

令和元年6月15日現在

機関番号：34448

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15H03101

研究課題名(和文) システム定量解析を用いた運動時換気亢進の病態生理機構の解明

研究課題名(英文) Pathophysiological mechanism of exercise hyperventilation using a system analysis approach to integrated response in respiratory system

研究代表者

宮本 忠吉 (MIYAMOTO, TADAYOSHI)

森ノ宮医療大学・保健医療学部・教授

研究者番号：40294136

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,600,000円

研究成果の概要(和文)：正常ラット及び心不全モデルラットを対象に、運動時の換気亢進機構を定量評価する方法論の開発に取り組んだ。呼吸化学調節系の制御部であるController及び制御対象部であるPlantを両坐骨神経遠心路の通電刺激時に定量化した。平衡線図を用いて運動時の動作点(VE値)決定機構の定量評価を行った。通電刺激によってPaCO₂ VE関係は強度依存で上方へとシフトすることが判明した。一方、VE PaCO₂関係は強度依存で右上方へとシフトすることが判明した。平衡線図を用いたシステム定量解析法を用いて小動物の運動時における換気決定機構や呼吸異常が生じる病態生理機構を定量評価することに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

同一個体内で、呼吸調節系と循環調節系を相互に独立して制御でき、かつ運動負荷モデルが再現できる画期的な小動物実験システムが完成したことによって、今後、生体調節系の機能を統合的な枠組みの中で捉えその全体像を明らかにしようとするシステムバイオロジー研究に新たな視点が提供される。また、循環器システムの破綻によって呼吸システムが不安定化する病態生理学的意義などの長年にわたる生理学上の疑問に対して、定量的な観点から説明が可能になる。さらに慢性心不全病態における呼吸異常発生メカニズムの完全解明への一歩となり、臨床的意義も大きい。

研究成果の概要(英文)：Abnormal ventilation during exercise is one of the major manifestations of chronic heart failure (CHF). In this study, we developed an experimental animal model to investigate exercise hyperpnea in normal and CHF rats under anesthesia. In anesthetized rats, we induced muscle contraction by stimulating bi-lateral distal sciatic nerves at high and low voltage to mimic exercise. We recorded breath-by-breath respiratory gas analysis data. During muscle contraction, the controller curve shifted upward without change in central chemoreflex threshold, to compensate for the plant curve shift accompanying increased metabolism. Respiratory operating point were determined by integrating the controller and plant elements in the respiratory equilibrium diagram. In conclusion, investigation of respiratory regulation during exercise using the novel small animal experimental model will provide an opportunity to clarify the mechanisms of exercise hyperpnea.

研究分野：システム生理学、運動生理学

キーワード：呼吸化学反射 動脈圧受容器反射 運動負荷 システム解析 呼吸異常 慢性心不全 小動物 換気反応

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年の臨床研究によれば、慢性心不全患者の約40%に呼吸異常が認められ、心不全の重症度や生命予後と深く関連していることが知られている。また、循環器疾患の主訴である労作時の呼吸困難感(息苦しさ)は、QOLを著しく低下させ運動制限をもたらす。また、呼吸異常障害があるだけで心血管系疾患による死亡リスクが飛躍的に高まることも報告されている。呼吸異常には種々の要素(運動時換気亢進、浅速呼吸、チェーンストークス呼吸、周期性呼吸、睡眠時無呼吸)が知られているが、各々の成因や要素間の相互関係については不明な点が多い。したがって心不全患者において呼吸異常が発生する病態生理機構やその臨床的意義を明らかにするためには、呼吸調節系や循環調節系の統合的機能やその要素統合の仕組みを理解し、病態の解釈、診断、治療に向けた研究アプローチが必要である。

過去、要素還元的方法論を用いて、呼吸循環器系の神経性及び体液性調節の機序に関する様々な研究が進められてきたが、その多くは閉じたループから成る負帰還制御系を実質的に開かず、動作点(通常観察される換気反応や血圧反応)だけを見て、種々の検討が進められており、運動時の呼吸循環反応の決定に重要な役割を演じている化学受容器反射や動脈圧受容器反射などの負帰還や多重制御といった特徴をもつ複雑なシステムの機能特性を系統的に捉え、その全体像(動作原理)を明らかにするような研究アプローチは皆無であった。さらに運動時のように代謝が時々刻々と変化するような生理的環境下において、両調節系が互いにどのように影響しながら生体という統合的な枠組みの中でホメオスタシスを維持しているのか、その全貌は1世紀の研究を経た今も、尚、十分に理解されていない(Handbook of Physiology, 1996)。このように生理学上の研究方法論の行き詰まりが、循環器系疾患における運動時呼吸異常発現の病態生理機構の理解を阻んできた一つの要因と考えられる。

我々のグループは、過去10年間、ヒトと動物の双方でデータの検証が可能な実験システム環境を構築し、システム工学に基づく新しい解析技術を導入して呼吸反応や血圧反応を決定する呼吸調節系(化学受容器反射)や循環調節系(圧受容器反射)におけるハードウェアとその制御機構の解明研究に取り組んできた(Miyamoto 筆頭, Am J Physiol. 2003, 2004, 2008, 2014, Miyamoto 筆頭, Eur J Appl Physiol. 2004, 2006, 2012)。近年では、コンピュータ工学やシステム工学による新しい解析技術(ガウス白色雑音法や平衡線図解析法)が様々な分野に導入され、生体のような複雑なシステムにおいても、その統合的な性質を系統的に解析し評価できるようになった。

2. 研究目的

本研究は小動物(ラット)を対象にシステム生理学的手法を用いて、呼吸調節系(化学受容器反射)と循環調節系(圧受容器反射)を外部コントロール制御し、そこに運動負荷と病態という要素を加えることで、運動時における生体制御系の作動原理の解明と循環器システムの破綻が運動時の呼吸異常という形で顕在化する慢性心不全の病態生理機構の解明に取り組むことを目的とした。

- 1) 同一個体内で、呼吸調節系(化学受容器反射)と循環調節系(圧受容器反射)の二つの負帰還系を相互に独立して外部制御し、開ループ解析ができる小動物実験システムの開発
- 2) 慢性心不全モデルラットの運動時に発症する呼吸異常を精度よく定量的に検出するための方法論の基礎の確立及び運動時呼吸異常発生機構における呼吸調節及び循環調節機序の解明

3. 研究方法

1) 対象:

正常ラットを用いたすべての実験は、8~24週齢オスSDラットを対象に、クロラロース及びウレタンを腹腔内投与し、麻酔自発呼吸下で実験を行った。また、慢性心不全モデルラットの作成には、8週齢のオスSDラットを1%ハロセン麻酔下に開胸し、左冠状動脈の基部から2~3mmの部分ナイロン糸で結紮して急性心筋梗塞を作成し、急性心筋梗塞後8週以上生存したラットを慢性心不全群とし、同週齢の正常ラット群とともに、クロラロース及びウレタンを腹腔内投与し、麻酔自発呼吸下で実験を行った。実験後は、梗塞サイズを測定し、十分な梗塞領域が存在することを確認後、正常ラット群と比較検討した。

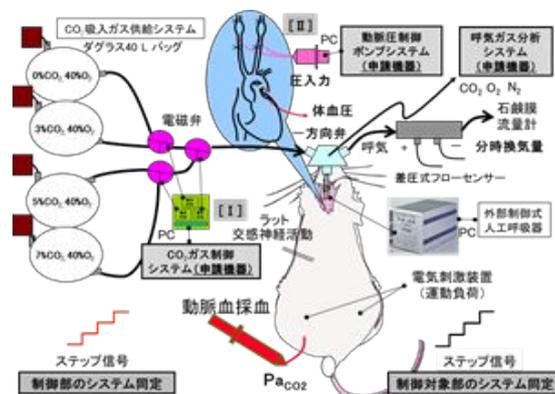


図1

2)測定方法

(1) 実験手技

同一個体内で、呼吸調節系（化学受容器反射）と循環調節系（圧受容器反射）の二つの負帰還系を相互に独立して外部制御し、開ループ解析ができる小動物実験システムを構築し、呼吸調節系（化学受容器反射）は、動脈血中の O₂、CO₂、pH を感知して換気を増減させる制御部（脳）と換気により O₂ および CO₂ を変化させる制御対象部（肺ガス交換器）、循環調節系（圧受容器反射）は、動脈圧を感知して交感神経活動を増減させる制御部（脳）と、交感神経活動の変動により体血圧を変化させる制御対象部（心臓・血管）のそれぞれ系を相互に外部コントロール制御（開ループ解析）システムを開発した（図 1）。

麻酔自発呼吸下のラットに対して、気管内チューブの先端に、研究代表者が小動物用に開発した低抵抗、少死腔量の一方向弁を取り付け、呼気側に高感度差圧式流量計を装着し呼気流量を連続測定した。呼気ガス濃度は質量分析計を用いて連続測定し、breath-by-breath 法にて換気・代謝諸量の測定を行った。

呼吸調節系の定量評価については、動脈血中の O₂、CO₂、pH を感知して換気を増減させる制御部（脳）と換気により O₂ および CO₂ を変化させる制御対象部（肺ガス交換器）の二つのサブシステムに分離して、両サブシステムの応答特性（入出力関係）を平衡線図を用いて解析し、化学受容器反射によるフィードバック制御機能と換気決定機構を定量評価した（図 2）。

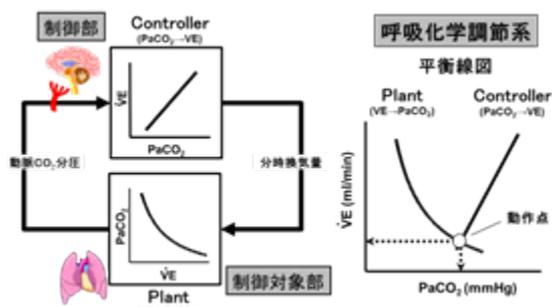


図 2

循環調節系の定量評価については、頸動脈洞を体循環から分離する手術を施した後、頸動脈洞内圧(CSP)、腎臓交感神経活動(SNA)、体血圧(MAP)の連続測定を行った。

循環調節系の定量評価については、動脈圧を感知して交感神経活動を増減させる制御部（脳）と交感神経活動の変動により体血圧を変化させる制御対象部（心臓・血管）の二つのサブシステムに分離して、両サブシステムの応答特性（入出力関係）を平衡線図を用いて解析し、圧受容器反射によるフィードバック制御機能と血圧決定機構を定量評価した（図 3）。

運動刺激の方法は、両坐骨神経遠心路に bipolar 電極を装着しプログラム通電刺激を用いてリズムカルな筋収縮を誘発させ、代謝量（酸素消費量）増大を伴う運動負荷を模擬した。電気刺激の強度は 5Hz の周波数にて 0.5V（低強度）、3.0V（高強度）の 2 段階を実施した（図 4）。

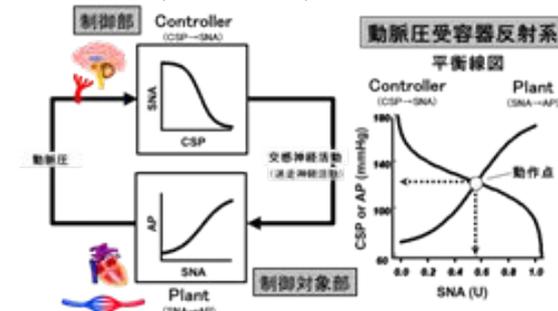


図 3

(2) 呼吸調節系（化学受容器反射）の定量評価法

a. 制御部の定量評価法（PaCO₂ - VE 入出力関係）

安静時と運動負荷時の両条件下にて、8 分間一定濃度の CO₂ を吸入させ（0、3、5%CO₂、21% O₂）定常状態における 分時換気量（VE）及び動脈血二酸化炭素分圧（PaCO₂）の測定を行い、PaCO₂ - VE 関係を以下の式を用いて直線近似した（図 5）。尚、ガス吸入はすべてダグラスバッグ（40L）から一方向弁を通じて行った（図 4）。

$$V_E = S \times (P_{aCO_2} - B)$$

(1)

b. 制御対象部の定量評価法（VE - PaCO₂ 入出力関係）

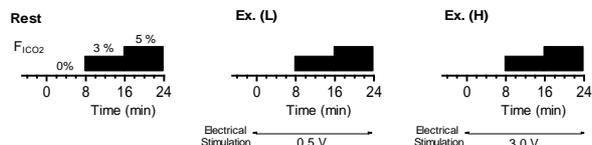
安静時と運動負荷時の両条件下にて、人工呼吸器を用いて 8 分毎に段階的に分時換気量を変化させ（低換気と 3 段階の過換気）VE - PaCO₂ 関係を以下の式を用いて双曲線近似した。その際の呼吸様式は CO₂ を吸入時の自発性呼吸パターン（一回換気量と呼吸数）に設定した。

$$P_{aCO_2} = \frac{A}{V_E} + C$$

(2)

Protocol 1

Hypercapnia test: Controller system characterization



Protocol 2

Hypo / hyperventilation test: Plant system characterization

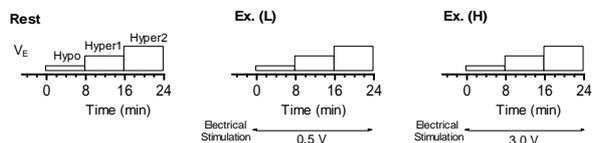


図 4

(3) 循環調節系（化学受容器反射）の定量評価法

a. 制御部の定量解析法（CSP SNA 入出力関係）

安静時と運動負荷時の両条件下にて、外部コマンドによる動脈圧制御が可能な吐出量制御ポンプシステム（申請機器）を用いて、2分毎に頸動脈洞内圧(CSP)を（40、60、80、100、120、140、160 mmHg）階段状に変化させ、腎臓交感神経活動(SNA)及び体血圧(AP)の測定を行い、定常状態における CSP SNA 関係を以下のシグモイド式を用いて近似した。

$$SNA = \frac{P_1}{1 + \exp[P_2 \times (CSP - P_3)]} + P_4 \quad (3)$$

b. 制御対象部の定量解析法（SNA MAP 入出力関係）

安静時と運動負荷時の両条件下にて、段階的に CSP を変化させた際に観察される SNA MAP 関係を同時計測し、シグモイド式を用いて近似した。

次式（4）を用いて近似した。

$$AP = a \times (SNA + b) \quad (4)$$

4. 研究成果

1) 正常ラットにおける運動時換気亢進の呼吸調節機序

正常ラット群の運動時の分時換気量（VE）、酸素摂取量、心拍数、血圧は刺激強度依存性の増加を示した（ $P < 0.01$ ）。それぞれの強度条件にて、CO₂ 負荷を行い、呼吸調節の制御部特性（Controller）を直線近似にて同定したところ、運動負荷時にもゲインは変化せず、強度依存性のシステム特性の上方シフト（リセティング）のみが生じた。一方、制御対象部特性（Plant）を双曲線近似にて同定したところ、双曲線形状の変化と漸近線のシフトが強度依存性に認められた（図5,6）。また、運動及びCO₂ 負荷に伴う呼吸亢進は、一回換気量と呼吸数の両呼吸諸量の変化によって説明できることが判明した（図7）。さらに、本実験システムを用いて測定された PETCO₂ の変化は、PaCO₂ の動態を反映することも、本実験によって検証することができた（図8）。

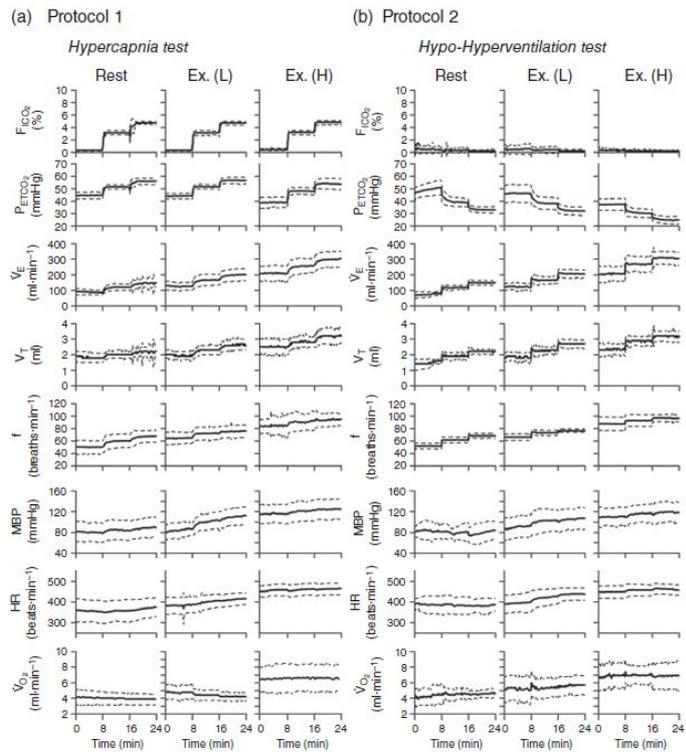


図 5

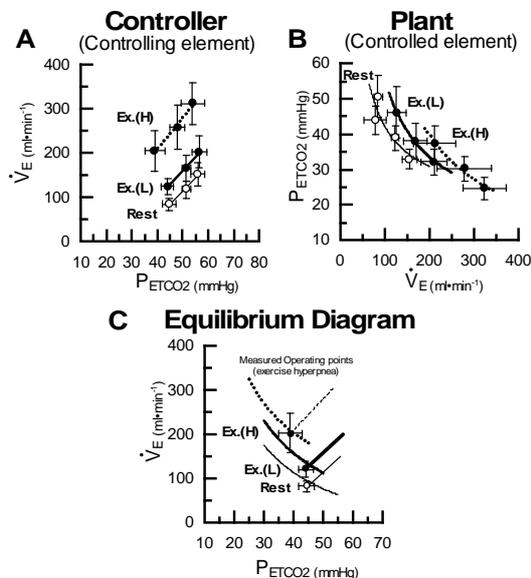


図 6

| Parameter | Rest | Ex (L) | Ex (H) |
|---|------------|---------------|------------------|
| Controller (n = 12) | | | |
| S (ml min ⁻¹ mmHg ⁻¹) | 6.2 ± 2.0 | 6.4 ± 2.1 | 7.2 ± 2.7 |
| B (mmHg) | 30.7 ± 5.6 | 23.4 ± 6.6* | -2.5 ± 52.1** |
| Plant (n = 12) | | | |
| A (ml min ⁻¹ mmHg ⁻¹) | 2440 ± 627 | 4252 ± 1306** | 7389 ± 2044**,†† |
| C (mmHg) | 18.0 ± 6.1 | 12.1 ± 4.7* | 2.8 ± 4.7**,†† |
| G _p (mmHg ml ⁻¹ min ⁻¹) | 0.36 | 0.26 | 0.18 |
| G _{total} | 2.0 | 1.6 | 1.3 |

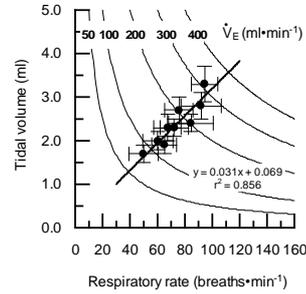


図 7

以上の結果より、運動負荷に伴う、呼吸動態の変化および、両サブシステム特性の変化は、ヒト運動時の変化とほぼ同様の結果を示し、本研究における、自発呼吸麻酔下モデルラットによるプログラム通電刺激を用いた検討でも、強度依存の運動時換気亢進を高い精度で定量的に検出できる可能性が示された。

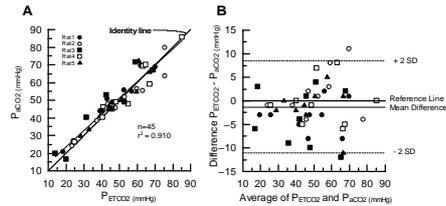


図 8

2) 慢性心不全モデルラットにおける、循環調節系及び呼吸調節系の病態生理機構

(1) 慢性心不全モデルラットにおける循環調節系のシステム特性

正常ラット及び慢性心不全モデルラットに対して、CSP への入力圧を 40、60、80、100、120、140、160 mmHg まで段階的に増加すると、SNA は有意に減少した (図 9)。

定常状態における CSP SNA 関係をシグモイド関数を用いて近似した結果、心不全群は動脈圧反射動作時における交感神経活動の応答範囲が有意に抑制されていることが判明した。一方、SNA AP 関係を比較検討した結果、両群ともに SNA の増加と AP の増加は直線関係にあり、心不全群におけるその傾きは対照群よりも有意に低値を示した ($p < 0.05$) (Fig. 8)。さらに、動脈圧反射全体 (CSP-AP 関係) の静特性もまた、シグモイド関数で近似でき、心不全群における体血圧の応答範囲および最大ゲインは対照群よりも有意に低値を示した。平衡線図上の動作点の解析により、心不全の交感神経活動の増加と血圧低下は中枢反射弓および末梢反射弓の両サブシステムの変化によるものであることが判明した (図 10)。

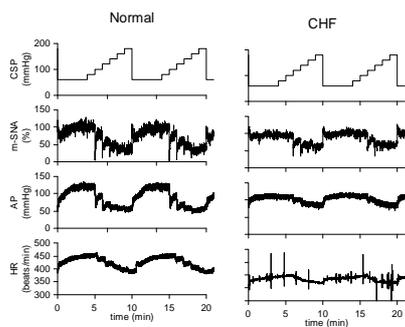


図 9

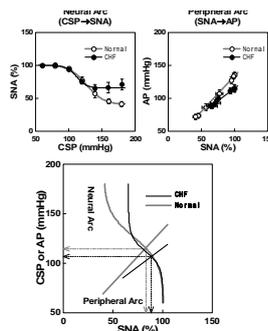


図 10

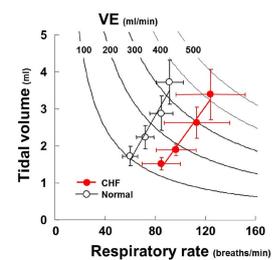


図 11

(2) 慢性心不全モデルラットにおける呼吸化学調節系のシステム特性

正常ラット及び慢性心不全モデルラットの両群ともに、運動時の分時換気量 (VE), 酸素摂取量、心拍数、血圧は刺激強度依存性の増加を示した ($P < 0.01$)。それぞれの強度条件にて、CO₂ 負荷を行い、呼吸調節の制御部特性 (Controller) を直線近似にて同定したところ、両群ともに運動負荷時には強度依存性のシステム特性の上方シフト (リセット) が生じ、ゲインの変化は認められなかった。慢性心不全モデルラット群では、換気亢進時の呼吸パターンは浅速型を呈し (図 11)、安静時及び運動時ともに正常ラット群よりも上方へと大きくシフトすることが判明した (図 12)。また、慢性心不全群の、この心不全モデルラットにおける呼吸パターンの変化や、運動時の制御部特性の病態変化の所見は、慢性心不全患者における運動時の呼吸異常の臨床所見とほぼ同様の結果を示すものであり、運動時に異常な換気亢進を示す病態メカニズムの中樞機構であることが判明した。今後、自発呼吸麻酔下モデルラットによるプログラム通電刺激を用いた本実験システムを用いることにより、慢性心不全における呼吸異常を、高い精度で定量的に検出できる可能性が示され、その病態メカニズムの解明に役立つ可能性が示された。

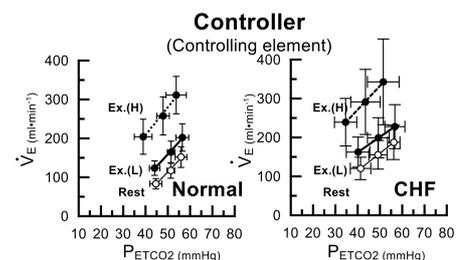


図 12

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計8件)すべて査読あり

| | |
|---|---|
| 1 | "Development of an anesthetized rat model of exercise hyperpnoea: An integrative model of respiratory control using an equilibrium diagram." Miyamoto T , Manabe K, Ueda S, Nakahara H. <i>Exp Physiol</i> . 103(5):748-760; 2018 May 1 |
| 2 | "Ivabradine does not acutely affect open-loop baroreflex static characteristics and spares sympathetic heart rate control in rats." Yamamoto H, Kawada T, Shimizu S, Uemura K, Inagakib M, Fukuda K, Miyamoto T , Miyazaki S, Sugimachi M. <i>International Journal of Cardiology</i> , 257, 255-261, 2018. |
| 3 | "Effects of different input pressure waveforms on the carotid sinus baroreflex-mediated sympathetic arterial pressure response in rats.", Kawada T, Shimizu S, Yamamoto H, Miyamoto T , Kamiya A, Shishido T, Sugimachi M. <i>J Appl Physiol</i> . 123(4):914-921, 2017 Oct 1; |
| 4 | "Peripheral versus central effect of intravenous moxonidine on rat carotid sinus baroreflex-mediated sympathetic arterial pressure regulation." Kawada T , Shimizu S, Yamamoto H, Miyamoto T, Shishido T, Sugimachi M.", <i>Life Sci</i> . 27. pii: S0024-3205(17)30488-5. doi: 10.1016/j.lfs.2017.09.038. 2017 Sep |
| 5 | "Central Chemoreflex activation induces sympatho-excitation without altering static or dynamic baroreflex function in normal rats." Saku K, Tohyama T, Shinoda M, Kishi T, Hosokawa K, Nishikawa T, Oga Y, Sakamoto T, Tsutsui H, Miyamoto T , Sunagawa K., <i>Physiol Rep</i> . 5(17). pii: e13406. doi: 10.14814/phy2.13406. 2017 Sep; |
| 6 | "System physiology of respiratory control in man.", Miyamoto T . <i>J Phys Fitness Sports Med</i> 5:, pp.329-337. 2016 |
| 7 | "A systems analysis approach to understanding respiratory control in humans.", Miyamoto T . <i>Proc Life Engineering</i> . 16:, pp.15-18. 2016 |
| 8 | 「システム制御理論を用いた呼吸化学調節系の動的フィードバック制御機能の定量評価」 宮本忠吉 , 上田真也, 真鍋幸, 河合英理子, 中原英博. 『森ノ宮医療大学紀要』第9・10巻, pp.107-115. 2015 |

〔学会発表〕(計7件)

| | |
|---|--|
| 1 | 工学的枠組みによるシミュレーションを用いた慢性心不全患者における周期性呼吸発生機序の検証. 遠山岳詩, 朝啓太, 宮本忠吉 , 筒井裕之, 砂川 賢二. 第24回日本心臓リハビリテーション学会学術集会(横浜)2018年 |
| 2 | "Quantitative analysis of respiratory control during exercise: Development of a rat model of mimicked exercise under anesthesia." Miyamoto T , Kawada T, Ueda S, Nakahara H. <i>Experimental Biology</i> , Shicago-USA, April 24-27, 2017年 |
| 3 | Development of an anesthetized rat model of mimicked exercise-analytical approach to underlying mechanism of ventilatory abnormality in Heart Failure-. Miyamoto T , Nakahara H. 第81回日本循環器学会(金沢)2017年 |
| 4 | 「「麻酔下ラット運動負荷モデルによる心不全の運動時呼吸異常の再現」The anesthetized rat model of exercise faithfully reproduce the abnormal respiration in chronic heart failure.」西崎晶子, 宮本忠吉 , 朝啓太, 当山岳詩, 坂本隆史, 岸拓弥, 砂川賢二. 第55回生体医工学会, 富山, 2016年 |
| 5 | 「「システム同定法による呼吸制御システムの機能同定とその展開」A systems analysis a, pp.roach to integrated responses in the respiratory system.」 宮本忠吉 , 第31回生体生理工学シンポジウム, 大阪, 2016年 |
| 6 | Quantitative approach to underlying mechanism of exercise hypenpnea in anesthetized rats Miyamoto T, Manabe K, Kawai E, Nakahara H, Ueda S. 麻酔下小動物を用いた運動時換気決定機構の定量評価モデルの開発に関する研究. 宮本忠吉 , 上田真也, 真鍋幸, 河合英理子, 中原英博. 第71回日本体力医学会(岩手)2016年 |
| 7 | "The anesthetized rat model of exercise faithfully reproduce the abnormal respiration in chronic heart failure Nishizaki A, Saku K.", Nishizaki A, Saku K, Miyamoto T , Kishi T, Sunagawa K. AMERICAN HEART ASSOCIATION CONFERENCE, Orland, FL, USA, Nov 7-9, 2015年 |

〔図書〕(計2件)

| | |
|---|--|
| 1 | 宮本忠吉 , 運動生理学分野における呼吸循環研究の最前, 「運動時の呼吸調節」「循環制御」8月号, 2018年 |
| 2 | 宮本忠吉 , 運動時の循環調節の探索と新しい発見を知る, 「循環調節のシステムバイオロジー」「体育の科学」, 68巻9号, 2018年 |

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

www.respiratorycontrol.com

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名: 川田 徹

ローマ字氏名: KAWADA TORU

所属研究機関名: 国立循環器病研究センター研究所

部局名: 循環制御部

職名: 室長

研究者番号(8桁): 30243752

(2)研究協力者

研究協力者氏名:

ローマ字氏名:

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。