

# 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 |
| 東洋医学研究所の発展をめざして .....                 | 1   |
| 研究報告                                  |     |
| MRセンター研究室 .....                       | 3   |
| 臨床研究棟研究室 .....                        | 4   |
| 附属鍼灸センター研究室 .....                     | 6   |
| 微細構造解析室・生体構造解析室 .....                 | 8   |
| 遺伝子関連物質解析室・生体防御機構解析室・生体分子解析室<br>..... | 9   |
| 生理活性物質分析室 .....                       | 11  |
| 高次機能解析室 .....                         | 13  |
| 生体機能解析室Ⅰ .....                        | 15  |
| 生体機能解析室Ⅱ .....                        | 16  |
| 生体機能解析室Ⅲ .....                        | 17  |
| 行動解析・分析室 .....                        | 19  |
| 生体反応解析室Ⅰ .....                        | 21  |
| 生体反応解析室Ⅱ .....                        | 22  |
| 6号館診断情報解析室 .....                      | 23  |
| 8号館運動機能解析室 .....                      | 25  |
| 2号館分子シグナル解析室 .....                    | 27  |
| 明治国際医療大学附属東洋医学研究所研究業績一覧 .....         | 29  |

附属東洋医学研究所の組織

共同利用研究室一覧

(平成 25 年 4 月 1 日現在)

| 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   | 千葉 章太  | 267 |
| 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   | 376 |
| 生体機能解析室Ⅱ     | 岡田 薫   | 272 |
| 生体機能解析室Ⅲ     | 伊藤 和憲  | 539 |
| 行動解析・分析室     | 福田 文彦  | 537 |
| 生体反応解析室Ⅰ     | 今井 賢治  | 501 |
| 生体反応解析室Ⅱ     | 谷口 博志  | 316 |
| 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 | 廣瀬 英司  | 369 |
| 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  | 矢野 恵子  | 758 |

## 東洋医学研究所の発展をめざして

附属東洋医学研究所・所長

樋口 敏宏

雨貝孝先生のご退官をうけまして、平成 25 年 4 月に私は東洋医学研究所所長を拝命いたしました。雨貝先生が精力を傾注されました共同研究室の再編成と研究成果の公表を継承して、ここに昨年度につづきまして各研究室の研究成果を年報として編纂し発刊する運びとなりました。研究成果を公表することによって、今後のさらなる研究の発展、他大学や企業、自治体との研究協力や共同研究の進化を期待したいと思います。これまで本学の研究態勢の充実とともに、東洋医学研究所も拡充されてきました。今後も既存の構造やシステムにこだわることなく、常に研究組織や研究体制の改革を進めてゆく必要があると考えております。大学の改革は大学の内外から求められる喫緊の課題となっています。そのなかで、建学の精神を活かした教育の質の向上、地域に対する貢献、産業界や他大学との広い連携が求められており、また外部資金の導入も不可欠な情勢となっています。東洋医学研究所は研究活動を通じてこれらの課題に取り組む重要な組織であり、今後も不断に発展の努力を続ける必要があると思います。そのためには学内外の皆様のご協力、ご指導、ご鞭撻が不可欠であると考えております。何卒よろしくお願い申し上げます。



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：梅田雅宏、渡邊康晴、河合裕子

ヒト用MRI装置では、年度初頭に撮像装置の置き換えが行われ、新たに3テスラの装置(SIEMENS, Tim Trio)が導入されたことにより、これまで以上に自由度の高い計測環境が整備された。主にfMRIによる脳機能研究を実施した。特に体性感覚入力に伴う脳賦活では、鍼刺激を行った場合に刺激終了後も持続する特徴的なレスポンスが生じることを報告した。また、温熱刺激を用いた定量的な刺激と脳賦活との関連を明らかにするため、ペルチェ素子を用いた刺激システムを構築し、研究を継続している。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詳細な検討を行い、学会にて成果を報告した。受託研究では「映像酔い」に関連する脳活動特性の検討を行い、左右半球間の時系列活動の相関が低下することを明らかにした。共同研究として京都大学と連携して実施した視覚刺激を用いた研究では、確率地図とエントロピー地図を用いた視覚刺激に関する研究を引き続き行った。動物用MRI装置ではマンガン造影を利用した脳活動画像法により、小動物における脳機能画像法の検討を続けた。受託研究として日立製作所と行った研究では、脳内代謝物における拡散係数の変化について得られたデータをまとめ、この結果は国際磁気共鳴医学学会や国内の磁気共鳴学学会で発表した。また、大正製薬と実施した研究においては、むくみに相当する可逆的かつびまん性に発生する浮腫の検出に関する検討を行った。

#### 【業績一覧】

##### 著書

- 1) 共著 樋口敏宏:磁気共鳴スペクトルの医学応用 -MRSの基礎から応用まで-. 2-2「腫瘍の実験 MRS」(成瀬昭二監修). インナービジョン, 104-113, 2012.
- 2) 共著 田中忠蔵:磁気共鳴スペクトルの医学応用 -MRSの基礎から応用まで-. 2-1「脳疾患モデルの実験 MRS」(成瀬昭二監修). インナービジョン, 96-103, 2012.
- 3) 共著 梅田雅宏:磁気共鳴スペクトルの医学応用 -MRSの基礎から応用まで-. 1-1「MRSの原理」1-2「MRSスペクトルから得られる情報」1-4「より良いスペクトルを計測するために」1-5「MRSデータ処理」(成瀬昭二監修). インナービジョン, 33-51 および 62-75, 2012.
- 4) 共著 河合裕子:磁気共鳴スペクトルの医学応用 -MRSの基礎から応用まで-. 2-6「実験 MRSのための周辺技術」(成瀬昭二監修). インナービジョン, 139-146, 2012.

##### 学術論文

- 1) Yamamoto H, Fukunaga M, Takahashi S, Mano H, Tanaka C, Umeda M, Ejima Y: Inconsistency and Uncertainty of the

Human Visual Area Loci following Surface-based Registration. Probability and Entropy Maps. Human Brain Mapping, 33(1):121-9, 2012. 査読有

- 2) Liu J, Jo J, 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, 157(3):398-405, 2012. 査読有
- 3) 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: Diffusion-weighted Spectroscopic Imagingによる脳虚血モデルラットの解析. 磁気共鳴学会雑誌, 32(1) 17-20, 2012. 査読有
- 4) Finocchietti S, Takahashi K, Okada K, Watanabe Y, Graven-Nielsen T, Mizumura K.: Deformation and pressure propagation in deep-tissue during mechanical painful pressure stimulation. Medical & Biological Engineering & Computing [in press], 2012. 査読有
- 5) 駒澤良子, 岡本小百合, 古川由紀子, 清野たか枝, 渡邊康晴: 体動困難な高齢患者の安楽な車椅子シーティングの検討: クッション使用による体圧分散効果. 老年看護 42号, 77-80, 2012. 査読有
- 6) 阿部一晴, 渡邊康晴, 桑原千幸, 辻健司: 大学コンソーシアム京都単位互換制度における e-learning の取り組み. PC Conference 論文集 325-328, 2012. 査読無

##### その他の印刷物

- 1) 梅田雅宏, 渡邊康晴, 河合裕子, 樋口敏宏, 田中忠蔵: 拡散テンソル画像(DTI)がもたらす情報 - 水分子の動きによる筋の微細構造評価を中心に. インナービジョン, (27・3): 18-20, 2012.
- 2) 渡邊康晴, 梅田雅宏, 河合裕子, 樋口敏宏, 田中忠蔵: 拡散強調画像がもたらす情報 - 運動による水分子の動き評価を中心に. インナービジョン, (27・3): 15-17, 2012. 渡邊康晴: eラーニングの可能性. 第8回全国大学コンソーシアム研究交流フォーラム 報告集, 161-162, 2012.

##### 学会発表等

海外: 4編、国内: 5編、講演: 1編

##### 学外共同研究・受託研究

共同研究: 3施設、受託研究: 3施設

施設名：臨床研究棟

主任者名：山田 潤【所属】眼科学

共同施設利用者名：井上基浩，中島美和，日野こころ，角谷英治，今井賢治，廣正基，小藤和孝，糸井啓純，北小路博司，本城 久司，金井恵理，木村健一，山田潤

臨床研究棟は、明治国際医療大学附属病院や付属鍼灸センターなどに従事している研究者を中心に幅広く利用されている。臨床における治療を主とした業務に携わる方々が、簡便かつ専門的な基礎研究を行うための共同施設として十分な機能を果たしている。研究における方法においては臨床サンプルの解析だけでなく、ラットを用いた基礎検討や培養細胞を用いた検討に至るまでを可能としている。本年度最も高い頻度で本施設を使用頂いた2グループにおける報告を記載する。

井上基浩，中島美和グループにおける研究  
研究テーマ：

①ラット腓骨を用いた骨欠損モデルに対する鍼通電刺激の効果

概要：骨癒合に対する鍼通電刺激のより広範な応用を目的として、骨延長法などへの利用を視野に入れ、骨切り部の接触がないラット腓骨骨欠損モデルに対する直流鍼通電刺激の影響について、組織学的、X線学的に検討した。

②アキレス腱断裂モデルラットに対する鍼通電刺激の影響

概要：直流鍼通電刺激の組織修復（末梢神経再生、骨癒合）に対する有効性を検討してきた背景から、その一環として腱修復能への影響についても調査する目的で、アキレス腱断裂モデルラットを用いて組織学的に検討した。

1. 研究の目的

我々は、これまでに直流鍼通電刺激の組織修復（末梢神経再生、骨癒合）に対する有用性を報告しており、『組織修復と鍼通電』という観点から腱修復能への影響についても調査する必要性を考えた。そこで本研究では、アキレス腱断裂モデルラットを用いて腱断裂後早期における直流鍼通電刺激の影響について、組織学的に検討した。

2. 研究の方法

Wistar系ラット（雄性、12週齢）12匹を用いて、アキレス腱断裂モデルを作成し、無作為に鍼通電刺激群（以下EA群、n=6）と無処置群（以下Control群、n=6）に分けた。EA群はアキレス腱断裂部の内外側に先端が腱断裂部に接触するよ

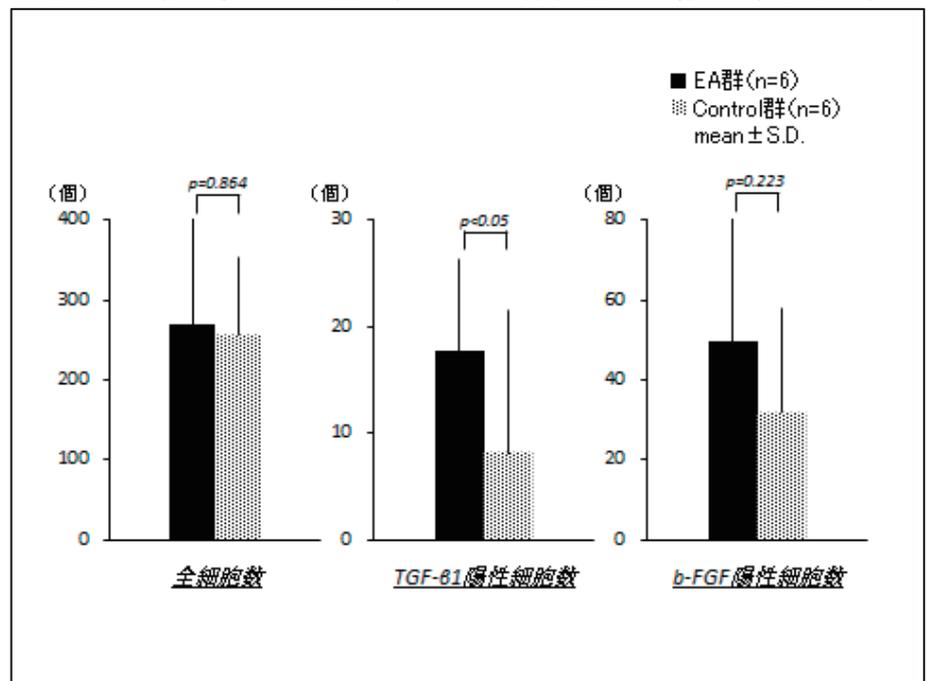
うにそれぞれ鍼を経皮的に刺入し、内側部を陰極、外側部を陽極として間欠的直流鍼通電刺激（刺激条件：刺激幅5ms、50Hz、20μA、20分間）をモデル作成日の翌日から評価日まで毎日行った。Control群はEA群への鍼通電刺激と同一時間の拘束処置のみとした。評価として、モデル作成後3日目に修復腱を採取し、腱修復部中央の連続縦断切片（4μm）を作成して得られた組織標本を用い、設定した関心領域内の全細胞数（HE染色）、TGF-β1、およびb-FGFの陽性細胞数（免疫組織化学染色）のカウントと、それぞれの染色による組織像の観察を行った。

3. 結果

HE染色では、両群ともに未だ腱切断部が明瞭であり、何れも断端部近傍に細胞増殖を認めたが、全細胞数に関して両群間に有意差は見られなかった（ $p=0.864$ ）。免疫組織化学染色では、TGF-β1については、Control群に比べ、EA群では切断部付近に強い発現が見られ、陽性細胞の有意な増加を認めた（ $p<0.05$ ）。一方、b-FGFについては、有意差は認めなかったものの、EA群で陽性細胞数が高値を示す傾向が見られた（ $p=0.223$ ）。

4. 考察・結語

本研究において、EA群でTGF-β1の有意な増加と、b-FGFの増加傾向を認めたことから、直流鍼通電刺激は腱修復過程の早期において、腱修復に関与する成長因子の発現に促進的に作用し、腱修復能に有利に働く可能性が示唆された。腱修復過程早期における成長因子の増加は、さらに後の



細胞増殖や成長因子の持続的な発現、あるいは発現量に関しても有益な作用をもたらす可能性は十分に考えられる。今後はこれらの変化が、中・長期的に見てどのような影響を及ぼすか、さらには最も重要となる修復腱の力学的強度を高めることに繋がるか否かについて検討することが必要であると考えられる。

5. 業績 (原著論文のみ記載)

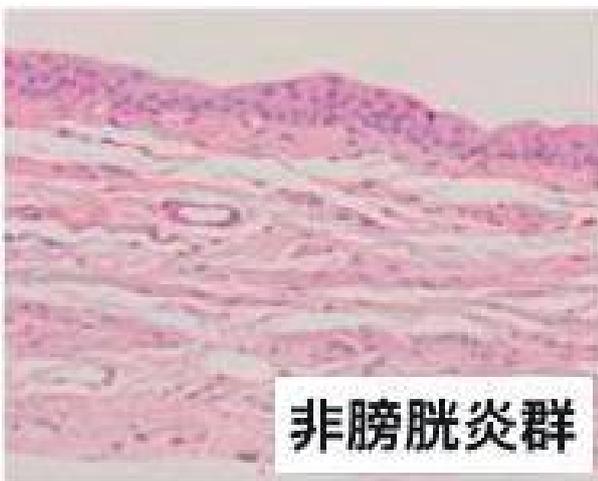
- 1) Inoue M, Nakajima M, Hojo T, Itoi M, Kitakoji H: The effect of electroacupuncture on osteotomy gap healing in a rat fibula model. *Acupunct Med*, 2013 (in press)
- 2) 井上基浩, 中島美和, 北條達也, 糸井恵: ラット腓骨欠損部への鍼通電刺激の効果. *日本生体電気・物理刺激研究会誌*, 26: 21-26, 2012.
- 3) 井上基浩, 中島美和, 大井優紀: 腱修復に対する物理刺激, そして鍼通電刺激の応用. *日本統合医療学会誌*, 5(2): 9-14, 2012.
- 4) 中島美和, 井上基浩, 北條達也, 糸井恵: ラットを用いたアキレス腱断裂後の治癒過程に及ぼす鍼通電刺激の影響. *日本生体電気・物理刺激研究会誌*, 26: 27-32, 2012.
- 5) 大井優紀, 井上基浩, 中島美和, 糸井恵, 北小路博司: ラットのアキレス腱修復に与える鍼通電刺激の効果. *日本温泉気候物理医学会雑誌*, 75(2): 112-123, 2012.

日野こころグループにおける研究

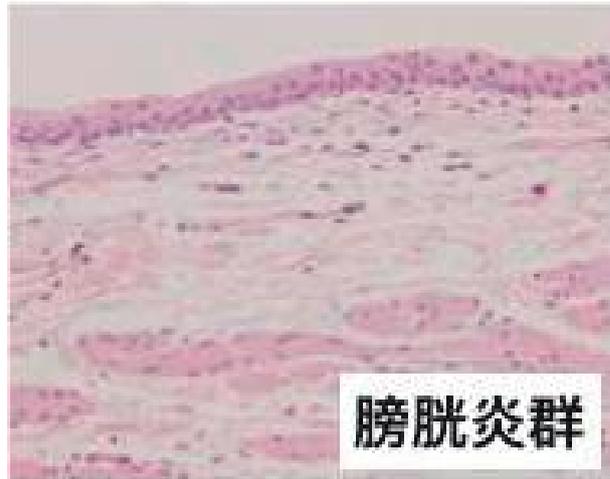
研究テーマ:

頻尿・膀胱炎モデルラットに対する仙骨部鍼刺激に関する効果機序の解明

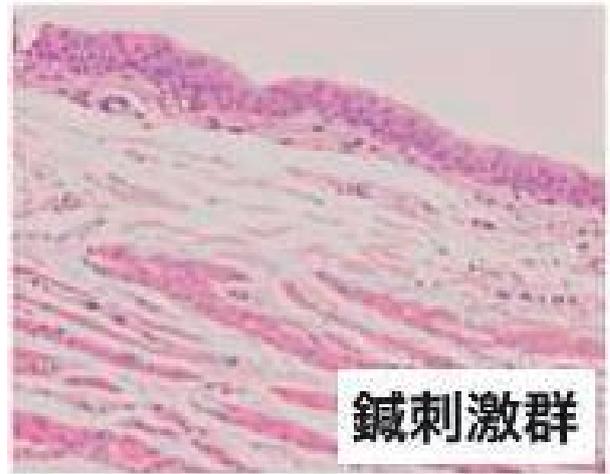
概要: 過活動膀胱・間質性膀胱炎に対する鍼治療の尿意伝達機構における効果・作用機序について検討を行った。酢酸誘発頻尿モデルラットおよび塩酸誘発の膀胱炎頻尿モデルラットにおいて仙骨部鍼刺激は刺激直後の排尿間隔を延長させ、膀胱粘膜に治癒過程に変化がみられた。仙骨部鍼刺激は薬物とは異なる作用機序により頻尿を改善する効果があり、薬物抵抗性の頻尿に対する効果が期待できる。



非膀胱炎群



膀胱炎群



鍼刺激群

図の説明: 膀胱炎群で見られる膀胱上皮の被薄化および粘膜下組織の状態が鍼灸刺激群では改善している。

その他の研究テーマ一覧

北小路博司: 鍼刺激が下部尿路機能に及ぼす影響について

今井賢治: 視覚性動揺病 (optokinetic motion sickness) 誘発時における自律機能評価と鍼刺激の効果について

小藤和孝: 悪性骨軟部腫瘍に対する第3世代ビスフォスフォネートの抗腫瘍効果についての検討

糸井啓純: 消化器癌・乳癌に対する手術療法・癌化学療法・外科的栄養管理・緩和医療

廣正基: 高血圧自然発症ラット (spontaneously hypertensive rats : SHR) における鍼刺激の降圧機序に関する研究

木村健一: インプレッションサイトロジー法を用いた局所病態診断

山田潤: 再生医療に関するドナー抗原感作とトランス誘導の評価

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

共同研究者名：片山憲史、矢野 忠、今井賢治、江川雅人、田口玲奈、吉元 授、山崎 翼、福田晋平、佐藤万代、中野祐也、馬場寛之、柏木 惇、島中千恵、西 里京

冷え症に対する下肢への低周波鍼通電療法の効果—下肢血管運動神経障害の有無による比較検討—

【目的】若年女性の冷え症に対し、体位変換負荷試験で血管運動神経障害の有無を判定し、低周波鍼通電療法 (electro-acupuncture therapy, EAT) の効果を比較検討した。

【方法】対象は冷え症の自覚がある女性 43 名 (平均年齢 21.2 歳) とした。負荷試験は、仰臥安静 10 分後に起立負荷 5 分間とし、負荷前後に下肢皮膚温を測定した。鍼治療は、左右三陰交 (SP6) に長さ 40mm・直径 0.2mm のステンレス鍼を約 15mm 刺入して鍼電極とし、下腿前面に不関電極を貼付し、周波数 1Hz で 20 分間とした。週 1 回、計 5 回の鍼治療後に再度負荷試験を行った。熱画像は、サーモグラフにて左右下腿から足趾内側全体を撮影し、足趾、下腿内側に領域を設定して平均皮膚温を算出した。評価には、冷え症に関する問診票、冷えを含む 14 症状の 6 件法と冷えの程度を横型 100mm の Visual Analogue Scale (VAS) で回答する独自の評価票 (冷え日記) および健康関連 QOL として SF-8 スタンダード版を用いた。

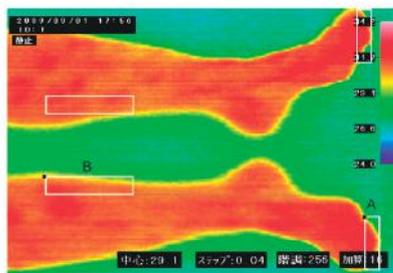


Fig. 1 : Thermogram of the skin temperature on the tibial aspect of lower limb

We calculated the mean skin temperature at two different areas on the tibial aspect of bilateral lower limb: whole of the toes from third phalanx to the first toe (A), the area in a rectangle (1,000 pixels) created based on a line from the plantar arch to the highest point of the gastrocnemius (B).

【結果】対象者を起立負荷により足趾皮膚温が低下する群 (血管反応正常群: 23 名) と、皮膚温が上昇もしくは左右で異なるものを合わせた群 (血管反応異常群: 20 名) に分類した。血管反応異常群は血管反応正常群に比べて、自覚的な冷えの程度が大きい傾向で、14 症状の合計得点が有意に高かった (愁訴の程度が強かった)。SF-8 の BP 得点は血管反応異常群で国民標準値よりも有意に低かった。治療後、負荷終了 20 分後の下腿内側部皮膚温は血管反応異常群で順応時に比べて有意に上昇した。また、両群で、VAS 値および SF-8 の得点に有意な変化はみられなかったが、14 症状の合計得点は血管反応異常群で有意に減少した。

【結語】体位変換試験で分類した自覚的な冷え症者について、血管運動障害を伴う者は三陰交への EAT によって下肢血管反応を正常化にシフトさせることで全身症状の改善が見られたが、血管運

動障害を伴わない者では、病態および治療法の再検討の必要性が示唆された。

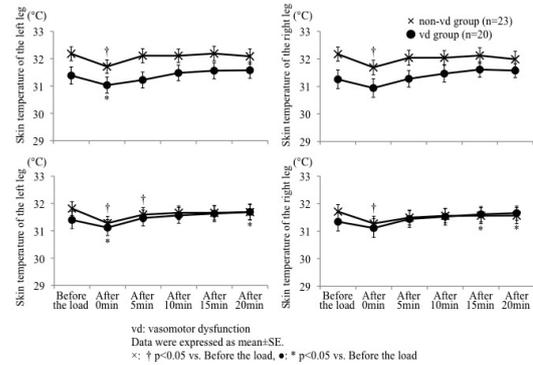


Fig. 4 : Changes in the skin temperature in the tibial aspect of bilateral legs during the postural change test  
Upper panels : results of the test at baseline, Lower panels : results of the after intervention period.

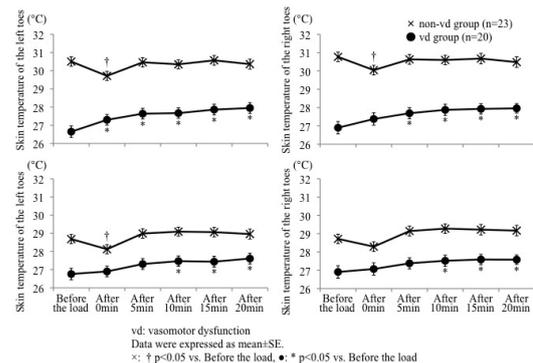


Fig. 5 : Changes in the skin temperature of bilateral toes during the postural change test  
Upper panels : results of the test at baseline, Lower panels : results of the after intervention period.

## その他の研究テーマ一覧

- ・前腕前面部の正中神経領域への鍼通電 (electro acupuncture analgesia : EAA) による痛覚閾値の変化
- ・月経痛に対する鍼通電治療の効果の検討
- ・月経前症候群における自律神経機能の変化
- ・パーキンソン病の歩行障害に対する鍼治療効果
- ・パーキンソン病に対する鍼治療の効果と鍼治療による中枢神経系へ影響に関する研究
- ・就労女性の皮膚状態と健康状態および生活習慣との関連について
- ・スポーツ鍼灸領域に関する研究—アイシングと温熱刺激—

## 業績一覧

### 学術論文

- 1) 竹田太郎ら：冷え症に対する下肢への低周波鍼通電療法の効果—下肢血管運動神経障害の有無による比較検討—。日本温泉気候物理医学会雑誌, 75 (2) : 124-37, 2012.
- 2) 福田晋平ら：パーキンソン病に対する鍼治療

の臨床効果に関する研究-ランダム化比較試験 (RCT) による検討. 明治国際医療大学誌, 6 : 21-45, 2012.

- 3) 馬場寛之: 就労女性の皮膚状態と健康状態および生活習慣との関連について. 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 (第 2 報). 日本繊維製品消費科学会 2012 年 年次大会, 2012.
- 2) 福田晋平ら: パーキンソン病に対する鍼治療の臨床効果. 第 12 回抗加齢医学会, 2012.
- 3) 福田晋平ら: パーキンソン病に対する鍼治療の臨床効果-ランダム化比較試験 (RCT) -による検討. 第 61 回全日本鍼灸学会学術大会, 2012.
- 4) 福田晋平ら: パーキンソン病に対する鍼灸治療の 1 例-経皮質長経路反射 (LLR) による評価を加えた症例-. 全日本鍼灸学会第 31 回近畿支部学術集会, 2012.
- 5) 福田晋平ら: パーキンソン病の歩行障害に対する鍼治療効果. 明治国際医療大学 全学研究ポスターワークショップ, 2012.

施設名： 生体構造解析室・微細構造解析室

(ほかに、生体機能解析室Ⅱを連動的に常時利用している。)

主任者名： 榎原 智美・熊本 賢三【所属】解剖学

共同研究者名： 榎原 智美、外村 宗達、高橋 茉里衣、大槻 妙子、黒田 大地、大橋 鈴世、城戸 優充、古田 貴寛

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、サル(京都大学より譲渡)およびヒトの手術材料(京都府立医科大学整形外科学教室と共同研究)を用いて、皮膚および深部受容器の神経要素を形態解析している。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。肉眼的観察から、一般光学顕微鏡的観察(生体構造解析室)に加え、必要に応じて共焦点レーザー顕微鏡、電子顕微鏡的観察(微細構造解析室)も行い、マクロからマイ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。

### 感覚受容器の電気生理学的特性の追究

皮膚感覚受容を担う一次感覚ニューロンにおいて、電気生理学的特性をも同時観察するために、特にラットの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・標識方を樹立した(生体機能解析室Ⅱ)。この手法を用いて、種々の終末形態を有するニューロンの電気発火特性と末梢と中枢の両終末形態の同時観察を遂行している。

### A. ラットの顔面洞毛に関する研究

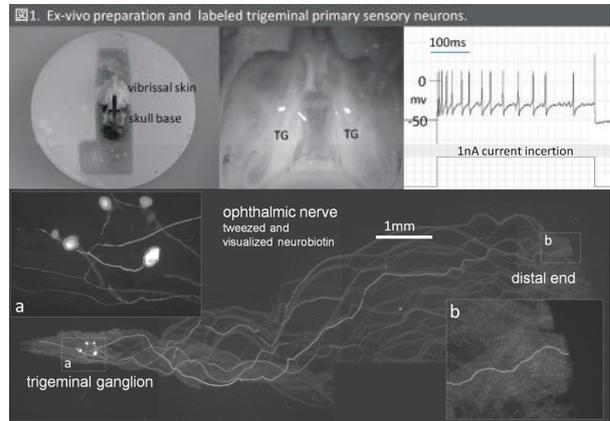
ラットの顔面部ヒゲには多種多様な皮膚感覚受容器が密に分布している(Ebara ら, JCN, 2002,他)。さらにヒゲは立毛筋(表情筋)の運動をリンクさせたアクティブタッチの感覚受容機構も注目されている(Kunsten ら, Trends Neurosci, 2009, 他)。しかし、各感覚受容器の生理学的反応特性とその末梢および中枢端の構造の一致は、古くからの素朴な謎であるが、ヒゲ研究においてすら未だ十分な解明はなされていない。そこで、単一神経細胞記録標識システムと共焦点レーザー顕微鏡システムを用いて、成熟ラットヒゲの一次感覚神経細胞の生理学的かつ形態学的特性の同時解明を目指している。

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】

昨年度に引き続き、研究を発展的に遂行中。

1. ラットの頭部摘出標本において、三叉神経節を可視下におく ex vivo 系を確立し、単一神経細胞記録と標識を成功させた(図1. 生理研 2012 年報収録)。
2. 麻酔下のラットの頭部で三叉神経節を可視下におく in vivo 系において、単一神経細胞記録と標識を



確立させ、一次感覚ニューロンの皮膚刺激による電気生理学的特性と、感覚受容終末および中枢の神経終末の同時観察を成功させた(2013年3月解剖学会で発表)。現在、約140実験例中10例(7%)において、メルケル終末、棍棒状終末、および槍型終末が検出できている。電顕的解析も進めている。

【現状と展望】単一ニューロンの電気生理と形態観察の実験系がようやく確立し、成功例を増やしつつある。多様な受容器が検出されつつある一方で、活動電位のオーバーシュートを検出しにくい問題点を抱える。この点に留意しつつ、成功例の数と種類を増やし、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りたい。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~D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. マウス耳介神経終末に関する研究(論文掲載)
- C. ネコの皮膚感覚受容器に関する研究
- D. 霊長類の感覚受容器に関する研究(学会発表)

### 【H23年度学会発表・論文等】

榎原智美、熊本賢三、外村宗達：ラットヒゲにおける一次感覚ニューロンの機能形態の同時追究。自然科学研究機構 生理学研究年報 第33巻: 168-169 2012

Suzuki M, Ebara S, Koike T, Tonomura S, Kumamoto K: How many hair follicles are innervated by one afferent axon? A confocal microscopic analysis of palisade endings in the auricular skin of thy1-YFP transgenic mouse. Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci. 88(10):583-95. 2012.

Marie Takahashi, Sotatsu Tonomura, Daichi Kuroda, Satomi Ebara, Kenzo Kumamoto, Hiroyoshi Fujiwara, Ryo Oda, Toshikazu Kubo: Distribution of Merkel cells in distal phalange of human finger. The 35th Annual meeting of the Japan Neuroscience Society in Nagoya, 2012

施設名 : 遺伝子関連物質解析室、生体防御機構解析室、生体分子解析室  
 主任者名 : 雨貝孝 (代行: 糸井マナミ) (遺伝子関連物質解析室) 【免疫・微生物】  
 糸井マナミ (生体防御機構解析室、生体分子解析室) 【免疫・微生物】  
 共同研究者名 : 千葉章太 【免疫・微生物】

1. 研究の目的

胸腺はT細胞分化の場であり、獲得性免疫において中心的な役割を担っている。胸腺におけるT細胞の分化においては胸腺微小環境を構築するストローマ細胞の主な構成細胞である胸腺上皮細胞の働きが重要である。我々は胸腺上皮細胞の分化と機能に関する研究を、①胸腺上皮細胞の分化における間葉系細胞および胸腺細胞との細胞間相互作用の関与とその分子メカニズム、②ヌードマウスにおける胸腺低形成の原因遺伝子 Foxn1 転写因子の胸腺上皮細胞における役割、の点から進めている。

① 胸腺上皮細胞の分化における胸腺細胞の関わり : 近年我々は、胸腺内T細胞分化に欠損のあるモデルマウスを用いた解析を行い、胸腺細胞の無い huCD3ε-tg26 (eTg) マウスの胎仔胸腺において、胸腺皮質上皮細胞の機能分子 (DLL4, CCL25) の発現が認められることから胸腺皮質-髄質共通上皮前駆細胞から皮質上皮細胞系列の分化は胸腺細胞との相互作用に非依存的に始まることを示した。本研究では、主に器官培養系を用いて髄質上皮細胞系列の分化における胸腺細胞の関与とその分子メカニズムの解明を行った。

② 転写因子 Foxn1 の胸腺上皮細胞における役割 : 我々はこれまでに、ヌードマウスおよび正常マウスを用いた解析より、Foxn1 転写因子が胸腺上皮細胞の分化初期段階の細胞増殖と機能分子発現誘導に必須の役割をすることを示し、さらに Foxn1 は胸腺上皮細胞の機能維持の過程においても関わることを示唆してきた。本研究では、胸腺上皮細胞における機能分子発現と Foxn1 転写因子の関連の解析および Foxn1 転写因子の標的遺伝子の同定を行うために必要な抗 Foxn1 抗体の作成を行った。さらに、胸腺は思春期頃より退縮が始まり、早期に機能低下が起こる器官である。我々は、加齢により Foxn1 を発現する胸腺上皮細胞の割合が減少することを見出しており、本研究では老齢マウスおよび若齢マウス胸腺を用いて、加齢による Foxn1 の発現量の変化とその機能への影響について検討した。

2. 研究の方法

① 胎仔胸腺器官培養を用いた胸腺髄質上皮細胞の機能的分化に関わる胸腺細胞因子の解析

C57BL/6 マウス、huCD3ε-tg26 (eTg) マウスおよび RAG2 遺伝子欠損 (RAG2KO) マウスの胎生 14 日胸腺を摘出し、高酸素条件下で 4 日間器官培養した。RANKL (1μg/ml)、受容体刺激型抗 LTβR 抗体 (2μg/ml) を単独または両方を培養液に添加し、髄質上皮細胞の機能分子およびマーカー分子発現への効果を定量的 PCR により解析した。

②-1 ハムスター抗マウス Foxn1 モノクローナル抗体の作成

マウス全長 Foxn1 遺伝子を EF1αプロモーターによる発現ベクターを用いて BHK-21 細胞株 (シリアンハムスター腎由来) に導入し、安定的に Foxn1 タンパクを高発現する細胞株を作成した。Foxn1 遺伝子導入株の核分画を抗原として、シリアンハムスター (雌性、8 週齢: 免疫開始時) に免疫を行った。

②-2 加齢による胸腺退縮における Foxn1 発現量変化とその機能分子発現への影響

C57BL/6 (B6) マウスおよび F::EGFP マウス (Foxn1 プロモーター下流で EGFP を発現する。B6 遺伝背景) (雄性、22 ヶ月齢、6~8 週齢) の胸腺を摘出し、酵素処理により単離細胞とし、磁気ビーズ標識抗 CD45 抗体を用いて胸腺細胞を除去したのち、MACS カラムを用いて EpCAM 陽性上皮細胞分画を分取した。分取した細胞分画について、RNA を抽出、cDNA を合成し SYBR Green を用いた定量的 PCR により、髄質上皮細胞機能分子およびマーカー分子の発現を比較検討した。発現量はハウスキーピング遺伝子 (GAPDH) でノーマライズし、老齢マウス胸腺上皮細胞分画における発現量を若齢マウス胸腺上皮細胞分画における発現量で除した。

3. 結果と考察

① 胎仔胸腺器官培養を用いた胸腺髄質上皮細胞の機能的分化に関わる胸腺細胞因子の解析

野生型マウス、eTg マウスおよび RAG2KO マウスの胎仔胸腺における髄質上皮前駆細胞マーカー分子 (RANK) の発現および髄質上皮機能分子 (AIRE, XCL1) の発現を定量的 PCR で検討した結果、eTg マウス胎仔胸腺では野生型および RAG2KO マウス胸腺に比べて RANK の発現が著しく低く、また、AIRE と XCL1 の発現はほとんど認められなかった。このことから、eTg マウスの胸腺では髄質上皮細胞の分化が初期段階より

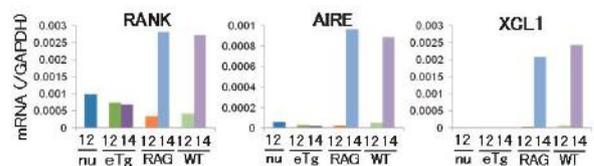


図 1. 定量的 PCR による胎仔胸腺における髄質上皮細胞マーカーおよび機能分子発現解析

欠損していることが示された (図 1)。

次に、eTg マウス胎生 14 日胎仔胸腺の器官培養系に RANKL、受容体刺激型抗 LTβR 抗体もしくはその両方を添加し、髄質上皮細胞の分化が誘導されるかどうかを検討した (図 2 A)。eTg マウス胎仔胸腺を単独で器官培養すると、Aire の発現は誘導されないが、RANKL の添加によって、Aire の発現が誘導され、RANK および OPG の発

現が増加する一方で、CCL19, XCL1 の発現が正常マウスや RAG2KO マウスの胸腺に比べてきわめて低いことが示された。eTg マウス胎仔胸腺器官培養への抗 LTβR 抗体の添加により、RANK 及び CCL19 の発現の増強が認められたが、Aire の発現誘導及び OPG, XCL1 の発現増強は認められなかった (図 2 B)。これらの結果より、RANK 陽性髄質上皮前駆細胞は胸腺細胞との相互作用に依存せず形成されること、RANK 以外のシグナルとして胸腺髄質上皮細胞における CCL19 の発現は LTβR シグナルにより調節されること、さらに XCL1 の発現調節には他の胸腺細胞因子が関与することが示された。

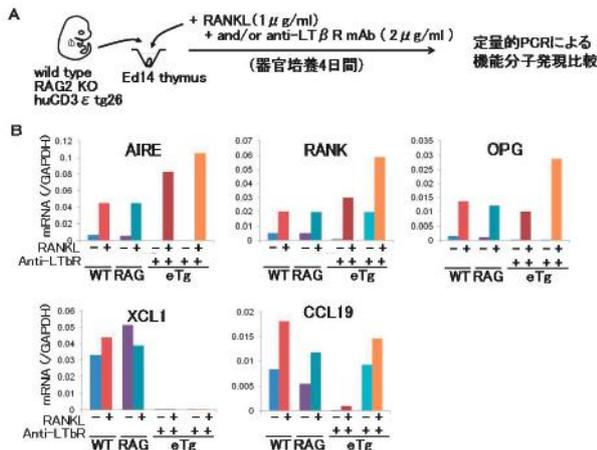


図 2. 器官培養系を用いた髄質上皮細胞の分化誘導因子の検討

②-1 ハムスター抗マウス Foxn1 モノクローナル抗体の作成

Foxn1 遺伝子を導入した細胞株 (BHK-Foxn1 B1B10) について、サイトスピン標本を作製し、ウサギ抗 Foxn1 ポリクローナル抗体を用いた免疫染色を行ったところ、ほとんどの細胞の核に Foxn1 の発現が確認された (図 3 A)。また、定量的 PCR で Foxn1 mRNA の発現量を確認したところ、これまでに本研究室で樹立している CHOFoxn1 細胞株の約 2.5 倍の Foxn1 mRNA 発現量が認められた (図 3 B)。現在、この細胞株の核分画を抗原として、ハムスターへの免疫を行っている。

②-2 加齢による胸腺退縮における Foxn1 発現量変化とその機能分子発現への影響

老齢マウス胸腺および若齢マウス胸腺の上皮細胞分画における胸腺上皮細胞機能分子およびマーカー分子の発現を定量的 PCR で比較検討した結果、老齢マウス胸腺上皮細胞において、Foxn1 の発現が著しく低下していた。また、皮質上皮細胞の機能分子である DLL4, KitL, Prss16 については低下傾向、β5t と CathepsinL は増加傾向が見られた。一方、髄質上皮細胞の機能分子である CCL19, CCL21, Aire については発現量の低下が認められた。また髄質上皮前駆細胞マーカー分子である RANK, Cld3, Cld4 の発現も低下傾向が認められた。これらの結果より、加齢により胸腺上皮細胞における Foxn1 の発現が低下し、それに伴って、皮質および髄質上皮細胞の機能分子の発現が低下することが示唆された。また、皮質上皮細胞

に比べて髄質上皮細胞においてその傾向が強いことが示唆された。

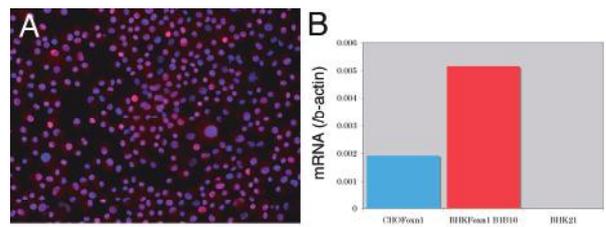


図 3. Foxn1 遺伝子導入株の Foxn1 発現  
A: BHK-Foxn1 B1B10 株のサイトスピン標本の免疫染色 (赤: Foxn1、青: DAPI (核染色))  
B: 定量的 PCR による Foxn1 遺伝子発現比較

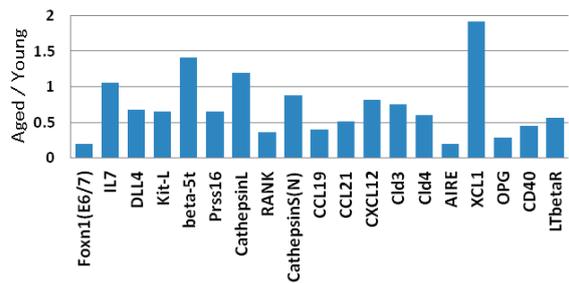


図 4. 定量的 PCR による老齢マウスおよび若齢マウス胸腺上皮細胞分画における胸腺上皮細胞分子の発現解析

4. 業績 (学会発表)

- 1) 糸井マナミ、雨貝孝: 胸腺髄質上皮細胞への系列分化は胸腺細胞非依存的に起こる. 第 22 回京都 T 細胞カンファレンス, 抄録集, 22:18, 2012.7.6-7
- 2) Itoi M, Chiba S, Amagai T: Generation of RANK positive thymic medullary epithelial progenitors occurs without interaction with developing thymocytes. ThymUS International Conference 2012. (Miami, USA), Abstract, 63, 2012.11.4-9
- 3) Itoi M, Chiba S, Amagai T: Generation of thymic medullary epithelial progenitors occurs without interaction with developing thymocytes. 第 41 回日本免疫学会学術集会, 抄録集, 41: 57, 2012.12.5-7

施設名：生理活性物質分析室

主任者名：林 知也【所属】生理学

施設利用研究者名：都築英明・鳴瀬善久（自然科学），松浦忠夫・廣瀬英司（解剖学），林 知也（生理学），石崎直人・富永 敦（臨床鍼灸学），吉田行宏（健康・予防鍼灸学）

テーマ：光る iPS 細胞の腱細胞分化誘導の検討  
 研究者：鳴瀬善久<sup>1</sup>，松本由加利<sup>1</sup>，村田友美<sup>2</sup>，  
 廣瀬英司<sup>2</sup>，都築英明<sup>1</sup>，松浦忠夫<sup>2</sup>  
 所属：<sup>1</sup>自然科学ユニット，<sup>2</sup>解剖学ユニット

【目的】

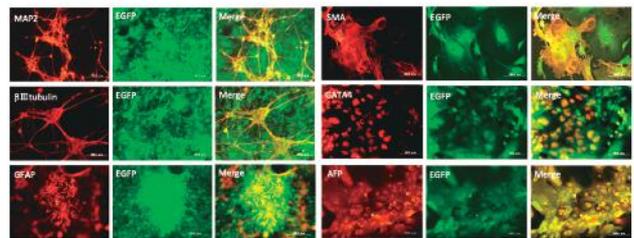
腱や靭帯は、加齢や酷使によって腱の弾力性低下が現れ、そこに外力が加わると損傷・断裂がおき、高齢者にとっては治療期間も長く完治が極めて難しい組織である。また、腱細胞分化の分子機構の詳細は未だ不十分であり、腱細胞を用いた再生医療の治療法も確立していない。現在の腱断裂治療は、他の部位から採取した腱または人工腱の移植手術が行われ、腱や筋組織が萎縮している高齢者にとっては負担が大きく、新たな治療法が切望されている。そのため、iPS 細胞などの多能性幹細胞から腱細胞を作製することが可能となれば、損傷する以前の正常な腱組織へと修復する可能性が広がり、アキレス腱断裂などに代表される腱損傷の治療に大きく貢献できると考えられる。そこで、再生医療の移植実験で移植細胞がどのような細胞に分化しても特異的に追跡調査できるように全身に EGFP を発現するマウスから EGFP-iPS 細胞株を樹立し、中胚葉由来の腱細胞が誘導されるか検討を行った。

【方法】

- ・光 iPS 細胞株 (EGFP-iPS 細胞) の培養  
 EGFP-iPS 細胞株は、mitomycin C 処理したフィーダー細胞の SNL76/7 の細胞上に播種し、幹細胞増殖培地に 1000units/ml LIF を加えたものを用いて培養した。コロニーがある程度の大きさになったら、0.25% trypsin/1mM EDTA 処理により EGFP-iPS 細胞株を剥がし、 $4 \times 10^5$  cells/ $\phi$  3.5 cm になるようにフィーダー細胞上に再播種した。以後この操作を繰り返し、未分化状態を維持した。
- ・EB (embryoid body) 形成  
 未分化状態を維持した ES 細胞、EGFP-iPS 細胞株を 96well U 底プレート 1well 中またはハンギングドロップの一粒が  $2 \times 10^3$  cells ずつ播き、2 日間培養し EB 形成を行い、分化実験を行った。
- ・腱分化誘導の検討  
 腱損傷の治癒過程で損傷部位から FGF-2, TGF- $\beta$ , BMP などが産生されており、腱再生に重要であることが報告されている。そのため、まず EB 形成後、ラットアキレス腱組織片 6 mm<sup>3</sup> を入れ、腱組織との共培養を行った。培地交換は 2 日置きに行い、最大 30 日間培養し観察を行った。各日数で RNA を抽出し RT-PCR 解析を行った。
- ・免疫染色法  
 スライドガラス上に培養した細胞は、PBS で 3 回洗浄後、3%パラホルムアルデヒドを加え 15 分

間固定した。固定後 PBS で 3 回洗い、組織特異的な一次抗体 (MAP2,  $\beta$  III Tubulin, GFAP, SMA, GATA4, AFP, SCX) を入れ室温で 2 時間反応させた。

図1 EGFP-iPS細胞株は三胚葉に分化する



後、PBS で 3 回洗浄、二次抗体 (酵素または蛍光標識二次抗体) を入れ 30 分反応させ、免疫染色を行い顕鏡した。

【結果】

全身に EGFP を発現するマウス尻尾の線維芽細胞から EGFP-iPS 細胞株を数クローン樹立した。この細胞株は未分化能を維持し、また多能性を有し、胚様体形成後の分化誘導実験で三胚葉の細胞に分化することを確認した (図 1)。そこで、この iPS 細胞株を用い、アキレス腱組織の共培養で腱再生に関わる分子が産生されていると仮定し、腱分化に影響するか検討した。その結果、RT-PCR 解析において、腱組織共培養群では *Mkx*, *Col1 $\alpha$ 2* は EB 形成から 12 日目、*Scx* は 17 日目で発現が見られた。*Scx*, *Mkx*, *Col1 $\alpha$ 2*, *Col3 $\alpha$ 1* 全てが 17 日目で最も発現が高かった (図 2)。*Scx* および *Mkx* は 17 日目と 27 日目で発現量が高くなる二相性の発現が見られた。コントロール群も同様に二相性の発現が見られたが、発現量は腱組織共培養群の方が高かった。

【考察】

我々が作製した EGFP-iPS 細胞株は、胚様体形成後の分化誘導実験で外胚葉、中胚葉、内胚葉の細胞に分化する能力を持ち、再生医療の研究に利用できることを示すことができた。また、遺伝子解析から、*in vitro* において iPS 細胞から腱細胞を分化誘導することが可能であることが明らかとなった。今後は、腱損傷の治癒過程に関与する細胞成長因子の FGF-2, TGF- $\beta$  や BMP などが iPS 細胞からより効率的に腱細胞の分化誘導および腱成熟に影響を与えているか検討する予定である。

学会発表

1) 松本由加利, 村田友美, 廣瀬英司, 都築英明, 松浦忠夫, 鳴瀬善久: ES細胞, iPS細胞の臍細胞分化誘導の検討. 第118回日本解剖学会総会・全国学術集会, 講演プログラム・抄録集, 香川, 148, 2013. 3. 29.

テーマ: ウォーミングアップとしての筋収縮が運動に与える影響

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

【目的】

全身的筋運動による一般的なウォーミングアップでは, それによって生じた酸素供給と温度上昇の増大が, 高強度運動パフォーマンスの改善に寄与することと, 高強度運動中の血中乳酸の増加率が有意に低くなることが示されている。高強度運動前の局所的な低強度の筋収縮に関して, 運動前的大腿部への鍼通電刺激が, 高強度運動中の血中乳酸量を有意に抑制したことが報告されている。しかし, 局所の筋収縮によって, 乳酸増加が抑制される原因などは明らかになっていない。また, 低強度での局所の筋収縮が, その後の運動での呼吸代謝に与える影響は明らかでない。そこで, 全身的なウォーミングアップの代替として, 低強度での局所の他動的な筋収縮が, ATP産生時の基質としての血漿遊離脂肪酸濃度に与える影響と, その後の運動中の呼吸代謝に与える影響を明らかにする目的で研究を行った。

【方法】

被験者は健常な男性6人(平均±標準偏差, 23.2±2.6歳)とした。実験群として, 運動前に経皮的電気刺激(Polaris PO-1, ミナト)による大腿四頭筋群への低強度筋収縮を30分間行った筋収縮群と, 運動前に30分間臥位安静をとらせた安静群の2群を設け, 全被験者に両群の実験に参加してもらった。電気刺激による筋収縮前あるいは臥位安静前, 運動前, 運動直後, 運動30分後の血中乳酸濃度, 血中グルコース濃度を自己採血により, 乳酸測定器(LT-1710, アークレー)とグルコース測定器(GT-1820, アークレー)を用いて測定した。各自己採血時の血漿遊離脂肪酸濃度は, 冷凍保存した血漿から, 酵素法による測定キット(K612-100, BioVision)を用いて後日測定した。運動は自転車エルゴメーター(75XL II ME, Combi)を用いて漸増負荷にてオールアウトまで行った。運動中の呼吸代謝と心拍数を呼吸代謝計(AE300S, ミナト)と心拍計(RS800CX, Polar)にて測定し, 自覚的な運動強度の指標として, visual analogue scale (VAS)とBorgスケールを測定した。各測定データは, 平均値±標準偏差で表し, 各測定時期の両群間の検定にはWilcoxonの符号付順位検定を用いた。

【結果】

血中乳酸濃度(mM)は, 運動前, 運動直後の順に筋収縮群で1.5±0.5, 11.2±1.6, 安静群で1.5±0.3, 10.5±2.5であり, 両群間に有意差はなかった。血中グルコース濃度(mg/dL)は, 運動前, 運動直後の順に筋収縮群で88.3±9.0, 87.3

±14.0, 安静群で91.8±5.7, 87.0±12.5であり, 両群間に有意差はなかった。血漿遊離脂肪酸濃度(μM)は, 運動前, 運動直後の順に筋収縮群で160.6±76.9, 109.0±45.2, 安静群で131.2±55.5, 88.9±36.0であり, 運動前の値が筋収縮群では高い傾向を示したが, 両群間に有意差はなかった。運動直後のBorgスケールは筋収縮群で15.8±1.8, 安静群で17.7±1.2となり, 前者が後者に比し低い傾向を示したが, 有意差はなかった。呼吸代謝から求めた換気性作業閾値(VT)を運動負荷で示した値(Watt)は, 筋収縮群, 安静群で各々152.7±24.9, 142.9±22.6であり, 両群間に有意差が認められた(p<0.05)。オールアウトまでの運動負荷量(Watt)は, 筋収縮群, 安静群で各々197.4±22.6, 190.6±24.6と, 前者が後者に比し多い傾向を示したが, 有意差はなかった。

【考察】

最近まで運動中の乳酸増加は, 運動強度増加に伴う細胞内の酸素不足のため, 嫌気性である解糖系のみでのATP産生が増加することによって考えられていた。現在では乳酸増加は, ATP産生時の使用基質の違いによって考えられている。本研究では, 運動前に低強度の筋収縮を行わせると, ATP産生の基質として脂肪酸利用量が増え, その状態で運動を行わせると, 糖の利用がコントロール状態に比し遅くなり, 乳酸産生増加が抑えられるのではないかとこの仮説に基づき実験を行った。結果では, 筋収縮群でVTの有意な延長が認められた。これは運動前の筋収縮により, ATP産生の基質の割合が変化したことが1つの原因であると推察され, 本研究での仮説を支持する結果であったと考えられる。本結果で血中乳酸濃度の差が認められなかったのは, 筋収縮群で運動負荷量増加により, 最終的な乳酸産生量が増加したためと考えられる。運動前すなわち電気刺激による筋収縮直後に, 有意ではなかったが, 筋収縮群で安静群に比し血漿脂肪酸量が増加する傾向であったのは, 低強度の筋収縮を30分間行ったことにより, 脂肪組織からの脂肪酸動員が増加したことを示唆しているのではないかと考えられる。

学会発表

1) 林 知也, 煙山奨也: 直前の局所筋収縮が運動時の呼吸代謝に与える影響. 第14回日本スポーツ整復療法学会大会, スポーツ整復療法学研究, 14(1, 2): 56, 東京, 2012. 11. 4.

【上記以外の研究テーマ, 研究者, 及び所属】

テーマ: 鍼通電刺激の骨格筋の糖代謝及び脂質代謝に及ぼす影響

研究者: 富永 敦, 石崎直人  
所属: 臨床鍼灸学ユニット

テーマ: 鍼通電刺激が運動誘発性酸化ストレスに及ぼす効果について

研究者: 吉田行宏<sup>1</sup>, 林 知也<sup>2</sup>, 城田健吾<sup>1</sup>, 高橋優太<sup>1</sup>, 木村啓作<sup>1</sup>, 片山憲史<sup>1</sup>  
所属: <sup>1</sup>健康・予防鍼灸学ユニット, <sup>2</sup>生理学ユニット

施設名：高次機能解析室

主任者名：中山登稔【所属】生理学

共同研究者名：中山登稔、林 知也

痛み関連電位 P250 を用いた経皮的低周波刺激の疼痛緩和効果の検討

臨床の現場における低周波刺激療法では、刺激の慣れや不快感の要因をなくし治療効果をあげることが多くの治療者の切望である。そこで、新しい刺激概念を含むスーパータイダル波形の出力パターンを有する低周波治療器が開発され、注目されている。なぜなら、この種の刺激装置を刺激に用いると、多くの被験者や患者が“気持ち良い”、“痛みがなくなった”との訴え声がよく聞かれるからである。しかし、これらの治療効果を支持する有力な科学的なデータは見当たらない。

本研究の目的は、低周波刺激（スーパータイダル波形）の疼痛緩和効果を、痛み関連電位成分（N150-P250）のピーク間振幅、VAS、末梢局所の圧痛閾値のパラメータを用いて検証し、低周波刺激前・刺激後と刺激前・刺激30分後の変化を観察・解析し、経皮的低周波刺激の疼痛緩和効果について究明する。

### 方法

(1)健康成人24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。本研究は明治国際医療大学倫理委員会の承認を受けた上で行った。被験者を2つのグループにランダムに分け、被験者は経皮的低周波刺激群(刺激群)と非低周波刺激群(対照群)のいずれか一つだけに参加してもらった(図1)。

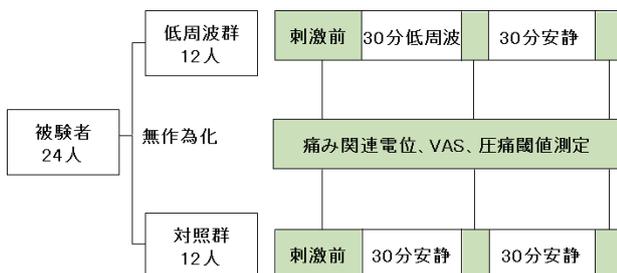


図1 本研究のプロトコルの概略図

(2)痛み誘発刺激は座位で、被験者の右示指の第1・2関節間にリング電極を装着し、電気刺激装置から持続時間0.5msで500Hz、20トレインで行った。刺激強度は被験者が非常に痛いと感じた時の強さの約80%で行った。

(3)刺激群の低周波刺激はスーパータイダル波形を用いて痛み軽減効果のある両側上肢の経穴である手の三里および合谷に各々刺激を行った。対照群は電気刺激を施行せず、代わりに30分間の安静を取らせた。刺激の強度は、拇指球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、被験者にその刺激感覚を記述してもらった。

(4)圧痛閾値の測定は両側腕橈骨筋と咬筋筋腹の中央部にpush-pullゲージを用いて測定を行った。指の痛み誘発刺激で被験者が感じた主観的な痛みについてVASを用いて評価してもらった。

(5)痛み関連電位の記録は10-20国際法に従って関電極はCzに、不関電極は両側の耳垂(A1+A2)に脳波用皿電極を用いて、各々の個所から導出した。接地電極は両眉間に張り付けた。導出された信号は、高感度生体増幅器にて増幅・A/D変換し、パーソナルコンピュータに入力し、測定ソフトウェアVital Tracerを用いてモニター・記録した。

(6)統計処理は統計ソフトPASW Statisticsを用いて検定を行った。腕橈骨筋と咬筋の同側と対側の圧痛閾値の群内検定はWilcoxon signed rank testにより、各々の群間検定はMann-Whitney's U testによって行った。痛み関連電位の振幅・潜時、VAS値の群内検定はpaired t-testにより、各々の群間検定はTwo sample t-testによって行った。有意水準は5%以下とした。

### 結果

(1)N150-P250 振幅変化

右示指の電気刺激によりCzから記録された経皮的低周波刺激前、刺激直後、刺激30分後の各々

の痛み関連電位の陰性電位 N150 と陽性電位 P250 の成分が記録された。刺激群では、Cz から記録された N150-P250 の振幅は、刺激直後が刺激前に比べ減少傾向にあったが有意差はなかった。しかし、刺激 30 分後が刺激前に比べ N150-P250 の振幅が有意に減少した ( $p < 0.05$ )。対照群では、Cz から記録された N150-P250 の振幅は、刺激直後、刺激 30 分後が刺激前に比べ各々増加や減少傾向を示したが有意差はなかった (図 2)。

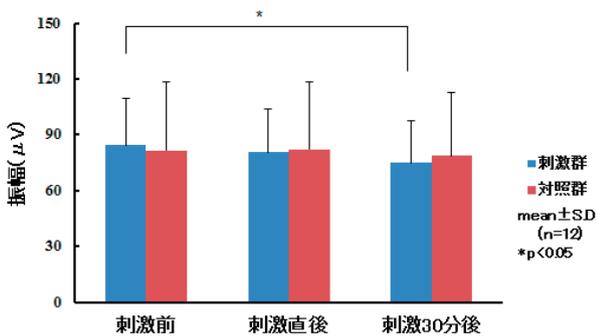


図 2 Cz から記録された両群の経皮的低周波刺激前、刺激直後、刺激 30 分後の各々の痛み関連電位 (N150-P250) の振幅の比較

### (2) 腕橈骨筋圧痛閾値の変化

刺激群の両側腕橈骨筋圧痛閾値は刺激前に比べて、刺激直後や 30 分後に有意に増加した。(同側各々  $p < 0.01$ ,  $p < 0.01$ ; 対側各々  $p < 0.01$ ,  $p < 0.01$ ) 一方、対照群では刺激前に比べて刺激直後や刺激 30 分後に減少傾向にあったが、群内に有意差はなかった。また、両群間に有意差が認められた (同側各々  $p < 0.01$ ,  $p < 0.01$ ; 対側各々  $p < 0.001$ ,  $p < 0.01$ )。

### (3) 咬筋圧痛閾値の変化

刺激群の対側咬筋圧痛閾値は刺激前に比べて、刺激直後に増加し始め、30 分後に有意に増加した ( $p < 0.05$ )。両群間に有意差はなかった。一方、対照群の対側咬筋圧痛閾値は刺激前に比べて刺激直後に有意に減少した ( $p < 0.05$ )。また、刺激前と刺激直後における対側圧痛閾値の平均値の差では、刺激群が対照群に比べ有意に上昇した ( $p < 0.01$ )

### (4) VAS 値の変化

刺激群の VAS 値は刺激前に比べて、刺激直後や刺激 30 分後に減少傾向にあったが、群内に有意差はなかった。一方、対照群の VAS 値は刺激前に比べて、刺激直後に増加傾向にあり、刺激 30 分後に有意に増加した ( $p < 0.05$ )。しかし、両群間に有意差はなかった (図 3)。

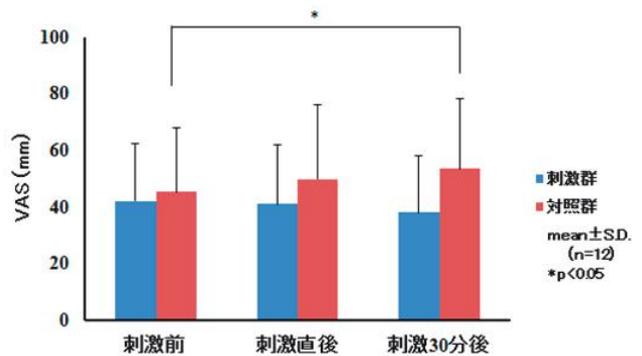


図 3 低周波刺激群および対照群における低周波刺激前、刺激直後、刺激 30 分後の各々の VAS 値の比較

### 結論

以上の結果からスーパータイダル波形を用いて、両側上肢の経穴である手の三里および合谷に 30 分の間刺激を行うと、痛み関連電位の N150-P250 振幅を減少させ、刺激の周辺部位や遠隔部位の痛覚閾値を上昇させ、痛みの緩和効果をもたらすことが明らかになった。なお、内因性オピオイドの作用は全身性であることから異なる神経分節上である咬筋においても類似したレベルの抑制効果が得られると思われる。しかし、刺激周波数、刺激部位、刺激強度および刺激時間の条件選択によって痛みの緩和効果も異なるので、今後の研究課題になると思われる。

(第 42 回日本臨床神経生理学会学術大会で発表した内容の一部。2012 年 11 月 8 日)

施設名：生体機能解析室 I

主任者名：赤澤 淳【所属】基礎柔道整復学 II

共同研究者名：鎌田光博、加藤百合子、北川美千代、岡田薫、川喜田健司

「異なる環境下における末梢刺激認知変容の検討」

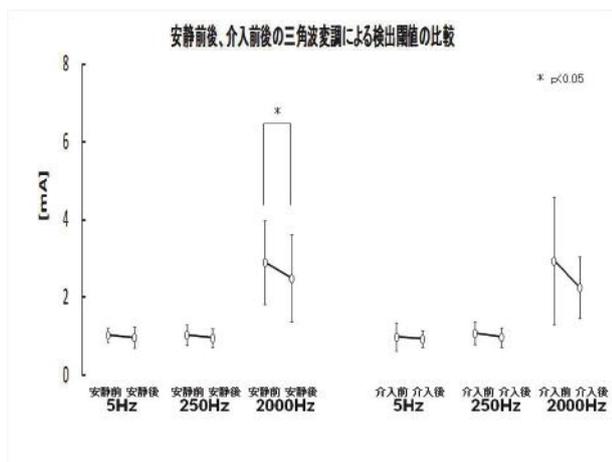
【目的】古くより視覚遮断による体性感覚への修飾作用が報告されており、その視覚遮断実験時には、体性感覚刺激として機械・熱刺激などの自然刺激が一般的に用いられてきた。本研究では、異なる周波数の経皮的正弦波通電刺激を用いて選択的に神経線維を刺激した際の感覚現象に対する視覚遮断の影響について解析した。

【方法】4名の被験者を対象に手背部における検出閾値と弁別閾値の測定を行った。測定には5Hz、250Hz、2000Hzの3つの周波数の三角波変調による経皮的正弦波通電刺激を用い、それぞれ30分間の安静と暗黒ゴーグルによる視覚遮断介入の影響について比較した。また、12名の被験者の中指側面へ三角波変調と階段波変調による経皮的正弦波通電刺激を与えた時の検出閾値の測定をし、安静前後と視覚遮断介入前後の比較を行った。

【結果】三角波変調による検出閾値と弁別閾値の測定結果は、安静時に検出閾値の有意な低下を認めたが、視覚遮断による影響はなかった。一方、階段波変調による検出閾値の測定において、安静後に比べ視覚遮断介入後の検出閾値に250Hzで有意な低下(p<0.05)、2000Hzで低下傾向を認めた(p=0.09)。

【考察】本実験で使用した正弦波刺激は、用いる周波数によって異なる感覚神経を選択的に興奮させるとされている。今回の研究で有意差を認めた250Hz刺激はAδ線維を選択的に興奮させることから、視覚情報提示による痛覚抑制機構に対して、視覚遮断による脱抑制が生じた可能性が示唆された。また、触覚に関しても同様の機序の存在が示唆された。

【結論】短時間の視覚遮断は、正弦波通電刺激で生じる体性感覚現象の感度を高める可能性が示唆される。



「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】これまで行われてきた鍼のランダム化比較試験において、鍼群の効果はシャム群との比較で統計的有意差を認めないことが多い。その原因として、対照刺激として用いたシャム鍼刺激に生理的活性があった可能性が挙げられているが、その具体的な検証は行われていない。そこで、マイクロニューログラム法によりその反応性を調べた。

【方法】健常成人の末梢神経からマイクロニューログラム法により単一ユニット放電を記録し、各種鍼刺激およびシャム鍼刺激に対する反応性を調べた。

【結果】皮膚の無髄線維支配の機械・熱受容性ユニット (CMH) および皮膚の有髄線維支配の各種機械受容性ユニット (AM) のいずれも、各種の鍼刺激 (豪鍼、皮内鍼、円皮鍼) と従来のシャム鍼 (最小鍼、非刺入鍼、皮膚への鍼管刺激) の刺激に対して興奮性反応を示した。唯一の例外として、シャム円皮鍼に対するCMHの反応性が極めて低かった。

【考察】CMHユニットはポリモーダル受容器由来とされており、鍼灸刺激による内因性鎮痛機構をはじめとする各種調節系を賦活する入力系と考えられている。今回、従来用いられてきた各種シャム鍼がCMHを興奮させたことは、シャム鍼を生理的不活性な介入とする前提を明らかに否定するものであり、シャム鍼を生理的不活性とした前提での議論の見直しを強く求めるものである。

「手における阻血解除時のしびれ感覚に対する灸刺激の効果」

「呼吸時の鍼刺入抵抗の変化の解析」

学会発表

- 1) Kenji Kawakita, Maria Carneiro, Kaoru Okada, Chie Ogasawara, Eiji Sumiya, Yukihito Sugawara, Shigekatsu Aizawa, Shuji Goto: Physical Activities of Sham Devices Used in Clinical Trials of Acupuncture. 16th International Conference of Medicine, 2012.
- 2) Kawakita Kenji, Okada Kaoru, Carneiro Maria, Sugawara Yukihito, Aizawa Shigekatsu, Goto Shuji: Press tack needle and its sham are useful for duble blinded clinical trials of acupuncture. 14<sup>th</sup> World Congress on Pain, International Association for the Study of Pain, 2012
- 3) 川喜田健司, 岡田 薫, 菅原之人, 會澤重勝: 鍼の臨床試験における各種シャム鍼刺激の生理活性の微小神経電図法による解析. Pain Res. 27 (2), 91, 2012.

施設名：生体機能解析室Ⅱ

主任者名：岡田薫【所属】生理学

共同研究者名：天野祐子、佐藤想一郎、小笠原千絵、角谷英治

## 脚橋被蓋核ニューロンの鉅回旋刺激および輻射熱刺激に対する反応特性の検討

### 【目的】

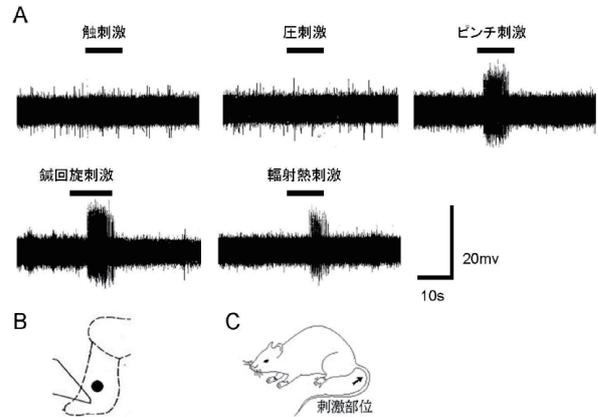
高齢者では、加齢による骨格系の変形が引き起こす異常な筋緊張に基づく痛み、何らかの中枢神経系の異常による持続的な筋緊張など、運動器系に様々な症状が発生してくる。それにより鍼灸医学が担うべき役割もこれまで以上に大きくなってきている。そこで、末梢の筋緊張の程度の調整や脊髄性の運動反射の調節に関与するとされる脚橋被蓋核 (PPTN) ニューロンの、鉅刺激あるいは熱刺激を含めた体性刺激に対する反応性を調べ運動器系に及ぼす効果の機序の可能性を検討した。

### 【方法】

実験にはウレタン麻酔下の SD 系雄性ラット 290g から 540g の 9 匹を用い、PPTN のニューロン活動の単一細胞外記録を行った。単一ニューロン活動は、探査刺激としての体性機械刺激を行いながら自発活動も目安にして導出し、条件刺激として触刺激・圧刺激・ピンチ刺激の強度の異なる機械刺激、線香を近づける輻射熱刺激および鉅回旋刺激、透熱灸刺激を体の様々な部位に行い、反応特性を調べた。また、現在、PPTN の脊髄性運動反射への影響を検討するために、左肢膝窩部で坐骨神経を電気刺激することによって腓腹筋から記録できる伸張反射の筋電図 (H 波) を導出し、PPTN を電気刺激した際の H 波の出現状況を検討中である。

### 【結果】

本研究で記録することができた 52 例のニューロンはすべて自発発火を有しており、PPTN 内で 39 例を、PPTN の周辺部で 13 例を記録することができた。PPTN 内で記録できた 39 例の単一ニューロンは、吻側部で 19 例、中間部で 5 例、尾側部で 15 例を記録することができた。そのうち、22 例が機械刺激に対して反応を示し、17 例は反応しなかった。機械刺激に対して反応を示した 22 例は、WDR ニューロン 11 例そのうち、興奮性に反応したものは 8 例あり、抑制性に反応したものは 3 例、NS ニューロン 11 例のうち、興奮性に反応したものは 8 例で、抑制性に反応したものは 3 例だった。非侵



### PPTN の興奮性 NS ニューロンの反応例

A 上段は左から触刺激、圧刺激、ピンチ刺激を行った際の、下段は左から鉅回旋刺激、輻射熱刺激を行った際の PPTN の興奮性 NS ニューロン (ED タイプ) の反応例を示す。B はニューロンの記録部位 (尾側部中央) を、C は刺激部位の尾上方部を示す (矢印)。このニューロンの受容野は全身性で、触刺激、圧刺激を行った際には反応しなかったが、ピンチ刺激に対して興奮性に反応し、鉅回旋刺激および輻射熱刺激に対しても興奮性に反応した。

害レベルの刺激だけに反応する LTM ニューロンは今回観察することができなかった。記録した WDR ニューロンおよび NS ニューロンはすべて、顔面部を含む全身に及ぶ広い受容野を有していた。

### 【考察】

実験結果から、今回、侵害性機械刺激に対して興奮性に反応するものが最も多く観察され、それらは鉅回旋刺激および輻射熱刺激によっても興奮性の反応を示した。これらの結果より、皮膚に与えたピンチ刺激だけではなく、鉅回旋刺激および輻射熱刺激も PPTN ニューロンを興奮させて、伸張反射や屈曲反射を調整する可能性が示唆された。鍼灸刺激の運動器系に及ぼす効果の機序として、末梢の刺激部位局所の作用機序以外に、PPTN を介した上脊髄性機序の関与の可能性が示唆された。

本研究は、「生体機能解析室Ⅱ」と「生体機能解析室Ⅲ」を使用して実施した。

### 論文発表

- 天野 祐子：脚橋被蓋核ニューロンの 鉅回旋刺激および輻射熱刺激に対する反応特性の検討。修士論文，2012

施設名：生体機能解析室Ⅲ

主任者名：福田文彦【所属】臨床鍼灸学

共同利用者名：小笠原千絵、齊藤真吾、谷口博志、日野こころ、新原寿志、伊藤和憲、角谷英治、石崎直人

**鍼回旋刺激および輻射熱刺激による後外側腹側核の侵害受容性ニューロンの活動の抑制—鍼鎮痛における上行性痛覚抑制系の関与の可能性—**

小笠原千絵、谷口博志、日野こころ、新原寿志、角谷英治（基礎鍼灸学ユニット）

**【目的】**

鍼灸治療の主な効果のひとつである鎮痛効果に、上行性痛覚抑制系が関与するかどうかを明らかにするために、後外側腹側核（ventral posterolateral nucleus：VPL）侵害受容ニューロンの反応特性を調べるとともに、痛覚の求心路の一部である外側脊髄視床路（lateral spinothalamic tract：LSTT）の電気刺激を行った際に VPL で記録した誘発電位が、鍼回旋刺激または輻射熱刺激（棒灸様刺激）によりどのように影響を受けるかを観察し、鍼灸刺激で生じる痛覚抑制効果における上行性痛覚抑制系の関与の可能性を検討した。

**【方法】**

研究にはウレタン麻酔下の SD 系ラットを使用した (n=30)。ガラス管微小電極を用い、VPL の侵害受容ニューロンの活動を細胞外記録にて導出し、第 12 胸髄の LSTT を電気刺激した際の誘発電位を記録しておき、体の種々の部位に鍼回旋刺激または点火した線香による棒灸様の輻射熱刺激（間接灸様刺激）を行い、誘発電位の出現状況を観察した。さらに、中脳水道周囲灰白質（PAG）／背側縫線核（NRD）にリドカイン（1%、0.5 μl；PAG ブロック群、n=5）または生理食塩水（0.5 μl；対照群、n=5）を微量注入して、同様に誘発電位の出現状況を観察した。

**【結果】**

1. VPL 侵害受容ニューロンの誘発電位に対する鍼回旋刺激および輻射熱刺激の影響  
痛覚の求心路の一部である第 12 胸髄の右 LSTT への電気刺激により、VPL 内で記録した侵害受容ニューロンである広作動域（WDR）ニューロンおよび特異的侵害受容（NS）ニューロン 66 例中 30 例（25 匹）で誘発電位を記録することができた。VPL 侵害受容ニューロンで記録できた誘発電位に対して、体の種々の部位へ鍼回旋刺激および棒灸様の輻射熱刺激（間接灸様刺激）を行ったところ、25 例（25 匹）中 18 例で、受容野以外の部位へ行った際に誘発電位の出現が抑制された。残りの 7 例ではどこに刺激を与えても抑制がみられなかった。さらに、誘発電位の出現が抑制された VPL 侵害受容ニューロンに対して、リドカイン（局所麻酔薬）を用いて PAG/NRD をブロックしたところ、行った 5 例すべてにおいて、鍼回旋刺激または

輻射熱刺激を行った際の誘発電位に対する抑制効果が消失した（誘発電位が出現した）。1 時間後に再び鍼回旋刺激または輻射熱刺激を行うと、リドカイン注入前と同様に VPL 誘発電位抑制効果の回復が 5 例すべてにおいて観察された（図 1）。また、生理食塩水を PAG に注入した対照群 5 例では、鍼回旋刺激または輻射熱刺激による誘発電位抑制の消失はみられなかった。

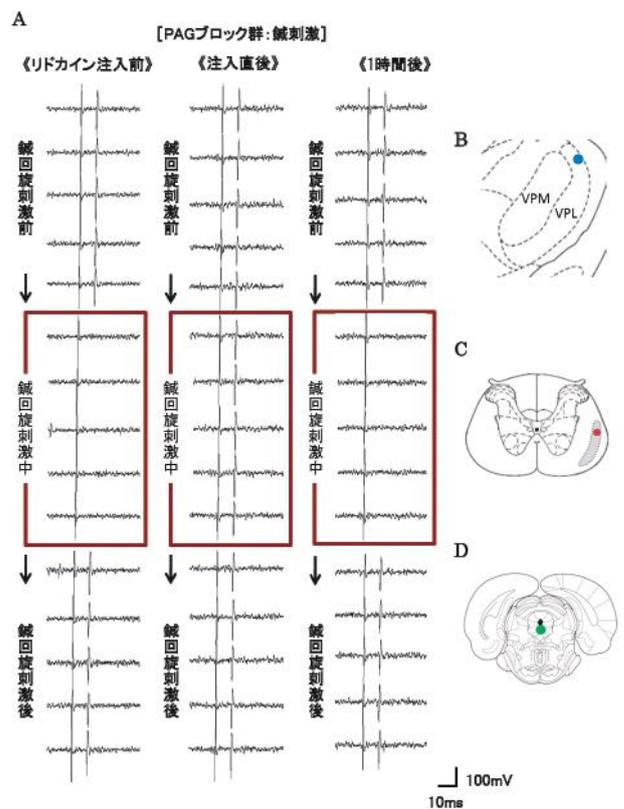


図 1 PAG/NRD の局所麻酔中の鍼回旋刺激による VPL 誘発電位の抑制効果消失例

**【考察】**

鍼刺激および棒灸様輻射熱刺激によって生じる抗侵害受容効果に、これまで考えられてきた下行性痛覚抑制系を中心とした内因性痛覚抑制系以外に、PAG/NRD から VPL への投射線維による上行性痛覚抑制系も関与する可能性が示唆された。

**学術論文**

- 小笠原千絵、谷口博志、新原寿志、日野こころ、角谷英治：鍼回旋刺激および輻射熱刺激による後外側腹側核の侵害受容性ニューロンの活動の抑制—鍼鎮痛における上行性痛覚抑制系の関与の可能性—。明治国際医療大学誌，8：1-17，2013

学会発表

- ・小笠原千絵, 谷口博志, 日野こころ, 新原寿志, 角谷英治: 鍼灸刺激に対する視床後外側腹側核の反応特性と上行性痛覚抑制. 第61回全日本鍼灸学会学術大会, 2012

施設名：行動解析・分析室  
 主任者名：福田文彦【所属】臨床鍼灸学  
 共同利用者名：新原寿志、伊藤和憲

研究テーマ名：鍼通電刺激による一般行動および抗うつ効果の評価  
 福田文彦（臨床鍼灸学）

I. 目的

抑うつ状態やストレス疾患などに対する治療法の可能性として鍼灸治療が報告されているが、うつ病に対する有効な鍼灸治療は未だ確立されていない。しかし、うつ病モデル動物を対象に鍼通電刺激や灸刺激を使用した基礎研究において、セロトニン神経系を介した抗うつ効果の可能性が報告されている。

そこで今回、鍼通電刺激における抗うつ効果をFST, オープンフィールドテスト(OFT)及び脳内モノアミン量を指標に検討したので報告する。

II. 方法

実験動物は、7週齢のwistar系雄性ラット16匹(238.4±10.6g)を使用した。対象(con)群(n=8), 10Hz 1-2-3mA 鍼通電刺激群(EA刺激)群(n=8)の2群に分けた。

EA刺激は、無拘束にておこなうため大西らの報告を参考に、眼科用針を使用した。刺激部位は、両側の足三里相当部とし鍼を刺した後に、100Hzで1mAから3mAまで10分毎に刺激量を上げ、連続30分間とした。

評価方法は、FSTとOFT及び脳内モノアミンの定量をおこなった。

本研究において、SFTは高さ37cm、直径15cmの水槽を使用し、高さ20cmまで水を入れた。水温は25°C±1°C、室温25°C±1°Cとした。この水槽の中にラットを入れ、デジタルカメラで撮影し、静止状態を映像より評価した。

OFTは底面を4区画に分けた縦、横、高さ60cmの容器の中心にラットを入れ、上方よりデジタルカメラにて撮影し、立ち上がり、区画移動、毛繕いの評価を映像よりおこなった。1日目は対処行動の確認とし、2日目はEAによる一般行動の変化として記録した。

脳内モノアミンの定量に関して、2日目のFST終了後30分以内に脳を摘出し、速やかにラットを断頭し、脳を摘出した。摘出した脳をブレンスライサーを使用し、2mmの厚さで冠状にスライスし、脳アトラスを参考に、腹側被蓋野/黒質(ventral tegmental area /substantia nigra: V/S)、背側縫線核(dorsal raphe nucleus: DRN)の2部位において脳組織を採取した。

組織は電気化学検出器接続高速液体クロマトグラフィー法にて、各脳内組織における、セロトニン(5-HT)、ドーパミン(DA)の含有量を測定した。

統計処理は、Mn-Whitney検定を行った。有意水準はp<0.05とした。

III. 結果

FSTでの静止時間の変化を図1に示す。

EA群は制止時間109.8±44秒、活動時間144.9±46秒、微小動作時間45.4±14秒、静止時間155.1±46秒であり、con群は制止時間95.6±48秒、活動時間160.6±47秒、微小動作時間43.8±25秒、静止時間139.4±47秒であった。

各状態において有意な差は認められなかった。

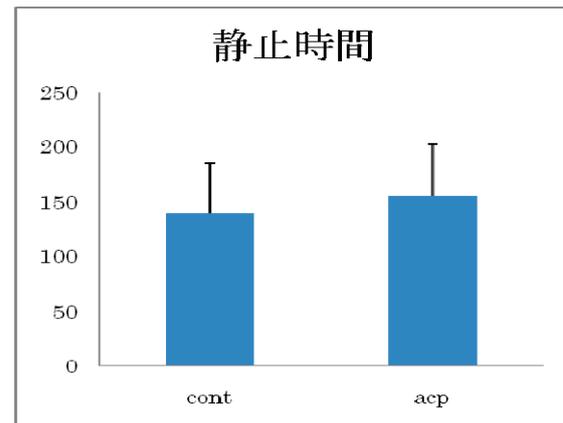


図1 静止時間の変化 P<0.05 n=8

OFTにおいて、EA群は起立14±6回、区画移動21±9回、毛繕い6±1回であり、con群は、起立14±8回、区画移動17±11回、毛繕い5±4回であった。起立回数及び区画移動回数、毛繕いに有意な差は認められなかった。

脳内モノアミン量の変化を図2に示す。モノアミンの変化において、V/SのDA量はEA群: 2.13±1.66 pM/mg, con群: 1.89±2.05 pM/mgで、5-HT量はEA群: 2.45±1.54 pM/mg, con群: 2.13±1.15 pM/mgであった。DRNのDA量はEA群: 0.64±0.47 pM/mg, con群: 1.06±1.13 pM/mg, 5-HT量はEA群: 3.80±2.91 pM/mg, con群: 3.65±2.46 pM/mgであった。V/S, DRNなどでDA量, 5-HT量において有意な差は認められなかった。

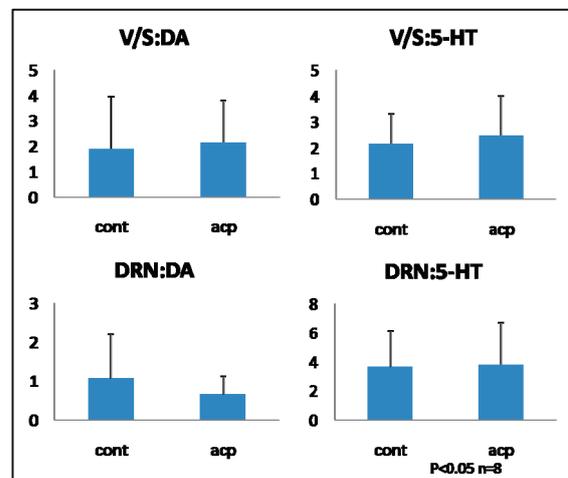


図2 脳内モノアミン量の変化

#### IV. 考察・結語

今回、FST 及び OFT の行動評価では、con 群と EA 群間に有意差は認められなかった。また、DRN、V/S での DA、5-HT にも有意差は認められなかった。

大西は、ラットへの 2Hz, 1-2-3mA の鍼通電刺激は、FST 時間は有意に減少し、OFT は有意差を認めなかったこと、DRN における 5-HT 量は有意に増加したと報告している。

2Hz などの低頻度鍼通電刺激では、 $\beta$  エンドルフィン、100Hz などの高頻度鍼通電刺激では、ダイノルフィンを活性化することが報告されている。また、DRN での 5-HT 神経は、5-HT<sub>1A</sub> 受容体を介した自己抑制、GABA 神経からの抑制及び興奮性アミノ酸(主にグルタミン神経)からの促進により調整され、さらにオピオイドが GABA 神経に脱抑制を引き起こし、DRN の 5-HT 神経を賦活させると報告されている。

これらのことから、今回の 100Hz の鍼通電刺激は、ダイノルフィンを活性化したことが考えられ、この刺激では、抗うつ効果を示さないことが考えられる。

今後、うつ病モデル動物に対する EA の抗うつ効果を頻度や強度の違いを、EA が 5-HT とダイノルフィンの放出に及ぼす影響をさらに検討する必要があると思われる。

本研究は、行動解析・分析室、生理活性物質分析室で実施した。

施設名：生体反応解析室 I

主任者名：今井賢治 【所属】臨床鍼灸学

### ソフト X 線を用いた大腸伝播運動の新しい評価方法の確立

臨床鍼灸学ユニット：吉元 授, 河上紘一, 北小路博司, 今井賢治

基礎鍼灸学ユニット：谷口博志

#### 【目的】

これまで、ラットにおける大腸伝播運動(Colon Transit: 以下 CT)測定によって様々な知見が示されてきた。これまでの CT 測定法は放射性同位元素を腸内に注入後、一定時間を置いたのち放射線量で計測する方法(Y Mizuta et al. 2000) か、あるいは一定時間の排出された糞便の量によって計測する方法 (Barone FC et al. 1990) が一般的である。しかしながら、放射性同位元素を用いた方法では計測の際、開腹して大腸を全て摘出してしまいうため一個体につき一回の測定しかできないこと、糞便の量で計測する方法ではその方法論が疑問視されていること(Nakade Y et al. 2007)などから、単体ラットにおける経時的な CT を想定した実験法が確立されていないのが現状であり、より生理的な状態での記録を想定すると一個体における連続測定が必要である。そこで今回我々は、軟 X 線装置と直径 1.5mm の金属粒 (X 線不透過性マーカーとして使用) を応用し、単体ラットにおける経時的な CT 測定法を開発した。

#### 【方法】

ペントバルビタール麻酔下にてラット (SD 雄性 7 週令: n=6) 盲腸にシリコンチューブを挿入し、後頸部に留置する処置を行い、その 5 日後に X 線不透過性マーカーとしての金属粒 (20 個、直径 1.5mm) をチューブから生理的食塩水(1.0ml)とともに腸内へ注入した。その後、イソフルラン麻酔下にて 30 分ごとに軟 X 線装置にて 120 分後まで計測を行った。これらの行程を 2 日間連続して行い、同様の結果が得られるかどうかを確認した。なお、2 日目の実験終了前には大腸の全体像を把握するためバリウムを流して撮像した。

#### 【結果】

金属粒の注入後 60 分の最大移動距離は、1 日目が  $32.6 \pm 15.6\text{mm}$ 、2 日目が  $24.8 \pm 20.4\text{mm}$  となった。また 120 分の最大移動距離は 1 日目が  $62.4 \pm 20.4\text{mm}$ 、2 日目が  $51.2 \pm 31.4\text{mm}$  となり、同程度の値が計測された (図 1)。また、1 日目と 2 日目で得られたマーカーの画像を時間ごとに色分けし、バリウムを流して撮像した大腸の全体像と重ね合わせると、マーカーの経時的移動が観察が可能となった (図 2)

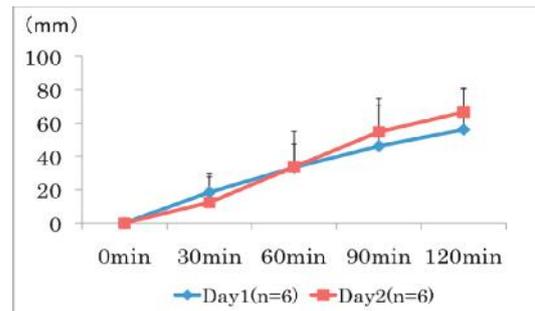


図 1. X 線不透過性マーカーの経時的移動距離

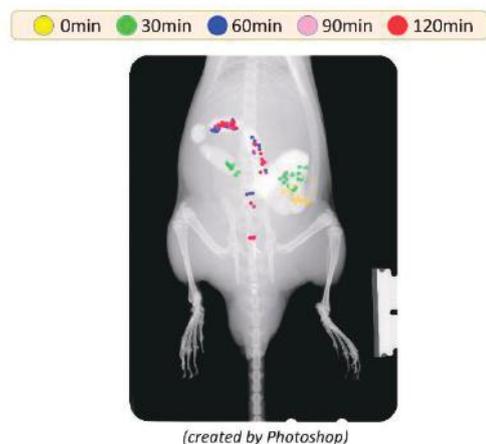


図 2. X 線不透過性マーカーの経時的観察

#### 【考察】

本検討により、ソフト X 線を用いた新しい大腸伝播運動の評価方法が確立できた。従来の手法では、同一個体において、複数回の時系列データの採取は困難であったが、その問題点を克服することができた。今後、小動物を対象とした様々な介入による大腸運動への影響を精度高く評価することが可能となるだろう。

#### 【論文及び学会発表】

吉元授, 河上紘一, 谷口博志, 中野祐也, 加藤慎吾, 小笠原千絵, 北小路博司, 今井賢治: ラット大腸伝播運動の経時的測定法の確立. 第 65 回日本自律神経学会総会, 抄録集, 110, 2012.10.25

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

共同研究者名：小笠原千絵、吉元授、今井賢治、早野大孝、新原寿志、角谷英治

昨年度に引き続き、生体反応解析室 II ではラットの胃排出能を指標とし、足三里への灸刺激による消化器機能への影響を検討した。

鍼治療と灸治療は国家資格としてそれぞれ独立しているものの、古来より鍼灸治療として併用され、有効性が示されている。鍼刺激といった侵害性の機械刺激や灸刺激といった熱痛刺激は、いずれもポリモーダル受容器を興奮させ、無髄の体性感覚神経の興奮を引き起こし、鎮痛や内臓機能の調節を生じさせるとされている。同じ受容器を興奮させることから、鍼においても灸においても同じ機序により生体に影響を及ぼすことができると考えられているが、灸刺激そのものでも実際に生じるかについてほとんど検討されていない。

奥の細道の冒頭に、「三里に灸するより」とあるように、古くから健康管理に足三里（前脛骨筋部）への灸刺激が用いられてきたようである。また、足三里への鍼刺激もしくは低周波鍼通電刺激は、体性—自律神経反射により消化管運動を亢進させるといったエビデンスが既に構築されている。我々は、足三里への灸刺激が体性—自律神経反射により消化管運動の亢進を引き起こすのではないかと仮説をたてた。

この仮説を明らかにするために、ラットの胃排出能を指標とし検討を行った。昨年度までにストレスにより抑制されたラット胃排出能が足三里への間接灸刺激により有意に改善することを明らかにした。また、その反応は内因性オピオイドを介さない反応であることも証明した。このことは、灸刺激がストレスで生じた胃排出能の低下を体性—自律神経反射により改善することを示唆するものである。

そこで本年度は、上記の反応が体性—自律神経反射によるものであることを明らかにするために、薬理学的実験ならびに神経切断実験を行い検討した。薬理学的な実験として、ムスカリン受容体拮抗剤であるアトロピンを全身投与したラットを用いて、灸による胃排出能の亢進反応に対して検討した。その結果、灸刺激によるこの亢進反応が生じなくなった。また、神経切断実験として、迷走神経を横隔膜より下で切断し開腹手術の影響から回復した慢性迷走神経切断ラットに対しても同様の実験を行った。このラットにおいても灸刺激による胃運動亢進反応は生じなかった。これらのことから、灸刺激による亢進反応はムスカリン受容体ならびに迷走神経を介する反応であることがわかり、灸刺激は迷走神経遠心路である副交感神経を興奮させ、神経終末よりアセチルコリンを放出し、そのアセチルコリンが胃平滑筋にあるムスカリン受容体を刺激し、胃排出能を亢進させることが示唆された。昨年度、本年度の実験を合わせて灸刺激の作用機序として図1で示すものを考えている。それは、足三里への灸刺激が体性感覚神経を興奮させ、その情報が脊髄へ入り上位中枢に伝えられ、上位中枢への情報伝達

が何らかの処理の後、最終的に迷走神経遠心路である副交感神経を興奮させ、アセチルコリンを放出し、胃運動を亢進させるといったものである。上位中枢での処理は鍼通電刺激による c-Fos 蛋白を用いた先行研究において延髄の弧束核ならびに迷走神経背側核を介することが明らかとなっていることから、次は灸刺激による上位中枢の中継核を検討し、詳細な反射経路を明らかにしたいと考えている。

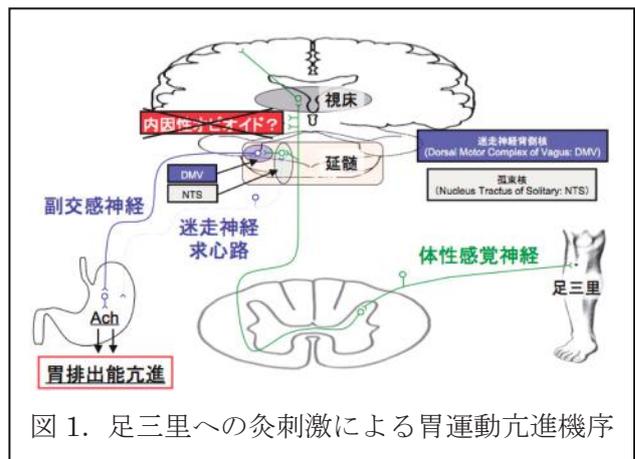


図1. 足三里への灸刺激による胃運動亢進機序

鍼灸刺激による生体に対する作用機序について多くのことが明らかにされている。それは、下行性痛覚抑制系の賦活や広汎性侵害疼痛抑制調節系の賦活、ゲートコントロール説による脊髄分節性の鎮痛、体性—自律神経反射などのことである。いずれの機序も鍼灸臨床による効果を一部証明できているが、これらは反射的な一過性の反応といった印象が強く完全に証明できているとは言えない。鍼灸治療は一過性の反応しか引き起こせないのか、それともそれ以外の機序を現時点で証明できていないのかは不明であるものの、一過性のものであるとするのなら投薬治療と同様に毎日定期的に行う必要がある。医療費等の問題から患者が毎日鍼灸治療を受けることには無理があり、そのために患者自身のセルフケアが重要となってくると考えられる。松尾芭蕉が三里に灸をしながら旅の身支度をしたとあるように、自ら灸治療を行いながら健康管理をする習慣が日本にはあり、その習慣は廃れつつあるものの現在も残っている。この灸によるセルフケアといった習慣の良さを再確認するために灸刺激の研究の発展が必要である。灸刺激による詳細な作用機序を明らかにすることは、灸治療によるセルフケアを再度見直し、確立し、日本人の健康維持・増進に寄与できるものと考えている。さらなる研究を予定している。

なお本研究の一部は、アメリカのサンディエゴで開催された Digestive Disease Week 2012、ならびに東京で開催された第 65 回日本自律神経学会総会において発表を行った。

施設名：6号館診断情報解析室

主任者名：和辻 直【所属】伝統鍼灸学

共同研究者名：篠原昭二、和辻 直、渡邊勝之、齊藤宗則、関 真亮、横西 望、他

院生：谷田保啓、黄 晶媛、井手 亮、高橋信博、西田秀明、早水丈治、森田 智、

関口善太、高士将典、橋本 巖、桐浴眞智子他

6号館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。

【題名】強力反応点（灸点、禁灸点）のもつ電気特性の検討

○ 井手 亮, 早水丈治, 渡邊勝之

【目的】 始原東洋医学では治療点とする強力反応点に性質の異なる2種類の点（灸点、禁灸点）がある。これまで強力反応点と経穴・非経穴部位を比較した研究は行われているが、強力反応点における2点の相違を検討した研究は行われていない。本研究では2つの強力反応点の持つ性質の違いについて電気特性を指標として検討した。

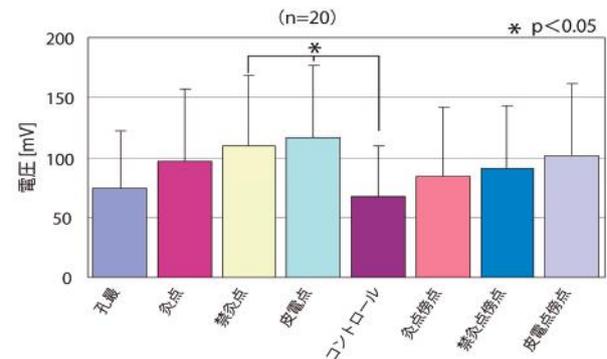
【方法】 研究1.対象は健康成人男性20名とした。前腕前面における各測定点〔灸点、禁灸点、皮電点、経穴（孔最穴）、コントロール点（正常部位）〕の皮膚表面電位を測定し検討した。

研究2.対象は健康成人男性20名とした。前腕前面において強力反応点2点、およびコントロール点として非経穴部位2点に対し、定電圧電源（4.4V）に接続した鍍銀（銅製・アルミニウム製）を当て、2点間の電流を測定し、抵抗値を算出した。測定は鍍銀に接続した定電圧電源の極性を入れ替えて2回行い、2点間を流れる電流方向の違いによる抵抗値の変化を検討した。

【結果】 研究1.測定による皮膚表面電位は、皮電点、禁灸点、灸点、経穴、コントロール点の順に高電位を示した。コントロール点と比して皮電点、禁灸点は有意に高い値を示した（ $p<0.05$ ）。研究2.測定により灸点-禁灸点間の方向により電流量が異なることが示された。灸点から禁灸点方向への電流に対する抵抗値は禁灸点から灸点方向への電流に対する抵抗値に対し有意に低い値を示した（ $p<0.01$ ）。一方、コントロール点間の電流量には電流の流れる方向による変化は認められなかった。

【考察】 皮膚表面は正常な状態において体内を基準にして負の電位を持ち、表皮組織を刺激すると皮膚表面が正の電位になる事が報告されている。研究1の皮膚表面電位測定において最も高い電位を示した皮電点は、皮膚表面に器質的または機能的変化を生じた点であり、強力反応点は機能的変化を生じた点と考えられることから、体内で生じた異常による表皮組織への影響が皮膚表面電位の大小として現れることが示唆された。強力反応点2点間に電圧の極性を入れ替えて外部から電圧を負荷すると、2点間の皮膚表面電位の差が外部電圧に一方では加算され、他方では減算され電圧が変化することから、電源の極性を入れ替えた

ことによる強力反応点間の抵抗値の違いは負荷された電圧の違いによる2点間を流れる電流量の差



によることが示唆された。

【題名】上腕二頭筋のDOMSモデルに対する遠隔部経筋治療の鎮痛効果

○ 高橋信博, 和辻 直, 渡邊勝之, 水沼国男, 齊藤宗則, 関 真亮, 篠原昭二

【目的】 上腕二頭筋の遅発性筋痛(delayed onset muscle soreness: DOMS)を作製し、鍼の効果と生体の変化を観察した。研究1は手太陰肺経の魚際穴に鍼刺激を行い上腕二頭筋の痛み等に及ぼす効果を検討した。研究2は運動負荷による母指及び小指球筋部の圧痛閾値の経時的変化を観察した。

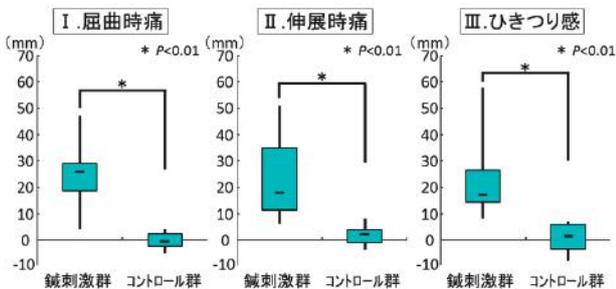
【方法】 非利き腕上腕二頭筋に伸張性収縮負荷を加えてDOMSを作製した。研究1は、鍼刺激群(n=10)とコントロール群(n=10)に分け、鍼刺激群は魚際穴に約3mmの切皮・刺入、コントロール群は5分間の置鍼と5分間の安静仰臥位を行った。評価は、肘の屈曲時痛、伸展時痛、ひきつり感のVisual Analogue Scale(VAS)、肘のROMで行った。研究2は5例で、母指球と小指球のそれぞれ3か所を、プッシュ・プルゲージで運動負荷前、運動負荷直後、運動負荷24時間後の圧痛閾値を測定した。

【結果】 VAS評価は、屈曲時痛は鍼刺激群25.5±12.7mm、コントロール群0.4±3.3mmで差が認められた。伸展時痛は鍼刺激群23.4±15.2mm、コントロール群1.7±3.6mmで差が認められた。ひきつり感は鍼刺激群23.9±17.7mm、コントロール群0.9±5.6mmと差が認められた。ROMは改善の傾向が認められた。研究2では、母指球筋のみ運動負荷24時間後に圧痛閾値の低下・低下傾向が認められた。

【考察】 研究1より、置鍼時間が短く内因性オピオイド系による鎮痛機序ではないと考えた。即時性の鎮痛効果より広汎性侵害抑制機構(DNIC)が考えられた。しかし、研究2より母指球の圧痛

閾値のみ低下がみられたことから DNIC とは異なる機序の関与も示唆された。

【結語】 上腕二頭筋の DOMS に対し、魚際穴に鍼刺激を行うことで鎮痛効果が得られ、上腕二頭筋に運動負荷を加えることで母指球が過敏になることが分かった。以上より、母指球の圧痛により異常を診ることができ、魚際穴で治療することができることがわかった。



○研究テーマ一覧

教員研究

- 1) 篠原昭二、横西望、関 真亮、斉藤宗則、和辻直：終夜睡眠ポリグラフ（ソムノスター）を指標とした鼾、歯ぎしり、睡眠の質等に及ぼす鍼治療介入の影響、厚生労働科学研究
- 2) 篠原昭二、関 真亮、高橋信博、西田秀明、和辻直：上腕二頭筋の遅発性筋痛に対する中周波：SSP 通電による鎮痛効果，受託研究
- 3) 和辻直，篠原昭二，関 真亮，神山 順：血流循環動態（血圧脈波装置(CAVI・ABI 検査)）に対する鍼治療介入に関する研究. 厚生労働科学研究費補助金研究報告書, 55-64,2012.

院生研究（修士課程研究）

- 1) 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
- 2) 谷田保啓、斉藤宗則：『鍼灸要法』の鍼灸各家学説について－学問的淵源の考察－
- 3) 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－
- 4) 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
- 5) 関口善太、篠原昭二：補中益気湯と補中益気方による代替治療からみる“鍼薬同効”の考察. 東洋医学, 28(2):79-85, 2012.
- 6) 井手 亮、渡邊勝之；強力反応点（灸点、禁灸点）のもつ電気特性の検討
- 7) 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－
- 8) 森田 智、和辻直：東洋医学の体質と舌診との関連について
- 9) 高士将典、和辻直：五臓と感情精神との臨床的意義について、日本東洋医学会関東甲信越支部、第 69 回関東甲信越支部学術総会プログラム・抄録集：43, 2012.10.1
- 10) 橋本 巖、和辻直：「脈診の有用性に関する研究」－食事と脈状変化の相関性－
- 11) 桐浴真智子、和辻直：日本の伝統鍼灸におけ

る証判断の特徴、第 48 回東洋医学とペインクリニック研究会：2, 2012.7.29.

卒業論文における研究

- 1) 原 敬昌、渡邊勝之；強力反応点の電気特性に関する研究Ⅴ「強力反応点出現時と消失時の電気抵抗値の比較」
- 2) 岩崎大輔、渡邊勝之；体位による腰痛の変化について
- 3) 岡本昌子、和辻直；地域医療と鍼灸に関する検討
- 4) 金川正宗、斉藤宗則：中医弁証の臨床応用－頭痛について－
- 5) 吉田遼平、斉藤宗則：中医弁証と臨床応用－顛証を中心に－
- 6) 渡邊麗美、斉藤宗則：『黄帝内経』における体質と美容の関連性について

その他

- 1) 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）
- 2) 篠原昭二：伝統鍼灸学分野 特別研究（通信制大学院課程）
- 3) 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）
- 4) 和辻直：伝統鍼灸学分野 特別研究（通信制大学院課程）
- 5) 斉藤宗則：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）
- 6) 和辻直：明治国際医療大学実習Ⅰ；舌診の色に関する検討，（明治東洋医学院専門学校）

施設名：8号館運動機能解析室

主任者名：林 知也【所属】生理学

施設利用研究者名：林 知也（生理学），池内隆治・川村 茂・角谷和幸（基礎柔道整復学Ⅰ），谷口和彦・神内伸晃（基礎柔道整復学Ⅱ），岡本武昌・行田直人・泉 晶子（臨床柔道整復学Ⅱ），中川貴雄・中川達雄・大木琢也（応用柔道整復学Ⅰ），長尾淳彦・煙山奨也・丸山顕嘉（応用柔道整復学Ⅱ），片山憲史・木村啓作・吉田行宏・城田健吾（健康・予防鍼灸学）

テーマ：シミュレーションモデル開発のための基礎的研究－肩関節前方脱臼における整復時牽引力の検討－

研究者：神内伸晃<sup>1</sup>，行田直人<sup>2</sup>，煙山奨也<sup>3</sup>，中川達雄<sup>4</sup>，泉晶子<sup>2</sup>，谷口和彦<sup>1</sup>

所属：<sup>1</sup>基礎柔道整復学Ⅱユニット，<sup>2</sup>臨床柔道整復学Ⅱユニット，<sup>3</sup>応用柔道整復学Ⅱユニット，<sup>4</sup>応用柔道整復学Ⅰユニット

#### 【目的】

近年は医学部や医療系学校で人形等のモデルを使用した実習を行っている。シミュレーションモデルを使用する利点は、人体に危険を及ぼす恐れがあるような医療技術を練習することができることである。柔道整復師の養成校においても骨折や脱臼などの整復練習を行うシミュレーションモデルを用いることができれば、整復技術を教えるための有効な手段になると考えられる。本研究では、整復技術が重要となる脱臼に着目し、肩関節前方脱臼のシミュレーションモデルを作製した。また、肩関節前方脱臼の整復について柔道整復師へ個人調査を行い、ヒポクラテス法による牽引力と臨床歴、整復回数に関連があるか検討を行い、牽引力の測定により学生に教える際の指標を検討した。

#### 【方法】

肩関節前方脱臼牽引力測定モデル（以下、測定モデル）は、ヒポクラテス法での牽引力を測定するために考案した。測定モデルはレスキューマネキン（日本スリービー・サイエンティフィック社製）を元に製作し、右上肢の牽引力を測定した。対象者は柔道整復師25名とした。対象者は測定開始とともに牽引動作を始め10秒間の持続牽引の測定を3回行った。

個人調査は「臨床歴」、「肩関節前方脱臼の整復回数（以下、整復回数）」の2項目について記入形式で行った。得られたデータは、それぞれ3回の測定値から平均値を算出した。各対象者の測定

値は10 kg未満，10 kg以上20 kg未満，20 kg以上30 kg未満，30 kg以上の4つの範囲に分類した。また、牽引力の測定値と臨床歴、整復回数との間でそれぞれ相関がみられるかピアソンの相関係数を用いて算出した。

#### 【結果】

牽引力の平均値は15.95±7.49 kgであり、最高値は34.1 kg，最低値は4.5 kgであった。各対象者の測定値をkgごとの範囲に分類すると、10 kg未満は5名，10 kg以上20 kg未満は16名，20 kg以上30 kg未満は4名，30 kg以上は2名であった。調査書より平均臨床歴は19.8±14.2年であり、最低年数は3年，最高年数は48年であった。整復回数は最低数が1回，最高数が100回であった。調査票による項目と牽引力についての相関は、臨床歴、整復回数の各々でみられなかった。

#### 【考察】

本研究の結果から対象者の牽引力は10 kg以上20 kg未満の範囲で多く、約6割がこの牽引力の範囲であった。よって整復時の牽引力を10 kg以上20 kg未満で行うことが1つの目安として考えられた。また、牽引力と調査書による相関がみられなかったことから本整復モデルによる脱臼の牽引力においては経験による差はあまり影響を与えない可能性があることが考えられた。しかし、実際の脱臼整復時では、筋の緊張や上肢の重さ、抵抗感などを感じて牽引する力や速度を調整していることがあるため、今後の検討課題であると考えられた。

テーマ：低周波刺激が末梢循環動態に及ぼす影響－加速度脈波の指標から－

研究者：泉 晶子<sup>1</sup>，行田直人<sup>1</sup>，谷口和彦<sup>2</sup>，岡本武昌<sup>1</sup>

所属：<sup>1</sup>臨床柔道整復学Ⅱユニット，<sup>2</sup>基礎柔道整復学Ⅱユニット

【目的】

柔道整復師は臨床において、これらは循環の改善や組織の拘縮改善などを目的に電気刺激などの物理療法を利用して施術を行っている。本研究では、低周波刺激を上腕二頭筋筋腹に行い、末梢循環動態に及ぼす影響を加速度脈波を指標として調査した。

【方法】

対象者は7名の健常成人男性とした。測定項目は加速度脈波(Waveform index I)とした。測定機器はユメディカ社製加速度脈波測定システム Artett を用いた。測定部位は、小型脈波センサーを用い、利き手側の上腕動脈が触れる場所とした。各測定時期は安静時(以下、コントロール)と低周波刺激直後、刺激終了後10分ごとにそれぞれの時期で2回ずつ行い、その平均を代表値とした。さらに加速度脈波について、得られたデータの安静時を100%とし、各測定時期を変化率で表示した。低周波刺激は伊藤超短波社製イトーES-360を用い、20Hzの周波数で間歇通電(5sec通電,5sec休止)10分間を上腕二頭筋筋腹に行った。刺激強度はそれぞれの被験者の心地良い感覚で行った。統計処理はウィルコクソン符号付順位和検定を用いて行い、危険率5%未満を有意とした。

【結果・考察】Waveform index I(以下、WI)の値は、末梢血液含有量と末梢血管柔軟性を示しているとされている。WIの結果において、コントロールと各測定時期を比較したところ有意な変化を認めなかった。低周波刺激直後でコントロールより若干の低下がみられ、その後15分、30分、45分では数値の上昇が、60分後にはコントロールに復する傾向がみられた。15分以降の上昇は、低周波刺激により生じた筋ポンプ作用によるものと考えられる。低周波刺激直後の減少は、一般に等尺性収縮では、筋収縮時に筋内圧が上昇し、持続的に血管が圧迫され血流は機械的に制限をうけると考えられている。機械的な圧迫が解除されることにより、収縮後充血といわれる血流の増加が生じると考えられている。低周波による刺激は、周波数が高くなると筋は刺激中に弛緩せずに強縮するため、筋収縮の様式は等尺性収縮に近い状態となる。一般に15Hz以上の刺激で不完全強縮、25Hz以上の刺激で完全強縮となるため、本研究で用いた20Hzという刺激頻度では強縮を起こし、低周波刺激中に筋血流の減少がみられ、刺激直後の測定値に影響を及ぼしたと推察された。

【上記以外の研究テーマ、研究者、及び所属】

テーマ：静的ストレッチングが下腿三頭筋の筋形態、筋力発揮、筋収縮速度に及ぼす影響  
研究者：川村 茂、栗栖 学、竹宮異彦、鷺頭祐平  
所属：基礎柔道整復学Iユニット

テーマ：物理療法が遅発性筋痛(DOMS)に及ぼす影響

研究者：池内隆治、川村 茂、角谷和幸  
所属：基礎柔道整復学Iユニット

テーマ：肩部、腰部の愁訴評価 ー徒手検査による評価ー

研究者：行田直人<sup>1</sup>、神内伸晃<sup>2</sup>、泉 晶子<sup>1</sup>、大木琢也<sup>3</sup>

所属：<sup>1</sup>臨床柔道整復学IIユニット、<sup>2</sup>基礎柔道整復学IIユニット、<sup>3</sup>応用柔道整復学Iユニット

テーマ：マイクロ牽引法が身体に及ぼす影響

研究者：中川達雄、大木琢也、中川貴雄  
所属：応用柔道整復学Iユニット

テーマ：包帯およびテーピングにおける熟練者と非熟練者の施行技術の比較

研究者：大木琢也<sup>1</sup>、行田直人<sup>2</sup>、神内伸晃<sup>3</sup>、中川達雄<sup>1</sup>、中川貴雄<sup>1</sup>

所属：<sup>1</sup>応用柔道整復学Iユニット、<sup>2</sup>臨床柔道整復学IIユニット、<sup>3</sup>基礎柔道整復学IIユニット

テーマ：ウォーミングアップとしての筋収縮が運動に与える影響

研究者：林 知也<sup>1</sup>、煙山奨也<sup>2</sup>、中山登稔<sup>1</sup>

所属：<sup>1</sup>生理学ユニット、<sup>2</sup>応用柔道整復学IIユニット

テーマ：鍼通電刺激が運動誘発性酸化ストレスに及ぼす効果について

研究者：吉田行宏<sup>1</sup>、林 知也<sup>2</sup>、城田健吾<sup>1</sup>、高橋優太<sup>1</sup>、木村啓作<sup>1</sup>、片山憲史<sup>1</sup>

所属：<sup>1</sup>健康・予防鍼灸学ユニット、<sup>2</sup>生理学ユニット

テーマ：鍼通電刺激がスポーツビジョンに及ぼす効果

研究者：城田健吾、片山憲史

所属：健康・予防鍼灸学ユニット

施設名：2号館分子シグナル解析室  
 主任者名：鳴瀬善久【所属】自然科学  
 共同研究者名：廣瀬英司、石谷太、松浦忠夫、都築英明

テーマ：筋組織機能発現過程におけるパネキシンチャンネルとP2X7受容体の機能に関する研究  
 研究者：廣瀬英司<sup>1</sup>、鳴瀬善久<sup>2</sup>、石谷太<sup>3</sup>、松浦忠夫<sup>1</sup>  
 所属：<sup>1</sup>解剖学ユニット、<sup>2</sup>自然科学ユニット、<sup>3</sup>九州大学

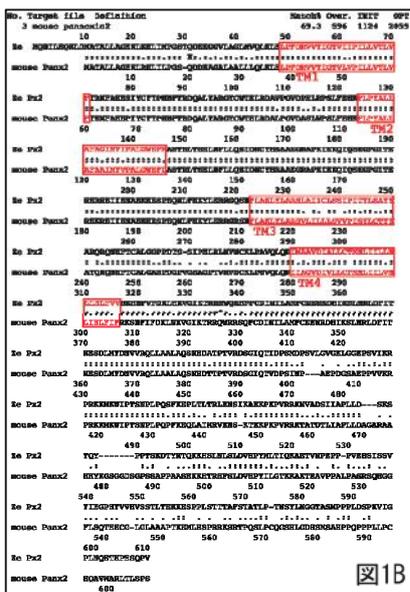
心筋は自律的かつ同調的に収縮するが、これは複数の心筋が電氣的にカップリングしているからであり、このカップリングは細胞間を貫通するイオンチャンネルを介した細胞の生物物理学的結合により成立している。このイオンチャンネルが密集してできるのがギャップ結合であり、構成分子はConnexin分子群 (Cx) とされている。心筋のみならず多様な臓器・組織においてCx分子群は存在し、細胞間の電氣的、生理学的なカップリングに寄与していると考えられている。

無脊椎動物におけるCxの相同体遺伝子として、無脊椎動物のCxとも呼べる分子、Innexin (Ix) がその後分離された。Bruzzone R. らはこのIx分子配列をもとに、さらに哺乳類遺伝子配列データベースを検索することでCxとは異なる他のCx様遺伝子があることを見いだした。この分子群-Pannexin (Px) 分子群は、Cxと同じく4回膜貫通型イオンチャンネルの蛋白質だが、一方でCxに比べ細胞外ループ領域を有する構造上の特徴を持つことが判明している。Pxチャンネル分子としての性状またとしてP<sub>2</sub>X<sub>7</sub>プリン受容体と共役して細胞外へのATP透過を誘起し、細胞内Ca<sup>2+</sup>波を形成することが解ってきている。

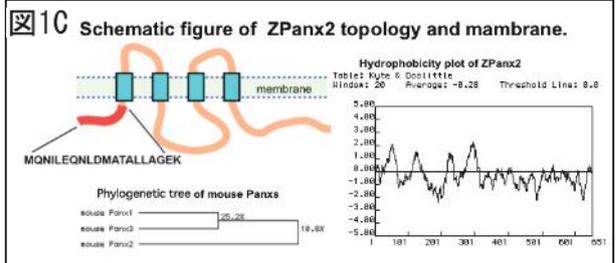
Pxの生体内機能として、中枢神経系における神経細胞代謝や機能的可塑性の制御、平滑筋集収縮による血圧調節、GM-CSF誘導性のマクロファージ細胞融合など、多種多様な臓器、器官、組織における分子機構が提唱されている。われわれはモデル生物としてゼブラフィッシュを使いPxの生体内機能を調べることにした。その理由はマウスを用いた心臓におけるCxの欠損が予想した心臓の拍動開始、協調拍動の成立が欠損とはならなかったからである。またゼブラフィッシュは発生が短時間に起り、また胚が透明であるために心臓の発生と運動を外部から直接観察できるからである。これまでに受精後24時間(24hpf)の胚からmRNAを抽出しcDNAプールから予想されるパネキシン遺伝子群ZPxをPCR増幅し、direct sequencingでその配列を解読した。(図1A)

|              |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |
|--------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|
| Se Panx1 aa  | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx2 aa  | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx3 aa  | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx4 aa  | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx5 aa  | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx6 aa  | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx7 aa  | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx8 aa  | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx9 aa  | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx10 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx11 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx12 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx13 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx14 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx15 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx16 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx17 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx18 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx19 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx20 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx21 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx22 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx23 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx24 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx25 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx26 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx27 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx28 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx29 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx30 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx31 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx32 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx33 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx34 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx35 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx36 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx37 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx38 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx39 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx40 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx41 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx42 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx43 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx44 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx45 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx46 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx47 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx48 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx49 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Se Panx50 aa | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |

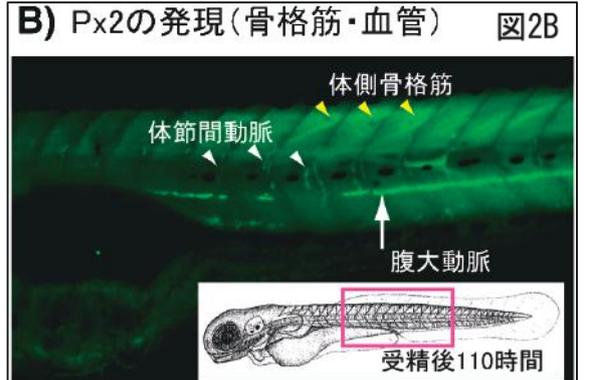
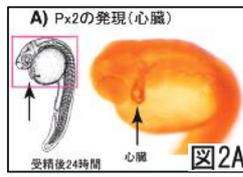
ゼブラフィッシュ野生株は完全な近交ではないので、一部の配列の解読が不十分であり、これは今後、サブクローニングにより解決する予定である。Px遺伝子配列に関しては、登録データベース配列に間違いがあり、諸研究者の間にも混乱を生じたが、現在のところ、ほぼ完全な3種類のマウスPx (mPx) 遺伝子配列が解明されている。我々の導きだした配列も予想通りmPxと高い相同性を有するORFが確認できた。(図1B) また細胞外ループやC端側の配列が種々のCxよりかなり長いことが確認できた。(図1C)



全配列を決定する過程で解ったN端のアミノ酸配列を抗原として高親和性ポリクローナル抗体を精製し、ZPx2に関してゼブラフィッシュ胚を免疫組織化学法で染色した結果、



ZPx2は心臓の拍動開始時(24hpf)に心臓に強く発現していることがわかった。(図2A 心臓器形成開始時期-12hpfでは、ほとんど発現していない)これは心臓の分化や機能発現に関与する遺伝子群、特に転写



因子群 (BMP2, Nkx2.5, GATA4, FGF8等) が遅いものでも体節形成時 (10hpf) から発現していることと対照的である。またZPx2は卵殻内でくねり運動を始める36hpf以降の体側の筋節 (骨格筋) で発現し始め (図2B)、孵化し遊泳を始める48hpf以降では非常に強くなることや、自由遊泳期110hpfでは血管、特に背側大動脈や節間の血管に強く発現している。この時期は血流が速くなり心臓の拍動が強くなるに従って脈管の脈拍も成熟してくる段階に対応する。

並行して、明治国際医療大学においてゼブラフィッシュの飼育施設を開始すべく分子シグナル解析室の飼育施設立ち上げを行ってきた。理科実験施設・器具としての飼育棚は価格が高額に過ぎるため、適度な部屋の温度制御を前提として各部分を個別に設計し、特注品と民生用熱帯魚飼育器具とを組み合わせることにより、オーバーフロー型小型水槽を多数並べる集中温度管理型の飼育施設を予算内で設置した。現在、最終調整中である。

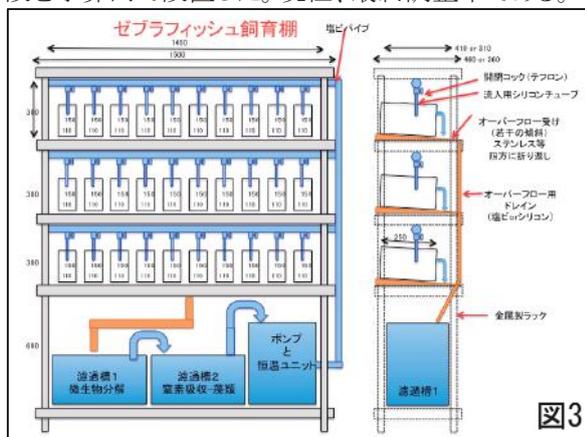


図3

一方で、脳内における分布、発現細胞の局在が報告されたPx1に関しては、ゼブラフィッシュを用いたHRP標識2次抗体によるDAB染色ではその分布が判然としなかった。(廣瀬ら・日本解剖学会2009報告) そのため、共同研究者から発生胚の固定後試料の提供を受け、これを蛍光染色した結果、ZPx2と同じく体節の骨格筋や大型の血管に発現があり、加えて48hpでは背鰭の鰭条間に線状の発現が見いだされた。(図4) これは鰭条間毛細血管である可能性があるが、今後は切片を用いたよりマクロな解析が必要となる。

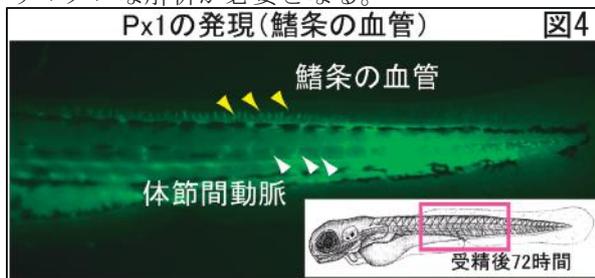


図4

Px遺伝子群は、心筋のみならず、骨格筋、平滑筋とあらゆる筋組織に発生段階特異的に発現があることを明らかにしつつある。このことは筋組織の誘導、分化過程ではなく、その機能が成熟する過程に関わってくる可能性を示唆する。

## 附属東洋医学研究所 研究業績一覧

### 【著書】

- 1) 樋口敏宏：磁気共鳴スペクトルの医学応用 -MRSの基礎から応用まで-, 2-2「腫瘍の実験 MRS」, インナービジョン, pp104-113, 2012.
- 2) 山田潤：糖尿病. 専門医のための眼科診療クオリファイ 12. 角膜内皮障害 to the Rescue. 中山書店, 113-114, 2012
- 3) 山田潤：内皮型拒絶反応 専門医のための眼科診療クオリファイ 12. 角膜内皮障害 to the Rescue. 中山書店, 115-118, 2012
- 4) 北村清一郎、熊本賢三：鍼灸師・柔道整復師のための局所解剖カラーアトラス、改訂第2版、南江堂、2012

### 【論文】

- 1) 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. Human Brain Mapping. 2012 Jan;33(1):121-9.
- 2) 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. 2012 Feb 10;157(3):398-405.
- 3) 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. Diffusion-weighted Spectroscopic Imaging による脳虚血モデルラットの解析. 磁気共鳴学会雑誌. Vol.32(1) 17-20, 2012
- 4) 寺井和都, 山田潤: ソフトコンタクトレンズ装用眼にみられた巨大乳頭結膜炎に対する 0.1%シクロスポリン点眼液の臨床効果. あたらしい眼科, 29(1): 109-112, 2012
- 5) 竹田太郎, 坂口俊二, 久下浩史, 宮寄潤二, 小島賢久, 佐々木和郎, 森 英俊: 冷え症に対する下肢への低周波鍼通電療法の効果—下肢血管運動神経障害の有無による比較検討—. 日本温泉気候物理医学会雑誌, 75 (2) : 124-37, 2012.
- 6) 坂口俊二, 久下浩史, 竹田太郎, 小島賢久, 宮寄潤二, 佐々木和郎, 森 英俊: 若年女性の冷え症に対する下肢への低周波鍼通電療法の効果—SF-8 の下位尺度 ‘体の痛み’ 得点を指標とし

- た比較検討—. 日本温泉気候物理医学会雑誌, 75 (4) : 248-55, 2012.
- 7) Suzuki M, Ebara S, Koike T, Tonomura S, Kumamoto K : How many hair follicles are innervated by one afferent axon? A confocal microscopic analysis of palisade endings in the auricular skin of thyl-YFP transgenic mouse. Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci. 88(10):583-95, 2012.
- 8) Satoh H, Amagase K, Ebara S, Akiba Y, Takeuchi K : Cyclooxygenase (COX)-1 and COX-2 Both Play an Important Role in the Protection of the Duodenal Mucosa in Cats. J Pharmacol Exp Ther. 344(1):189-95, 2012.
- 9) 堀之内貴一, 林 知也, 木村啓作, 吉田行宏, 片山憲史, 矢野 忠: 鍼通電刺激が反復運動誘発性酸化ストレスに及ぼす影響. 全日本鍼灸学会雑誌 62(1):38-46, 2012.
- 10) 藤本英樹, 林 知也, 坂井友実, 宮本俊和: 鍼通電刺激が一過性の運動負荷による血中グルタミン酸の変動に及ぼす影響. 日本温泉気候物理医学会雑誌, 印刷中.
- 11) 中山登稔, 以基础研究探讨针刺得气现象的概念, The 10<sup>th</sup> ASEAN Congress of Traditional Chinese Medicine cum 3<sup>rd</sup> Asia Advanced Forum on Acupuncture— Moxibustion, Singapore Chinese Physicians' Association, p74-77, 2012.
- 12) 中山登稔, 星状神経節针刺在臨床治療中的应用, The 10<sup>th</sup> ASEAN Congress of Traditional Chinese Medicine cum 3<sup>rd</sup> Asia Advanced Forum on Acupuncture— Moxibustion, Singapore Chinese Physicians' Association, p253-255, 2012.
- 13) 中山登稔, 林 知也, 津村恵彦, 栗栖信之, 痛み関連電位を用いた経皮的低周波刺激の疼痛緩和効果の検討, 臨床神経生理学, 40(5), 475, 2012.
- 14) 北林 亜由美, 鈴木 雅雄, 竹田 太郎, 福田 文彦, 石崎 直人, 苗村 健治: 肺癌再発患者の化学療法に伴う嘔気に対する鍼治療の1症例. 東洋医学 17(4) : 5-12, 2012.
- 15) 須見遼子, 前田和久, 宇留島隼人, 平井 啓, 林 紀行, 蘆原恵子, 田口敬太, 松本めぐみ, 阪上未紀, 伊藤和憲, 福田文彦, 石崎直人, 伊藤壽記: 生活習慣病型癌患者を対象とした統合的なライフスタイル介入の試み. 日本統合医療学会誌 5(2) : 43-48, 2012.
- 16) Ariga H, Imai K, Ludwig K, Takahashi T: Gastric

emptying, plasma ghrelin and autonomic nerve activity in diabetic rats. *Neuroscience Letters*. 514:77-81,2012.

- 17) Itoh K, Asai S, Ohyabu H, Imai K, Kitakoji H.: Effects of trigger point acupuncture treatment on temporomandibular disorders: a preliminary randomized clinical trial. *J Acupunct Meridian Stud*. 5(2):57-62, 2012. Epub 2012 Feb 19.
- 18) 和辻 直, 関 真亮, 篠原昭二, 矢野 忠, 嶺尾徹: 東洋医学の健康調査票における用性. *バイオメディカル・ファジィ・システム学会 年次大会講演論文集*, 25:80-83, 2012.

### 【学会発表】

- 1) Yuko Kawai, Masahiro Umeda, Yasuharu Watanabe, Toshihiro Higuchi, and Chuzo Tanaka. Detection of Spontaneous Pain due to Chronic Pain in the Rat. *International Society for Magnetic Resonance in Medicine 20th Annual Meeting & Exhibition*. 5-11 May 2012.
- 2) Yoshitaka Bito, Yuko Kawai, Koji Hirata, Toshihiko Ebisu, Yosuke Otake, Satoshi Hirata, Toru Shirai, Yoshihisa Soutome, Hisaaki Ochi, Masahiro Umeda, Toshihiro Higuchi, and Chuzo Tanaka. Diffusion-weighted Spectroscopic Imaging of Multiple Metabolites in Rat Brains after Middle Cerebral Artery Occlusion. *International Society for Magnetic Resonance in Medicine 20th Annual Meeting & Exhibition*. 5-11 May 2012.
- 3) Tomokazu Murase, Masahiro Umeda, Yuko Kawai, Yasuharu Watanabe, Toshihiro Higuchi, and Chuzo Tanaka. Investigating the duration of brain response to acupuncture stimulation by using independent component analysis. *International Society for Magnetic Resonance in Medicine 20th Annual Meeting & Exhibition*. 5-11 May 2012.
- 4) Masahiro Umeda, Toshihiro Higuchi, Yuki Mori, Yoshichika Yoshioka, Yasuharu Watanabe, Yuko Kawai, Tomokazu Murase, and Chuzo Tanaka. The investigation of apparent diffusion coefficient in renal cortex and medulla during the cardiac cycle. *International Society for Magnetic Resonance in Medicine 20th Annual Meeting & Exhibition*. 5-11 May 2012.
- 5) 村瀬智一, 梅田雅宏, 河合裕子, 渡邊康晴, 樋口敏宏, 田中忠蔵. fMRI測定に用いる熱刺激システムの試作と性能検証. 第40回日本磁気共鳴医学会大会. O-1-83, 2012年9月.
- 6) 梅田雅宏, 樋口敏宏, 渡邊康晴, 河合裕子, 村瀬智一, 関本達之, 大門律雄, 村松佑哉. Low bを用いた拡散強調画像による心筋の収縮および拡張評価. 第40回日本磁気共鳴医学会大会. O-3-277, 2012年9月.
- 7) 渡邊康晴, 木村啓作, 梅田雅宏, 河合裕子, 樋口敏宏, 田中忠蔵. DWIを用いた筋組織の圧変形とその回復過程の画像化. 第40回日本磁気共鳴医学会大会. P-2-147, 2012年9月.
- 8) 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. 健常ラット脳の Diffusion Tensor Spectroscopic Imaging (DTSI). 第40回日本磁気共鳴医学会大会. P-3-232, 2012年9月.
- 9) シンポジウム  
Yamada J: Thiol Redox Status for Regulating Ocular Inflammation. *The 27th Asia Pacific Academy of Ophthalmology Congress, Busan. Korea. 2012.4.16*
- 10) Yamada J, Hayashi T, Hamuro J, Yamagami S, Kinoshita S: The role of allo-antigen presentation in mice penetrating keratoplasty controlled by MHC matching. *84th Annual meeting of the ARVO (Association for Research in Vision and Ophthalmology). Fort Lauderdale. Florida. U.S.A. 2012.5.7*
- 11) 山田潤, 林孝彦, 羽室淳爾, 山上聡, 木下茂: マウスカメラ移植での拒絶誘導をもとにした、DSAEKでの拒絶誘導機序の類推. 第36回日本角膜学会総会・第28回日本角膜移植学会, 東京, 2012年2月25日
- 12) 山田潤, 林孝彦, 羽室淳爾, 山上聡, 木下茂: MHC適合/非適合における、アロ免疫原性に関する担当部位の違い. 第116回日本眼科学会総会, 東京, 2012年4月6日
- 13) 衣川龍, 前田史篤, 田淵昭雄, 岡田美保子, 加藤弘明, 山田潤, 近藤芳朗. 個人内変動を定量化した瞳孔視野指標による緑内障性視野異常の検出. 第16回医療情報学春期学術大会, 函館, 2012年6月1日
- 14) 山田潤, 横井則彦, 羽室淳爾, 木下茂. シェーグレン症候群における結膜上皮細胞内のグルタチオン量低下. 第21回日本シェーグレン症候群学会学術集会, 京都, 2012年9月7日
- 15) 前川典代, 鈴木雅雄, 加用拓己, 山内清敬, 竹田太郎, 福田文彦, 石崎直人, 山村義治: 食欲不振に伴い強い不安を訴えていた患者への鍼治療の経験. 第61回全日本鍼灸学会学術大会, 全日本鍼

- 灸学会雑誌, 62(3):174, 2012.
- 16) 加用拓己, 鈴木雅雄, 山内清敬, 前川典代, 竹田太郎, 福田文彦, 石崎直人, 北小路博司, 山村義治: 心不全増悪により全身の浮腫を認めた患者に対する鍼治療の1症例. 第61回全日本鍼灸学会学術大会, 全日本鍼灸学会雑誌, 62(3):205, 2012.
  - 17) 古田大河, 鈴木雅雄, 北林亜由美, 竹田太郎, 福田文彦, 石崎直人, 苗村健治: 特発性肺線維症の呼吸器ターミナル患者に対する鍼治療の一症例. 第61回全日本鍼灸学会学術大会, 全日本鍼灸学会雑誌, 62(3):207, 2012.
  - 18) 坂口俊二, 久下浩史, 宮崎潤二, 竹田太郎, 小島賢久, 佐々木和郎, 森 英俊: 女性の冷え症に関連する因子の検討. 第61回全日本鍼灸学会学術大会, 全日本鍼灸学会雑誌, 62(3):222, 2012.
  - 19) 辻 涼太, 小島賢久, 坂口俊二, 竹田太郎, 宮崎潤二, 久下浩史, 佐々木和郎, 森 英俊: 女性の冷え症に関連する因子の検討 - 秋季と冬季の比較 -. 第61回全日本鍼灸学会学術大会, 全日本鍼灸学会雑誌, 62(3):222, 2012.
  - 20) 竹田太郎, 片山憲史, 矢野 忠, 新賀一郎, 藤田恵美, 荒木隆宏: 経穴刺激を応用した冷え症改善靴下の開発. 第61回全日本鍼灸学会学術大会, 全日本鍼灸学会雑誌, 62(3):223, 2012.
  - 21) 北林亜由美, 鈴木雅雄, 竹田太郎, 福田文彦, 石崎直人, 苗村健治: 肺癌再発患者の化学療法に伴う嘔気に対する鍼治療の1症例. 第61回全日本鍼灸学会学術大会, 全日本鍼灸学会雑誌, 62(3):232, 2012.
  - 22) 竹田太郎, 片山憲史, 矢野 忠, 新賀一郎, 藤田恵美, 宗川知加, 荒木隆宏: ツボ刺激を応用した冷え性改善靴下の開発(第2報). 日本繊維製品消費科学会2012年 年次大会, 研究発表要旨集: 68, 2012.
  - 23) 堀部豪, 鈴木雅雄, 古田大河, 大坂侑子, 竹田太郎, 福田文彦, 石崎直人, 苗村健治: 術後感染症により心不全増悪を来たし下腿の浮腫を認めた患者に対する鍼治療. 第30回全日本鍼灸学会近畿支部学術集会, 抄録集:19, 2012.
  - 24) 大坂侑子, 石崎直人, 佐原俊作, 鈴木雅雄, 竹田太郎, 福田文彦: 難治性の帯状疱疹後神経痛に対する鍼灸治療の一例. 第30回全日本鍼灸学会近畿支部学術集会, 抄録集:39, 2012.
  - 25) 福田文彦, 久保春子, 竹内真理, 鈴木雅雄, 竹田太郎, 石崎直人, 北小路博司: がんサバイバーの肥満に対する鍼治療の1症例. 第30回全日本鍼灸学会近畿支部学術集会, 抄録集:43, 2012.
  - 26) 古田大河, 鈴木雅雄, 竹田太郎, 福田文彦, 石崎直人: 担がん患者の家族に対するサポートを目的とした鍼治療の一症例. 第30回全日本鍼灸学会近畿支部学術集会, 抄録集:45, 2012.
  - 27) 糸井マナミ, 雨貝孝: 胸腺髓質上皮細胞への系列分化は胸腺細胞非依存的に起こる. 第22回京都T細胞カンファレンス, 22:18, 2012.
  - 28) Itoi M, Chiba S, Amagai T.: Generation of RANK positive thymic medullary epithelial progenitors occurs without interaction with developing thymocytes. ThymUS International Conference 2012(Miami, USA), 63, 2012.
  - 29) Itoi M, Chiba S, Amagai T.: Generation of thymic medullary epithelial progenitors occurs without interaction with developing thymocytes. 第41回日本免疫学会学術集会, 41:57, 2012.
  - 30) 林 知也, 煙山奨也, 中山登稔: 持久性運動トレーニング後の運動誘発性酸化ストレスと好気性エネルギー代謝状態における男女差. 第89回日本生理学会大会, 日本生理学雑誌 74(5):248-249, 2012.
  - 31) 林 知也, 煙山奨也: 直前の局所筋収縮が運動時の呼吸代謝に与える影響. 第14回日本スポーツ整復療法学会大会, スポーツ整復療法学研究 14(1,2):56, 2012.
  - 32) 中山登稔, 林 知也, 津村恵彦, 栗栖信之: 痛み関連電位を用いた経皮的低周波刺激の疼痛緩和効果の検討. 第42回日本臨床神経生理学学会学術大会, 臨床神経生理学 40(5):475, 2012.
  - 33) 中山登稔, 林 知也, 津村恵彦, 栗栖信之: 痛み関連電位を用いた経皮的低周波刺激の疼痛緩和効果の検討, 臨床神経生理学, 40(5), 475, 2012.
  - 34) Hwang JeongWon, Shoji Shinohara: The Effect of Caffeine on Acupuncture Analgesic, 16<sup>th</sup> International Congress of Oriental Medicine, 256, 2012.
  - 35) TADASHI Watsuji, NOZOMI Yokonishi, SHOJI Shinohara, MUNENORI Saitoh, MASA AKI Seki: Hemodynamics changes with acupuncture WFAS International Congress and Workshop on Acupuncture, 79, 2012.
  - 36) 篠原昭二, 関 真亮, 高橋信博, 西田秀明, 水沼国男, 斉藤宗則, 渡邊勝之, 和辻 直: 上腕二頭筋の遅発性筋痛に対する中周波 SSP 通電による鎮痛効果, 第61回全日本鍼灸学会学術大会抄録集, 218, 2012.
  - 37) 和辻 直, 横西 望, 斉藤宗則, 篠原昭二: 血瘀証の症例に対する鍼治療の効果, 日本東洋医学学会雑誌, 63(別冊), 322, 2012.

- 38) 和辻 直, 高士将典, 篠原昭二:五臓と感情(怒り・抑うつ)との関連性, 日本統合医療学会 学 会誌, 5(3),146,2012.
- 39) 鈴木孝子, 和辻 直, 篠原昭二, 矢野 忠:円皮鍼が体調に及ぼす効果, 第 61 回全日本鍼灸学会 学術大会抄録集, 129,2012.
- 40) 黄晶媛, 和辻 直, 渡邊勝之, 水沼国男, 齊藤宗則, 関 真亮, 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, 第 61 回全日本鍼灸学会学術大会抄録集, 197,2012.
- 41) 関 真亮, 篠原昭二, 和辻 直:中周波 SSP 通電が深部痛覚に及ぼす影響, 第 61 回全日本鍼灸学会学術大会抄録集, 219,2012.
- 42) 高士将典, 和辻 直:五臓と感情精神との臨床的意義について, 日本東洋医学会第 69 回関東甲信越支部学術総会プログラム・抄録集, 43,2012.
- 43) 井手 亮, 早水丈治, 渡邊勝之:強力反応点(灸点、禁灸点)のもつ電気特性の検討, 人体科学学会第 22 回大会, 人体科学学会第 22 回大会プログラム・抄録集, 36 - 37, 2011
- 44) 早水丈治, 井手 亮, 渡邊勝之:痛みとシビレに対する評価法の検討. 人体科学学会第 22 回大会, 人体科学学会第 22 回大会プログラム・抄録集, 34,2012.
- 45) 高橋信博, 和辻 直, 渡邊勝之, 水沼国男, 齊藤宗則, 関 真亮, 篠原昭二:上腕二頭筋の DOMS モデルに対する魚際穴の鎮痛効果, 第 61 回全日本鍼灸学会学術大会抄録集, 218,2012.
- 46) 赤澤淳, 奥野竜平:肘屈曲動作時におけるマルチチャンネル表面筋電図の類似度に着目した運動単位活動電位同定法の提案, 第 33 回バイオメカニズム学術講演会予稿集, 119-120, 2012.
- 47) 赤澤淳, 谷口和彦, 岡本武昌:肘屈曲動作時における表面筋電図を用いた運動単位活動の計測法の提案, 第 21 回日本柔道整復接骨医学学会学術大会抄録集, 2-P2-23, 2012.
- 48) 赤澤淳, 谷口和彦, 岡本武昌:肘屈曲動作時におけるマルチチャンネル表面筋電図を用いた運動単位活動計測法の提案, 第 14 回日本スポーツ整復療法学会抄録集, 40, 2012.
- 49) 赤澤淳, 奥野竜平:肘屈曲動作時におけるマルチチャンネル表面筋電図を用いた運動単位活動の計測法の提案, 第 67 回日本体力医学会大会抄録集, 198, 2012.
- 50) 赤澤淳, 奥野竜平:3次元位置と足圧分布に着目した足関節内反予防用テーピングの効果に関する検討, 第 13 回日本電気生理運動学会大会(第 1 回 SICE 電気生理運動学研究会), 18-19, 2012.
- 51) Kenji Kawakita, Maria Carneiro, Kaoru Okada, Chie Ogasawara, Eiji Sumiya, Yukihito Sugawara, Shigekatsu Aizawa, Shuji Goto: Physical Activities of Sham Devices Used in Clinical Trials of Acupuncture. 16th International Conference of Medicine, 2012.
- 52) Kawakita Kenji, Okada Kaoru, Carneiro Maria, Sugawara Yukihito, Aizawa Shigekatsu, Goto Shuji: Press tack needle and its sham are useful for double blinded clinical trials of acupuncture. 14<sup>th</sup> World Congress on Pain, International Association for the Study of Pain, 2012
- 53) 川喜田健司, 岡田 薫, 菅原之人, 會澤重勝:鍼の臨床試験における各種シャム鍼刺激の生理活性の微小神経電図法による解析. Pain Res. 27(2), 91, 2012.
- 54) 福田 文彦, 伊藤 和憲, 北小路 博司:【東京宣言特集】心と身体をみつめる日本鍼灸の叡智日本鍼灸の研究の発展]. 全日本鍼灸学会雑誌 62(2): 103-107, 2012.
- 55) 谷口 博志, 今井 賢治, 吉元 授, 小笠原 千絵, 早野 大孝, 中野 祐也, 新原 寿志, 北小路 博司, 角谷 英治:間接灸刺激によるラット胃排出能の促進に対する内因性オピオイドの関与, 日本自律神経学会総会プログラム・抄録集 65 回: 119, 2012.
- 56) 早野 大孝, 谷口 博志, 今井 賢治, 吉元 授, 小笠原 千絵, 新原 寿志, 北小路 博司, 角谷 英治, 日本自律神経学会総会プログラム・抄録集 65 回: 119, 2012.
- 57) 早野 大孝, 谷口 博志, 吉元 授, 今井 賢治, 小笠原 千絵, 日野 ころ, 新原 寿志, 北小路 博司, 角谷 英治:4日間の繰り返し鍼通電刺激による薬剤効果への影響, 全日本鍼灸学会学術大会抄録集 61 回: 249, 2012.
- 58) Hiroshi Taniguchi, Kenji Imai, Sazu Yoshimoto, Chie Ogasawara, Kokoro Hino, Hisashi Shinbara, Eiji Sumiya: Effects of Moxibustion on Restraint Stress-Induced Delayed Gastric Emptying in Rats, Gastroenterology 142: 300, 2012

【講演】

- 1) 竹田太郎: 冷え症の基礎知識と鍼灸治療、冷え症と夏バテ予防のツボ療法. 2012年8月5日, 石川県針灸師会主催県民公開講座(石川県金沢市 ANA クラウンプラザホテル)
- 2) 竹田太郎: 冷え性の基礎知識と鍼灸治療. 2012年10月21日, 明治東洋医学院専門学校同窓会明友会東近畿ブロック研修会(大阪府吹田市 明治東

洋医学院専門学校)

- 3) 竹田太郎：誰でも簡単・ツボ療法で冷え性対策 .  
2012年10月23日, 京都府年金受給者福祉講座京  
都府京都市 龍谷大学アバンティ響都ホール)
- 4) 中山登稔, The influence of transcutaneous electrical nerve stimulation on human brain activity and muscle function, Jinling Summit Forum Rehabilitation Medicine, Nanjing, China, 2012.5)

#### 【その他】

- 1) 共著 中山登稔：生理学,2013 徹底攻略国家試験過去問題集（はり師きゅう師用）, 医道の日本社, pp79-117, 2012.
- 2) 共著 中山登稔：生理学,2013 徹底攻略国家試験過去問題集（柔道整復師用）, 医道の日本社, pp59-123, 2012.
- 3) 共著 中山登稔：生理学,2013 徹底攻略国家試験過去問題集（あん摩マッサージ指圧師用）, 医道の日本社, pp85-126, 2012.

明治国際医療大学東洋医学研究所年報 2012

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 樋口敏宏

発行日 平成25年9月30日

印刷 中西印刷株式会社