

令和元年6月24日現在

機関番号：84404

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K21708

研究課題名(和文)小動物による補助人工心臓モデルの循環システムの構築と心機能解析

研究課題名(英文) Construction of circulatory system and cardiac function analysis of the left ventricular assist device model by small animals

研究代表者

竹下 大輔 (Takeshita, Daisuke)

国立研究開発法人国立循環器病研究センター・研究所・客員研究員

研究者番号：60761020

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、「小動物を用いて実験の代替を行うモデルの構築」を行うもので実験系や評価系の基盤を構築を行うのもである。LVADによる生体への影響や心臓への影響については、埋め込みを行った患者からの検査データや同様のデバイスを大動物に使用して研究を行って来ても、倫理的や資金的、手技等の問題によりあまり研究が進んでいない現状がある。本研究により、状動物にて、類似の実験系を構築できたことで、これまで解明されていないLVADが心臓に与える影響を力学的エネルギー学的観点からも評価を行う事が可能になり、今後機序の解明を行う基盤を構築ししたと言える。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、植込み型左心補助人工心臓(LVAD)の適用拡大としてDT(Destination Therapy)目的の使用についての治験が行われ始めている。日本では、移植待機期間が年々長期化しておりDT同様長期間使用の影響についての研究が不可欠である。大型動物を用いた研究は、デバイスの価格や大掛りな手術が必要である為、LVADによる心機能の評価実験を簡単には行えない現状がある。本研究は、「小動物を用いて実験の代替を行うモデルの構築」を行うもので実験系や評価系の基盤を構築を行った。これにより、LVADが心臓に与える影響を力学的エネルギー学的観点からも評価を行う事が可能になり、今後機序の解明が推進される。

研究成果の概要(英文)：【Introduction】Recent years, Clinical trials are being conducted to expand the application of LVAD insurance. In Japan, the waiting period for transplantation is prolonged year by year, and research on the influence of DT is necessary. Studies in large animals, because there is a need for devices of prices and large-scale surgery, can not be performed easily.

【Purpose】We construct an LVAD model using rat excised heart. 【result】We made LVAD model as shown in the schematic diagram. By gradually performing LVAD assist in the heart in the LVP lowering state, we showed stepwise increase in AoP, decrease in ESP and decrease in SV. 【Discussion】AoP is decreasing than expected, and an increase in CoF is occurring. When the auxiliary flow rate is gradually changed, the area per heartbeat of the P-V loop decreases. This indicates that the cardiac Stroke Work is decreasing. From the above, the effectiveness of this LVAD model was suggested.

研究分野：人工臓器 生理学

キーワード：LVAD RAT HEART PVLoop

1. 研究開始当初の背景

現在、心疾患患者への治療方法として薬物治療などが行われているが、急性心筋梗塞や激症型心筋炎などの急性心不全と拡張型心筋症や虚血性心筋症などの慢性心不全の重篤な患者は心臓移植が必要である。近年、心臓移植までの繋ぎの治療方法 (BTT: Bridge to transplant) として補助人工心臓 (VAD: Ventricular assist device) が使われている。VAD は、2011 年に体内埋め込み型が保険償還された事で急速に広まって来ている方法であり、殆どの使用例として左心室の心尖から脱血を行い大動脈に人工のポンプを使って送血を行う左心室補助人工心臓 (LVAD) が多く使われている。従来の投薬治療と比べ格段に生存率が上がる報告もあり今後さらに需要が伸びてくると予想される。現在の所日本では、BTT においてのみ保険償還が適応されている為限定的な使用になっている。欧米においては、2002 年にアメリカ食品医薬品局 (FDA) の承認を受け心不全の患者に (DT: Destination therapy) 半永久的使用を目的に VAD による治療も行われている。従来の薬物治療と比べ VAD を用いた DT 治療は、格段の優れた治療成績が米国心臓学会 (AHA) に報告されている。日本での DT 治療は、現在保険償還されていないが、移植待機期間が 3 年前後と欧米の 4 ヶ月前後と比べ DT 治療といえるほど長期間になっており DT 同様の研究が必要である。また、近年の医療費高沸の問題もあるが日本においても DT 目的での VAD の承認も近い将来認められる物と考えられる。

近年、VAD を DT 目的で使用している間に自己の心機能が改善し VAD の離脱を行えるまでに全身状態が回復する症例 (BTR: Bridge to recovery) も多く報告され注目されている。日本においては、上記の通り移植待機期間が 3 年前後と長期間 VAD を埋め込む事となる為、BTR の研究が不可欠であるがデバイスの価格や対象動物が大型である事により、心機能の回復機序について未だに不明な事が多い。VAD で起こっているだろう事を推測し小動物で左心室負荷軽減の代替モデルを作り研究されているが多くの検討が必要である。

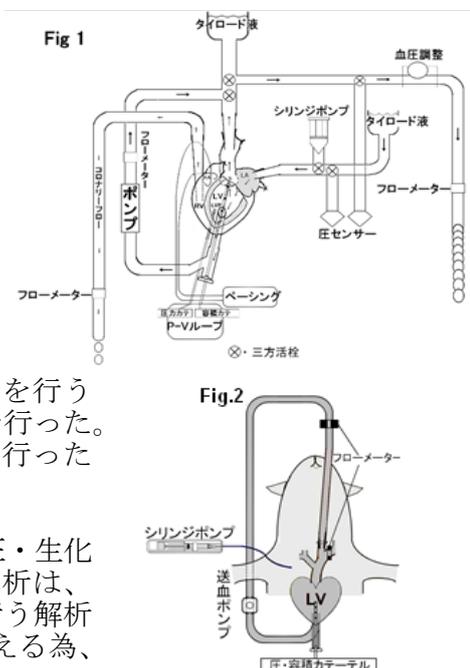
2. 研究の目的

本研究の目的は、力学的エネルギー学的観点から BTR の機序を明らかにする事で次に上げられる項目について研究を行う事である。①: 小動物の摘出心臓を用いて、肺動脈から灌流を行い左心室の心尖からバイパス回路をポンプにて腕頭動脈から大動脈に送る LVAD モデルの Langendorff 灌流の構築を行う。②: ①のモデルを用いて圧容積 (P-V) ループの計測を行いながらポンプバイパス率を変動させ力学的エネルギー学的観点と生理学的観点から心負荷軽減時の心機能の評価を行う。③: 麻酔下の小動物を用いて①の条件を基に、開胸下の生体位心において左心室の心尖から脱血をしポンプにて左総頸動脈に送血する LVAD モデルの構築を行う。④: 生体を用いた③の VAD モデルを用いて②同様に P-V ループを計測しながらポンプバイパス率や後負荷時の心機能の計測を行い、全身の生理学的評価と心臓の力学的エネルギー学的評価を行う。これらの研究を行う事により今後、大動物では行いにくい遺伝子改変や心不全モデルを用いた基礎研究や BTR に向けた離脱時期や離脱に向けた負荷量の調節についても明らかにしていけると期待できる。

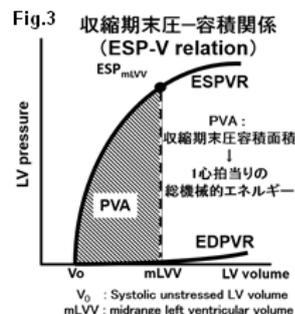
3. 研究の方法

小動物摘出心臓を用いた LVAD モデルの Langendorff 灌流の構築と基礎データ取得として、雄性的 Wistar rat (体重: 450g) を用いて行った。摘出心臓の回路については子豚の灌流モデル [Yvonne A. AJP. 2012] を参考に Fig. 1 に示した VAD モデルのバイパス回路の作成を行う。心尖部から差し込むカニューレが重要でありその物が前負荷に影響しない作りが必要である。接着方法は、医療用の接着剤を用いる。送液ポンプについては、医療用 VAD として近年保険償還され話題になった拍動流型 (Berlin Heart 社, EXCOR) と主流である定常流型 (サンメディカル技術研究所, Evaheart) などがあり両方の型のポンプを使いデータの比較を行う予定であるが本実験では、定常流ポンプにて評価を行った。また、生体位心においても同様のモデルの作成も行った (Fig. 2)。

解析については、各バイパス率における流量・圧・生化学データの比較を行う。力学的エネルギー学的解析は、Fig. 3 に表される方法で左心室圧・容積の関係で行う解析であり一心拍毎の総機械的エネルギーの評価を行える為、

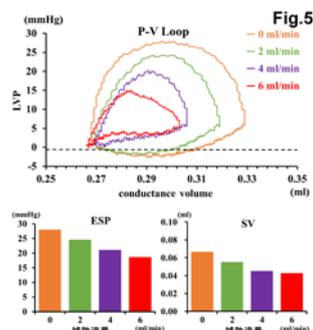
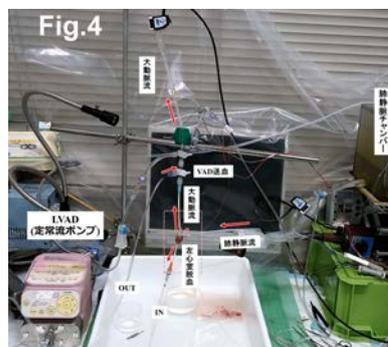


バイパス率による心負荷の比較を行った。主に ESPVR : 収縮期末圧容積曲線, PVA : 一心拍あたりの総機械的エネルギー, eEmax : 心臓の収縮性の指標, EDPVR : 拡張期末圧容積曲線 の指標を用いた。



#### 4. 研究成果

研究目的①②は、摘出心臓を用いたLVADモデルの構築及び、心機能解析を目指した研究である。研究においては、Fig.1通りのLVADモデルの構築を行った(fig.4)。また、作成したLVP低下状態の心臓に、LVAD補助を段階的に行う事により、段階的なAoP上昇とESP低下・SV減少を示した。考察



であるが、想定よりAoFが減少しており、CoFの増大が見られる為心臓に起きている現象を確認する必要がある。段階的に補助流量を変化させると、P-Vloopの一心拍当たりの面積が減少する(Fig.5)。これは、心臓のSW(Stroke Work)が減少している事を表している。以上の事より、このLVADモデルの有効性が示唆された。

研究目的③④については、麻酔下でのLVAD開胸モデル(生体位心モデル)の構築を行った。最大血圧が50 mmHg以下に低下した状態の心臓に、LVAD補助を段階的に行う事により、段階的なAoP上昇とESP低下・SV減少を示した。また、収縮期末圧容積関係(ESPVR)は、上方にシフトし一心拍あたりの総機械的エネルギー(PVA<sub>mLvv</sub>)は、減少した(Fig.6)。考察として段階的に補助流量を変化させると、PVA<sub>mLvv</sub>が減少する。これは、心臓が使うエネルギーが減少している事を表している。また、ESPVRが上方にシフトする事は、心機能が亢進している事を表しており、LVADによる心補助効果を表している。

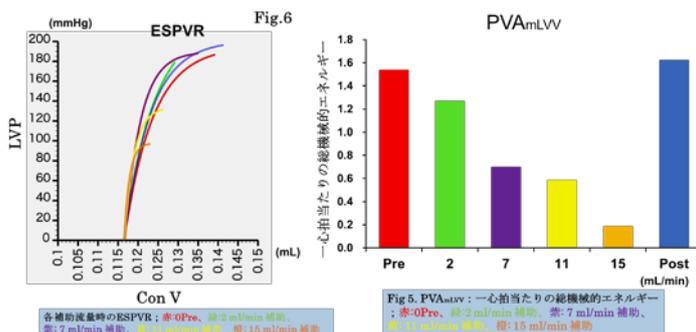


Fig.5 PVA<sub>mLvv</sub> : 一心拍当たりの総機械的エネルギー  
赤:0Pre, 緑:2 ml/min 補助, 紫: 7 ml/min 補助, 黄: 11 ml/min 補助, 青:15 ml/min 補助

## 5. 主な発表論文等

〔学会発表〕(計 6 件)

- ・小動物における摘出心臓を用いた LVAD モデルの構築；第 54 回日本人工臓器学会大会,2016
- ・ラット摘出心臓による LVAD モデルの作成；第 45 回人工心臓と補助循環懇話会学術集会,2017
- ・ラット摘出心臓を用いた、左心室補助人工心臓モデルの構築；第 27 回日本病態生理学会大会,2017
- ・ラット摘出心臓を用いた LVAD モデルの作成；第 55 回日本人工臓器学会大会,2017
- ・ラットを用いた、左心室補助人工心臓モデルの構築；第 46 回人工心臓と補助循環懇話会学術集会,2018
- ・Construction of LVAD model using rat excised heart；第 95 回日本生理学会大会,2018

## 6. 研究組織

(2)研究協力者

1. 研究協力者氏名：巽 英介  
ローマ字氏名：TATSUMI EISUKE
2. 研究協力者氏名：武輪 能明  
ローマ字氏名：TAKAWA YOSHIAKI
3. 研究協力者氏名：片桐 伸将  
ローマ字氏名：KATAGIRI NOBUMASA