

研究区分：若手研究

ラット結腸伝播運動に対する鍼通電刺激の影響とその作用経路の解明

氏 名 谷口 授【臨床鍼灸学講座】

【目的】我々は、単体ラットにおける経時的な結腸伝播運動(Colon Transit: 以下 CT)測定法を確立した(平成 24 年度学内助成ユニット研究(研究代表者：今井賢治))。この方法は従来の測定法とは異なり、一個体内の連続測定が可能であり、鍼灸研究を進める上でも鍼灸刺激の特徴を反映できる有用な方法である。また、従来まで必要だった試験動物数を大幅に削減でき、動物愛護の観点からも有益であると考えられる。今回はこの測定法を用い、CT に対する鍼通電刺激の影響とその作用経路を詳細に把握するため、薬理学的な検討を行った。

【方法(実験 1)】ペントバルビタール麻酔下にてラット(雄性 SD 系、7 週令: n=6)の盲腸から結腸ヘシリコンカテーテル(OD: 4mm, 長さ約 15cm)を約 1cm 挿入して結紮し、もう一方は皮下を通して後頸部に留置した。その 5 日後に X 線不透過性マーカーとしての金属粒(20 個、直径 1.5mm)をカテーテルから生理的食塩水(1.0ml)とともに結腸内へ注入した。その後、イソフルラン麻酔下で 30 分ごとに軟 X 線装置にて 120 分後まで計測を行った。これらの行程を 2 日間同様のプロトコルで行い、1 日目をコントロール日、2 日目に鍼通電刺激(Electrical Acupuncture: 以下 EA)を施行した。EA は実験開始前の 20 分間に行い、刺激場所はラット足三里穴相当部位(ST-36)で、刺激条件は 10Hz、1mA、0.5ms とした。鍼は臨床用の鍼灸針を加工したもので、過去の報告と同様のものを用いた(吉元ら、2009)。

【結果および考察】ラットに EA を施行すると、結腸運動の増加傾向を示したものの、コントロールと比較しても有意差は得られなかった(図 1 Two-way repeated measurement ANOVA: N.S.)。前回報告した結果(平成 24 年度ユニット研究)か

ら推察すると、今回は無処置ラットを用いており、正常な状態の結腸運動に対しては、動きを少しは促進する傾向があっても、大幅に亢進させることはない可能性が考えられた。無処置ラットに対するこれまでの報告では、近位と遠位結腸での動きに差がみられており、未だ一定の見解は得られていない(Iwa M et al. 2006, 前原ら、2000)。今回の実験は 120 分までで観察を終えており、正常な状態でこの時間内に移動する距離を考えると近位結腸にあたる。従って、今回の報告は近位結腸に限定されたものであり、今後は遠位結腸も含めた検討も必要であると考えられた。また、前回の報告では拘束ストレス(Restraint stress: 以下 RS)を負荷し、ストレスで誘発された CT 亢進への EA 刺激を行ったが、その際には RS 単独で観察された CT より、EA を施行した CT は抑制されるという結果が得られた。このことは、異常に亢進した CT に対して、EA が抑制的に働く可能性を示唆している。これらのことから、ラット CT に対する EA 刺激の影響は正常か異常かによってその反応性が変化すると考えられた。

【方法(実験 2)】実験 1 と同様に、X 線不透過性マーカー注入用のシリコンカテーテルを後頸部に留置した。その 5 日後に、自律神経を遮断あるいは刺激する目的で結腸運動を抑制するアトロピン(ムスカリン受容体拮抗剤: 50 μ g/kg i.p.)と結腸運動を亢進するプロプラノロール(β アドレナリン受容体拮抗剤: 1mg/kg i.p.)、フェントラミン(α アドレナリン受容体拮抗剤: 1mg/kg i.p.)、ワゴスチグミン(コリンエステラーゼ阻害剤: 0.1mg/kg i.p.)を投与した。投与量はこれまでの報告を参考に行った(Kuwahara M et al. 1994, 岩ら、1999, Katarzyna K et al. 2011)。投与は全て実験開始直前に行った。

【結果および考察】結腸運動は主に自律神経系の支配を受け調節されている。今回はこれまでに心機能や消化管機能に対する自律神経系の評価に用いられている薬剤を参考に検討を行った。アトロピン投与によりラット CT の抑制は観察されなかった(図 2)。近位結腸への迷走神経遠心路の分

図1 ラットCTに対するEAの影響 (n=6)

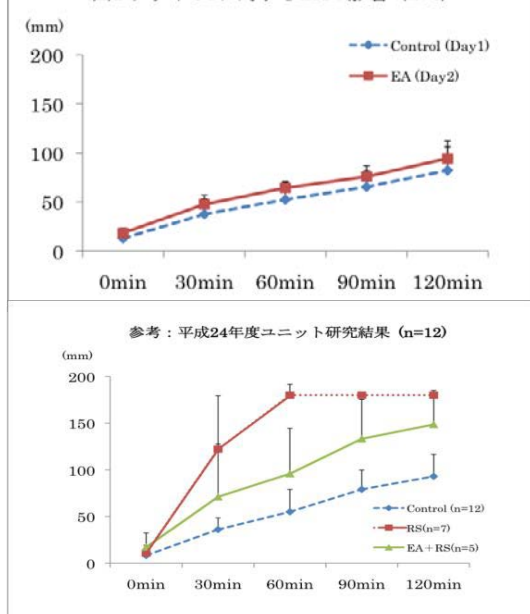
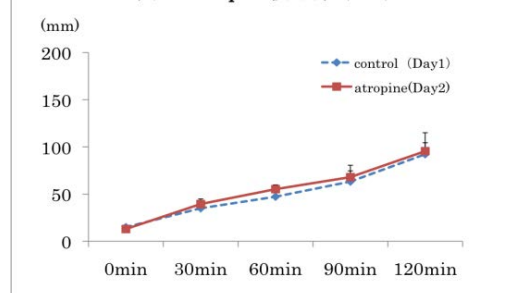


図2 atropine投与群 (n=4)

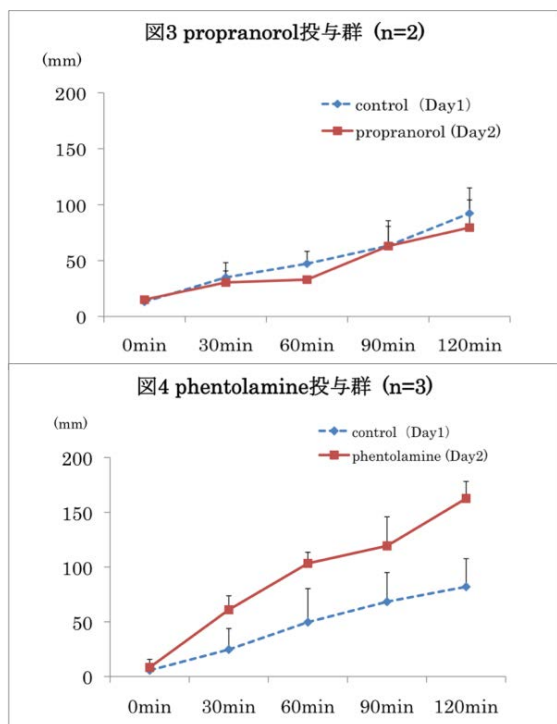


布は明白であり、これまでに報告されている結果からもアトロピンによる抑制が観察できると推測したが、今回はそのような結果には至らなかった。今回参考にした報告とは別に 10mg/kg i.p.の

濃度で投与している報告もあり、濃度依存性の変化が観察できるかどうか今後さらに検討していきたいと考えている。

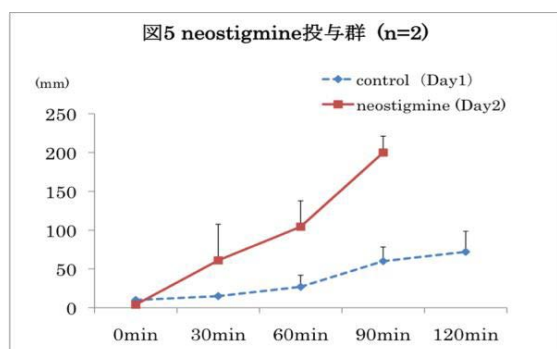
プロプラノロール投与によっても CT の亢進は観察されなかった(図 3)。一方でフェントラミン投与では CT の亢進が観察された(図 4)。この結果か

transit measured by a new method using the radiopaque marker in conscious rats. 抄録集, 鹿児島, 2014.3.17



らは結腸運動が α 受容体を介した調節である可能性が示唆された。しかしながら、今回の結果では例数も少なく結論には至らないので、今後さらに検討を重ねたいと考えている。

ネオスチグミン投与では顕著に亢進した CT が観察された(図 5)。



これらの結果をふまえ、EA 刺激に対する反応とあわせて検討し、更なる作用経路の解明につなげたいと考えている。

【論文及び学会発表】

本報告書の内容の一部は、第 66 回日本自律神経学会総会および第 91 回日本生理学会にて発表した。

河上紘一, 谷口授, 谷口博志, 今井賢治: X 線不透過性マーカーを用いたラット結腸伝播運動に対する鍼通電刺激の影響. 第 66 回日本自律神経学会総会, 抄録集, 愛知, 2013.10.24

谷口授, 河上紘一, 谷口博志, 北小路博司, 今井賢治: Effect of electrical acupuncture on colonic