

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

*明治鍼灸大学 東洋医学教室 **明治鍼灸大学附属病院 研修鍼灸師
***明治鍼灸大学 外科学教室

篠原 昭二* 石丸 圭荘* 渡辺 勝之** 岩 昌宏**
工藤 大作** 甲田 久士** 畑 幸樹*** 鈴山 博司***
咲田 雅一***

要旨: 灸刺激が癌細胞の増殖およびリンパ節転移に何如なる影響を及ぼすかについて実験的に検討した。C3H/Heマウス4週令雄, 90匹を対象として, MH134腹水肝癌細胞 5×10^5 個を右足蹠に移植し, 19日目に膝関節上部で右足を切断して, 切断された右足の重量で腫瘍の増殖状態を比較した。同時に, 所属リンパ節の転移の有無を組織学的に観察した。灸刺激は, 大灸(2.0mg)あるいは小灸(0.65mg)を用いた。施灸のタイミングは腫瘍の移植2W前, 1W前, 移植当日, 移植1W後から施灸する群を作成した。刺激部位は, Th12棘突起下部, 胸骨上1/4部, 左側腹部中央とし, 各1壮施灸した。その結果, 灸刺激は刺激量, タイミングを選べば腫瘍の増殖に抑制的に作用し, 小灸を移植1週間前から連日施灸した群で最も顕著な腫瘍増殖およびリンパ節転移の抑制効果を示した。

Inhibitory Effects of Moxibustion on Growth of MH134 Tumor cells

SHINOHARA Shoji*, ISHIMARU Keisou*,
WATANABE Katsuyuki**, IWA Masahiro**,
KUDOH Daisaku**, KOUDA Hisashi**,
HATA Kouki***, SUZUYAMA Hiroshi***
and SAKITA Masakazu***

* Department of Oriental Medicine, Meiji College of Oriental Medicine

** Practice Acupuncturist, Department of Surgery, Meiji College of Oriental Medicine.

*** Department of Surgery, Meiji College of Oriental Medicine.

Summary: We examined the effects of moxibustion on the growth of MH134 tumor cells. Ninety male C3H/He mice were inoculated with 5×10^5 MH134 cells in the right foot pad. Stimulation of moxibustion of 0.65mg or 2.0mg was performed on 3 points in back and abdomen. Nineteen days after the inoculation, their right feet were cut off and their weights were measured, and metastasis to lumbar, inguinal and popliteal lymph nodes were examined histologically. Moxibustion inhibited the tumor growth and lymph node metastasis in some experimental groups. Significant inhibitory effects were observed in the group treated with small moxibustion every two days starting one week before, in the group treated with large moxibustion every two days starting one week after and in the group treated with small moxibustion every day starting one week before the inoculation of tumor cells. Present results may suggest the immunoregulatory effects of moxibustion.

Key Words: 灸治療 Moxibustion, 腫瘍細胞の増殖抑制効果 Tumor growth inhibition, リンパ節転移 Inhibition of lymph node metastasis

I 緒 言

日本に古くから伝承されてきた灸治療の起源は鍼よりも古く、中国の馬王堆遺跡にまで遡る¹⁾。その灸療法は、現在健康灸あるいは養生灸として広く普及している。しかし、灸に関する科学的な検討は未だ十分ではない。近年になってモグサの成分^{2,3,4,5)}や、施灸の臨床的な効果についての検討^{6,7,8)}が加えられている。さらには、灸の免疫系に及ぼす効果についても明らかにされてきている^{9,10,11,12)}。楊¹³⁾ら、野間¹⁴⁾ら、Sternfeld ら¹⁵⁾は、灸刺激によるマウス移植腫瘍の増殖抑制について報告しており、灸が腫瘍に対する免疫応答を活性化していることを示唆している。今回、著者らはリンパ節転移能の強いマウス同系移植腫瘍を用い、灸刺激の腫瘍の増殖およびリンパ節転移への影響について検討したので報告する。

II 材料および方法

動物および腫瘍：C3H/Heマウス、雄、4週令、90匹を対象とした。移植腫瘍はC3H/Heマウスと同系のMH134腹水肝癌細胞を用いた。

灸刺激と実験群（図1）：刺激部位は野間¹⁴⁾らにならい、脾臓点（マウス左腋窩中央線上と肋骨最下縁の交わる点）、胸腺点（胸骨正中線上で胸骨の上1/4）、副腎点（背部Th12とL1棘突起の間）の3カ所に各1社施灸した。モグサの大きさは、大灸（小豆粒大=約2mg）と小灸（半米粒大=約0.65mg）に分け、それぞれ大灸施灸群、小灸施灸群とした。大灸は週に3日間（隔日）施灸を行い（大灸施灸群）、小灸は週に3日間施灸する群（小灸隔日施灸群）と毎日施灸する群（小灸連日施灸群）とに分けた。大灸施灸群、小灸隔日施灸群、小灸連日施灸群は各々さらに施灸の開始時期により、腫瘍移植前2週間前より開始した

1. 施灸部位：1) 副腎点



TH12胸椎棘突起
下部に取る

2) 胸腺点



胸骨の上1/4部
に取る

3) 脾臓点



左腋窩線上で最下
肋骨下部に取る

2. 施灸期間

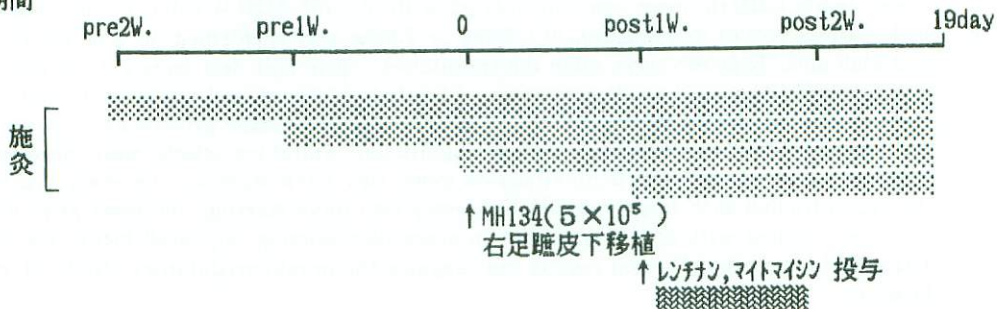


図1 実験方法

群, 1週間前より開始した群, 移植と同時に開始した群, 移植後1週間目より開始した群の4群(1群各6匹)に分けた. また, 治療効果の対照群として, 無処置コントロール群(10匹), 免疫賦活剤であるレンチナン投与群(6匹)およびMH134細胞に対して感受性がある制癌剤のマイトマイシン投与群(6匹)をおいた. レンチナンおよびマイトマイシンは, それぞれ2 mg/kg, 1 mg/kgを腫瘍細胞の移植1週間後から5日間連日腹腔内投与した.

抗腫瘍効果の判定: 移植後19日目にマウスを頸椎脱臼死させ, 1) 移植腫瘍の増殖については, 右膝関節直上部で担癌の右下肢を切断して, その重量を測定し, これを腫瘍重量とした. この腫瘍重量の経時的变化を各群間で比較した. 2) リンパ節転移の状況については, 腫瘍移植側の右膝窩部, 鼠径部, 腰部のリンパ節を各々摘出し, これを10%ホルマリン液で固定した後, パラフィン切片を作成し, ヘマトキシリン・エオジン染色を施し病理組織学的に転移の有無を観察した.

III 結 果

1) 移植腫瘍の増殖抑制効果について

図2は, MH134細胞 5×10^5 個/0.05 mlを, マウスの右足蹠皮下に移植後19日目の腫瘍重量の平均値と標準偏差値を示したものである. 上段が大灸隔日施灸群, 中段が小灸隔日施灸群, 下段が小灸連日施灸群である. 横軸に, 左から無処置コントロール群, 移植2週間前から施灸した群, 1週間前から施灸した群, 移植当日から施灸した群, 移植1週間後から施灸した群, マイトマイシン投与群, レンチナン投与群のデータを示す.

灸刺激の腫瘍増殖への影響をみると, 大灸隔日施灸群では, 無処置コントロール群 (0.86 ± 0.33 g) と比較して移植1週間前から施灸した群 (0.47 ± 0.14 g) および移植当日から施灸した群 (0.57 ± 0.34 g) で増殖抑制効果が認められ, 特に移植1週間前から施灸した群ではコントロール群と比較して有意差 ($p < 0.02$) が認められた. 同様に, 小灸隔日施灸群では, 移植1週間後から施灸

した群で 0.42 ± 0.16 g と無処置コントロール群と比較して有意 ($p < 0.02$) な増殖抑制が観察された.

小灸連日施灸群では, 移植1週間前施灸群が 0.34 ± 0.11 g と無処置コントロール群の半分以下の重さ ($p < 0.01$) であった. さらに, 移植当日から施灸した群においても 0.50 ± 0.12 g と, コントロール群と比較して有意差 ($p < 0.05$) が認められた.

一方, 治療効果の対照としておいたマイトマイシン投与群の移植後19日目の腫瘍重量は 0.54 ± 0.14 g, レンチナン投与群では 0.25 ± 0.04 g と無処置コントロール群と比較してそれぞれ有意差 ($p < 0.05$, $p < 0.001$) が認められた. これと各施灸群の増殖抑制効果を比較すると, 施灸群での抑制効果のあった群は, マイトマイシンとレンチナンの中間位の効果と考えられた.

2) リンパ節転移に対する影響について

表1は, 担癌側の膝窩, 鼠径部, 腰部におけるリンパ節の組織標本から, 腫瘍細胞の転移状況を観察したものである. (-) は, リンパ節中に全く腫瘍細胞の転移を認めなかったもので, (+) は転移陽性リンパ節を示す. 最下段に示す無処置コントロール群についてみると, 膝窩部, 鼠径部, 腰部リンパ節のそれぞれ90%, 70%, 89%に転移が観察された.

大灸隔日施灸群では, 膝窩リンパ節における転移は何れの時期から施灸を始めても100%に認められた. これに対して, 鼠径リンパ節における転移率は1週間前から施灸した群が33%と他群より低値を示し, 腰部リンパ節でも, やはり1週間前から施灸した群が67%とやや低値を示した.

小灸隔日施灸群の, 膝窩リンパ節ではいずれも83%から100%に転移が認められたが, 鼠径リンパ節では, 移植後1週間後から施灸した群では40%と低値を示し, 次いで, 移植当日から施灸した群が50%, 移植2週間前施灸群が60%, 移植1週間前から施灸した群では83%に転移が観察された. 腰部リンパ節では, 1週間前から施灸した群で67%とやや低値を示した他は, いずれも83%か

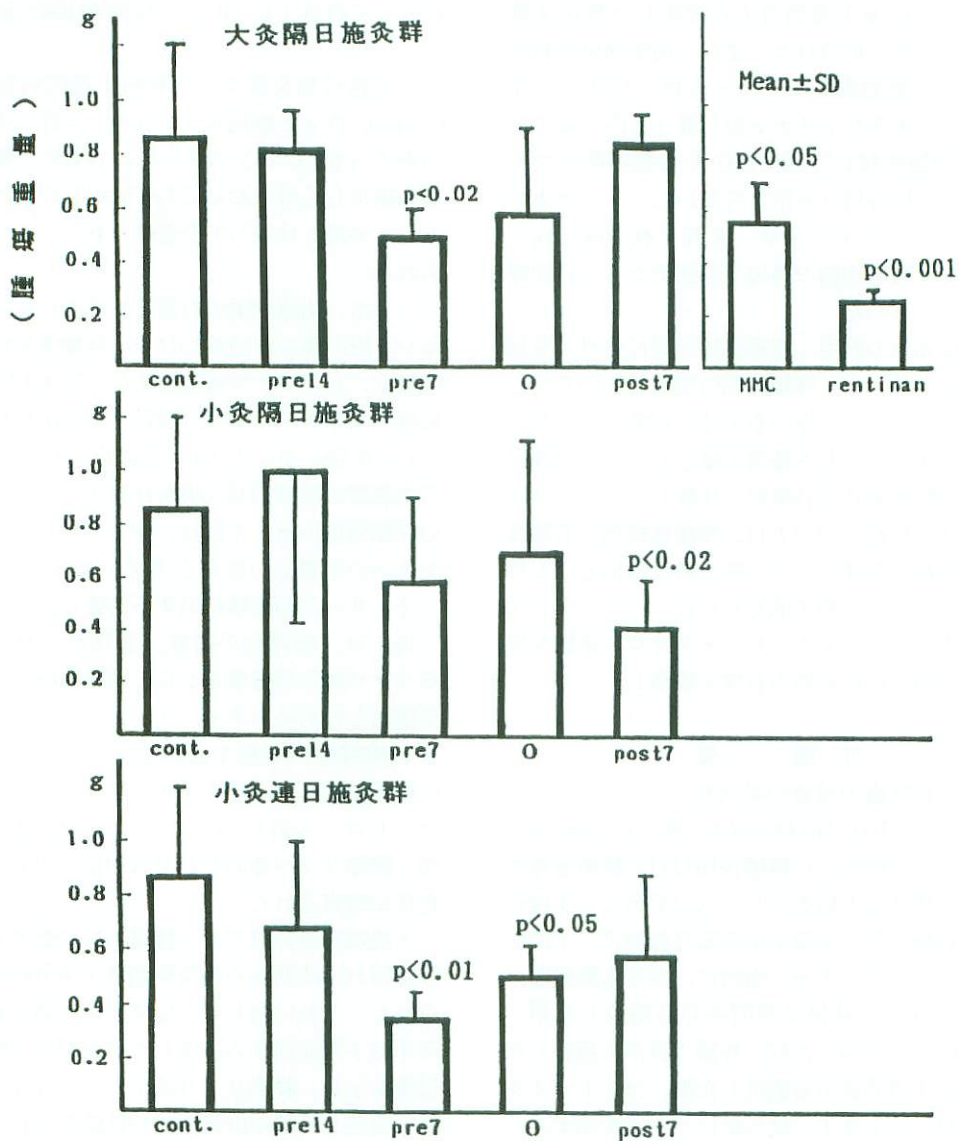


図2 施灸によるMH134腹水肝癌細胞の増殖抑制効果

(細胞 5×10^5 個移植19日目の腫瘍重量の比較)

縦軸は、移植後19日目に処死したマウスの移植側足部の重量を測定し、これを腫瘍重量として平均値と標準偏差値を示したものである。横軸は、それぞれの群を示したもので、pre14, pre7, 0, post7 は、施灸を開始した日数を示す。

表1. 所属リンパ節の転移状況

		膝窩		鼠径部		腰部	
腫瘍転移率		—	+	—	+	—	+
大灸隔日施灸	pre14	0	6 (100)	2	4 (67)	0	6 (100)
	pre 7	0	6 (100)	4	2 (33)	1	5 (83)
	0	0	6 (100)	2	4 (67)	2	4 (67)
	post7	0	5 (100)	2	3 (60)	0	5 (100)
小灸隔日施灸	pre14	0	5 (100)	2	3 (60)	0	5 (100)
	pre 7	0	5 (100)	1	5 (83)	2	4 (67)
	0	0	6 (100)	3	3 (50)	1	5 (83)
	post7	1	5 (83)	3	2 (40)	1	5 (83)
小灸連日施灸	pre14	0	6 (100)	2	4 (67)	0	6 (100)
	pre 7	0	6 (100)	6	0 (0)	3	2 (40)
	0	2	4 (67)	2	4 (67)	1	5 (83)
	post7	0	5 (100)	2	3 (60)	1	4 (80)
レンチナン		2	4 (67)	5	0 (0)	3	3 (50)
マイトマイシン		0	6 (100)	3	3 (50)	2	4 (67)
コントロール		1	9 (90)	3	7 (70)	1	8 (89)

〔—〕はリンパ節転移がみられないもの、〔+〕はリンパ節転位が見られるもので、数字はリンパ節の数を示す。()内の数字は転移率(%)を示す。pre14, pre7, 0, post7は、施灸を開始した日数を示したものである。

ら100%に観察された。

小灸連日施灸群では、膝窩リンパ節で移植当日施灸群で67%であった以外は100%に転移が見られた。鼠径リンパ節では移植1週間前から施灸した群では全く転移は観察されなかったが、他の群の転移率は60~67%であった。腰部リンパ節では、1週間前施灸群の転移率が40%と低値を示したが、他群では80から100%に転移が観察された。

これに対してレンチナン投与群ではそれぞれ膝窩、鼠径、腰部の各リンパ節の転移率は67%、0%、50%であり、鼠径リンパ節への転移が観察されず、腰部リンパ節においても50%しか認められなかった。しかし、マイトマイシン投与群では、膝窩、鼠径および腰部リンパ節はそれぞれ100%、50%、67%の転移率で、鼠径リンパ節で転移が抑制される傾向を示しているが、レンチナンほどの効果は観察されなかった。

以上、腫瘍増殖が認められた大灸の1W前よりの施灸群、小灸隔日の1W後よりの施灸群、小灸連日の1W前よりの施灸群等では主に鼠径リンパ節転移が抑制される傾向のあることが判った。

IV 考 察

灸刺激の移植腫瘍増殖抑制効果を見るため、灸刺激の開始時期、刺激回数、1回の刺激量などの刺激条件を考慮にいれて実験を行った。その結果、無処置コントロール群の腫瘍の増殖に比して、大灸を隔日に移植1週間前から施灸した群 ($p < 0.02$)、小灸を隔日に1週間後から施灸した群 ($p < 0.02$)、小灸を連日1週間前 ($p < 0.01$) からおよび移植当日 ($p < 0.05$) から施灸した群においてそれぞれ有意な増殖抑制が認められた。このことから、施灸刺激はマウスの移植腫瘍の増殖を抑制するが、刺激の条件によって効果に差が生じることが示唆された。そこで、大灸隔日施灸群と小灸隔日施灸群を比較して、モグサの大きさ、つまり刺激量の差による抑制効果の違いについて見ると、大灸施灸群では移植1週間前から施灸した群、小灸施灸群では移植後1週間目から施灸した群で有意に抑制されている。さらに、小灸施灸群において、隔日施灸群と連日施灸群とで比較すると、連日施灸群では移植1週間前および移植当日から施灸した群において有意な抑制効果が見られたのに対して、隔日施灸群では移植1週間後から施灸した群で抑制効果が見られた。このことから、灸刺激の開始時期、刺激の量、刺激の回数が腫瘍細胞の増殖に影響することが判った。

他方、腫瘍細胞の増殖抑制効果の程度を見ると、小灸を連日1週間前から施灸した群において、ほぼレンチナン投与群と近似した抑制効果が得られ、今回の実験群の中では最も顕著な効果が認められた。また、大灸を1週間前から施灸した群および小灸を隔日に1週間後から施灸した群、小灸を連日移植当日から施灸した群ではマイトマイシン投与群と近似した抑制効果が認められた。このことは、灸が条件によっては現代医学の治療薬とほぼ同等の効果を示す可能性を示唆してお

り、注目すべきことと思われる。

一方、楊¹³⁾らは Sarcoma180 を用いて大椎穴(第7頸椎棘突起下部)への移植当日からの灸刺激が腫瘍の増殖を抑制したと報告し、野間¹¹⁾らはエールリッヒ固型癌を使って移植12日前から施灸したもの、次いで移植当日から施灸した群が延命効果の高いことを報告している。さらに、Sternfeld¹²⁾らは同様にエールリッヒ固型癌を移植し生存率を観察した結果、大椎穴に移植1週間前から施灸した群の生存率が最もよく、次に腰部に移植当日から施灸した群が有効であったと報告している。このように、灸刺激の腫瘍の増殖抑制効果および延命効果に関する報告は、腫瘍細胞の種類、刺激ポイント、刺激量、刺激の開始時期等により多少差異が認められるが、腫瘍の増殖を抑制することは間違い無いようである。我々は刺激ポイントを一定にして、刺激量と刺激の開始時期を変えて検討した結果、小灸連日施灸群で最も効果があった。このことは、刺激は弱い刺激を頻回に継続するほうが、強刺激を回数が少なく与えるよりも効果的であることを示唆している。

次に、リンパ節転移に対する灸刺激の影響を検討した。大灸施灸群では、1週間前から施灸することによって鼠径部の転移率が33%と低値を示しており、小灸隔日施灸群の鼠径部では、移植1週間後から施灸した群と移植当日から施灸した群においてそれぞれ40%、50%と低値を示している。小灸連日施灸群では、1週間前から施灸した群の鼠径部および腰部リンパ節の転移率がそれぞれ0%、40%と低値を示している。これらの結果は、先の腫瘍重量の結果から示唆された増殖抑制効果を裏づけるものと考えられた。

なお、このような施灸刺激による腫瘍細胞の増殖抑制が、どのようなメカニズムで引き起こされるのか未だ明確ではない。一方、予備実験の段階ではあるが、大灸施灸群、小灸施灸群、レンチナン投与群および無処置コントロール群におけるマウス脾細胞の芽球化反応をみると、PHA刺激に対して、大灸、小灸刺激共に脾リンパ球の³H-thymidine の uptake がコントロール群に比して

明らかに促進された結果を得ている。このことから、施灸によるMH134腫瘍細胞の増殖抑制効果にリンパ球機能の活性化が関与している可能性が示唆されるが、抗腫瘍機序の詳細については今後更なる検討が必要と思われる。

V 結 語

灸刺激の移植腫瘍の増殖抑制効果について腫瘍重量と所属リンパ節の転移状況から検討し、次の結果を得た。

灸刺激は、刺激量および刺激開始時期によっては、腫瘍増殖に抑制的に作用した。刺激量としては、小灸連日施灸群において、最も有効であった。施灸のタイミングは、移植1週間前から施灸した場合に最も顕著な増殖抑制効果が見られた。

文 献

- 1) 周一謀主編：馬王堆医書考注。中国天津科学技术出版社，pp1～6，1988。
- 2) 尾崎昭弘：図解鍼灸臨床手技の実際。第1版，医歯薬出版社，pp25～39，1987。
- 3) 小林和子：灸における熱ショック蛋白質(hsp)の意義。明治鍼灸医学 4：67～71，1988。
- 4) 関家晨皓：「艾」の含有金属について。月刊東洋医学 11(1)：23，1984。
- 5) 戸田静男ら：艾の精油成分の研究(1)。全日本鍼灸学会雑誌 38(3)：330～333，1988。
- 6) 木下晴都：針灸学原論。第2版，医道の日本社，pp41～45，1977。
- 7) 柳谷素靈選集刊行会編：柳谷素靈選集上。續文堂，pp261～276，1976。
- 8) 會澤重勝他：灸に関する基礎的研究—施灸部位の血管透過性の変化—。昭和医学会雑誌 48(6)：673～680，1988。
- 9) 章逢潤，耿俊英主編：中国灸療学。中国人民衛生出版社，pp1～8，1989。
- 10) 湯徳安編著：実験鍼灸学入門。天津科学技术出版社。pp225～237，1986。
- 11) 坂本浩二ら：施灸によるマウス血清生化学成分の変動について。全日本鍼灸学会雑誌 38(3)：320～325，1988。
- 12) 岡崎雅子ら：マウス血小板凝集およびATP放出に及ぼす単回施灸刺激の影響。全日本鍼灸学会雑誌 38(2)：188～194，1988。
- 13) 楊友泌ら：艾灸対小鼠移植性腫瘤S—180抑制作用的研究。中国鍼灸 3：32～33，1989。

- 14) 野間重任ら : エールリッヒ固型癌の灸治療効果に関する研究 (第2報) . 日本東洋医学会雑誌 35 (3) : 83~87, 1985.
- 15) Sternfeld M et al : Bimodal Effect of Moxibustion on Mammary Carcinoma Transplanted in BALB/c Mice. Am J of Acupuncture 16(4) : 358~361, 1988.