

の試行で抑制されていることが分かる。

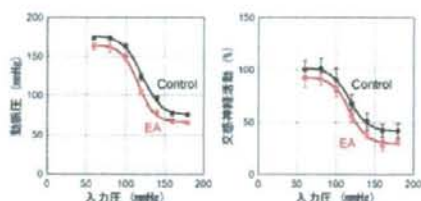


図6-1 入力圧-動脈圧関係及び入力圧-交感神経活動に対する電気鍼(EA)の作用

図6-1に示すように、足三里への電気鍼を行うと、頸動脈洞圧反射からみた入力圧-動脈圧関係が下側へシフトした。入出力関係をシグモイド曲線で近似すると、血圧の応答範囲にほとんど変化はなく、最低血圧が約9 mmHg低下した。入力圧-交感神経活動関係も下側へシフトした。

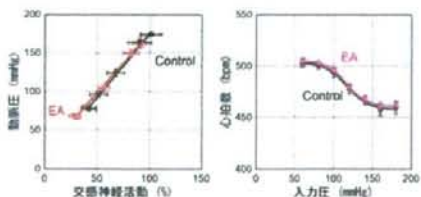


図6-2 交感神経活動-動脈圧関係及び入力圧-心拍数関係に対する電気鍼(EA)の作用

図6-2に示すように、交感神経活動-動脈圧関係は交感神経活動の低下に伴ってグラフの範囲が左下方に移動したが、電気鍼前後で同じ直線上に分布した。入力圧-心拍数関係には明らかな変化はみられなかった。

1 Hz で電気鍼刺激を行っている最中は交感神経活動のサウンドモニターで刺激パルスに一致したバースト音が聴取された。これが刺激パルスによる単なる電気ノイズかどうかを検討するために、プロトコル終了後に神経節遮断薬であるヘキサメソニウムを静脈投与した。その結果、通電刺激

を続けているにも関わらず、電気パルスに一致したバースト音は聞こえなくなり、その後、通電刺激をオフにしても交感神経活動のレベルに変化がなかったことから(図7)、通電刺激によって電気パルスに一致した交感神経活動の発火が生じることが推察された。

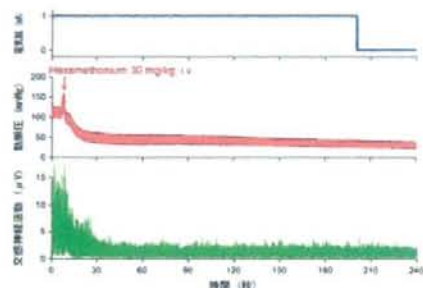


図7 神経節遮断薬の投与によるバースト状の神経活動の消失

図8に入力圧を160 mmHgに保ったときの動脈圧と交感神経活動を示す。左はコントロール、右は1 Hzの電気鍼刺激を行っている最中のデータである。

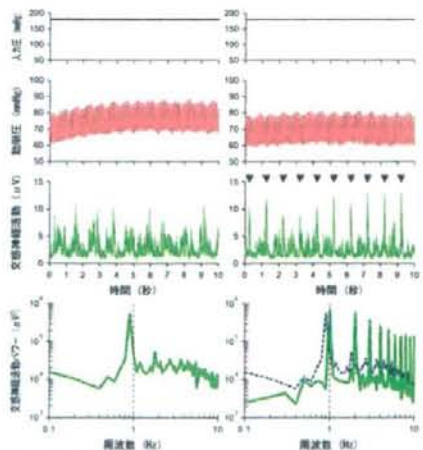


図8 交感神経活動のパワースペクトルに対する電気鍼の影響

図8下段は交感神経活動のパワースペクトルである。電気鍼刺激を行っていないときも1 Hz 付近にパワーがみられるが正確には1 Hz からずれている。これに対して、1 Hz の電気鍼刺激を行っているときは、ちょうど1 Hz に交感神経活動のパワーが現れ、その高調波である2、3、4 Hz...に一致してパワーがみられる。右図下段の点線は左図下段のパワースペクトルを重ね描きしたものであるが、1 Hz 及びその高調波において交感神経活動のパワーが高くなるものの、それ以外の周波数では逆にパワーは低下した。

### C-3. 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

心筋梗塞ラットを作成して3ヶ月以上経過した後、麻酔下に血行動態を測定した。中心静脈圧は  $2.4 \pm 0.3$  から  $5.4 \pm 2.4$  mmHg に上昇し ( $P < 0.010$ )、心臓リモデリングを反映して、体重当たりの心臓重量(左室+右室)は  $2.2 \pm 0.1$  から  $2.7 \pm 0.3$  g/kg に増大した ( $P < 0.004$ ) (図9)。

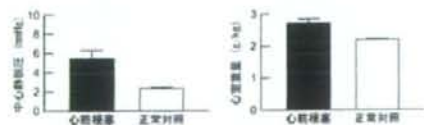


図9 心筋梗塞ラットと正常対照ラットの中心静脈圧及び体重当たりの心臓重量

図10に心筋梗塞ラットに対して電気鍼を行った結果を示す。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、前年度に実施した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。心拍数も低下する傾向を示したが、大きな変化はみられなかった。この例では交感神経活動に明らかな変化はみられなかった。

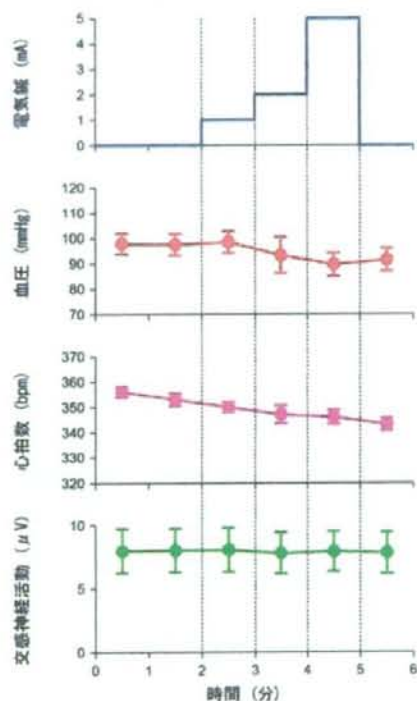


図10 心筋梗塞ラットにおける電気鍼の影響

## D. 考察

### D-1. 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て、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。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

気鍼で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(図3)。その結果、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。電気鍼刺激に対する血圧応答と心拍数応答はともに良く似たローパスフィルターの特性を示すことから(図2)、前年度に決定した比例ゲイン及び積分ゲインの値を変更することなく、制御量を血圧から心拍数に変えるだけでフィードバック制御が可能であったものと考えられる。

次に、交感神経活動を目標値としてフィードバックによる電気鍼刺激が可能かどうかを検討した。交感神経から記録される電位の絶対値は実験条件によって異なるため、あらかじめ交感神経活動の平均電位を確認した後、ここでは10  $\mu\text{V}$  を目標電位と定めた。交感神経活動はバースト状の活動を示すので、瞬時の交感神経活動は目標交感神経活動とは乖離する。しかしながら、10秒の移動平均を行った黄色の線の経過をみると、電気鍼開始後約1分で目標の10  $\mu\text{V}$  まで低下し、その後10分間の制御の間、ほぼ10  $\mu\text{V}$  に制御されていることが分かる(図4-1)。このとき、操作量の電流及び周波数コマンドを詳しくみると、図3に比べて小刻みな変動が生じている(図4-2)。これは制御器の積分ゲインを介して、バースト状の交感神経活動が操作量に反映されたものと考えられる。前年度に設計した血圧フィードバックでは、制御器の比例ゲインを0にすることで、操作量に脈圧が入るのを防いだ。操作量に交感神経活動の変動が入るのを防ぐには不十分であることが分かる。黄色で示した10秒の移動平均は実験

後にオフラインで表示したものであるが、このようなローパスフィルターを通じた交感神経活動を制御量とすることで、操作量の小刻みな変動は防げると思われる。

## D-2. 正常ラットにおける電気鍼の影響の定量評価

前年度は生体の血圧制御系を残したままで電気鍼の作用を調べたが、ラットにおいては電気鍼の作用がネコに比べて小さいことから、生体の血圧制御系を開ループにした条件下で電気鍼の影響を検討した。その結果、動脈圧反射における入力圧・動脈圧関係は約9 mmHg だけ下方にシフトした。このとき、入力圧・交感神経活動関係も平行移動的に下方にシフトした(図6-1)。私たちの以前の研究において、麻酔下のウサギでは入力圧・交感神経活動関係は下方にシフトするというよりも、交感神経活動の最低レベルは変化せず、最大レベルが低下することで、交感神経活動の応答範囲が77%程度に減少した(Michikami D et al., *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 291: H318-H326, 2006.)。今回の麻酔下のラットでは交感神経活動の最低レベルの変化は約10%程度なので、変化としてはウサギよりも小さいことになる。ウサギの場合と同じく、交感神経活動・動脈圧関係は電気鍼によって変化することはなく、同じ直線上に分布した(図6-2)。このことから、電気鍼の作用は直接の血管拡張作用などによるものではなく、交感神経活動の変化を介したものであることが示唆される。この解釈は、前年度に実施した麻酔下のネコにおいて、坐骨神経を切断すると電気鍼に対する応答が消失した結果とも一致する。今回の



実験結果では電気鍼によって動脈圧が低下したにも関わらず、入力圧・心拍数関係はほとんど不変であった(図6-2)。本年度の主任研究者の研究結果でも示されたように、電気鍼に対する交感神経活動の応答には地域差がある。腹腔神経節の枝から記録した交感神経活動は電気鍼で低下したものの、心臓交感神経活動は変化しなかったことが推察される。

1 Hz の電気鍼を行ったときに電気鍼のパルスに一致して交感神経活動のサウンドモニターにバースト音が聴取された。この電気パルスに一致したバースト音は神経節遮断薬の投与で消失したことから、単なる電気ノイズではなく、交感神経活動であることが示唆された(図7)。そこで、交感神経活動のパワースペクトルを計算したところ、電気鍼の実施中は電気パルスに一致した1 Hz のパワーとその高調波が増大することが判明した。それ以外の周波数では逆にパワーが低下していることから、恐らく交感神経活動の引き込み現象(entrainment)が生じていたと考えられる。引き込み現象の発生によって全体としての交感神経活動の平均レベルが減少するメカニズムについては今後の検討課題である。

#### D-3. 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

前年度に正常ラットを用いて電気鍼が血行動態に及ぼす影響を調べたが、血圧応答はネコに比べて約1/10であり、電気鍼が血行動態に及ぼす影響の種差が考えられた。本年度は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

て電気鍼の効果を検討した。心筋梗塞では交感神経活動が増大すると考えられるが、神経活動の直接測定において神経活動の絶対値は神経と電極の接触などの記録条件に左右されるために、正常対照ラットと心筋梗塞ラットの交感神経活動を直接比較することは難しい。本実験では心筋梗塞作成後3ヶ月以上経過したラットにおいて中心静脈圧は上昇し、心室重量が増大していた(図9)。このような心筋梗塞ラットにおいて電気鍼を実施したが、前年度の結果やC-2の結果と同じく、ラットにおける血圧応答はネコに比べて僅かであった。

#### E. 結論

本年度は前年度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。

#### 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. 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.
  3. 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.
- G-2. 学会発表
1. 川田 徹、清水 秀二、水野 正樹、神谷 厚範、宍戸 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.
  2. 畝 大、清水 秀二、宍戸 稔聡、杉町 勝、吉鷹 秀範、杭ノ瀬 昌彦. 冠動脈バイパス術中に測定されたグラフト血流は何を意味するのか? 第 47 回日本生体医工学会大会.
  3. 水野 正樹、神谷 厚範、川田 徹、宍戸 稔聡、杉町 勝. 交感神経緊張はムスカリンK<sup>+</sup>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.
  4. 清水 秀二、宍戸 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.
  5. 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.
  6. 川田 徹、日高 一郎、宍戸 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.
  7. Sugimachi M, Uemura K, Shishido T, Kamiya A, Shimizu S, Sunagawa K. Theoretical and experimental demonstration of minimizing O<sub>2</sub> consumption under preserved hemodynamics in heart failure. XVIIIth Cardiovascular System Dynamics Society.
  8. Shishido T, Uemura K, Baba Y, Kato TS, Hashimura K, Yasumura Y, Sugimachi M. It is possible to predict hemodynamic response to phosphodiesterase 3 inhibitor in patients with heart failure? XVIIIth Cardiovascular System Dynamics Society.
  9. 清水 秀二、秋山 剛、川田 徹、水

- 野 正樹、神谷 厚範、宍戸 稔、  
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.
10. 水野 正樹、川田 徹、神谷 厚範、宍戸 稔、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.
11. Shimizu S, Akiyama T, Kawada T,  
Kamiya A, Shishido T, Sugimachi M.  
In vivo direct monitoring of  
postganglionic vagal nerve activity  
on the sinoatrial node. The 73rd  
Annual Scientific Meeting of the  
Japanese Circulation Society.
12. Li M, Zheng C, Kawada T, Inagaki M,  
Uemura K, Shishido T, Akiyama T,  
Sugimachi M. Blockade of  
 $\alpha 7$ -nicotinic acetylcholine receptors  
attenuates cardio-protective effects  
of donepezil in rats with extensive  
myocardial infarction. The 73rd  
Annual Scientific Meeting of the  
Japanese Circulation Society.

#### H. 知的所有権の取得状況

なし



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

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

研究要旨

本研究では、刺激の強度・頻度・持続時間が容易に統一できる鍼通電が、ヒトの心拍応答に及ぼす影響を明らかにすると共に、その効果の再現性や刺激条件について基礎的な検討を行うことを目的とする。健康者8名（20.9 ± 5.9歳）に対して、手関節横紋全面と肘内側との中間地点にあるツボ（郄門穴）に刺入深度5mmで刺鍼し、2Hzの刺激頻度・5msecの持続時間・1Vの通電刺激を行ったところ、鍼通電刺激により心拍数は減少した。10mmの刺入深度においても、同様に心拍数の減少効果が認められた。この反応には自律神経を介するメカニズム（交感神経活動の抑制・迷走神経活動の亢進）が関与していると考えられる。また、高周波（10Hz）刺激に比べて低周波（1Hz）刺激のほうが徐脈および降圧作用が大きかった。今後、低周波での鍼通電刺激が、心不全患者に対する新たな治療手段の一つとして有用である可能性が示唆された。

A. 研究目的

鍼は東洋療法の一つで、1974年の世界保健機構の鍼灸適応症ガイドラインでは、自律神経の機能障害、末梢性・中枢性神経疾患が治療対象にあげられている。近年、動物やヒトを対象とした鍼に関する基礎的研究は積極的に進められており、動物を用いた実験系においては、四肢への鍼刺激が橈骨神経・尺骨神経・正中神経などの体性神経系を通じて、腎交感神経活動の抑制および血圧低下をもたらすことが報告されている。Nishijoらの報告では、ヒトの前腕に対して徒手による鍼刺激を行ったところ、心拍数が減少し、アトロピン及びプロプラノロール投与後では、その反応が減弱したことから、そのメカニズムには、交感神経の

減弱及び副交感神経活動の亢進の両方が影響していることを確認している（Nishijo K et al. Neurosci Lett 1997; 227(3):165-168）。

従来の先行研究で主に利用されてきた徒手による鍼刺激は、施術者の技量によって変動が大きく、刺激の強度、頻度や時間などの条件を正確にコントロールすることが困難である。それゆえ鍼刺激に対する自律神経活動および循環応答に関する定量的なデータやその再現性に関する科学的データが不足し、根拠に基づく医療が実践されるには至っていないと考えられる。

近年の臨床研究では、循環器疾患の病態決定には自律神経系が深く関与し、循環系を調節する自律神経活動の異常（交感神経活動の亢進と迷走神経活動の消退）によ

て、病状が悪化することが報告されている。それらの知見に基づいて、最近では交感神経作用を抑制する $\beta$ 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。Liらは迷走神経への直接の通電刺激が、ラット慢性心不全モデルの生存率を劇的に向上させることを報告している (Li M et al. Circulation 2004; 109(1):120-124.)。自律神経活動を正常に維持することが、循環調節機構の破綻を防ぐ手段となる可能性を示唆するものである。

これまで、鍼治療は薬物によらない循環器疾患の治療法として、古くから利用されてきたが、上述のように、徒手鍼を用いた方法論では、その作用機序や治療効果に関する正確かつ定量的なデータを得ることが困難であると予想され、今後、データの定量性を重視する基礎研究の推進や、臨床試験への鍼療法への応用展開の効率性を考えれば、刺激の強度、頻度や時間などの条件を正確にコントロールできる鍼通電刺激を用いた新たな方法論の枠組みを構築していくことが必要不可欠と考えられる。

すでに、我々は、動物実験にて、鍼通電プログラム刺激を用いて循環パラメータを実測しながらその効果を定量評価できる方法論を確立しており、血圧の外部制御にも成功した。そこで、本研究は、ヒトを対象として、鍼通電プログラム刺激が心拍反応に及ぼす影響を明らかにし、その再現性や鍼刺入深度、および刺激周波数による影響をそれぞれ明らかにすることを目的とした。

## B. 研究方法

### B-1-1. 実験手技 (実験1)

実験は循環器疾患歴のないことを条件として選定した健康者8名 (20.9 $\pm$ 5.9歳)を被検者として行った。全ての被検者に対しては、実験の目的・方法・起こりうる危険性を十分説明した上で実験に参加の同意を得た。本実験の計画は、森ノ宮医療大学の倫理委員会に承認を得た上で実行した。被検者は実験室入室後、心電図用電極を取り付け、十分に安静にした後、0.16 mm直径のステンレス製鍼 (CE0123, セイリン)を、目的の経穴 (郛門:前腕部前面中央)に5 mmの深度まで刺鍼した。心拍数はテレメータ心電計 (Life Scope B, 日本光電)を用いて計測した。得られた心電図データは、実験中1000 Hzのサンプリング周波数でコンピューターに連続的に記録し、実験終了後にオフライン解析を行った。

### B-1-2. 通電条件及び通電プロトコール

通電プログラム刺激は電気刺激器 (日本光電 SEN-7103)を用いて行い、方形波、刺激周波数2 Hz、電流1 V、持続時間5 msの条件で行った。通電プロトコールは、先ず刺激無し2分間、その後刺激有り2分間の計4分間を1サイクルとし、そのサイクルを3回繰返し、試行回数の違いも検討した (図1)。

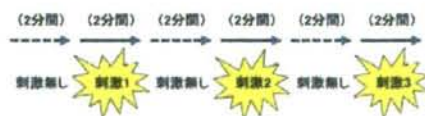


図1 鍼通電刺激プロトコール

加えて、刺鍼深度の違いを検討するため、8名中5名の被検者に対して、10 mmの深



さまで刺鍼し、通電刺激無し 2 分間、その後通電刺激有り 2 分間における心拍応答も観察検討した。

### B-1-3. アンケート評価

参考データとして、鍼通刺激に対する、得気もしくは筋収縮の有無、通電刺激による刺激感の程度には、視覚的アナログ尺度を用いて、0 (全く刺激を感じない) ~10 (非常に強い刺激を感じる) の範囲で刺激の強度を調査した。

### B-2-1. 実験手技 (実験 2)

実験は循環器疾患歴のないことを条件として選定した健康者 9 名 (28.1±7.3 歳) を被検者として行った。全ての被験者に対しては、実験の目的・方法・起こりうる危険性を十分説明した上で実験に参加の同意を得た。本実験の計画は、森ノ宮医療大学の倫理委員会に承認を得た上で実行した。被験者は実験室入室後、心電図用電極を取り付け、十分に安静にした後、0.16 mm 直径・長さ 40 mm のステンレス製鍼 (ユニコ製) を、目的の経穴 (郗門: 前腕部前面中央) に 5 mm の深さまで刺鍼した。心拍数は小型心電図テレメータ (TEAC 製 STS-1C) によって、血圧は自動血圧計 (Colin 製 BP-608) を用いて、それぞれ連続的に計測した。心拍数及び血圧データは、200 Hz のサンプリング周波数でコンピュータに記録し、実験終了後にそれぞれオフライン解析を行った。

### B-2-2. 通電条件及び通電プロトコール

通電刺激は電気刺激器 (日本光電

SEN-7103) を用いて行い、方形波、電流 1 V、持続時間 5 ms の条件で行った。刺激強度に対する心拍及び血圧応答の違いを検討するために、通電頻度は 1 Hz (低周波刺激条件) と 10 Hz (高周波刺激条件) の 2 条件をランダムに選択して行った。通電プロトコールは、先ず刺激無し 2 分間、その後刺激有り 2 分間の計 4 分間を 1 サイクルとし、そのサイクルを 3 回繰返し、試行回数の違いも検討した (図 1)。

### B-3. 統計

全てのデータは、平均±標準偏差で表した。統計処理は、繰返しのある二元配置もしくは一元配置の分散分析を用いて行った。統計的有意差は  $p < 0.05$  とした。再現性の検討は、試行間の平均値をテスト-再テスト法により検討した。

## C. 研究結果

### C-1. 実験 1

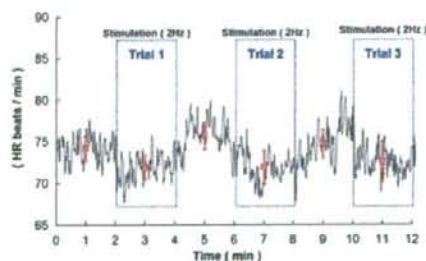


図 2 低周波鍼通電刺激時の心拍応答

本実験に参加した全ての被験者は、今回用いた通電刺激に対して、痛みを訴えたものは無く、刺激の程度も 10 段階評価による  $2.0 \pm 1.8$  と低強度の刺激であったことが示された。これらの結果から、本実験で用い

た刺激は、痛みの無い、刺激強度の低い刺激であったと言える。

図2に、低周波鍼通電刺激時の心拍反応(3試行)を示す。刺激前の安静時平均心拍数は  $74.6 \pm 11.1$  拍/分であった。心拍数は通電開始とともに減少し、刺激をやめると安静値まで回復した。二元配置の分散分析の結果、刺激の主効果が認められた ( $p < 0.01$ )。

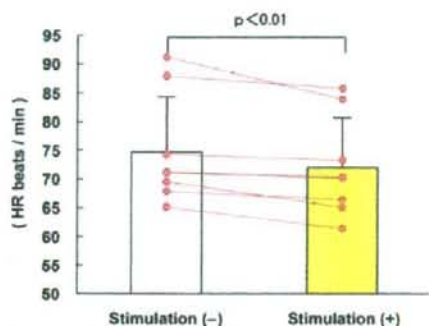


図3 刺入深度 5 mm における非通電時と通電時の平均心拍数の比較

図3に刺入深度 5 mm の条件における鍼通電刺激無しと有りの全試行の平均値の結果を示す。鍼通電刺激により心拍数は  $74.8 \pm 9.6$  から  $72.1 \pm 8.7$  拍/分まで有意に減少した ( $p < 0.01$ )。

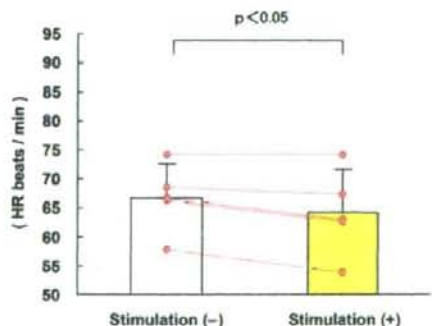


図4 刺入深度 10 mm における非通電時と通電時の平均心拍数の比較

図4は刺入深度 10 mm の条件における通電刺激時と非通電刺激時の平均心拍数を比較したものである。刺入深度を 10 mm まで深くして、刺鍼通電を行った場合、心拍数は  $66.7 \pm 5.9$  から  $64.1 \pm 7.4$  拍/分まで減少し ( $p < 0.05$ )、深さを変化させても通電に対する心拍数減少効果にはあまり差がないことが明らかとなった。

各試行間にて鍼通電刺激による心拍数減少の再現性に関する検討を行った(図5)。鍼通電刺激中の各試行での心拍数には有意な差がなく、同一被検者の心拍数には、それぞれ有意な相関関係が認められ、特に2試行目と3試行目の相関係数は、他の試行間と比較して高い値 ( $r = 0.96$ ) を示した(図5参照)。

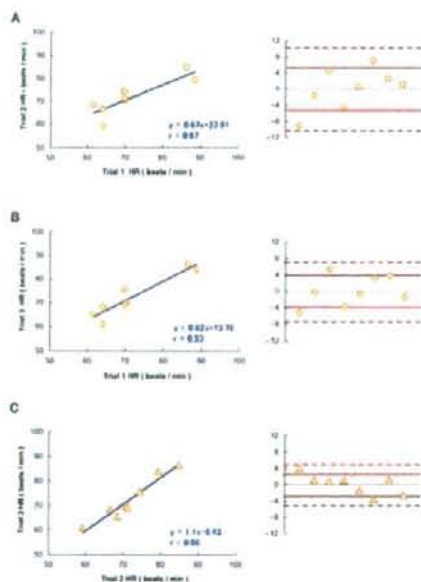


図5 繰り返し鍼通電刺激時における個人毎の心拍数の再現性。A: 1試行目と2試行目、B: 1試行目と3試行目、C: 2試行目と3試行目

## C-2. 実験2

低周波及び高周波刺激プロトコール開始前の心拍・血圧は、共に2プロトコール間で有意な差は認められなかった。実験中、急激な体動によって2名の血圧値が正確に測定されなかったため、10 Hzの刺激条件の血圧は7名のデータを用いて評価した。図6、7に、1 Hzと10 Hzでの鍼通電刺激条件下での血圧変化を示した。低周波刺激条件(1 Hz)において、血圧は試行回数に依存して有意な減少が認められた(One-way ANOVA,  $p=0.034$ )。一方、高周波刺激条件(10 Hz)においては、試行回数における有意な血圧の変化は認められなかった(図7参照)。

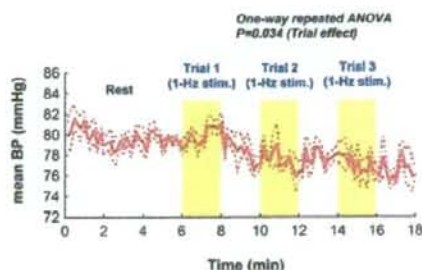


図6 低周波(1 Hz) 鍼通電刺激条件下での血圧変化

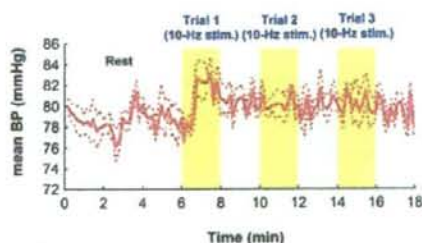


図7 高周波(10 Hz) 鍼通電刺激条件下での血圧変化

図8、9には、1 Hzと10 Hzでの鍼通電刺激条件下での心拍数の変化を示した。低周波条件(1 Hz)で、試行回数に依存して

有意な減少効果が認められ(One-way ANOVA,  $p=0.006$ )、3試行目(62.9 beats/min)は安静時(66.1 beats/min)と1試行目(65.9 beats/min)と比較して有意に低い値を示した。高周波条件(10 Hz)では試行回数における有意な心拍数の変化は認められなかった(図9)。

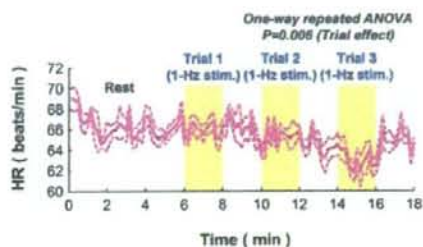


図8 低周波(1 Hz) 鍼通電刺激条件下での心拍数の変化

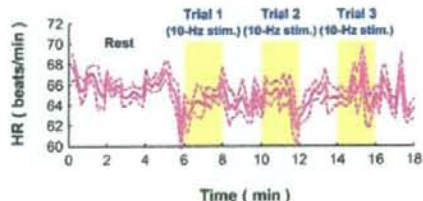


図9 高周波(10 Hz) 鍼通電刺激条件下での心拍数の変化

## D. 考察

本研究で認められた、鍼通電プログラム刺激による心拍数の減少効果は、徒手による鍼刺激によって得られた結果と類似している。ラットを用いた実験において、Zhouらは、鍼通電プログラム刺激が手動による鍼刺激と同様に、交感神経興奮性の心臓血管反応を抑制すると報告している(Zhou W et al. J Appl Physiol 2005; 98(3): 872-880.)。それゆえ、本研究で用いた鍼通電プログラム刺激は、手動による鍼刺激と同様の心拍の減少効果を引き起こすことが



明らかになった。

Nishiojo らによると、本研究でも用いた郵門穴に対して徒手鍼刺激を行ったところ、顕著な心拍減少反応が認められたと報告している (Nishiojo K et al. *Neurosci Lett* 1997; 227(3): 165-168.)。加えて、これらの心拍減少効果は、交感神経遮断剤であるプロプラノロール投与後、迷走神経遮断剤であるアトロピン投与後には減弱したため、交感神経と副交感神経両方が心拍数減少効果に関与していると述べていることより、本研究における心拍減少効果には交感神経活動の減弱及び迷走神経活動の亢進がともに関与している可能性が大きいと推察される。

これまで、鍼刺激が引き起こす心拍数及び血圧減少の詳細な作用機序は明らかにされていない。動物実験において、Uchida らは、GABA<sub>A</sub> 受容体遮断剤であるピククリンの投入時には心拍数の減少効果がほぼ消失したことから、鍼通電刺激によってもたらされる心拍数の減弱には脳幹の GABA<sub>A</sub> 受容体が関与していると述べている (Uchida S et al. *Auton Neurosci* 2008; 143(1-2):12-19.)。Zhou らは、鍼刺激によって引き起こされる内臓交感神経反射には、吻側延髄腹外側野が重要な役割を果たしていることを、ネコを用いた実験によって明らかにしている (Zhou W et al. *J Appl Physiol* 2005; 98(3): 872-880.)。これらの研究から、本研究の鍼通電プログラム刺激によってもたらされる心拍の減弱効果は、中枢を介した反射経路が関与していると推察される。

先行研究にて観察された心拍の減少反応の多くは、低周波条件の刺激で顕著に認め

られている。例えば動物実験において、前述の Zhou らは 2 Hz、4 Hz、100 Hz の周波数で鍼通電刺激を行ったところ、2 Hz の低周波刺激のみ、Aδ と C 求心性線維が刺激され、内臓交感神経抑制効果が確認されたことを報告している。また、Uchida らは、0.1-2 Hz の低周波刺激は、効果的な心拍減弱応答を引き起こすこと、鍼刺激によってもたらされる心拍減弱応答は、グループ I、II、III 求心性線維の刺激では、有意な反応は認められず、グループ IV 線維の通電刺激において顕著な心拍減少が生じると報告している。本研究においても、高周波よりも低周波での鍼通電プログラム刺激条件が心拍数に及ぼす効果が強く、動物実験で観察された結果と一致するものであった。

本研究において、それぞれの試行回数間で有意な相関関係が得られ、2 と 3 試行目に引き起こされた心拍減少効果は、1 と 2 試行目及び 1 と 3 試行目と比較して、高い相関係数が得られた。これらの結果は、低周波鍼通電プログラム刺激によって、心拍減少効果は確認されるが、その応答には試行回数を重ねることでより個体差の少ない、再現性の高いデータを獲得できることを示唆する。しかしながら、本研究においては 1 条件のみの検討であったため、ヒトに対する最適な刺激条件に関しては、今後の研究課題である。

近年、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新たな治療法の一つとして、鍼刺激が有用となる可能

性が示唆された。また、刺激の強度、頻度や時間などの条件を正確にコントロールでき、かつ高い再現性のある鍼通電プログラム刺激は、今後、データの定量性を重視する基礎研究の推進や、臨床試験への鍼療法の応用展開を効率的に進めていく上で必要かつ有用なツールになり得ると考えられた。

本研究で用いた鍼通電刺激が、心疾患の患者に対して臨床上どのような効果をもたらすのかは、健康人を対象とした本研究からは伺い知ることはできないが、動物実験においては、鍼通電刺激をネコの正中神経に行った際に、心筋虚血の症状が改善されたことが報告されている (Li P et al. *Circulation* 1998; 97(12): 1186-1194.)。今後、鍼通電刺激による自律神経系への影響に関するメカニズムの解明が必要であるが、薬物療法によらない新たな治療法の一つとして、期待されるものと考えられる。

#### E. 結論

動物実験において明らかにされた、鍼通電がもたらす心拍及び血圧反応の知見は、ヒトにおいても同様に確認された。この反応には、中枢を解したルートによって引き起こされる交感神経活動の抑制及び迷走神経活動の亢進が関与していると考えられる。今後、鍼通電プログラム刺激が、心不全患者に対する新たな治療手段の一つとして有用となる可能性が示唆された。

#### 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 T, Yamamoto H, Shishido T, Kamiya A, Miyamoto T, Sunagawa K, Sugimachi M. *Circ J* (in press).
2. 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. *J Physiol Sci* 58: 381-388, 2008.
3. Contrasting effects of presynaptic  $\alpha_2$ -adrenergic autoinhibition and pharmacologic augmentation of presynaptic inhibition on sympathetic heart rate control. Miyamoto T, Kawada T, Yanagiya Y, Tsuyoshi Akiyama, Inagaki M, Takaki H, Shishido T, Sugimachi, M, Sunagawa K. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 295: H1855-1866, 2008.
4. Interaction between ventilatory and cerebrovascular responses to hypo- and hypercapnia at rest and during exercise. Ogoh S, Hayashi N, Inagaki M, Ainslie PN, Miyamoto T. *J Physiol*. 586, 4327-4338, 2008.

##### G-2. 学会発表

1. Effects of increased central blood volume on respiratory chemoreflex system controlling ventilation in human. Mikiya R, Kanao K, Matsubara K, Kawamura H,

- Nakagawa T, Matsuda J, Ueda H, Maeda K, Niwa A, Nakahara H, Miyamoto T. 10th Asian Confederation for Physical Therapy, Chiba JAPAN, 2008
2. Cerebral blood flow reactivity to CO<sub>2</sub> during exercise. Hayashi N, Ogoh S, Ainslie P, Miyamoto T. FASEB, San Diego, CALIFORNIA-USA, 2008
  3. 水浸による中心循環血液量増加が呼吸化学調節フィードバックシステムの換気決定機構に及ぼす影響. 三木屋 良輔、宮本 忠吉. 第 19 回日本臨床スポーツ医学会.
  4. 運動時の呼吸調節と脳血流調節の相互作用. 宮本 忠吉、外林 大輔、中原英博. 第 19 回日本臨床スポーツ医学会.
  5. 高位中枢による予測的な制御が運動負荷開始前後の呼吸循環反応に及ぼす影響. 外林 大輔、宮本 忠吉. 第 19 回日本臨床スポーツ医学会.
  6. 鍼通電プログラム刺激がヒトの心拍・血圧反応に及ぼす影響. 中原 英博、宮本 忠吉. 第 63 回日本体力医学会.
  7. 運動時の呼吸化学調節と脳血流反応の相互連関機構の解明. 宮本 忠吉、林 直亨、中原 英博、小河 繁彦. 第 63 回日本体力医学会.
  8. ムスカリンK<sup>+</sup>チャンネルを介した迷走神経性心拍数制御における accentuated antagonism. 水野 正樹、宮本 忠吉. 第 63 回日本体力医学会.
  9. 中心循環血液量の増加は呼吸化学調節系の中核機序を介して換気反応の抑制効果をもたらす. 三木屋 良輔、金尾 顕郎、丹羽 亜希美、前田 薫、上田 喜敏、中川 司、松田 淳子、宮本 忠吉. 第 43 回日本理学療法学会大会.
  10. 換気量が中大脳動脈血流量に与える影響. 林 直亨、小河 繁彦、Ainslie Philip、宮本 忠吉. 第 85 回日本生理学会大会.
- H. 知的所有権の取得状況  
なし



研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者名	論文タイトル	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
川田 徹, 杉町 勝	交感神経系の循環制御系への関与	荻尾七臣, 島田和幸	新・心臓病診療プラクティス11, 高血圧を識る・個別診療に生かす	文光堂	東京	2008	27-32

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kawada T, Shimizu S, Yamamoto H, Shishido T, Kamiya A, Miyamoto T, Sunagawa K, Sugimachi M	Servo-controlled hind limb electrical stimulation for short-term arterial pressure control	Circ J	-	-	in press
Kawada T, Sugimachi M	Artificial neural interfaces for bionic cardiovascular treatments (mini review)	J Artif Organs	-	-	in press
Kashihara K, Kawada T, Sugimachi M, Sunagawa K	Wavelet-based system identification of short-term dynamic characteristics of arterial baroreflex	Ann Biomed Eng	37(1)	112-128	2009
Yamamoto H, Kawada T, Kamiya A, Kita T, Sugimachi M	Electroacupuncture changes the relationship between cardiac and renal sympathetic nerve activities in anesthetized cats	Auton Neurosci	144 (1-2)	43-49	2008
Mizuno M, Kamiya A, Kawada T, Miyamoto T, Shimizu S, Shishido T, Sugimachi M	Accentuated antagonism in vagal heart rate control mediated through muscarinic potassium channels	J Physiol Sci	58(6)	381-388	2008

Miyamoto T, Kawada T, Yanagiya Y, Akiyama T, Kamiya A, Mizuno M, Takaki H, Sunagawa K, Sugimachi M	Contrasting effects of presynaptic $\alpha_2$ -adrenergic autoinhibition and pharmacologic augmentation of presynaptic inhibition on sympathetic heart rate control	Am J Physiol Heart Circ Physiol	295 (5)	H1855 -H1866	2008
Kawada T, Yamazaki T, Akiyama T, Kitagawa H, Shimizu S, Mizuno M, Li M, Sugimachi M	Vagal stimulation suppresses ischemia-induced myocardial interstitial myoglobin release	Life Sci	83 (13-14)	490-495	2008
Kawada T, Kamiya A, Takaki H, Shishido T, Sunagawa K, Sugimachi M	Muscle mechanoreflex augments arterial baroreflex-mediated dynamic sympathetic response to carotid sinus pressure	Am J Physiol Heart Circ Physiol	295 (3)	H1081 -H1089	2008
Kamiya A, Kawada T, Yamamoto K, Mizuno M, Shimizu S, Sugimachi M	Upright tilt resets dynamic transfer function of baroreflex neural arc to minimize the pressure disturbance in total baroreflex control	J Physiol Sci	58(3)	189-198	2008

## Servo-Controlled Hind-Limb Electrical Stimulation for Short-Term Arterial Pressure Control

- Authors: Toru Kawada<sup>1</sup>, MD, PhD; Shuji Shimizu<sup>1</sup>, MD; Hiromi Yamamoto<sup>2</sup>, MD; Toshiaki Shishido<sup>1</sup>, MD, PhD; Atsunori Kamiya<sup>1</sup>, MD, PhD; Tadayoshi Miyamoto<sup>3</sup>, PhD; Kenji Sunagawa<sup>4</sup>, MD, PhD; Masaru Sugimachi<sup>1</sup>, MD, PhD
- Affiliation: <sup>1</sup>Department of Cardiovascular Dynamics, Advanced Medical Engineering Center, National Cardiovascular Center Research Institute, Osaka 565-8565, Japan, <sup>2</sup>Division of Cardiology, Department of Internal Medicine, Kinki University School of Medicine, Osaka 589-8511, Japan, <sup>3</sup>Department of Physical Therapy, Faculty of Health Sciences, Morinomiya University of Medical Sciences, Osaka 559-8611, Japan, <sup>4</sup>Department of Cardiovascular Medicine, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, Fukuoka 812-8582, Japan
- Short title: Arterial Pressure Control by Hind-Limb Stimulation
- Grants: Supported by "Health and Labour Sciences Research Grant for Research on Advanced Medical Technology", "Health and Labour Sciences Research Grant for Research on Medical Devices for Analyzing, Supporting and Substituting the Function of Human Body", "Health and Labour Sciences Research Grant (H18-Iryo-Ippan-023) (H18-Nano-Ippan-003) (H19-Nano-Ippan-009)", from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan, "Industrial Technology Research Grant Program" from New Energy and Industrial Technology Development Organization of Japan.
- Correspondence: Toru Kawada, MD, PhD  
Department of Cardiovascular Dynamics, Advanced Medical Engineering Center, National Cardiovascular Center Research Institute, 5-7-1 Fujishirodai, Suita, Osaka 565-8565, Japan  
Phone +81-6-6833-5012 ext. 2427. FAX +81-6-6872-7485  
e-mail torukawa@res.ncvc.go.jp



**Abstract**

**Background:** Autonomic neural intervention is a promising tool for modulating circulatory system thereby treating some cardiovascular diseases. **Methods and Results:** We examined whether we could control arterial pressure (AP) by acupuncture-like hind-limb electrical stimulation (HES) in eight pentobarbital-anesthetized cats. With a 0.5-ms pulse width, HES monotonically reduced AP as the stimulus current increased from 1 to 5 mA, suggesting that the stimulus current could be a primary control variable. On the other hand, the depressor effect of HES showed a nadir around 10 Hz in the frequency range between 1 and 100 Hz. Dynamic characteristics of the AP response to HES approximated a second-order low-pass filter with dead time (gain:  $-10.2 \pm 1.6$  mmHg/mA, natural frequency:  $0.040 \pm 0.004$  Hz, damping ratio  $1.80 \pm 0.24$ , dead time:  $1.38 \pm 0.13$  s, mean  $\pm$  SE). Based on these dynamic characteristics we developed a servo-controlled HES system. When a target AP value set at 20 mmHg below the baseline AP, time required for the AP response to reach 90% of the target level was  $38 \pm 10$  s. The steady-state error between the measured and target AP values was  $1.3 \pm 0.1$  mmHg. **Conclusions:** Autonomic neural intervention by acupuncture-like HES may provide an additional modality to quantitatively control the circulatory system.

Keywords: transfer function; proportional-integral controller; systems analysis

Because abnormality in the autonomic nervous system is often associated with cardiovascular diseases, treating cardiovascular diseases by autonomic neural interventions have attracted many researchers.<sup>1-6</sup> Recently, autonomic neural interventions using electronic devices have again the focus of attention as a potential modality for treating cardiovascular diseases resistant to conventional therapeutics. To name a few, chronic vagal nerve stimulation dramatically improves the survival of chronic heart failure after myocardial infarction in rats.<sup>7</sup> Chronic baroreceptor activation enhances the survival of pacing-induced heart failure in dogs.<sup>8</sup> A recent version of device-based treatment of hypertension in human is reported.<sup>9</sup> A framework of electrical neural intervention is also effective to elevate arterial pressure (AP) against hypotensive events.<sup>10-13</sup>

Aside from direct neural stimulation, electroacupuncture can modify autonomic balance thereby treating cardiovascular diseases.<sup>14-16</sup> Although one feature of the electroacupuncture may be its long-lasting effects, immediate cardiovascular responses to acupuncture-like stimulation are also observed in several experimental settings. For example, a sixty-second manual acupuncture-like stimulation of a hind limb reduces renal or cardiac sympathetic nerve activity, causing hypotension and bradycardia in anesthetized rats.<sup>17,18</sup> We have shown that electrical stimulation of a hind limb using acupuncture needles immediately resets the arterial baroreflex and reduces sympathetic nerve activity in anesthetized rabbits.<sup>19</sup> Acupuncture-like hind-limb electrical stimulation (HES) induces immediate hypotension with changes in the relationship between cardiac and renal sympathetic nerve activities in anesthetized cats.<sup>20</sup>

In the present study, we hypothesized that AP could be controlled by HES. Quantification of the dynamic input-output relationship between a given stimulus and the AP response is essential for artificially controlling AP.<sup>10-12</sup> Accordingly the first aim was to identify the dynamic input-output relationship between HES and the AP response. The second aim was to develop a feedback controller system that could reduce AP at a prescribed target level using HES.

## Materials and Methods

### *Surgical Preparation*

Animal care was provided in strict accordance with the *Guiding Principles for the Care and Use of Animals in the Field of Physiological Sciences* approved by the Physiological Society of Japan. All protocols were approved by the Animal Subject Committee of National Cardiovascular Center. Eight adult cats weighing from 2.3 to 4.3 kg were anesthetized by an intraperitoneal injection of pentobarbital sodium (30-35 mg/kg) and ventilated mechanically via a tracheal tube with oxygen-supplied room air. The depth of anesthesia was maintained with a continuous intravenous infusion of pentobarbital sodium ( $1-2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ) through a catheter inserted into the right femoral vein. Vecuronium bromide ( $0.5-1.0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ , i.v.) was given continuously to suppress muscular activity. AP was measured using a catheter-tip manometer inserted from the right femoral artery and advanced into the thoracic aorta.

### *Hind-Limb Electrical Stimulation*

In the supine position, both hind-limbs were lifted to obtain a better view of the lateral sides of the lower legs. An acupuncture needle with a diameter of 0.2 mm (CE0123, Seirin-Kasei, Japan) was inserted into a point below the knee joint just lateral to the tibia.<sup>20</sup> A 23-gauge needle was inserted into the skin behind the ankle as the ground. HES was applied bilaterally via two independent isolators connected to an electrical stimulator (SEN 7203, Nihon Kohden, Japan) as shown in Figure 1. The pulse width was changed manually whereas the stimulus frequency and the stimulus current were controlled by a dedicated laboratory computer system. The electrical stimulation was started after the hemodynamic effects of needle insertion had disappeared, and the acupuncture needle remained inserted during each protocol.



### Protocols

Protocol 1 (n=8). To quantify the AP response to HES as a function of stimulus current and pulse width, we fixed the stimulus frequency at 10 Hz and changed the stimulus current stepwise from 0 to 5 mA in 1-mA increments every minute. The 6-min current test was repeated with an intervening interval of 3 to 5 min using different pulse widths (0.1, 0.2, 0.5 and 1 ms). The order of the pulse-width settings was randomized across the animals.

Protocol 2 (n=8). To quantify the AP response to HES as a function of stimulus frequency and pulse width, we fixed the stimulus current at 3 mA and changed the stimulus frequency sequentially from 0 to 100 Hz (0, 1, 2, 5, 10, 15, 20, 50 and 100 Hz). Each stimulus frequency was maintained for 1 min. The 9-min frequency test was repeated with an intervening interval of 3 to 5 min using different pulse widths (0.1, 0.2, 0.5 and 1 ms). The order of the pulse-width settings was randomized across the animals.

Protocol 3 (n=8). To identify the dynamic input-output relationship between HES and the AP response, we randomly turned HES on and off every 2 s according to a binary white noise sequence for 30 min. The HES setting (0.5-ms pulse width, 10 Hz, 3 mA) was chosen to induce effective hypotension based on the preliminary results obtained from Protocols 1 and 2.

Protocol 4 (n=8). Based on the result of Protocol 3, we designed a feedback controller that could automatically adjust the stimulus frequency and the stimulus current for HES. The pulse width was fixed at 0.5 ms. To examine the performance of the feedback controller, we set a target AP value at 20 mmHg below the baseline AP and activated the feedback controller for 10 min.

The following two supplemental protocols were performed in 3 of the 8 cats. a) We inserted two acupuncture needles into the triceps surae muscle with a distance of approximately 2.5 cm, and examined if changes in AP was associated with direct muscle stimulation (0.5-ms pulse width, 10 Hz, 3 mA). Both hind limbs were stimulated simultaneously using two independent isolators. b) We exposed the sciatic nerve after finishing Protocols 1 through 4, and examined if sectioning the sciatic nerve abolished the hemodynamic effects of HES. Unilateral HES was performed (0.5-ms pulse width, 10 Hz, 3 mA) before and after sectioning the ipsilateral sciatic nerve.

### Data analysis

In Protocols 1 and 2, the AP value was obtained by averaging the last 10-s data at each stimulus condition. In Protocol 1, the effect of stimulus current was assessed by changes in AP from the 0-mA stimulus condition for each pulse width. In Protocol 2, the effect of stimulus frequency was assessed by changes in AP from the 0-Hz stimulus condition for each pulse width.

In Protocol 3, the transfer function from HES to AP was estimated by means of an analysis for one-input, one-output systems. Data were first resampled at 10 Hz and segmented into 8 sets of 50%-overlapping bins of 4096 points each. For each segment, a linear trend was subtracted and a Hanning window was applied. Frequency spectra of the input and output were obtained via fast Fourier transformation. Next, the ensemble averages of input power spectral density [ $S_{XX}(f)$ ], output power spectral density [ $S_{YY}(f)$ ], and cross spectral density between the input and output [ $S_{YX}(f)$ ] were calculated over the 8 segments. Finally, the transfer function from input to output [ $H(f)$ ] was calculated as<sup>21</sup>

$$H(f) = \frac{S_{YX}(f)}{S_{XX}(f)} \quad (1)$$

To quantify the linear dependence between the input and output signals in the frequency domain, a magnitude squared coherence function [ $Coh(f)$ ] was also calculated as<sup>21</sup>

$$Coh(f) = \frac{|S_{YX}(f)|^2}{S_{XX}(f)S_{YY}(f)} \quad (2)$$