

麻酔ラットの脳局所血流に及ぼす体性感覚刺激の効果

The Effects of Somatic Afferent Stimulation on Cortical Cerebral Blood Flow in Anesthetized Rats

内田 さえ

Sae Uchida

(東京都老人総合研究所・自律神経部門)

1. はじめに

身体の皮膚や筋・関節などに刺激を加える物理療法は、体性感覚刺激を加えることによって起こる生体反応を利用した療法であり、病気の予防や治療に広く用いられている。私は様々な物理療法の中で、日本で古くから使われてきた針灸療法に興味を持ち、針灸による内臓調整作用の神経性機序を麻酔動物を用いて研究してきた。本研究では針灸刺激が脳循環に及ぼす影響とその機序を麻酔動物を用いて調べた。この研究成果を博士論文としてまとめ、平成12年3月に学位を取得したので、その内容を以下に紹介する。

2. 本研究の目的

皮膚、筋、関節などを刺激する体性感覚刺激が反射的に自律神経を働かせて様々な内臓機能、例えば循環、胃腸運動、膀胱の排尿機能などを調節することが報告されている¹⁰⁾。また、皮膚への侵害性機械的刺激が脳血流を増すことも知られている¹¹⁾。

臨床に用いられている針灸治療は、針（はり）や艾（もぐさ）を使用して体性感覚を刺激するもので、鎮痛や内臓調整などの効果をもつ²⁾。このうち鎮痛効果のメカニズムはかなり明らかになったが、内臓調整作用のメカニズムはまだ十分には明らかでない。

脳血流が何らかの原因で低下あるいは不足すると意識障害や運動障害など様々な障害が生ずるが、これに対して針灸治療が行なわれ症状の改善が図られている。この機序の一つとして

針灸刺激による脳循環の改善が関与する可能性が考えられるが、未だ明らかではない。

本研究は、体性感覚刺激の例として針灸、すなわち針刺 acupuncture と艾灸 moxibustion 刺激を用い、この針灸刺激が脳局所血流に与える効果を検討し、そのメカニズムを明らかにすることを目的とした。

一般に、生体への刺激は、その刺激自体が生ずる一次的反応のほかに、情動の変化が誘発する二次的な生体反応を伴う。情動反応は個人差・個体差が大きいため二次的反応を客観的に研究することは非常に難しい。そこで本研究ではラットを用いて麻酔して意識を失わせ、情動を抑制した状態で、針灸刺激が一次的かつ反射的に誘発する脳局所血流反応とその反応の起こるメカニズムについて解析した。

3. 実験方法

実験には、雄性ラットを用いた。ラットをウレタン (1.1g/kg, i.p.) で麻酔した。Fig. 1 に実験方法の模式図を示す。気管をカニューレーションし、呼吸を人工呼吸器を用いて人工的に維持した。呼気中の CO₂ 濃度をガスモニターを用いてモニターし、呼吸量と頻度を調節することにより、終末値を 3-4% に維持した。収縮期血圧を大腿動脈に留置したカニューレから連続記録した。大腿静脈に必要な溶液を注入するためのカニューレを挿入した。直腸にサーミスターを挿入して核心温度を測定し、体温制御システムを用いて約 37.5°C に維持した。実験中、ウレタン (初期麻酔量の 10-20%) を 1-2 時間毎に

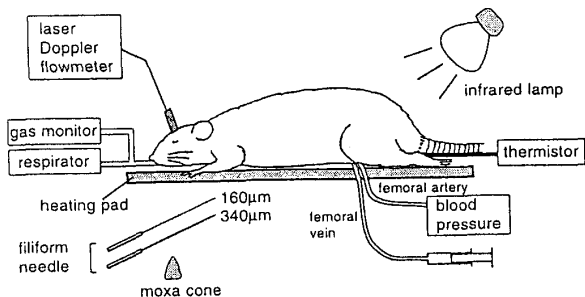


Fig. 1 Diagram of the experimental procedure.

静脈投与し、麻酔深度を維持した。

大脳皮質局所血流の測定：ラットを腹臥位にし、頭部を脳定位固定装置に固定し、大脳皮質の血流測定部位の頭蓋骨を部分切開して大脳皮質表面を露出した。レーザードップラー血流計のプローブを皮質表面に軽く接触させて、局所血流を連続測定した。

大脳皮質細胞外アセチルコリン量の測定：マイクロダイアリス法を用いて大脳皮質灌流液を採取し、灌流液中のアセチルコリン量を電気化学検出器のついた高速液体クロマトグラフィーを用いて測定した (Fig. 2)。

体性感覚刺激：ラットの種々の部位 (顔面、前肢掌、上腕、胸部、背部、下腿、後肢蹠、会陰) に針刺あるいは艾灸刺激を加えた。

針刺激 ①針刺刺激:直径 340 μ m のステンレス製の針を、皮膚上から筋肉まで深度 $d =$ 約 5mm 刺入し、振幅 $A = 2\pi$ で左右に頻度 $f = 1$ Hz で回

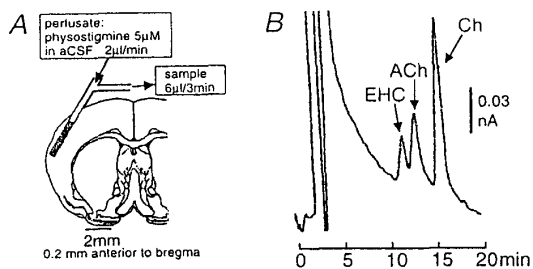


Fig. 2 A: Diagram of the experiment demonstrating the microdialysis probe in the cerebral parietal cortex. B: Chromatogram of 10 μ l of mixed solution containing sample and internal standard. ACh: acetylcholine, Ch: choline, EHC: ethylhomocholine

転させる刺激を 1 分間行った。この針刺激方法を捻転と呼ぶ。②電針刺激:直径 200 μ m の針 2 本を前肢掌の第 2-3 指間に 5mm 間隔で深度約 5mm 刺入した。電気刺激は実験用電気刺激装置 (SEN-7209, Nihon Kohden) を使用し、刺激波形は単方向矩形波で、通電条件はパルス幅 0.5ms, 刺激時間 30 秒又は 3 分, 刺激頻度 0.1-50Hz で、刺激強度 0.1-10mA の通電を行った。

艾灸刺激 艾 4mg を円錐型に成形して、皮膚上で燃焼させた。

4. 結果

4.1. 中枢無傷ラットにおいて種々の部位への針灸刺激が大脳皮質局所血流に及ぼす効果

針刺刺激においては、顔面、上腕、前肢掌、後肢蹠へ刺激を行なうと、刺激開始後 5-10 秒以内に脳血流が増加し始め、約 20-60 秒にかけてほぼ最大値に達し、刺激終了後約 1-2 分かけて元の値に戻る反応が生じた。これ以外の部位への刺激は効果がなかった (Fig. 3)。艾灸刺激においては、顔面、前肢掌、後肢蹠へ刺激を行なうと、針刺刺激の場合と同様の、しかし時間経

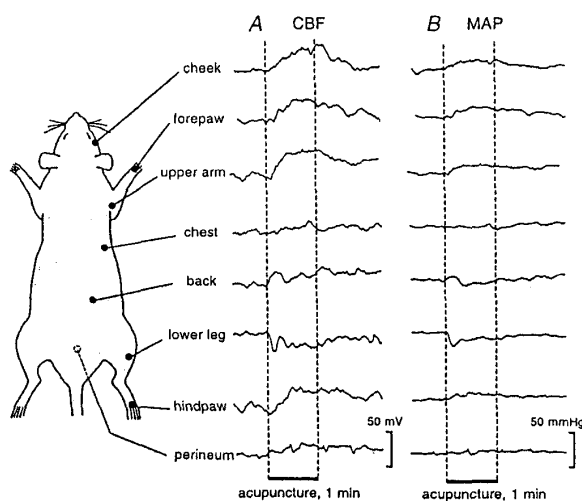


Fig. 3 Sample recording of cerebral blood flow (CBF, A) and mean arterial pressure (MAP, B) following acupuncture of various segmental areas of the body for 1 min (indicated by horizontal bars) in anesthetized rats.

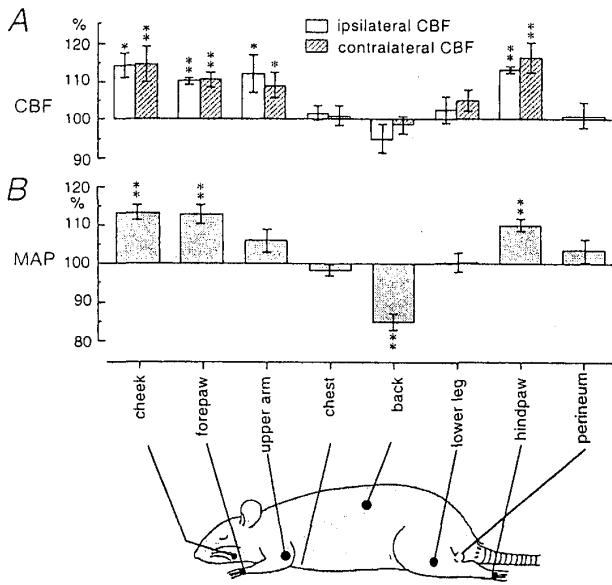


Fig. 4 Summary of the responses of cerebral blood flow (CBF, A, white column: ipsilateral to the stimulated sites, hatched column: contralateral to the stimulated sites) and mean arterial pressure (MAP, B) in anesthetized rats to acupuncture of various segmental areas of the body. Each column and vertical bar represents a mean \pm SEM (n=6-8). *P<0.05, **P<0.01; significantly different from prestimulus control values using paired *t*-test.

過のより短い血流増加反応が観察された。

これらの針灸刺激による脳局所血流増加は、脳血流と同様な時間経過の血圧上昇反応を伴った。

Fig. 4 に針灸刺激に対して同側および反対側の大脳皮質局所血流と平均血圧の反応の大きさを刺激直前の血流や血圧の値を 100%として、%でまとめたグラフを示す。顔面、前肢掌、上腕、後肢蹠への針灸刺激は、同側及び対側の頭頂葉皮質血流を 109-116%に有意に増加させた。顔面、前肢掌、後肢蹠への針灸刺激は平均血圧を 110-113%に有意に上昇させた。

4.2. 急性脊髄切断ラットにおいて種々の部位への針灸刺激が大脳皮質局所血流に及ぼす効果

一般に脳血流は血圧が変動しても自己調節機構により一定に保たれるが、その応答は遅く、秒単位で起こる急激な血圧変動には追従できないため、血圧変動に依存した脳血流変化を示す。

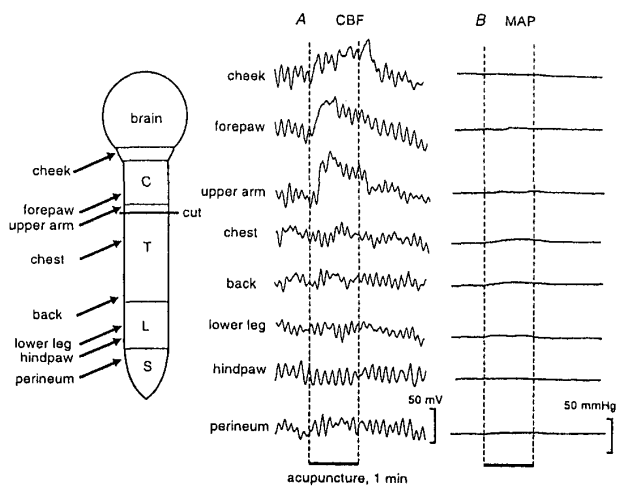


Fig. 5 Sample recordings of cerebral blood flow (CBF) and mean arterial pressure (MAP) responses following acupuncture stimulation of various segmental area of the body in acutely spinalized rats.

したがって、上述の針灸刺激による脳局所血流増加も、血圧上昇に伴った反応である可能性も考えられる。そこで、第2胸髄で脊髄を切断して、顔面・前肢掌刺激により血圧が変化しない状態を作り、あらためて針灸刺激を行なった。

Fig. 5 に、急性脊髄切断ラットにおいて、種々の部位に針灸刺激を加えた際の大脳皮質局所血流と血圧の反応の典型例を示す。急性脊髄切断後、顔面、前肢掌、上腕への針灸刺激により血圧は殆ど変化しなくなるが、大脳皮質局所血流は依然として針灸刺激により増加した。急性脊髄切断ラットでは、顔面、前肢掌への灸灸刺激においても、血圧変動無しに大脳皮質局所血流の増加が観察された。すなわち、針灸刺激は血圧に依存しない脳局所血流増加反応を生ずることがわかった。

4.3. 針灸刺激による脳血流増加反応の求心路

つぎに前肢掌への針灸刺激を用いて、針灸刺激による脳血流増加反応の機序を検討した。

求心路に関して以下の様に検討した。前肢掌へ針灸刺激をすると、この部位を支配する体性感覚神経、すなわち橈骨、尺骨、正中神経の求心性活動が興奮した。橈骨、尺骨、正中神経の

集まった腕神経叢でこれらの神経を外科的に切断すると、前肢掌刺激による脳局所血流増加反応は完全に消失した (Fig. 6) . 頬, 前肢, 後肢に関しても, それぞれの支配神経の切断により反応が消失した. したがって, 針刺による脳血流増加は, 刺激部位を支配する体性感覚神経を求心路としている.

体性感覚神経は I 群, II 群, III 群, IV 群線維よりなるが, 針刺刺激による大脳皮質血流増加反応が, どの線維群の興奮によりもたらされるかを, 針刺に電流を流す電針刺激を用いて検討した. この実験には, 急性脊髄切断ラットを用いた. 種々の刺激強度で前肢掌に電針刺激を加えると, 前肢支配橈骨神経に対して, 0.2 mA から II 群線維の興奮が, 0.5 mA から III 群線維の興奮が, 3.0 mA から IV 群線維の興奮が誘発される (Fig. 7 の矢印). 橈骨神経を切断していないラットで, 前肢掌に種々の強度で電針刺激を加えると, III 群線維の閾値以上である 1.5 mA から脳血流が増加し始め, 刺激強度依存性に反

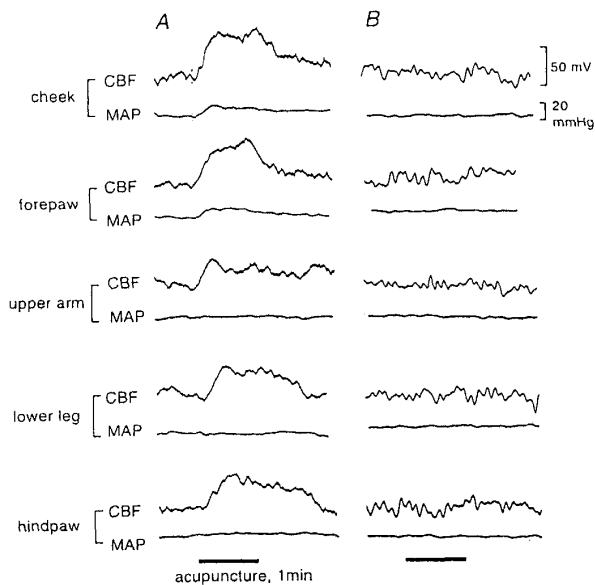


Fig. 6 Effects of severance of somatic nerves innervating the face, forelimb and hindlimb on the responses of the cerebral blood flow (CBF) and mean arterial pressure (MAP) following acupuncture stimulation of the face, forepaw, upper arm, lower leg, hindpaw. A: somatic nerves intact, B: after severance of the somatic nerves.

応が増大し, IV 群線維の興奮が加わる 5.0 mA, 10.0 mA 刺激ではさらに反応が増大した (Fig. 7). この結果から, 針刺刺激は刺激部位に分布する体性感覚神経の III 群 (A δ) および IV 群 (C) 線維を求心路として脳血流を増加させることが分かった.

4.4. 針刺刺激による脳血流増加反応の遠心路

脳血管は交感神経により α アドレナリン受容体を介して収縮性に, β アドレナリン受容体を介して拡張性に調節され, 副交感神経により拡張性に調節される. さらに脳内神経核に起始する線維によっても調節される. 例えばマイネルト核に起始するコリン作動性神経は, 大脳皮質にアセチルコリンを放出して, ムスカリン性およびニコチン性アセチルコリン受容体を介して脳血管を拡張性に調節する. したがって本研究では, 脳血管を拡張性に調節するこれらの諸

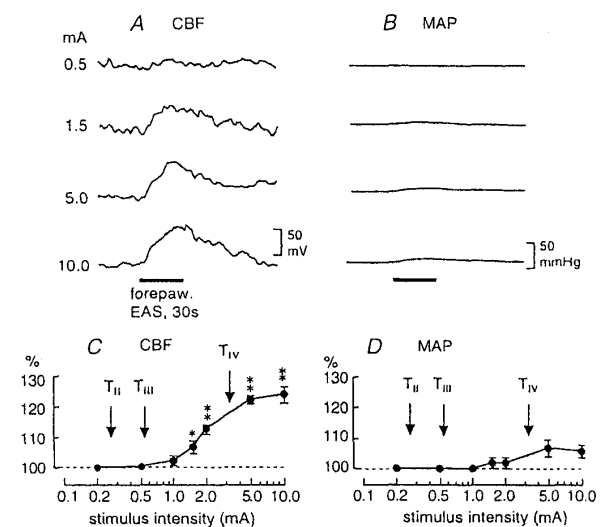


Fig. 7 Relationships between intensities of electro-acupuncture stimulations of a forepaw and magnitude of increase in cerebral blood flow (CBF) and mean arterial pressure (MAP). A, B: Sample recordings of CBF (A) and MAP (B). C, D: Graph of relations between stimulus intensity and magnitude of responses of increase in CBF (C) and MAP (D) ($n=6$). * $P<0.05$, ** $P<0.01$; significantly different from prestimulus control values using paired t -test. T_{II} , T_{III} and T_{IV} shows the mean threshold intensity of II, III and IV fibers of radial nerves, respectively.

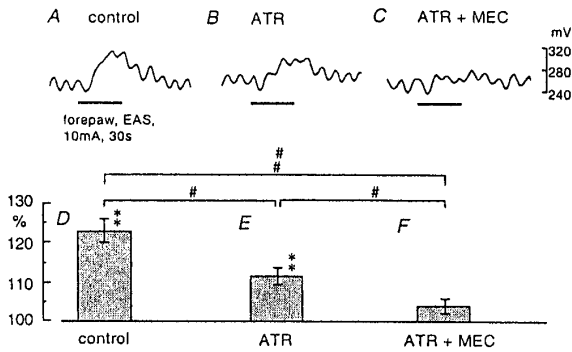


Fig. 8 The effects of cholinergic receptor antagonist which permeate blood brain barrier on the responses of cerebral blood flow (CBF) induced by electro-acupuncture stimulation in acutely spinalized rats ($n=5$). ATR; atropine, MEC; mecamlamine. * $P<0.05$, ** $P<0.01$; significantly different from prestimulus control values using paired t -test. # $P<0.05$, ## $P<0.01$; significant difference between the responses, by unpaired t -test.

因子の関与の可能性について検討した。

交感および副交感神経切断は、前肢掌への電針刺激による脳血流増加反応に影響を与えなかった。 α および β アドレナリン受容体遮断薬の投与も同じく影響を与えなかった。一方、ムスカリン性受容体遮断薬（アトロピン）投与は脳血流増加を約半分に減弱し、さらなるニコチン性受容体遮断薬（メカミルアミン）投与は反応をほぼ消失させた（Fig. 8）。アトロピンやメカミルアミンは血液脳関門を通過して脳内に入る受容体遮断薬である。血液脳関門を通過できないムスカリン性受容体遮断薬（メチルアトロピン）およびニコチン性受容体遮断薬（ヘキサメソニウム）を用いた場合には、前肢掌電針刺激による脳血流増加反応は全く影響を受けなかった。これらの結果から、針刺激は、脳内のムスカリン性及びニコチン性受容体を介して脳血流を増加させることが分かった。

針刺激による脳血流増加反応がアセチルコリンの受容体遮断薬投与により消失することから、針刺激により大脳皮質のアセチルコリン量が増加している可能性が考えられる。次にこ

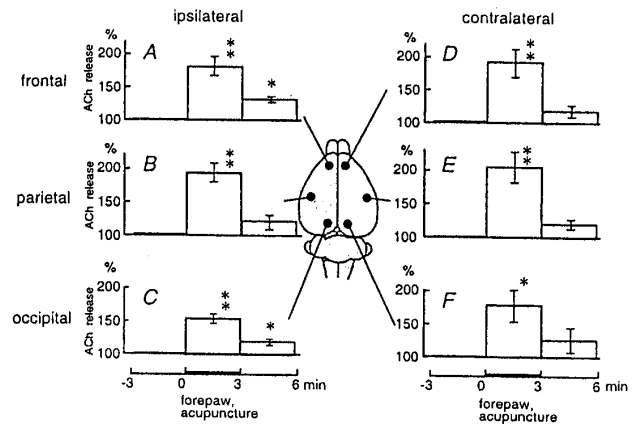


Fig. 9 Effects of acupuncture stimulation of a forepaw on extracellular acetylcholine release in the different area of the cerebral cortex in acutely spinalized rats ($n=4-6$). A-C: ipsilateral cortex to the stimulation, D-F: contralateral cortex to the stimulation. A,D: frontal cortex, B,E: parietal cortex, C,F: occipital cortex. * $P<0.05$, ** $P<0.01$; significantly different from prestimulus control values using One-way repeated ANOVA following by Dunnet's Multiple Comparison test.

の可能性を検討した。Fig. 9は、急性脊髄切断ラットにおいて、前肢掌の針刺激が両側の脳皮質の前頭葉、頭頂葉、後頭葉の細胞外アセチルコリン量に及ぼす効果を4-6例でまとめたグラフを示す。一側の前肢掌の針刺激により刺激と同側および対側の前頭葉、頭頂葉、後頭葉にわたる広い皮質領域で細胞外アセチルコリン量が増加していることが明らかとなった。

5. 考察

本研究から、頬、前肢掌、後肢蹠の針灸刺激が大脳皮質局所血流を増加させ、胸部などその他の部位の刺激は効果がないことが示された。また、前肢掌への針刺激について機序を調べた結果、針刺激は昇圧反応と無関係に大脳皮質血流を積極的に増加させること、求心路は体性感覚神経のIIIおよびIV群線維であり、遠心路は脳内のコリン作動性神経であることを明らかにした（Fig. 10）。大脳皮質血流を拡張的に調節する脳内のコリン作動性神経としては、マイネルト核から大脳皮質に広く投射するコリン

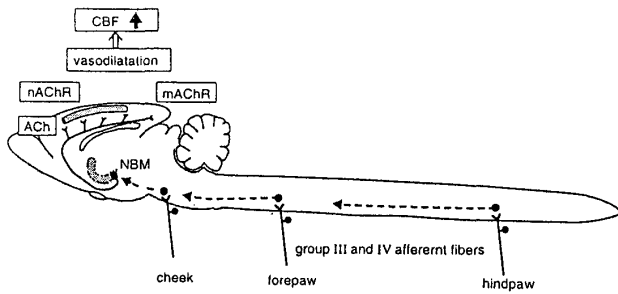


Fig. 10 Schematic diagram of the possible mechanism of cerebral vasodilatation by stimulation of acupuncture and moxibustion .

作動性神経が考えられる⁹⁾。

5.1. 脳血流反応を誘発する針灸刺激の部位

本研究では、頬、前肢掌、後肢蹠の刺激は効果的であるが、胸部、背部、会陰などの刺激は効果が少ないことが明らかとなった。Sato et al. (1997)による体性—自律神経反射の研究で、循環系に起こる反射は、延髄の循環中枢、すなわち脳を介して起こる反射であるが、このような脳を介する反射は、体幹部の刺激よりも手足の刺激で誘発されやすい特徴があることが明らかにされている。これに対して、胃は胸髄に胃を支配する交感神経が出力するために、躯幹部の刺激で脊髄を中枢として胃の交感神経を働かせる反射が起こりやすい。また、膀胱は脳幹に排尿中枢を持つが、体性刺激では膀胱を支配する副交感神経(仙髄から出力)が強力に働くため、仙髄に体性感覚情報の入力する会陰の刺激で脊髄性の反射を起こし易い特徴がある。

本研究の針刺刺激により脳血流に起こる反射は、脳を介する反射であるため、体幹部よりも手足の刺激が効果的であったと考えられ、これまでのSato et al.¹⁰⁾の研究で明らかとなった循環系に見られる反射に類似していると言える。本研究で、胸部、背部、下腿、会陰の刺激の脳血流に対する効果が少なかった理由は、これらの部位への針刺刺激による求心性体性神経の興奮が少ないのではなく、脳への経路が少ないためと考えられる。

5.2. 脳血流反応を誘発する求心性体性神経繊維群

求心性体性神経は有髄繊維 (I, II, III 群) 及び無髄繊維 (IV 群) を含む。I 群繊維は筋紡錘(らせん形終末)、腱紡錘の情報、II 群線維は筋紡錘(散形終末)、触・圧受容器の情報、III 群線維は冷・痛受容器の情報、IV 群繊維は温・痛受容器の情報を中枢神経系に連絡する¹¹⁾。今回の実験において、電針刺激を用いた実験から、大脳皮質血流の増加反応は、体性神経の細い有髄の III 群 (Aδ) 繊維およびさらに細い無髄の IV 群 (C) 繊維の興奮する刺激強度から誘発されることを明らかにした。筋や腱の I 群繊維および皮膚や筋の II 群繊維の関与を見いだすことはできなかった。

これまでも針の効果はどの求心性体性神経繊維の興奮により誘発されるか多くの議論がある。針麻酔の効果は、II 群繊維の興奮により誘発されるという報告^{8, 13)}と III 群繊維の興奮により起こるとい報告⁵⁾がある。また、針刺刺激により誘発される散瞳反応は、II, III, IV 群繊維の興奮により誘発されるという報告⁷⁾や針刺刺激による大腿二頭筋血流の増加反応が III 群および IV 群繊維の興奮により誘発されるという報告⁶⁾がある。このことから、観察する効果器の違いによって、針の効果誘発する求心性体性神経の繊維群が異なると思われる。

5.3. 脳内コリン作動性神経の関与

本研究において、前肢掌や後肢蹠の針刺刺激は大脳皮質細胞外アセチルコリン量を増加させること、またこの反応が頭頂葉だけでなく、前頭葉や後頭葉でも同程度に見られることを明らかにした。また、前肢掌への電針刺激による脳血流増加反応は、血液脳関門を通過して脳内に入るアセチルコリンのムスカリン性受容体遮断薬(アトロピン)およびニコチン性受容体遮断薬(メカミルアミン)投与により減弱した。しかし、血液脳関門を通過できないアセチルコリ

ンのムスカリン性受容体遮断薬（メチルアトロピン）およびニコチン性受容体遮断薬（ヘキサメソニウム）投与では、電針刺激による脳血流増加反応は影響を受けなかった。この結果から、電針刺激による反射性脳血流増加反応の遠心路には脳内のコリン作動性神経が関与することを明らかにした。針刺刺激によって脳内コリン作動性神経から大脳皮質に放出されたアセチルコリンが、ムスカリン性及びニコチン性アセチルコリン受容体に作用して脳血流を増加すると考えられる。

大脳皮質局所血流は、脳内のマイネルト核に起始し大脳皮質に投射するコリン作動性神経により拡張性に調節されることが知られている⁹⁾。麻酔ラットで皮膚への侵害性機械的刺激がマイネルト核ニューロン活動を興奮させることも明らかにされている³⁾。これらの事実から、針刺刺激においても、脳内のマイネルト核を興奮させて、コリン作動性神経が投射する広い大脳皮質領域にアセチルコリンを放出し、ムスカリン性及びニコチン性アセチルコリン受容体を介して大脳皮質血管を拡張させていると考えられる。

針刺刺激による体性求心性情報がどのような中枢内経路を通過してマイネルト核を興奮させるかについて以下に考察する。

皮膚や筋からの体性求心性情報の主な上行路は、脊髄の腹外側索を通り視床の特殊核（腹側基底核群）を経由して大脳皮質に連絡する経路（新脊髄視床路）、脊髄の腹外側索を通り視床の非特殊核（髄板内側核群）を経由して大脳皮質や大脳辺縁系に連絡する経路（旧脊髄視床路）、脊髄の腹外側索を通り脳幹網様体を経由して、視床の非特殊核や大脳辺縁系、視床下部に連絡する経路（脊髄網様体路）がある。マイネルト核に入力する繊維連絡について、Haring and Wang⁴⁾は、ラットのマイネルト核には脳幹、視床、視床下部、大脳基底核、扁桃体、大脳皮質からの繊維が終末することを、組織化学的に明らかにした。今回の実験は麻酔下で行っているため、大脳皮質や扁桃体からの情報は少なく、

体性求心性情報が入力する視床や脳幹網様体からマイネルト核に連絡している可能性が考えられる。一般に侵害刺激により自律機能に起こる反応は、脳幹網様体を通ると言われているため、脳幹網様体を介してマイネルト核に連絡する可能性が強い。意識下で針刺刺激を行った場合には、大脳皮質や扁桃体からの情報も入ってくるものと考えられる。

5.4. 内因性オピオイドの関与の可能性

針鎮痛のメカニズムの一つに、刺激により内因性オピオイドが産生されることにより鎮痛作用が起こることが明らかにされている¹²⁾。しかし、本研究は、針灸刺激による脳血流増加反応がオピオイド受容体遮断薬の投与で影響を受けないことから内因性オピオイドは関与しないことを明らかにした。針灸刺激による脳血流増加反応には、針鎮痛とは異なるメカニズムによる反射性反応であると言える。

6. おわりに

本研究の結果から、前肢掌への針刺は、当部位を支配する求心性体性神経の III 群および IV 群繊維を求心路とし、脳内のコリン作動性神経を遠心路として反射性に脳局所血流を増加させることがわかった。

本研究により、針灸刺激による脳血流増加は、同刺激による血圧上昇による受動的なものだけではなく、脳内コリン作動性神経を介する積極的な血管拡張反応であることが明らかとなった。このことは脳血流低下に基づく脳障害や意識障害の改善に針灸治療が用いられていることに関する機序を示したものと考えられる。

7. 参考文献

- 1) Adachi, T., Meguro, K., Sato, A. and Sato, Y., Cutaneous stimulation regulates blood flow in cerebral cortex in anesthetized rats, *NeuroReport*, 1, 41-44 (1990)
- 2) 會川義寛, 岡部哲郎, 針灸理論と針灸の作用, 内科, 81, 147-157 (1998)

- 3) Akaishi, T., Kimura, A., Sato, A. and Suzuki, A., Responses of neurons in the nucleus basalis of Meynert to various afferent stimuli in rats, *NeuroReport*, 1, 37-39 (1990)
- 4) Haring, J.H. and Wang, R.Y., The identification of some sources of afferent input to the nucleus basalis magnocellularis by retrograde transport of horseradish peroxidase, *Brain Research*, 366, 152-158 (1986)
- 5) Kawakita, K. and Funakoshi, M., Suppression of the jaw-opening reflex by conditioning A-delta fiber stimulation and electroacupuncture in the rat. *Exp. Neurol.*, 78, 461-465 (1982)
- 6) Noguchi, E., Ohsawa, H., Kobayashi, S., Shimura, M., Uchida, S., Sato, Y., The effect of electro-acupuncture stimulation on the muscle blood flow of the hindlimb in anesthetized rats, *J. Auton. Nerv. Syst.*, 75, 78-86 (1999)
- 7) Ohsawa, H., Yamaguchi, S., Ishimaru, H., Shimura, M., Sato, Y., Neural mechanism of pupillary dilation elicited by electro-acupuncture stimulation in anesthetized rats, *J. Auton. Nerv. Syst.*, 64, 101-106 (1997)
- 8) Pomeranz, B. and Paley, D., Electroacupuncture hypalgesia is mediated by afferent nerve impulses: an electrophysiological study in mice, *Exp. Neurol.* 66, 398-402 (1979)
- 9) Sato, A. and Sato, Y., Regulation of regional cerebral blood flow by cholinergic fibers originating in the basal forebrain, *Neurosci. Res.*, 14, 242-274 (1992)
- 10) Sato, A., Sato, Y. and Schmidt, R.F., The impact of somatosensory input on autonomic functions, *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, 130, 1-328 (1997)
- 11) 佐藤優子, 佐藤昭夫, 山口雄三, 生理学, 医歯薬出版, 東京, 1-237 (1991)
- 12) Stux, G. and Pomeranz, B., *Basics of Acupuncture*, Springer-Verlag, Berlin, 1-322 (1998)
- 13) Toda, K., Effects of electro-acupuncture on rat jaw opening reflex elicited by tooth pulp stimulation, *Jpn. J. Physiol.*, 28, 485-497 (1978)