

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  $\alpha_2$  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.
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の実験を行い、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の実験を行い、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ンの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) +  $\alpha$ 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、

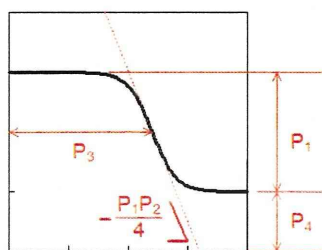
外頸動脈を内頸動脈との分岐直後で結紮した。次に、総頸動脈側から直径 0.8 mm のステンレスボールを 2~3 個注入して内頸動脈を閉塞させ、最後に、総頸動脈にカニューレーションすることで頸動脈洞を体循環から完全に分離した (Sato et al., *Am J Physiol* 276: H326-H332, 1999)。最終的にステンレスボールを閉塞させる直前にヘパリンを静脈投与し、椎骨動脈などから脳への血流が停滞しないように配慮した。

### 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には、「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  $s(d)$  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)

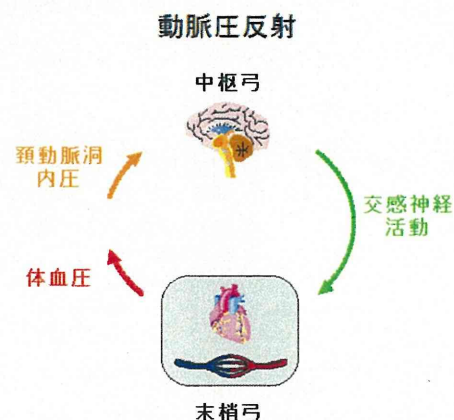
冠動脈閉塞手術は麻酔下を実施し、手術回復後は自由摂食、自由飲水、自由行動下に飼育した。急性実験はすべて麻酔下で実施し、実験終了後は直ちに大量の麻酔薬 (ペントバルビタール) の静脈投与によって安楽死させた。

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。

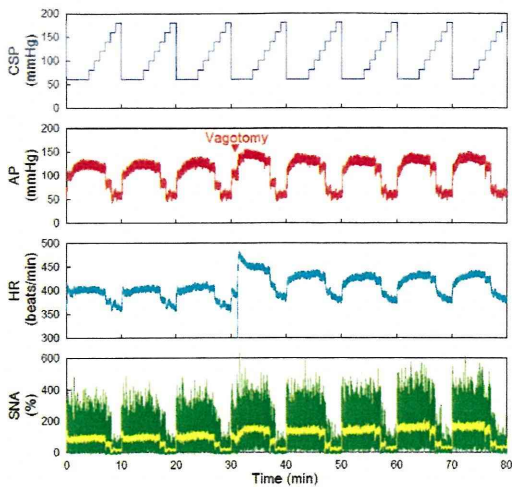


図 C-1-1. 迷走神経切断の実験例(正常ラット). CSP: 頸動脈洞内圧, AP: 体血圧, HR: 心拍数, SNA: 内臓交感神経活動, Vagotomy: 迷走神経切断. SNA 中の黄線は 2 秒の移動平均をかけた SNA を示す.

活動、体血圧、心拍数を測定しながら階段状の圧入力を加えた実験記録を図 C-1-1 に示す。頸動脈洞内圧を 60~180 mmHg の範囲で変化させると、頸動脈洞内圧の上昇に対して、交感神経活動、体血圧、心拍数は減少した。

階段状入力を 3 回繰り返した後、両側の迷走神経を頸部で切断すると、直ちに交感神経活動、体血圧、心拍数が変化し、同じ頸動脈洞内圧に対して各測定値は上昇した。このうち、交感神経活動と心拍数の上昇は迷走神経切断から 30 分後も持続したが、体血圧の上昇は迷走神経切断後に長時間は持続せず、やがて元の体血圧レベルに戻る傾向がみられた。

図 C-1-2 は図 C-1-1 の各階段状入力において、頸動脈洞内圧が 60 mmHg のときの最後の 10 秒間の交感神経活動、心拍数、体血圧の平均値を計算して、その経時変化をグラフ化したものである。迷走神経切断直後の階段状入力を 0 番として表記してある。頸動脈洞内圧を 60 mmHg にしたときは、動脈圧反射を介して交感神経活動、心拍数、体血圧は上昇するので、図 C-1-2 は圧反射制御における交感神経活動、心拍数、体血圧の最大値の経時変化と考えることができる。

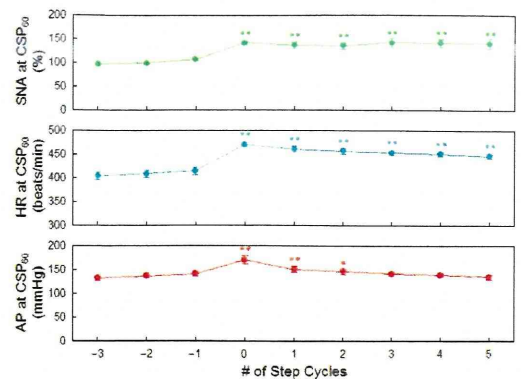


図 C-1-2. 迷走神経切断が正常ラットの動脈圧反射の静特性に及ぼす影響 (n = 7). CSP<sub>60</sub>: 頸動脈洞内圧 = 60 mmHg, AP: 体血圧, HR: 心拍数, SNA: 内臓交感神経活動, \*P < 0.05, \*\*P < 0.01 from control (#-3).

迷走神経切断によって交感神経活動と心拍数の最大値が上昇し、その上昇が持続すること、体血圧の最大値は一過性に上昇するが、やがて、迷走神経切断前のレベルと有意差がなくなることが分かる。

図 C-1-3 は図 C-1-1 の各階段状入力において、頸動脈洞内圧が 180 mmHg のときの最後の 10 秒間の交感神経活動、心拍数、体血圧の平均値を計算して、その経時変化をグラフ化したものである。頸動脈洞内圧を 180 mmHg にしたときは、動脈圧反射を介して交感神経活動が抑制され、心拍数、体血圧が低下するので、図 C-1-3 は圧反射制御における交感神経活動、心拍数、体血圧の最低値の経時変化と考えることができる。

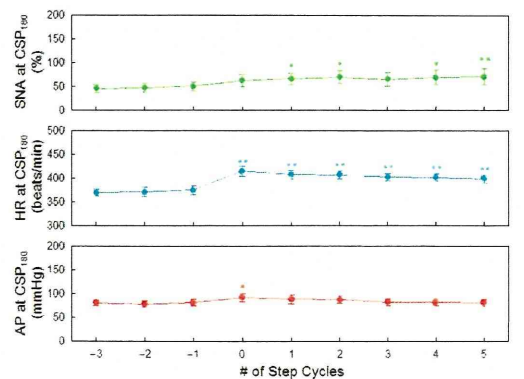


図 C-1-3. 迷走神経切断が正常ラットの動脈圧反射の静特性に及ぼす影響 (n = 7). CSP<sub>180</sub>: 頸動脈洞内圧 = 180 mmHg, AP: 体血圧, HR: 心拍数, SNA: 内臓交感神経活動, \*P < 0.05, \*\*P < 0.01 from control (#-3).



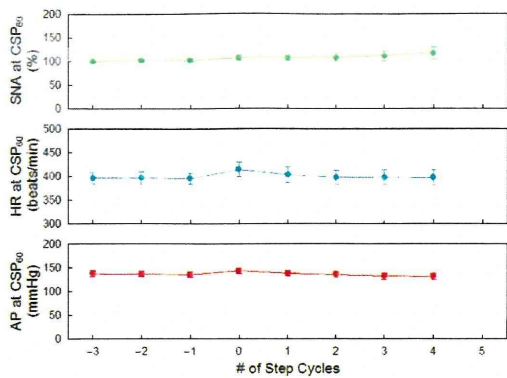


図 C-2-2. 迷走神経切断が心不全ラットの動脈圧反射の静特性に及ぼす影響 (n = 7). CSP<sub>60</sub>: 頸動脈洞内圧 = 60 mmHg, AP: 体血圧, HR: 心拍数, SNA: 内臓交感神経活動

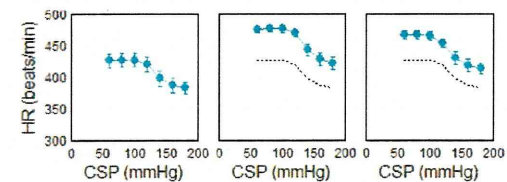


図 C-1-4. 迷走神経切断が正常ラットの動脈圧反射の静特性に及ぼす影響 (n = 7). CSP: 頸動脈洞内圧, AP: 体血圧, HR: 心拍数, SNA: 内臓交感神経活動, 1 段目: 動脈圧反射全体の特性, 2 段目: 中枢弓の特性, 3 段目: 末梢弓の特性, 4 段目: 心拍数制御の特性。

迷走神経切断によって交感神経活動と心拍数の最低値は上昇し、その上昇は持続した。一方、体血圧の最低値は迷走神経切断直後にわずかに上昇するものの、すぐに迷走神経切断前のレベルまで低下した。

迷走神経切断の影響を動脈圧反射全体の特性（入力圧→体血圧関係）、中枢弓の特性（入力圧→交感神経活動関係）、末梢弓の特性（交感神経活動→体血圧関係）、心拍数制御の特性（入力圧→心拍数関係）に分けて解析した結果が図 C-1-4 である。

図 C-1-4 の 1 段目に示すように、動脈圧反射全体の静特性はロジスティック曲線で近似できるような非線形の入出力関係を示した。2 段目に示すように、中枢弓の静特性もロジスティック曲線で近似できるような非線形の入出力関係を示した。これに対して、3 段目に示すように末梢弓の静特性はほぼ直線状であった。4 段目に示すように心拍数制御の

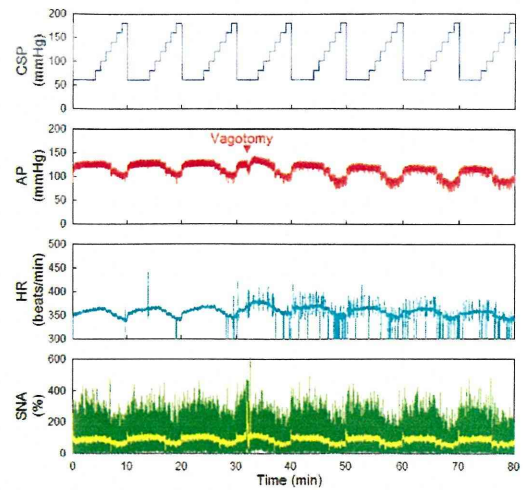


図 C-2-1. 迷走神経切断の実験例 (心不全ラット). CSP: 頸動脈洞内圧, AP: 体血圧, HR: 心拍数, SNA: 内臓交感神経活動, Vagotomy: 迷走神経切除, SNA 中の黄線は 2 秒の移動平均をかけた SNA を示す。

静特性は動脈圧反射全体と同じく、ロジスティック曲線で近似できるような入出力関係を示した。

迷走神経切断直後 (Step Cycle 0) では圧反射全体の特性は上方に偏位するが、その影響は長続きしなかった。一方、中枢弓の静特性および心拍数制御の静特性においては、入出力関係の上方偏位が迷走神経切断後 40 分まで持続した。また、動脈圧反射の末梢の静特性においては、迷走神経切断後もほぼ直線の入出力関係を示したが、その直線の傾きが迷走神経切断によって次第に緩やかになった。

## C-2. 迷走神経切断が心不全ラットの動脈圧反射の静特性に及ぼす影響

心筋梗塞作成後 8 週間生存した Sprague-Dawley 系の心不全ラットにおいて、頸動脈洞圧受容器を体循環より分離し、内臓交感神経活動、体血圧、心拍数を測定しながら階段状の圧入力を加えた実験記録を図 C-2-1 に示す。

正常ラットと同様に、心不全ラットにおいても頸動脈洞内圧の上昇に対して交感神経活動、心拍数、体血圧は低下したが、すでに前年度に報告したとおり、交感神経活動や体血圧の変化幅は心不全ラット

において小さかった。また、心不全においては不整脈が頻発し、心拍数の記録にノイズ状の変動がみられる場合があった。

階段状入力を3回繰り返した後、両側の迷走神経を切断したが、心不全ラットにおいては正常ラットに比べて、交感神経活動、心拍数、体血圧の変化は小さかった。

各階段状入力において、頸動脈洞内圧が60 mmHg のとき (図C-2-2) および180 mmHg のとき (図C-2-3) に観察された交感神経活動、心拍数、体血圧の最大値および最低値の経時変化をプロットした。心不全ラットでは迷走神経を切断してもこれらの値は不変であり、経時的変化に統計的な有意差はなかった。

心不全ラットにおける迷走神経切断の影響を動脈圧反射全体、中枢弓、末梢弓、心拍数制御の静特性に分けて解析した結果が図C-2-4である。

迷走神経切断直後に心拍数制御の静特性のグラフがわずかに上方に偏位するが、その上昇は有意ではなく、正常ラットに比べて上昇反応は持続しないことが分かる。迷走神経を切断しても圧反射全体、中

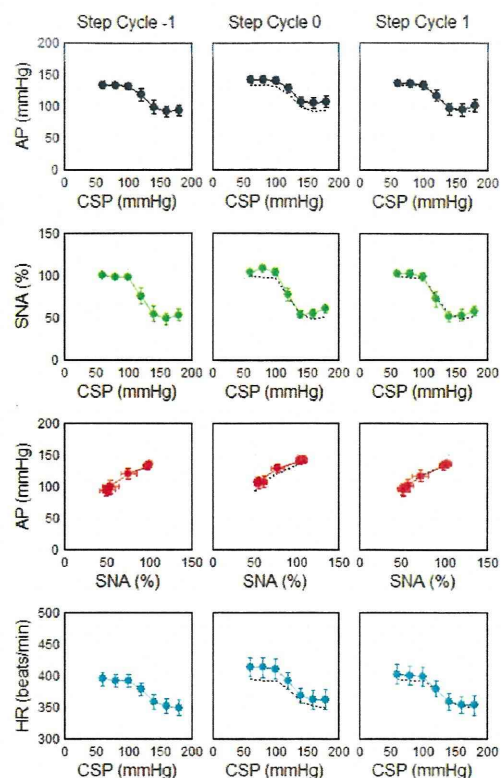


図 C-2-4. 迷走神経切断が心不全ラットの動脈圧反射の静特性に及ぼす影響 (n = 7). CSP: 頸動脈洞内圧, AP: 体血圧, HR: 心拍数, SNA: 内臓交感神経活動, 1 段目: 動脈圧反射全体の特性, 2 段目: 中枢弓の特性, 3 段目: 末梢弓の特性, 4 段目: 心拍数制御の特性。

枢弓、末梢弓の静特性に大きな変化はみられなかった。

### C-3. 迷走神経切断が正常ラットおよび心不全ラットの動脈圧反射の動特性に及ぼす影響

上述C-1、C-2の迷走神経切断実験において、階段状入力の開始前と終了後に頸動脈洞内圧に対してにガウス白色雑音入力を行い、動脈圧反射の動特性を推定した。

図C-3-1は圧入力に対する体血圧応答から計算した動脈圧反射全体の動特性の平均値である。正常ラット、心不全ラットのいずれにおいても入力の周波数が高くなるほど血圧応答の振幅が小さくなる低域通過フィルターの性質を示した。心不全では正常ラットに比べて動脈圧反射のゲインが小さくなっており、それを反映してステップ応答における (負

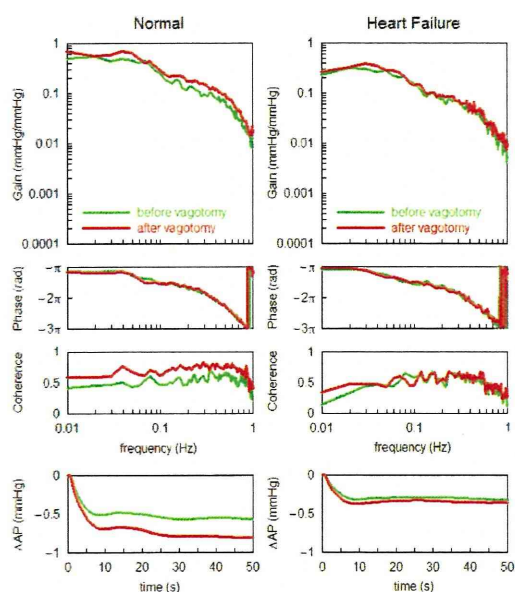


図 C-2-3. 迷走神経切断が正常ラットの動脈圧反射の静特性に及ぼす影響 (ure) の動脈圧反射頸動脈洞動特性に及ぼす影響: 体血圧, HR: 迷走神経切断, 内臓交感神経活動の単位変化に対する体血圧の変化。



の) 最大応答も縮小していた。心不全と正常ラットとで位相線図に大きな違いはなかった。

正常ラットでは迷走神経切除によって、ゲインがわずかに上方に変化する傾向がみられ、ステップ応答の(負の)最大応答も増大する傾向がみられた。正常ラットでは入出力間の線形性の指標であるコヒーレンスも全周波数にわたって上昇しており、体血圧の変動の中で、圧反射で説明できる変動の割合が増加したことを示唆している。一方、心不全ラットにおいては、迷走神経切除によって動脈圧反射全体の動特性はあまり変化せず、コヒーレンスにも大きな変化はみられなかった。

図 C-3-2 は圧入力に対する交感神経活動の応答から計算した動脈圧反射の中樞弓の動特性の平均値である。正常ラット、心不全ラットのいずれにおいても入力の周波数が高くなるほど交感神経活動の応答の振幅が大きくなる微分的な性質を示した。最低周波数のゲインを 1 に正規化してあるので、迷走神経切断前のデータにおいて、正常ラットと心不全ラットで最低周波数のゲインに違いはない。位相は最低周波数で  $-\pi$  ラジアンであり、圧入力と交感神

経活動が逆相の関係にあることを意味する。

心不全ラットと正常ラットとで中枢弓の位相線図に大きな違いはなかった。正常ラット、心不全ラットのいずれにおいても迷走神経切断でゲインがわずかに増加しているように見えるが、2 つの実験プロトコールの間に 80 分間の階段状入力の実験が介在しているため、神経活動の記録状態の経時変化の影響は排除できない。

ただし、正常ラットにおいて、迷走神経の切断でコヒーレンスが上昇している傾向がある。これは動脈圧反射全体(図 C-3-1)で観察されたコヒーレンスの上昇と合致している。つまり、正常ラットにおいては、迷走神経切断の結果、交感神経活動の変動の中で、圧反射で説明できる変動が増えたことを示唆する。

図 C-3-3 は交感神経活動の変化に対する体血圧の応答から計算した動脈圧反射の末梢弓の動特性の平均値である。正常ラット、心不全ラットのいずれにおいても入力の周波数が高くなるほど体血圧の応答の振幅が小さくなる低域通過フィルターの性質を示した。中枢における最低周波数のゲインを 1 と

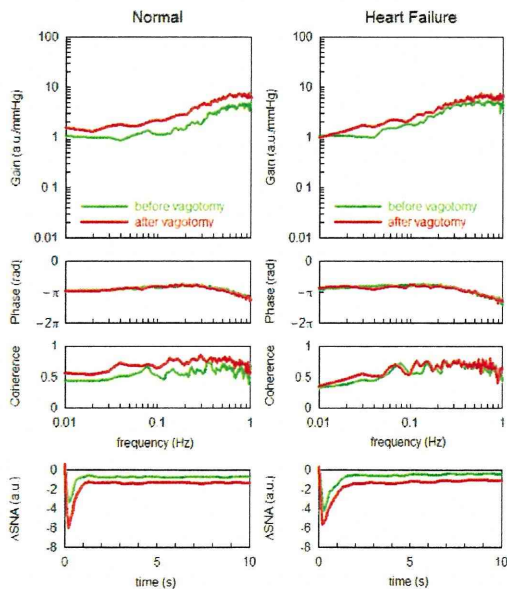


図 C-3-2. 迷走神経切断が正常ラット(Normal)および心不全ラット(Heart Failure)の動脈圧反射の中樞弓の動特性に及ぼす影響: vagotomy: 迷走神経切断,  $\Delta$ SNA: 頸動脈洞内圧の単位変化に対する交感神経活動の変化。

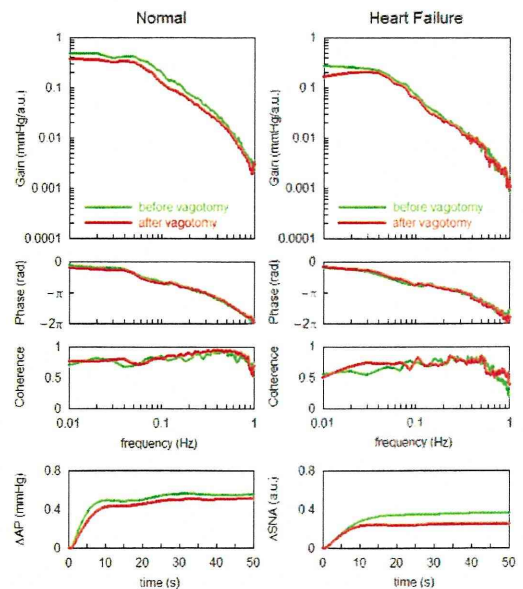


図 C-3-3. 迷走神経切断が正常ラット(Normal)および心不全ラット(Heart Failure)の動脈圧反射の末梢弓の動特性に及ぼす影響: vagotomy: 迷走神経切断,  $\Delta$ AP: 交感神経活動の単位変化に対する体血圧の変化。

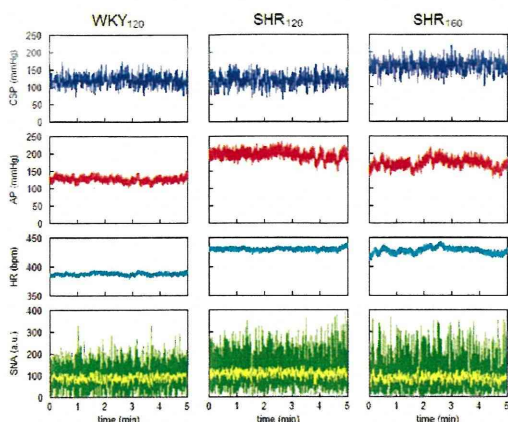


図 C-4-1. 自然発症高血圧ラット(SHR)および正常血圧ラット(WKY)において、動脈圧反射の動特性を推定した実験記録。CSP: 頸動脈洞内圧, AP: 体血圧, HR: 心拍数, SNA: 内臓交感神経活動, a.u.: arbitrary units. SNA 中の黄線は 2 秒の移動平均をかけた SNA を示す。

している。末梢における動特性のゲインは正常ラットに比べて心不全ラットで低下する。

正常ラットにおいては迷走神経切断で動特性の大きな変化はみられないが、心不全ラットでは低周波数領域でゲインが低下する傾向がみられた。ステップ応答でみても、正常ラットにおける変化に比べて心不全ラットにおいて、交感神経活動の変化に対する血圧の応答幅が縮小している。

心不全ラットと正常ラットとで位相線図に大きな違いはなかったが、コヒーレンスは迷走神経切断の前後とも正常ラットのほうが高い傾向を示した。つまり、正常ラットにおいて血圧変動の中で交感神経によって線形的に説明できる変動が大きかったと解釈できる。

#### C-4. 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

図C-4-1は自然発症高血圧ラット(SHR)とその正常血圧対照である Wistar Kyoto (WKY) ラットにおいて、動脈圧反射の動特性を調べた実験記録の一例である。両側迷走神経切除、両側大動脈減圧神経切除の状態、頸動脈洞内圧を体血圧に一致させるようにサーボポンプを制御すると、動脈圧反

射系を閉ループ状態にしたときの動作点を推定できる。WKYの動作点血圧は  $121 \pm 3$  mmHg、SHRの動作点血圧は  $156 \pm 5$  mmHg であった。そこで、ガウス白色雑音の平均入力圧を 120 mmHg、標準偏差を 20 mmHg とした場合(WKY<sub>120</sub> および SHR<sub>120</sub>)と、平均入力圧を 160 mmHg、標準偏差を 20 mmHg とした場合(SHR<sub>160</sub>)で血行動態の違いを調べた。

同じ平均入力圧で比較したとき、WKY<sub>120</sub> に比べて SHR<sub>120</sub> で体血圧 ( $105 \pm 5$  vs.  $176 \pm 17$  mmHg)、交感神経活動 ( $85 \pm 12$  vs.  $147 \pm 15$  a.u.) は有意に高値を示した。心拍数には有意差はなかった ( $406 \pm 18$  vs.  $432 \pm 19$  beats/min)。また、SHR<sub>120</sub> と SHR<sub>160</sub> を比較したとき、SHR<sub>160</sub> において体血圧 ( $143 \pm 14$  mmHg) と交感神経活動 ( $110 \pm 15$  a.u.) は低値を示した。心拍数 ( $423 \pm 15$  beats/min) に有意差はなかった。

ここでは、SHR<sub>120</sub> のデータを WKY<sub>120</sub> および SHR<sub>160</sub> のデータと繰り返して比較しているため、統計処理には Bonferroni 補正を用いた。つまり、t 検定を行い、 $P < 0.005$  を  $P < 0.01$ 、 $P < 0.025$  を  $P < 0.05$  とみなした。また、交感神経活動の絶対電位は記録条件によって動物ごとに異なるので、交感神経活動は CSP の平均入力圧を 120 mmHg としたときの中樞弓の伝達関数において、最低周波数のゲインが 1 a.u. (arbitrary units) になるようにスケーリングした。したがって、図C-4-1におけるWKY<sub>120</sub> と SHR<sub>120</sub> との間の交感神経活動の平均値の違いは、スケーリングの影響を受けている可能性がある。一方、SHR<sub>120</sub> と SHR<sub>160</sub> の交感神経活動は同じスケーリング処理で表示してあるので、SHR<sub>160</sub> のほうが交感神経活動の平均値が低かったといえる。



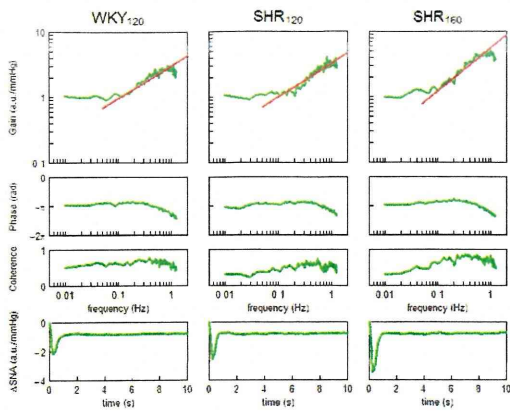


図 C-4-3. 自然発症高血圧ラット(SHR)および正常血圧ラット(WKY)における動脈圧反射中枢弓の動特性とステップ応答.  $\Delta$ SNA: 頸動脈洞内圧の単位変化に対する交感神経活動の変化. ゲイン線図中の赤線は 0.1~1 Hz の範囲におけるゲインの直線近似.

図C-4-2はSHRおよびWKYにおける動脈圧反射全体の動特性を示したものである。いずれも入力周波数が高くなるほど体血圧の応答の振幅が小さくなる低域通過フィルターの性質を示した。0.01 Hz におけるゲインの値および 0.1~1 Hz の範囲で直線近似したゲインの傾きに有意差はなかった。また、位相線図に大きな違いはなく、コヒーレンスは SHR<sub>120</sub> において WKY<sub>120</sub> および SHR<sub>160</sub> よりも小さい傾向を示した。ステップ応答における (負の) 立ち上がりの傾きにも有意差はなかった。

図C-4-3はSHRおよびWKYにおける動脈圧反射の中樞弓の動特性を示したものである。いずれも入力周波数が 0.1 Hz よりも高くなると、交感神経活動の応答の振幅が大きくなる微分特性を示した。つまり、交感神経活動は血圧変動の速い変化により鋭敏に反応するといえる。動脈圧反射の中樞弓にみられるこの基本的な性質は、長期間高い入力圧に曝されている SHR においても維持されていることが分かった。

WKY<sub>120</sub> と SHR<sub>120</sub> においては、最低周波数のゲインは 1 になるようにスケールリングしてあるので一致する。一方、SHR<sub>160</sub> においては、SHR<sub>120</sub> で用いたスケールリングの係数と同じ係数を使ったにも関わら

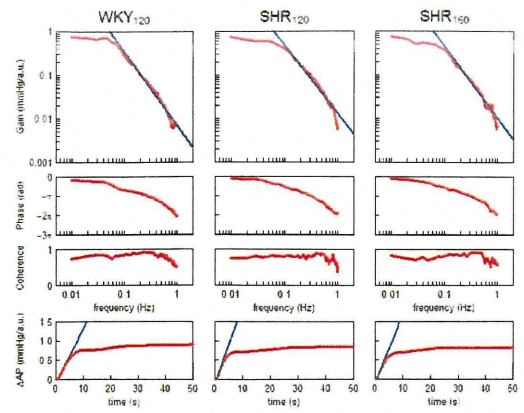


図 C-4-2. 自然発症高血圧ラット(SHR)および正常血圧ラット(WKY)における動脈圧反射全体の動特性とステップ応答.  $\Delta$ AP: 頸動脈神経圧動単位変化に対する体血圧変化. ゲイン線図中の赤線は 0.1~1 Hz の範囲におけるゲインの直線近似. ステップ応答の赤線は (負の) 立ち上がりの最大値を傾き傾き.

ず、最低周波数のゲインはほぼ 1 であったことから、SHR<sub>120</sub> と SHR<sub>160</sub> とでは最低周波数のゲインに大きな違いがなかったといえる。

一方、0.1~1 Hz の範囲で直線近似したゲインの傾きは、WKY<sub>120</sub> ( $10.1 \pm 1.0$  dB/decade)、SHR<sub>120</sub> ( $10.4 \pm 1.1$  dB/decade) と比べて、SHR<sub>160</sub> ( $13.2 \pm 0.8$  dB/decade) において有意に大きかった。このことを反映して、交感神経活動のステップ応答における (負の) ピーク値も SHR<sub>160</sub> において有意に増大していた。位相線図に大きな違いはなく、コヒーレンスは SHR<sub>120</sub> において WKY<sub>120</sub> および SHR<sub>160</sub> よりも小さい傾向を示した。

図C-4-4はSHRおよびWKYにおける動脈圧反射末梢弓の動特性を示したものである。いずれも周波数が高くなるほど交感神経活動に対する体血圧の応答の振幅が小さくなる低域通過フィルターの性質を示した。ここで、周波数は交感神経の発火頻度を示すのではなく、交感神経活動が変動したときの変調周波数を示している。

WKY<sub>120</sub>、SHR<sub>120</sub>、SHR<sub>160</sub> の間で最低周波数におけるゲインに有意差はなく、0.1~1 Hz の範囲で直線近似したゲインの傾きにも有意差はなかった。位



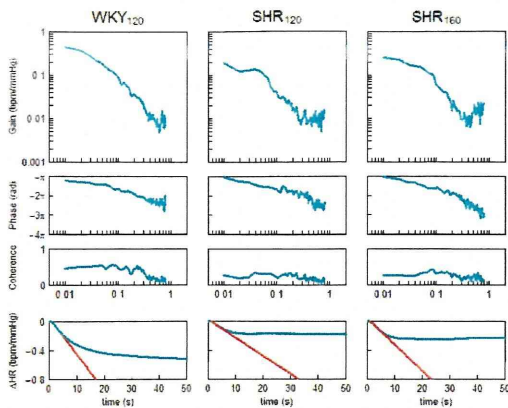


図 C-4-5. 自然発症高血圧ラット(SHR)および正常血圧ラット(WKY)における動脈圧反射による心拍数調節の動特性とステップ応答.  $\Delta$ HR: 頸動脈洞入力圧の単位変化に対する心拍数の変化. ステップ応答中の赤線は(負の)立ち上がりの最大値を示す傾き.

相線図、コヒーレンスともに大きな違いはみられなかった。ステップ応答の立ち上がりの傾きは SHR で少し急峻のようであるが、統計的には WKY と比べて有意差はなかった。

図 C-4-5 は SHR および WKY における動脈圧反射による心拍数調節の動特性を示したものである。本実験では迷走神経を切断しているため、心拍数の応答は主に交感神経による制御を反映していると考えられる。いずれも入力周波数が高くなるほど心拍数の応答の振幅が小さくなる低域通過フィルターの性質を示した。最低周波数におけるゲインは WKY<sub>120</sub> ( $0.46 \pm 0.05$  bpm/mmHg) よりも SHR<sub>120</sub> ( $0.02 \pm 0.04$  bpm/mmHg) で有意に小さかったが、SHR<sub>160</sub> ( $0.27 \pm 0.05$  bpm/mmHg) とは有意差がなかった。SHR では 0.4 Hz 以上の周波数でゲインが一定または逆に増大しているようにみえるが、この周波数領域におけるゲインの値が 0.01 bpm/mmHg 程度 (100 mmHg の圧入力に対して心拍数の変化は 1 beats/min) であることを考慮すると、精度的にこれがゲインの推定下限と思われる。ステップ応答の(負の)立ち上がりの傾きと、(負の)最大応答も WKY<sub>120</sub> よりも SHR<sub>120</sub> で有意に小さかった。位相線図に大きな違いはなかったが、コヒーレンスは WKY

よりも SHR において小さい傾向がみられた。

## D. 考察

### D-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

#### 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、その結果として血圧が低下する」、「血圧が低下すれば交感神経活動が上昇し、その結果として血圧が上昇する」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して測定できないので、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に影響を受けることがなくなり、動脈圧反射の中樞弓(入力圧→交感神経活動)および末梢弓(交感神経活動→体血圧)の静特性を広い入力範囲にわたって定量化することができる。

#### D-1-2. 迷走神経切断が動脈圧反射全体の静特性に及ぼす影響

正常ラットでは迷走神経切断によって一過性に体血圧が上昇し、動脈圧反射全体の静特性が上方に変化した。その影響は長続きせず、やがて迷走神経切断前とほぼ同じ静特性を示すようになった(図 C-1-4, 1 段目)。このことから、少なくとも正常ラットにおいて、麻酔下の条件では、迷走神経の有無は動脈圧反射による体血圧の調節にそれほど大きな影響を与えないことが分かる。

迷走神経遠心路は心臓を支配しており、迷走神経

の活動によって心拍数は低下する。そのため、迷走神経を切断すると心拍数が上昇することが予測される。本実験においても、迷走神経の切断によって心拍数制御の静特性は上方に移動し、その変化はプロトコール終了まで持続した（図C-1-2、図C-1-3）。しかし、本実験では交感神経活動が同時に変化しているので、心拍数の変化の一部は、交感神経活動の変化に由来するものかも知れない。あらかじめアトロピンで迷走神経作用を遮断するか、プロプラノロールで交感神経作用を遮断するかした条件下で迷走神経切断実験を行えば、どちらの作用が主体であるかを区別できると思われる。

### D-1-3. 迷走神経切断が動脈圧反射の中樞弓および末梢弓の静特性に及ぼす影響

迷走神経を切断すると、その直後から内臓交感神経活動が上昇し、中樞弓の静特性は上方に移動した（図C-1-4、2段目）。このとき、交感神経活動の最大値の上昇のほうが、交感神経活動の最低値の上昇よりも大きい傾向がみられた。

迷走神経切断が交感神経活動に影響を与える経路として、中樞経路と末梢経路の2つが考えられる。中樞経路は迷走神経の求心路を介して交感神経活動を抑制するもので、迷走神経の切断によって抑制が外れ、交感神経活動が上昇すると考えられる。末梢経路は迷走神経遠心路が、交感神経節などにおいて神経伝達を抑制するもので、やはり、迷走神経の切断によって抑制が外れ、交感神経活動が上昇すると考えられる。これらの2つを区別するには、切断した迷走神経の中樞端または末梢端を電気刺激するなどして、交感神経活動の変化を調べる実験が必要になると思われる。また、交感神経の節後線維ではなく、節前線維の電気活動を記録することで、交感神経節への修飾があったかどうかを判断できると考えられる。

動脈圧反射の末梢弓の静特性は、交感神経活動の

増加にともなって、体血圧がほぼ直線的に上昇する性質を示した。迷走神経遠心路の活動は交感神経の作用に拮抗することから、迷走神経を切断すると交感神経の心臓や血管に対する作用が増強され、末梢弓の傾きは増大すると予測された。しかし、迷走神経切断後は末梢弓の傾きは予測とは反対に緩やかになっており、迷走神経切断前後で比較すると、同じ交感神経活動（たとえば100%）に対する体血圧の値は低下した。

このように末梢弓の傾きが低下する原因は明らかではないが、本実験で測定した交感神経は腹腔神経節の1つの枝でしかないので、迷走神経切断による交感神経調節の部位差が生じ、他の部位の交感神経活動が低下するために、もしくは内臓交感神経活動だけが上昇するために、みかけ上、末梢弓が変化しているようにみえた可能性がある。この仮説を調べるには心臓交感神経活動や腎臓交感神経活動を同時記録しながら迷走神経切断実験を行い、交感神経活動に部位差が生じるかどうかを確認する必要がある。

また、内臓交感神経活動の変化だけではなく、心拍数の上昇が持続していることから、心拍数の変化が末梢弓の傾きに影響を与えた可能性もある。しかし、心拍数が上昇する際には心収縮性が増大し、実効動脈エラスタンスも上昇すると考えられるので、末梢弓の傾きは、やはり、大きくなることが予測される。このような予測と異なる結果を説明するには、迷走神経の遠心路を電気刺激して心拍数を下げたり、心臓ペースングによって心拍数を上昇させたときに、末梢弓の傾きがどのように変化するかを調べるような実験が必要と考えられる。

### D-2. 迷走神経切断が心不全ラットの動脈圧反射の静特性に及ぼす影響

#### D-2-1. 迷走神経切断が動脈圧反射全体の静特性に及ぼす影響

心不全ラットでは迷走神経切断が動脈圧反射全体に及ぼす影響はほとんどみられず、心拍数の変化も迷走神経切断直後にわずかに上昇しただけで（図C-2-4、1段目および4段目）、正常ラットのように心拍数が持続的に上昇することはなかった。

すでに論じたように、正常ラットにおいて観察された迷走神経切断による心拍数の上昇は、迷走神経遠心路の作用消失と、迷走神経求心路を介する交感神経抑制作用の消失による可能性があるが、心不全ラットにおいてはいずれの迷走神経作用も欠如していることが示唆された。これは心不全においてよく知られている交感神経活動亢進と迷走神経活動消失の概念を裏付けるものである。ただし、本研究結果は麻酔下の急性実験で得られたものであり、必ずしも覚醒状態における自律神経の状態を反映していない可能性がある。

#### D-2-2. 迷走神経切断が動脈圧反射の中樞弓および末梢弓の静特性に及ぼす影響

心不全ラットでは迷走神経を切断しても内臓交感神経活動に大きな変化はなく、中樞弓の静特性はほとんど変化しなかった（図C-2-4、2段目）。また、末梢弓の静特性もほとんど変化しなかった（図C-2-4、3段目）。このことから、心不全ラットにおいては迷走神経求心路を介する交感神経活動の調節が减弱していることが示唆された。

#### D-3. 迷走神経切断が正常ラットおよび心不全ラットの動脈圧反射の動特性に及ぼす影響

##### D-3-1. ガウス白色雑音入力について

本研究では前年度と同じく、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。これまでの研究から、動脈圧反射の中樞弓は微分特性+ロジスティック曲

線状の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）。中樞弓に存在する非線形特性は、動特性の推定に影響を与える。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樞弓の微分的な性質が失われ、伝達関数は平坦化する（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、周波数依存性のゲイン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低域通過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-3-2. 迷走神経切断が正常ラットの動脈圧反射の動特性に及ぼす影響

正常ラットにおける動脈圧反射の中樞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、末梢弓の低域通過フィルターの性質（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、動脈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（Ikeda et al., *Am J Physiol* 271: H882-H890, 1996）。

迷走神経を切断したところ、動脈圧反射の中樞弓のゲインがわずかに上昇し、入出力間のコヒーレンスもわずかに上昇した（図C-3-2左）。このことから、迷走神経の切断によって、交感神経活動の変動中、圧反射で説明できる変動が増大したと考えることができる。迷走神経を切断したとき、中樞弓の

静特性において、交感神経活動の最低値よりも最大値の上昇のほうが大きい傾向がみられた（図C-1-4、2段目）。このことは、圧入力に対する交感神経活動の変化の増大を示唆し、中枢弓の動特性にみられる変化と一致する。おそらく迷走神経の求心路を介する交感神経活動の抑制が外れることによって、圧入力に対する交感神経活動の応答が増大したものと推測される。

迷走神経切断によって、正常ラットの末梢弓の動特性に大きな変化はみられなかった（図C-3-3左）。中枢弓の場合と異なり、コヒーレンスもほとんど変化しておらず、迷走神経切断が交感神経による血圧調節に及ぼす影響は限定的と考えられる。

中枢弓での動的ゲインの微増と、末梢弓での動的ゲインの不変を反映して、動脈圧反射全体の動特性では動的ゲインの変化はわずかであった（図C-3-1左）。しかし、コヒーレンスは増大し、ステップ応答における（負の）最大応答も増大した傾向があることから、おそらく迷走神経切断によって、中枢性の交感神経活動の抑制がとれ、圧反射によって制御される交感神経活動の変動が大きくなり、その結果として、圧反射によって説明される体血圧の変動も大きくなったものと解釈できる。

ただし、実験方法の項でも述べたが、本実験では動特性を求めるプロトコルの間に約 80 分間の静特性を求めるプロトコルを挟んでおり、経時変化の影響を排除することはできない。経時変化の可能性を除くには、迷走神経の切断前後で動特性の変化だけを検討するようなプロトコルを実施する必要があると思われる。

#### D-3-3. 迷走神経切断が心不全ラットの動脈圧反射の動特性に及ぼす影響

心不全ラットにおいても動脈圧反射の中枢弓にみられる微分特性は維持されており、動脈圧反射全体の制御特性を改善していることが示唆された。しか

し、心不全においては圧反射全体の動的ゲインが正常ラットに比べて低下しており（図C-3-1）、血圧の調節能力が減弱していることが示唆された。動脈圧反射の末梢弓においても、正常ラットに比べて心不全ラットで動的ゲインが低下しているように見えるが（図C-3-3）、これは中枢弓の動特性において最低周波数の動的ゲインを1にスケールしたための、みかけ上の変化も含んでいる。

正常ラットでは、迷走神経の切断によって中枢弓における動的ゲインのわずかな増大とコヒーレンスの上昇が観察されたが、心不全ラットでは中枢弓のゲインの変化はさらに小さく、コヒーレンスの増大もみられなかった。このことは、中枢弓の静特性において明らかな変化がみられなかったことと合致する。おそらく心不全においては迷走神経求心路を介する交感神経の制御が欠如しており、迷走神経を切断しても圧反射による交感神経の調節に大きな変化が起こらなかったものと推測される。

心不全ラットにおいて迷走神経を切断すると、末梢弓の動特性の最低周波数における動的ゲインが低下し、ステップ応答の最大応答も低下する傾向がみられた。しかしながら、この変化は動脈圧反射全体の動特性には反映されておらず、迷走神経切断によって、交感神経による血圧調節が悪化したとはいえない。動脈圧反射全体の静特性の変化からみても、心不全ラットにおいて迷走神経切断が血圧調節に及ぼす影響は限定的と考えられる（図C-2-4、1段目）。

#### D-4. 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

##### D-4-1. 自然発症高血圧ラットにおける動脈圧反射全体の動特性

自然発症高血圧ラット（SHR）では8週令で高血圧が発症しており、本実験で用いた10週令以降では

高血圧が持続していると考えられる。これまでに、SHR において頸動脈洞神経と大動脈減圧神経を切断し、動脈圧反射を無効化した実験が行われており、その結果、動脈圧反射を無効化して飼育しても SHR の血圧値の長期上昇に変化がないことが報告されている (Osborn. *Hypertension* 18: 475-482, 1991)。しかしながら、本研究において SHR の動脈圧反射の動特性を調べたところ、頸動脈洞への平均入力圧が 120 mmHg であっても 160 mmHg であっても、動脈圧反射全体の動的ゲインは保たれており、正常血圧対照ラット (WKY) を使って平均入力圧 120 mmHg で推定した動的ゲインと有意差はなかった (図 C-4-2)。したがって、動脈圧反射は SHR の高血圧の発症機転には必須ではないが、高血圧においても瞬時瞬時の血圧を安定化させる上で重要な役割を果たしていることが示唆された。また、Osborn が行った動脈圧反射の求心路を切断する実験では、求心神経の投射先の神経核に非生理的な変化を起こすため、除神経は動脈圧反射の病態生理学的意義を検討する実験として不相当とする意見もある (Thrasher. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 288: R863-R871, 2005)。Thrasher は動脈圧反射の求心路を除神経するのではなく、圧受容器領域を低圧に保つことで、従来考えられているよりも長期にわたって血圧の上昇が維持されることを示し、高血圧発症における動脈圧反射の役割を再認識させた。本研究において、動脈圧反射を介する血圧制御の能力が SHR においても保たれていたことは、高血圧が持続している SHR においても、頸動脈洞を刺激し、中枢を介して自律神経活動を調節することが可能であることを示唆する。

これと関連して、最近の研究では、頸動脈洞神経を電気刺激した場合は、比較的長期に交感神経活動の抑制と降圧作用が持続することが報告されており (Lohmeier et al. *Am J Physiol Heart Circ*

*Physiol* 299: H402-H409, 2010)、頸動脈洞への電気刺激を利用して、循環器疾患を治療しようという試みが国外でも始まっている。

#### D-4-2. 自然発症高血圧ラットにおける動脈圧反射の中枢弓および末梢弓の動特性

WKY でも SHR でも動脈圧反射の中枢弓の動特性は、周波数が高くなるほど交感神経活動の応答の振幅が増大する微分特性を示した。SHR においては SHR<sub>160</sub> のほうが SHR<sub>120</sub> に比べて、0.1~1 Hz で近似したゲインの傾きが大きく、高い周波数における動的ゲインが増大していた。これに対応して、ステップ応答にみられる (負の) ピーク値も SHR<sub>160</sub> のときのほうが大きかった (図 C-4-3)。また、コヒーレンスも SHR<sub>160</sub> のほうが SHR<sub>120</sub> よりも高い傾向を示し、SHR においては平均入力圧が 120 mmHg よりも 160 mmHg のほうが至適入力であり、交感神経活動の変動の中で圧反射によって説明できる成分が大きくなることが示唆された。

これに対して、WKY でも SHR でも動脈圧反射の末梢弓の動特性は、周波数が高くなるほど体血圧の応答の振幅が減少する低域通過フィルターの性質を示した。末梢弓の動特性は WKY<sub>120</sub>、SHR<sub>120</sub>、SHR<sub>160</sub> でほとんど同じであり、3 者の間でコヒーレンスにも大きな違いはなかった (図 C-4-4)。このことから、SHR においても交感神経性の血圧制御の能力は維持されているといえる。

末梢弓の動特性は、交感神経終末における神経伝達物質 (主にノルアドレナリン) の動態と、ノルアドレナリンに対する心血管応答の動態とで決まると考えられる。これまでの報告で、SHR におけるノルアドレナリンの神経終末への再吸収異常や (Rho et al. *Hypertension* 3: 704-709, 710-717, 1981)、ノルアドレナリンに対する血管応答の異常 (Yamaguchi et al. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 238: H365-H372, 1980) が報告されている。しかし、本



研究の結果は、交感神経による血圧調節という大きな枠組みで捉えた場合、ノルアドレナリンの再吸収異常や血管応答の異常は、交感神経による血圧調節を修飾するほどの異常ではないことを示唆する。

また、SHR<sub>120</sub>とSHR<sub>160</sub>を比較したとき、交感神経活動の平均レベルはSHR<sub>160</sub>において低値を示すことになるが、交感神経活動の平均レベルが変化しても、交感神経活動による体血圧の調節の動特性はあまり変化しなかったと考えられる。SHRにおける動脈圧反射の末梢弓の静特性は不明であるが、正常血圧のSprague-Dawleyラットにおいては末梢弓の静特性はほぼ直線で近似でき(図C-1-4)、SHRの末梢弓もほぼ直線的な入出力関係を示す可能性がある。その結果として、どの交感神経活動のレベルで調べても、動特性はあまり変化しないと解釈することができる。この解釈の正誤を確認するには、SHRにおいても動脈圧反射の静特性を推定する必要がある。

#### D-4-3. 自然発症高血圧ラットにおける動脈圧反射による心拍数調節の動特性

頸動脈洞内圧から体血圧までの動特性にWKYとSHRとであまり大きな違いがなかった(図C-4-2)のに対して、頸動脈洞内圧から心拍数までの動的ゲインはWKY<sub>120</sub>よりもSHR<sub>120</sub>で有意に小さく、SHR<sub>160</sub>においても小さい傾向がみられた(図C-4-5)。WKYとSHRの動脈圧反射の動特性を調べる実験は、迷走神経を切断した条件で行ったので、図C-4-5にみられる心拍数制御の動特性は、交感神経性の調節を反映すると考えられる。

SHRでは昇圧剤や降圧剤を投与して体血圧を変化させたときの心拍数の応答が減弱していると報告されている(Osborn. *Hypertension* 18: 475-482, 1991)。この理由として迷走神経性の心拍数調節の減弱が主たる要因とされているが(Salgado et al. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 292: H593-H600,

2007)、本研究の結果は、SHRでは迷走神経性の心拍数調節だけでなく、交感神経性の心拍数調節も障害されていることを示唆する。実際、SHRの心室においてWKYに比べて $\alpha$ 受容体や $\beta_1$ 受容体の数が減少しているという報告がある(Yamada et al. *J Pharmacol Exp Ther* 228: 454-460, 1984)。SHRにおいて交感神経性、迷走神経性のいずれの心拍数調節が障害されているかをより直接的に検討するには、交感神経や迷走神経を直接電気刺激して、心拍数の動的応答を推定するような研究が必要と考えられる。

### D-5. 実験に関する制限事項など

#### D-5-1. 迷走神経について

前年度は他の反射系の影響をできるだけ除外した状態で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、心肺領域に存在する低圧系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低下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。

そこで、本年度は迷走神経を温存した上で頸動脈圧受容器を分離する実験を行い、迷走神経の有無が動脈圧受容器反射に及ぼす影響を検討した。しかしながら、入力はいくまで頸動脈洞への圧入力であり、迷走神経を経由すると考えられている心肺領域の低圧系圧受容器に直接入力を加えて、その機能を評価したわけではない。今後、動脈圧受容器以外からの入力に対して、迷走神経経由でどのような血圧調節が行われているかを明らかにしていく必要がある。

#### D-5-2. 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ばらつくので、正常ラットと心不全ラットの

交感神経活動を比較する際には、階段状入力のプロトコールで頸動脈洞内圧を 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% とした。また、自然発症高血圧ラットと正常血圧対照ラットの交感神経活動を比較する際には、神経節遮断薬投与後のノイズレベルを 0 とした上で、動脈圧反射の中樞弓において、最低周波数のゲインが 1 a.u. (arbitrary units) になるようにスケーリングした。

心不全ラットや自然発症高血圧ラットでは血中カテコラミン濃度が高値を示すことが知られている。ラットの動脈圧反射において、末梢弓の静特性がほぼ直線で近似できることを受け入れると、たとえば、神経節遮断薬投与前後で血中カテコラミン濃度を測定することにより、内因性のカテコラミンを指標として交感神経活動を 2 点で正規化(校正)できる可能性がある。

また、濃度を変えながら外因性にフェニレフリンなどの $\alpha$ 作動薬を投与したときの血圧応答から、ある昇圧応答を惹起するのに必要な昇圧薬の濃度を調べておき、内因性の交感神経活動を昇圧薬の当量として正規化するような試みも必要と考えられる。

#### D-5-3. 麻酔の影響

本年度は心筋梗塞作成後 8 週目の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。心不全では交感神経活動が亢進し、迷走神経活動が減弱しているとされているにも関わらず、心不全ラットは正常ラットよりも低い平均心拍数を示した(図 C-1-4、図 C-2-4)。本年度の研究結果から、正常ラットでは迷走神経切断により心拍数が著明に上昇することが判明した。したがって、前年度の実験で心不全ラットよりも正常ラットにおいて心拍数が高値を示した一因として、迷走神経切断が関与していたと考えられる。

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、少なくとも 80 分にわたる観察時間において、血圧や心拍数が経時的に低下していくことはなかったため、麻酔深度は適切であったと考えられる。

#### E. 結論

本年度は正常ラットおよび心筋梗塞後心不全ラットにおいて、迷走神経を切断する前後で、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、正常群では迷走神経はおそらく求心性の作用で内臓交感神経活動を抑制し、遠心性の作用で心拍数を低下させているが、これらの迷走神経性の調節が心不全群では欠如していることが明らかになった。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。

また、本年度は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、頸動脈洞圧反射の動特性を推定し、正常血圧対照ラットと比較した。その結果、圧受容器への高い入力圧が持続し、血圧調節の動作点が高血圧側に偏位している高血圧ラットにおいても、動脈圧反射中樞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認められなかった。

頸動脈洞マイクロマシソンを用いた自律神経制御において、圧反射中樞の機能が維持されていることが前提となる。高血圧の病態は多様であるので一概にはいえないが、本研究において、高血圧ラットにおいても中樞弓の機能が保たれていたことは、圧反射を用い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。

#### F. 健康危険情報