

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。

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18)。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、正常ラットの場合と同じく、血圧応答はネコに比べて僅かであった (図19)。

E. 結論

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、電気鍼に対する動的な循環応答を同定することが可能であった。これを元に、フィードバックによる電気鍼システムのための最適な制御系を設計し、実際に制御の性能を動物実験で検証した。その結果、電気鍼の電流強度と刺激周波数を同時に制御することによって、1分以内に20 mmHgの降圧効果を発揮できるような電気鍼システムを開発することが可能であった。フィードバックによる電気鍼の刺激強度の調節の枠組みは、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たとき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。本研究では病態における電気鍼の利用に向けて、心筋梗塞ラットに対する電気鍼の実験も実施したが、麻酔下のネコに比べて電気鍼による降圧作用が小さく、電気鍼の効果を検出するには、植込み電極などを用いて慢性的に電気鍼を適用するような実験が必要と考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

G-1. 論文

1. 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.
2. Effects of Ca²⁺ 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): 2187-2191, 2006.
3. Short-term electroacupuncture at Zusanli resets the arterial baroreflex neural arc toward lower sympathetic nerve activity. Michikami D, Kamiya A, Kawada T, Inagaki M, Shishido T, Yamamoto K, Ariumi H, Iwase S, Sugeno Y, Sunagawa K, Sugimachi M. Am J Physiol Heart Circ Physiol 291(1): 318-326, 2006.
 4. Automated drug delivery system to control systemic arterial pressure, cardiac output, and left heart filling pressure in acute decompensated heart failure. Uemura K, Kamiya A, Hidaka I, Kawada T, Shimizu S, Shishido T, Yoshizawa M, Sugimachi M, Sunagawa K. J Appl Physiol 100(4): 1278-1286, 2006.
 5. 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(1-2): 44-50, 2007.
 6. 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(4): H2516-H2522, 2007.
 7. 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.
 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. 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).
- G-2. 学会発表**
1. 杉町 勝、川田 徹、宍戸 稔、李梅花、鄭 燦、佐藤 隆幸、砂川 賢二. バイオニック心臓病学：循環調節の機能再建と異常是正. 第45回日本生体医工学会大会.
 2. 鄭 燦、川田 徹、田辺 慎一、植村 俊雄、宍戸 稔、砂川 賢二、杉町 勝. 情報量計測：自律神経系の神経インターフェースに関する基礎研究. 第45回日本生体医工学会大会.
 3. 上村 和紀、神谷 厚範、日高 一郎、川田 徹、清水 秀二、宍戸 稔、吉澤 誠、杉町 勝、砂川 賢二. 急

- 性重症心不全の循環管理を支援する血行動態自動制御システムの開発. 第45回日本生体医工学学会大会.
4. 杉町 勝, 川田 徹, 宍戸 稔、砂川 賢二. 植え込み治療装置の微小デバイス化. 第45回日本生体医工学学会大会.
 5. 日高 一郎, 稲垣 正司, 宍戸 稔、杉町 勝. 自己組織化マップを用いた心筋シートモデルにおける虚血領域の検出. 第45回日本生体医工学学会大会.
 6. 宮本 忠吉, 高木 洋, 稲垣 正司, 川田 徹, 宍戸 稔、神谷 厚範, 砂川 賢二, 杉町 勝. 心不全ラットにおける呼吸化学調節系の定量評価—呼吸異常のメカニズム解明への解析的アプローチ—. 第45回日本生体医工学学会大会.
 7. 清水 秀二, 宍戸 稔、上村 和紀, 神谷 厚範, 杉町 勝. 右心低形成症候群に対する術式決定のためのシミュレーション. 第45回日本生体医工学学会大会.
 8. 宮本 忠吉, 高木 洋, 稲垣 正司, 川田 徹, 宍戸 稔、神谷 厚範, 砂川 賢二, 杉町 勝. 心不全ラットにおける呼吸異常発生機構の解明—統合的枠組みによる化学反射系の定量評価—. 第27回日本循環制御医学会総会.
 9. 杉町 勝, 川田 徹, 神谷 厚範, 宍戸 稔. Analysis of pressure regulatory system by control engineering approach. Neuroscience 2006. The 29th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society.
 10. Uemura K, Kamiya A, Shimizu S, Shishido T, Sugimachi M, Sunagawa K. Comprehensive physiological cardiovascular model enables automatic correction of hemodynamics in patients with acute life-threatening heart failure. IEEE EMBC 2006.
 11. Miyamoto T, Inagaki M, Takaki H, Kamiya A, Kawada T, Shishido T, Sugimachi M, Sunagawa K. Sensitized central controller of ventilation in rats with chronic heart failure contributes to hyperpnea little at rest but more during exercise. IEEE EMBC 2006.
 12. Sunagawa K, Zheng C, Li M, Shishido T, Kawada T. Comprehensive physiological identification of cardiovascular regulation enables to restore and correct pathological regulation. World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering 2006.
 13. Shimizu S, Shishido T, Uemura K, Sano S, Sugimachi M. Use of model analysis to predict cardiovascular dynamics in one and a half ventricle repair. Cardiovascular System Dynamics Society 2006.
 14. Li M, Zheng C, Kawada T, Inagaki M, Shishido T, Sato T, Sugimachi M. Restoration of vagal tone by donepezil markedly improves longterm survival in rats with incurably severe heart failure. The

- 71st Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society.
15. Li M, Zheng C, Kawada T, Inagaki M, Shishido T, Sato T, Sugimachi M. Donepezil exerts its preventive effect on ventricular dysfunction on top of losartan in rats with extensive myocardial infarction. The 71st Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society.
 16. Miyamoto T, Takaki H, Inagaki M, Shishido T, Kawada T, Kamiya A, Sunagawa K, Sugimachi M. Central Chemoreflex Hypersensitivity in rats with chronic heart failure contributes to hyperpnea little at rest but more during exercise. The 71st Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society.
 17. Kawada T, Yamazaki T, Akiyama T, Li M, Zheng C, Miyamoto T, Uemura K, Shishido T, Inagaki M, Sugimachi M. Angiotensin II attenuates vagal stimulation-induced acetylcholine release in the ventricle. The 71st Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society.
 18. Une D, Shimizu S, Kamiya A, Uemura K, Kawada T, Shishido T, Sugimachi M. Sympathetic vasoconstriction affects graft flow of internal thoracic artery only at rest. The 71st Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society.
 19. Shimizu S, Shishido T, Uemura K, Kamiya A, Kawada T, Sano S, Sugimachi M. We should assess the physiological characteristics of hypoplastic right ventricle for surgical management of pulmonary atresia with intact ventricular septum. The 71st Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society.
 20. Kawada T, Zheng C, Miyamoto T, Uemura K, Shishido T, Li M, Sugimachi M. Angiotensin II attenuates dynamic vagal control of heart rate. The 71st Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society.
 21. 川田 徹、山崎 登自、秋山 剛、六戸 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。
 22. Smizu S, Shishido T, Uemura K, Kamiya A, Kawada T, Sugimachi M. New physiological classification for surgical management of hypoplastic right ventricle in pulmonary atresia with intact ventricular septum. 56th Annual Scientific Session, ACC.07.
 23. Li M, Zheng C, Kawada T, Inagaki M, Shishido T, Sato T, Sugimachi M. Restoration of vagal tone by donepezil markedly prevents progression of ventricular remodeling and dysfunction in rats with extensive myocardial infarction. 56th Annual Scientific Session,

ACC.07

24. 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.
25. 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.
26. 清水 秀二、宍戸 稔聡、上村 和紀、神谷 厚範、杉町 勝. Norwood手術のシャント術式が心臓エナジェティクスに与える影響. 第 46 回日本生体工学会大会.
27. 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.
28. 杉町 勝、上村 和紀、神谷 厚範、清水 秀二、宍戸 稔聡、砂川 賢二. 包括循環平衡モデルに基づくバイオニック循環管理. 第 28 回日本循環制御医学会総会.
29. 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.
30. 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.
31. 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.
32. 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.
33. 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.
34. 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*.
35. 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.
36. Une D, Shimizu S, Shishido T, Yoshitaka H, Sugimachi M, Kuinose M. Variable flow of successful LITA graft for proximal LAD lesion can be almost exclusively explained by double product. The 72nd Annual Scientific Meeting of the Japanese Circulation Society.
37. 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.
38. 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.
39. 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⁺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.
40. 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.
41. 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.
42. 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.
43. Sugimachi M, Uemura K, Shishido T, Kamiya A, Shimizu S, Sunagawa K. Theoretical and experimental demonstration of minimizing O₂ consumption under preserved hemodynamics in heart failure. XVIIIth Cardiovascular System Dynamics Society.
44. 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.
45. 清水 秀二、秋山 剛、川田 徹、水野 正樹、神谷 厚範、宍戸 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.
46. 水野 正樹、川田 徹、神谷 厚範、宍戸 稔聡.

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.

47. 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.
48. 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。

※平成20年度のみ研究を分担したため、内容は平成20年度分担研究報告書と同じ

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 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。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常者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(郗門: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)。

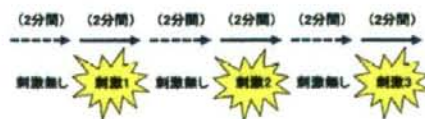


図1 鍼通電刺激プロトコル

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。刺激頻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

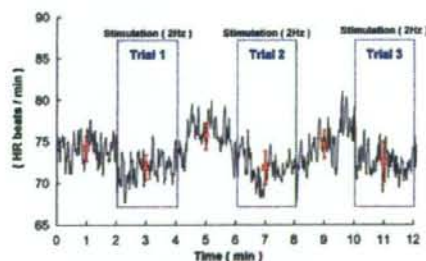


図 2 低周波鍼通電刺激時の心拍応答

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 ± 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 ± 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($p < 0.01$)。

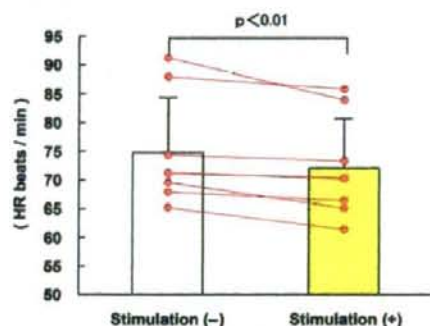


図3 刺入深度5 mmにおける非通電時と通電時の平均心拍数の比較

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 ± 9.6 から 72.1 ± 8.7 拍/分まで有意に減少した($p < 0.01$)。

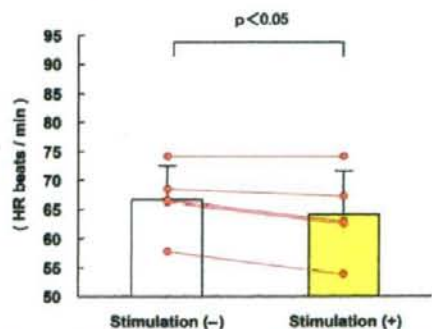


図4 刺入深度10 mmにおける非通電時と通電時の平均心拍数の比較

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、鍼通電を行った場合、心拍数は 66.7 ± 5.9 から 64.1 ± 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)。

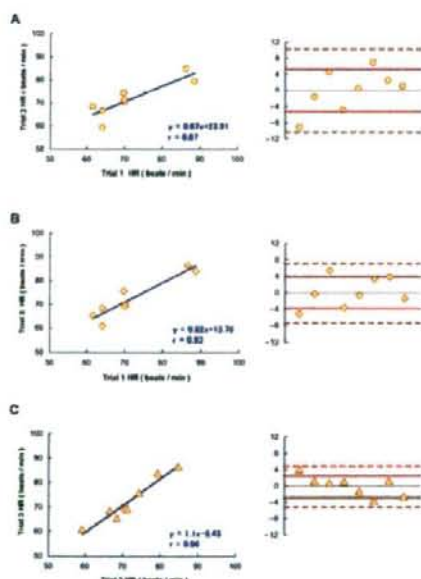


図5 繰り返し鍼通電刺激時における個人毎の心拍数の再現性。A: 1試行目と2試行目、B: 1試行目と3試行目、C: 2試行目と3試行目

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)。

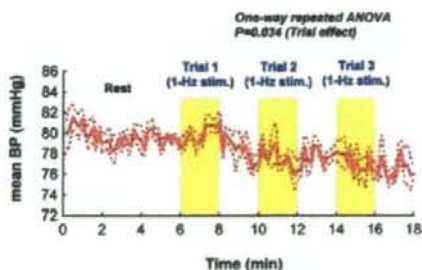


図6 低周波(1 Hz)鍼通電刺激条件下での血圧変化

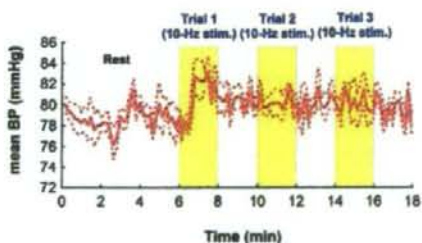


図7 高周波(10 Hz)鍼通電刺激条件下での血圧変化

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)。

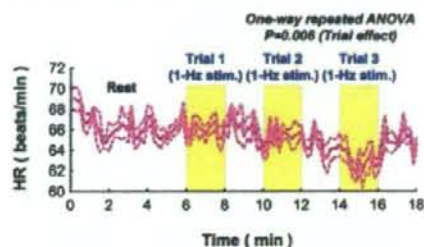


図8 低周波(1 Hz)鍼通電刺激条件下での心拍数の変化

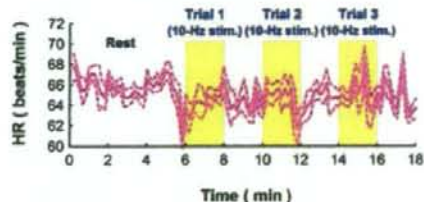


図9 高周波(10 Hz)鍼通電刺激条件下での心拍数の変化

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_A 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_A 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、効果的な心拍減弱反応を引き起こすこと、鍼刺激によってもたらされる心拍減弱反応は、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反応は、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、その反応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実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 α_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 CO₂ 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⁺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	苅尾七臣, 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, Yamazaki T, Akiyama T, Uemura K, Kamiya A, Shishido T, Mori H, Sugimachi M.	Effects of Ca ²⁺ channel antagonists on nerve stimulation-induced and ischemia-induced myocardial interstitial acetylcholine release in cats.	m J Physiol Heart Circ Physiol	291(5)	H2187-H2191	2006
Kawada T, Kitagawa H, Yamazaki T, Akiyama T, Kamiya A, Uemura K, Mori H, Sugimachi M.	Hypothermia reduces ischemia- and stimulation-induced myocardial interstitial norepinephrine and acetylcholine releases.	J Appl Physiol	102(2)	622-627	2007
Kamiya A, Kawada T, Mizuno M, Miyamoto T, Uemura K, Seki K, Shimizu S, Sugimachi M.	Baroreflex increases correlation and coherence of muscle sympathetic nerve activity (SNA) with renal and cardiac SNAs.	J Physiol Sci	56(5)	325-333	2006
Kawada T, Miyamoto T, Miyoshi Y, Yamaguchi S, Tanabe Y, Kamiya A, Shishido T, Sugimachi M.	Sympathetic neural regulation of heart rate is robust against high plasma catecholamines.	J Physiol Sci	56(3)	235-245	2006
Zheng C, Kawada T, Li M, Sato T, Sunagawa K, Sugimachi M.	Reversible vagal blockade in conscious rats using a targeted delivery device.	J Neurosci Methods	156 (1-2)	71-75	2006

Michikami D, Kamiya A, Kawada T, Inagaki M, Shishido T, Yamamoto K, Ariumi H, Iwase S, Sugeno J, Sunagawa K, Sugimachi M.	Short-term electroacupuncture at Zusanli resets the arterial baroreflex neural arc toward lower sympathetic nerve activity.	Am J Physiol Heart Circ Physiol	291(1)	H318-H326	2006
Uemura K, Kamiya A, Hidaka I, Kawada T, Shimizu S, Shishido T, Yoshizawa M, Sugimachi M, Sunagawa K.	Automated drug delivery system to control systemic arterial pressure, cardiac output, and left heart filling pressure in acute decompensated heart failure.	J Appl Physiol	100(4)	1278-1286	2006
Yamazaki T, Akiyama T, Kitagawa H, Komaki F, Mori H, Kawada T, Sunagawa K, Sugimachi M.	Characterization of ouabain-induced noradrenaline and acetylcholine release from in situ cardiac autonomic nerve endings.	Acta Physiol (Oxf)	191(4)	275-284	2007
Uemura K, Li M, Tsutsumi T, Yamazaki T, Kawada T, Kamiya A, Inagaki M, Sunagawa K, Sugimachi M.	Efferent vagal nerve stimulation induces tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in myocardial ischemia-reperfusion injury in rabbit.	Am J Physiol Heart Circ Physiol	293(4)	H2254-H2261	2007
Kawada T, Yamazaki T, Akiyama T, Shishido T, Shimizu S, Mizuno M, Mori H, Sugimachi M.	Regional difference in ischaemia-induced myocardial interstitial noradrenaline and acetylcholine releases.	Auton Neurosci 137(1-2): 44-50, 2007	137 (1-2)	44-50	2007
Kawada T, Yamazaki T, Akiyama T, Li M, Zheng C, Shishido T, Mori H, Sugimachi M.	Angiotensin II attenuates myocardial interstitial acetylcholine release in response to vagal stimulation.	Am J Physiol Heart Circ Physiol	293(4)	H2516-H2522	2007
Mizuno M, Kamiya A, Kawada T, Miyamoto T, Shimizu S, Sugimachi M.	Muscarinic potassium channels augment dynamic and static heart rate response to vagal stimulation.	Am J Physiol Heart Circ Physiol	293(3)	H1564-H1570	2007

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 α_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
Yamamoto K, 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
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.	J Artif Organs (mini review)	-	-	in press
------------------------	--	------------------------------	---	---	----------

Effects of Ca^{2+} channel antagonists on nerve stimulation-induced and ischemia-induced myocardial interstitial acetylcholine release in cats

Toru Kawada,¹ Toji Yamazaki,² Tsuyoshi Akiyama,² Kazunori Uemura,¹
Atsunori Kamiya,¹ Toshiaki Shishido,¹ Hidezo Mori,² and Masaru Sugimachi¹

¹Department of Cardiovascular Dynamics, Advanced Medical Engineering Center, National Cardiovascular Center Research Institute and ²Department of Cardiac Physiology, National Cardiovascular Center Research Institute, Osaka, Japan

Submitted 17 February 2006; accepted in final form 7 June 2006

Kawada, Toru, Toji Yamazaki, Tsuyoshi Akiyama, Kazunori Uemura, Atsunori Kamiya, Toshiaki Shishido, Hidezo Mori, and Masaru Sugimachi. Effects of Ca^{2+} channel antagonists on nerve stimulation-induced and ischemia-induced myocardial interstitial acetylcholine release in cats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 291: H2187–H2191, 2006. First published June 9, 2006; doi:10.1152/ajpheart.00175.2006.—Although an axoplasmic Ca^{2+} increase is associated with an exocytotic acetylcholine (ACh) release from the parasympathetic postganglionic nerve endings, the role of voltage-dependent Ca^{2+} channels in ACh release in the mammalian cardiac parasympathetic nerve is not clearly understood. Using a cardiac microdialysis technique, we examined the effects of Ca^{2+} channel antagonists on vagal nerve stimulation- and ischemia-induced myocardial interstitial ACh releases in anesthetized cats. The vagal stimulation-induced ACh release [22.4 nM (SD 10.6), $n = 7$] was significantly attenuated by local administration of an N-type Ca^{2+} channel antagonist ω -conotoxin GVIA [11.7 nM (SD 5.8), $n = 7$, $P = 0.0054$], or a P/Q-type Ca^{2+} channel antagonist ω -conotoxin MVIIC [3.8 nM (SD 2.3), $n = 6$, $P = 0.0002$] but not by local administration of an L-type Ca^{2+} channel antagonist verapamil [23.5 nM (SD 6.0), $n = 5$, $P = 0.758$]. The ischemia-induced myocardial interstitial ACh release [15.0 nM (SD 8.3), $n = 8$] was not attenuated by local administration of the L-, N-, or P/Q-type Ca^{2+} channel antagonists, by inhibition of $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange, or by blockade of inositol 1,4,5-trisphosphate [$\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$] receptor but was significantly suppressed by local administration of gadolinium [2.8 nM (SD 2.6), $n = 6$, $P = 0.0283$]. In conclusion, stimulation-induced ACh release from the cardiac postganglionic nerves depends on the N- and P/Q-type Ca^{2+} channels (with a dominance of P/Q-type) but probably not on the L-type Ca^{2+} channels in cats. In contrast, ischemia-induced ACh release depends on nonselective cation channels or cation-selective stretch activated channels but not on L-, N-, or P/Q type Ca^{2+} channels, $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange, or $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$ receptor-mediated pathway.

cardiac microdialysis; ω -conotoxin GVIA; ω -conotoxin MVIIC; KB-R7943; verapamil; vagal stimulation

ALTHOUGH N-TYPE Ca^{2+} CHANNELS play a dominant role in norepinephrine release from sympathetic nerve endings (8, 33, 34), the type(s) of Ca^{2+} channels controlling ACh release in the mammalian parasympathetic system is not fully understood and show diversity among reports. To name a few, in isolated parasympathetic submandibular ganglia from the rat, neurotransmission is mediated by Ca^{2+} channels that are resistant to the L-, N-, P/Q-, and R-type Ca^{2+} channel antagonists (29).

Address for reprint requests and other correspondence: T. Kawada, Dept. of Cardiovascular Dynamics, Advanced Medical Engineering Center, National Cardiovascular Center Research Institute, 5-7-1 Fujishirodai, Suita, Osaka 565-8565, Japan (e-mail: torukawa@res.ncvc.go.jp).

When the negative inotropic response to field stimulation was examined in the isolated guinea pig atria, Hong and Chang (8) reported the importance of P/Q-type Ca^{2+} channels, whereas Serone et al. (28) reported the importance of N-type Ca^{2+} channels. Because field stimulation in the isolated preparations could induce responses different from those in the in vivo conditions, we aimed to examine the effects of Ca^{2+} channel antagonists on the vagal nerve stimulation-induced myocardial interstitial ACh release in the in vivo feline heart.

Aside from the important role of the normal physiological regulation of the heart, the vagal nerve can be a therapeutic target for certain cardiovascular diseases (2, 3, 13, 22, 27). In previous studies, we have shown that acute myocardial ischemia causes myocardial interstitial ACh release in the ischemic region independently of efferent vagal nerve activity (12, 14). The comparison of the effects of Ca^{2+} channel antagonists on the ACh releases induced by vagal nerve stimulation and by acute myocardial ischemia may deepen our understanding about the ischemia-induced myocardial interstitial ACh release.

A cardiac microdialysis technique offers detailed analyses of in vivo myocardial interstitial ACh release (1, 15). Because the local administration of pharmacological agents through a dialysis probe can modulate ACh release without significantly affecting systemic hemodynamics, a combination of cardiac microdialysis with local pharmacological interventions is useful for analyzing the mechanisms of ACh release in vivo. In the present study, we examined the effects of Ca^{2+} channel antagonists on nerve stimulation- and ischemia-induced ACh releases in anesthetized cats. The results indicate that stimulation-induced ACh release from the cardiac parasympathetic postganglionic nerves depends on the N- and P/Q-type Ca^{2+} channels but probably not on the L-type Ca^{2+} channels. In contrast, ischemia-induced myocardial interstitial ACh release is resistant to the inhibition of L-, N-, and P/Q-type Ca^{2+} channels. In addition, the ischemia-induced myocardial ACh release is resistant to the inhibition of $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchanger and the blockade of inositol 1,4,5-trisphosphate [$\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$] receptor but is suppressed by gadolinium, suggesting that nonselective cation channels or cation-selective stretch-activated channels are involved.

MATERIALS AND METHODS

Common Preparation

Animal care was provided in accordance with the *Guiding Principles for the Care and Use of Animals in the Field of Physiological*

The costs of publication of this article were defrayed in part by the payment of page charges. The article must therefore be hereby marked "advertisement" in accordance with 18 U.S.C. Section 1734 solely to indicate this fact.