

厚生労働科学研究費補助金
医療安全・医療技術評価総合研究事業

平成 19 年度
総括・分担研究報告書

循環器疾患に対する根拠に基づく
鍼治療の開発に関する研究
(H18-医療-一般-023)

主任研究者：川田 徹

(国立循環器病センター研究所)

平成 20 (2008) 年 3 月

目 次

1. 総括研究報告書
循環器疾患に対する根拠に基づく鍼治療の開発に関する研究 1
国立循環器病センター研究所
川田 徹
2. 分担研究報告書
電気鍼刺激に対する動的な循環応答の定量的解析に関する研究 1 4
国立循環器病センター研究所
宍戸 稔聡
3. 刊行物一覧 2 3
4. 論文別刷り 2 4

循環器疾患に対する根拠に基づく鍼治療の開発に関する研究

主任研究者 川田 徹

国立循環器病センター研究所先進医工学センター循環動態機能部冠循環研究室長

研究要旨

本研究の目的は、循環器疾患に対する薬物療法によらない新たな治療法としての鍼治療を開発するために、動物実験を通して循環系に対する電気鍼の効果を経験的・系統的に評価し、小動物を用いた心不全モデルに対する電気鍼治療システムを作成してその治療効果を検証すること、ヒトにおける定量的な鍼刺激システムの開発を行うことである。本年度は前年度に同定した電気鍼から血圧低下応答までの伝達関数を用いて、フィードバックによる血圧制御システムの設計を行い、これを実現するためのソフトウェアを開発し、実際に動物実験を用いて血圧制御システムの評価を行った。その結果、電気鍼を用いて定量的な血圧制御が可能であることが実証された。

分担研究者 穴戸 稔聡

国立循環器病センター研究所先進医工学センター循環動態機能部血行動態研究室長

A. 研究目的

本研究の目的は、循環器疾患に対する新たな治療法として鍼治療（電気鍼）に着目し、①動物実験によって電気鍼の効果を科学的・系統的に評価し、②ラットなどの小動物に適用できる電気鍼システムを開発して、心不全に対する電気鍼の治療効果を定量的に評価すること、③ヒトにおける定量的な鍼刺激システムを開発することである。本研究を通して、根拠に基づく医療を実践するための基礎データを得ることは、西洋医学の中心である薬物療法を補完する科学的な鍼治療の開発につながり、総合医療の推進に貢献すると考えられる。

循環器疾患は日本人の死因統計において癌と並んで大きな割合を占めており、新しい治療法の開発による循環器疾患の制圧は厚生労働行政の重要な課題の一つである。循環器疾患は心臓や血管の病気であると考えられがちであるが、循環系を調節する自律神経活動の異常によって、病状が悪化することが分かってきた。たとえば、交感神経系の異常亢進が心不全を悪化させるという知見から、交感神経作用を抑制する α アドレナリン受容体遮断薬やアンジオテンシン受容体拮抗薬が心不全の治療に用いられるようになり、一定の効果をあげている。しかし、これらの薬剤に耐えられない難治性の症例も多く、重症心不全の予後が不良であることは今も変わらない。

薬物療法によらない新たな治療法として遺伝子治療や再生医療が注目を集めている

が、これらは細胞や組織を標的とした治療法である。前述のように循環器疾患の病態決定には自律神経系が深く関与しており、自律神経系を標的とした治療法の開発も必要である。鍼治療は全身の自律神経系に作用して種々の治療効果を発揮すると思われるが、その作用機序や治療効果に関する定量的なデータに乏しく、根拠に基づく医療が実践されるには至っていない。そこで、本研究では、動物実験を用いて循環器疾患に対する鍼治療の根拠を明らかにし、循環器疾患に対する新たな治療法としての鍼治療の基盤を確立する。

B. 研究方法

B-1. フィードバック電気鍼システムの作成と評価

前年度に定量化した電気鍼刺激に対する血圧低下応答の伝達関数を用いて数学モデルを作成した。この数学モデルを用いてコンピュータ上でフィードバック電気鍼刺激のシミュレータを作成し、種々のシミュレーションを行って、短時間（1分以内）に目標の降圧効果を得られるような比例積分制御装置を設計した。次に、この制御システムを実時間で駆動できるソフトウェアを開発した。

開発したフィードバック電気鍼システムの性能を評価するために、麻酔下のネコを用いて実際の血圧制御実験を行った。ペントバルビタールを腹腔内投与して麻酔を施したネコに気管内挿管を行い、人工呼吸を実施した。右大腿静脈から持続麻酔を行い、右大腿動脈から血圧を記録した。左側腹部切開を行って、腎臓交感神経を剖出し、腎臓交感神経活動を記録した。

次に、血圧がちょうど 20 mmHg だけ下がるように目標血圧を設定して、10 分間の制御を行った。得られたデータをもとに、目標血圧の 90% に到達するのに要した時間（T90）と、血圧が目標値に到達して以降、5 分目から 10 分までの目標血圧との誤差を計算した。

B-2. 電気鍼が心筋虚血時のミオグロビン漏出に及ぼす影響

これまでの研究から、冠動脈閉塞によって心筋虚血を起こすと、心筋障害を反映して心筋間質でのミオグロビン濃度が上昇することが分かっている。電気鍼刺激によって、心筋虚血時のミオグロビン漏出が抑制されるかどうかを調べるために、ペントバルビタール麻酔下のネコにおいて、右大腿静脈から持続麻酔を行い、右大腿動脈から血圧を測定した。体表面心電図から心拍数を測定した。左開胸にて心臓に到達し、左冠動脈前下行枝に閉塞用の結紮糸を準備した。左室心筋の前壁に微量透析用のファイバーを刺入した。透析用ファイバーの一端から 5 μ l/min の速度でリングル液を灌流し、回収液中のミオグロビン濃度を免疫化学的に測定した。60 分間の冠動脈閉塞を行い、虚血によるミオグロビン濃度の変化を測定した。これを両側迷走神経切除群、両側迷走神経電気刺激群、迷走神経温存 + 電気鍼刺激群で比較した。

B-3. 麻酔ラットを用いた実験（分担研究者 穴戸 担当）

自律神経活動の応答などを調べるにはネコなどの中型動物が適しているが、高血圧や心不全などの病態モデルを使って電気鍼

の効果を調べるには、各種の病態モデルが確立しているラットなどの小動物のほうが適している。そこで、麻酔下のネコで得られた知見を小動物に適用するために、ペントバルビタールの腹腔投与による麻酔を施したラットを用いて、電気鍼に対する動的な循環応答の定量化を行った。

(倫理面への配慮)

本年度に実施した急性実験はすべて麻酔下で実施し、実験終了後は直ちに大量の麻酔薬（ペントバルビタール）の静脈投与によって実験動物を安楽死させた。実験は、国立循環器病センターの実験動物委員会の審査を受けた上で、日本生理学会の示す動物実験指針にしたがって実施した。

C. 研究結果

C-1. 電気鍼刺激に対する循環応答の定量評価

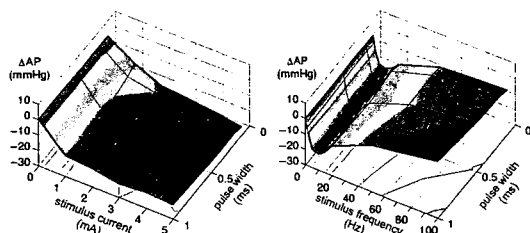


図1 刺激電流-刺激パルス幅平面、刺激周波数-刺激パルス幅平面における血圧変化

前年度の研究結果から、電気鍼の電流強度に対する血圧応答は0~5 mAの範囲では電流強度が大きくなるほど降圧効果が大きくなること（図1左）、0~10 Hzの範囲では刺激周波数が高くなるほど降圧効果が大きくなることが分かった（図1右）。ただし、刺激周波数が10 Hz以上になると降圧効果は減弱した。

次に、ランダムな鍼刺激を行ったときの血圧応答を元に、鍼刺激から血圧応答までの伝達関数を計算したところ、入力周波数が高くなるほど応答が小さくなる低域通過型フィルターの性質を示した（図2）。

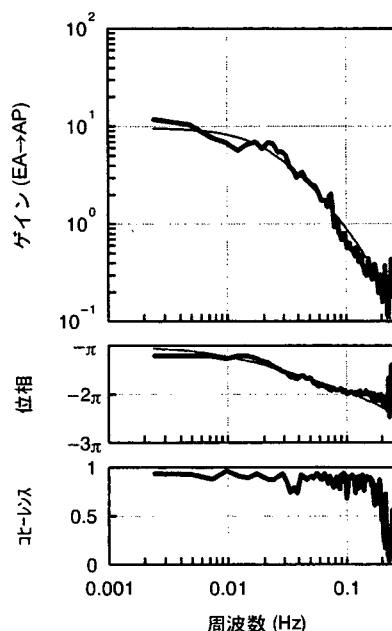


図2 電気鍼刺激から血圧応答までの伝達関数と2次遅れ系の伝達関数による近似

この低域通過フィルターの性質は、次の数学モデルで示すように、無駄時間を含む2次遅れ系で近似することができた。

$$H(f) = \frac{K}{1 + 2\zeta \frac{f}{f_N} j + \left(\frac{f}{f_N}\right)^2} \exp(-j2\pi fL)$$

K は定常ゲイン（mmHg/mA）、 f_N は自然周波数または固有周波数（Hz）、 ζ は減衰係数、 L は無駄時間（sec）である。

表1 電気鍼刺激から血圧応答までの伝達関数を2次遅れ系で近似したときの係数の値（平均±SEM, n=8）

K (mmHg/mA)	10.2 ± 1.6
f_N (Hz)	0.040 ± 0.004
ζ	1.80 ± 0.24
L (sec)	1.38 ± 0.13

C-2. フィードバックによる電気鍼システムの設計

刺激強度のフィードバックには図3に示すような比例・積分型の制御装置を用いた。図3上の $H(f)$ および図3下の赤い点線で囲んだ部分が、電気鍼に対する血圧応答を2次遅れ系でモデル化したものである。ここでは、 $K=1$ 、 $f_N=0.04$ 、 $\xi=2.0$ 、 $L=1.0$ としてシミュレーションを行った。

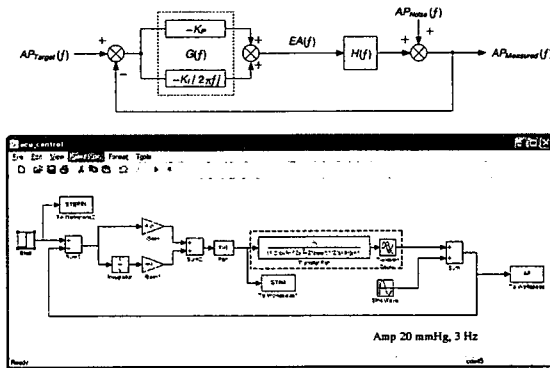


図3 フィードバック制御装置のブロック線図

$G(f)$ は制御部の伝達関数であり、比例ゲイン(K_p)と積分ゲイン(K_i)で規定される。比例ゲインは目標値との偏差に比例して電気鍼の強さを調節する項である。積分ゲインは目標値との偏差の時間積分に応じて電気鍼の強さを調節する項である。

$$G(f) = -K_p - \frac{K_i}{2\pi f j}$$

血圧応答を目標血圧に関連する部分と外来ノイズに関連する部分に分けて記述すると、次のようになる。

$$AP_{Measured}(f) = \frac{G(f)H(f)}{1+G(f)H(f)} AP_{Target}(f) + \frac{1}{1+G(f)H(f)} AP_{Noise}(f)$$

したがって、 $G(f)H(f)$ が1よりも十分大きくなるように $G(f)$ を設定すれば、測定される血圧は目標値に近づくことが分かる。

図1左の結果から電流強度に対する血圧応答が単調低下を示すことが分かっていたので、第一の操作量として電流強度を考えて、シミュレーションを行った。図1右の結果から刺激周波数は最大の降圧作用を発揮する10 Hzに固定した。

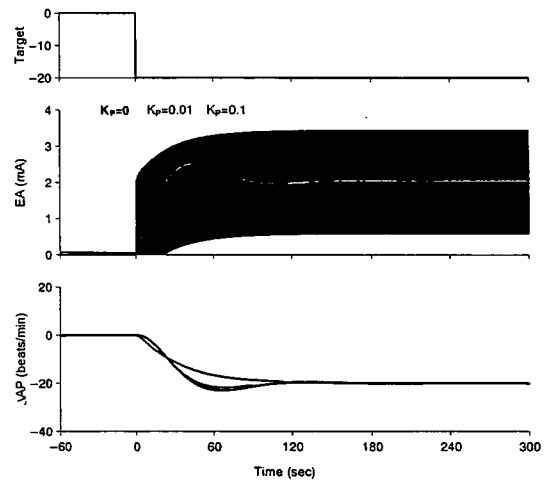


図4A シミュレータ上で比例ゲインの値を変化させたときの電流強度と血圧応答

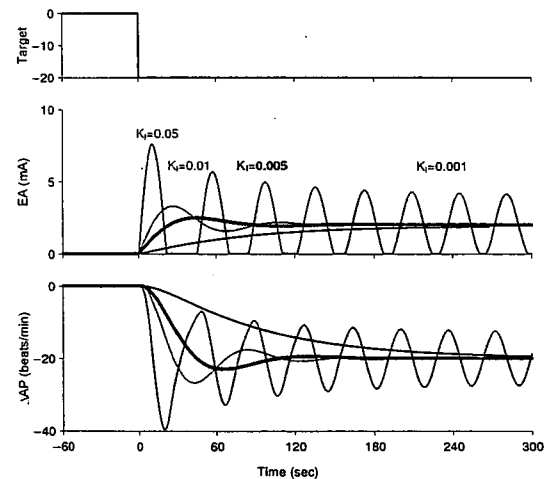


図4B シミュレータ上で積分ゲインの値を変化させたときの電流強度と血圧応答

図4A、Bにシミュレーションの結果を示す。最上段は目標血圧の変化、中央の段は刺激コマンド(電流強度)、最下段は血圧応答である。比例ゲイン K_p については、血圧

応答に影響を及ぼすには 0.1 以上の値が必要であったが、瞬時血圧信号をそのまま制御量として用いると、電流強度の中に大きな脈圧成分が入った。 $K_p=0.01$ と $K_p=0$ では血圧応答に差が無いので、ここでは $K_p=0$ に固定して積分ゲインを調整した。他の方法としては、瞬時血圧信号ではなく低域通過型フィルターを通して平均化した血圧信号を制御量として用いることも考えられる。

次に、積分ゲインについては、 $K_I=0.001$ のとき血圧変化が目標値に到達するのに 5 分を要した。 $K_I=0.005$ のとき約 1 分で目標値に達して安定した血圧応答を示した(赤太線)。 $K_I=0.01$ になると血圧が定常値に落ち着く前にうねりを示すようになり、 $K_I=0.05$ では刺激コマンドと血圧が振動し、血圧が定常値に安定することはなかった。

以上の結果をもとに、実時間でフィードバック制御できるソフトウェアを開発し、 $K_p=0$ 、 $K_I=0.005$ で制御できるようにした(図 5)。より汎用性を持たせるために、ソフトウェア上は微分ゲインと呼ばれる制御係数も設定できるようにした。

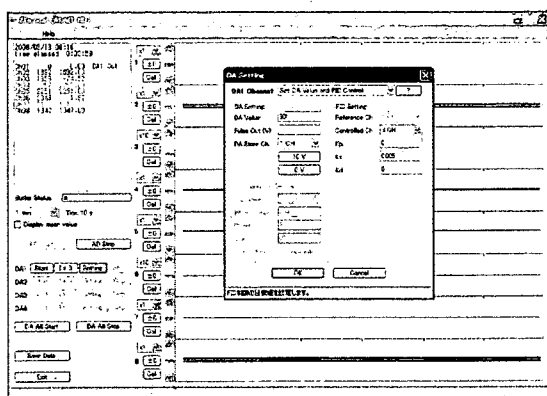


図 5 フィードバック制御のためのソフトウェア

このソフトウェアは 1 kHz のサンプリング速度で血圧信号を AD 変換で取り込み、

キャリブレーションを行った後、目標血圧との差をもとに電気鍼の刺激コマンドを計算し、DA 変換によって電気刺激装置を駆動するものである。

実際に動物実験を行い、制御特性を確認したところ、小さな電流強度で大きく血圧が低下する動物では、血圧応答の刺激閾値付近で刺激コマンドがオン・オフ現象を示す場合があった(分担報告書参照)。これは、刺激閾値の付近で血圧応答が不連続になり、比例積分制御が破綻したものと考えられた。そこで、計算された刺激コマンドが 1 を下回るときは、電流強度を 1 mA に固定して、刺激周波数を低下させることで血圧制御ができるように制御ロジックを改良した。

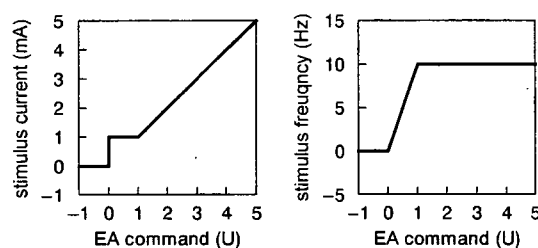


図 6 刺激コマンドを電流強度(current)と刺激周波数(frequency)に変換するロジック

図 6 は改良した制御ロジックを図示したものである。目標血圧と実測血圧の偏差から計算された刺激コマンドが 1 以上のときはそのまま電流強度に変換され、刺激周波数は 10 Hz に固定される。刺激コマンドが 0~1 の範囲では逆に電流強度が 1 mA に固定され、刺激周波数が 0~10 Hz の範囲で調節される。このようなロジックをソフトウェアに組み込むことによって実時間動作で電流強度と刺激周波数の同時制御が可能となった。

C-3. フィードバックによる電気鍼システムの評価

上記のようにして設計したフィードバックによる電気鍼システムの評価を麻酔下のネコを用いて実施した。目標血圧は血圧が20 mmHgだけ低下するように設定した。

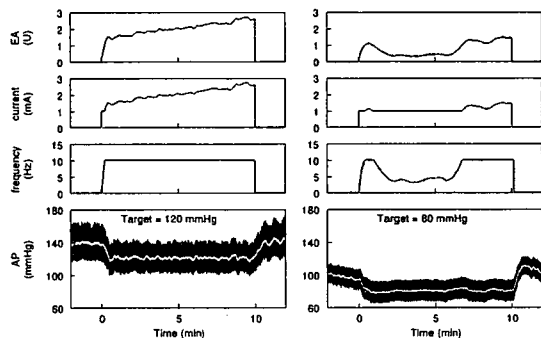


図7 改良した制御ロジックを使ったフィードバックによる電気鍼システムを用いた血圧制御の実例

図7に別の個体から得られた制御結果の実例を示す。左側の個体では、制御開始の数秒間を除いて、10分間の制御の間、刺激コマンドが常に1を上回っていたため、刺激コマンドは電流強度に変換され、刺激周波数は10 Hzに固定されたままであった。右側の個体では、制御開始2~7分で刺激コマンドが1を下回ったため、電流強度が1 mAに保たれたまま、刺激周波数を10 Hzよりも下げるような制御が行われた。いずれの例においても10分間の制御時間の間、血圧は目標値付近に保たれた。

図8はフィードバックによる電気鍼システムを用いた血圧制御の結果をまとめたものである。最上段が電気鍼のコマンド、2段目が目標血圧と測定血圧の差 (AP Error)、3段目が腎臓交感神経活動 (RSNA)、最下段が心拍数の変化 (Δ HR) である。血圧が目標血圧の90%に到達する時間は 38 ± 10 秒、制御開始5分目から制御終了までの偏

差は 1.3 ± 0.1 mmHg であった (平均 \pm SEM)。この10分間の制御の間、腎臓交感神経活動は制御前の80%程度のレベルに抑えられた。心拍数は制御開始とともに最大10 beats/min程度の低下を示した後、いったん元のレベルに戻る方向に変化した後、次第に低下して、制御終了時は約8 beats/minの低下を示した。

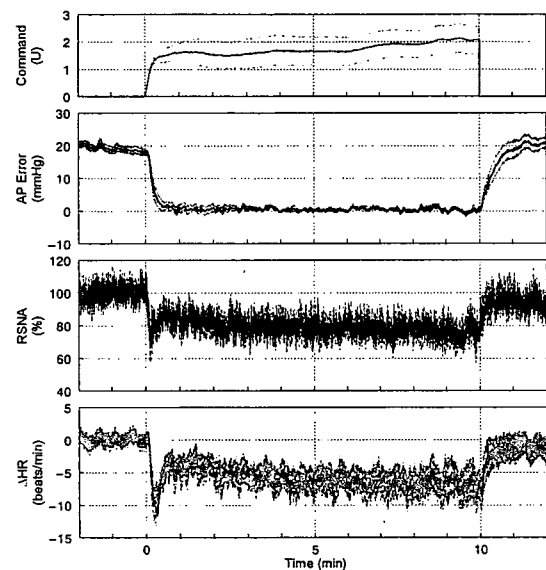


図8 フィードバックによる電気鍼システムを用いた血圧制御のまとめ (n=8, 平均 \pm SEM)

図8の標準誤差の大きさから分かるように、血圧の変化は非常に狭い範囲に制御されたが、制御に必要であった電気鍼の強度には大きな個体差があった。

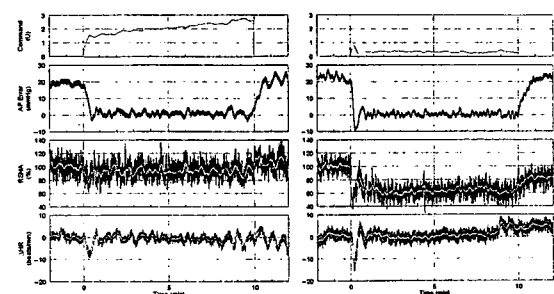


図9 血圧を20 mmHgだけ低下させても心拍数がほとんど低下しなかった2例

また、血圧は 20 mmHg だけ低下し、電気鍼を実施中に腎臓交感神経活動が低下しているにもかかわらず、ほとんど心拍数が低下しない個体もみられ、電気鍼に対する血圧応答と心拍数応答の解離が観察された (図 9)。

C-4. 電気鍼が心筋虚血時のミオグロビン漏出に及ぼす影響

60 分間の心筋虚血および再灌流が心筋間質のミオグロビン濃度の変化に及ぼす影響を調べた研究結果を図 10 に示す。上段は血圧 (AP)、2 段目は心拍数 (HR)、下段は心筋間質ミオグロビン濃度を対数スケールで表示したものである。

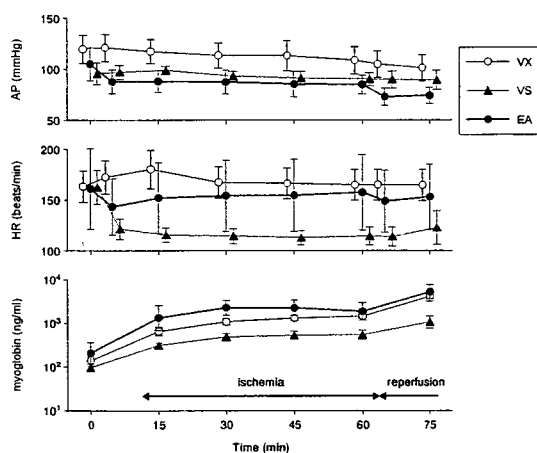


図 10 電気鍼が心筋虚血時のミオグロビン漏出に及ぼす影響 (平均±SEM)。VX: 迷走神経切除群、VS: 迷走神経電気刺激群、EA: 電気鍼刺激群

迷走神経切除群 (VX) において、冠動脈閉塞とともに心筋間質ミオグロビン濃度が上昇した。ミオグロビン濃度は虚血 15 分までの上昇がもっとも大きく、その後、60 分間、高い値を保った。冠動脈の閉塞を解除して再灌流すると、心筋間質ミオグロビン濃度は更に上昇した。迷走神経刺激群 (VS) では迷走神経切除群に比べて血圧、心拍数

ともに低下し、ミオグロビンの漏出も減少した。電気鍼刺激 (EA) では血圧は迷走神経刺激群と同様であったが、心拍数は迷走神経刺激群のように大きく低下することはなかった。また、迷走神経切除群に比べてもミオグロビンの漏出が抑えられることはなかった。

虚血前の電気鍼刺激によって平均血圧は 95 から 81 mmHg に低下し、再灌流後に電気鍼をオフにすることによって 77 から 93 mmHg に復した。これに対して、平均心拍数は虚血前の電気鍼刺激で 160 から 158 beats/min と僅かに低下したが、再灌流後に電気鍼をオフにしたときは 165 beats/min のままであった。

C-5. 麻酔ラットにおける電気鍼が血圧応答に及ぼす動特性

ペントバルビタール麻酔ラットの足三里に電気鍼を行い、血圧応答を調べた。ラットにおいても時間をかけて、刺激部位を十分に探索すると、脛骨の外側部に電気鍼に反応する箇所がみられた (図 10A、B)。しかし、降圧応答を示す範囲が限局しており、電気鍼の刺入位置を最適位置から 5 mm ずらせただけで反応がみられなくなった。

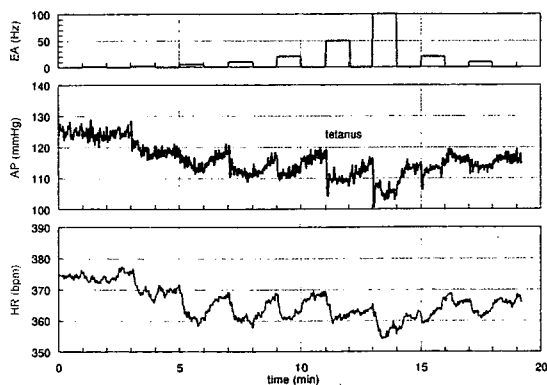


図 10 A 麻酔ラットにおける電気鍼 (EA) の刺激周波数と血圧 (AP) および心拍数 (HR) 応答

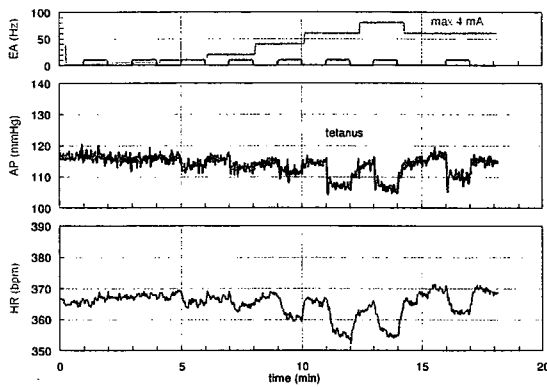


図10B 刺激周波数を10 Hzに固定して電流強度を変えたときの血圧 (AP) および心拍数 (HR) 応答

非常に強い刺激では下腿三頭筋の強縮とともに血圧の大きな低下がみられたが、強縮が起きない範囲での電気鍼刺激に対する血圧応答の大きさは、麻酔下のネコに比べて小さいことが判明した。

D. 考察

D-1. フィードバックによる電気鍼システムの作成

これまで、電気鍼刺激に対して循環系がどのような応答を示すかについては定量的なデータが乏しかった。前年度の研究結果から、交感神経活動、血圧、心拍数のいずれの応答も、電気鍼刺激に対して高いコヒーレンスを示し、少なくとも麻酔下のネコにおいては線形的な応答をすることが判明した。このことは、推定された伝達関数を用いて、電気鍼に対する生体の動的な応答を高い精度で予測できることを意味する。生体の動的な応答が予測できるということは、適切な制御系を設計することによって、生体応答を自在に制御できることを示唆する。これらのデータをもとに、目的とする交感神経活動や血圧レベルに応じて電気鍼の刺激強度を自動的に調節する治療システ

ムの開発が可能であると考えられた。

そこで本年度は、フィードバックによる電気鍼システムを設計し、実際に動物実験によってその制御能を評価した。動物実験では実験時間に限りがあるので、種々の制御係数を試して最適な係数を求めることは難しい。そこで、電気鍼に対する血圧応答の動特性を同定し、数学モデルで近似することによって、コンピュータシミュレーションを用いて最適な制御係数を決定した。電気鍼に対する血圧低下応答が無駄時間を含む2次遅れ系の数学モデルで近似できたので(図2)、これを用いてシミュレーションを行ったところ、比例積分制御を行う際の積分項の値は0.005が最適であることが予測された(図4)。

この値を用いてフィードバック制御を行ったところ、小さな電流強度で大きく血圧が低下する動物では、血圧応答の刺激閾値の付近で刺激コマンドがオン・オフ現象を示す場合があった。これは前年度に刺激電流・血圧応答関係を調べたときに、刺激閾値に注目しておらず、刺激閾値が数学モデルに組み込まれていなかったため、閾値付近での異常な振る舞いを予測できなかったことによる。この問題を回避するために、刺激コマンドが1を下回るときは電流強度を1 mAに維持したまま、刺激周波数を低下させる制御ロジックを組み込んだ(図6)。その結果、電気鍼に対する血圧応答の大小に関わらず、安定して血圧を制御することが可能になった(図7、図8)。

10分間のフィードバックによる電気鍼を実施中、腎臓交感神経活動は刺激前値の約80%に抑制された(図8)。その一方で心拍数の変化は大きなばらつきを示し、個体

によっては心拍数がほとんど低下しないものがみられた (図 9)。心拍数応答には交感神経活動だけでなく迷走神経活動も関与することから、これらの個体では電気鍼の最中に迷走神経活動が低下し、交感神経活動の低下に拮抗した可能性がある。あるいは、交感神経活動には地域差が存在することから、電気鍼に対する応答は腎臓交感神経活動と心臓交感神経活動で異なるという可能性もある。図 9 にみられるような、電気鍼に対する血圧応答と心拍数応答の解離がどのようなメカニズムによるのかは今後の研究課題である。

D-2. 電気鍼が心筋虚血時のミオグロビン漏出に及ぼす影響

これまでの私たちの研究から、迷走神経の電気刺激が心筋虚血時のノルアドレナリン放出を抑制し、虚血の初期にアセチルコリン放出を促進することが分かっている (Kawada T et al. Life Sci. 78: 882-887, 2006)。また、虚血再灌流時に上昇する活性型の MMP-9 (matrix metalloproteinase-9) が迷走神経刺激で抑制されることから (Uemura K et al. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 293: H2254-2261, 2007)、迷走神経刺激は心臓リモデリングに抑制的に作用することが期待される。そこで、迷走神経の電気刺激が虚血時の心筋障害に与える影響を調べるとともに、電気鍼によって同等の効果が得られるかどうかを検討した。

心臓微量透析法を用いて心筋間質のミオグロビン濃度の変化を調べたところ、冠動脈の閉塞によりミオグロビン濃度が上昇し、再灌流によって更に上昇することが観察された。迷走神経の電気刺激によって徐脈を

起こすと、心筋からのミオグロビン漏出は抑制された。しかしながら、電気鍼では迷走神経の電気刺激ほどの徐脈は得られず、虚血心筋からのミオグロビン漏出は迷走神経切除群よりもむしろ多いぐらいであった (図 10)。

虚血再灌流後に電気鍼を停止すると血圧が上昇したことから、虚血再灌流の間、電気鍼による降圧効果があったことは疑いないが、心筋虚血による心筋障害を抑制する効果は本実験では確認できなかった。この原因として、今回用いた迷走神経の直接刺激に比べて、電気鍼による迷走神経の賦活化作用が弱かった可能性がある。麻酔薬は中枢からの迷走神経出力に対して抑制的に作用することが知られており、心拍数の変化から考えて電気鍼を行ったときに、迷走神経の賦活化があまり起こらなかったと考えられる。しかしながら、私たちのこれまでの研究において心拍数を 10% 下げる程度の迷走神経刺激ができれば、心筋梗塞後心不全の生存率が飛躍的に改善することが分かっている (Li M et al. Circulation 109: 120-124, 2004)。したがって、植え込み刺激装置などを用いて慢性的に電気鍼を行うことで少しでも迷走神経の賦活化ができれば、治療効果が期待できる。

電気鍼を用いて虚血心筋からのミオグロビン漏出が抑制できなかったもう一つの理由として、D-1 の研究において血圧と心拍数の応答に解離がみられたことから、電気鍼で腎臓交感神経活動を抑制しても、心臓交感神経は十分に抑制されていなかった可能性がある。この点を明らかにするには、腎臓交感神経活動に加えて心臓交感神経活動を記録するような実験が必要と思われる。

D-3. 麻酔ラットにおける電気鍼が血圧応答に及ぼす動特性

麻酔ラットを用いて電気鍼刺激に対する血圧応答の動特性を推定したところ、電気鍼から血圧低下応答までの伝達関数は低域通過型フィルターの性質を示した。このことは麻酔ネコで用いたのと同じ方法論を使って、麻酔ラットにおいてもフィードバックによる電気鍼システムを開発できることを示唆する。しかしながら、血圧応答のゲインが小さいことから、正常SDラットでは電気鍼を用いて大きな降圧効果をもたらすことは難しいことが予測される。また、ネコに比べて降圧応答を示す部位が非常に限局しており、再現性良く実験を行うことが困難であった。今後、交感神経活動が亢進している心不全モデルや自然発症高血圧ラットなどを用いて、電気鍼がどの程度の交感神経活動抑制作用や降圧作用を発揮するかを検討していく必要がある。

E. 結論

前年度はシステム工学の分野で広く用いられている白色雑音法を用いて、電気鍼刺激に対する動的な循環応答を定量化した。本年度は電気鍼刺激に対する動的な循環応答の数学モデルを利用して、フィードバックによる電気鍼システムを設計し、最適な制御係数をコンピュータシミュレーションによって決定した。実際に制御装置を構築し、動物実験で血圧制御能を検討したところ、1分以内に20 mmHgの降圧効果が得られるシステムの開発に成功した。本研究を通してフィードバックによる電気鍼システム開発の枠組みが完成したことから、今後はラットなどの病態モデルにおいて治療

実験を行う予定である。一方、麻酔下のネコを用いて電気鍼が虚血心筋障害に及ぼす影響を調べた実験では、電気鍼による心臓保護効果を確認することができなかった。電気鍼に対する血圧応答と心拍数応答には解離がみられることから、心臓効果を指標として電気鍼を行うことが重要であることが示唆された。また、循環器疾患に対する電気鍼治療の可能性を調べるために、次年度はフィードバックによる電気鍼システムをヒトに適用する研究を進める計画である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

G-1. 論文

1. Characterization of ouabain-induced noradrenaline and acetylcholine release from in situ cardiac autonomic nerve endings. Yamazaki T, Akiyama T, Kitagawa H, Komaki F, Mori H, Kawada T, Sunagawa K, Sugimachi M. *Acta Physiol (Oxf)* 191: 275-284, 2007.
2. Efferent vagal nerve stimulation induces tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in myocardial ischemia-reperfusion injury in rabbit. Uemura K, Li M, Tsutsumi T, Yamazaki T, Kawada T, Kamiya A, Inagaki M, Sunagawa K, Sugimachi M. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 293: H2254-H2261, 2007.
3. Regional difference in ischaemia-induced myocardial

- interstitial noradrenaline and acetylcholine releases. Kawada T, Yamazaki T, Akiyama T, Shishido T, Shimizu S, Mizuno M, Mori H, Sugimachi M. *Auton Neurosci* 137: 44-50, 2007.
4. Angiotensin II attenuates myocardial interstitial acetylcholine release in response to vagal stimulation. Kawada T, Yamazaki T, Akiyama T, Li M, Zheng C, Shishido T, Mori H, Sugimachi M. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 293: H2516-2522, 2007.
 5. Muscarinic potassium channels augment dynamic and static heart rate response to vagal stimulation. Mizuno M, Kamiya A, Kawada T, Miyamoto T, Shimizu S, Sugimachi M. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 293: H1564-1570, 2007.
 6. Hypothermia reduces ischemia and stimulation-induced myocardial interstitial norepinephrine and acetylcholine releases. Kawada T, Kitagawa H, Yamazaki T, Akiyama T, Kamiya A, Uemura K, Mori H, Sugimachi M. *J Appl Physiol* 102: 622-627, 2007.
- G-2. 学会発表
1. 川田 徹, 山崎 登自, 秋山 剛, 宍戸 稔聡, 神谷 厚範, 水野 正樹, 杉町 勝. アンジオテンシンIIは迷走神経刺激時の心筋間質におけるアセチルコリン放出を抑制する. 第84回日本生理学会大会 Program2007
 2. 水野 正樹, 神谷 厚範, 川田 徹, 杉町 勝. K_{ACh} チャンネルは迷走神経性心拍反応を高速化し倍化する. 第84回日本生理学会大会 Program2007
 3. 川田 徹, 上村 和紀, 宍戸 稔聡, 杉町 勝. 小動物における Bluetooth 圧容積テレメトリの試作. 第46回日本生体工学会大会
 4. 水野 正樹, 神谷 厚範, 川田 徹, 杉町 勝. ムスカリン性 K^+ チャンネルは迷走神経刺激に対する心拍応答を高速化し倍化する. 第46回日本生体工学会大会
 5. 宮本 忠吉, 稲垣 正司, 高木 洋, 川田 徹, 宍戸 稔聡, 神谷 厚範, 杉町 勝. ヒト呼吸化学調節系の動特性の定量評価. 第46回日本生体工学会大会
 6. 杉町 勝, 李 梅花, 鄭 燦, 神谷 厚範, 川田 徹. 電気鍼による動脈圧反射系の修飾とその循環器疾患治療への応用. 第46回日本生体工学会大会
 7. 李 梅花, 鄭 燦, 川田 徹, 稲垣 正司, 宍戸 稔聡, 佐藤 隆幸, 杉町 勝. アセチルコリンエステラーゼ阻害薬ドネペジルは心筋梗塞後ラットの心臓リモデリングと心機能低下を防止する. 第28回日本循環制御医学会総会
 8. Zheng C, Li M, Kawada T, Sugimachi M. Orthostatic stress increases thirst in congestive heart failure rats. *EXPERIMENTAL BIOLOGY* 2007
 9. Li M, Zheng C, Kawada T, Inagaki M, Shishido T, Sato T, Sugimachi M. Restoration of vagal tone by

- donepezil markedly improves long-term survival in rats with incurably severe heart failure. *EXPERIMENTAL BIOLOGY* 2007
10. Kawada T, Miyamoto T, Li M, Kamiya A, Sugimachi M. Dynamic characteristics of sympathetic nerve activity response to Electroacupuncture at Zusanli in anesthetized cat. *EXPERIMENTAL BIOLOGY* 2007
 11. Miyamoto T, Kawada T, Sugimachi M. Strenuous regular exercise training almost abolishes the exercise-induced shift of central ventilation controller, thus attenuating exercise hyperpnea. *EXPERIMENTAL BIOLOGY* 2007
 12. Miyamoto T, Kawada T, Sugimachi M. Quantitative analysis of respiratory chemoreflex system in rats with chronic heart failure - analytical approach to underlying mechanism of ventilatory abnormality. *EXPERIMENTAL BIOLOGY* 2007
 13. Sugimachi M, Kawada T, Kamiya A, Li M, Zheng C, Sunagawa K. Electrical acupuncture modifies autonomic balance by resetting the neural arc of arterial baroreflex System. pp.5334-5337 *IEEE EMB* 2007
 14. Shimizu S, Shishido T, Uemura K, Kamiya A, Kawada T, Sano S, Sugimachi M. Right ventricle-pulmonary artery shunt for Norwood procedure is beneficial in reducing pressure-volume area and myocardial oxygen consumption compared to Blalock-Taussing Shunt: an in-silico analysis. *European Society of Cardiology* 2007
 15. Li M, Inagaki M, Zheng C, Kawada T, Uemura K, Nagaya N, Sugimachi M. Chronic vagal stimulation enhances survival of transplanted mesenchymal stem cells and its therapeutic potency in a rat model of myocardial infarction. *AHA* 2007
 16. 水野 正樹、神谷 厚範、川田 徹、宍戸 稔聡、杉町 勝. ムスカリン性 K⁺チャンネルは交感神経緊張の有無に関わらず迷走神経刺激に対する動的及び静的心拍応答に貢献している. 第 85 回日本生理学会総会
 17. 川田 徹、水野 正樹、神谷 厚範、宍戸 稔聡、杉町 勝. 血圧フィードバックによる電気鍼を用いた交感神経抑制システムの開発. 第 85 回日本生理学会総会
 18. 神谷 厚範、川田 徹、水野 正樹、杉町 勝. 血圧を制御する閉ループ電気鍼の開発へ向けたシステム解析. 第 85 回日本生理学会総会
 19. Li M, Inagaki M, Zheng C, Kawada T, Uemura K, Shishido T, Sato T, Sugimachi M. Both acute and chronic-phase vagal stimulation markedly suppressed arrhythmic death and prevented remodeling in rats after large myocardial

infarction. The 72nd Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society

20. Li M, Zheng C, Kawada T, Inagaki M, Shishido T, Sato T, Sugimachi M. Addition of acetylcholinesterase inhibitor, donepezil improves neurohumoral states further than losartan alone in rats with extensive myocardial infarction. The 72nd Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society
21. Inagaki M, Li M, Zheng C, Uemura K, Kawada T, Sato T, Nagaya N, Sugimachi M. Chronic vagal stimulation enhances survival of transplanted mesenchymal stem Cells (MSCs) and its therapeutic potency after myocardial infarction in rats. The 72nd Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society
22. 川田 徹、杉町 勝, 血圧フィードバックを用いた電気鍼システムの開発. 第 18 回日本病態生理学会大会

H. 知的所有権の取得状況

なし

電気鍼刺激に対する動的な循環応答の定量的解析に関する研究

分担研究者 宍戸 稔聡

国立循環器病センター研究所先進医工学センター循環動態機能部血行動態研究室長

研究要旨

本研究の目的は、電気鍼刺激に対する動的な循環応答を定量化することによって、電気鍼を用いた循環器疾患に対する治療システムを開発することである。本年度は前年度に定量化した電気鍼刺激に対する動的な循環応答を用いて、フィードバック制御による電気鍼システムを構築し、麻酔下のネコにおいて10～30分間のフィードバック制御を行い、正確に血圧を低下させることに成功した。このとき、腎臓交感神経活動は有意に低下したままであった。また、病態モデルにおいて電気鍼治療システムの効果を調べられるように、麻酔下のラットにおいて電気鍼刺激に対する動的な循環応答の定量化を行った。

A. 研究目的

循環器疾患は心臓や血管の病気であると考えられがちであるが、循環系を調節する自律神経活動の異常によって、病状が悪化することが分かってきた。たとえば、交感神経系の異常亢進が心不全を悪化させるという知見から、交感神経作用を抑制する β アドレナリン受容体遮断薬やアンジオテンシン受容体拮抗薬が心不全の治療に用いられるようになり、一定の効果をあげている。しかし、これらの薬剤に耐えられない難治性の症例も多く、重症心不全の予後が不良であることは今も変わらない。

薬物療法によらない新たな治療法として遺伝子治療や再生医療が注目を集めているが、これらは細胞や組織を標的とした治療法である。前述のように循環器疾患の病態決定には自律神経系が深く関与しており、自律神経系を標的とした治療法の開発も必

要である。鍼治療は全身の自律神経系に作用して種々の治療効果を発揮すると思われるが、その作用機序や治療効果に関する定量的なデータに乏しく、根拠に基づく医療が実践されるには至っていない。

電気鍼を用いて循環系の治療制御を行う上で必要とされるデータは、電気鍼刺激に対して、自律神経活動、血圧、心拍数などがどのような動的応答を示すかということである。工学の分野において制御システムを設計する場合には、制御対象となるシステムの動特性を定量化した上で、シミュレーションを行い、最適な制御システムを設計する。本年度は前年度のデータをもとに実際に制御システムを作成し、その性能を動物実験で検証した。また、高血圧などの病態モデルで電気鍼治療システムの評価が可能ないように、麻酔下のラットにおいて動的な循環応答の定量化を行った。

B. 研究方法

B-1. 実験手技

研究は麻酔下のネコを用いて行った。ネンブタールを腹腔内投与して麻酔を施し、気管挿管を行って人工呼吸を行った。右大腿静脈より静脈カテーテルを挿入して持続麻酔を行った。右大腿動脈より動脈カテーテルを挿入して動脈圧を測定し、動脈圧波形から心拍数を計測した。両足の脛骨外側部にある足三里に相当する箇所とアキレス腱の後側の皮膚を挟む形で2つの鍼電極を刺入し、2つの電極から通電することによって電気鍼刺激を行った。左側腹部切開を行い、腎臓交感神経に神経活動記録用の電極を装着した。

B-2. フィードバック電気鍼システムの作成 (主任研究者川田担当)

前年度に定量化した電気鍼刺激に対する循環応答を用いて、循環応答の数値モデルを作成した。次に、この数値モデルを用いてコンピュータ上でシミュレーションを行い、目標血圧に応じて電気鍼の刺激強度を自動的に調節できるフィードバック電気鍼システムを設計した。次に、この制御システムを実時間で駆動できるようにソフトウェアを開発した。

B-3. フィードバック電気鍼システムの評価

開発した電気鍼システムを用いて血圧がちょうど 20 mmHg だけ低下するように目標値を設定し、10 分間のフィードバック制御を行った。得られたデータをもとに、目標血圧の 90% に到達するのに要した時間 (T90) と、5 分目から 10 分目までの血圧

制御の誤差を評価した。

B-4. 求心路の確認実験

電気鍼の最中に遠心性の腎臓交感神経活動が抑制されるという前年度の研究結果から、電気鍼の効果が中枢を介するものであることはほぼ間違いなかったが、その求心路を明らかにするために、坐骨神経の切除前後で電気鍼を行い、腎臓交感神経活動や体血圧の応答がどのように変化するかを調べた。また、単なる筋肉の電気刺激に対する循環応答も検討した。

B-5. 麻酔ラットを用いた実験

自律神経活動の応答などを調べるにはネコなどの中型動物が適しているが、高血圧等の病態モデルにおいて電気鍼の効果を調べるには自然高血圧発症ラットや Dahl 食塩感受性ラットなどを用いた研究が必要となる。そこで、ペントバルビタールの腹腔内投与による麻酔を施したラットを用いて、電気鍼に対する循環応答が定量化できるかどうかを検討した。

(倫理面への配慮)

本年度に実施した急性実験はすべて麻酔下で実施し、実験終了後は直ちに大量の麻酔薬 (ペントバルビタール) の静脈投与によって実験動物を安楽死させた。実験は、国立循環器病センターの実験動物委員会の審査を受けた上で、日本生理学会の示す動物実験指針にしたがって実施した。

C. 研究結果

C-1. フィードバック電気鍼システムの作成

図1にランダムな電気鍼刺激から求めた電気鍼に対する血圧応答の伝達関数を示す。電気鍼に対する血圧応答は無駄時間を含む2次遅れ系で近似することができた。

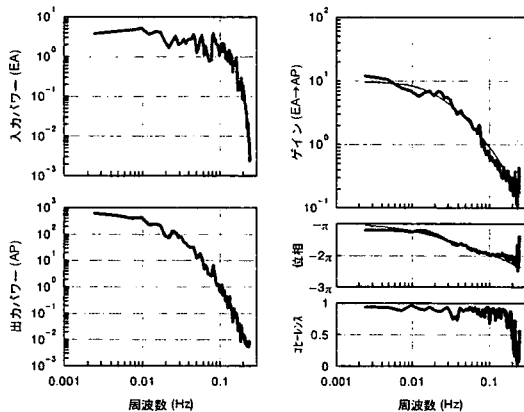


図1 電気鍼刺激から血圧応答までの伝達関数と2次遅れ系の伝達関数による近似

2次遅れ系の伝達関数は次の式で与えられる。

$$H(f) = \frac{K}{1 + 2\zeta \frac{f}{f_N} j + \left(\frac{f}{f_N} j\right)^2} \exp(-j2\pi fL)$$

K は定常ゲイン (mmHg/mA)、 f_N は自然周波数または固有周波数 (Hz)、 ζ は減衰係数、 L は無駄時間 (sec)である。この伝達関数を用いて、図3に示す動特性を近似したところ、 $K = -9.6$ 、 $f_N = 0.034$ 、 $\zeta = 1.24$ 、 $L = 0.98$ であった (図1右、細線)。表1は8匹から得られた動特性をまとめたものである。

表1 電気鍼刺激から血圧応答までの伝達関数を2次遅れ系で近似したときの係数の値 (平均±SEM, n=8)

K (mmHg/mA)	10.2 ± 1.6
f_N (Hz)	0.040 ± 0.004
ζ	1.80 ± 0.24
L (sec)	1.38 ± 0.13

図2に制御システムのブロック線図を示す。ブロック線図中の $H(f)$ は前述の2次遅れ系の伝達関数を示す。

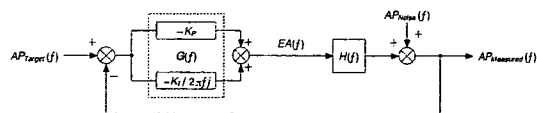


図2 フィードバック制御装置の概略

$G(f)$ は制御部の伝達関数であり、比例ゲイン (K_P) と積分ゲイン (K_I) で規定される。比例ゲインは目標値との偏差に比例して電気鍼の強さを調節する項である。積分ゲインは目標値との偏差の時間積分に応じて電気鍼の強さを調節する項である。制御部の伝達関数は次の式で与えられる。

$$G(f) = -K_P - \frac{K_I}{2\pi f j}$$

通常のプロportion-積分制御 (PI 制御) との違いは、電気鍼に対して血圧は低下する方向に応答するので、制御部にマイナス符号を必要とする点である。

血圧の測定値を AP_M 、目標値を AP_T 、制御することのできない血圧変動を AP_N で表したとき、電気鍼のコマンド信号 EA は

$$EA(f) = G(f)[AP_T(f) - AP_M(f)]$$

で与えられ、電気鍼に対する血圧応答は

$$AP_{Measured}(f) = H(f)EA(f) + AP_{Noise}(f)$$

で与えられる。これら2つの式から EA を消去すると、次の式が得られる。

$$AP_{Measured}(f) = \frac{G(f)H(f)}{1 + G(f)H(f)} AP_{Target}(f) + \frac{1}{1 + G(f)H(f)} AP_{Noise}(f)$$

したがって、 $G(f)H(f)$ が1よりも十分大きくなるように $G(f)$ を設定すれば、測定される血圧は目標値に近づくことが分かる。

C-2. フィードバック電気鍼システム（電流強度のみの調節）の評価

図3はフィードバック電気鍼刺激と一定電気鍼刺激を比較した結果である。上側のパネルに電気鍼の電流強度、下側のパネルに血圧応答を示す。下側のパネルの点線は血圧制御の目標値である。

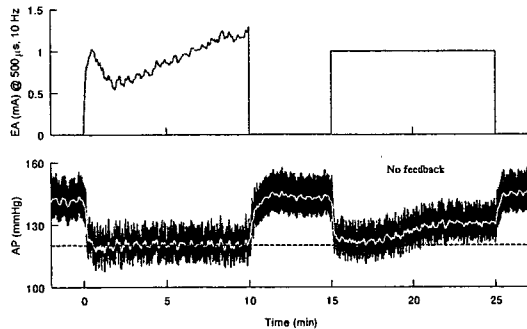


図3 フィードバック電気鍼刺激による血圧制御と通常の一定強度刺激に対する血圧応答

フィードバック電気鍼刺激を行うと、刺激開始後にいったん刺激電流が増加するが、血圧が目標値に到達すると刺激強度は自動的に低下する。刺激強度は時間とともに自動的に調節され、血圧は10分間低下したままであった。一方、一定電流強度の電気刺激を行った場合は、時間の経過とともに血圧は目標値から離れた。ここで注目すべきことは、一定強度の電気刺激を行うにも、その初期値を決める必要がある点である。本実験ではフィードバック電気刺激の結果をもとに1 mAの一定電流刺激を行ったが、フィードバック電気刺激の結果がなければ、どの程度の電流で刺激すれば良いのかあらかじめ知ることはできない。

当初は電流強度のみのフィードバックで血圧制御を行っていたが、極めて弱い刺激電流で血圧が大きく低下する個体では、血圧応答が生じる刺激域値の付近で刺激コマンドが発振してしまう現象が生じた(図4)。

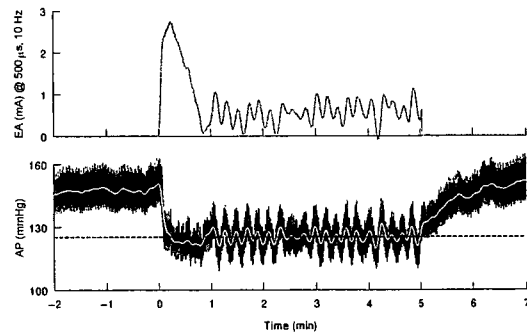


図4 フィードバック制御中に刺激域値付近で刺激コマンドと血圧応答が発振を示した例

これは、「刺激電流が閾値を越える→血圧が大きく低下する→フィードバックによって刺激電流が下がるが、閾値を下回る→血圧が上昇する→フィードバックによって刺激電流が増加し、閾値を越える→血圧が大きく低下する」という動作を繰り返したためと考えられた。

C-3. フィードバック電気鍼システム（電流強度および刺激周波数の同時制御）の評価

上述のような欠点を克服するために、刺激コマンドが1を下回るときは電流強度を1 mAに保ったまま刺激周波数を使って電気鍼の強度を調節できるシステムに改良した(主任研究者川田担当)。

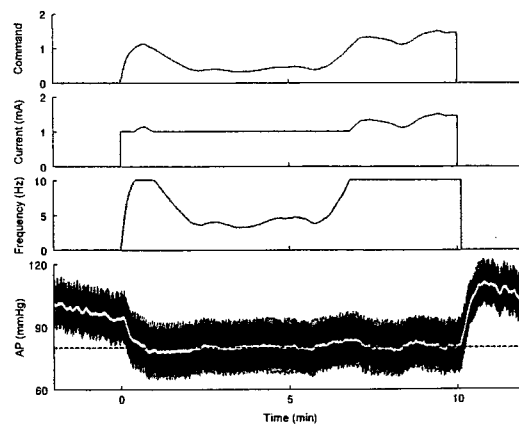


図5 電流強度と刺激周波数の同時フィードバックによる血圧制御

図5は電流強度と刺激周波数の両者を同時制御したフィードバック電気鍼システムの実行結果の一例である。最上段が刺激コマンド、2段目が電流強度、3段目が刺激周波数、最下段が血圧応答である。血圧制御2~7分目において刺激コマンドが1を下回っている。この間は電流強度は1 mAに保たれ、刺激周波数による血圧調節が行われている。このように、電流強度と刺激周波数の両者を操作量とすることによって、図4にみられるような発振現象を防ぐことができた。

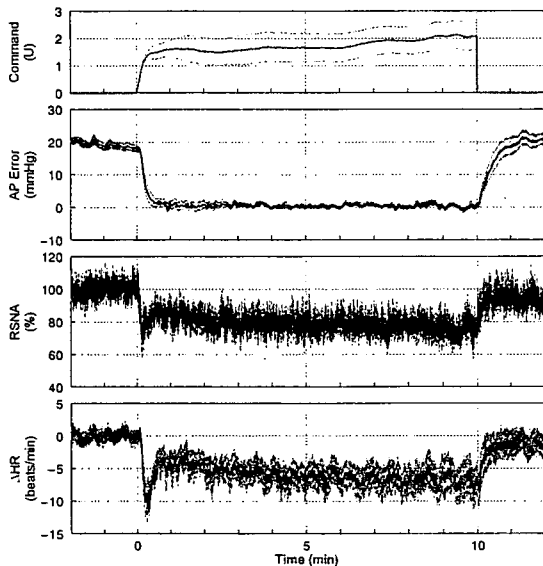


図6 フィードバック電気鍼システムによる血圧制御の結果 (n=8)

図6に8匹の実験データから得られた血圧制御の結果を示す。最上段が電気鍼のコマンド、2段目が目標血圧と測定血圧の差、3段目が腎臓交感神経活動、最下段が心拍数の変化である。血圧が目標血圧の90%に到達する時間は 38 ± 10 秒、制御開始5分目から制御終了までの偏差は 1.3 ± 0.1 mmHgであった(平均 \pm SEM)。10分間の制御の間、腎臓交感神経活動は制御前の80%程度のレベルに抑えられた。心拍数は

制御開始とともに最大10 beats/min程度の低下を示した後、いったん元のレベルに戻る方向に変化した後、次第に低下して、制御終了時は約8 beats/minの低下を示した。

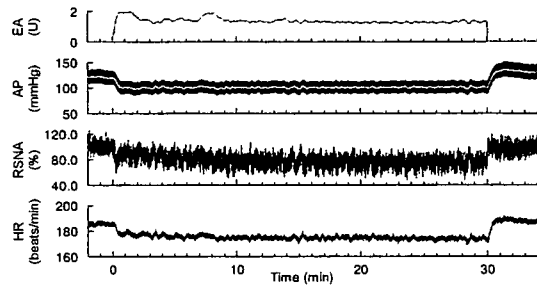


図7 30分間の血圧制御を行った例

私たちはフィードバック電気鍼システムの性能を評価するのに10分間の制御を用いたが、同じ制御システムで30分間の血圧制御を行っても、制御の振る舞いに問題はなかった(図7)。

C-4. 求心路の確認

本研究で行った電気鍼の求心路を確認するために、下腿三頭筋の電気刺激によって電気鍼と同じ応答が生じるかどうかを調べた(図8)。

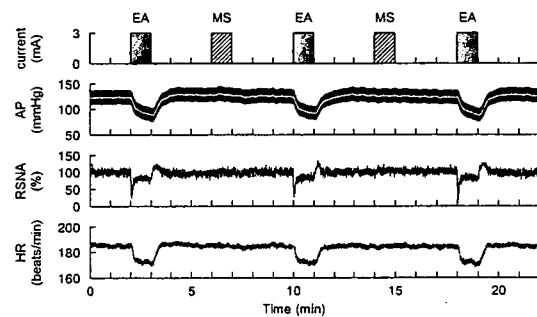


図8 足三里への電気鍼(EA)と下腿三頭筋の電気刺激(MS)が循環に及ぼす効果の違い

その結果、下腿三頭筋の電気刺激(MS)では電気鍼(EA)にみられるような交感神経活動の抑制や血圧の低下は生じず、本研