

## マウス免疫能の灸刺激後の変化について

奥野 英子<sup>1</sup> 篠原 昭二<sup>2</sup> 宇都宮由美子<sup>1</sup> 咲田 雅一<sup>1</sup>

<sup>1</sup>明治鍼灸大学 外科学教室 <sup>2</sup>明治鍼灸大学 鍼灸診断学教室

**要旨** : ddy 系雄性マウスに灸刺激をした後、免疫能がどのように変化するかを検討した。灸刺激は、大灸 (2.0mg)、中灸 (0.6mg)、小灸 (0.3mg) 施灸群に分け、それぞれ連日施灸または隔日施灸を行なった。施灸部位は、左右腎兪穴相当部位とし各々1壮/日、9日間施灸した。施灸開始後4日目に羊赤血球で免疫し、その5日後に脾細胞を用い、ConA によるリンパ球芽球化反応、抗 SRBC Ig-M Plaque Forming Cells (PFC) 数について検討した。連日中灸施灸群では、リンパ球芽球化反応の有意な亢進が認められ、PFC 反応では隔日中灸施灸群においてプラーク形成細胞数が亢進した。このことから灸刺激は、T細胞反応性に何らかの影響を及ぼす可能性が考えられるが、灸の刺激量や刺激間隔が反応増強には重要な因子であることが示唆された。

### I はじめに

古来より灸治療は身体機能の変調を整え抵抗力を増強する作用を持つと考えられている。それ故、灸療は様々な疾患の治療や予防法の一つとして盛んに行なわれており経験的にその有効性が知られている<sup>1-3)</sup>。しかし、施灸刺激の効果発現のメカニズムについては未だ明らかでない。近年になって、灸に関する生化学の方面からの研究<sup>4-5)</sup>や、艾の成分<sup>6)</sup>について検討されてきている。

灸と免疫系との関わりは東洋医学的概念から考えると大変興味深いが、この分野での研究はまだ少ない。しかし、施灸刺激がマウス遅延型過敏症を増幅あるいは抑制したり<sup>7)</sup>、マウス貧食能を亢進させること<sup>8)</sup>、更には抗腫瘍性に作用する<sup>9)</sup>との報告から、灸刺激が生体防御機構の一つである免疫系に深く関与していると考えられる。そこで今回、著者らは灸刺激後の免疫応答能にどのような影響を及ぼすかを知る目的で、リンパ球芽球化

反応、抗体産生数を指標として検討した。また、如何なる灸刺激が有効であるかを知る目的で、艾の大きさや施灸間隔等の刺激条件にも検討を加えたので報告する。

### II 材料と方法

#### (1)動物および灸刺激

5週齢の ddy 系雄性マウス28匹を用いた。マウスは、大灸 (小豆粒大=約2mg) 施灸群、中灸 (米粒大=約0.6mg) 施灸群、小灸 (半米粒大=約0.3mg) 施灸群に分け、更に各群を連日施灸群、隔日施灸群および、施灸を行なわない無処置コントロール群の計7群 (各群4匹) に分けた。刺激部位は左右腎兪穴相当部位とし、各々1壮/日、9日間施灸を行なった (図1)。

#### (2)脾細胞浮遊液の作製

実験開始10日目にマウスを頸椎脱臼で処死し、脾臓及び胸腺を無菌的に摘出してこれらの臓器の

**Key Words** : 灸刺激 Moxibustion, ConA 反応 Con A response, 溶血斑形成細胞 Ig-M Plaque Forming Cell

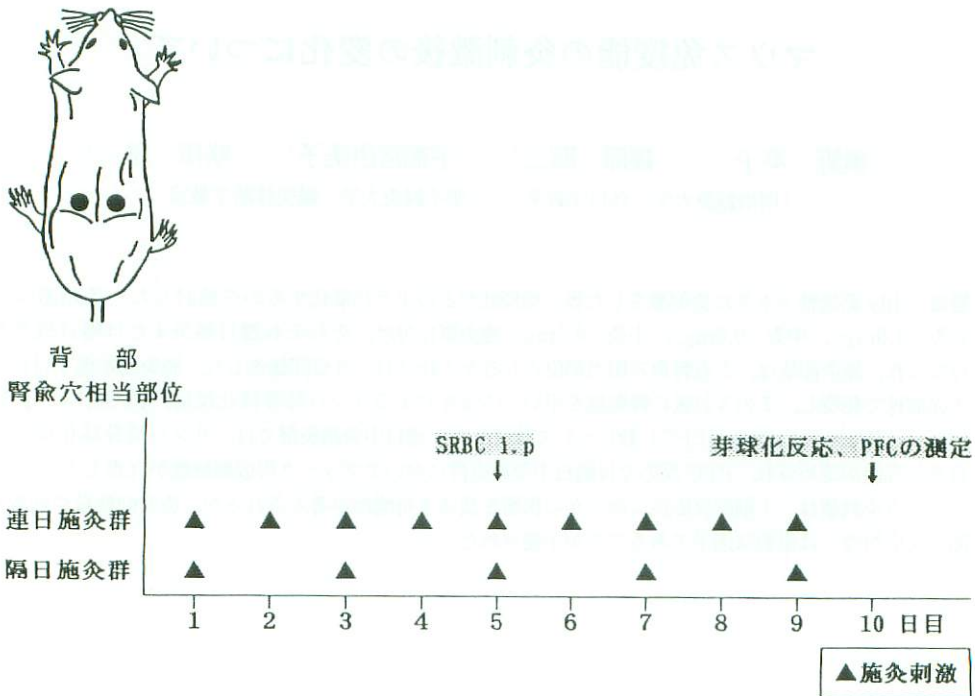


図1 実験スケジュール及び施灸部位

重量を計測した。摘出した脾臓を micro slide glass ですり潰し、wire mesh にて濾過した。赤血球除去用トリス緩衝液 (pH7.65) にて赤血球を溶血させ、RPMI1640 培地で 3 回洗浄した。脾細胞を  $1 \times 10^7$  個/ml (PFC 数の測定の場合は  $1 \times 10^6$  個/ml) になるように RPMI1640 培地に浮遊させ細胞を調整した。

### (3) リンパ球芽球化反応の測定

96穴平底 micro test plate (Nunc) に 1 well 当たり脾リンパ球細胞  $5 \times 10^5$  個を 10% ウシ胎児血清加 RPMI1640 培地 200  $\mu$ l に浮遊させ、予備実験で最適濃度であった Concanavalin-A (ConA) 0.1  $\mu$ g/well を加えた後、37°C、5% CO<sub>2</sub> 下で 72 時間培養した。また、対照として ConA を添加しない well を作製した。培養終了 24 時間前に各 well に <sup>3</sup>H-thymidine (Amersham) 0.5  $\mu$  Ci を添加し、培養終了後セルハーベスター (Skatron) にて細胞を集めてシンチレーターカクテル (シン

チゾール EX-H, 和光純薬) を添加後、その放射活性を液体シンチレーションカウンターで測定した。各検体を triplicate とし平均 cpm を算出した。

### (4) プラーク形成細胞数 (Plaque forming cells; PFC)

$2.5 \times 10^5$  個/ml の羊赤血球 (日研生物医学) 0.2 ml を、初回灸刺激日から 4 日後に腹腔内投与してマウスを免疫した。その 5 日後に Cunningham らの方法<sup>10)</sup> に準じ、脾細胞浮遊液 0.4 ml に 50% 羊赤血球 0.05 ml とモルモット乾燥補体 (極東製薬) 0.05 ml を加えてよく混和した後、その 0.1 ml をカンニングムチェンバー (高橋技研) に注入し、パラフィンにてチェンバーの両側開放部を封入し、37°C で 60 分間インキュベートした。PFC 数は肉眼的にチェンバー内の溶血斑数をカウントし、脾細胞  $10^6$  個当たりの溶血斑数に換算して表示した。

なお、統計学的処理には、各群間での多重比較

を行なうため、統計ソフト Yukms の Tukey 法を用いた。

### III 結 果

#### (1) 灸刺激がリンパ球芽球化反応に及ぼす影響について

図2は脾リンパ球の Con-A による芽球化反応の平均 cpm と標準偏差を示したものである。コントロール群 (6274 ± 1606 cpm) と比較してすべての施灸群でリンパ球芽球化反応の促進傾向が観察された。特に中灸連日施灸群 (9254 ± 944 cpm) では対照群との間に有意差 (P < 0.05) が認められた。なお、各群の ConA 無添加コントロールの値は図2の如くで、小灸連日施灸群の 1745 cpm から小灸隔日施灸群の 764 cpm と多少ばらつきがあったため Stimulation Index は用いず cpm 値で表現した。

#### (2) 灸刺激が PFC 数に及ぼす影響について

図3は脾細胞  $1 \times 10^6$  個当たりの PFC 数の平均値と標準偏差を示したものである。連日施灸と隔

日施灸を比較すると、各群共に連日施灸では隔日施灸より PFC 数がやや少ない傾向を示した。また、隔日施灸では大灸、中灸、小灸群共にコントロール群より増加傾向がみられ、特に中灸隔日施灸群 ( $4434 \pm 1001$  PFC /  $10^6$ ) ではコントロール群はもちろん、その他の施灸群と比較しても有意 (P < 0.01 or P < 0.05) な PFC 数の増加が観察された。

また、各施灸群の脾臓及び胸腺の重量はコントロール群と比較して差異はなかった。

### IV 考 察

灸刺激のマウス免疫能に及ぼす影響を観察するため、リンパ球芽球化反応、PFC 数を指標として検討した。また艾の大きさと施灸間隔の違いによる免疫応答能への影響についても検討を加えた。その結果マイトージェンに対するリンパ球芽球化反応はすべての施灸群でコントロール群より促進する傾向が認められ、特に中灸連日刺激を行うことで有意 (P < 0.05) に促進された。一方、

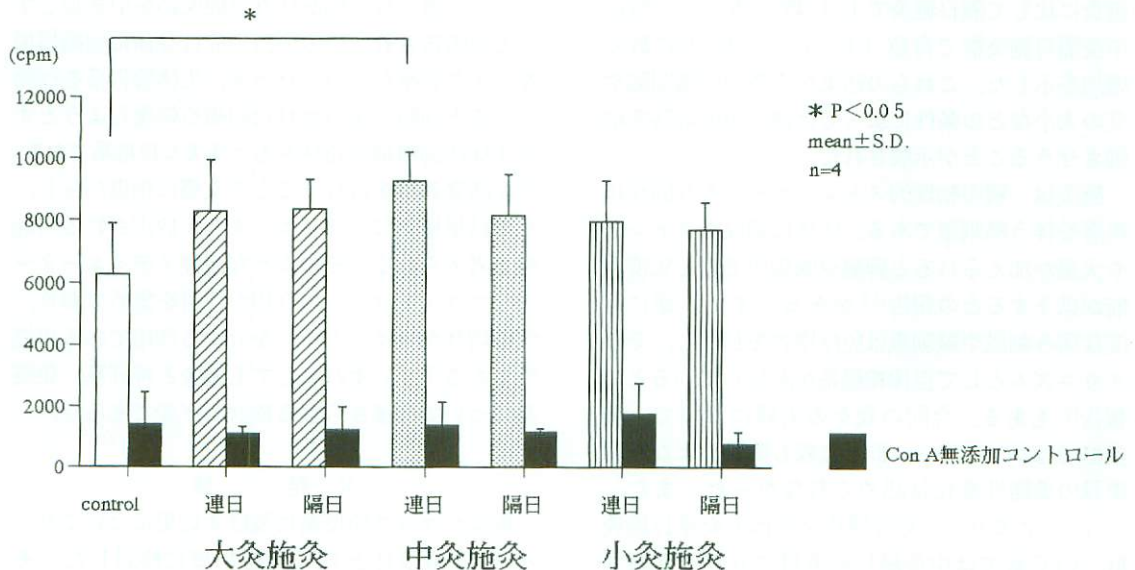


図2 灸刺激の ConA 芽球化反応に及ぼす影響

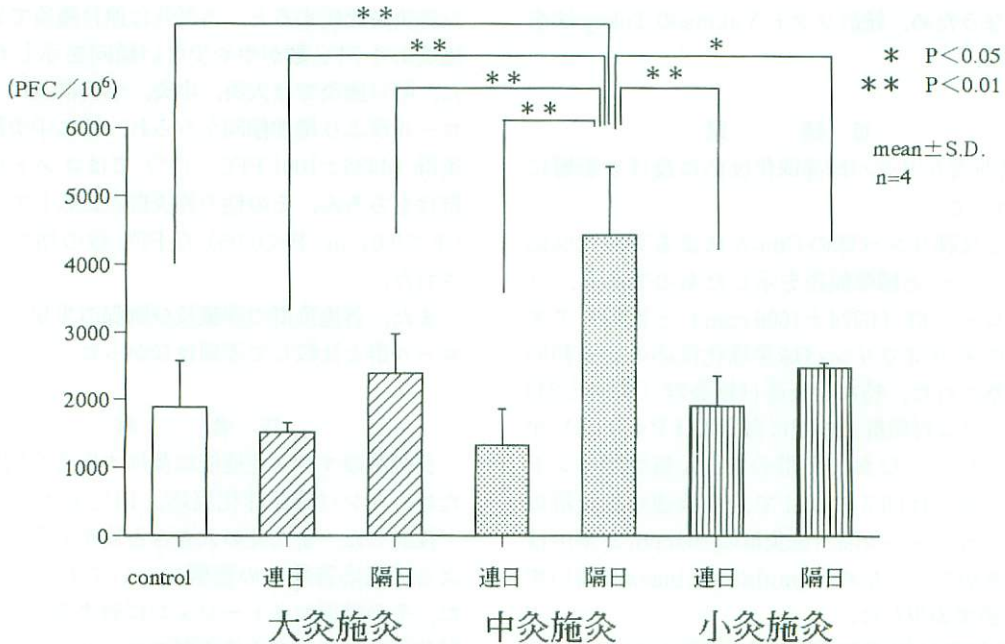


図3 灸刺激のPFC数に及ぼす影響

SRBCに対するPFC反応では各施灸群とも連日施灸に比して隔日施灸でPFC数が増加し、特に中灸隔日施灸群で有意 ( $P < 0.01$ ) なPFC数の増加を示した。これらの結果から灸の刺激間隔や艾の大小などの条件によっては強く免疫応答を増強させることが示唆された。

施灸は一種の物理的ストレスであり同時に疼痛を伴う熱刺激である。生体に過度なストレスや火傷が加えられると脾臓や胸腺が萎縮し免疫機能が低下するとの報告<sup>11)</sup>がある。また、逆に適度な痛み刺激や鍼刺激は免疫増強を起し、そのメカニズムとして自律神経系が関与しているとの報告<sup>12)</sup>もある。今回の我々の実験において、施灸群ではコントロール群と比較し胸腺および脾臓重量の萎縮性変化は認められなかった。また、ConAによるリンパ球芽球化反応は中灸連日施灸群、PFC数では中灸隔日施灸群で亢進が観察された。このことから、施灸がT細胞の反応性増強作用をもつ刺激であることが示唆される。

また、施灸は熱刺激による痛みを誘発するだけでなく、微小な火傷を作り炎症反応を引き起こすことが報告されている<sup>13)</sup>。炎症は身体に組織損傷を与える刺激が加わったとき、生体警告系を作動させると同時に傷害された組織を修復しようとする生体防御機構の意味をもつ重要な反応系である。炎症誘発刺激を行なうことで皮膚に損傷が生じ、その結果様々なメディエーターが放出される可能性も考えられる。そのような液性メディエーターとしてサイトカインの作用が注目を集めており、免疫増強がサイトカインを介する作用である可能性もある<sup>14)</sup>。いずれにしても施灸と神経系、免疫系について今後さらなる検討が必要であろう。

## V 結 語

施灸がマウス免疫系に及ぼす効果についてリンパ球芽球化反応とPFC数を指標に検討した。その結果、リンパ球芽球化反応は中灸連日刺激、PFC反応は中灸隔日刺激により促進することが

わかった。

参考文献

- 1) 山下善教 : パセドール病に対する灸の効用. 川崎市医師会医学雑誌, 4 : 91~93, 1987.
- 2) 河内 明 : 慢性の肩凝り症を伴う気管支喘息の鍼灸治療経験 (症例報告). 臨床針灸, 5(3) : 1~4, 1990.
- 3) 奥間 武, 斎藤光子, 藤本武久ら : 潰瘍性大腸炎の灸治療. 医道の日本, 51(9) : 11~15, 1992.
- 4) 小林和子, 高岡 裕, 竹石和秀ら : 灸と熱ショック蛋白質との関連. 医学のあゆみ, 148(3) : 199~200, 1989.
- 5) 坂本浩二, 笠原多喜子, 桜井淑子ら : 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.
- 6) 戸田静男 : 艾の精油成分の研究 (1). 全日本鍼灸学会誌, 38(3) : 330~333, 1988.
- 7) 笠原多喜子, 呉育興ら : 東洋医学への薬理学的アプローチ-施灸, 施鍼, および漢方方剤黄連解毒湯のマウス遅延型過敏症への影響の比較検索-. 昭医学会誌, 49(5) : 488~495, 1989.
- 8) 岡崎雅子, 古谷英治, 松山陽太郎ら : マウス貧食能に及ぼす施灸刺激の影響 第3報. 全日本鍼灸学会雑誌, 32(2) : 9~15, 1982.
- 9) 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.
- 10) Cunningham A J, Szenberg A : Further improvement in the plaque technique for detecting single antibody-forming cells. immunology, 14 : 599~600, 1968.
- 11) Miller C L, Baker C C : Changes in Lymphocyte activity after thermal injury. The role of suppressor cells. J Clin Invest 63 : 202~210, 1979.
- 12) Fujiwara R, Zou G, Matuoka H, et al : Effect of Acupuncture on Immune Response in Mice. Intern. J. Neuroscience, 57 : 141~150, 1991.
- 13) 曾澤重勝, 岡崎雅子, 坂本浩二ら : 灸に関する基礎的研究-施灸部位の血管透過性の変化-. 昭和会誌, 48(6) : 673~680, 1988.
- 14) 横山三男 : 痛みと免疫応答. ペインクリニック, 13(3) : 353~357, 1992.

**Effect of Moxibustion on Immune Responses in Mice****OKUNO Fusako<sup>1</sup>, SHINOHARA Shoji<sup>2</sup>  
UTSUNOMIYA Yumiko<sup>1</sup> and SAKITA Masakazu<sup>1</sup>***1 Department of Surgery, Meiji College of Oriental Medicine,**2 Department of Diagnostic Oriental Medicine, Meiji College of Oriental Medicine*

**Summary:** The effects of moxibustion on immune responsiveness in ddy mice were investigated. Stimulation by moxa weighing 2.0 mg, 0.6 mg or 0.3 mg was performed once a day everyday or every other day for 9 days. Stimulation points used were bilateral Shenshu(B23). The mice were immunized with sheep red blood cells on day 5. ConA induced mitotic response, and plaque-forming cell(PFC) response against SRBC of the spleen cells were examined 10 days after the initial stimulation. Compared with the non-stimulated control group, stimulation with moxa enhanced the ConA induced mitotic response significantly in the group stimulated with 0.6 mg of moxa every day, while the number of PFC significantly increased in the group stimulated with 0.6 mg of moxa every other day.

These data suggested that responsiveness of host T cells might be activated by moxibustion. However, the volume of moxa and the interval of stimulation might be essential factors in inducing activation.