

目 次

明治国際医療大学附属東洋医学研究所の組織 目次裏

明治国際医療大学附属東洋医学研究所の歴史・現状・課題 1

研究報告

MRセンター研究室	3
附属鍼灸センター研究室	4
微細構造解析室・生体構造解析室	5
遺伝子関連物質解析室	7
生体防御機構解析室	9
生理活性物質分析室	11
生体分子解析室	13
高次機能解析室	14
生体機能解析室Ⅰ	15
生体機能解析室Ⅲ	17
生体反応解析室Ⅱ	18
行動解析・分析室	19
6号館・診断情報解析室	20
8号館・運動機能解析室	22

東洋医学研究所の組織

共同利用研究室

研究室名	主任者名	内線
MRセンター研究室	樋口 敏宏	638
臨床研究棟研究室	山田 潤	652
附属鍼灸センター研究室	竹田 太郎	537
微細構造解析室	熊本 賢三	236
遺伝子関連物質解析室	雨貝 孝	225
生体防御機構解析室	糸井 マナミ	267
生理活性物質分析室	林 知也	370
生体分子解析室	糸井 マナミ	267
高次機能解析室	中山 登稔	238
生体機能解析室Ⅰ	赤澤 淳	374
生体機能解析室Ⅱ	岡田 薫	272
生体機能解析室Ⅲ	福田 文彦	537
生体反応解析室Ⅰ	今井 賢治	539
生体反応解析室Ⅱ	谷口 博志	316
行動解析・分析室	福田 文彦	537
生体構造解析室	榎原 智美	261
工作室	廣 正基	326
2号館分子シグナル解析室	鳴瀬 善久	371
6号館診断情報解析室	和辻 直	318
8号館運動機能解析室	林 知也	370
10号館看護情報解析室	永島 すえみ	762

明治国際医療大学附属東洋医学研究所の歴史・現状・課題

東洋医学研究所・所長
雨貝 孝

附属東洋医学研究所は、東洋医学に関する学術の研究及び東洋医学の研究者の養成を目的に昭和 57 年に設置されました。

平成元年から、形態系、機能系、免疫・生化学系の基幹 3 部門構成となり、5 号館（研究棟）の 1 階と 4 階が形態系、2 階が免疫・生化学系、3 階が機能系を中心とした研究室群が配置され共同利用に供されてきました。

平成 3 年から大学院鍼灸学研究科修士課程が、平成 6 年には博士課程が開設され附属東洋医学研究所が大学院の教育・研究にも活用され始めました。

平成 14 年度に研究所の在り方の見直しを行った結果、平成 15 年度から全学の研究施設が共同利用を前提としたものとして 16 の共同研究室が整備されました。同時に、プロジェクト研究も開始され、複数ユニットにまたがる共同研究の推進が図られました。この時期には、柔道整復学の学問としての基盤を整備と 4 年生の大学への移行という動きと連動した研究も進められました。平成 16 年には保健医療学部が開設、平成 18 年には看護学部がされ柔道整復学や看護学の研究にも共同研究室の利用が広がりました。

現在、3 学部、医学教育研究センター、附属病院、附属鍼灸センター、MR センター、統合医療センターおよび大学院を持つ東西医学を学び研究できる特色ある医療系大学としての歴史を積み重ねています。こうした中、東洋医学研究所は、全学の共同利用を一層推進するために共同研究室の再整理が行われ平成 24 度より 20 の研究室をもち、多様なアプローチから統合医療・東洋医学研究を支えられる共同利用施設として一層の充実と共同利用が図られています。

平成 24 年度から、各共同研究室での研究成果の一部を研究所年報という形でまとめ、学内外の皆様に活動の一端をご紹介することといたしました。附属東洋医学研究所は学内外との共同研究を促進し、東西医学を融合し、オリジナリティのある医科学・医療の研究に貢献してゆく所存です。今後とも、皆様のご協力・ご鞭撻のほどを宜しくお願ひします。

(2012 年 4 月 5 日)

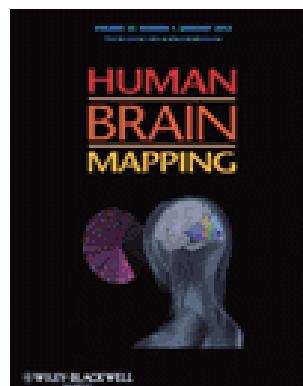
施設名：メディカルMRセンター

主任者名：樋口 敏宏 【所属】脳神経外科学

共同研究者名：田中忠蔵、梅田雅宏、渡邊康晴、河合裕子

核磁気共鳴装置を利用した生体機能解析研究

ヒト用 MRI 装置では、主に脳機能画像法による感覚認知と脳賦活の関係を可視化する研究を実施した。その中でも、視覚刺激を用いた研究では共同研究（ヒト大脳における視覚情報処理に関する fMRI 研究）を行っている山本洋紀博士（京都大学）の投稿した論文が HumanBrain Mapping 2012 年 1 月号の表紙を飾った。この研究は、視覚野の確率地図とエントロピー地図を用いて解剖学的な位置情報だけからその部位の視覚野を確からしさも含めて推測する方法について発表した。受託研究では検査中に被験者に実物とその印刷物を提示し、その見え方の違いに関連する脳賦活部位を明らかにする研究の前段階として、超音波モータを利用して視覚提示装置の開発とそれに関連した諸技術について検討し、ノイズによる MRI の信号変化についてまとめた。さらに関節を動かすことによる感覚野の賦活について検討し、関節深部の感覚による脳賦活を明らかにした。また、鍼刺激が終わった後も持続することについて fMRI を用いて検討した。スポンジによる体表の擦過刺激では、刺激終了後に速やかに感覚野の活動が低くなるが、鍼刺激では刺激終了後も感覚野の活動の持続が課人された。この成果は 2012 年度の国際磁気共鳴医学学会で報告を予定している。さらに、骨格筋収縮あるいは骨格筋変形に伴う見かけの拡散係数の変化について検討し国内の磁気共鳴学会に報告した。



動物用 MRI 装置では塩化マンガンを利用したマンガン造影脳活動画像を撮像し、小動物における新しい脳機能画像法の検討を続けた。また、阪大との共同研究で行っていた、マウス腎臓の見かけの拡散係数の脈拍による変動についてまとめ、2012 年度の国際磁気共鳴医学学会で発表予定である。この研究は今後学内の装置で検討する予定である。また、受託研究として日立製作所と行った研究では脳梗塞とともに脳内代謝物の拡散係数の変化を調べた。ラットの脳が小さいため高速化学シフト画像法を用いて代謝物毎の拡散係数を調べた。この結果は国際磁気共鳴医学学会や国内の磁気共鳴学会で発表した。

動物用 MRI 装置では塩化マンガンを利用したマンガン造影脳活動画像を撮像し、小動物における新しい脳機能画像法の検討を続けた。また、阪大との共同研究で行っていた、マウス腎臓の見かけの拡散係数の脈拍による変動についてまとめ、2012 年度の国際磁気共鳴医学学会で発表予定である。この研究は今後学内の装置で検討する予定である。また、受託研究として日立製作所と行った研究では脳梗塞とともに脳内代謝物の拡散係数の変化を調べた。ラットの脳が小さいため高速化学シフト画像法を用いて代謝物毎の拡散係数を調べた。この結果は国際磁気共鳴医学学会や国内の磁気共鳴学会で発表した。

【業績一覧】

学術論文

- 1). 青木伊知男、河合裕子：マンガン造影磁気共鳴画像法 (MEMRI) の実際. 磁気共鳴学会雑誌, V o l . 3 1 (N o . 1) :

- 1 - 1 9 , 2 0 1 1 . 査読あり
- 2). Morisaki S, Kawai Y, Umeda M, Nishi M, Oda R, Fujiwara H, Yamada K, Higuchi T, Tanaka C, Kawata M, Kubo T : In Vivo Assessment of Peripheral Nerve Regeneration by Diffusion Tensor Imaging.J of Magn Res Imag., 33(3):535-42., 2011. 査読あり
- 3). Yamamoto H, Fukunaga M, Takahashi S, Mano H, Tanaka C, Umeda M, and Ejima Y:Inconsistency and Uncertainty of the Human Visual Area Loci following Surface-based Registration.Probability and Entropy Maps.Hum Brain Mapp., 33(1):121-9.2012. 査読あり
- 4). Y Yasuda, T Shimoda, K Uno, N Tateishi, S Furuya, Y Tsuchihashi, Y Kawai, S Naruse and S Fujita : Temporal and sequential changes of glial cells and cytokine expression during neuronal degeneration after transient global ischemia in rats.J Neuroinflammation. , 22;8:70.2011. 査読あり
- 5). Liu J, Jo JI, Kawai Y, Aoki I, Tanaka C, Yamamoto M, Tabata Y:Preparation of polymer-based multimodal imaging agent to visualize the process of bone regeneration. J Control Release. in press. 査読あり
- 6). 尾藤良孝, 河合裕子, 平田宏司, 恵飛須俊彦, 大竹陽介, 平田智嗣, 白猪亨, 五月女悦久, 越智久晃, 梅田雅宏, 樋口敏宏, 田中忠蔵 : D i f f u s i o n-w e i g h t e d S p e c t r o s c o p i c I m a g i n g による脳虚血モデルラットの解析. 磁気共鳴学会雑誌, in press. 査読あり

その他の印刷物

- 1). 山本哲也, 山本洋紀, 真野博彰, 梅田雅宏, 田中忠蔵, 斎木潤 : ヒト視運動野の単眼性奥行き視への関与. 信学技報, 1 1 1 , 9 6 , N C 2 0 1 1 -8 , p p . 7 9 -8 4 , 2 0 1 1 .

学会発表等

海外 : 5 編、国内 : 11 編、講演 : 2 編

学外共同研究・受託研究

共同研究 : 3 施設、受託研究 : 2 施設

**施設名：附属鍼灸センター研究室
主任者名：竹田太郎【所属：臨床鍼灸学】**

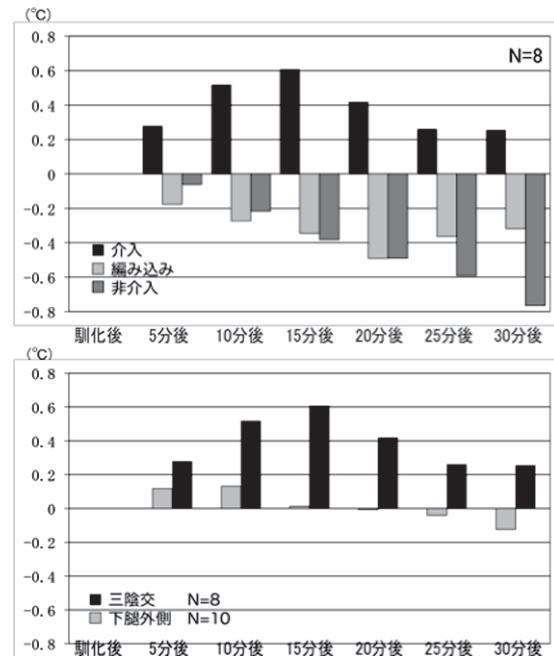
ツボ刺激を応用した冷え性改善靴下の開発

[緒言] 下肢の冷え症に悩む女性は多く、独自の調査によると女性の9割弱が冷え症を自覚している。また、冷え症の自覚は通年であることが多く、そのため、下肢の皮膚温を上昇させる靴下あるいは保温効果の高い靴下に対する冷え症者の関心は高い。そこで今回、東洋医学の根幹をなす経穴（けいけつ：ツボ）の概念を応用し、下肢の冷えに対して効果的な靴下を開発することを目的に研究を実施した。

[方法] 1) 対象：明治国際医療大学の女子学生・女子職員で、下肢に冷えを自覚する者をアンケートにて募集。その内、他覚的にも冷えを認め、研究内容に同意した被験者25名（18～48歳）を対象とした。2) 実験方法：(1) 実験1：被験者に対し、①一般的な靴下素材のみ（非介入）、②前記と同一素材にて刺激部に編み込み加工（編み込み）、③前記と同一素材にて刺激部にはウォームウェーブ素材を使用（介入）の3種類の検体を用いた。室温 $25\pm0.5^{\circ}\text{C}$ のサーモグラフィー測定室にて、20～30分間の安静仰臥による室温馴化後から測定を実施した。検体刺激部が下腿内側の三陰交穴に当たる位置へ測定者が速やかに検体を着衣した。着衣の完了から10分後に検体を脱衣し、脱衣から10分後まで測定を継続した。さらに、ウォームウェーブ素材を使用した検体については、三陰交の反対側に相当する位置（下腿外側）に着衣する測定も行った。(2) 実験2：実験1の結果から得られた下肢皮膚温を上昇させる刺激条件（繊維素材、刺激方法および刺激部位）を満たした靴下を検体として使用した。測定室にて20～30分の安静座位による室温馴化後から測定を実施した。被験者に検体靴下を着衣してもらい、着衣の完了から30分後に検体を脱衣し、脱衣から15分後まで測定を継続した。また、介入検体と同じ素材・形状のダミー靴下を用いた測定も実施した。3) 解析方法：測定した熱画像を付属のソフトを用いて解析した。解析部位は足背先端とし、 $30\times40=1,200\text{pixel}$ の範囲で皮膚表面温度の平均値を算出した。

[結果] 実験1の結果より、介入では皮膚温の上昇が認められたものの、非介入および編み込みでは皮膚温の下降を示した。また、三陰交刺激で認められた皮膚温上昇は、下腿外側への刺激では認められなかった。実験2の結果より、検体靴下・ダミー靴下ともに一定の皮膚温上昇が認められたが、検体靴下では顕著な持続効果が認められた。

[結語] 下肢の冷え症を有する女性を対象に実施した本研究の結果、ウォームウェーブ素材を用いて三陰交穴へ刺激することにより、通常の靴下を履くことでは得られない著明な皮膚温上昇および持続効果が得られた。したがって、本刺激条件を満たす靴下は冷え症の改善効果を有することが示唆された。



その他の研究テーマ一覧

- ・月經前症候群における自律神経機能解析
- ・運動負荷中のアイシング効果
- ・カラー治療による鎮痛—自律神経からの検討—
- ・セルフケアとしての間接灸の妥当性
- ・足三里への間接灸刺激による副交感神経活動の亢進
- ・鍼刺激による瞬時心拍数減少反応に対するプラセボの影響
- ・遅発性筋痛に対する鍼鎮痛—自律神経を指標とする検討—

業績一覧

学術論文

- 1) 宮原正人ら：運動前のアイシングが運動パフォーマンスに及ぼす影響—筋硬度と表面筋電図の放電量、筋力発揮持続時間指標として—。修士学位論文

学会発表

- 1) 竹田太郎ら：ツボ刺激を応用した冷え性改善靴下の開発。日本繊維製品消費科学会 2011年年次大会
- 2) 谷口博志ら：鍼刺激による自律神経調節におけるプラセボの関与—瞬時心拍数を指標とした検討—。第31回全日本鍼灸学会近畿支部学術集会
- 3) 佐藤想一郎：遅発性筋痛に対する鍼鎮痛—自律神経を指標とする検討—。第1回サイエンス・インカレ

施設名：微細構造解析室

主任者名：熊本 賢三【所属】解剖学ユニット

共同研究者名：榎原 智美、鈴木 真亜沙、外村 宗達、高橋 茉里衣、小池太郎、大橋 鈴世、城戸 優充、古田 貴寛

施設名：生体構造解析室

主任者名：榎原 智美【所属】解剖学ユニット

共同研究者名：熊本 賢三と上記共同研究者7名

体性感覚受容器の形態と機能の統合的研究

体性感覚が惹起され知覚が誘導されるための皮切りは、一次感覚ニューロンが担っている。このニューロンの形態学的全貌を明らかにするための研究を遂行するため、上記記載の全研究室（および動物飼養保管施設）は連動して機能している。

感覚受容器の形態学的追究

ラット、マウス、ネコを用いて、皮膚および深部受容器の神経要素を免疫組織科学的に染色し、組織全体を立体再構築することにより、感覚受容器の3次元的位置情報を明らかにした上で、形態学的な微細構造を解析する。肉眼的観察（動物処置室）から、一般光学顕微鏡的観察（光学顕微鏡室）に加え、必要に応じて共焦点レーザ顕微鏡、電子顕微鏡的観察（超微細構造解析室）も行い、マクロからミクロへ隙のない一連の形態理解を行うことを目的としている（標本作製；電顕光顕試料作製室）。

感覚受容器の電気生理学的特性の追究

近年、一次感覚ニューロンの電気生理学的特性を同時観察するために、特に三叉神経節において、in vivo または ex vivo 系での単一ニューロンの細胞内電位記録・標識方を樹立すべく研究を進めている（動物生体機能記録室Ⅱ）。

A. ラットの顔面洞毛に関する研究

ラットの顔面部ヒゲには多種多様な皮膚感覚受容器が密に分布している（Ebara ら, JCN, 2002, 他）。さらにヒゲは立毛筋（表情筋）の運動をリンクさせたアクティブタッチの感覚受容機構も注目されている（Kunsten ら, Trends Neurosci, 2009, 他）。しかし、各感覚受容器の生理学的反応特性とその末梢および中枢端の構造の一一致は、古くからの素朴な謎であるが、ヒゲ研究においてすら未だ十分な解明はなされていない。そこで、単一神経細胞記録標識システムと共に焦点レーザ顕微鏡システムを用いて、成熟ラットヒゲの一次感覚神経細胞の生理学的かつ形態学的特性の同時解明を目指している。

技術的に困難を伴う実験・解析を多く含み、目下、古田貴寛（京都大学）、古江秀昌（生理学研究所）、および Ehud Ahissar ら（イスラエルワイツマン研究所）他学とも共同で研究を進めている。

【これまでの実験結果】

1. 麻酔下のラットの三叉神経節を可視下に置き、単一神経記録のための外科的手術を確立（図1）。

2. 神経節細胞体の局在、洞毛神経終末の局在を三次元的にマッピングするために、三叉神経節および洞毛分布皮膚領域の簡易三次元構造データベースを作成（図2, 3）。

3. 微量電気泳動的注入装置を用いてトレーサー

のバルク注入法を用い、形態的データを収拾し、神経節から皮膚神経終末または中枢の神経終末までトレース可能とし、その良好な条件を検討（図4, 5）。

4. 神経終末のうち、輪状静脈洞レベルの槍型終末、メルケル終末、および海綿静脈洞レベルの樹状終末がトレースされ、いずれも洞毛付近から互いに独立した軸索に由来することが証明された（図5）。

5. 4の一部結果を2に導入し、神経終末の3次元位置情報の描写法を検討（図6）。

6. 単一神経細胞標識を in vivo で試行し、手技的困難を見極め、ex vivo 系に切り替えて方法論を確立しつつある。末梢の受容器の直前まで標識ニューロンの観察まで達成している。（図7）

【現状と展望】 受容器特異的な一次感覚ニューロンの立体神経地図作成の基盤を作ることが初段階の達成目標である。難航しているのが実情であるが、次のステップも展望している。in vivo 系確立の再度挑戦、ヒゲ運動を加えてニューロンの機能的識別を付加する、予め蛍光標識されたニューロン（GFP 導入マウスの利用・末梢に蛍光神経トレーサーを注入など想定）を顕微鏡下に捕らえつつ細胞内記録を行う、の3点である。

刺激反応特異的な一次感覚ニューロンの立体神経地図を作る。複数の感覚受容器が錯綜して分布する皮膚感覚機能を考察する上で極めて重要な知見を得ることになると考えられる。

以下、B～F は、上記 A の形態学的観点において同様に実験し、比較解剖学的に追究を進めている。

B. 齧歯類の層板小体に関する研究（図8）

C. マウスの耳介の神経終末に関する研究（図9）

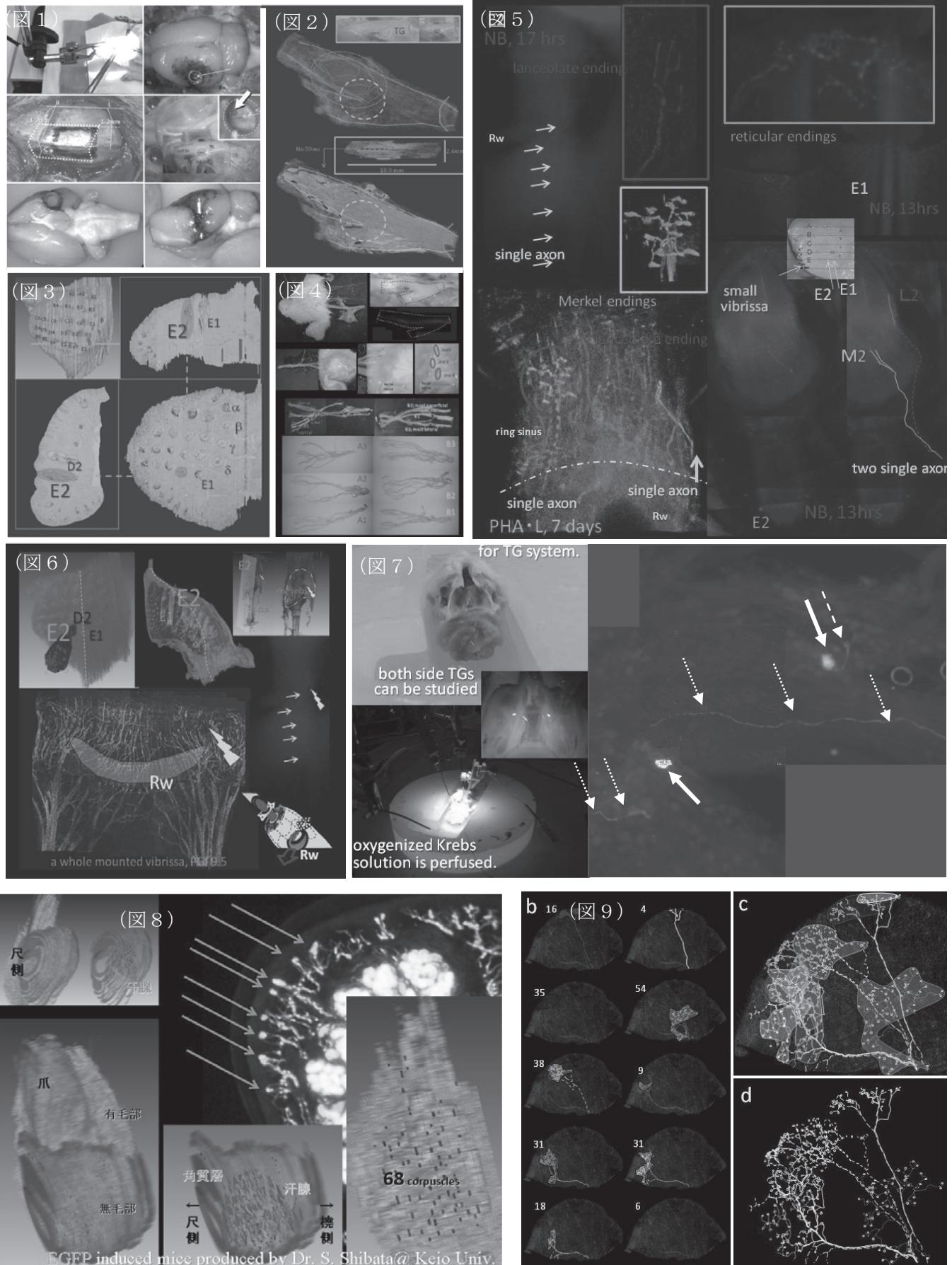
D. ネコの皮膚感覚受容器に関する研究

E. 獣長類の感覚受容器に関する研究

【H23 年度学会発表・論文等】

S Ebara, K Bagdasarian, I Mayer, E Ahissar, T Furuta, J Hachisuka, M Suzuki, K Kumamoto; Visualization of single primary sensory neuron in the skin. J Physiological Sciences, 61, Suppl 1, 2011, s228

S Ebara, M Suzuki, S Tonomura, K Kumamoto; How many hair follicles are innervated by one axon in the mouse auricular skin? – A confocal microscopic analysis of palisade endings in the YFP transgenic mouse – Neuroscience 2011 (Yokohama) P3-k13



施設名：遺伝子関連物質解析室
主任者名：雨貝 孝【所属】免疫・微生物
共同研究者名：糸井マナミ、塚本紀之、

胸腺上皮細胞における Foxn1 発現と機能分子発現

目的：

生体に備わった自然治癒力の中で、際立った強力な反応力を持つ細胞にT細胞がある。我々は、T細胞の產生の場である胸腺の機能の研究を行っている。Foxn1 遺伝子は胸腺上皮細胞に特異的に発現する Forkhead box 型の転写因子をコードする遺伝子であり、胸腺の器官形成に係わるマスター遺伝子である。DNA 結合部位の点突然変異（ヌード変異）により、マウスは胸腺を欠損する（ヌードマウス）ことが明らかにされている。したがって、器官形成期の胸腺では Foxn1 は胸腺上皮細胞の機能分化に必須の遺伝子群の転写調節に関わることが示唆されている。我々は、これまでに Foxn1 の発現は、正常マウス胸腺原基において胎生 11.5 日より始まり、胎生 13 日にはすべての胸腺上皮細胞が Foxn1 を発現するが、器官形成の進行とともに発現が低下し、生後マウス胸腺では一部の上皮細胞にのみ Foxn1 が発現していることを明らかにした。この結果は、Foxn1 が胸腺上皮前駆細胞に発現し、胸腺上皮細胞への機能分化に必須の遺伝子の転写調節に関わることを示唆している。そこで本研究では①Foxn1 遺伝子プロモーターワーク下流で EGFP を発現する Foxn1::EGFP マウスを用い、生後マウスでの Foxn1 発現と機能分子発現との関係の検討および②株化培養細胞に Foxn1 遺伝子を強制発現させることによる機能分子の発現への効果を検討した。

方法：

FACSによる細胞の解析と分取；Foxn1::EGFPマウスの胸腺をコラーゲナーゼとディスパーザー処理により単離し、蛍光4重染色後FACS-Caliburにて胸腺上皮細胞分画を分取した。分取した細胞からRNAを調整しcDNAの合成後、胸腺の機能に係わる遺伝子群の発現を定量的PCRにより検討した。

培養細胞株への遺伝子導入；リン酸カルシウム法でpEF-BOS-Foxn1 と pGK-Neo を導入し、G418(ネオマイシン)を培養液に加えて培養後G418 耐性株を選択し、細胞株でのFoxn1 の発現を蛍光抗体法で確認し、Foxn1 を恒常的に発現する細胞クローンを樹立した。

結果と考察：

Foxn1 の発現と上皮細胞の機能との関連を検討するために、CD45陰性 UEA-1 陰性細胞を皮質上皮細胞、CD45陰性 UEA-1 陽性を髓質上皮細胞とし、それぞれ、EGFP の negative, low, high に分けて分取した細胞群について、これらの皮質および髓質上皮細胞に特異的な機能分子の発現を qPCR により検討した（図 1）。皮質および髓質上皮細胞のいずれにおいても、EGFP の発現量の異なる分画で、

これらの遺伝子発現パターンに違いが見られた。特に、EGFP-negative の皮質上皮細胞分画において、 β 5t や CathepsinL の発現が認められたことから、Foxn1 の発現が低下した皮質上皮細胞においてもこれらの分子発現が維持されることが示唆された。

一方、髓質上皮細胞に関しては、EGFP-high の分画で高い AIRE の発現がみられ、CathepsinS は、EGFP-low の分画で高い分子発現が見られた。これ等の結果から、胸腺上皮細胞の機能分子発現において、髓質上皮細胞においては、高い Foxn1 依存性が認められたが、皮質上皮細胞では、Foxn1 依存性が低い可能性が示唆された。

②次いで、培養細胞においての Foxn1 依存性の転写制御を検討するために恒常的に Foxn1 を発現する Foxn1 導入細胞を Foxn1 発現ベクターと薬剤耐性遺伝子を発現するベクターを co-transfection して樹立した。pEF-BOS-Foxn1 と pGK-Neo を NIH3T3 細胞に導入し、G418 で選択したところ 39 株の G418 耐性株を得た。これらの中で Foxn1 を発現する細胞株が 8 株得られ、そのうち安定的に Foxn1 を発現する細胞株 NIH/Foxn1 を 2 株樹立できた（図 2）。遺伝子導入を行っていない NIH3T3 細胞を対照として NIH/Foxn1 での Notch ligand である Dll-4 やケモカイン CCL25 などの機能分子の発現を定量 PCR により解析したが Foxn1 の恒常的発現により発現誘導あるいは増強が Foxn1 の発現量に依存して顕著に認められる機能分子は認められなかった（図 3）。

そこで、同様の方法で胸腺上皮細胞株 TEC1-4C18 に Foxn1 を導入して解析したところ、Foxn1 強発現により発現誘導あるいは増強が著しく見られる機能分子は認められなかった（図 4）。現在、初培養の胸腺上皮細胞に Foxn1 を導入して細胞株を樹立し機能分子の発現の解析を計画している。

4. 業績

(原 著)

- Polycomb group gene Bmi1 plays a role in the growth of thymic epithelial cells.: Guo Y, Miyazaki M, Itoi M, Satoh R, Iwama A, Amagai T, Kawamoto H, Kanno M. Eur J Immunol. 2011. 41(4):1098-1107.

(総 説)

- 1) 胸腺におけるレギュラトリート細胞の分化と TGF- β : 雨貝 孝、糸井マナミ、2011、臨床免疫・アレルギー科、56(1) : 65-71

Thymic epithelial subpopulations divided by Foxn1 expression levels show different gene expression profiles

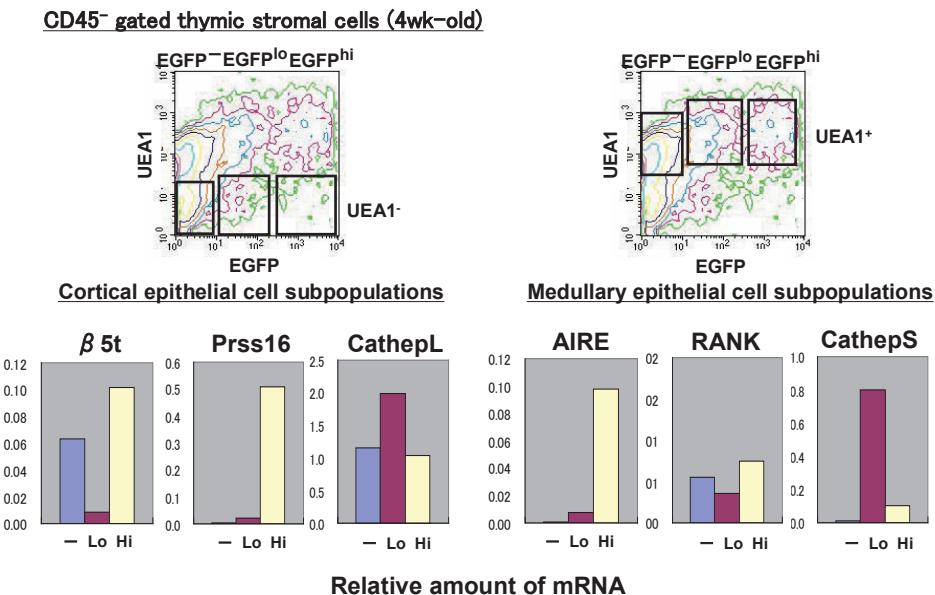


図1 胸腺皮質上皮細胞及び髓質上皮細胞における遺伝子発現

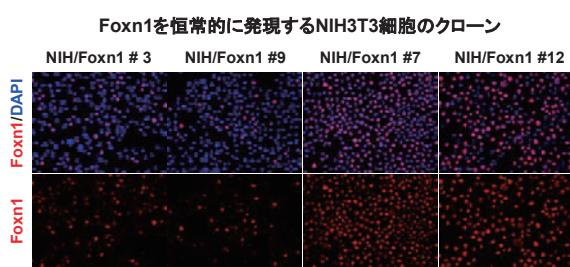


図2. Foxn1導入 NIH3T3 細胞

における Foxn1 の発現

胸腺特異的機能分子発現の
定量PCR解析

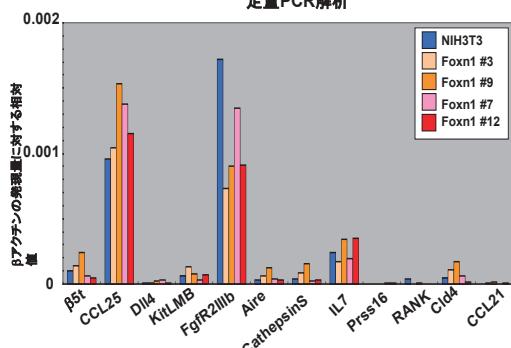


図3. Foxn1導入 NIH3T3 細胞

における機能分子の発現

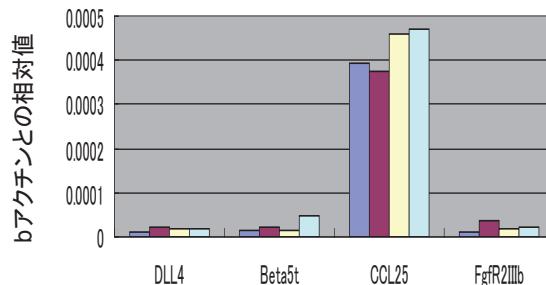


図4. Foxn1導入胸腺上皮細胞

株における機能分子の発現

施設名：生体防御機構解析室

主任者名：糸井マナミ【所属】免疫・微生物
共同研究者名：雨貝孝、塚本紀之

生後マウス胸腺上皮細胞における Foxn1 の役割

1. 研究の目的

一次免疫器官である胸腺はT細胞分化の場であり、生体防御系において中心的な役割を担う。T細胞分化を支持する胸腺微小環境は主に上皮細胞から構築される。我々は胸腺形成に欠損を持つヌードマウスの原因遺伝子である Foxn1 転写因子が胸腺上皮細胞の発生分化初期過程においてその増殖と機能分化に必須の役割を果たすことを示してきた。Foxn1 は、器官形成初期においてほとんど全ての胸腺上皮細胞に発現し、その増殖・分化に必須であるが、器官形成に伴い、Foxn1 陽性上皮細胞は減少し、成獣マウス胸腺においては一部の上皮細胞にのみ発現することを見出した。このことから、成獣マウス胸腺で見られる Foxn1 陽性上皮細胞が、胸腺上皮前駆細胞を含む未分化な上皮細胞を含むことが考えられる。

そこで、本研究では、胸腺上皮前駆細胞の同定を目的とし、①成獣マウス胸腺における増殖性上皮細胞と Foxn1 発現の関連の検討、②Foxn1 陽性の増殖性上皮細胞の胸腺内分布の検討、③Foxn1 陽性上皮細胞の前駆細胞活性の検討を行った。

2. 研究の方法

①成獣胸腺に存在する Foxn1 陽性 Ki67 陽性細胞の解析

Foxn1 プロモーターで EGFP を発現するマウス (Foxn1::EGFP, C57BL/6 遺伝子背景) の胸腺を酵素処理 (collagenase, DNase) により単離細胞とし、EGFP、増殖細胞マーカー (Ki67) と胸腺上皮細胞表面マーカー (EpCAM, Ly51, UEA-1) について蛍光免疫染色し FACS 解析を行った。さらに、単離細胞のサイトスピニン標本を作製し、EGFP、Ki67 と胸腺上皮細胞マーカー (Keratin) について蛍光免疫染色した。

②Foxn1 陽性増殖性上皮細胞の胸腺内分布の解析

成獣 C57BL/6 マウス胸腺について免疫組織学的検討により Foxn1 陽性 Ki67 陽性細胞および BrdU 標識 (250mg/kg, iv., 1 回/日 × 3 日間) による増殖性上皮細胞の分布を検討した。

③Foxn1 陽性上皮細胞の前駆細胞活性の検討

Foxn1::EGFP (H-2b) マウスの胸腺を酵素処理により単離細胞とし、EGFP 陽性細胞を FACScalibur により分取し、BALB/c マウス (H-2d) 胎仔胸腺および胸腺間葉系細胞と共に KSN ヌードマウス (H-2k) 腎被膜下へ移植した。2 週間後に移植片を摘出し、免疫組織学的検討により EGFP 陽性上皮細胞由来細胞の存在と表現型を検討した。

3. 結果と考察

①成獣胸腺に存在する Foxn1 陽性 Ki67 陽性細胞の解析

酵素処理により単離した成獣マウス胸腺ストローマ細胞の FACS 解析の結果より、成獣マウス

胸腺において、EpCAM 陽性 Ki67 陽性の増殖性上皮細胞の 73% が Foxn1 (EGFP) 陽性であることが示された (図 1)。また、Cytospin 標本を用いた検討より、成獣マウス胸腺において 52.5% の上皮細胞が Foxn1 (EGFP) 陽性であり、全上皮細胞中の Ki67 陽性細胞は 3.4% に対して Foxn1 (EGFP) 陽性細胞中の Ki67 陽性細胞は 5.5% であることから、増殖性の上皮細胞は Foxn1 陽性分画に濃縮されることが分かった (図 1B)。これらのことより、成獣マウス胸腺において増殖性の前駆細胞の多くは Foxn1 陽性であることが示された。

また、Foxn1 (EGFP) 陽性 Ki67 陽性細胞の一部は Ly51 陽性または UEA-1 陽性分画にも認められ、成獣マウス胸腺には皮質および髓質上皮前駆細胞が存在することが示唆された。

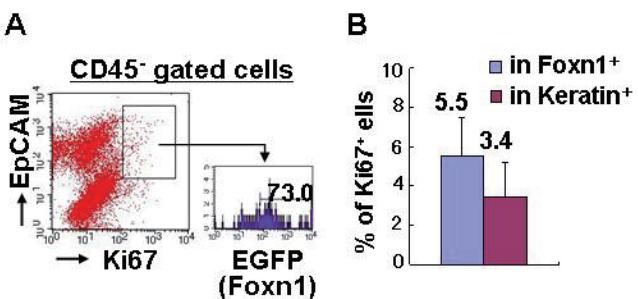


図 1

②Foxn1 陽性増殖性上皮細胞の胸腺内分布の解析

成獣マウス胸腺凍結切片を用いた免疫組織学的検討により生後胸腺において Foxn1 陽性 Ki67 陽性の増殖性上皮細胞は主に髓質領域に見られることが分かった (図 2、矢頭)。

さらに、BrdU 投与による増殖細胞標識法を行い、BrdU 陽性 Foxn1 陽性細胞の分布を BrdU 投与 1 日後および 3 週間後に免疫組織学により検討したところ、標識 1 日後には BrdU 陽性 Foxn1 陽性細胞は成獣マウス胸腺の主に髓質領域に認められた。また、標識 3 週後の胸腺においても少数の BrdU 陽性 Foxn1 陽性細胞が髓質領域に認められ、髓質領域に細胞周期のきわめて遅い上皮細胞が存在することが明らかとなった (図 3、矢頭)。これらのことより、生後マウス胸腺髓質領域には上皮前駆細胞が存在することが示唆された。

③Foxn1 陽性上皮細胞の前駆細胞活性の検討

Foxn1::EGFP マウスの胎仔胸腺を酵素処理により単離細胞とし、セルソーターにより分取した上皮細胞を BALB/c マウス胎仔胸腺および胸腺間葉系細胞と共に KSN ヌードマウス腎被膜下に移植し、2 週間後に移植片について免疫組織学的検討を行ったところ、少数の H-2b 陽性 Keratin5 陽性細胞および H-2b 陽性 Keratin8 陽性細胞を検

出し、単離分取した胸腺上皮細胞が移植片中に検出できることを確認した。現在、移植片中における分取細胞由来細胞を検出できる頻度を上げるために、実験系の改良を行っている。

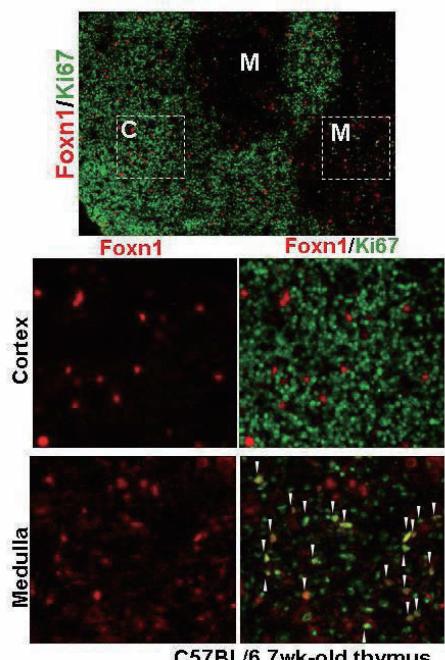


図 2

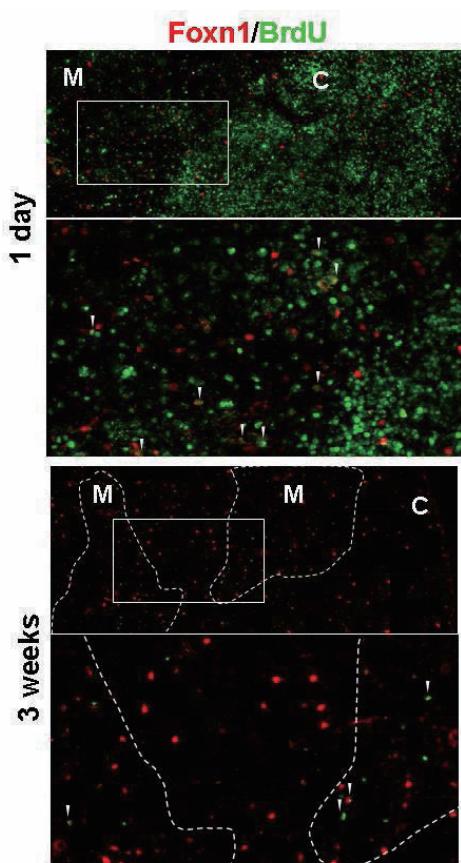


図 3

4. 業績

(原 著)

- 1) Polycomb group gene Bmi1 plays a role in the growth of thymic epithelial cells.: Guo Y, Miyazaki M, Itoi M, Satoh R, Iwama A, Amagai T, Kawamoto H, Kanno M. Eur J Immunol. 2011. 41(4):1098-1107.

(総 説)

- 1) 胸腺におけるレギュラトリート細胞の分化と TGF- β : 雨貝 孝、糸井マナミ、2011、臨床免疫・アレルギー科、56(1) : 65-71

(学会発表)

- 1)糸井マナミ：胸腺皮質および髓質上皮細胞の分化における転写因子 Foxn1 の役割. 第 30 回日本胸腺研究会, 抄録集, 41, 2011.2.5
- 2)Itoi M, Tsukamoto N, Boehm T, Amagai T : Foxn1 is differentially required for cTEC and mTEC function. EUThyme-Rolduc Meeting, Abstract, 103, 2011.5.22
- 3)雨貝孝：老化すると新興感染症に抵抗性が低くなるか？一加齢と獲得免疫：ナイーブ T, B 細胞の供給-. 第 11 回日本抗加齢医学会総会, 抄録集, 353, 2011.5.28
- 4)糸井マナミ, 塚本紀之, 雨貝孝：胸腺皮質上皮細胞分化と機能発現における Foxn1 の役割. Kyoto T Cell Conference 第 21 回学術集会, 抄録集, 33, 2011.6.10
- 5)Takamura S, Kajiwara E, Tsuji-Kawahara S, Chikaishi T, Kato M, Kinoshita S, Itoi M, Sakaguchi N, Miyazawa M : Infection of thymus with murine retrovirus induces virus-specific central tolerance that prevents dynamic differentiation of functional memory CD8+ T cells. 第 40 回日本免疫学会学術集会, 抄録集, 40:170, 2011.11.28
- 6)糸井マナミ、塚本紀之、雨貝孝：胸腺皮質上皮細胞分化と機能発現における Foxn1 の役割. 第 40 回日本免疫学会学術集会, 抄録集, 40:216, 2011.11.29

施設名：生理活性物質分析室

主任者名：林 知也（生理学ユニット）

施設利用研究者名：鳴瀬善久、林 知也、和辻 直、石崎直人、福田文彦、井上基浩、大井優紀、富永 敦、鈴木孝子、尾崎修平、加藤 謙、光信明日香、村上拓矢、西村幸子

ラットを用いた低周波鍼通電によるインスリン抵抗性の改善効果に関する研究

研究者：富永 敦¹、石崎直人¹、鳴瀬善久²、北小路博司¹、山村義治³

所属：¹臨床鍼灸学ユニット、²解剖学ユニット、³内科学ユニット

【目的】

インスリン抵抗性とは、骨格筋等のインスリン標的器官でのインスリンによる糖取り込みが障害されている状態のことを表す。また、インスリン抵抗性は2型糖尿病等の代謝性疾患の成因になる。糖尿病は、全世界の糖尿病有病率(20~79歳)は、2010年で6.4%に達し、2030年では7.7%に達すると予測されている(Diabetes Res Clin Pract 2010 87(1):4-14)。このような現状を鑑みると、糖尿病の予防法及び治療法の基礎的な研究は、非常に重要であると考えられる。鍼通電による血糖低下反応やインスリン抵抗性の改善は、先行研究により報告されているが、鍼通電(EA)による骨格筋細胞の蛋白質やシグナル経路の検討というのは、非常に少ないのが現状である。

本研究では、ラットに高フルクトース飼料(HFD)を摂取させインスリン抵抗性を生じさせる。また、鍼通電(EA)をラットに行った後、インスリン抵抗性改善の詳細な機序を検討するために、骨格筋(EDL)の摘出を行い糖代謝及び脂質代謝に関する蛋白質の調査を行った。

【方法】

動物：雄性 Wistar ラット(4週齢)42匹をランダムにコントロール(通常飼料)群・HFD群・HFD+EA群(最終EAの直前・直後・13h後・48h後)の6群に振り分けた。通常飼料かHFDのどちらかを4週間摂取させ続けた。水は自由摂取とした。

鍼通電：岩ら(Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2006 290 G280-92)を参考に覚醒下で、足三里(ST36)相当部位に刺入し通電を行った(週3回・2/15Hz・1-3mA)。

筋肉の摘出：ペントバルビタール麻酔(45mg/kg)下で長趾伸筋の摘出を行い、液化窒素にて瞬間冷凍を行い、解析時まで-80°Cにて保管した。解析時に、EDLの粉碎を行いHEPES bufferを加え、遠心分離(6500rpm 30min 4°C)を行った。分離した抽出液を取り出し、蛋白質濃度を測定し、Western blottingを行った。

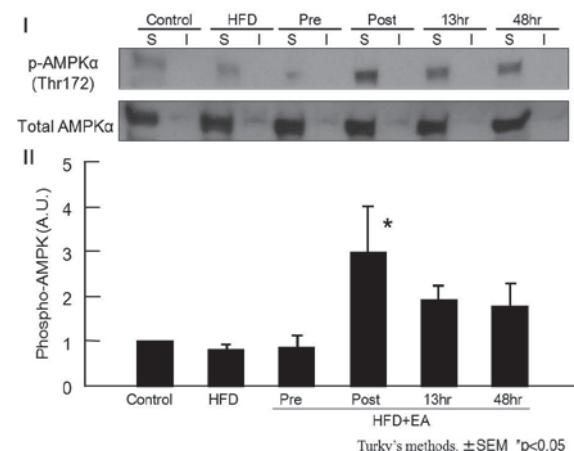
Western blotting：鳴瀬ら(Mol Cell Biol 2004 24 6278-87)を参考に、蛋白質の分離のために10%SDS-gelでの電気泳動を行った。電気泳動後にPVDF膜に蛋白質を移動させ、BSAでブロッキングを行った後に、一次抗体(phospho-AMPKαもしくはAMPKα antibody)で1hのインキュベーション

を行った。洗浄後、二次抗体(anti-rabbit IgG, HRP-linked antibody)で1hインキュベーションを行った。化学発光試薬を添付し、暗室にて検出フィルムに露光させImage Jにてデンシティメーターを定量化した。

一元配置分散分析を行った後、Turkey法にて多重比較を行った。

【結果】

下図は Western blotting の解析の結果を示している。上段に p-AMPKα と Total AMPKα のデンシティメーターを、下段に Image J によって定量化



したグラフを示す。

EA直後がコントロール群と比較して、p-AMPK αが有意に高かった(p<0.05)。

【考察】

AMPKを中心とするシグナル経路の活性は、糖代謝や脂質代謝で重要な役割を果たすことが明らかになっている(Kahn et al. Cell Metab 1 2005 15-25)。また、運動やビグアナイド系薬剤もAMPKを中心とするシグナル経路を活性化させ、糖・脂質代謝改善を行っている。

本研究では、EAを行った筋肉でのAMPK活性が上昇した。この結果は、上記の療法と同様の経路でインスリン抵抗性を改善させたと考えられ、EAによって起こる糖・脂質代謝改善のメカニズムの有力な蛋白質であると考えられる。

しかしながら、EAによる糖代謝改善にはインスリン分泌の増加を伴う報告ある(Ishizaki et al. Metabolism 2009 58 1372-8)。よって、EAによる糖代謝改善のメカニズムを明らかにするために、次回以降の研究では、臍臓や肝臓など局所だけではなく全身への影響を詳しく解析しなければならないと考えた。

運動誘発性酸化ストレスに対する持久トレーニングの影響とその性差

研究者：林 知也¹, 煙山奨也², 中山登穂¹
所属：¹生理学ユニット, ²応用柔道整復学IIユニット

【目的】

一般的に持久トレーニングは、最大酸素摂取量の増加など、エネルギー代謝機能を亢進させ、その一方で抗酸化系能力の増強によって酸化ストレスを軽減させることができている。また酸化ストレスの性差に関して、女性では男性に比し抗酸化能が高いことが示されている。しかし、持久トレーニングによるエネルギー代謝機能亢進と酸化ストレスの軽減に関する性差に関して明らかでない部分が多い。本研究では、男女それぞれに4週間の比較的短期の持久トレーニングを行わせ、その前後で運動誘発性酸化ストレスを生じさせ、酸化ストレスの指標として血漿アルブミンの酸化・還元状態を解析するとともに、エネルギー代謝量、体組成などの測定を行い、それらの関係や性差を調べることを目的とした。

【方法】

対象は週1回程度の運動を行っている健常男性5名（22.4±2.2歳）、および健常女性5名（20.8±2.0歳）とした。まず初めに各被験者において、自転車エルゴメーター（75XL II ME, Combi）と呼吸代謝計（AE300S, ミナト）を用いてramp20法にて最大酸素摂取量（VO_{2max}）を求めた。後日、酸化ストレス誘発のための定常負荷での運動を、呼吸代謝をモニターしながらエルゴメーターを用いて75%VO_{2max}にて20分間行わせた。その際、負荷前後に自己採血を実施し、乳酸測定器（ラクテート・プロ、アークリイ）による乳酸測定と、酸化ストレス測定用の血液を採取した。血液は4°Cにて遠心分離後、血漿を直ちに-80°Cにて保存した。後日、VO₂と二酸化炭素排出量（VCO₂）から安静時代謝量（REE）を求めた。また、体組成計（In Body3.2, Biospace）にて、筋肉量、除脂肪量などを測定した。これら一連の実験の後、持久トレーニングとして、心拍数モニター（RS400, Polar）にて、60% VO_{2max}になるよう心拍数をモニターしながら、1時間エルゴメーターにて運動を行わせた。この運動を週3回、4週間（1ヶ月）に亘って行わせた。トレーニング期間終了後は、VO_{2max}測定、酸化ストレス誘発のための定常負荷運動、REE・体組成測定の一連の実験を行った。酸化ストレスの指標として、血漿アルブミンの酸化・還元状態を、高速液体クロマトグラフィーシステム（Waters）と陰イオンカラム（ES-502N, 昭和電工）を用いて、分離・測定した。得られた各クロマトグラムに対し、カーブフィッティングを行い、各アルブミン分画と濃度を求めた。統計は、Wilcoxon検定、一元配置分散分析、及び多重比較検定を行った。

【結果】

男女各々のトレーニング前後での、筋肉量、脂肪量、除脂肪量、およびREEは、ほぼ同じであり有意な変動は見られなかった。定常運動負荷時の男女の各群内における乳酸値は、負荷直後で安静時の値から著しく増加したが、トレーニング前後

でのそれらの値に有意差は見られなかった。VO_{2max}/除脂肪量は、男性ではトレーニング後に有意に增加了（P<0.05）が、女性ではトレーニング前後でほぼ同じ値であり有意差が認められなかった。血漿内の酸化型グルタチオンなどによって、間接的に酸化された可逆性酸化型アルブミン分画値は、男性ではトレーニング前後とともに、安静時の値に比し、定常運動直後の値が有意に增加了（P<0.05）。またこの値は、トレーニング前に比し、トレーニング後に有意に低下した（P<0.05）。女性ではトレーニング前後ともに、安静時の値に比し、定常運動直後にやや増加する傾向であったが有意差はなく、トレーニングによる有意な変動も認められなかった。

【考察】

本研究において、筋肉量、脂肪量、除脂肪量、REE、および乳酸値が有意に変動しなかったのは、本研究でのトレーニングが、比較的短期の持久トレーニングであったためと考えられた。持久トレーニングによるVO_{2max}の改善の原因は複雑であるが、本研究での男性での有意な増加は循環機能の亢進などが考えられた。

本研究での男性におけるトレーニング前にに対するトレーニング後の可逆性酸化型アルブミン分画値の有意な低下は、生体内の酸化ストレスが持久トレーニングによって抑えられたことを示している。これはエアロビックな持久トレーニングに伴う抗酸化酵素活性の増大によるものと考えられた。また、本研究では、女性はトレーニング前でも酸化ストレスの影響を受けにくく、トレーニング後でも大きな変化は認められなかったことが示された。このことから、女性では、比較的短期の持久トレーニングによる抗酸化能の変動が生じにくいことが示唆された。

【上記以外の研究テーマ、研究者、及び所属】

テーマ：神経選択性サイレンサー結合因子NRSF/RESTの新規結合タンパク質の解析
研究者：鳴瀬善久
所属：解剖学ユニット

テーマ：EGFP-iPS細胞における中胚葉分化制御と細胞移植での寿命への効果
研究者：鳴瀬善久、尾崎修平、加藤謙、光信明日香、村上拓矢、西村幸子
所属：解剖学ユニット

テーマ：円皮鍼が体調に及ぼす効果
研究者：鈴木孝子、和辻直、篠原昭二
所属：伝統鍼灸学ユニット

テーマ：ラットのアキレス腱修復に及ぼす鍼通電刺激の影響
研究者：井上基浩、大井優紀
所属：臨床鍼灸学ユニット

テーマ：慢性ストレス（慢性疲労モデル）に対する鍼灸刺激の影響
研究者：福田文彦
所属：臨床鍼灸学ユニット

施設名：生体分子解析室

主任者名：鳴瀬 善久【所属】解剖学ユニット
共同研究者名：松浦忠夫、森望

神経特異的遺伝子群を制御する転写因子 NRSF/REST の新規結合蛋白質の解析

[研究成果の概要]

神経選択性のサイレンサー結合因子 NRSF/REST（以下 NRSF とする）は、非神経細胞で神経特異的に発現する遺伝子群を抑制し、現在その標的遺伝子は 1000 以上あると考えられている。神経細胞分化における、適切な遺伝子の発現の破綻の多くは神経疾患と結びついており、特にダウン症やハンチントン病で NRSF が関与し、神経に特異的な遺伝子群の発現が十分に起こっていないことが報告されている。

今回、我々は Yeast Two-hybrid 法により mouse Lymphome cDNA library をスクリーニングして NRSF の結合因子を探索し、Ifi203 を新たに得た。この Ifi203 は interferon-inducible protein p200 (Ifi-200 / HIN-200) ファミリーの一つで、免疫組織で免疫細胞の増殖、分化、癌やウイルス感染の抵抗性を与える因子の活性を調節していることが報告されている。Ifi203 は 408 アミノ酸のタンパク質で、マウスでは、Ifi202、Ifi204、Ifi205 が報告されている。Ifi203 との各遺伝子間の相同性は Ifi202 が 31.5%、Ifi204 が 36.9%、Ifi205 が 61.8% で Ifi205 に非常に相同性が高いことが分かった。

我々が見出した新規 Ifi203LF (long-form、以下 Ifi203) は、既知の 408 アミノ酸に 48 アミノ酸が挿入された合計 456 アミノ酸で構成されていた（図 1a）。Ifi203 は、N末端にアポトーシス関連因子が持つPAAD/DAPIN ドメインを持ち、細胞内シグナルに関与されると考えられるpoly-Lysin、poly-Ser が存在し、また、Ifi-200 ファミリーに特徴的なHIN-200 ドメインを持つ（図 1a）。このようにファミリー間で相同性が高いにも関わらず、Ifi203 の機能については未だ解明されていない。そこで、この Ifi203 が NRSF を介してどのような役割を担っているのか機能を探索した。はじめに Ifi203 のどのドメインが NRSF の結合に必要かつ十分であるのか調査した。その結果、Ifi203 の HIN-200 ドメインがあれば NRSF の N 末端と C 末端の転写抑制ドメインに結合することが分かった。次に細胞内での Ifi203 と NRSF の局在を調べるために、NIH3T3 細胞に強制発現させたところ、両蛋白質とも核に局在していることが分かった（図 1b）。

もし、Ifi203 と NRSF が同じ組織の細胞で発現するならば、NRSF の転写抑制機能に影響を与えるだろうと考え、次に Ifi203 mRNA の組織発現レベルを調査した。NRSF はどの組織でも発現しているが、Ifi203 は免疫組織の胸腺や脾臓と肺で発現が高かった（図 2a）。また、Ifi203 は脳の海馬 CA1-CA3 領域の錐体細胞層と歯状回の顆粒細胞層に高い発現が認められ、NRSF と同様に発現が一致

していた（図 2b、図 3）。これらの結果から、免疫系組織や脳の海馬において Ifi203 は NRSF の機能に何らかの役割を果たしている可能性が示唆された。現在、Ifi203-NRSF 複合体の解析と免疫細胞において主要組織適合抗原 MHC クラス II 遺伝子の X2 box を介する転写制御の影響について解析を進めている。

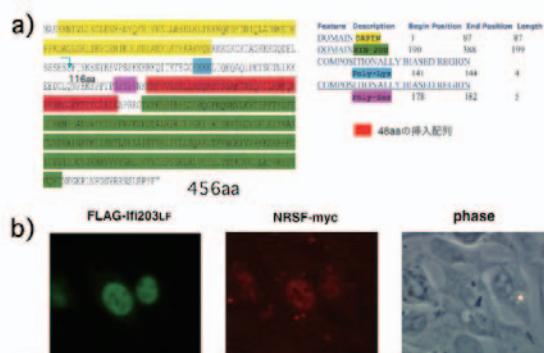


図1. Ifi203蛋白質はNRSFと同様に核に細胞内局在を示す。
a) Ifi203_{LF}: Interferon inducible protein 203 long-formのアミノ酸配列(456aa)を示す。右はIfi203_{LF}アミノ酸配列に対する各ドメイン構造を示す。赤の48aaは挿入配列。
b) Ifi203_{LF}とNRSFの細胞内局在を示す。左: Ifi203_{LF}、中: NRSF、右: 同一視野の位相差像。

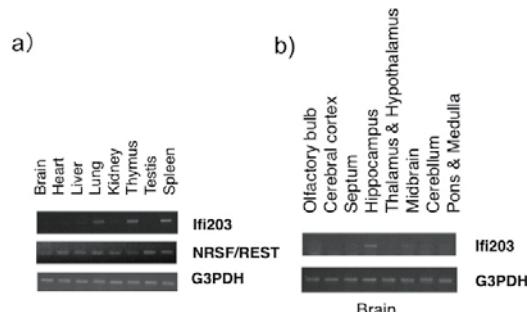


図2. Ifi203 mRNAは免疫系組織や脳の海馬で発現する。
a)マウス各組織のRT-PCR解析。比較対象としてNRSF/RESTの発現を示した。G3PDHは内部標準。
b)マウス脳の各領域のRT-PCR解析。
Ifi203 mRNAの発現は、特に海馬で強い発現が認められた。G3PDHは内部標準。

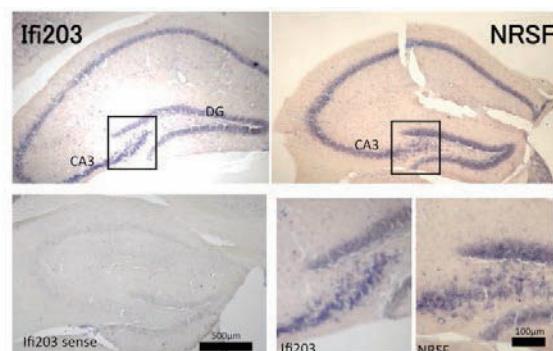


図3. Ifi203 mRNAはNRSF mRNAと同様に脳の海馬の CA1-CA3 領域の錐体細胞層と歯状回の顆粒細胞層に特に高い発現を示す。
Ifi203 と NRSF のプローブを用いた *in situ* hybridization 解析結果を示す。バーは 500 μm と 100 μm 上段は Ifi203 (左) と NRSF (右) に対する anti-sense プローブの結果。
コントロールとして Ifi203 の sense プローブの結果を下段左に示す。下段右は上段四角の拡大。

施設名：高次機能解析室

主任者名：中山登稔【所属】生理学ユニット

共同研究者名：中山登稔林 神内伸晃、林 知也、平澤泰介

新しい治療波形（スーパーイダル）を用いた低周波治療における筋疲労の改善及び疼痛の緩和に関する効果の検討

低周波刺激は、末梢の疼痛部位の神経走行に沿って刺激電極を装着し、低頻度や比較的高頻度の電気刺激によって、術後疼痛、陣痛、慢性痛などの痛みを緩和する治療法である。この方法は操作が簡単で、一定の治療効果があるため、臨床の現場で広く使われている。しかし、その治療効果に対する中枢や末梢の作用機序についてはいまだ解明されていないことが多い。

我々はスーパーイダル波形を用いた低周波刺激の有効性を検討するため、高強度運動負荷で遅発性筋痛を誘発し、低周波刺激が筋疲労の改善及び疼痛の緩和に関する効果を検討した。

健康成人 13 名を被験者とし、インフォームドコンセントを十分に行い、同意書を得た上で実験を行った。被験者を 2 つのグループにランダムに分け、一人の被験者は 2 週間以上を空けて、低周波刺激群(刺激群) と無刺激群(対照群) に参加してもらった。刺激群ではスーパーイダル波形の出力パターンを有する低周波治療 (Polariskine P0-3、ミナト医科学) を用いて 15 分間の刺激を行った。対照群は電気刺激を施行せず、代わりに 15 分間の安静を行った。刺激の強度は、上腕二頭筋および腕橈骨筋が軽度攣縮し、刺激感覚が心地よい程度とした。刺激後、その刺激で引き起こされる感覚の性質を調べた。

唾液アミラーゼ活性、圧痛閾値、周径、VAS、最大随意収縮力、筋電図・心電図の測定は運動前、運動直後、運動 24 時間後、電気刺激直後、運動 48 時間後、運動 72 時間後の各時点で行った。統計処理は統計ソフト SPSS Statistics を用いて、一元配置分散分析、その後 Tukey 法にて統計処理を行った。

結果として、刺激群の上腕二頭筋の圧痛閾値は

対照群に比べ低周波負荷後、運動 48 時間後に各々有意差な増加が見られた。腕橈骨筋において、刺激群の圧痛閾値は対照群に比べ運動 48 時間後、運動 72 時間後に有意な増加が見られた。上腕屈筋群の刺激後の筋疲労感は、刺激群が対照群に比べ減少する傾向にあるが、有意差はなかった。前腕・上腕屈筋群の MVC は、刺激群が対照群に比べ増加する傾向があり、運動 72 時間後に有意差がみられた。刺激と同側の周径は、運動直後に両群ともに刺激前と比較して有意に増加したが、運動 24 時間後にはほぼ回復し、その後の各時点で群間の有意差はなかった。

以上の結果から 15 分間の低周波刺激によって筋疲労感の改善や、刺激部位周囲筋群の圧痛閾値の上昇は、中枢の内因性鎮痛機構の要因によるものではなく、末梢性に由来ものと考えられる。これは低周波負荷された筋群が興奮・収縮を繰り返し、筋ポンプ作用によって、障害された筋組織内のブ拉斯チニン、乳酸、H⁺、Pi などの炎症性物質や疲労物質の筋組織外への代謝が促進されたことが考えられる。このことが時間の経過とともに筋組織内の代謝を徐々に改善し、圧痛閾値の上昇、痛みや筋疲労感の低下を導いたと考える。これは MVC の結果にも反映され、刺激群が対照群に比べ MVC 増加傾向と、運動 72 時間に有意差がみられたことは、疲労感と痛みが改善することにより大きな筋収縮力が得られることを示唆している。また、疲労感と痛みの VAS を比べると、疲労感の強さが全体の感覚を占めている割合は高く、一方の痛み感覚は低いことがわかった。このような感覚の独立評価で、遅発性筋痛における感覚の特徴をより詳しく表現できることが示唆された。

施設名：生体機能解析室 I

主任者名：赤澤淳【所属】保健医療学部
共同研究者名：池内隆治，谷口和彦，岡本武昌

運動単位動態情報を用いた筋骨格系モデルの開発はじめに

歩行障害を呈する高齢者に多い疾患として外反扁平足がある。リハビリテーションにおける治療法としてはテーピングによる足部縦アーチ構造の矯正があるが、歩行障害の程度を定量的に評価するシステムは極めて少ない。我々は足部縦アーチ構造と活動している筋線維群の3次元位置を抽出し、得られた結果を筋骨格モデル（シミュレーションモデル）に適用することにより廃用性委縮の程度と膝関節における負荷を数値化し、リハビリテーション体系の構築と標準化に有用となる歩行障害の程度を評価するシステムを開発する。

我々が開発に取り組んでいるシステムの特色・独創的な点は、一般的な1cm程度の皿電極では確認が困難な筋線維群の時空間的活動情報について、高密度シート状多チャンネル表面筋電図を解析して推定を行う点である。

「表面電極位置調整後に独立成分分析を用いた第1背側骨間筋運動単位計測法の提案」

本研究では、表面電極位置調整後に独立成分分析を用いた第1背側骨間筋運動単位計測法の提案を行うことを目的とした。シミュレーションと実験により以下のようないくつかの結果が得られた。

1) 表面電極の長軸方向（1対の双極電極の方向と直交する方向）に直行する方向と筋線維走行方向との角度を種々変えてシミュレーションを行い、 θ が大きくなるに従いICAの同一の成分に複数の運動単位による信号が出現することを確認した。

2) 4人の被験者を対象として第1背側骨間筋における運動単位の活動を計測した。ここでは、電極位置を調整してから計測を行った。計測したSEMGにICAを適用して、運動単位の活動を抽出し、MUAPトレインとヒストグラムを求めた（図1）。

3) 本研究において、表面電極位置調整後に独立成分分析を用いた第1背側骨間筋運動単位計測法の提案を行い、その手法の有用性を示した。

「肘屈曲動作時におけるマルチチャネル表面筋電図を用いた運動単位活動の計測法」

我々は運動時における運動単位の動態を解析する方法を提案した。すなわち、運動時にマルチチャネル表面筋電図を用いて計測された筋電図を、微小時間で分割し、その範囲内において、独立成分分析を用いてデコンポジションを行う手法である。本手法において、等速度かつ一定負荷における肘関節屈曲運動を対象とし、上腕二頭筋短頭における筋電図を計測し、デコンポジションを行った。その結果、4つの運動単位の計測が可能であった。この結果より、本提案手法により、運動単位活動の計測が可能であることが示唆された。

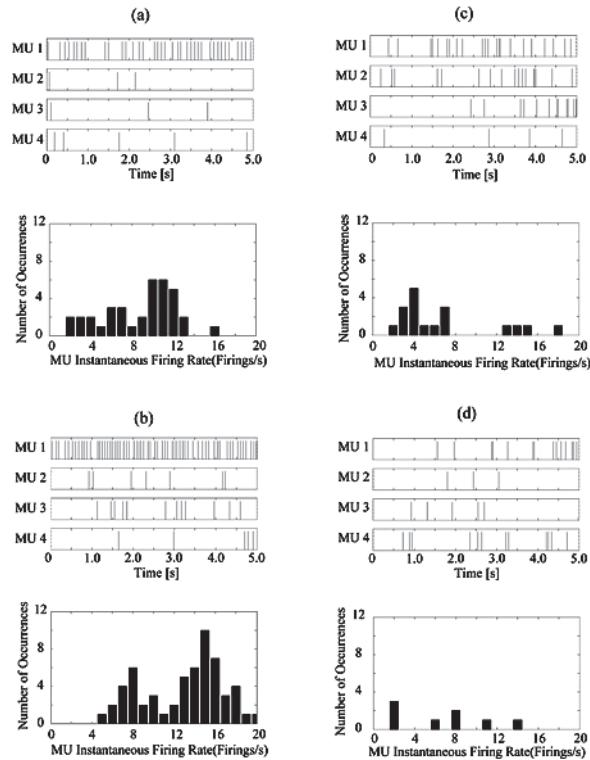


図1. MUAP トレインとヒストグラム

論文等

- 1) 赤澤淳，奥野竜平，池内隆治，岡本武昌：表面電極位置調整後に独立成分分析を用いた第1背側骨間筋運動単位計測法の提案，スポーツ整復療法学研究，12(3)，査読有，pp.163-171,2011.
- 2) 赤澤淳，奥野竜平，池内隆治，岡本武昌：3次元計測および足圧分布からみた足関節内反に及ぼすテーピングの効果，スポーツ整復療法学研究，13(1)，査読有，pp.33-38,2011.
- 3) J. Akazawa, R. Okuno, T. Ikeuchi, T. Okamoto:Constructing a system to evaluate effects of support taping for ankle inversion sprain using 3-D motion and planter pressure. BIOSIGNALS 2011, 査読有, pp.522-525, 2011.

学会発表

- 1) 赤澤淳，奥野竜平：肘屈曲動作時におけるマルチチャネル表面筋電図を用いた運動単位活動の計測法，第32回バイオメカニズム学術講演会 SOBIM 2011，査読無、大阪，pp.77-78, 11月, 2011.
- 2) 赤澤淳，谷口和彦，岡本武昌：運動時の上腕二頭筋短頭における運動単位活動様式に関する検討，第13回スポーツ整復療法学会大会号，査読無、京都，p.113, 11月, 2011.
- 3) 赤澤淳，奥野竜平：3次元位置および足圧分布からみた足関節内反予防用テーピングの効果，第66回日本体力医学会大会抄録集，査読無，山口，p.232, 9月, 2011.

補助金

機関：財団法人JKA，採択課題名：平成23年度 運動単位動態情報を用いた筋骨格系モデルの開発補助事業，研究代表者名：赤澤淳，採択金額：100万円

施設名：生体機能解析室 I

主任者名：赤澤 淳【所属】保健医療学部

共同研究者名：林聖子、岡田薰、川喜田健司

「虚血再灌流で誘発されたしびれ感覚に関する求心性神経の検討」

【目的】虚血再灌流後のしびれ感覚に関する求心性神経を明らかにするため、しびれ感覚が発生している時にその感覚エリアをニューロメーターにて選択的に神経刺激して感覚閾値の変化を調べた結果、 $A\delta$ 線維と $A\beta$ 線維の閾値が上昇しており、しびれ感覚には有髓線維が関与している可能性が明らかとなった。そこで、微小神経電図（マイクロニューログラム）記録を行い、虚血再灌流後の $A\beta$ 線維の活動を詳細に検討した。

【方法】同意の得られた健常成人27名を対象に、非利き手の手関節部の正中神経から微小神経電図を記録した。得られたユニット放電は、受容野へのブラシ、圧迫、熱刺激に対する反応性および受容野の電気刺激による伝導速度により同定した。虚血再灌流後のしびれ感覚を誘発するために、マンシエットで同側上腕部を200 mmHgにて15分間加圧した。またしびれ感覚の強さと持続時間は、VASを用いて連続記録した。

【結果】被験者全員に虚血再灌流により再現性のあるしびれ感覚が約10分間持続して生じた。同定された $A\beta$ 線維27ユニット（平均伝導速度： 4.3 ± 1.5 m/s）は、2ユニットが速順応性（RA）、残りの25ユニットは遅順応性であった（SA）。再灌流後の自発放電のパターンから、タイプA：しびれ感覚に伴った規則的な群発放電がみられる（n=8、図1）、タイプB：強いしびれ感覚はあるが放電がみられない（n=19）の2つに分類できた。タイプ別の伝導速度に違いは認められず、速順応性ユニットでは自発的な群発放電は観察されなかった。他の刺激に対する反応性は、圧刺激に対しては両タイプとも反応するが、ブラシ刺激に対して反応性するユニットの数がタイプBでは少なかった。群発放電の発射としびれ感覚の出現時間には誤差が認められた。

【考察】微小神経電図法によって $A\beta$ 線維SAユニットで虚血再灌流後に群発放電が記録され、その放電は主観的なしびれ感覚の発現に約60秒遅れて現れたことから、虚血再灌流後のしびれ感覚の発現には $A\beta$ 線維の自発的な群発放電以外の可能性も示唆された。本実験では、 $A\beta$ 線維の記録はできておらず、虚血再灌流後のしびれ感覚の基礎となる機序を明らかにする必要である。

「臨床試験におけるシャム鍼の生理活性に関する多面的解析」

【目的】鍼治療群は無治療群や標準治療群よりも効果が高いことが報告されているが、一方では本物の鍼治療群とシャム鍼治療群との間に有意な差が認められず、鍼の臨床効果は強いプラセボ効

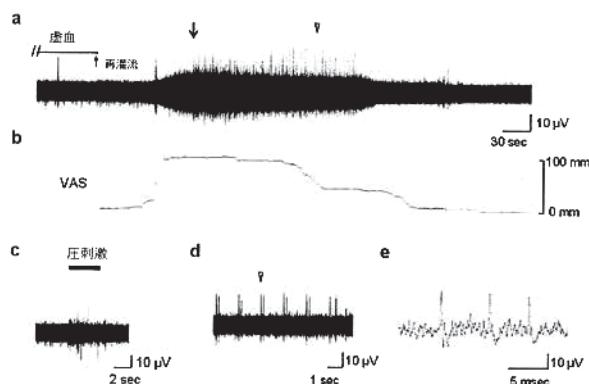


図1 虚血再灌流後の群発放電の一例（タイプA）
a:神経活動、b:しびれ感覚の主観的な強さ、c:圧刺激に対する反応（SAタイプ）、d:群発放電中の記録▼部分の時間軸を延長したもの、e:dをさらに時間軸を延ばしたもの

果に過ぎないとする見解も出ている。そこで本研究では、これまで臨床試験で使われてきた各種のシャム鍼の生理的活性の有無をヒトの微小神経電図法によって末梢受容器の活性について解析する。

【方法】同意の得られた健康成人の総腓骨神経から神経活動を導出した。受容野への自然刺激の反応および伝導速度などを計測して神経を同定したのち、バイオネック鍼と各種シャム鍼に対する反応性を調べた。

【結果】これまで10ユニットの記録ができた。6ユニットは $A\beta$ 線維で、 $A\delta$ 線維とC線維がそれぞれ2ユニット記録できた。 $A\beta$ 、 $A\beta$ 線維のシャム鍼に対する反応は、リアル鍼と同等であったが、C線維ではシャム鍼では反応しないなどや異なる反応が得られた。

【考察】今後、記録する神経の数を増やし、さらに詳細な解析を行う予定である。

学術論文

林聖子、岡田薰、川喜田健司：虚血再灌流で誘発されたしびれ感覚に関する求心性神経の検討。明治国際医療大学誌、5:3-12, 2011.

学会発表

- 1) Kawakita K, Okada K, Carneiro M, Sugawara Y, Aizawa S: Examination of physiological activity of various sham devices used in clinical trials of acupuncture. 44, 2011.11.5.
- 2) Okada K, Kanda H, Kawakita K: TRPV1 receptor mediates flare reaction induced by acupuncture and moxibustion. 5th International Medical Acupuncture Congress of Barcelona, 64, 2011.11.5.

施設名：生体機能解析室Ⅲ

主任者名：石崎直人【所属】臨床鍼灸学ユニット

共同研究者名：矢野 忠、山村義治

鍼通電刺激が糖代謝に及ぼす影響

【目的】

本研究では正常ラットへの鍼通電刺激が血糖値及び血漿インスリン濃度に及ぼす影響を空腹時及び糖負荷の条件下で確認し、さらにグルコースクランプ法によるインスリン感受性についても検討した。さらに同様の検討を自然発症2型糖尿病モデル動物であるGK(Goto-Kakizaki)ラットについても行った。

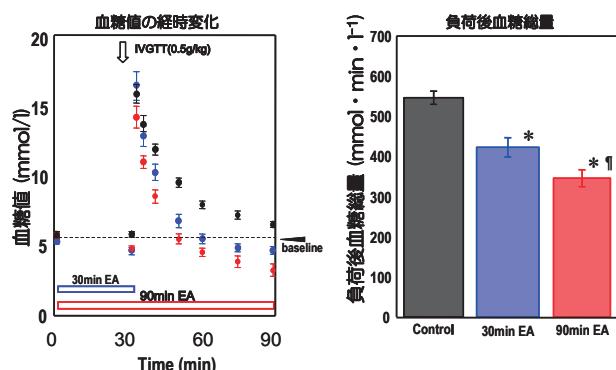
【方法】

- (1) 空腹時および糖負荷時の血糖値及び血漿インスリン値に鍼通電刺激が及ぼす効果(実験1)
- (2) グルコースクランプ法によるインスリン感受性の測定(実験2)
- (3) 鍼通電刺激

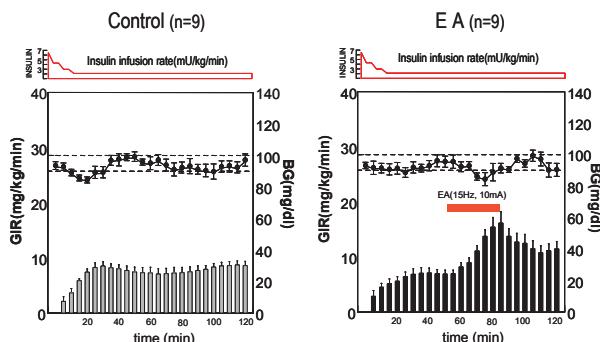
【結果】

正常ラットの空腹時血糖値及びインスリン値に及ぼす腹部への鍼通電刺激効果では、無刺激コントロール群(control, n=8)、30分鍼通電刺激群(30min EA, n=8)、90分鍼通電刺激群(90min EA, n=8)の3群間で、刺激前の血糖値及びインスリン値はほぼ同等であった。通電刺激を行った2群では血糖値は有意に低下し、インスリン値は上昇した。

下記の図：糖負荷直後の血糖値は3群で差異を認めなかつたが、その後の降下は、鍼通電刺激の2群で明らかに早く、曲線下面積(図右)に有意差を認めた。一方糖負荷中のインスリン分泌総量は3群間でほぼ同等であった。



右上段の図：インスリン注入開始とともに血糖値が降下はじめ、それに合わせてグルコースを注入した。無刺激状態(n=9)ではグルコース注入率(GIR)は安定して推移した(図左)。一方腹部への鍼通電刺激を行った場合は顕著にグルコース注入率が増加した(図右)。また、グルコースクランプ中のインスリン濃度は通電刺激後に増加していたが、グルコース注入率(mg/kg/min)を血漿インスリン値(μ U/ml)で除したインスリン感受性の指標はインスリン注入開始後80分の時点で通電群で有意に高かつた(P=0.041)。



2型糖尿病自然発症ラットであるGKラットを用いて空腹時の血糖値及び血漿インスリン値に及ぼす鍼通電刺激効果を検討した結果を示した。空腹時血糖値および血漿インスリン濃度は正常のWistarラットに比べてGKラットで顕著に高くインスリン抵抗性を示していた。30分間の鍼通電刺激後にはGKラットの血糖値は有意に降下し、血漿インスリン値は上昇した。

【考察】

正常および糖尿病自然発症モデル動物のいずれにおいても腹部への鍼通電刺激は空腹時血糖値を降下させ、血漿インスリン濃度を増加させた。以上の結果および過去の報告から腹部への鍼通電刺激が血糖降下作用を有することは明らかであり、その効果の一部にはインスリン分泌促進が関与している可能性が高いと考えられる。このインスリン分泌増強作用は、正常ラットのみならず、インスリン抵抗性を有し空腹時に高インスリン血症を認めたGKラットにおいても観察された。このことは鍼通電刺激が、高血糖に反応して増強されるインスリン分泌能をさらに高める可能性を示唆するものである。一方糖負荷後の血糖値は腹部鍼通電を行った群で明らかに早く降下したが、インスリン分泌には影響を与えていなかった。このことから糖負荷の下では鍼通電刺激の血糖降下作用は主にインスリン感受性増強によると考えられる。このことはグルコースクランプ中のグルコース注入率が鍼刺激中に顕著に増加したことによっても示されている。今回用いた鍼通電刺激強度は比較的強く、腹部を中心とした筋収縮も惹起されることから、持続的な筋運動がAMPKを介して骨格筋におけるGLUT4のtranslocationを促進した可能性も考えられる。鍼通電刺激が糖代謝に及ぼす効果に骨格筋がどの程度関与しているかについては今後の課題である。

本研究は、生体機能解析室Ⅲ、生理活性物質解析室を使用して実施した。

本研究室での他の主要な研究テーマ

- ・中脳水道周囲灰白質および視床腹側基底核群ニューロンの円皮鍼刺激に対する反応性の検討
- ・拘束ストレス下ラットにおける酸化ストレスと胃運動に与える鍼の効果
- ・急性炎症モデルラットに対する鍼鎮痛の効果

施設名：生体反応解析室 II

主任者名：谷口博志 【所属】基礎鍼灸学教室

共同研究者名：小笠原千絵、吉元授、今井賢治、早野大孝、日野こころ、新原寿志、角谷英治

ラット胃運動を指標とした鍼灸刺激の効果の検討

生体反応解析室 II では、今年度ラット胃排出能を指標とし 2 つの研究を行った。

4 月から 8 月までは、「Effects of moxibustion on restraint stress-induced delayed gastric emptying in rats.」というテーマの研究を行った。鍼灸医学は古くから消化器疾患の異常に対して治療しており一定の効果を示してきたものの、鍼灸医学は潰瘍等の器質的な疾患に対する有効性は弱く、投薬や外科的処置が主な治療方法として受け入れられているのが現状である。しかしながら、近年ではストレス社会ということもあり、ストレスがトリガーとなり誘発する機能的な症状が多くあり、投薬では治癒に至っていないのも実情である。ストレスで誘発される消化器疾患としては機能性胃症候群 (functional dyspepsia: FD) や過敏性腸症候群 (irritable bowel syndrome: IBS) が挙げられる。これらの疾患に対しても決定的な治療方法が確立していない。

このような背景のなか、Medical college of Wisconsin の Prof. Takahashi と我々はストレスにより胃運動が障害され、FD 様の症状が出現することをラットおよびイヌで確認した。また、ストレスにより障害された胃運動が足三里穴 (ST-36) への鍼通電により有意に改善することも明らかにしてきた。その機序として、足三里穴への鍼通電刺激が体性神経を興奮させ、その情報が脊髄を上行し、延髄の孤束核に達し、延髄の迷走神経背側核を興奮させ、胃運動を改善することを見出した。しかしながら、鍼通電刺激は鍼灸師や医師といった施術者がいなければ治療をうけることができず、現行の医療制度のなかでは定期的に鍼治療を受け続けることは難しい。そこで今回、誰もが安価で容易に購入でき自ら施術ができる間接灸 (円筒灸) に注目し、足三里への間接灸刺激が鍼通電刺激と同様の効果を引き出せるかどうかについて、ラットを用いて検討した。その結果、ストレスで誘発された胃運動の障害を足三里への間接灸刺激で改善することができることを確認できた。また、鍼通電刺激は空腹期の胃運動に対しては内因性オピオイドを介して影響を及ぼすことが報告されている。本実験で得られた反応に対しても同様の可能性があることから、ナロキソンの投与により検討した。その結果、間接灸刺激による胃運動の改善には内因性オピオイドが関与しないことが明らかとなり、間接灸刺激はオピオイドを介さない体性—自律神経反射により胃運動を改善することが示唆された。本研究では、鍼通電刺激と間接灸刺激が同様の機序で作用するということに関して根拠として少ないが、現象からみると可能性は充分示唆することができる。さらなる研究により、間接灸刺激が患者の

セルフメディケーションとして有用であることを証明することができ、社会福祉に貢献できるものと考えられる。なお、本研究内容は 2012 年 5 月 19 日から 22 日開催される、アメリカ消化器病学会等の 4 学会主催である Digestive Disease Week 2012 (DDW, San Diego, CA, USA) でのポスター発表が決定している。

9 月から 3 月にかけては、「覚醒下ラット胃排出能に対する連続鍼通電刺激の影響—ムスカリン受容体における Bethanechol の反応性に関する検討—」という研究テーマを行った。鍼灸治療は単回の治療により効果を奏する時もあるが、多くの場合は複数回の治療で有効性を示す。しかしながら、鍼灸医学の基礎研究の多くは反射的作用を証明しているのみで、持続的な効果を示すことができていない。また、鍼灸治療を定期的に受けることで基礎疾患に対する投薬の効果を安定させると経験的に言われているが、これに関してもその根拠に乏しい。そこで今回、作用機序として確立しているラットを用いた足三里への鍼通電刺激による胃排出能調節を指標とし、4 日間毎日鍼通電刺激を行うことによる薬剤効果に対する影響を確認した。使用した薬剤はムスカリン受容体アゴニストである Bethanechol である。その結果、Bethanechol 投与のみで胃排出能は促進し、4 日間毎日鍼通電刺激を行うことにより Bethanechol の促進反応を更に亢進させた。足三里穴への鍼通電刺激が前述の様に、延髄を介して副交感神経を興奮させ、その神経末端よりアセチルコリンを放出されることにより胃運動を亢進させる。今回の結果は、繰り返しの足三里への鍼通電刺激がその都度、体性—自律神経反射により副交感神経を興奮させ、アセチルコリンを放出し、胃平滑筋上のムスカリン受容体に何らかの影響を及ぼし、薬剤の効果を増加させたと示唆するものである。データ数や最適鍼通電条件、実際の臨床に即した薬剤の選択など様々な問題がありさらなる研究を必要とするが、繰り返し鍼治療を受ける意義および有効性を断片的に証明できたと考えられる。薬剤の効果を鍼灸治療が亢進させることができる可能性があることから、統合医療として鍼灸医学を取り入れる有用性の 1 つを証明することができたものと考えている。なお、本研究は 2012 年 6 月 8 日から 10 日に開催される、第 61 回(社)全日本鍼灸学会学術集会 (三重、日本) での学生ポスター発表が決定している。

施設名：動物行動解析分析室

主任者名：福田文彦【所属】臨床鍼灸学ユニット

共同研究者名：大西規之、石崎直人

鍼通電刺激による抗うつ効果の検討

【目的】

本研究では、正常ラットを用いて鍼通電刺激(EA)の抗うつ効果について強制水泳試験法(FST)、オープンフィールドテスト(OFT)による行動評価及び脳内モノアミン量を指標に検討した。

【方法】

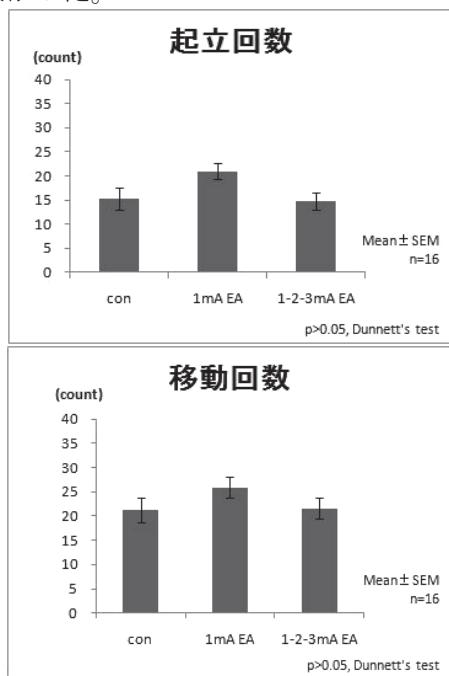
実験動物は雄性 Wistar 系ラットを使用した。動物は、対照(con)群(n=16)、1mA 鍼通電刺激(1mA EA)群(n=16)、1-2-3mA 鍼通電刺激(1-2-3mA EA)群(n=16)に群分けした。

動物は1週間の環境馴化を行った後、FSTによる15分間の水泳負荷、その後24時間後にEAの介入及びOFT、FSTを行った。FST終了15分後に脳を摘出し、腹側被蓋野/黒質(V/S)及び背側縫線核(DRN)の脳組織を採取した。

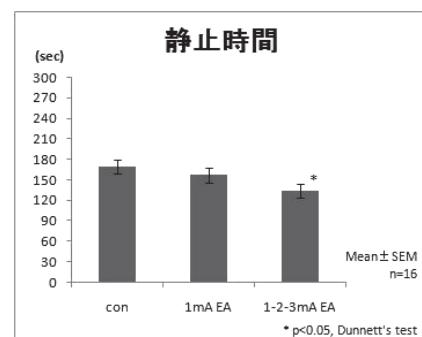
各行動評価はデジタルカメラ、組織は電気化学検出器付高速液体クロマトグラフィー法にて定量した。

【結果】

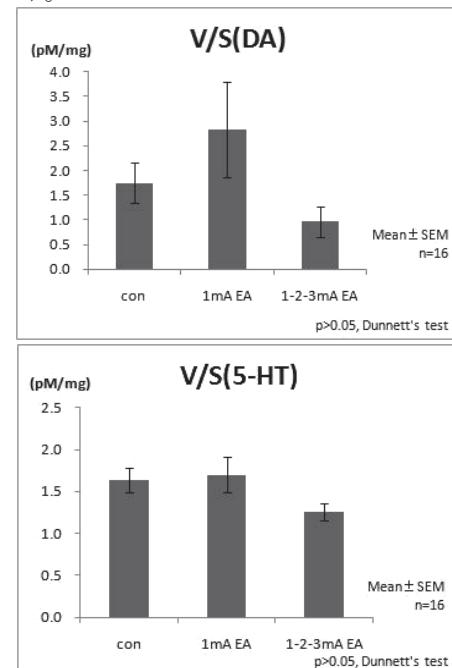
OFT の起立回数及び移動回数は有意な差が認められなかった。



FST の静止時間は con 群 : 169±10 秒、1mA EA 群 : 156±11 秒、1-2-3mA EA 群 : 133±10 秒で 1-2-3mA EA 群が有意に減少した($p<0.05$)。



V/S のドバミン(DA)量、セロトニン(5-HT)量及びDRNのDA量は有意な差が認められなかった。しかし、DRNの5-HT量はcon群: 0.86±0.09pM/mg、1mA EA群: 0.85±0.10pM/mg、1-2-3mA EA群: 2.05±0.15pM/mg と 1-2-3mA EA群が有意に増加した($p<0.01$)。



【考察・結語】

行動薬理学実験において、抗うつ薬はFSTの静止時間は減少するが、OFTの起立・移動回数は変化しないことが報告されている。本研究より、1-2-3mA EAは抗うつ薬と同様の変化が認められたことから、1-2-3mA EAには抗うつ効果があることが示唆された。また、DRNのセロトニン量が増加したことから、1-2-3mA EAの抗うつ効果にはDRNからセロトニン神経系が関与していることが示唆された。

本研究は、動物行動解析分析室、生理活性物質分析室で実施した。

施設名：診断情報解析室（6号館）**主任者名：篠原昭二【所属】伝統鍼灸学教室****共同研究者名：**篠原昭二、和辻直、渡邊勝之、斎藤宗則、関真亮、木村啓作、横西望、他
院生：鈴木孝子、宮原正人、蛭田耕資、谷田保啓、黄晶媛、井手亮、高橋信博、西田秀明、他

東洋医学診断情報解析室で行われている研究は幾つかある。教員研究が2題、修士課程研究が7題、卒業論文の研究12題、その他などがある。その中で代表的な研究2題を紹介する。

東洋医学診断情報解析室の研究紹介1**[研究者]** 鈴木孝子、和辻直、篠原昭二**[研究題名]** 円皮鍼が体調に及ぼす効果
全日本鍼灸学会、学術大会三重大会、(2012年6月に発表予定)。

[目的] 最近、「未病」が注目され、病気を発症する前に予防することが重視されている。我々は既に学生の体調を調査し、多くの愁訴を持つことを報告した。そこで、簡便に使用できる円皮鍼をセルフケアとして対象者に貼付してもらい、体調に変化が現れるかを調査した。

[方法] 対象は事前にアンケート調査を行い、本調査に同意を得た男子学生19名とした。対象は乱数表を用いて円皮鍼群と対照群に群分けした。

調査票と問診、舌診、脈診から病証の判断を行った。円皮鍼群の対象には貼付部位や使用方法を説明した後に、円皮鍼を2穴（左右4か所）に自ら貼付してもらった。

円皮鍼群は円皮鍼貼付前を無治療時とし、その後3週間は鍼期間で3日間連続貼付後に1日休みを反復させた。対照群は円皮鍼貼付前を無治療時とし、その後3週間は無介入とした。

調査票は、健康状態調査票、東洋医学健康調査票（以下OHQ57）、POMSを用いた。また客観的測定として舌撮影、指尖加速度脈波、血圧を測定した。なお統計解析は変化量（3週間後の値-無治療時の値）を求め、対応のないt検定を行った。

[結果] 病証判断の結果は、円皮鍼群が気虚陽虛7名、陰虚1名、対照群が気虚陽虛7名、陰虚1名、気滞血瘀1名であった。2名は辞退した。

健康状態調査票では、心の疲れ（VAS）の変化量において2群間に有意な差を認め、円皮鍼群は対照群に比べ3週間後の値が有意に減少していた（ $P<0.05$ ）。OHQ57の気虚点数に差は認めなかったが、肺の項目やPOMSの緊張・不安項目で2群の変化量に差を認める傾向にあり、3週間後に円皮鍼群の点数が減少していた。

[考察および結語] 最近、鍼灸診療は代替医療や予防医学として注目を集め、ストレスに対するリラクゼーション効果があるとされている。瀬尾らの研究では円皮鍼が気分に影響を及ぼす傾向にあるとしている。本研究でも、円皮鍼群における心の疲れの変化量が、3週間後に対照群に比べて有意に減少し、肺の項目やPOMSの緊張・不安の項目では2群に差を認める傾向にあった。こ

のことから、軽度な刺激の円皮鍼を貼付することで、心の疲れ、緊張や不安といった精神面に効果があり、体調にも変化を及ぼすことが示唆された。

東洋医学診断情報解析室の研究紹介2**[研究者]** 黄晶媛、篠原昭二**[研究題名]** カフェインの摂取が鍼治療の効果に及ぼす影響について、学術大会三重大会、(2012年6月に発表予定)。

[目的] 鍼の鎮痛効果では、オピオイド系にルート以外にアデノシンによる別の鎮痛ルートがあると報告されている。アデノシン受容体による鎮痛メカニズムは動物実験では証明されているが、まだ、臨床研究では報告されていない。本研究では、慢性腰痛を有する被験者を対象にして、アデノシン受容体の遮断剤としてカフェインを投与し鍼治療を行い、アデノシン受容体による鍼の鎮痛効果を検討した。

[方法] 対象は慢性腰痛を有する本学学生で、同意を得られた20名（男性15名、女性5名）とした。被験者はランダムにより、カフェイン投与群と偽カフェイン投与群に分けた。実験は自覚的痛みが腰部であることを前提とし、両腎俞-大腸俞間の鍼通電刺激を行った。測定はアミラーゼ数値、筋硬度、血圧、VASを測定し、刺激前後の変化を検討した。また、2群間の鎮痛の持続効果をみるため、実験後再び痛みを自覚する時間を測定した。評価は週に1回、2週間で計2回行い実験結果の平均値を算出した。

[結果] 2群間（各10例）の血圧、VAS、筋硬度測定では、偽カフェイン群の血圧 127.2 ± 9.4 、VAS 24.4 ± 6.7 、筋硬度 24.3 ± 5 、カフェイン群の血圧 131.1 ± 14.9 、VAS 41.6 ± 10.4 、筋硬度 29.9 ± 5.9 で有意差（ $p<0.05$ ）を認められた。また、治療後の持続効果については、痛みの再発時間の測定による比較では、群間に有意な差がみられた。なお、唾液アミラーゼ測定、血圧測定においては一定の傾向を示した。

[考察および結語] 本研究の結果において、偽カフェイン投与群で筋硬度の低下、痛みに対するVAS低下がみられ、カフェインの摂取が鍼の鎮痛効果を抑制する可能性が示唆された。鍼の鎮痛効果に関してはさまざまなファクターが関与しているが、カフェインはアデノシン受容体の活動を抑制するので、その機序としてアデノシン受容体による鍼の鎮痛効果に影響を及ぼしたのではないかと考えられた。今後、鍼治療が鎮痛に対する有用な治療法になるためには、鍼灸臨床で根拠のある基礎生理的な鎮痛メカニズムを積極的に用いることが必要であると考えられる。

研究テーマ一覧

教員研究

- 1) 和辻 直、横西 望、斎藤宗則、篠原昭二；血瘀証の症例に対する鍼治療の効果、日本東洋医学会（2012年6月発表予定），厚労省科学研究
- 2) 関 真亮、篠原昭二；中周波 Silver Spike Point 療法が疼痛閾値に及ぼす影響、受託研究

院生研究（修士課程研究）

- 1) 鈴木孝子、和辻 直、篠原昭二；円皮鍼が体調に及ぼす効果
- 2) 黄 晶媛、篠原昭二；カフェインの摂取が鍼治療の効果に及ぼす影響について
- 3) 宮原正人、木村啓作、片山憲史；運動前のアイシングが運動パフォーマンスに及ぼす影響-筋硬度と表面筋電図の放電量、筋力発揮持続時間を指標として
- 3) 蛭田耕資、和辻 直、篠原昭二；触診における硬さ弁別能力の検討
- 4) 谷田保啓、斎藤宗則：『鍼灸要法』の鍼灸各家学説について- 学問的淵源の考察-
- 5) 高橋信博、篠原昭二；異常経絡上の経穴を用いた鎮痛効果について- DOMS モデルでの検討-
- 6) 西田秀明、篠原昭二；前脛骨筋の DOMS 作成に伴う局所及び末梢の経穴反応の変化と各種刺激効果に関する研究
- 7) 井手 亮、渡邊勝之；強力反応点の電気的特性の検討

卒業論文における研究

- 1) 石割 讓、篠原昭二；鍼灸における四肢末端刺激と局所刺激による筋のストレッチ効果について
- 2) 富 智孝、篠原昭二；上腕二頭筋の遅発性筋痛 (Delayed Onset Muscle Soreness)に対する鎮痛効果の検討
- 3) 力石直彦、和辻 直；鍼治療の前後における東洋医学所見の変化 - 主に舌色と舌測色について-
- 4) 砂生悠江、和辻 直；鍼治療の前後における東洋医学所見の変化 - 主に脈診所見について-
- 5) 戸苅卓爾、和辻 直；鍼治療の前後における東洋医学所見の変化 - 主に東洋医学的健康調査票・健康状態調査票について-
- 6) 川上雄大、和辻 直；鍼治療の前後における脈所見と血圧の変化について
- 7) 内藤玄吾、和辻 直；血瘀証に対する鍼治療について- 主に舌所見と客観的測定との関係について-
- 8) 安達茉耶、和辻 直；血瘀証に対する鍼治療について - 主に健康調査票と瘀血スコアについて-
- 9) 早水丈二、渡邊勝之；痛みとシビレに対する客観的評価の検討 - PainVision と Neurometere との比較-
- 10) 中山ひかり、斎藤宗則：『黄帝内經』における経絡の診察と治療について
- 11) 高田 晓、斎藤宗則：東洋医学補助教材の開発 第二報 ~「東医基礎 TV」の内容追加~
- 12) 平本章悟、斎藤宗則：『黄帝内經』における

疾病・病因の概念

その他

- 1) 和辻 直、力石直彦、砂生悠江、川上雄大、戸苅卓爾、安達茉耶、内藤玄吾：伝統鍼灸学の卒論勉強会
- 2) 斎藤宗則、谷田保啓、中山ひかり、高田 晓、平本章悟：『内經選讀』の輪読
- 3) 篠原昭二：伝統鍼灸学分野 伝統鍼灸学演習（通信制大学院課程）
- 4) 篠原昭二：伝統鍼灸学分野 特別研究（通信制大学院課程）
- 5) 和辻 直：伝統鍼灸学分野 伝統鍼灸学演習（通信制大学院課程）
- 6) 和辻 直：伝統鍼灸学分野 特別研究（通信制大学院課程）
- 7) 斎藤宗則：明治国際医療大学実習 I；背部俞穴の診断的意義に関する検討，（明治東洋医学院専門学校）
- 8) 和辻 直：明治国際医療大学実習 I；背部俞穴の診断的意義に関する検討，（明治東洋医学院専門学校）

施設名：運動機能解析室（8号館）

主任者名：林 知也（生理学ユニット）

施設利用研究者名：林 知也（生理），池内隆治（基礎柔整I），川村 茂（基礎柔整I），角谷和幸（基礎柔整I），谷口和彦（基礎柔整），神内伸晃（基礎柔整），岡本武昌（臨床柔整II），行田直人（臨床柔整II），泉 晶子（臨床柔整II），中川貴雄（応用柔整I），中川達雄（応用柔整I），長尾淳彦（応用柔整II），煙山獎也（応用柔整II），丸山顕嘉（応用柔整II），鶴 浩幸（臨床鍼灸）

Delayed onset muscle sorenessに対するVASとUS画像を用いた回復過程の観察

研究者：角谷和幸¹，川村 茂¹，池内隆治¹，丸山顕嘉²，鶴 浩幸³

所属：¹基礎柔道整復学Iユニット，²応用柔道整復学IIユニット，³臨床鍼灸学ユニット

【背景および目的】

われわれは各種物理刺激が DOMS の回復過程に及ぼす影響について、VAS (visual analogue scale) を主に検討を重ねている。その中で SSP (Silver Spike Point) 刺激は DOMS の痛みを抑制する傾向がみられた。

また、超音波画像診断装置を用いて、運動負荷により筋の超音波画像に変化が見られることが報告されている。

無負荷における健常状態の観察をも含め、DOMS の自覚症状の経時的变化を VAS で評価すると同時に、非侵襲的に筋の性状を知ることが可能な超音波画像診断装置より得られた輝度の経時的变化との関連性を検討することを目的とする。

【方法】

1. 対象：健康男性
2. 部位：非利き手側の上腕屈筋群
3. 装置：MYORET RZ-450
4. 条件：
 - 1) 肘関節 最大屈曲力測定
 - 2) 肘関節 最大屈曲力を測定し、そのパワーに応じた負荷で遠心性運動を行わせる。
 - 3) 可動域 屈曲 20 度～120 度
 - 4) 角速度 60 度/sec
 - 5) 運動負荷 10 回×3 セット、インターバル 30sec
 5. 実験区分
 - 1) 対照群：定常状態で日常生活
 - 2) DOMS 群：負荷をかけてDOMSを作成

【結果】

1) VAS の変化（図1）

対照群は0のままで推移し、DOMS群は定形的な変化を示した。

2) 超音波画像の輝度の変化（図2）

超音波画像の輝度は、対照群は一定の値を示すのみで変化は見られなかった。DOMS群は3日目から上昇し、5日目にピークを示した。

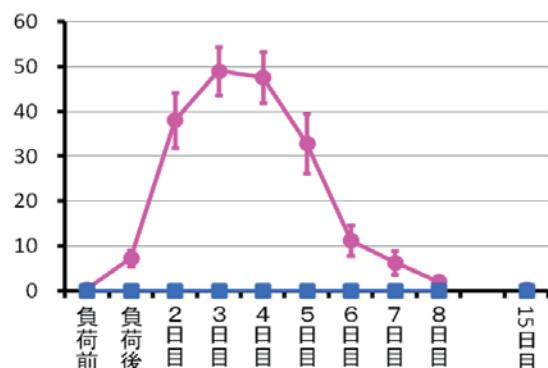


図1. VASの変化

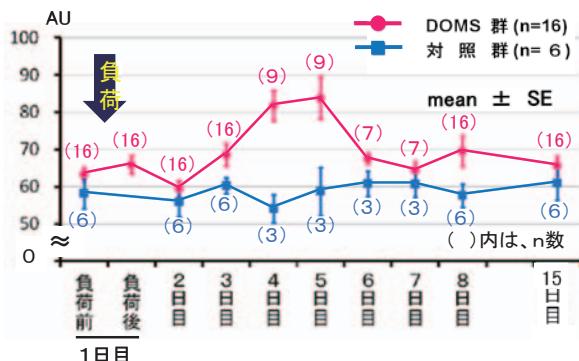


図2. 超音波画像の輝度の変化

【考察】

以上の結果から、VAS すなわち DOMS の痛みは3日目にピークに達し US 画像による輝度は5日目にピーク値を示した。超音波画像の輝度の上昇は、本来超音波の性質上、組織の硬度に由来することが考えられる。したがって、DOMS における痛みのピークと筋硬度の変化にはタイムラグが存在することが考えられた。

テーマ：ランニング時における段階的着圧スパッツ着用が身体へ及ぼす影響

研究者：神内 伸晃 谷口 和彦

所属：基礎柔道整復学ユニット

【目的】

近年、スポーツ用のアンダーウェアとしてスパッツにテーピング機能を持たせた段階的着圧スパッツ(以下、スパッツ)がある。

本研究では、走行時の身体の左右動作への影響に着目し、3軸加速度センサと心拍から検討を行った。

【方法】

対象は健常な成人男性 5 名(22 ± 2.2 歳), 身長 170 ± 1.8 cm, 体重 63 ± 3.6 kg であった。対象者には研究の目的と内容を説明し, 同意を得てから実験を行った。スパッツは CW-X STABILYX(ワコール社製)を使用した。群分けは, スパッツを着用し走行した群(以下, 着用群)とスパッツを無着用で走行した群(以下, 無着用群)とし, クロスオーバーデザイン法を用いて行った。

測定項目は 3 軸加速度センサと心拍数とした

実験プロトコールは 1 分間のウォーミングアップ(4 km/h の歩行)後, 5 分間の走行(12 km/h)を行い, 走行後 1 分間のクールダウン(4 km/h の歩行)で終了とした。3 軸加速度センサの計測は走行 5 分のうち, 1 分から 4 分までの 3 分間を計測し, 心拍数は実験前安静時・ウォーミングアップ終了時・走行開始から各 1 分・クールダウン終了時・全運動過程終了 1 分後の安静時を計測した。統計解析は 2 元配置分散分析法を用いと多重比較検定を行った。有意差は 5 %未満とした。

【結果】

心拍数の結果は, 両群ともに運動開始からランニング 5 分までの間に約 180 回/分まで上昇し, その後運動終了 1 分後までに 120 回/分まで落ち着いた。しかし, 両群における有意差はみられなかつた。3 軸加速度センサの結果では, 前後方向成分で 150 秒から 210 秒の間で高くなる傾向にあつた。左右方向成分は着用群の平均値が全ての時間帯において無着用群と比べて, 数値が低い傾向であった。また, 右方向成分の 90 秒後における値は, 着用群において有意に低値を示した。

【考察】

3 軸加速度の結果からスパッツを着用することにより走行時の身体の左右運動を軽減させる可能性がある。

他の報告では, スパッツの着用によって低 - 中強度では疲労を軽減させることができるとされている

(Bringard A et al: J Sports Med Phys Fitness, 2006, 46 : 548-554.)。しかし, 心拍数による両群間での有意差はないことから循環器系に本研究で行った走行運動に影響を及ぼした可能性は低い。そのため, 今後, 筋電図や動作解析などによる手法で検討を行うことでさらに明確な結果と効果を期待することができるのではないかと考えられる。

【上記以外の研究テーマ, 研究者, 及び所属】

テーマ: 関節音からの膝関節疾患の推定について

研究者: 岡本武昌, 行田直人, 泉 晶子

所属: 臨床柔道整復学 II ユニット

テーマ: 足部捻挫に対するテープングと包帯固定

による歩行様式の変化に関する研究

研究者: 岡本武昌, 行田直人, 泉 晶子

所属: 臨床柔道整復学 II ユニット

テーマ: 包帯実技実習での学生への効果的な教授法実施のための教材作成について

研究者: 岡本武昌, 行田直人, 泉 晶子
所属: 臨床柔道整復学 II ユニット

テーマ: 股関節マイクロ牽引法が体幹の前屈可動域に及ぼす影響について -1 kg 牽引, 10 kg 牽引での比較検討-

研究者: 中川達雄, 中川貴雄

所属: 応用柔道整復学 I ユニット

テーマ: テーピングが膝関節に及ぼす影響

研究者: 長尾淳彦, 煙山奨也

所属: 応用柔道整復学 II ユニット

テーマ: 運動誘発性酸化ストレスに対する持久トレーニングの影響とその性差について

研究者: 林 知也¹, 煙山奨也², 中山登穎¹

所属: ¹生理学ユニット, ²応用柔道整復学 II ユニット

明治国際医療大学東洋医学研究所年報 2011
編集者 明治国際医療大学研究部
発行者 明治国際医療大学東洋医学研究所所長 雨貝孝
発行日 平成24年4月20日
印刷 中西印刷株式会社