

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 16 日現在

機関番号：34318

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25861456

研究課題名(和文) 頻尿・膀胱炎モデルラットに対する鍼刺激に関する効果機序の解明

研究課題名(英文) The functional study about mechanisms of the sacral acupuncture stimulus to overactive bladder, bladder inflammation model rats.

研究代表者

日野 ころこ (HINO, KOKORO)

明治国際医療大学・鍼灸学部・講師

研究者番号：30555652

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：特徴の異なる頻尿モデルラットを作製し、シストメトリー法による蓄尿・排尿機能に対する仙骨部鍼刺激の効果について検討した。酢酸、塩酸、シクロフォスファミド(CYP)誘発頻尿のうち、CYP誘発頻尿においては排尿間隔(ICI)の変化がなく、頻尿誘発機序の違いが仙骨部鍼刺激の効果に影響する可能性が考えられた。酢酸誘発頻尿モデルラットに対する灸刺激は、下腹部の方が仙骨部よりもICIは延長する傾向にあり、鍼刺激との刺激様式の違いが影響している可能性が考えられた。カンナビノイド(CB1)受容体阻害薬によって仙骨部鍼刺激によるICI延長の効果は消失し、鍼刺激の効果機序にCB1受容体に関与する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study is to elucidate the mechanisms of sacral acupuncture stimulation for overactive bladder model rats. The intercontraction interval (ICI) was prolonged after sacral acupuncture stimulation in acetic acid-induced bladder irritation (AA) rats and hydrochloric-induced cystitis rats but cyclophosphamide-induced cystitis rats. The effect of sacral acupuncture stimulation might be different from the cause of bladder conditions. The stimulation of moxibustion to lower abdomen was more prolonged ICI than sacral stimulation of moxibustion in AA rats. The difference of stimulation modalities would affect the effectiveness of stimulation of sacral lesion. Cannabinoid 1 (CB1) receptor inhibitor suppressed the prolonged ICI by sacral acupuncture stimulation in AA rats. It was considered that CB1 receptor could be a part of mechanisms of sacral acupuncture stimulation for overactive bladder.

研究分野：泌尿器

キーワード：頻尿 ラット カンナビノイド受容体 仙骨部 鍼刺激

1. 研究開始当初の背景

過活動膀胱および間質性膀胱炎は、頻尿や尿意切迫感などの症状が QOL を大きく低下させる。過活動膀胱 (Overactive Bladder; OAB) に対する治療法として、抗ムスカリン薬が第 1 選択として用いられるが、薬物治療抵抗性の過活動膀胱もに対する治療法の一つとして、鍼治療を含む Neuromodulation が試みられている。間質性膀胱炎については病態や治療に関する概念も明確にされておらず、診断や治療では、頻尿、尿意、膀胱痛に関する評価が重視される。症状に合わせて抗コリン薬をはじめ、三環系抗うつ薬、水圧拡張法等の様々な治療が試みられるが、著効がみられるものは少ない。難治であるため、鍼治療のような薬物等と併用が可能な治療法の確立が急がれる。私たちはこれまで過活動膀胱患者に対して鍼治療を施行し、その臨床的効果について報告してきた。尿意切迫感および切迫性尿失禁を訴える排尿筋過活動のある患者に対する仙骨部鍼治療は、排尿筋過活動を抑制し、かつ最大膀胱容量を増加させるとともに尿意切迫感の改善が得られ (北小路博司ら, 日泌尿会誌, 1998.) 過活動膀胱に対する仙骨部鍼治療の有用性が示されたことから過活動膀胱治療における選択肢の 1 つとなり得るが、その効果および作用機序が十分に明らかではないために、普及には至っていないのが現状である。我々は OAB に対する鍼治療の作用機序を明らかにするため、酢酸誘発頻尿モデルラットを用いて、仙骨部鍼刺激の効果を検討し、仙骨部鍼刺激が酢酸によって惹起された過剰な膀胱求心性情報伝達に介入して、頻尿を改善させること、またその作用機序はカプサイシン感受性 C 線維を介した抑制であることを明らかにし、また、膀胱炎モデルとして提唱されている塩酸誘発膀胱炎モデルラットに対する仙骨部鍼刺激では、膀胱上皮の再生を促進したことを報告している。

2. 研究の目的

頻尿および膀胱炎に対する鍼灸治療の作用機序を明らかにすることを目的とし、OAB のモデルとして知られる酢酸誘発頻尿ラット、膀胱炎モデルの塩酸誘発膀胱炎ラットおよび Cyclophosphamide 誘発膀胱炎モデルラット (CYP モデル) を用いて、膀胱の機能的評価を実施した。仙骨部鍼刺激の効果として各動物モデル間における鍼の有効性の違いを検討し、形態機能的な検討に加えて仙骨部鍼刺激が薬物治療の補完にどの程度有効であるのかを明らかにする。

3. 研究の方法

すべての実験は雌性 Sprague-Dawley ラット (232 - 335g) を対象とした。2.5% イソフルラン麻酔下にてポリエチレンカテーテル (PE-50) を膀胱頂部より挿入し、膀胱内に留置した。カテーテル留置 4-5 日後にシリ

ジポンプにて生理食塩水を排尿が生じるまで 2.4ml/h の速度で注入し、覚醒下による膀胱内圧測定 (CMG) を実施した。* 下腹部への灸刺激のみイソフルラン麻酔下にて行った。頻尿モデルは特徴の異なる 3 種類を作成した。1) 酢酸 (acetic acid; AA) 群は 0.25 の酢酸を膀胱内に 60 分間注入し、頻尿を誘発した。2) シクロフォスファミド (CYP) 群は CMG 施行 48 時間前に CYP (150mg/kg) を腹腔内投与し、頻尿を誘発した。3) 塩酸 (hydrochloric acid; HCl) 群は CMG 施行 15 日前に塩酸 (0.4 規定) 0.2ml を膀胱内に注入し頻尿を誘発した。

< 刺激介入方法 >

1) 鍼刺激は直径 0.3mm の鍼 (セイリン製) を仙骨部の骨膜に届くまで刺入し、骨膜刺激を 1 分間行った。
2) 灸刺激は 4mg の透熱灸 (日本特殊医科社製一級最艾; 最高温度 88.1 ± 6.1) を下腹部 (恥骨結合上際、中極穴相当部位) または仙骨部 (第三仙骨神経支配領域、中髎穴相当部位) に 5 壮ずつ行った。それぞれ下腹部群、仙骨部群とする。

< 使用薬剤 >

鍼刺激の効果を確認するため、CB1 カンナビノイド受容体阻害薬 (AM251, 3mg/kg) を静脈内に注入した (CB1 群)。

< 評価方法 >

CMG の評価は、排尿間隔 (min)、最大膀胱内圧 (cmH₂O) とし、平均 \pm S.E. にて表した。各頻尿モデル間の排尿間隔を一元配置分散分析で比較し、post-hoc には、Dunnett's 検定を用いて control 群との比較を行った。各群の鍼刺激および灸刺激前後は t 検定を用いて比較した。また、頻尿の誘発後の鍼ならびに灸の効果を確認するために、反復測定分散分析を行い、有意であった場合に post-hoc として Holm の多重比較検定を行った。いずれも有意水準は p 値 0.05 未満とした。解析には EZR を使用した。

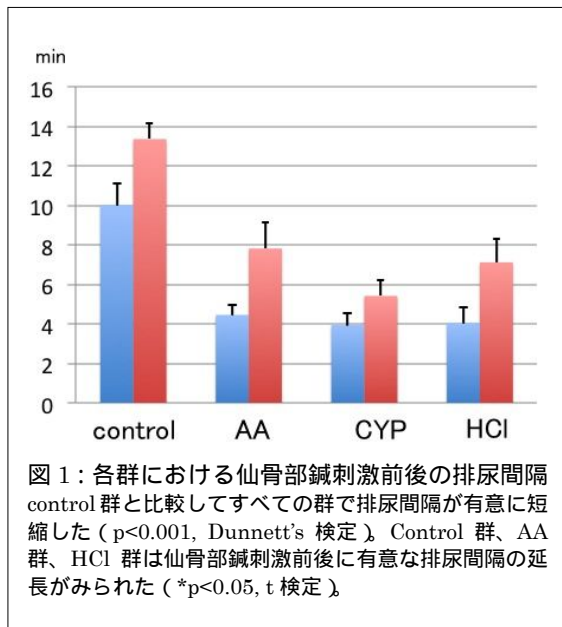
4. 研究成果

1) 異なる 3 種類の頻尿モデルラットへの仙骨部鍼刺激の検討 (図 1)

作成した頻尿モデルはすべての群において先行研究同様の頻尿を誘発させた (control)。頻尿を誘発されたモデルに対して鍼刺激を加えたところ、AA 群の排尿間隔は鍼刺激前 4.6 ± 0.5 min から鍼刺激後 7.8 ± 1.3 min と有意な延長がみられた。CYP 群は、鍼刺激前 4.0 ± 0.6 min から鍼刺激後 5.4 ± 0.8 min とすべての個体で延長傾向であったが有意な変化はみられなかった。HCl 群は鍼刺激前 4.1 ± 0.8 min から鍼刺激後 7.1 ± 1.2 min と有意な延長がみられた。組織学的検討により AA モデルでは膀胱上皮までの侵襲がみられ、HCl モデルでは膀胱筋層まで侵襲がみられた。

2) 酢酸誘発頻尿モデルラットに対する灸刺激効果の検討 (図2)

下腹部群、仙骨部群ともに排尿間隔は短縮し、頻尿が確認出来た ($p < 0.01$)。下腹部群の排尿間隔は頻尿前 15.3 ± 1.2 min から頻尿後 8.1 ± 2.4 min、灸刺激後 12.3 ± 3.2 min へと変化した。仙骨部群では頻尿前 15.1 ± 2.7 min から頻尿後 7.7 ± 1.6 min、灸刺激後 $9.2 \pm$



1.6 min へと変化した。

下腹部群は仙骨部群に比べて排尿間隔が延長した。これまで検討してきた仙骨部鍼刺激は骨膜刺激が膀胱機能に影響する可能性が高く、表面的な熱刺激では膀胱機能への影響が低い可能性が示唆された。

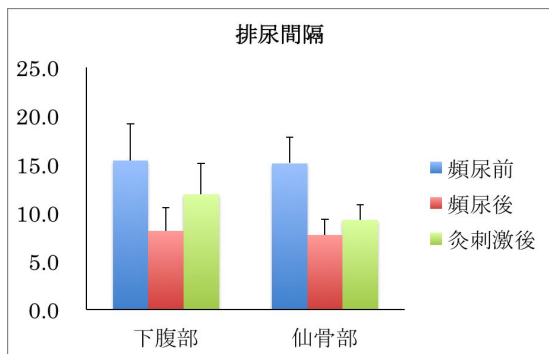
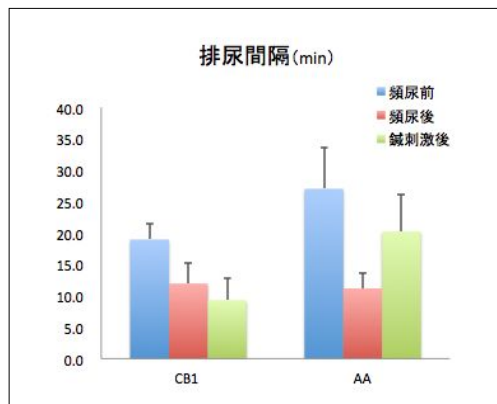


図2: 頻尿誘発ラットに対する下腹部および仙骨部灸刺激による排尿間隔の変化

3) カンナビノイド受容体阻害薬を用いた検討

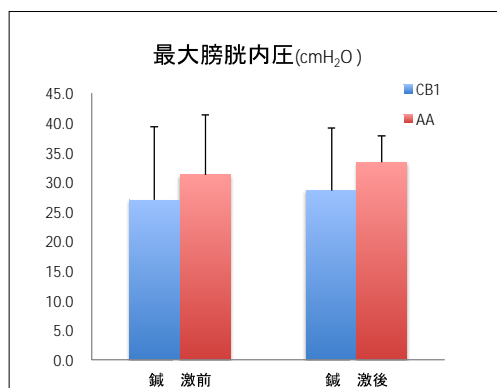
CB1 群、AA 群ともに排尿間隔は短縮し、頻尿が確認出来た ($p < 0.01$)。CB1 群は頻尿前 19.0 ± 2.6 min、頻尿後 12.0 ± 3.2 min、鍼刺激後 9.3 ± 3.4 min と有意な排尿間隔の変化が見られた ($p < 0.01$)。AA 群の排尿間隔は、頻尿前 27.0 ± 6.5 min、頻尿後 11.2 ± 2.5 min、鍼刺激後 20.2 ± 5.9 min と頻尿前後、および頻尿後と鍼刺激後には有意な変化が確認さ

れた ($p < 0.01$) が、頻尿前と鍼刺激後には有



意な差はなかった。

最大膀胱内圧について、CB1 群は頻尿前 25.4 ± 7.1 cmH₂O、頻尿後 27.0 ± 12.3 cmH₂O、鍼刺激後 28.5 ± 10.5 cmH₂O であった。AA 群の最大膀胱内圧は、頻尿前 32.1 ± 6.9 cmH₂O、頻尿後 31.2 ± 10.1 cmH₂O、鍼刺激後 33.3 ± 4.4 cmH₂O であった。最大膀胱内圧に有意差はみられなかった。これにより仙骨部鍼刺激は抗コリン薬のような平滑筋への作用がみられない可能性が示唆された。また酢酸誘発による頻尿に対する仙骨部鍼刺激の効果は CB1 受容体阻害薬を用いることで効果が消失した。これにより、仙骨部鍼刺激の効果機序に CB1 受容体が関与する可能性が示唆された。



本研究では特徴の異なる頻尿モデルラットを作製し、シストメトリー法による蓄尿・排尿機能に対する仙骨部鍼刺激の効果について検討した。酢酸、塩酸、シクロフォスファミド誘発頻尿のうちシクロフォスファミド誘発頻尿においては排尿間隔の変化がなく、頻尿誘発機序の違いが仙骨部鍼刺激の効果に影響する可能性が考えられた。酢酸誘発頻尿モデルラットに対する灸刺激は、下腹部の方が仙骨部よりも排尿間隔は延長する傾向にあり、鍼刺激との刺激様式の違いが影響している可能性が考えられた。カンナビノイド受容体阻害薬によって仙骨部鍼刺激による排尿間隔の延長の効果は消失し、鍼刺激の効果機序にカンナビノイド受容体が関与する可能性が示唆された。鍼灸治療はテーラード医療の提供が可能であり、泌尿器科領域における過活動膀胱および間質性膀胱炎

に対する薬物治療の補完の意味で非常に重要であると考えらる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 3 件)

Nagaoka S, Shinbara H, Okubo M, Kawakita T, Hino K, Sumiya E. Contributions of ADP and ATP to the increase in skeletal muscle blood flow after manual acupuncture stimulation in rats. *Acupunct Med*, 査読有, 0 巻, 2016, p1-6

DOI:10.1136/acupmed-2015-01959

小笠原千絵, 谷口博志, 新原寿志, 日野こころ, 角谷英治, 鍼回旋刺激および輻射熱刺激による後外側腹側核の侵害受容性ニューロンの活動の抑制 鍼鎮痛における上行性痛覚抑制系の関与の可能性, 明治国際医療大学誌, 査読有, 8 巻, 2013, p23-39

長岡 里美, 新原 寿志, 日野こころ, 谷口 博志, 角谷 英治, 灸頭鍼における艾球の中心温度と落下地点の温度, 全日本鍼灸学会誌, 査読有, 63 巻, 2013, p167-175

[学会発表](計 7 件)

長岡 里美, 新原 寿志, 日野こころ, 谷口 博志, 角谷 英治, マニュアル鍼刺激による局所骨格筋血流量増加の解明 鍼刺激局所のアデノシンと ATP 及び ADP の動態, 第 63 回全日本鍼灸学会愛媛大会抄録集, P240

伊佐治 景悠, 谷口 博志, 今井 賢治, 谷口 授, 日野こころ, 新原 寿志, 北小路 博司, 角谷 英治, 勃起機能に対する中りょう穴への鍼通電刺激の影響 ラット陰茎海綿体内圧を指標とした検討, 第 63 回全日本鍼灸学会愛媛大会抄録集, P171

Hino K, Udo Y, Sumiya E, The mechanisms of Sacral Acupuncture on Acetic Acid-induced Bladder Overactive in Conscious Rats, GUNTM international symposium 2013, Kyoto

Nagaoka S, Shinbara H, Hino K, Taniguchi H, Sumiya E, Contribution of ATP to an increase in local muscle blood flow following manual acupuncture, GUNTM international symposium 2013, Kyoto

Ogasawara C, Taniguchi H, Shinbara H, Hino K, Sumiya E, Evidence for an ascending inhibitory pathway of acupuncture analgesia, GUNTM international symposium 2013, Kyoto
Sumiya E, Ogasawara C, Hayama S, Sato S, Shinbara H, Taniguchi H, Hino K, The

excitatory response of the neurons in periaqueductal gray matter/ dorsal raphe nucleus, ventrobasal complex nucleus accumbens to press tack needle. GUNTM international symposium 2013, Kyoto

日野こころ, 有働 幸紘, 新原 寿志, 小笠原 千絵, 佐藤 想一郎, 長岡 里美, 早野 大孝, 角谷 英治, 睡眠満足度の評価に対する基礎的検討 大学生における予備的検討, 第 62 回全日本鍼灸学会福岡大会抄録集, p260

[図書](計 1 件)

系井啓純, 篠原昭二, 緩和ケア鍼灸マニュアル, 医歯薬出版株式会社, 2014, 298

6. 研究組織

(1) 研究代表者

日野こころ (KOKORO HINO)
明治国際医療大学・鍼灸学部・講師
研究者番号: 30555652

(2) 研究分担者

なし ()

研究者番号:

(3) 連携研究者

なし ()

研究者番号: