

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 24 日現在

機関番号：84404

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24700470

研究課題名(和文) プルキンエ起源特発性不整脈の発生メカニズムに関するシミュレーション研究

研究課題名(英文) Investigating mechanisms of ventricular arrhythmias induced in the Purkinje fiber network using computer simulation

研究代表者

原口 亮 (Haraguchi, Ryo)

独立行政法人国立循環器病研究センター・情報統括部・室長

研究者番号：00393215

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：心臓刺激伝導系は心臓が効率的にポンプ機能を果たすのに重要な役割を果たしている。刺激伝導系のうち心室内側に張り巡らされたプルキンエ線維網は、近年様々な不整脈に関与することが明らかになっている。本研究では、このプルキンエ線維網自体の形態的特徴とプルキンエ線維網内の伝導率の低下の組み合わせが不整脈発生の要因の1つであることが、コンピュータシミュレーション実験により示唆された。またヒト活動電位数理モデルを用いた3次元形状モデル構築や、病理組織標本デジタル画像からの心臓刺激伝導系3次元再構築を通じて、電気生理的にも形態的にも妥当なシミュレーションモデルの構築のための基盤技術を開発した。

研究成果の概要(英文)：Cardiac conduction system plays an important role in heart as a blood pump. Purkinje fiber network that run throughout the ventricles inside may be responsible for various arrhythmias. Our computer simulation results suggest that both morphological characters and electrical conductivity of Purkinje fiber network are important factor for arrhythmia occurrence of Purkinje origin. We performed computer simulations with 3-D model involved in electrophysiological model of a human purkinje/ventricular cell. Furthermore, we performed the 3D reconstruction of cardiac conduction system based on serial histological specimens. These technologies will lead to the construction of a simulation model which is electrophysiologically and morphologically reasonable.

研究分野：生体医工学

キーワード：不整脈 シミュレーション 生体システム・フィジオーム

1. 研究開始当初の背景

循環器疾患による死亡は我が国で死因の第2位、欧米では常に第1位を占め、その克服は急務である。そのうち心臓突然死は年間約6万人を数え、その大半は心室細動などの致死性の頻脈性不整脈が原因とされる。

心筋細胞の集まりである心臓は、電気活動により統合的に管理されているといえる。特に心室においては、伝導速度が著しく速いプルキンエ線維が活動電位を伝達することにより、心室全体がすばやく協調した収縮をすることができる。これらの電気活動の乱れが不整脈である。

研究代表者らは、これまでにスーパーコンピュータを用いた心臓電気現象の大規模シミュレーションにより、心室における頻脈性不整脈を対象に、システムとしての心臓全体における電気特性を把握し致死性不整脈発生メカニズムの解明を目的とした研究を行ってきた。

頻脈性不整脈の実体は、本来1心拍周期の間に消失すべき電氣的興奮波が、特別な条件が揃うことにより再び元の部分に戻ってきて心臓を再興奮させるリエントリー（興奮の再侵入）であるとされる。リエントリーの成立はリエントリー回路と呼ばれる興奮波の電氣的な通り道が成立することであり、心臓の複雑な解剖学的構造や部位ごとの機能的特性とが関与している。

頻脈性不整脈である心室頻拍は、心筋梗塞などの器質的心疾患に伴って出現することが多いが、器質を伴わないものも全体の10～20%に存在し、これらを特発性心室頻拍と呼ぶ。すなわち、リエントリー回路の成立に解剖学的構造が深く関与するにも関わらず、CT、MRI等の画像診断機器を用いての解剖学的特徴や梗塞などの病態の把握だけでは、その成立メカニズムをとらえきれない不整脈が存在するということである。

田原の発見(1906)により、刺激伝導系の存在とプルキンエ線維の機能的意義が明らかとなったが、近年、プルキンエ線維は特発性を含む様々な不整脈に関与することが明らかになり注目されている(野上ら、「プルキンエ不整脈」、医学書院、2009)。例えば、特発性心室頻拍のうち左室起源のものはベラパミルという薬が著効することが多く、ベラパミル感受性心室頻拍と呼ばれるが、リエントリー回路に左室中隔のプルキンエ線維および心室筋を含むことが以前から指摘されている。近年、電極カテーテルにより熱焼灼し不整脈を根治するアブレーション治療法が行われているが、これは先に述べたリエントリー回路を断ち切ることに他ならない。

プルキンエ線維-心室筋標本から記録される興奮伝導の特徴として、プルキンエ線維から心室筋へは興奮が伝導しやすいが、逆の心室筋からプルキンエ線維へは伝導しにくいという伝導非対称性が挙げられる。この伝導

非対称性の存在により、健常時のリエントリー回路の成立が妨げられていると考えられる。この非対称性は、プルキンエ細胞と心室筋細胞のサイズが大きく異なることが原因であると一般には説明されるが、電子顕微鏡観察によれば、大きさの異なる2種類の細胞が直接結合するパターンと、両者の中間の大きさをもつ移行型とも言うべき細胞が介在するパターンとが存在することが報告されている(Shimada et al. *J Electron Microsc* 1983)。

Berenfeldらは、コンピュータ上にプルキンエ線維と心室筋の細胞ユニットを作成し、3次元心室形状に配置したうえで、リエントリー現象を再現するシミュレーション実験を行っている(*Circ Res* 1998)。またAslanidiらは、プルキンエ線維と心室筋とをそれぞれ線維状、ブロック状のユニット結合で表現し接続した上で、リエントリーの引き金となる伝導特性に関するシミュレーション実験を行っている(*Biophys J* 2009)。前者は解剖学的特徴をある程度反映しているといえるが、細胞ユニットに用いられる数理モデルが細胞表面のイオンチャネル特性を反映したのではなく、電気生理学の観点からは不十分である。後者はプルキンエ線維細胞および心室筋細胞のそれぞれのイオンチャネル特性を反映した数理モデルを採用しており、電気生理学的には妥当であるといえるが、単純形状モデルでの実験にとどまっている。

2. 研究の目的

本研究の目的は、コンピュータシミュレーションにより、プルキンエ線維が関与する特発性不整脈の発生メカニズムを解明することである。このプルキンエ起源特発性不整脈は、リエントリー回路と呼ばれる興奮波の電氣的な通り道が心臓内に成立することにより出現する。本研究では、リエントリー回路の成立には心臓の形態的特徴と電気生理的特徴の双方が密接に関与することに着目し、器質的心疾患のない特発性不整脈を念頭に、その発生メカニズムについて検討する。

3. 研究の方法

ヒス束末端からプルキンエ線維網を介して心室筋に至る部分の興奮伝播様式を再現するために、プルキンエ線維網の形態的特徴を単純化し格子状の経路を有する伝導モデルをコンピュータ上に構築した。プルキンエ線維網の構造は複雑であり個体差も大きいことから、問題を単純化するために格子の接点位置や経路のあるなしを組み合わせた様々なmulti-pathwayモデルを構築した。構築したモデルの一例を図1に示す。モデルはユニットの集合で構成され、各ユニットには心筋細胞の活動電位を再現することが可能な数理モデルが組み込まれている。数理モデ

ヒス束 → プルキンエ線維網 → 心室筋

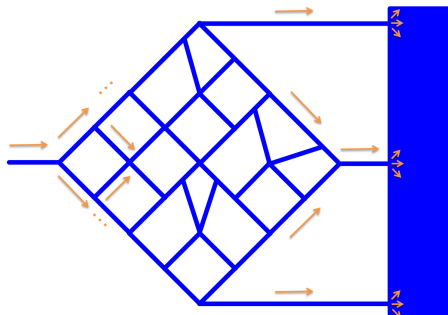


図 1 : ヒス束・プルキンエ線維網 7,913 ユニット 心室筋 5,296 ユニットから成る multi-pathway モデルの一例 .

ルとしてはウサギのプルキンエ細胞を表す Aslanidi モデルおよび心室筋細胞を表す Shannon のモデルを用いた . これらのユニット間が電氣的に接続されることによって , 興奮伝播様式を再現することができるように構成されている .

構築した multi-pathway モデルに対して , ヒス束末端のユニットへ細胞内への電気刺激を与えることにより , ヒス束末端からプルキンエ線維網を介して心室筋までの電氣的興奮の伝導を再現した .

近年の研究により , 心室性不整脈を有する家系から , 心筋細胞間の電氣的結合が低下する遺伝子変異が発見されたことから , 本研究においてはプルキンエ線維網内の伝導率を低下させたときに興奮伝導がどのように変化するかについて観察することとした . 以上 , 様々な multi-pathway モデルを用いて , かつ伝導率を変化させながら網羅的なシミュレーション実験を行った .

シミュレーション実験において , リエントリー現象が観察された場合には , プルキンエ線維網内の 1 箇所ユニット間の電氣的結合を切断し , 興奮伝導パターンがどう変化するかを観察することとした . これは臨床における不整脈アブレーション治療を想定したものである .

multi-pathway モデルによるシミュレーション実験に加えて , 数理モデルをヒト心筋細胞の活動電位を表現できる Aslanidi プルキンエ細胞モデルおよび tenTusscher 心室筋モデルを用いたシミュレーション実験も合わせて行った .

4 . 研究成果

プルキンエ線維網内の伝導率を低下させると , 興奮伝導は徐々に遅くなり , ついには線維網の分岐点において興奮伝導の途絶が生じるようになるなど , 興奮伝導パターンに変化が生じた . その結果 , 正常な状態ではみられない , 心室側からプルキンエ線維網側への興奮伝導の逆流 (リエントリー) が見

られるようになり , 引き続いて興奮がプルキンエ線維網内で伝導し続ける現象が観察された .

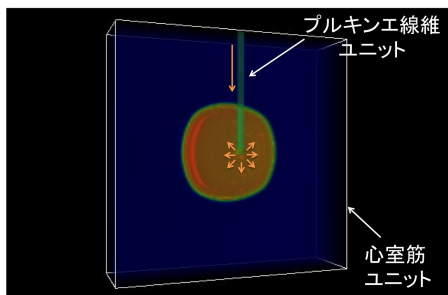
この結果より , プルキンエ線維網自体の形態的特徴と , プルキンエ線維網内の伝導率の低下の組み合わせが , プルキンエ起源の不整脈発生の要因の 1 つであることが示唆された .

リエントリー現象が生じ , プルキンエ線維網内で伝導し続けている場合において , プルキンエ線維網内の 1 箇所のユニット間の電氣的結合を切断すると , 切断した場所に応じてリエントリー現象が見られなくなる場合とリエントリー現象が続く場合とが見られた . これにより , アブレーション治療により必ずしもリエントリー現象が見られなくなる (不整脈がおさまる) とは限らないことを示唆している .

プルキンエ線維網内の伝導率を低下させた際に分岐点において伝導途絶が生じたのは , 伝導率の低下に伴ってユニット間を流れ細胞を興奮させる電流量が低下したところに , さらに分岐により興奮に必要な電流量が供給されなかったためと考えられる . この現象は理論的には source-sink mismatch と呼ばれる現象と矛盾しない . リエントリー現象が見られたのは非対称な構造を持つ multi-pathway モデルにおいてであったが , 非対象構造によりプルキンエ線維網から心室筋への到達時間に差異が生じ , 伝導遅延・伝導途絶と相まって興奮伝導の逆流すなわちリエントリー現象が生じたものと考えられる .

multi-pathway モデルによるシミュレーション実験に加えて , 数理モデルをヒト活動電位モデルとした 3 次元形状モデルを用いたシミュレーション実験も行った . 実験結果の一例を図 2 に示す . Aslanidi によるヒトプルキンエ細胞モデルにより構成されるプルキンエ線維部分と , tenTusscher によるヒト心室筋細胞モデルにより構成される心室筋部分とが電氣的に結合されており , ヒトの活動電位モデルによりプルキンエ線維から心室への伝導を再現するための基盤を構築することができた .

さらに , 画像情報からモデルを構築する試みとして , 病理組織標本デジタル画像から心臓刺激伝導系の 3 次元再構築・可視化を行った . 400 マイクロメートル間隔の連続切片組織標本 30 枚に対してマッソン染色を施行し , スキャナを用いてデジタル画像を取得の上 , 手動的に位置合わせとセグメンテーションを行い , それらを積み上げたボリウムデータとすることで 3 次元再構築を行った . 1 症例を対象とし , 房室結節周辺から HIS 束に至るまでの刺激伝導系の 3 次元再構築と可視化を行った . また画像内の解像度に比べて画像間の解像度が大きいという課題に対しては , 画像間の補間方法として Poisson Surface Reconstruction 法が有用であることを示す



ことができた。画像情報をモデルに反映することができれば、形態的にも電気生理的にも妥当なシミュレーションモデルが構築でき、ひいては、器質的心疾患のない特発性不整脈の発生メカニズムのより高度な解析に繋げることができると思われる。

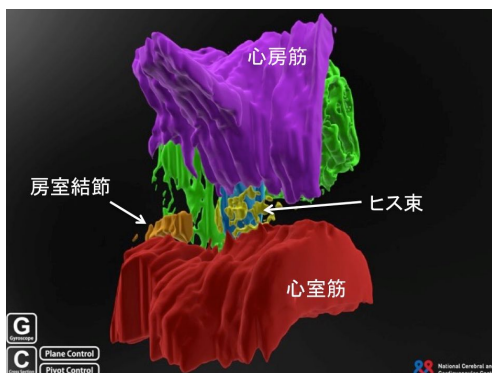


図3：病理組織標本デジタル画像からの心臓刺激伝導系の3次元再構築・可視化の結果

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計1件)

Kunichika Tsumoto, Takashi Ashihara, Ryo Haraguchi, Kazuo Nakazawa, Yoshihisa Kurachi, Ischemia-Related Subcellular Redistribution of Sodium Channels Enhances the Proarrhythmic Effect of Class I Antiarrhythmic Drugs: A Simulation Study. PLOS ONE, 査読有, 9, e109271, 2014.

〔学会発表〕(計7件)

原口 亮, Computational Heart Model を用いた心臓研究の紹介, 生体医用画像研究会第2回若手発表会招待講演, 2015年3月14日, 大阪大学銀杏会館(大阪・吹田)

Shin Inada, Daniel T. Harrell, Ryo Haraguchi, Takashi Ashihara, Naomasa Makita, Kazuo Nakazawa, Ventricular

arrhythmias generated from Purkinje fiber network with gap junction mutation - A Simulation Study -, The Final HD Physiology Symposium, 2015年3月4日, 大阪大学中之島センター佐治敬三ホール(大阪・大阪)

原口 亮, 瀬尾 拓史, 松山 高明, 森田 佳明, 岩田 倫明, 長谷川 周平, 植田 初江, 病理組織標本デジタル画像からの3次元可視化における表現手法の改善, メディカルイメージング連合フォーラム 2014, 2015年3月1日, 石垣島ホテルミヤヒラ(沖縄・石垣)

Shin Inada, Daniel T. Harrell, Takako Ono, Nitaro Shibata, Ryo Haraguchi, Takashi Ashihara, Takanori Ikeda, Kazuyuki Mitsui, Halina Dobrzynski, Mark R. Boyett, Naomasa Makita, Kazuo Nakazawa, Investigating excitation conduction in the atrioventricular node and Purkinje network using computer simulation, The 9th Tawara-Aschoff Symposium, 2014年7月26日, 東京プリンスホテル(東京・港区)

Shin Inada, Daniel Harrell, Ryo Haraguchi, Takashi Ashihara, Naomasa Makita, Kazuo Nakazawa, Ventricular arrhythmia induced by the Purkinje network with reduced gap junction conductance - A simulation study -, 第53回日本生体医工学大会, 2014年6月24日, 仙台国際センター(宮城・仙台)

Ryo Haraguchi, Takashi Ashihara, Shin Inada, Takanori Ikeda, Kazuo Nakazawa, Rotational Anisotropy Prevents Transition of Tachycardia to Fibrillation in the Ventricular Wall Model: A Simulation Study, 6th APHS & CardioRhythm 2013, 2013年10月4日, Hong Kong (Hong Kong)

Ryo Haraguchi, Takashi Ashihara, Shin Inada, Takanori Ikeda, Kazuo Nakazawa, Simulation Studies of Tachyarrhythmias in a 3-D Ventricular Wall Model: Implications for Electrophysiological Heterogeneity and Rotational Anisotropy, 35th Annual International Conference of the IEEE EMBS, 2013年7月6日, 大阪(大阪)

6. 研究組織

(1)研究代表者

原口 亮 (HARAGUCHI, Ryo)
国立循環器病研究センター・情報統括部・室長

研究者番号: 00393215

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし

(4)研究協力者

芦原 貴司 (ASHIHARA, Takashi)
滋賀医科大学・医学部・助教 (学内講師)
研究者番号 : 80396259

津元 国親 (TSUMOTO, Kunichika)
大阪大学・医学研究科・助教
研究者番号 : 70353331

山口 豪 (YAMAGUCHI, Takeshi)
四国大学・看護学
研究者番号 60532182

中沢 一雄 (NAKAZAWA, Kazuo)
国立循環器病研究センター・研究所・室長
研究者番号 50198058

稲田 慎 (INADA, Shin)
国立循環器病研究センター・研究所・特任研究員
研究者番号 50349792

Daniel T. Harrell
長崎大学