

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008

課題番号：19590222

研究課題名（和文） 鍼刺激による覚醒状態調節と膀胱機能改善のメカニズムの解明

研究課題名（英文） Mechanisms for acupuncture influences on sleep-wake regulation and urinary bladder activity

研究代表者

小山 純正 (KOYAMA YOSHIMASA)

福島大学共生システム理工学類・教授

研究者番号：80183812

研究成果の概要：

仙骨への鍼刺激は、脳幹の覚醒ニューロンを抑制することにより、睡眠状態を誘発する。また、排尿中枢のニューロンの活動を抑制することにより、膀胱の活動を抑制する。これらの作用には、GABA 作動性の介在ニューロンが関与している。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2008年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・環境生理学

キーワード： 鍼刺激, 睡眠・覚醒, 排尿, バーリントン核, 脳波, GABA, ラット

1. 研究開始当初の背景

脊髄損傷などで誘発される膀胱の過活動の治療に、仙髄への鍼刺激の効果が報告されている。我々は、ラットを用いてその生理学的メカニズムを明らかにするための実験を行ってきたが、その際に、仙髄への鍼刺激が膀胱の活動を抑制するのみでなく、脳波から判断される動物の睡眠・覚醒状態にも影響を与えることを見出した。また、膀胱の活動状態と睡眠・覚醒状態とが密接に関連しあっていることも明らかになった。

針治療は、中国において古くから行われている代表的な東洋医学の治療法であり、その効果もある程度確立しているといえるが、神経生理学的メカニズムについてはほとんど

わかっていない。鍼刺激の効果がニューロンレベルで解明できれば、より確かな鍼治療の確立、鍼治療に代わる薬剤治療への道が期待できる。

2. 研究の目的

このような発想から本研究では、ラットを用い仙髄への鍼刺激のみならず膀胱の活動性、睡眠・覚醒状態への影響について、膀胱内圧、脳波、ニューロン活動を指標にして調べ、鍼刺激の作用のニューロンレベルでの解明を目指す。

3. 研究の方法

図1のように、ウレタン麻酔下のラットを用い、膀胱にカテーテルを刺入する。このカテーテルを介して膀胱内圧を記録しながら、膀胱に自発収縮を引き起こすため生理食塩水を注入する。頭骨には、脳波を測定するためのネジ電極を埋め込む。仙骨に、手動操作により鍼刺激（1秒間に1~2回の回転）を与える。ガラス電極により、ニューロン活動を記録する。

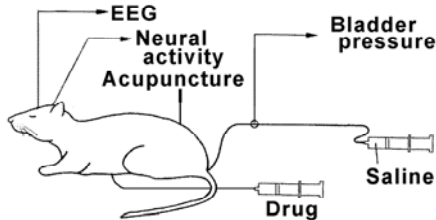


図1 実験の概略図

4. 研究成果

1) 仙骨鍼刺激の脳波、膀胱活動に対する効果

ウレタン麻酔下のラットは、大振幅の徐波を示す時期（深睡眠）と周波数がやや高く振幅の小さな脳波を示す時期（浅睡眠）を繰り返す。浅睡眠の時期は、膀胱の自発収縮も頻繁に起こる。このときに仙骨に鍼刺激を与えると、図2のように脳波の徐波化と、膀胱収縮の抑制が起こる。脳波の周波数成分を調べると、鍼刺激前には、約2.5Hzをピークとするデルタ波と約4.5Hzをピークとするシータ波の成分が顕著に現れる（図2, Ba）。それに対し、刺激後は、周波数全体が低周波側にシフトし約1.5Hzのデルタ波成分がピーク現れる。図3に示すように、刺激後最初の5分間のデルタ成分の比率は有意に増加し、この効果は20分間続いた。一方シータ成分は、刺激5分後から有意に減少し、10~20分後にはさらに減少した。

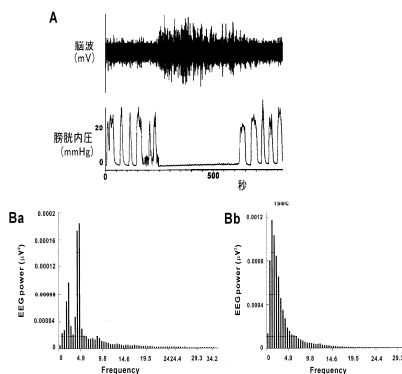


図2 仙骨鍼刺激の脳波・膀胱収縮への効果

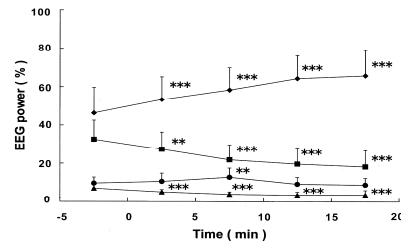


図3 鍼刺激後の脳波の各周波数成分の変化
ひし形, デルタ成分 (0.5-3.9Hz); 正方形, シータ成分 (4.0-7.9Hz); 円, アルファ成分 (8.0-12.9Hz); 三角, ベータ成分 (13.0-25.0Hz). **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$ (Student's t-test による刺激前との比較)

鍼刺激の脳波に対する影響は、膀胱の状態に依存し、膀胱が空のときは112回の試行中71回(63.4%)で脳波の徐波化が起こったのに対し、膀胱が生理食塩水で満たされているときは徐波化が起こったのは、111回中31回(21.8%)であった。

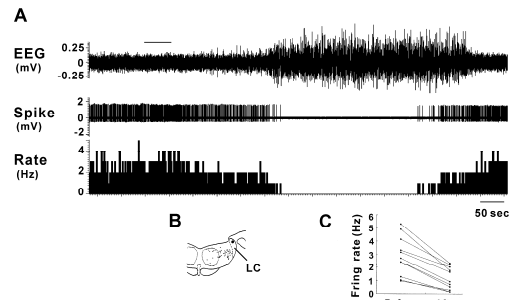


図4 仙骨鍼刺激による覚醒ニューロンの活動変化

Aの横線の期間に鍼刺激を与える。EEG, 脳波; Spike, ニューロンの活動電位; Rate, 発火頻度. B, ニューロンの記録部位. LC, 青斑核. C, 記録したニューロンの鍼刺激による発火頻度の変化.

図4に、仙骨鍼刺激が脳幹のノルアドレナリン作動性ニューロンの活動に与える影響を示す。ノルアドレナリン作動性ニューロンの活動は覚醒時に高く、徐波睡眠時に低下し、レム睡眠時には完全に停止する。したがって、覚醒の発現・維持に関与すると考えられている。このニューロンの活動を記録しながら鍼刺激を与えると、脳波の徐波化は始まる2分ほど前から活動が徐々に低下し、脳波の徐波が続いている間の8分間は活動が完全に停止した。そして、低振幅脳波が現れる2分前から、ニューロン活動の回復が始まった。以上の結果から、鍼刺激によって覚醒ニューロンの活動が抑制されることによって、脳波の徐波化が起こったと考えられる。

鍼刺激の効果がGABA神経系を介している可能性を確かめるため、鍼刺激によって脳波の

徐波化が起こった後に、GABA 受容体の阻害剤であるピキュキュリン (2-4 mg/kg) を腹腔内に投与し、針刺激の効果を比べた。図 5A に示すように、ピキュキュリン(Bic)投与 5 分後の刺激(2)では、投与前(1)に見られていた脳波の徐波化は現れなかった。Bic 投与 50 分後(3)には、刺激の効果が再び現れた。また、図 5B に示すように、膀胱収縮に対しても、Bic 投与 30 分後(2)、40 分後(3)には、鍼刺激による収縮抑制は阻害された。鍼刺激の効果は、Bic 投与 50 分後(4)には回復した。以上の結果から、仙骨鍼刺激による脳波の徐波化、膀胱活動の抑制には、いずれも GABA 作動性のニューロンが介在していると考えられる。

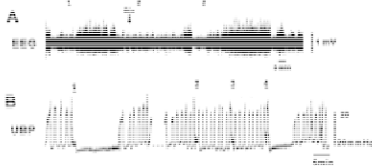


図 5 仙骨鍼刺激の作用に対するピキュキュリンの拮抗作用

A, 脳波の徐波化に対する作用. 矢印の時期にピキュキュリン(Bic)を投与; B, 膀胱収縮に対する作用. 点線の期間に bic を投与. 2 は、Bic 投与 30 分後. UBP, 膀胱内圧.

2) 仙骨鍼刺激が排尿中枢のニューロンに与える影響

排尿中枢からは、図 6 のように膀胱の収縮に密接に関連する 3 種類のニューロンが記録できる。このうち A は、膀胱収縮に先立って発火が上昇し膀胱収縮中は活動が停止する E1 タイプ、B は、膀胱内圧の変化に相関して発火頻度が変化する E2 タイプ、C は、膀胱内圧と逆の相関を示し、膀胱の弛緩中に活動が上昇する I タイプを示す。

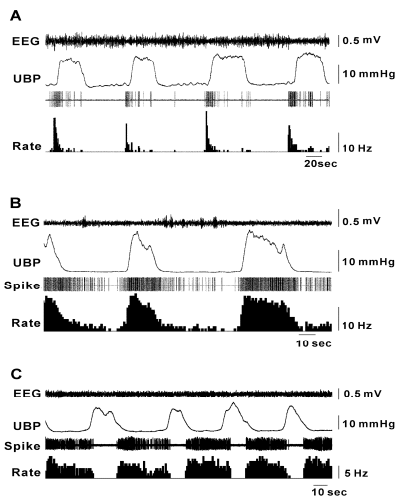


図 6 膀胱中枢のニューロン
A, E1 タイプ; B, E2 タイプ; C, I タイプニューロン.

図 7 には、仙骨鍼刺激によって膀胱収縮が抑制された時の E2 タイプニューロンの活動変化を示す。刺激直後から膀胱収縮は停止し、その抑制は約 20 分間続いた。膀胱収縮の抑制時に、ニューロン活動は完全に停止していた。膀胱収縮が回復したときの最初の収縮サイクルにおいて、ニューロン活動も回復した。記録した 16 個の E2 タイプニューロンのうち、15 個で活動が抑制された。そのうち 4 個では膀胱収縮の抑制に先行してニューロン活動の低下が起こった。残りの 11 個では、膀胱収縮の抑制とほぼ同時にニューロン活動は低下した。4 個の E1 タイプニューロンにおいては、全てが鍼刺激によって活動が抑制された。そのうち 2 個は、膀胱収縮の抑制に先行してニューロン活動が低下し、他の 1 個では、膀胱収縮の回復に先行してニューロン活動の上昇が起こった。

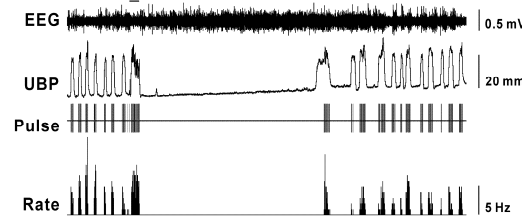


図 7 仙骨鍼刺激による E2 タイプニューロンの活動変化

横線の期間鍼刺激を与える。

図 8 には、仙骨鍼刺激による I タイプニューロンの反応の一例を示す。このニューロンは、膀胱収縮の抑制に伴って、その発火頻度が上昇した。刺激前は、膀胱の収縮にともなう周期的活動が見られたが、刺激後はその周期性は消失し、持続的な発火頻度の上昇と、膀胱収縮よりも短い周期の相動的な発火頻度の上昇が見られた。16 個の I タイプニューロンのうち 3 個は、鍼刺激によって発火が抑制され、4 個は促進された。

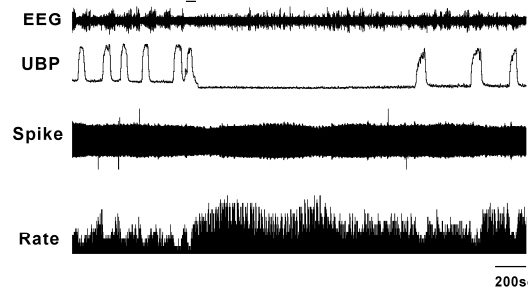


図 8 仙骨鍼刺激による I タイプニューロンの活動変化

横線の期間鍼刺激を与える。

5 まとめ

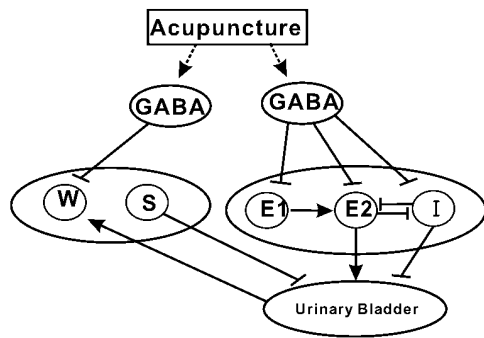


図9 睡眠・覚醒機構，排尿機構に対する鍼刺激の作用機序に関するシエーマ

図9に、今まで得られた研究結果をもとに考えられる、睡眠・覚醒調節機構と排尿調節機構との関係、それらに対する鍼刺激の作用機序についてまとめる。

(睡眠・覚醒中枢への作用)

睡眠中枢と覚醒中枢のニューロンは、それぞれ互いに抑制性の作用をおよぼし合っている。覚醒中枢のニューロンとしては、視床下部後部のヒスタミン作動性ニューロン、脳幹のノルアドレナリン、アセチルコリン作動性ニューロンなどがあるが、仙骨への鍼刺激は、GABA作動性ニューロンを介してこれらの覚醒調節ニューロンを抑制することにより、睡眠を誘発する。

(排尿中枢への作用)

排尿中枢には、膀胱の収縮に先立って活動上昇するE1タイプ、収縮時の膀胱内圧変化に同期して活動するE2タイプ、E2タイプと逆位相の活動パターンを示すIタイプのニューロンが存在する。E1タイプはE2タイプに興奮性入力を与え、E2タイプは仙髄に投射し、膀胱収縮に直接的に作用する。E2タイプとIタイプはそれぞれ抑制性作用をおよぼし合っている。仙骨への鍼刺激は、GABA作動性ニューロンを介してこれらの排尿ニューロンを抑制する。Iタイプニューロンの一部が鍼刺激によって活動が上昇したのは、鍼刺激によってE2タイプニューロンの活動が抑制され、E2タイプからIタイプへの抑制が解除された脱抑制のため、と考えられる。

(睡眠・覚醒系と排尿系の相互作用)

われわれはすでに、膀胱の伸展が覚醒中枢のノルアドレナリン作動性ニューロンやアセチルコリン作動性ニューロンの活動を促進することにより覚醒を誘発することを確認している。今回、膀胱が充滿しているときには鍼刺激による睡眠誘発作用が小さくなることから、排尿系が覚醒系に促進作用をお

よぼすことが確認された。また、深い徐波睡眠のときは、膀胱活動が停止することから、睡眠系が排尿系に抑制性作用を及ぼすと考えられる。

本実験によって、ラット仙骨への鍼刺激の、睡眠誘発作用や膀胱活動の抑制作用が確認された。また、その作用メカニズムについてもいくつかの重要点が明らかになった。これらの知見は、ヒトの睡眠障害や排尿障害の治療法の開発に大きく寄与すると考えられる。

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 6 件)

1. Juan Carlos Toledo Salas, Hiroshi Iwasaki, Eiichi Jodo, Markus H. Schmidt, Akihiro Kawauchi, Tsuneharu Miki, Yukihiko Kayama, Manabu Otsuki, Yoshimasa Koyama. Penile erection and micturition events triggered by electrical stimulation of the mesopontine tegmental area. *American J. Physiol.* 292: R102-R111, 2008, 査読有。
2. 小山純正 高橋和巳. 意識障害の基礎—覚醒の神経機構. *Clinical Neuroscience*, 26(6): 615-617, 2008, 査読無し。
3. 小山純正 高橋和巳. 睡眠発現の神経機構. *臨床睡眠学—睡眠障害の基礎と臨床—日本臨床 66(増刊号2): 75-82, 2008, 査読無し。*
4. 小山純正・高橋和巳・高草木薫. 過眠症の脳内機序. *睡眠医療* 2(2): 144-151, 2008, 査読無し。
5. Hui Wang, Yoshiyuki Tanaka, Eiich Jodo, Yukihiko Kayama, Akihiro Kawauchi, Tsuneharu Miki, Manabu Otsuki, Yoshimasa Koyama. Acupuncture stimulation to the sacral segment affects the state of vigilance in rats. *Neurosci. Res* 57: 531-537, 2007, 査読有。
6. 小山純正 高橋和巳. 脳幹網様体賦活系の各種神経細胞と覚醒機構. *Clinical Neuroscience* 25(4): 388-390, 2007, 査読無し。

〔学会発表〕(計 10 件)

1. 小山純正. 鍼刺激と睡眠・排尿. 第4回日本鍼灸師会全国大会 教育講演, 2008年10月11日, 仙台
2. 小山純正・高橋和巳・香山幸彦. 視床下部における覚醒・歩行運動・血圧の調節. 第30回日本神経科学大会, 2008年7月9日, 東京
3. 小山純正. 動物を使った睡眠研究について. 第13回睡眠科学研究講座, 2008年6月27日, 郡山
4. 高橋和巳・香山幸彦・小山純正・Jian-Shen Lin・酒井一弥. 覚醒機構としてのヒスタミン. 日本睡眠学会第33回定期学術集会, 2008年6月26日, 福島
5. 高橋和巳・香山幸彦・小山純正・Jian-Shen Lin・酒井一弥. マウスオレキシンニューロンの睡眠・覚醒時の活動. 日本睡眠学会第33回定期学術集会, 2008年6月25日, 福島
6. 高橋和巳・小山純正・香山雪彦・酒井一弥. 結節乳頭核ヒスタミンニューロン活動が覚醒状態の発現に果たす役割. 第11回日本ヒスタミン学会, 2007年12月14日, 富山
7. 小山純正. 鍼刺激と睡眠. 全日本鍼灸学会 福島地方会, 2007年11月5日, 福島
8. 高橋和巳・酒井一弥・小山純正・香山雪彦. 睡眠・覚醒の移行期において脳幹及び視床下部のニューロンが示す活動変化の順序. 第40回東北生理談話会, 2007年10月19日, 仙台
9. 小山純正. 尿のマイナートラブルを見過ぎていませんか? 基礎から鍼灸臨床まで - 鍼灸師が知っておきたい知識と技術 - 基礎医学の立場から. 第9回全日本鍼灸学会近畿支部指定講習会, 2007年9月30日, 高槻
10. 高橋和巳・小山純正・香山雪彦・酒井一弥. マウスの覚醒ニューロン、睡眠ニューロンが示す睡眠・覚醒移行期における活動変化の順序. 第30回日本神経科学大会, 2007年9月10日, 横浜.

〔図書〕(計 2 件)

1. 小山純正. 日本睡眠学会編, 睡眠学, 2009, 760 ページ, (分担執筆: 33-40, 視床下部と睡眠)
 2. 小山純正. 日本睡眠学会編, 睡眠学, 2009, 760 ページ, (分担執筆: 313-318, 睡眠覚醒ニューロン活動の記録法)
6. 研究組織
- (1) 研究代表者
小山 純正
福島大学・共生システム理工学類・教授
研究者番号: 80183812
 - (2) 研究分担者
 - (3) 連携研究者
高橋 和巳
福島県立医科大学・医学部・講師
研究者番号: 90325952