

手術侵襲による免疫抑制に対する術前鍼通電の影響

† 田口 辰樹

明治鍼灸大学大学院 鍼灸臨床医学 I

要旨：ラットでの手術侵襲による免疫抑制を術前鍼通電刺激により防止できるかどうかを脾細胞のNK細胞活性、リンパ球芽球化反応を指標として検討した。また、その機序に対するオピオイドの関与について調べた。さらに手術侵襲による血中のACTH、コルチコステロン、ノルアドレナリンおよびアドレナリン濃度の変化に鍼通電刺激が及ぼす影響について検討した。その結果、鍼通電刺激により術後のNK細胞活性およびリンパ球芽球化反応の低下が防止され、早期に回復した。またナロキソン投与により鍼通電刺激によるNK細胞活性の抑制を防止する効果および回復を促進する効果が抑制された。しかし、ナロキソン投与はリンパ球芽球化反応には影響しなかった。血中のACTH、コルチコステロン、ノルアドレナリンおよびアドレナリンの濃度はいずれも手術侵襲により著明な上昇を示し、鍼通電刺激はこれらの術後の上昇を抑制した。以上の結果から、術前鍼通電が手術侵襲による免疫抑制を防止するあるいは回復を促進させる可能性が示唆された。そのメカニズムとして鍼通電刺激がオピオイドを介してNK細胞活性を増強すること、視床下部-下垂体-副腎皮質系および交感神経系による免疫抑制系路が鍼通電刺激により遮断されることの2つの可能性が示唆された。

I. はじめに

外科臨床における大きな侵襲的ストレスの1つとして手術が挙げられる。Pollockら¹⁾は癌患者を対象に外科手術を行ったところ術後にNK細胞活性が有意に減少することを報告している。同様に日伝ら²⁾、小川ら³⁾も癌患者に対する外科手術が術後にリンパ球芽球化反応などの細胞性免疫を著しく低下させることを報告している。動物実験においても手術侵襲によりNK細胞活性、リンパ球芽球化反応、サイトカイン産生能などの免疫能が低下することが多く報告されている⁴⁻¹⁴⁾。臨床的にも担癌患者では担癌に伴い宿主免疫能が低下し易感染状態にあるが、そこに手術侵襲が加わるによりさらに免疫能が抑制され、それが術後感染症や癌の再発等に関与していることも示されている¹⁵⁻²⁰⁾。従って、手術侵襲による免疫抑制を防止することは患者のQOLの向上、感染症予防、生存期間の延長といった面から重要であると考えられる²¹⁾。

一方、これまで鍼灸刺激がNK細胞活性、リンパ球芽球化反応といったリンパ球機能やサイトカイン産生に影響を及ぼすことが動物あるいはヒト

を対象とした実験で多く報告されている²²⁻²⁸⁾。また、鍼灸刺激は免疫系だけでなく内分泌系、神経系にも影響をおよぼすことが知られている。内分泌系、神経系はストレスと密接に関係しており、特に鍼灸臨床においてはストレスに起因する様々な症状軽減の目的で鍼灸治療が行われている³⁰⁾。実験的にも鍼灸刺激が各種ストレスによって起こる種々のストレス反応（内分泌系、神経系）を軽減するという報告もされているが^{31, 32)}、手術侵襲によるストレス反応に対する鍼通電刺激の影響を検討した報告はこれまで見られない。一般に、手術侵襲はストレス刺激として種々の経路を介して中枢神経系に入力された後、主に視床下部-下垂体-副腎皮質系あるいは交感神経系を介して免疫系を抑制すると考えられている³³⁾。著者²²⁾は以前、手術侵襲モデルラットを用い、手術侵襲が免疫能に及ぼす影響および術後鍼通電刺激が手術侵襲により低下した免疫能に及ぼす影響について検討した。その結果、術後鍼通電刺激が手術侵襲により低下したリンパ球芽球化反応を術後早期に回復させることが分かり、その機序として鍼通電刺激が視床下部-下垂体-副腎皮質系あるいは交感神経系

平成14年10月30日受付、平成15年1月14日受理

Key Words: 手術侵襲 Surgical Stress, 免疫抑制 Immunosuppression, 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保野田ヒノ谷6 明治鍼灸大学大学院 臨床鍼灸医学

Tel.0771-72-1181 Fax.0771-72-0394

E-mail: t_taguchi@muom.meiji-u.ac.jp

による免疫抑制系路を抑制することにより低下した免疫能を早期に回復したのではないかと推測した。Chenら²³⁾、Duら²⁴⁾も同様に手術侵襲ラットを対象に鍼通電刺激が免疫系に及ぼす影響について検討を行っており、手術侵襲により低下した脾細胞のIL-2産生能やNK細胞活性が鍼通電刺激により有意に回復することを報告しているが、鍼通電刺激が免疫能を回復させる機序については明確にはされていない。

そこで手術侵襲による免疫抑制を、術前から鍼通電刺激を加えて上記免疫抑制系路を抑制することにより防止できないかと考え検討した。まず手術侵襲を加える前より鍼通電刺激を行った場合に、術後の免疫抑制を防止できるかどうかをNK細胞活性、リンパ球芽球化反応を指標に検討した。また、その機序に対するオピオイドの関与についてもあわせて検討した。さらに手術侵襲によるストレス反応を観察すると共に鍼通電刺激が血中ACTH、コルチコステロン、ノルアドレナリンおよびアドレナリン濃度に及ぼす影響について検討を行った。

II. 実験材料および方法

1. 実験動物

9週齢のSprague-Dawley系雄性ラット（体重約300g、日本SLC K.K）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。本実験は本学研究倫理委員会の承認を得て行った。

2. 手術侵襲ラットの作成

手術侵襲ラットの作成はペントバルビタール麻酔下にて、ラットを腹臥位に固定し背部の皮膚を6cm切開した後縫合して閉創した。さらに背臥位で再固定し腹部に5cmの正中切開を行い、腸管を腹腔外に露出させ滅菌湿ガーゼで30分間被覆、放置後、腹腔内に還納、縫合閉腹して作成した。ラットは無処置の正常ラットを無処置対照群（control群；n=9）、手術侵襲のみ行った群を手術単独群（ope群；n=9）、術前に鍼通電を行った群を手術+術前鍼通電群（ope+EA群；n=9）、鍼通電直前にナロキソンを投与した群を手術+術前鍼通電+ナロキソン投与群（ope+EA+NAL群；n=6）、さらにナロキソンのかわりに生理食塩水を投与し

た手術+術前鍼通電+生食投与群（ope+EA+SAL群；n=6）に分けた。また、ACTH、コルチコステロン、カテコールアミンの測定は無処置の正常ラットを無処置対照群（control群；n=4~6）、手術侵襲のみ行った群を手術単独群（ope群n=4~6）、術前に鍼通電を行った群を手術+術前鍼通電群（ope+EA群n=4~6）に分けた。

3. 鍼通電刺激法

ラットの右後肢の前脛骨筋部2カ所にステンレス鍼灸鍼（30mm、20号）をエーテル麻酔下にて約7mm刺入しサージカルテープで固定後、1時間の鍼通電（Trimix 101H 日本メディックス製）を行った。刺激は頻度が2Hz、電流量は3mA、持続時間は0.1msで行った。鍼通電刺激は手術2日前から手術直前まで計3回行い鍼通電中はラットにできるだけストレスを与えないように無拘束で、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. 脾細胞浮遊液の作成

開腹して無菌的に採取した脾臓を、RPMI1640（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はぐした後、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、5min）し上清を取り除いた後、Tris-NH₄Cl緩衝液（pH7.65）を加えて赤血球を溶血除去した。培養液に浮遊して遠心することにより3回洗浄した後 1×10^7 個/mlに調節し以下のアッセイに用いた。

5. NK細胞活性の測定

⁵¹Cr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。 1×10^7 個のRL male 1細胞に対して、クロム酸ナトリウム（Na₂⁵¹CrO₄、Amersham、37MBq/ml）を100 μ l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、RPMI1640培養液で3回洗浄、 1×10^5 個/mlとなるように10%FCS加RPMI1640培養液に再浮遊した。96穴円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 5×10^5 個/

100 μ lのeffector細胞と1 \times 10⁶個/100 μ lのtarget細胞を混合した。

maximum releaseにはeffector細胞の代わりに2%のドデシル硫酸ナトリウム (和光純薬) 100 μ lを, spontaneous releaseには10% FCS加RPMI 1640培養液を100 μ l加えた。マイクロプレートを遠心 (1500rpm, 30sec) した後, 37°C, 5%CO₂条件下で4時間培養した。培養終了後に再びマイクロプレートを遠心 (1000rpm, 5min) し, 各wellごとに上清をマイクロピペットで100 μ lずつ γ チューブ (Falcon) にとり, target細胞より遊離した⁵¹Crを γ 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。

$$\% \text{ lysis} = (\text{experimental release [cpm]} - \text{spontaneous release [cpm]}) / (\text{maximum release [cpm]} - \text{spontaneous release [cpm]}) \times 100$$

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RPMI1640培養液で1 \times 10⁶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 \times 10⁵個/100 μ l/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 μ g/ml, 2.5 μ g/ml, 5 μ g/mlで添加した。37°C, 5%CO₂条件下で72時間培養し, 培養終了24時間前に [methyl-³H] Thymidine (Amersham) 18.5kBq/10 μ l/wellを添加した。培養終了後, セルハーベスター (Skatron) を用い, 細胞をグラスファイバーフィルター (Skatron) に回収した。グ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³H-thymidineの取り込みを β カウンター (Aloka LSC-3500) を用いて測定した。リンパ球芽球化反応 (S.I. : Stimulation Index) は以下の式により求めた。

$$SI = \text{mitogen添加群の平均 [cpm]} / \text{mitogen無添加群の平均 [cpm]}$$

7. 薬物投与

ナロキソン (Sigma) は実験直前に生理食塩水に溶解し, エーテル麻酔下で鍼通電直前に10mg/kgの量で腹腔内へ投与した。

8. 採血と血清および血漿の分離

採血はcontrol群, ope群, ope+EA群いずれも手術3時間後, 24時間後および72時間後にエーテル麻酔下にて心臓より全採血にて行った。血清は血液を2mlのマイクロチューブにとり, 4°C, 1500rpm, 5分間冷却遠心して分離した。血漿は血液をEDTA \cdot 2Na (和光純薬) 1mg/ml, トラジロール (バイエル) 500KIU/mlを含んだポリプロピレンチューブ (Falcon) にとり, 4°C, 3000rpm, 10分間冷却遠心して分離した。分離した血清および血漿はアッセイ時まで-80°Cで保存した。

9. ACTH, コルチコステロン, ノルアドレナリン及びアドレナリンの濃度測定

ACTHはRAT ACTH EIA Kit (PENINSULA LABORATORIES, INC.) コルチコステロンはRat CORTICOSTERONE EIA Kit (Diagnostic Systems Laboratories, Inc.), ノルアドレナリン, アドレナリンはCat Combi ELISA Kit (IBL IMMUNO-BIOLOGICAL LABORATORIES) を用いて酵素抗体法により測定した。コルチコステロンの測定には予め分離し保存していた血清を前処置をせずそのまま測定に用いた。ACTH, ノルアドレナリンおよびアドレナリンは分離し保存していた血漿をそれぞれのキットに添付してあるマニュアルに従って反応させ, マイクロプレートリーダー (BIO RAD Model 550) で吸光度を測定した。

10. 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検定としてFisher PLSD検定を行った。有意水準はp<0.05とした。

III. 結果

1. 手術侵襲および術前鍼通電刺激がNK細胞活性に及ぼす影響 (図1)

手術侵襲がNK細胞活性に及ぼす影響と手術侵襲によって生じたNK細胞活性の低下を術前の鍼

通電刺激が防止するかどうかを検討した。

control群におけるNK細胞活性 (%) は $30.0 \pm 3.9\%$ であった。手術24時間後, ope群では $17.5 \pm 5.6\%$ とcontrol群に比べNK細胞活性の有意な ($p < 0.01$) 低下が観察され, ope+EA群では $24.0 \pm 6.0\%$ とcontrol群と比較するとやや低値ではあったが ($p < 0.05$), ope群よりも有意に ($p < 0.05$) 高値を示した。また, 手術72時間後においては, ope群のNK細胞活性は $21.1 \pm 6.5\%$ で依然control群よりも低値を示し抑制状態が持続した ($p < 0.01$) が, ope+EA群では $30.2 \pm 6.1\%$ と手術24時間後と同様にope群よりも有意に ($p < 0.01$) 高値を示しcontrol群とほぼ同じ値まで回復した。これらの結果より, 手術侵襲はNK細胞活性を低下させるが, 術前鍼通電刺激は手術侵襲によるNK細胞活性の低下を防止し (抑制防止効果), さらに抑制からの回復を促進すること (回復促進効果) が分かった。

2. 手術侵襲および術前鍼通電刺激がリンパ球芽球化反応に及ぼす影響 (図2)

手術侵襲が芽球化反応 (PHA, Con A, LPS) に及ぼす影響と手術侵襲によって生じた芽球化反応の低下を術前の鍼通電刺激が防止するかどうかを検討した。

control群におけるPHA芽球化反応 (SI) (図2a) は 11.6 ± 1.9 であった。手術24時間後のPHA芽球化反応はope群 6.1 ± 1.7 , ope+EA群 6.8 ± 2.6 で共にcontrol群に比べ有意に ($p < 0.01$) 低い値が観察された。しかし, ope群では手術72時間後においては 3.0 ± 1.4 で手術24時間後よりさらに低下したが ($p < 0.01$), ope+EA群では 10.7 ± 1.9 とcontrol群とほぼ同じ値まで回復し, ope群との間に有意差 ($p < 0.01$) が認められた。Con A芽球化反応 (図2b) はcontrol群では 71.7 ± 8.9 であった。手術24時間後はope群 74.5 ± 6.4 , ope+EA群 66.2 ± 12.7 でありcontrol群と差はなかった。しかし, 手術72時間後においてope群では 27.8 ± 4.5 と低値を示し, ope+EA群でも 39.1 ± 9.4 と共にcontrol群よりも有意に ($p < 0.01$) 低値を示したが, ope+EA群においてはope群よりも低下がやや軽度で両群間に有意差 ($p < 0.01$) が認められた。LPS芽球化反応 (図2c) はcontrol群では 13.9 ± 1.4 であった。手術24時間後においてope群で 8.2 ± 1.0 , ope+EA群で 9.4 ± 0.4 で共にcontrol群に比べ有意な ($p < 0.01$) 低下が見られた。また, 手術72時間後においてもope群 7.6 ± 1.2 , ope+EA群 9.7 ± 2.1 で共に依然control群よりも低値を示したが ($p < 0.01$), ope+EA群はope群よりも有意に ($p < 0.01$) 高値を示した。

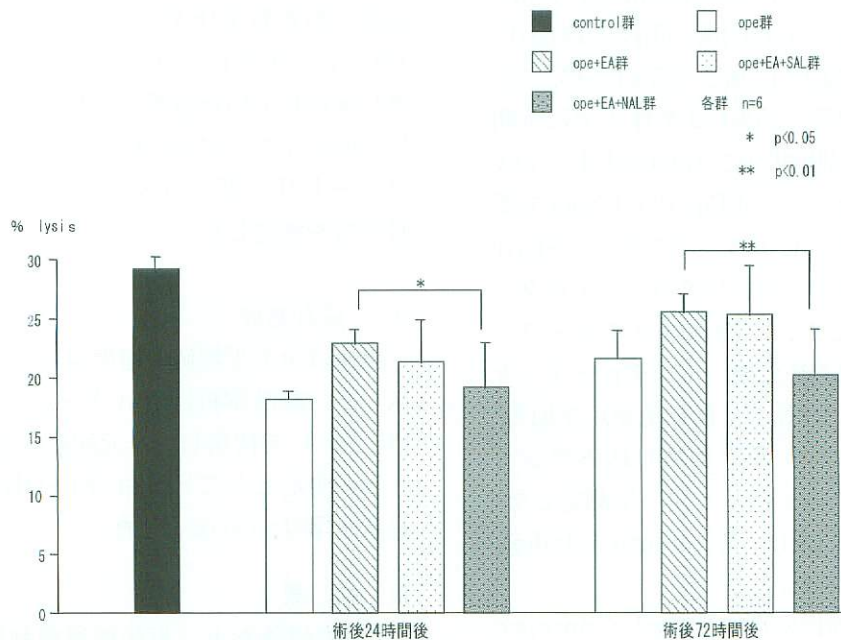


図1. 手術侵襲および術前鍼通電がNK細胞活性に及ぼす影響

control群, 手術24時間後, 72時間後のope群およびope+EA群における脾細胞のNK細胞活性を示す (各群n=9). 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。

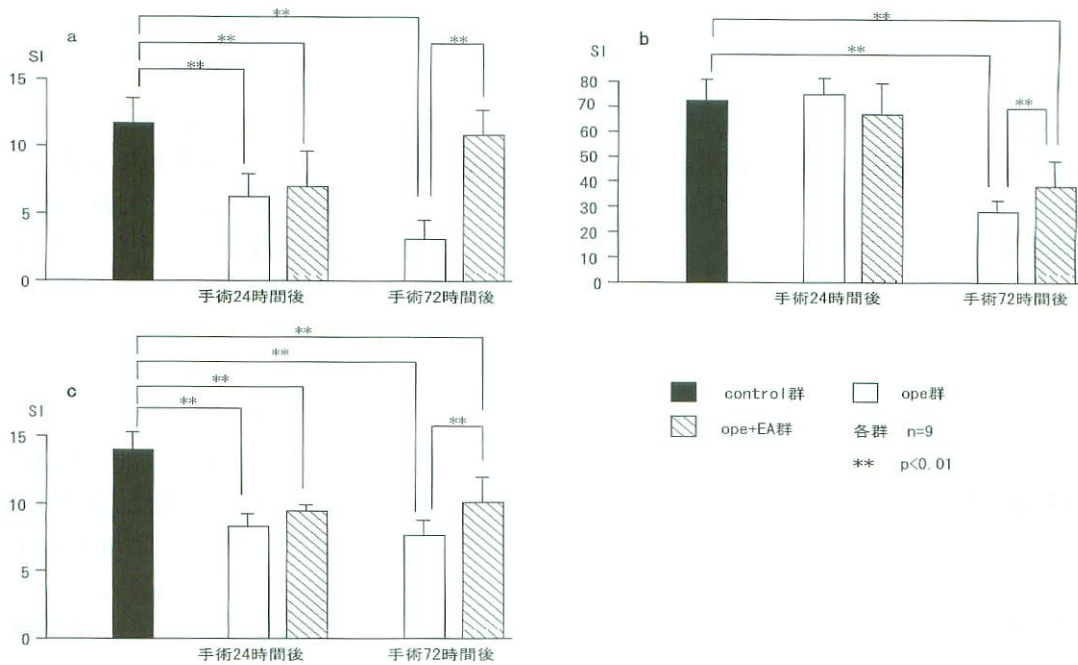


図2. 手術侵襲および術前鍼通電刺激がリンパ球芽球化反応に及ぼす影響

- a. 手術侵襲および鍼通電刺激がPHA芽球化反応に及ぼす影響 control群, 手術24時間後, 72時間後のope群およびope+EA群における脾細胞のPHA芽球化反応を示す (各群n=9). 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.
- b. 手術侵襲および鍼通電刺激がCon A芽球化反応に及ぼす影響 control群, 手術24時間後, 72時間後のope群およびope+EA群における脾細胞のCon A芽球化反応を示す (各群n=9). 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.
- c. 手術侵襲および鍼通電刺激がLPS細胞活性に及ぼす影響 control群, 手術24時間後, 72時間後のope群およびope+EA群における脾細胞のLPS芽球化反応を示す (各群n=9). 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.

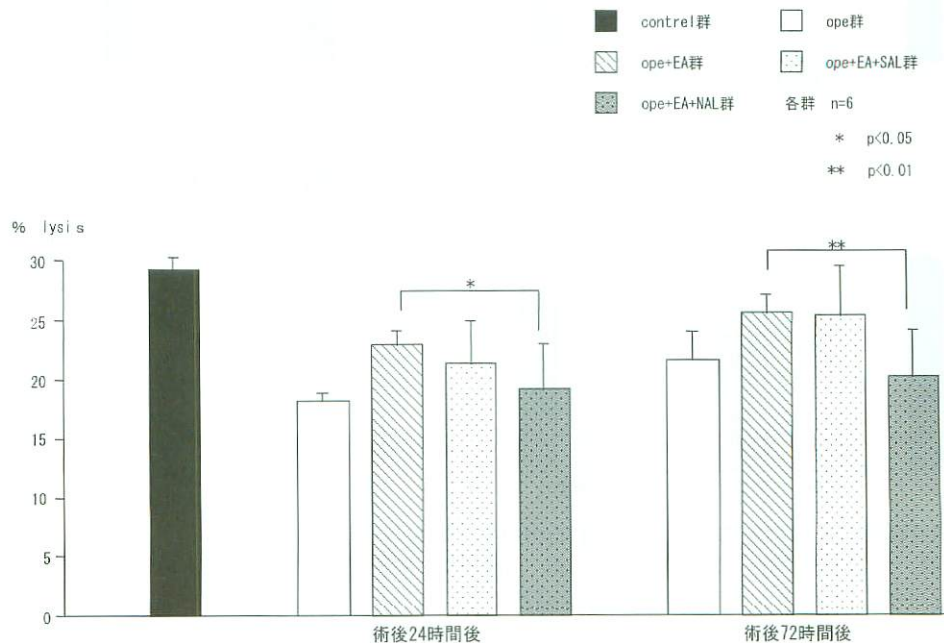


図3. 術前鍼通電刺激によるNK細胞活性の抑制防止効果に対するナロキソン投与の影響

control群, 手術24時間後, 72時間後のope群, ope+EA群, ope+EA+SAL群およびope+EA+NAL群における脾細胞のNK細胞活性を示す (各群n=6). 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.

以上より、手術侵襲による術後の芽球化反応の抑制は術前鍼通電刺激群ではope群に比してより早く正常値に回復する傾向が認められ、PHA芽球化反応における回復が著明であった。芽球化反応の手術侵襲による低下に対し、術前鍼通電刺激は免疫抑制の防止より、抑制からの回復の促進（回復促進効果）に対して有効に働くことが示唆された。

3. 術前鍼通電刺激によるNK細胞活性の抑制防止効果および回復促進効果に対するナロキソン投与の影響（図3）

術前鍼通電刺激が術後のNK細胞活性の低下を防止し、さらに抑制からの回復を促進することが分かった。このことから、NK細胞活性の抑制防止および回復促進効果には何らかのNK細胞活性増強因子が関与している可能性を考えた。そこで、鍼と密接に関連しているNK細胞活性増強因子で

あるβエンドルフィンの関与を検討するためにオピオイドレセプターの拮抗薬であるナロキソンを用いて検討を行った。

control群におけるNK細胞活性（%）は $29.1 \pm 1.1\%$ であった。手術24時間後のope群では $18.1 \pm 0.6\%$ となりcontrol群に比べNK細胞活性の有意な（ $p < 0.01$ ）低下が観察された。一方、ope+EA群では $22.9 \pm 1.3\%$ とcontrol群と比較すると抑制（ $p < 0.01$ ）はされているもののope群よりも有意に（ $p < 0.01$ ）高値を示した。ope+EA+NAL群では $19.1 \pm 3.9\%$ となりope+EA群で上昇していたNK細胞活性がナロキソン投与により有意に（ $p < 0.05$ ）抑制された。手術72時間後においてもope群のNK細胞活性は $21.5 \pm 2.3\%$ で依然control群よりも低値を示し抑制状態が持続した（ $p < 0.01$ ）。しかし、ope+EA群では $25.5 \pm 1.6\%$ と術後1日目と同様にope群よりも有意に（ $p < 0.05$ ）高値を示した。ope+EA+NAL群では $20.1 \pm 4.0\%$ となりop

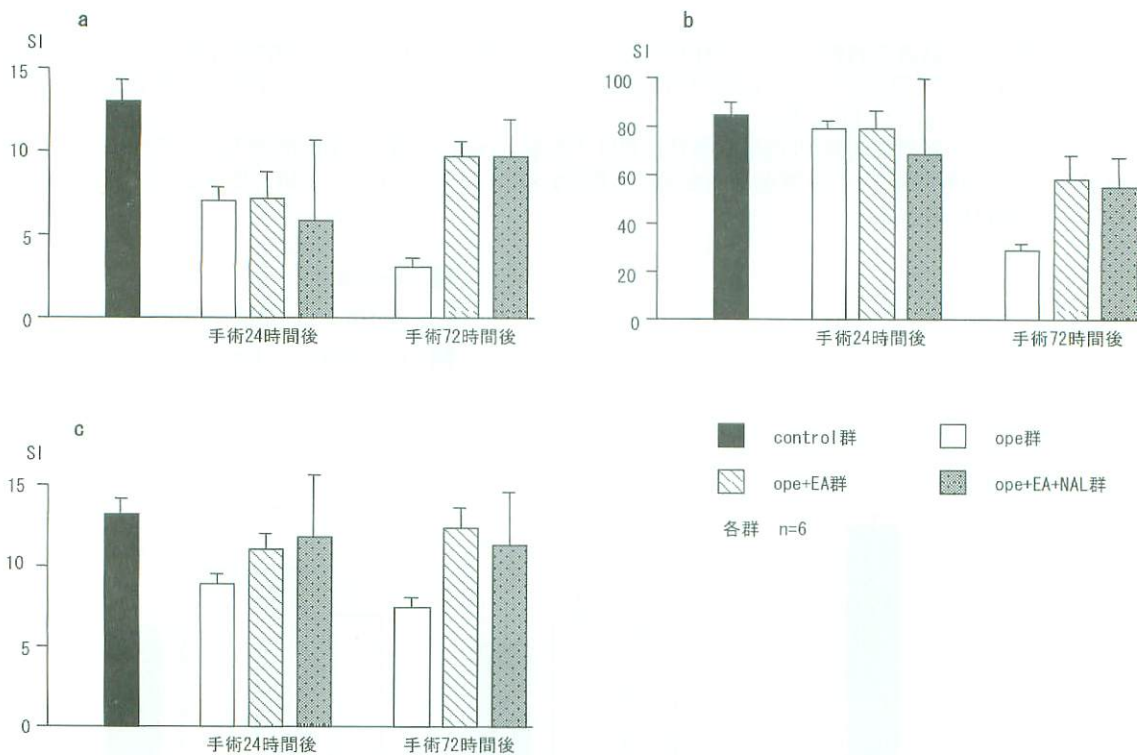


図4. リンパ球芽球化反応の抑制防止効果に対するナロキソン投与の影響

a : control群, 手術24時間後, 72時間後のope群, ope+EA群およびope+EA+NAL群における脾細胞のPHA芽球化反応を示す（各群n=6）。データは全て平均値±標準偏差で示した。

b : control群, 手術24時間後, 72時間後のope群, ope+EA群およびope+EA+NAL群における脾細胞のCon A芽球化反応を示す（各群n=6）。データは全て平均値±標準偏差で示した。

c : control群, 手術24時間後, 72時間後のope群, ope+EA群およびope+EA+NAL群における脾細胞のLPS芽球化反応を示す（各群n=6）。データは全て平均値±標準偏差で示した。

e+EA群と比較して有意に ($p<0.01$) 抑制された。またope+EA+SAL群は手術24時間後も手術72時間後も共にope+EA群と比較して有意な差は認められなかった。これらの結果から、術前鍼通電刺激による抑制されたNK細胞活性の抑制防止効果および回復促進効果にオピオイドが関与している可能性が示唆された。

4. 術前鍼通電刺激によるリンパ球芽球化反応の回復促進効果に対するナロキソン投与の影響 (図4)

術前鍼通電刺激が術後のリンパ球芽球化反応の低下からの回復を促進することが分かった。この芽球化反応の回復促進効果にもNK細胞活性の場合と同様にリンパ球芽球化反応を増強する因子が関わっている可能性が考えられた。 β エンドルフィンにはリンパ球芽球化反応も増強することが知られているので、NK細胞活性の場合と同様にオピオイドレセプターの拮抗薬であるナロキソンを用いて検討を行った。

手術24時間後と72時間後のope群、ope+EA群およびope+EA+NAL群におけるPHA、Con AおよびLPS芽球化反応を図示した (図4abc)。いずれも手術侵襲により低下した芽球化反応が鍼通電刺激により早期に回復する傾向が認められた。しかし、鍼通電刺激の効果はナロキソン投与によりほとんど影響を受けず、ナロキソンが鍼通電刺激の効果を抑制することはなかった。このことはNK細胞活性の場合と大きな相違であった。これらから、術前鍼通電刺激による芽球化反応の回復促進効果にオピオイドが関与していない可能性が示唆された。なお、ope+EA+SAL群はope+EA群と差はなかった (データ省略)。

5. 手術侵襲および術前鍼通電刺激が血中ACTH、コルチコステロン濃度に及ぼす影響 (図5)

手術侵襲が視床下部-下垂体-副腎皮質系を介して免疫能を抑制する可能性をACTH、コルチコステロン濃度により検討し、あわせて術前の鍼通電刺激のそれらへの影響を検討した。control群におけるACTHの値 (図5a) は $1.5 \pm 0.4 \text{ ng/ml}$ であった。ope群では手術24時間後に $2.3 \pm 0.4 \text{ ng/ml}$ となり最も高値を示し ($p<0.05$)、その後徐々に回復し、手術72時間後には $1.5 \pm 0.2 \text{ ng/ml}$ となり

ほぼcontrol値と同じ値にまで回復した。一方、ope+EA群では手術24時間後に $1.5 \pm 0.6 \text{ ng/ml}$ となりope群の上昇に比べると有意に ($p<0.01$) 低値であった。

次に、コルチコステロン (図5b) はcontrol群の値は $361.6 \pm 65.6 \text{ ng/ml}$ であった。ope群では手術3時間後に $754.3 \pm 165.1 \text{ ng/ml}$ となり最も高値を示し ($p<0.01$)、その後徐々に回復し、手術24時間後には $413.6 \pm 107.4 \text{ ng/ml}$ 、手術72時間後には $395.4 \pm 107.4 \text{ ng/ml}$ となり手術24時間後にはほぼcontrol値と同程度まで低下した。一方、ope+EA群では手術3時間後に $466.5 \pm 35.9 \text{ ng/ml}$ 、手術24時間後は $380.6 \pm 39.0 \text{ ng/ml}$ 、手術72時間後には $294.2 \pm 82.4 \text{ ng/ml}$ で手術3時間後にope群と同様に最も高値を示したがope群の上昇に比べると

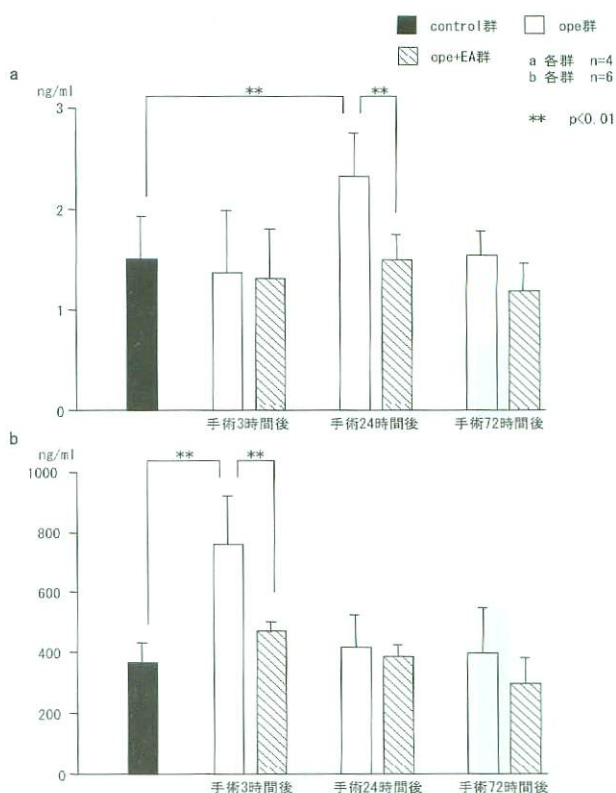


図5. 手術侵襲および術前鍼通電刺激が血中ACTH、コルチコステロン濃度に及ぼす影響

a: control群, 手術3時間後, 24時間後, 72時間後のope群およびope+EA群における血中ACTH濃度を示す (各群n=4)。データは全て平均値±標準偏差で示した。** $p<0.01$ とした。

b: 手術侵襲および術前鍼通電刺激が血中コルチコステロン濃度に及ぼす影響 control群, 手術3時間後, 24時間後, 72時間後のope群およびope+EA群における血中コルチコステロン濃度を示す (各群n=6)。データは全て平均値±標準偏差で示した。** $p<0.01$ とした。

と有意に ($p < 0.01$) 低値であった。以上の結果から、手術侵襲はACTH、コルチコステロン濃度を上昇させるが、術前鍼通電刺激はACTH、コルチコステロン濃度の上昇を防止することが示唆された。

6. 手術侵襲および術前鍼通電刺激が血中ノルアドレナリン、アドレナリン濃度に及ぼす影響 (図6)

手術侵襲による免疫抑制因子となりうる分子としては先のコルチコステロンの他交感神経系由来のノルアドレナリン、アドレナリンがある。そこで手術侵襲によって生じたノルアドレナリン、アドレナリン濃度の変化に術前の鍼通電刺激がどのように影響するかを検討した。

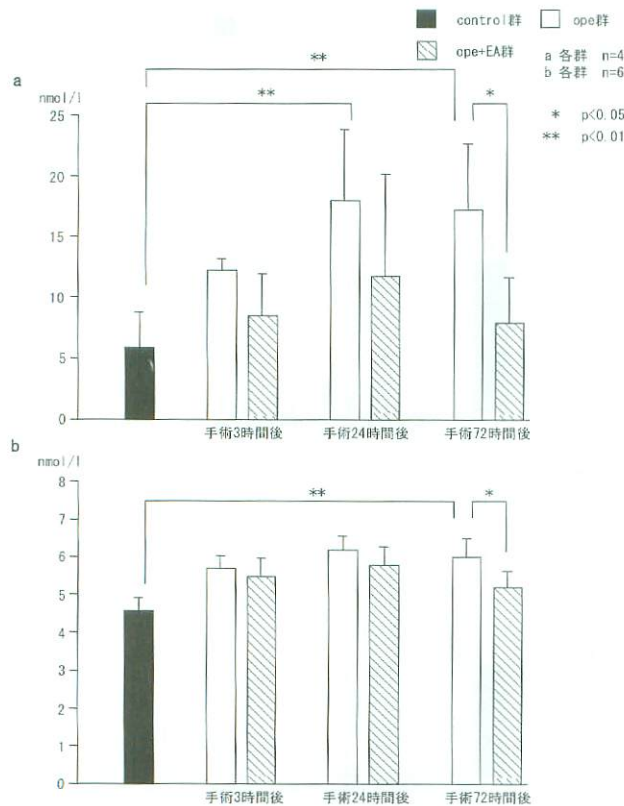


図6. 手術侵襲および術前鍼通電刺激が血中ノルアドレナリン、アドレナリン濃度に及ぼす影響

a: control群, 手術3時間後, 24時間後, 72時間後のope群およびope+EA群における血中ノルアドレナリン濃度を示す (各群n=4). データは全て平均値±標準偏差で示した. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ とした。

b: control群, 手術3時間後, 24時間後, 72時間後のope群およびope+EA群における血中アドレナリン濃度を示す (各群n=4). データは全て平均値±標準偏差で示した. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ とした。

ノルアドレナリン (図6a) はcontrol群で $5.7 \pm 2.9 \text{ nmol/l}$ であった。ope群では手術3時間後に $12.1 \pm 1.0 \text{ nmol/l}$ とcontrol群に比べ上昇が見られた。さらに、手術24時間後には $17.9 \pm 5.8 \text{ nmol/ml}$ と最も高値 ($p < 0.01$) を示し、手術72時間後においても依然control群よりも高値 ($p < 0.01$) を示した。一方、ope+EA群では同様に手術24時間後に $11.7 \pm 5.5 \text{ nmol/l}$ と最も高値を示すもののope群に比べ上昇は抑制されていた。手術72時間後には $7.8 \pm 3.8 \text{ nmol/l}$ とope群よりも有意に ($p < 0.05$) 低値を示し、control群とほぼ同じ値まで回復した。

アドレナリン (図6b) はノルアドレナリン程、著明な変化は認められなかったが、ノルアドレナリンと同様にope群では手術72時間後までcontrol群に比し明らかに上昇した ($p < 0.01$)。しかし、ope+EA群では手術72時間後においてope群に比しアドレナリンの上昇が有意に ($p < 0.05$) 抑制された。以上の結果から、手術侵襲はノルアドレナリン、アドレナリン濃度を上昇させるが、術前鍼通電刺激はノルアドレナリン、アドレナリン濃度の上昇を抑制することが示唆された。これらの結果は鍼通電刺激が手術侵襲によって産生される免疫抑制分子であるACTH、コルチコステロン、ノルアドレナリンおよびアドレナリンの上昇を抑制することを示唆している。

IV. 考 察

手術侵襲による免疫抑制に対する術前鍼通電刺激の影響について

手術侵襲は視床下部-下垂体-副腎皮質系、交感神経系を介して強く免疫応答機能を低下させる。その結果、感染防御機構が弱化し、腫瘍免疫能も低下するとされている³³⁾。小川ら³⁾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を報告しており、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が関与すると述べている。また、Chengら²³⁾は手術侵襲による免疫抑制のメカニズムは脳、内分泌、免疫ネットワークの障害によるものであり、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ると報告している。

本実験において手術侵襲を加えることによりNK細胞活性およびリンパ球芽球化反応はいずれも抑制されたが、これは著者²³⁾が以前報告したものと同様の結果であった。以前の報告では手術後に鍼通電刺激を行ったが、本実験では手術前に鍼通電刺激を行った。その結果、NK細胞活性は手術24時間後にope群、ope+EA群共に有意に抑制されるもののope+EA群はope群に比し有意に高い値を示し手術侵襲による抑制の程度が軽減されたことから、術前鍼通電は手術侵襲によるNK細胞活性の低下を防止する可能性が示唆された。さらに手術72時間後においてope群では依然抑制が持続しているのに対し、ope+EA群ではほぼコントロール値まで回復しており鍼通電刺激が回復の促進に働く可能性も示唆された。リンパ球芽球化反応においては手術24時間後にope群、ope+EA群共に抑制され両群間に有意差は認められず、抑制の防止は見られなかったが、手術72時間後ではope+EA群はope群に比し有意に高値を示し早期に回復すること分かった。すなわち、リンパ球芽球化反応に関して鍼通電刺激は抑制の防止より、抑制からの回復促進に対して有効に働きかけることが示唆された。

術前鍼通電刺激による抑制防止効果および回復促進効果に対するナロキソン投与の効果

術前鍼通電刺激が術後のNK細胞活性、リンパ球芽球化反応の低下を防止し、早期に回復させることが分かった。このことは、何らかのNK細胞やリンパ球活性化因子に関わる可能性が示唆される。鍼灸と免疫系を結びつける免疫活性化物質としてオピオイドペプチドの存在は重要なものと考えられている。鍼通電刺激を行うことによりNK細胞活性が増強されることをYuら^{25, 26)}、Satoら²⁷⁾が報告している。YuらはこのNK細胞活性の鍼通電刺激による増強効果がナロキソンにより拮抗されること、および鍼通電刺激により脾臓中のβエンドルフィン含有量が増加することからNK細胞活性の増強にβエンドルフィンが関与していると推察している。また、in vitroにおいてもβエンドルフィンがNK細胞活性を増強することが明らかにされている^{34, 35)}。一方、リンパ球芽球化反応についても黒野ら²⁸⁾が鍼灸刺激により増強されることを報告している。また、Bianchi

ら²⁹⁾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β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。さらに、in vitroにおいてβエンドルフィンがPHA, Con Aに対するリンパ球芽球化反応を増強することが示されている^{36, 37)}。そこで、本実験において鍼の関わる免疫能増強因子であるβエンドルフィンの関与を検討するためにオピオイドレセプターの拮抗薬であるナロキソンを用いて検討を行った。その結果、オピオイドレセプター拮抗薬であるナロキソンを鍼通電刺激直前に投与するとNK細胞活性に関しては鍼通電刺激による抑制を防止する効果および回復を促進する効果いずれも拮抗された。しかし、リンパ球芽球化反応に関しては、PHA, Con AおよびLPSいずれもナロキソン投与による影響は見られなかった。従って、鍼通電刺激によるNK細胞活性の抑制の防止および回復の促進にβエンドルフィンが関与している可能性が考えられた。しかし、鍼通電刺激によるリンパ球芽球化反応の回復の促進はナロキソン投与により拮抗されずオピオイドを介していない可能性が示唆され上述のBianchiらの報告と相違している。ところが、Gilmanら³⁶⁾はin vitroでβエンドルフィンがPHA, Con Aに対するリンパ球芽球化反応を増強するが、その増強効果はナロキソンにより拮抗されず、βエンドルフィンのc末端に特異的な非オピエートレセプターによるものであると報告している。しかし、詳細については不明でありこの点については今後の検討が必要であろう。

手術侵襲および鍼通電刺激がATCH, コルチコステロン, ノルアドレナリンおよびアドレナリン濃度に及ぼす影響

ストレス刺激は交感神経系を活性化させノルアドレナリンの分泌を促し、それと同時にNK細胞活性を抑制する³⁸⁾。NK細胞は細胞表面にβアドレナリンレセプターを発現しており、ストレス刺激によるNK細胞活性の抑制がβ遮断薬により遮断されたことから、NK細胞活性の抑制には交感神経から分泌されたノルアドレナリンがβアドレナリンレセプターを介して作用していることが示されている^{39, 40)}。このことから、本実験において

術前鍼通電刺激が手術侵襲によるNK細胞活性の抑制を防止、および回復を促進することができたのは手術侵襲によって活性化された交感神経系の働きを鍼通電刺激が抑制したのではないかと考え、術後のノルアドレナリン、アドレナリン濃度に及ぼす鍼通電刺激の影響について検討した。その結果、手術侵襲により術後にノルアドレナリン、アドレナリン濃度が上昇したが、鍼通電刺激により手術侵襲による術後のノルアドレナリン、アドレナリン濃度の上昇が抑制された。これらのことから、鍼通電刺激が手術侵襲により引き起こされる交感神経系の活性化を抑制することによってNK細胞活性の抑制を防止している可能性が示唆された。Irwinら^{41, 42)}はCRFの脳室投与により血中のノルエピネフリン濃度が上昇し、NK細胞活性が減少したことを報告している。一方、Zhangら⁴³⁾はモルヒネ投与により視床下部においてCRFが上昇することを報告しており、その上昇が鍼通電刺激により防止されたと報告している。これらの知見から本実験において、鍼通電刺激が視床下部におけるCRF濃度の上昇を防止することによってノルアドレナリン、アドレナリン濃度の上昇を防止した可能性も考えられ、この点については今後詳細に検討していく必要がある。

一方、木崎ら⁴⁴⁾はマウスに寒冷ストレス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、この反応は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、副腎の摘出あるいはグルココルチコイドレセプター拮抗薬の投与により抑制性マクロファージの誘導が消失することから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を述べている⁴⁵⁾。さらに、プロスタグランジンの拮抗薬であるインドメタシンの投与によりリンパ球芽球化反応の抑制が拮抗されることから、マクロファージから放出されるプロスタグランジンがリンパ球機能を抑制する可能性も示されている⁴⁵⁾。すなわち、リンパ球はグルココルチコイドレセプターを発現しているマクロファージにより抑制されることが明らかとなっている。従って、本実験において鍼通電刺激が手術侵襲によって活性化された視床下部-下垂体-副腎皮質系の働きを抑制することにより

抑制性マクロファージの誘導を阻止し、リンパ球芽球化反応の抑制からの回復を促進するのではないかと推測し、鍼通電刺激が術後のACTH、コルチコステロン濃度に及ぼす影響について検討した。その結果、手術侵襲によりACTH、コルチコステロン濃度の上昇が観察されたが、術前に鍼通電刺激を行うことにより術後のACTH、コルチコステロン濃度の上昇が抑制された。以上より、視床下部-下垂体-副腎皮質系の働きが鍼通電刺激により抑制され、その結果抑制性マクロファージの誘導が阻止され、リンパ球芽球化反応の回復が促進された可能性が考えられた。このように、術前鍼通電刺激がNK細胞活性、リンパ球芽球化反応の抑制を防止するあるいは回復を促進するメカニズムとして交感神経系および視床下部-下垂体-副腎皮質系による抑制経路を鍼通電刺激が抑制している可能性が考えられた。Hanら³¹⁾は麻酔下ラットに対して歯髄刺激を行う前に鍼通電刺激を行うと歯髄刺激後の内分泌系（ACTH、コルチコステロン）、交感神経系（ノルエピネフリン、エピネフリン、ドーパミン）のストレス反応を防止できることを示している。さらに、この防止効果がナロキシンの前投与により消失することから内因性のオピオイドが関与していると述べている。さらに、Kotaniら³²⁾は術前に背部癒穴へ皮内針を行うことにより術後に起こる交感神経副腎系の反応（カテコールアミン、コルチゾールの増加反応）を抑制することができると報告しており、本実験と同様に鍼刺激がストレスによる内分泌系、神経系の反応を抑制していることを示唆している。

本実験において、鍼通電刺激が免疫抑制分子であるACTH、コルチコステロン、ノルアドレナリンおよびアドレナリンの上昇を抑制することによりNK細胞活性およびリンパ球芽球化反応の低下を防止し、抑制からの回復を促進した可能性が示唆された。しかし、鍼通電刺激がどのようなメカニズムでこれらの抑制経路の反応を調節しているかは明確になっていない。加藤⁴⁶⁾は拘束ストレスを加えたラットに鍼通電刺激を行い脳内のモノアミン量を測定したところ、鍼通電刺激が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すると報告している。また、Zhaoら⁴⁷⁾は鍼通電が外傷を加えたラットの中樞神経系における外傷後のストレス反応を抑

制し、それらが中枢神経系に存在しているオピオイド様物質であるオルファニンFQによって調節されていると報告している。これらのことから、ストレス反応に対する鍼通電刺激の影響を調べるためには鍼通電刺激が中枢神経系に及ぼす影響を今後詳細に検討することが重要であると考えられる。

外科臨床においては、手術侵襲による免疫抑制は種々の問題とつながっており、その防止策を検討することは意義があると思われる。今回得られた結果から鍼灸治療が手術後に低下した免疫能回復の一助として応用できる可能性が考えられた。

V. 結 語

手術侵襲によるNK細胞活性、リンパ球芽球化反応の抑制が術前の鍼通電刺激により防止あるいは回復を促進することができた。また、鍼通電刺激によるNK細胞活性の抑制防止効果あるいは回復促進効果がオピオイドを介している可能性が示唆された。また、鍼通電刺激が手術侵襲による血中ACTH、コルチコステロン、ノルアドレナリンおよびアドレナリンの上昇を抑制した。これらのことから、鍼通電刺激によるNK細胞活性、リンパ球芽球化反応の抑制防止効果あるいは回復促進効果のメカニズムとして、βエンドルフィンによる増強効果による可能性と交感神経系、視床下部-下垂体-副腎皮質系による免疫抑制系路を鍼通電刺激が抑制することの2つの経路による可能性が示唆された。

謝 辞

稿を終えるにあたり、本研究の遂行に際し、終始御指導と御校閲を賜りました恩師明治鍼灸大学外科学教室咲田雅一教授に深甚なる謝意を表します。また本研究に際し貴重なる細胞を供与していただき、また多大な助言を賜った明治鍼灸大学免疫・微生物学教室の雨貝孝教授に感謝いたします。また実験に多大な御協力をいただいた明治鍼灸大学大学院関戸玲奈氏に感謝いたします。

参考文献

1) Pollock RE, Lotzova E, Stanford SD: Mechanism of surgical stress impairment of human perioperative natural killer cell cytotoxicity.

Arch SurgMar, 126 : 338-342, 1991
 2) 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.
 3) 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.
 4) Pollock RE, Babcock GF, Romsdahl MM, et al : Surgical stress-mediated suppression of murine natural killer cell cytotoxicity. Cancer Res, 44 : 3888-3891, 1984.
 5) Pollock RE, Lotzova E, Stanford SD, et al : Effect of surgical stress on murine natural killer cell cytotoxicity. J Immunol, 138 : 171-178, 1987.
 6) 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.
 7) Garabal MF, Belmonte A, Orallo F, et al : Effect of alprazolam on T-cell immunosuppressive response to surgical stress in mice. Cancer Lett, 58 : 183-187, 1991.
 8) Garabal MF, Belmonte A, Balboa JL, et al : Effect of midazolam on T-cell immunosuppressive response to surgical stress in mice. Pharmacol Biochem Behav, 43 : 85-89, 1992.
 9) Colacchio TA, Yeager MP, Hildebrandt LW : Perioperative immunomodulation in cancer surgery. Am J Surg, 167 : 174-179, 1994.
 10) Zellweger R, Ayala A, Zhu XL, et al : Effect of surgical trauma on splenocyte and peritoneal macrophage immune function. J Trauma, 39 : 645-650, 1995.
 11) Da Costa ML, Redmond P, Bouchier-Hayes DJ : The effect of laparotomy and laparoscopy on the establishment of spontaneous tumor metastases. Surgery, 124 : 516-525, 1998.
 12) Da Costa ML, Redmond HP, Bouchier-Hayes DJ : Taurolidine improves survival by abrogating the accelerated development and proliferation of solid tumors and development of organ metastases from circulating tumor cells released following surgery. J Surg Res, 101 : 111-119, 2001.
 13) Ben-Eliyahu S, Page GG, Yirmiya R, Shakh ar G : Evidence that stress and surgical interventions promote tumor development by suppressing natural killer cell activity. Int J Cancer, 80 : 880-888, 1999.
 14) Sacerdote P, Bianchi M, Gaspani L, et al : The effects of tramadol and morphine on immune responses and pain after surgery in cancer patients. Anesth Analg, 90 : 1411-1414, 2000.
 15) 角田卓也, 谷村 弘, 瀧藤克也ら: 癌患者の術後

- 感染症. *BIO THERAPY*, 13 : 897-902, 1999.
- 16) 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.
 - 17) 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.
 - 18) Koda K, Saito N, Takiguchi N, et al : Preoperative natural killer cell activity : correlation with distant metastases in curatively resected colorectal carcinomas. *Int Surg*, 82 : 190-193, 1997.
 - 19) Fujisawa T, Yamaguchi Y : Autologous tumor killing activity as a prognostic factor in primary resected nonsmall cell carcinoma of the lung. *Cancer*, 79 : 474-481, 1997.
 - 20) Redmond HP, Watson RW, Houghton T, et al : Immune function in patients undergoing open vs laparoscopic cholecystectomy. *Arch Surg*, 129 : 1240-1246, 1994.
 - 21) 柴田昌彦, 阿部英雄, 朴 秀智ら: 担癌宿主の免疫・栄養相関と高度進行癌に対する tumor dormancy therapyとしてのCDDP+UFT+PSK療法の効果. *BIO THERAPY*, 16 : 416-420, 2002.
 - 22) 田口辰樹, 篠原昭二, 咲田雅一: 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. *明治鍼灸医学*, 26 : 43-51, 2000.
 - 23) Cheng XD, Wu GC, He QZ, 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.
 - 24) Du LN, Wu GC, Cao XD : Modulation of orphanin FQ or electroacupuncture (EA) on immune function of traumatic rats. *Acupunct Electrother Res*, 23 : 1-8, 1998.
 - 25) 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.
 - 26) 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.
 - 27) Sato T, Yu Y, Guo SY, et al : Acupuncture stimulation enhances splenic natural killer cell cytotoxicity in rats. *Jpn J Physiol*, 46 : 131-136, 1996.
 - 28) 黒野保三, 平松由江, 松本美富ら: 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.
 - 29) 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.
 - 30) Chen A : An introduction to sequential electric acupuncture (SEA) in the treatment of stress related physical and mental disorders. *Acupunct Electrother Res*, 17 : 273-283, 1992.
 - 31) Han SH, Yoon SH, Cho YW, et al : Inhibitory effects of electroacupuncture on stress responses evoked tooth-pulp stimulation in rats. *Physiol Behav*, 66 : 217 - 222, 1999.
 - 32) Kotani N, Hashimoto H, Sato Y, et al : Preoperative intradermal acupuncture reduces postoperative pain, nausea and vomiting, analgesic requirement, and sympathoadrenal responses. *Anesthesiology*, 95 : 349 -56, 2001.
 - 33) 小川龍, 弓削孟文, 細川豊史: 麻酔と手術侵襲, 真興交易医書出版部, 東京, pp11-13
 - 34) Mathews PM, Froelich CJ, Sibbitt WL, et al : Enhancement of natural cytotoxicity by β -endorphin. *J Immunol*, 130 : 1658-1662, 1983.
 - 35) Wakao K, Matsuzaki I, Terao K, et al : Involvement of granzyme B expression in the enhancement of natural killer activity by beta-endorphin. *Brain Behav Immun*, 14 : 27-40, 2000.
 - 36) Gilman SC, Schwartz JM, Milner RJ, et al : β -Endorphin enhances lymphocyte proliferative responses. *Proc Natl Acad Sci USA*, 79 : 4226-4230, 1982.
 - 37) van den Bergh P, Rozing J, Nagelkerken L : Two opposing modes of action of beta-endorphin on lymphocyte function. *Immunology*, 72 : 537-543, 1991.
 - 38) 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 : 537-544, 1996.
 - 39) Katafuchi T, Ichijo T, Take S, Hori T : Hypothalamic modulation of splenic natural killer cell activity in rats. *J Physiol*, 471 : 209-221, 1993.
 - 40) Katafuchi T, Take S, Hori T : Roles of sympathetic nervous system in the suppression of cytotoxicity of splenic natural killer cells in the rat. *J Physiol*, 465 : 343-357, 1993.
 - 41) Irwin M, Hauger R L, Brown M, et al : CRF activates autonomic nervous system and reduces natural killer cytotoxicity. *Am J Physiol*, 255 : 744-747, 1988.
 - 42) Irwin M, Hauger R L, Jones L, et al : Sympathetic nervous system mediates central corticotropin releasing factor induced suppression of natural killer cytotoxicity. *J Pharmacol Exp Ther*, 255 : 101-107, 1990.
 - 43) Zhang Y, Wu GC, He QZ, et al : Effect of morphine and electro-acupuncture (EA) on apoptosis of thymocytes. *Acupunct Electrother Res*, 25 : 17-26, 2000.

- 44) 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.
- 45) Qui SL, Gui ZY : 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.
- 46) 加藤 麦：拘束ストレスへの鍼通電刺激の脳内モノアミンに及ぼす影響. 明治鍼灸医学, 27 : 27-45, 2000.
- 47) Zhao H, Du LN, Jiang JW, et al : Neuroimmunol regulation of electroacupuncture (EA) on the traumatic rats. Acupunct Electrother Res, 27 : 15 - 27, 2002.

The effects of preoperative electroacupuncture stimulation on the immunosuppression induced by surgical stress.

†TAGUCHI Tatsuki

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

Abstract

Purpose : In this study, we investigated whether preoperative electroacupuncture stimulation (EA) could prevent the immunosuppression caused by surgical stress. In addition, we also examined whether the hypothalamus-pituitary-adrenal (HPA) axis, sympathetic nervous system and opioids were involved in the inhibitory effects of preoperative EA stimulation.

Methods : Male Sprague-Dawley rats were used. Rats underwent surgery under anesthesia as a model of surgical stress. EA stimulation was administered daily from 2 days before surgery until the day of surgery. EA stimulation was performed on the right anterior tibial muscles for 60 minutes without restriction. Natural killer (NK) activity and proliferative responses of spleen cells to mitogens (PHA, Con A, LPS) were measured 24 and 72 hours after the surgery. The concentration of blood ACTH, corticosterone, noradrenaline and adrenaline were measured 3, 24 and 72 hours after the surgery. To examine the involvement of opioids in the effect of EA, naloxone was administered by intraperitoneal injection just before EA stimulation.

Results : Both NK cell activity and lymphocyte proliferative responses to PHA, Con A and LPS were significantly suppressed by surgical stress. This suppression was prevented by preoperative EA stimulation. The inhibitory effects of EA stimulation on NK cell activity reduced by surgical stress were antagonized by naloxone treatment, lymphocyte proliferative responses were not affected by the treatment. The concentrations of ACTH, corticosterone, noradrenaline and adrenaline in plasma were significantly elevated by surgical stress. Preoperative EA stimulation inhibited the increase of plasma ACTH, corticosterone, noradrenaline and adrenaline.

Conclusion : These findings suggest that : 1) preoperative EA stimulation inhibits postoperative immunosuppression induced by surgical stress, 2) EA stimulation may induce release of opioids which activate NK cells and 3) preoperative EA reduce surgical stress induced immunosuppression through HPA axis and sympathetic nervous system.

Received on October 30, 2002 ; Accepted on January 14, 2003

† To whom correspondence should be addressed.

Meiji University of Oriental Medicine, Hiyoshi-cho, Funaigun, Kyoto 629-0392, Japan