

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18年度～20年度
総合研究報告書

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 18 年度～20 年度
総合研究報告書

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. 総合研究報告書	
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
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 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 宍戸 稔聡	2 6
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	4 5
2. 刊行物一覧	5 3
3. 論文別刷り	5 7

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。H18年度はシステム工学の分野で広く利用されている白色雑音法を使って、電気鍼に対する循環応答を静特性及び動特性の面から定量化した。H19年度は同定された静特性及び動特性に基づいて、血圧フィードバックによる電気鍼の刺激強度調節システムの設計を行い、動物実験を用いて電気鍼システムの性能評価を行った。その結果、電気鍼の刺激強度を自動的に調節して、定量的な血圧制御が可能であることが可能になった。H20年度は血圧以外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フィードバック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 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

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

て、心筋梗塞などの病態モデルで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。

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

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、病状が増悪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りが無い。

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。

研究は3年計画で実施した。1年目は麻酔下のネコを用いて電気鍼が循環系に及ぼす影響を定量的に解析した。これにより、電気鍼のパルス幅、電流強度、刺激周波数の違いが、交感神経活動、血圧、心拍数に及ぼす影響を定量化することを目的とした。また、工学系の分野で広く利用されている白色雑音法を用いて、ランダムな電気鍼刺激を行い、電気鍼に対する循環応答の動特

性を推定した。2年目は1年目に得られたデータを元に、電気鍼に対する血圧応答のシミュレーションを行い、血圧を目標値とし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治療システムを設計し、このシステムをリアルタイムに駆動できる専用のソフトウェアを開発することを目的とした。そして、実際に動物実験を行ってシステムの性能評価を行った。3年目は血圧以外の心拍数や交感神経活動を目標値として、電気鍼の刺激強度をフィードバック制御できるかどうかを検討した。また、病態モデルの利用を考えて、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(担当: 穴戸)。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、電気鍼治療システムの開発に必要な基礎的データを収集することを目的として研究を実施した(担当: 宮本)。

B. 研究方法

B-1. フィードバック制御による電気鍼システムの開発

B-1-1. 実験手技

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部位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-1-2. プロトコル1 (静特性の定量化)

上記の実験条件において、電気鍼の位置、刺激周波数、電流強度、刺激パルス幅を変えて、交感神経活動及び血圧の応答を測定して、電気鍼刺激に対する循環応答の静的な入出力関係を同定した。

刺激電流・刺激パルス幅平面における循環応答を調べる実験では、刺激周波数を10 Hz に固定して、刺激パルス幅を0.1、0.2、0.5、1.0、2.0 ms、刺激電流を1、2、3、4、5 mA と変化させて各1分間の刺激を行い、循環応答を記録した。

刺激周波数・刺激パルス幅平面における循環応答を調べる実験では、刺激電流を3 mA に固定して、刺激パルス幅を0.1、0.2、0.5、1.0、2.0 ms、刺激周波数を5、10、15、20、50、100 Hz と変化させて各1分間の刺激を行い、循環応答を記録した。

B-1-3. プロトコル (動特性の定量化) (担当: 矢戸)

電気鍼刺激 (パルス幅0.5~1.0 ms、刺激周波数10 Hz) を用いて、2値白色雑音 (0 mA と3 mA、最小切り替え時間4 s) によるランダム刺激を30分間行い、交感神経活動、体血圧、心拍数の応答をコンピュータに記録した。

B-1-4. 解析方法

伝達関数 $H(f)$ はシステムの入出力関係を広い周波数範囲にわたって定量的に記述したものである。コンピュータに記録した時系列データを10 Hz の区間平均でリサンプリングした。電気鍼の入力信号を $x(t)$ 、交感神経活動、体血圧、心拍数などの出力信号を $y(t)$ として、 $2^{12}=4096$ 点を1セグメントとして入出力信号のフーリエ変換 $X(f)$ 、 $Y(f)$ を計算した。入力と出力のパワースペクトルと入出力のクロススペクトルは次式から計算した。

$$S_{xx}(f) = E[X(f)X(f)^*]$$

$$S_{yy}(f) = E[Y(f)Y(f)^*]$$

$$S_{yx}(f) = E[Y(f)X(f)^*]$$

$X(f)^*$ は $X(f)$ の共役複素数、 $E[\]$ はアンサンブル平均を示す。ここでは9回のアンサンブル平均を行った。これを元に伝達関数を次式から算出した。

$$H(f) = S_{yx} / S_{xx}$$

また、入出力の線形性を示す二乗コヒーレンスを次式から算出した。

$$Coh(f) = |S_{yx}(f)|^2 / S_{xx} / S_{yy}$$

コヒーレンスが1のとき、出力信号は入力信号の線形ダイナミクスで完全に説明できる。コヒーレンスが0のとき、入力と出力は無相関である。

B-1-5. フィードバック電気鍼システムの設計

B-1-3で推定した電気鍼刺激に対する動的な循環応答を元に、伝達関数を近似する数値モデルを作成した。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

ク型の電気鍼システムを設計した。次に、この制御システムをリアルタイムで駆動できるように専用のソフトウェアを開発した。

B-1-6. フィードバック電気鍼システムの評価 (担当: 穴戸)

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血圧を設定し、10 分間のフィードバック制御を行った。得られたデータを元に、目標血圧の 90% に到達するのに要した時間と、5 分目から 10 分目までの血圧制御の誤差を評価した。

B-1-7. 心拍数及び交感神経活動を目標とした電気鍼刺激

フィードバックによる電気鍼刺激システムの汎用性を検討するために、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ソフトウェアを変更し、これらを目標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。

B-2. フィードバック制御以外の電気鍼刺激に関する研究

B-2-1. 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、心筋傷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知られている。そこで、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、麻酔下のネコを用いて実験を行った。右大腿静脈からペントバルビタールの持続麻酔を行い、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。左第 4~5 肋間を開胸して心臓に到達し、左冠動脈前下行枝に冠動脈閉塞用の結紮糸を準備した。左室心筋の前壁 (前下行枝の支配領域) の心筋内に微量透析用のファイバー (外径 215 μm 、内径 175 μm 、長さ 8 mm) を刺入した。透析用ファイバーの一端から 5 $\mu\text{l}/\text{min}$ の速度でリンゲル液を灌流し、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調べた。これを両側迷走神経切断群、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。電気鍼は B-1-1 と同じく足三里に相当する部位に鍼を刺入して通電した。

B-2-2. 電気鍼が交感神経活動に及ぼす影響の地域差

麻酔ネコを用いた電気鍼の研究過程において、血圧が低下するにもかかわらず、心拍数があまり変化しない個体や逆に少し上昇する個体があることが分かってきた。このような血圧応答と心拍数応答の違いが、交感神経活動の地域差によるものかどうかを調べるために、腎臓交感神経活動に加えて心臓交感神経活動を同時に記録し、電気鍼に対する交感神経活動の変化を検討した。右または左の足三里に相当する部位に対して 2 Hz または 10 Hz の通電刺激を行った。刺激パルス幅は 0.5 ms 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。

B-2-3. 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

通常の状態では動脈圧反射を主体とする高圧系の血圧調節及び迷走神経を介する低圧系の血圧調節が、血圧を一定に維持しようとするので、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が修飾される可能性がある。そこで、これらの反射系を除外した状態で、電気鍼が血行動態に及ぼす影響を検討するために、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切断した条件で電気鍼刺激実験を実施した。

B-3. ラットにおける電気鍼の効果の定量化 (担当: 穴戸)

B-3-1. 正常ラットを用いた実験 (動脈圧反射閉ループ条件)

自律神経活動などの応答を調べるにはネコなどの中型動物が適しているが、高血圧や心不全等の病態モデルを使って電気鍼の効果を調べるには、種々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内投与による麻酔を施した Sprague-Dawley ラットを用いて、電気鍼に対する循環応答の定量化を行った。

B-3-2. 正常ラットを用いた実験 (動脈圧反射開ループ条件)

B-3-1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-3-3. 心筋梗塞ラットを用いた実験

病態においては交感神経活動の過剰などが生じて、電気鍼に対する循環応答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-4. ヒトにおける電気鍼が心拍数及び血圧に及ぼす定量化 (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、健常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)

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。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. フィードバック制御による電気鍼システムの開発

C-1-1. 電気鍼が血圧に及ぼす影響の静特性

電気鍼の刺激周波数を 10 Hz に固定した状態で、刺激電流を 1~5 mA、刺激パルス幅を 0.1~2.0 ms で変化させて血圧応答を調べたところ、刺激電流が大きいくほど降圧効果は大きかった (図 1 左)。これに対して、刺激パルス幅が降圧効果に与える影響は、統計的には有意ではなかった。

電気鍼の刺激電流を 3 mA に固定した状態で、刺激周波数を 1~100 Hz、刺激パルス幅を 0.1~2.0 ms で変化させて血圧応答を調べたところ、刺激周波数が 5~15 Hz のときに最大の降圧効果を示した。刺激周波数が 50 Hz になると降圧効果はなくなり、100 Hz では逆に昇圧傾向を示した (図 1 右)。刺激パルス幅が降圧効果に与える影響は、統計的には有意ではなかった。

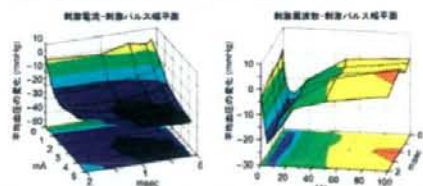


図 1 刺激電流-刺激パルス幅平面、刺激周波数-刺激パルス幅平面における血圧変化

C-1-2. 電気鍼が交感神経活動及び血圧に及ぼす影響の動特性

電気鍼から腎臓交感神経活動までの伝達関数は、周波数が高くなるほどゲインが大きくなる微分的な特性を示した。しかし、0.0025 Hz から 0.25 Hz の間でのゲインの増加は高々 2 倍であり、動脈圧反射の中核弓で観察されるほどのゲインの増加 (Kawada T et al. Am J Physiol Heart Circ Physiol 284: H404-H415, 2003) はみられなかった。位相はすべての周波数にわ

たって $-\pi$ ラジアンを示しており、電気鍼で交感神経活動が抑制されることが分かる (図 2 左)。

電気鍼から血圧応答までの伝達関数は、電気鍼から交感神経活動までの伝達関数とは対照的に、周波数が高くなるほどゲインが小さくなるローパスフィルターの性質を示した。位相は低い周波数で $-\pi$ ラジアンに向かっており、電気鍼刺激に対して血圧が低下することを意味する (図 2 右)。いずれのコヒーレンスも入力パワーの存在する 0.2 Hz までは 0.7 程度の値を示しており、腎臓交感神経活動や血圧が、電気鍼に対してほぼ線形応答を示したことが分かる。

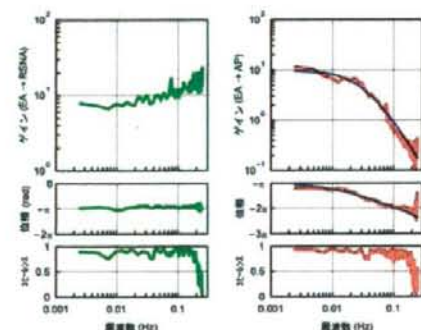


図 2 電気鍼から腎臓交感神経活動まで (EA-RSNA) 及び電気鍼から血圧まで (EA-AP) の伝達関数。右図の青線は 2 次遅れ系による近似

これまでの私たちの研究から、電気鍼に対する血圧応答にみられるようなローパスフィルターの性質は無駄時間を含む 2 次遅れ系で近似できることが分かっている (Kawada T et al. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 286: R1110-R1120, 2004)。無駄時間を含む 2 次遅れ系は次の数式で与えられる。

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

K は定常ゲイン、 f_N は自然周波数または固有周波数、 ζ は減衰係数、 L は無駄時間である。この 2 次遅れ系を用いて、電気鍼に対する血圧応答の伝達関数を近似したときの係数を表 1 に示す。

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±SE, n = 8)

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

C-1-3. 血圧フィードバックを用いた電気鍼システムの設計

電気鍼の刺激強度のフィードバック制御には、図 3 に示すような比例・積分型の制御器を用いた。図 3 上段の $H(f)$ 及び下段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 次遅れ系で近似したものである。ここでは、 $K=10$ 、 $f_N=0.04$ 、 $\zeta=2$ 、 $L=1$ としてシミュレーションを行った。

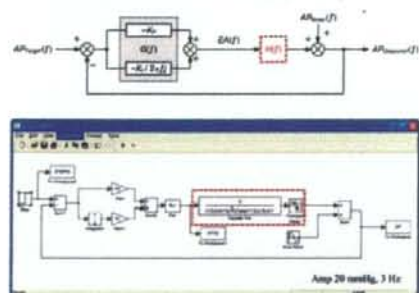


図 3 電気鍼のフィードバック制御装置のブロック線図

$G(f)$ 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) で決定される。比例ゲインは目標値と測定値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測定値の偏差の時間

積分に応じて電気鍼の強さを調節する項である。 $G(f)$ は次の数式で与えられる。

$$G(f) = - \left(K_P + \frac{K_I}{2\pi f J} \right)$$

電気鍼の刺激強度が大きくなるほど血圧が低下することを考慮して、右辺にはマイナスの符号を付けてある。ここで、血圧応答 ($AP_{Measured}$) を目標血圧 (AP_{Target}) に関係する項と外来ノイズ (AP_{Noise}) に関係する項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、測定される血圧応答は漸近的に目標値に近づくことになる。

図 1 左の結果から、電流強度に対する血圧応答がほぼ単調減少を示すことが判明したので、第一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、刺激周波数は電気鍼が最大の降圧作用を発揮する 10 Hz に固定した。

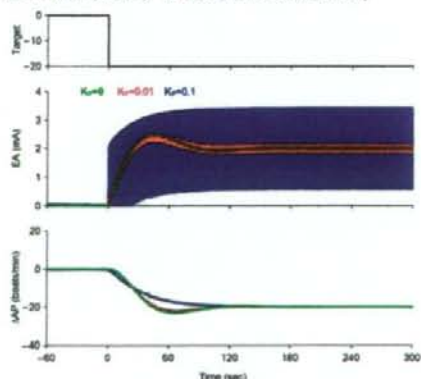


図 4 A シミュレータ上で比例ゲイン (K_P) の値を変化させたときの電流強度 (EA) と血圧応答 (ΔAP)

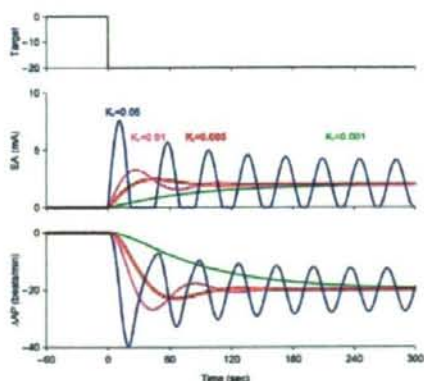


図4B シミュレータ上で積分ゲイン (K_I) の値を変化させたときの電流強度 (EA) と血圧応答 (ΔAP)

図4A、Bにシミュレーションの結果を示す。比例ゲイン K_p については、瞬時血圧信号をそのまま制御量に用いると、電流強度に大きな脈圧成分が生じた。 $K_p = 0.01$ と $K_p = 0$ では血圧応答に差が無いので、ここでは $K_p = 0$ とした。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約5分を要した。 $K_I = 0.005$ のとき、約1分で目標値に到達し、安定した血圧応答を示した(図4B、赤太線)。以上の結果を元に、リアルタイムでフィードバック制御できるソフトウェアを開発し、 $K_p = 0$ 、 $K_I = 0.005$ の設定で実際の制御実験を行った。

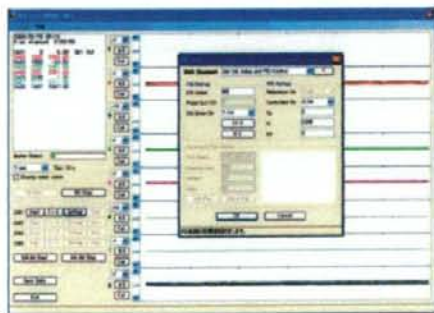


図5 フィードバック制御のためのソフトウェア

実際に動物実験を行い、制御の性能を確認したところ、小さな電流強度で大きく血圧が低下するような個体では、血圧応答が起り始める閾値付近で刺激コマンドがオン・オフの発振現象を示す場合があった(総合分担報告書参照)。そこで、計算された刺激コマンドが1を下回るときは、刺激電流を1mAに固定して、刺激周波数を低下させることで血圧制御を行うように制御ロジックを改良した。

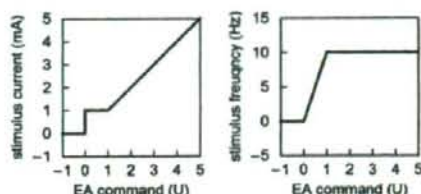


図6 刺激コマンドを電流強度 (stimulus current) と刺激周波数 (stimulus frequency) に変換するロジック

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比例・積分制御で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し、刺激周波数は10Hzに固定する。刺激コマンドが0~1の範囲では、電流強度を1mAに固定して、刺激周波数を0~10Hzの範囲で調節する。このようなロジックを組み込むことで、血圧応答の閾値付近でも安定な制御が可能にした。

C-1-4. 血圧フィードバックを用いた電気鍼システムの性能評価

上記のようにして設計した血圧フィードバックを用いた電気鍼システムの性能評価を麻酔下のネコを用いて実施した。目標血圧は刺激前の血圧に比べて20mmHgだけ低下するように設定した。

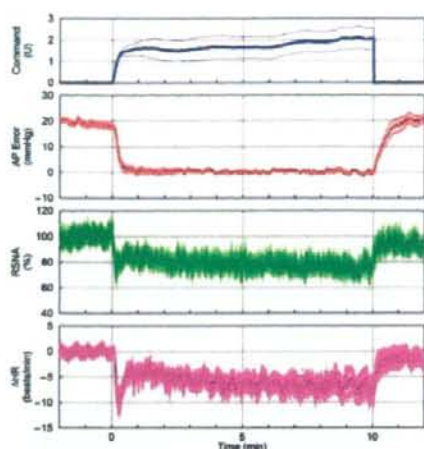


図7 改良した制御ロジックを使った電気鍼システムによる血圧制御のまとめ (n = 8, 平均±SE)

図7は改良した制御ロジックを使った電気鍼システムによる血圧制御の結果をまとめたものである。最上段が刺激コマンド、2段目が測定血圧と目標血圧との差 (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 (ΔHR) 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。10 分間の制御の間、腎臓交感神経活動は刺激前値の約 80% に抑制された。心拍数は制御開始とともにいったん大きく低下した後、もとのレベルに復す方向に変化し、再び低下して、制御終了時は約 8 beats/min の低下を示した。血圧が非常に狭い範囲で調節されたのに対して、制御のための刺激コマンドには大きな個体差があった。また、心拍数についてもすべての個体が電気鍼に対して徐脈を示すわけではなく、血圧が 20 mmHg だけ低下し、腎臓交感神経活動が抑制されているにも関わらず、ほとんど心拍数が低下しない個体もあった (図8)。

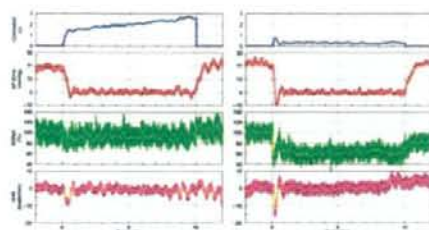


図8 血圧を 20 mmHg だけ低下させても心拍数がほとんど低下しなかった 2 例

C-1-5. 心拍数及び交感神経活動为目标とした電気鍼刺激 (担当: 矢戸)

総合分担研究報告書に示すように、心拍数及び交感神経活動为目标とした場合も、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を用いた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、約 10 beats/min 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は、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、交感神経活動にみられるバースト成分のために、電気鍼の制御コマンドには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、交感神経活動そのものではなく、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. フィードバック制御以外の電気鍼刺激に関する研究

C-2-1. 電気鍼が心筋虚血時のミオグロビン漏出に及ぼす影響

麻酔下のネコにおいて 60 分間の心筋虚血及び再灌流が心筋間質のミオグロビン濃

度に及ぼす影響を調べた実験結果を図9に示す。上段は血圧 (AP)、中央は心拍数 (HR)、下段は心筋間質ミオグロビン濃度を対数スケールで示したものである。

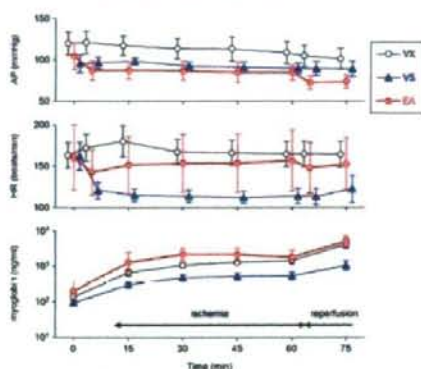


図9 電気鍼が心筋虚血時の心筋間質ミオグロビン漏出に及ぼす影響。VX: 迷走神経切断群、VS: 迷走神経刺激群、EA: 電気鍼刺激群

迷走神経切断群 (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 分間の虚血中は高い値を保った。冠動脈の閉塞を解除すると、心筋間質ミオグロビン濃度はさらに上昇した。迷走神経刺激群 (VS) では迷走神経切断群に比べて、血圧、心拍数がともに低下し、心筋間質におけるミオグロビン漏出も減少した。電気鍼刺激群 (EA) では血圧は迷走神経刺激群と同様に低下したが、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、迷走神経切断群と比較して、ミオグロビン漏出が抑えられる傾向はなかった。

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で 77 から 93 mmHg に復した。したがって、虚血再灌流の時間

を通して電気鍼が効いていたことが分かる。しかし、平均心拍数は虚血前の電気鍼刺激で 160 から 158 beats/min に僅かに低下したが、再灌流後に電気鍼をオフにしたときは 165 beats/min のまま変化はみられなかった。

C-2-2. 電気鍼が交感神経活動に及ぼす影響の地域差

C-1-4 で述べたように、電気鍼で血圧を十分に低下させても心拍数があまり低下しない個体がみられた。図 10 は麻酔下のネコにおいて電気鍼を実施したときの血圧変化と心拍数変化をまとめたものである。

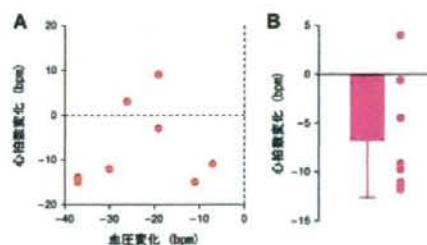


図10 一定強度の電気鍼に対する血圧応答と心拍数応答の分布 (A) 及び電気鍼によって血圧を 20 mmHg だけ低下させたときの心拍数の分布 (B)

一定強度で電気鍼を実施したとき、8 例中 5 例は心拍数が低下したが、1 例はあまり変化せず、2 例では逆に上昇した (図 10 A)。また、同じ 8 例において、血圧フィードバックを用いて電気鍼刺激を行い 20 mmHg だけ血圧を低下させたときの心拍数変化の分布をみると、5 例では 10 beats/min 程度低下したが、1 例では 5 beats/min 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 beats/min 程度上昇する結果であった (図 10 B)。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。

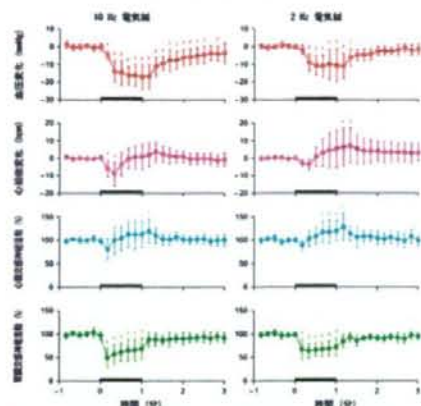


図 1 10 Hz 及び 2 Hz の電気鍼刺激に対する心臓及び腎臓交感神経活動の変化

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刺激を行った結果を図 1 1 に示す。10 Hz で刺激したときも 2 Hz で刺激したときも、最下段に示す腎臓交感神経活動は 1 分間の刺激中、抑制されたままであった。これに対して、3 段目に示す心臓交感神経活動は電気鍼の刺激開始直後に僅かに低下するだけで、その後は上昇する傾向を示した。

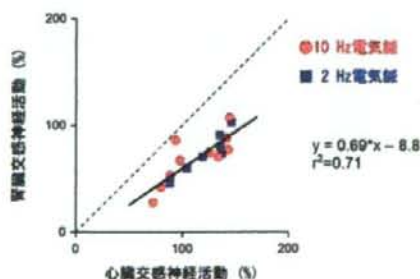


図 2 電気鍼を行ったときの心臓交感神経活動と腎臓交感神経活動の関係

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 秒間の平均から求めた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分布を示した (図 1 2)。刺激前の交感神経活動の値をそれぞれ 100%としたとき、電気鍼刺激中の両者の回帰式の傾きは 0.69 であった。このことから、心臓交感神経活動と腎臓交感神経活動は無関係に変化したわけではなく、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活動のほうが抑制されることが判明した。

C-2-3. 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

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 から 120 ± 25 mmHg に、心拍数は 161 ± 24 から 184 ± 19 beats/min に上昇した。この状態で足三里に相当する部位に 10 Hz の電気鍼刺激を行った場合、血圧降下は 29 ± 4 mmHg となり、図 1 1 左よりも増大した。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、電気鍼に対する心拍数の上昇は観察されなかった。腎臓交感神経活動は 1 分間の電気鍼刺激の間、抑制され続けた。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、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応答の差は、動脈圧反射や迷走神経を介する反射系によって応答が修飾されたものではな

く、電気鍼に対する交感神経活動の地域差を反映したものであることが示唆された。

C-3. ラットにおける電気鍼の効果の定量化 (担当: 央戸)

C-3-1. 正常ラットを用いた実験 (動脈圧反射閉ループ条件)

ペントバルビタール麻酔下のラットの足三里に相当する部位に電気鍼を行い、血行動態の変化を調べた。ラットにおいても時間をかけて刺激部位を探索すると、電気刺激に対して血圧が低下する部位がみられた (図13)。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かった。

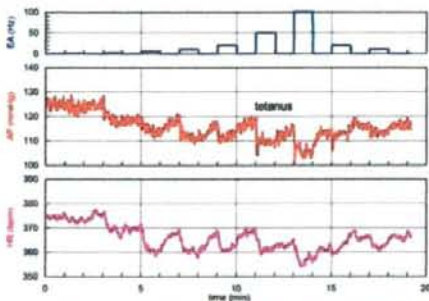


図13 麻酔ラットにおける電気鍼 (EA) の刺激周波数と血圧 (AP) 及び心拍数 (HR) の応答

ラットにおける電気鍼から血圧応答までの伝達関数と、電気鍼から心拍数応答までの伝達関数は、ネコの場合と同じく、周波数が高くなるほど応答が小さくなるローパスフィルターの性質を示した。しかしながら、伝達関数のゲインはネコに比べて約1/10であり、入出力の線形性の指標であるコヒーレンスも血圧応答で0.5、心拍数応答でそれよりも小さい値を示した。

C-3-2. 正常ラットを用いた実験 (動脈圧反射閉ループ条件)

総合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内因性の血圧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、入力圧全般にわたって約9 mmHgの降圧効果が観察された (図14)。このとき、心拍数には大きな変化はみられなかった。

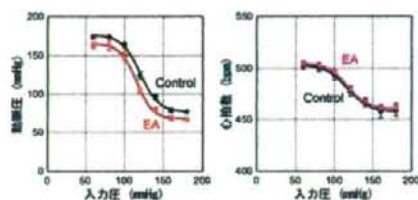


図14 入力圧-動脈圧関係及び入力圧-心拍数関係に対する電気鍼 (EA) の作用

図14の入力圧-動脈圧関係から求めた最大ゲインGの値は約2であった。このことから、動脈圧反射が最大限に機能したときは、血圧の変化が $1/(1+G)$ 倍に圧縮されることが想定される。つまり、動脈圧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の降圧効果しか期待できないことになる。

C-3-3. 心筋梗塞ラットを用いた実験

心不全等の病態においては交感神経活動が上昇し、電気鍼の効果が修飾される可能性がある。そこで、ラット心筋梗塞モデルを作成して、麻酔下に電気鍼の影響を調べた。総合分担報告書に示すように、1 mAの刺激強度では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 (図15)。しかしながら、正常ラットを用いた場合と同じ

く、電気鍼による血圧低下作用は、麻酔下のネコに比べて僅かであった。

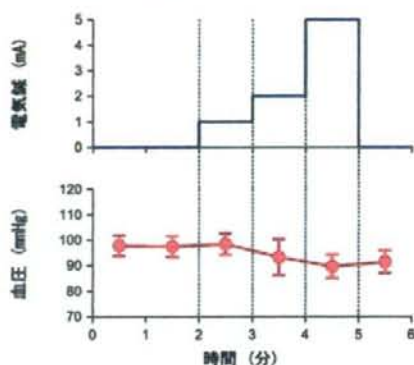


図15 心筋梗塞ラットにおける電気鍼の影響

C-4. ヒトにおける電気鍼が心拍数及び血圧に及ぼす定量化 (担当: 宮本)

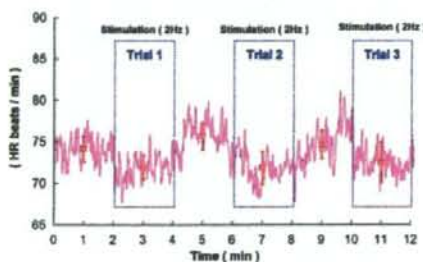


図16 ヒト低周波鍼通電刺激時の心拍数2応答

総合分担研究報告書に示すように、前腕の郛門穴に対してパルス幅 5 ms、2 Hz、1 V の電気鍼を 2 分間隔で行ったところ、心拍数は 74.8 ± 9.6 から 72.1 ± 8.7 beats/min に低下した。このことから、痛みを感じない程度の通電刺激を使うことで、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. フィードバック制御による電気鍼システムの開発

麻酔下のネコにおいて、電気鍼実験を行ったところ、刺激電流・刺激パルス幅平面においては、おおむね刺激電流が大きくなるほど血圧は大きく低下した。一方、刺激パルス幅が血圧応答に及ぼす影響は、刺激電流の影響に比べて無視できる程度に小さかった。そこで、電気鍼システムの設計では、制御の操作量として刺激電流が適切であることが示唆された。一方、刺激周波数・刺激パルス幅平面においては、10 Hz 以下では刺激周波数の増加に伴って血圧が低下したが、10 Hz 以上では降圧効果が弱くなり、100 Hz では昇圧に転じる傾向がみられた。したがって、刺激周波数を操作量として血圧を下げる場合は、10 Hz 以下で調節する必要があることが示唆された。

白色雑音入力を用いて、電気鍼に対する循環応答の動特性を推定したところ、電気鍼から交感神経活動までの伝達関数は、周波数が高くなるほどゲインが大きくなる緩やかな微分特性を示した。位相は推定した周波数範囲で逆相を示し、電気鍼刺激によって交感神経活動を抑制することが可能であることを示唆した。一方、電気鍼から血圧応答までの伝達関数や、電気鍼から心拍数までの伝達関数は、いずれも周波数が高くなるほどゲインが小さくなるローパスフィルターの性質を示した。いずれの伝達関数も無駄時間を含む 2 次遅れ系で近似できたが、電気鍼から血圧応答までの伝達関数に比べて、電気鍼から心拍数応答のまでの伝達関数のほうが個体間のばらつきが大きかった。

過去の研究において、電気鍼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に乏しかった。本研究において、交感神経活動や血圧の応答は電気鍼刺激に対して高いコヒーレンスを示したことから、少なくとも麻酔下のネコにおいてはほぼ線形的な応答を示すことが判明した。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。この予測に基づいて制御系を設計することで、血圧フィードバックを用いて電気鍼の刺激強度を自動的に調節するようなシステムの開発が可能であると考えられた。

制御系の設計にあたっては、コンピュータシミュレーションが有効であった(図4A、図4B)。動物実験では実験時間に限りがあるので、制御係数の組み合わせを一つずつ試して最適な係数を求めることは難しい。本研究では電気鍼に対する血圧応答の動特性を2次遅れ系の数学モデルで近似することによって、電気鍼に対する血圧応答をシミュレーションした。その結果、比例積分制御を行う際の積分項 K_I の値が0.005のとき、高速かつ安定な血圧制御が可能であると予測された。

この制御係数の値を用いて、実際に動物実験で制御装置の性能評価を行ったところ、小さな電流強度で血圧が大きく低下する個体では、血圧応答の閾値付近で刺激コマンドと血圧応答がオン・オフを繰り返すような発振現象がみられた。これは、刺激閾値が数学モデルに組み込まれておらず、電気鍼に対する血圧応答を正確に予測できなかったことに起因する。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ことで刺激を弱める非線形的な制御ロジックを組み込んだ。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)。

次に、血圧制御と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。心拍数の応答には個体差があり、電気鍼に対して必ずしも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として、心拍数を目標とした電気鍼刺激を行った結果、約10 beats/minの徐脈化を目標として、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でも、フィードバックの枠組みを利用して電気鍼システムの開発が可能であることを示唆する。

D-2. フィードバック制御以外の電気鍼刺激に関する研究

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心筋間質ノルアドレナリン放出を抑制し、虚血の初期に心筋間質アセチルコリンの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)。そこで、迷走神経刺激が虚血時の心筋傷害に与える影響を調べるとともに、電気鍼を介した自律神経活動の修飾で迷走神経刺激と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

脈の閉塞によってミオグロビン濃度は上昇し、再灌流によってさらに上昇することが観察された。迷走神経刺激で徐脈を起こすと、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直接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も抑制されなかった。

実験の終了時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は持続していたと考えられる。電気鍼で虚血による心筋傷害が抑制されなかった原因の一つとして、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を抑制することが知られており、心拍数の変化から考えても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ものと推察される。もう一つの原因として、交感神経活動の地域差が考えられる。電気鍼によって腎臓交感神経活動が抑制され、血圧が低下しても、心臓交感神経活動は抑制されず、心臓に対する直接の保護効果が得られない可能性が示唆された。

最終年度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て、電気鍼に対する交感神経活動の応答の地域差を検討した。その結果、腎臓交感神経活動に比べて心臓交感神経活動のほうが抑制されにくいことが判明した。ただし、電気鍼中の心臓交感神経活動と腎臓交感神経活動の値には高い相関がみられたことから、電気鍼によって両神経活動は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と言える。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とでは中枢における

情報処理に違いがあるものと推察される。

通常の状態では動脈圧反射を主体とする高圧系の血圧調節及び迷走神経を介する低圧系の血圧調節が血圧を一定に維持しようとするので、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が修飾される可能性がある。そこで、これらの反射系を除外した状態で電気鍼が血行動態に及ぼす影響を検討するために、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切断した条件で電気鍼刺激実験を実施した。その結果、これらの反射系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に比べて腎臓交感神経活動の抑制が大きかった。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、動脈圧反射や迷走神経を介する二次的なものではないことが示唆された。

D-3. ラットにおける電気鍼の効果の定量化

麻酔ラットを用いて電気鍼に対する血圧応答の動特性を推定したところ、電気鍼から血圧応答までの伝達関数はネコの場合と同じく周波数が高いほどゲインが小さくなるローパスフィルターの性質を示した。しかしながら、血圧応答のゲインはネコの場合の約 1/10 であり、正常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と考えられた。

前述のように内因性の血圧調節系は、電気鍼による降圧効果を打ち消すように作用すると考えられる。そこで、迷走神経を切断し、動脈圧受容器を体循環から分離して、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検討した。総合分

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、ネコに比べて電気鍼の効果が観察しにくいことが判明した。ただし、頸動脈洞の入力圧レベルを変化させて、交感神経活動を増減させた状態でも、電気鍼によって一様に交感神経活動の抑制が観察されたことから、交感神経活動のレベルに関係なく、電気鍼によって交感神経活動が抑制されることが期待される。交感神経活動のパワースペクトルの検討から、1 Hzの電気鍼刺激によっ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、電気鍼の効果が修飾さ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た。心筋梗塞作成から3ヶ月以上経過したラットを用いて、麻酔下に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

総合分担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

本研究で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。そして、電気鍼に対する動的な循環応答の数学モデルを利用してコンピュータシミュレーションを行い、血圧フィードバックを用いた電気鍼の刺激強度の調節システムを設計した。実際に制御装置を構築して、麻酔下のネコを用いて動作を検討したところ、1分以内に20 mmHgの降圧を達成し、その後、10~30分間の間、目標血圧を維持することが可能であった。

最終年度は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、腎臓交感神経活動に加えて心臓交感神経活動の記録を行った。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。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。

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の枠組みは、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も利用可能であった。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や降圧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. Effects of Ca^{2+} channel antagonists on nerve stimulation-induced and ischemia-induced myocardial interstitial acetylcholine release in cats. Kawada T, Yamazaki T, Akiyama T, Uemura K, Kamiya A, Shishido T, Mori H, Sugimachi M. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 291(5):H2187-H2191, 2006.
2. 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(2): 622-627, 2006.
3. Baroreflex increases correlation and coherence of muscle sympathetic nerve activity (SNA) with renal and cardiac SNAs. Kamiya A, Kawada T, Mizuno M, Miyamoto T, Uemura K, Seki K, Shimizu S, Sugimachi M. *J Physiol Sci* 56(5): 325-333, 2006.
4. Sympathetic neural regulation of heart rate is robust against high plasma catecholamines. Kawada T, Miyamoto T, Miyoshi Y, Yamaguchi S, Tanabe Y, Kamiya A, Shishido T, Sugimachi M. *J Physiol Sci* 56(3): 235-245, 2006.
5. Reversible vagal blockade in conscious rats using a targeted delivery device. Zheng C, Kawada T,