

電極・光学ハイブリッドマッピングによる心臓興奮伝播フィードバック 通電刺激システムに関する研究

56783 小林 慎哉
指導教員 佐久間 一郎 教授

Ventricular tachycardia (VT) and ventricular fibrillation (VF) are known to fatal arrhythmias leading to sudden cardiac death. A high-energy electrical shock is needed to terminate VT/VF, but it damages a patient's mind and body by defibrillation. Hypotheses to terminate VT/VF controlling the time and position of electrical shock with low energy are reported. To apply stimulation in optimal timing, it needs the feedback stimulation system which can apply depending on state of excitation wave front. Consequently, we developed hybrid measurement system which integrated of feedback stimulation system by electrode measuring and optical mapping system. Then, we report our estimation about availability of the system and also our analysis about state of excitation wave front of before and after stimulation by use of an isolated rabbit heart.

Key words : Electrode Measuring, Optical Mapping, Hybrid System, Feedback Stimulation

1. 緒言

日本国の死亡数を死因順位別に見ると、心疾患(心臓病)による死亡数は悪性新生物(癌)に次いで第2位となっており、そのうち5万人近くが不整脈を原因としていると推定されている。不整脈の中には心臓突然死を引き起こす致死性の不整脈として心室頻拍(VT)や心室細動(VF)と呼ばれるものがある。このVFはVTが先行して起こるとされている¹⁾。一度VFに至ると自然に回復することはほとんどなく、その停止は非常に困難である。これらの最も有効な治療方法は、電気ショックを与えることで異常な興奮状態を一旦リセットして正常な調律に戻す電氣的除細動という方法である。現状では植え込み型除細動器の場合、患者に30~35[J]の高エネルギー通電を与えることで処置しており、患者への肉体的・精神的負担が大きくQOLを低下させている。また、場合によって通電刺激が新たな細動を誘発する可能性もあるといった問題点もある。この除細動を効率的に成功させるためには、最適な刺激強度、最適な通電刺激波形、最適な場所、そして特に最適なタイミング、最適な電氣的興奮状態を考えなければならない。従って、心臓の興奮伝播波面を把握しフィードバックして刺激を印加する必要がある。

近年、心臓への通電刺激時に微小電極近傍数mmの範囲に脱分極領域と過分極領域が同時に形成される仮想分極現象(Virtual Electrode Polarization, VEP)がコンピュータシミュレーションならびに光学マッピングによって研究されてきた²⁾。Wikswaらはウサギ摘出心臓を用いた実験によって、このVEP現象の存在により通電終了と共に発生し過分極領域から伝播するBreak興奮と、通電刺激の通電開始の時点で発生し脱分極領域から伝播するMake興奮が心筋の興奮状態に応じて発生することを明らかにした³⁾。このBreak興奮/Make興奮はリエントリの停止・誘発両方の要因であることがシミュレーション研究によって示唆されてはいるものの⁴⁾、リエントリを停止させるメカニズムは未だ明らかではない。フィードバック通電刺激によって発生する興奮伝播がリエントリに対しどのように影響を及ぼすかを実験的に明らかにするためには、Break興奮/Make興奮を任意に再現でき、かつ精査な検証・解析が可能なシステムが必要とされている。

2. 目的

本研究の目的は次の2つとする。

- ・ 電極計測によるフィードバック通電刺激シ

システムと光学的活動電位計測システムを融合した、精査な検証・解析が可能な実験システムを開発すること。

- ・ 上記のフィードバックシステムを用いて、任意のタイミングでフィードバック通電刺激を再分極相に印加し、特徴的な興奮伝播パターン (Break Excitation, Make Excitation) が再現可能なシステムであることを検証すること。

3. 方法

3.1 ウサギ摘出心臓標本

ウサギ摘出心臓標本を Langendorff 灌流し、膜電位感受性色素 di-4-ANNEPS ($2\mu\text{M}$) にて染色した。心臓の動きより生じるモーションアーチファクトを防ぐために筋収縮抑制剤 2,3-butandion monoxime (15mM) を添加した。実際の興奮伝播は心臓内で 3 次元構造をとるが、本研究では心臓表面の基礎的な興奮伝播現象に主眼をおいているためウサギ左心室心内膜側を凍結凝固した 2 次元凍結心臓標本を採用した。

3.2 電極による細胞外電位計測

心臓表面に Bipolar 白金電極を設置し、伝播する興奮波面に対し至近距離二点の電位差を計測した (サンプリングレート 1000Hz)。これにより興奮波が到来した際のタイミングと進行方向を知ることができる。得られた双極電位波形は約 1000 倍に増幅した。信号処理用のソフトウェアとして LabVIEW7.1 (National Instruments) を使用した。

3.3 光学的活動電位計測

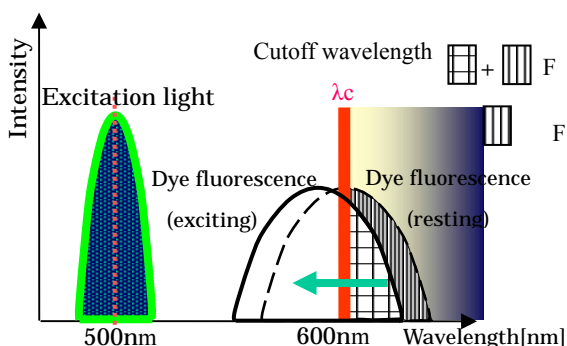


Fig.1 Principle of the optical recording

Fig.1 に興奮に伴う蛍光スペクトル分布シフトを示す。励起光源として主波長 500nm の青緑

色発光ダイオード (NSPE-510S, 日亜化学) を用いて、励起光を膜電位感受性色素 Di-4-ANEPPS で染色した心臓に照射した。照射すると色素によりその箇所の細胞膜電位に応じた蛍光が放射される。細胞興奮時は短波長側にシフトする。静止電位の蛍光スペクトルのピーク波長をカットオフ波長とする長波長透過フィルタ ($>600\text{nm}$) を用いることにより、スペクトルの移動変化を蛍光強度の変化として取得できる。

カメラは記録用として高速度 CMOS カメラ (Fastcam-Max, Photron) を用いた。信号階調 10bit, 撮影速度 1000fps , 画像解像度 $256 \times 256\text{pixel}$ とし、取得画像を一旦メモリに蓄え、撮影終了後 PC へ転送し、事後解析を行った。

全体のシステム構成図を Fig.2 に示す。

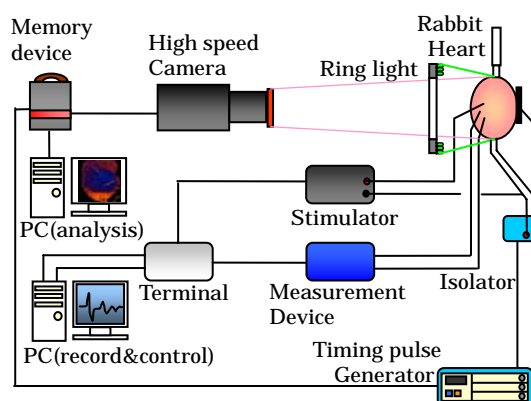


Fig.2 Experimental system configuration diagram

4. フィードバック通電刺激実験

4.1 実験プロトコル

心尖部でのペーシング刺激 (間隔は 300msec , 200msec と不定間隔とした) により生成した先行興奮波面に対してフィードバック通電刺激実験を行なった。計測した双極電位波形に対し閾値を設け、閾値よりも低いレベルの状態を Low (0), 高い状態を High (1) とし、Low から High への状態遷移をソフトウェア上で検知し刺激タイミングトリガを生成した。その信号をもとに先行興奮波面進行領域に刺激を印加することを行なった。

4.2 実験結果

Fig.3 は双極電位波形である。実験を行なう前に双極電位波形をモニタリングし、確実に立ち上がりを検知できる 0.3mV に閾値を設定した。

心尖部でのペーシングより生成した興奮波面に対し C1 にて波面前面を検知し、その直後刺激電極(刺激点 P)より興奮波面進行方向の静止電位領域に点刺激され、新たな興奮波面を形成した後、2つの興奮波面は融合した(Fig.4)。尚、両図ともペーシング刺激印加時を 0msec としてある。

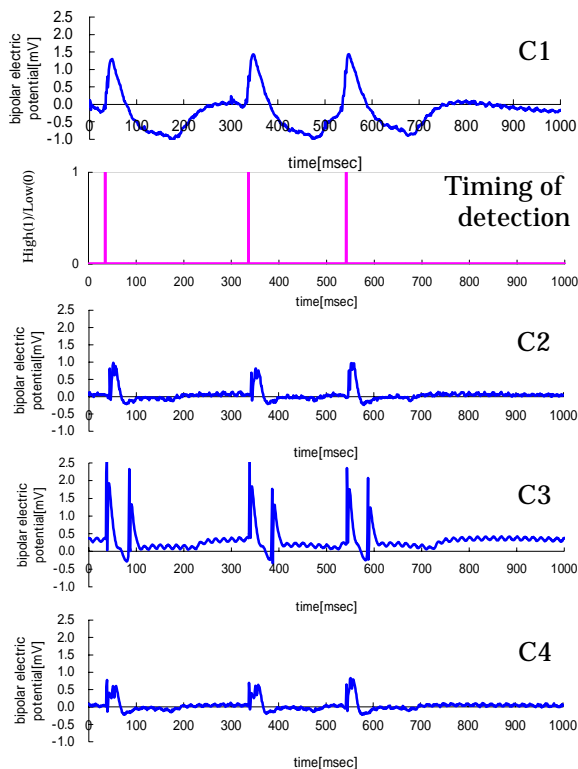


Fig.3 Bipolar electric potential waveform

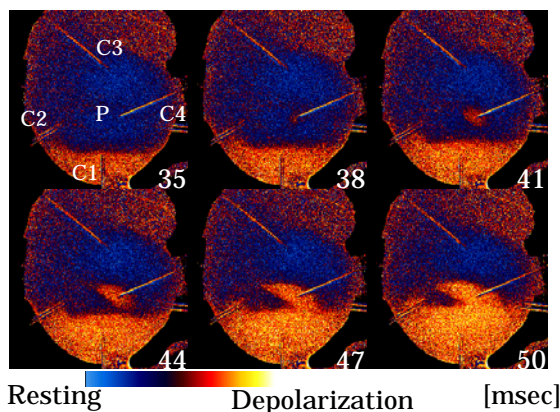


Fig.4 Optical mapping images in applying feedback stimulation

4.3 考察

実験結果より本システムの遅延は平均 2.00msec(=0.707, N=9)であった。実験では心尖部からのペーシング間隔を不定間隔とし、それぞれの興奮波面に対応し刺激印加を確認し

た。このことから本システムが、不規則に時間間隔が変化する興奮波面にも対応できることを示していると言える。本システムに対しソフトウェア上でのアルゴリズムを改変することで任意のタイミングで刺激印加可能であると言える。

5. 再分極相への通電刺激による興奮伝播パターンの再現性の検証

5.1 実験プロトコル

伝播してきた興奮波面の前面を検知し、検知タイミングから任意の Delay を設けることで先行興奮後面すなわち再分極相に刺激を印加することを試みた。Delay 時間を徐々に変化させることで任意のタイミングで刺激を印加した。高速度カメラについては印加刺激による興奮波面の伝播パターンを詳細に観察するため、画像解像度は 512×512pixel とした。

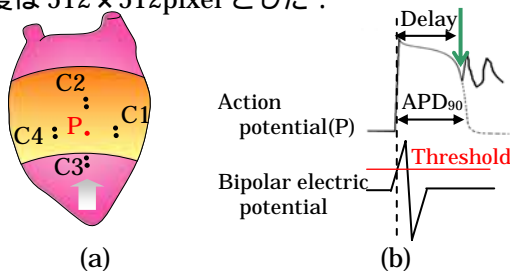
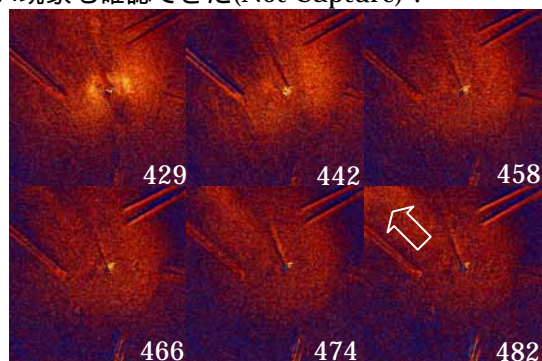


Fig.5 (a)Disposition of electrode (b)Algorithm of feedback stimulation

5.2 実験結果

Delay を変化させていくことで Break 興奮 / Make 興奮が確認できた。また不応期に刺激を印加した場合には、通電による興奮が伝播しない現象も確認できた(Not Capture)。



(a)Break Excitation

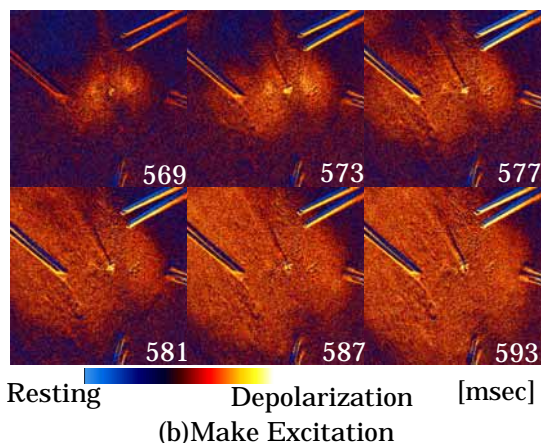


Fig.6 Patterns of excitement propagation

活動電位の立ち上がりから刺激印加時刻までの時間をActual Coupling Interval(ACI)とし、APD₉₀に対するACIの割合をPhase APD₉₀と定義する。

$$\text{PhaseAPD}_{90} = \frac{\text{Actual Coupling Interval}}{\text{APD}_{90}} \times 100$$

検知点を C1 と C2 とした場合における、興奮伝播パターンの割合の比較を下に示す(Fig.7)。

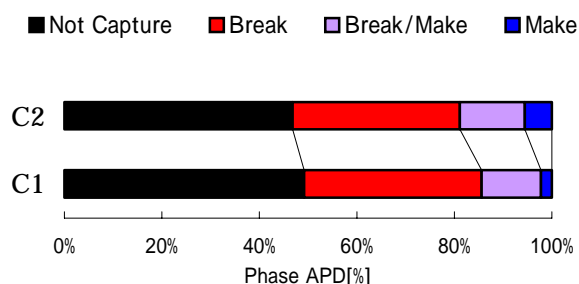


Fig.7 Comparison of rate of propagation pattern

5.3 考察

心尖部でのペースングにより伝播した先行興奮の前面を検知し、Delay を設けることで先行興奮の後面(再分極相)に刺激を印加することを試みた。Delay 時間を変化させていくことで印加刺激による興奮伝播パターンが Not Capture, Break Excitation, Make Excitation 全て確認できた。これにより、本研究のフィードバック通電刺激システムが刺激印加による全ての興奮伝播パターンを誘発できるシステムであると言える。

同一の心臓標本に対し、異なる検知点を設け

た場合、それぞれの興奮伝播パターンの境界におけるPhase APD₉₀値は境界 : 4.0%, 境界 : 4.4%, 境界 : 3.3%であった。全ての境界の差が 5.0%未満となり、ばらつきを考慮した上で Break Excitation, Make Excitation誘発の再現性があると言える。

6 . 結言

本研究では、微小電極を用いて心臓の興奮伝播による活動電位の立ち上がりを検知し、その立ち上がりの検知から刺激タイミングを生成し通電刺激を印加する電氣的フィードバック通電刺激システムと、興奮波面を高時空間分解能で計測可能な光学的活動電位計測システムを融合した、ハイブリッド計測システムを開発した。本システムにより再分極相に刺激を印加することが可能となり、かつ Break Excitation と Make Excitation の現象を確認可能である。そして、本システムは再現性良く Break Excitation と Make Excitation を誘発可能である。

文 献

- 1) J. N. Weiss, P. S. Chen, Z. Qu, H. S. Karagueuzian, A. Garfinkel: *Circ. Res.*, 87, 1103-1107 (2000) .
- 2) V. P. Nikolski, A. T. Sambelashvili, and I. R. Efimov. Mechanisms of make and break excitation revisited: paradoxical break excitation during diastolic stimulation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, Vol. 282, pp.H565-H575, 2002.
- 3) J.P. Wikswo Jr., S. F. Lin, and R. A. Abbas. Virtual electrodes in cardiac tissue: A common mechanism for anodal and cathodal stimulation. *Biophys. J.*, Vol. 1995, pp. 2195-2210, 69.
- 4) 八尾武憲, 芦原貴司, 伊藤誠, 難波経豊, 川瀬綾香, 池田隆徳, 中沢一雄: R-on-T と Pacing-on-T では心室受攻期が異なる: コンピュータシミュレーションによる研究. 不整脈, 18(4): 496-503, 2002