原 著

ラットアクリルアミド末梢神経炎における
施灸刺激の基礎的研究 (第1報)

—アクリルアミド末梢神経炎病態像の作成および施灸刺激の影響—

岡崎 雅子* 桜井 淑子 斉藤 秀樹

古屋 英治 坂本 浩二

要旨 実験的末梢神経炎に対する灸刺激の影響について、アクリルアミドによる病態像作成およびそれに対する施灸効果を検索した。S.D. 系雄性ラットにおいて100, 200, 300, 400, 500p.p.m. 水溶液を自由摂取させることにより、濃度依存的に体重減少、一般行動の悪化がみられ、特に後肢の伸展、歩行失調が著明であった。施灸刺激実験は、400p.p.m. 水溶液自由摂取と同時に週3回、2週にわたり計6回行った。総艾重量を25mg/body とし、ヒト経穴相当部位としての肝兪、大腸兪、陽陵泉に施灸した。その結果、摂取開始後12~13日でアクリルアミドによる一般行動悪化の改善傾向がみられ、更に後肢骨格筋の重量減少が改善された。

I 緒 言

我々は、施灸による経穴刺激効果を実験動物を用いて、より客観的に把握することを目的とし、先にマウスを用い網内系機能、特にカーボン食能に対する施灸刺激の影響^{1,2,3)}と、血液凝固線溶能に及ぼす影響⁴⁾について報告している。今回は、鍼灸治療の対象となり易いと考えられる末梢神経炎に主眼をおき、実験動物によりアクリルアミドによる末梢神経炎の病態像を作成し、それに対する灸刺激の影響について検索した。アクリルアミドは、土質安定剤、紙力増強剤、塗料等に用いら

れる重合性の強い有機物質であり、中毒患者の臨床的症状として、四肢末端での異常知覚、表在性知覚・深部知覚の低下、軽度の脱力、知覚性の運動失調などが報告されている⁵⁾。これらの主訴が鍼灸治療対象者に多くみられることから、ラットアクリルアミド末梢神経炎に対して、ヒト経穴相当部位の肝兪、大腸兪、陽陵泉各部位への施灸刺激の影響を検索し、興味ある結果を得た。

II 実験動物および方法

1. 実験動物

実験には、5週齢、体重約140gのSprague-Dawley (JCL:SD) 系雄性ラットを用いた。

2. アクリルアミドによる末梢神経炎作成法

ラットは、1群10~15匹とし実験期間中、個別ケージ内で飼育し、アクリルアミドは、100, 200, 300, 400, 500p.p.m. の濃度に水道水で希釈したものを飲料水として自由摂取させた。死亡率、体重変化、一般行動および傾斜面における姿勢保持

*Masako OKAZAKI 昭和大学医学部第一薬理学教室

共同研究者: Yoshiko SAKURAI, Hideki SAITÔ, Eiji FURUYA 東京鍼灸柔整専門学校, Koji SAKAMOTO 昭和大学医学部第一薬理学教室

Key Words: アクリルアミド, 末梢神経炎, 肝兪, 大腸兪, 陽陵泉

1. 傾斜面における姿勢保持力検査装置。
2. ヒト経穴相当部位である肝兪施灸ラット。
3. 大腸兪施灸ラット。
4. 陽陵泉施灸ラット。

図1 傾斜面における姿勢保持力検査装置およびラットへの施灸方法

力を検討した。

3. アクリルアミド末梢神経炎に対する施灸刺激方法

400p.m. アクリルアミド自由摂取開始と同時に施灸を行った。施灸方法は図1の2, 3, 4に示したようにヒト経穴相当部位として左右の肝兪(B-18), 大腸兪(B-25), 陽陵泉(G-34)を選び、総艾重量25mg/bodyを10壯の艾柱に分け、各部位に5壯、週3度の割合で計6回施灸した。実験群としては、水道水を飲料水とした対照群、400p.m. アクリルアミド摂取群、アクリルアミド+肝兪施灸群、アクリルアミド+大腸兪施灸群、アクリルアミド+陽陵泉施灸群の計5群とし、アクリルアミド摂取開始後13日に実験に供した。

4. アクリルアミド末梢神経炎病態像の検査項目およびその方法

- 1) 体重増加率の経日的変動
- 2) ラットの一般行動、特に後肢の状態観察。一般症状、および後肢の障害状態を以下の基準により採点した。観察時には程度のひどさから、Ⅲ, Ⅱ, Ⅰ, Ⅳの4段階に分け、Ⅰを下記の点とし、Ⅱは下記の点数/2, Ⅲは下記の点数×2, Ⅳは下

記の点数×3, 片方の後肢のみの場合、下記の点数/2とした。

○後肢の背屈(両足の場合)	1点
○指間距離の消失	2点
○指趾の彎曲	3点
○軽度の歩行異常(後肢の異常により腰が浮いた状態で歩行する状態)	4点
○立毛	5点
○後肢撤去反射の消失	6点
○ひきずり歩行(後肢の背面をひきずる歩行異常)	7点
○歩行失調	8点
○四肢の変色	9点
○呼吸困難	10点
○体動不能の状態	11点
○鼻出血	12点
○死亡	60点

5. 傾斜面におけるラットの姿勢保持力

図1の1のように、最大角度45°の傾斜面を持つ装置を用い、その角度を変えることにより、ラットの後肢筋力を傾斜面での姿勢保持力で検討した。角度をあげるにより、ラットが正常姿勢を保

持できず、ずり落ちてくる角度で検討した。

6. 後肢骨格筋重量測定

各群の前脛骨筋 (anterior tibial m.), 腓腹筋 (gastrocnemius m.), ヒラメ筋 (soleus m.) の湿重量を測定した。なお、図に示した実験結果は、平均±標準偏差で表わし、t 検定による有意差検定を行った。

図2 アクリルアミド摂取ラットにおける体重曲線、一般行動変化および傾斜面での姿勢保持力の経日的変化
上段：傾斜面での姿勢保持力
中段：後肢を中心とした一般行動変化
下段：体重曲線

III 実験結果

1. アクリルアミドによる末梢神経炎作成実験

図2に、アクリルアミド100, 200, 300, 400, 500p.p.m. 水溶液をラットに自由摂取させて飼育した時の体重変化(下段), 一般行動(中段), 傾斜面における姿勢保持力(上段)を経日的に示した。アクリルアミド摂取開始9日前後では、対照群およびアクリルアミド100, 200p.p.m. 飼育群で体重減少はみられなかったが、300, 400, 500p.p.m. 摂取群では、有意な体重減少を示した。飼育期間中、後半になると、図3の1のように後肢の伸展、撤去反射の消失などの典型的なアクリルアミド末梢神経症状を示した。更に障害が進むと前肢にまで麻痺が進行し(図3-2), アクリルアミドの濃度に依存した一般行動の悪化、死亡例の増加がみられた。

A. A. neuropathy

1.

2.

図3 典型的なラットアクリルアミド末梢神経炎症状

図4 400p.p.m. アクリルアミド摂取ラットおよび施灸併用ラットにおける体重増加率の経日的変動

図5 後肢を中心とした一般行動の経日的変動

しかし、傾斜面における姿勢保持力は、アクリルアミド群で低下するものの、必ずしも濃度依存性には認め難かった。

以上の結果から、今回の施灸刺激実験には 400 p.p.m. アクリルアミド自由摂取による末梢神経炎を病態像として設定した。

2. アクリルアミド末梢神経炎に対する施灸刺激の影響

1) 体重増加率の経日的変動

図4に各群の体重変動を400p.p.m. アクリルアミド摂取開始時の体重を1としてその後の増加率の平均を経日的に示した。対照群の体重増加率が順調に増加するのに対し、アクリルアミド群では摂取開始3日から低下傾向がみられ、2週間以内の薬物による死亡例は28匹中2匹であった。それに対し、同期間各ヒト経穴相当部位への施灸併用群ではアクリルアミドによる死亡例はみられず、死亡時期がやや延期される傾向がみられた。しかし、アクリルアミドによる体重増加率低下は、灸刺激によって改善されなかった。

2) 一般行動

図5に、ラットの一般行動および後肢の状態を一定の基準により採点し、各群の平均を経日的に示した。対照群に対し、アクリルアミド摂取群では、8日目頃から後肢の背屈傾向、指間距離の短縮がみられ、飼育11日から後肢を中心に状態の悪化が著明となり、13日目には死亡するケースも認められた。施灸併用群において、12日目の肝俞、大腸俞群、13日目の陽陵泉施灸群で、アクリルアミド摂取群に対し、一般行動および後肢の障害が改善された。

3) 傾斜面におけるラットの姿勢保持力

実験開始12日もしくは13日の対照群のラットは、約45°の傾斜面に対してしっかりと正常姿勢を保持した(図1の1)。それに対し、アクリルアミド摂取群のラットは、実験開始7日から45°の傾斜面からずり落ちる様になり、正常姿勢を保持できる角度が明らかに低下し、後肢筋力の低下が目立った。

施灸併用群では、アクリルアミドによる傾斜面での姿勢保持力低下に対する明らかな改善効果はなく、陽陵泉施灸群ではアクリルアミド単独群より更に悪化する傾向を示した(図6)。

図6 傾斜面におけるラット姿勢保持力の経日的変動

4) 後肢骨格筋重量測定

アクリルアミド摂取により、前脛骨筋、腓腹筋、ヒラメ筋の湿重量は共に対照群に比べ明らかな減少がみられた。それに対し、大腸叡施灸群では、3種の骨格筋すべてで重量減少が有意に改善された。又、肝叡施灸群でもヒラメ筋の重量減少が改善されたが、陽陵泉施灸群では効果が認められなかった(図7)。又、筋体重比で検討すると、アクリルアミド摂取により前脛骨筋、腓腹筋では対照群に比べ有意に低下し、ヒラメ筋では逆に増加した。施灸併用群では、大腸叡群で前脛骨筋および腓腹筋のアクリルアミドによる減少に有意に改善効果を示し、陽陵泉群では前脛骨筋に対し改善傾向がみられた。ヒラメ筋に関しては、大腸叡群でアクリルアミド単独群より更に筋体重比の増加がみられた(図8)。

図7 後肢骨格筋湿重量に及ぼす400p.p.m. アクリルアミド摂取および施灸刺激の影響

図8 後肢骨格筋における筋体重比に及ぼす400p.p.m. アクリルアミド摂取および施灸刺激の影響

Ⅳ 考 察

従来から、坐骨神経痛、関節炎、多発性神経炎など種々の末梢神経障害は、鍼灸治療の対象として数多くみられる。最近是国内だけでなく西欧においても、鍼灸治療が盛んになり、下肢障害⁶⁾や糖尿病性多発性神経炎患者⁷⁾の治療に好成績をあげている。しかし、現在の所、実験動物により客観的に鍼灸治療、特に灸刺激効果のみを示した報告は皆無に等しい。当教室においては、実験動物を用い、灸刺激効果およびその作用機序をより客観的に実証する事を目的とし、一連の実験を行なっている。今回は、実験の末梢神経炎作成法の確立と、それに対する施灸刺激の影響を検討した。

アクリルアミドおよびその類縁物質の神経毒については、Hashimoto らが、マウスの rotarod performance test により詳細に検討している⁸⁾。又、アクリルアミド摂取による末梢神経炎は、腹腔投与および食餌に混入させて自由摂取させるなど種々の報告がある^{9,10)}。我々は、種々の濃度のアクリルアミド水溶液を自由摂取させる事により、濃度依存的に体重減少および後肢を中心とした一般行動の悪化を確認した。しかし、後肢筋力の減衰をチェックする一方法として考案した傾斜面における姿勢保持力の検定方法は、必ずしもアクリルアミド水溶液の濃度に依存した後肢筋力の減衰を示し得なかった。本実験で用いたラットは、すべて体重250g以下であり、傾斜面での姿勢保持力検査において、体重による影響はなかった。しかし、一面で、アクリルアミドにより後肢障害が明らかなラットが、高角度で安定した状態を示すなどバラツキが大であった。後肢障害度を表わす方法は、今後更に考慮する必要がある。

後肢を中心とした一般行動は、アクリルアミドの濃度に応じて、順次悪化する傾向を示したが、施灸併用実験では、400p.p.m. アクリルアミド単独摂取群に比較し、肝俞、大腸俞、陽陵泉施灸群で一部、後肢を中心とした一般行動の改善効果が認められた。更に、後肢骨格筋の湿重量測定により、大腸俞施灸群では前脛骨筋、腓腹筋、ヒラメ筋の湿重量減少に対して改善効果があり、この傾向は、筋体重比であらわしても著明であった。肝

俞群では、ヒラメ筋の湿重量減少に対して改善効果があったが、筋体重比では変化はなかった。陽陵泉群では、体重減少がより著明のためか、筋体重比では改善傾向を示した。以上より、本実験条件による施灸刺激は、ラットアクリルアミド末梢神経炎に対し、ある程度治療効果が認められたといえる。

筋線維は強力な筋の活動により肥大したり、反対に長期間動かさない筋では筋萎縮が起こる¹¹⁾と言われている。又、末梢神経障害により、その支配筋が萎縮したり、小径化した筋線維がひとつの群をなして存在する場合もある¹²⁾という。アクリルアミド摂取により末梢神経障害が報告されており、今回の実験結果における筋萎縮もその支配する末梢神経障害が原因と考えられる。又、施灸併用群において、筋重量の回復など一部に改善効果が認められた。局所疼痛に対する鍼灸治療効果の作用機序解明のための木下¹³⁾の実験によれば、坐骨神経痛様症状を呈する患者の疼痛部において、施鍼灸前後の皮膚温、筋肉温を測定し、施鍼灸後それら局部温の上昇を認め、鍼灸は低下している筋の血行動態を改善すると推定している。灸刺激のみでは、明瞭な皮下温上昇を認め得るかどうかは明らかではないが、アクリルアミド末梢神経障害で生じた筋血流量の低下および血行動態の障害が施灸による熱刺激により一部改善された可能性が考えられる。Reis ら¹⁴⁾の報告によると、赤筋であるヒラメ筋での血流速度は白筋である腓腹筋の約3倍であるという。筋湿重量では、対照に比べ有意に減少したアクリルアミド群のヒラメ筋も、筋体重比でみると他の2つの筋に比しヒラメ筋のみが増加している。即ち、アクリルアミドによる体重減少が著明な割にはヒラメ筋のみその重量減少程度が軽度であったといえる。この事は、本実験条件によるアクリルアミドでは、ミトコンドリアやミオグロビンに富み豊富な血液供給を受けているヒラメ筋には、アクリルアミドの影響は及ぼし難かったと考えられる。

単に湿重量のみで考えると、アクリルアミドの骨格筋重量減少は、大腸俞および肝俞施灸群でヒラメ筋の重量回復が共通して認められた。これは施灸刺激による血行動態の改善が、本来血液供給

を多く受けているヒラメ筋で、より効果的に表われたとも考えられる。

今後、これらの問題点につき、末梢神経である坐骨神経、脛骨神経の形態変化およびその支配筋でのコリンエステラーゼ活性を中心に検討する予定である。

引用文献

- 1) 古屋英治, 坂本秀治, 岡崎雅子ほか: マウス食能に及ぼす施灸刺激の影響, 第1報—1回施灸による経時的変化—, 全日本鍼灸学会雑誌 31(1);34.(1981)
- 2) 古屋英治, 岡崎雅子, 笠原多嘉子ほか: マウス食能に及ぼす施灸刺激の影響, 第2報—1回施灸による腹腔渗出細胞および腹腔マクロファージのライソゾーム酵素活性の動態—, 全日本鍼灸学会雑誌 32(2);1.(1982)
- 3) 岡崎雅子, 古屋英治, 松山陽太郎ほか: マウス食能に及ぼす施灸刺激の影響, 第3報—間歇的連続施灸刺激による検討—, 全日本鍼灸学会雑誌 32(2);9.(1982)
- 4) 長野邦子, 笠原多嘉子, 坂本浩二ほか: マウス血液凝固線溶能に及ぼす1回施灸刺激の影響, 全日本鍼灸学会雑誌 32(1);15.(1982)
- 5) 里吉富二郎, 木下真男, 矢野春雄ほか: Acrylamide による末梢神経障害の3例, 臨床神経 11;667.(1971)
- 6) Jower, G. W.: Acupuncture and Moxibustion Therapy for lower limb problems Am. J. Acupuncture 10;139.(1982)
- 7) C. Ionescu-Tirgoviste, Phleck-Khlayan, A. Danciu et al.: The treatment of peripheral polyneuritis by electroacupuncture. Am. J. Acupuncture 9;303.(1981)
- 8) Hashimoto, K., Sakamoto, J. and Tanii H.: Neurotoxicity of acrylamide and related Compounds and their effects on male gonads in mice. Arch. Toxicol. 47;179.(1981)
- 9) Fullerton, P. M and Barnes J. M.: Peripheral neuropathy in rats produced by acrylamide. Brit. J. industri. Med., 23;210.(1966)
- 10) Hashimoto K. and Aldridge W. N.: Biochemical studies on acrylamide, a neurotoxic agent. Biochem. Pharmacol. 19;2591.(1970)
- 11) 山田英智ほか監訳: ブルームフォーセット組織学 (I), 広川書店, 東京(1979), p.315.
- 12) 吉利和ほか監訳: 新内科学大系12, 神経疾患V, 中山書店, 東京(1976), p.264.
- 13) 木下晴都: 局所疼痛に対する鍼作用の実験的研究 I; 皮膚温, 筋肉温, 脈波から検した局所疼痛に対する針灸の作用機序, 昭医誌 41;147.(1981)
- 14) Reis D. J., Wooten G. F. and Hollenberg M.: Differences in nutrient blood flow of red and white skeletal muscle in the cat. Am. J. Physiol. 213;592.(1967)
(〒142 東京都品川区旗の台1-5-8 昭和大学医学部第一薬理学教室)

Studies on Moxibustion in Acrylamide Peripheral Neuropathy (report 1)

—The establishment of experimental peripheral neuropathy by acrylamide and the effect of moxibustion on the peripheral neuropathy—

Masako Okazaki, Koji Sakamoto.

Showa University, School of Medicine, Department of Pharmacology.

Yoshiko Sakurai, Hideki Saitô, Eiji Furuya.

Tokyo Acupuncture, Moxibustion & Jusei College.

The establishment of experimental peripheral neuropathy and effect of moxibustion on it have been studied using male S. D. rats. To determine the condition of experimental peripheral neuropathy, rats were fed on the solution of acrylamide in the concentration of 100, 200, 300, 400 and 500 p. p. m. The body weight decreased dependently on its concentration and the behavior in rats was also deteriorated. Especially, ataxia, hindlimb weakness and muscle wasting in rats were remarkably observed.

The effect of moxibustion has been studied on the rats which fed on the 400 p.p.m. acrylamide solution. The method of moxibustion is follows; 25mg of moxa was divided into 10 cones and they were treated by each 5 cones on right and left B-18, B-25 and G-34, respectively. The treatment of moxibustion was 6 times in 3 ones a week for 13 days.

As a results, after 12-13 days, moxibustion treated rats showed to improve the deterioration of behavior and muscle wasting induced by acrylamide. Especially, B-25 treated rats showed the improvement of weight in anterior tibial, gastrocnemius and soleus muscle. On the other hand, steadiness on slope was decreased by acrylamide feeding and decrease of the steadiness was not improved by the treatment of moxibustion.

It is suggested that the suitable stimulation of moxibustion improved the deterioration of behavior and muscle waste on the acrylamide induced peripheral neuropathy in rats.