

2008 35018A

厚生労働科学研究費補助金
地域医療基盤開発推進研究事業

平成 20 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 21 (2009) 年 3 月

厚生労働科学研究費補助金
地域医療基盤開発推進研究事業

平成 20 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 21 (2009) 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減治療の開発に関する研究 国立循環器病センター研究所 川田 徹	1
2. 分担研究報告書	
正常及び病態ラットにおける電気鍼刺激に対する循環応答の研究 国立循環器病センター研究所 穴戸 稔聡	13
ヒトにおけるフィードバック型電気鍼治療システムの開発 森ノ宮医療大学 宮本 忠吉	24
3. 刊行物一覧	32
4. 論文別刷り	34

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科学的・系統的に評価し、小動物を用いた心筋梗塞等の病態モデルに対する電気鍼の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。本年度は電気鍼を実施したときの交感神経活動にみられる地域差のメカニズムを検討するとともに、心拍数や交感神経活動を目標として電気鍼の刺激強度を制御できるかどうかを検討した。また、正常及び心筋梗塞ラットを用いて電気鍼が血行動態に及ぼす影響を検討した。ヒトにおいても電気鍼に対する心拍数及び血圧応答を定量化し、定量的な電気鍼治療システムの開発に向けて基礎的データを収集した。

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

分担研究者 宮本 忠吉

森ノ宮医療大学保健医療学部理学療法学科教授

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。

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で病態モデルを作成して、心筋梗塞などの病態におけ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实践

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りがない。

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。

本年度は麻酔下のネコにおいて心臓交感神経活動と腎臓交感神経活動を同時に記録することによって、電気鍼が交感神経活動に及ぼす影響の地域差を調べ、血圧応答と心拍数応答が乖離するメカニズムを検討した。また、心拍数や交感神経活動を目標とした電気鍼刺激及びラット心筋梗塞モデルにおける電気鍼刺激の効果の検討(担当: 宍戸)やヒトにおける電気鍼の効果の定量化(担当: 宮本)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。ネブプタールを腹腔内投与して麻酔を施した後、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。左第2肋間で開胸し、左の星状神経節から心臓に向かう交感神経心臓枝に神経活動記録用の電極を装着した。電極より心臓側で神経を切断することにより、神経活動記録に心電図が混入するのを防いだ。次に、左側腹部切開を行い、腎動脈周囲に到達し、腎臓交感神経に神経活動記録用の電極を装着した。神経活動は150 Hz~1000 Hzの帯域フィルターを通して増幅した後、全波整流を行い、30 Hzのローパスフィルターを通して定量化した。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、アイソレータを介して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。データは16ビットのアナログ・デジタル変換器を通してデジタル化し、200 Hzのサンプリング速度でコンピュータに記録した。

B-2. 動脈圧反射による交感神経活動の変化

記録した神経活動が交感神経活動であるなら、動脈圧受容体の刺激によって反射性に抑制されることが期待されることから、 α アドレナリン受容体刺激薬であるフェニレフリンを静脈投与して(5 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、動脈圧を上昇させたときの心臓及び腎臓交感神経活動の変化を調べた。また、ニトロプルシッドを静脈投与し(10 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、動脈圧を低下させたときの心臓及び腎臓交感神経活動の変化を調べた。

B-3. 電気鍼が交感神経活動に及ぼす影響の地域差

電気鍼が交感神経活動に及ぼす影響の地域差を調べるために、右または左の足三里に対して2 Hzまたは10 Hzの通電刺激を行った。刺激パルス幅は前年度の実験結果を元に500 μ sとした。刺激電流は10 Hzの刺激で血圧が5 mmHg以上下がるように2~5 mAの範囲で調節した。1分間の電気鍼刺激を行い、心臓及び腎臓交感神経活動、心拍数、動脈圧の変化を調べた。

B-4. 経穴以外の電気刺激に対する交感神経活動の変化

実験B-3で観察された変化が足三里などの経穴に特異的なものかどうかを確認するために、大腿前面の対照部位に鍼を刺入して電気刺激を行い、交感神経活動、心拍数、動脈圧が変化するかどうかを調べた。

B-5. 動脈圧反射及び迷走神経の存在が電気鍼の効果に与える影響

実験B-3で観察された電気鍼に対する心臓交感神経活動と腎臓交感神経活動の応答の違いが、動脈圧反射や迷走神経を介した二次的なものである可能性を否定するために、両側の頸動脈洞神経及び大動脈減圧神経を切断し、さらに両側の迷走神経を頸部で切断した条件で電気鍼刺激を行い、心臓及び腎臓交感神経活動、心拍数、動脈圧の応答を調べた。

B-6. 心拍数及び交感神経活動を目標とした電気鍼刺激 (担当: 宍戸)

前年度までに開発した血圧フィードバック型の電気鍼システムにおいて、制御目標値を心拍数や交感神経活動で与えたときに制御が可能かどうかを検討した。

B-7. 動脈圧受容器反射に対する電気鍼の影響の定量化 (担当: 宍戸)

前年度の研究の結果、麻酔下のネコに比べて麻酔下のラットでは電気鍼に対する血圧応答が小さいことが判明した。そこで、動脈圧受容器を体循環から分離して、動脈圧反射による内因性の血圧調節を無効化した条件下で電気鍼を行い、電気鍼が血行動態に及ぼす影響を定量化した。

B-8. ラット心筋梗塞モデルにおける電気鍼の影響 (担当: 宍戸)

病態においては交感神経活動の過剰などが生じ、電気鍼に対する血行動態の応答性が変化する可能性がある。そこで、病態における電気鍼の影響を調べるために、ラット心筋梗塞モデルを作成した。心筋梗塞作成から3ヶ月以上経過したラットに対して麻酔下に電気鍼を行い、血行動態の変化を検討した。

B-9. ヒトにおける電気鍼の影響の定量化 (担当: 宮本)

ヒトにおいて電気鍼は症状の緩和を目標に施術されることが多く、電気鍼が血圧や心拍数に及ぼす影響に関する定量的なデータは少ない。そこで、健康ボランティアを対象として血圧と心拍数を連続モニターしながら電気鍼を行い、電気鍼が血圧や心拍数に及ぼす影響を定量化した。

(倫理面への配慮)

本年度に実施した動物における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(ペンタバルビタール)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。また、ヒトにおける電気鍼の実験は、実験実施場所である森ノ宮医療大学の倫理委員会の承認を受けた上で、被検者のインフォームドコンセントを得た上で実施した。

C. 研究結果

C-1. 動脈圧反射による交感神経活動の変化

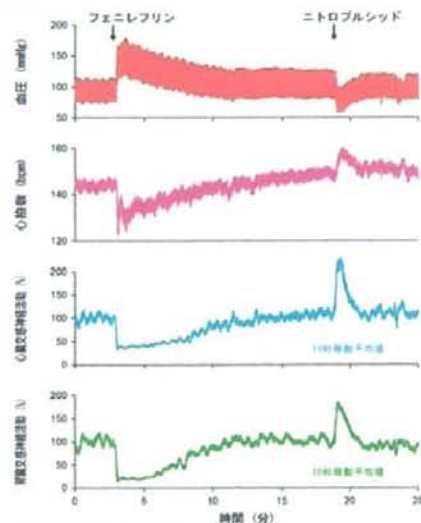


図1 心臓交感神経活動と腎臓交感神経活動を同時に記録しながらフェニレフリン投与で昇圧させた結果

フェニレフリンを静脈投与して血圧上昇に対する神経活動の応答を調べたところ、図1に示すように心臓交感神経活動も腎臓交感神経活動も動脈圧反射によって抑制された。また、ニトロプルシッドによって血圧を低下させると、動脈圧反射を介して心臓交感神経活動も腎臓交感神経活動も増大した。このことから記録した神経活動が主に交感神経活動であることが確認できた。

心臓交感神経活動が低下したときには心拍数は低下し、心臓交感神経活動が増大したときには心拍数は増加した。

C-2. 電気鍼が交感神経活動に及ぼす影響の地域差

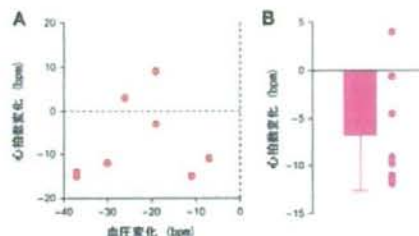


図2 一定の電気鍼刺激に対する血圧応答と心拍数応答の関係(A)及び電気鍼によって20 mmHgの降圧を達成したときの心拍数の分布(B)

図2は前年度に実施した麻酔ネコにおける実験データの血圧変化と心拍数変化をまとめたものである。500 μ s のパルス幅、3 mA、10 Hz で両側の足三里に対して通電刺激を行ったときの血圧変化と心拍数変化をプロットすると、8例中5例は心拍数が低下したが、1例ではあまり変化せず、残りの2例では逆に上昇した(図2A)。また、同じ8例において20 mmHgの降圧を目標として血圧フィードバックによる電気鍼刺激を行ったときの心拍数変化の分布をみると、5例では10 bpm程度低下したが、1例は5 bpm程度の低下、別の1例はほとんど変化せず、残りの1例は5 bpm程度上昇した(図2B)。このことから、電気鍼によって降圧が生じたとき、心拍数応答には大きな個体差があることが明らかであり、電気鍼に対する交感神経活動の応答に地域差がある可能性が示唆された。

心臓交感神経活動と腎臓交感神経活動を

同時に記録しながら 10 Hz の電気鍼刺激を行った結果を図 3-1 に示す。1 分間の電気鍼刺激によって、刺激開始後 10 秒目から血圧は有意に低下し、刺激中は血圧の低下が持続した。刺激終了時の血圧低下は 17 ± 7 mmHg であった。血圧の低下は刺激後も遷延し、刺激終了後 90 秒目まで有意であった。心拍数は刺激開始後 10 秒目から 20 秒目にかけて有意に低下したが、その後、元のレベルに復し、1 分間の刺激後にはやや高くなる傾向がみられた。1 分間の電気鍼刺激中、腎臓交感神経活動は抑制され続けた。これに対して、心臓交感神経活動は刺激開始後に低下する方向に変化しただけで、刺激中には有意な変化がなく、刺激後 10 秒目に有意に上昇した。

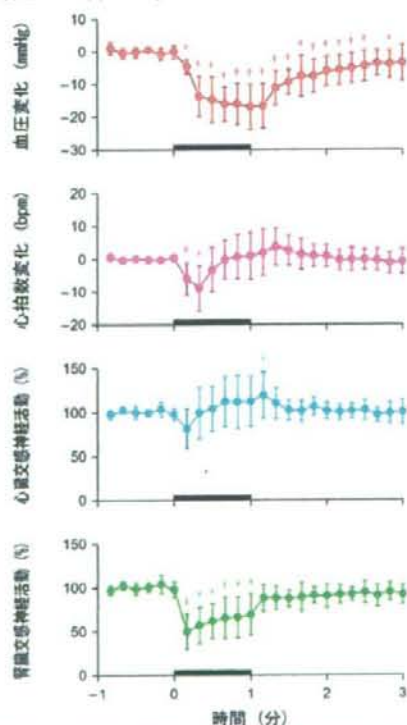


図 3-1 10 Hz の電気鍼刺激に対する心臓及び腎臓交感神経活動の応答

心臓交感神経活動と腎臓交感神経活動を同時に記録しながら 2 Hz の電気鍼刺激を行った結果を図 3-2 に示す。10 Hz 刺激に比べて程度は小さくなるが、2 Hz 刺激でも 10 ± 9 mmHg の降圧が生じた。降圧作用は刺激開始後 20 秒目から刺激終了後 20 秒目まで有意であった。心拍数の低下作用は 10 Hz 刺激に比べてむしろ弱まり、刺激中から上昇する傾向がみられ、刺激後 10 秒目から 20 秒目にかけて有意に上昇した。腎臓交感神経活動は 1 分間の電気鍼刺激の間、抑制されたままであった。これに対して、心臓交感神経活動は心拍数とほぼ同じ変化を示し、刺激後半から刺激後 10 秒目にかけて有意に上昇した。

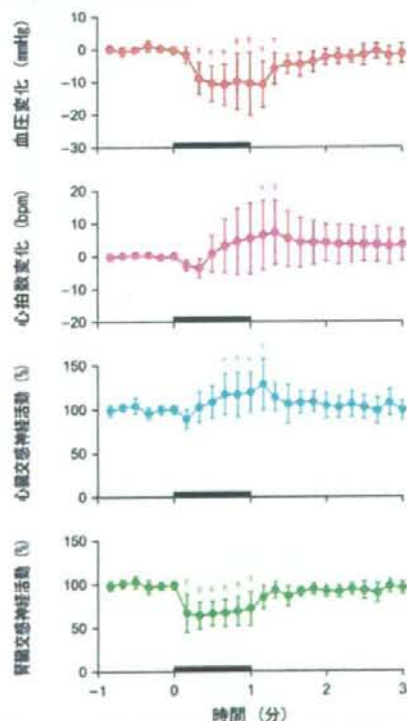


図 3-2 2 Hz の電気鍼刺激に対する心臓及び腎臓交感神経活動の応答

10 Hz の電気鍼及び 2 Hz の電気鍼の 1 分間刺激の最後の 10 秒間の腎臓交感神経活動と心臓交感神経活動の関係を XY プロットしたところ、刺激強度に関係なくほぼ同じ分布を示した (図 4)。刺激前の交感神経活動の値をそれぞれ 100% ととして、両者の回帰式を求めたところ傾きは 0.69 であった。このことから、電気鍼によって心臓交感神経と腎臓交感神経は無関係に変化するわけではなく、一定の関係を保った状態で心臓交感神経活動に比べて腎臓交感神経のほうが抑制されることが判明した。

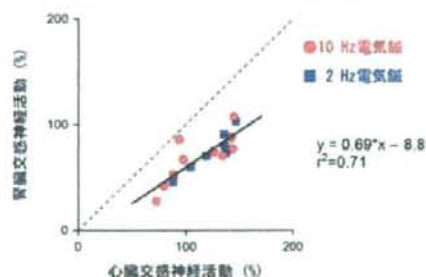


図 4 電気鍼を行ったときの心臓交感神経活動と腎臓交感神経活動の関係

C-3. 経穴以外の電気刺激に対する交感神経活動の変化

大腿前面の経穴以外の部位に鍼を刺入して C-2 と同じ刺激条件で電気刺激を行ったが、交感神経活動、心拍数、動脈圧に変化はみられなかった。

C-4. 動脈圧反射及び迷走神経の影響

両側の頸動脈洞神経及び大動脈減圧神経を切断して動脈圧反射を無効化し、さらに両側の迷走神経を切断したところ、動脈圧は 101 ± 17 mmHg から 120 ± 25 mmHg に、心拍数は 161 ± 24 bpm から 184 ± 19 bpm に上昇した。この状態で、足三里への 10 Hz

の電気刺激を行った結果を図 5 に示す。

動脈圧反射による内因性の血圧調節機構が失われたことを反映して、10 Hz の電気鍼刺激に対する血圧降下作用は 29 ± 4 mmHg となり図 3-1 よりも増大した。血圧低下は刺激開始後 20 秒目から刺激終了後 30 秒目まで有意であった。心拍数は電気鍼の刺激開始時にわずかに低下した。しかしながら、迷走神経切断によって鍼刺激前の心拍数が上昇したためか、電気鍼によるさらなる心拍数上昇はみられなくなった。

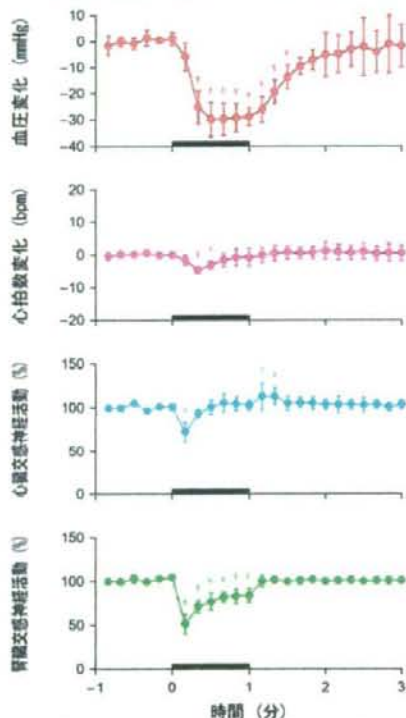


図 5 動脈圧反射及び迷走神経の影響を除外した条件下での 10 Hz の電気鍼に対する心臓及び腎臓交感神経活動の応答

腎臓交感神経活動は 1 分間の電気刺激の間、抑制されたままであった。これに対して、心臓交感神経活動は電気鍼開始直後に

有意に低下したが、すぐに刺激前の値に復し、刺激終了後 10 秒目から 20 秒目にかけて僅かではあるが有意に上昇した。以上のことから、動脈圧反射や迷走神経の影響を除外しても、電気鍼に対する心臓交感神経活動と腎臓交感神経活動の応答の地域差は消失しないことが判明した。

C-5. 心拍数及び交感神経活動を目標とした電気鍼刺激 (担当: 穴戸)

分担研究報告書に示すように、心拍数及び交感神経活動を目標とした場合も、電気鍼の刺激強度を自動的に調節することが可能であった。電気鍼に対する心拍数応答と血圧応答の類似性から、心拍数フィードバックによる電気鍼刺激に関しては制御パラメータを変更することなく、10 拍/分程度の徐脈効果を得ることが可能であった。交感神経活動に関しても制御パラメータを変更することなく、交感神経活動の平均値を目標レベルに抑えることが可能であったが、交感神経のバースト成分のために、電気鍼の制御コマンドに小刻みな変動が生じた。このような変動は、制御目標として移動平均等の平滑化処理がされた交感神経活動の信号を使うことで回避できると考えられた。

C-2. 正常ラットにおける電気鍼の影響の定量評価 (担当: 穴戸)

分担研究報告書に示すように、動脈圧受容器を体循環から分離して血圧のフィードバック調節を無効化した状態で電気鍼を実施したところ、1 Hz の電気鍼刺激によって約 9 mmHg の降圧効果が得られた。このとき心拍数には大きな変化はみられなかった。動脈圧受容器反射の最大ゲイン G は約 2 で

あり、動脈圧受容器反射が最大限に機能したときは、血圧の変化が $1/(1+G)$ に圧縮されることが想定される。つまり、動脈圧受容器反射が機能している状態では 1 Hz の電気鍼刺激に対して僅か 3 mmHg の降圧効果しか観察されないことになる。

C-6. 心筋梗塞ラットにおいて電気鍼が血行動態に及ぼす影響 (担当: 穴戸)

心不全等の病態においては交感神経活動が上昇することが想定されるので、ラット心筋梗塞モデルを作成して電気鍼の影響を調べた。分担研究報告書に示すように、1 mA の刺激強度で血圧に変化はみられず、2 mA 及び 5 mA の刺激強度で血圧が 5 mmHg 程度低下する傾向がみられた。しかしながら、正常ラットを用いた場合と同じく、電気鍼による血圧の低下は麻酔下のネコに比べて僅かであった。

C-7. ヒトにおけるフィードバック型電気鍼治療システムの開発 (担当: 宮本)

分担研究報告書に示すように、前腕の肘門穴に対してパルス幅 5 ms、2 Hz、1 V の電気鍼を行ったところ、心拍数は 74.8 ± 9.6 から 72.1 ± 8.7 拍/分に低下した。このことから変化の程度は小さいものの、ヒトにおいても電気鍼を用いて定量的に心拍数を制御できる可能性が示唆された。

D. 考察

D-1. 電気鍼に対する心臓交感神経活動と腎臓交感神経活動の応答の地域差

図 2 に示すように電気鍼を行ったときの血圧応答と心拍数応答には乖離がみられ、血圧が低下した場合でも心拍数が低下しな

い例や逆に上昇する例がみられた。このような応答の違いが交感神経活動の地域差によるものかどうかを検討するために、心臓交感神経活動と腎臓交感神経活動を同時に記録しながら電気鍼を行う実験を実施した。

星状神経節から心臓へ向かう神経には迷走神経の成分も含まれている可能性がある。ペントバルビタール麻酔下のネコにおいてはフェニレフリン静脈投与による昇圧によって反射的に迷走神経が賦活化し、左心室間質におけるアセチルコリン濃度が上昇する (Kawada T et al. Am J Physiol 281: H139-H145, 2001)。本研究ではフェニレフリン静脈投与による昇圧に対して神経活動は低下応答を示したことから (図1)、今回記録した心臓交感神経活動における迷走神経成分の混入は少ないと考えられた。

図3-1に示すように、10 Hzの電気鍼に対する腎臓交感神経活動と心臓交感神経活動の応答には大きな乖離が生じた。腎臓交感神経が抑制されている最中でも、心臓交感神経活動があまり変化しないか逆に上昇する傾向がみられた。電気鍼の刺激強度が強いとグループIV線維を刺激して、侵害刺激となって交感神経を賦活化する可能性がある。侵害刺激を起こす刺激頻度として6~15 Hzが報告されている (Sato A et al. J Auton Nerv Syst 4: 231-247, 1981) ことから、侵害刺激の可能性を否定するために図3-2に示すように2 Hzの電気鍼刺激を行った。その結果、心臓交感神経活動は10 Hz刺激よりもむしろ上昇した。したがって、心臓交感神経活動の上昇は強い刺激強度による侵害刺激によるものではなく、電気鍼に対する交感神経活動の応答の地域差を反映したものであることが示唆された。

10 Hz刺激と2 Hz刺激で心臓交感神経活動と腎臓交感神経活動の関係をXYプロットしたところ、刺激強度に関係なくほぼ同じ直線上に分布した (図4)。このことから10 Hz刺激で観察された心臓交感神経活動と腎臓交感神経活動の応答の違いは、刺激強度依存性に生じたものではなく、電気鍼に対する応答の地域差であると考えられる。また、両者の回帰が高い相関を示したことから、電気鍼によって心臓交感神経活動と腎臓交感神経活動が無関係に変化するわけではなく、一定の関係を保って変化することが分かる。同じ電気鍼刺激に対して心臓交感神経活動と腎臓交感神経活動では中枢における情報処理に違いがあるものと推察される。

侵害刺激の可能性の他に心臓交感神経活動を賦活化させる機序として動脈圧反射がある。図1に示すように、ニトロプルシッドで血圧を低下させると、動脈圧反射を介して心臓交感神経活動も腎臓交感神経活動も増大する。電気鍼によって血圧が低下したときも、動脈圧反射を介して全身の交感神経活動を賦活化する作用が生じると考えられる。この動脈圧反射を介する交感神経活動の賦活化が腎臓交感神経よりも心臓交感神経において強く発現するならば、電気鍼によって腎臓交感神経活動が抑制されて血圧が低下したときに、心臓交感神経活動は逆に賦活化される可能性がある。そこで、動脈圧反射の影響を除外するために頸動脈洞神経及び大動脈減圧神経を除神経する実験を行った。しかしながら、動脈圧反射の影響を除外した条件下でも図5に示すように、電気鍼によって心臓交感神経活動に比べて腎臓交感神経活動が明らかに抑制され

た。したがって、電気鍼に対する交感神経活動の応答の地域差は動脈圧反射を介した二次的なものではないことが示唆された。

動脈圧反射を無効化し、迷走神経を切断した状態では 10 Hz の電気鍼刺激による降圧作用が増大した (図 3-1、図 5)。このことから、動脈圧反射や迷走神経を介する心肺領域からの反射系は、電気鍼による血圧低下を圧縮する方向に作用していたことが推察される。

D-2. 心拍数及び交感神経活動を目標とした電気鍼刺激

前年度までに電気鍼に対する血圧応答の静特性及び動特性を同定し、血圧フィードバックによって電気鍼の刺激強度を自動的に調節するシステムを開発した。本年度は同じ枠組みを用いて、心拍数や交感神経活動を目標とした電気鍼刺激が可能かどうかを検討した。前述のように電気鍼に対する心拍数の応答には個体差があり、必ずしも電気鍼によって心拍数が低下することはなかったが、電気鍼の最中に心拍数が低下する個体を対象にして、心拍数を目標とした電気鍼刺激を行った結果、約 10 拍/分の徐脈化を目標として心拍数フィードバックによる電気鍼刺激が可能であることが実証された。このことは、電気鍼を用いた治療システムの開発において、血圧だけでなく他の循環パラメータを利用した場合もフィードバックの枠組みを利用してシステムの開発が可能であることを示唆する。

D-3. 麻酔下ラットにおける電気鍼の影響の定量化

前述のように内因性の動脈圧反射は電気

鍼による降圧効果を打ち消すように作用する。麻酔下のラットにおいて電気鍼に対する血圧応答が麻酔下のネコの約 1/10 であることから、動脈圧反射を無効化した条件で、電気鍼が血行動態に及ぼす影響を定量化した。分担研究報告書に示すように、動脈圧反射を無効化した条件でも、電気鍼による降圧は約 9 mmHg であり、ネコに比べてラットでは電気鍼の効果が観察しにくいことが判明した。また、交感神経活動のパワースペクトルの検討から、1 Hz の電気鍼刺激に対して交感神経活動の引き込み現象 (entrainment) が生じる可能性が示唆された。心不全等の病態においては交感神経活動が増大し、電気鍼の効果がより強く現れる可能性を考えて、冠動脈閉塞によるラット心筋梗塞モデルを作成して、心筋梗塞作成から 3 ヶ月以上経過したラットを用いて電気鍼が血行動態に及ぼす影響を検討した。しかしながら、心筋梗塞ラットにおいても正常ラットと同じく、電気鍼による降圧効果はネコに比べて僅かであった。

D-4. ヒトにおける電気鍼システムの開発

分担研究報告書に示すように、ヒトにおいても痛みを感じない程度の通電刺激で心拍数が低下することが確認された。低周波 (1 Hz) と高周波 (10 Hz) 刺激を比較した場合、低周波刺激のほうが徐脈、降圧効果が大きかった。動物実験において明らかにされた、電気鍼がもたらす心拍及び血圧反応の知見は、覚醒下のヒトにおいても同様に確認された。しかしながら、徐脈及び降圧の程度は麻酔下のネコに比べて小さく、フィードバックによる電気鍼システムを開

発してその有用性を検討するには、刺激部位や刺激条件の最適化など、さらなる研究が必要であると思われる。

E. 結論

前年度までは腎臓交感神経活動だけを記録したが、心臓に対する電気鍼の効果をより直接的に評価するために心臓交感神経の同時記録を行った。その結果、心臓交感神経活動の応答には個体差があり、電気鍼によって心臓交感神経活動が抑制される個体ばかりでなく、心臓交感神経活動が賦活化される個体もあった。動脈圧反射や迷走神経を除外した条件下でも、電気鍼によって心臓交感神経活動が賦活化される例があったことから、心臓交感神経活動の賦活化は他の反射系を介する二次的なものではなく、電気鍼が交感神経活動に及ぼす影響の地域差であると考えられた。心臓交感神経活動の賦活化は心臓疾患にとっては望ましい変化とは言えないが、すべての個体において電気鍼によって腎臓交感神経活動は抑制され、血圧は低下したことから、心臓に対する後負荷を減らす作用はあると思われる。本研究では当初から血圧低下作用があるとされている足三里を中心に電気鍼の研究を行ったが、電気鍼に対する交感神経活動の応答に地域差があることから、足三里以外の経穴の刺激で全身の交感神経活動がどのような変化を示すかを調べていく必要がある。また、心臓交感神経活動の賦活化は心臓疾患にとっては望ましくないと思われるが、たとえば、腎疾患においては心拍出量を保ったまま腎臓交感神経活動を抑制して利尿を確保しなければならない病態もある。電気鍼に対する全身の交感神経活動の応答を

明らかにしていくことは、自律神経を介する臓器特異的な治療法の開発につながる可能性があると考えられる。

また、本年度は前年度までに設計した血圧フィードバックによる電気鍼の刺激強度の調節システムが、血圧以外の主要なパラメータである心拍数や交感神経活動を目標値として利用可能であることを実証した。心拍数応答に個体差があり、電気鍼に対する徐脈応答がみられない例があったことが今後の解決すべき課題であるが、血圧に比べて連続モニターが容易な心拍数を用いて電気鍼のフィードバック制御ができることは、今後電気鍼を利用した循環器疾患の治療システムを開発する上で大きな参考になると考えられる。実際にヒトにおいても電気鍼によって徐脈が観察されたことから、今後、心拍数を目標としたフィードバック型の電気鍼システムを開発できる可能性が示唆された。また、現在は長期に安定して交感神経活動を記録する技術は完成していないが、植込み電極などを用いて慢性的に交感神経活動をモニターできるようになれば、交感神経活動そのものを制御目標値として、交感神経活動を抑制し、循環器疾患を治療するシステムを開発できる可能性がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

G-1. 論文

1. Servo-controlled hind limb electrical stimulation for short-term arterial pressure control. Kawada T.

- Shimizu S, Yamamoto H, Shishido T, Kamiya A, Miyamoto T, Sunagawa K, Sugimachi M. *Circ J* (in press).
2. Artificial neural interfaces for bionic cardiovascular treatments. Kawada T, Sugimachi M. *J Artif Organs* (mini review) (in press).
 3. Wavelet-based system identification of short-term dynamic characteristics of arterial baroreflex. Kashihara K, Kawada T, Sugimachi M, Sunagawa K. *Ann Biomed Eng* 37(1):112-128, 2009.
 4. Electroacupuncture changes the relationship between cardiac and renal sympathetic nerve activities in anesthetized cats. Yamamoto H, Kawada T, Kamiya A, Kita T, Sugimachi M. *Auton Neurosci* 144(1-2): 43-49, 2008.
 5. Accentuated antagonism in vagal heart rate control mediated through muscarinic potassium channels. Mizuno M, Kamiya A, Kawada T, Miyamoto T, Shimizu S, Shishido T, Sugimachi M. *J Physiol Sci* 58(6): 381-388, 2008.
 6. Contrasting effects of presynaptic α_2 -adrenergic autoinhibition and pharmacologic augmentation of presynaptic inhibition on sympathetic heart rate control. Miyamoto T, Kawada T, Yanagiya Y, Akiyama T, Kamiya A, Mizuno M, Takaki H, Sunagawa K, Sugimachi M. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 295(5): H1855-H1866, 2008.
 7. Vagal stimulation suppresses ischemia-induced myocardial interstitial myoglobin release. Kawada T, Yamazaki T, Akiyama T, Kitagawa H, Shimizu S, Mizuno M, Li M, Sugimachi M. *Life Sci* 83(13-14): 490-495, 2008.
 8. Muscle mechanoreflex augments arterial baroreflex-mediated dynamic sympathetic response to carotid sinus pressure. Yamamoto K, Kawada T, Kamiya A, Takaki H, Shishido T, Sunagawa K, Sugimachi M. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 295(3): H1081-H1089, 2008.
 9. Upright tilt resets dynamic transfer function of baroreflex neural arc to minimize the pressure disturbance in total baroreflex control. Kamiya A, Kawada T, Yamamoto K, Mizuno M, Shimizu S, Sugimachi M. *J Physiol Sci* 58(3): 189-198, 2008.
- G-2. 学会発表
1. Mizuno M, Kamiya A, Kawada T, Sugimachi M. Muscarinic potassium channels play a significant role in the negative chronotropic response with or without background sympathetic tone. *Experimental Biology* 2008.
 2. 川田 徹、李 梅花、杉町 勝. 電気鍼を利用した血圧制御システムの開発. 第29回日本循環制御医学会総会.
 3. 李 梅花、鄭 燦、川田 徹、稲垣 正

- 司、佐藤 隆幸、杉町 勝. アンジオテンシンII受容体拮抗薬(ロサルタン)とアセチルコリンエステラーゼ阻害薬(ドネペジル)の併用投与による心筋梗塞後重症心不全ラットの心機能、心臓リモデリングの改善作用. 第 29 回日本循環制御医学会総会.
4. 川田 徹、清水 秀二、水野 正樹、神谷 厚範、穴戸 稔聡、杉町 勝. 血圧制御のための電気鍼の刺激強度調節システムの開発. 第 47 回日本生体医工学会大会.
 5. 水野 正樹、神谷 厚範、川田 徹、穴戸 稔聡、杉町 勝. 交感神経緊張はムスカリンK⁺チャンネルによる徐脈作用の迅速性に影響を及ぼさない. 第 47 回日本生体医工学会大会.
 6. 清水 秀二、穴戸 稔聡、川田 徹、水野 正樹、日高 一郎、上村 和紀、神谷 厚範、杉町 勝. Ebstein奇形における右房化右室が2心室修復術後の心機能に与える影響. 第 47 回日本生体医工学会大会.
 7. Shimizu S, Shishido T, Kawada T, Sano S, Sugimachi M. Presence of PA to PV regurgitation minimally affects postoperative hemodynamics of Norwood procedure: A theoretical analysis with valved RV-PA conduit. 43rd Annual Meeting of the Association for European Paediatric Cardiology.
 8. Sugimachi M, Kawada T, Yamamoto H, Kamiya A, Miyamoto T, Sunagawa K. Modification of autonomic balance by electrical acupuncture does not affect baroreflex dynamic characteristics. 30th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society.
 9. 川田 徹、日高 一郎、穴戸 稔聡、杉町 勝. 神経刺激と循環調節. BPES 2008. 第 23 回生体生理工学シンポジウム.
 10. 清水 秀二、秋山 剛、川田 徹、水野 正樹、神谷 厚範、穴戸 稔聡、杉町 勝. 心臓マイクロダイアリス法による心房アセチルコリン濃度の定量化. 第 101 回近畿生理学談話会.
 11. 水野 正樹、川田 徹、神谷 厚範、穴戸 稔聡、杉町 勝. ラット交感および迷走神経刺激に対する動的心拍数応答. 第 101 回近畿生理学談話会.
- H. 知的所有権の取得状況
なし

正常及び病態ラットにおける電気鍼刺激に対する循環応答の研究

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

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。本年度は前年度までに開発した血圧フィードバックによる電気鍼刺激システムを使って、心拍数や遠心性交感神経活動を目標値として電気鍼刺激が可能かどうかを検証した。その結果、心拍数や遠心性交感神経活動を目標値として電気鍼刺激を行うことが可能であることが示唆された。また、動脈圧反射の入力圧を正確に制御しながら、正常ラットにおける電気鍼の影響を定量化し、病態における電気鍼の効果を調べるために、ラット心筋梗塞モデルを用いた実験を実施した。心筋梗塞ラットにおいても正常ラットと同じく、電気鍼による降圧作用はネコに比べて小さいことが判明した。交感神経活動の詳細な検討により、電気鍼による交感神経の抑制は、電気鍼に同期した神経活動の引き込みが一因である可能性が示唆された。

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りがない。

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。

前年度は電気鍼に対する血圧応答の静特性及び動特性のデータを元に、設定した目標血圧に血圧を制御できる電気鍼制御システムを開発し、その性能を麻酔下の動物実験で検証した。本年度は同じ制御システムを用いて血圧の代わりに心拍数や交感神経活動を目標として電気鍼刺激が可能かどうかを検討した。また、電気鍼の作用メカニ

ズムを調べるために、動脈圧反射の入力圧を正確に制御しながら、正常ラットにおける電気鍼の影響を定量化した。さらに、交感神経活動が増加すると考えられる病態における電気鍼の効果を明らかにするために、左冠動脈結紮によるラット心筋梗塞モデルを用いて、電気鍼が血行動態に及ぼす影響を検討した。

B. 研究方法

B-1. 実験手技 1

フィードバックによる電気鍼刺激の研究は麻酔下のネコを用いて行った。ペントバルビタールを腹腔内投与して麻酔を施した後、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開始した。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。左側腹部切開を行い、腎動脈周囲に到達し、腎臓交感神経に神経活動記録用の電極を装着した。電極と神経をシリコン剤で固定した後、神経活動は 150 Hz~1000 Hz の帯域フィルターを通して増幅した後、全波整流を行い、30 Hz のローパスフィルターを通して定量化した。両足の膝関節下で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、アイソレータを介して 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。

B-2. 心拍数及び交感神経活動を目標とした電気鍼刺激

前年度までに開発した血圧フィードバック型の電気鍼システムにおいて、制御目標値を心拍数や交感神経活動で与えられるよ

うにプログラムを変更し、これら为目标値として電気鍼の刺激強度の調節が可能かどうかを検討した。

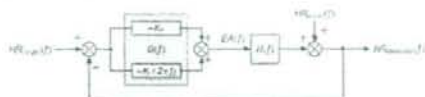


図1 心拍数フィードバックによる電気鍼の刺激強度の調節

図1に心拍数フィードバックによる電気鍼の刺激強度の調節の原理を示す。 HR_{Target} は目標心拍数、 $HR_{Measured}$ は実測された心拍数である。 $G(f)$ は制御器の伝達関数、 $H(f)$ は制御対象の伝達関数である。制御器の比例ゲイン K_p 及び積分ゲイン K_i は本来、電気鍼に対する心拍数応答の伝達関数を使ってシミュレーションを行い決定すべきであるが、ここでは血圧応答と心拍数応答の類似性から、血圧応答の伝達関数に基づいて決定した値をそのまま用いて心拍数フィードバックによる刺激強度の制御を試みた。

B-3. 実験手技 2

正常ラットにおける電気鍼の影響を定量化する研究は麻酔下の Sprague-Dawley ラットを用いて行った。 α クロラロース+ウレタンを腹腔内投与後に気管切開を行い、人工呼吸を開始した。右大腿静脈より持続麻酔用の静脈カテーテルを、右大腿動脈より動脈圧測定用の動脈カテーテルを挿入した。動脈圧反射や他の反射系の影響を除いた状態で、電気鍼の影響を定量化するために、両側の迷走神経及び大動脈減圧神経を頸部で切断した後、両側の頸動脈洞を体循環から外科的に分離した。頸動脈洞の分離は顕微鏡下に頸動脈分岐部直近で外頸動脈を 7-0 プロリン糸で結紮した後、内頸動脈

に直径0.8 mmのスチールボールを2~3個閉塞させた。頸動脈洞にリング液を充填した後、内圧はサーボポンプによって自在に制御できるようにした。左側腹部切開を行って、腹腔神経節から出た交感神経の枝に記録用電極を装着した。交感神経活動の信号処理は実験方法1と同じである。膝関節よりも下側で脛骨外側の足三里に相当する部位に電気鍼を刺入して、電気鍼が動脈圧や交感神経活動に与える影響を検討した。データは200 Hzでアナログ・デジタル変換した後、コンピュータに保存した。

B-4. 実験手技3

病態における電気鍼の効果を検討するために、ラット心筋梗塞モデルを作成した。8週令のSprague-Dawleyラットにハロセン麻酔を施行し、経口挿管により人工呼吸を行った。左第2肋間を開胸して、左冠動脈を5-0プロリン糸で結紮した。結紮後1時間は心電図を観察し、心室細動が生じたときは綿棒で心臓マッサージを行って積極的に除細動した。その後、閉胸して脱気した後、麻酔から回復させ、自由摂食と飲水、自由行動下に飼育した。

心筋梗塞作成から3ヶ月以上経過したラットに麻酔を施行し、人工呼吸下に実験を実施した。右大腿静脈よりカテーテルを挿入して α クロラロース+ウレタンによる持続麻酔を開始した。左大腿静脈より静脈カテーテルを下大静脈まで挿入し、中心静脈圧を測定した。右大腿動脈より動脈カテーテルを挿入して動脈圧と心拍数を測定した。左側腹部切開を行って、腹腔神経節から出た交感神経の枝に記録用電極を装着した。足三里に相当する部位に電気鍼を刺入して、

刺激強度を変えながら、交感神経活動及び動脈圧の応答を測定した。

(倫理面への配慮)

本年度に実施した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. 心拍数及び交感神経活動を目標とした電気鍼刺激

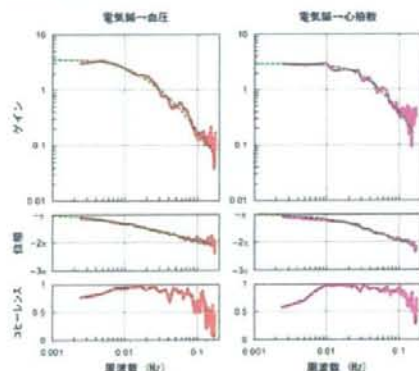


図2 電気鍼に対する血圧応答と心拍数応答の伝達関数

図2に麻酔下のネコにおける電気鍼に対する血圧応答と心拍数応答の伝達関数を示す。電気鍼に対して徐脈応答を示した例では、電気鍼から心拍数応答までの伝達関数は、血圧応答までの伝達関数と同じく、周波数が高いほど応答が小さくなるローパスフィルターの特性を示した。これらのローパスフィルターは緑の点線で示すように、無駄時間を含む2次遅れの伝達関数で近似することが可能であった。図2の例では、

血圧応答の伝達関数の自然周波数は 0.024 Hz、減衰係数は 1.37、無駄時間は 0.7 秒であった。心拍数応答の伝達関数の自然周波数は 0.039 Hz、減衰係数は 1.02、無駄時間は 0.9 秒であった。

原理的には電気鍼に対する心拍数応答の伝達関数を利用して、制御器の制御パラメータを設計し直すべきであるが、血圧応答と心拍数応答の類似性から、血圧応答に基づいて決定した制御パラメータをそのまま利用して電気鍼の刺激強度の制御を試みた。

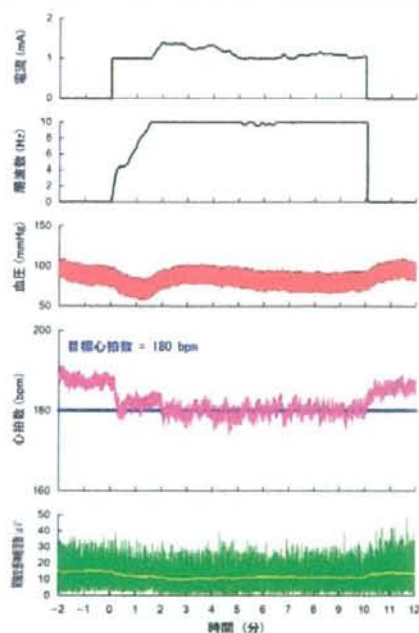


図3 心拍数を目標としてフィードバック型の電気鍼システムを駆動させた実験例

図3に心拍数を目標とした電気鍼刺激の一例を示す。刺激前心拍数 190 拍/分に対して目標心拍数を 180 拍/分としたところ、10 分間の制御の間、青色の水平線で示す目標心拍数を保つことが可能であった。前年度に開発した制御アルゴリズムに基づき、

刺激開始 1 分 30 秒までは刺激電流を 1 mA に常に保ったまま、刺激周波数を上昇させることで、徐脈効果を得ていることが分かる。刺激周波数が 10 Hz に到達した後は、刺激電流の増減によって目標心拍数を保っている。これらの制御結果は、血圧フィードバックによる刺激強度の調節と同等であった。10 分間の刺激終了後、心拍数は元のレベルに向かって上昇した。

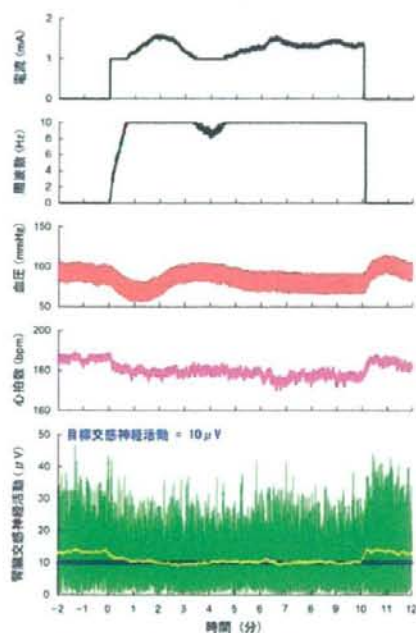


図4-1 交感神経活動を目標としてフィードバック型の電気鍼システムを駆動させた実験例

図4-1に交感神経活動を目標とした電気鍼刺激の一例を示す。緑色の線は 200 Hz のサンプリングデータに対して 10 Hz の区間平均を行って表示した腎臓交感神経活動、黄色の線はさらに 100 点の移動平均を行い、約 10 秒間の平均値として交感神経活動を示したものである。刺激前は 13 μV 程度であった交感神経活動が、10 分間の刺激の間

は青色の水平線で示した目標値付近に抑えられている。電流や周波数のコマンドが図1に比べて太く見えるが、これは交感神経活動のバースト状の活動が電気鍼の制御コマンドに反映されてしまった結果と考えられる(図4-2)。10分間の電気鍼終了後、腎臓交感神経活動は元のレベルに向かって上昇した。電気鍼の施行中、心拍数も低下したが、刺激前半よりも後半で心拍数の低下が大きかった。

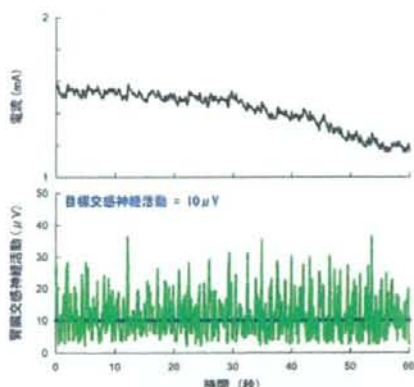


図4-2 図4-1の刺激2分目から3分目までの刺激電流と腎臓交感神経活動を拡大表示したもの

C-2. 正常ラットにおける電気鍼の影響の定量評価

通常の状態では動脈圧反射を主とする高圧系の反射系及び心肺領域から迷走神経を介して作用する低圧系の反射系が血圧を一定に維持しようと作用するので、生体にとって外乱である電気鍼のような入力に対する応答は観察されにくくなる。前年度の研究結果から、ラットにおける電気鍼の作用はネコに比べて小さいことが分かったので、電気鍼の作用をさらに正確に評価するために、迷走神経及び大動脈減圧神経を切断し、頸動脈洞への入力圧を正確に制御した条件

で電気鍼の効果を検討した。

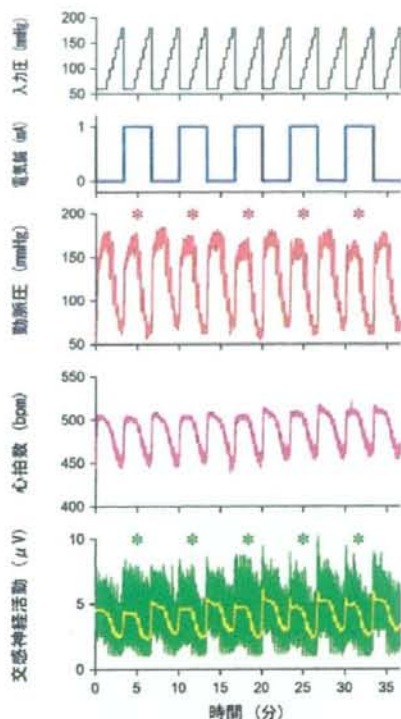


図5 動脈圧反射を開ループ状態にした条件における電気鍼の作用

図5に実験記録を示す。頸動脈洞圧受容器への入力圧はサーボポンプで制御して、1ステップが20秒で60~180 mmHgまで変化する階段状入力を繰り返して与えた。偶数番目の階段状入力では、両側の足三里に相当する部位に対して、500 μs、1 mA、1 Hzの通電を行った。その結果、*で示した偶数番目の試行において、動脈圧は低下した。これに対して心拍数の応答には偶数番目と奇数番目で明らかな変化は認められなかった。腹腔神経節の枝から記録した交感神経活動を10秒の移動平均で示した黄色の線を見ると、動脈圧の変化と同じく偶数番目