

## 手術侵襲による免疫抑制に対する 鍼通電刺激の影響について

†田口 辰樹<sup>1)</sup>，篠原 昭二<sup>2)</sup>，咲田 雅一<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> 明治鍼灸大学大学院 鍼灸臨床医学 <sup>2)</sup> 明治鍼灸大学 東洋医学基礎教室

<sup>3)</sup> 明治鍼灸大学 外科学教室

### 要旨：

〔目的〕 本実験は手術侵襲による免疫抑制に対する鍼通電 (electroacupuncture : EA) 刺激の影響について検討した。

〔材料と方法〕 実験にはSD系雄性ラットを用いた (n=72)。ラットは手術単独群、手術後鍼通電群、無処置対照群の3群に分けた。手術侵襲刺激はネブタール麻酔下にて、腹部を5cm正中切開し、さらに背部の正中を6cm切開後縫合することにより行った。EA刺激は外科処置を行った直後からアッセイ日前日まで、右側前脛骨筋に無拘束で、連日60分間行った。免疫系の指標としてリンパ球芽球化反応 (PHA, Con A, LPS) とNK細胞活性を、術後1, 3, 5, 9日目に測定した。

〔結果と考察〕 PHA, Con A, LPSに対するリンパ球芽球化反応は手術侵襲により術後1日目に有意に抑制されたが、EA刺激により手術単独群より早期に回復した。NK細胞活性も早期に回復する傾向が認められたが有意差はなかった。これらのことから、EA刺激は手術侵襲による免疫系の抑制を改善することが示唆された。

### I. はじめに

これまで、ヒトや動物を対象とした研究により鍼灸、鍼通電刺激が免疫系に及ぼす影響について検討されてきた<sup>1)</sup>。その結果、鍼通電刺激によりインターロイキン2、インターフェロン $\gamma$ <sup>2)</sup>、インターロイキン6<sup>3, 4)</sup>などのサイトカインの産生を誘導することや、脾リンパ球のNK細胞活性<sup>2)</sup>や末梢血リンパ球の芽球化反応<sup>5)</sup>を増強することが知られている。また鍼通電刺激は、サイトカイン産生のみならず神経ペプチドである内因性モルヒネ様物質を遊離させることも報告されている<sup>6, 7)</sup>。そして、これらの内因性モルヒネ様物質が免疫系に影響を及ぼすことも報告されており<sup>8-10)</sup>、鍼灸刺激が免疫系に及ぼす影響のメカニズムの1つとして内因性モルヒネ様物質の関与も示唆される<sup>11)</sup>。

ところで、これまで鍼灸刺激が免疫系に及ぼす影響に関する検討は、正常な免疫系を対象とした

ものがほとんどである。外科領域における鍼灸の臨床応用を考えると病態モデルを用いて病的状態下における免疫系への影響を検討することが重要であると考えられる。そこで今回、外科的手術侵襲により免疫能低下を起こした病態モデルを作成した。本実験では、まずこれら手術侵襲ラットの免疫能の低下をリンパ球芽球化反応、NK細胞活性を指標に評価し、次いでこれらのラットに鍼通電刺激を行い、低下した免疫能に鍼通電刺激が如何なる影響を及ぼすかを検討した。

### II. 方法

#### 1. 実験動物

9週齢のSprague-Dawley系雄性ラット (体重約300~350g, 日本SLC K.K n=72) を用い、クリーンラック内で室温 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 $50 \pm 5\%$ 、明暗周期は12時間の条件下で飼育した。

#### 2. 手術侵襲ラットの作成

平成12年7月26日受付, 平成12年9月22日受理

Key Words : 手術侵襲 Surgical Stress, 鍼通電 Electroacupuncture, NK細胞活性 Natural Killer Activity, リンパ球芽球化反応 Lymphocyte Proliferative Response

†連絡先: 〒629-0392 京都府船井郡日吉町 明治鍼灸大学大学院 鍼灸臨床医学



ラットに手術侵襲ストレスを加えるため以下のとき手術を加えた。ラットをベントバルビタール麻酔下で背臥位に固定し、5 cmの正中切開を加え開腹し、その後すぐに縫合して閉腹した。さらにラットを腹臥位で再固定し背部の正中皮膚を6 cm切開し、その後すぐに縫合して閉創した。手術時間はいずれも約40分程度で出血量は微量であった。

### 3. 鍼通電刺激法

鍼通電刺激は手術直後から開始し、アッセイ日の前日まで1日1回、連日で行った。また、通電はラットへのストレスを少なくするためにエーテル（和光純薬）麻酔下で右側後肢前脛骨筋部にステンレス鍼灸鍼（30 mm, 20号）を約7 mm刺入しサージカルテープで固定し麻酔覚醒後、1時間行った。通電には日本メディックス製 Trimix 101Hを用いた。刺激条件は頻度2 Hz, 電流量2 mA, 持続時間0.1 msで行った。通電中はラットのストレスを軽減するために無拘束で、飼育ゲージ内を通常の飼育状態で自由に動けるようにした。

### 4. 実験群

実験群は手術のみを行った手術単独群（n=32）、手術後に鍼通電を行った手術後鍼通電群（n=32）に区別した。両群ともに術後1, 3, 5, 9日目の各時点において8匹のラットをエーテル死させ脾臓を無菌的に摘出し以下の実験に供した。なお、対照として手術侵襲を加えていない無処置正常ラットを無処置対照群（n=8）として加え、手術単独群、手術後鍼通電群と比較した。

### 5. 脾細胞浮遊液の作成

無菌的に採取した脾臓を、RPMI 1640 (Gibco) 培養液の入ったディッシュ (Nunc) 内でマイクロスライドガラス (Iwaki) のフロスト部分を用いてほぐした後、ワイヤーメッシュを用いて濾過した。濾過した細胞浮遊液を遠心 (1000 rpm, 5 min) し上清を取り除いた後、Tris-NH<sub>4</sub>Cl 緩衝液 (pH 7.65) を加えて赤血球を溶血除去した。培養液に再浮遊して遠心することにより3回洗浄した後、1 × 10<sup>7</sup> 個/ml に調節し以下のアッセイに用いた。

### 6. 脾リンパ球芽球化反応の測定

無菌的に採取した脾臓から調整した脾細胞浮遊液を、10 % FCS 加 RPMI 1640 培養液で 1 × 10<sup>6</sup> 個/ml に調節した。これを 96 穴平底マイクロプレート (Nunc) に 1 × 10<sup>5</sup> 個/100 μl/well 加え、そこに予め至適濃度を確認しておいた phytohemagglutinin (PHA-P, Difco), concanavalin A (Con A, Difco), lipopolysaccharide (LPS, Difco) をそれぞれ最終濃度 10 μg/ml, 2.5 μg/ml, 5 μg/ml で添加した。37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> 条件下で 72 時間培養し、培養終了 24 時間前に [methyl-<sup>3</sup>H] thymidine (Amersham) 18.5 kBq/10 μl/well で添加した。培養終了後、セルハーベスター (Skatron) を用い、細胞をガラスファイバーフィルター (Skatron) に回収した。ガラスファイバーフィルターを完全に乾燥させた後、シンチレーターカクテル (シンチゾール EX-H, 同仁化学) を加え、脾リンパ球への <sup>3</sup>H-thymidine の取り込みを β カウンター (Aloka LSC-3500) を用いて測定した。

### 7. NK 細胞活性の測定

<sup>51</sup>Cr 遊離法を用いて NK 細胞活性を測定した。採取した脾細胞を effector 細胞とし、target 細胞には Balb/c 由来 RL male 1 細胞を用いた。1 × 10<sup>7</sup> 個の RL male 1 細胞に対して、クロム酸ナトリウム (Na<sub>2</sub><sup>51</sup>CrO<sub>4</sub>, Amersham, 37 MBq/ml) を 100 μl 加え、37 °C で 60 分間恒温槽にて振盪しながら標識した。標識終了後、RPMI 1640 培養液で 3 回洗浄、1 × 10<sup>5</sup> 個/ml となるように 10 % FCS 加 RPMI 1640 培養液に再浮遊した。96 穴平底マイクロプレート (Nunc) に effector 細胞 : target 細胞の比が 50 : 1 になるように、1 well あたり 5 × 10<sup>5</sup> 個/100 μl の effector 細胞と 1 × 10<sup>4</sup> 個/100 μl の target 細胞を混合した。effector 細胞の代わりに、maximum release には 2 % ドデシル硫酸ナトリウム (和光純薬) 100 μl を、spontaneous release には 10 % FCS 加 RPMI 1640 培養液を 100 μl 加えた。マイクロプレートを遠心 (1500 rpm, 30 sec) した後、37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> 条件下で 4 時間培養した。培養終了後にマイクロプレートを遠心 (1000 rpm, 5 min) し、各 well ごとに上清をマイクロピペットで 100 μl ずつ γ チューブ (Falcon) にとり、target 細



胞より遊離した  $^{51}\text{Cr}$  を  $\gamma$  カウンター (Aloka ARC-605) で測定した. NK 細胞活性 (%) は以下の式により求めた.

$$\% \text{ lysis} = \frac{(\text{experimental release} - \text{spontaneous release})}{(\text{maximum release} - \text{spontaneous release})} \times 100$$

8. 統計処理

数値は全て平均値  $\pm$  標準偏差 (Mean  $\pm$  SD) で示した. 統計解析は Stat View 5.0 (SAS Institute Inc.) を使用し, 一元配置分散分析を行い Post-hoc 検定とし Tukey-Kramer 検定を行った. 有意水準は  $p < 0.05$  とした.

III. 結 果

1. 手術侵襲および鍼通電刺激のリンパ球芽球化反応に及ぼす影響

1) PHA 芽球化反応への影響 (図1)

無処置対照群における PHA 芽球化反応は  $75503 \pm 12442$  cpm (コントロール値) であった. それに対し, 手術単独群の術後1日目には  $12689 \pm 10790$  cpm と無処置対照群に比し有意な ( $p < 0.01$ ) 低下を示した. また術後3日目には  $46671$

$\pm 11438$  cpm と1日目に比べやや回復する傾向が見られたが, 無処置対照群に比し有意ではないが低下していた. その後徐々に回復し, 術後9日目には  $75341 \pm 28772$  cpm となりコントロール値にまで回復した. 一方, 手術後鍼通電群では術後1日目には  $20061 \pm 11149$  cpm と, 無処置対照群に比し有意に ( $p < 0.01$ ) 低下したが, 術後3日目には  $84560 \pm 24528$  cpm とコントロール値にまで回復した. また, 術後3日目の手術単独群と手術後鍼通電群を比較すると, 手術単独群では  $46671 \pm 11438$  cpm であるのに対して手術後鍼通電群では  $84560 \pm 24528$  cpm と, 手術後鍼通電群の方が有意に ( $p < 0.05$ ) 高かった. 手術単独群では9日を要する PHA 芽球化反応の抑制からの回復が, 鍼通電刺激により6日間早く回復していることが示された.

なお, mitogen を添加していない negative control の値は無処置対照群で  $4797 \pm 2833$  cpm, 術後1日目の手術単独群で  $3080 \pm 765$  cpm, 手術後鍼通電群で  $2647 \pm 525$  cpm, 術後3日目の手術単独群で  $4087 \pm 794$  cpm, 手術後鍼通電群で  $4710 \pm 3514$  cpm, 術後5日目の手術単独群で  $3931 \pm$

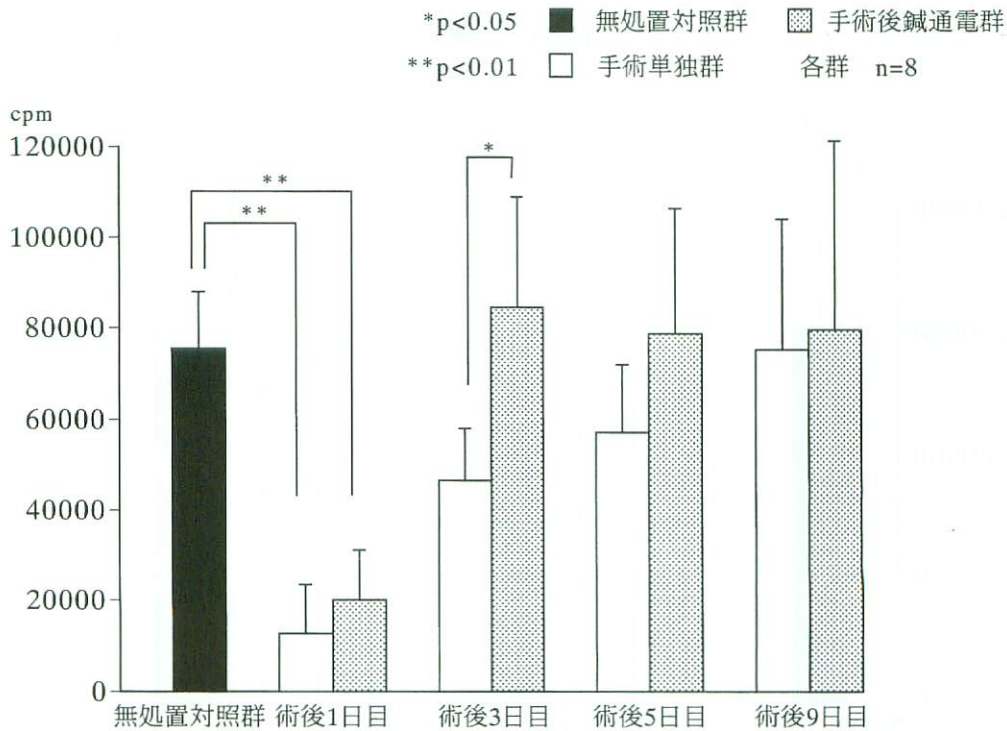


図1 術後1, 3, 5, 9日目の無処置対照群, 手術単独群, 手術後鍼通電群における脾細胞の PHA 芽球化反応を示す (各群  $n = 8$ ). データは全て平均値  $\pm$  標準偏差で示した. 有意水準は  $*p < 0.05$ ,  $**p < 0.01$  とした.

1161 cpm, 手術後鍼通電群で  $4645 \pm 1462$  cpm, 術後9日目の手術単独群で  $4859 \pm 1991$  cpm, 手術後鍼通電群で  $6401 \pm 2133$  cpm をそれぞれ示した。

## 2) Con A 芽球化反応への影響 (図2)

無処置対照群における Con A 芽球化反応は  $151647 \pm 54309$  cpm (コントロール値) であった。それに対し手術単独群の術後1日目では  $56857 \pm 42194$  cpm となり有意な ( $p < 0.05$ ) 低下を示したが, 術後3日目には  $150325 \pm 30101$  cpm とコントロール値にまで回復する傾向が見られた。一方, 手術後鍼通電群では術後1日目に  $134395 \pm 33081$  cpm と手術単独群のように有意な低下は認められなかった。また術後3日目には手術群, 手術群後鍼通電群ともにコントロール値にまで回復した。

## 3) LPS 芽球化反応への影響 (図3)

無処置対照群における LPS 芽球化反応は  $55830 \pm 11651$  cpm (コントロール値) であった。それに対して手術単独群の術後1日目では  $16322 \pm 7092$  cpm と最も有意に ( $p < 0.01$ ) 低下した。その後, 徐々に回復し術後3日目で  $40599 \pm 4162$

cpm を示すが, 無処置対照群に比し有意に ( $p < 0.05$ ) 低下していた。さらに, 術後5日目には  $55966 \pm 12602$  cpm となり, 5日目以降にコントロール値にまで回復した。一方, 手術後鍼通電群では無処置対照群に比し術後1日目に  $34066 \pm 6388$  cpm と有意に ( $p < 0.01$ ) 低下していたが, 術後3日目には  $62968 \pm 10284$  cpm とコントロール値にまで回復し, 手術単独群よりも早期に回復した。また, 術後1, 3日目の手術単独群と手術群後鍼通電群を比較すると術後1日目では手術群が  $16322 \pm 7092$  cpm であるのに対し手術群後鍼通電群は  $34066 \pm 6388$  cpm, 3日目では手術単独群が  $40599 \pm 4162$  cpm であるのに対し手術群後鍼通電群は  $62968 \pm 10284$  cpm と, いずれも手術後鍼通電群の方が有意に ( $p < 0.01$ ) 高く, 手術後の鍼通電刺激により, LPS による芽球化反応は1日目でも有意に回復していることが示された。

## 2. 手術侵襲および鍼通電刺激の

### NK 細胞活性に及ぼす影響 (図4)

無処置対照ラット (コントロール群) における NK 細胞活性 (%) は  $24.0 \pm 4.4$  % であった。手

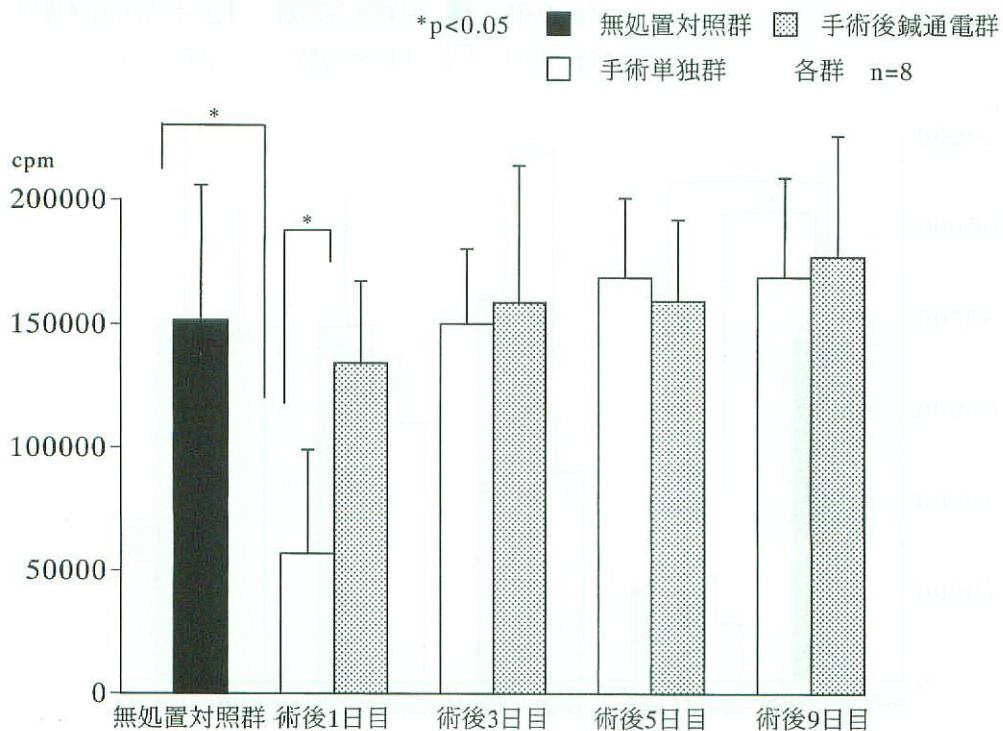


図2 術後1, 3, 5, 9日目の無処置対照群, 手術単独群, 手術後鍼通電群における脾細胞の Con A 芽球化反応を示す (各群 n=8)。データは全て平均値 ± 標準偏差で示した。有意水準は \* $p < 0.05$  とした。



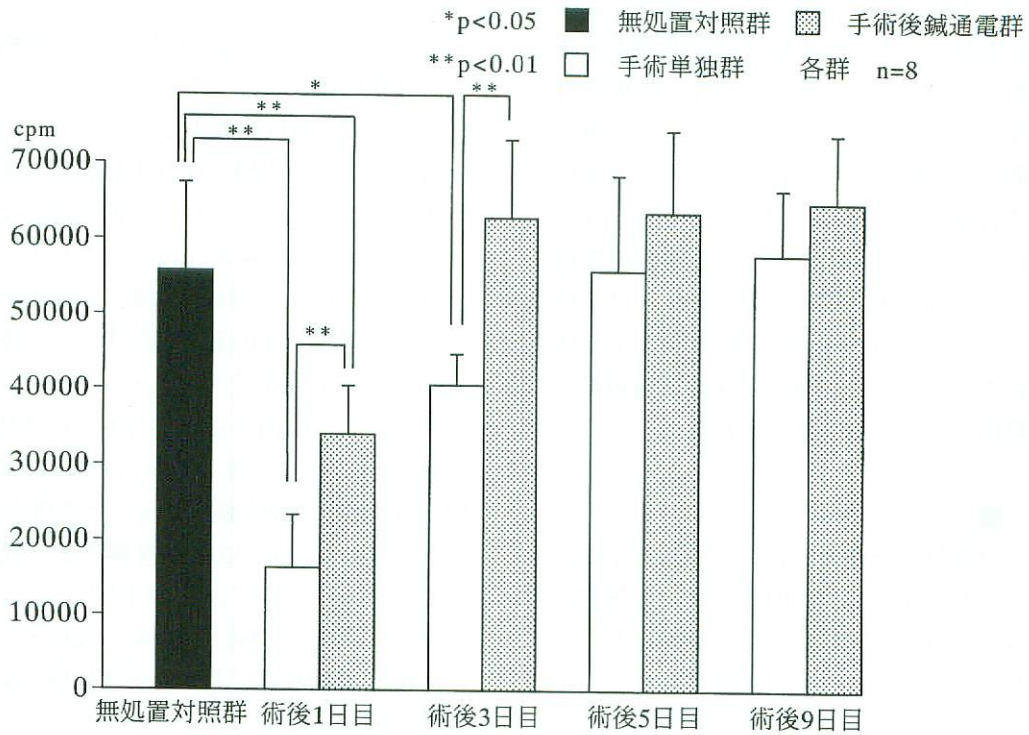


図3 術後1, 3, 5, 9日目の無処置対照群, 手術単独群, 手術後鍼通電群における脾細胞のLPS芽球化反応を示す(各群n=8). データは全て平均値±標準偏差で示した. 有意水準は \*p<0.05, \*\* p<0.01 とした.

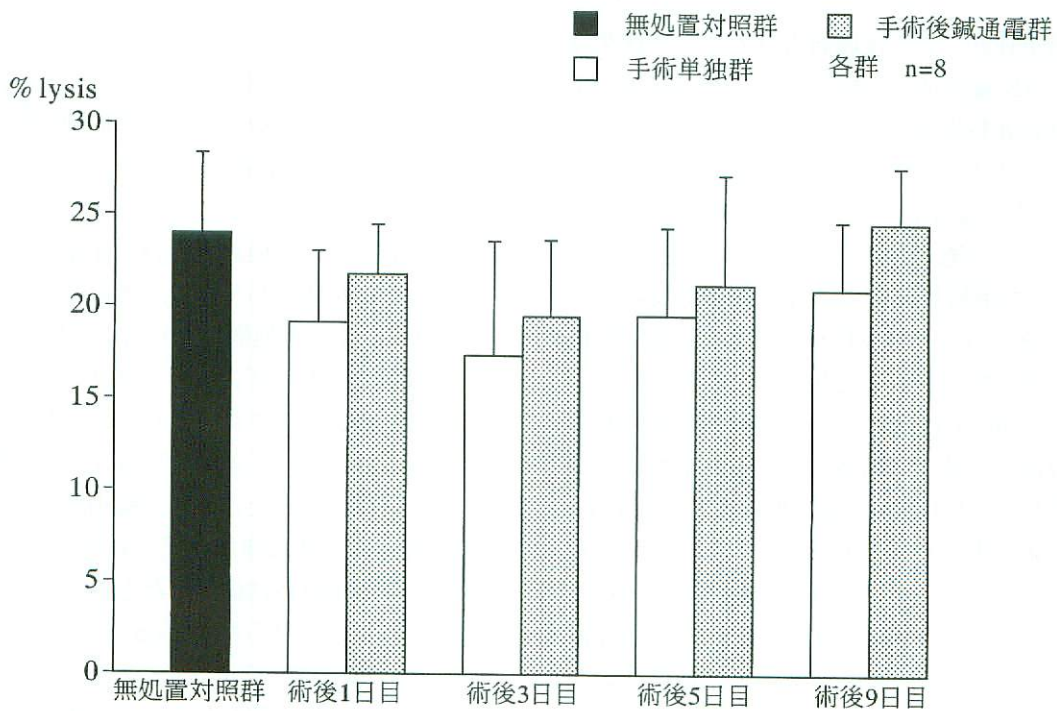


図4 術後1, 3, 5, 9日目の無処置対照群, 手術単独群, 手術後鍼通電群における脾細胞のNK細胞活性を示す(各群n=8). データは全て平均値±標準偏差で示した.



術侵襲を加えると手術単独群では術後1日目に $19.1 \pm 3.9\%$ 、術後3日目では $17.4 \pm 6.2\%$ となり最も低下したがコントロール値に比し有意差は認められなかった。その後、徐々に回復し術後9日目で $21.0 \pm 3.7\%$ となったが、コントロール値に比しやや低下する傾向が見られた。一方、手術後鍼通電群では術後1日目では $21.8 \pm 2.7\%$ 、3日目では $19.5 \pm 4.2\%$ と各時点において手術単独群に比べわずかに高い値を示し、術後9日目では $24.6 \pm 3.1\%$ とコントロール値にまで回復する傾向が見られたが、全経過を通じ手術後鍼通電群と手術単独群間には有意差は認められなかった。

#### IV. 考 察

本研究では外科的侵襲ストレスを加えた手術侵襲モデルラットを作成し、病的状態下での鍼通電刺激の免疫系に及ぼす影響について検討した。まず、従来から言われている手術侵襲によって免疫抑制が起こる否かを脾リンパ球の mitogen に対する芽球化反応、NK細胞活性を指標として評価した。その上で、免疫抑制に対する鍼通電刺激の影響について検討を行った。本実験ではラットに開腹術および背部正中切開術を併用して手術侵襲モデルとし、術後1日、3日、5日、9日の時点での手術単独群、手術後鍼通電群のリンパ球芽球化反応、NK細胞活性を検討した。その結果、Tリンパ球の非特異的刺激物質である PHA、Con A、およびBリンパ球の非特異的刺激物質である LPS に対する芽球化反応は術後1日目に有意に抑制され、その後、徐々に回復する傾向を示した。Togeら<sup>12)</sup>も手術侵襲後の PHA 芽球化反応について検討を行い、今回の我々の結果と同様、術後1日目に最も抑制されると報告している。

PHA、Con A は共にTリンパ球の刺激物質であるが今回の実験では両者に対する反応性に違いが見られた。すなわち、手術単独群における PHA 芽球化反応は術後9日目まで低下していたが Con A 芽球化反応は術後3日目には回復していた。Diamondら<sup>13)</sup>は脾臓に存在するTリンパ球は PHA よりも Con A により反応し、逆にリンパ節に存在するTリンパ球は PHA によく反応すると述べている。つまり、同じTリンパ球でも subpopulation がありそれぞれの細胞集団により反応性が異なるものと考えられ、今回の実験におけ

る反応性の違いも subpopulation の違いによるものと考えられる。

手術侵襲による免疫抑制は、NK細胞活性、リンパ球芽球化反応、インターロイキン2産生能、そしてLAK活性の低下として知られている<sup>14-16)</sup>。小川ら<sup>17)</sup>は手術侵襲により担癌患者の細胞性免疫が低下すること、その免疫学的病態は末梢血リンパ球における helper-inducer T cell, cytotoxic T cell, NK cell の比率の低下, suppressor T cell の比率の上昇が主体をなすこと、細胞性免疫能低下の発生機序には、カテコールアミン、コルチゾールなどの内分泌系ホルモンの増加、IL-6, immunosuppressive acidic protein などの急性相反応物質の増加が関与することを報告している。また、Chengら<sup>18)</sup>は手術侵襲による免疫抑制のメカニズムについて以下の3点について述べている。まず第1点は脳、内分泌、免疫ネットワークの障害によるものである。手術侵襲により交感神経系が興奮しカテコールアミンやストレスホルモンの分泌が増加し、その結果リンパ球の抗体や mitogen に対する増殖反応の抑制、IL-2 産生誘導の減少が起こる。第2点はサプレッサーマクロファージの増加である。その結果、プロスタグランジン E2 の合成と放出が増加し、それが suppressor T cell 表面のレセプターに作用して suppressor T cell 活性が増強され、その結果 IL-2 産生誘導の減少と免疫系機能の抑制が起こる。第3点は血漿免疫抑制因子の関与である。また、Quiら<sup>19)</sup>も同様に手術侵襲後の Con A, LPS 芽球化反応について検討を行い、芽球化反応が抑制されることを報告している。さらにこの抑制がインドメタシンの前処置により阻止されたことから、この抑制のメカニズムとしてマクロファージから産生されるプロスタグランジンの関与について述べている。さらに、木崎ら<sup>20)</sup>はマウスに寒冷ストレスの負荷を行ったところ、脾細胞中のTリンパ球の割合に有意な増加が見られたが、Con A に対する芽球化反応は低下したと述べており、急性寒冷ストレスに見られる Con A 反応の低下は、Tリンパ球ではなく単球/マクロファージ系列の細胞に起因すると報告している。また、この抑制性マクロファージの誘導にグルココルチコイドが関与していることも述べている。このことと手術侵襲により末梢血中にグルココルチコイドが産生



されること<sup>14, 17, 30)</sup>を考えあわせると、今回行った手術侵襲による PHA, Con A, LPS に対する芽球化反応の抑制には抑制性マクロファージの関与が考えられる。

一方、手術侵襲によるリンパ球芽球化反応の抑制に対する鍼通電刺激の影響を検討したところ、手術後通電群では PHA, Con A, LPS いずれにおいても手術侵襲による芽球化反応の抑制からの早期の回復が認められた。このことは、鍼通電刺激が正常免疫系のみならず、手術侵襲ストレスにより抑制された病的状態下にある免疫系に対しても影響を及ぼすこと示している。

これまでに鍼灸刺激が免疫系に及ぼす影響について数多く報告されてきた。鍼灸刺激の末梢血リンパ球動態へ及ぼす影響についての検討によると、特に T 細胞サブセットや NK 細胞の変動が著明である<sup>21, 22)</sup>。また鍼灸刺激により NK 細胞活性の増強や、リンパ球の非特異的的刺激物質である mitogen に対する反応性が増強することが黒野ら<sup>21)</sup>、渡辺ら<sup>23)</sup>により報告されている。さらに、サイトカイン産生に関して、塚本ら<sup>4)</sup>はマウスに鍼刺激、鍼通電刺激、通電刺激を行うと末梢血中に IL-6 の産生が誘導されることを報告している。Yu ら<sup>2)</sup>は前脛骨筋部への鍼通電刺激が脾臓における IFN- $\gamma$ 、IL-2 の産生誘導など高めることを報告している。また、Bianchi ら<sup>24)</sup>によると鍼灸治療により、腰痛治療を受けている患者の末梢血単核細胞中の  $\beta$  エンドルフィンの濃度が鍼灸治療により増加し、Tリンパ球の PHA に対する反応性も増強されたと述べている。このように鍼灸刺激が mitogen に対する反応性を増強すると報告されているが、そのメカニズムについては不明な点も多い。

また、NK 細胞活性については手術侵襲により手術群では無処置対照群に比し、術後1日目よりわずかに低下し、術後3日目に最も低下した。その後徐々に回復したが、術後9日目においてもコントロール値に比してわずかに低下していた。本実験の術後1日目から9日目までの一連の経過については Pollock ら<sup>25)</sup>の報告とほぼ同様の経過を示した。しかし、NK 細胞活性の抑制は有意なものではなく、これは手術侵襲の程度の差に依存するものと考えられた。一方、鍼通電刺激を行ったラットでは、NK 細胞活性は各時点において手

術群ラットよりも、わずかに上昇する傾向を示したが有意差は認められなかった。

Shimizu ら<sup>26)</sup>によると覚醒下ラットに拘束ストレスを与えると脾臓の交感神経末端からノルエピネフリンが遊離され NK 細胞活性が抑制されると報告しており、今回の鍼通電刺激では、できるだけラットにストレスを与えないように配慮し、無拘束に近い状態で行った。さらに、通電部位に関しては Sato ら<sup>27)</sup>、Yu ら<sup>2)</sup>によると鍼鎮痛を引き起こさない腹部への鍼通電刺激は NK 細胞活性を増強させないが、鍼鎮痛を引き起こす前脛骨筋への刺激は有意に NK 細胞活性を増強すると述べており、免疫を調節する刺激部位と鍼鎮痛を引き起こす刺激部位は共通していると述べている。そこで今回は免疫系を調節と言われる前脛骨筋を刺激部位とした。

外科臨床においては、手術侵襲による免疫抑制が問題となる。ことに担癌患者においては担癌に伴い低下した宿主免疫能が手術侵襲によりさらに低下し、残存腫瘍の増大や微小転移巣の増大を来し、生存期間の短縮につながる可能性が考えられ、癌患者の外科的治療を行うにあたり、このような負の効果を考慮に入れ、その防止策を検討することは意義があると思われる<sup>28, 29)</sup>。今回得られた結果から癌患者においても、外科的治療を行う上で鍼灸治療が免疫能回復の一助となる可能性が考えられた。

## V. 結 語

今回、手術侵襲による病態モデルを用い鍼通電刺激の影響について検討を行ったところ、鍼通電刺激により脾細胞のリンパ球芽球化反応の抑制が有意に回復した。そのメカニズムについて今回は明らかにできなかったが、鍼通電刺激が免疫抑制を回復するメカニズムとしては内分泌系・神経系による免疫系の抑制回路を遮断する可能性、あるいは鍼通電刺激により産生される内因性の液性因子(オピオイドペプチド、サイトカイン等)を介したメカニズムが関与している可能性が考えられ、今後、これら液性因子について詳細な検討が必要であろうと考える。

## 謝 辞

本研究に際し貴重なる細胞を供与していただい



た明治鍼灸大学免疫・微生物学教室の雨貝孝教授、塚本紀之助手に感謝いたします。

### 参考文献

- 1) 雨貝 孝, 糸井マナミ: 鍼灸医学と免疫システム. 全日本鍼灸学会雑誌, 46: 315-325, 1996.
- 2) Yu Y, Kasahara T, Sato T, et al: Enhancement of splenic interferon-gamma, interleukin-2 and NK cytotoxicity by S36 acupoint acupuncture in F344 rats. *Jpn J Physiol*, 47: 173-178, 1997.
- 3) 水沼国男, 渡辺勝之, 林田一志ら: ヒトでの鍼刺激によるインターロイキン6の産生. 明治鍼灸医学, 19: 57-61, 1996.
- 4) 塚本紀之, 林田一志, 糸井マナミら: マウスへの鍼灸刺激およびストレス刺激によるインターロイキン6の産生誘導. 明治鍼灸医学, 19: 63-74, 1996.
- 5) 黒野保三, 平松由江, 松本美富士ら: 鍼刺激のヒト免疫反応系に与える影響(Ⅲ). 全日本鍼灸学会雑誌, 33: 12-17, 1983.
- 6) Malizia E, Andreucci G, Paolucci D, et al: Electroacupuncture and peripheral  $\beta$ -endorphin and ACTH levels. *Lancet*, 2: 535~536, 1979.
- 7) Masala A, Satta G, Alagna S, et al: Suppression of electroacupuncture(EA)-induced  $\beta$ -endorphin and ACTH release by hydrocortisone in man. Absence of effects on EA-induced anaesthesia. *Acta Endocrinol*, 103: 469-472, 1983.
- 8) 若尾慶子: 神経ペプチドとリンパ球機能. 臨床免疫, 30: 289-295, 1998.
- 9) Gilman S C, Schwartz J M, Milner R J, et al:  $\beta$ -Endorphin enhances lymphocyte proliferative responses. *Proc Natl Acad Sci USA*, 79: 4226-4230, 1982.
- 10) Mathews P M, Froelich C J, Sibbitt W L, et al: Enhancement of natural cytotoxicity by  $\beta$ -endorphin. *J Immunol*, 130: 1658-1662, 1983.
- 11) Yu Y, Kasahara T, Sato et al: Role of endogenous interferon-gamma on the enhancement of splenic NK cell activity by electroacupuncture stimulation in mice. *J Neuroimmunol*, 90: 176-186, 1998.
- 12) Toge T, Hirai T, Takiyama W, et al: Effects of surgical stress on natural killer activity, proliferative response of spleen cells and cytostatic activity of lung macrophages in rats. *Gann*, 72: 790-794, 1981.
- 13) Diamond B, Knight S C, Lano E M: Some observations on the in vitro reactivity of lymphoid subpopulations. *Cell Immunol*, 11: 239-246, 1974.
- 14) 日伝晶夫, 長田裕典, 小林元壮ら: 手術侵襲の細胞性免疫能に及ぼす影響. 日外会誌, 91: 1178-1181, 1990.
- 15) 田中紀章, 吉原久司, 小野稔ら: 手術侵襲のNK活性に及ぼす影響. 日外会誌, 84: 203-210, 1983.
- 16) 杉山保幸, 佐治重豊, 木田 恆: 手術侵襲の内分泌・免疫系に及ぼす影響と BRM 療法の有用性に関する実験的検討. *BIO THERAPY*, 6: 1052-1056, 1992.
- 17) 小川健治, 勝部隆男, 平井雅倫ら: 手術侵襲による生体反応の関する検討. 日消外会誌, 25: 2601-2605, 1992.
- 18) Cheng X D, Wu G C, He Q Z, et al: Effect of continued electroacupuncture on induction of interleukin-2 production of spleen lymphocytes from the injured rats. *Acupunct Electrother Res*. 22: 1-8, 1997.
- 19) Qui S L, Gui Z Y: Influence of surgical stress on cellular immunity and the induction of plastic adherent suppressor cells of spleen in mice. *Immunol Invest*, 15: 419-30, 1986.
- 20) 木崎節子, 大野秀樹: 寒冷刺激による免疫制御マクロファージの誘導. 臨床免疫, 29: 110-116, 1997.
- 21) 黒野保三, 石神龍代, 堀茂ら: 鍼刺激のヒト免疫反応系に与える影響(Ⅳ). 全日本鍼灸学会雑誌, 36: 95-101, 1986.
- 22) 渡辺勝之, 水沼国男, 篠原昭二ら: 鍼刺激がマウス末梢血リンパ球サブセットに及ぼす影響. 明治鍼灸医学, 11: 61-69, 1992.
- 23) 渡辺勝之, 篠原昭二, 水沼国男ら: 鍼刺激がヒト末梢血 NK 活性及び NK 細胞サブセットに及ぼす影響. 明治鍼灸医学, 14: 37-43, 1994.
- 24) Bianchi M, Jotti E, Sacerdote P, et al: Traditional acupuncture increases the content of beta-endorphin in immune cells and influences mitogen induced proliferation. *Am J Chin Med*, 19: 101-104, 1994.
- 25) Pollock R E, Lotzova E, Stanford S D, et al: Effect of surgical stress on murine natural killer cell cytotoxicity. *J Immunol*, 138: 171-178, 1987.
- 26) Shimizu N, Kaizuka Y, Hori T, et al: Immobilization increases norepinephrine release and reduces NK cytotoxicity in spleen of conscious rat. *Am J Physiol*. 271: R537-R544, 1996.
- 27) Sato T, Yu Y, Guo S Y, et al: Acupuncture stimulation enhances splenic natural killer cell cytotoxicity in rats. *Jpn J Physiol*, 46: 131-136, 1996.
- 28) 種村広巳, 竹腰知治, 山村悟ら: 担癌生体に及ぼす手術侵襲の影響と免疫賦活剤の効果. 日外会誌, 83: 1359-1368, 1987.



- 29) 木田恆, 佐治重豊, 五島秀幸ら : ラット実験的肺  
転移モデルを用いた手術侵襲に伴う転移促進につ  
いて. 日外会誌, 89 : 1692-1698, 1987.

The effect of electroacupuncture stimulation on  
the immunosuppression caused by surgical stress.

TAGUCHI Tatsuki<sup>1)</sup>, SHINOHARA Shoji<sup>2)</sup>, SAKITA Masakazu<sup>3)</sup>

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

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

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

Summary :

[Purpose]

In this study, we investigated the effects of electroacupuncture (EA) stimulation on the immunosuppression caused by surgical stress.

[Materials and Methods]

Male Sprague-Dawley rats were used (n=72). The rats were divided into three groups : surgery group, surgery + EA group and control group (no surgery). In the surgery group, rats received a 5cm abdominal median incision and a 6cm dorsal median incision under Nembutal anesthesia. In the surgery + EA group, immediately after surgery, rats were given EA stimulation at the right anterior tibial muscles without restriction for 60 minutes daily. EA stimulation was continued until the day before the assay. Proliferative responses to mitogens (PHA, Con A, LPS) and natural killer (NK) activity of spleen cells were measured on postoperative day 1, 3, 5 and 9.

[Result and Discussion]

Lymphocyte proliferative responses to PHA, Con A and LPS were significantly suppressed by surgical stress on the first postoperative day. However, the immunosuppressive states were recovered earlier in the surgery + EA group than the surgery group. These findings suggest that EA stimulation may improve suppression of the immune system induced by surgical stress.