

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 17 日現在

機関番号：34448

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22590670

研究課題名（和文）鍼灸刺激の転写因子NFκBを介する局所炎症・免疫機転への分子メカニズムの解明

研究課題名（英文）Effect of acupuncture on the molecular mechanism of inflammation via transcription factor, NFκB.

研究代表者

松熊 英明 (Hideaki Matsukuma)

森ノ宮医療大学・保健医療学部・講師

研究者番号：70518638

研究成果の概要（和文）：

鍼灸刺激が皮膚局所あるいは遠隔臓器に及ぼす影響は未だ不明な点が多い。本研究では鍼灸刺激の炎症機転に及ぼす影響を検討した。マウス正常皮膚では鍼刺激が局所皮膚組織に及ぼす影響は炎症に関してはほぼ無かった。一方で炎症性腸疾患モデル動物を用いた検討では、鍼+通電刺激が腸炎を軽減し、鍼刺激の同疾患に対する有用性を示唆できた。メカニズムとして鍼刺激が自律神経系を介して腸管運動を抑制し炎症を改善する可能性が考えられた。さらに灸による熱刺激での炎症惹起は筋再生促進や創傷治癒促進効果を有する可能性が示された。

研究成果の概要（英文）：

Recently, there has been a focus on a variety of complementary and alternative medicine in the field of health care. However, the effect of acupuncture is still unclear. In this study we investigated the effect of acupuncture and moxibustion on molecular mechanisms of inflammation. Procedure of acupuncture into normal skin resulted in no effect on local inflammation. However, our data demonstrated that electro-acupuncture suppressed disease activity and colonic inflammation in DSS-induced colitis through a reduction in propagated colonic peristalsis mediated by sympathetic over-activity, suggesting the potential of acupuncture as a relief therapy for inflammatory bowel disease. On the other hand, moxibustion accelerated muscle regeneration and promoted wound healing through induction of inflammation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
22年度	2580000	774000	3354000
23年度	1600000	480000	2080000
24年度	400000	120000	520000
年度			
年度			
総計	4580000	1374000	5954000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科学一般

キーワード：東洋医療・鍼灸刺激・炎症性腸疾患・筋肉再生・創傷治癒・炎症性サイトカイン・マクロファージ

1. 研究開始当初の背景

統合医療が注目されている昨今ではあるが、伝統的東洋医学を基盤とする鍼灸処置が病態に及ぼす影響については未だ明らかとは言い難い。鍼灸治療の有用性を説明する上で炎症機転あるいは免疫機構への影響を示唆されることは多いが、炎症に対して示唆されているbiphasicな反応様式にはそのメカニズムに疑問が残る。

2. 研究の目的

本研究では鍼灸処置局所における炎症機転に及ぼす影響に注目し、その分子メカニズムを分子生物学的手法・遺伝子工学的手法を用いたアプローチで探索的に検討する。正常動物と炎症モデル動物を用いて異なる病態下で検討を加え、biphasicな反応性について検証を試みる。本研究では現代医学的手法を東洋医学に用いることにより、これまで不確かな経験的裏付けを中心として示唆されていた有用性を検証でき、鍼灸治療の代替医療としての可能性に新しい評価を加えることができる。

3. 研究の方法

(1) 正常皮膚組織に対する鍼刺激の及ぼす影響

マウス皮膚に鍼刺激を行い、炎症関連分子の発現・炎症性細胞浸潤をreal-time PCR法・HE染色・免疫染色法等にて検討する。鍼刺激深度による違いについても検討を加える。

(2) 炎症性腸疾患モデルマウスにおける鍼+通電刺激の効果

DSS飲水炎症性腸疾患モデル動物を用い、鍼+通電刺激をDSS投与と同時に隔日実施し、2週間の経過観察を行う。臨床的スコア

DAI(Disease activity index)・IL-18、IL-6のmRNA発現・マクロファージ浸潤・接着因子ICAMの発現・病理学的変化を検討する。またワゴスチグミン投与による効果の変化を検討し、鍼刺激が自律神経系を介して抗炎症作用を示すことを検討する。

(3) 灸刺激による筋肉再生促進と創傷治癒促進効果

塩酸ブピカイン筋肉注射による筋挫滅モデルを用いて、初期段階で灸刺激を行い、筋肉再生マーカーとしてPax7、m-cadherinの発現を検討した。さらにHE染色により病理学的検討を加えた。また、ラット創傷治癒モデルにて灸刺激を行い、創傷治癒の時経列的経過と蛋白分解酵素MMPの発現亢進及び筋線維芽細胞のマーカーである α -SMA陽性細胞の検出を行い、灸刺激が創傷治癒に及ぼす影響を検討した。

4. 研究成果

(1) マウス正常皮膚では鍼刺激により鍼刺入部周囲に若干のマクロファージ等炎症細胞の遊走を免疫組織学的検討にて認めるものの、炎症性サイトカイン・接着因子・それらを制御する転写因子NF κ B等の分子マーカーの発現確認は困難であり、さらに鍼深度による変化は確認できなかった。当初予想した鍼刺激の正常皮膚組織に及ぼす影響は極めて軽微あるいは無いと考えられた。

(2) 近年、統合医療が注目されており、炎症性腸疾患はその対象疾患としてヨーロッパを中心に注目されており、いくつかの臨床研究はその有用性を示唆している。今回の検討で、DSS飲水炎症性腸疾患モデル動物に対す

る鍼+通電隔日刺激により DAI の有意な改善が認められた (図1)。

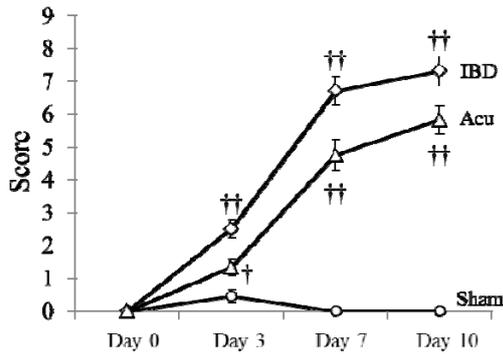


図1 : DAI(Disease activity Index)の継時的変化 (IBD:DSS 投与群、Acu:DSS+鍼刺激群、Sham:無処置群)

DAI を構成する項目別では、体重減少については有意差はなかったものの、便性状 (図2)・血便のスコア (図3) で有意な改善を示した。

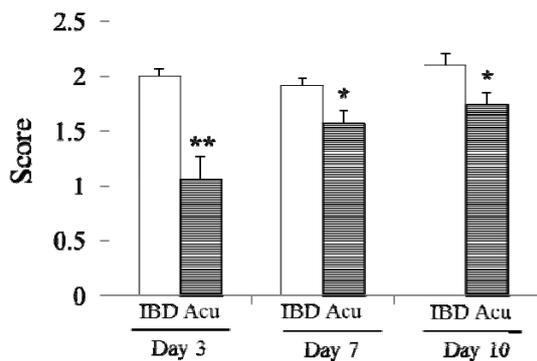


図2 : 便性状スコアの改善

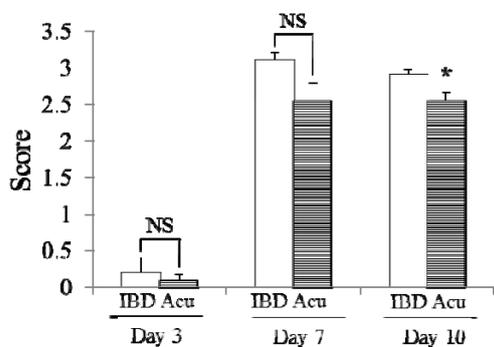


図3 : 血便スコアの改善

また組織学的検討にて腸上皮破壊の軽減や接着因子 ICAM の発現低下に伴うマクロファージ浸潤抑制も確認できた (図4)。

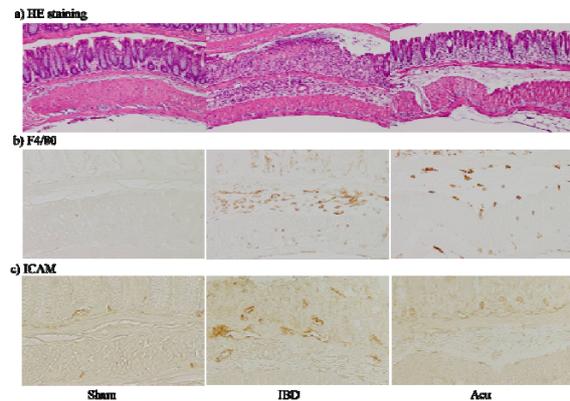


図4 : 組織学的検討

さらに鍼通電刺激による炎症性サイトカイン IL-18, 6 の発現低下も認めた (図5)

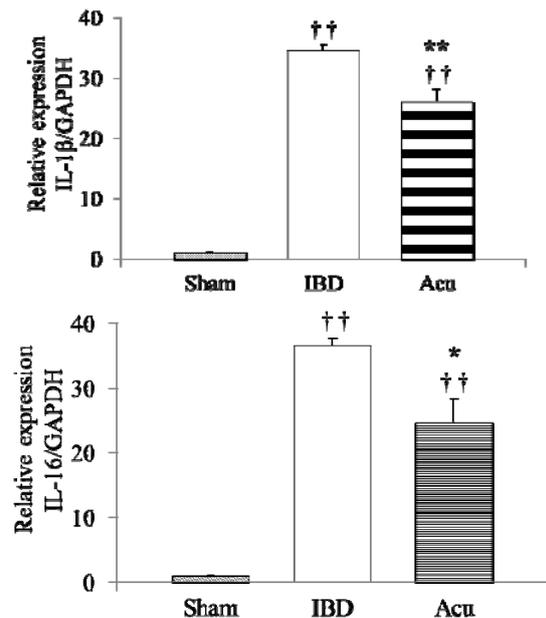


図5 : Real-time PCR 法による腸管組織 IL-18, 6 の mRNA 発現

炎症性腸疾患では交感神経活性化に伴うサイトカイン作成及び腸蠕動運動 (giant migrating contractions) 亢進が炎症を惹起するが、本研究ではワゴスチグミン投与にて鍼通電刺激の効果は減じられ (図6)、炎症性サイトカインの発現も mRNA レベル・蛋白レ

ベルともにワゴスチグミンにより相殺された (図6) ことから、鍼刺激が自律神経系を介して腸管運動を抑制し炎症を改善する可能性が示唆され、鍼通電刺激が遠隔臓器への影響するメカニズムの一端を解明した。

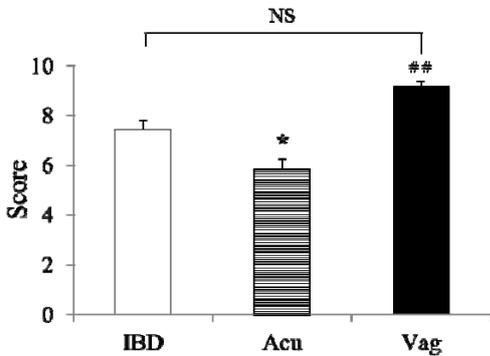


図6：鍼通電刺激によるDAI改善のワゴスチグミンによる相殺効果

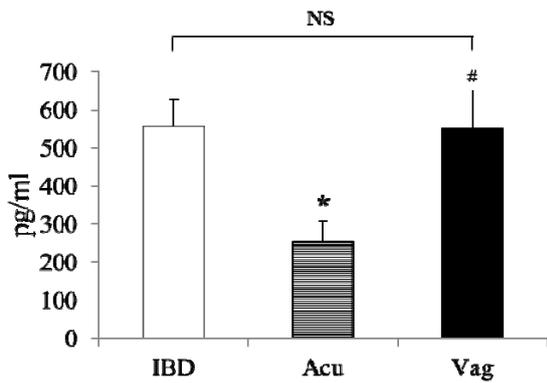


図7：ELISA法によるIL-6の発現定量・鍼通電刺激によるサイトカイン発現レベル低下のワゴスチグミンによる相殺効果

(3) 灸刺激は鍼刺激と異なり、局所皮膚における炎症反応を惹起した。塩酸ブピバカイン筋肉注射による筋挫滅モデルにて筋肉におけるサイトカイン発現亢進が認められたが、灸刺激によりIL-6のmRNA発現はさらに亢進した(図8)。同時に筋芽細胞のマーカであるPax7(図9)、接着因子m-cadherinのmRNA発現も灸刺激により亢進し、これは過去の知見からIL-6を介していると考えられる。病理学的検討でも灸刺激群での筋再生促

進が認められた(図10)。

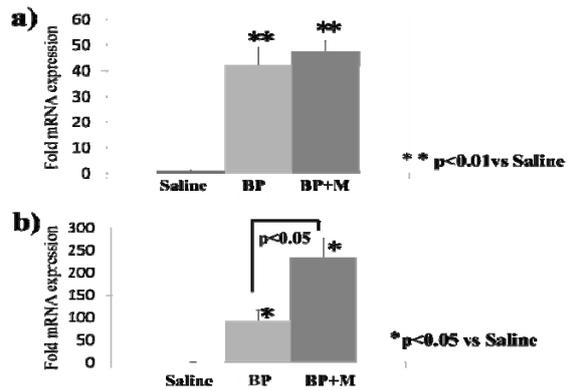


図8：塩酸ブピバカインによるサイトカイン発現亢進と灸刺激によるさらなる発現亢進(Real-time PCR法)(saline:生理食塩水注射, BP: 塩酸ブピバカイン筋肉注射, BP+M: 塩酸ブピバカイン筋肉注射+灸刺激。a): 2日後、b): 4日後)

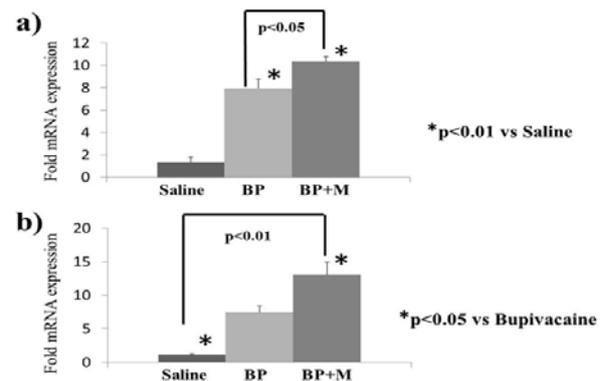


図9：灸刺激によるPax7 mRNAの発現亢進(Real-time PCR法)

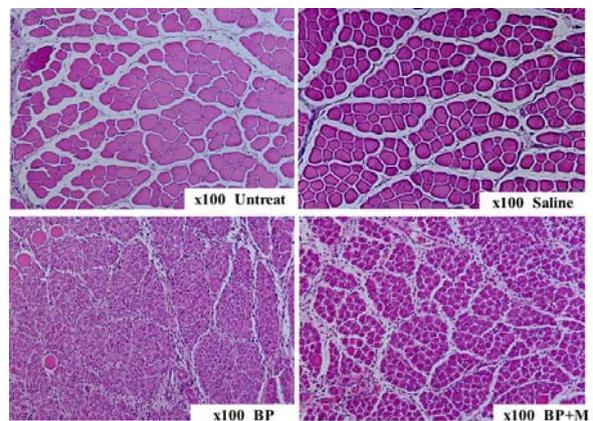


図10：灸刺激による筋肉再生促進

さらに創傷治癒モデルにおいても、灸刺激は軽度炎症惹起を介して上皮細胞の再生・肉芽組織の促進分解を促進することが示唆され、蛋白分解酵素 MMP の発現亢進及び筋線維芽細胞のマーカーである α -SMA 陽性細胞の早期出現が認められ、灸による炎症が癒痕化しない創傷治癒を促進と早期における治癒過程促進の可能性が考えられた。

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 1 件)

① Yutani T, Kawahata H, Sotobayashi D, Kawanami H, Matsukuma H, Aoki M. Anti-inflammatory effect of electro-acupuncture via reduction in clonic pristalsis in a mouse model of inflammatory bowel disease. *Immunology, Endocrine & Metabolic Agents in Medicinal Chemistry*. 2013, 13(2): 122-131. DOI: 10.2174/1871522211313020006

[学会発表] (計 3 件)

① 湯谷 達、浅野 真里絵、川畑 浩久、青木 元邦 「腸炎モデルマウスに対する鍼刺激の影響－炎症性腸疾患への補完医療確立に向けて－」全日本鍼灸学会学術大会 2012 年 6 月 9 日 三重

② 川波 博、湯谷 達、川畑 浩久、青木 元邦 「灸刺激が創傷治癒過程に与える影響」全日本鍼灸学会学術大会 2013 年 6 月 9 日 福岡

③ 湯谷 達、川畑 浩久、青木 元邦 「腸炎モデルマウスに対する鍼刺激の影響－炎症性腸疾患への補完医療確立に向けて－」全日本鍼灸学会学術大会 2013 年 6 月 9 日 福岡

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松熊 英明 (Hideaki Matsukuma)
森ノ宮医療大学・保健医療学部・講師
研究者番号：70518638

(2) 研究分担者

青木元邦 (Motokuni Aoki)
森ノ宮医療大学・保健医療学部・教授
研究者番号：00346214

川畑浩久 (Hirohisa Kawahata)

森ノ宮医療大学・保健医療学部・助教
研究者番号：30454680