

拘束ストレスラットへの鍼通電刺激の 脳内モノアミンに及ぼす影響

加藤 麦

明治鍼灸大学大学院 鍼灸学研究科 鍼灸臨床医学 (内科学)

要旨：拘束ストレス状態におけるラットへの鍼通電刺激の効果について、脳報酬系を中心とした脳各部位のドーパミン (DA) 量、セロトニン(5-HT)量、及びそれらの代謝産物量を指標として刺激部位と刺激頻度の違いから検討した。拘束ストレスによりDAと5-HTは側坐核、線条体、外側視床下部において減少し、背側縫線核で増加した。前頭前野皮質においては5-HTのみ減少した。[DOPAC]/[DA]比は線条体と扁桃体で減少し、[5-HIAA]/[5-HT]比は前頭前野皮質、側坐核、外側視床下部で増加した。低頻度腰部及び下肢両鍼通電刺激は、拘束ストレスラットの側坐核、線条体、外側視床下部におけるDAを増加させ、前頭前野皮質、側坐核、外側視床下部の5-HTを増加させた。さらに下肢刺激では線条体の5-HTを増加させ、背側縫線核と扁桃体のDAと背側縫線核の5-HTを減少させた。[DOPAC]/[DA]比は腰部刺激により背側縫線核で増加し、外側視床下部で減少し、下肢刺激により外側視床下部で減少し、扁桃体で増加した。[5-HIAA]/[5-HT]比は前頭前野皮質と外側視床下部ではいずれの刺激でも減少し、腰部刺激では中脳黒質・腹側被蓋野で増加し、下肢刺激では線条体で減少した。高頻度刺激では腰部鍼通電刺激は拘束ストレスラットの前頭前野皮質と外側視床下部におけるDAを増加させ、背側縫線核と扁桃体のDAを減少させた。高頻度下肢鍼通電刺激は側坐核のDAと5-HT、及び線条体と外側視床下部の5-HTを増加させ、背側縫線核と扁桃体のDAを減少させた。[DOPAC]/[DA]比は背側縫線核においていずれの刺激でも増加し、下肢刺激ではさらに前頭前野皮質と扁桃体でも増加した。[5-HIAA]/[5-HT]比は外側視床下部においていずれの刺激でも減少し、腰部刺激では側坐核と線条体で増加し、下肢刺激では前頭前野皮質と線条体で減少した。以上のことから鍼通電刺激はストレスにより減少した脳内モノアミンを補完することによりストレスを緩和させる可能性が考えられた。

I. 緒言

現代は「ストレス時代」ともいわれ、平成11年の国民生活基礎調査では日常生活でストレスがある者は42.1%であると報告している¹⁾。それだけにストレスに関する研究は、国民の健康の観点から重要な意義を有する。

ストレスに関する研究は古くから行われているが、近年では動物を使ったストレスモデルに関する研究は著しく進歩し、多くのストレス負荷法が開発された²⁻⁴⁾。ストレスモデルは大きくは身体的ストレスモデルと精神的・心理的ストレスモデルとに分けられ、これらのモデル動物を用いて、各種ストレスの生体に及ぼす影響についての探索が進められている。その中でも身体的ストレスである拘束ストレスに関する研究は最も多く、最近

では脳内モノアミン変動からストレスの作用機序を解明しようとされている⁵⁾⁻¹⁰⁾。

拘束ストレスに対する脳内反応については、主としてカテコールアミン作動性神経系とセロトニン (5-hydroxytryptamine: 5-HT) 神経系に焦点を当てた研究が目されている。これまでのところ、各種ストレス負荷に対してはドーパミン (dopamine: DA) 神経系をはじめとするモノアミン作動性神経系の活性化が起こるとされている。特に脳報酬系と呼ばれる腹側被蓋野から側坐核・前頭前野皮質へ投射する中脳辺縁系DA神経系、及び中脳皮質系DA系のA10系、さらには黒質線条体系DA系のA9系におけるDA代謝回転の増大や、DA放出の増加が報告されている⁵⁻⁹⁾。また、脳内5-HT神経系については、身体的・精神的ストレスにより抑制されるという報告が多い。さら

平成12年12月4日受付、平成13年1月5日受理

Key Words : 鍼通電刺激 Electroacupuncture, ドーパミン Dopamine, セロトニン Serotonin, 拘束ストレス Restraining stress, 脳報酬系 Brain rewarding system

† 連絡先：〒629-0392 京都府船井郡日吉町 明治鍼灸大学 鍼灸学研究科 鍼灸臨床医学 (内科学)

にラットでは前頭前野皮質や扁桃核、海馬などの大脳辺縁系は精神的ストレスによる情動反応の変化や、各種ストレスに対する適応反応に重要な役割を果たしていることが明らかにされている¹⁰⁾。

一方、鍼灸臨床では、「ストレス時代」を反映してか、ストレスに起因する種々の心身反応の軽減を目的として、鍼灸治療が日常的に行われている。一般的には、鍼あるいは灸による治療が行われるが、鍼通電療法も治療法の1つとして選択される。各種ストレスに対する鍼通電刺激あるいは鍼通電療法の有効性については、それを示唆する研究は少ないながらも報告されている¹¹⁻¹⁴⁾。なお鍼通電刺激は、刺激部位や刺激頻度の選択により様々な疾患に対して効果的に作用することが知られており¹⁵⁻¹⁷⁾、特に鎮痛に関する研究は盛んで、刺激頻度の違いにより活性化する脳内の鎮痛経路が異なるとされている¹⁸⁻²¹⁾。

本研究は、これまでの知見を踏まえ、ストレスに対する鍼通電刺激の効果と作用機序を明らかにすることを目的として行った。これまでのところ、ストレスに対する鍼通電刺激の効果を脳報酬系に重点を置いて検討した報告はなく、鍼通電刺激の刺激部位や刺激頻度の違いによる脳報酬系におけるモノアミン、特にDA及び5-HT動態の変化は未だ明らかではない。従って本研究では、鍼通電刺激のストレスに対する効果を脳報酬系を中心とした各脳部位におけるDAと5-HT、及びそれらの代謝産物の含有量を指標に検討することとした。そのために、まずはモノアミン作動性神経に対する拘束ストレスの影響を観察し、次いで拘束ストレスを負荷したラットに腰部と下肢に低頻度(1Hz)刺激と高頻度(100Hz)刺激を行い、刺激部位と刺激頻度の違いによる鍼通電刺激の影響を観察し、これらのことを通して鍼通電刺激の拘束ストレスに対する効果とその作用機序を明らかにすることとした。

II. 実験方法

1. 実験動物

成熟した雄性SD系ラット(260~280g) (清水実験材料株式会社, 京都) を用いた。実験動物は12時間の明暗サイクルで維持し、1つのプラスチックケージには4~5匹のラットを入れ、各群のラットがランダムに1匹ずつ入るようにした。固形飼

料(MF, オリエンタル酵母株式会社, 京都) と水は自由摂取とした。

実験Iでは、拘束ストレスの脳内反応を検索するために(1)拘束ストレス群 (n=8) と(2)無刺激コントロール群 (n=12) の2群を設定し、実験IIでは、拘束ストレス状態下での鍼通電刺激の脳内反応に及ぼす影響を刺激部位及び刺激頻度の相違から検討するため(1)拘束ストレス群 (n=8), (2)拘束ストレス+腰部低頻度鍼通電刺激群 (n=8), (3)拘束ストレス+下肢低頻度鍼通電刺激群 (n=8), (4)拘束ストレス+腰部高頻度鍼通電刺激群 (n=8), (5)拘束ストレス+下肢高頻度鍼通電刺激群 (n=8) の5群を設定した。

2. 拘束ストレス

拘束ストレスは、不動化するためにごく短時間の0.75%ハロセン吸入麻酔を一時的にかけ、ラットを拘束帯で包むように巻き、拘束固定器に腹臥位で吊すように固定した (Fig. 1)。ラットが麻酔から覚醒したのを確認した後、10分間の拘束固定を行った¹⁴⁾。上記の拘束固定を3日後に同様に行った。無刺激コントロール群は拘束固定なしで通常の飼育のみを行った。

3. 鍼通電刺激

鍼通電刺激は不動化するためにごく短時間の0.75%ハロセン吸入麻酔を一時的にかけ、上述の拘

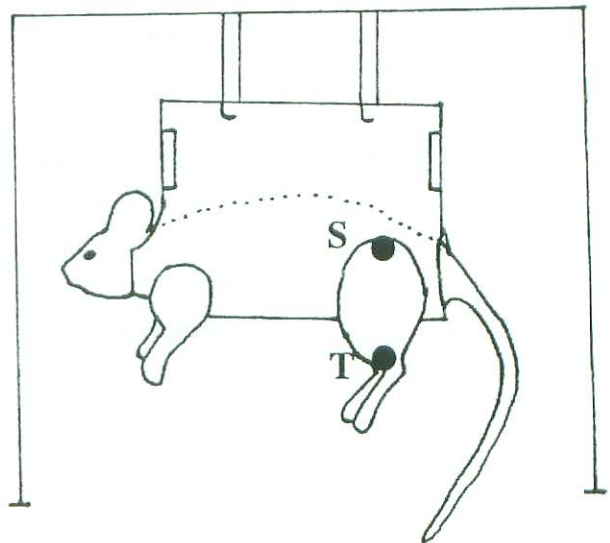


Fig. 1

Schematic diagram showing the electroacupuncture points (S: Shen-Shu, BL23, T: Tsu-San-Li, ST36) in restricted-rat.

束帯で拘束固定器に固定した後、腰部及び下肢の刺激部位へステンレス製鍼灸針（30mm 16号、セイリン化成、静岡）を腰部刺激では直刺で1cm、下肢刺激では横刺で0.5cm刺入し、麻酔から覚醒したのを確認してから拘束固定した状態で10分間の鍼通電（ELCTRONIC STIMULATOR 3F 46, ISOLATOR 5384, 日本電気三栄、東京）を行った¹⁴。

刺激条件は低頻度刺激では1 Hz、パルス幅5 msで筋の収縮が確認できる強度（約0.2~0.3mA）とし、高頻度刺激では100Hz、パルス幅5ms、0.1 mAの強度で行った。また今回用いた鍼通電刺激の刺激条件については、鍼通電刺激のアルコール摂取行動に及ぼす影響についての吉本らの報告と同じ条件を用いた。上記の鍼通電刺激を拘束ストレスと同様に3日後に同じ手順で行った。

刺激部位は、腰部刺激として左右の腎兪穴相当部位²²⁻²³、下肢刺激として右下肢の足三里穴相当部位、及びその下方1cmの部位²⁴⁻³⁰を選択した。ヒトにおいては腎兪穴は泌尿器・生殖器系疾患や腰部の整形外科系疾患、全身の調整などに用いられ、足三里穴は消化器系疾患や下肢の整形外科系疾患、全身の調整などに臨床応用されている³¹。同様に、両経穴相当部位は鍼刺激の基礎動物実験においてラットをはじめとする各種小動物に広く用いられる刺激部位である。

4. 脳内DA, 5-HT及びそれらの代謝産物定量

最終刺激の翌日（24時間後）、ラットを断頭し、

速やかに脳を摘出した。24時間後に断頭を行った理由は、鍼通電刺激のアルコール摂取行動に及ぼす影響についての実験において、24時間後にアルコール摂取行動変化などの行動学的変化が認められたことによる¹⁴。摘出した脳から嗅球を取り除き、冷やしたステンレススチールプレート上でブレインスライサー（Neuroscience Co., 東京）を用いて2mmの厚さで冠状断した。側坐核（nucleus accumbens: ACC, AP +2.7mm, ML +1.3mm, DV -7.0mm）、線条体（caudate and putamen: C/P, AP -1.3mm, ML +4.6mm, DV -6.0mm）、前頭前野皮質（prefrontal cortex: FC, AP -1.3, ML +0.4mm, DV -2.0mm）、外側視床下部（lateral hypothalamus: LH, AP -4.3mm, ML +1.6mm, DV -8.6mm）、扁桃体（amygdala: AMY, AP -4.3mm, ML +4.0mm, DV -9.0mm）、海馬（hippocampus: HP, AP -5.3 mm, ML +3.0mm, DV -3.2mm）、中脳黒質・腹側被蓋野（substantia nigra and ventral tegmental area: V/S, AP-5.3mm, ML+2.4mm, DV -8.4mm）、背側縫線核（dorsal raphe nucleus: DRN, AP -7.3mm, ML ±0, DV -5.8mm）の領域を含む分割脳（Fig. 2）は冷パラフィン・プレートの上に置き、脳アトラス³²に従って前述の8つの領域を内径1mmのパンチ（Sample corers, Fine Science Tools INC. CA. U.S.A.）を用いて採取した。パンチアウトしたサンプルは速やかに液体窒素で凍結後、組織サンプルの重量を測定した。その後、内部標準として100 μl 3,4-dihyd

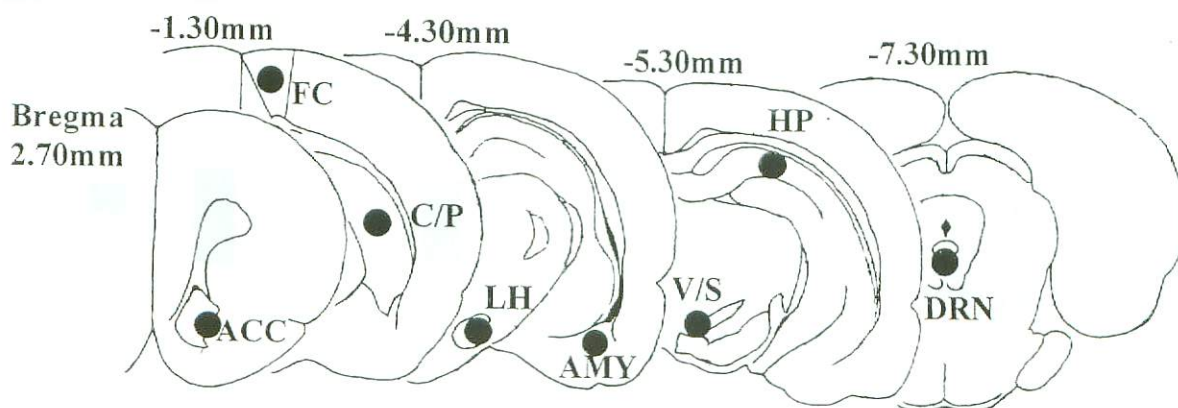


Fig. 2

Schematic drawings adapted from Paxinos and Watson's stereotaxic atlas representative of the sections used for measuring monoamine contents in the FC (prefrontal cortex), ACC (nucleus accumbens), C/P (caudate and putamen), V/S (ventral tegmental area and substantia nigra), DRN (dorsal raphe nucleus), LH (lateral hypothalamus), HP (hippocampus), AMY (amygdala).

roxybenzylamine (DHBA)を加え、さらに50 μ l 0.1mM Na₂-EDTAと100 μ l 0.1M perchloric acidを加えて、水中で20秒間ホモジナイズ (Ultrasonic Homogenizer, 日本精機, 東京) し、20分間、15,000 r.p.m. 4°Cで遠心分離した。遠心分離後の上清をフィルター (マイシヨリディスク W-3-2, ϕ 3mm, 2 μ m, 東ソー, 東京) に通した。上清サンプル20 μ lを、酸化還元電位0.6V (Ag/AgCl, 参照電位) に設定し、グラスカーボン電極を用いた電気化学検出器を接続した高速液体クロマトグラフィー (LC-6A, LC-ECD-6A, Shimadzu Co., 京都) に注入し、DA, DAの代謝産物である3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC), 5-HT, 5-HTの代謝産物である5-hydroxyindolacetic acid (5-HIAA)の含有量を同時定量した。カラムはTSK-Gel, ODS-80Ts (5 μ m 4.6 \times 150mm, 東ソー, 東京) を用いた。高速液体クロマトグラフィーの移動層 (pH 2.8: リン酸調整) は、0.1M sodium phosphateに13% (v/v) methanol, 5% (v/v) acetonitrile, 0.1mM Na₂-EDTA, 0.3mM sodium 1-octane-sulfonic acidを加えた緩衝液を用い、流量は0.8ml/minに維持した。

標準試料による検量線を作成後、この検量線をもとにピークエリアを定量し、ラット分割脳のDA, 5-HTとそれらの代謝産物であるDOPAC及び、5-HIAAの含有量を定量分析した。同時に[代謝産物]/[モノアミン量]比を算出した³³⁻³⁴⁾。

5. 試薬

DA, 5-HT, DOPAC, 5-HIAA, DHBAはシグマ製 (U.S.A.) を用い、他の試薬類は和光純薬特級及びナカライテスク試薬特級を用いた。

6. 統計学的検討

データは、平均 \pm SDで表した。実験Iでは拘束ストレス群と無刺激コントロール群におけるモノアミン含有量、及びそれらの代謝産物含有量との比の有意差検定にUn-paired Student's t-testを行った。実験IIでは低頻度鍼通電刺激、高頻度鍼通電刺激それぞれの各実験群間におけるモノアミン含有量、及びそれらの代謝産物含有量との比の有意差検定に一元配置分散分析 (One way ANOVA) を行い、post hoc testとしてSheffe's

F testを行った。有意水準0.05未満で有意差とした。

III. 結果

1. 拘束ストレスによる脳内モノアミン量とそれらの代謝産物量との比の変化

拘束ストレス群と無刺激コントロール群の前頭前野皮質、側坐核、線条体、中脳黒質・腹側被蓋野、背側縫線核、外側視床下部、海馬、扁桃体でのDA量の変化をFig. 3に、5-HT量の変化をFig. 4に示した。また、それらの代謝産物との比である[DOPAC] / [DA] 比、及び [5-HIAA] / [5-HT] 比の変化をTable 1に示した。

拘束ストレス群におけるDA量は、無刺激コントロール群に比べて側坐核で約39%、線条体で約24%、外側視床下部で約25%と有意に減少した (Fig. 3)。5-HT量については、拘束ストレス群は

DA

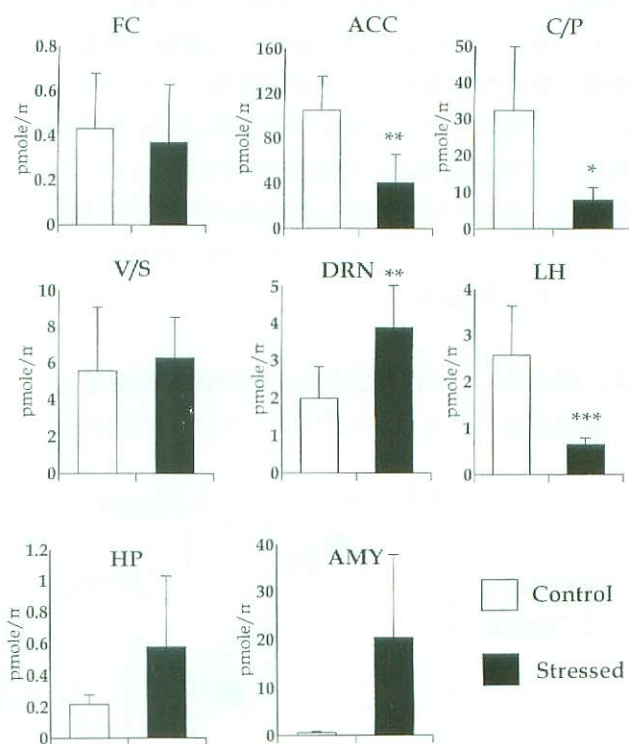


Fig. 3

Changes in DA levels following restraining stress. Rats were exposed to restraining stress for ten minutes twice a week. Data are expressed as the mean \pm S.D. (n = 5-12). Statistically significant differences by an unpaired two tailed t-test are indicated by asterisk(s) as following: *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001. FC: prefrontal cortex, ACC: nucleus accumbens, C/P: caudate and putamen, V/S: ventral tegmental area and substantia nigra, DRN: dorsal raphe nucleus, LH: lateral hypothalamus, HP: hippocampus, AMY: amygdala.

無刺激コントロール群に比べて前頭前野皮質で約56%, 側坐核で約10%, 線条体で約37%, 外側視床下部で約22%と有意に減少した (Fig. 4). 対照的に拘束ストレス群における背側縫線核のDA量と5-HT量は, 無刺激コントロール群に比べてそ

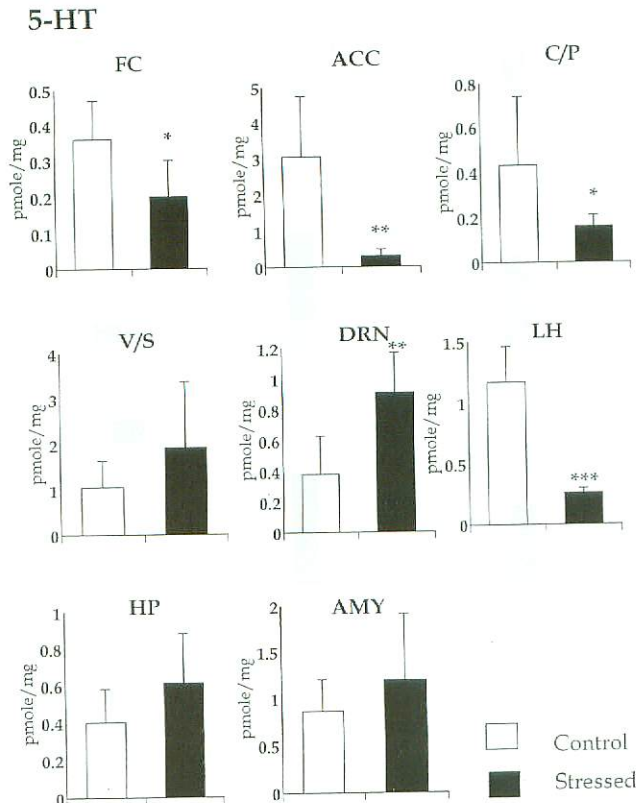


Fig. 4 Changes in 5-HT levels following restraining stress. Rats underwent ten minutes restraint twice a week for a week. Data are the mean \pm S.D. values (n = 5-12). An unpaired two-sample t-test showed significant main effects of treatment (P<0.05). *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001. FC: prefrontal cortex, ACC: nucleus accumbens, C/P: caudate and putamen, V/S: ventral tegmental area and substantia nigra, DRN: dorsal raphe nucleus, LH: lateral hypothalamus, HP: hippocampus, AMY: amygdala.

れぞれ約176%, 約216%と有意に増加した (Fig. 3, Fig. 4). すなわち拘束ストレスにより側坐核, 線条体, 外側視床下部におけるDA, 5-HT作動性神経系が抑制され, 背側縫線核は賦活される傾向を示した.

[DOPAC] / [DA] 比は, 拘束ストレス群の線条体, 扁桃体で有意に減少した (Table 1). また, [5-HIAA] / [5-HT] 比は, 無刺激コントロール群に比べ, 拘束ストレス群の前頭前野皮質, 側坐核, 外側視床下部でそれぞれ有意に増加した (Table 1).

2. 拘束ストレスに対する

低頻度鍼通電刺激の影響

拘束ストレス群と低頻度の腰部鍼通電刺激群, 及び下肢鍼通電刺激群の前頭前野皮質, 側坐核, 線条体, 中脳黒質・腹側被蓋野, 背側縫線核, 外側視床下部, 海馬, 扁桃体でのDA量の変化をFig. 5に, 5-HT量の変化をFig. 6に示した. また, それらの代謝産物との比である [DOPAC] / [DA] 比, 及び [5-HIAA] / [5-HT] 比の変化をTable 2に示した.

側坐核のDA量は, 拘束ストレス群に比べて腰部刺激群, 下肢刺激群ともに有意に増加し (Fig. 5), 同様に側坐核の5-HT量も拘束ストレス群に比べて腰部刺激群, 下肢刺激群ともに有意に増加した (Fig. 6). 外側視床下部でも両刺激によりDA量, 5-HT量ともに拘束ストレス群に比べて有意に増加した (Fig. 5, Fig. 6). 線条体ではDA量のみが拘束ストレス群に比べて両鍼通電刺激群で有意に増加した (Fig. 5). また線条体の5-HT量は, 拘束ストレス群に比べて下肢刺激群でのみ

Table 1

Changes in [DOPAC]/[DA] and [5-HIAA]/[5-HT] ratios following restraining stress. Data are the mean \pm S.D. (n = 5-12). An unpaired two-sample t-test showed significant main effects of treatment (P < 0.05). *P < 0.05, **P < 0.001. FC: prefrontal cortex, ACC: nucleus accumbens, C/P: caudate and putamen, V/S: ventral tegmental area and substantia nigra, DRN: dorsal raphe nucleus, LH: lateral hypothalamus, HP: hippocampus, AMY: amygdala.

Table 1								
[DOPAC]/[DA] ratio								
	FC	ACC	C/P	V/S	DRN	LH	HP	AMY
Control	1.18 \pm 0.68	0.25 \pm 0.07	0.37 \pm 0.11	0.24 \pm 0.08	0.85 \pm 0.40	0.42 \pm 0.16	1.94 \pm 0.43	0.41 \pm 0.25
Stressed	0.64 \pm 0.46	0.27 \pm 0.18	0.22 \pm 0.06*	0.41 \pm 0.33	0.46 \pm 0.01	0.64 \pm 0.38	1.17 \pm 0.48	0.20 \pm 0.07*
[5-HIAA]/[5-HT] ratio								
	FC	ACC	C/P	V/S	DRN	LH	HP	AMY
Control	2.33 \pm 1.32	2.98 \pm 1.52	2.41 \pm 0.96	1.52 \pm 0.34	2.46 \pm 0.73	1.80 \pm 0.68	3.25 \pm 0.80	2.07 \pm 0.61
Stressed	5.72 \pm 0.73**	5.82 \pm 1.83*	1.52 \pm 0.22	1.86 \pm 0.84	2.86 \pm 0.88	9.90 \pm 5.56*	4.55 \pm 2.16	1.65 \pm 0.24

DA

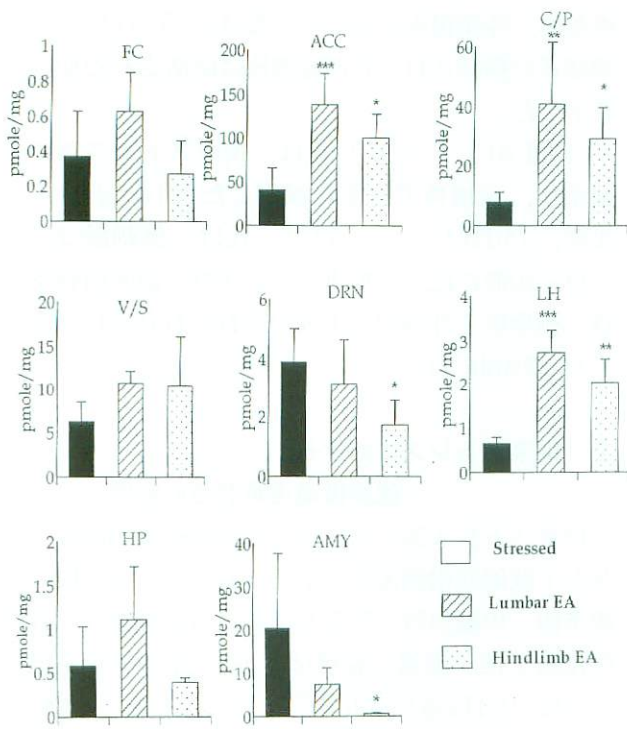


Fig. 5

Effects on DA levels by low frequency EA at lumbar and hindlimb are as under restraining stress. Data are expressed as the mean \pm S.D. (n = 5-12). Statistically significant differences by analysis of variance followed by Scheffe's post-hoc comparison were found as follows: stress vs. EA under stress; *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001. FC: prefrontal cortex, ACC: nucleus accumbens, C/P: caudate and putamen, V/S: ventral tegmental area and substantia nigra, DRN: dorsal raphe nucleus, LH: lateral hypothalamus, HP: hippocampus, AMY: amygdala.

5-HT

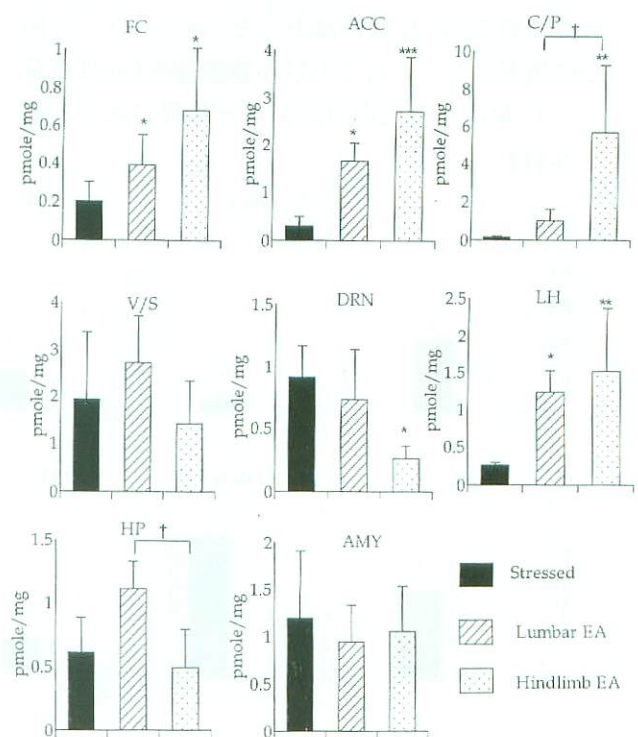


Fig. 6

Effects on 5-HT levels by low frequency EA at lumbar and hindlimb are as under restraining stress. Data are expressed as the mean \pm S.D. (n = 5-12). Statistically significant differences by analysis of variance followed by Scheffe's post-hoc comparison were found as follows: stress vs. EA under stress; *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001, Lumbar EA vs. Hindlimb EA; †P < 0.05. FC: prefrontal cortex, ACC: nucleus accumbens, C/P: caudate and putamen, V/S: ventral tegmental area and substantia nigra, DRN: dorsal raphe nucleus, LH: lateral hypothalamus, HP: hippocampus, AMY: amygdala.

Table 2

Effects on [DOPAC]/[DA] and [5-HIAA]/[5-HT] ratios by lumbar and hindlimb low frequency EA during restraining stress. Data are the mean \pm S.D. (n = 5-12). Analysis of variance comparing [metabolites]/[monoamines] ratios under stress demonstrated that Lumbar EA and Hindlimb EA groups showed a statistically significant difference. Scheffe post-hoc comparison revealed a significant difference between the stressed and Lumbar EA, stressed and Hindlimb EA, and Lumbar EA and Hindlimb EA groups. Significant differences from the stressed group: *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001 or from the Lumbar EA group: †P < 0.05. FC: prefrontal cortex, ACC: nucleus accumbens, C/P: caudate and putamen, V/S: ventral tegmental area and substantia nigra, DRN: dorsal raphe nucleus, LH: lateral hypothalamus, HP: hippocampus, AMY: amygdala.

Table 2

[DOPAC]/[DA] ratio	FC	ACC	C/P	V/S	DRN	LH	HP	AMY
Stressed	0.64 \pm 0.46	0.27 \pm 0.18	0.22 \pm 0.06	0.41 \pm 0.33	0.46 \pm 0.01	0.64 \pm 0.38	1.17 \pm 0.48	0.20 \pm 0.07
Lumbar EA	0.65 \pm 0.29	0.21 \pm 0.09	0.34 \pm 0.10	0.56 \pm 0.23	1.52 \pm 1.02*	0.30 \pm 0.12*	1.06 \pm 0.67	0.26 \pm 0.21
Hindlimb EA	0.85 \pm 0.59	0.24 \pm 0.09	0.40 \pm 0.27	0.30 \pm 0.04	0.73 \pm 0.29	0.32 \pm 0.07*	0.72 \pm 0.27	1.80 \pm 1.07**†

[5-HIAA]/[5-HT] ratio	FC	ACC	C/P	V/S	DRN	LH	HP	AMY
Stressed	5.72 \pm 0.73	1.52 \pm 0.22	5.82 \pm 1.83	1.86 \pm 0.84	2.86 \pm 0.88	9.90 \pm 5.56	4.55 \pm 2.16	1.65 \pm 0.24
Lumbar EA	2.36 \pm 0.95***	1.78 \pm 0.71	3.40 \pm 1.69	2.02 \pm 0.55*	2.32 \pm 0.71	2.55 \pm 1.00*	2.07 \pm 0.74	1.46 \pm 0.20
Hindlimb EA	1.48 \pm 0.36***	1.52 \pm 0.64	1.30 \pm 0.27**	1.30 \pm 0.24†	2.81 \pm 0.77	1.62 \pm 0.07*	3.24 \pm 0.91	1.54 \pm 0.19

有意に増加した (Fig. 6). 背側縫線核における DA量と5-HT量は、その他の部位とは異なり、拘束ストレス群に比べて下肢刺激群で、それぞれ約49%, 約31%と有意に減少したが、腰部刺激群では有意な変化はみられなかった (Fig. 5, Fig. 6). さらに、前頭前野皮質では5-HT量が拘束ストレス群に比べて腰部刺激群で約195%, 下肢刺激群で約340%と有意に増加した (Fig. 6).

低頻度鍼通電刺激では、腰部刺激群、下肢刺激群ともにDA量を増加させるというほぼ同様の影響を及ぼしたものの、腰部刺激群の方がより強い作用を示し、5-HT系に対しては下肢刺激群がよ

り強く広範囲に作用した.

一方、[DOPAC] / [DA] 比は、外側視床下部では拘束ストレス群に比べ腰部刺激群で約41%, 下肢刺激群で約76%と有意に減少した (Table 2). [5-HIAA] / [5-HT] 比は、拘束ストレス群に比べ腰部刺激群では前頭前野皮質、外側視床下部で有意に減少し、下肢刺激群では前頭前野皮質で約26%, 線条体で約22%, 外側視床下部で約16%と有意に減少した (Table 2). 外側視床下部の5-HT作動神経系に対して、低頻度鍼通電刺激はストレス負荷をかけたラットの [5-HIAA] / [5-HT] 比を減少させた. この結果は低頻度鍼通電刺激を

DA

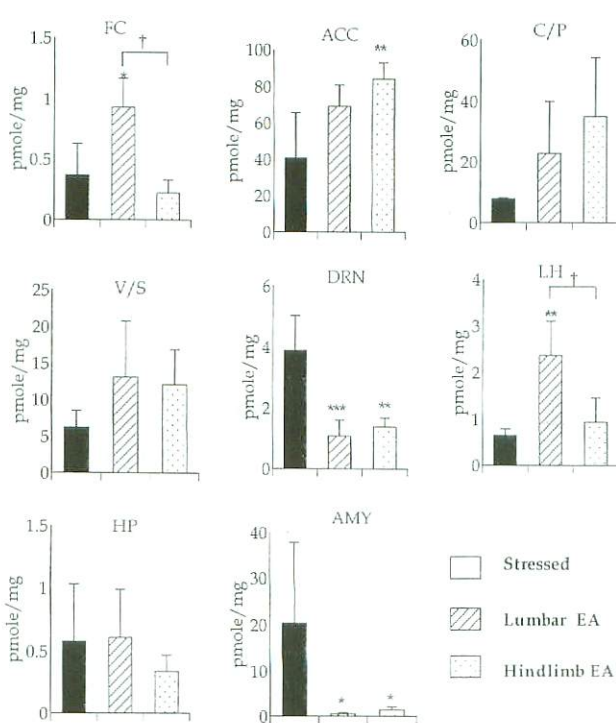


Fig. 7

Effects of lumbar and hindlimb high frequency EA on DA levels during restraining stress. Data are the mean \pm S.D. values (n = 5-12). A statistically significant difference was revealed by analysis of variance comparing DA levels in the stressed, Lumbar EA, and Hindlimb EA groups. Scheffe post-hoc comparison revealed a significant difference between stressed and Lumbar EA, stressed and Hindlimb EA, and Lumbar EA and Hindlimb EA groups. Significant differences from stressed group were: *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 or from the Lumbar EA group: †P<0.05. FC: prefrontal cortex, ACC: nucleus accumbens, C/P: caudate and putamen, V/S: ventral tegmental area and substantia nigra, DRN: dorsal raphe nucleus, LH: lateral hypothalamus, HP: hippocampus, AMY: amygdala.

5-HT

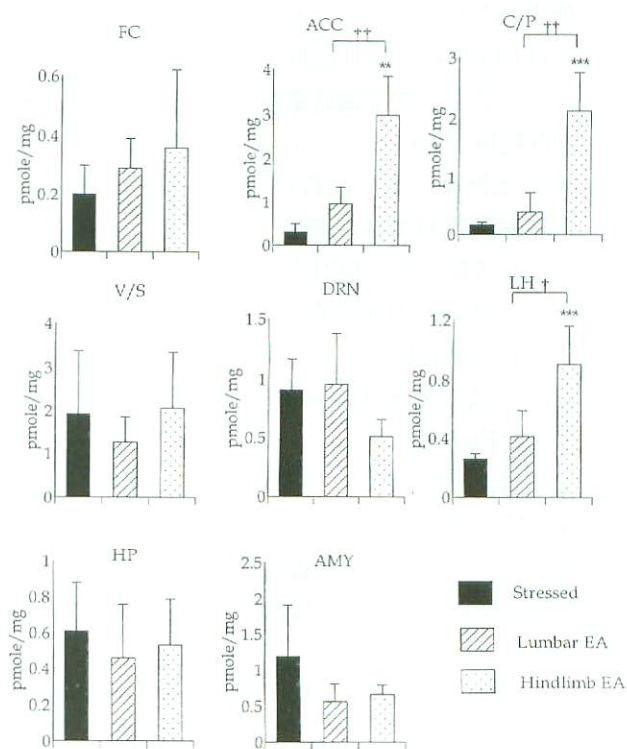


Fig. 8

Effects of lumbar and hindlimb high frequency EA on 5-HT levels during restraining stress. Data are the mean \pm S.D. values (n = 5-12). A statistically significant difference was revealed by analysis of variance comparing 5-HT levels in the stressed, Lumbar EA, and Hindlimb EA groups. Scheffe post-hoc comparison revealed a significant difference between stressed and Lumbar EA, stressed and Hindlimb EA, and Lumbar EA and Hindlimb EA groups. Significant differences from stressed group were: *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 or from the Lumbar EA group: †P<0.05. FC: prefrontal cortex, ACC: nucleus accumbens, C/P: caudate and putamen, V/S: ventral tegmental area and substantia nigra, DRN: dorsal raphe nucleus, LH: lateral hypothalamus, HP: hippocampus, AMY: amygdala.

行ったラットの外側視床下部における [DOPAC] / [DA] 比と一致した (Table 2).

3. 拘束ストレスに対する

高頻度鍼通電刺激の影響

拘束ストレス群と高頻度の腰部鍼通電刺激群、及び下肢鍼通電刺激群の前頭前野皮質、側坐核、線条体、中脳黒質・腹側被蓋野、背側縫線核、外側視床下部、海馬、扁桃体でのDA量の変化をFig. 7に示し、5-HT量の変化をFig. 8に示した。また、それらの代謝産物との比である [DOPAC] / [DA] 比、及び [5-HIAA] / [5-HT] 比の変化をTable 3に示した。

両鍼通電刺激群の背側縫線核におけるDA量は、拘束ストレス群に比べ有意に減少し、腰部刺激群では約31%、下肢刺激群では約40%と有意に減少した。さらに腰部鍼通電刺激群の前頭前野皮質と外側視床下部におけるDA量は、それぞれ約252%、364%と拘束ストレス群に比べて有意に増加し、下肢鍼通電刺激群の側坐核におけるDA量は拘束ストレス群に比べ約245%と有意に増加した (Fig. 7)。下肢鍼通電刺激群における5-HT量は、拘束ストレス群に比べ側坐核で約997%、線条体で約1331%、及び外側視床下部で約394%と有意に増加した (Fig. 8)。

一方、[DOPAC] / [DA] 比は拘束ストレス群に比べ腰部鍼通電刺激群では、海馬で有意に減少したのに対し、背側縫線核で有意に増加し、下肢鍼通電刺激群では前頭前野皮質、背側縫線核、

扁桃体で有意に増加した (Table 3)。さらに

[5-HIAA] / [5-HT] 比は拘束ストレス群に比べ、腰部鍼通電刺激群では側坐核、線条体で有意に増加したのに対して、外側視床下部で有意に減少した。また、下肢鍼通電刺激群では前頭前野皮質、線条体、外側視床下部で有意に減少した (Table 3)。

腰部高頻度鍼通電刺激は中脳皮質系DA系及び外側視床下部DA系を賦活し、下肢高頻度鍼通電刺激は中脳辺縁系DA系及び線条体、外側視床下部5-HT系を賦活し、背側縫線核のDA系に対しては腰部刺激、下肢刺激ともにDA量を減少させるという類似した作用を示した。

4. 腰部鍼通電刺激と下肢鍼通電刺激との比較

低頻度の鍼通電刺激についてみると、DA量は両鍼通電刺激群で有意な差はみられなかった (Fig. 5)。5-HT量は腰部鍼通電刺激群に比べて、下肢鍼通電刺激群では線条体で約556%と有意に高値を示したが、逆に海馬で約44%と有意に低値を示した (Fig. 6)。また、[DOPAC] / [DA] 比では扁桃体において腰部鍼通電刺激群に比べて下肢鍼通電刺激群で有意に高値を示したが (Table 2)、[5-HIAA] / [5-HT] 比では中脳黒質・腹側被蓋野において腰部鍼通電刺激群に比べて、下肢鍼通電刺激群では約12%と有意に低値を示した (Table 2)。低頻度鍼通電刺激はDA系では刺激部位による違いはみられなかったが、5-HT系では下肢鍼通電刺激で線条体に対してより強い作

Table 3

Effects of lumbar and hindlimb high frequency EA during restraining stress on [DOPAC]/[DA] and [5-HIAA]/[5-HT] ratios. Data are the mean \pm S.D. values (n = 5-12). Analysis of variance comparing [metabolites]/[monoamines] ratios during stress. Lumbar EA and Hindlimb EA groups revealed a statistically significant difference. Scheffe post-hoc comparison revealed a significant difference between stressed and Lumbar EA, stressed and Hindlimb EA, and Lumbar EA and Hindlimb EA groups. Significant differences from stressed group: *P<0.05, **P<0.01 or from the Lumbar EA group: †P<0.05, ††P<0.01. FC: prefrontal cortex, ACC: nucleus accumbens, C/P: caudate and putamen, V/S: ventral tegmental area and substantia nigra, DRN: dorsal raphe nucleus, LH: lateral hypothalamus, HP: hippocampus, AMY: amygdala.

Table 3

[DOPAC]/[DA] ratio

	FC	ACC	C/P	V/S	DRN	LH	HP	AMY
Stressed	0.64 \pm 0.46	0.27 \pm 0.18	0.22 \pm 0.06	0.41 \pm 0.33	0.46 \pm 0.01	0.64 \pm 0.38	1.17 \pm 0.48	0.20 \pm 0.07
Lumbar EA	0.81 \pm 0.65	0.42 \pm 0.04	0.48 \pm 0.23	0.41 \pm 0.20	1.11 \pm 0.53*	0.32 \pm 0.05	0.51 \pm 0.15*	0.93 \pm 0.63
Hindlimb EA	1.34 \pm 0.30*	0.30 \pm 0.04	0.22 \pm 0.10	0.34 \pm 0.17	1.25 \pm 0.31*	0.45 \pm 0.14	1.02 \pm 0.41	0.56 \pm 0.11*

[5-HIAA]/[5-HT] ratio

	FC	ACC	C/P	V/S	DRN	LH	HP	AMY
Stressed	5.72 \pm 0.73	1.52 \pm 0.22	5.82 \pm 1.83	1.86 \pm 0.84	2.86 \pm 0.88	9.90 \pm 5.56	4.55 \pm 2.16	1.65 \pm 0.24
Lumbar EA	4.90 \pm 3.03	2.58 \pm 1.09*	10.55 \pm 2.41**	2.05 \pm 0.61	4.17 \pm 0.69	2.26 \pm 1.51*	3.92 \pm 1.50	2.03 \pm 0.39
Hindlimb EA	1.64 \pm 0.22*	1.48 \pm 0.36	1.57 \pm 0.27*††	1.45 \pm 0.20	2.22 \pm 0.35†	2.06 \pm 0.45*	2.50 \pm 0.41	2.04 \pm 0.84

用を示した。

一方、高頻度の鍼通電刺激についてみると、DA量は腰部鍼通電刺激群に比べて、下肢鍼通電刺激群において前頭前野皮質と外側視床下部でそれぞれ約24%、約40%と有意に低値を示した (Fig. 7)。5-HT量は腰部鍼通電刺激群に比べて、下肢鍼通電刺激群では側坐核、線条体及び外側視床下部でそれぞれ約181%、約546%、及び約222%と有意に高値を示した (Fig. 8)。 $[DOPAC] / [DA]$ 比では腰部鍼通電刺激群と下肢鍼通電刺激群で有意な差はみられなかった (Table 3)。 $[5-HIAA] / [5-HT]$ 比では線条体と背側縫線核において腰部鍼通電刺激群に比べて、下肢鍼通電刺激群でそれぞれ有意に低値を示した (Table 3)。

高頻度鍼通電刺激では腰部鍼通電刺激は外側視床下部のDA系に、下肢鍼通電刺激は側坐核、線条体、外側視床下部の5-HT系に対してより強い作用を示した。

IV. 考 察

鍼刺激あるいは鍼治療のストレスに対する効果に関する報告は、少ないながらも幾つか報告されている。

動物実験では、Hanらは麻酔ラットを用いてストレスにより増加した末梢血中のノルエピネフリン、DA、コルチコステロン、ACTHが鍼通電刺激により減少し、ナロキソンの前処置によりこれらの効果が減弱したことより、鍼通電刺激は鎮痛効果だけでなく、内因性オピオイドを介してストレス反応の抑制にも効果的である¹¹⁾と報告し、Guimaraesらは拘束ストレス負荷を与えたラットに鍼刺激を行った研究から、鍼刺激は拘束ストレスによる行動学的変化を抑制し、拘束ストレスに対する精神安定効果があると仮説を述べている¹²⁾。さらに、吉本らは拘束ストレス負荷ラットのアルコール摂取行動に及ぼす鍼通電刺激の効果について検討し、足三里穴への鍼通電刺激によりアルコール摂取行動の抑制を認め、この反応は報償系神経適応仮説によるストレスに対するアルコール補完作用と視床下部-下垂体-副腎系(hypothalamus-pituitary-adrenal: HPA)神経系の相乗効果が示唆されたと報告している¹³⁾。

上記のように、鍼通電刺激を含む鍼刺激はストレス緩和に対して効果的であり、それは中枢神経

系を介したりラクゼーション効果あるいは内在性オピオイドの関与などによると示唆されている。

一方、ファンクショナルMIRを用いた鍼刺激の中枢神経経路の研究では、足三里穴と合谷穴の鍼刺激により視床下部、側坐核が活性化し、扁桃体や海馬では賦活がみられなかったと報告されている³⁵⁾。このように四肢あるいは体幹部の鍼刺激は明らかに中枢神経系に伝達され、何らかの生体反応を引き起こすことは明瞭であるが、その詳細な機序については不明のままである。

一方、ストレス研究は、今や脳を中心とした神経化学的な研究が中心である。拘束ストレスに対する脳内反応については、主としてカテコールアミン作動性神経系と5-HT神経系に焦点を当てて研究が進められており、これまでのところ、急性ストレスは脳内のDA作動性神経の活性を高め、特に中脳辺縁系のDA代謝やDA放出がストレスにより活性化されることが明らかにされている⁵⁻⁹⁾。また、中脳辺縁系DA神経系は脳報償系としても知られており³⁶⁾、脳報償系はストレスによる不安などの情動反応やストレスに対する適応反応に関与するとの報告もあり、ストレス研究において重要な位置を占めている。

なお、脳報償系の存在が確認されたのは1953年で、OldsとMilnerは網様体賦活系の機能についての実験で、その存在を偶然発見した³⁷⁾。その後の脳内自己刺激行動による一連の研究から、報償効果のある脳内報償部位は、腹側被蓋野から外側視床下部を縦に貫く内側前脳束を中心とする領域であることが明らかにされている。さらに、ヒトでも動物と同様に報償効果をもたらす脳部位が存在することが明らかにされている³⁸⁾。

報償効果を左右する化学物質について、最初にノルアドレナリン仮説が提唱された³⁹⁻⁴⁰⁾。しかし、この仮説はその後の研究により脳内ノルアドレナリン濃度を10%以下に減少させても自己刺激は影響を受けないという報告や、ノルアドレナリン線維の主要な起始細胞核の1つである青斑核では自己刺激が起こらない⁴¹⁻⁴²⁾ことなどから、現在ではノルアドレナリン作動性系の直接的関与は疑問視されている。これに代わって、DA作動性系によって惹起されるというDA説が登場した。DAを選択的に枯渇させると自己刺激が抑制され、DAを枯渇したラットにアンフェタミンを投与し

でも自己刺激は低下したままであることがわかった⁴³⁾。DA拮抗薬であるハロペリドールやスピロペリドール、ピモジドなどの投与によって、内側前脳束、側坐核、中隔、腹側被蓋野などの自己刺激は抑制されることもわかった⁴⁴⁾。自己刺激により前脳DA投射領域でのDA濃度が上昇すること⁴⁵⁾や、依存性薬物であるモルヒネ、コカイン、ニコチン、エタノールなどでも同様にDA放出を伴うことなどの根拠から⁴⁶⁻⁴⁷⁾、DA説は現在有力視されている。また、内側前脳束で自己刺激をもたらす神経線維の電気生理学的研究により中隔、及びその周辺の前脳基底部の細胞体を起始とする下行性線維が腹側被蓋野に存在するA10系を興奮させるという下行性経路説もある⁴⁸⁻⁴⁹⁾。梅本やV elleyらは報酬系を司る神経線維は外側視床下部や腹側被蓋野、側坐核などに存在する内在性非カテコールアミン線維(オピオイド物質)であり、このニューロンがノルアドレナリン及びDA性入力によっても賦活され、痛みや苦痛などを伴うストレス反応に抑制的な働きをすると結論している⁵⁰⁻⁵¹⁾。

そこで筆者は、これまでのヒト及び動物実験の知見を踏まえて、鍼刺激のストレス緩和効果、及び快刺激としてのリラクゼーション効果の可能性についての検討として、脳報酬系を中心としたDA作動性神経系と5-HT作動性神経系における脳内モノアミン変動に焦点を当てて研究を行うこととした。今回の研究では拘束ストレス負荷状態のラットに刺激頻度、刺激部位の異なる鍼通電刺激を行い、脳報酬系を中心とした各脳部位におけるDA量と5-HT量、それらの代謝産物量の変化を分析し、鍼通電刺激が拘束ストレスラットにおける脳報酬系モノアミン作動性神経系に対してどのように反応するのかを検討した。

1. 拘束ストレスによる脳内モノアミン量の変化

今回の研究で用いた拘束ストレスでは、一時的に極軽度のハロセン麻酔を行った。ハロセン麻酔が神経伝達に及ぼす影響としては、嗅球切片を用いた電気泳動による実験から神経伝達物質の放出を抑制し、脳内神経伝達物質の測定による実験からは、アセチルコリンの代謝回転が抑制され、DAとノルエピネフリン含有量に対する作用は部位により著しい差がみられ、5-HT含有量は縫線核

で増加することが明らかにされている⁵²⁾。しかし、極軽度のハロセン麻酔によるモノアミン量の変化に対する経時的変化については明らかにされていない。そのため予備実験としてハロセン麻酔の脳内モノアミン量、及びそれらの代謝産物量に対する影響について検討を行った。その結果、極軽度のハロセン麻酔後24時間ではラットの脳内モノアミン量、及びそれらの代謝産物量に有意な違いはみられなかった。この結果より本実験でのハロセン麻酔による脳内モノアミン作動性神経系に対する影響は、消失しているものと考えられた。

脳内モノアミン代謝回転の変化については、MAO Inhibitorを用いてDOPACとDAまたは5-HIAAと5-HTの変化を経時的に確認すべきであり、さらにDAの放出機能変化については、チロシン水酸化酵素阻害剤である α -methyl-p-tyrosine等を用いてDAの変化を確認してDA利用率の確認が必要である。しかし、Fichは、モノアミン代謝物に対するモノアミン量の比について、一部モノアミンの放出の指標に用いており⁵³⁾、今回の研究結果についてもそれらの比の変化を検討した。

今回の研究では側坐核のDA量が拘束ストレスにより減少した(Fig. 3)が、側坐核の[DOPAC]/[DA]比には変化はみられなかった(Table 1)。一般的に急性の拘束ストレスは側坐核におけるDA放出を増加させることが知られている⁵⁴⁾が、今回の拘束ストレス負荷では側坐核におけるDA量減少と、[DOPAC]/[DA]比には変化がみられなかったことから、拘束ストレスにより側坐核におけるDA放出は減少したことが示唆されたが、その原因としてDA生合成の活性低下を来している可能性が考えられ、今後DA生合成の律速酵素であるTyrosine hydroxylase活性について検討が必要と考えられる。

なお、同じA10系の投射領域である前頭前野皮質ではDA量、[DOPAC]/[DA]比ともに拘束ストレスによる変化はみられなかった。このことはCabibらの研究による反復ストレスが中脳辺縁系DA系と中脳皮質系DA系に対して異なる適応反応を引き起こすという報告⁵⁵⁾と一致した結果が得られた。一方、側坐核におけるDA放出は、5-HT₂受容体が制御しているという報告があり、ストレスに対するDA放出の変化に対しても5-HT₂受容体の関与が想定される⁵⁶⁾。そこで5-HT系につい

てみると、今回の実験結果では側坐核と前頭前野皮質で、ともに5-HT量は減少し、[5-HIAA]/[5-HT]比は増大するという結果が得られた(Fig. 4, Table 1). このことは側坐核と前頭前野皮質における5-HT系の代謝活性については、急性拘束ストレス負荷に対して5-HT代謝回転の減少反応を示すことが示唆された。

一方、A10系の起始部位である腹側被蓋野におけるDA量と[DOPAC]/[DA]比は、ともにストレスによる変化はみられなかった。腹側被蓋野は側坐核からGABA作動性神経による調節を受けており、ストレスによる側坐核の興奮がGABA作動性神経を介してA10系を抑制する負のフィードバックが働いている可能性が示唆されるが、詳細についてはbrain microdialysis法などを用いてストレスによるドパミン動態の変化を経時的に追跡する必要がある。また、今回の研究では拘束ストレスにより側坐核におけるDA量と5-HT量が減少したのに対し、背側縫線核におけるDA量と5-HT量は増加した(Fig. 3, Fig. 4). これらの対照的な変化は、背側縫線核における5-HT作動性神経系が腹側被蓋野-側坐核を結ぶ中脳辺縁系DA系を調節しているという報告⁵⁷⁾から、側坐核におけるモノアミンレベルの減少を背側縫線核の5-HT作動性神経系が補完している可能性を示していると考えられた。

A9系の投射領域である線条体ではDA量、及び[DOPAC]/[DA]比ともにストレスにより減少した(Fig. 3, Table 1). このことから拘束ストレスにより線条体におけるDA合成能の抑制と代謝分解能の促進が示唆された。線条体における5-HT量はストレスにより減少したが(Fig. 2), [5-HIAA]/[5-HT]比は変化がみられず、線条体における5-HT放出は拘束ストレスにより抑制された可能性が考えられたが、同時に5-HT生合成の低下の可能性も否定できず、5-HT生合成の律速酵素であるTryptophan hydroxylase活性についての検討が今後必要であると思われる。対照的に、線条体に5-HT作動性神経を直接投射している背側縫線核では5-HT放出の増大が示唆された(Fig. 4, Table 1). 5-HT作動性神経の起始部位と投射部位でのこの反応の違いについてはストレスによる自発行動の変化に関連している可能性が考えられるが、詳細については明らかではなく、今後の検

討課題である。以上のことから側坐核・前頭前野皮質のDA系、すなわちA10系と線条体のDA系であるA9系では急性拘束ストレスに対する反応は異なることが示唆された。

ストレスに対する生体反応として最も重要な働きをする部位はHPA神経系である。今回の実験結果では拘束ストレスにより外側視床下部におけるDA量と5-HT量が減少し、[5-HIAA]/[5-HT]比が増加したことから(Fig. 3, Fig. 4, Table 1), HPA神経系を介した脳内モノアミン作動性神経系にストレスが作用していることが示唆された。また、視床下部の中でも外側視床下部は前述したようにA10系が通っており、正の強化あるいは負の強化の識別や学習に関与している⁵⁸⁾ことから、DA放出減少と5-HT放出の増大を示唆した今回の実験結果は、外側視床下部が拘束ストレスに対する情動的な識別や学習に対して働いていることを反映している可能性が示唆された。

扁桃体は感覚入力の情動的評価において中心的な役割を果たしている⁵⁹⁾。今回の結果では、扁桃体のDA量はストレスにより変化しなかったが、[DOPAC]/[DA]比はストレスにより減少した(Table 1). また、海馬は行動系列の決定をはじめとする行動の組み立てに深く関与している。さらに、扁桃体と海馬の関係についてみると、扁桃体で情動的評価を受けた情報が海馬へ送られ、前頭前野皮質及び海馬の神経回路で発生した認知情報が扁桃体へ送られ、感覚入力の情動的評価にも働きかけているとされている⁶⁰⁾。今回の拘束ストレス負荷では海馬におけるモノアミン量と[代謝産物]/[モノアミン]比に変化はみられなかった。しかし、拘束ストレスが空間認知や時間情報の処理、作動記憶などに影響を及ぼさないことは考えにくいことから、ストレス負荷から24時間後ではすでに海馬におけるこれらの情報処理が終了しており、そのためにモノアミン作動性神経系の活性化もみられなかったものと考えられた。

2. 鍼通電刺激による脳内モノアミン量の変化

今回の研究では拘束ストレス負荷状態のラットに刺激頻度、刺激部位の異なる鍼通電刺激を行い、脳報酬系を中心とした各脳部位におけるDA量と5-HT量、及びそれらの代謝産物量の変化を分析し、鍼通電刺激が拘束ストレスラットにおける脳

報酬系モノアミン作動性神経系に対してどのように影響するのかを検討した。

1) 各脳部位における鍼通電刺激の影響

側坐核のDA量は、低頻度刺激では腰部刺激群、下肢刺激群のいずれの刺激部位でも拘束ストレス群に比べ増加した(Fig. 5)。しかし、高頻度刺激についてみると腰部刺激群では変化がみられなかったが、下肢刺激群では拘束ストレス群に比べて増加した(Fig. 7)。さらに、低頻度刺激では前頭前野皮質におけるDA量の変化がみられなかったが、高頻度刺激では腰部刺激群でDA量が拘束ストレス群に比べて増加し、下肢刺激群で[DOPAC]/[DA]比が増加した(Fig. 7, Table 3)。これらの結果から低頻度鍼通電刺激は刺激部位に関係なく中脳辺縁系DA系に作用しているのに対して、高頻度鍼通電刺激では刺激部位の違いにより作用するDA系が異なることが示唆された。

側坐核の5-HT量についても同様で、低頻度刺激では腰部刺激群、下肢刺激群のいずれの刺激部位でも増加がみられ(Fig. 6)、高頻度刺激では下肢刺激群でのみ5-HT量の増加がみられた(Fig. 8)。前頭前野皮質についてみると、低頻度刺激では側坐核における結果と同様で、腰部刺激群、下肢刺激群ともに拘束ストレス群に比べて増加していたが(Fig. 6)、高頻度刺激ではいずれの刺激でも5-HT量の変化は認められなかった。側坐核における5-HT作動性神経系に対する鍼通電刺激の影響は、DA作動性神経系と同様であると考えられるが、拘束ストレス負荷状態では前頭前野皮質における5-HT系の反応の違いは、前頭前野皮質の5-HT系は高頻度刺激に対する感受性がほとんどなく、低頻度刺激に対する感受性が高まっているものと考えられた。

線条体のDA量は低頻度の腰部刺激、及び下肢刺激のいずれの鍼通電刺激でも拘束ストレスラットに比べ増加がみられたが(Fig. 5)、高頻度鍼通電刺激ではいずれの刺激部位でもDA量には変化はみられなかった。しかし、線条体の5-HT量は低頻度下肢刺激、高頻度下肢刺激で増加がみられ、低頻度腰部刺激、高頻度腰部刺激では変化がみられなかった(Fig. 6, Fig. 8)。これらの結果は線条体のDA系に対しては刺激部位に関係なく高頻度刺激よりも低頻度刺激でより影響が強く、線条体の5-HT系に対しては刺激頻度に関係なく腰部

刺激よりも下肢刺激でより強い作用が発現することが示唆された。さらにいずれの刺激でも[DOA PC]/[DA]比に変化がみられなかったことより、DA系におけるこれらの変化はすべてDA系の合成能や代謝分解能の変化が示唆された。

脳内のDA神経系と5-HT神経系の間には、ある脳部位におけるDA系を他の脳部位からの5-HT系が補完したり、または5-HT系をDA系が補完するなど、DA系と5-HT系が互いに補完しあうheterotypic sproutingがあり、またそれぞれの神経系についても、ある脳部位におけるDA系を他の脳部位からのDA系が補完したり、5-HT系でも同様に補完しあうhomotypic sproutingがあることが明らかにされている⁵⁹⁻⁶⁰。また、Yoshimotoraは神経薬理的な検討から脳報酬系においてもheterotypic sproutingの存在を確認している⁶¹⁻⁶²。そこで側坐核、前頭前野皮質及び線条体における結果を併せて考えると、刺激部位や刺激頻度によるこれらの脳部位におけるモノアミン量の変化には、これらのheterotypic sproutingやhomotypic sproutingの関与も否定できないが、詳細は不明であり、今後の研究課題である。

また、鍼通電刺激は中枢神経系におけるオピオイド受容体に対して作用することが数多く報告されている⁶³⁻⁶⁷。 μ 受容体は中枢神経系全体にわたって広く分布し、前頭前野皮質、線条体、側坐核、視床、海馬、扁桃体などには高密度に存在し、中脳中心灰白質や縫線核には中等度に存在する⁶⁸。また、オピオイド受容体のmRNAはオピオイド・ペプチド以外のニューロン内に存在することが見出されており、オピオイド受容体が他の神経伝達物質を制御していると考えられており、 μ 受容体は介在するGABAニューロンを抑制することにより、DAの放出を促進するように働くことが明らかにされている⁶⁹。これらのことは本研究でみられたDA量の増加が、 μ 受容体を介してGABAニューロンが抑制された結果として現れた可能性も示唆している。これらの結果から、同じ条件の鍼通電刺激を与えても、A10系とA9系に対しては異なるモノアミン変動を引き起こすことが考えられた。

背側縫線核におけるDA量と5-HT量は拘束ストレス負荷により他の部位と対照的な反応を示したが、低頻度下肢鍼通電刺激ではDA量、5-HT量と

もに拘束ストレス群に比べて減少しており(Fig. 5, Fig. 6), 高頻度鍼通電刺激ではDA量は腰部刺激, 下肢刺激のいずれでも減少し(Fig. 7), [DOPAC]/[DA]比はいずれも増大した(Table 3). 低頻度の下肢刺激では[DOPAC]/[DA]比と[5-HIAA]/[5-HT]比に変化がみられなかったことより, これらの結果は低頻度下肢鍼通電刺激により背側縫線核におけるDAと5-HTの放出の変化, あるいは代謝分解能の変化が生じたものと考えられた. また, 高頻度の刺激では腰部刺激, 下肢刺激ともにDA代謝回転が回復したことが示唆された. 上記のことから, 低頻度下肢鍼通電刺激は拘束ストレス負荷により変化したDA系と5-HT系をともに補完し, 高頻度の鍼通電刺激は腰部, 下肢いずれの鍼通電刺激でもDA系のみを補完する可能性が示唆された.

外側視床下部のDA量と5-HT量は, 低頻度刺激では腰部刺激, 下肢刺激のいずれでも鍼通電刺激により拘束ストレス群に比べ増加し(Fig. 5, Fig. 6), モノアミンと代謝産物の比はいずれも低下した(Table 2). しかし, 高頻度刺激ではDA量は腰部刺激でのみ増加したのに対し, 5-HT量は下肢刺激でのみ増加した(Fig. 7, Fig. 8). [DOPAC]/[DA]比はいずれの刺激でも変化がみられず, [5-HIAA]/[5-HT]比は腰部刺激, 下肢刺激ともに減少した(Table 3). これらの結果は低頻度鍼通電刺激では刺激部位に関係なく, DAと5-HTの生合成の低下と代謝分解能の増加が考えられ, 高頻度鍼通電刺激では腰部刺激によりDA系においてのみ低頻度鍼通電刺激と同じ傾向が認められた.

外側視床下部でみられた結果は, 鍼通電刺激は刺激部位や刺激頻度に関係なくモノアミン神経系の生合成を増大させる傾向が示唆された. また, 鍼通電刺激の求心路は脊髄から大縫線核や巨細胞網様核などに伝達された後, 背側中脳中心灰白質を介して外側視床下部に至るとされており⁷⁰⁻⁷², 電気刺激によりTH活性が上昇するとの報告もある⁷³. 外側視床下部のモノアミン量とそれらの代謝産物量の比の変化が腰部と下肢の両方の鍼通電刺激で引き起こされたことより, 上述の鍼通電刺激のシグナル経路を賦活している可能性が, 脳内のモノアミン作動性神経系の変化から示唆された.

今回の実験では海馬におけるモノアミン量及び

代謝産物との比は, 高頻度腰部鍼通電刺激以外はいずれの鍼通電刺激でも変化しなかった. Okumuraらはマウスの腎兪穴相当部位へ皮内鍼を20日間留置し, 海馬におけるDA量の変化はみられなかったものの, HVA量とDOPAC量が留置開始から3日後に増加したことから, 鍼刺激はDA代謝を増大させる可能性がある²³. さらに, 卵巣摘出マウスの腎兪穴相当部位への皮内鍼留置も行っており, 卵巣摘出により減少した皮質, 腹側海馬, 嗅球におけるノルエピネフリン, 及び嗅球におけるDAが皮内鍼留置により増加し, HPA神経系を活性化することが予想されると報告している²². 今回行った拘束ストレス負荷のみでも海馬におけるモノアミン量に変化がみられなかったことと, 正常な動物と卵巣摘出動物, 拘束ストレス負荷動物等のモデル動物の違いにより異なる結果が得られたものと考えられた.

過去に行われたモノアミン神経伝達物質に関する鍼通電刺激の影響についての研究では, 鍼通電刺激による脳内5-HT量の変化についてはほぼ一致した報告がなされているが, 鍼通電刺激によるDA量の変化については様々な結果が報告されている. Sunらは無麻酔ラットを拘束固定しながら足三里穴相当部位へ4Hz, 30分間の鍼通電刺激を行い, 視床下部, 小脳, 橋, 中脳, 大脳皮質におけるDA量は変化しなかったが, 尾状核では減少したと報告しており²⁰, Wangらはラットの手三里穴相当部位に10Hz, 6V, 25分間の鍼通電刺激を行い, 脳幹でDA量が増加したものの, 間脳と終脳ではDA量に変化はみられなかったとしている⁷⁴. Wangらはさらに別の研究で上述の刺激を同様に行い, 脳幹と間脳におけるDA量が鍼通電刺激で増加し, 間脳のDA量増加はアトロピン処置で消失したが, 脳幹におけるDA量増加には影響を及ぼさなかったと報告している⁷⁵. これらの相違は先に述べたようにモデル動物の違い, さらに刺激条件の違いも大きく関与している可能性が考えられた. 30分以上の長時間に及ぶ鍼通電刺激は鍼鎮痛に対して耐性形成が示唆されている⁷⁶⁻⁷⁷. 今回の研究では刺激時間を10分間に設定したが, この設定時間では耐性は生じることはなく, より直接的な鍼通電刺激効果を示す結果が得られたものと考えられた. 以上のことから鍼通電刺激では, 脳報酬系モノアミン作動性神経系は刺

激頻度及び刺激部位の違いにより異なる反応を示すことが示唆された。また、今回用いた低頻度鍼通電刺激は筋収縮が生じる強度で行っており、低頻度鍼通電刺激によりみられたDA系および5-HT系の変動は、筋収縮に伴って生じる入力刺激により変動したことも考えられ、今後筋収縮のみられない強度での検討、および拘束ストレスに対する筋収縮反応の影響についての検討も必要である。

2) 刺激部位の違いによる脳内モノアミンの変化

今回の研究では2つの異なる部位に鍼通電刺激を行い、それらの効果の違いについて検討を行った。刺激部位は腰部刺激として腎俞穴相当部位を、下肢刺激として足三里穴相当部位を選択した。刺激部位の選択は、実験動物に対して鍼通電刺激を行いやすいということ、体幹部の鍼刺激と末梢部の鍼刺激に対する生体反応の違いが報告されている¹⁶⁻¹⁷⁾ことより、これらの刺激部位を選択した。さらに、これらの部位における経穴の選択理由としては臨床において頻繁に用いられるということ、精神疾患の治療としても用いられることなどである。しかし、実験動物を用いた鍼通電刺激の中樞神経系に対する効果についての報告は数多くあるが、刺激部位を比較検討した研究の報告はほとんどない。

低頻度鍼通電刺激におけるDA量は刺激部位の違いでは変化がみられなかったが、5-HT量は線条体では下肢刺激の方が増加していたのに対し、海馬では下肢刺激の方が低い値であった(Fig. 6)。いずれも[5-HIAA]/[5-HT]比に有意な差がみられなかったことより、これらの5-HT系の変動については筋収縮による可能性も否定できないものの、下肢刺激は線条体における5-HT放出、または代謝分解能を変化させ、腰部刺激は海馬における5-HT放出、または代謝分解能を変化させるものと示唆された。さらに、中脳黒質・腹側被蓋野では5-HT量に変化はみられなかったが、[5-HIAA]/[5-HT]比は下肢刺激に比べ腰部刺激で増大したことから(Table 2)、腰部刺激は中脳黒質・腹側被蓋野における5-HT代謝分解能を変化させることが示唆された。腰部低頻度鍼通電刺激は記憶、学習によるストレス耐性の形成や、A9系及びA10系などのDA神経系の起始部に対してより特異的に作用し、下肢低頻度鍼通電刺激は情動行動などの運動調節に対してより特異的に作用する可能

性が考えられた。

高頻度刺激についてみると、DA量は前頭前野皮質及び外側視床下部において下肢刺激に比べ腰部刺激で増加したが(Fig. 7)、それぞれの部位における[DOPAC]/[DA]比に変化はみられなかった。また、5-HT量は側坐核、線条体、外側視床下部で腰部刺激に比べ下肢刺激において増加し(Fig. 8)、側坐核と外側視床下部では[5-HIAA]/[5-HT]比に変化はみられなかったものの、線条体では[5-HIAA]/[5-HT]比が腰部刺激に比べて下肢刺激で低値を示した(Table 3)。さらに背側縫線核では腰部刺激に比べて下肢刺激で[5-HIAA]/[5-HT]比のみが低値を示した(Table 3)。これらの結果から、腰部刺激は下肢刺激と比較して前頭前野皮質と外側視床下部のDA量を増大し、背側縫線核の5-HT量を増大させた。また、下肢刺激は腰部刺激と比較して側坐核と外側視床下部の5-HT放出を増加し、線条体では5-HT放出の増大及び5-HT代謝回転を増大させることが示唆された。上記のことより、高頻度腰部鍼通電刺激は背側縫線核から中脳皮質系DA系へと広範囲に作用する可能性が考えられ、高頻度下肢鍼通電刺激は辺縁系、基底核、視床下部の5-HT系へより特異的に作用する可能性が示唆された。

以上のことより、拘束ストレスに対する刺激部位及び刺激頻度の異なる鍼通電刺激の比較検討の結果、鍼通電刺激は拘束ストレスによるモノアミン系の変動への補完作用を示した。鍼通電刺激の刺激部位や刺激頻度の違いにより活性化する脳部位は異なり、作用するモノアミンについても異なることが示唆された。すなわち鍼通電刺激によるストレスに対する適応反応が異なる経路で生じる可能性が考えられた。なお適応反応の機序に関してはさらに直接的なモノアミン放出をみるbrain microdialysisなどを用いて検討し、慢性的なストレスを負荷したラットに対する鍼通電刺激の効果についての研究も必要であり、これらについては今後の検討課題である。

V. 結語

拘束ストレス状態におけるラットへの鍼通電刺激の効果について、脳報酬系を中心とした脳各部位のドーパミン(DA)量、セロトニン(5-HT)量、及びそれらの代謝産物量を指標として、刺激部位

と刺激頻度の違いから検討した結果、下記の事項が明らかとなった。

1) 拘束ストレスは脳報酬系であるA9系とA10系に作用し、背側縫線核はストレス作用を補完しており、これらの反応にはHPA神経系からの影響を受けているものと考えられた。

2) 拘束ストレス負荷による脳報酬系モノアミン量の変化に対する鍼通電刺激の効果は、低頻度刺激では刺激部位に関係なく中脳辺縁系DA系と外側視床下部に対して作用し、前頭前野皮質の5-HT神経系と線条体のDA神経系に対する感受性が強く認められた。

3) 低頻度下肢鍼通電刺激は、拘束ストレス下における背側縫線核のDA、5-HT量を増加させた。

4) 高頻度腰部鍼通電刺激は、中脳皮質系DA系や外側視床下部のDA神経系、背側縫線核の5-HT系神経系に対してより強く作用し、拘束ストレス下における背側縫線核のDA量と外側視床下部の5-HT量の増加に対しては抑制的に働き、高頻度下肢鍼通電刺激は中脳辺縁系DA系や外側視床下部の5-HT神経系に対してより強く作用し、背側縫線核のモノアミン増加に対して抑制傾向を示した。

5) A9系とA10系におけるストレス作用に対する鍼通電刺激反応の相違を認めた。

以上のことから、鍼通電刺激はストレスによるモノアミン系の変動を補完するように働くことが明らかとなった。さらに刺激部位や刺激頻度の違いにより活性化する脳部位、及び作用するモノアミンについても異なる反応を示し、鍼通電刺激によるストレスに対する適応反応が異なる経路で生じる可能性が示唆された。また低頻度鍼通電刺激でみられたモノアミン変動は筋収縮によるものである可能性も考えられた。よって拘束ストレスによる情動反応に対する鍼通電刺激の有効性が示唆され、ストレスをはじめとする心身医学における鍼通電療法の臨床応用についても期待できる可能性を示すものと考えられる。

謝 辞

稿を終えるにあたり、終始御懇切なる御指導と御校閲を賜りました臨床鍼灸医学教室・矢野忠教授、京都府立医科大学法医学教室・安原正博教授に深謝いたしますとともに、直接御指導、御鞭撻

いただきました、京都府立医科大学法医学教室・吉本寛司講師に謝意を表します。また、明治鍼灸大学内科学教室・山村義治教授、解剖学教室・熊本賢三助教授、臨床鍼灸医学教室・石崎直人講師、福田文彦助手、京都府立医科大学法医学教室の諸先生方及び臨床鍼灸医学教室の諸先生方に貴重な助言と実験協力を頂きました。ここに深謝いたします。

参考文献

- 1) 厚生省大臣官房統計情報部：3年毎（大規模調査年）国民生活基礎調査 第2巻 全国編，厚生統計協会，2000。
- 2) 田中正敏：ストレスと神経伝達物質。治療学，25：765-772，1991。
- 3) 田中正敏：ストレスと不安の神経科学 特に脳内noradrenalineの動態。自律神経，29：199-216，1992。
- 4) 田中正敏：動物実験におけるストレス負荷法。日薬理誌，102：69-76，1993。
- 5) Puglisi-Allegra S, Imperato A, Angelucci L et al: Acute stress induces time-dependent responses in dopamine mesolimbic system. Brain Res, 554: 217-222, 1991.
- 6) Stanislaw JC, Richard JW, Joseph MM.: Effects of single and repeated footshock on dopamine release and metabolism in the brains of Fischer rats. J Neurochem, 68: 2024-2031, 1997.
- 7) Morrow BA, Elsworth JD, Rasmusson AM et al: The role of mesoprefrontal dopamine neurons in the acquisition and expression of conditioned fear in the rat. Neuroscience, 92: 553-564, 1999.
- 8) Wu YL, Yoshida M, Emoto H et al: Psychological stress selectively increases extracellular dopamine in the shell, but not in the core of the rat nucleus accumbens: a novel dual-needle probe simultaneous microdialysis study. Neuroscience Lett, 275: 69-72, 1999.
- 9) Yoshioka M., Matsumoto M., Togashi H et al: Effect of conditioned fear stress on dopamine release in the rat prefrontal cortex. Neuroscience Lett, 209: 201-203, 1996.
- 10) Goldstein LE, Rasmusson AM, Bunney BS et al: Role of the amygdala in the coordination of behavioral, neuroendocrine, and prefrontal cortical monoamine responses to psychological stress in the rat. J Neuroscience, 16: 4787-4798, 1996.
- 11) Han SH, Yoon SH, Cho YW et al: Inhibitory

- effects of electroacupuncture on stress responses evoked by tooth-pulp stimulation in rats. *Physiol Behav*, 66: 217-222, 1999.
- 12) Guimaraes CM, Pingue MC, Yamamura Y et al: Effects of acupuncture on behavioral, cardiovascular and hormonal responses in restraint-stressed Wistar rats. *Braz J Med Biol Res*, 30: 1445-50, 1997.
 - 13) 矢野忠, 森和, 行待寿: ストレスからの解放そして鍼灸 中枢神経機能からみた鍼灸のストレス緩和の効果について. *全日本鍼灸学会雑誌*, 43: 143-153, 1993.
 - 14) 吉本寛司, 反町吉秀, 安原正博ら: 経穴鍼通電刺激によるラットアルコール摂取行動の変化について. *アルコール医学生物学研究*, 20: 40-43, 2000.
 - 15) 加藤麦, 福田文彦, 石崎直人ら: 糖尿病ラットのインスリン抵抗性に及ぼす鍼通電刺激の影響. *日本東洋医学雑誌*, 50: 439-449, 1999.
 - 16) 今井賢治: Electrogastrography (EGG)を指標とした鍼刺激の効果及び外科領域におけるその応用に関する研究. *明治鍼灸医学*, 12: 45-54, 1993.
 - 17) 和辻直, 篠原昭二, 今井賢治ら: 消化管ホルモン, 消化酵素に及ぼす鍼通電刺激の影響. *明治鍼灸医学*, 13: 59-67, 1993.
 - 18) Wang Q, Mao L, Han J: The arcuate nucleus of hypothalamus mediates low but not high frequency electroacupuncture analgesia in rats. *Brain Res*, 513: 60-66, 1990.
 - 19) Lee JH, Beitz AJ: Electroacupuncture modifies the expression of c-fos in the spinal cord induced by noxious stimulation. *Brain Res*, 577: 80-91, 1992.
 - 20) Scherder EJA, Bouma A: Possible role of the nucleus raphe dorsalis analgesia by peripheral stimulation: theoretical considerations. *Acupuncture & Electro-Therapeutics Res*, 18: 195-205, 1993.
 - 21) Kwon Y, Kang M, Ahn C, et al: Effect of high or low frequency electroacupuncture on the cellular activity of catecholaminergic neurons in the brain stem. *Acupuncture & Electro-Therapeutics Res*, 25: 27-36, 2000.
 - 22) Toriizuka K, Okumura M, Iijima K et al: Acupuncture inhibits the decrease in brain catecholamine contents and the impairment of passive avoidance task in ovariectomized mice. *Acupuncture & Electro-Therapeutics Res*, 24: 45-57, 1999.
 - 23) Okumura M, Toriizuka K, Iijima K et al: Effects of acupuncture on peripheral T lymphocyte subpopulation and amounts of cerebral catecholamines in mice. *Acupuncture & Electro-Therapeutics Res*, 24: 127-139, 1999.
 - 24) Sun AY, Boney F, Lee DZ: Electroacupuncture alters catecholamines in brain regions of rats. *Neurochem Res*, 10: 251-258, 1984.
 - 25) He L, Wang M, Gao M et al: Expression of c-fos protein in serotonergic neurons of rat brainstem following electro-acupuncture. *Acupuncture & Electro-Therapeutics Res*, 17: 243-248, 1992.
 - 26) Pan B, Castro-Lopes JM, Coimbra A: C-fos expression in the hypothalamo-pituitary system induced by electroacupuncture or noxious stimulation. *NeuroReport*, 5: 1649-1652, 1994.
 - 27) Zhou L, Wu GC, Cao XD: Role of opioid peptides of rat's nucleus reticularis paraventricularis lateralis (RPGL) in acupuncture analgesia. *Acupuncture & Electro-Therapeutics Res*, 20: 89-100, 1995.
 - 28) Wang H, Li KY, Wu GC et al: C-fos expression in spinal cord and brainstem following noxious stimulation and electroacupuncture plus noxious stimulation. *Acupuncture & Electro-Therapeutics Res*, 20: 163-172, 1995.
 - 29) Gao M, Wang M, Li K et al: Changes of μ opioid receptor binding sites in rat brain following electroacupuncture. *Acupuncture & Electro-Therapeutics Res*, 22: 161-166, 1997.
 - 30) Wang YQ, Cao XD, Wu GC: Role of dopamine receptors and the changes of the tyrosine hydroxylase mRNA in acupuncture analgesia in rats. *Acupuncture & Electro-Therapeutics Res*, 24: 81-88, 1999.
 - 31) 天津中医学院, 学校法人後藤学園編: 鍼灸学臨床編. 東洋学術出版, 千葉, 1993.
 - 32) Paxinos G, Watson C: The rat brain in stereotaxic coordinates. 4th edn, Academic Press, New York, 1998.
 - 33) 河村啓司: アルコール依存症形成機序に関する行動薬理学的研究 ラット側坐核神経毒投与によるアルコール嗜好性の変化. *京府医大誌*, 105: 523-535, 1996.
 - 34) Ueda S, Aikawa M, Ishizuya-Oka A et al: Age-related dopamine deficiency in the mesostriatal dopamine system of zitter mutant rats: regional fiber vulnerability in the striatum and the olfactory tubercle. *Neuroscience*, 95: 389-398, 2000.
 - 35) Wu MT, Hsieh JC, Xiong J et al: Central nervous pathway for acupuncture stimulation: Localization of processing with functional MR imaging of the brain-Preliminary experience. *Radiology*, 212: 133-141, 1999.
 - 36) Mogenson GJ, Jones DL, Yim CY: From motivation to action: Functional interface

- between the limbic system and the motor system. *Prog Neurobiol*, 14: 69-97, 1980.
- 37) Olds J, Milner P: Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain. *J Comp Physiol Psychol*, 47: 419-427, 1954.
 - 38) Heath RG: Electrical self-stimulation of the brain in man. *Am J Psychiat*, 120: 571-577, 1963.
 - 39) Stein L, Wise DC: Release of norepinephrine from hypothalamus and amygdala by rewarding medial forebrain bundle stimulation and amphetamine. *J Comp Physiol Psychol*, 67: 189-198, 1969.
 - 40) Wise CD, Stein L: Facilitation of brain self-stimulation by central administration of norepinephrine. *Science*, 163: 299-301, 1969.
 - 41) Wise RA: Catecholamine theories of reward: a critical review. *Brain Res*, 152: 215-247, 1978.
 - 42) Corbett D, Wise RA: Intracranial self-stimulation in relation to the ascending noradrenergic fiber systems of the pontine tegmentum and caudal midbrain: a moveable electrode mapping study. *Brain Res*, 177: 423-436, 1979.
 - 43) Cooper BR, Cott JM, Breese GR: Effects of catecholamine-depleting drugs and amphetamine on self-stimulation of brain following various 6-hydroxydopamine treatment. *Psychopharmacol*, 37: 235-248, 1974.
 - 44) Gallistel CR, Karras D: Pimozide and amphetamine have opposing effects on the reward summation function. *Pharmacol Biochem Behav*, 20: 73-77, 1984.
 - 45) Blaha CD, Phillips AG: Application of in vivo electrochemistry to the measurement of changes in dopamine release during intracranial stimulation. *J Neurosci Meth*, 34: 125-133, 1990.
 - 46) Wise RA: Addictive drugs and brain stimulation reward. *Ann Rev Neurosci*, 19: 319-340, 1996.
 - 47) Koob GF: Drugs of abuse: anatomy, pharmacology and function of reward pathways. *Trends Pharmacol Sci*, 13: 177-184, 1992.
 - 48) Arvanitogiannis A, Waraczynski M, Shizgal P: Effects of excitotoxic lesions of the basal forebrain on MFB self-stimulation. *Physiol Behav*, 59: 795-806, 1996.
 - 49) Shizgal P, Schindler D, Rompre PP: Forebrain neurons driven by rewarding stimulation of the medial forebrain bundle in the rat: comparison of psychophysical and electrophysiological estimates of refractory periods. *Brain Res*, 499: 234-248, 1989.
 - 50) 梅本守: 視床下部における報酬の神経基質. *神経進歩*, 31: 520-527, 1987.
 - 51) Vellely L, Chaminade C, Roy MT, Kempf E, Cardo B: Intrinsic neurons are involved in lateral hypothalamic self-stimulation. *Brain Res*, 268: 79-86, 1983.
 - 52) 山村秀夫, 青地修, 吉武潤一, 天羽敬祐, 森健次郎, 諏訪邦夫編: 新臨床麻酔学全書第1巻A. 金原出版, 東京, pp59-60, 1983.
 - 53) Siegel GJS: Basic neurochemistry: Molecular, cellular and medical aspects, Biochemistry of aging In the mammalian brain, Fich CE, Raven Press Ltd, New York, pp627-644, 1994.
 - 54) 道解公一: 拘束ストレスによるラット脳モノアミン代謝の性差. *日法医誌*, 47: 46-56, 1993.
 - 55) Cabib S, Puglisi-Allegra S: Different effects of repeated stressful experiences on mesocortical and mesolimbic dopamine metabolism. *Neuroscience*, 73: 375-380, 1996.
 - 56) Yoshimoto K, McBride WJ, Lumeng L: Alcohol stimulate the release of dopamine and serotonin in the nucleus accumbens. *Alcohol*, 19: 17-22, 1992.
 - 57) Yoshimoto K., McBride WJ: Regulation of nucleus accumbens dopamine release by the dorsal raphe nucleus in the rat. *Neurochem Res*, 17: 401-407, 1992.
 - 58) 堀哲郎: 脳と情動-感情のメカニズム. 共立出版, 東京, pp118-154, 1998.
 - 59) Snyder AM, Zigmond MJ, Lund RD: Sprouting of serotonergic afferents into striatum after dopamine-deleting lesions in infant rats: A retrograde transport and immunocytochemical study. *J Comp Neurol*, 245: 274-281, 1986.
 - 60) Zhou FC, Zhang JK, Lumeng L et al: Mesolimbic dopamine system in alcohol-preferring rats. *Alcohol*, 12: 403-412, 1995.
 - 61) Yoshimoto K, Kawamura K, Yayama K et al: The effects of neurotoxins 6-hydroxydopamine and 5,7-dihydroxytryptamine into the rat nucleus accumbens on the alcohol drinking behavior. *Jpn J Legal Med*, 49: 11-19, 1995.
 - 62) Yoshimoto K, Kaneda S, Kawai Y et al: Treating neonatal rats with 6-hydroxydopamine induced an increase in voluntary alcohol consumption. *Alcohol Clin Exp Res*, 23: 2S-6S, 1999.
 - 63) Takeshige C, Murai M, Tanaka M et al: Parallel individual variations in effectiveness of acupuncture, morphine analgesia, and

- dorsal PAG-SPA and their abolition by D-phenylalanine. *Adv Pain Res Ther*, 5: 563-569, 1983.
- 64) He L, Lu R, Zhuang S et al: Possible involvement of opioid peptides of caudate nucleus in acupuncture analgesia. *Pain*, 23: 83-93, 1985.
- 65) Takeshige C, Tsuchiya M, Guo SY et al: Dopaminergic transmission in the hypothalamic arcuate nucleus to produce acupuncture analgesia in correlation with the pituitary gland. *Brain Res Bull*, 26: 113-122, 1991.
- 66) Takeshige C, Kobori M, Hishida F et al: Analgesia inhibitory system involvement in nonacupuncture point-stimulation-produced analgesia. *Brain Res Bull*, 28: 379-391, 1992.
- 67) Zhou L, Wu GC, Cao XD: Role of opioid peptides of rat's nucleus reticularis paragigantocellularis lateralis (RPGL) in acupuncture analgesia. *Acupuncture and electrotherapeutics Res*, 20: 89-100, 1995.
- 68) Mansour A, Khachaturian H, Lewis ME et al: Anatomy of CNS opioid receptors. *Trends Neurosci*, 11: 308-314, 1988.
- 69) Mansour A, Fox CA, Akil H et al: Opioid receptor mRNA expression in the rat CNS: anatomical and functional implications. *Trends Neurosci*, 18: 22-29, 1995.
- 70) Takeshige C: Differentiation between acupuncture and non-acupuncture points by association with analgesia inhibitory system. *Acupuncture and Electrotherapeutics Res*, 10: 195-203, 1985.
- 71) Takeshige C, Sato T, Mera T et al: Descending pain inhibitory system involved in acupuncture analgesia. *Brain Res Bull*, 29: 617-634, 1992.
- 72) 高倉公明, 森健次郎, 佐藤昭夫編: Pain-痛みの基礎と臨床-, 鍼麻酔の機序, 武重千冬, pp442-447, 朝倉書店, 1988.
- 73) Cooper JR, Bloom FE, Roth RH: The biochemical basis of neuropharmacology. Norepine-phrine. Oxford University Press, New York, pp281-282, 1996.
- 74) Wang Y, Wang S, Zhang W: Effects of naloxone on the changes of pain threshold and contents of monoamine neurotransmitters in rat brain induced by EA. *J Trad Chin Med*, 11: 286-290, 1991.
- 75) Wang Y, Wang S, Wu J: Effects of atropine on the changes of pain threshold and contents of leucine-enkephalin and catecholamines of the brain in rats induced by EA. *J Trad Chin Med*, 12: 137-141, 1992.
- 76) Han JS, Li SJ, Tang J: Tolerance to acupuncture and its cross tolerance to morphine. *Neuropharmacology*, 20: 593-596, 1981.
- 77) Pomeranz B, Stux G: Scientific bases of acupuncture. Central neurotransmitters and acupuncture analgesia. Han J, Springer-Verlag, New York, pp7-34, 1989.

Changes in brain monoamine levels induced by electroacupuncture
stimulation in restrained rats

Baku Kato

*Department of Internal Medicine, Clinical Medicine of Acupuncture and
Moxibustion, Graduate School of Acupuncture and Moxibustion,
Meiji University of Oriental Medicine*

Summary :

[Aim and Methods]

The effects of applying low and high frequency electroacupuncture (EA) at the lumbar and hindlimb segments on brain monoamine levels in rats under restraint stress have been investigated in the present study. The contents of dopamine, serotonin and their metabolites were measured by HPLC-ECD.

[Results:]

Dopamine (DA) and serotonin (5-HT) levels were decreased in the nucleus accumbens (ACC), caudate putamen (C/P), and lateral hypothalamus (LH), whereas these levels showed an increase in the dorsal raphe nucleus (DRN) following applications of restraint stress. The 5-HT level in the frontal cortex (FC) showed a significant decrease following stress. Following the applications of low frequency EA at the level of the lumbar and hindlimb are as induced the increases in DA levels in the ACC, C/P and LH as well as in 5-HT levels in the FC, ACC and LH. However, the levels of DA and 5-HT in the DRN and that of DA in the amygdala showed a significant decrease following lumbar EA. Following the application of high frequency EA, DA in the FC and LH showed higher levels than those found in the stressed group. The level of DA in the ACC and those of 5-HT levels in the ACC, C/P and LH showed higher values than those found in the stressed group following hindlimb EA. In contrast, DA levels in the DRN and AMY in both EA groups were found to be lower than those found in the stressed group.

[Conclusion]

These results indicate that the applications of EA stimulation under different conditions elicit different effects on brain monoaminergic neurons in the restrained rats and these changes may occur to compensate for changes in monoamine levels induced by restraint stress.