器レベルで生じたのか、求心神経から交感神経遠心路に至る血管運動中枢で生じたのかは不明である。今後、頸動脈洞神経活動の記録あるいは刺激を用いて両者を分けて評価することが必要になると考えられる。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### G-1. 論文

27. Role of Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> channels in catecholamine release from in vivo rat adrenal medulla. Akiyama T, Yamazaki T, Kawada T, Shimizu S,

Sugimachi M, Shirai M. *Nurochem Int* 2009 (in press).

28. In vivo direct monitoring of interstitial norepinephrine levels at the sinoatrial node. Shimizu S, Akiyama T, Kawada T, Shishido T, Mizuno M, Kamiya A, Yamazaki T, Sano S, Sugimachi M. *Auton Neurosci* 2009 (in press).

29. Detection of endogenous acetylcholine release during brief ischemia in the rabbit ventricle: a possible trigger for ischemic preconditioning. Kawada T, Akiyama T, Shimizu S, Kamiya A, Uemura K, Li M, Shirai M, Sugimachi M. *Life Sci* 85: 597-601, 2009.

30. High levels of circulating angiotensin II shift the open-loop baroreflex control of splanchnic sympathetic nerve activity, heart rate and arterial pressure in anesthetized rats. Kawada T, Kamiya A, Li M, Shimizu S, Uemura K, Yamamoto H, Sugimachi M. *J Physiol Sci* 59: 447-455, 2009.

31. Coronary artery volume non-invasively measured with multislice computed tomography. Definition, accuracy and implication. Sugimachi M, Kawada T. *Circ J* 73: 1395-1396, 2009.

32. Slow head-up tilt causes lower activation of muscle sympathetic nerve activity: loading speed dependence of orthostatic



- Kawada T, Shimizu S, Iwase S, Sugimachi M, Mano T. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 297: H53-H58, 2009.
33. Artificial neural interfaces for bionic cardiovascular treatments. Kawada T, Sugimachi M. *J Artif Organs* 12: 17-22, 2009 (review).
34. Servo-controlled hind-limb electrical stimulation for short-term arterial pressure control. Kawada T, Shimizu S, Yamamoto H, Shishido T, Kamiya A, Miyamoto T, Sunagawa K, Sugimachi M. *Circ J* 73: 851-859, 2009.
35. In vivo direct monitoring of vagal acetylcholine release to the sinoatrial node. Shimizu S, Akiyama T, Kawada T, Shishido T, Yamazaki T, Kamiya A, Mizuno M, Sano S, Sugimachi M. *Auton Neurosci* 148: 44-49, 2009.
36. Angiotensin II disproportionately attenuates dynamic vagal and sympathetic heart rate controls. Kawada T, Mizuno M, Shimizu S, Uemura K, Kamiya A, Sugimachi M. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 296: H1666-H1674, 2009.
- G-2. 学会発表**
25. アンジオテンシンIIが動脈圧反射系の開ループ静特性に及ぼす影響. 川田 徹, 清水 秀二, 水野 正樹, 宍戸 稔聡, 杉町 勝. 第48回日本生体医工学会大会.
26. 心臓マイクロダイアリス法による洞房結節における交感・副交感神経活動の定量化. 清水 秀二, 秋山 剛, 川田 徹, 宍戸 稔聡, 神谷 厚範, 杉町 勝. 第48回日本生体医工学会大会.
27. 心筋梗塞後心不全ラットにおける開ループ動脈圧反射特性. 川田 徹, 李 梅花, 上村 和紀, 宍戸 稔聡, 杉町 勝. 第30回日本循環制御医学会総会.
28. 上村 和紀, 鄭 燦, 李 梅花, 川田 徹, 杉町 勝. 迷走神経を、冠虚血再灌流後の3日間電気刺激するだけで心筋梗塞後左心室リモデリングを劇的に改善することができる. 第30回日本循環制御医学会総会.
29. アセチルコリンエステラーゼ阻害薬(ドネペジル)投与による心筋梗塞後重症心不全治療における $\alpha 7$ -ニコチン性アセチルコリン受容体( $\alpha 7$  nAChR)の関与. 李 梅花, 川田 徹, 上村 和紀, 宍戸 稔聡, 杉町 勝. 第30回日本循環制御医学会総会.
30. Effects of angiotensin II on open-loop carotid sinus baroreflex function. Kawada T, Shimizu S, Uemura K, Shishido T, Sugimachi M. The 36th International Congress of Physiological Sciences.
31. 重症心不全に対する迷走神経刺激療法. 宍戸 稔聡, 李 梅花, 鄭 燦, 上村 和紀, 川田 徹, 杉町 勝. 第24回生体・生理工学シンポジウム.
32. ロサルタンとドネペジルの併用投与による心筋梗塞後重症心不全ラットの新

- 川田 徹、稲垣 正  
司、杉町 勝. 第 7 回交感神経とアン  
ジオテンシン II 研究会.
33. ストレスを軽減する鎮静剤  $\alpha 2$  アゴニ  
ストは薬理的にも副交感神経を賦活  
化するか? 清水 秀二、秋山 剛、川  
田 徹、宍戸 稔聡、神谷 厚範、稲  
垣 正司、杉町 勝. 第 10 回  
Neurocardiology Workshop.
34. 静水圧要因による中心循環動態の変化  
は呼吸化学調節負帰還システムの静特  
性を変化させる. 宮本 忠吉、三木屋  
良輔、中原 英博、川田 徹、杉町 勝.  
第 10 回 Neurocardiology Workshop.
35. ラットにおける頸動脈洞圧反射の定常  
応答の推定に必要とされるステップ状  
入力時間の検討. 川田 徹、神谷 厚  
範. 第 55 回日本航空宇宙環境医学会  
大会.
36. システム生理学によって、自律神経系  
および循環器系の動態を予測する試み.  
神谷 厚範、川田 徹、杉町 勝. 第  
55 回日本航空宇宙環境医学会大会.

#### H. 知的所有権の取得状況

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（総括）

頸動脈洞神経マイクロマシンによって圧反射性に自律神経を自動制御し、  
心不全を抑制する医療の開発に関する研究：  
神経医療のためのシステム同定および制御系設計に関する研究

研究代表者 神谷 厚範（国立循環器病研究センター研究所循環動態制御部）

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。まず平成21年度は、MEMS技術を利用して、神経治療システムの刺激部（マイクロマシン）を試作開発した。これは、タングステン針電極（直径50 $\mu$ m、先端先鋭化<1 $\mu$ m、長さ300-700 $\mu$ m）を20本集積した針電極アレイ（電極間隔100 $\mu$ m）を2-3基、Si性の神経保護チューブの内面に、互い違いの方向に固着装填させた、神経物理インターフェイスである。また、システム計測部として、心拍血圧モニターおよび自律神経モニターを組合せて治療効果を定量化するシステムを試作した。平成22年度は、この刺激部と計測部などを用いて、動物（ラット等）の頸動脈洞刺激（白色雑音様・階段状）に対する自律神経応答（圧反射中枢特性）、および自律神経変化による血圧心拍数応答（末梢特性）を実測し、システム同定しモデル化した。シミュレーションによって中枢-末梢特性を統合して圧反射の全体を包括的に理解してin silicoに再現し、さらに頸動脈洞刺激治療を自動調節する制御部（アルゴリズムを含む）を開発した。これらを統合して、刺激部-計測部-制御部のフィードバック構造の閉ループ生体制御（国際特許PCT/JP2006/323819）によるシステム医療を試作した（世界唯一）。

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、脳に血圧ダメージ信号（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ースの未開発の故に、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（A D621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(LSI化)に取り組む。

## C. 研究結果

### <圧反射求心路神経の刺激に対する、血圧自律 神経応答のシステム同定>

頸動脈洞刺激による自律神経制御医療を開発す  
るためには、圧反射求心路神経の刺激が、自律  
神経や循環動態に如何に影響を及ぼすかを定量的  
かる高い論理性をもって理解する必要がある。  
そこで、動物(ウサギ、ラット)を対象として、  
この圧反射求心路神経刺激から交感神経および  
血圧までのシステム伝達関数を求める実験を行  
った。

動物は $\alpha$ -クロラロースで麻酔し、人工呼吸を行  
った。動物体位は水平仰臥位とした。試作した

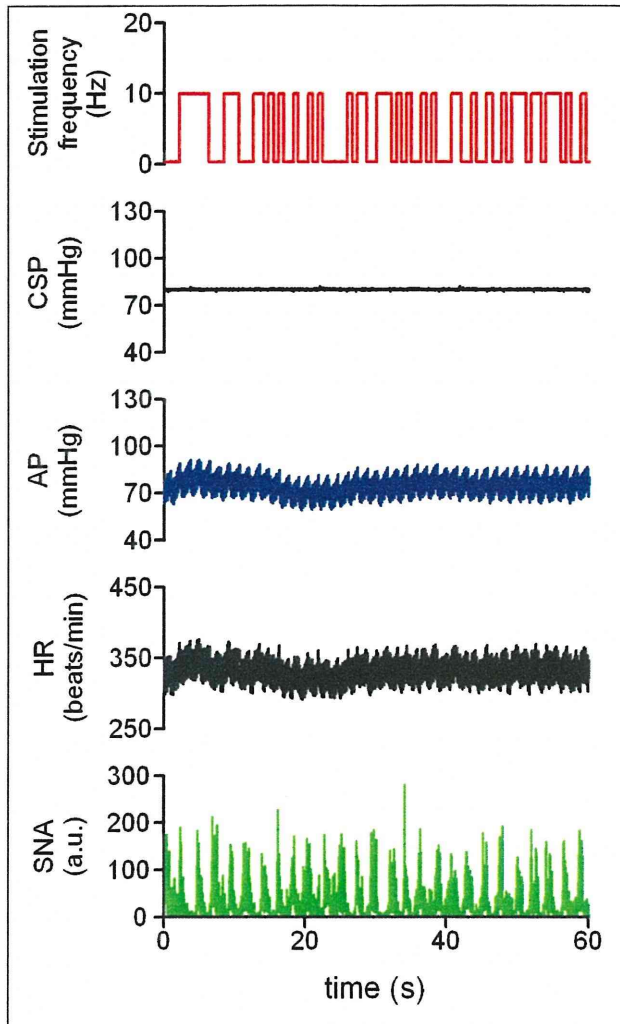
刺激装置等を用いて、圧反射求心路神経を刺激  
した。この際、パルス幅2 msecの矩形波状の  
定電圧刺激を用いたが、その刺激電圧は、頸動  
脈洞内圧を100mmHgに固定した上での10 Hz  
刺激で血圧が30 mmHg下がるように調整した  
(実際には1.5~3Vとなった)。一方、刺激周波  
数は、白色雑音様(binary white noise, 切替時  
間500 msec)とした。この白色雑音は、そのパ  
ワースペクトルが周波数に関わらず一定の信号で  
ある。入力値の切り替え時間を500 msとすること  
で、最高1 Hzまでの周波数範囲でシステムの動特  
性を推定した。

圧反射求心路神経の刺激と同時に、血圧(大腿  
動脈等に圧トランスデューサを挿入)を計測し、  
この血圧波形から心拍数を計算した。またさら  
に、開胸下に心臓交感神経活動を記録した(ス  
テンレススチールワイヤの双極神経電極)。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。外頸動脈を内頸動脈との分岐直  
後で結紮した。次に、総頸動脈側からステンレ  
スボール等を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。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。サーボポンプを用いて頸動脈  
洞に人工圧を加え、頸動脈圧を一定圧(閉ループ下  
の体血圧の10分間の平均値など)に固定する条件

(開ループ条件) や、また、体血圧の瞬時値に時々刻々に一致させる条件 (閉ループ条件) をつくった。

まず、開ループ条件における実験データ例を示す。

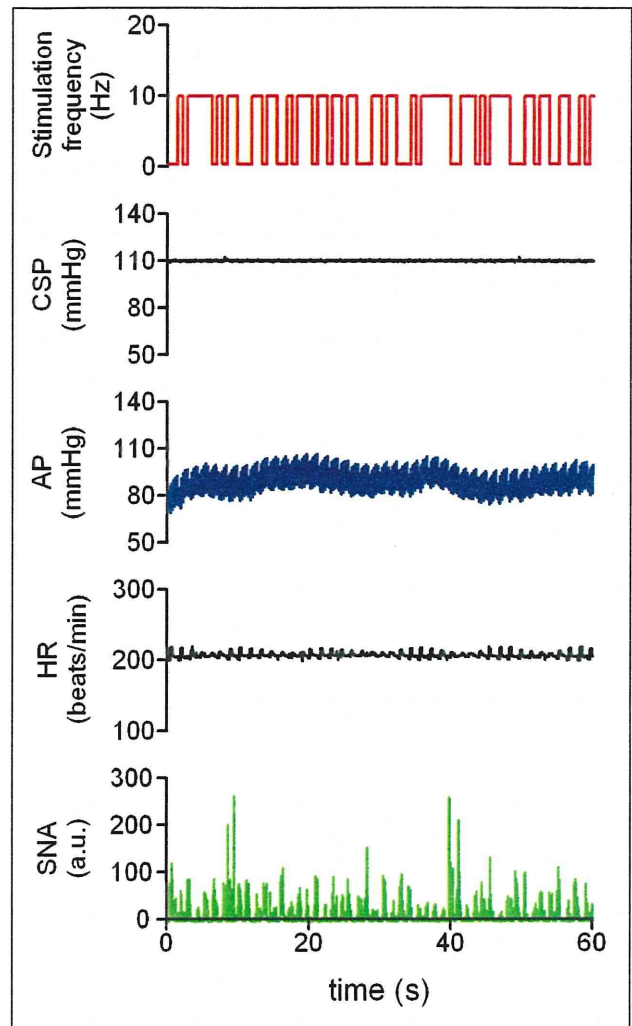


CSP, 頸動脈洞内圧; AP, 体血圧;

HR, 心拍数; SNA, 交感神経活動

圧反射求心路神経の刺激によって、交感神経活動が抑制されることが観察された。しかし、瞬時値レベルでは、刺激中に交感神経抑制が必ずしも抑制されているわけではなく、生体ならではの情報伝達特性の存在が示唆された。一方、血圧は、交感神経活動に比べて、緩やかな変化を示した。

さらに、別の動物の例を示す。この動物も、およそ同様な傾向の反応を示した。



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。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。

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

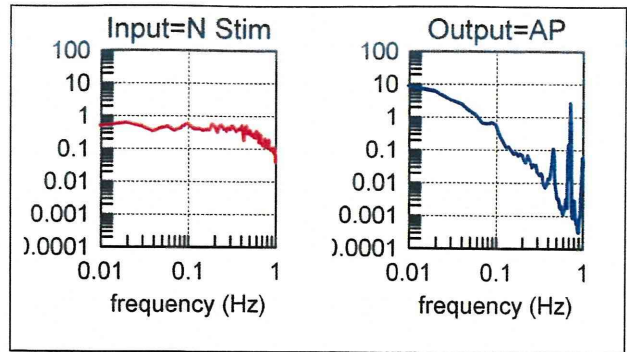
コヒーレンスは0から1の値をとる。コヒーレンスが1のとき、入力と出力は完全に線形相関しており、出力変動はすべて入力変動で説明できる。コヒーレンスが0のとき入力と出力は無相関である。

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。

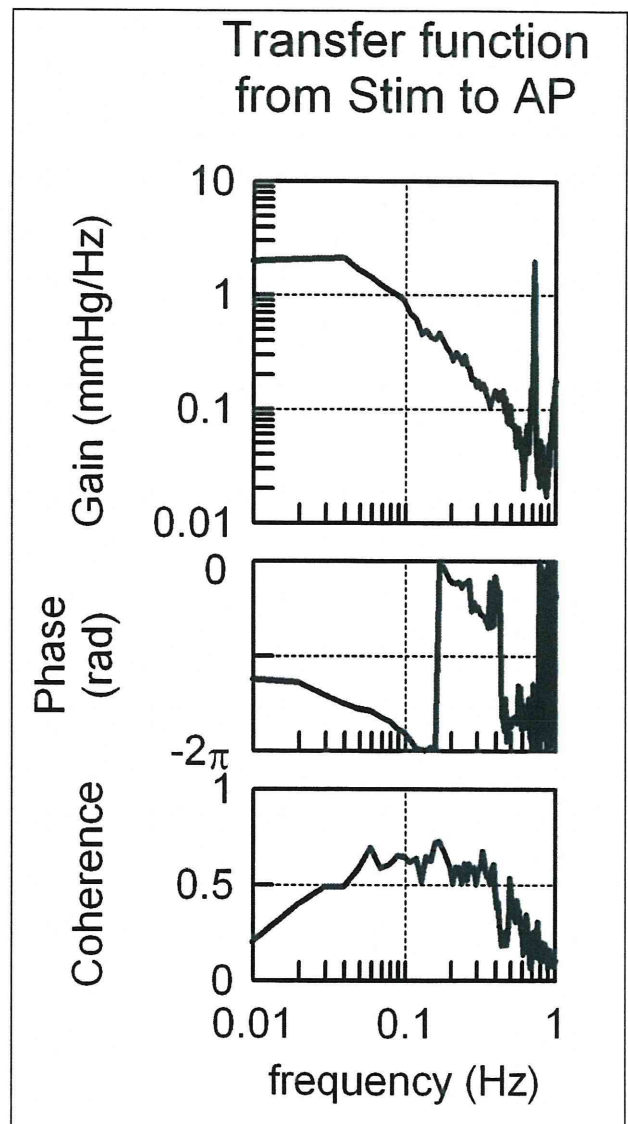
$$s(t) = \int_0^t h(\tau) d\tau$$

開ループ条件における、動物全例から得たシステム同定の結果（平均値）を下に示す。

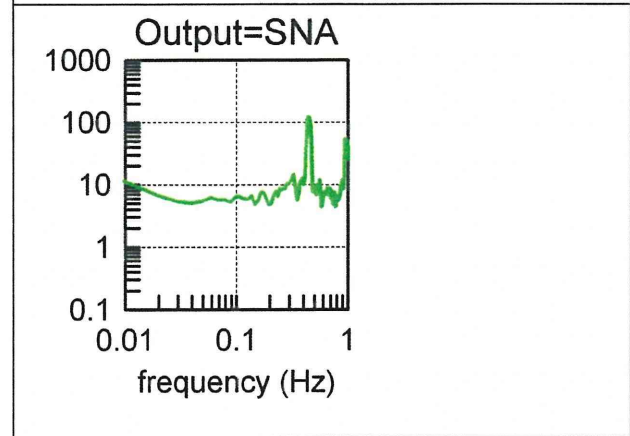
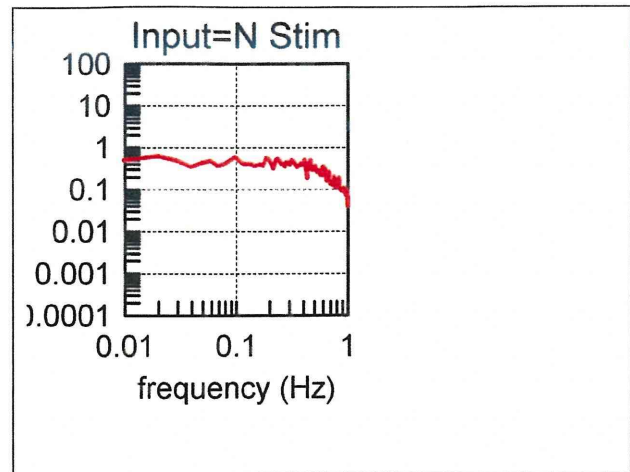
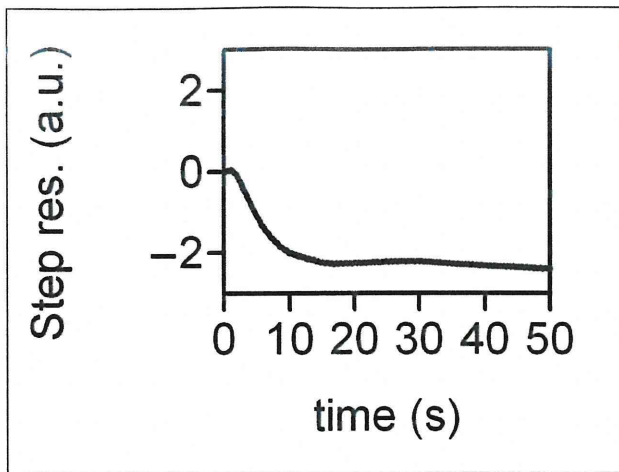
<圧反射求心路神経刺激に対する体血圧の応答>  
 圧反射求心路神経刺激の刺激周波数を入力、体血圧を出力として、システム伝達関数を求めた。



まず、入力の自己パワースペクトル、および、出力の自己パワースペクトルを示す。次に、入力からまでの出力の伝達関数のゲイン、位相とコヒーレンス、さらに、ステップ応答を示す。







Gain, ゲイン; Phase, 位相; coherence, コヒーレンス; Step res, ステップ応答

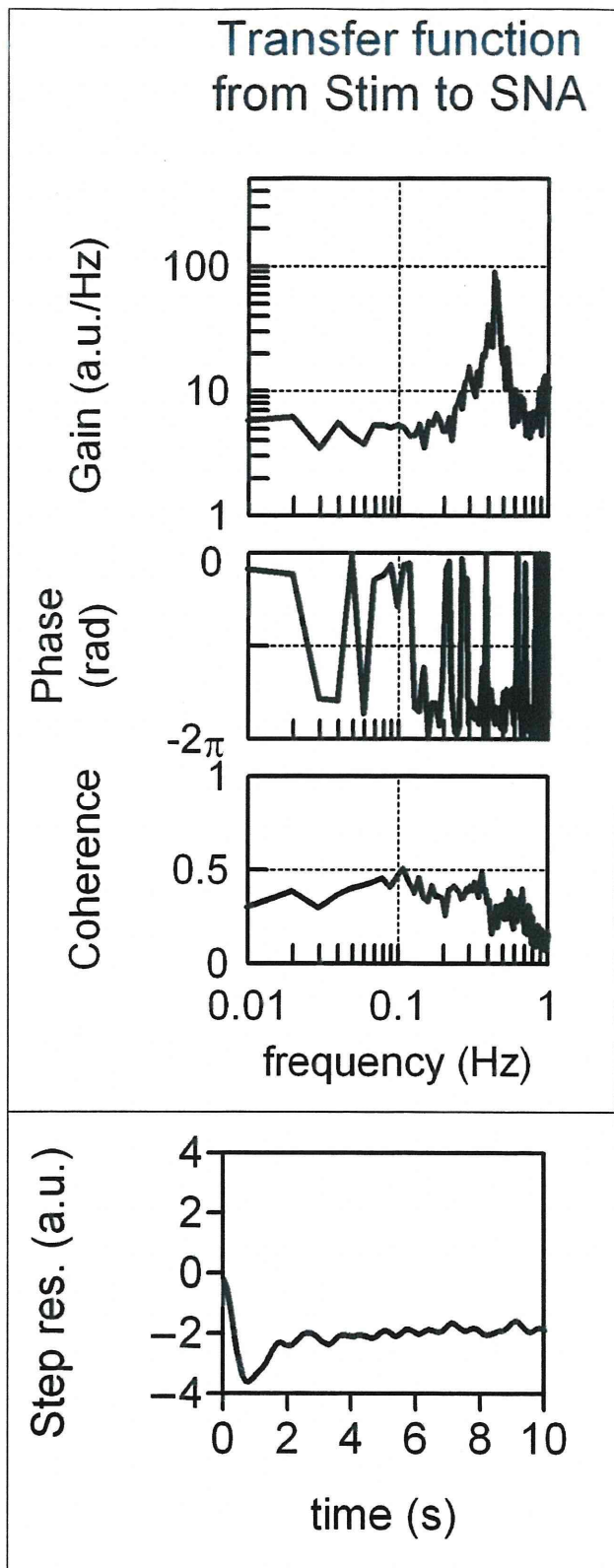
このゲインの周波数特性の結果より、圧反射求心路神経刺激に対する体血圧の応答は、low-pass filter特性であり、また、最低周波数で位相が $-\pi$ に近づくことより、刺激によって体血圧が低下する特性であることを理解できた。ステップ応答の結果は、ゲインと位相の結果と一致しており、時定数約5秒のlow-pass filterで、定常ゲインは2.2 (mHg/Hz)であった。

<圧反射求心路神経刺激に対する交感神経活動の応答>

圧反射求心路神経刺激の刺激周波数を入力、交感神経活動を出力として、システム伝達関数を求めた。

まず、入力の自己パワースペクトル、および、出力の自己パワースペクトルを示す。

次に、入力からまでの出力の伝達関数のゲイン、位相とコヒーレンス、さらに、ステップ応答を示す。



Gain, ゲイン; Phase, 位相; coherence, コヒーレンス; Step res, ステップ応答

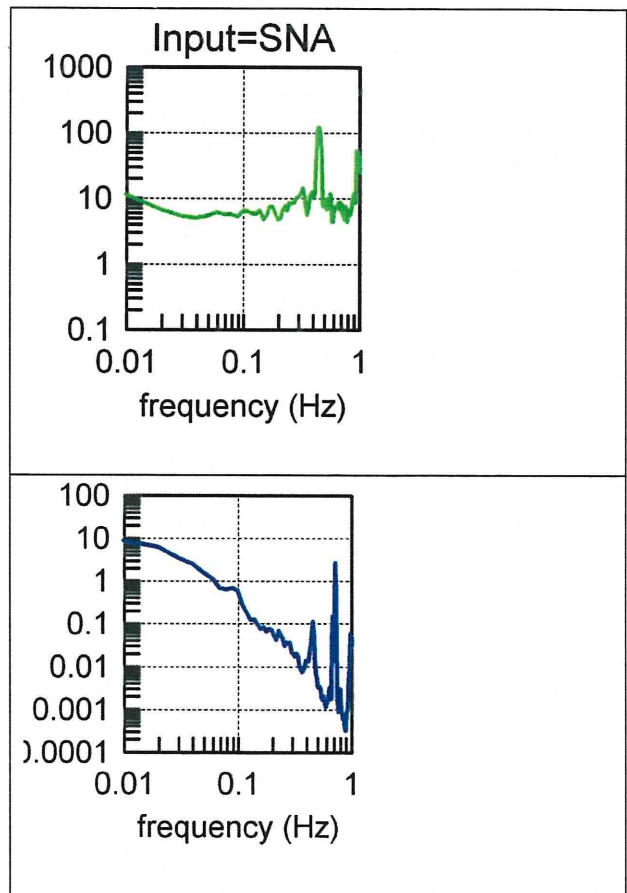
この結果より、圧反射求心路神経刺激に対する体血圧の応答は、低周波数より0.5 Hzまでの帯域ではhigh-pass filter特性、それより高い周波数帯域

ではlow-pass filter特性であった。ステップ応答の結果は、ゲインと位相の結果と一致しており、急峻な一過性の交感神経抑制(ピークは1秒後)の後、ある程度に元に戻るような応答であった。

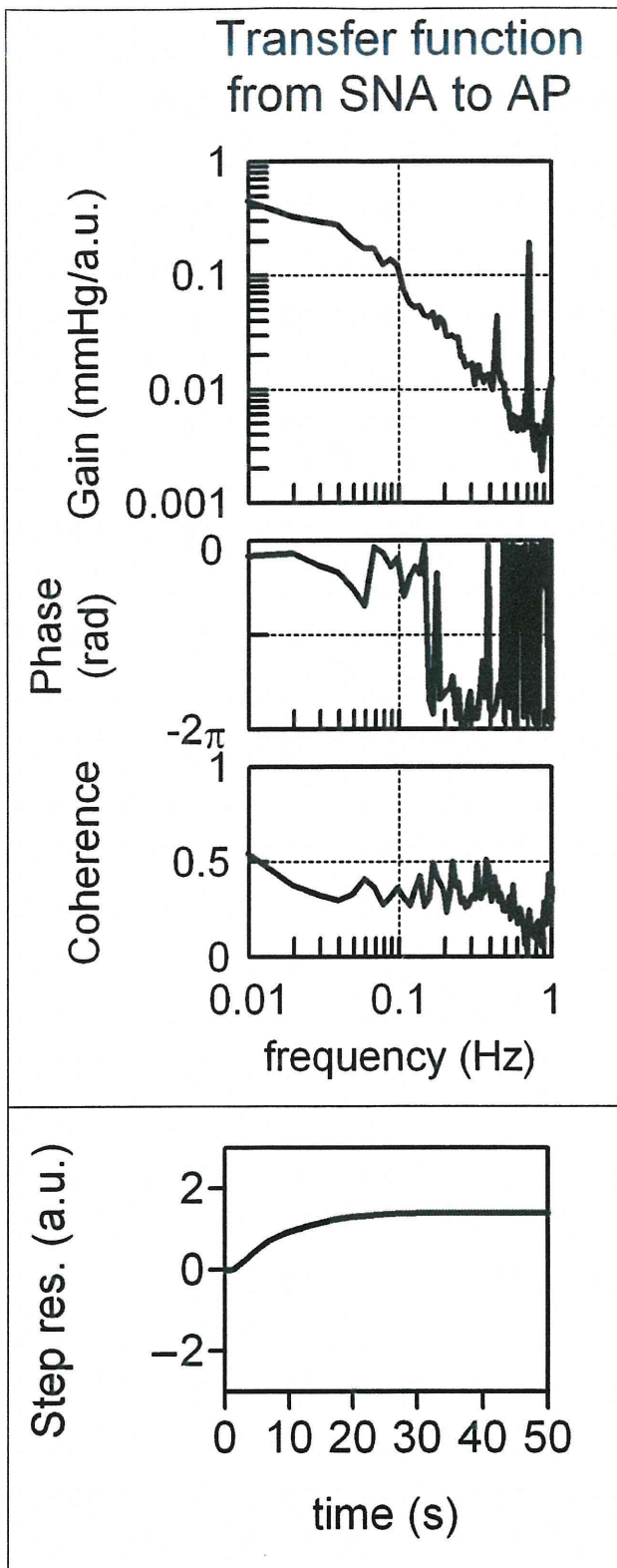
#### <交感神経活動に対する体血圧の応答>

交感神経活動を入力、体血圧を出力として、システム伝達関数を求めた。

まず、入力の自己パワースペクトル、および、出力の自己パワースペクトルを示す。



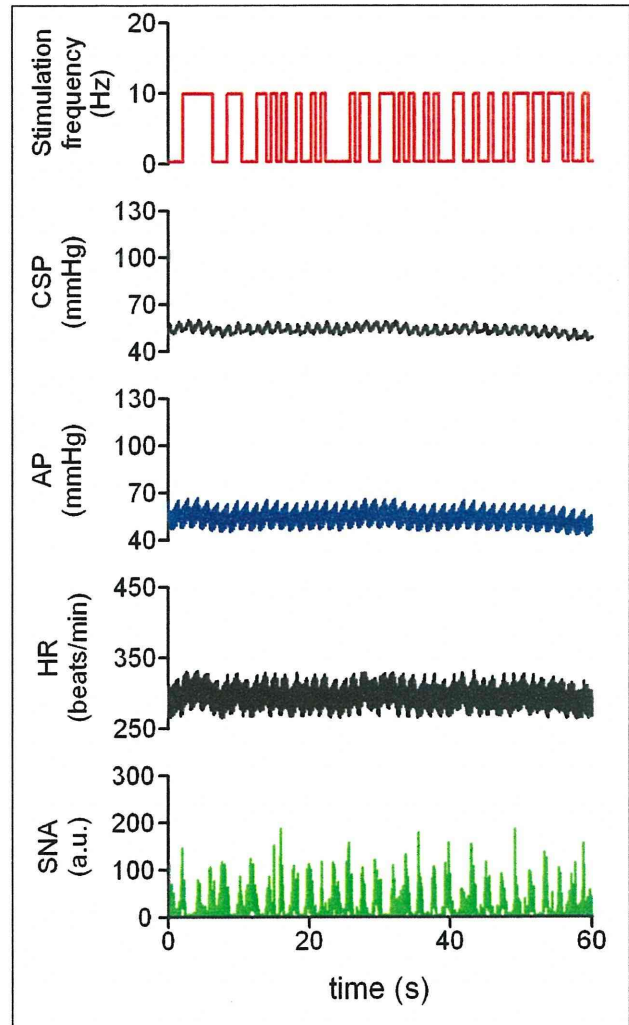
次に、入力からまでの出力の伝達関数のゲイン、位相とコヒーレンス、さらに、ステップ応答を示す。



このゲインの周波数特性の結果より、交感神経活動に対する体血圧の応答は、low-pass filter特性であり、また、最低周波数で位相が0に近づく結果は、交感神経緊張によって体血圧が増加する特性を示すため、従来の生理学的定性的な神経作用と一致した。ステップ応答の結果は、時定数20秒程度の1

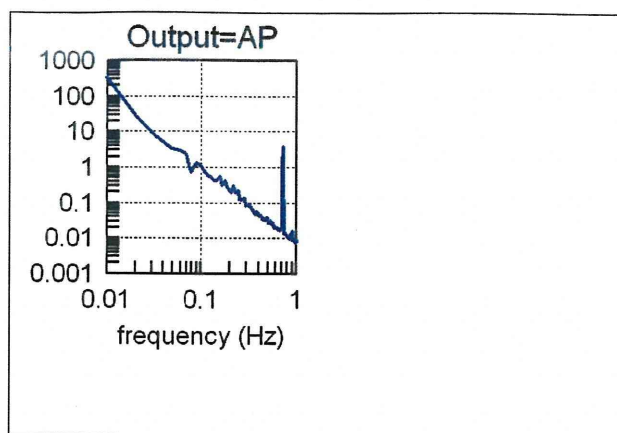
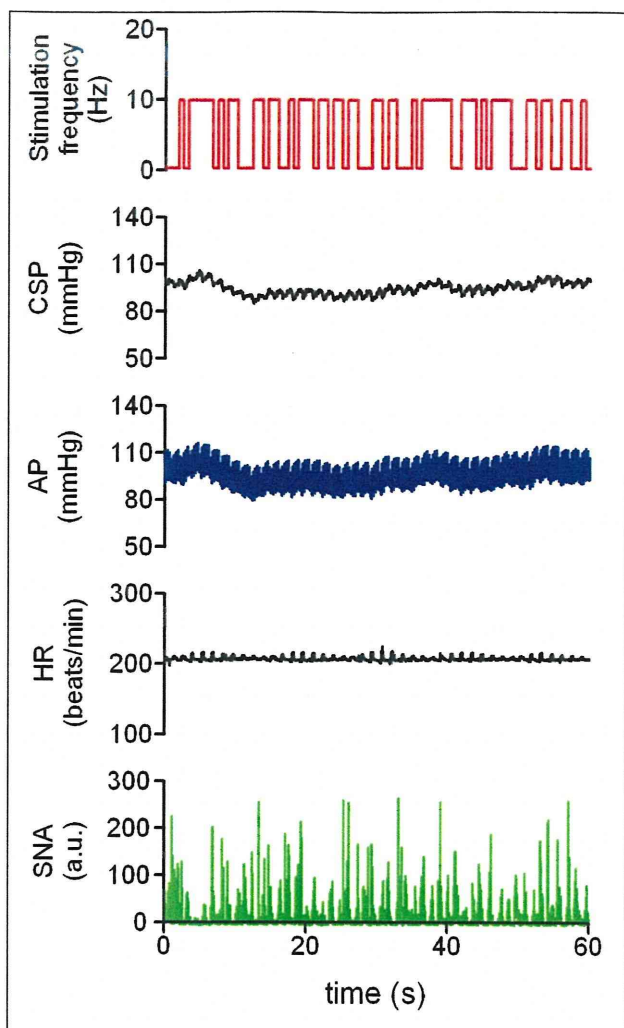
ow-pass filterで、定常ゲインは約1(a.u./mmHg)であった。

次に、閉ループ条件における結果を下に示す。まず、時系列データの例を示す。

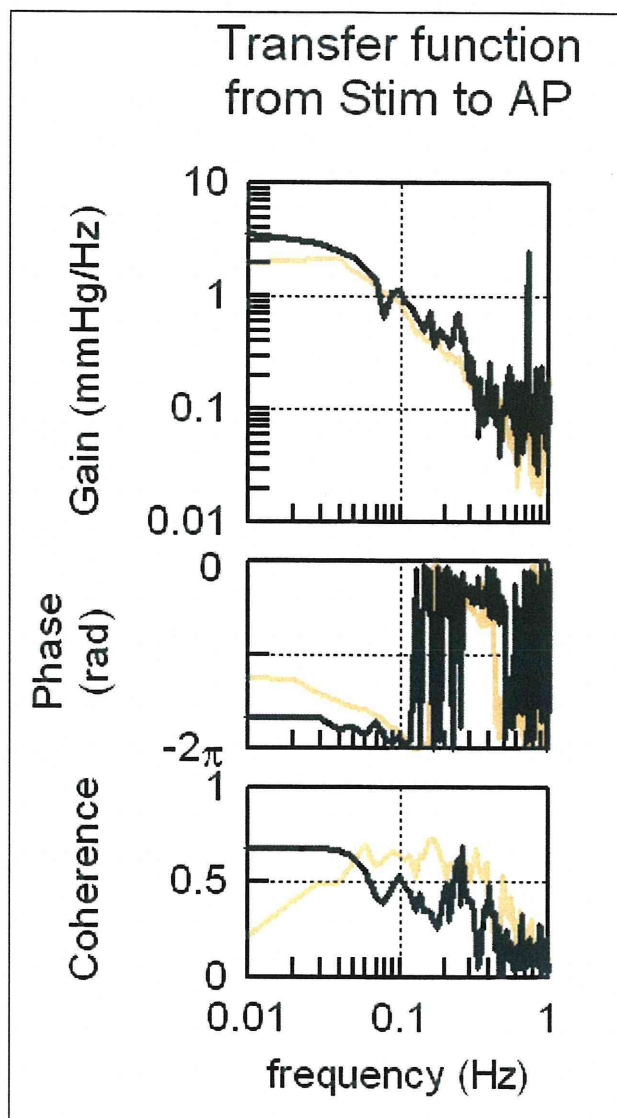


閉ループ条件では、サーボポンプを用いて、頸動脈洞内圧を体血圧に一致させるように制御するが、実際のデータでその一致を観察できた。また圧反射求心路神経の刺激によって、交感神経活動が抑制されることが観察された。一方、血圧は、交感神経活動に比べて、緩やかな変化を示した。

さらに、別の動物の例を示す。この動物も、およそ同様な傾向の反応を示した。



次に、入力からまでの出力の伝達関数のゲイン、位相とコヒーレンス、さらに、ステップ応答を示す。



これら動物を含めて、全ての動物から得られたシステム同定の結果（平均値）を示す。

<圧反射求心路神経刺激に対する体血圧の応答>  
 圧反射求心路神経刺激の刺激周波数を入力、体血圧を出力として、システム伝達関数を求めた。

まず、入力の自己パワースペクトル、および、出力の自己パワースペクトルを示す。

