

## マウス移植腫瘍の増殖に及ぼす 施灸刺激と漢方薬投与の影響

†塚越大晃<sup>1</sup> 篠原昭二<sup>2</sup> 咲田雅一<sup>3</sup>

<sup>1)</sup> 明治鍼灸大学大学院 鍼灸臨床医学 <sup>2)</sup> 明治鍼灸大学 鍼灸診断学教室

<sup>3)</sup> 明治鍼灸大学 外科学教室

**要旨:** マウスの移植腫瘍の増殖に及ぼす施灸刺激と小柴胡湯投与の影響を検討した。施灸刺激は、腫瘍移植直後より4日毎に両側腎臓相当部位に0.6mgの艾を施灸し、小柴胡湯投与は、移植2週間前より連続4週間、餌に混ぜて摂食させた。腫瘍移植15日目の腫瘍・脾臓重量、脾細胞のNK活性、リンパ球芽球化反応を測定した。その結果、①施灸刺激は腫瘍の増殖を促進したが、小柴胡湯は抑制的に作用し、両者を併用した場合に最も腫瘍増殖が抑制された。②NK活性は、施灸刺激で抑制されるが、小柴胡湯投与により促進する傾向が見られ、両者を併用するとそれ以上に促進された。③施灸刺激は、Con-A、PHAおよびLPSに対するリンパ球芽球化反応を増強するが、小柴胡湯投与では明らかに抑制された。しかし、両者を併用すると、小柴胡湯による芽球化反応の抑制効果は見られなくなった。

以上のことから、施灸に小柴胡湯を併用すると、NK細胞が活性化され、また、芽球化反応も促進することによって、腫瘍の増殖が抑制される可能性が示唆された。

### I. 緒言

灸治療は生体の免疫機能に影響して自然治癒力を高めるといわれ、古くから様々な疾病の治療や予防に応用されてきたが、その作用機序についてはあまり明らかにされていないのが現状である。野間ら<sup>1)</sup>、篠原ら<sup>2)</sup>、宇都宮ら<sup>3)</sup>は灸刺激は、免疫応答を活性化して移植腫瘍細胞の増殖に抑制的に働くことを報告している。一方、鍼灸刺激が生体免疫学的パラメータにおよぼす影響は再現性が乏しく、また効果も薬物によるものほど顕著に出現しないこと、また、自律神経を介した研究では、一定の刺激を与えても特定の器官の状況（興奮もしくは減弱等）によって二相性の反応を示すことが報告され<sup>4)</sup>、単純に理解することが非常に難しいのが現状である。

鍼灸治療とならんで東洋医学的な方法の一つである漢方薬治療は、癌に対する Biological Response Modifier (BRM) の一つとして徐々に注目されるようになってきた。代表的な漢方方

剤の一つである小柴胡湯は副作用が比較的少なく、従来からその消炎作用や細胞膜保護作用などが注目されて、慢性肝疾患の治療に用いられてきた。また、網内系賦活作用、IL-1、TNFやインターフェロン $\gamma$ 等の誘導能（間接作用）、あるいはアポトーシス誘導能（直接作用）等を介した抗腫瘍作用などが注目されている<sup>5)</sup>。

中国における『金匱要略』には、「漢方薬が内を攻め、鍼灸が外を攻めれば癒えざるものなし」といった記載がみられるが、鍼灸及び漢方薬の単独治療より、両者を併用してその効果を増強することが可能であれば非常に有用である。

そこで本実験は、抗腫瘍効果があるとされる小柴胡湯投与と灸刺激を併用した場合の腫瘍増殖に及ぼす影響について検討した。さらにこの際の宿主の免疫能の変化を脾臓重量の変化、脾細胞のNK細胞活性、およびマイトジェンに対する芽球化反応などを指標にして検討した。

平成9年7月8日受付、平成9年10月27日受理

**Key Words:** ルイス肺癌細胞 Lewis lung carcinoma, 灸 Moxibustion, 小柴胡湯 Syo-saiko-to (TJ9), NK細胞活性 Natural killer activity,

脾リンパ球芽球化反応 Blastogenic responses of splenic lymphocytes

†連絡先: 〒629-0392 京都府船井郡日吉町 明治鍼灸大学 経絡経穴学



## II 材料, 方法

### [1] 実験材料

#### (1) 実験動物

SPF条件下に飼育された4~5週令のC57BL/6雄性マウス(体重約15~18g, 日本 SLC K. K.)を使用した。

#### (2) 実験腫瘍

血行性肺転移形成能の高い Lewis lung carcinoma (森下ルセルK. K 研究所から分与)を用い Trocar で腫瘍細片をマウス右腰部に継代移植したものを使用した。

(3) 施灸刺激 両側腎俞穴相当部位に半米粒大艾(0.6mg)を1壮ずつ施灸した。なお, 本研究では施灸部位が背部であるので, マウスをゲージの金網の上にのせ, 尻尾のみを保持して手早く灸をのせて点火し, 拘束ストレスを出来る限り少なくするように努めた。

(4) 漢方薬 小柴胡湯(ツムラ K. K 小柴胡湯エキス剤)を1%の割合で餌(CMF 特殊繁殖用)に添加したもの(オリエンタル酵母工業 K. K 製)を使用した。1%小柴胡湯添加固型飼料の平均摂食量は約76g/4週/匹であり, 概算での1日あたりの小柴胡湯の投与量は約27.1mg/匹であった。

### [2] 方法

#### (1) 実験群

各群を6匹とし, コントロール群, 毎4日施灸群, 小柴胡湯投与群, 毎4日施灸と小柴胡湯投与の両方を行う併用群, 無処置対照群の5群で行った。なお, コントロール群, 小柴胡湯投与群には

施灸刺激時に施灸群と同様のハンドリング操作のみを行った。実験群となる4群に対しては, マウスの右足趾部に Lewis lung carcinoma 細胞を  $5 \times 10^4$  cells/0.05 ml 移植した。移植直後より2週間, 4日毎に4回, 両側腎俞穴相当部位に半米粒大艾(0.6mg)を1壮ずつ施灸した。小柴胡湯投与に関しては, 移植2週間前より始め, 連続4週間, 1%小柴胡湯添加固型飼料を餌に混じて自由に摂食させた。一方, 小柴胡湯非投与群では, 小柴胡湯を添加していない固型飼料を与えた。そして移植後15日目にマウスを処死し, 以下に示す検討を行った(Fig. 1)。

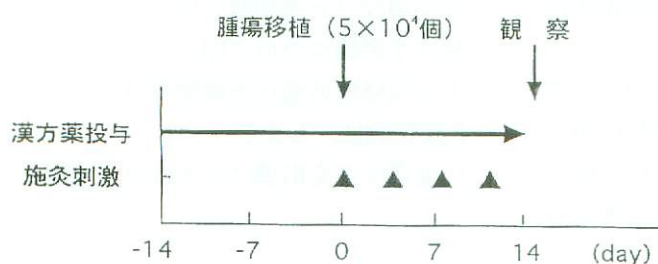
#### (2) 腫瘍重量, 脾臓重量の測定

腫瘍重量は, 腫瘍移植後15日目に Cervical dislocation でマウスを処死して, 右足趾部に移植した腫瘍の大きさを肉眼的に比較し, その中から最も大きなものを基準として慎重にマウス下腿部の切断部位を決めた。そして, 移植腫瘍を含めた右下肢重量を FX-300 電子天秤(A & D)にて計測して, これらの測定値から無処置対照群で求めた右足趾部の重量の平均値を差し引いたものを腫瘍重量の近似値と考えた。

また, 脾臓重量は, 処死したマウスを70%エタノールにてよく消毒し, クリーンベンチ内で脾臓を無菌的に摘出して, Tissue culture dish (Corning) に入れ, 電子天秤にてその重量を計測した。

#### (3) 脾細胞浮遊液の作成

脾臓重量の測定の際に無菌的に摘出し, Tissue culture dish に入れられたマウスの脾臓に RPMI 1640 培養液(和光純薬)を注ぎ, Micro slide



【▲：施灸刺激】



Fig. 1 施灸スケジュールと施灸部位

施灸刺激は, Lewis 肺癌細胞移植直後より, 4日毎に4回両側腎俞穴相当部位に半米粒大艾(0.6mg)を1壮ずつ施灸し, 漢方投薬は, 移植2週間前より始め, 連続4週間行った。そして腫瘍移植後15日目にマウスを処死し観察した。

glass (Iwaki) を用いてすり潰し, wire mesh で濾過した. 次に, 濾液を遠心分離 (1000 r.p.m., 5 min) し, 上清を取り除いた後, Tris-NH<sub>4</sub>Cl 緩衝液 (pH 7.65) を加えて遠心分離 (1000 r.p.m., 5 min) して赤血球を溶血除去し, さらに RPMI 1640 培養液で3回洗浄した. 次に, 脾細胞数が  $1 \times 10^7$  cells/ml になるように細胞数を調整し RPMI 1640 培養液に浮遊させた.

#### (4) NK細胞活性の測定

菊池ら<sup>6)</sup>の <sup>51</sup>Cr標識細胞障害試験を用いてNK細胞活性を測定した. Target細胞には Balb/c 由来 RL male 1細胞を用いた.  $1 \times 10^7$  cells/ml 以上の RL male 1細胞を遠心分離 (1000 r.p.m., 5 min) して, その上清を除いた沈渣にクロム酸ナトリウム (Na<sub>2</sub><sup>51</sup>CrO<sub>4</sub>, Amersham) を 0.1 ml 加え, 37°C の恒温槽にて振とうしながら60分間標識した. 標識終了後に細胞を3回洗浄した. そして, 96穴円底マイクロプレート (Nunc) に Effector cell : Target cell の比率が 25 : 1 および 12.5 : 1 となるように1wellあたり  $5 \times 10^5$  cells/100μl, あるいは  $2.5 \times 10^5$  cells/100μl の脾細胞と  $2 \times 10^4$  cells/100μl の RL male 1細胞を混合した. また, Maximum release の測定用 well

には  $2 \times 10^4$  cells/100μl の Target cell に 2 % ドデシル硫酸ナトリウム (和光純薬) 100 μ を, Spontaneous release には 10% FCS 加 RPMI 1640 培養液 100μl を加え, 遠心 (1500 r.p.m., 30 sec.) した後, 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 条件下で6時間の培養を行った. 培養終了後に遠心 (1500 r.p.m., 10 min.) し, 各 Well ごとに上清をマイクロピペットで 100μl ずつチューブ (Falcon) にとり, Target cell から浮遊した <sup>51</sup>Cr を γ カウンター (Aloka ARC-605) で測定した.

NK細胞活性 (%) は以下の式より算出した.

$$(\text{Experimental release} - \text{Spontaneous release}) / (\text{Maximum release} - \text{Spontaneous release}) \times 100$$

#### (5) 脾リンパ球芽球化反応の測定

96穴平底マイクロプレート (Nunc) に 1 well あたり 10% FCS 加 RPMI 1640 培養液に浮遊した脾リンパ球  $5 \times 10^5$  cells/200μl を分注し, 各 well に予備実験で至適濃度を確かめた Con-A (Difco) 0.2μl/20μl, LPS (Difco) 2μl/20μl, PHA (Difco) 20μl/20μl のマイトージェンを各々添加後, 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 条件下で72時間の培養を行った. また, 対照として Con-A, LPS,

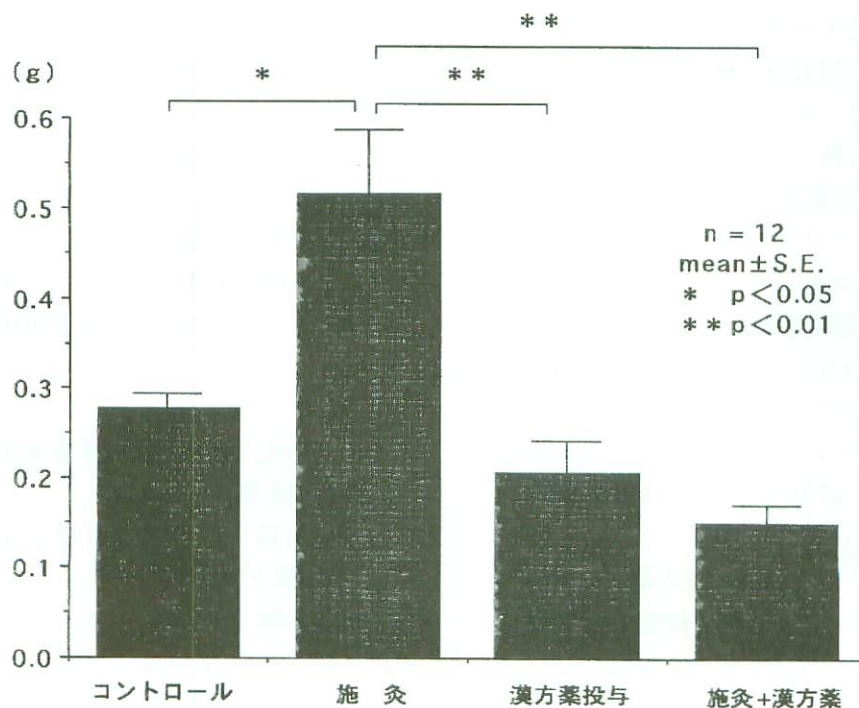


Fig. 2 各群における腫瘍重量の比較

腫瘍移植後15日目の平均値と標準誤差を示したものである. 施灸群では腫瘍の増殖が促進され, 小柴胡湯と施灸を併用すると抑制される傾向が見られた.



PHA を添加しない Well を作成し mitogen negative とした。そして培養終了24時間前に [methyl- $^3\text{H}$ ] Thymidine (Amersham)  $0.5 \mu\text{Ci}/10 \mu\text{l}$  / well を添加した。培養終了後、セルハーベスター (Skatron) にて細胞をフィルターマット (Skatron) にて回収し、シンチレーターカクテル (シンチゾール EX-H, 和光純薬) を添加し、 $^3\text{H}$ -thymidine の取り込みを液体シンチレーションカウンター (Aloka LSC-3500) で測定した。各検体を Triplicate とし、平均 cpm を算出した後、刺激係数 (stimulation index, S.I.) を以下の式より算出した。

(実験群の平均 cpm) / (対照群の平均 cpm)

### [3] 統計

統計処理には統計ソフト Stat View 4.5 (Abacus Concepts, Inc.) を使用し、等分散の検定 (Bartlett 検定) を行った後、多重比較の Tukey 法; NS MULTI (Stat View 4.5) を用いた。

## Ⅲ. 結果

### 1. 腫瘍増殖に及ぼす施灸刺激と漢方薬投与の影響

Fig. 2 は、1 ヶ月間隔で実施した 2 回 (photo. 1, 2) の実験結果をトータルして比較したもので、腫瘍移植15日目の腫瘍重量の平均値と標準誤差を示したものである。コントロール群 ( $0.28 \pm 0.02$ ) と比較して施灸群 ( $0.52 \pm 0.07$ ) では有意 ( $P < 0.05$ ) な腫瘍の増殖を示した。これに対して、漢方薬投与群 ( $0.20 \pm 0.04$ ) や施灸+漢方薬投与群 ( $0.15 \pm 0.02$ ) においては、コントロール群に比して腫瘍の増殖抑制傾向を示したが、いずれも有意差は認められなかった。なお、施灸群と漢方薬投与群および両者の併用群との間には有意 ( $P < 0.01$ ) な差が認められ、漢方薬と施灸刺激を併用した群で最も、腫瘍の増殖抑制効果が顕著であった。

なお、コントロール群と施灸+漢方薬投与群のみに注目して Fisher's PLSD 法で検定した結果では、有意 ( $P < 0.05$ ) な差が認められた。

### 2. 脾臓重量におよぼす施灸刺激と漢方薬投与の影響

Fig. 3 は、実験 2 の各群における脾臓重量の平

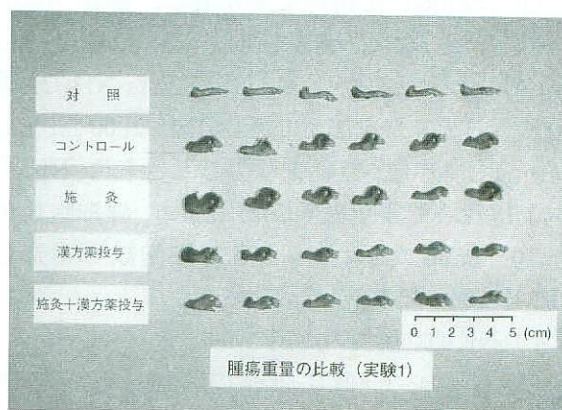


Photo. 1

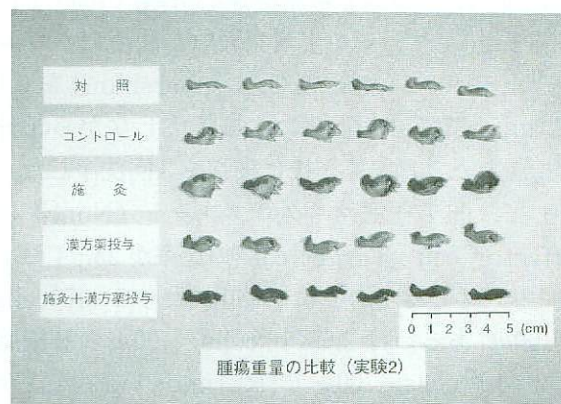


Photo. 2

均値と標準誤差を示したものである。施灸群 ( $0.13 \pm 0.01$ )、漢方薬投与群 ( $0.13 \pm 0.01$ ) では、コントロール群 ( $0.12 \pm 0.01$ ) と比べて脾臓重量が増加し、施灸+漢方薬投与群 ( $0.10 \pm 0.002$ ) では、コントロール群と比べて脾臓重量の減少が観察されたが、いずれも有意差は認められなかった。一方、施灸群、漢方薬投与群と施灸+漢方薬投与群を比較すると、後者で有意に脾臓重量が少なかった。

### 3. NK細胞活性におよぼす施灸刺激と漢方薬投与の影響

Fig. 4 は実験 2 の各群における NK 細胞活性 (%) の平均値と標準誤差を示したものである。コントロール群 ( $18.7 \pm 4.3$  %) と比較して、漢方薬投与群 ( $26.0 \pm 3.21$  %) では高くなる傾向を示し、さらに施灸+漢方薬投与群 ( $31.2 \pm 1.5$  %) では NK 細胞活性が最も高くなる傾向がみられた。

しかし、施灸群 ( $16.8 \pm 3.0$  %) では、若干で



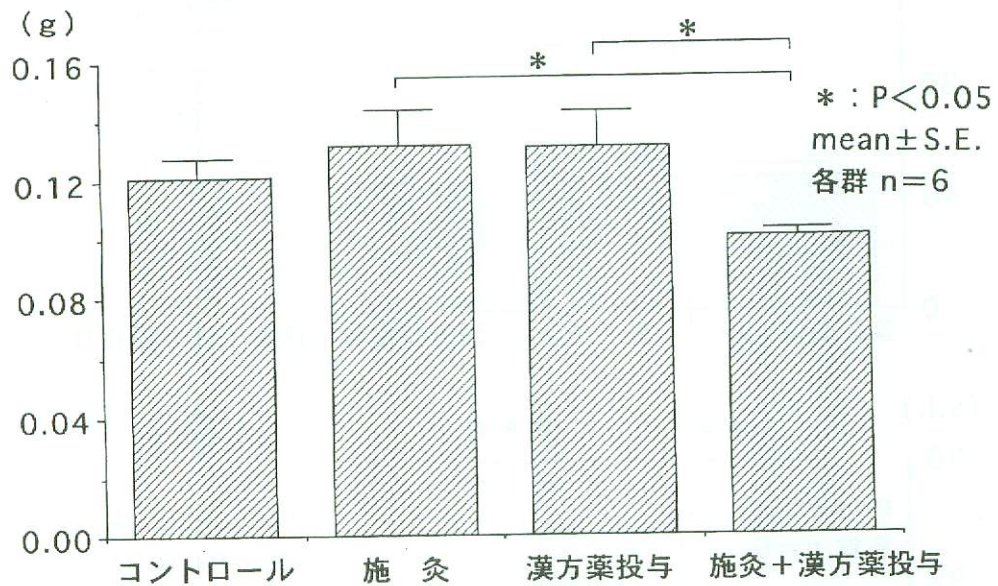


Fig. 3 脾臓重量

各群における脾臓重量の平均値と標準誤差を示したものである。コントロール群と比べて施灸群、漢方薬投与群では、脾臓重量が増加し、施灸+漢方薬投与群では減少した。

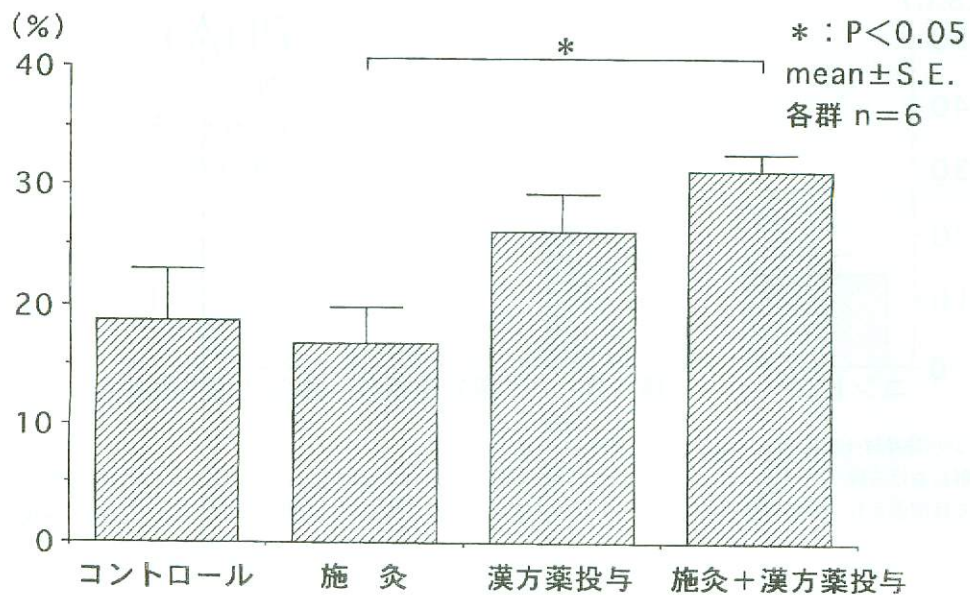


Fig. 4 NK細胞活性

各群におけるNK細胞活性 (%) の平均値と標準誤差を示したものである。コントロール群と比較して、施灸群では低下したが、施灸+小柴胡湯投与群では高くなった。

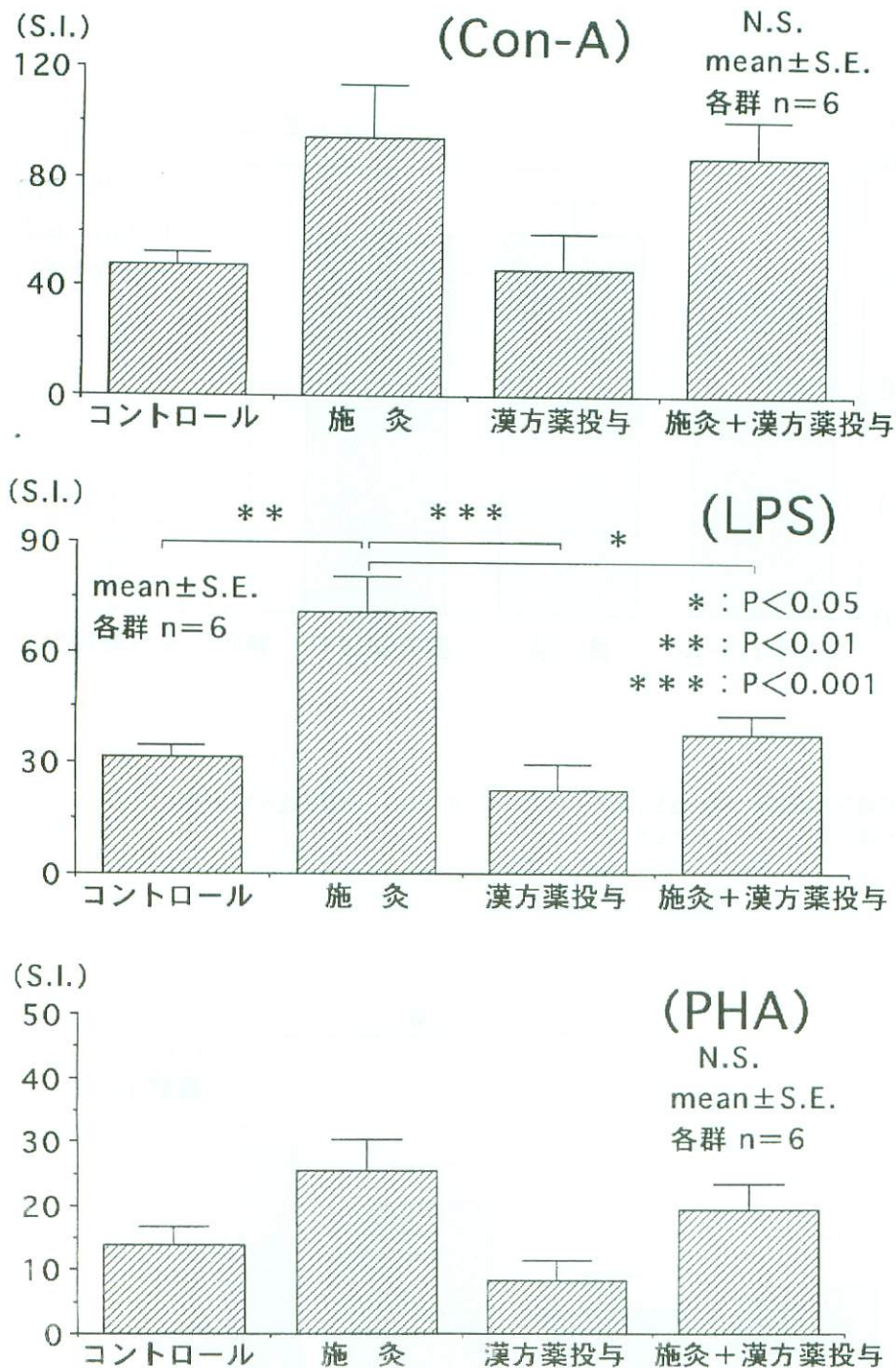


Fig. 5 脾リンパ球芽球化反応 (Con-A, LPS, PHA)

上段より、各群における脾リンパ球の Con-A, LPS および PHA に対する芽球化反応の平均 S.I. と標準誤差を示したものである。施灸群では促進され、小柴胡湯投与群ではやや低下する傾向がみられるが、両者を併用すると、促進的に作用する傾向が見られる。

はあるがコントロール群よりも低下する傾向がみられ、施灸+漢方薬投与群 (31.2±1.5%) との間には有意差が認められた。

#### 4. リンパ球芽球化反応におよぼす施灸刺激と漢方薬投与の影響

Fig. 5 は実験 2 の各群におけるそれぞれ脾リンパ球の Con-A, LPS および PHA に対する芽球化反応の平均 S.I. と標準誤差を示したものである。Con-A 反応は、コントロール群 (47.3±4.8) と比較して、施灸群 (95.2±18.4) と 施灸+漢方薬投与群 (88.2±13.6) で S.I. が高い傾向を示



Table. 1 実験前後における各群の体重の変化

|                       | 対照群       | コントロール群   | 施灸群       | 漢方薬投与群    | 施灸+<br>漢方薬投与群 |
|-----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|---------------|
| 摂食前 (g)<br>(腫瘍移植14日前) | 18.0±0.26 | 18.0±0.25 | 17.9±0.24 | 18.1±0.19 | 18.0±0.41     |
| 摂食後 (g)<br>(腫瘍移植14日後) | 26.1±0.46 | 25.4±0.59 | 25.2±0.32 | 24.8±0.44 | 25.8±0.20     |

【各群 n=6, mean±S.E.】

各群における実験前後での体重の平均値と標準誤差を示したものである。各群において有意な変化は認められなかった。

したが有意差は認められなかった。漢方薬投与群 (46.3±13.2) では、コントロール群と比較してほとんど差はなかった。

LPS に対する反応ではコントロール群 (31.5±3.1) と比較して施灸群 (70.7±9.8) で有意 ( $p<0.01$ ) に高値を示した。また、漢方薬投与群 (22.8±6.7) はやや低い値を示した。一方、施灸+漢方薬投与群 (37.9±4.8) では漢方薬投与群より高くなり、コントロール値とほぼ同じであった。

PHA に対する反応はコントロール群 (13.8±3.0) と比較して施灸群 (25.3±5.1) で有意差はないが高くなる傾向を示し、漢方薬投与群では低下する傾向を示した。施灸+漢方薬投与群 (19.5±3.9) ではコントロール群、漢方薬投与群より高値を示した。

#### 5. 実験前後における体重の変化

Table. 1 は、実験2の各群における実験前後での体重の変化を示したものである。各群において、体重の増加についての有意な変化は認められなかった。個体毎の摂食量は明らかではないが、移植14日後の体重を比較した結果では、特に漢方薬投与による影響は見られなかったことから、栄養状態における個体差は無視してもよいと考えられた。

#### IV. 考 察

一般に担癌動物では、癌の進行とともに免疫機能が抑制されやすく、Young らは C57BL/6 マウスに Lewis 肺癌の高転移株あるいは低転移株を移植すると、正常マウスに比して NK 細胞活性、リンパ球芽球化反応共に低下し、特に高転移

株移植マウスでの低下が著しい事を報告している<sup>7)</sup>。

施灸刺激による直接的な抗腫瘍効果に関する報告はあまり多くないが、西谷らは、エールリッヒ腫瘍細胞をマウスの皮下に移植し、移植局所または腫瘍の周囲に大量に施灸し腫瘍の増殖に対する影響を調べたところ、20~50%の移植阻止率、あるいは生存率の延長が得られたとし、施灸は皮膚の過酸化脂質を低下させ、腫瘍細胞の増殖に適さない環境を作る可能性があることを報告している<sup>8)</sup>。しかし、本実験では腫瘍細胞の移植と同時に4日目ごとに4回施灸した施灸群では、コントロール群と比較して腫瘍重量の有意な増加が観察された。これに対して小柴胡湯投与群では、軽度の増殖抑制傾向を示し、小柴胡湯と施灸の併用刺激では多重比較による有意差は認められないが、腫瘍の増殖が明らかに抑制される傾向がみられた。このことについて、コントロール群と施灸+漢方薬投与群のみに注目して、Fisher's PLSD 法を応用して腫瘍の増殖率に差があるかどうかを検討した結果では、5%の有意水準で差があることが判った。一方、灸の抗腫瘍効果に関する報告をみても、効果的な施灸方法は一様ではなく、施灸のタイミング、開始時期、刺激量、刺激頻度などが腫瘍細胞の増殖にかなり影響し、不適当な灸刺激は、かえって腫瘍増殖に対して促進的に働くとも報告している<sup>2) 3)</sup>。

通常行われる施灸は、人体では半米粒大艾 (約0.6mg) が多用される。そこで、五十嵐らの報告<sup>9)</sup>を参考にすれば、一般的な灸治療において多用される灸の壮数を便宜上60kgの人に16穴位、1穴に0.6mgの艾で5壮施灸とするならば艾



の重量は48mgであり、人の体重あたりの艾の量は0.8mg/kgとなる。また、今回の実験では、25gのマウスの背部に2穴0.6mgの艾を1壮ずつ行ったことから艾の重量1.2mgであり、マウスの体重あたりの艾の量は48mg/kgとなり、本実験では人の場合を1としたときの約60倍であった。一方、ラットの前脛骨筋への鍼刺激は脾臓のNK活性を高めるが<sup>10)</sup>、ラットの皮膚へのピンチ刺激は、脾臓交感神経活動を反射性に亢進させ、脾臓のNK活性を約30%低下させることなどが報告されている<sup>11)</sup>。このように、ピンチ刺激のように逃避反応を示すような苦痛を与えるような場合にNK活性が抑制されており、本実験の場合、人の60倍に相当する灸刺激がピンチ刺激と類似した熱痛刺激として作用した可能性も考えられる。

次に今回使用した漢方薬の小柴胡湯は、柴胡、半夏、黄芩、大棗、人參、甘草、生姜の7種類の生薬から構成され、従来から肝保護作用や消炎作用、細胞膜保護作用、抗アレルギー作用などを期待して臨床応用されてきた<sup>12)</sup>。また、細胞性免疫や抗腫瘍免疫機構に対する作用なども報告され<sup>13)</sup>、岡らは、ヒトに小柴胡湯を投与することによって肝癌発生率の抑制ばかりでなく、生存率の改善が得られることを報告している<sup>14)</sup>。抗腫瘍効果とその免疫賦活効果における小柴胡湯の作用機序は、インターロイキン-1の産生を増強させ、ヘルパーT細胞やマクロファージを活性化し、インターロイキン-2の誘導によってNK (natural killer) 細胞、LAK (lymphokine activating killer) 細胞を活性化し抗腫瘍作用をもたらすといわれている<sup>15) 16)</sup>。また、TNF (tumor necrosis factor)<sup>17)</sup> やIFN- $\gamma$ 産生誘導作用の報告などもある<sup>18)</sup>。

今回の実験で得られた結果では、腫瘍重量はコントロール群と比較して小柴胡湯投与群では、やや減少を示し、小柴胡湯と施灸の併用刺激で腫瘍の増殖が明らかに抑制される傾向を示した。NK細胞活性は施灸刺激単独群で低く、小柴胡湯投与群で高くなる傾向を示し、小柴胡湯と施灸の併用刺激で有意 ( $P<0.05$ ) に高くなった。このことから、各刺激によるNK細胞活性の増減が腫瘍重量の増減と密接に関連している可能性が示唆された。

小柴胡湯単独群では腫瘍重量の抑制が十分みられなかった理由として、マウスに対する投与方法

や投薬量、投与期間の違いが影響しているものと考えられる。伊藤らは、ルイス肺癌に対する小柴胡湯の抗腫瘍効果について小柴胡湯経口投与群 ( $300\text{mg/kg} \times 2/10\text{ days}$  と  $600\text{mg/kg} \times 2/10\text{ days}$ ) で検討した結果、前者で有意な生存日数の延長が示されたことを報告し<sup>19) 20)</sup>、溝口らは、小柴胡湯 (50, 100, 250,  $500\text{mg/kg}/5\text{ days}$ ) を腹腔内投与し、終了5日目にEhrlich 腹水癌細胞およびSarcoma-180細胞を腹腔内に投与し生存率をみた結果、両者ともに担癌マウスの延命効果を認めたと報告している<sup>15)</sup>。今回の実験では、小柴胡湯は餌に混ぜて自由に摂食させ、先に書いたように  $27.1\text{mg}/\text{匹}/\text{day}$ 、即ち  $1084\text{mg/kg}/\text{day}$  前後の小柴胡湯を摂取させることができたと思われるが、上記の報告より多量であり、多すぎた可能性も考えられる。

抗腫瘍効果に関連する指標として、NK細胞活性以外に、Tリンパ球の反応やマクロファージといった細胞性免疫が関与すると考えられる<sup>21)</sup>。そこで、Con-A, LPS, PHAのマイトोजェンに対する芽球化反応について検討した。その結果、Con-A, LPSおよびPHAに対する芽球化反応はいずれも同様な反応を示したが、特にLPSに対しては施灸刺激を単独で加えると有意 ( $P<0.05$ ) に高くなり、これに小柴胡湯を併用しても高くなることが判った。しかし、小柴胡湯単独投与ではやや低下する傾向がみられた。

これらの結果が腫瘍の増殖および抑制と直接的に結びつくかどうかは明らかではないが、小柴胡湯投与に灸刺激を併用することによって、NK細胞活性を有意に増加させ、Con-A, PHAおよびLPSに対するリンパ球芽球化反応に対して活性化傾向を示し、結果的に移植腫瘍細胞の増殖を抑制する可能性が示唆された。

以上、移植腫瘍に対しての灸刺激の効果ならびに漢方薬投与の効果、もしくはそれらの免疫学的作用機序に関してまだまだ不確かなことが多いが、至適な刺激量や刺激期間、あるいは至適な投薬量によっては灸刺激と漢方薬投与の併用療法により抗腫瘍効果をもたらされる可能性が示唆されたことは非常に興味深い。

## V. 結 語

①施灸刺激は腫瘍の増殖を有意に促進したが、小



柴胡湯投与は抑制的に作用し、両者を併用した場合に最も腫瘍の増殖が抑制された。

②NK活性は、施灸刺激によって抑制されるが、小柴胡湯投与により促進する傾向が見られ、両者を併用するとそれ以上に促進された。

③施灸刺激は、Con-A, PHAおよびLPSに対するリンパ球芽球化反応を活性化させるが、小柴胡湯投与では明らかに抑制された。しかし、両者を併用すると、小柴胡湯による芽球化反応の抑制効果は見られなくなった。

以上のことから、施灸に小柴胡湯を併用すると、NK活性が明らかに活性化され、芽球化反応も促進することによって、腫瘍の増殖が抑制されることが示唆された。

#### VI. 謝 辞

稿を終えるにあたり、実験に際し御助言ならびに御協力を賜りました同大学免疫・微生物学教室の雨貝孝教授、同大学鍼灸診断学教室の和辻直講師、同大学院生の今井賢治氏、池田和久氏に厚く御礼を申し上げます。

#### VII. 参考文献

- 野間重任, 八木与志男, 山内利則ら: エールリッヒ固型癌の灸治療効果に関する研究(第2報). 日本東洋医学雑誌, 35 (3) : 243~247, 1985.
- 篠原昭二, 石丸圭荘, 渡辺勝之ら: 灸刺激によるマウス移植腫瘍の増殖およびリンパ節転移の抑制効果について. 明治鍼灸医学, 5 : 113~119, 1989.
- 宇都宮由美子: マウス移植腫瘍の増殖, 転移および免疫能に及ぼす施灸刺激の影響についての研究. 明治鍼灸医学, 16 : 27~38, 1995.
- 岩 昌宏, 石丸圭荘, 篠原昭二ら: マウス腸蠕動に及ぼす鍼灸刺激の効果(第2報)-腸蠕動の亢進及び抑制状態下での検討-. 明治鍼灸医学, 11 : 19~25, 1992.
- 松崎祐子, 沖田 極: 小柴胡湯による肝発癌予防の試み. 漢方と最新治療, 4 (2) : 163~167, 1995.
- 菊池浩吉:  $^{51}\text{Cr}$ 標識細胞障害試験, 免疫実験操作法 A : 349~351, 1978.
- Young M R, Newby M : Differential induction of suppressor macrophages by cloned lewis lung carcinoma variants in mice. Journal of the National Cancer Institute, 77 : 1255~1260, 1986.
- 西谷郁子, 植田伸夫: 灸の抗腫瘍作用の検討. 帝京医学雑誌, 6 (11) : 95~99, 1983.
- 五十嵐宏, 丹野恭夫, 光藤英彦ら: 免疫機構におよぼす鍼灸の効果. 日本東洋医学会誌, 26 : 117~121, 1975.
- Saito T, Yu Y, Guo S Y et al : Acupuncture Stimulation Enhances Splenic Natural Killer Cell Cytotoxicity in Rats. Japanese Journal of Physiology, 46 : 131~136, 1996.
- 木村敦子, 内田さえ, 佐藤昭夫: 体制感覚刺激で反射性に誘発される脾臓のNK細胞活性の反応. 自律神経, 33 (3) : 273~277, 1996.
- 山村雄一, 伊藤 均, 吉田 浩ら: 免疫異常と漢方. 漢方医学, 10 (11) : 1~17, 1986.
- 松田重三, 斎藤紀子, 合地研吾ら: 細胞性免疫に対する小柴胡湯の影響. 漢方医学, 11 (4) : 14~18, 1987.
- 岡 博子, 山本祐夫: 小柴胡湯による肝発癌予防の試み. 消化器科, 15 (1) : 71~78, 1991.
- 溝口靖紘, 柴田悠喜: 抗腫瘍免疫機構に及ぼす小柴胡湯の影響. 漢方医学, 11 (4) : 19~26, 1987.
- 雨谷 栄, 荻原幸夫: 漢方方剤の科学的解析(6) — 小柴胡湯, 大柴胡湯の免疫応答に及ぼす影響 —. 漢方医学, 11 (9) : 14~18, 1987.
- 原中勝征, 里見信子, 桜井明子ら: 和漢薬の抗腫瘍効果とTNF産生能. 漢方医学, 11 : 27~31, 1987.
- 各務伸一, 藤 明彦: ヒト末梢血リンパ球のIFN  $\gamma$  産生誘導に対する小柴胡湯の効果. 和漢医薬学会誌, 4 : 219~222, 1982.
- 伊藤均, 志村圭志郎: ルイス肺癌に対する小柴胡湯と5-fluorouracilおよびcyclophosphamideとの併用に関する基礎的研究. 漢方医学, 11 (11) : 18~23, 1986.
- 伊藤均漢方方剤の抗腫瘍性に関する基礎的研究. BIOTHERAPY, 3 (4) : 760~766, 1989.
- 北村瑞穂, 溝口靖紘, 山本祐夫ら: 小柴胡湯の抗腫瘍作用について. 和漢医薬学会誌, 2 (1) : 32~38, 1985.



## Effects of Moxibustion and Syo-saiko-to on Growth of Transplanted Lewis Lung Carcinoma in C57BL/6 Mice.

TSUKAGOSHI Hiroaki<sup>1</sup>, SHINOHARA Shoji<sup>2</sup>, SAKITA Masakazu<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Department of Surgery, Graduate School of Acupuncture and Moxibustion, Meiji University of Oriental Medicine*

<sup>2</sup>*Department of Diagnosis, Meiji University of Oriental Medicine*

<sup>3</sup>*Department of Surgery, Meiji University of Oriental Medicine*

**Summary:** We investigated the effects of moxibustion and Syo-saiko-to administration on the growth of transplanted Lewis lung carcinoma cells in C57BL/6 mice. Mice were stimulated by moxibustion (0.6mg) to the bilateral Shenshu (B23) points every 4 days immediately after tumor cell transplantation, and/or fed chow mixed with 1% weight of Syo-saiko-to for 2 weeks before and 2 weeks after the transplantation. Weights of the tumors, natural killer (NK) activities, and blastogenic activities of the splenic cells of tumor-bearing mice were examined fifteen days after tumor cell transplantation. Results were : ①Tumor growth was enhanced by stimulation of moxibustion, but was suppressed by administration of Syo-saiko-to, and was most suppressed by the combination of these two modalities. ②NK activities were suppressed by moxibustion, but were enhanced by Syo-saiko-to, and were even more enhanced by combined application. ③Lymphocyte blastogenic activities induced by Con-A, PHA and LPS were enhanced by moxibustion, but were suppressed by Syo-saiko-to. In the case of combined application, suppressive effect of Syo-saiko-to on lymphocyte blastogenesis disappeared. Based on these results, it was suggested that antitumor responses induced by the combination modality were supposed to be due to enhancement of NK activities and blastogenic activities of splenic lymphocyte.