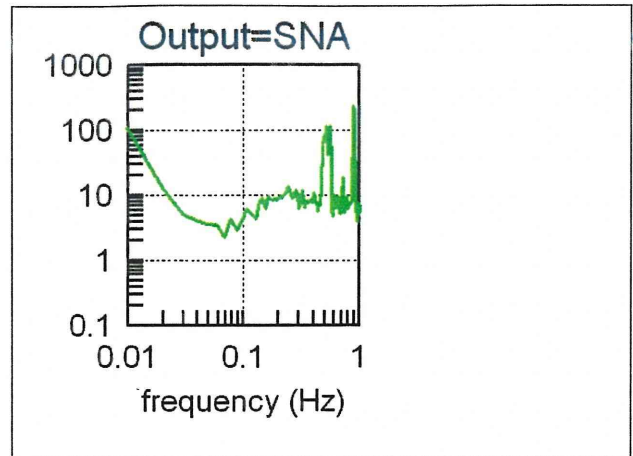
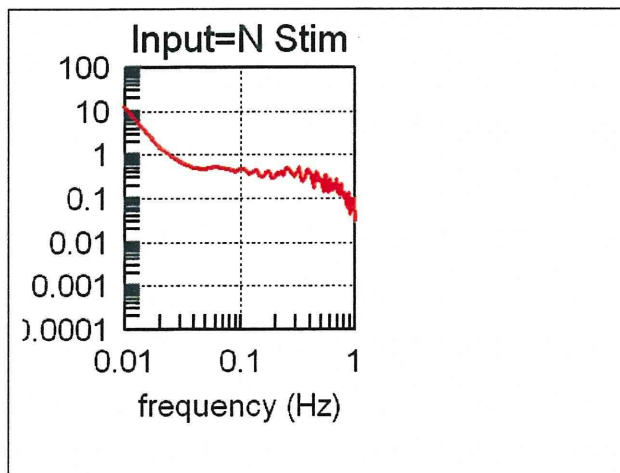


この結果（黒線）は、圧反射求心路神経刺激に対する体血圧の応答は、閉ループ下においてもlow-pass filter特性として求められることを示す。しかし開ループ下で求めたシステム伝達関数（橙色線）とは、少し結果が異なっており、注意が必要なが判明した。

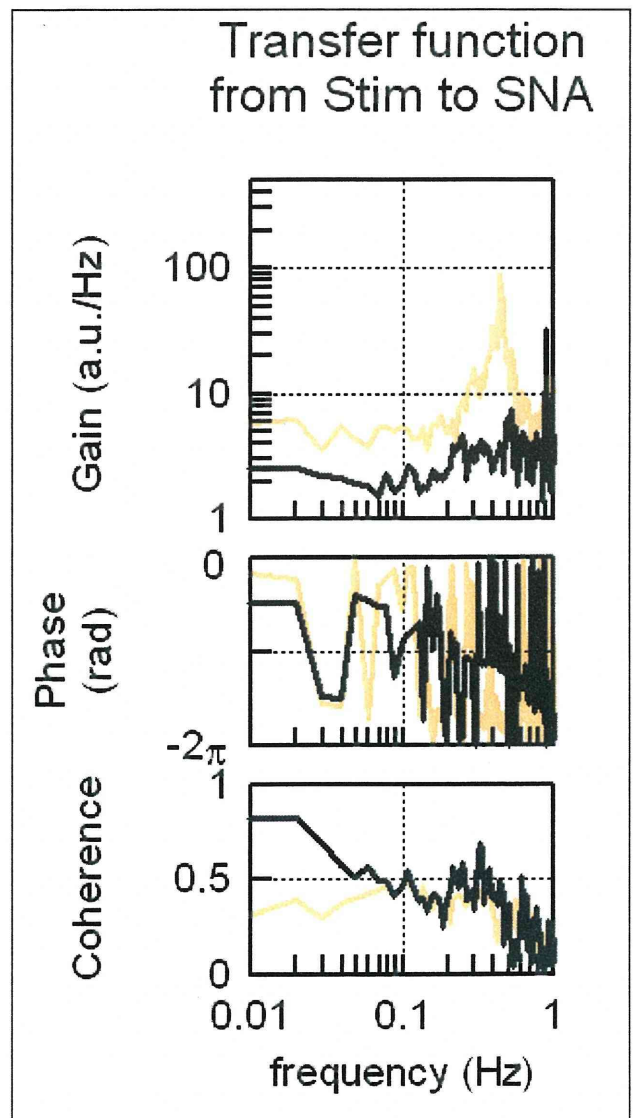
<圧反射求心路神経刺激に対する交感神経活動の応答>

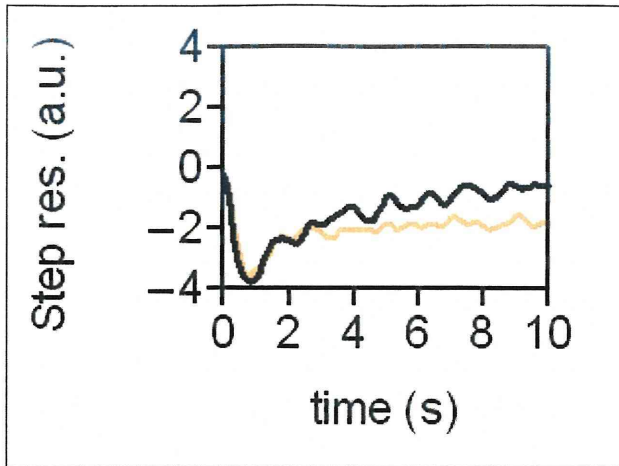
圧反射求心路神経刺激の刺激周波数を入力、交感神経活動を出力として、システム伝達関数を求めた。

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。





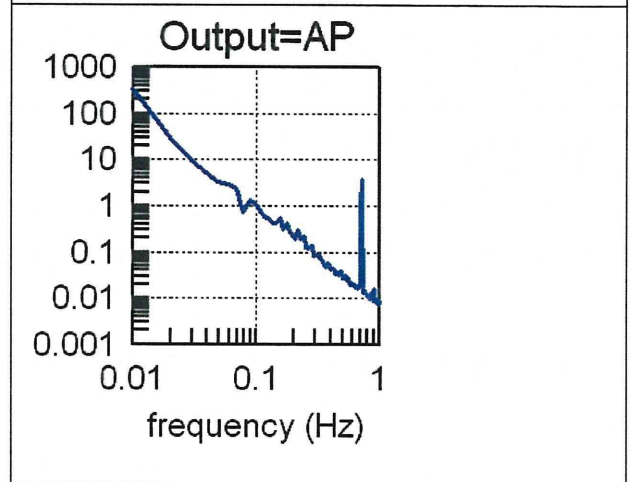
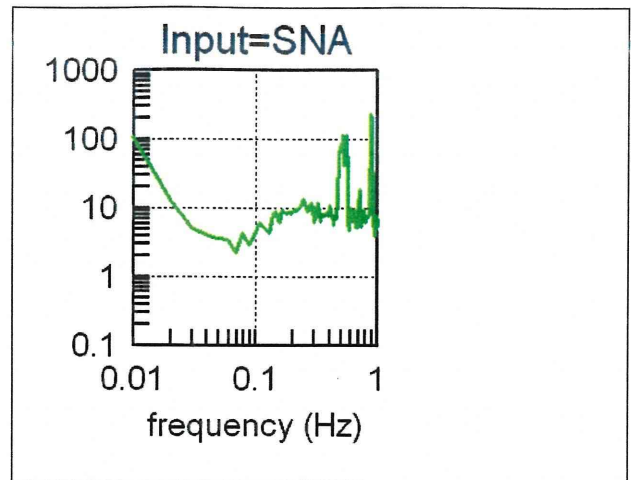
Gain, ゲイン; Phase, 位相; coherence, コヒーレンス; Step res, ステップ応答

この結果（黒線）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。しかし開ループ下で求めたシステム伝達関数（橙色線）と比較した場合、閉ループ下で求めたシステム伝達関数は、周波数特性は似ているが、ゲインが過小評価された。またステップ応答の結果も、開ループ下結果（橙色線）と比べて、一過性の交感神経抑制の後、ある程度に元に戻るような応答の特徴は同様であったが、定常応答は過少に計算された。このため、圧反射求心路神経刺激から脳を介して交感神経が応答するシステム要素（中枢要素）の特性（中枢特性）に関しては、閉ループ条件下は、システム伝達関数が過少に求められるため、注意が必要なことが判明した。

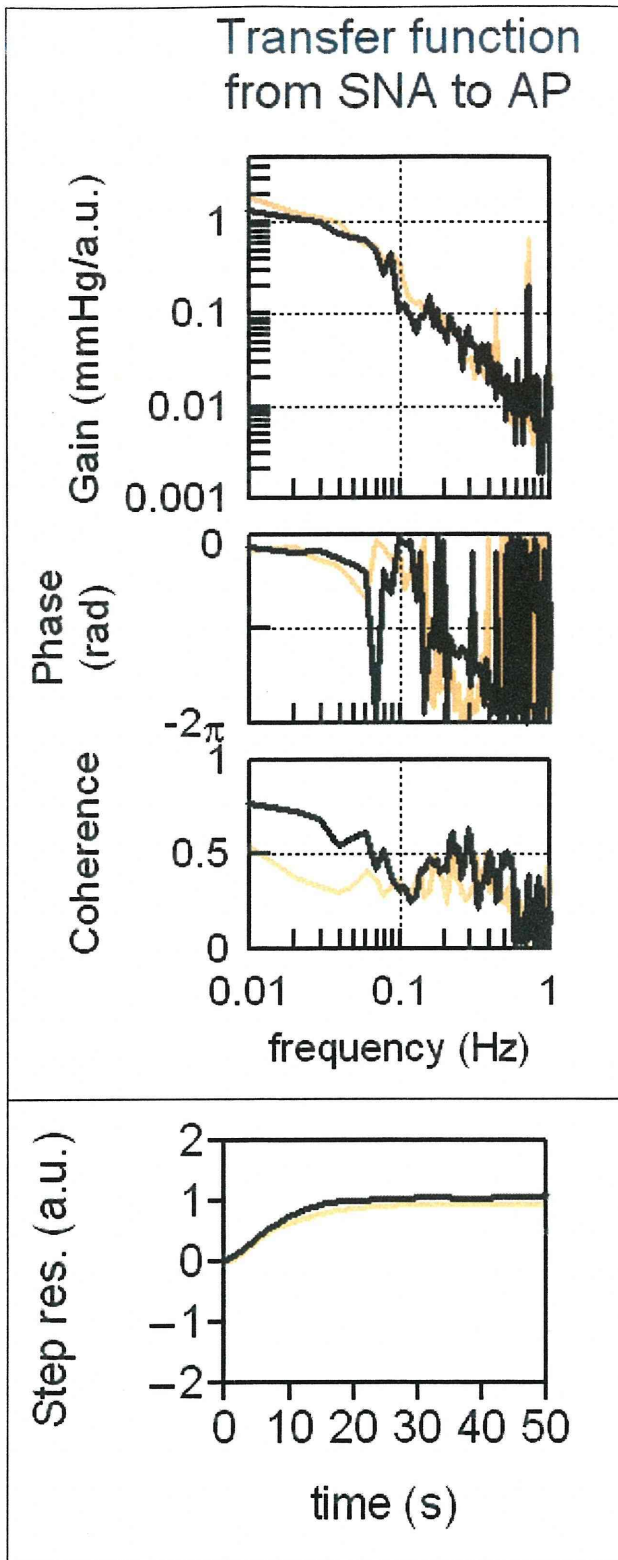
#### <交感神経活動に対する体血圧の応答>

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。

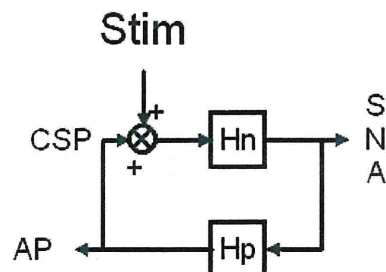
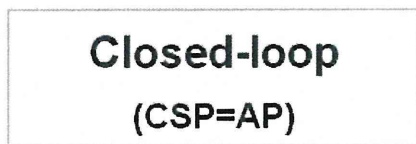
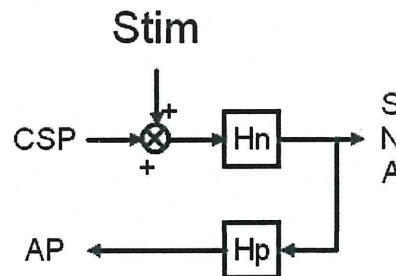


交感神経活動に対する体血圧の応答は、low-pass filter特性であり、また、最低周波数で位相が0に近づく結果（黒線）は、交感神経緊張によって体血圧が増加する特性を示すため、従来の生理学的定性的な神経作用と一致した。ステップ応答の結果

（黒線）は、時定数20秒程度のlow-pass filterで、定常ゲインは約1(a.u./mmHg)であった。これらの結果は、開ループ下で求めたシステム伝達関数（橙色線）とおよそ一致したため、交感神経活動から末梢臓器を介して体血圧が応答するシステム要素（末梢要素）の特性（末梢特性）に関しては、閉ループ下のシステム同定がある程度に精確であることを示唆した。

開ループ条件でのシステム同定と比較して、閉ループ条件でのシステム同定が、中枢特性の同定では不正確であるが、末梢応答の同定についてはある程度に精確であったという、実験結果を、圧反射モデルを用いた数理シミュレーションで再現できるかを検討した。

開ループ条件および閉ループ条件の機能構造を表す、ブロックダイアグラムを下に示す。



Stimは、圧反射求心路神経への刺激である。開ループ条件では、CSP（頰動脈洞内圧）はAP（体血圧）と独立であるが、閉ループ条件では両者が一致している。Hnは中枢要素（圧反射求心性神経刺激周波数から交感神経活動）のシステム伝達関数、Hpは末梢要素（交感神経活動から体血圧）のシステム伝達関数を表す。

過去の研究（Kawada 2002等）より、Hnは、次の式でモデル化した。

$$H_N(f) = -K_N \frac{1 + \frac{f}{f_{c1}} j}{\left(1 + \frac{f}{f_{c2}}\right)^2} \exp(-2\pi f j L)$$

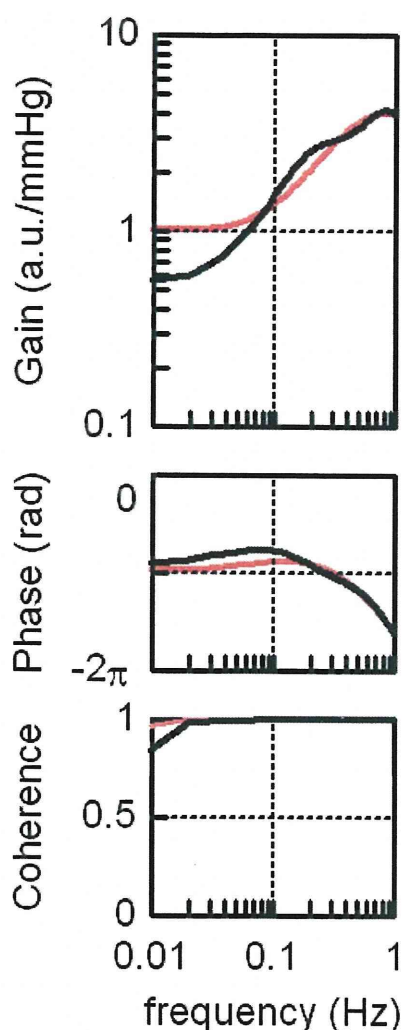
f, 周波数 (Hz); j, 虚数単位; KN, 定常ゲイン (in a.u./Hz); fc1, 微分特性のcorner frequencies (in Hz); fc2 (fc1<fc2), 高周波遮断特性のcorner frequencies (in Hz); L, pure delay (in s). ゲインは周波数fc1からfc2までの帯域では増加し、fc2を超えると低下する。過去の研究からKN, fc1, fc2とLをそれぞれ 1, 0.1, 0.8 と 0.2 に設定した。

一方、過去の研究（Kawada 2002等）より、Hpは、次の式でモデル化した。

$$H_P(f) = \frac{K_P}{1 + 2\zeta \frac{f}{f_N} j + \left(\frac{f}{f_N} j\right)^2} \exp(-2\pi f j L)$$

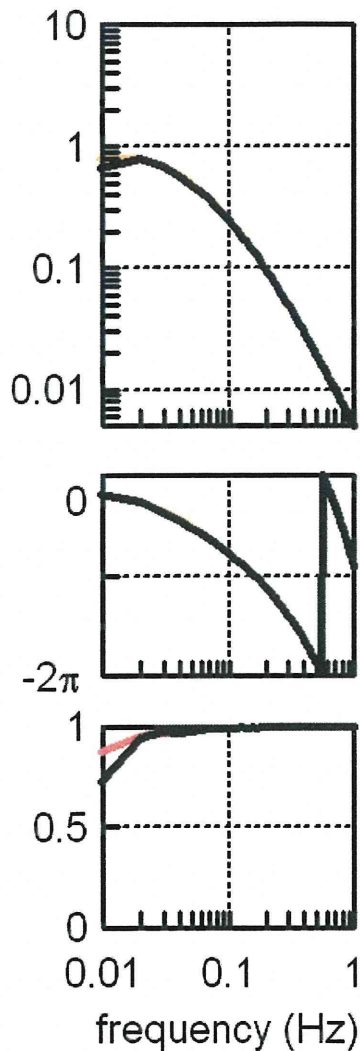
KP, 定常ゲイン (in mmHg/a.u.); fN, natural frequency (in Hz); ζ, damping ratio, L, pure delay (in s). 過去の研究から、KP, fN, ζとLをそれぞれ 1, 0.07, 1.4 と 1.0 に設定した。

## Transfer function from Stim to SNA



シミュレーションの結果、中枢特性については、閉ループ条件でのシステム同定（黒線）は、およそ開ループ条件（橙色線）と等しいものの、ゲインが小さく計算された。一方、末梢特性については、閉ループ条件でのシステム同定（黒線）は開ループ条件（橙色線）と一致した。これらは、実データを説明可能な結果であった。

## Transfer function from SNA to AP

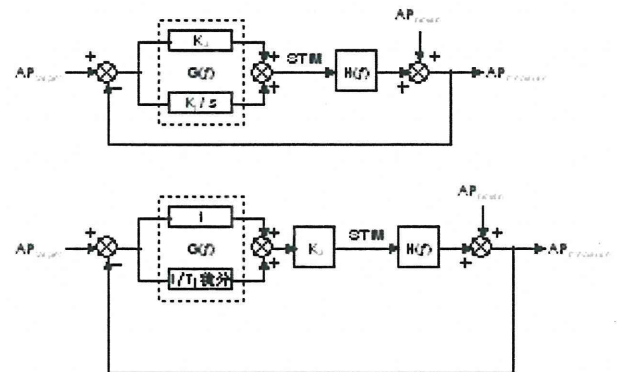


$K$ , 定常ゲイン;  $f_c$ , corner frequencies (in Hz);  
 $L$ , pure delay (in s).

すると、

$K=2.2$  (mmHg/Hz),  $f_c=0.033$  Hz,  $L=2.2$  s、さらに時定数  $T=1/(2\pi f_c) = 4.8$  s という結果を得た。

これを基に、下図のような比例積分（微分）制御を用いた制御系を設計した。



Chein, Hrones and Reswickの調整則 (CHR法) を用いて、このチューニングを行い、 $K_p=0.35 T/(KL)=-0.345$ ,  $1/T_i=1/1.2T=0.17$  を得た。

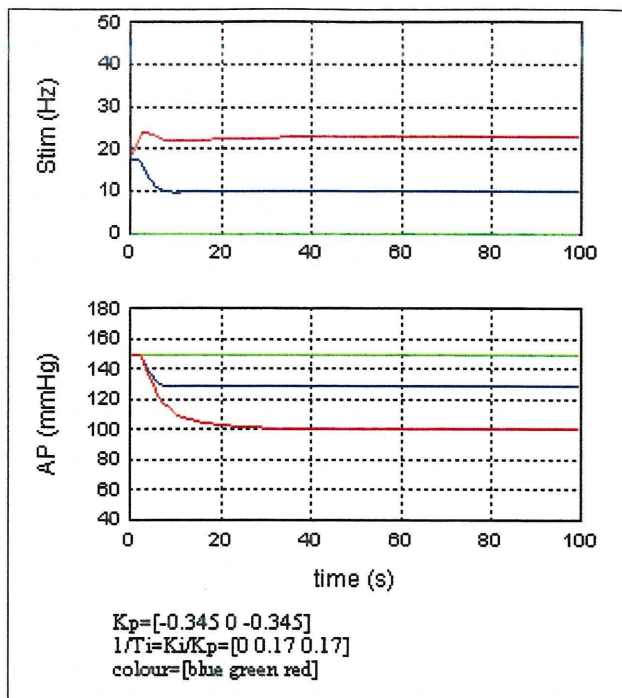
シミュレーションでは、APの初期値を150mmHg、治療目標値を100mmHgに設定した。

比例補償と積分補償の強度を変化させて、安定かつ迅速な制御系を検討した。積分補償をなくして比例補償のみとすると（青線）、神経刺激強度（＝治療）が十分に増加せずに、APが治療目標値にまで低下せずに残渣が残ってしまった。

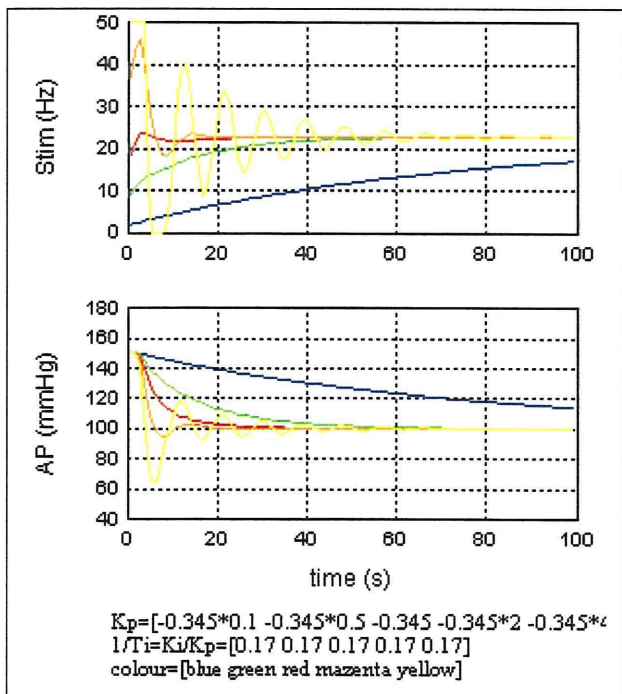
### < 圧反射求心路神経刺激を調節する制御部の開発 >

圧反射求心路神経刺激に対する体血圧の応答を1次式のlow-pass filterにモデル化した。

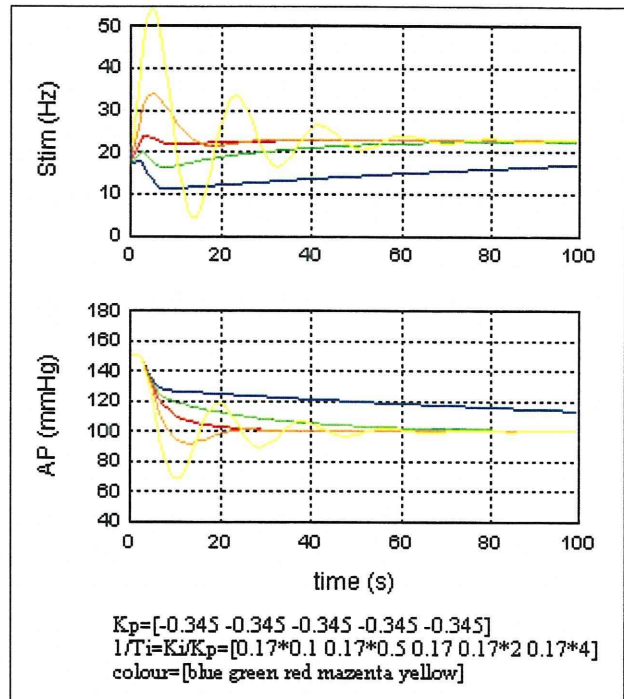
$$H_p(f) = \frac{K}{1 + \frac{f}{f_c} j} \exp(-2\pi f j L)$$



次に、比例ゲインを、CHR法で得られた値の0.1(青線), 0.5(緑線), 1(赤線), 2(橙線), 4(黄線)倍に変化させたところ、比例ゲインが低倍だと神経刺激強度(=治療)が増加するのに時間がかかり血圧が目標値に達するまでに長い制御時間を要すること、一方、比例ゲインが高倍だと神経刺激強度(=治療)が振動して血圧も不安定になり、危険があることが分った。



次に、積分補償の強度を、CHR法で得られた値の0.1(青線), 0.5(緑線), 1(赤線), 2(橙線), 4(黄線)倍に変化させたところ、低倍だと神経刺激強度(=治療)が増加するのに時間がかかり血圧が目標値に達するまでに長い制御時間を要すること、一方、高倍だと神経刺激強度(=治療)が振動して血圧も不安定になり、危険があることが分った。



したがって、迅速に安定に(振動せずに)、血圧を治療目標値に制御するには、CHR法による比例ゲインおよび積分補償(積分時間)の調整が有用だと分った。これによって、圧反射求心路刺激を調節する制御部、および、刺激部-計測部-制御部の全体のフィードバック構造の閉ループ生体制御治療を設計開発した。

### <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

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 Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> 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(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。

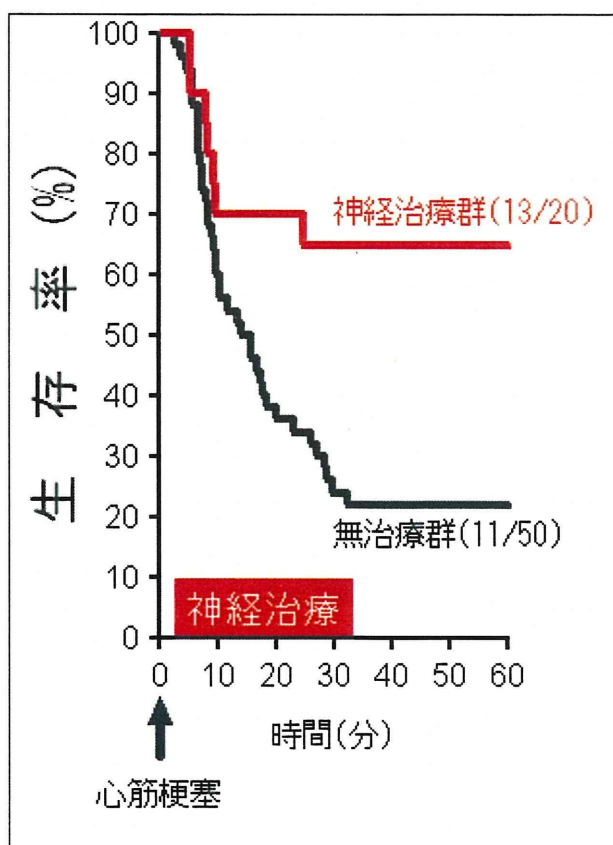
### C. 研究結果

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。

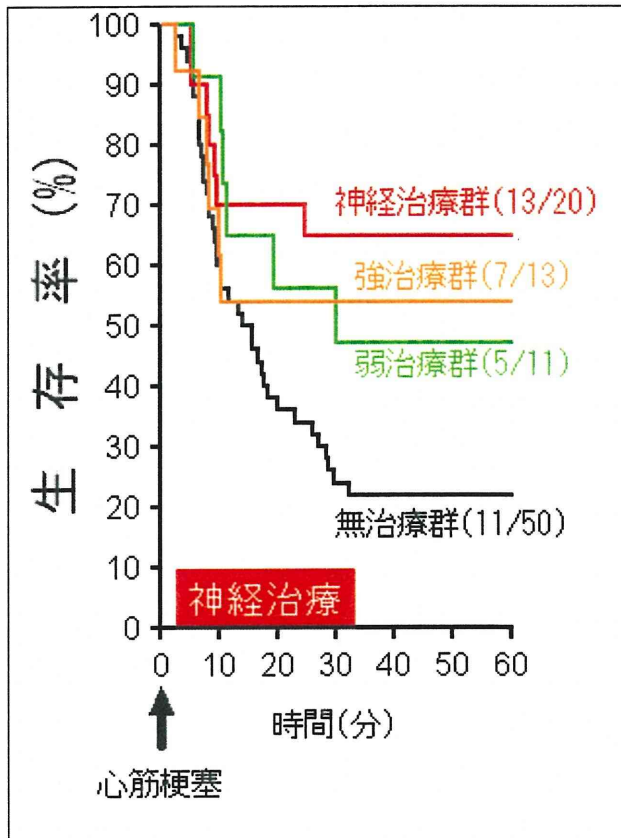
その結果、モデル作成（冠動脈結紮）の1時間後の時点で、無治療群（n=50）は2割しか生存出来なかったのに対し、神経治療群（n=20）は7割が生き残り、大幅な生存率の改善を認めた。



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

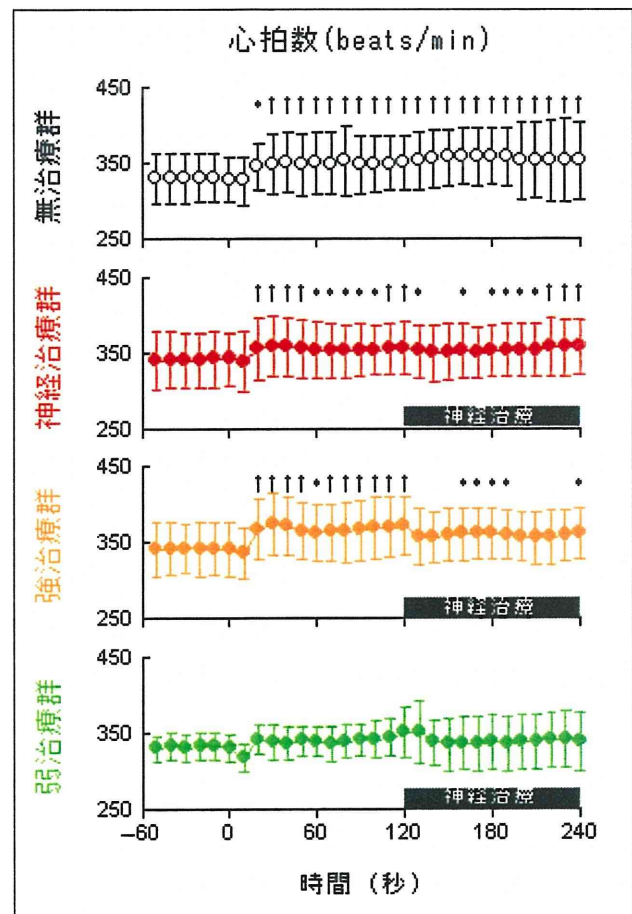
療効果を比較した。

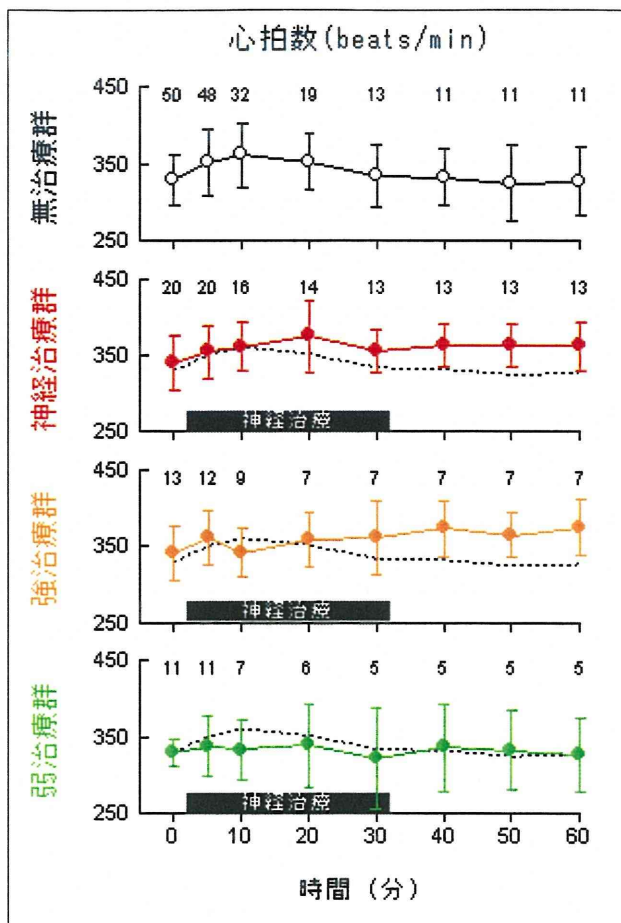
その結果、強治療群 (n=13) も弱治療群 (n=11) も、無治療群と比して、高い生存率を示したものの、元の強度の神経治療ほどの治療効果には至らなかった。この結果は、神経治療には強すぎもせず弱すぎもしないような至適な治療な強度があり、この時に最も生存率を改善できることが分かった。



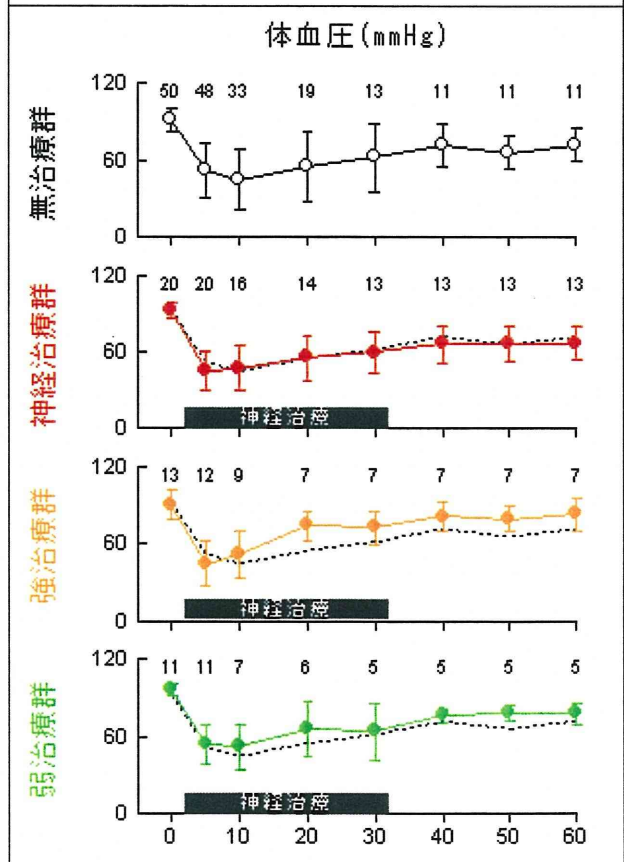
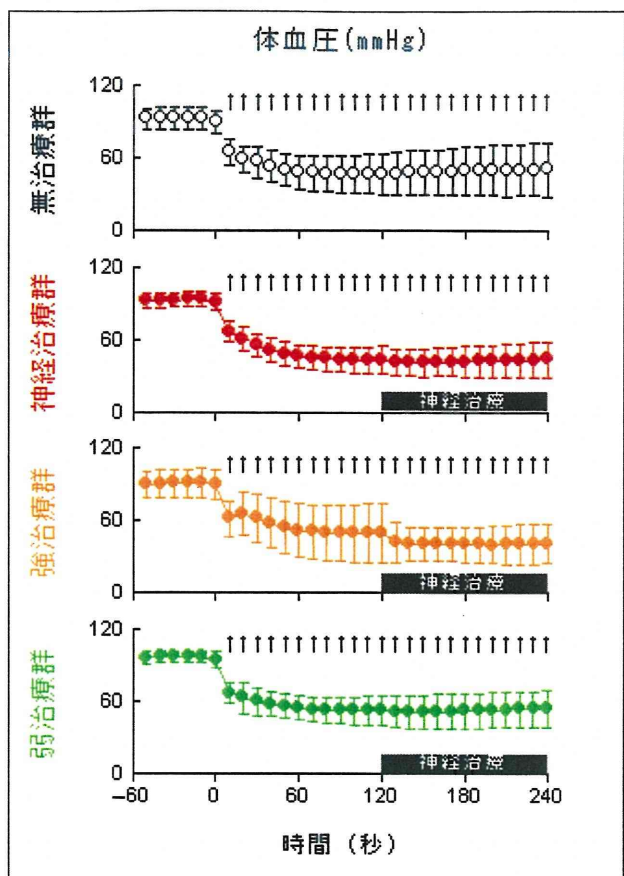
次に、神経治療中の循環動態を示す。心筋梗塞性心不全では、心拍数が増加した（下図の最上段）。モデル作成2分後から開始した神経治療は、個々の例においては、治療強度に応じて心拍数を低下させた。しかしながら、1時間の経過中の群間比較では、無治療群に比して心拍数低下効果をはっきりとは認められなかった。これは、データ表示においては生き残った個体のデータのみが反映されること、急性期死亡の主原因である致死性不整脈は明確な予兆（パラメ

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一低下したことより、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。



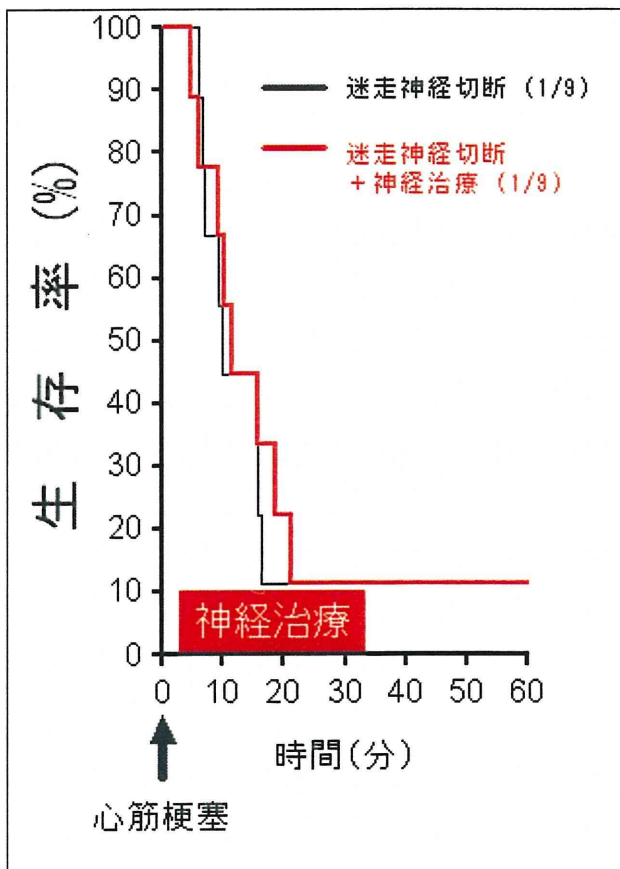
この神経治療は、圧反射求心性神経の刺激であるため、脳へ血圧が高いというダミー信号を送



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。

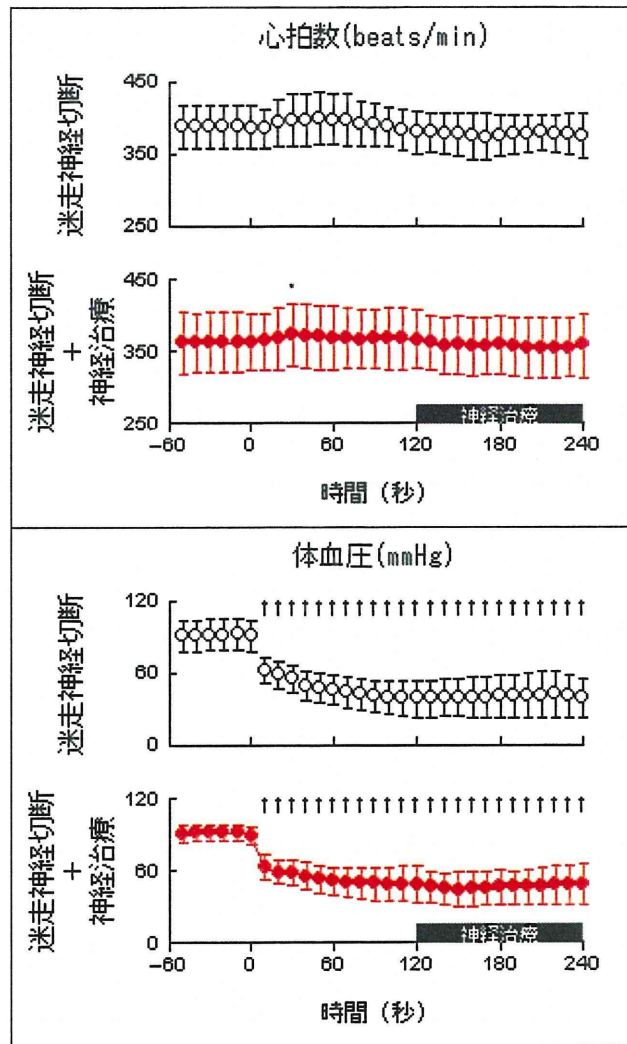
その方法として、頸部で両側迷走神経を切断した上で本神経治療を行い、上述の治療効果（特に生存率の改善効果）が消失するか残るかを調べた。

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、本神経医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し。

#### 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  $Ca^{2+}$ -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介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.