

令和 3 年 5 月 14 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02802

研究課題名（和文）3次元スクロールフィラメント・キネティクス解明が導く新たな心室細動治療法の確立

研究課題名（英文）Novel therapeutic strategies for ventricular fibrillation as a mechanism of 3-dimensional scroll wave with filament.

研究代表者

山崎 正俊（YAMAZAKI, MASATOSHI）

東京大学・大学院工学系研究科（工学部）・特任准教授

研究者番号：30627328

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,300,000円

研究成果の概要（和文）：VFを維持する3次元スクロール描画することでVF発生・維持の機序を解明することを目標に据え、新たな心筋焼灼手法を臨床応用するための技術基盤を構築する。VFが繰り返し発生し植え込み型除細動器が頻回作動するVFストーム家兎モデルを確立し、我々が考案した”位相分散解析”をVF中に実施したところ、心室中隔に投錨する安定した3次元スクロールを持続的に捉えることに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

VT/VFを駆動する3次元スクロールの理論的研究は盛んであるが、生体心でフィラメントの可視化に成功しているのは申請者のみである。理論・計算科学的研究から、スクロールの中心に位置するフィラメントは興奮性の低下した心筋において弯曲・延長・分裂することが報告されている。興奮性が異なる2種類のVFモデルを使用することで、生体心のフィラメント・キネティクスを解明し、新たな切り口からアプローチする革新的治療法開発に役立つ新知見を提供することが可能である。3次元スクロールを電極データのみから予測するプログラムの完成は、本質的な治療法の存在しなかったVF患者に対する個別化治療の確立につながる可能性がある。

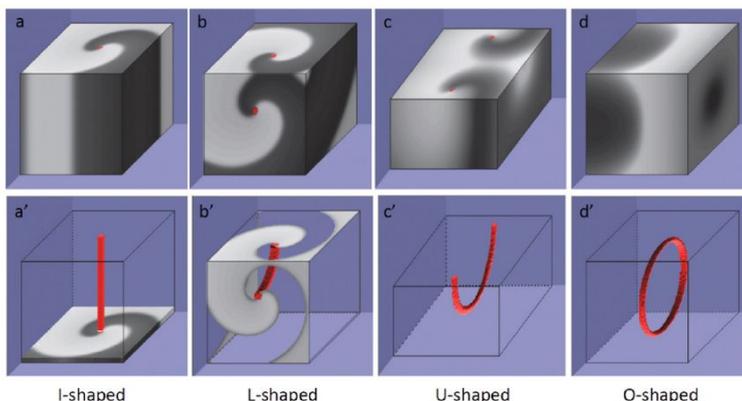
研究成果の概要（英文）：This study aimed to elucidate the mechanism of VF initiation and maintenance and depicting the 3D scroll waves that sustain VF. The goal is to construct the technical foundation for the clinical application of a new myocardial ablation technique. The applicants established a rabbit VF storm model where severe arrhythmia with repeated VF occurred and an implantable cardioverter-defibrillator was frequently triggered. When we implemented our proposed “phase dispersion analysis” during VF, we succeeded in continuously capturing the stump of a stable 3D scroll wave anchored in the septum.

研究分野：循環器内科

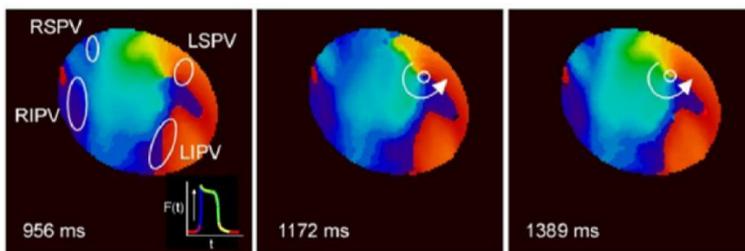
キーワード：心室細動 3次元スクロール フィラメント VFストーム スパイラル

1. 研究開始当初の背景

- 心臓突然死の主要な原因は心室細動 (VF) であり、その大部分は心室頻拍 (VT) を契機として発生する。理論的研究から VT を維持する 3 次元スクロールの中心に位置するフィラメントによって VF が発生することが予測されているが (右図: Yamazaki M et al. *J of Arrhythmia* 2012)、生体心においては証明されていない。VF の発生・持続を予防する手法・薬剤の開発には 3 次元スクロールの存在を証明し、フィラメント・キネティクスを解明する必要がある。

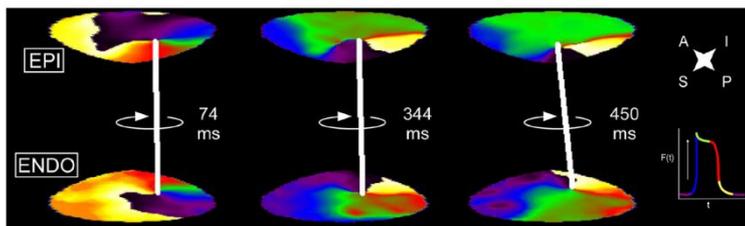


- 近年、心臓の複雑な電気シグナルを蛍光画像として観察する活動電位光学マッピング技術が進歩し、無秩序に興奮していると考えられていた持続性心房細動の機序として渦巻き型巡回興奮波 (2 次元スパイラル) が重要な役割を果たす事が注目 (右図: Yamazaki M et al. *Circ Res.* 2007) されており、治療にも応用されている。既存のスパイラルを標的とした心房細動アブレーション治療の効果が十分でない理由は、



- (1) 「本来、3 次元スクロールである興奮波を 2 次元スパイラルとして誤認識している」
- (2) 「3 次元スクロール・フィラメントの動態 (キネティクス) の検討が欠如している」ことが挙げられる。

位相幾何学的には、3 次元スクロール・フィラメントの片端をいくら焼灼しても、反対側のフィラメント断端が残存する限りスクロールは消滅しない。申請者は、持続性心房細動を駆動する 3 次元スクロールとフィラメントの存在を世界で初めて証明し (右図: Yamazaki M et al. *Cardiovasc Res.* 2012)、フィラメントのさまよい運動軌跡を標的とした治療法を提唱し、成果を挙げている。



- 一方、VF を駆動するスクロールが証明された研究報告は未だ存在しない。スクロールの可視化を困難としている要因は、

- (1) 「心筋壁の厚みと、複雑な三次元構造」
- (2) 「再現性を持って VF が出現するモデル動物が存在しなかった」ことが挙げられる。

我々の有する高感度カメラを使用しても、心表面約 1mm のシグナルしか得ることができず、心筋壁内の興奮様式を記録することは困難であった。申請者らは、前記の問題点を解決し、心室筋層内の興奮波を記録する技術を獲得できる可能性を有する手法の開発に成功した。更に、申請者らは、VF が繰り返し発生し植え込み型除細動器 (ICD) が頻回作動する重篤な不整脈状態を呈する VF ストーム家兎モデルを作成し、我々が考案した「位相分散解析」(渦巻現象を可視化する解析手法)を行ったところ、心室中隔に投挿する安定した 3 次元スクロールの断端を捉えることに成功した。フィラメントの理論的研究にて、スクロールを停止に導く最も重要なフィラメント伸縮特性は、心筋興奮・伝導性変化により大きな影響を受けることが示されている。本研究では、VF ストームモデルに加え、心筋興奮・伝導性の低下した心筋梗塞後 VF モデルを用いて、フィラメント伸縮特性 (長さ・形態) と細動停止の関係性を評価する。

2. 研究の目的

- [目的 1] 世界最高水準を誇る解像度を有する心臓内視鏡を用いた心内・外膜光学マッピングシステムを使用して、家兎病態心に発生する VF を駆動する 3 次元渦巻き型巡回興奮波

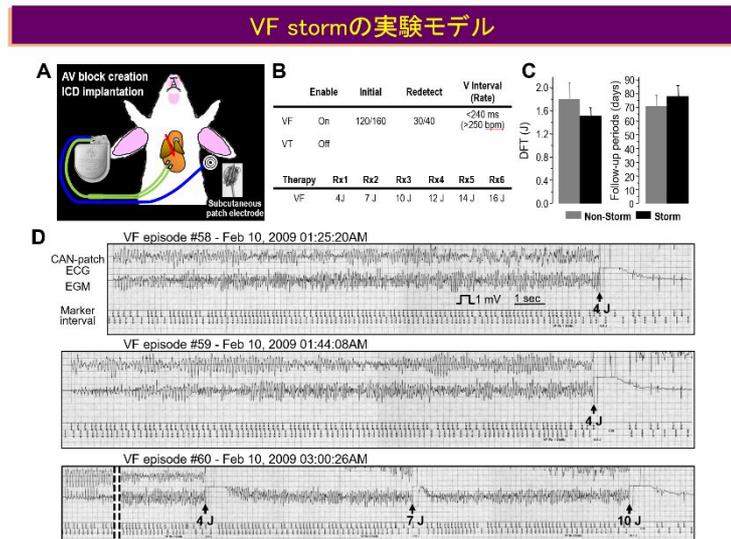
(スクロール)を可視化し、その中心に位置するフィラメントのキネティクスを評価する。具体的には、解剖・構造学的不均一性(心室中隔、乳頭筋、プルキンエ線維)や、病態心に伴うリモデリング(脱分極・再分極異常)が、「スクロールフィラメントの弯曲・分裂・伸縮特性をどのように変化させるのか?」「フィラメントのさまよい運動と存在領域(軌跡)にどのような影響を及ぼすのか?」を解明し、新たなVF制御手法・技術を考案する。

[目的2] 光学・電極の同時マッピングを試み、洞調律もしくはプログラム刺激時に多電極カテテルのみからスクロールの存在可能領域を予測するシステム(位相分散解析を發展させた興奮波ジオメトリー解析)を作成し、臨床応用への技術基盤を確立する。

[目的3] VF中の2次元スパイラルを標的にするのではなく、「3次元スクロールフィラメントのさまよい運動軌跡(移動経路)遮断と投錨(定在)領域への心筋焼灼がVFを抑制する、もしくはVTからVFへの移行を阻害する」という仮説の検証を試みる。

3. 研究の方法

- 完全房室ブロック作成後に植え込み型除細動器を挿入することで作成可能なVFストーム家兎モデルを作成(右図): 家兎に完全房室ブロックを作成すると、両心室肥大と著明なQT延長を呈し、Torsades de Pointes様非持続性心室頻拍(TdP)が自然発生し、VFへ移行して突然死する。このモデルにICDを埋め込み約100日間経過観察すると、ほぼ全ての家兎がVFストーム(3回VFエピソード/24時間)に進展する。



- 光学マッピング実験(対照群として健常家兎を使用する):

- (1) VFストームの基準を満たした家兎において緊急光学マッピング実験を実施する。静脈麻酔下にて心臓を摘出しランゲンドルフ灌流下でマッピング実験を実施する。膜電位感受性色素(Di-4ANEPPS)にて染色・EC-uncouplerであるBlebbistatine灌流下で心臓内視鏡を使用して心内・外膜光学・電極同時マッピング実験を施行する。新たに確立したPurkinje染色と解析手法を用いてPurkinje線維からの興奮を重畳表示する。
- (2) Ca²⁺シグナル(Rhod-2染色)と膜電位(Rh237染色)マッピングにて撃発活動とフィラメントの相互作用を評価する。

心室全体の興奮伝播現象を、位相分散・興奮波ジオメトリー解析などの手法による定量的時空間解析手法を用いて評価し、各組織における電気生理学的特性変化とスクロール・ダイナミクスとの関係性を包括的に評価する。

4. 研究成果

完全房室ブロックを作成したウサギに植え込み型除細動器を挿入することで心臓突然死の原因になる心室細動(VF)ストーム家兎モデルを作成しており、ストームが頻回発生している状況での緊急光学マッピング実験を実施している。また、上記のVFストーム家兎モデルを継続的に作成し、経過観察中にVFストームを発生したウサギを速やかにその他の評価系(心筋組織染色、遅延Na⁺電流阻害薬を用いたin vivo実験)に載せ、「VFストームの不整脈基質がどのように形成されるのか?」「不整脈基質をどのように抑制するべきか?」を常に考慮し研究を継続している。

- VFストームの発生源(Torsades de Pointes:TdP)に焦点を絞って解析した結果、活動電位持続時間の延長の程度に比例してVFの出現頻度が有意差を持って増加することが判明した。更に、
- VFストーム家兎では活動電位持続時間が島状に延長する領域が出現し、その辺縁を起点にTdPからVFが発生すること、
- 除細動後の早期VF再発はPurkinje線維からの撃発活動が重要な役割を果たすことが確認された。加えて、
- 電位依存性のナトリウムチャネル阻害薬のリドカインが活動電位持続時間の島状延長を改善することでTdPの発生を抑制する事が判明した。さらに興味深いことに
- 神経伝達に深く関与することが証明されているNav1.8の選択的遮断薬の有効性が証明された。

上記の結果を複数の国際学会で成果を報告し(Annual meeting of American Heart Association

and Heart Rhythm Society) 論文を国際誌に投稿し現在査読中である。

研究期間内に、本来の最終目標である心内外膜同時マッピング用の最新型高速ビデオカメラを購入し、心室細動を維持する3次元スクロール描出に向けた実験を実施している。最終的に解決すべき課題として、多電極カテーテルのみでスクロールフィラメントの存在領域予測を試み、「フィラメントのさまよい運動(投錨)領域遮断がVFを抑制、もしくは心室頻拍からVFへの移行を阻害する」という仮説を検証するために、新たな多電極・光学マッピングシステムを構築中であり刺激装置を購入し実験を継続している。

[引用文献]

1. Yamazaki M and Jalife J. Pathophysiology and atrial fibrillation: From initiation to maintenance. *J Arrhythmia* 2012;28:129-139
2. Tanaka K, Zlochiver S, Vikstrom KL, Yamazaki M, Moreno J, Klos M, Zaitsev AV, Vaidyanathan R, Auerbach DS, Landas S, Guiraudon G, Jalife J, Berenfeld O, Kalifa J. The spatial distribution of fibrosis governs fibrillation wave dynamics in the posterior left atrium during heart failure. *Circ Res* 2007;101:839-47
3. Yamazaki M, Mironov S, Taravant C, Brec J, Vaquero LM, Bandaru K, Avula UM, Honjo H, Kodama I, Berenfeld O, Kalifa J. Heterogenous atrial wall thickness and stretch promote scroll waves anchoring during atrial fibrillation. *Cardiovasc Res*.2012;94:48-57

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tomii N, Asano K, Seno H, Ashihara T, Sakuma I, Yamazaki	4. 巻 84 (4)
2. 論文標題 Validation of Intraoperative Catheter Phase Mapping Using a Simultaneous Optical Measurement System in Rabbit Ventricular Myocardium.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Circ J.	6. 最初と最後の頁 609-15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1253/circj.CJ-19-1020.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Seno H, Tomii N, Yamazaki M, Honjo H, Shibata N, Sakuma I.	4. 巻 in press
2. 論文標題 Cardiac Spiral Wave Termination by Linear Regional Cooling toward Anatomical Boundary of Heart.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Med Biol Eng	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s40846-020-00517-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 谷田部 純弥, 山崎 正俊, 柴田 仁太郎, 富井 直輝, 佐久間 一郎, 本莊 晴朗, 本間 章彦, 荒船 龍彦	4. 巻 57(2-3)
2. 論文標題 仮想電極分極現象を用いたSpiral Wave Reentry制御	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 生体医工学	6. 最初と最後の頁 49-57
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11239/jsmbe.57.49	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Avula UMR, Yamazaki M, Hernandez JJ, Valdivia CR, Chu A, Rojas-Pena A, Kaur K, Ramos-Mondragón R, Anumonwo JM, Nattel S, Valdivia HH, Kalifa J.	4. 巻 11
2. 論文標題 Atrial Infarction-Induced Spontaneous Focal Discharges and Atrial Fibrillation in Sheep: Role of Dantrolene-Sensitive Aberrant Ryanodine Receptor Calcium Release.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Circ Arrhythm Electrophysiol	6. 最初と最後の頁 e005659
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1161/CIRCEP.117.005659	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Tonii N, Yamazaki M, Arafune T, Kamiya K, Nakazawa K, Honjo H, Shibata N, Sakuma I.	4. 巻 315(2)
2. 論文標題 Interaction of Phase Singularities on Spiral Wave Tail: Reconsideration of Capturing the Excitable Gap.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Am J Physiol Heart Circ Physiol.	6. 最初と最後の頁 318-326
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajpheart.00558.2017	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nielsen JB, Yamazaki M et al.	4. 巻 50(9)
2. 論文標題 Biobank-driven genomic discovery yields new insight into atrial fibrillation biology.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Genetics	6. 最初と最後の頁 1234-1239
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41588-018-0171-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Tsuji Y, Dovrev D	4. 巻 Supp133
2. 論文標題 Electrical storm: mechanistic and therapeutic considerations to avoid death in the survivors.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Thorac Dis.	6. 最初と最後の頁 S4053-S4056
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21037/jtd.2018.09.111	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計12件 (うち招待講演 12件 / うち国際学会 10件)

1. 発表者名 Yamazaki M
2. 発表標題 Experimental visualization of rotor as a mechanism of arrhythmia using ex-vivo optical mapping.
3. 学会等名 The 97th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yamazaki M
2. 発表標題 Anti-arrhythmic effects by heavy ion irradiation in animal AF model
3. 学会等名 Tokyo-Taipei-Seoul Arrhythmia Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yamazaki M
2. 発表標題 Background of Spatio-temporal Dispersion Guided Ablation from Translational Research.
3. 学会等名 The 66th Annual Meeting of the Japanese Heart Rhythm Society 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山崎正俊
2. 発表標題 渦巻き型旋回興奮波 (Rotor) と心房細動 ~Optical mappingによるExTRa mappingの検証~
3. 学会等名 第66回 日本不整脈心電学会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山崎正俊
2. 発表標題 重粒子線による不整脈抑制メカニズム ~加齢・高脂血症による心房細動発生と重粒子線照射の効果を光学マッピングで診る~
3. 学会等名 第66回 日本不整脈心電学会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yamazaki M, Tsuji Y, Tomii N, Arafune T, Honjo H, Kodama I, Sakuma I
2. 発表標題 Spatio-temporal Dispersion of Multipolar Electrogram, a Visually Recognizable Electric Footprint of Rotor during Cardiac Fibrillation.
3. 学会等名 The 83rd Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yamazaki M
2. 発表標題 Spatio-temporal Electrogram Dispersion, a Visually Recognizable Electric Footprint of Rotational Activity during Atrial Fibrillation.
3. 学会等名 US-Japan (AMED) Workshop on Engineering in Medicine and Biology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yamazaki M
2. 発表標題 Atrial ischemia/infarction-induced spontaneous focal discharges and 3-dimensional atrial scroll wave in an ovine atrial fibrillation model.
3. 学会等名 The 65th Annual Meeting of the Japanese Heart Rhythm Society (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yamazaki M
2. 発表標題 Rotor dynamics and cardiac fibrillation.
3. 学会等名 The 2018 International Congress on Electrophysiology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nakagawa H and Yamazaki M
2. 発表標題 New mapping Systems for AF Ablation: Rotors and High Density, Tool or Toy?
3. 学会等名 Heart Rhythm Society 's 38th Annual Scientific Sessions (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tsuji Y and Yamazaki M
2. 発表標題 Therapeutic Agents to Avoid ICD shocks-associated Worsening Heart Failure
3. 学会等名 The 83rd Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Honjo H
2. 発表標題 Late sodium current and ischemic ventricular arrhythmia
3. 学会等名 The 11th Asia Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>Bioengineering Approaches in Arrhythmia Research https://www.youtube.com/watch?v=9yXxdRpzwJc Biomedical Precision Engineering Laboratory http://www.bmpe.t.u-tokyo.ac.jp/index.html Department of Bioengineering http://www.bioeng.t.u-tokyo.ac.jp/faculty/55_yamazaki.html</p>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	富井 直輝 (TOMII NAOKI) (00803602)	東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・助教 (12601)	
研究分担者	佐久間 一郎 (SAKUMA ICHIRO) (50178597)	東京大学・大学院工学系研究科(工学部)・教授 (12601)	
研究分担者	辻 幸臣 (TSUJI YUKIOMI) (60432217)	長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・講師 (17301)	
研究分担者	本荘 晴朗 (HONJO HARUO) (70262912)	名古屋大学・環境医学研究所・准教授 (13901)	削除：2019年11月28日

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
米国	Brown University	Cleveland Clinic	University of Michigan	
ドイツ	University of Duisburg-Essen			
カナダ	Universite de Montreal/McGill University			
スペイン	CNIC			