

博士論文（要約）

自律神経系機能評価を用いたフィジカルコンディショニングの改善療法に関する研究

金子 健太郎

## 目次

要旨 .....	3
第1章 序論 .....	6
1-1. 療法の歴史的背景と改善療法 .....	6
1-2. 健常者と有疾患患者の自律神経系機能 .....	9
1-3. 心拍変動周波数解析による自律神経系機能の評価 .....	10
1-4. 本研究の目的 .....	11
第2章 温熱刺激の自律神経系機能への影響 .....	12
2-1. 緒言 .....	12
2-2. 材料および方法 .....	13
2-2-1. 対象 .....	
2-2-2. 温熱刺激 .....	
2-2-2-1. 足浴 .....	
2-2-2-2. 足部蒸しタオル温電法 .....	
2-2-3. 測定指標 .....	
2-3. 結果 .....	17
2-3-1. 足浴 .....	
2-3-2. 足部蒸しタオル温電法 .....	
2-4. 考察 .....	17
2-5. 小括 .....	20
2-6. 付図・付表 .....	21
第3章 改善療法による NSY マウスの自律神経系機能の変化 .....	26
3-1. 緒言 .....	26
3-2. 材料および方法 .....	27
3-2-1. 供試動物 .....	
3-2-2. 実験プロトコール .....	
3-2-3. テレメトリー送信機の埋め込みおよび心電図記録・解析 .....	
3-3. 結果 .....	30
3-3-1. NSY マウスの自律神経系機能の評価 .....	
3-3-2. 環境エンリッチメントを用いた改善療法による自律神経系機能の変化 .....	
3-3-3. 環境エンリッチメントの耐糖能機能への影響 .....	
3-4. 考察 .....	32

3-5. 小括.....	35
3-6. 付図・付表 .....	37
第4章 改善療法 Slow breathing exercise の開発.....	42
4-1. 緒言.....	42
4-2. 材料および方法 .....	44
4-2-1. 対象	
4-2-2. SBE の方法	
4-2-3. 測定スケジュールおよび測定指標	
4-3. 結果.....	46
4-3-1. SBE 実施状況	
4-3-2. 生理学的指標の変化	
4-4. 考察.....	47
4-5. 小括.....	49
4-6. 付図・付表 .....	50
第5章 慢性腎臓病患者における改善療法 SBE の効果.....	53
5-1. 緒言.....	53
5-2. 材料および方法 .....	54
5-2-1. 対象	
5-2-2. 測定スケジュールおよび SBE の方法	
5-2-3. 測定指標	
5-3. 結果.....	57
5-3-1. SBE 実施状況	
5-3-2. 生理学的指標の変化	
5-4. 考察.....	58
5-5. 小括.....	61
5-6. 付図・付表 .....	63
第6章 総合考察 .....	68
謝辞 .....	73
略号一覧 .....	74
参考文献 .....	75

## 要旨

健康は古くから幅広い分野において、またヒト以外の様々な対象においても、恒常的な生命活動を確保・維持するために求め続けられている。一般に、治療あるいは処置は対象の疾病を治癒させるために行われるが、その他に日常生活是正のための教育的指導や、症状予防・改善などを目的とした運動療法や食事療法といったあらゆる取り組みが様々な形で広く行われている。しかしながら、これらの取り組みには適用が限定されていたり、人的資源および物的資源に限界があるなどのために、それらを取り組むことや継続させること自体が困難な場合も存在する。したがって、医療機器や場所、機会の制限なく、自らが備えている身体機能にもとづき、対象のフィジカルコンディションを改善あるいは増進させることができる手法が必要であると考えられる。本研究ではそのような手技を「改善療法」と定義した。

生体の側面からみれば、生命活動を維持し続けるために全身における臓器の機能および協調性のもとに恒常性が維持されている。そのなかでも自律神経による全身臓器の機能調節は生命活動を継続させることに貢献している。心拍のゆらぎ(心拍変動)も自律神経で調節されており、その現象を分析する心拍変動周波数解析は様々な分野で研究されている。この分析方法は心電図を記録することが起点となる非侵襲的な手法である。したがって、心拍変動周波数解析を用いた自律神経系機能の評価は健康な生命活動が営むことができているか評価するうえで大変有用であるといえる。自律神経系機能においては、その調節能力や安静時の副交感神経活動を高めることの重要性が示唆されている。しかしながら、薬物療法や特定の医療機器を使用しない非侵襲的な手法による改善療法が自律神経系機能と

くに副交感神経活動を高めるかどうか、さらに心拍数や血圧、呼吸に代表される身体所見や病状などのフィジカルコンディションへどのように影響を及ぼすかどうかについては不明な点が多い。そこで本研究では、生体における非侵襲的なフィジカルコンディションの改善療法の開発を目指して、自律神経系機能評価に基づき病態生理学的機序と生体への影響について、健常者および有疾患患者、疾病モデル動物を用いてその有用性を明らかにすることを目的とした。

はじめに、温熱刺激の自律神経系機能への影響を明らかにするために、若年健常男性を対象に足部への温熱刺激が循環動態指標および自律神経系機能をどのように変化させるか検討した。その結果、生体における足部への温熱刺激は副交感神経活動を増大させ、全身循環には負担をかけず末梢循環を促進させることを明らかにした。このことから温熱刺激による物理的な刺激が自律神経系機能を賦活化させる改善療法として有用である可能性を示唆した。一方で、ヒトを対象とした継続的に実施することができる改善療法を目指すうえで、より実施する際の制限がなく長期的に用いることが可能となる手法の開発が必要であると考えられた。

続いて、長期的な改善療法に関して、2 型糖尿病モデル NSY マウスを用いて環境エンリッチメントが自律神経系機能ならびに糖尿病の病態に及ぼす効果を検討した。その結果、環境エンリッチメントとしての巣箱設置後 3 週後から副交感神経活動が増大することが明らかとなった。また、副交感神経活動を高める改善療法は耐糖能異常の進行を緩和させる可能性が示唆された。

次に、改善療法として日常生活において深呼吸を取り入れる Slow breathing exercise (SBE)を開発するために、若年健常男性を対象にした 4 週間の実施効果を検討した。その結果、SBE が安静時の副交

感神経活動を増大させ、末梢循環を促進させる可能性があることを明らかにした。

最後に、これまでの検討にもとづき、有疾患患者におけるフィジカルコンディションの改善療法効果を明らかにするために、慢性腎臓病患者を対象に SBE を実施しその効果について検討した。その結果、重症な慢性腎臓病患者であっても平均 5 週間の SBE によって拡張期血圧の低下、安静時の副交感神経活動の増大、末梢循環の促進をもたらす可能性を示唆した。一方で、SBE は腎機能そのものには影響をもたらさなかったが、症状の軽症な対象者においてはその進行を緩やかにさせ、まだ発症してはいない対象者においては発症を抑制させる可能性を示唆した。

本研究を通して、健常者および有疾患患者、疾病モデル動物を対象とした心拍変動周波数解析を用いて、非侵襲的な手法による長期的な改善療法が自律神経系機能に及ぼす効果を明らかにした。改善療法の病態生理学的作用として安静時の副交感神経活動の増大があり、このことが安静時心拍数の減少や自律神経バランス変調の是正などといったフィジカルコンディションの改善効果を有することを明らかにした。さらに、本研究で検討した改善療法は、日常生活を大きく変える必要はなく、高価な医療機器・デバイスを用いることなく実施ができ、非侵襲的な手法による実施と評価により成立することが示された。これらのことは、改善療法が誰でもがいつでもどこでも実施ができるという点において汎用性および持続性が高く、既存の治療法との併存が可能であることから、本研究の成果は健康な生命活動の維持・増進を目指す研究の応用と発展に貢献できると考えられる。

## 第 1 章 序論

### 1-1. 療法の歴史的背景と改善療法

療法の歴史は、原始人類が段々と発展し、その文化が進むに連れて、単純な経験を基にした民間医学や、因果関係の思考と宗教的要素を多く加えた魔法医学があらわれた(富士川, 1981 b)。そこから漸次に経験的知識と自然哲学的思考と宗教的行動とが集まって職業医学が成立し、それがさらに発展して学校医学が成立し、近代医学の歴史の始端となった(富士川, 1981 b)。紀元前の古代ギリシャにおいて、ヒポクラテスは臨床的経験的な事実の観察を主とし、疾病は自然の作用によって治癒するものであるとし、治療を施す際に病者の個性を顧み、病者に対してそれに適當の食餌を与え、生活の方法を整え、睡眠、安息及び運動を規則正しくすることをつとめた、といわれている(富士川, 1981 a; 富士川, 1981 b)。わが国においても、健康回復は古くは呪術や巫術をもって行われ、大陸との交通によって仏教が伝えられると仏に祈ることで行われ、中世では中国の影響を受け、症状から人間の健康をとらえる健康観のもと行われた(榎本, 2000)。このように古代より、療法の目的とその要旨は人間の疾病を治癒させ身体を健康にすることであった。

現代において、「健康」は 1946 年に世界保健機関憲章にて“Health is a state of complete physical, mental and social well-being and not merely the absence of disease or infirmity.”と定義された(WHO a)。この健康の概念は広く認識されるようになり、その後、1978 年にアルマ・アタ宣言ではプライマリヘルスケア(WHO b)が、1986 年にはオタワ憲章にてヘルスプロモーションが定義された(WHO c)。

我が国における健康をめぐる施策は時代の変遷とともに変化してきている。明治時代から戦時中までは近代衛生行政が発足し衛生水準の向上が図られた(厚生労働省, 2014 a)。戦後には感染症などの急性期疾患が激減し、日本人の寿命が急速に伸びた。一方、疾病構造は大きく変化し、昭和 26 年には結核に代わり脳血管疾患が死因の 1 位となった(厚生労働省, 平成 30 年人口動態統計)。このように 20 世紀は医療水準の向上と生活習慣の変化により、数十年の間に疾病構造が変化して超高齢社会へと移行した時代であった。

21 世紀の我が国では、「21 世紀における国民健康づくり運動(健康日本 21)」が推進され、従来の疾病予防の中心であった二次予防や三次予防に留まることなく、一次予防に重点を置いた対策を強力に推進して、壮年期死亡の減少及び健康で自立して暮らすことができる期間「健康寿命」の延伸等を実現することが目的とされた(厚生労働省, 2014 b)。2013 年からは、健康日本 21(第二次)が打ち出され、「生活習慣病の発症予防と重症化予防の徹底(非感染性疾患の予防)」や「栄養・食生活、身体活動・運動、休養、飲酒、喫煙及び歯・口腔の健康に関する生活習慣及び社会環境の改善」などが基本方針とされた(厚生労働省, 2012)。そこでは、生活習慣病に対処するため、食生活の改善や運動習慣の定着等による一次予防対策が推進されるとともに、合併症の発症や症状の進展等の重症化予防が重点となる対策も推進されてきた。2018 年に報告された健康日本 21(第 2 次)の中間評価では、全 53 項目のうち 34 項目(60.4%)が改善しているとされたものの、19 項目(35.8%)が変わらないとされ、そのなかには個人が取り組むべき栄養・食生活の改善や身体活動・運動の改善が含まれている(厚生科学審議会地域保健健康増進栄養部会, 2018)。さらに、我が国のみならず国際的にも喫煙、飲酒、肥満といった不健康



な生活習慣が非感染性疾患を中心とした多くの慢性的健康障害の根本的原因となっており、寿命の短縮と生活の質の低下を招いている。また、貧困層の医療利用低下などの経済的背景も健康問題に関連している(OECD Indicators, 2019)。

このように、健康に関する考え方と健康増進に向けた取り組みは時代や文化的社会的背景等によって内容が変遷してきたといえる。現代では健康な生命活動を確保・維持するために、有疾患患者の疾病の治癒を目的とした治療や処置等に限らず、健常者への教育的指導などのあらゆる介入が症状予防・改善、日常生活の是正などを目的に様々な形で広く行われている(Norris et al., 2002; Sun et al., 2008; Huang et al., 2010; Adachi et al., 2013; Matsuzawa et al., 2013)。しかしながら、例えば運動療法や食事療法がメタボリックシンドロームの心血管疾患の予防に対する重要な基本的アプローチである一方で、日常生活への介入は対象者のモチベーション維持や行動変容の困難性を有することも指摘されている(Matsuzawa et al., 2013)。さらに上述したように、経済格差による人的および物的資源利用の限界なども大きな問題である。したがって、医療機器や場所、機会の制限なく、自らが備えている身体機能を改善あるいは増進させることができ、複雑で多様な現代において広く汎用的に活用できる療法が必要である。そこで、このような誰でもが簡便にいつでもどこでも実施可能な手技を「改善療法」と定義し、その方法の開発と有用性について研究を推進した。改善療法は特定の医療処置による治療や侵襲性を伴う処置などによる急性的な身体的状態の変化を求めるものではなく、非侵襲的で長期的に持続することが可能な介入を指し、有疾患患者の症状改善や重症化予防だけでなく、健常者における疾病予防なども含む療法とした。

## 1-2. 健常者と有疾患患者の自律神経系機能

自律神経系は健康な生命活動を維持するために生体において重要な役割を果たしている。健常者においては外的環境あるいは内的環境の変化に適用するために自律神経系機能が正常に働き、生体の恒常性を維持させる。例えば、心臓の自律神経性制御は身体が安静時にあるときも、運動時やストレス時などの急性あるいは慢性的な生理学的変化にも応答するときも、最適機能を発揮できるように機能している (Robinson et al., 1966; Fisher and Newman, 2013)。

一方、加齢や疾患によって自律神経系機能の変調が慢性化することにより、身体において様々な症候が顕在化する (Robertson et al., 2015)。加齢により副交感神経活動が低下することが知られており (Kaye and Esler, 2008)、これが生じると血管系疾患への悪影響を強めることになる。また、心不全や高血圧症などの心血管系疾患においても同様の交感神経活動の亢進と副交感神経活動の低下がその病態と身体症状に関連している (Schlaich et al., 2004; Thayer et al., 2010; Schwartz and De Ferrari, 2011)。

例えば、心拍数を制御している圧反射感受性は、慢性高血圧や心不全などの心疾患や糖尿病、肥満や加齢を伴う多くの病態では明らかに低下している (Robertson et al., 2015)。さらに、腎臓の障害が交感神経の活性化を引き起こし、心血管系において左室肥大や不整脈、血管収縮などに寄与し、それぞれが複雑に干渉しながら心腎連関の悪循環へと発展することが知られている (Schlaich et al., 2009; Boudoulas et al., 2017)。以上のように、病的な状況における交感神経の過活動は自律神経系機能のバランスを崩し、上述したような健康障害を出現させる要因の一つになることから、自律神経系機能を評価することは健康な生命活動を確保・維持するために重要であるといえる。

### 1-3. 心拍変動周波数解析による自律神経系機能の評価

心拍数は交感神経と迷走神経によって拮抗的に支配されており、両者のバランスが心拍数に反映される。生理的な心拍のゆらぎは心拍変動と呼ばれ、これは洞結節の発火周期を調節する自律神経に媒介されている(Hayano et al., 1996; 井上, 2001)。したがって、心拍変動を解析することによって自律神経入力ゆらぎを分析することができる。心拍変動は心電図の1拍ごとのR-R間隔の変動を用いて測定され、目的に応じて様々な分析法と指標が用いられている。時系列データの変動係数 *coefficient of variation of R-R intervals* ( $CV_{R-R}$ ) や標準偏差平均 *standard deviation of normal-normal intervals* (SDNN)などに代表される時間領域解析 *time-domain analysis* は一定時間内の自律神経機能の総和を反映するものであり、心拍変動に関与する自律神経系の成分(交感神経および副交感神経)を抽出することができない(Task force, 1996; 日本自律神経学会, 2015)。それに対して、R-R間隔の変動に関与する周波数の成分を抽出する分析手法は、周波数領域解析 *frequency-domain analysis* あるいはスペクトル解析と呼ばれ、時系列データに含まれる周期的な変動成分の周波数とパワーを測定し、成分ごとの定量的評価を行う(井上, 2001)。周波数領域解析における各指標はそれぞれの周波数帯域で定義されており、ヒトと動物によって帯域の違いはあるが、いわゆる高周波成分 *High frequency* (HF)として抽出される周波数帯域のパワーは純粋に副交感神経活動を表している(Pagani et al., 1986; Task force, 1996)。一方、低周波成分 *Low frequency* (LF)は副交感神経活動と交感神経活動の両者が含まれている。心拍変動周波数解析において交感神経活動を純粋に表現できる指標はなく、LFをHFで除した比率を交感-副交感神経のバランスとして用いることにしている(Pagani et al., 1986; Task force, 1996)。心

拍変動周波数解析は記録された心電図の RR 間隔をもとに算出するため、非侵襲的に自律神経系機能を評価することが可能である。ヒトを対象とした心拍変動周波数解析に関する検討は数多く存在しており、医学以外にもリハビリテーション学 (Dixhoorn and White, 2005)、看護学 (Terathongkum and Pickler, 2004)、心理学 (Jorna, 1992) などの様々な学術分野において研究されている。また、動物を対象とした心拍変動周波数解析も行われており、大動物から小動物まで幅広く検討が行われている (Kuwahara et al., 1994; Kuwahara et al., 1999; Akita et al., 2002)。

先述したように、これまで自律神経系機能の調節能力や安静時の副交感神経活動を高めることの重要性が示唆されてきた (Curtis et al., 2002)。しかしながら、薬物療法や特定の医療機器を使用しない非侵襲的な手法による改善療法が自律神経系機能とくに副交感神経活動を高めるかどうか、さらに病状や身体所見などのフィジカルコンディションへどのように影響を及ぼすかどうかについては不明な点が多い。

#### 1-4. 本研究の目的

本研究では生体における非侵襲的なフィジカルコンディションの改善療法の開発を目指して、自律神経系機能評価に基づき生理学的機序と生体への影響について、健常者および有疾患患者、疾病モデル動物を用いてその有用性を明らかにすることを目的とした。

## 第2章 温熱刺激の自律神経系機能への影響

### 2-1. 緒言

生体における外的刺激の一つに寒冷刺激あるいは温熱刺激に代表される温度感覚への刺激があり、身体の表面(外殻温度)は外気温の影響を非常に受けやすい。皮膚の温度受容器は皮膚表面で約1 mmの受容野をもつ自由神経終末であり、冷受容器と温受容器が存在する(Tortora and Derrickson, 2019)。両者とも刺激の開始時に急速に順応するが、刺激が継続している間は低頻度のインパルスを生じ続ける(Hall, 2018)。一般的に入浴などの身体に温熱刺激をもたらすことはリラクセーション効果や入眠効果を得ることができることが広く知られている。とくに足部への局所的な温熱刺激は、自律神経や脳循環、脳波、快適度の変化をもたらすことや、手部皮膚温などの末梢皮膚温を上昇させることが報告されている(Xu and Uebaba, 2003; Uebaba and Xu, 2004)。また、温湯を用いるもの以外にも電法などがあり、温熱刺激として温湯に代わる方法の検討も報告されている(Fujimoto et al., 2008)。

一方で、臨床における有疾患患者への温熱刺激を用いた治療という観点では、足部潰瘍を有する糖尿病患者への報告がある(McCulloch and Knight, 2002)。温熱刺激による末梢循環の促進が足部潰瘍の治癒促進効果を有したといわれているが、その際の温熱刺激による介入が糖尿病患者における自律神経系機能にどのような影響を及ぼしたかについては明らかにされていない。温熱刺激を用いた療法は末梢循環への影響のみならず、自律神経系機能が調節されることによって病態そのものの改善に寄与した可能性がある。生体における温熱刺激による介入を評価する際は、末梢循環のみではなく循環

調節している自律神経系機能も同時に評価することが必要であると考え。しかしながら、実際に生体における温熱刺激が自律神経系機能と循環動態に及ぼす影響については、対象者や温熱刺激方法、部位、測定指標などに偏りがあり(江上, 2008)、見解が統一されていない。序論で述べたように、自律神経系機能の調節能力を高めることや副交感神経活動を高めることはフィジカルコンディションの改善に重要であるため、生体への温熱刺激による介入が末梢循環動態だけではなく自律神経系機能に及ぼす影響を詳しく調べる必要がある。また、心拍変動周波数解析による自律神経系機能の評価がフィジカルコンディションの改善療法との効果を評価する指標として有用であるかどうかについても確かめる必要がある。

以上のことから、本章では足部への温熱刺激が末梢循環を含む循環動態指標と自律神経系機能指標に及ぼす影響について 2 つの刺激媒体を用いて明らかにすることを目的とした。

## 2-2. 材料および方法

### 2-2-1. 対象

本章における実験では若年健常男性 19 名(平均年齢  $21.3 \pm 3.4$  歳)を対象とした。直近の健康診断において異常がみとめられておらず、12 誘導心電図の記録にて心調律が洞調律であることを確認した。なお、測定中に心調律異常や期外収縮などの不整脈の出現をみとめる場合は分析より除外した。全ての対象者に対して、測定にあたり自律神経活動への影響をさけるための日常生活行動における以下の注意事項を提示し、遵守させた。

- ・ 測定前日は激しい身体活動、アルコール飲料摂取を避け、十分に睡眠をとること。
- ・ 測定当日は、測定前にカフェインや煙草などの刺激物を摂取せずに、食事に関しては測定 2 時間前までに済ませること。
- ・ 測定当日は、激しい身体活動をせずに実験室に来室すること。
- ・ 測定時の服装は、研究者が用意した実験着とすること。

測定時間は 9 時～15 時の時間帯に統一し、測定環境は一定の室温と湿度 ( $22.6 \pm 1.6^{\circ}\text{C}$ 、 $61.2 \pm 6.1\%$ ) を維持した。なお本実験は「ヘルシンキ宣言」および「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」を遵守して、人権への配慮を徹底し実施した。

## 2-2-2. 温熱刺激

温熱刺激として足浴および足部蒸しタオル温罨法の 2 種類の方法を用いた。

### 2-2-2-1. 足浴

足浴の方法について、足浴の湯温と時間、快適度の関係にもとづき (Xu and Uebaba, 2003; Uebaba and Xu, 2004)、 $40^{\circ}\text{C}$  の温湯を用いた 15 分間の実施とした。また、足浴時の姿勢について、座位姿勢は上半身を挙上し下腿を下ろすことで重力の影響により副交感神経活動が減弱するため (竹本ら, 2007; 上館ら, 2008)、本章における足浴時の姿勢は仰臥位のまま両膝を立てる姿勢で足部をベイスン内の温湯に浸漬する方法とした。測定中は湯温低下を防ぐために恒温槽 (CL-80R、TAITEC) を用いて温度を

40℃に維持した(Fig. 1)。測定プロトコールは、ベッド上安静仰臥位の姿勢において 15 分間設け(足浴前)、上述した方法による足浴を 15 分間(足浴中)実施し、足浴後も安静仰臥位の姿勢で 30 分間を保持する計 60 分間とした。足浴後 30 分間は 15 分間ずつ足浴後 1 と足浴後 2 の 2 つに分けた。測定中における外気温の影響を防ぐため、対象者には終始タオルケットをかけた。足浴は温湯に足部を浸漬するのみとし、マッサージ等の物理的刺激を与えずに行った。足浴後はタオルで足部の水分をふき取り、下腿をそれぞれタオルで被覆した。

#### 2-2-2-2. 足部蒸しタオル温罨法

足部蒸しタオル温罨法の方法は以下の通りとした。はじめに約 60℃に加温加湿したフェイスタオルを左右それぞれに 4 枚用いて、足趾から足根、足底から足背まで足部全体を覆うように順に貼用した。次にポリエチレン製の袋でフェイスタオルを含めて足首まで覆った。足部蒸しタオル温罨法における測定プロトコールも足浴と同様に、ベッド上安静仰臥位の姿勢において 15 分間設け(蒸しタオル法前)、同一体位による蒸しタオル温罨法を 15 分間(蒸しタオル法中)実施し、温熱刺激後も安静仰臥位の姿勢で 30 分間を保持する計 60 分間とした。蒸しタオル温罨法後の 30 分間は 15 分間ずつ蒸しタオル法後 1 と蒸しタオル法後 2 の 2 つに分けた。測定中における外気温の影響を防ぐため、対象者には終始タオルケットをかけた。蒸しタオル温罨法後はタオルで足部の水分をふき取り、下腿をそれぞれタオルで被覆した。



### 2-2-3. 測定指標

前述の対象者に対し、心拍数と血圧はベッドサイドモニタ(DYNASCOPE DS-5300、フクダ電子)を用いて測定し、右手首上腕橈骨動脈上にトノメトリー(JENTOW 770、日本コーリン)を装着し脈波を測定した。末梢循環指標として左下肢外踝上 5~7cm 付近と胸骨柄上の 2 点で末梢皮膚温(DYNASCOPE DS-5300、フクダ電子)および皮膚血流量(ALF21RD、アドバンス)を連続測定した。自律神経系機能の評価として、連続的にモニターした心電図アナログ信号とトノメトリーによる脈波のアナログ信号を、AD 変換器(PCN2198、ネオログ)を介してパーソナルコンピュータに転送し、RR 間隔と収縮期血圧を測定し保存した。心拍変動周波数解析はこれらの RR 間隔時系列をもとに coarse graining spectral analysis(CGSA)法を用いて調和振動成分のみを算出した(Yamamoto and Hughson, 1991)。周波数帯域は 0~0.15Hz の成分を Low frequency(LF)、0.15~0.5Hz の成分を High frequency(HF)とし、HF 成分を副交感神経活動指標とし、LF 成分と HF 成分の比(LF/HF 比)を交感-副交感神経のバランスの指標とした。圧受容器反射感受性 baro-reflex sensitivity(BRS)は Sequential 法(Watkins et al. 1996)を用い、RR 間隔変動と収縮期血圧変動が 3 連続以上続けて上昇あるいは下降したところを選び、それらの直線関係の相関係数が 0.9 以上の関係を求め、それらの傾きの平均値を算出した。測定したデータは 5 分間ずつ解析し、前述の測定プロトコールにおける各期最終 5 分間のものを分析に使用した。以上の方法で得られた全てのデータは平均値±標準誤差で表現し、足浴においては足浴前を、足部蒸しタオル温罨法においては蒸しタオル法前をコントロールとして各期について比較検討した。統計処理は Student の  $t$  検定を用いて、危険率 5%未満を有意とした。

## 2-3. 結果

### 2-3-1. 足浴

心拍数と血圧は足浴後に有意に低下した(Fig. 2A, 2B)。HF 値は足浴後に有意に増加し、BRS も足浴後 15 分の間に有意に増加したが、LF/HF 比は足浴中に増加するものの、足浴後は足浴前に比べて不変であった(Fig. 2C, 2D)。末梢循環に関して、足部の皮膚温は足浴開始後から上昇し、足浴後も低下することなく 30 分間維持した(Fig. 3A)。足部皮膚血流量は足浴中から有意に増加した(Fig. 3B)。

### 2-3-2. 足部蒸シタオル温電法

心拍数および収縮期血圧は蒸シタオル法後に有意に低下した(Fig. 4A, 4B)。HF 値は蒸シタオル法後に有意に増加し、LF/HF 比と BRS は不変であった(Fig. 4C, 4D)。足部における皮膚温は蒸シタオル温電法中から上昇し(Fig. 5A)、同部位の皮膚血流量は蒸シタオル法中から有意に増加した(Fig. 5B)。

## 2-4. 考察

本章では、若年健常男性における足部への温熱刺激が自律神経系機能にどのような影響をもたらすか若年健常男性を対象に評価した。前章で述べたとおり自律神経系機能の評価として非侵襲的な解析手法である心拍変動周波数解析を用いた。その結果、温熱刺激後はいずれも HF 値の増加が認められ、心拍数の減少がみとめられたことから、足部への温熱刺激により副交感神経活動の増大があったことが示唆された。この副交感神経活動の増大は交感神経活動の相対的な低下にも関与していると

考えられた。このことにより末梢血管の収縮が緩和され、さらに直接的な温熱刺激によって血管拡張につながったことで、足部皮膚血流量の増加がみとめられたと考えられた。さらに、BRS は足浴による温熱刺激によって温熱刺激後に増加をみとめた。安静条件下での BRS と HF 値との間に相関があることが報告されており(貞安ら, 1999)、本章における HF 値と BRS の結果はそれと近似している。BRS は迷走神経の反射機能を反映しており、心血管系リスクの予測因子としてだけではなく、BRS の改善そのものが治療標的となりリスク軽減に寄与している(Robertson et al., 2015)ことから、温熱刺激が HF 値と BRS を増加させたことは、改善療法として期待すべき結果であるといえる。

温熱刺激はリラクセーション効果や入眠効果を得る方法として広く用いられている(吉永, 吉本, 2005)が、これらの効果を長時間の間維持できるかどうかは詳しい検討がされていない。本章において観察された実施後の副交感神経活動の増大と末梢循環促進は短期的な効果であったが、日ごろ運動トレーニングを行っている影響により HF 値の増大が認められるように(Goldsmith et al., 1992)、上述した温熱刺激を継続的に実施していくことにより、それらの効果を獲得することができる可能性があると考えられた。したがって、フィジカルコンディションの改善療法として用いる方法が効果的であるかどうかについては、長期間にわたる観察が必要となる。さらにその期間における安全性についても考慮しなければならない。温罨法などを用いた温熱刺激の効果の評価としては、自律神経を主とする生理学的な指標が多くを占めているものの、対象者や温熱刺激方法、部位、測定指標などに偏りがあり統一されておらず(江上, 2008)、それらの有用性や適用、安全性などに関して明らかにされていなかった。本章では対象者を若年健常男性に限定し、足浴と温罨法の両方の方法により統一した測定指標を用いて温熱刺激によ

る短期的な効果を検討することができた。加えて、本章で用いた測定機器・手法はいずれも非侵襲的であり、測定中における対象者からの苦痛の訴えはみとめなかった。ただし、温熱刺激中の姿勢に関して、足部蒸しタオル温電法は終始仰臥位をとることができたが、足浴においてはベッド上で温湯を用いるため膝を立てる状態で両足を浸漬しなければならず (Fig. 1)、この姿勢の保持が足浴実施中の LF/HF 比の増加 (Fig. 2C) に関連していたことが考えられる。

一方、前章で述べたように自律神経系機能の変調は病態進行や症状増悪などに関与しており、フィジカルコンディションを低下させる。本研究における改善療法に期待する作用機序に関しては、安静時の副交感神経活動を高めることであり、このことは病態進行の抑制や重症化の軽減、発症予防につながる可能性がある。既往の糖尿病性の足部潰瘍における温熱刺激の報告 (McCulloch and Knight, 2002) のように足部への温熱刺激は局所的な治療効果だけではなく、全身性に病態進行を抑制する効果をもたらすかもしれないため、それらの点に関しては今後の検討が必要である。

本章において用いたヒトを対象とした非侵襲的な手法による自律神経系機能および循環動態に関する検討は、対象者に苦痛を与えることなく安全に実施することができ今後の改善療法の効果を評価する手法として適していることが分かった。一方、今回の検討は短期的なものであり、長期的な適用による効果や恒常的な副交感神経活動の増大については実証できていない。また、改善療法の病態における適用も見据えると、健常者における自律神経系機能の変化のみではなく、病態の評価なども併せて検討していく必要があると考えられた。したがって、次章以降では実験動物を用いた改善療法を仮定した長期的な処置が自律神経系機能等へどのような影響を及ぼすか、恒常的に副交感神経活動を高める

か実証を行うとともに、その影響が疾患・病態に対してどのような影響をもたらすか検討する。

## 2-5. 小括

本章では、足部への温熱刺激が副交感神経活動を高め、全身循環に対し大きな負担をかけることなく、かつ末梢循環を促進、維持させることが示された。また、本章で用いた心拍変動周波数解析による非侵襲的な自律神経系機能の評価が改善療法の効果を評価する手法として有用であることが示された。本章の結果はあくまでも単回による検討であり、副交感神経活動を増大させる方法を継続的に用いることによって定常状態の副交感神経活動を高め、健常者および有疾患患者のフィジカルコンディションに対する有益な影響をもたらすかどうかについては更なる検討が必要であると考えられた。以上のことより、次章では、実験動物を用いた検討として、長期的に副交感神経活動を高める処置が自律神経系機能にどのような効果をもたらすのか、さらには病態そのものが改善するかどうか検討することとした。

## 2-6. 付図・付表



Fig. 1 足浴の方法

足浴は対象者がベッド上仰臥位で両膝を立てる姿勢を保持したまま実施した。足浴に用いる温湯は実施中の温度低下を防ぐために恒温槽を用いて 40℃に維持し、足踝まで浸漬した。

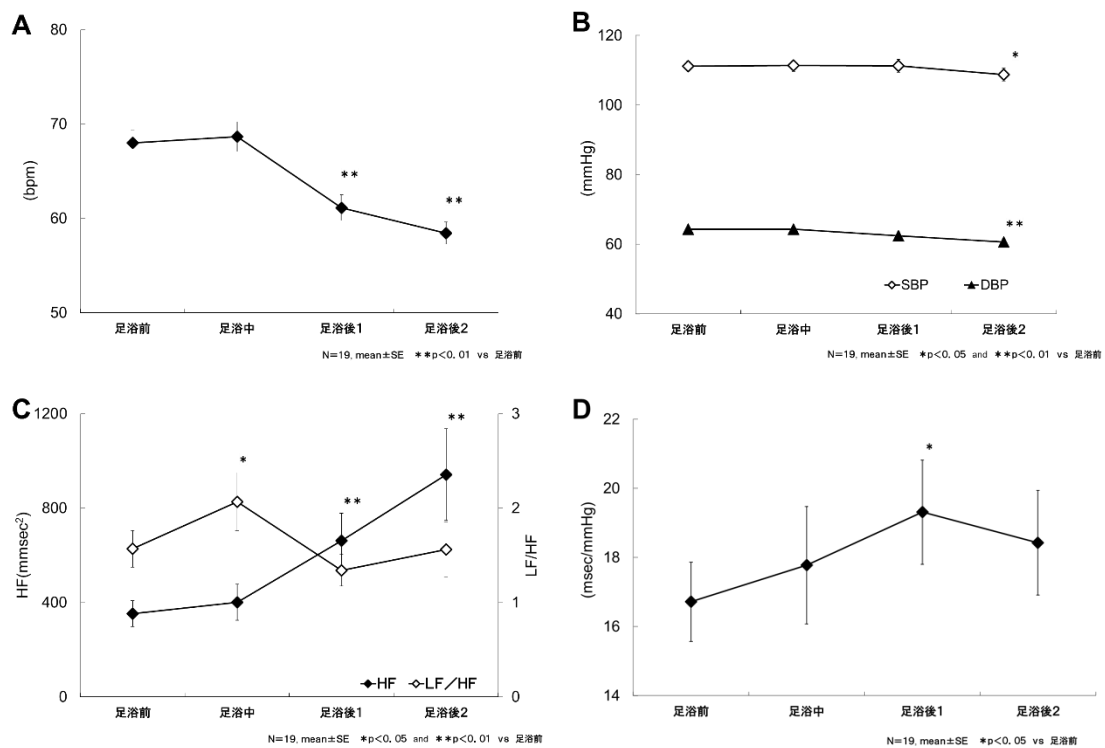


Fig. 2 足浴による温熱刺激が循環動態および自律神経系機能に及ぼす影響

A) 心拍数は足浴後に有意に低下した。B) 血圧は収縮期血圧および拡張期血圧、いずれも足浴後 30 分後に有意に低下した。C) HF 値は足浴後に有意に上昇した。LF/HF 比は足浴中に有意に増加するが、足浴後は不変であった。D) BRS は足浴中に変化をみとめず、足浴後に有意に増加した。

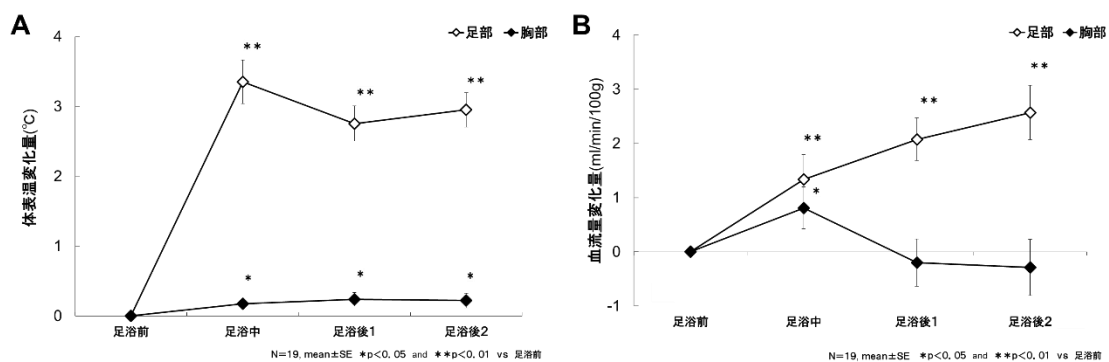


Fig. 3 足浴による温熱刺激が末梢循環に及ぼす影響

A) 足部体表温は足浴中から有意に上昇し、その後も上昇した温度を維持した。B) 足部皮膚血流量は足浴中から有意に増加した。



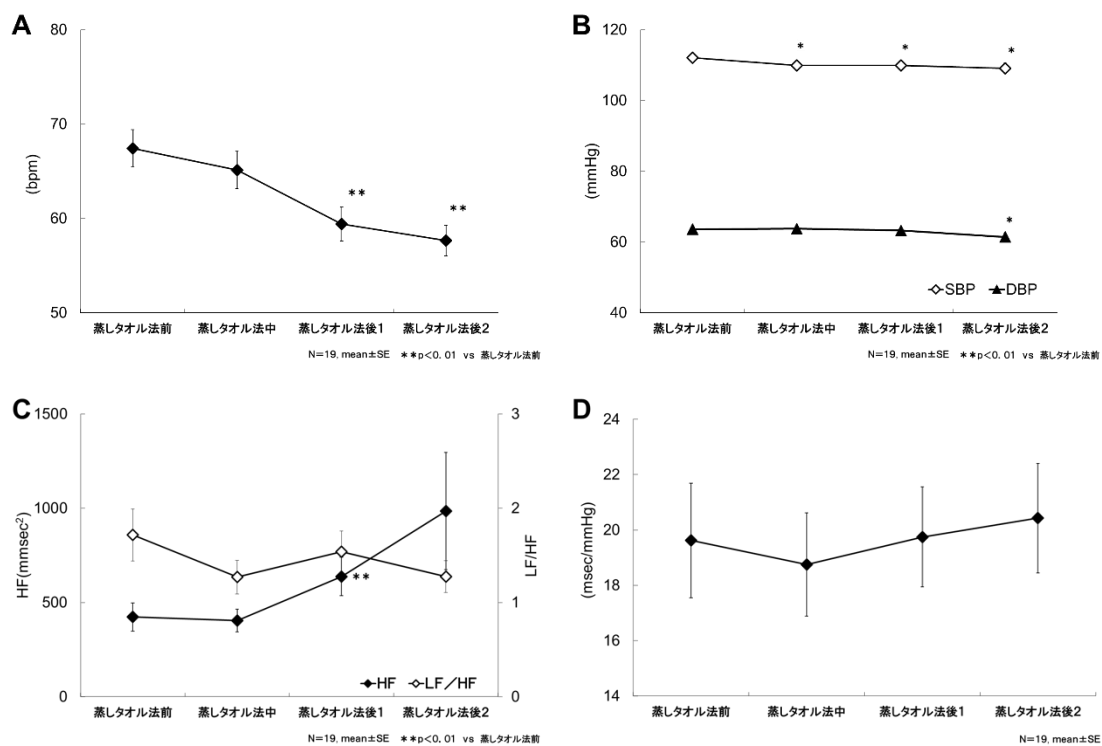


Fig. 4 足部蒸シタオル温電法による温熱刺激が循環動態および自律神経系機能へ及ぼす影響

A) 心拍数は蒸シタオル温電法後に有意に減少した。B) 血圧は蒸シタオル法温電法中より収縮期血圧が低下したが、拡張期血圧は変化しなかった。C) HF 値は蒸シタオル温電法後に有意に上昇したが、LF/HF 比は変化しなかった。D) BRS は温熱刺激によって有意な変化はみとめなかった。

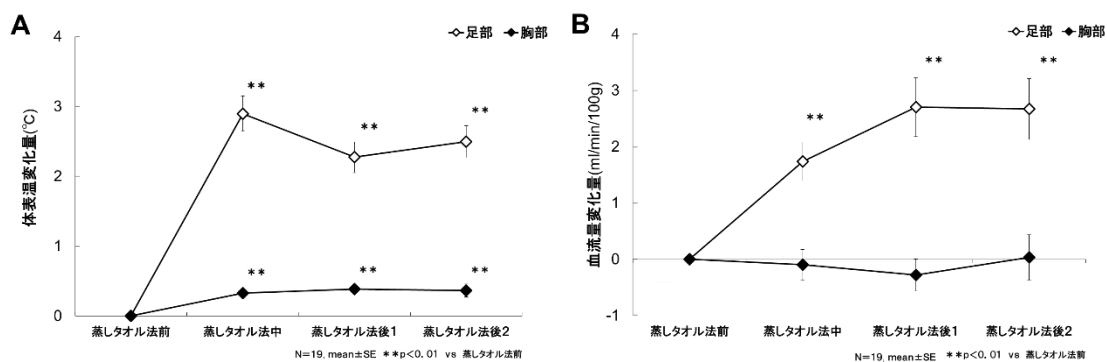


Fig. 5 足部蒸しタオル温罨法による温熱刺激が末梢循環動態へ及ぼす影響

A) 足部皮膚温は蒸しタオル温罨法中より上昇し、刺激後もその上昇を維持した。 B) 足部皮膚血流量の増加は蒸しタオル温罨法中から増加をはじめ、蒸しタオル温罨法後でも有意に増加した。

### 第3章 改善療法による NSY マウスの自律神経系機能の変化

#### 3-1. 緒言

健常者および有疾患患者を対象とした長期的な改善療法の効果を検討する前に、動物モデルを用いた自律神経系機能への影響について明らかにする必要がある。しかしながら、短期的な介入ではなく長期的に動物モデルの副交感神経活動を高める非侵襲的な介入に関する検討はほとんど実施されていない。そこで、実験動物の固有の行動を促進し、ストレス応答の減少をもたらすことが報告されている環境エンリッチメント Environmental enrichment (EE) (Belz et al., 2003; Benaroya-Milshtein et al., 2004) に着目した。特にマウスなどのげっ歯類では、EE としてケージに巣箱を設置することが快適な生活行動環境となると報告されている (Kawakami et al., 2007; Kawakami et al., 2012) が、自律神経系機能への影響について詳しく調べた報告はほとんどない。したがって、EE が自律神経系機能、とくに副交感神経活動を増大させることが確認できれば、EE は長期的な改善療法の影響について検討するための手段として有用である。

一方、前章では若年健常者を対象とした温熱刺激の効果について検討し、温熱刺激による副交感神経活動の増大と糖尿病患者のような有疾患患者の病態との関係について述べた。自律神経系機能と有疾患患者に関する検討として、例えば糖尿病では、心拍数に影響を及ぼす自律神経活動は糖尿病患者では同年齢の非糖尿病患者に比べて一般的に低下することが報告されている (Perciaccante et al., 2006)。さらに、2 型糖尿病は心臓自律神経障害を引き起こす可能性があり (Carnethon et al., 2003;

Benichou et al., 2018)、このことは糖尿病患者の死亡率の上昇に関連している(Maser et al., 2003; Vinik et al., 2003)。また、糖尿病における心臓自律神経障害の最も初期の症状は副交感神経の除神経に関連する傾向があり(Pop-Busui, 2010)、副交感神経活動の低下と安静時の心拍数が高い健康成人は 2 型糖尿病を発症するリスクが高いことが知られている(Carnethon et al., 2003)。これらのことから、副交感神経活動の増大または安静時心拍数の減少は、糖尿病発症の発生率の低下に関与する可能性があると考えられる。したがって、継続的な自律神経系機能、特に副交感神経活動の増大が 2 型糖尿病の発症予防効果や病状進行抑制効果につながる事が考えられる。

以上のことより、本章では自然発症型 2 型糖尿病モデルとして NSY/Hos マウスを用いて、一般的にマウスの EE として用いられる巣箱(Bayne, 2018)を飼育ケージ内に設置することで自律神経、特に副交感神経活動を高めるかどうかを検討すること、さらに EE を用いた継続的な改善療法が NSY マウスの自律神経系機能にどのように影響をもたらすか検討することを目的とした。

## 3-2. 材料および方法

### 3-2-1. 供試動物

8 週齢雄の NSY/Hos マウス(日本 SLC)を用いて実験に供した。全てのマウスはプラスチック製ケージに単飼とし床敷きにウッドチップを施し、明暗サイクルを 12 時間毎(8:00-20:00 明期)とした室温 23℃ の環境で飼育した。飼育期間中はマウス用の基礎飼料(MF、オリエンタル酵母)および水道水を用いて自由摂取させた。マウスの飼育および取り扱いについては、「東京大学動物実験実施マニュアル」にあ

る指針を遵守し、東京大学大学院農学生命科学研究科・農学部動物実験委員会の承認のもとで実験を行った。

### 3-2-2. 実験プロトコール

本章の実験プロトコールは大きく 2 つに分かれている。第一に、NSY マウスにおける EE がもたらす影響について検討した。14 週齢時の NSY マウス 8 匹を無作為に 4 匹ずつ、通常の飼育環境に加えて後述するマウス用巣箱を設置する EE 群と、通常の飼育環境のみの対照群に分けた。実験期間は巣箱を設置する 16 週齢時から 20 週齢時までの 4 週間とし、後述する心電図記録を継続して行った。実験期間中は EE 群には継続して巣箱設置を行った。実験用巣箱 (Shepherd Shack<sup>®</sup>, Shepherd Specialty Papers) は再生紙でできた立体 (146.0×89.0×64.0mm) で、前面に一つの穴 (φ 40mm) が空いており (Fig. 6A)、マウスは齧ったり登ったりする行動をとることが可能である (Fig. 6B)。

第二に、NSY マウスにおける長期継続的な EE の影響について検討した。EE 群には 16 週齢から 48 週齢までの間、継続して上記の巣箱を設置した。加えて、48 週齢時に空腹時血糖値の測定と 2g/kg グルコース液の経口投与による糖負荷試験を実施した。糖負荷試験は測定前日の暗期より絶食とした状態で実施した。採血は尾静脈より行い、負荷前の 0 分値を測定したのち、上述したグルコース溶液を経口投与させ、その後 30 分値、60 分値、90 分値、120 分値をそれぞれ測定した。得られた血糖値よりグルコース曲線下面積を算出し、両群で比較検討した。

### 3-2-3. テレメトリー送信機の埋め込みおよび心電図記録・解析

心電図記録用テレメトリー本体 (ATE-02S、ソフトロン) は、NSY マウスにイソフルラン吸入麻酔を施した後、頸背部皮下に外科的に埋入した。送信機本体の記録電極はプラス極を左脇腹部の皮下に、マイナス極を右肩甲部の皮下に設置した。

テレメトリー送信機の埋入後は 1 週間の回復期間を設け、心電図の記録に移った。マウスの心電図信号は送信機から無線でケージ下の受信ボード (ATR-1001、ソフトロン) に伝わり、接続された専用 PC 内ハードディスク上に転送され、連続的に心電図プロセッサ (SBP2000、ソフトロン) にて記録した。記録された心電図データをもとに解析ソフトウェア (SRV2W、ソフトロン) を用いてパワースペクトル解析による心拍変動周波数解析を行った (Kuwahara et al., 2015; Chikamoto et al., 2019)。周波数帯域は、低周波数成分 (0.1-1.0Hz: LF) と高周波数成分 (1.0-5.0Hz: HF) に分けた (Ishii et al., 1996; Task Force, 1996)。LF 成分を交感神経活動と副交感神経活動の指標、HF 成分を副交感神経活動指標、LF 成分と HF 成分の比 (LF/HF 比) を交感-副交感神経バランスの指標とした (Kuwahara et al., 1994)。

得られた心電図データは 16 から 20 週齢までの 4 週間と 48 週齢時点で分析した。全ての測定指標は平均±標準誤差で表した。これらの指標は、日内変動を判断するために 24 時間の期間を明期 (8:00-20:00; 休息期) と暗期 (20:00-8:00; 活動期) に分けた。分析は反復測定分散分析を用いて、群内の時間経過効果と群間の介入効果を検討した。群間と時間経過効果との相互作用が有意である場合のみ、最小有意差検定を使用して多重比較を行った。空腹時血糖および糖負荷試験結果の分析には Student の *t* 検定を用いて、48 週齢時の対照群と EE 群を比較した。いずれの統計処理も危険率 5% 未

満を有意とした。

### 3-3. 結果

#### 3-3-1. NSY マウスの自律神経系機能の評価

Fig. 7A は 16 から 20 週齢までの対照群の一例における連続的な心拍数の結果を示しており、明確な概日リズムが示されている。心拍数と同様に LF 値と HF 値でも明らかな概日リズムを示していたため (Fig. 7B)、明期と暗期の各期間でデータを分離した。この実験期間中の体重の変化は、対照群が  $40.9 \pm 2.0\text{g}$  から  $43.1 \pm 3.1\text{g}$  であり、EE 群が  $41.6 \pm 2.2\text{g}$  から  $43.4 \pm 4.3\text{g}$  であった。両群間に有意差はみとめなかった。

Fig. 8 は EE の有無による自律神経機能の経時変化の結果を示している。心拍数は明期と暗期の両方で 16 週齢から 20 週齢にかけて減少した (時間:  $p=0.004$ ;  $p=0.005$ ) が、対照群と EE 群の間で有意差はみとめられなかった (群間:  $p=0.112$ ;  $p=0.116$ 、相互作用:  $p=0.741$ ;  $p=0.766$ )。LF 値は明期で 16 週齢から 20 週齢まで有意に増加したが、暗期では有意差をみとめなかった (時間:  $p=0.027$ ;  $p=0.151$ ) が、明期において対照群と EE 群の間で有意差はみとめられなかった (群間:  $p=0.150$ ; 相互作用:  $p=0.118$ )。EE 群の HF 値は、対照群と比較して明期のみで 16 週から 20 週齢で有意に徐々に増加し、相互作用で有意差をみとめた (群間:  $p=0.026$ ; 時間:  $p=0.001$ ; 相互作用:  $p=0.035$ )。事後解析の結果、16 週齢との比較においては 19 週齢と 20 週齢で有意差をみとめた (対 16 週齢: 19 週齢  $p=0.004$ ; 20 週齢  $p<0.001$ 、群間: 19 週齢  $p=0.009$ ; 20 週齢  $p<0.001$ )。LF/HF 比は 16 週齢から 20 週齢まで、明期で

は減少したが(群間:  $p=0.303$ ; 時間:  $p=0.023$ ; 相互作用:  $p=0.285$ )、暗期では変化をみとめなかった(群間:  $p=0.260$ ; 時間:  $p=0.397$ ; 相互作用:  $p=0.791$ )。

### 3-3-2. 環境エンリッチメントを用いた改善療法による自律神経系機能の変化

Fig. 9A は、それぞれ 48 週齢時点の対照群と EE 群の NSY マウスにおける自律神経機能の代表的な 24 時間の経時変化データを示している。日内変動は、両群ともに心拍数、LF 値、HF 値で観察できるが、LF/HF 比では明確ではなかった。EE 群においては LF 値と HF 値が明期において増大していることがみとめられた。両群 3 例ずつの平均値における比較ではいずれも明期において、対照群に比べて EE 群の心拍数は有意に低く( $p=0.005$ )、HF 値は有意に大きいことをみとめた( $p=0.029$ ) (Fig. 9B)。明期における EE 群の LF 値は対照群よりも大きい傾向があったが、統計的に有意差をみとめなかった( $p=0.187$ )。LF/HF 比は明期の対照群と EE 群の間に有意差はなかった。一方、暗期における 48 週齢の自律神経機能は対照群と EE 群の両方で類似していた。

### 3-3-3. 環境エンリッチメントの耐糖能機能への影響

48 週齢時の体重は、対照群( $n=5$ )で  $46.5 \pm 1.9\text{g}$ 、EE 群( $n=5$ )で  $45.2 \pm 1.4\text{g}$  であり、両群間で有意差をみとめなかった( $p=0.590$ )。空腹時血糖値は、対照群で  $106.4 \pm 9.3\text{mg/dl}$ 、EE 群で  $108.2 \pm 4.0\text{mg/dl}$  であり、両群間で有意差をみとめなかった( $p=0.863$ )。Fig. 10A に 48 週齢での対照群と EE 群の両群における耐糖能試験の結果を示す。全てのマウスの経口グルコース投与後 120 分血糖値が



200mg / dl を超えた。グルコース曲線下面積は両群間で有意差をみとめなかった ( $p=0.330$ , Fig. 10B)。

しかし Fig. 10A に見られるように、対照群の 1 匹のマウスは異常に高い血糖値を示し、安静値の平均の 2 標準偏差を超えていた。さらに、他のマウスがこの実験の後も生き残ったにもかかわらず、このマウスは 1 週間後に死亡した。

### 3-4. 考察

本章では EE が 2 型糖尿病モデル NSY マウスの自律神経系機能に及ぼす影響を明らかにするために、心拍変動周波数解析による自律神経系機能の評価にもとづく実験を行った。その結果、以下のことが明らかとなった。第一に、NSY マウスの心拍数および自律神経系機能には明瞭な日内変動が存在した (Fig. 7)。NSY マウスを用いた心拍変動周波数解析による自律神経系機能の報告はこれまでになかった。糖尿病の心拍および自律神経系機能の評価するにあたり、日内変動を考慮する必要があるため (Stables et al., 2016)、NSY マウスを用いた本章の結果は今後の研究の基礎となると言える。第二に、巣箱設置 4 週間後 (20 週齢) では、EE 群において明期の HF 値が有意に増加したが、巣箱がない対照群では自律神経系機能に変化は認められなかった。一方、EE の影響は暗期 (活動期) では観察されなかった。第三に、継続的な EE を受けた 48 週齢の NSY マウスは対照群と比較して明期において HF 値が高値であり心拍数が減少していることを確認できた。また、両群とも 48 週齢では耐糖能異常を示したが、C 群の 1/3 例では極めて高い血糖値を示した。以上のことより、改善療法を模倣しえる手段である EE としての巣箱の設置は、明期における副交感神経活動の増大を引き起こすことが明らかとなった。ま

た、EE としての巣箱設置による副交感神経活動の増大は NSY マウスの過剰な病態進行を抑制する可能性を示唆したことから、糖尿病の病態改善に応用できる可能性がある。

本章において、改善療法の長期的な影響について疾患モデル動物を用いて評価することを目的としていたなかで、以下の理由において NSY マウスを選択した。NSY マウスは中等度の肥満を伴う 2 型糖尿病の自然発症型モデルである (Shibata and Yasuda, 1980)。糖尿病研究における様々な動物モデルがあるなかで (Stables et al., 2013)、NSY マウスは長期的で緩徐な病態の進行が示されるため、非常に早期に体重増加と高血糖がみとめられる db/db マウス (Senador et al., 2009) よりも、ヒト 2 型糖尿病に類似すると考えられる。NSY マウスの耐糖能異常の累積発生率は、48 週齢の雄で 98% であり、体脂肪の増加と軽度の高インスリン血症を伴う (Ueda et al., 2000)。さらに、24 週齢から空腹時の高インスリン血症と高いグルコース曲線下面積が認められることが報告されている (Ueda et al., 1995; Ueda et al., 2000)。したがって、本章における 20 週齢前の評価は、耐糖能障害の重症度のない状態にあったと考えられる。この結果から軽症および発症前からの改善療法の効果について重要な知見を得たと言える。

EE が設定された直後は NYS マウスの自律神経系機能に変化はなかったが、明期の副交感神経活動はその後徐々に増加し、3 週間後には設置前と比べて有意に増大した。この結果は、改善療法を模した EE は安静時の副交感神経活動を増加させるのに 3 週間以上を要したことを示している。これは、自律神経活動の定常状態の変化は、薬物療法における投薬のように瞬時にもたらされるのではなく、むしろ継続的および長期的な作用の結果である可能性があることを示唆している。また、Fig. 9B で示したように、48 週齢の EE 群における NSY マウスでは対照群と比べて HF 値が高く残っていたことが確認さ

れており、明期における副交感神経活動が増大した状態を維持していた。継続的な EE は、対照群と比較して 48 週齢で心拍数を低下させたが、設置後 4 週間後の 20 週齢では心拍数への効果は観察されなかった。これは、4 週間よりも長い EE による改善療法の、特に安静時の定常状態の心拍数を変化させた可能性があることを示している。一方、今回の検討において巣箱による影響は明期に作用したが、活動期である暗期において自律神経系機能を高めることが重要かどうかは不明であり、この問題は今後の課題である。

自律神経系機能のバランスの変調は糖尿病の進行に関連していることが指摘されており (Carnethon et al., 2003; Perciaccante et al., 2006; Benichou et al., 2018)、副交感神経活動を継続的に増加させることは疾患の進行と重症化に対する予防効果に寄与する可能性がある。このことは本研究における改善療法が期待する機序である。本章では 48 週齢時の EE 群において自律神経系機能のなかでも特に HF 値が有意に高く、心拍数は有意に低かった。これらの結果は継続した EE による改善療法が副交感神経活動を高めたことを示しているが、EE 群における全マウスは耐糖能異常を示し、EE による改善療法は糖尿病の発症を防ぐまでには至らなかった。しかし、EE 群のマウスは 52 週齢でさえも生存しており、同週齢における対照群の 1 匹のマウスは重度の耐糖能障害を示していたことから、重症化抑制および進行抑制効果を有していた可能性がある。

一方、本章で用いた NSY マウスは雄の耐糖能異常および腎症発症率が高く、28 週でメサンギウム基質の増加が見られ、40 週で糸球体硬化症が観察されることから (Hamada et al., 2001)、糖尿病性腎症に関する検討にも用いられている (籠橋, 大谷, 2016)。糖尿病性腎症は現在わが国の慢性透析患者の

原疾患として最も多く、さらに透析導入患者の平均年齢は 69.68 歳と高齢であり、原疾患では糖尿病性腎症が最も多い(42.5%)ことが報告されている(新田ら, 2018)。わが国では、健康日本 21(第 2 次)において、糖尿病性腎症による年間新規透析導入患者数の減少等を数値目標として掲げ、様々な取組を進めてきている。しかしながら、平成 30 年に実施した中間評価において、糖尿病性腎症による年間新規透析導入患者数は平成 23 年をピークに横ばい傾向で、年間約 16,000 人を超える状況が続いている(新田ら, 2018)。この現状からも糖尿病性腎症の重症化予防の取組みをさらに推進、強化していくことが喫緊の課題となっている(厚生労働省, 2019)。本章において、NSY マウスにおける長期的な改善療法が自律神経系機能のなかでも副交感神経活動を高めることが示されたが、腎機能に関する評価は行っていない。48 週齢でも自律神経系機能の調節能力が保持されており、安静時の副交感神経活動の増大がみとめられたことは、腎機能へ何らかの影響があった可能性が予測されるため、腎病態の進行等に対する検討は更なる課題である。したがって、次章以降のヒトを対象とした検討では、本章と関連のある慢性腎臓病患者を対象とした改善療法の有用性について評価していくこととする。

### 3-5. 小括

本章では改善療法を模した EE が自律神経系機能に及ぼす影響について、2 型糖尿病モデルマウスを用いて検討を行った。第一に、EE としての巣箱の設置が明期における副交感神経活動を増大させることを明らかにした。第二に、長期的な改善療法の検討として 16 週齢から継続して巣箱を設置することによって、48 週齢における明期の HF 値が巣箱の設置をしていない対照群に比べて高値を示し、心

拍数が低値を示すことを明らかにした。これらのことから、長期的に安静時の副交感神経活動を増大させる改善療法の効果が実験動物においても実証され、自律神経系機能の維持と病状進行を緩和させる効果を有する可能性が示唆された。したがって、次章ではヒトにおける長期的に実施する改善療法の開発を行い、その効果について検討することとした。

3-6. 付図・付表

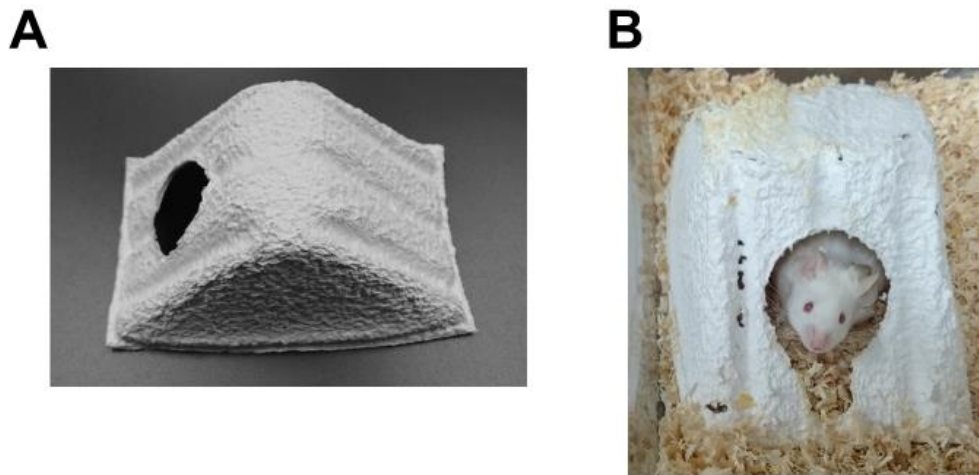


Fig. 6 実験用巣箱 (Shepherd Shack®, Shepherd Specialty Papers)

A) 材質は再生紙で、構造は立体(146.0×89.0×64.0mm)で、前面に一つの穴(φ40mm)が空いている。 B) EE 群の NSY マウスが巣箱内に入っている様子を示す。巣箱前面の入口の大きさが齧られて変わっている。

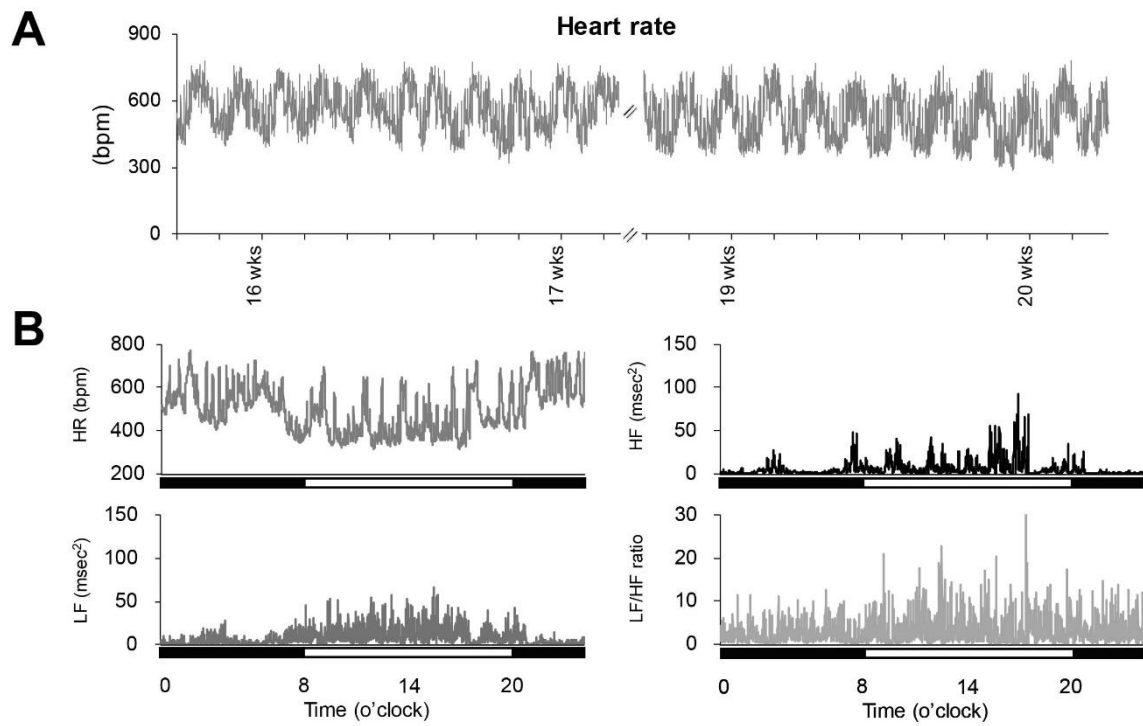


Fig. 7 若齢 NSY マウスの日内変動

A) 対照群における NSY マウスの心電図記録による心拍数の推移を示す。B) 20 週齢にお

ける対照群の NSY マウス 1 例の心拍数および LF 値、HF 値、LF/HF 比の経時変化を示す。

LF/HF 比以外の指標において明確な明暗周期が観察された。

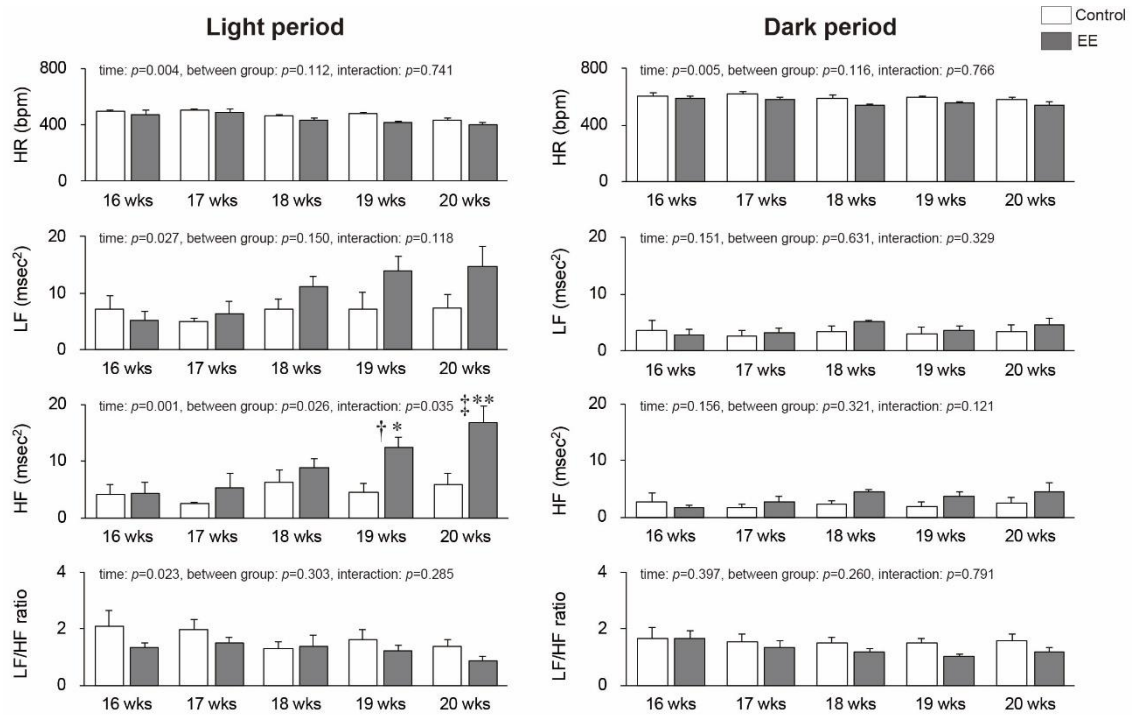


Fig. 8 16 週齢から 20 週齢時までの心拍数および自律神経系機能の変化

対照群 ( $n = 4$ ) および EE 群 ( $n = 4$ ) における結果を示す (\*  $p < 0.01$ , \*\*  $p < 0.001$  vs 16 週齢、

†  $p < 0.01$ , ‡  $p < 0.001$  vs 対照群)。左半分が明期、右半分が暗期における結果であり、EE 群の

明期の HF 値は EE 設置後 3 週目より増加し、19 週齢および 20 週齢時において対照群に比べ

有意に高値を示した。



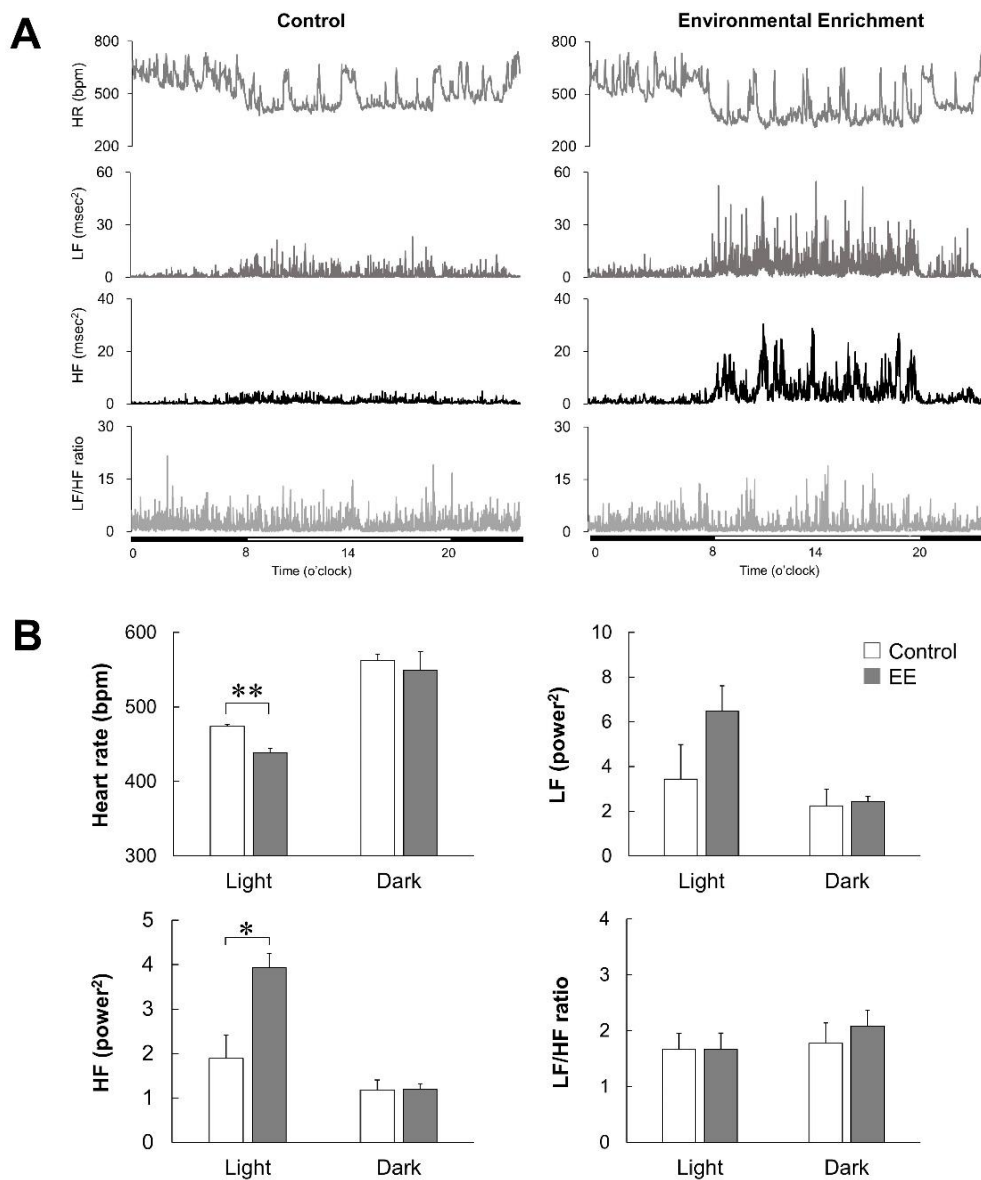


Fig. 9 両群における48週齢時の自律神経系機能

A) 48週齢時の代表的な心拍数およびLF値、HF値、LF/HF比の結果を示す。どちらも心拍数とLF値、HF値で日内変動が観察されるが、対照群と比較してEE群は明期でのLF値とHF値の変化が大きいことを確認した。B) 3例ずつの平均値の比較において、EE群は対照群よりも明期において有意に心拍数が低く、HF値が高値を示した(平均値±標準誤差。\* $p<0.05$ , \*\* $p<0.01$ .)

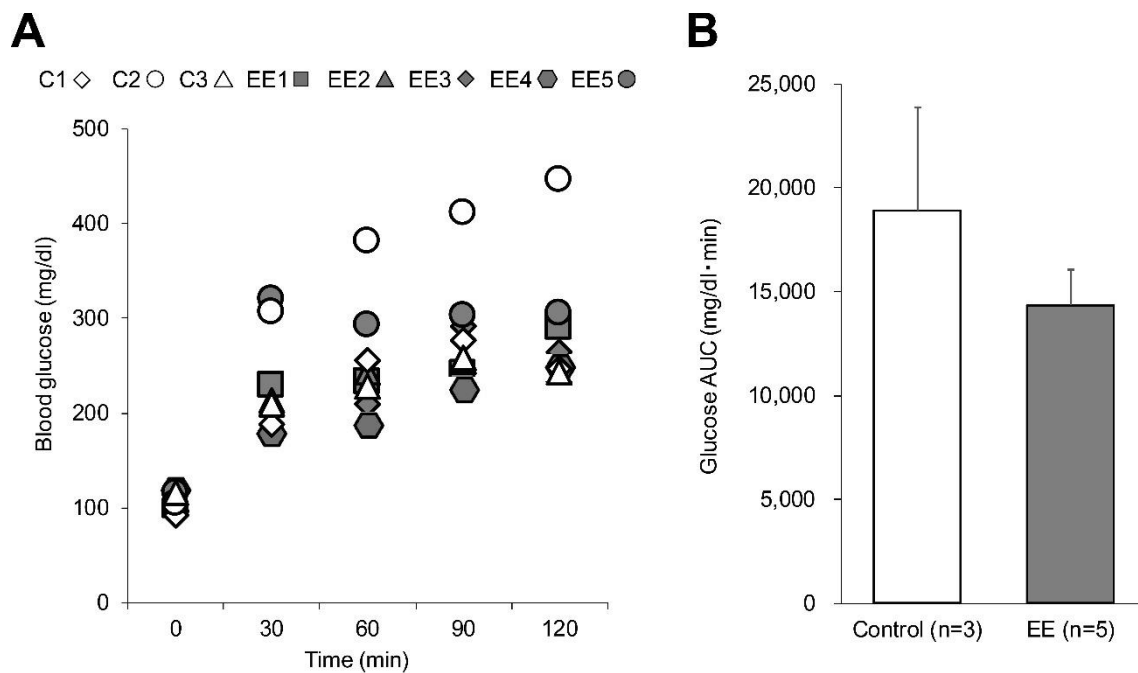


Fig. 10 48 週齢時における経口糖負荷試験の結果

A) 血中グルコース濃度の経時変化は、48 週齢における試験結果を個体ごとにプロットしている。対照群のなかで 1 匹のコントロールマウス(C2)は糖負荷投与してから 120 分後でも、より高い血中グルコース濃度を示していることが観察された。B) グルコース曲線下面積の結果を示す(平均値±標準偏差)。両群に有意な差はみとめなかった( $p=0.330$ )。

## 第4章 改善療法 Slow breathing exercise の開発

### 4-1. 緒言

前章において、実験動物を用いた長期間の改善療法が自律神経系機能の賦活化に寄与し、安静時の副交感神経活動を増大させ、病態の重症化抑制効果を有する可能性が示唆された。先述したように、ヒトにおける副交感神経活動の増大は一過性の短期的な効果に関する検討が多く、非侵襲的な手法による介入の影響については十分な検討がされていない。第2章では温熱刺激が生体にもたらす影響について自律神経系機能と循環動態の変化から評価し、安静時の副交感神経活動を高めることが明らかとなった。加えて、ヒトを対象とした長期的に持続することが可能な改善療法を目指すうえで、より実施する際の制限がなく長期的に用いることが可能となる手法の開発が必要であると考えられた。そこで、本章では有用でかつ安全な改善療法の手法開発を目指すうえで、呼吸活動に着目しその効果について検討した。

呼吸は生命活動の基本的な機能のひとつであり、自律神経活動と密接に関係しており、深呼吸のよくなゆつくりと深い呼吸方法である「Slow Breathing」に関する臨床研究が多く行われている (Bernardi et al., 1998; Bernardi et al., 2001; Bernardi et al., 2002; Joseph et al., 2005)。自発呼吸より緩徐な6回/分の呼吸は慢性心不全患者の心臓血管系および呼吸器系において、安静時の  $\text{SaO}_2$  の増加、換気血流結合比不均等の改善、運動耐容能の改善、動脈圧受容器反射感受性の増加をみとめることが報告されている (Bernardi et al., 2001; Bernardi et al., 2002)。また、高血圧患者が Slow Breathing を行うことで圧

受容器反射感受性が改善し、副交感神経活動の増大および交感神経活動の過緊張の緩和により、心拍や血圧の是正をもたらすことも報告されている (Joseph et al., 2005)。一方で、RESPeRATE®や非侵襲的陽圧換気機器の一種である Adaptive Servo Ventilation (ASV) といった呼吸ガイドデバイスを用いて Slow Breathing を実施する Device-guided Breathing (DGB) の研究が慢性心不全患者や高血圧症患者を対象に数多く行われている (Grossman et al., 2001; Schein et al., 2001; Anderson et al., 2010; Ekman et al., 2011; Harada et al., 2011)。さらに、心不全患者における Slow Breathing の実施が交感神経-迷走神経バランスを正常に是正させる臨床的利益をもつ可能性も示唆されている (Goso et al., 2001)。現在 DGB は慢性心疾患に対する新たな治療戦略として注目されているが、上述した検討の多くは特殊な医療機器を用いる方法であり、臨床効果として確かなものであるものの、本章で目指している改善療法の方法論としては一致しない。改善療法としては特殊な機器を用いることなく自律神経系機能を賦活化させる手法を求めており、実施の簡便性や安全性が求められる。本章ではその観点に従って上述したような専用のデバイスを用いずに Slow breathing を自らが継続的に実施する方法に着目した。上述したように、Slow breathing を行うことが一時的に副交感神経活動を増大させるという生理学的効果の検討が散見されるなかで、自身の呼吸活動にもとづく Slow breathing を長期的に実施する方法の検討については詳しく調査されていない。

以上のことより、本章では Slow Breathing を日常生活のなかで継続的に実施する方法を Slow Breathing Exercise (SBE) とし、SBE が改善療法の手法として有用であるかどうか評価するために、若年健康常男性を対象に自律神経系機能および循環動態へもたらす効果について検討することを目的とした。

## 4-2. 材料および方法

### 4-2-1. 対象

対象者は基礎疾患がなく最新の健康診断にて異常が認められていない若年健常男性とした。本実験への参加協力の承諾のあった対象者をランダムに 4 週間の SBE を実施する群(SBE 群)と 4 週間普段と変わらない生活をする群(対照群)とに分けた。これらの対象者全員に対して、研究参加時に洞調律であることと血管機能指標が四肢すべてにおいて正常であることを確認した。なお、測定中に心調律異常や期外収縮などの不整脈の出現をみとめる場合は分析より除外した。全ての対象者に対して、測定にあたり自律神経活動への影響をさけるための日常生活行動における以下の注意事項を提示し、遵守させた。

- ・ 測定前日は激しい身体活動、アルコール飲料摂取を避け、十分に睡眠をとること。
- ・ 測定当日は、測定前にカフェインや煙草などの刺激物を摂取せずに、食事に関しては測定 2 時間前までに済ませること。
- ・ 測定当日は、激しい身体活動をせずに実験室に来室すること。
- ・ 測定時の服装は、研究者が用意した実験着とすること。

最終的な参加者は途中で参加辞退を申し出たものを除き、SBE 群 9 名 ( $23.0 \pm 2.3$  歳)と対照群 7 名 ( $22.7 \pm 3.7$  歳)となった。両群の身長および体重、BMI に有意差はみとめなかった(Table. 1)。

本章は茨城キリスト教大学倫理審査委員会の承認のもとで行った。全ての対象者には研究の趣旨と方法を各対象者に口頭と文書で説明し、研究協力は当人の自由意志に基づき同意した後でもそれを

撤回でき、研究参加途中でも中断できること、断っても不利益を被らないこと、プライバシーは保護されること等を説明し、研究承諾書への署名により同意を得た。

#### 4-2-2. SBE の方法

SBE の方法は先行研究を参考に簡便な方法を作成した。呼吸回数は 6 回/分とし (Bernardi et al., 1998; Bernardi et al., 2001; Bernardi et al., 2002; Joseph et al., 2005)、呼吸様式は鼻腔から吸息し口からゆっくり呼息する腹式呼吸 (片岡ら, 2005) とした。この方法を 1 回 15 分、1 日 2 回ずつ 4 週間継続実施することを目標に設定した。SBE 群の対象者には上述した方法を研究協力承諾の際に指導し、SBE の実施回数および実施時間を各自で記録し、提出することを指示した。この記録をもとに、SBE の実施状況を調べた。対象者が 4 週間のうちに SBE を実施した回数を 4 週間の全回数 56 回で除した値を「実施率」、対象者が 4 週間のうちに SBE を実施した総時間を 4 週間の全時間数 840 分で除した値を「時間率」、4 週間の総時間を総実施回数で除した値を「1 回実施時間」とした。

#### 4-2-3. 測定スケジュールおよび測定指標

研究協力期間は研究参加承諾時に対象者と設定し決定した。生理学的指標の測定は SBE 実施前と 4 週間後の SBE 実施後で行い、いずれも環境の静かな実験室内にて実施した。実験室内の室温と湿度はほぼ一定 (室温平均  $22.9 \pm 1.3^{\circ}\text{C}$  および湿度平均  $58.6 \pm 9.7\%$ ) に設定した。測定時間は自律神経活動の日内変動を考慮した上で午前 9 時から午後 3 時の時間帯とした。1 回の測定時間は 15 分間

とし、体位は測定の準備の段階から測定終了まで終始安静仰臥位とし、測定中における外気温の影響を防ぐため、対象者には終始タオルケットをかけた。

測定指標は心拍数、血圧、呼吸数、皮膚温、皮膚血流量とした。心拍数と血圧、呼吸数はベッドサイドモニタ(DS-7121、フクダ電子)で測定し、心拍数と呼吸数は連続測定、血圧は左上腕にて5分間隔で測定した。皮膚温は体表皮膚温計(N540 シリーズ高精度 8ch データログ、日機装サーモ)を用いて連続測定し、専用ソフトウェアを用いてデータを抽出した。皮膚温の測定部位は、前額部、左右の手背部、左右の足背部の計5点とした。皮膚血流量は、レーザードップラー血流量計(PeriFlux System 5000 / PF 5010 LDPM Unit、PERIMED)を用いて連続測定し、専用ソフトウェア(PeriSoft for Windows Version 2、PERIMED)を用いてデータを抽出した。皮膚血流量の測定部位は、右足の足背部1点とした。自律神経活動指標として、心拍変動解析プログラム(MemCalc/Tarawa、GMS)を用いて心拍変動周波数解析を行い、0.04~0.15Hzの成分をLow frequency(LF)、0.15~0.4Hzの成分をHigh frequency(HF)とし、LF成分を交感神経活動と副交感神経活動の指標、HF成分を副交感神経活動の指標、LF成分とHF成分の比(LF/HF比)を交感-副交感神経バランスの指標とした。

データ分析に用いるデータは測定時間15分間のうち安定した5分間とし、SBE実施前後を比較検討した。得られたデータは平均値±標準誤差で表した。統計処理は各群において対応のあるStudentのt検定を用いて、危険率5%未満を有意とした。

#### 4-3. 結果

#### 4-3-1. SBE 実施状況

4 週間における SBE の実施状況は、平均実施率は  $72.6 \pm 13.8\%$  であり、平均時間率は  $65.4 \pm 18.2\%$ 、実施した SBE の平均 1 回実施時間は  $13.4 \pm 1.5$  分であった。

#### 4-3-2. 生理学的指標の変化

SBE 群において、呼吸数は SBE 実施前  $16.8 \pm 2.9$  回/分に比べて SBE 実施後  $13.4 \pm 2.9$  回と有意に減少した ( $p=0.008$ )。HF 値 (Fig. 11) は SBE 実施前  $1032.2 \text{ msec}^2$  から  $1544.0 \text{ msec}^2$  と有意に増加し ( $p=0.011$ )、LF/HF 比は SBE 前  $2.1 \pm 0.7$  から SBE 実施後  $1.3 \pm 0.7$  と有意に減少した ( $p=0.011$ )。皮膚血流量の変化率は増加傾向を示した ( $p=0.066$ )。一方、SBE 実施前に比べて SBE 実施 4 週間後では、心拍数、血圧、LF 値、皮膚温はいずれも有意差をみとめなかった (Table. 2)。

#### 4-4. 考察

意識的に緩徐でかつ深い呼吸を行う Slow Breathing は、一般に生理学的機序として心拍変動の心臓血管構成要素の強い同調化をもたらす。また、BRS の増加と化学受容器反射の減少が付随することで、中枢興奮状態を著明に抑制する。さらに、呼吸数の減少は、分時換気量を保つために一回換気量が増加し、心肺伸展受容体の刺激が増加する (Chapleau, 2008; Sharma et al., 2011)。これらのことにより、交感神経性遠心性放出が減少し、血管拡張が起こる。さらに、この過程は呼吸振幅の小さい胸式呼吸よりもそれが大きい腹式呼吸にシフトするため、ゆっくりとした腹式呼吸はより効果的な力をもつといわ



れている (Parati et al., 2008; Sharma et al., 2011)。一方、健常者を対象とした 6 回/分の Slow Breathing は自発呼吸時に比べ心拍数や血圧に変化を示さないが、BRS を高めることが報告されている (Joseph et al., 2005)。本章の結果として、4 週間の SBE 実施後において呼吸数の減少と HF 値の増大、LF/HF 比の減少をみとめた。安静条件下における HF 値と BRS 値が相関する (貞安ら, 1999) ことから、本章においても 4 週間の SBE 実施後には BRS が増加していた可能性が考えられる。さらに、末梢循環指標の一つである皮膚血流量も増加傾向を示した。これには自律神経系機能の変調が関与しており、交感-副交感神経のバランスが副交感神経にシフトしたことにより、交感神経活動が減少し、末梢においては血管拡張がもたらされたと考えられた。

本章において、SBE の実施期間を 4 週間と設定し、SBE の平均実施率は 72.6% であった。SBE 実施率が 100% ではないものの、70% 以上の実施により上述した結果を得ることができた。実施期間に関しては、第 3 章で述べた NSY マウスにおける巣箱を用いた検討においても、副交感神経活動の増大は巣箱設置 3 週間後に認められている。これらのことから、自律神経系機能の定常状態における変化は長期的に継続することによって獲得されるものであることが考えられる。本章における検討結果から、SBE の実施期間としては 4 週間以上を規準とすることができる。

本章の結果は健常男性を対象にしているにもかかわらず、上述したように、4 週間の SBE により安静時の呼吸数減少をみとめ、自律神経系機能においては副交感神経活動が増大し、交感神経系から副交感神経系への偏位をみとめた。呼吸と心臓血管系の連携の代表的な現象である呼吸性洞性不整脈 respiratory sinus arrhythmia (RSA) は心肺系の休息機能ともいえ、これが増大することは安静時の肺の

ガス交換率が高まるため、生体の安静時エネルギー消費の改善をもたらす (Hayano et al., 1996)。よって、有疾患患者を対象とした SBE の実施は副交感神経活動を高め、呼吸器系と心臓血管系の良好な連動性の獲得に寄与する改善療法として有用である可能性がある。したがって、次章では、改善療法の有疾患患者における検討として、SBE を用いた臨床効果を検討する。

#### 4-5. 小括

若年健常男性を対象とした深呼吸を日常生活に積極的に取り込む SBE は 4 週間の実施により、安静時における呼吸数の減少と、副交感神経活動の増大をもたらし、末梢循環促進効果を有することが明らかとなった。したがって、本章で開発された SBE は、自律神経系機能の変調がみとめられる有疾患患者における有用な改善療法の手段となり、自律神経バランスの是正やそれにとまなう身体所見の改善に寄与する可能性が考えられた。そこで、次章では、有疾患患者を対象とした SBE 実施結果をもとに、改善療法の臨床効果について検討することとした。

#### 4-6. 付表・付図

Table. 1 両群における対象者の身体特性

	SBE group (n=9)	Control group (n=7)	<i>p</i> value
Age (years)	23.0 ± 2.3	22.7 ± 3.7	0.857
Height (cm)	169.2 ± 3.8	170.3 ± 2.8	0.960
Weight (kg)	63.7 ± 7.3	63.3 ± 10.8	0.473
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	22.2 ± 2.0	21.7 ± 3.1	0.370

Values are mean ± SD. SBE, slow breathing exercise; BMI, body mass index.

Table. 2 SBE 群における各指標の変化

	Before SBE	After SBE	<i>p</i> value
Heart rate (bpm)	62.6 ± 2.2	62.3 ± 2.7	0.882
Systolic blood pressure (mmHg)	108.4 ± 2.5	104.5 ± 2.4	0.179
Diastolic blood pressure (mmHg)	57.5 ± 2.2	58.6 ± 2.5	0.596
Respiratory rate (cpm)	16.8 ± 1.0	13.4 ± 1.0	0.000
LF power (msec <sup>2</sup> )	1747.0 ± 311.7	1277.0 ± 236.9	0.006
HF power (msec <sup>2</sup> )	1032.2 ± 279.7	1544.0 ± 410.6	0.039
LF/HF ratio	2.1 ± 0.2	1.3 ± 0.2	0.003
Skin temperature (°C)	32.1 ± 0.8	31.9 ± 1.0	0.918
Skin blood flow (PU)	9.8 ± 1.5	14.5 ± 3.3	0.092

Values are mean ± SEM (n=9). SBE, slow breathing exercise; LF, low frequency; HF, high frequency.

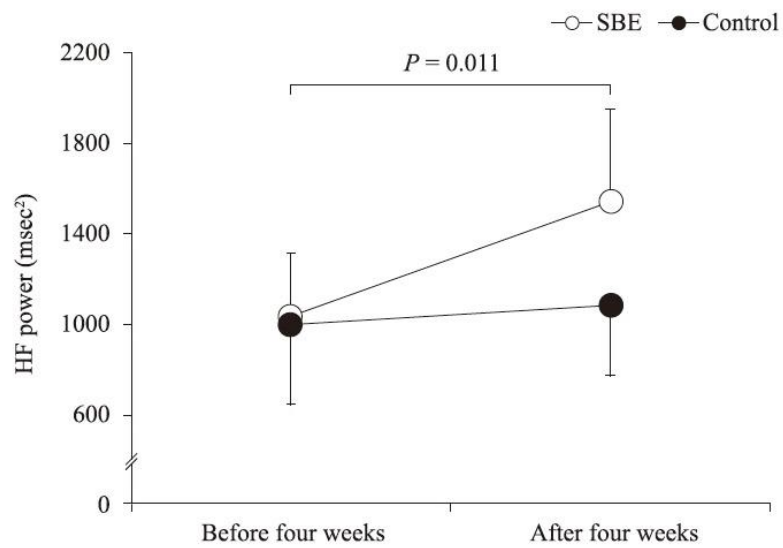


Fig. 11 SBE 前後での HF 値の変化

データは平均値±標準誤差を示す。○は SBE 群(n=9)を示し、●は対照群(n=7)を示す。HF

値は対照群では 4 週間後に不変であったのに対し、SBE 群では有意に増加した( $p=0.011$ )。

## 第5章 慢性腎臓病患者における改善療法 SBE の効果

第 5 章(53～67 ページ)の内容は、学術雑誌論文として出版する計画があるため、公表できない。1

年以内に出版予定。

第 5 章(53～67 ページ)の内容は、学術雑誌論文として出版する計画があるため、公表できない。1

年以内に出版予定。

第 5 章(53～67 ページ)の内容は、学術雑誌論文として出版する計画があるため、公表できない。1

年以内に出版予定。



第 5 章(53～67 ページ)の内容は、学術雑誌論文として出版する計画があるため、公表できない。1

年以内に出版予定。

第 5 章(53～67 ページ)の内容は、学術雑誌論文として出版する計画があるため、公表できない。1

年以内に出版予定。

第 5 章(53～67 ページ)の内容は、学術雑誌論文として出版する計画があるため、公表できない。1

年以内に出版予定。

第 5 章(53～67 ページ)の内容は、学術雑誌論文として出版する計画があるため、公表できない。1

年以内に出版予定。

第 5 章(53～67 ページ)の内容は、学術雑誌論文として出版する計画があるため、公表できない。1

年以内に出版予定。

第 5 章(53～67 ページ)の内容は、学術雑誌論文として出版する計画があるため、公表できない。1

年以内に出版予定。

第 5 章(53～67 ページ)の内容は、学術雑誌論文として出版する計画があるため、公表できない。1

年以内に出版予定。

第 5 章(53～67 ページ)の内容は、学術雑誌論文として出版する計画があるため、公表できない。1

年以内に出版予定。



第 5 章(53～67 ページ)の内容は、学術雑誌論文として出版する計画があるため、公表できない。1

年以内に出版予定。

第 5 章(53～67 ページ)の内容は、学術雑誌論文として出版する計画があるため、公表できない。1

年以内に出版予定。

第 5 章(53～67 ページ)の内容は、学術雑誌論文として出版する計画があるため、公表できない。1

年以内に出版予定。

第 5 章(53～67 ページ)の内容は、学術雑誌論文として出版する計画があるため、公表できない。1

年以内に出版予定。

## 第6章 総合考察

本研究は、自らが備えている身体機能を高めることによりフィジカルコンディションを改善あるいは増進させることができ、広く汎用的に活用できる療法を「改善療法」と定義し、その方法の開発と有用性について検討することを目的とした。とくに、生体の生命維持機構にかかわる自律神経系機能において、安静時の副交感神経活動の重要性が報告されている (Mortara et al., 1996; Curtis et al., 2002) ことから、心拍変動周波数解析を用いた自律神経系機能評価を用いてフィジカルコンディションの改善療法の有用性を検討した。

第 2 章においては、足部への温熱刺激が末梢循環を含む循環動態指標と自律神経系機能指標に及ぼす影響について若年健常男性を対象に検討した。その結果、足浴および蒸しタオル温電法を用いた足部への温熱刺激は自律神経系機能へ作用し、副交感神経活動の増大と心拍数の減少、さらに末梢循環の促進効果をみとめることを明らかにした。これらの検討で観察された温熱刺激後の副交感神経活動の増大と末梢循環促進は短期的な効果であったが、このような刺激を継続的に実施していくことがフィジカルコンディションの改善療法となりうる可能性があると考えられた。さらに、本研究における改善療法に期待する作用機序に関しては、安静時の副交感神経活動を高めることであり、このことは病態進行の抑制や重症化の軽減、発症予防につながる可能性を示した。したがって、改善療法を有疾患患者へ適用することも見据えると、温熱刺激を用いた方法よりも簡便で汎用的な手技を開発し、健常者における自律神経系機能の変化のみではなく、病態の評価なども併せて検討していく必要があることが

考えられた。また、実験動物を用いた改善療法を仮定した長期的な処置が自律神経系機能等へどのような影響を及ぼすか、継続的に副交感神経活動を高めることが疾患・病態に対してどのような影響をもたらすか検討する必要性も示唆された。さらに、生体における自律神経系機能に関する評価方法として心拍変動周波数解析は非侵襲的な手法であり、改善療法の評価手法として有効であることを示した。

第3章においては、ヒトを対象とした長期的な改善療法の効果を検討する前段階として、疾患モデル動物を用いた検討を行った。改善療法を模倣しえる手段としてEEにおける巣箱設置を選択し、自然発症型2型糖尿病モデルのNSYマウスを用いて、巣箱設置が自律神経系機能に及ぼす影響を検討した。その結果、巣箱の設置は設置後3週間後より明期における副交感神経活動を増大させ、さらに長期間の巣箱設置により副交感神経活動を高めた状態を維持することに寄与することを明らかにした。一方、EEとしての巣箱設置による自律神経系機能変化の評価としては初めての報告であり、アニマルウェルフェアの観点における飼育環境の適切な選択や開発、非薬物・非侵襲的な実験手法の構築につながると期待される。

第4章においては、ヒトを対象とした日常生活における長期的な改善療法を開発するために、深呼吸を取り入れるSBEについて検討した。SBEは1日2回15分間ずつの深呼吸を実施する方法とした。若年健常男性を対象に4週間のSBE実施の効果を循環動態指標および心拍変動周波数解析を用いた自律神経系機能をもとに評価した。その結果、4週間のSBE実施は安静時の副交感神経活動を増大させ、末梢循環を促進させる可能性があることを明らかにした。また、SBE実施期間中の対象者における有害事象の出現はみとめなかった。これらの結果からSBEは安静時の副交感神経活動を高め、呼

吸器系と心臓血管系の良好な連動性の獲得に寄与するフィジカルコンディションの改善療法として有用であることが示された。

第 5 章においては、SBE が有疾患患者においても有効であるかどうか、自律神経系機能の低下した CKD 患者を対象に検討した。対象は CKD 外来に通院する男性外来患者とし、1 外来期間を SBE 実施期間として設定した。その結果、平均 5 週間の SBE によって拡張期血圧の減少、安静時の副交感神経活動の増大、末梢循環の促進をもたらすことが示唆された。これらの指標の変化はいずれもフィジカルコンディションの改善としてみなされるが、その一方で、SBE 実施により腎機能そのものには影響をもたらさなかった。このことに関する生理学的機序は不明のままであるが、今回の検討の対象者が比較的重症度の高い CKD 患者であったことが関連していた可能性がある。したがって、症状の軽症な CKD 患者においては SBE による改善療法が病態進行を緩やかにさせること、あるいは、まだ発症してはいない対象者においては発症を抑制させる可能性も推測され、今後の検討として残っている。

本研究を通して、非侵襲的な自律神経系機能評価である心拍変動周波数をもとにフィジカルコンディションの改善療法について検討し、日常生活において意識的に深呼吸を取り入れる SBE の開発を行った。SBE は自身の呼吸活動を用いる方法であり、医療資源である専用デバイスなどを用いる Device-guided Breathing: DGB (Lachowska et al., 2019) とは異なり、SBE は誰もが場所を問わずいつでも自身の呼吸をコントロールすることにより実施できる点が利点である。一方で、SBE を実施するための時間的機会的制約があることは対象者個人にとっては多少なりとも欠点となる場合がある。実際、第 5 章で検討した CKD 患者への SBE の実施では、参加の同意を得られた対象者のうち 2 名は継続した実施がで

きず、分析から除外した。SBEのように物理的資源の制約がなく実施できることは改善療法を広く普及していくためには重要なことであるが、継続実施されなければ効果を得られない。より簡便で継続することができる方法論の検討が今後の課題として残るが、この課題は改善療法として第 2 章で検討した温熱刺激を用いることによって解決されるかもしれない。生体における温熱刺激が副交感神経活動の増大と末梢皮膚温の上昇および皮膚血流量の増加をもたらすことを明かにしている。温湯や温罨法のように温熱刺激をもたらす媒体を準備する必要があるため資源や環境としての制限はあるが、この方法を改善療法として継続実施することはフィジカルコンディションを改善するうえで有効である可能性があり、今後の検討課題の一つである。

心拍変動解析は現代の生理学の研究と並行して発展し続けており、20 世紀の後半に臨床応用が開発された。その後、心拍変動は心臓自律神経系機能の評価として用いられるだけでなく、心不全患者の突然死の予測因子 (La Rovere et al., 2003) となりうることや、心臓血管系だけではなく、透析中の慢性腎疾患患者における急速な腎障害の予測因子であること (Chou et al., 2019) や、自律神経機能不全が末期腎不全および CKD 関連の入院の重要な危険因子であること (Brotman et al., 2010) などが報告された。さらに、自律神経系を介した積極的な治療の発展が進んできている。自律神経系へ直接的な刺激をあたえる植え込み型デバイスなどを用いた迷走神経刺激術が開発され、例えば心不全の治療として用いられていきている (Li et al., 2014; Schwartz et al., 2013; Schwartz et al., 2014)。しかしながら、このようなデバイスを用いた神経調節による治療は心不全患者の死亡率を改善しないといった期待に添わない結果も生じていることが報告されており (Gold et al., 2016; Herring et al., 2019)、未だ多くの議論



が残っている。このような現状において、本研究では心拍変動周波数解析を自律神経系機能の評価に用いるだけでなく、非侵襲的に自律神経系機能を高めることによってフィジカルコンディションを改善させていくことを目的とした。これまで示してきたようにフィジカルコンディションの改善療法において期待する作用機序は副交感神経活動の増大であり、本研究でも健常者から有疾患患者までその効果を見とめた。CKD 患者においては SBE によって腎機能の改善には至らなかったが、拡張期血圧の低下や末梢循環の促進などのフィジカルコンディションは改善された。このような本研究の成果は、自律神経を介した相互の関係性と生体が本来有する恒常性にもとづいたものである。これらの検討結果を基盤とし、改善療法の対象者の基準やもたらされる効果の発現時期、その効果を維持していくための方法論の構築も検討していく必要がある。

本研究で得られた知見は自律神経系機能を中心として各臓器が相互に作用し合い均衡を保つことの重要性を示しており、健康の維持・増進はそれらに深く関与している。本研究を通じて、改善療法は病態生理学的作用として安静時の副交感神経活動の増大をもたらし、そのことにより、心拍数の減少や自律神経バランス変調の是正、末梢循環の促進といったフィジカルコンディションの改善効果を有することを明らかにした。さらに、改善療法は日常生活を大きく変える必要はなく、高価な医療機器・デバイスを用いることなく実施ができ、非侵襲的な手法による実施と評価により成立することが示された。これらのことは、改善療法が誰でもがいつでもどこでも実施ができるという点において汎用性および持続性が高く、既存の治療法との併存が可能であることから、本研究の成果は健康な生命活動の維持・増進を目指す研究の応用と発展に貢献できると考えられる。

## 謝辞

本論文を作成するにあたり、御懇篤なる御指導ならびに御鞭撻を賜りました東京大学大学院農学生命科学研究科 獣医学専攻獣医衛生学教室 桑原 正貴 教授、関澤 信一 准教授、栃内 亮太 助教、茨城キリスト教大学大学院看護学専攻 山本 真千子 教授に厚く御礼申し上げます。

また、多大なるご協力を頂戴しました東京大学大学院農学生命科学研究科 獣医学専攻獣医衛生学教室の皆様、茨城キリスト教大学看護学部基礎看護学領域の皆様、所属する研究チームの皆様に深く感謝申し上げます。

本研究の遂行にあたり、貴重な機会を与えてくださいました公益財団法人ときわ会 常磐病院 川口 洋 名誉院長ならびに看護部の外来部門をはじめとする看護師およびスタッフの皆様、株式会社ソフトロン 小林 秀俊 様に深謝いたします。

最後に、暖かい励ましとともに本研究を陰ながら支えてくれた家族と両親に心より感謝いたします。

## 略号一覧

BRS : baro-reflex sensitivity

CKD : chronic kidney disease

EE : environmental enrichment

HF : high frequency

LF : low frequency

SBE : slow breathing exercise

## 参考文献

1. Adachi M, Yamaoka K, Watanabe M, Nishikawa M, Kobayashi I, Hida E and Tango T. (2013). Effects of lifestyle education program for type 2 diabetes patients in clinics: a cluster randomized controlled trial. BMC Public Health. 13:467.
2. Akita M, Ishii K, Kuwahara M and Tsubone H. (2002). Power spectral analysis of heart rate variability for assessment of diurnal variation of autonomic nervous activity in guinea pigs. Exp Anim. 51(1):1-7.
3. Anderson DE, McNeely JD and Windham BG. (2010). Regular slow-breathing exercise effects on blood pressure and breathing patterns at rest. J Hum Hypertens. 24(12):807-813.
4. Appelboam A, Reuben A, Mann C, Gagg J, Ewings P, Barton A, Lobban T, Dayer M, Vickery J and Bengier J; REVERT trial collaborators. (2015). Postural modification to the standard Valsalva manoeuvre for emergency treatment of supraventricular tachycardias (REVERT): a randomised controlled trial. Lancet. 386(10005):1747-1753.

5. Bayne K. (2018). Environmental enrichment and mouse models: Current perspectives. *Animal Model Exp Med.* 1(2): 82-90.
6. Belz EE, Kennell JS, Czambel RK, Rubin RT and Rhodes ME. (2003). Environmental enrichment lowers stress-responsive hormones in singly housed male and female rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 76(3-4): 481-486.
7. Benaroya-Milshtein N, Hollander N, Apter A, Kukulansky T, Raz N, Wilf A, Yaniv I and Pick CG. (2004). Environmental enrichment in mice decreases anxiety, attenuates stress responses and enhances natural killer cell activity. *Eur. J. Neurosci.* 20: 1341-1347.
8. Benichou T, Pereira B, Mermillod M, Tauveron I, Pfabigan D, Maqdasy S and Dutheil F. (2018). Heart rate variability in type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 13: e0195166.
9. Bernardi L, Spadacini G, Bellwon J, Hajric R, Roskamm H and Frey AW. (1998). Effect of breathing rate on oxygen saturation and exercise performance in chronic heart failure. *Lancet.* 351(9112):1308-1311.

10. Bernardi L, Gabutti A, Porta C and Spicuzza L. (2001). Slow breathing reduces chemoreflex response to hypoxia and hypercapnia, and increases baroreflex sensitivity. *J Hypertens.* 19(12):2221-2229.
11. Bernardi L, Porta C, Spicuzza L, Bellwon J, Spadacini G, Frey AW, Yeung LY, Sanderson JE, Pedretti R and Tramarin R. (2002). Slow breathing increases arterial baroreflex sensitivity in patients with chronic heart failure. *Circulation.* 105(2):143-145.
12. Boudoulas KD, Triposkiadis F, Parissis J, Butler J and Boudoulas H. (2017). The Cardio-Renal Interrelationship. *Prog Cardiovasc Dis.* 59(6):636-648.
13. Brotman DJ, Bash LD, Qayyum R, Crews D, Whitsel EA, Astor BC and Coresh J. (2010). Heart rate variability predicts ESRD and CKD-related hospitalization. *J Am Soc Nephrol.* 21(9):1560-1570.
14. Carnethon MR, Golden SH, Folsom AR, Haskell W and Liao D. (2003). Prospective investigation of autonomic nervous system function and the development of type 2 diabetes: the Atherosclerosis Risk In Communities study, 1987-1998. *Circulation.* 107:2190-2195.
15. Chapleau MW. Arterial baroreflexes. In: Izzo JL, Sica D, Black HR, eds. (2008). *Hypertension*

Primer. 4th ed. Dallas, TX: American Heart Association:120-123.

16. Chikamoto A, Sekizawa S, Tochinai R and Kuwahara M. (2019). Early attenuation of autonomic nervous function in senescence accelerated mouse-prone 8 (SAMP8). *Exp Anim.* 68(4):511-517.
17. Chou YH, Huang WL, Chang CH, Yang CCH, Kuo TBJ, Lin SL, Chiang WC and Chu TS. (2019). Heart rate variability as a predictor of rapid renal function deterioration in chronic kidney disease patients. *Nephrology.* 24(8):806-813.
18. Curtis BM and O'Keefe JH Jr. (2002). Autonomic tone as a cardiovascular risk factor: the dangers of chronic fight or flight. *Mayo Clin Proc.* 77(1):45-54.
19. Dixhoorn J and White A. (2005). Relaxation therapy for rehabilitation and prevention in ischaemic heart disease: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 12(3):193-202.
20. 江上京里. (2008). 「温罨法」の統合的文献レビュー. *日本看護技術学会誌.* 7(2): 4-11.
21. Ekman I, Kjellström B, Falk K, Norman J and Swedberg K. (2011). Impact of device-guided slow

breathing on symptoms of chronic heart failure: a randomized, controlled feasibility study. Eur J Heart Fail. 13(9):1000-1005.

22. Fisher AJ and Newman MG. (2013). Heart rate and autonomic response to stress after experimental induction of worry versus relaxation in healthy, high-worry, and generalized anxiety disorder individuals. Biol Psychol. 93(1):65-74.

23. 富士川英郎. (1981 a). 富士川游著作集 1. 思文閣出版. 京都:405-414.

24. 富士川英郎. (1981 b). 富士川游著作集 4. 思文閣出版. 京都:332-376.

25. Fujimoto E, Sasaki R, Arita H and Ohshima C. (2008). The effect of hot-pack warming on the deep body temperature -for the development of a nursing care instrument to induce sleep-. Aino Journal. 7:13-19.

26. Gold MR, Van Veldhuisen DJ, Hauptman PJ, Borggrefe M, Kubo SH, Lieberman RA, Milasinovic G, Berman BJ, Djordjevic S, Neelagaru S, Schwartz PJ, Starling RC and Mann DL. (2016). Vagus Nerve Stimulation for the Treatment of Heart Failure: The INOVATE-HF Trial. J Am Coll Cardiol.



68(2):149-158.

27. Goldsmith RL, Bigger JT Jr, Steinman RC and Fleiss JL. (1992). Comparison of 24-hour parasympathetic activity in endurance-trained and untrained young men. *J Am Coll Cardiol.* 20(3):552-558.
28. Goso Y, Asanoi H, Ishise H, Kameyama T, Hirai T, Nozawa T, Takashima S, Umeno K and Inoue H. (2001). Respiratory modulation of muscle sympathetic nerve activity in patients with chronic heart failure. *Circulation.* 104(4):418-423.
29. Grossman E, Grossman A, Schein MH, Zimlichman R and Gavish B. (2001). Breathing-control lowers blood pressure. *J Hum Hypertens.* 15(4):263-269.
30. Hall JE. 石川義弘, 岡村康司, 尾仲達史, 河野賢二 総監訳. (2018). *ガイトン生理学 原著第 13 版*. エルゼビア・ジャパン; 東京:565-566.
31. Hamada Y, Ikegami H, Ueda H, Kawaguchi Y, Yamato E, Nojima K, Yamada K, Babaya N, Shibata M and Ogihara T. (2001). Insulin secretion to glucose as well as nonglucose stimuli is impaired in

- spontaneously diabetic Nagoya-Shibata-Yasuda mice. *Metabolism*. 50(11):1282-1285.
32. Harada D, Joho S, Oda Y, Hirai T, Asanoi H and Inoue H. (2011). Short term effect of adaptive servo-ventilation on muscle sympathetic nerve activity in patients with heart failure. *Auton Neurosci*. 161(1-2):95-102.
33. Hayano J, Yasuma F, Okada A, Mukai S and Fujinami T. (1996). Respiratory sinus arrhythmia. A phenomenon improving pulmonary gas exchange and circulatory efficiency. *Circulation*. 94(4):842-847.
34. Herring N, Kalla M and Paterson DJ. (2019). The autonomic nervous system and cardiac arrhythmias: current concepts and emerging therapies. *Nat Rev Cardiol*. 16(12):707-726.
35. Huang MC, Hsu CC, Wang HS and Shin SJ. (2010). Prospective randomized controlled trial to evaluate effectiveness of registered dietitian-led diabetes management on glycemic and diet control in a primary care setting in Taiwan. *Diabetes Care* 33:233-239.
36. 井上博. (2001). 循環器疾患と自律神経機能 第2版. 医学書院; 東京: 74-84.

37. Inoue T, Abe C, Sung SS, Moscalu S, Jankowski J, Huang L, Ye H, Rosin DL, Guyenet PG and Okusa MD. (2016). Vagus nerve stimulation mediates protection from kidney ischemia-reperfusion injury through  $\alpha 7$ nAChR+ splenocytes. *J Clin Invest.* 126(5):1939-1952.
38. Ishii K, Kuwahara M, Tsubone H and Sugano S. (1996). Autonomic nervous function in mice and voles (*Microtus arvalis*): investigation by power spectral analysis of heart rate variability. *Lab Anim.* 30: 359-364.
39. Jorna PG. (1992). Spectral analysis of heart rate and psychological state: a review of its validity as a workload index. *Biol Psychol.* 34(2-3):237-257.
40. Joseph CN, Porta C, Casucci G, Casiraghi N, Maffei M, Rossi M and Bernardi L. (2005). Slow breathing improves arterial baroreflex sensitivity and decreases blood pressure in essential hypertension. *Hypertension.* 46(4):714-718.
41. 籠橋有紀子, 大谷浩. (2016). 脂質栄養のコントロールが耐糖能異常改善および糖尿病性腎症発症予防に及ぼす影響について 第 1 報. 島根県立大学短期大学部松江キャンパス研究紀要. 54:149-155.

42. 上舘紀子, 船木和美, 山田佳奈, 山本眞千子. (2008). 長坐位と端坐位の座位姿勢のちがいが生体に及ぼす影響 -自律神経活動指標と循環動態による検討-. 宮城大学看護学部紀要. 11(1):1-6.
43. 片岡秋子, 門間正子, 林裕子. (2005). 腹式呼吸と自然呼吸の相違による自律神経系への影響. ヒューマン・ケア研究. 6:8-13.
44. Kaur J, Young BE and Fadel PJ. (2017). Sympathetic overactivity in chronic kidney disease: consequences and mechanisms. Int J Mol Sci. 18(8). pii: E1682.
45. Kawakami K, Shimosaki S, Tongu M, Kobayashi Y, Nabika T, Nomura M and Yamada T. (2007). Evaluation of bedding and nesting materials for laboratory mice by preference tests. Exp Anim. 56: 363-368.
46. Kawakami K, Xiao B, Ohno R, Ferdaus MZ, Tongu M, Yamada K, Yamada T, Nomura M, Kobayashi Y and Nabika T. (2012). Color preferences of laboratory mice for bedding materials: evaluation using radiotelemetry. Exp Anim. 61: 109-117.

47. Kaye DM and Esler MD. (2008). Autonomic control of the aging heart. *Neuromolecular Med.* 10(3):179-186.
48. Khan MU, Khouzam RN, Khalid H, Baqir R and Moten M. (2013). Nonsustained ventricular tachycardia induced by valsalva manoeuvre in a patient with nonobstructive hypertrophic cardiomyopathy. *Can J Cardiol.* 29(12):1741.e5-1741.e7.
49. 厚生科学審議会地域保健健康増進栄養部会. (2018). 「健康日本21(第二次)」中間評価報告書.  
<https://www.mhlw.go.jp/content/000378318.pdf>.
50. 厚生労働省. (2012). 「国民の健康の増進の総合的な推進を図るための基本的な方針」  
[https://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/dl/kenkounippon21\\_01.pdf](https://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/dl/kenkounippon21_01.pdf).
51. 厚生労働省. (2014 a). 平成 26 年版厚生労働白書 健康長寿社会の実現に向けて～健康・予防元年～「第 1 章 我が国における健康をめぐる施策の変遷」.  
<https://www.mhlw.go.jp/wp/hakusyo/kousei/14/dl/1-01.pdf>.
52. 厚生労働省. (2014 b). 平成 26 年版厚生労働白書 健康長寿社会の実現に向けて～健康・予防

元年～「第3章 健康寿命の延伸に向けた最近の取り組み」.

<https://www.mhlw.go.jp/wp/hakusyo/kousei/14/dl/1-03.pdf>.

53. 厚生労働省. 平成30年(2018)人口動態統計月報年計(概数)の概況.「結果の概要」.

<https://www.mhlw.go.jp/toukei/saikin/hw/jinkou/geppo/nengai18/dl/kekka30-190626.pdf>.

54. 厚生労働省. (2019).「糖尿病性腎症重症化予防プログラム」

<https://www.mhlw.go.jp/content/12401000/program.pdf>.

55. Kuwahara M, Yayou K, Ishii K, Hashimoto S, Tsubone H and Sugano S. (1994). Power spectral analysis of heart rate variability as a new method for assessing autonomic activity in the rat. J Electrocardiol. 27: 333-337.

56. Kuwahara M, Hiraga A, Kai M, Tsubone H and Sugano S. (1999). Influence of training on autonomic nervous function in horses: evaluation by power spectral analysis of heart rate variability. Equine Vet J Suppl. (30):178-180.

57. Kuwahara M, Ito K, Hayakawa K, Yagi S and Shiota K. (2015). N-Acetylmannosamine improves

sleep-wake quality in middle-aged mice: relevance to autonomic nervous function. *Auton Neurosci.* 187: 56-62.

58. Lachowska K, Bellwon J, Narkiewicz K, Gruchała M and Hering D. (2019). Long-term effects of device-guided slow breathing in stable heart failure patients with reduced ejection fraction. *Clin Res Cardiol.* 108(1):48-60.

59. La Rovere MT, Pinna GD, Maestri R, Mortara A, Capomolla S, Febo O, Ferrari R, Franchini M, Gnemmi M, Opasich C, Riccardi PG, Traversi E and Cobelli F. (2003). Short-term heart rate variability strongly predicts sudden cardiac death in chronic heart failure patients. *Circulation.* 107(4):565-570.

60. Li M, Zheng C, Sato T, Kawada T, Sugimachi M and Sunagawa K. (2004). Vagal nerve stimulation markedly improves long-term survival after chronic heart failure in rats. *Circulation.* 109(1):120-124.

61. Mar PL, Nwazue V, Black BK, Biaggioni I, Diedrich A, Paranjape SY, Loyd JE, Hemnes AR, Robbins IM, Robertson D, Raj SR and Austin ED. (2016). Valsalva Maneuver in Pulmonary Arterial Hypertension: Susceptibility to Syncope and Autonomic Dysfunction. *Chest.* 149(5):1252-1260.

62. Maser RE, Mitchell BD, Vinik AI and Freeman R. (2003). The association between cardiovascular autonomic neuropathy and mortality in individuals with diabetes. *Diabetes Care*. 26: 1895-1901.
63. 梶本妙子. 2000. 「健康」概念に関する一考察. 立命館産業社会論集. 36(1): 123-139.
64. Matsuzawa Y, Sugiyama S, Sugamura K, Sumida H, Kurokawa H, Fujisue K, Konishi M, Akiyama E, Suzuki H, Nakayama N, Yamamuro M, Iwashita S, Jinnouchi H, Kimura K, Umemura S and Ogawa H. (2013). Successful diet and exercise therapy as evaluated on self-assessment score significantly improves endothelial function in metabolic syndrome patients. *Circ J*. 77(11):2807-2815.
65. McCulloch J and Knight CA. (2002). Noncontact normothermic wound therapy and offloading in the treatment of neuropathic foot ulcers in patients with diabetes. *Ostomy Wound Manage*. 48(3):38-44.
66. Mortara A, Specchia G, La Rovere MT, Bigger JT Jr, Marcus FI, Camm JA, Hohnloser SH, Nohara R and Schwartz PJ. (1996). Patency of infarct-related artery. Effect of restoration of anterograde flow on vagal reflexes. ATRAMI (Automatic Tone and Reflexes After Myocardial Infarction) Investigators. *Circulation*. 93(6):1114-1122.



67. 日本腎臓学会. (2018). エビデンスに基づく CKD 診療ガイドライン 2018. 東京医学社; 東京: 2-5.
68. 日本自律神経学会. (2015). 自律神経機能検査 第 5 版. 文光堂; 東京: 185-194.
69. 新田孝作, 政金生人, 花房規男, 谷口正智, 長谷川毅, 中井滋, 後藤俊介, 和田篤志, 濱野高行, 星野純一, 常喜信彦, 阿部雅紀, 山本景一, 中元秀友. (2018). わが国の慢性透析療法の現況 (2017 年 12 月 31 日現在). 日本透析医学会雑誌. 51(12):699-766.
70. Norris SL, Lau J, Smith SJ, Schmid CH and Engelgau MM. (2002). Self-management education for adults with type 2 diabetes: a meta-analysis of the effect on glycemic control. Diabetes Care 25:1159-1171.
71. OECD Indicators. (2019). Health at a Glance 2019. <https://www.oecd.org/health/health-systems/health-at-a-glance-19991312.htm>
72. Parati G, Izzo JL Jr and Gavish B. Respiration and blood pressure. In: Izzo JL Jr, Sica D, Black HR, eds. (2008). Hypertension Primer. 4th ed. Dallas, TX: American Heart Association; 136-138

73. Pagani M, Lombardi F, Guzzetti S, Rimoldi O, Furlan R, Pizzinelli P, Sandrone G, Malfatto G, Dell'Orto S, Piccaluga E, Turiel M, Baselli G, Cerutti S and Malliani A. (1986). Power spectral analysis of heart rate and arterial pressure variabilities as a marker of sympatho-vagal interaction in man and conscious dog. *Circ Res.* 59(2):178-193.
74. Perciaccante A, Fiorentini A, Paris A, Serra P and Tubani L. (2006). Circadian rhythm of the autonomic nervous system in insulin resistant subjects with normoglycemia, impaired fasting glycemia, impaired glucose tolerance, type 2 diabetes mellitus. *BMC Cardiovasc Disord* 6, 19.
75. Pop-Busui R. (2010). Cardiac autonomic neuropathy in diabetes: a clinical perspective. *Diabetes Care.* 33: 434-441.
76. Pstras L, Thomaseth K, Waniewski J, Balzani I and Bellavere F. (2016). The Valsalva manoeuvre: physiology and clinical examples. *Acta Physiol (Oxf).* 217(2):103-119.
77. Robertson D, Biaggioni I, Burnstock G, Low PA and Paton JFR. 高橋昭, 間野忠明 監訳. (2015). ロバートソン自律神経学 原著第3版. エルゼビア・ジャパン; 東京: 139-142.

78. Robinson BF, Epstein SE, Beiser GD and Braunwald E. (1966). Control of heart rate by the autonomic nervous system. Studies in man on the interrelation between baroreceptor mechanisms and exercise. *Circ Res.* 19(2):400-411.
79. 貞安孝夫, 中村正, 高水間亮二, 高原和雄, 中島康秀. (1999). 圧受容器反射感受性による高齢者の自律神経機能の評価. *日本老年医学会雑誌.* 36(11): 793-798.
80. Sánchez-Álvarez C, González-Vélez M, Stilp E, Ward C and Mena-Hurtado C. (2014). Renal sympathetic denervation in the treatment of resistant hypertension. *Yale J Biol Med.* 87(4):527-35.
81. Schein MH, Gavish B, Herz M, Rosner-Kahana D, Naveh P, Knishkowsky B, Zlotnikov E, Ben-Zvi N and Melmed RN. (2001). Treating hypertension with a device that slows and regularises breathing: a randomised, double-blind controlled study. *J Hum Hypertens.* 15(4):271-278.
82. Schlaich MP, Lambert E, Kaye DM, Krozowski Z, Campbell DJ, Lambert G, Hastings J, Aggarwal A and Esler MD. (2004). Sympathetic augmentation in hypertension: role of nerve firing, norepinephrine reuptake, and Angiotensin neuromodulation. *Hypertension.* 43(2):169-175.

83. Schlaich MP, Socratous F, Hennebry S, Eikelis N, Lambert EA, Straznicky N, Esler MD and Lambert GW. (2009). Sympathetic activation in chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol.* 20(5):933-939.
84. Schwartz PJ and De Ferrari GM. (2011). Sympathetic-parasympathetic interaction in health and disease: abnormalities and relevance in heart failure. *Heart Fail Rev.* 16(2):101-107.
85. Schwartz PJ. (2013). Vagal stimulation for heart diseases: from animals to men. An example of translational cardiology. *Neth Heart J.* 21(2): 82–84.
86. Schwartz PJ. (2014). Can we Modulate the Autonomic Nervous System to Improve the Life of Patients with Heart Failure? The Case of Vagal Stimulation. *Arrhythm Electrophysiol Rev.* 3(2):120-122.
87. Senador D, Kanakamedala K, Irigoyen MC, Morris M and Elased KM. (2009). Cardiovascular and autonomic phenotype of db/db diabetic mice. *Exp Physiol.* 94: 648-658.
88. Sharma M, Frishman WH and Gandhi K. (2011). RESPeRATE: nonpharmacological treatment of hypertension. *Cardiol Rev.* 19(2):47-51.

89. Shibata M and Yasuda B. (1980). New experimental congenital diabetic mice (N.S.Y. mice). Tohoku J Exp Med. 130: 139-142.
90. Stables CL, Glasser RL and Feldman EL. (2013). Diabetic cardiac autonomic neuropathy: insights from animal models. Auton Neurosci. 177: 74-80.
91. Stables CL, Auerbach DS, Whitesall SE, D'Alecy LG and Feldman EL. (2016). Differential impact of type-1 and type-2 diabetes on control of heart rate in mice. Auton Neurosci. 194: 17-25.
92. Sun J, Wang Y, Chen X, Chen Y, Feng Y, Zhang X, Pan Y, Hu T, Xu J, Du L, Zhou W, Zhao H, Riley RE and Mustad VA. (2008). An integrated intervention program to control diabetes in overweight Chinese women and men with type 2 diabetes. Asia Pac J Clin Nutr 17:514–524.
93. 竹本由香里, 高橋方子, 佐々木裕子, 丸山良子, 山本真千子. (2007). 座位による足浴がもたらす生理学的効果について -自律神経活動と循環動態からの評価-. 宮城大学看護学部紀要. 10(1): 37-44.
94. Task Force. (1996). Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and

clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Circulation*. 93: 1043-1065.

95. Terathongkum S and Pickler RH. (2004). Relationships among heart rate variability, hypertension, and relaxation techniques. *J Vasc Nurs*. 22(3):78-82.

96. Thayer JF, Yamamoto SS and Brosschot JF. (2010). The relationship of autonomic imbalance, heart rate variability and cardiovascular disease risk factors. *Int J Cardiol*. 141(2):122-131.

97. Tortora GJ and Derrickson. 桑木共之, 黒澤美枝子, 高橋研一, 細谷安彦 編訳. (2019). トートラ 人体の構造と機能第 5 版 原書 15 版. 丸善出版; 東京:572-578.

98. Uebaba K and Xu F. (2004). Temperature-dependent physio-psychological changes by footbath - changes in electroencephalogram, cerebral circulation, R-R variability and comfort-. *J Jpn Soc Balneol Climatol Phys Med*. 67(2): 119-129.

99. Ueda H, Ikegami H, Yamato E, Fu J, Fukuda M, Shen G, Kawaguchi Y, Takekawa K, Fujioka Y, Fujisawa T, Nakagawa Y, Hamada M, Shibata M and Ogihara T. (1995). The NSY mouse: a new

animal model of spontaneous NIDDM with moderate obesity. *Diabetologia*. 38: 503-508.

100. Ueda H, Ikegami H, Kawaguchi Y, Fujisawa T, Nojima K, Babaya N, Yamada K, Shibata M, Yamato E and Ogihara T. (2000). Age-dependent changes in phenotypes and candidate gene analysis in a polygenic animal model of Type II diabetes mellitus; NSY mouse. *Diabetologia* 43: 932-938.

101. Vinik AI, Maser RE, Mitchell BD and Freeman R. (2003). Diabetic autonomic neuropathy. *Diabetes Care*. 26: 1553-1579.

102. Watkins LL, Grossman P and Sherwood A. (1996). Noninvasive assessment of baroreflex control in borderline hypertension. Comparison with the phenylephrine method. *Hypertension*. 28(2):238-243.

103. World health organization (a). Constitution. <https://www.who.int/about/who-we-are/constitution>.

104. World health organization (b). Primary health care. [https://www.who.int/health-topics/primary-health-care#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/primary-health-care#tab=tab_1).

105. World health organization (c). Health promotion. <https://www.who.int/healthpromotion/en/>.

106. Xu F and Uebaba K. (2003). Temperature dependent circulatory changes by footbath -changes of systemic, cerebral and peripheral circulation-. J Jpn Soc Balneol Climatol Phys Med. 66(4): 214-226.
107. Yamamoto Y and Hughson RL. (1991). Coarse-graining spectral analysis: new method for studying heart rate variability. J Appl Physiol. 71(3):1143-1150.
108. 吉永亜子, 吉本照子. (2005). 睡眠を促す援助としての足浴についての文献検討. 日本看護技術学会誌. 4(2):4-13.