

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 22 日現在

機関番号：12103

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24650438

研究課題名(和文) 鍼を用いた心臓副交感神経の賦活化とその糖尿病、心不全への応用

研究課題名(英文) Application of acupuncture on parasympathetic nerve activation on diabetes mellitus and heart failure

研究代表者

松下 昌之助 (MATSUSHITA, Shonosuke)

筑波技術大学・保健科学部・教授

研究者番号：70359579

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)：副交感神経の低下と交感神経の亢進が心不全に大きな影響を与えていることから、デバイスによる副交感刺激療法の前臨床試験が始まっている。しかし、同方法は高価で侵襲的である欠点がある。そこで、心不全ラットの自律神経反応性を有する経穴である「足三里」に鍼電気刺激を行い、心拍変動法を用いて自律神経機能評価を行った。その結果、不全心の自律神経介入治療の目標である副交感神経機能改善の可能性を示唆する所見が得られた。

研究成果の概要(英文)：The pathophysiology of heart failure is characterized by hemodynamic abnormalities that result in neurohormonal activation and autonomic imbalance with increase in sympathetic activity and withdrawal of vagal activity. To improve this autonomic nervous imbalance in heart failure, electrical intervention that stimulates vagus nerve directly by implantable stimulator. However, this method is expensive and invasive for the patients. Acupuncture for "Zusanli" is known to have an effect as sympathetic nerve suppression in patients with hypertension. In this study, electrical stimulation by acupuncture (EA) on "Zusanli" was employed for several rat heart failure models. As a result, improvement of parasympathetic nerve activity was suspected by EA on "Zusanli" even in severe condition of rat heart failure model.

研究分野：総合領域

キーワード：心不全 糖尿病 自律神経 副交感神経 鍼 心拍変動 高周波数電位 ラット

1. 研究開始当初の背景

最近 20 年間の間に、自律神経系の不均衡、即ち副交感神経（迷走神経）の活性低下と交感神経の亢進が心不全の進展と生命予後に大きな役割をはたしていることが明らかになった¹⁾。そこで、心不全の自律神経系に対し何らかの方法で介入し、自律神経系のバランスを回復する治療手段が考えられてきた。その一つとして、迷走神経の電気刺激の前臨床試験（phase II, III）が行われている²⁾。前臨床試験では良好な結果がえられており、その機序の理解と有効なデバイスの開発が期待されている。一方、デバイス自体が高価で、かつ、侵襲的であり、また、制御方法の最適化が依然得られていない等の問題がある。

鍼は、体表に刺入し、また、低周波数の電気刺激を与えることによって、求心性刺激を脳の中枢に送り、自律神経反射として、遠心性の内臓 - 自律神経反射を惹起することができる。多くの研究から鍼治療は、高血圧、低血圧、虚血性心疾患などいくつかの心血管系の治療に有用であると報告されている³⁾。特に電気鍼治療は、延髄からの交感神経興奮性出力を変化させることができるので（例：交感神経興奮時の抑制性効果）、血管系疾患の治療に有効であるとされている⁴⁾。

2. 研究の目的

以上の背景から、本研究では、デバイスを用いた自律神経介入治療に替わり、鍼治療（とくに電気治療）が、心不全の自律神経介入療法に応用できるかどうか、基礎的研究を行う。

具体的には、鍼（電気刺激）による心臓自律神経調整機能を、心不全動物モデルに適用し、心拍変動（Heart Rate Variability: HRV）による心臓自律神経機能の定量的評価を行い、その有用性を検討する。

3. 研究の方法

(1) ラットに対する心拍変動法は確立されていないため、ラットの交感神経領域周波数帯（Low Frequency Band）、副交感神経周波数帯（High Frequency Band）を自ら定義し、確立する。

(2) 糖尿病性心不全における自律神経変化をラットモデルの HRV 測定法で検知できるかどうか検討する。

(3) ラット心不全モデル（SHR）に鍼電気刺激を行い、その効果を調べる。実験動物は SHR（Spontaneous Hypertensive Rat）と対象群（Wistar Rat）を用いる。刺激部位はラット両側「足三里（英名：Zusanli）」（膝蓋骨下脛骨外側 5 mm）とする。この足三里は、ラットを用いた実験ではもっとも多く用いられており、そのラットにおける刺入部位も確立している。また、心臓交感神経抑制に効果があると考えられている（図 1）。

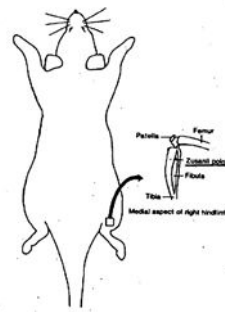


図 1 ラット足三里の部位⁵⁾

鍼は、セイリン鍼（No.3、線径 0.20 mm、鍼長 40 mm）を用い、通電機器は Ohm Pulser LFP-7000（全医療器（株））を用いる。通電条件は、電圧が最大電圧の 50%、周波数が 5 Hz、通電時間が 15 分、波形が矩形波である。麻酔は Pentobarbital 50mg/kg を用いる。

(4) 心電図心拍変動（Heart Rate Variability: HRV）

周波数解析による低周波数成分（0.001 ~ 0.2 Hz 交感神経機能に相当）と高周波数成分（0.2 ~ 1.5 Hz：副交感神経機能に相当）に分離し、各周波数帯の Power 値を以て、交感神経機能と副交感神経機能を定量的に評価する。

心電情報の入力には PowerLab（ADInstrument, Australia）を用い、また、HRV 解析には Chart Ver.5.5.6（ADInstrument, HRV Ver1.1）を用いる。誘導で記録された心電図の連続 500 心拍を解析の対象とする。不整脈のある心電図部分は解析対象から除く。RR 周波数解析には R 波の一次微分値の間隔を使用する。高速フーリエ変換を用い、X 軸を frequency (Hz)、Y 軸を Power (ms^2) とした図を作成する（図 2）。

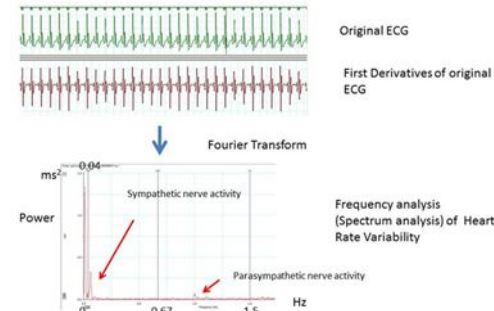


図 2 心拍変動の周波数解析表示の例

4. 研究成果

(1) 心拍変動法のラットへの応用・評価法の確立

小動物の HRV 評価はまだ十分には確立されていないため、自律神経評価の指標である周波数帯（Frequency Band）は自らの実験により定義した。Pentobarbital（50 mg/kg, i.p.）麻酔下の Wistar ラット（n=6）に交感神経遮断薬 propranolol（0.2 mg/kg）を腹腔内投与し、その投与前と 1 分後に記録した心電図を HRV 解析した。その結果、周波数スペクトラム 0.001 ~ 0.2 Hz の区間の Power が有意に減

少した (前値 $0.52 \pm 0.19 \text{ ms}^2$ 、1 分後 $0.14 \pm 0.09 \text{ ms}^2$; $p < 0.005$) (図 3)。これによりラットの HRV においてこの区間の Power が交感神経活動を示す指標であると評価し、この周波数帯を LF (Low Frequency) とした。なお副交感神経の周波数帯は先行論文の報告では、1.0~1.5 Hz であったが、本研究では交感神経帯からの切れ目をなくし、0.2 Hz ~ 1.5 Hz に設定した。

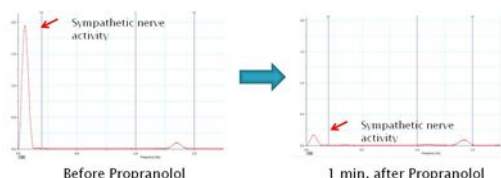


図 3 交感神経遮断薬 propranolol による低周波数電力 (LF) の減少

(2) 糖尿病性心不全における心拍変動法 (HRV) を用いた評価

糖尿病ラットモデルの作成：雄性 Wistar rat (5 週齢) に、Streptozotocin (STZ, 65 mg/kg 1 回、i.p.) を投与し、糖尿病ラットモデルを作成した。血糖値が 400 mg/dl 以上のラットを糖尿病群とした。STZ を投与後 20 週経ったラットの群 (糖尿病群) を、同じ期間飼育の Control 群と比較した。(各群 n=6)。血糖値は、Control 群 ($74 \pm 25 \text{ mg/dl}$ 、n=6)、糖尿病群 ($519 \pm 70 \text{ mg/dl}$ 、n=6) であった。

自律神経機能評価：交感神経指標として用いた LF/(LF+HF) 値は、Control (0.054)、DM20W (1.49) であった。糖尿病だと、交感神経指標が増加した。一方、副交感神経指標として用いた HF/(LF+HF) 値は Control (0.946)、DM20W (0.851) と減少する傾向を示した。糖尿病ラットモデルの自律神経機能を HRV で評価すると、交感神経緊張は亢進し、副交感神経緊張は相対的に低下することが示された。

心エコーによる心機能評価：心エコーは、M-mode により左室収縮期内径 (LVIDs) と左室拡張期内径 (LVIDd) を計測し、左室駆出率 (EF) を算出した。対照群 (control) と糖尿病群 (DM20W) との EF の比較では、糖尿病群で有意な EF の低値を示した (EF: control vs. DM20W; $75 \pm 10\%$ vs. $65 \pm 11\%$, $p < 0.05$) (図 4)。

対照ラットと糖尿病ラットの心機能の比較

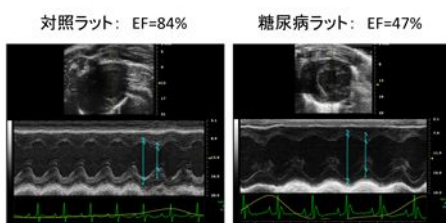


図 4 心エコーによる心機能評価

(3) ラット心不全モデル (SHR) に対する鍼電気刺激とその効果

ラットの両側足三里刺激：高血圧ラット (SHR) に対して鍼電気刺激を行い、心臓自律神経の変化を心拍変動法で検討した。ラットは SHR と対照 (各 n=5) を用いた。【方法】刺激場所は両側の「足三里」(膝蓋骨下脛骨外側 5mm) で、鍼 (セイリン) を刺入後 15 分間通電した (5 Hz)。刺激前、刺激中、刺激 15 分後の 3 点で心電図心拍変動法の自律神経指標を比較した。心電図の RR 間隔を時間領域解析指標 (Total Power, RMSDD)、周波数領域解析指標 (HF, LF/HF) を用いて検討した。Total Power はその値が小さいほど自律神経活動は少ない。また、RMSDD が大きいほど副交感神経活動は大きい。HF は副交感神経活動、LF/HF は交感神経活動を示す。【結果】SHR 群では、対照群に比べ電気刺激前では有意に total power が低く (6 ± 5 vs. $92 \pm 128 \text{ ms}^2$)、心拍変動が低調であり、自律神経活動の大幅な低下がうかがわれた。また、RMSDD からみた副交感神経活動は SHR で抑制されていた (SHR vs. Control: 4.4 ± 4.0 vs 7.2 ± 4.8)。周波数解析領域の交感神経と副交感神経指標の変化を、電気刺激前、電気刺激終了直前、電気刺激終了 15 分後と比較すると、交感神経指標の LF/HF は SHR 群では (0.77 0.83 1.10)、対照群では (0.17 0.12 0.52) であった。また副交感神経活動指標の HF は SHR 群では (28 42 46 nu)、対照群では (30 30 39 nu) であった。【考察】SHR では交感神経指標が対照群に比べて亢進していた。また、副交感神経指標は刺激前では対照群とは差はなかった。足三里の電気刺激では、SHR ではとくに副交感神経指標の改善が示唆される。

ラットの虚血負荷と足三里電気刺激：【方法】高血圧・心不全モデルである SHR と対象群 (Wistar ラット) に対して、外科的処置を与えた後で、呼吸停止による低酸素状態を負荷し、さらに両側足三里電気刺激を施行して、HRV の指標の変化を調べた。呼吸停止は、筋弛緩剤を与えて自発呼吸を止めた。その前後のラットの呼吸は、気管切開と人工呼吸器により人工的に維持された。【結果】心拍数は、虚血前、虚血後、EA 刺激後でそれぞれ次の様に推移した (対象群: 321 ± 60 288 ± 35 $304 \pm 42 \text{ bpm}$ 、SHR 群では 276 ± 34 225 ± 25 $232 \pm 25 \text{ bpm}$)。この間の HRV による交感神経指標である LF/HF は対象群では (2.36 23.62 0.72) と大きく変動した。一方 SHR 群では (4.35 7.30 1.95) と同様の変化の傾向を示したが、対象群より緩やかであった。また、副交感神経指標である HF (nu) は、対象群では (32 29 41) であったが、SHR 群では (16 24 47) であった。SHR では、虚血前は対象群に比べ、交感神経指標は高く、副交感神経指標は低い。また、虚血負荷に対する反応性は正常群より悪く、SHR におけるカテコラミン受容体の downregulation が示唆される。

一方、足三里の電気刺激は、SHR 群において副交感神経がより強く活性化される可能性が示唆された(図5, 6)。SHRの電気刺激前(図5)は、低周波数成分(LF)が多く、高周波数成分(HF)が少ないが、両側足三里の刺激後(図6)では、交感神経成分(LF)が減少し、副交感神経成分(HF)が増加している。また、n回目と(n+1)回目のRR間隔のずれを示すLorenz plotでは、電気刺激前の虚血負荷状態では、n回目と(n+1)回目がほぼ等しい交感神経優位型の分布が、電気刺激後では、n回目と(n+1)回目のRR間隔のずれが大きい副交感神経優位型の分布に変化している(図7, 8)。即ち、高血圧・心不全のモデルであるSHRでは、正常群にくらべ足三里電気刺激は、自律神経のバランスの修正にあたり、副交感神経優位に回復させる可能性が示唆された。

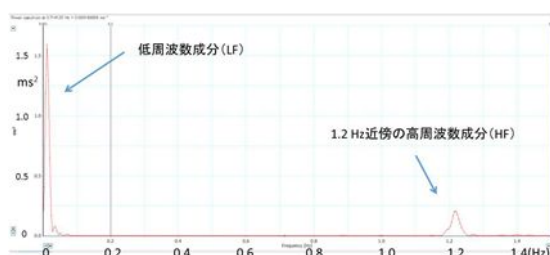


図5 電気刺激前の心拍変動周波数解析 (SHR)

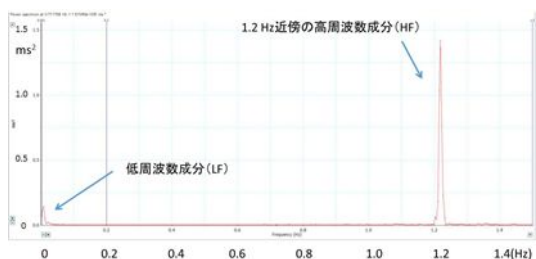


図6 電気刺激後の心拍変動周波数解析 (SHR)

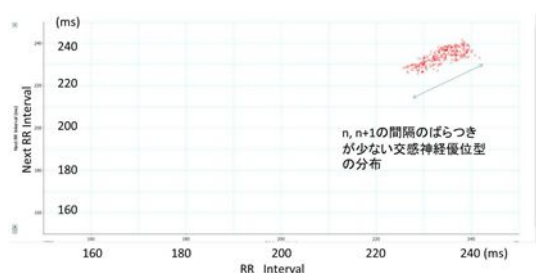


図7 電気刺激前のLorenz plot

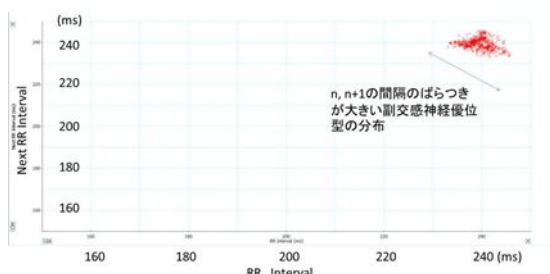


図8 電気刺激後のLorenz plot

< 引用文献 >

- 1) Florea VG, et al. The Autonomic Nervous System and Heart Failure. *Circ Res* 114:1815-1826, 2014
- 2) Schwartz PJ. Vagal stimulation for heart failure: Background and first in-man study. *Heart Rhythm* 6:S76-S81, 2009
- 3) Cheung L, et al. 2001. The mechanism of acupuncture therapy and clinical case studies. London: Taylor & Francis.
- 4) 口バートソン自律神経学、第117章 鍼治療、2007年、エルゼビア・ジャパン
- 5) Bing Z, et al. Acupuncture-like stimulation induces a heterosegmental release of Met-enkephalin-like material in the rat spinal cord. *Pain* 47(1):71-77, 1991

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計2件)

Sasaki K, Matsushita S, Sato F, Tokunaga C, Hyodo K, Sakakibara Y. Cardiac sympathetic activity assessed by heart rate variability indicates myocardial ischemia on cold exposure in diabetes. *Ann Vasc Dis* 6(3):583-589, 2013, 査読有, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3793179/>

松下昌之助、心拍変動解析を用いた視覚障害と理学療法臨床実習のストレス評価、筑波技術大学テクノレポート .21(2), 2014, 56-60, 査読無, http://www.tsukuba-tech.ac.jp/repo/dspace/bitstream/10460/1234/5/Tec21_2_11.pdf

6. 研究組織

(1)研究代表者

松下 昌之助 (MATSUSHITA, Shonosuke)
筑波技術大学・保健科学部・教授
研究者番号：70359579