

非拘束覚醒下ラットにおける循環動態に対する 鍼通電刺激の効果に関する研究 — マイクロダイアリシス法による 視床下部室傍核細胞外ノルエピネフリン動態の解析 —

† 竹田太郎

明治鍼灸大学大学院 鍼灸臨床医学 (内科学)

要旨: 【目的と方法】 正常血圧および高血圧ラットに刺激強度と周波数を変化させた種々の鍼通電刺激を足三里穴相当部に行い、非拘束覚醒下での血圧・心拍数反応を観察した。更に脳マイクロダイアリシス法を用いて視床下部室傍核の細胞外ノルエピネフリン量を測定し、反応に伴う脳内カテコラミンの変化についても検討した。

【結果】 正常血圧群では5mA以上の刺激で有意な血圧上昇・心拍数増加反応が誘発され、反応の程度は刺激強度に、持続時間は周波数に依存する傾向が認められた。高血圧群では5mA以上の刺激中のみに有意な心拍数増加反応が誘発されたが、血圧反応に傾向は認められなかった。この昇圧反応は交感神経 α 受容体遮断薬の投与で消失したが、 β 受容体遮断薬の投与では影響されなかった。また刺激前、中、後を通して室傍核のノルエピネフリン量に変化はみられなかった。

【考察と結語】 鍼通電刺激による血圧上昇・心拍数増加反応は、末梢レベルでは α 受容体を介することが示唆され、中枢レベルでは室傍核以外の血圧調節中枢である延髄腹外側野や弧束核などが強く関与している可能性が考えられた。しかし、この反応に室傍核が全く関与していない可能性はむしろ考えにくく、延髄腹外側野や弧束核などを含めた血圧調節中枢機構において室傍核への鍼通電刺激による入力が正負均衡していた可能性が推測された。この点に関しては今後の検討課題である。

I. 緒 言

鍼灸治療あるいは鍼灸刺激の循環動態に及ぼす効果については、多くの基礎的および臨床的研究が行われている。

ヒトを対象とした研究では、高血圧症患者に対する降圧効果に関する研究が主であり、鍼あるいは鍼通電療法は概ね血圧管理に関して有用であるとしている¹⁾。あるいは高齢者高血圧症に対しては、薬物療法との併用により10-20mmHg程度の降圧効果が認められたとの報告²⁾もみられる。また、心機能に着目した研究も多くみられ、鍼刺激による心拍数の減少反応^{3,4)}や心拍出量の減少反応⁵⁾などが報告されている。これらの報告はいずれも自律神経活動や自律神経機能を指標にその作

用機序が論じられているが、その詳細を解明するまでには至っていない。

一方、実験動物を対象とした研究では、鍼刺激時における降圧反応⁶⁾や心拍数減少反応⁷⁾が報告され、その作用機序については神経生理学的な観点から詳細な検討がなされている。しかし、これらの報告はいずれも麻酔動物を用いたものであるため、麻酔による影響^{8,9)}を考慮しなければならず、特に中枢機構を介した作用機序の検討、とりわけ生理活性物質に関する研究は取り残されたままである。しかも覚醒下動物における脳内活性物質への鍼刺激の効果に関する研究報告は皆無である。

そこで本実験では上記の諸種の問題を検討するために、非拘束覚醒下動物を用いて鍼通電刺激が

平成15年12月1日受付、平成16年1月13日受理

Key Words: 非拘束覚醒下ラット freely moving conscious rats, 循環動態 cardiovascular functional changes, 鍼通電刺激 electroacupuncture, マイクロダイアリシス法 microdialysis study, 視床下部室傍核 hypothalamic paraventricular nucleus

† 連絡先: 〒629-0392 京都府船井郡日吉町保野田ヒノ谷6

Tel: 0771-72-1181(内線537) Fax: 0771-72-0326

明治鍼灸大学内 大学院生室 内線531

e-mail: tarokichi@muom.meiji-u.ac.jp

循環動態に及ぼす影響を観察し、末梢レベルでの作用機序の解明として交感神経遮断薬による交感神経活動の関与を検討した。さらに、中枢レベルで脳マイクロダイアリス法を用いて視床下部室傍核の細胞外ノルエピネフリン量を測定した。

II. 対象と方法

1. 実験動物

実験動物は、体重約100gの雄性Wistarラット（日本エスエルシー、静岡）60匹を購入し、うち30匹は正常血压群、30匹は高血圧群とした。動物はクリーンラック内にて室温 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 、明暗周期12時間の条件下で飼育し、固形飼料（MF、オリエンタル酵母、京都）と水は自由摂取とした。4週間の飼育の後、体重230～280gで実験に使用した。なお、本実験は「実験動物の飼育及び保管等に関する基準」（昭和55年3月総理府告示第6号）を遵守し、明治鍼灸大学研究倫理委員会による承認（平成15年1月24日；14-40号）を得て行った。

2. 高血圧モデル動物（高血圧群）の作製（図1）

高血圧モデル動物として、deoxycorticosterone acetate（DOCA）食塩高血圧ラットを作製した。DOCA食塩高血圧ラット（DOCAラット）の作製は金ら^{10）}の方法にしたがった。体重100g

の雄性Wistarラットをペントバルビタール麻酔下（50mg/kg）にて右腎臓の摘出を行い、処置1週間後よりDOCA（D-7000、シグマ）の皮下投与（40mg/kg、週1回）と1%食塩水の自由飲水を行い、それらの条件にて処置後4週間飼育した。食餌は固形飼料の自由摂取とした。

3. 測定方法

測定項目は血圧、心拍数および視床下部室傍核の細胞外ノルエピネフリン量とした。

1) 血圧および心拍数測定

ペントバルビタール麻酔下（50mg/kg）にて実験動物の左大腿動脈および静脈に、ヘパリンナトリウムと生理食塩水の混合液を満たしたポリエチレンチューブ（PE10およびPE50、ベクトン・ディッキンソン、米国）を挿入し、覚醒下での測定を行うため、皮下を這わせて後頸部より排出した。血圧および心拍数の測定は、カニューレに接続した圧トランスデューサー（TP-400T、日本光電、京都）からアンプリファイア（AP-601G、日本光電、京都）を経て、A/Dコンバーター（MacLab/8s、AD Instruments Pty Ltd）を介してパーソナルコンピュータへ動脈血圧の原波形を入力した。持続的に測定した血圧波形から解析ソフト（Chart 3.6、MacLab/8s付属）を使用

実験動物の準備



測定のプロトコール

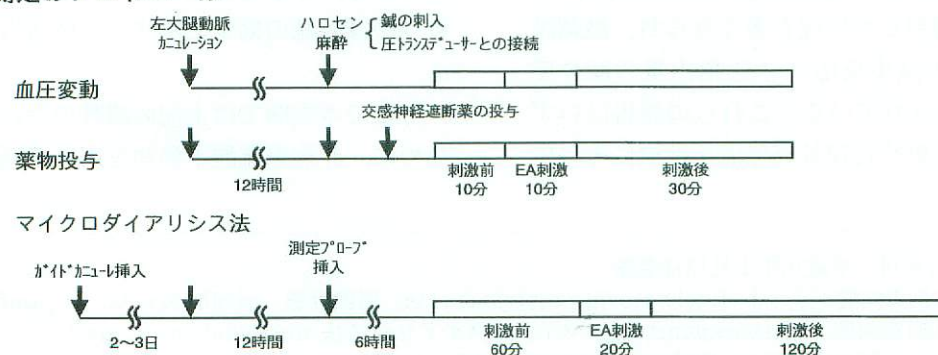


図1 実験動物の準備および測定プロトコールの模式図

DOCA: deoxycorticosterone acetate

して、平均動脈圧と心拍数の1分間毎の平均値を算出した。

なお、左大腿静脈のカニューレより交感神経 α 受容体遮断薬であるフェントラミン (10mg/kg; P-7547, シグマ), あるいは β 受容体遮断薬であるプロプラノロール (3mg/kg; P-0884, シグマ) を静脈内投与し、交感神経系機能の関与の様相について検討を行った。

2) 視床下部室傍核の細胞外ノルエピネフリン量の測定

視床下部室傍核における細胞外ノルエピネフリンの測定は脳マイクロダイアリス法にて行った。実験動物をペントバルビタール麻酔下に脳定位固定装置 (Model 900, デビッドコフ, 米国) に固定し、脳アトラス¹³⁾に従ってBregmaより尾側へ1.8mm, 矢状縫合より0.4mmの位置に頭蓋骨へ穴を開け、深さ7.8mmまでガイドカニューレ (AG-8, エイコム, 京都) を挿入後、アンカービスとデンタルセメントで固定した。固定したガイドカニューレには、ダミーカニューレ (AD-8, エイコム, 京都) を挿入した。

測定時には、ごく短時間の0.75%ハロセン吸入麻酔下にガイドカニューレよりダミーカニューレを抜去し、膜長1mmの測定用プローブ (A-I-8-01, エイコム, 京都) を挿入・留置した。マイクロシリンジポンプ (ESP-64, エイコム, 京都) から人工脳脊髄液 (147mM Na⁺, 4mM K⁺, 2.3mM Ca²⁺, 155.6mM Cl⁻) を流速1 μ L/分で灌流し、プローブより回収したサンプルはオートインジェクタ (EAS-20, エイコム, 京都) を介して、グラファイト電極を用いた電気化学検出器を接続した高速液体クロマトグラフィー (HTEC-500, エイコム, 京都) に注入しノルエピネフリンを定量した。分析カラムにはEICOMPAK SC-50DS (2.1mm $\times$ 150mm, エイコム, 京都) を使用し、高速液体クロマトグラフィーの移動層には0.1M クエン酸・0.1M酢酸ナトリウム溶液 (pH3.9) に17%メタノール, 50mg/mL EDTA $\cdot$ 2Na, 140mg/L オクタンスルホン酸ソーダを加えた緩衝液を用い、流量は0.23mL/分に維持した。ノルエピネフリンの同定と分析・算出は解析ソフト (Power Chrom 2.2.4, AD Instruments Pty Ltd) を用いて20分間毎に行った。

測定終了後にラットを断頭・除脳し、マイクロサイザー (DTK-1000, 堂阪イーエム, 京都) を用いて0.1mm厚で冠状断脳切片を作製した。作製した脳切片はcresyle violetによるニッスル染色を行い、光学顕微鏡下に測定プローブの挿入位置を確認した。

4. 鍼通電刺激 (electroacupuncture: EA)

実験動物を不動化するために軽度のハロセン吸入麻酔下にて、15mm $\times$ 0.24mmのステンレス製鍼灸針 (15ミリ・24号鍼, アサヒ医療器, 埼玉) を刺激部位に刺入した。刺激部位は右前脛骨筋とし、足三里穴相当部とその下方5mmの部位にそれぞれ横刺で約10mm刺入した。EAには、刺激装置 (ELECTRONIC STIMULATOR 3F46, ISOLATOR 5384, 日本電気三栄, 東京) を用いて行った。

5. 実験行程 (図1)

1) 実験1: EAの刺激条件の違いによる血圧および心拍数への影響

実験動物には、Wistarラット (正常血圧群) およびDOCAラット (高血圧群) を使用した。実験は、左大腿動脈へのカニューレ挿入から12時間以上かつハロセン吸入麻酔の影響を除外するために刺鍼より3時間以上経過後に測定を開始した。鍼灸針を刺した状態 (置鍼状態) にて、刺激前10分間, EA10分間および刺激後30分間の平均動脈圧および心拍数を経時的に測定した。刺激条件は1Hz, 20Hzおよび100Hzの周波数と, 1mA, 5mAおよび10mAの強度をそれぞれ組み合わせ、パルス幅1msで行った。

2) 実験2: EAによる血圧および心拍数の反応に対する交感神経遮断薬の影響

実験動物には、Wistarラット (正常血圧群) およびDOCAラット (高血圧群) を使用した。実験は、左大腿動・静脈へのカニューレ挿入から12時間以上かつハロセン吸入麻酔の影響を除外するために刺鍼より3時間以上経過後に測定を開始した。フェントラミンあるいはプロプラノロールを静脈内投与し、刺激前10分間, EA10分間および刺激後30分間の平均動脈圧および心拍数を経時的に測定した。EA条件は20Hz/10mA, パルス幅1msで行った。

3) 実験3: EAの視床下部室傍核細胞外ノルエピネフリンに対する影響

実験動物には、Wistarラット（正常血圧群）およびDOCAラット（高血圧群）を使用した。実験は、頭部へのガイドカニューレ挿入から2-3日、左大腿動脈へのカニューレ挿入から12時間以上、ハロセン吸入麻酔と測定プローブ挿入の影響を除外するために刺激より6時間以上経過後に測定を開始した。ノルエピネフリン測定の時間分解能が20分であることを考慮して、刺激前60分間、EA20分間および刺激後120分間のノルエピネフリン量、平均動脈圧および心拍数を経時的に測定した。EA条件は20Hz/10mA、パルス幅1msで行った。

6. 統計学的検討

すべてのデータは平均値±標準誤差（mean±S.E.M）で表わした。検定は平均動脈圧、心拍数およびノルエピネフリン量の経時変化について、反復測定分散分析（repeated-ANOVA）を行った。時間経過に伴う有意な変化を示したものに

して、実験1. では刺激前、中、後における10分間毎の、実験3. では刺激前、中、後における20分間毎の変化について、対比（Contrast）による多重比較を行った。統計ソフトはSYSTAT 10を使用した。

III. 結 果

1. EAの刺激条件の違いによる血圧および心拍数への影響

1) 正常血圧群の血圧反応（図2）

1mAの刺激強度では、1Hz群、20Hz群および100Hz群ともに刺激前（1Hz：約121mmHg、20Hz：約117mmHg、100Hz：約119mmHg）に対し、刺激中および刺激後も同程度で推移し、時間経過に伴う有意な変動を示さなかった（1Hz： $p=0.184$ 、20Hz： $p=0.483$ 、100Hz： $p=0.768$ ）。

5mAの刺激強度では、1Hz群においては刺激前約120mmHgで推移し、刺激中は122-125mmHgと上昇、刺激後は119-122mmHgまで回復した。20Hz群においては刺激前約116mmHgで推移し、刺激中は121-129mmHgと上昇、刺激後は116-119

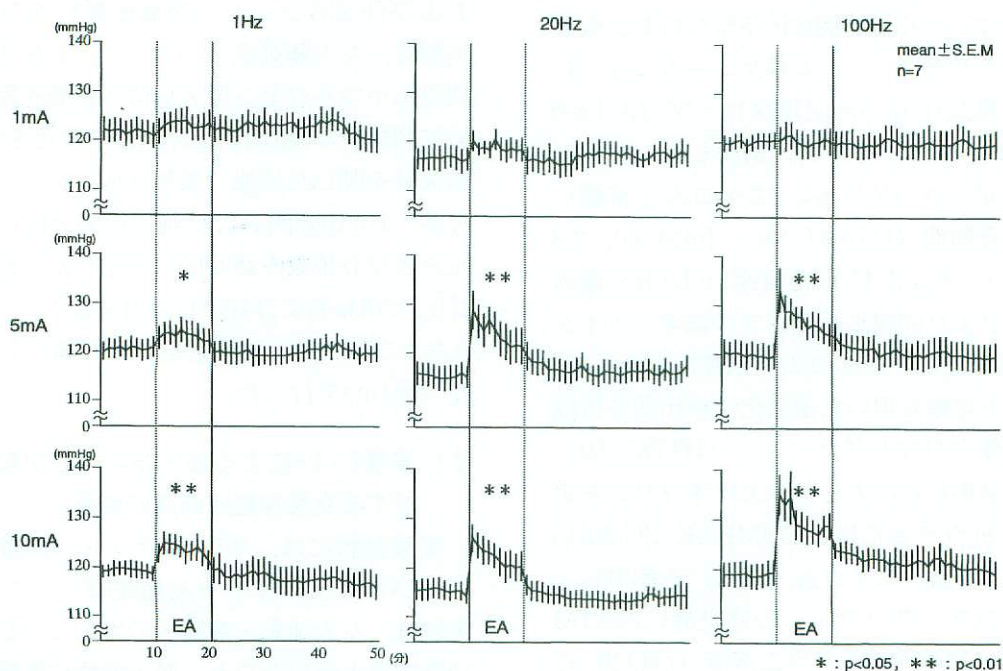


図2 正常血圧群におけるEAの刺激条件の違いによる血圧反応

グラフは平均動脈圧（mean arterial pressure：MAP）の経時変化を表し、*は時間経過における有意な変動を表す。1mA（上段）の刺激強度ではすべての周波数において、時間経過に有意な変化は認められなかった。5mA（中段）および10mA（下段）の刺激強度ではすべての周波数において時間経過に有意な変化が認められた。各10分間での対比において、5mAではすべての周波数で刺激中の有意な上昇を認め、20Hz（中央列）および100Hz（右列）の周波数では刺激後10分間も有意な上昇が持続した。10mAでもすべての周波数において刺激中の有意な上昇を認め、100Hzの周波数では刺激後30分間まで有意な上昇が持続する傾向が認められた。（ $n=7$ ，mean±S.E.M，EA：鍼通電刺激）

mmHgまで回復した。100Hz群においても刺激前は約120mmHgで推移し、刺激中は124-133mmHgと上昇、刺激後は119-124mmHgまで回復した。いずれの周波数群においても時間経過に伴う有意な変動(1Hz： $p<0.01$ ，20Hz： $p<0.01$ ，100Hz： $p<0.01$)を示した。

10mAの刺激強度では、1Hz群においては刺激前約120mmHgで推移し、刺激中は121-125mmHgと上昇、刺激後は116-120mmHgまで回復した。20Hz群においては刺激前約116mmHgで推移し、刺激中は120-126mmHgと上昇、刺激後は119-124mmHgまで回復した。いずれの周波数群においても時間経過に伴う有意な変動(1Hz： $p<0.01$ ，20Hz： $p<0.01$ ，100Hz： $p<0.01$)を示した。

対比による検討において1Hz/5mA，1Hz/10mAおよび20Hz/10mA AEAでは、刺激前10分間と比較して刺激中10分間は血圧の有意な上昇($p<0.05$ ， $p<0.05$ ， $p<0.01$)を認めたが、刺激後0-10分間，11-20分間および21-30分間では有意な変化を認めなかった。20Hz/5mAと100Hz/5mA AEAでは、刺激前10分間と比較して刺激中10分間および刺激後0-10分間は血圧の有意な上昇(刺

激中： $p<0.01$ ， $p<0.01$ ，刺激後10分間： $p<0.05$ ， $p<0.05$)を認めたが、刺激後11-20分間と21-30分間では有意な変化を認めなかった。100Hz/10mA AEAでは、刺激前10分間と比較して刺激中10分間，刺激後0-10分間および刺激後11-20分間は血圧の有意な上昇($p<0.01$ ， $p<0.01$ ， $p<0.01$)を認め、刺激後21-30分間でも上昇傾向($p=0.054$)を認めた。

2) 正常血圧群の心拍数反応 (図3)

1mAの刺激強度では、1Hz群，20Hz群および100Hz群とも刺激前(1Hz：377-396bpm，20Hz：391-397bpm，100Hz：402-407bpm)に対し、刺激中および刺激後も同程度で推移し、有意な変動を示さなかった(1Hz： $p=0.096$ ，20Hz： $p=0.084$ ，100Hz： $p=0.147$)。

5mAの刺激強度では、1Hz群においては刺激前391-401bpmで推移し、刺激中は408-427bpmに増加、刺激後は386-416bpmにまで回復した。20Hz群においては刺激前401-409bpmで推移し、刺激中は438-475bpmに増加、刺激後は408-426bpmにまで回復した。100Hz群においては刺激前410-

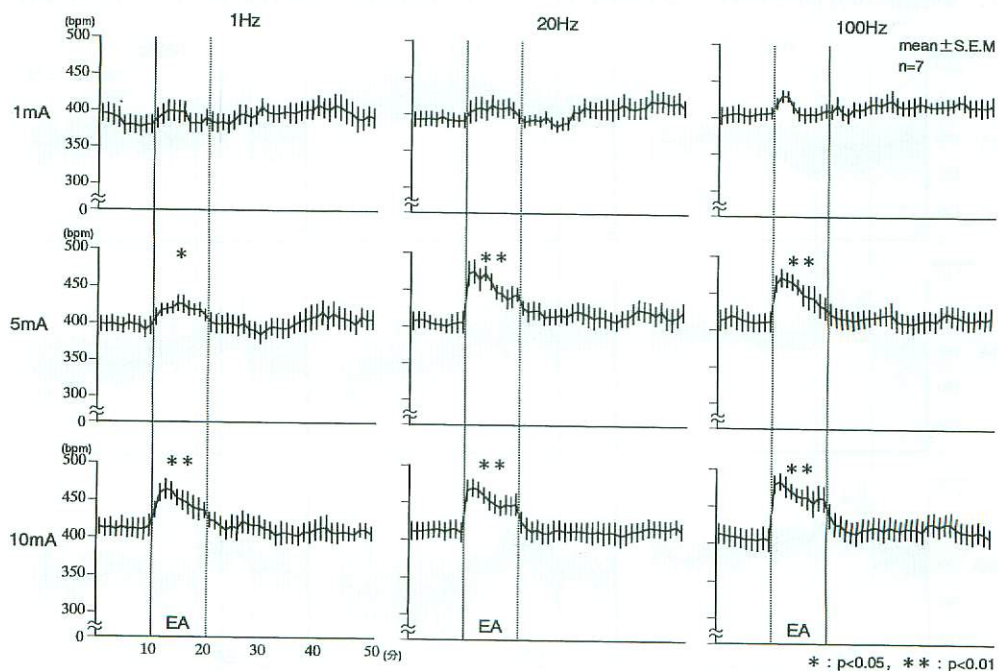


図3 正常血圧群におけるEAの刺激条件の違いによる心拍数反応

グラフは心拍数 (heart rate: HR) の経時的変化を表し、*は時間経過における有意な変動を表す。1mA (上段) の刺激強度ではすべての周波数において時間経過に有意な変化は認められず、5mA (中段) および10mA (下段) の刺激強度ではすべての周波数において時間経過に有意な変化が認められた。各10分間での対比において、5mA および10mAでは刺激中の有意な増加が認められた。また、100Hz/10mA (右列下段) の刺激では刺激後30分間まで有意な増加が持続した。(n=7, mean ± S. E. M, EA: 鍼通電刺激)

420bpmで推移し、刺激中は430-472bpmに増加、刺激後は410-424bpmにまで回復した。いずれの周波数においても時間経過に伴う有意な変動（1Hz： $p<0.05$ ，20Hz： $p<0.01$ ，100Hz： $p<0.01$ ）を示した。

10mAの刺激強度では、1Hz群においては刺激前411-415bpmで推移し、刺激中は436-465bpmに増加、刺激後は403-424bpmまで回復した。20Hz群においては刺激前410-414bpmで推移し、刺激中は443-470bpmに増加、刺激後は407-424bpmにまで回復した。100Hz群においては刺激前405-413bpmで推移し、刺激中は454-483bpmに増加、刺激後は409-438bpmにまで回復した。いずれの周波数においても時間経過に伴う有意な変動（1Hz： $p<0.01$ ，20Hz： $p<0.01$ ，100Hz： $p<0.01$ ）を示した。

対比による検討において1Hz/5mA，1Hz/10mA，20Hz/10mAおよび100Hz/5mA AEAでは、刺激前10分間と比較して刺激中10分間は心拍数の有意な増加（ $p<0.05$ ， $p<0.05$ ， $p<0.01$ ， $p<0.01$ ）を認めたが、刺激後0-10分間，11-20分間および21-30分間では有意な変化を認めなかった。20Hz/5mA AEAでは、刺激前10分間と比較して刺激中10

分間および刺激後21-30分間は心拍数の有意な増加（ $p<0.01$ ， $p<0.05$ ）を認めたが、刺激後0-10分間および11-20分間では有意な変化を認めなかった。100Hz/10mA AEAでは、刺激前10分間と比較して刺激中10分間および刺激後すべての時間において心拍数の有意な増加（ $p<0.01$ ， $p<0.05$ ， $p<0.01$ ， $p<0.01$ ）を認めた。

3) 高血圧群の血圧反応 (図4)

1mAの刺激強度では、1Hz群および20Hz群では刺激前（1Hz：約190mmHg，20Hz：約198mmHg）に対し、刺激中および刺激後も同程度で推移し、時間経過に伴う有意な変動を示さなかった（1Hz： $p=0.614$ ，20Hz： $p=0.513$ ）が、100Hz群では刺激前約192mmHgに対して、刺激中には195-201mmHgに上昇し、刺激後は189-195mmHgに回復し、時間経過に伴う有意な変動を示した（ $p<0.05$ ）。

5mAの刺激強度では、1Hz群においては刺激前約192mmHgに対して、刺激中は軽度上昇し、刺激後は刺激前と同程度まで回復し、時間経過に伴う有意な変動がある傾向を認めた（ $p=0.066$ ）。20Hz群および100Hz群においては刺激前（20Hz：

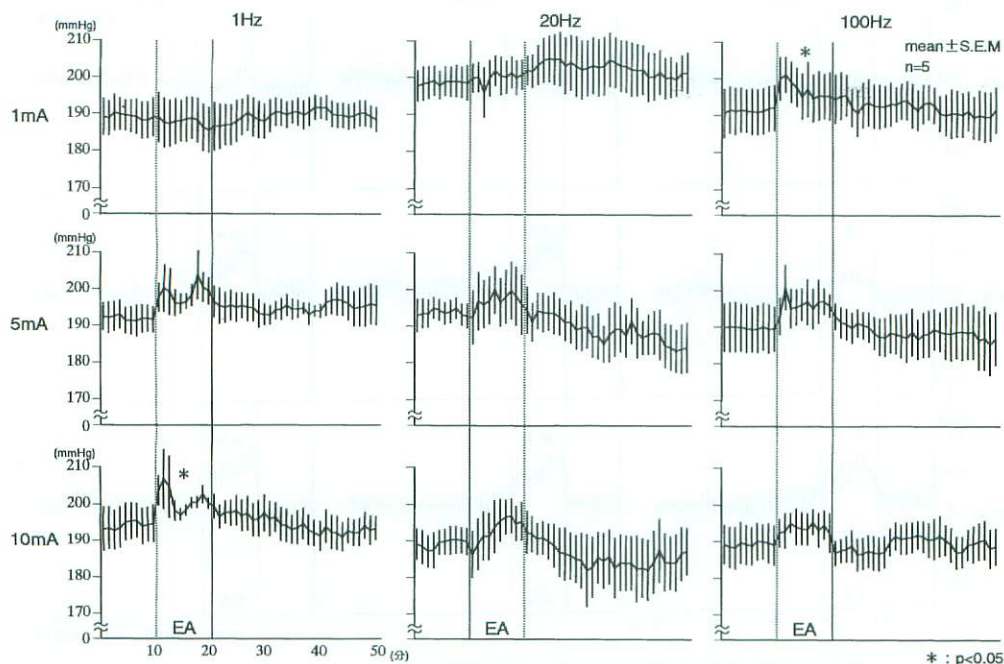


図4 高血圧群におけるEAの刺激条件の違いによる血圧反応

グラフは平均動脈圧 (mean arterial pressure: MAP) の経時的変化を表し、*は時間経過における有意な変動を表す。100Hz/1mA (右列上段) と1Hz/10mA (左列下段) の刺激条件のみ時間経過に有意な変化を認め、刺激強度別あるいは周波数別における一定の傾向はみられなかった。また、両条件とも各10分間での対比に有意な変化は認められなかった。(n=5, mean ± S. E. M., EA: 鍼通電刺激)

196-199mmHg, 100Hz: 189-190mmHg) に対して, 刺激中は軽度上昇し, 刺激後は刺激前と同程度まで回復したが, 時間経過に伴う有意な変動を示さなかった (20Hz: $p=0.144$, 100Hz: $p=0.267$). 10mAの刺激強度では, 1Hz群においては刺激前193-196mmHgに対して, 刺激中は197-207mmHgに上昇し, 刺激後は191-199mmHgに回復し, 時間経過に伴う有意な変動を示した ($p<0.05$). 20Hz群および100Hz群においては, 刺激前 (20Hz: 191-194mmHg, 100Hz: 188-190mmHg) に対し, 刺激中は軽度上昇し, 刺激後は刺激前と同程度まで回復あるいはそれ以下まで下降したが, 時間経過に伴う有意な変動を示さなかった (20Hz: $p=0.295$, 100Hz: $p=0.689$).

対比による検討において100Hz/1mAおよび1Hz/10mA EAでは, 刺激前10分間と比較して刺激中10分間, 刺激後0-10分間, 11-20分間および21-30分間とも血圧の有意な変化を認めなかった.

4) 高血圧群の心拍数反応 (図5)

1mAの刺激強度では, 1Hz群においては刺激前 (397-407bpm) に対し, 刺激中および刺激後も同程度で推移し, 時間経過に伴う有意な変動を示さ

なかった ($p=0.683$). 20Hz群および100Hz群においては刺激前 (20Hz: 393-401bpm, 100Hz: 393-401bpm) に対し, 刺激中および刺激後も軽度増加したが, 時間経過に伴う有意な変動を示さなかった (20Hz: $p=0.445$, 100Hz: $p=0.123$).

5mAの刺激強度では, 1Hz群, 20Hz群および100Hz群においては刺激前 (1Hz: 394-406bpm, 20Hz: 387-403bpm, 100Hz: 393-402bpm) に対し, 刺激中は増加 (1Hz: 407-438bpm, 20Hz: 417-432bpm, 100Hz: 436-452bpm) し, 刺激後には回復 (1Hz: 382-411bpm, 20Hz: 385-410bpm, 100Hz: 394-431bpm) し, それぞれ時間経過に伴う有意な変動を示した (1Hz: $p<0.01$, 20Hz: $p<0.05$, 100Hz: $p<0.01$).

10mAの刺激強度では, 1Hz群および100Hz群においては刺激前 (1Hz: 397-402bpm, 100Hz: 414-422bpm) に対し, 刺激中は増加 (1Hz: 416-443bpm, 100Hz: 453-472bpm) し, 刺激後には回復 (1Hz: 394-409bpm, 100Hz: 422-450bpm) し, 時間経過に伴う有意な変動を示した (1Hz: $p<0.05$, 100Hz: $p<0.01$) が, 20Hz群においては刺激前397-404bpmに対し, 刺激中は419-433bpmに増加し, 刺激後は391-413bpmに回復したものの

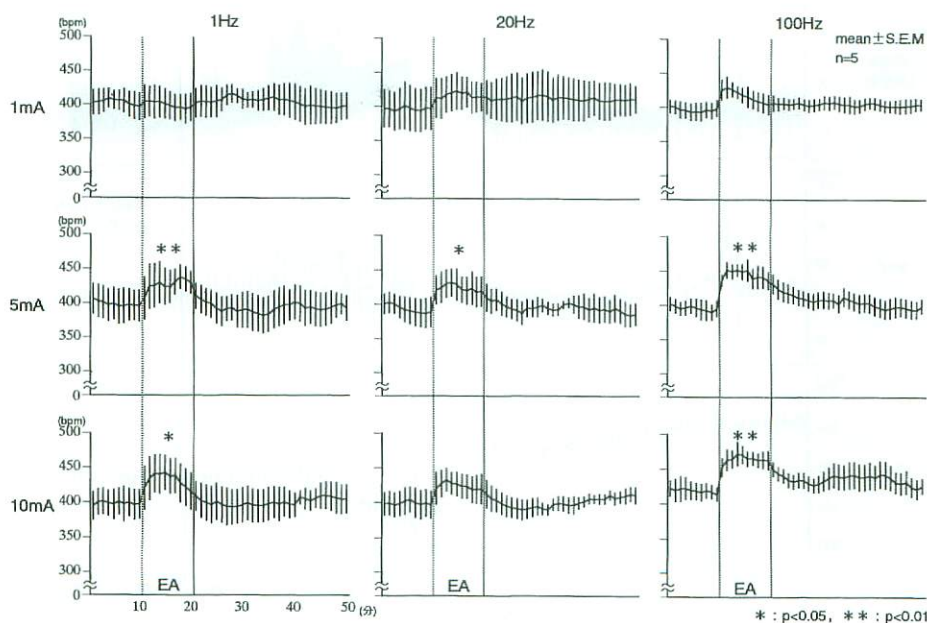


図5 高血圧群におけるEAの刺激条件の違いによる心拍数反応

グラフは心拍数 (Heart rate: HR) の経時的变化を表し, *は時間経過における有意な変動を表す. 1mA (上段) の刺激強度ではすべての周波数において時間経過に有意な変化は認められなかった. 5mA (中段) の刺激強度ではすべての周波数において時間経過に有意な変化が認められたが, 10mA (下段) の刺激強度では1Hzおよび100Hzのみに時間経過に有意な変化が認められた. 各10分間での対比において, 5mAではすべての周波数で刺激中の有意な増加を認めたが, 10mAでは100Hzのみ刺激中の有意な増加を認めた. ($n=5$, mean $\pm$ S. E. M., EA: 鍼通電刺激)

の、時間経過に伴う有意な変動を示さなかった ($p=0.074$).

対比による検討において1Hz/5mA, 20Hz/5mA, 100Hz/5mAおよび100Hz/10mA EAでは、刺激前10分間と比較して刺激中10分間は心拍数の有意な増加 ($p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.05$, $p<0.01$) を認めたが、刺激後0-10分間, 11-20分間および21-30分間では有意な変化を認めなかった. また, 1Hz/10mA EAのみは刺激前10分間と比較して刺激中10分間, 刺激後0-10分間, 11-20分間および21-30分間とも有意な変化を認めなかった.

2. EAによる血圧および心拍数の反応に対する交感神経遮断薬の影響

1) 正常血圧群 (図6)

交感神経 α 受容体遮断薬であるフェントラミンの前投与により、刺激前の血圧は73-76mmHgで推移し、刺激中は刺激開始直後こそ一過性の血圧上昇 (最大88mmHg) がみられたものの、その後は終始72-76mmHgと安定して推移した. また、心拍数は刺激前457-464bpmで推移し、刺激中は

刺激開始直後に一過性の心拍数減少がみられたものの、EAによる心拍数の変動はみられず、終始415-452bpm程度で推移した.

交感神経 β 受容体遮断薬であるプロプラノロールの前投与により、刺激前の血圧は124-127mmHgで推移し、刺激中は130-136mmHgへ上昇反応を示し、血圧上昇反応はそのまま持続した. また心拍数の反応も同様な経過を示し、刺激前299-323bpmに対し、刺激中は342-353bpmへと心拍数増加反応を示し、増加反応はそのまま持続した.

2) 高血圧群 (図7)

フェントラミン投与では、刺激前の血圧は94-100mmHgで推移し、刺激中は刺激開始直後こそ一過性の血圧上昇 (最大109mmHg) がみられたものの、その後は終始92-102mmHgと安定して推移した. また、心拍数は刺激前397-407bpmで推移し、刺激中は刺激開始直後に一過性の心拍数増加がみられたものの、EAによる持続的な心拍数の変動はみられず、終始392-415bpm程度で推移した.

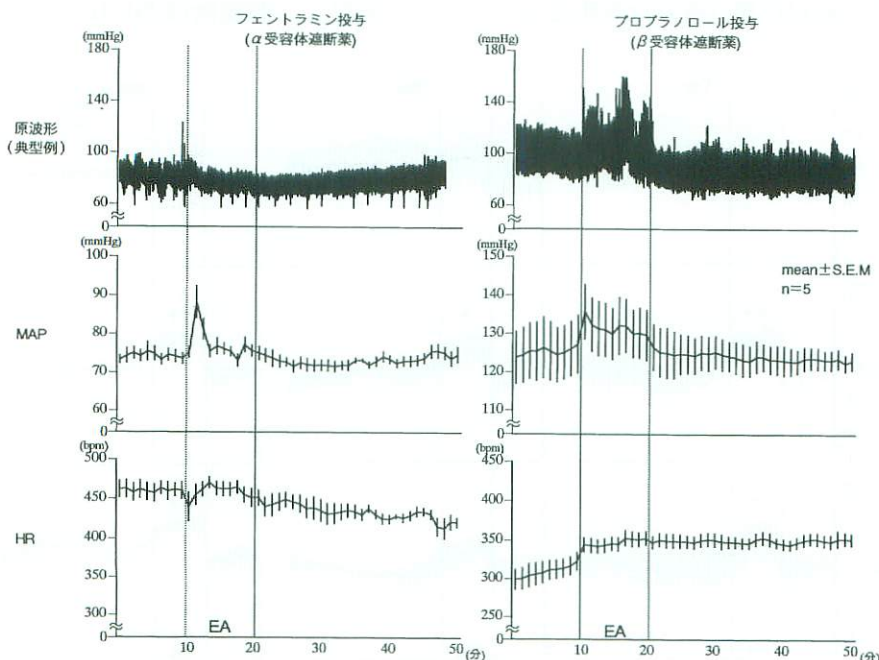


図6 正常血圧群におけるEAによる循環動態反応に対する交感神経遮断薬の影響

正常血圧群に交感神経 α 受容体遮断薬であるフェントラミンおよび β 受容体遮断薬であるプロプラノロールの静脈内投与を行い、20Hz/10mAのEAを行った. 図の上段は典型例の原波形を表し、中段は平均動脈圧の経時的変化を、下段は心拍数の経時的変化を表す. フェントラミンの前投与により、EAによる血圧上昇反応は消失した. しかし、プロプラノロールの前投与では、EAによる血圧上昇反応がみられ、刺激中はそれらが持続することが観察された. ($n=5$, mean $\pm$ S.E.M, MAP: 平均動脈圧, HR: 心拍数, EA: 鍼通電刺激)

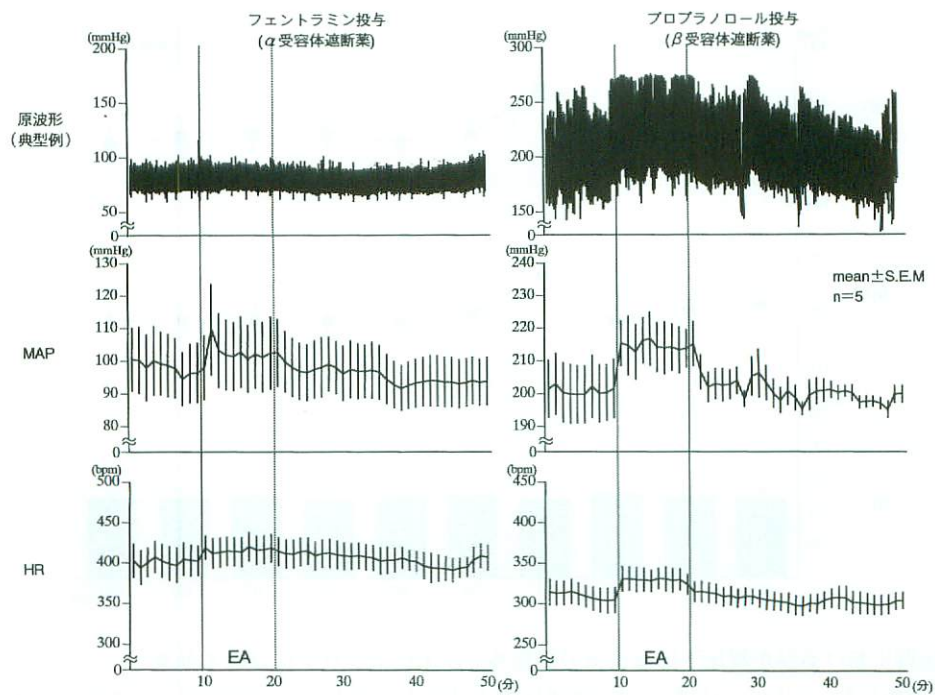


図7 高血圧群におけるEAによる循環動態反応に対する交感神経遮断薬の影響

高血圧群に交感神経α受容体遮断薬であるフェントラミンおよびβ受容体遮断薬であるプロプラノロールの静脈内投与を行い、20Hz/10mAのEAを行った。図の上段は典型例の原波形を表し、中段は平均動脈圧の経時的变化を、下段は心拍数の経時的变化を表す。正常血圧群と同様に、フェントラミンの前投与でEAによる血圧上昇反応は消失し、プロプラノロールの前投与ではEAによる血圧上昇反応は影響を受けなかった。(n=5, mean±S.E.M, MAP: 平均動脈圧, HR: 心拍数, EA: 鍼通電刺激)

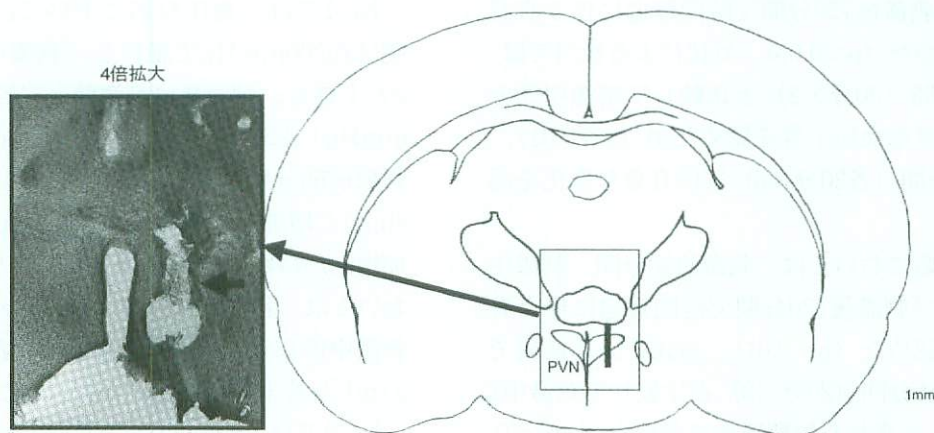


図8 視床下部室傍核と測定プローブの位置

シエマ図での囲み部における典型例の拡大光学顕微鏡写真を左に示す。シエマ図および拡大写真において、棒線と矢印が各々、測定プローブの膜部分を表す。(PVN: 視床下部室傍核)

プロプラノロール投与では、刺激前の血圧は199-203mmHgで推移し、刺激中は213-217mmHgへ上昇反応を示し、血圧上昇反応はそのまま持続した。また心拍数も同様に、刺激前304-315bpmに対し、刺激中は324-331bpmへと心拍数の

増加を示し、増加反応はそのまま持続した。

3. EAによる血圧および心拍数反応と視床下部室傍核のノルエピネフリンとの関係

図8に視床下部室傍核と測定プローブ位置のシエ

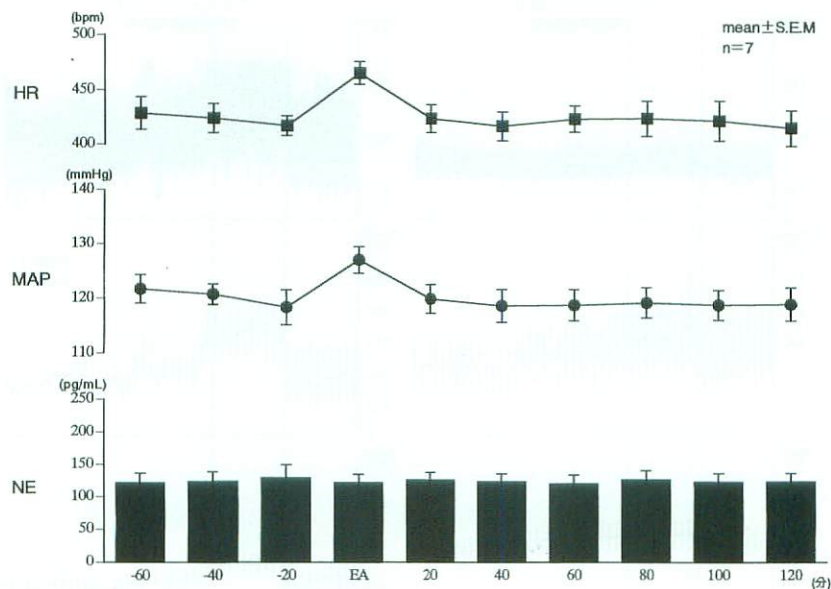


図9 正常血圧群におけるEAが視床下部室傍核の細胞外ノルエピネフリンに及ぼす効果

グラフに正常血圧群における心拍数、平均動脈圧および視床下部室傍核の細胞外ノルエピネフリン量の経時的変化を示す。心拍数および平均動脈圧はEAによる有意な上昇を示したが、ノルエピネフリン量は刺激前、中、後を通して時間経過に伴う変化は認められなかった。(n=7, mean±S.E.M., HR:心拍数, MAP:平均動脈圧, NE:細胞外ノルエピネフリン量, EA:鍼通電刺激)

マ図および典型例の光学顕微鏡写真を示す。

1) 正常血圧群 (図9)

血圧反応においては、刺激前60分間、刺激中20分間および刺激後120分間で時間経過に伴う有意な変化を認めた ($p<0.05$)。対比による検討では、刺激前60分間 (20分×3) と比較して刺激中20分間では、有意な血圧上昇を認めたが ($p<0.01$)、刺激後120分間 (各20分×6) では有意な変化を認めなかった。

心拍数反応においては、刺激前60分間、刺激中20分間および刺激後120分間で時間経過に伴う有意な変化を認めた ($p<0.01$)。対比による検討では、刺激前60分間 (20分×3) と比較して刺激中20分間では、有意な心拍数増加を認めたが ($p<0.01$)、刺激後120分間 (各20分×6) では有意な変化を認めなかった。

一方、ノルエピネフリン量の変化においては、刺激前60分間 (121.6pg/mL, 123.5pg/mL, 129.4pg/mL)、刺激中20分間 (121.9pg/mL)、刺激後120分間 (125.7pg/mL, 123.6pg/mL, 120.5pg/mL, 126.5pg/mL, 123.2pg/mL, 123.6pg/mL) で時間経過に伴う有意な変化を認めなかった ($p=0.931$)。

2) 高血圧群 (図10)

高血圧群で脳マイクロダイアリシ測定を完遂し得たのは2例のみであったため、2例の測定結果を図10に示す。

No.1では、血圧反応においては、刺激前60分間は約200mmHgで推移し、刺激中は213.8mmHgと上昇し、刺激後は刺激前と同等の値 (203-205mmHg) に回復した。心拍数反応においては、刺激前60分間は約440bpmで推移し、刺激中は488bpmと増加し、刺激後も472-484bpmと若干の増加傾向が持続した。ノルエピネフリン量の変化においては、刺激前60分間は約170pg/mLで推移し、刺激中は186pg/mLと上昇し、刺激後も180-222pg/mLと若干の増加傾向が持続した。

No.2では、血圧反応においては、刺激前60分間は約181mmHgで推移し、刺激中は196mmHgと上昇し、刺激後も179-189mmHgと若干の上昇傾向が持続した。心拍数反応においては、刺激前60分間は約418bpmで推移し、刺激中は495bpmと増加し、刺激後は406-447bpmまで回復した。ノルエピネフリン量の変化においては、刺激前60分間は約127pg/mLで推移し、刺激中は131pg/mLと変化はみられず、刺激後も121-144pg/mLと一定の傾向はみられなかった。

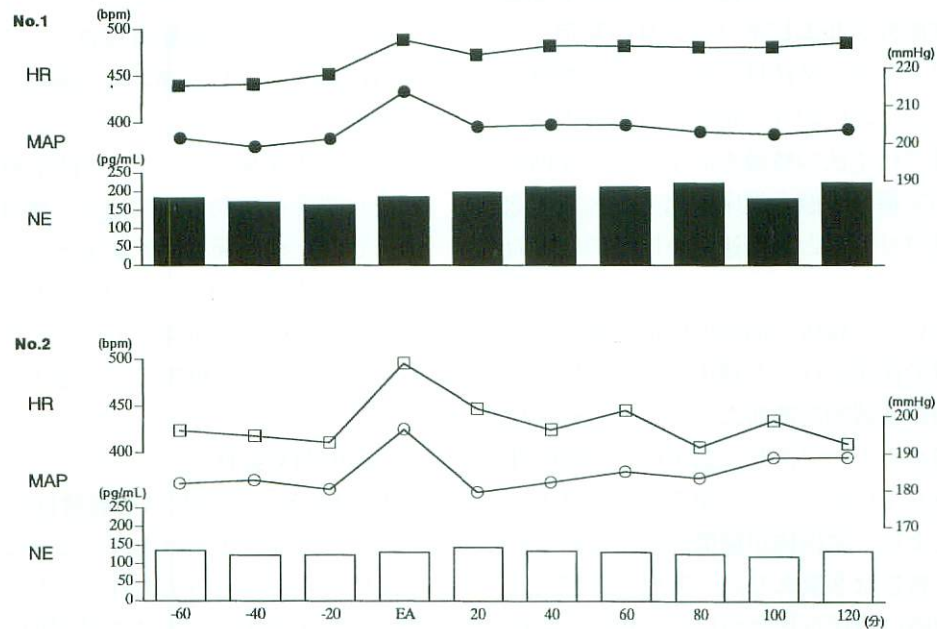


図10 高血圧群におけるEAが視床下部室傍核の細胞外ノルエピネフリンに及ぼす効果

測定が可能であった高血圧群2例における心拍数、平均動脈圧および視床下部室傍核の細胞外ノルエピネフリン量の経時的変化をグラフに示す。No. 1では、血圧においては刺激中のみ上昇反応を示し、心拍数およびノルエピネフリン量においては、刺激中は増加反応を示し、刺激後も若干の増加傾向が持続した。No. 2では、血圧においては刺激中は上昇反応を示し、刺激後も若干の上昇傾向が持続した。心拍数においては刺激中のみ増加反応を示した。ノルエピネフリン量においては、刺激前、中、後を通して時間経過に伴う変化はみられなかった。(HR：心拍数、MAP：平均動脈圧、NE：細胞外ノルエピネフリン量、EA：鍼通電刺激)

IV. 考 察

これまで実験動物を用いた基礎的研究において、鍼およびEAによる循環動態への効果に関する研究は多数報告されている。血圧変動に関してOhsawaら⁶⁾は、深麻酔下ラットの足三里穴相当部への鍼刺激により一過性の降圧反応が生じたとし、その反応は遠心性交感神経性の血管収縮神経活動の抑制によるものと報告している。また、Linら¹²⁾は麻酔下ラットの合谷穴相当部への低頻度EAによって刺激中は血圧が持続的に上昇したとし、その機序として腎交感神経活動の亢進の関与を指摘している。

一方、心拍数の変動に関しても、小林ら⁷⁾は麻酔下ラットの足三里穴相当部に鍼刺激を行い、55%の割合で心拍数減少反応が観察されたと報告しているが、同時に心拍数の増加反応も数例で観察されたとし、鍼刺激による心拍数減少反応は交感神経を遠心路とする体性自律神経反射に基づく反射性反応であることを示唆している。

このように動物を対象とした基礎研究の進展に

より、鍼あるいはEA刺激の循環動態に及ぼす神経生理学的機序については徐々にではあるが解明されつつある。しかし、これらの報告はいずれも麻酔下動物を用いたものであるため、麻酔による自律神経活動への修飾⁹⁾や中枢機構に及ぼす影響⁹⁾を考慮しなければならず、その結果の解釈には注意が必要となる。また、その作用機序については末梢での反射性反応を示唆しているものの中、中枢機構を介した機序は不明なままである。しかも、覚醒下動物を用いて鍼あるいはEAが循環動態に及ぼす影響を中枢機構にて検討した研究はこれまでのところ報告されていない。

そこで本実験では、非拘束覚醒下ラットに対してEAを種々の刺激条件で行い、血圧および心拍数に及ぼす影響を観察した。また、EAによる血圧および心拍数に及ぼす効果の末梢レベルでの作用機序の解明として交感神経遮断薬を用いて検討すると共に中枢レベルでの作用機序の解明として、脳マイクロダイアリス法を用いて視床下部室傍核の細胞外ノルエピネフリン量を測定した。

1. 脳マイクロダイアリス法による視床下部室傍核の細胞外ノルエピネフリン量の測定

マイクロダイアリス法は生体内の微量物質を持続的に抽出し、経時的な定量を行う研究手法である。本研究では本法の特徴を活かして、非拘束覚醒下において循環動態と視床下部室傍核の細胞外ノルエピネフリン量との関連性を同時に検討した。

本実験において、視床下部室傍核細胞外ノルエピネフリン量の測定を行った理由は、室傍核は脊髓中間外側核の交感神経節前ニューロンへ直接投射する主な源のひとつであり、弧束核や延髄腹外側野などと並んで代表的な血圧調節中枢のひとつであることによる。室傍核が循環制御に占める役割を検討した報告は多数あるが、麻酔の有無により室傍核刺激時の血圧反応については相反する結果が報告されている^{8,13)}。本実験では、EAによる血圧および心拍数の反応を中枢機構で検討することを目的としており、麻酔による室傍核への影響を除外するためにも本実験の条件は覚醒下とした。

2. 高血圧モデル動物としてのDOCAラット

本実験ではEAによる循環動態に及ぼす影響を、正常血圧動物としてのWistarラットと比較検討する目的で、高血圧モデル動物としてDOCAラットを用いた。

DOCAラットは人為的二次性高血圧モデルであり、アルドステロンの前駆物質であるDOCAと食塩の負荷により食塩感受性・副腎性高血圧症を発症する。DOCAラットの高血圧進展に関してNakataら¹⁴⁾は、室傍核においてはバソプレシン分泌よりも交感神経活動の亢進が関与している可能性を示唆しており、また家森¹⁵⁾は高血圧の発症には中枢の β 受容体を介する昇圧機構の亢進が、その維持には α 受容体を介する降圧機構の不全が考えられるとしている。著者ら¹⁶⁾は、本態性高血圧症モデルである脳卒中易発症ラット（SHRSP：stroke-prone spontaneously hypertensive rat）を用いてEAおよび灸刺激による高血圧発症予防に関する研究を行ったが、SHRSPの高血圧進展を抑制するような効果は得られなかった。自然発症高血圧ラット（SHR：spontaneously hypertensive rat）および

SHRSPは、数種の遺伝異常と複数の環境因子の相互作用によって高血圧を発症することが分かっており、その発症機転は複雑であるため、本研究の意図から必ずしも適切な実験動物とはいえないと判断した。

そこで本実験では、EAが循環動態に及ぼす影響を自律神経活動との関連から検討することを目的としたため、発症機転が主として交感神経活動の亢進であるDOCAラットを用いることで、単一因子での検討が可能であることからDOCAラットを高血圧モデル動物として採用した。

3. EAの刺激条件

本実験でのEA部位は前脛骨筋の足三里穴相当部とした。足三里穴は臨床において最も使用頻度の高い経穴のひとつであり、ヒトを対象とした研究^{4,17,18)}や実験動物に対する基礎的研究¹⁹⁻²¹⁾でもよく使用される部位である。また、鍼あるいはEAによる血圧変動に関する研究報告^{6,22-24)}においても使用頻度の高い部位であることから、他の研究報告と比較検討する目的で前脛骨筋の足三里穴相当部を刺激部位として選択した。

刺激条件については臨床、研究ともに多く用いられる低頻度刺激として1Hzを、それに相対する高頻度刺激として100Hzを使用した。さらに、Ohsawaら²⁵⁾は麻酔下ラット後肢への1-50HzのEAにおいては、20Hzと50Hzで最も高い瞳孔拡張を誘発したと報告し、Linら¹²⁾は、麻酔下ラットの合谷穴相当部に20HzEAを行った時に、強い昇圧反応が観察されたと報告していることから、これらの研究報告と比較検討する目的で20Hz刺激も行った。

また、刺激強度に関して、Ohsawaら²⁵⁾は麻酔下ラット後肢への20Hzの刺激においては1mA以上の強度でA β およびA δ 線維が、10mA以上の強度でC線維が十分に興奮したと報告し、野口ら²⁶⁾は麻酔下ラットの足趾に20HzのEAを行い、II群線維、III群線維、IV群線維はそれぞれ0.5mA、1mA、6mAの強さで十分に興奮すると報告している。これらの研究報告と比較検討する目的で刺激強度は1mA、5mA、10mAとした。

4. EAが血圧および心拍数に及ぼす効果

本実験の結果から、非拘束覚醒下の正常血圧ラッ

トおよび高血圧ラットの片側後肢前脛骨筋へのEAによって血圧は上昇し、心拍数は増加する傾向がみられ、その反応の程度は刺激強度依存性に上昇し、反応時間は周波数依存性に持続する傾向がみられた。

正常血圧群について刺激条件別にみると、1mAの刺激強度ではいずれの周波数においても血圧および心拍数に有意な変化はみられず、II群線維の十分な興奮とIII群線維の部分的な興奮だけでは麻酔下ラットの平均動脈圧に変化が認められなかったとするNoguchi²⁷⁾らの報告と結果が一致した。さらにNoguchi²⁷⁾らはIII群線維が十分に興奮する1.5mAのEAでは、軽度ながら平均動脈圧は有意に上昇し、IV群線維が十分に興奮する2mA以上の刺激では平均動脈圧の著明な上昇が認められたと報告している。また、Sato²⁸⁾らは皮膚および筋に分布するIII群線維の刺激では、心拍数増加反応はそれぞれ70%および30%の割合で観察され、IV群線維の刺激では皮膚、筋ともに著明な心拍数増加反応が観察されたと報告している。本実験においても5mA以上の刺激強度ではすべての周波数で血圧上昇および心拍数増加が認められたことから、EAによる有意な血圧の上昇および心拍数の増加はIV群線維を求心性伝導路とする反応であるものと考えられる。

一方、高血圧群では、血圧反応に関しては刺激強度や周波数に関する一定の傾向を見出すには至らなかったものの、心拍数反応に関しては概ね5mA以上の刺激強度で各周波数とも有意な心拍数の増加が認められ、正常血圧群と同様の反応性が観察された。しかし、心拍数の増加率は正常血圧群に比して低く、しかも有意な心拍数増加が認められたのはEA中のみであり、正常血圧群で認められた持続的な反応はみられなかった。なお、5mA以上の刺激でも血圧に有意な上昇が認められなかった要因として、心拍数の増加により1回拍出量が減少し、そのため血圧の上昇が誘発されなかった可能性が考えられる。また持続的な反応がみられなかった要因として、DOCAラットを含めた高血圧モデル動物では圧受容体および交感神経系が高血圧領域へリセッティングされることが知られており^{29,30)}、このことが影響している可能性が考えられる。しかし、今回の検討では十分な結論が得られず、高血圧モデルラットにおける

EAによる交感神経系を介した血圧反応は、今後のさらなる検討が必要であるものと考えられた。

次いで、EAによる血圧上昇および心拍数増加反応に対する交感神経活動の関与を検討する目的で、薬理学的に交感神経活動を修飾した状態でEAを行った。EA条件は実験1。(EAの刺激条件の違いによる血圧および心拍数への影響)の結果から、EAにより有意に血圧上昇反応と心拍数増加反応をきたし、刺激後は速やかに刺激前値へと回復する傾向が観察された20Hz/10mAとした。なお、同様の理由から実験3.においてもEA条件は20Hz/10mAとした。

交感神経系による血圧調節は、交感神経 β 受容体を介して心拍数を増加させて血圧を上昇させる系と細動脈平滑筋の α 受容体を介して末梢血管を収縮させて末梢血管抵抗を亢進させ、それによって血圧を上昇させる系とがある。正常血圧ラットでは、 α 受容体遮断薬であるフェントラミンの前投与においてEAを行うと、刺激開始直後こそ一過性の血圧上昇および心拍数減少がみられるものの、薬剤投与を行わなかった時(実験1.)の反応と比較して、明らかな血圧上昇反応の消失が観察された。これに対して β 受容体遮断薬であるプロプラノロールの前投与においてEAを行うと、血圧上昇反応が観察され、これらの反応が持続した。これらの反応は高血圧群においても同様に観察された。

野口ら²⁶⁾は、麻酔下ラット足趾に20Hz/10mAのEAを行うと昇圧反応に伴う骨格筋血流の増加反応がみられ、これらの反応はプロプラノロールの前投与では何ら影響を受けなかったが、フェントラミンの前投与により消失したことから、EAによって起こる筋血流増加反応は内臓血管の α 受容体を介する昇圧反応に伴う受動的な反応であると報告している。麻酔の有無や刺激部位などの相違点はあるものの、本実験の結果も野口ら²⁶⁾の報告と結果が一致したことから、本実験におけるEAによる血圧上昇反応も、主に末梢交感神経 α 受容体を介した血管収縮により末梢血管抵抗が亢進し血圧上昇反応が誘発されているものと考えられた。なお、本実験では血圧低下あるいは心拍数減少例は観察されなかったが、このことは麻酔による交感神経抑制の影響が無かったことに起因しているものと考えられ、むしろ覚醒下ラットでは

EAにより交感神経活動が優位な状態が惹起され、と考えられた。

5. EAが視床下部室傍核の細胞外ノルエピネフリンに及ぼす効果

これまでEAによる自律神経活動を介した様々な反応が報告されているが、その中枢性作用を検討した報告は散見されるに過ぎない。Zhaoら³¹⁾は脳マイクロダイアリス法を用いて、EAが線条体でのアミノ酸神経伝達物質量の増加を誘発し、局所脳虚血による脳梗塞容積を減少させたと報告している。しかし、この報告も麻酔下ラットを用いた報告であり、非拘束覚醒下に脳マイクロダイアリス法を用いてEAの中枢性作用を検討した報告はこれまでのところ皆無である。したがって本実験は、麻酔下動物においてEAが循環動態に及ぼす影響を検討したこれまでの報告とは一線を画した位置づけになるものと考えている。

本実験の結果は当初の予測に反し、刺激前、刺激中および刺激後とも視床下部室傍核の細胞外ノルエピネフリン量に変化はみられず、EAによる血圧上昇および心拍数増加反応に血圧調節中枢としての室傍核の直接的な関与を示唆することができると成果は得られなかった。なお、脳マイクロダイアリス測定には正常血圧群9匹、高血圧群10匹を用いたが、測定を完遂し得たのは前者で7匹、後者で2匹であった。その主な要因は、頭部ガイドカニューレ固定術による侵襲が考えられるが、特に高血圧群では発育不良や体力低下、あるいは血管の脆弱性による易出血が著しかったため、測定の成功率が極端に低くなったものと考えられる。

室傍核の循環制御における役割に関して、Cirielloら³²⁾はSHRの室傍核を破壊するとSHRの高血圧進展が抑制されたことより室傍核が高血圧の発症および維持に関与することを示唆し、中田ら³³⁾は室傍核の電氣的破壊によりDOCAラットの高血圧進展が部分的に抑制されたと報告していることなど、高血圧の発症・維持に室傍核が重要な役割を担っていることが知られている。また、室傍核自身の刺激により血圧上昇^{8,34)}と心拍数増加³⁴⁾が認められたとする報告や、室傍核へのノルエピネフリンの微量注入により血圧は一過性に上昇することが知られており³⁵⁾、室傍核は主に昇

圧性に正負のフィードバックを行うことにより循環制御に関わっているものと考えられている。あるいは、Nakataら³⁶⁾やKawaら³⁷⁾は脳マイクロダイアリス法を用いて、ラットに飼育ゲージごとと攪拌する身体的ストレスを与えると平均動脈圧および心拍数が上昇し、同時に室傍核内ノルエピネフリンやnitric oxide量が増加したと報告しており、刺激による循環動態反応に室傍核が関与することを示唆している。

本実験結果から、EAによる体性感覚刺激が交感神経系に作用し血圧上昇および心拍数増加反応が誘発されているものと考えられるが、交感神経系による血圧調節機構のひとつに圧受容体反射が挙げられる。圧受容体反射に対する室傍核の作用様式は、直接の中継核でなく、むしろ修飾する部位であろうとCirielloら³⁴⁾は示唆しており、事実、室傍核の破壊により圧受容体反射の促進が認められたとBlessingら³⁸⁾が報告している。EAによる血圧上昇反応に圧受容体反射が介在しているのであるならば、室傍核では負のフィードバックによる循環制御を行ったため、ノルエピネフリン量に変化が認められなかったものと推察できる。少なくとも、ホルマリンの皮下投与による痛み刺激³⁹⁾や軽度のfootshock⁴⁰⁾、鼻先への空気の噴射(Air jet)による刺激⁴¹⁾などで室傍核のノルエピネフリン量は増加することから、本実験におけるEAにおいても室傍核へ何らかの入力がされていることが推測される。室傍核では、特に防衛反応時に1つの神経細胞が興奮すると、少なくとも2つ以上の交感神経が興奮すると考えられている⁴²⁾。Katafuchiら⁴³⁾の室傍核の刺激により副腎神経は興奮したが、一方で腎交感神経活動は抑制されたとする報告にもあるように、相異なる調節系のバランスによって全体としての血圧値が規定されている可能性が考えられる。あるいは、数多くの末梢受容器からの信号によって心血管系自律神経活動は影響を受けるが、皮膚の侵害受容器や骨格筋内の化学受容器などからの情報は弧束核や延髄腹外側野など脳幹内の神経核に伝えられる。この延髄腹外側野A1領域のノルアドレナリン系と弧束核からの室傍核への入力系は、血圧調節の重要な因子のひとつである室傍核パソプレシンニューロンに強力な抑制を与えていることが知られている⁴⁴⁾。

本実験の結果では、EAにより血圧は有意な上昇反応を示したものの室傍核の細胞外ノルエピネフリン量に有意な変動はみられず、EAによる血圧上昇反応には室傍核以外の血圧調節中枢である延髄腹外側野や弧束核などが強く関与している可能性が考えられる。しかし、この反応に室傍核が全く関与していない可能性はむしろ考えにくく、延髄腹外側野や弧束核などを含めた血圧調節中枢機構において室傍核へのEAによる入力为正負均衡していた可能性も考えられる。

もうひとつの要因として本実験では脳マイクロダイアリシス法の時間分解能は20分間であったが、Nakataら⁴⁰⁾の報告では5分間の測定を行っており、このためノルエピネフリン量の変化が有意とならなかった可能性も考えられる。今後の課題としては、時間分解能を向上させることにより、EAによる循環動態反応への室傍核の関与をより精密に解析する必要があると考えられ、また、延髄腹外側野や弧束核などの関連性を含めたさらなるデータの集積を行う必要性があるものと考えている。

V. 結 語

正常血圧WistarラットおよびDOCA食塩高血圧ラットを用いて、非拘束覚醒下での鍼通電刺激による循環動態反応を、血圧および心拍数を指標として刺激強度や周波数の違いから検討し、交感神経活動の関与を交感神経遮断薬の投与により検討した。また、脳マイクロダイアリシス法を用いて視床下部室傍核の細胞外ノルエピネフリン量を測定し、鍼通電刺激による循環動態反応の中枢性作用を検討した結果、下記の事項が明らかとなった。

1. 正常血圧ラットでは、5mA以上の鍼通電刺激により有意な血圧上昇および心拍数増加反応が誘発され、反応の程度は刺激強度依存性に増強し、反応時間は周波数依存性に持続する傾向が認められた。
2. 高血圧ラットでは、5mA以上の鍼通電刺激により有意な心拍数増加反応が誘発されたが、血圧反応に一定の傾向はみられなかった。また、血圧上昇および心拍数増加反応は刺激中のみに認められた。
3. 鍼通電刺激による血圧上昇反応は、交感神経 α 受容体遮断薬であるフェントラミンの

投与により消失し、 β 受容体遮断薬であるプロプラノロールの投与では影響されなかったことから、末梢交感神経 α 受容体を介する反応であることが示唆された。

4. 本実験における測定条件下では、鍼通電刺激前、刺激中および刺激後において室傍核の細胞外ノルエピネフリン量に時間経過における有意な変化はみられなかった。

以上のことから、非拘束覚醒下ラットに比較的刺激強度の強い鍼通電刺激を行うと血圧上昇および心拍数増加反応が誘発され、これらの反応は末梢交感神経 α 受容体を介する反応であることが示唆された。しかし、中枢機構を介した作用機序を解明するには至らず、今後の課題として、室傍核以外にも延髄腹外側野や弧束核などを含めたより詳細な血圧調節中枢機構における検討が必要であると考えられた。

謝 辞

稿を終えるにあたり、終止御懇切なる御指導と御校閲を賜りました明治鍼灸大学内科学教室・下尾和敏教授ならびに健康鍼灸医学教室・矢野 忠教授に深謝いたしますとともに、直接御指導、御鞭撻いただきました京都薬科大学臨床薬理学教室・中田徹男教授に謝意を表します。また、明治鍼灸大学臨床鍼灸医学Ⅰ教室・石崎直人講師、健康鍼灸医学教室・福田文彦講師、基礎鍼灸医学教室・新原寿志助手、健康鍼灸医学教室および臨床鍼灸医学教室の諸先生方に貴重な御助言と実験協力を戴きました。ここに深謝いたします。

参考文献

- 1) 廣 正基, 竹田太郎, 矢野 忠: 高血圧症に対する鍼灸治療の効果に関する文献的検討と今後の課題. 全日鍼学誌, 53 (1), 55-61, 2003
- 2) 高齢者の健康維持・増進に対する鍼灸治療の有用性に関する調査研究業績報告書. 財団法人日本公衆衛生協会, 1998
- 3) Nishijo K, Mori H, Yoshikawa K, et al: Decreased heart rate by acupuncture stimulation in humans via facilitation of cardiac vagal activity and suppression of cardiac sympathetic nerve. Neurosci. Lett. 227, 165-8, 1997
- 4) Sugiyama Y, Xue YX and Mano T: Transient increase in human muscle sympathetic nerve activity during manual acupuncture. Jpn. J.

- Physiol. 45, 337-45, 1995
- 5) 黒野由利子：心拍出量および筋交感神経活動に及ぼす鍼通電刺激の影響. 明治鍼灸医学, 29, 21-33, 2001
 - 6) Ohsawa H, Okada K, Nishijo K, et al : Neural mechanism of depressor responses of arterial pressure elicited by acupuncture-like stimulation to a hindlimb in anesthetized rats. J. Auton. Nerv. Sys. 51, 27-35, 1995.
 - 7) 小林 聡, 野口栄太郎, 大沢秀雄ら：鍼刺激によるラット心拍数減少反応の反射機序の検討. 全日鍼学誌, 48 (2), 120-9, 1998
 - 8) Kannan H, Hayashida T and Yamashita H : Increase in sympathetic outflow by paraventricular nucleus stimulation in awake rats. Am. J. Physiol. 256, R1325-30, 1989
 - 9) Shimokawa A, Jin QH, Ishizuka Y, et al : Effects of anesthetics on norepinephrine release in the hypothalamic paraventricular nucleus region of awake rats. Neurosci. Lett. 244, 21-4, 1998
 - 10) 金 承範, 大内尉義：高血圧の人工モデル作製法. 実験医学, 14 (12) (増刊), 128-9, 1996
 - 11) Paxinos G and Watson C : The rat brain in stereotaxic coordinates. 4th edn, Academic Press, New York, 1998
 - 12) Lin TB, Fu TC, Chen CF, et al : Low and high frequency electroacupuncture at Hoku elicits a distinct mechanism to activate sympathetic nervous system in anesthetized rats. Neurosci. Lett. 247, 155-8, 1998
 - 13) Yamashita H, Kannan H, Kasal M, et al : Decrease in blood pressure by stimulation of the rat hypothalamic paraventricular nucleus with L-glutamate or weak current. J. Auton. Nerv. Sys. 19, 229-34, 1987
 - 14) Nakata T, Takeda K, Itoh H, et al : Paraventricular nucleus lesions attenuate the development of hypertension in DOCA/salt-treated rats. Am. J. Hypertens. 2 (8) , 625-30, 1989
 - 15) 家森幸男：脳内アミンと血圧調節. 最新医学, 28 (11), 2135-43, 1973
 - 16) 竹田太郎, 福田文彦, 石崎直人ら：脳卒中易発症ラットにおける鍼灸刺激の高血圧および脳血管障害に対する予防効果の検討. 明治鍼灸医学, 28, 29-38, 2001
 - 17) Williams T : Effect of acupuncture-point stimulation on diastolic pressure in hypertensive subjects: a preliminary study. Phys. Ther. 71 (7) , 523-9, 1991
 - 18) 吉川恵士：本態性高血圧症の循環動態と低周波鍼通電療法の効果. 日温気物医誌, 60 (3), 149-67, 1997
 - 19) Chiu DT and Cheng KK : A study of the mechanism of the hypotensive effect of acupuncture in the rat. Am. J. Chin. Med. 2 (4), 413-9, 1974
 - 20) Li P, Sun FY and Zhang AZ : The effect of acupuncture on blood pressure: the interrelation of sympathetic activity and endogenous opioid peptides. Acupunct. Electrother. Res. 8 (1), 45-56, 1983
 - 21) Sato A, Sato Y, Suzuki A, et al : Reflex modulation of catecholamine secretion and adrenal sympathetic nerve activity by acupuncture-like stimulation in anesthetized rat. Jpn. J. Physiol. 46, 411-421, 1996
 - 22) Lee GT : A study of electrical stimulation of acupuncture locus Tsusanli (St-36) on mesenteric microcirculation. Am. J. Chin. Med. 2 (1), 53-66, 1974
 - 23) Jin YX, Fu Q and Guo XQ : Effects of electroacupuncture of "Zusanli" acupoint on high blood pressure and blood hyperviscosity in stress rats. J. Tongji. Med. Univ. 12 (4), 209-215, 1992
 - 24) Li L, Yin-Xiang C, Hong X, et al. Nitric oxide in vPAG mediates the depressor response to acupuncture in stress-induced hypertensive rats. Acupunct. Electrother. Res. 26 (3), 165-70, 2001;
 - 25) Ohsawa H, Yamaguchi S, Ishimaru H, et al : Neural mechanism of pupillary dilation elicited by electro-acupuncture stimulation in anesthetized rats. J. Auton. Nerv. Sys. 64, 101-6, 1997
 - 26) 野口栄太郎, 小林 聡, 大沢秀雄ら：鍼通電刺激によるラット骨格筋血流増加反応の神経性調節機構. 自律神経, 36 (1), 56-63, 1999
 - 27) Noguchi E, Ohsawa H, Kobayashi S, et al : The effect of electro-acupuncture stimulation on the muscle blood flow of the hindlimb in anesthetized rats. J. Auton. Nerv. Sys. 75, 78-86, 1999
 - 28) Sato A, Sato Y and Schmidt RF : Heart rate changes reflecting modifications of efferent cardiac sympathetic outflow by cutaneous and muscle afferent volleys. J. Auton. Nerv. Sys. 4, 231-47, 1981
 - 29) 本態性高血圧のモデルとしての高血圧自然発症ラット (SHR) の位置づけ. 医学のあゆみ 189 (3), 151-208, 1999
 - 30) Takeda K and Bunag RD : Augmented sympathetic nerve activity and pressor responsiveness in DOCA hypertensive rats. Hypertension. 2, 97-101, 1980
 - 31) Zhao P and Cheng J : Effects of electroacupuncture on extracellular contents of amino acid neurotransmitters in rat striatum following transient focal cerebral ischemia. Acupunct. Electrother. Res. 22 (2), 119-26, 1997
 - 32) Ciriello J, Kline RL, Zhang T, et al : Lesions of paraventricular nucleus alter the development of spontaneous hypertension in the rat. Brain. Res. 310, 269-76, 1984

- 33) 中田徹男, 武田和夫, 伊東 宏ら : DOCA食塩高血圧症における交感神経活動亢進に及ぼす視床下部室傍核破壊の影響. 自律神経, 26 (2), 141-5, 1989
- 34) Ciriello J and Calaresu FR : Role of paraventricular and supraoptic nuclei in central cardiovascular regulation in the cat. *Am. J. Physiol.* 239, R137-42, 1980
- 35) Nakamura K, Ono T, Fukuda M, et al : Paraventricular neuron chemosensitivity and activity related to blood pressure control in emotional behavior. *J. Neurophysiol.* 67 (2), 255-64, 1992
- 36) Nakata T, Berard W, Kogosov E, et al : Cardiovascular changes and hypothalamic norepinephrine release in response to environmental stress. *Am. J. Physiol.* 264 (4 Pt 2), R784-9, 1993
- 37) Kawa T, Takeda K, Harada S, et al : The role of the hypothalamic nitric oxide in the pressor responses elicited by acute environmental stress in awake rats. *Life. Sci.* 71, 1429-38, 2002
- 38) Blessing WW and Willoughby JO : Excitation of neuronal function in rabbit caudal ventrolateral medulla elevates plasma vasopressin. *Neurosci. Lett.* 58 (2) , 189-94, 1985
- 39) Palkovits M, Baffi JS and Pacak K : The role of ascending neuronal pathways in stress-induced release of noradrenaline in the hypothalamic paraventricular nucleus of rats. *J. Neuroendocrinol.* 11, 529-39, 1999
- 40) Ishizuka Y, Ishida Y, Jin QH, et al : Differential profiles of nitric oxide and norepinephrine releases in the paraventricular nucleus region in response to mild footshock in rats. *Brain. Res.* 862 (1-2) , 17-25, 2000
- 41) Jin QH, Kunitake T, Ishizuka Y, et al : Increase in norepinephrine but not nitric oxide metabolite levels in the hypothalamic paraventricular nucleus region in response to air jet and swing rotation in freely moving conscious rats. *Brain. Res.* 876 (1-2), 205-10, 2000
- 42) Jansen ASP, Nguyen XV, Karpitskiy V, et al : Central command neurons of the sympathetic nervous system: basis of the fight-or-flight response. *Science.* 270, 644-6, 1995
- 43) Katafuchi T, Oomura Y, and Kurosawa M : Effects of chemical stimulation of paraventricular nucleus on adrenal nerve activity in rats. *Neurosci. Lett.* 86, 195-200, 1988
- 44) 山下 博, 河南 洋, 前田正信著 : 脳と循環-血圧は脳によって調節される-. 共立出版株式会社, 東京, pp90-120, 1998

The Effect of Electroacupuncture on Cardiovascular Functional Changes and Extracellular Norepinephrine in the Hypothalamic Paraventricular Nucleus in Freely Moving Conscious Rats : A Microdialysis Study

[†]TAKEDA Taro

*Department of Internal Medicine, Clinical Medicine of Acupuncture and Moxibustion,
Graduate School of Acupuncture and Moxibustion, Meiji University of Oriental Medicine*

Abstract

Aim and Methods : The effect of electroacupuncture (EA) applied at the hindlimb with various intensities and frequencies on the mean arterial pressure (MAP) and heart rate (HR) were investigated in freely moving conscious normotensive Wistar (NT) and deoxycorticosterone acetate salt hypertensive (HT) rats. The acupuncture point Zusanli (ST-36) was electrically stimulated for 10 minutes at frequencies of 1, 20 and 100Hz as combinations with currents of 1, 5 and 10mA. Moreover, the effects of EA on norepinephrine (NE) release in the hypothalamic paraventricular nucleus (PVN) were measured using brain microdialysis.

Results : In NT rats, EA at 5mA and 10mA evoked significant increases in MAP and HR, which were intensity- dependent and the recovery time was varied according to the frequency. In HT rats, EA at 5mA and 10mA also elicited significant increases in HR, but not MAP, which were rapidly recovered after the termination of EA. These responses were eliminated by intravenous injection of phentolamine (sympathetic α blocker), but not influenced by intravenous injection of propranolol (sympathetic β blocker). However, EA had no significant effect on NE releases in the PVN of both NT and HT rats.

Conclusions : EA at the hindlimb induced increases in MAP and HR, which was caused passively by the activation of α sympathetic receptors, showing no correlation with NE release in the PVN. Since there were no changes in the extracellular NE level in PVN, ventrolateral medulla (VLM) or nucleus tractus solitarius (NTS) may be involved in the pressor response to the EA as a blood pressure regulatory center other than PVN. Although there was a possibility that the EA had effect on the PVN, the effect to the VLM or NTS might be stronger than those in the PVN. Further roles of PVN, VLM and NTS in the response to the EA at the hindlimb are issue of future investigations.

Received on December 1, 2003 : Accepted on January 13, 2004

[†]To whom correspondence should be addressed.

Meiji University of Oriental Medicine, Hiyoshi-cho, Funaigun, Kyoto 629-0392, Japan