

ヒトでの鍼刺激によるインターロイキン6の産生

†水沼 国男¹⁾, 渡辺 勝之²⁾, 林田 一志³⁾, 北小路 博司¹⁾,
塚本 紀之³⁾, 糸井 マナミ³⁾, 雨貝 孝³⁾

¹⁾ 明治鍼灸大学 経絡経穴学 ²⁾ 明治鍼灸大学 鍼灸診断学

³⁾ 明治鍼灸大学免疫・微生物学

要旨: 局所への物理的刺激, 組織障害, 異物の侵入により局所の線維芽細胞や血管内皮細胞などがサイトカイン産生を行うことが知られている。鍼灸治療は, 皮膚からの刺激による微小な組織障害を伴う。そこで, 我々は鍼灸刺激により末梢血中でのサイトカインの活性が認められるかどうかを検討した。健康成人男子ボランティア19名を対象に, 左右の合谷穴 (LI4) に30分間置鍼し, 刺激前及び, 3, 6, 24, 48時間後に採血を行い血清を採取し, 血清中のインターロイキン6 (IL-6), インターロイキン1 β (IL1- β), インターフェロン- γ (IFN- γ), Tumor necrosis factor- α (TNF- α) を, ELISA法を用いて測定した。鍼刺激により, 血中にIL-6, IL1- β の産生が認められた。しかし, IL-6とIL1- β が必ずしも同一個体で同時に産生されるわけではなかった。これらの結果から, ヒトにおいても鍼刺激で誘導されるサイトカインが生体の免疫反応系の調節に関与する可能性が示唆された。

I はじめに

皮膚から外因性の生体刺激が入ると, 局所の線維芽細胞, 肥満細胞, 血管内皮細胞や, 血管から遊走して来た白血球から, 顆粒球単球刺激因子, 単球コロニー刺激因子, インターロイキン-1 (IL-1), インターロイキン-6 (IL-6), 腫瘍壊死因子- α (TNF- α), インターフェロン- γ (IFN- γ), などのサイトカインや走化性因子 (ケモカイン) が産生され炎症反応が惹起されることはよく知られている^{1, 2)}。またこれらのサイトカインのIL-6, IL-1, TNF- α は, 局所反応の調節ばかりでなく, 発熱, 摂食抑制などの中枢性の反応調節にもあずかっていることが知られている³⁾。

鍼灸刺激は, 局所皮膚からの微小な組織損傷を起こすことにより生体の反応をひき起こす。これまで鍼灸刺激により, 血管透過性の亢進⁴⁾, 肥満細胞の活性化⁵⁾, 血小板の活性化⁶⁾ が引き起こされることが知られている。この点からみると, 鍼灸刺激も, マイルドではあるが炎症性の刺激としての側面ももつことが示唆される。他方, 鍼灸治療は, 古くから, 生体の自然治癒力を高めることによって生体の恒常性の維持に働くとしてい

る。この点でも, 免疫系の調節に鍼灸が関わっていることが示唆されている⁷⁾。

そこで我々は, 健康成人ボランティアに鍼刺激を行うことにより, 血中でのサイトカインが変動するか否か, あるいは産生が誘導されるかどうかについて検討を加えた。

II 対象及び方法

1) 対象

健康成人男子ボランティア19名, 年齢22~30才 (平均26.4才) を対象とした。

2) 鍼刺激

実験は午前9時より午後1時まで開始し, 鍼刺激群には, 初回採血終了後ベットに仰臥位で安静にさせ, 両側の合谷穴 (LI4) に40mm 20号鍼にて30分間置鍼を行った。無刺激対照群では, 採血のみ行った。

3) 採血及び血清の保存

鍼刺激群では, 刺激前, 刺激終了後3, 6, 24, 48時間の計5回前腕より末梢血をそれぞれ5mlずつ採取した。採血のみの無刺激群でも, 刺激群と合わせたスケジュールで採血した。採取した血液

平成9年1月8日受付, 平成9年2月26日受理

Key Words: ヒト Human subject 鍼刺激 Acupuncture stimulation インターロイキン-1 Interleukin-1
インターロイキン-6 Interleukin-6

†連絡先: 〒629-03 京都府船井郡日吉町 明治鍼灸大学 経絡経穴学

は、4℃、3000 r.p.mで、10分間遠心して血清を分離後、500 μ l ずつマイクロチューブに分注し、サイトカインアッセイまで-80℃で保存した。

4) サイトカインアッセイ

IL-6は、トーレ・フジバイオニクス社製、IL1- β 、IFN- γ 、TNF- α は、Medaenic社製のELISA Kitを用い測定を行った。

III 結果

1. 鍼灸刺激による血清中IL-6の産生

健康成人男子への鍼刺激前後における血清中のIL-6を測定した (Fig 1)。IL-6が、鍼刺激前に検出されたものは19例中3例で、鍼刺激3時間から48時間後にもIL-6の活性が認められた。鍼刺激前にIL-6が検出されなかった16例のうち13例は、鍼刺激後3～48時間後に末梢血中にIL-6の産生誘導が認められ、残りの3例では、実験開始より48時間後までにIL-6の産生が認められなかった。鍼刺激によりIL-6産生誘導の認められた13例での血清中のIL-6濃度のピークは、6例は3時間後、1例は6時間後、4例は24時間後、2例は48時間後に認められた。

マウスでは、頻回の採血刺激のみでIL-6の産生が認められたことから、ヒトでは採血のみの対照群において血清中のIL-6を測定した (Fig.2)。初回採血時に末梢血中にIL-6が検出されたものはなかった。採血操作のみでIL-6が検出されたものは、10例中4例あったが、産生量は鍼刺激群に比べて、明らかに少なかった。この結果より、鍼刺激が血清中にIL-6の産生を誘導することが示唆された。

2. 鍼刺激によるIL1- β の産生

健康成人男子の鍼刺激前後での血清中のIL-1 β を19例について測定した (Fig. 3)。刺激前よりIL1- β が検出されたものは、6例であった。刺激前にI

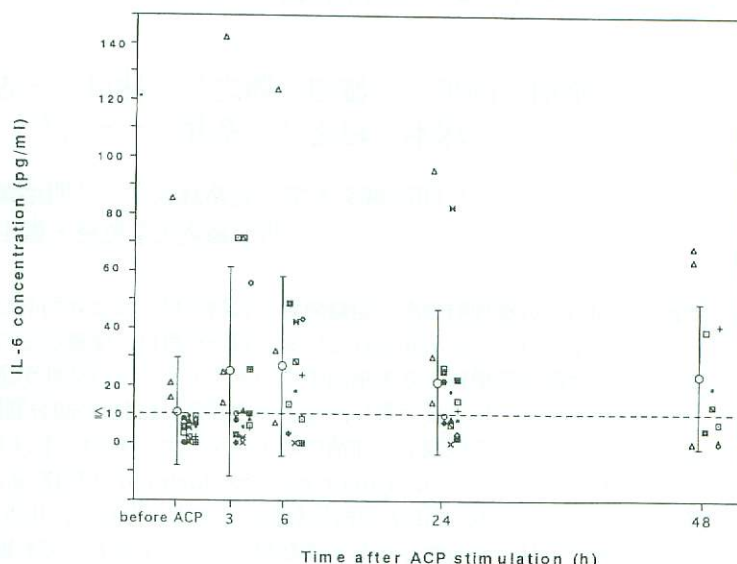


Fig.1 健康成人ボランティアでの鍼刺激後の血清中IL-6

鍼刺激群：合谷穴 (LI4) 置鍼30分による、鍼刺激前・刺激後3, 6, 24, 48時間の血清IL-6の濃度を示した。波線は検出限界 (10pg/ml以下) を示す。△は、鍼刺激前よりIL-6が検出されたもの、●は、全時間にIL-6が検出されなかったもの、鍼刺激後にIL-6が検出された個体ごとの値は、異なった印で示す。MEAN±SDは、○とバーで示す。合計N=19 (刺激後の採血は2～4回とした。)

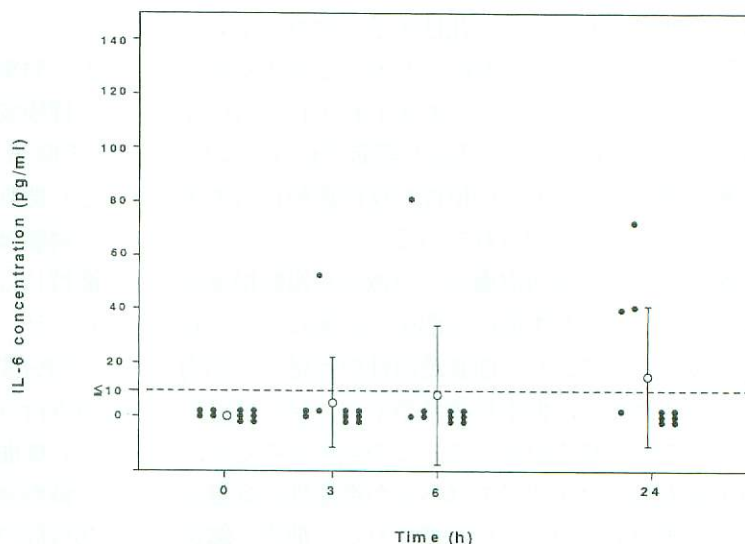
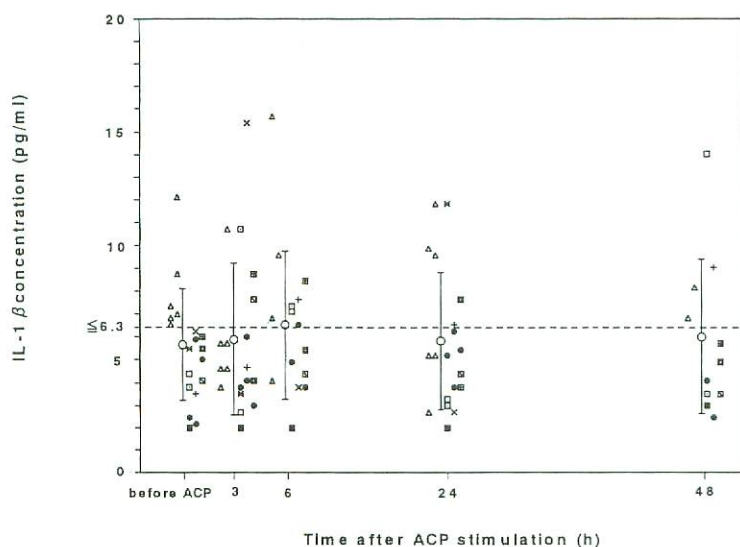
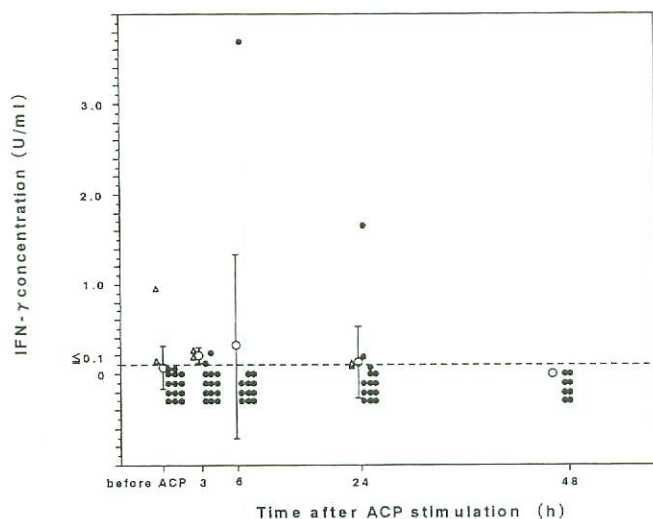


Fig.2 健康成人ボランティアでの無刺激群での血清中IL-6

無刺激対照群：採血のみのコントロールにおける血清IL-6の濃度を示した。初回採血、採血後3, 6, 24時間の血清IL-6の濃度を示した。波線は検出限界 (10pg/ml以下) を示す。MEAN±SDは、○とバーで示す。N=10とした。


 Fig.3 健康成人ボランティアでの鍼刺激後の血清中IL1- β

鍼刺激群：合谷（LI4）置鍼30分による鍼刺激前・刺激後3、6、24、48時間の血清IL1- β の濃度を示した。波線は検出限界（0.3pg/ml以下）を示す。 Δ は、鍼刺激前よりIL1- β が検出されたもの、 $\bullet$ は、全時間にIL1- β が検出されなかったもの、鍼刺激後にIL1- β が検出された個体ごとの値は、異なる印で示す。MEAN $\pm$ SDは、 $\circ$ とバーで示す。合計N=19（刺激後の採血は2～4回とした。）


 Fig.4 健康成人ボランティアでの鍼刺激後の血清中 IFN- γ

鍼刺激群：合谷（LI4）置鍼30分による鍼刺激前・刺激後3、6、24、48時間の血清IFN- γ の濃度を示した。波線は検出限界（0.1U/ml以下）を示す。 Δ は、鍼刺激前にIFN- γ が検出されたもの、 $\bullet$ は、全ての時間にIFN- γ が検出されなかった個体ごとの値を示す。MEAN $\pm$ SDは、 $\circ$ とバーで示す。合計N=16（刺激後の採血は2～4回とした。）

IL1- β が検出されなかった13例のうち9例では、鍼刺激後IL1- β の産生が認められ、残りの4例ではIL1- β の産生は全く検出されなかった。血清中のIL1- β 濃度のピークは刺激3時間後に4例、6時間後に1例、24時間後に2例、48時間後に2例認められた。この結果より鍼灸刺激で、IL-6と同様IL1- β も産生されることが示唆された。

IL1- β とIL-6のいずれかが鍼刺激前に検出された7例を除いた12例のうち、IL1- β とIL-6の両方が同時に検出できた例は、3時間後で1例、6時間後で3例、24時間後では全くなく、48時間後で2例であった。この結果は、必ずしもIL1- β とIL-6が同時に産生されるのではないことを示唆している。

3. 鍼刺激では血清中のIFN- γ やTNF- α は誘導されない

健康成人男子の鍼刺激前後における血清中のIFN- γ とTNF- α を測定した（Fig 4, 5）。鍼刺激前よりIFN- γ の産生が認められたものは16例中2例あった。鍼刺激後に1例では刺激後6時間と24時間後に著明なIFN- γ 活性が認められたが、他の13例では、鍼刺激後においてIFN- γ 産生誘導は認められなかった。

TNF- α は19例中2例では、鍼刺激前に活性が認められた。鍼刺激後には、さきの2例のうち1例と刺激前に検出されなかった1例のみでTNF- α の活性が認められた。16例では、刺激前及び刺激後48時間までのすべての点でTNF- α が検出されなかった。これらの結果から、鍼刺激によって血中のIFN- γ やTNF- α は誘導されないことが示唆された。

IV 考 察

今回我々は、ヒトへの鍼刺激後に末梢血中に（1）IL1- β とIL-6が誘導されること、（2）IL1- β とIL-6が必ずし

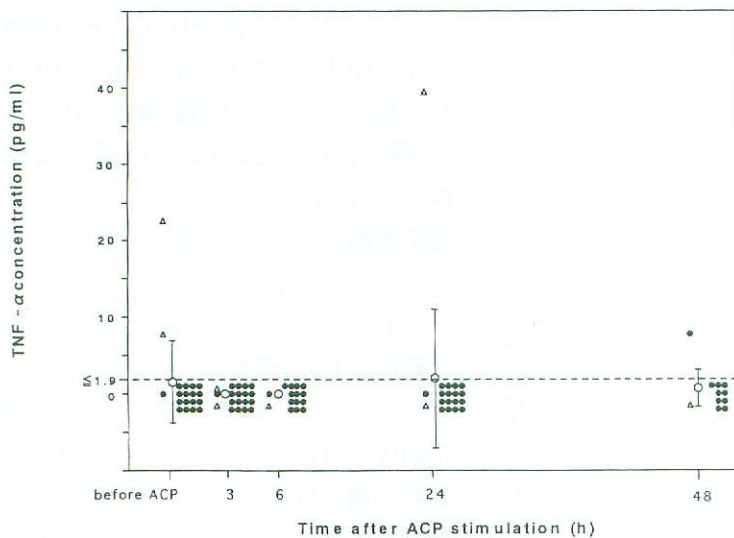


Fig.5 健康成人ボランティアでの鍼刺激後の血清中 TNF- α

鍼刺激群：合谷（LI4）置鍼30分による鍼刺激前・刺激後3, 6, 24, 48時間の血清TNF- α の濃度を示した。波線は検出限界（1.9pg/ml以下）を示す。 Δ は、鍼刺激前にTNF- α が検出されたもの、●は、全ての時間にTNF- α が検出されなかった個体ごとの値を示す。MEAN $\pm$ SDは、○とバーで示す。合計N=19（刺激後の採血は2～4回とした。）

も同一個体で同時に産生されるわけでないこと、
(3) これらのサイトカインの産生には個体差があり、一部に不応答の個体も存在し、産生量のピークも一定ではないことを示した。

IL1- β や、IL-6の生体内での役割としては、免疫系細胞の活性化と共に、肝臓における急性期蛋白の誘導や、中枢への作用も知られている。鍼灸刺激では、一過性にサイトカインが誘導されることにより、初期防御系が賦活化されるのではないかと考えられる。このことは、鍼灸の“未病治”の効果と関連して、感染予防の面からも今後のより詳細な検討が必要であろう。

鍼刺激が、他の炎症性の刺激と異なる点として、産生されるサイトカインが、IL1- β とIL-6に限定されているという点にあり、このことから、鍼刺激が、選択的な細胞反応を誘導する可能性が示唆された。

塚本らは⁸⁾、マウスを用いた場合、血中IL-6が鍼灸刺激ばかりでなくストレス刺激によっても誘導されることを示した。また、ラット⁹⁾やヒト¹⁰⁾でも同様にストレス刺激によりIL-6が上昇することが報告されている。塚本らは⁸⁾ ストレスと鍼

灸刺激では、IL-6の産生パターンが異なることを示している。今後サイトカイン産生という面から、鍼灸刺激とストレス刺激の差異を明確にして行くことも重要であろう。また、鍼灸の臨床効果とIL1- β とIL-6の産生との関連についても今後の検討課題と考える。

V 謝 辞

本研究を行うにあたり、ご助言ご指導いただいた現バイオカレッジ京都の酒井ゆうこ先生に深謝いたします。

VI 参考文献

- 1) Baumann, H. & Gauldie, J.: The acute phase response. *Immunology Today*, 15; 74-80. 1994.
- 2) 松原 司, 廣畑 和志: 炎症と血管新生, 実験医学 9; 121-126. 1991.
- 3) 宮園 浩平, 菅村 和夫: サイトカイン・増殖因子, 実験医学別冊 1995.
- 4) Okazaki M., et al.: Effects of single Moxibustion on cutaneous blood vessel and microvascular permeability in mice. *Am J Chin Med*, 18; 121-130. 1990.
- 5) 林田 一志ほか: 灸刺激によっておこる血清滲出反応への肥満細胞の関与, 全日本鍼灸学会誌 44; 50. 1994.
- 6) Okazaki, M., et al.: Effect of single and multiple Moxibustions on activity of platelet function, Blood Coagulation and fibrinolysis in mice. *Am J Chin Med*, 18; 77-85. 1990.
- 7) 雨貝 孝, 糸井マナミ, 鍼灸医学と免疫システム, 全日本鍼灸学会雑誌, 46: 315-325. 1996.
- 8) 塚本 紀之ほか: ストレス及び鍼灸刺激によるIL-6の産生誘導. 日本免疫学会記録, 22; 287. 1992.

9) LeMay L G, Vander A J, Kluger M G: The effect of psychological stress on plasma Interleukin-6 activity in rats. *Physiology and Behavior*, 47: 957-961, 1990.

10) Kronfol Z, et al. : Electroconvulsive therapy increases plasma level of Interleukin-6. *Ann. N.Y. Acad Sci*, 594: 463-465. 1990.

Interleukin-6 Production by Acupuncture Stimulation in Human Subjects

MIZUNUMA Kunio¹, WATANABE Katsuyuki², HAYASHIDA Itsushi³,
KITAKOJI Hiroshi¹, TSUKAMOTO Noriyuki³, ITOI Manami³,
and AMAGAI Takashi³

¹Department of Meridian and Acupoint, ²Department of Diagnostic Acupuncture and Moxibustion, ³Department of Immunology and Microbiology, Meiji University of Oriental Medicine

Summary: Physical stimulation, tissue injury, or infection induce inflammatory cytokine production in local fibroblasts, endothelial cells and inflammatory cells. Acupuncture treatment causes local slight tissue damage. Therefore, we investigated inflammatory cytokine production after acupuncture stimulation in human subjects. Healthy adult volunteers (22-30 yr male) were treated with acupuncture for 30 min at LI4. Peripheral blood was collected before and at various intervals after stimulation. Serum cytokines were assayed using ELISA kits. Significant amounts of IL-1- β and IL-6 production was observed after the acupuncture stimulation. However, IFN- γ and TNF- α were not detected in those sera. Our results suggest that acupuncture treatment may regulate immune response through the cytokine production.