虚血-再灌流負荷ラット骨格筋の血流量とエネルギー代謝の変化および鍼刺激によるそれらへの影響

新原寿志
明治鍼灸大学大学院　鍼灸基礎医学　機能系

要旨　本研究の目的は，虚血-再灌流負荷ラット骨格筋の血流量とエネルギー代謝の相互関係と鍼刺激がそれらに及ぼす影響について検討することであった．120分間または150分間の虚血負荷を与えたラット下腿筋群の虚血負荷前と負荷後で，鍼刺激を加えた場合とそうでない場合の各骨格筋の血流量を放射性マイクロスフェアー法にてそれぞれ測定した．また，筋血流量測定と同じプロトコールで，下腿背面部筋群の高エネルギーリン酸化合物（phosphocreatine とATP）の含有量および細胞内pH値をin　vivo ^{31}P-NMR法にて観測した．

虚血-再灌流後のラット下腿筋群のエネルギー代謝状態は，筋血流量の回復が関与することが示唆された．虚血負荷前のラット下腿筋群において，鍼が直接刺入された筋でのみ血流量の増加が観察されたが，これには中枢系よりもむしろ末梢神経の軸索反射の関与が示唆された．虚血-再灌流後のラット下腿筋群において，鍼刺激は筋血流量および骨格筋エネルギー代謝へ有意な変化を与えないことが示唆された．

はじめに

鍼による鎮痛効果は，主に内因性モルヒネ様物質の作用と考えられているが，木下[1]はこの機序とは別に，持続的な筋収縮による循環障害が引き起こす筋の疼痛に対し，鍼刺激による筋循環の改善がその鎮痛効果に関与するものと考え，強縮を負荷し収縮高を減少させたカエルおよびモルモットの腓腹筋に鍼刺激を加え，対照群に比較して，その収縮高の有意な回復が見られたと報告している．鍼刺激による筋循環への影響を観察した報告には，脈波，皮膚温と深部温測定[2,3]およびプレチスモグラフ[4]による間接的な方法によるものがある．さらに，電解式水素クリアランス法により筋血流量を定量的に測定した鶴ら[5]の報告がある．酸素と栄養物質は筋血流により筋細胞に供給され，これら筋細胞のエネルギー代謝により，筋収縮およびNa^+イオンとCa^{2+}イオンの能動輸送に必須の高エネルギーリン酸化合物であるATPが産生される．一方，エネルギー代謝過程で生じる乳酸や二酸化炭素は筋血流により筋細胞から排出される．このように，筋循環と骨格筋エネルギー代謝は密接な関係があるにも関わらず，上述のような筋収縮活動や筋循環に及ぼす鍼刺激の影響についての報告は見られるが，骨格筋エネルギー代謝に及ぼす鍼刺激の直接的かつ定量的な影響について報告した例は，われわれの知る限り見あたらない．

以前われわれは，120分間または150分間の虚血負荷をラット下腿筋群に与え，虚血-再灌流中の下腿背面部筋群の骨格筋エネルギー代謝動態をin　vivo ^{31}P-NMR法にて観察した．その結果，再灌流後の骨格筋エネルギー代謝の回復過程において，これら2つの虚血負荷群間で有意差が認められた[6]．さらに，虚血-再灌流中のラット下腿筋群の循環動態を検討するために，同じプロトコールで，腓腹筋表層部のみの筋血流量をレーザードップラー血流計にて観察したが，虚血負荷を与えた下腿筋群の深部を含む筋全体の循環動態について検討はしていない．

本研究では，虚血-再灌流中のラット下腿筋群の深部を含む筋全体の循環動態を検討するために，以前と同じプロトコールで，虚血負荷前，中，後

平成10年11月30日受付，平成10年12月28日受理
Key Words：虚血 ischemia,　再灌流 reperfusion,　筋血流量 muscle blood flow,
筋エネルギー代謝 muscle energy metabolism,　鍼 acupuncture
連絡先　〒629-0392 京都府船井郡日吉町　明治鍼灸大学

の下腿を構成する各骨格筋の血流量を，関心領域にある筋全体の血流量を定量的に測定できる放射性マイクロスフェアー法[7-10]を用いて測定した．そして，これらより得られる虚血-再灌流負荷ラット骨格筋の循環動態と，それら筋血流測定と同じプロトコールで，非侵襲的かつ経時的測定が可能なin vivo ^{31}P-NMR法[6, 11, 12]を用いて，骨格筋エネルギー代謝の指標となる高エネルギーリン酸化合物のphosphocreatine（PCr）とATPの含有量および細胞内pH値を観察し，骨格筋エネルギー代謝動態との相互関係について検討した．

さらに，鍼刺激がラット正常骨格筋と虚血負荷骨格筋の血流量に及ぼす影響について検討するために，上述と同じプロトコールで，非虚血負荷時または虚血負荷後のラット下腿筋群に鍼刺激を加え，鍼刺激後の各骨格筋の血流量をそれぞれ測定し，前述の放射性マイクロスフェアー法による筋血流量測定で得られた非鍼刺激時の筋血流量と比較した．そして，鍼刺激がラット下腿筋群の骨格筋エネルギー代謝へ及ぼす影響について検討するために，これら筋血流量測定と同じプロトコールで，前述のin vivo ^{31}P-NMR法を用いて観察した．そして，虚血-再灌流負荷ラット骨格筋の血流量とエネルギー代謝の相互関係に及ぼす鍼刺激の影響について検討した．

方　法

実験動物

実験動物には，体重257±12g（平均値±標準偏差）のウィスター系ラット雄（n=156）を用い，室温25℃，light-dark cycle 12：12 時間で飼育し，餌（MF，オリエンタル酵母工業）と水は任意に摂取させた．麻酔はペントバルビタールナトリウム（50mg/kg）の腹腔内投与により行った．ラットの体温（直腸温）は，バスサーキュレーターから温水を保温用マットに送り，かつラット全体を厚手のガーゼで覆い38±0.5℃に保持した．

筋血流量測定では，ラットをそれぞれ非虚血負荷群（n=8），非虚血負荷-鍼刺激群（n=8），10分間虚血負荷群（n=8），120分間虚血負荷群（n=48）および150分間虚血負荷群（n=48）に分けた．120分間虚血負荷群は，再灌流後10分群（n=8），再灌流後20分群（n=8），再灌流後40分群（n=8），再灌流後60分群（n=8），再灌流後90分群（n=8）および再灌流後90分-鍼刺激群（n=8，以下，120分間虚血負荷-鍼刺激群とする）に分け，150分間虚血負荷群も同様に，再灌流後10分群（n=8），再灌流後20分群（n=8），再灌流後40分群（n=8），再灌流後60分群（n=8），再灌流後90分群（n=8）および再灌流後90分-鍼刺激群（n=8，以下，150

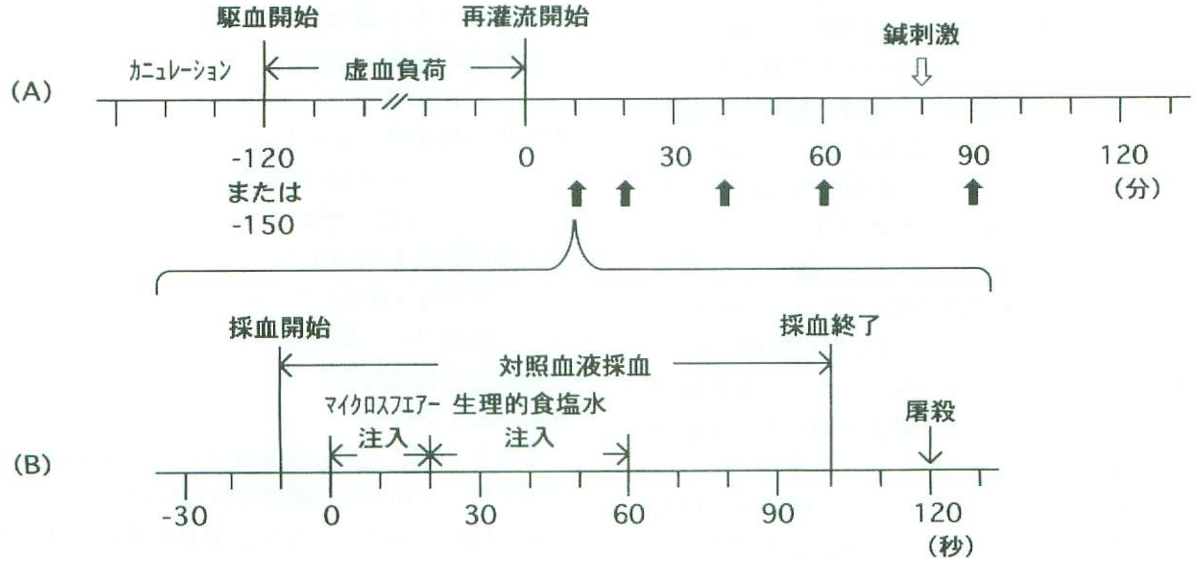

図1 虚血-再灌流負荷と鍼刺激プロトコールおよび筋血流量測定プロトコール
虚血-再灌流負荷と鍼刺激プロトコールを，再灌流開始時をゼロ時として（A）に示す．虚血負荷時間は120分間または150分間とした．⬆は筋血流量測定時点を，⇩は鍼刺激開始時点をそれぞれ示す．in vivo ^{31}P-NMRスペクトルは，虚血負荷前，中，後といずれも5分毎に測定した．
放射性マイクロスフェアー法による筋血流量測定プロトコールを，マイクロスフェアー注入開始時をゼロ時として（B）に示す．筋血流測定は，（A）の⬆（再灌流後10分，20分，40分，60分および90分）の時点でそれぞれ実施した．

分間虚血負荷-鍼刺激群とする）に分けた．

in vivo ^{31}P-NMRスペクトル測定では，非虚血負荷群（n=6），非虚血負荷-鍼刺激群（n=6），120分間虚血負荷群（n=6），120分間虚血負荷-鍼刺激群（n=6），150分間虚血負荷群（n=6）および150分間虚血負荷-鍼刺激群（n=6）に分けた．

プロトコール

虚血-再灌流負荷と鍼刺激プロトコールおよび筋血流量測定プロトコールを図1（A）と（B）にそれぞれ示す．虚血時間は以前われわれが行った実験と同じく120分間または150分間とし再灌流時間はいずれも120分間とした[6]．また，駆血法も以前と同様に，伸張性のあるゴムバンドでラット右後肢下腿膝窩部を駆血した[6]．筋血流量測定は両虚血負荷群ともに，再灌流後10分，20分，40分，60分および90分の時点でそれぞれ行い，^{31}P-NMRスペクトルは，虚血負荷前，中，後といずれも5分毎に測定した．なお，^{31}P-NMRスペクトルは，鍼刺激開始前の3回と鍼刺激開始後10分から5回の測定結果，つまり再灌流後70分から110分時点までのデータを表した．鍼刺激時期は再灌流後80分の時点とした．

鍼刺激条件

鍼刺激には30 mm の20号鍼（0.20 mmφ，セイリン社）を用い，刺激部位は，^{31}P-NMRスペクトル測定部位と対応させるために，ラット下腿背面中央部（アキレス腱付着部位から膝窩部中央へ約2 cmの部位）とした．鍼の刺入角度は垂直とし，刺入深度は最大で10±1 mmとした．これは測定終了後の目視による確認では，腓腹筋，足底筋およびヒラメ筋を貫通する深さであった．刺激様式は，幅8±1 mmのマニュアルによる上下運動，周期は0.5 Hz（1秒間で鍼を下方向，次の1秒間で上方向），刺激時間は3分間とした．

筋血流量測定

筋血流量測定には放射性マイクロスフェアー法を用いた[7-10]．筋血流量測定のための右総頚動脈および左大腿動脈のカニュレーションを図2に示す．マイクロスフェアー（放射性マイクロスフィアー，New England Nuclear 社，USA）は，クロム（^{51}Cr，半減期27.7日）で標識されサイズが15 μmφのものを用いた．血中へ注入するマイクロスフェアー懸濁液（0.1ml）は，0.01％のTween-80を含む生理的食塩水で，約1,000,000個のマイクロスフェアーを含むものとした．ラット麻酔後，ヘパリン水溶液で満たしたマイクロスフェアー注入用カテーテル（Intramedic Polyethylene Tubing PE50，日本ベクトン・ディッキンソン社）を右の総頚動脈から大動脈弓まで約4 cm挿入し，同

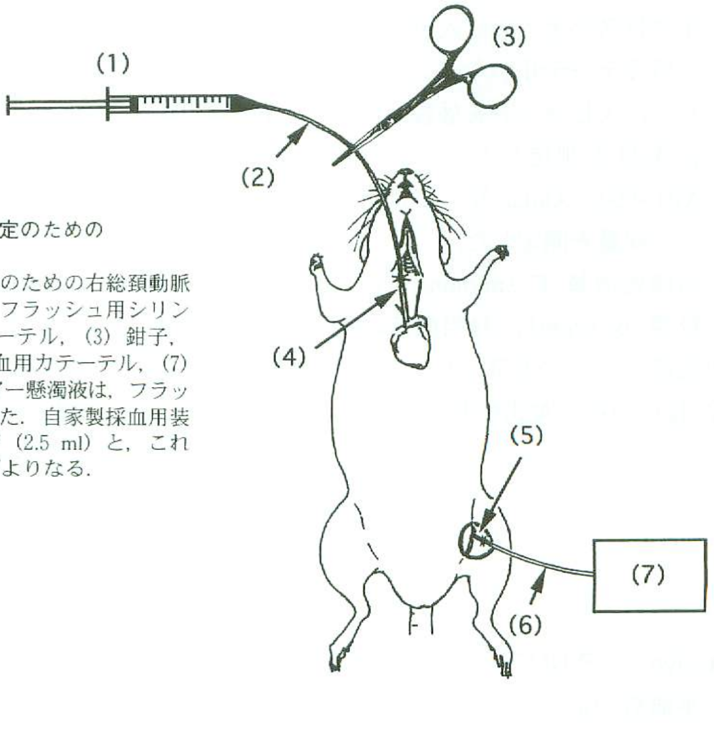

図2 放射性マイクロスフェアー法による筋血流量測定のためのカニュレーション

放射性マイクロスフェアー法による筋血流量測定のための右総頚動脈および左大腿動脈のカニュレーションを示す．(1) フラッシュ用シリンジ（1.0 ml），(2) マイクロスフェアー注入用カテーテル，(3) 鉗子，(4) 右総頚動脈，(5) 左大腿動脈，(6) 対照血液採血用カテーテル，(7) 自家製採血用装置をそれぞれ示す．マイクロスフェアー懸濁液は，フラッシュ用シリンジと鉗子の間のカテーテル内に充填した．自家製採血用装置は採血用カテーテルの末端に取り付けたシリンジ（2.5 ml）と，これを一定速度（0.66 ml/min）で吸引する採血用ポンプよりなる．

様に，対照血液採血用カテーテル（Intramedic Polyethylene Tubing PE50，日本ベクトン・ディッキンソン社）を左の大腿動脈から約1 cm挿入した．マイクロスフェアー注入用カテーテルの末端には生理的食塩水（1.0 ml）を満たしたフラッシュ用のシリンジを取り付け，また，カテーテルの途中は鉗子により動脈血の混入を防いだ．マイクロスフェアー懸濁液はこのシリンジと鉗子の間に充填し，注入の際，残存するマイクロスフェアーを最少量となるようにした．自家製採血用装置はシリンジ（2.5 ml）と採血用ポンプから成るが，対照血液の採血は，採血用カテーテルの末端にこのシリンジを取り付け，これを採血用ポンプに装着し吸引することにより行った．この自家製採血用ポンプの吸引速度の精度は，10回の測定で0.660±0.003 ml/min（平均値±標準誤差）であった．本研究では，この採血用ポンプを吸引速度 0.66 ml/min の一定速度として用いた．放射性マイクロスフェアー法による筋血流量測定プロトコールを図1（B）に示す．マイクロスフェアーの注入は次の手順で行った．1）採血用ポンプを用いて，採血用カテーテルからの一定速度（0.66 ml/min）で対照血液の採血を開始し，2）10秒後，注入用カテーテルからマイクロスフェアー懸濁液（0.1 ml）を10-20秒間で注入した．その後，生理的食塩水（1.0 ml）でカテーテル内のマイクロスフェアーをフラッシュした．3）対照血液の採血は，マイクロスフェアー注入後100秒まで続けた．4）注入用カテーテルからペントバルビタールナトリウムを注入しラットを屠殺後，直ちに筋を摘出して湿重量を測定した．5）ガンマカウンター（ARC-600，Aloka 社）で対照血液と各骨格筋のガンマ線量を測定した．

組織血流量 F（ml/min/100g）は，組織のガンマ線量 B（cpm），対照血液の吸引速度 FR，対照血液のガンマ線量 DR（cpm），組織の湿重量 W（g）から，次式を用いて算出した10)．

$F = (100 \times B \times FR) / (DR \times W)$

測定対象とする筋は，ラット右後肢下腿のヒラメ筋，足底筋，腓腹筋，前脛骨筋および長指伸筋とした．

in vivo ^{31}P-NMRスペクトル測定

本研究のin vivo ^{31}P-NMRスペクトル測定は，以前のわれわれの報告と同じin vivo ^{31}P-NMR測定条件で行った[6]．測定部位はラット右後肢下腿背面部（腓腹筋直上）とし，^{31}P-NMRスペクトル測定には4.7 テスラのNMR装置（CSI-II-Omega，GE 社，USA）を用いた．測定条件は，観測周波数81.1 MHz，観測周波数幅±5,000 Hz，パルス繰り返し時間2.0 sec，照射パルス幅10 μsec，データポイント4,096，加算回数80回で，一つのスペクトルの測定に要する時間は約3分間であった．ラジオ波パルスの照射及び受信には，自家製のダブルターンサーフェイスコイル（12mm φ）を用いた．外部標準として，hexamethylphosphoric triamide（HMPT）をガラス球（5 mm φ）に入れサーフェイスコイル中央直下に置いた．なお，スペクトルはPCrのピークを化学シフトの基準値（0 ppm）とした．スペクトルのピーク面積の測定には，NMR装置の付属アプリケーション（Spectral Analysis Tool）を用いた．PCrおよびATP（β-P）の信号強度は，各ピーク面積と各スペクトルのHMPTのピーク面積の比で表し，虚血負荷前3回測定の平均値をコントロールとする相対値（百分率）で表した．

細胞内pH値測定

細胞内pH値は，^{31}P-NMRスペクトルにおけるPCrとinorganic phosphate（Pi）の化学シフト値(ppm）を用い，次式より算出した．

$pHi = pKa + \log[(\sigma - \sigma a) / (\sigma b - \sigma)]$

σはPCrとPiの化学シフト値の差であり，pKa，σa，σbはそれぞれ6.75，3.27，5.69とした[6, 12]．

統計解析

統計解析は，統計解析用ソフト（Statistica for Macintosh Release 4.1J，StatSoft 社，USA）を用い，等分散性の検定（ハートレイ，コクランC，バートレット）を行った後，等分散であれば一元配置分散分析を行い，さらに有意差が認められる場合には，多重比較であるTukey法で検定を行った．一方，データが不等分散であればクラスカル・ウォリスの分散分析を行い，さらに有意差が認められる場合には表計算ソフト(Excel 5.0，Microsoft 社，USA）を用いてノンパラメトリックのTukey法をマニュアル計算により行った[13]．経時的測定データには，Greenhouse-Geisser法の自由度を

調節した二元配置分散分析を行った．有意水準（p）は５％以下とし，p＜0.05（＊または＃）およびp＜0.01（＊＊または＃＃）で表した．すべてのデータは平均値±標準誤差で表した．

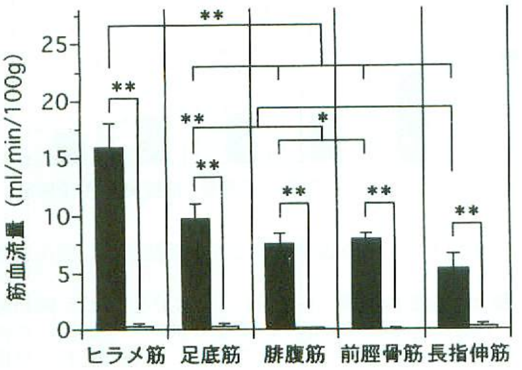

図3 非虚血負荷群および虚血負荷群のラット下腿筋群の筋血流量
■は非虚血負荷群（n=8）を，□は10分間虚血負荷群（n=8）をそれぞれ示す．非虚血負荷群は虚血負荷を加えていない正常ラット下腿筋群の筋血流量を，10分間虚血負荷群は駆血開始後10分での筋血流量をそれぞれ示す．測定対象とする筋は，右後肢下腿のヒラメ筋，足底筋，腓腹筋，前脛骨筋および長指伸筋とした．データはすべて平均値±標準誤差（ml/min/100g）で表した．有意水準（p）は，それぞれp＜0.05（＊），p＜0.01（＊＊）とした．

結　果

I. 筋血流量測定

1）非虚血負荷時および虚血負荷時の筋血流量

非虚血負荷群および虚血負荷群のラット下腿筋群の筋血流量を図３に示す．非虚血負荷群は，虚血負荷を加えていない正常ラット下腿筋群の筋血流量であり，一方，10分間虚血負荷群は，駆血開始後10分時点での筋血流量である．非虚血負荷群のヒラメ筋，足底筋，腓腹筋，前脛骨筋および長指伸筋の血流量は，それぞれ16.0±2.0，9.8±1.2，7.6±0.8，7.9±0.5，5.3±1.3（ml/min/100g）であり，ヒラメ筋はこれら対象とした骨格筋の中で有意に高い値を示した（p＜0.01：対足底筋，対腓腹筋，対前脛骨筋，対長指伸筋）．一方，長指伸筋はこれら対象とした骨格筋の中で有意に低い値を示した．（p＜0.01：対ヒラメ筋，対足底筋，p＜0.05：対腓腹筋，対前脛骨筋）．非虚血負荷群と同様に，虚血負荷群の各骨格筋の血流量はそれぞれ，0.3±0.2，0.3±0.2，0.1±0.0，0.0±0.1，0.3±0.2（ml/min/100g）であり，いずれも非虚血負荷群に比較して有意に低い値を示した（それぞれp＜0.01）．

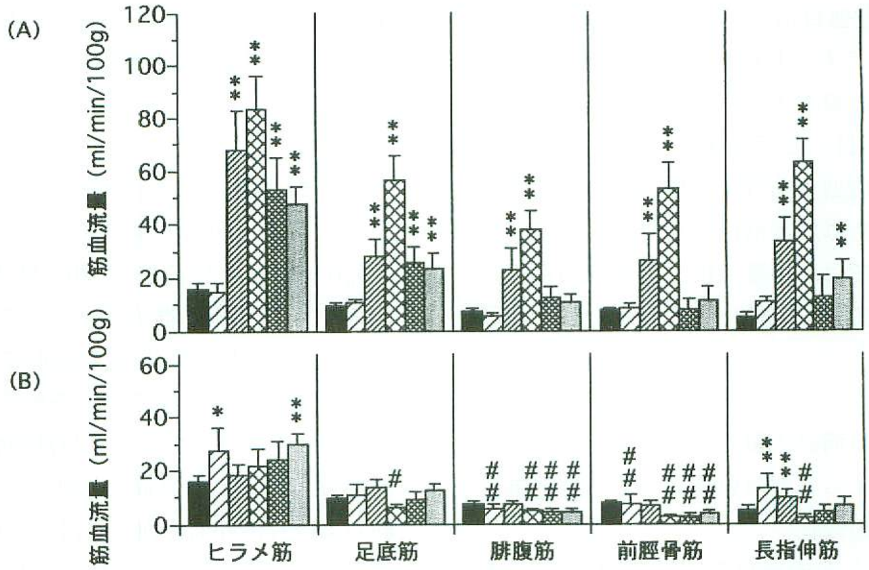

図４ 120分間虚血負荷群および150分間虚血負荷群における虚血-再灌流後のラット下腿筋群の筋血流量の変化
（A）は120分間虚血負荷群のラット下腿筋群の筋血流量を，（B）は150分間虚血負荷群をそれぞれ示す．両虚血負荷群ともに，▨は再灌流後10分群（n=8），▨は再灌流後20分群（n=8），▩は再灌流後40分群（n=8），▩は再灌流後60分群（n=8），▩は再灌流後90分群（n=8）をそれぞれ示す．■は対照として非虚血負荷群（n=8）を示す．測定対象とする筋は，右後肢下腿のヒラメ筋，足底筋，腓腹筋，前脛骨筋および長指伸筋とした．データはすべて平均値±標準誤差（ml/min/100g）で示した．有意水準（p）は，それぞれp＜0.05（＊または＃），p＜0.01（＊＊または＃＃）とし，＊および＊＊は非虚血負荷群に比較して有意な増加を，＃および＃＃は有意な低下をそれぞれ示す．

2）虚血-再灌流後の筋血流量

（1）120分間虚血負荷群における虚血-再灌流後の筋血流量の変化

再灌流後10分，20分，40分，60分，および90分時点における120分間虚血負荷群のラット下腿筋群の筋血流量を図4（A）に示す．120分間虚血負荷群では，いずれの骨格筋においても筋血流量は，再灌流後10分で非虚血負荷群の筋血流量値にまで回復し，再灌流後40分をピークとする一過性の有意な筋血流量の増加が観察された（それぞれ$p<0.01$）．再灌流後40分時点でのヒラメ筋，足底筋，腓腹筋，前脛骨筋および長指伸筋の筋血流量は，それぞれ83.3±12.6，56.6±8.7，37.8±7.0，53.1±9.8，62.6±8.6（ml/min/100g）であった．再灌流後90分時点においても，ヒラメ筋，足底筋および長指伸筋はそれぞれ非虚血負荷群の筋血流量よりも有意に高い値を示したが，腓腹筋と前脛骨筋では有意差は見られなかった．

（2）150分間虚血負荷群における虚血-再灌流後の筋血流量の変化

150分間虚血負荷群の各骨格筋の血流量を，120分間虚血負荷群におけると同様に，図4（B）に示す．150分間虚血負荷群では対象としたいずれの骨格筋においても，120分間虚血負荷群とは有意に異なる筋血流量および回復パターンを示した（それぞれ$p<0.01$）．ヒラメ筋，足底筋および長指伸筋では，非虚血負荷群の筋血流量よりも高い値を示すか，または同等な値を示した．一方，腓腹筋と前脛骨筋では，再灌流後，非虚血負荷群の筋血流量と比べて有意に低い値を示した（それぞれ$p<0.01$）．

3）鍼刺激による筋血流量の変化

（1）鍼刺激による非虚血負荷ラット下腿筋群の筋血流量の変化

非虚血負荷群と非虚血負荷-鍼刺激群のラット下腿筋群の筋血流量を図5に示す．非虚血負荷-鍼刺激群において，鍼を刺入したヒラメ筋，足底筋および腓腹筋の鍼刺激開始後10分（鍼刺激終了後7分）での血流量は，それぞれ29.0±8.7，36.6±3.8，11.8±1.4（ml/min/100g）であった．一方，鍼を刺入していない前脛骨筋と長指伸筋の血流量は，それぞれ7.3±0.8，5.9±1.2（ml/min/100g）

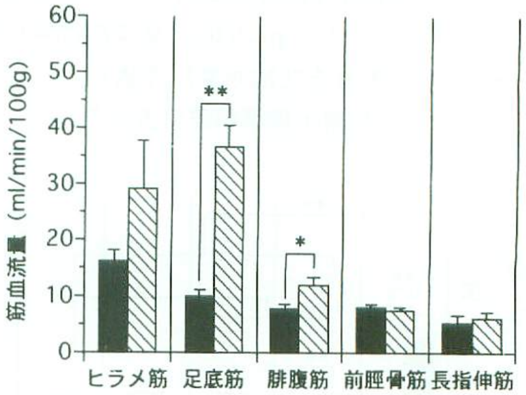

図5 鍼刺激による非虚血負荷ラット下腿筋群の筋血流量の変化

■は非虚血負荷群（n=8）を，▧は非虚血負荷-鍼刺激群（n=8）をそれぞれ示す．測定対象とする筋は，右後肢下腿のヒラメ筋，足底筋，腓腹筋，前脛骨筋および長指伸筋とした．鍼刺激は刺激時間3分間であった．データはすべて平均値±標準誤差（ml/min/100g）で表した．有意水準（p）は，それぞれ$p<0.05$（＊），$p<0.01$（＊＊）とした．

であった．非虚血負荷-鍼刺激群のうち鍼を刺入した足底筋と腓腹筋の筋血流量は，非虚血負荷群と比較して有意に高い値を示した（それぞれ$p<0.01$，$p<0.05$）．ヒラメ筋でも同様に鍼刺激による血流量の増加が観察されたが，非虚血負荷群と比較して有意差は見られなかった（$p=0.17$）．鍼を刺入していない前脛骨筋と長指伸筋の血流量は，非虚血負荷群と比較して有意差は見られなかった．

（2）鍼刺激による120分間虚血負荷ラット下腿筋群の筋血流量の変化

120分間虚血負荷群と120分間虚血負荷-鍼刺激群のラット下腿筋群の筋血流量を図6（A）に示す．120分間虚血負荷-鍼刺激群において，鍼刺激は再灌流後80分の時点で，筋血流量測定は再灌流後90分の時点で行った．120分間虚血負荷-鍼刺激群において，ヒラメ筋，足底筋，腓腹筋，前脛骨筋および長指伸筋の血流量は，それぞれ36.4±9.2，24.1±5.0，11.0±3.2，10.8±4.8，16.0±5.6（ml/min/100g）であった．一方，120分間虚血負荷群の再灌流後90分時点での筋血流量は，それぞれ47.9±5.9，23.4±5.9，10.5±3.1，11.3±5.5，19.3±7.2（ml/min/100g）であり，鍼刺激時に鍼を刺入した筋および鍼を刺入しなかった筋のいずれの骨格筋においても2群間で有意差は見られなかった．

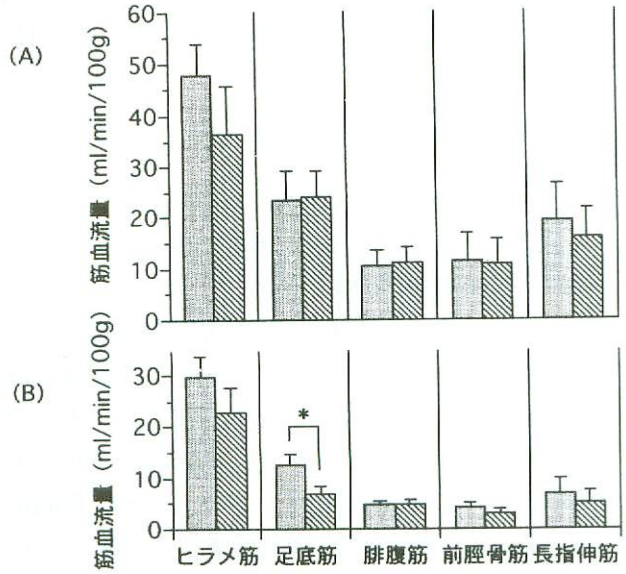

図6　鍼刺激による120分間および150分間虚血負荷ラット下腿筋群の筋血流量の変化

（A）は120分間虚血負荷群を，（B）は150分間虚血負荷群をそれぞれ示す．両虚血負荷群ともに，▩は再灌流後90分群（n=8）を，▧は再灌流後90分-鍼刺激群（n=8）をそれぞれ示す．測定対象とする筋は，右後肢下腿のヒラメ筋，足底筋，腓腹筋，前脛骨筋および長指伸筋とした．鍼刺激開始は再灌流後80分の時点とし，刺激時間は3分間であった．鍼刺激後の筋血流量は再灌流後90分の時点で測定した．データはすべて平均値±標準誤差（ml/min/100g）で表した．また，有意水準（p）は，それぞれ $p<0.05$（＊），$p<0.01$（＊＊）とした．

（3）鍼刺激による150分間虚血負荷ラット下腿筋群の筋血流量の変化

150分間虚血負荷群と150分間虚血負荷-鍼刺激群のラット下腿筋群の筋血流量を図6（B）に示す．150分間虚血負荷群-鍼刺激群において，鍼刺激は再灌流後80分の時点で，筋血流量測定は再灌流後90分の時点で行った．150分間虚血負荷-鍼刺激群において，ヒラメ筋，足底筋，腓腹筋，前脛骨筋および長指伸筋の血流量は，それぞれ22.9±4.6，6.9±1.5，4.8±0.9，2.8±0.9，5.0±2.4（ml/min/100g）であった．一方，150分間虚血負荷群の再灌流後90分時点での筋血流量は，それぞれ29.6±4.2，12.7±1.9，4.7±0.7，4.1±0.9，6.9±3.0（ml/min/100g）であった．150分間虚血負荷-鍼刺激群において鍼を刺入した足底筋の血流量は，150分間虚血負荷群と比較して有意に低い値を示したが（$p<0.05$），足底筋以外の鍼が刺入した筋および鍼を刺入しなかった筋のいずれの骨格筋においても2群間で有意差は見られなかった．

II. in　vivo　^{31}P-NMRスペクトル測定

非虚血負荷群，非虚血負荷-鍼刺激群，120分間虚血負荷群，120分間虚血負荷-鍼刺激群，150分間虚血負荷群および150分間虚血負荷-鍼刺激群におけるラット下腿筋群のPCrおよびATP含有量と細胞内pH値の経時的変化を図7，図8および図9にそれぞれ示す．

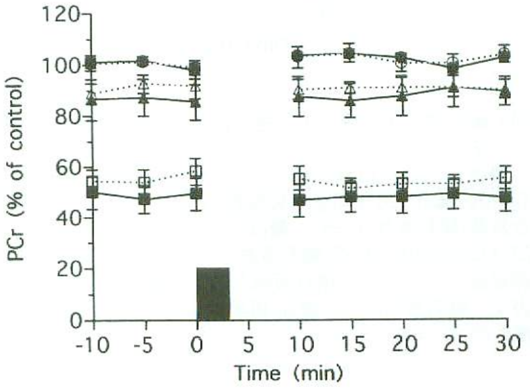

図7　鍼刺激によるラット下腿筋群のPCr含有量の経時的変化

●は非虚血負荷群（n=6），○は非虚血負荷-鍼刺激群（n=6），▲は120分間虚血負荷群（n=6），△は120分間虚血負荷-鍼刺激群（n=6），■は150分間虚血負荷群（n=6），□は150分間虚血負荷-鍼刺激群（n=6）■それぞれ示す．測定部位はラット下腿背面部とした．□は鍼刺激期間を表す．鍼刺激開始は，虚血-再灌流後80分の時点とし，刺激時間は3分間であった．

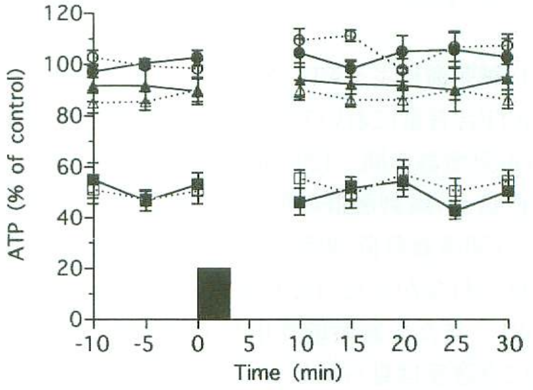

図8　鍼刺激によるラット下腿筋群のATP含有量の経時的変化

●は非虚血負荷群（n=6），○は非虚血負荷-鍼刺激群（n=6），▲は120分間虚血負荷群（n=6），△は120分間虚血負荷-鍼刺激群（n=6），■は150分間虚血負荷群（n=6），□は150分間虚血負荷-鍼刺激群（n=6）をそれぞれ示す．測定部位はラット下腿背面部とした．■は鍼刺激期間を表す．鍼刺激開始は，虚血-再灌流後80分の時点とし，刺激時間は3分間であった．データはすべて平均値±標準誤差（%）で示した．

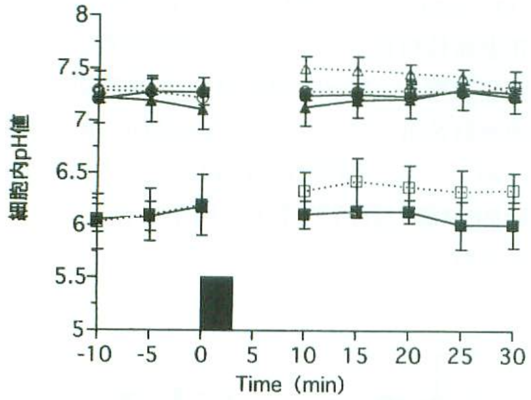

図9　鍼刺激によるラット下腿筋群の細胞内pH値の経時的変化
●は非虚血負荷群（n=6），○は非虚血負荷-鍼刺激群（n=6），▲は120分間虚血負荷群（n=6），△は120分間虚血負荷-鍼刺激群（n=6），■は150分間虚血負荷群（n=6），□は150分間虚血負荷-鍼刺激群（n=6）をそれぞれ示す．測定部位はラット下腿背面部とした．■は鍼刺激期間を表す．鍼刺激開始は，虚血-再灌流後80分の時点とし，刺激時間は3分間であった．

1）鍼刺激によるPCr含有量の変化

PCr含有量において，非虚血負荷群と非虚血負荷-鍼刺激群の間，120分間虚血負荷群と120分間虚血負荷-鍼刺激群の間，150分間虚血負荷群と150分間虚血負荷-鍼刺激群の間にそれぞれ有意差は見られなかった（それぞれp=0.96，p=0.76，p=0.42）．また，経時的変化パターンにおいても同様に有意差は認められなかった（それぞれp=0.87，p=0.34，p=0.39）．

2）鍼刺激によるATP含有量の変化

ATP含有量において，非虚血負荷群と非虚血負荷-鍼刺激群の間，120分間虚血負荷群と120分間虚血負荷-鍼刺激群の間，150分間虚血負荷群と150分間虚血負荷-鍼刺激群の間にそれぞれ有意差は見られなかった（それぞれp=0.75，p=0.56，p=0.69）．また，経時的変化パターンにおいても同様に有意差は見られなかった（それぞれp=0.37，p=0.89，p=0.31）．

3）鍼刺激による細胞内pH値の変化

細胞内pH値において，非虚血負荷群と非虚血負荷-鍼刺激群の間，120分間虚血負荷群と120分間虚血負荷-鍼刺激群の間，150分間虚血負荷群と150分間虚血負荷-鍼刺激群の間にそれぞれ有意差は見られなかった（それぞれp=0.17，p=0.32，p=0.48）．また，経時的変化パターンにおいても同様に有意差は認められなかった（それぞれp=0.41，p=0.36，p=0.23）．

考　察

1．筋血流量測定法の検討

以前われわれは，虚血-再灌流中のラット下腿筋群の筋血流量の動態を検討するために，レーザードップラー血流計を用いて腓腹筋表層部の筋血流量比を測定した[6]．レーザードップラー血流計は，連続して経時的測定が可能であるが，その測定部位はレーザー発光部から半径約1　mmの半球形領域に限局され，また，測定プローブを測定部位に密着させるため，筋血流量測定の場合には，皮膚を切開し筋を露出させる必要があった．本研究の予備実験として，虚血-再灌流中のラット下腿筋群の深部の筋血流量の変化を検討するために，以前と同じプロトコールで，ラット腓腹筋の深部の血流量を電解式水素クリアランス法[14,16]を用いて測定した．電解式水素クリアランス法では，プローブ電極（450μmφ）を刺入することにより任意の深さの血流量を繰り返し測定することが可能である．しかし，一回の測定に15-20分の時間を必要とし，測定部位はプローブ電極先端部の半径約2　mmの半球形部分に限局される．また，測定部位にプローブ電極を刺入することは，鍼の研究を行う上で必ずしも適切ではない．これら2つの血流測定法は，操作が比較的簡便であり，実験動物が生きた状態で適用できるが，対象とする筋深部および筋全体の血流量を測定することはできない．本研究では，上記の検討を加えた上，放射性物質をラベルした微小球体（マイクロスフェアー）を総頚動脈を介して直接血中へ注入し，その後各組織に捕捉されたマイクロスフェアーから放出されるガンマ線量を測定することにより測定対象の任意の領域の血流量を算出できる放射性マイクロスフェアー法[7-12]を用いて，虚血負荷前，中，後のラット下腿を構成する各骨格筋の筋血流量を測定した．放射性マイクロスフェアー法は，測定部位に測定プローブを密着または刺入する必要がないため，鍼の研究に有用な血流測定法であると考える．放射性マイクロスフェアー法では，一回の測定に約2分間の時間が必要であり，血流の速い変化を観測することはできない．経時的測

定を行う場合には，異なる核種を測定時点と同じ数だけ用意する必要がある．Haroldら[8, 9]は，多核種の放射性マイクロスフェアーを用いて，覚醒下で走行中のラット骨格筋の血流量を経時的に測定している．通常，覚醒下では麻酔下に比較して筋血流量は有意に高いことが報告されており，また，それら異なる条件下では，鍼刺激が生体へ及ぼす影響も異なると考えられることから，多核種の放射性マイクロスフェアーを用いた研究は，鍼刺激が循環系に及ぼす影響の作用機序の解明に有用であると考える．

2．非虚血負荷ラット下腿筋群の筋血流量

虚血負荷を加えていない正常ラット骨格筋である非虚血負荷群において，ヒラメ筋の血流量は対象とした下腿筋群の中で有意に高く，一方，長指伸筋では有意に低い値を示した（図3）．遅筋型線維が優勢な骨格筋では毛細血管が豊富に発達しており，その筋血流量は速筋型線維が優勢な筋に比較して高いことが知られている[17, 18]．ラットのヒラメ筋ではslow-twitch oxidative fibers（SO線維）が，長指伸筋ではfast-twitch glycolytic fibers（FG線維）がそれぞれ優勢であり[19, 20]，前者は遅筋型線維に，後者は速筋型線維に対応すると考えられることから，本研究で得られた事実はこれらと一致する．一方，足底筋，腓腹筋および前脛骨筋では，速筋型線維が優勢であると考えられるが，SO線維，FG線維および fast-twitch oxidative glycolytic fibers（FOG線維）が混在しているため，それら骨格筋の血流量はヒラメ筋と長指伸筋との中間的な値を示したと考えられる．

3．虚血負荷中のラット下腿筋群の筋血流量

10分間虚血負荷群の筋血流量はいずれの骨格筋においても，検出できないほど有意に低い値を示した（図3）．したがって本研究で用いた駆血法は，ラット下腿筋群に対して，バイパスやシャントによる血流のない虚血負荷を与えていたことを示唆している．

4．虚血-再灌流後のラット下腿筋群の筋血流量

以前われわれが得たレーザードップラー血流計による虚血-再灌流後の腓腹筋表層部の筋血流量比では，120分間虚血負荷群と150分間虚血負荷群ともに再灌流後10-30分で虚血前値にまで回復し，2群間で有意差は見られなかった[6]．一方，本研究では，対象としたいずれの骨格筋においても，両虚血負荷群の間で有意差が見られた（図4Aおよび B）．異なる血流測定法を用いて得られたこれらの差異は，前述のように，レーザードップラー血流計では筋表層部の限局された領域の血流量を測定しているのに対し，放射性マイクロスフェアー法では各骨格筋の全体の平均的血流量を測定しているために生じたと考えらる．すなわち，再灌流後の筋血流量の変化は浅部と深部とでは異なることが示唆された．本研究では，骨格筋エネルギー代謝状態の指標としての高エネルギーリン酸化合物（PCr，ATP）の含有量および細胞内pH値をラット下腿背面部の筋群全体から得ていることから，再灌流後の骨格筋エネルギー代謝状態と筋血流量との相互関係を明らかにするためには，これらの骨格筋の血流量も放射性マイクロスフェアー法による筋全体から得られた値で評価することが妥当であると考える．

120分間虚血負荷群における再灌流後の各骨格筋の血流量は，いずれの筋においても一過性の有意に顕著な増加ピークを示し，その後減少しても，非虚血負荷群の筋血流量値よりも高い値を示すか，もしくはそれと同等な値を示した（図4A）．筋血流を一時的に停止しその後開放させた筋では，筋血流が停止負荷前よりも増加を示す反応性充血が見られる．この血管拡張のメカニズムとして，代謝物質の蓄積，酸素不足，血管壁にかかる圧の低下による毛細管前筋原性緊張の減少が挙げられる[17, 18]．Idstromら[21]やSoussiら[22]はHPLC法を用いたラット下腿筋群の虚血-再灌流負荷実験で，虚血負荷中，ATPはADPやAMPを介してadenosine，inosine，inosine 5'- monophosphate（IMP）などの前駆物質にまで分解され細胞内に蓄積するが，これら前駆物質は再灌流後に細胞外へ排出されることを報告している．また，冨永[18]は運動性充血および反応性充血の主体はadenosineであり，低酸素がこれを補助するものと述べている．本研究で観察された再灌流後の一過性の有意な筋血流の増加は，この反応性充血によると考えられ，その主たる因子は虚血負荷中に細胞内に蓄積するadenosineであると考えられた．

150分間虚血負荷群では，120分間虚血負荷群と

は異なり，再灌流後いずれの骨格筋においても顕著な筋血流量の増加は観察されず，非虚血負荷群と同等な値を示すか，もしくはそれよりも有意に低い値を示した．Hardyらは，ラット下腿筋群に2-6 時間の異なる虚血負荷を加え，再灌流後の腓腹筋の血流動態を観察し，再灌流後10分時点で虚血前値よりも有意に低い値を得，この再灌流後初期の低灌流状態を“low reflow”と呼び，その期間は虚血負荷時間と共に延長することを示した[23]．また，この“low reflow”は，局所の圧，血栓症や好中球栓塞などによるものではなく，スーパーオキシド ラジカルによる内皮細胞由来血管拡張因子（endothelium-derived relaxing factor，EDRF）の障害と，それ自身による血管収縮因子の作用により生じる機序を強く支持している[24]．本研究においても同様に，150分間虚血負荷群において，再灌流後90分まで腓腹筋と前脛骨筋で有意な低灌流状態が観察され，また，対象としたいずれの骨格筋においても，120分間虚血負荷群の筋血流量よりも有意に低い値を示したことから，上述の筋循環を障害する因子の関与の可能性が示唆された．

5．虚血-再灌流後のラット下腿筋群の筋血流量と骨格筋エネルギー代謝との関係

以前われわれは，本研究と同じプロトコールを用いて，虚血負荷前，中，後のラット下腿背面部筋群の骨格筋エネルギー代謝状態をin vivo ^{31}P-NMR法で観察し，120分間虚血負荷群では，再灌流後60-70分で高エネルギーリン酸化合物（PCr，ATP）の含有量および細胞内pH値は虚血前値にまで回復するのに対し，150分間虚血負荷群では，再灌流後120分までPCrおよびATPの含有量はそれぞれ虚血前値の約60％，細胞内pH値は約6.2までしか回復しなかったことから，再灌流後の骨格筋エネルギー代謝状態は，両虚血負荷群間で有意差のあることを報告した[6]．本研究で得られた事実より，再灌流後の120分間虚血負荷群では，一過性の顕著な増加を伴う筋血流量の回復により，骨格筋細胞に十分な酸素と栄養物質が供給され，虚血負荷中に細胞内に蓄積した乳酸や老廃物は細胞外へ排出されるのに対し，150分間虚血負荷群では，120分間虚血負荷群ほどの十分な筋血流量の回復はなく，骨格筋エネルギー代謝はATP消費量に対して十分な量のATPを産生することができないために，高エネルギーリン酸化合物（PCr，ATP）の含有量は虚血前値に比較して有意に低い値を示し，また，乳酸の細胞外への排出が不十分であるために細胞内pH値は低い値を示したと考えられた．

6．鍼刺激時期

以前のわれわれの報告から，120分間虚血負荷群と150分間虚血負荷群とも再灌流後70分から120分までの期間では，ラット下腿背面部筋群の高エネルギーリン酸化合物（PCr，ATP）の含有量および細胞内pH値は定常状態を示すこと[6]，また，本研究の筋血流量測定から得られた事実より，両虚血負荷群とも再灌流後60分から90分までの期間では，ラット下腿筋群の筋血流量は安定していることが示された（図４AおよびB）．これらの所見から，両虚血負荷群とも鍼刺激時期を再灌流後80分の時点とし，筋血流量は再灌流後90分の時点で，^{31}P-NMRスペクトルは鍼刺激前と後でそれぞれ測定した（図１A）．

7．鍼刺激による筋血流量と骨格筋エネルギー代謝の変化

本研究では非虚血負荷-鍼刺激群において，正常なラット下腿筋群へ鍼刺激を加え，同側の下腿を構成する各骨格筋の血流量を測定したところ，鍼を刺入したヒラメ筋，足底筋および腓腹筋において血流量の増加が観察され，ことに足底筋と腓腹筋では，鍼刺激を加えていない非虚血負荷群と比較して有意に高い値を示した（図５）．一方，鍼が刺入していない前脛骨筋と長指伸筋では有意な変化は観察されなかった（図５）．木下[1]および桑澤ら[25]は強縮負荷を加えたモルモット腓腹筋の筋張力測定実験で，鍼刺激は末梢神経を介した軸索反射により筋血流を改善し，強縮負荷により低下した収縮高の回復に寄与すると考察している．また，鶴[5]は家兎の前脛骨筋に鍼刺激を与え，鍼刺激による筋血流量の増加を電解式水素クリアランス法を用いて定量的に観察し，このメカニズムとして，木下および桑澤らと同様に軸索反射の関与を支持している．一方，プレチスモグラフを用いてヒト下腿血流量を測定した松本ら[4]の研究によれば，鍼刺激は軸索反射だけでなく，

さらに脊髄と高位の中枢を介して両側の自律神経系にも作用すると考察している．本研究では，鍼刺激側下腿筋群のうち鍼が刺入された骨格筋でのみ血流量の増加が観察されたことから，このメカニズムは中枢系を介するよりもむしろ局所的な因子の関与が示唆され，本研究で得られた事実は，上述の木下や桑澤らの考察を支持するものと考える．

非虚血負荷-鍼刺激群において，鍼が刺入されたラット下腿背面部筋群の高エネルギーリン酸化合物（PCr，ATP）の含有量および細胞内pHは，鍼刺激前後で有意な変化は観察されなかった．非虚血状態では，鍼刺激後の筋血流量の上昇が，骨格筋の高エネルギー代謝物質の産生量と消費量で決定されるネットの量に有意な差異を生じさせるものではなかったことを示している．

120分間虚血負荷を与えたラット下腿筋群へさらに鍼刺激を加えた120分間虚血負荷-鍼刺激群では，120分間虚血負荷群に比較して有意な筋血流量の変化は観察されなかった（図6A）．これは，120分間虚血負荷が，非虚血負荷-鍼刺激群で観察された鍼刺激による筋血流量増加のメカニズムを阻害していることを示唆している．前述のように，鍼刺激による筋血流量増加のメカニズムは，末梢神経を介した軸索反射により血管拡張神経が興奮し末梢血管を拡張させるというものであった．再灌流後の120分間虚血負荷群では，血管拡張作用を示すadenosineなどの代謝物質により筋血流量の顕著な増加を示す．これらの代謝物質が再灌流後の骨格筋の末梢血管を拡張させるために，その後，骨格筋に鍼刺激を加えてもそれ以上の血管拡張は生じなかったと考えられる．

150分間虚血負荷を与えたラット下腿筋群へさらに鍼刺激を加えた150分間虚血負荷-鍼刺激群では，150分間虚血負荷群に比較して有意な筋血流量の変化は観察されなかった（図６B）．150分間虚血負荷群では，虚血負荷中に120分間虚血負荷群よりも高い濃度の代謝物質が蓄積し[21, 22]，それら再灌流後の筋血流量はより顕著な増加を示すと考えられたが，いずれの筋においても120分間虚血負荷群に比較して有意に低い値を示した（図４B）．これは低灌流状態を生じさせる血管収縮因子が，これら代謝物質の血管拡張作用を阻害していることを示唆している．これと同様に，150分間虚血負荷-鍼刺激群において，鍼刺激による血管拡張はこの血管収縮因子により阻害されたと考えられた．120分間虚血負荷または150分間虚血負荷後の骨格筋への鍼刺激は，いずれにおいても筋血流量増加を生じさせなかったが，そのメカニズムは両虚血負荷の間で異なることが示唆された．

本研究では，120分間虚血負荷-鍼刺激群および150分間虚血負荷-鍼刺激群において，鍼刺激による高エネルギーリン酸化合物（PCr，ATP）の含有量および細胞内pH値の経時的変化に有意差は観察されなかった（図７，８，９）．これは，再灌流後のラット下腿筋群において，鍼刺激が骨格筋エネルギー代謝と密接な関係をもつ筋血流量に有意な変化を与えないという事実と一致した．鍼刺激は，虚血-再灌流負荷後の骨格筋の血流量およびエネルギー代謝に有意な変化を与えないことが示唆された．

まとめ

本研究では，虚血-再灌流負荷ラット骨格筋の血流量とエネルギー代謝の相互関係を検討するために，120分間または150分間虚血負荷をラット下腿筋群に与え，虚血負荷前，中，後の下腿を構成する各骨格筋の血流量を放射性マイクロスフェアー法にて測定し，これと同じプロトコールで，下腿背面部筋群の高エネルギーリン酸化合物（PCr，ATP）の含有量および細胞内pH値をin vivo ^{31}P-NMR法にて観察した．さらに，鍼刺激が筋血流量および骨格筋エネルギー代謝に及ぼす影響を検討するために，非虚血負荷時または虚血負荷後のラット下腿筋群に鍼刺激を加え，上記と同じプロトコールで，鍼刺激後の筋血流量と鍼刺激前後での骨格筋エネルギー代謝をそれぞれ観察した．そして，虚血-再灌流負荷ラット骨格筋の血流量とエネルギー代謝の相互関係に及ぼす鍼刺激の影響について検討した．

120分間虚血負荷群では，再灌流後に一過性の顕著な筋血流量の増加ピークが観察され，その後減少するも非虚血負荷群よりも有意に高いかまたは同等な値を示した．一方，150分間虚血負荷群では，有意な筋血流量の増加は観察されず，非虚血負荷群と同等かまたは有意に低い値を示した．両虚血負荷群間における再灌流後の骨格筋エネルギー代謝の回復過程の差異には，筋血流量の回復

が関与すると考えられた.

非虚血負荷-鍼刺激群において，鍼を刺入した骨格筋でのみ有意な血流量の増加が観察されたが，この鍼刺激による筋血流量増加のメカニズムには，中枢系を介するものよりもむしろ末梢神経の軸索反射が関与すると考えられた.

120分間虚血負荷または150分間虚血負荷を与えたラット下腿筋群に鍼刺激を加えた場合，いずれにおいても非鍼刺激時と比べて筋血流量の有意な変化は観察されなかった. これらの虚血負荷は，鍼刺激による筋血流量の増加を阻害したが，これにはそれぞれ異なる因子が関与すると考えられた.

120分間および150分間虚血負荷-鍼刺激群ともに，筋血流量と密接な関係をもつ骨格筋エネルギー代謝の鍼刺激による有意な変化は見られなかった. 鍼刺激は，虚血-再灌流負荷後の骨格筋の血流量およびエネルギー代謝に有意な変化を与えないことが示唆された.

謝 辞

本研究において，終始御指導をして下さいました明治鍼灸大学第一生理学教室の西川弘恭教授と中山登稔助教授に甚大なる謝意を表します. また，放射線取扱いに関して御指導を頂きました同大学付属放射線取扱室主任者兼室長の林忠昭先生，およびNMRについて御助言を頂きました同大学脳神経外科教室の田中忠蔵教授と梅田雅宏講師に深謝いたします. 血流測定法に関して御助言を頂きました京都府立医科大学整形外科学教室の日下義章講師に感謝いたします.

参考文献

1) 木下晴都：局所疼痛に対する針作用の実験的研究Ⅱ：強縮後の短縮高回復過程に及ぼす置針の作用. 昭医誌，第41巻第4号： 393-403，1981.

2) 木下晴都：局所疼痛に対する針作用の実験的研究I：皮膚温，筋肉温，脈波から検した局所疼痛に対する針灸の作用機序. 昭医誌，第41巻第2号：147-156，1981.

3) 篠原昭二，松本勅，西牧紀子ら：雀啄，鍼通電およびSSP刺激の肩甲上部皮膚・筋血流に及ぼす影響―（1）皮膚温，深部組織温を指標として―. 全日本鍼灸学会雑誌， 32巻2号： 17-23， 1982.

4) 松本勅，篠原昭二，池内隆治ら：鍼刺激によるヒト下腿筋血流の改善. 明治鍼灸医学， 第6号：83-87，1990.

5) 鶴浩幸，松本勅：家兎前脛骨筋の血流量に及ぼす鍼刺激の影響：投稿中. 全日本鍼灸学会雑誌，49巻1号：1997. 掲載予定

6) 新原寿志，梅田雅宏，西川弘恭：In vivo ^{31}P-NMR法を用いた虚血-再灌流負荷ラット骨格筋エネルギー動態の解析. 明治鍼灸医学，第18号： 33-46，1996.

7) 印南比呂志，山口佳晴，小杉功ら：臓器血流の検討におけるMicrosphereの利用. 医学のあゆみ，第86巻第5号：250-256，1973.

8) M. HAROLD LAUGHLIN and R. B. ARMSTRONG, J. WHITE, et al：A method for using microspheres to measure muscle blood flow in exercising rats. J. Appl. Physiol. Respirat Environ. Exercise Physiol, 52(6)：1629-1635，1982.

9) M. HAROLD LAUGHLIN and R. B. ARMSTRONG：Muscular blood flow distribution patterns as a function of running speed in rats. Am. J. Physiol., 243（Heart Circ. Physiol. 12）：H296-H306，1982.

10) 松井英司：家兎脛骨の骨幹端骨傷後の骨内血行動態と骨成長速度の経時的変化. 京府医大誌，97（12）：1591-1601， 1988.

11) GUIDO VAN DEN THILLART and AREN VAN WAARDE：Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of Living Systems：Applications in Comparative Physiology. Physiol. Rev., 76（3）：799-837， 1996

12) B. Soussi, J. -P. Idstrom, A. -C. Bylund-Felleninus, et al：Dynamics of Skeletal Muscle Energetics During Ischemia and Reperfusion Assessed by In Vivo 31P NMR. NMR Biomed., 3：71-77，1990.

13) 古川俊之監修，丹後俊郎著：統計ライブラリー新版医学への統計学，初版第2刷， 朝倉書店，東京，223-226，1994.

14) K. Stosseck, D. W. Lubbers, and N. Cottin：Determination of Local Blood Flow（Microflow）by Electrochemically Generated Hydrogen Construction and Application of the Measuring Probe. Pflugers Arch., 348：225-238，1974.

15) Keiji Koshu, Kazuyo Kamiyama, Nobuo Oka, et al：Measurement of Regional Blood Flow Using Hydrogen Gas Generated Electrolysis. Stroke, Vol 13 No 4：483-487，1982.

16) 石橋豊，中沢芳夫，松野好男ら：電解式水素クリアランス法による局所血流量測定 ―拡散因子についての実験的検討―. 呼と循，34巻3号：269-272，1986.

17) B. Folkow and E. Neil著，入内島十郎訳：循環. 初版第4刷，真興交易医書出版部，353-367，1977.

18) 冨永詩郎：骨格筋の血流調節. 呼と循，28巻4号：365-370，1980.

19) R. B. ARMSTRONG AND R. O. PHELPS：Muscle Fiber Type Composition of the Rat Hindlimb. THE AMERICAN JOURNAL OF

ANATOMY, 171：259-272, 1984.
20) 山内秀樹, 春日規克：異種動物の速筋と遅筋における筋線維組成と収縮特性. 日本生理誌, 53：197-206, 1991.
21) J. -P. Idstrom, B. Soussi, A. Elander, et al：Purine metabolism after in vivo ischemia and reperfusion in rat skeletal muscle. Am. J. Physiol., 258：H1668-H1673, 1990.
22) B. Soussi, K. Lagerwall, J. -P. Idstrom, et al：Purine metabolic pathway in rat hindlimb perfusion model during ischemia and reperfusion：Am. J. Physiol., 265 (Heart Circ. Physiol. 34)：H1074-H1081, 1993.
23) S. C. Hardy, S. Homer-Vanniasinkam, M. J. Gough：The triphasic pattern of skeletal muscle blood flow in reperfusion injury. An experimental model with implications for surgery on the acutely ischemic lower limb. Eur J Vasc Surg, 4：587-590, 1990.
24) S. C. Hardy, S. Homer-Vanniasinkam, M. J. Gough：Effect of free radical scavenging on skeletal muscle blood flow during postischaemic reperfusion. Br. J. Surg, 79：1289-1292, 1992.
25) 桑澤二郎, 佐藤三千雄, 武重千冬：局所疼痛に対する針作用の実験的研究IV：強縮によって減少した収縮高の回復に対する血管拡張剤, 神経ペプチドの作用. 昭医誌, 第47巻第1号： 81-88, 1987.

Changes in Blood Flow and Energy Metabolism in Rat Skeletal Muscle after Ischemia and Reperfusion, And the Effects of Acupuncture Stimulation on these Changes

SHINBARA Hisashi

Department of Physiology, Basic Medicine of Acupuncture and Moxibusion, Graduate School of Acupuncture and Moxibusion, Meiji University of Oriental Medicine

Summary : This study investigated interactions between blood flow and energy metabolism in rat skeletal muscles during reperfusion after ischemia and to study the effects of acupuncture stimulation on them. The muscle blood flow in the rat hindlimb muscles with or without acupuncture stimulation was measured before and after 120-min or 150-min ischemia using radiolabeled microsphere technique, respectively. High-energy phosphate compounds (phosphocreatine and ATP) and intracellular pH in the muscles were also measured by the same protocol as for that muscle blood flow measurement using in vivo ^{31}P-NMR.

There were significant differences in muscle blood flow and muscle energy metabolism between the two ischemic groups during reperfusion. Overshooting in muscle blood flow during reperfusion after 120-min ischemia was observed in contrast to minimal blood flow change after 150-min ischemia. There was an increase of blood flow in non-ischemic muscles stimulated directly with an acupuncture needle. However, there were no changes in muscle blood flow or muscle energy metabolism induced by acupuncture stimulation in either ischemic group.

These results suggested that (a) the recovery of muscle blood flow may be related to the muscle energy metabolic state after reperfusion, (b) the increase in muscle blood flow after acupuncture stimulation may be induced by axonal reflex of peripheral nerves rather than the central nervous system, and (c) acupuncture stimulation may not affect on muscle blood flow and energy metabolism during reperfusion.

Received on November 30, 1998 ; Accepted on December 28, 1998

† To Whom correspondence should be addressed.