

—原著—

緊張性振動反射 (TVR) を用いたラット閉口筋興奮性の検討

—疼痛の及ぼす影響—

小池朋江^{1, 2}, 山村健介¹, 高田佳之², 新垣 晋², 山田好秋¹

¹新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔生命科学専攻
摂食環境制御学講座 顎顔面機能学分野
(主任: 山田好秋教授)

²新潟大学大学院医歯学総合研究科 口腔生命科学専攻
顎顔面再建学講座 組織再建口腔外科学分野
(指導: 新垣 晋助教授)

Study on the activity of jaw closing muscles

using tonic vibration reflex in the rat

—The effect of noxious stimuli—

Tomoe Koike^{1, 2}, Kensuke Yamamura¹, Yoshiyuki Takata²,
Susumu Shingaki², Yoshiaki Yamada¹

¹*Division of Oral Physiology,
Department of Oral Biological Science, Course for Oral Life Science,
Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
(Chief: Prof. Yoshiaki Yamada)*

²*Division of Reconstructive Surgery for Oral and Maxillofacial region,
Department of Tissue Regeneration and Reconstruction, Course for Oral Life Science,
Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences
(Director: Assoc.Prof. Susumu Shingaki)*

平成14年 5 月14日受付 5 月14日受理

Key words: tonic vibration reflex (緊張性振動反射), jaw closing muscles (閉口筋), rat (ラット)

Abstract: To evaluate the activity of jaw closing muscles, we investigated the tonic vibration reflex (TVR) elicited in jaw closing muscles in rats. The experiments were performed on Wistar rats anaesthetized with urethane (1 g/kg). The vibration (120-150 Hz, 1 mm) was applied to the mandible and the reflex activity was recorded bilaterally from the masseter, temporal and digastric muscles. Experiment I: To establish an experiment model, effective parameters such as vibration frequency, direction of vibration, and jaw position (muscle length) to elicit TVRs were determined. Experiment II: Using the established experimental model, we examined effects of hypertonic saline (5 %) and mustard oil (20% in mineral oil) injection into the temporal muscle on TVRs. A vibration frequency of 150 Hz in horizontal direction and jaw opening position of 7 mm apart at the opposing incisor were determined to be the most effective parameters for TVRs. Both chemicals injected into the temporal muscle reduced the TVR amplitude, and the effect of mustard oil was more than that of hypertonic saline. However, the modulatory effect varied among the muscles tested. In conclusion, effective parameters to elicit TVRs were determined and the change in sensitivity of muscle spindles was suspected to be a factor that affect the response of TVRs to noxious stimuli applied to the jaw closing muscles.

抄録：ラット閉口筋に微小振動刺激を与え誘発される緊張性振動反射（TVR）を指標に閉口筋の興奮性を評価する実験モデルの確立と，この実験モデルを用いて痛み刺激が筋紡錘の活動性にどのような影響を及ぼしているかについて筋電図学的に研究した。実験にはWistar系ラットを用いた。麻酔はウレタン（1 g/kg）を静脈内投与して行った。高頻度微小振動（120-150 Hz，1 mm）を発生する振動モータを用い，下顎骨を振動させることで閉口筋に誘発されるTVR応答を両側咬筋，側頭筋ならびに顎二腹筋筋電図にて記録した。実験I）TVR誘発実験モデルを確立するために，振動の頻度，振動方向，開口量について至適TVR誘発条件を調べた。実験II）前項Iで得られた実験モデルを用いて，高張食塩水（5%）あるいはマスタードオイル（20% in mineral oil）を片側側頭筋に注入しTVRに与える影響について検討した。至適TVR誘発条件を，振動頻度は150 Hz，振動方向は水平方向，開口量は7 mmと決定した。5%食塩水あるいはマスタードオイルの注入によって閉口筋に誘発されるTVR応答は変調された。両刺激溶液ともTVR応答は注入前より減弱され，その減弱はマスタードオイルでより強く得られたが，その変調様式には記録した筋の種類によって相違が認められた。以上の結果から，至適TVR誘発条件が設定され，痛み刺激が筋紡錘の活動性を変化させる可能性が示唆された。

緒 言

顎口腔の運動障害を主訴とする患者には，偏位や開口障害などの機能不全を認めることが多い。その原因の一つとして，筋緊張亢進が関与することが指摘されている。この筋緊張が繰り返されると筋疲労を誘発しいわゆる筋スパズムといわれる筋痛を伴った筋緊張の異常亢進が引き起こされる。また一度筋痛が発生すると筋緊張が亢進し，さらに筋痛を増悪させると考えられている^{1, 2)}が，その詳細な機序はいまだ不明な点が多い。

これまで，筋炎，筋損傷を想定した実験モデルが提唱され，侵害刺激が咀嚼筋活動に及ぼす影響について多くの研究がなされてきた^{3, 4)}。その結果，三叉神経深部領域の侵害刺激により咀嚼筋運動神経の興奮性が変化することや顎運動が変調されることが報告されている。しかし，咀嚼筋の固有受容器である筋紡錘の活動にいかなる影響を及ぼすかについての詳細な研究はまだなく，本研究はその点を間接的にではあるが明らかにすることを目的に行われた。

咀嚼筋や骨格筋に微小振動を加えると選択的に筋紡錘中の一次終末が興奮し，反射性に筋活動が誘発されることが知られており^{5, 6)}，緊張性振動反射（tonic vibration reflex：TVR）と呼ばれている。この反射は錘内筋を支配する γ 運動神経活動の影響を強く受けると考えられている。一方，痛み刺激が γ 運動神経活動を変化させるとの報告⁷⁾があることより，咀嚼筋の疼痛が筋紡錘の活動へ影響を及ぼすことが予想される。

そこで本研究では，ラット閉口筋に微小振動刺激を与え誘発されるTVRによる反射性活動を指標に閉口筋の興奮性を評価する実験モデルの確立と，この実験モデルを用いて痛み刺激が筋紡錘の活動性にどのような影響を及ぼしているかを検索することとした。

方 法

実験にはWistar系雄成熟ラット（体重250-350 g）15匹を用いた。硫酸アトロピン（0.4 mg/kg，筋注）にて前処置を施し20分間おいた後，ハロタン2-3%を含む酸素ガスを吸入させ導入麻酔を行った。維持麻酔は大腿静脈にカテーテルを挿入後，25%ウレタンリンガー液を静脈内投与して行った。初回量として0.8 g/kgを投与し，その後下肢に与えた痛覚刺激に対し，体動がなくわずかに屈曲反射が起こる状態を維持するよう適宜追加投与を行った。また，記録開始後には追加投与は行わなかった。切開の際には2%塩酸リドカインによる局所麻酔を併用した。実験中ヒーティングパッドにて直腸温を38℃に維持した。すべての実験終了後にウレタンリンガー液を過量投与することで動物を安楽死させた。

麻酔下でまずラットを仰臥位に固定し，下顎正中部に切開を加えて前下顎骨を露出させ，ラウンドバーにて左右両側に深さ0.5 mm程度の穴をあけた。下顎切歯歯根が露出した場合には必要に応じて2%塩酸リドカインによる局所麻酔を施した後，両端をU字型に屈曲した矯正用ワイヤー（ ϕ 0.6 mm）を両側の穴に下顎切歯が離開しない程度に強く挿入固定した。術野の止血を確認後，下顎骨と挿入したワイヤーを歯科用接着性レジン（スーパーボンド）で固定し，このワイヤーと体軸に対し垂直に金属製のチューブ（ ϕ 0.85 mm，長さ8 mm）をスーパーボンドで固定した。次いで，同じ切開部から筋電図記録用電極として先端を2 mm露出させたエナメルコート銅線（ ϕ 0.12 mm，長さ15 cm）を両側咬筋深層部ならびに顎二腹筋にそれぞれ2本ずつ刺入した。電極間距離は3 mmとした。次に腹臥位にて頭蓋骨を露出させ，前頭骨，頭頂骨に骨縫合部を避けて頭部固定のために3本の小型のビスを埋め込んだ。このビスと歯科用レジン（オストロン）を用いて，実験台に定位的に頭部を固定した。以上の処置が終了した後，両側側頭筋前部（垂直

部)に他の筋に用いたものと同様の電極を刺入した。

振動刺激

刺激には高頻度微小振動 (120-150 Hz, 振幅 1 mm) を発生する振動モータを用いた。振動モータを内蔵した刺激装置をマニピュレータに装着し, さらに刺激装置の振動部と前下顎骨に固定したチューブを矯正用ワイヤー ($\phi 0.8$ mm) を用いて連結した。本装置は振動刺激を発生するだけでなく, マニピュレータを操作することにより, 下顎位を前後方向, 開閉方向に調節できる。振動刺激はワイヤーを介して下顎骨に伝わり, 結果的に両側の咀嚼筋に与えられた。一回に与える刺激時間は10秒間とした。

実験 I 至適TVR誘発条件の決定

ラット閉口筋におけるTVR誘発実験モデルを確立するために, 振動の頻度, 振動方向, 下顎位 (開口量) の3種のパラメータについてTVR誘発の至適条件を調べた。一回の試行で, 振動刺激直前にマニピュレータにて任意の顎位に開口させ, 刺激終了後速やかに下顎安静位まで閉口させた。各試行間には前回の試行の影響を避けるため2分以上の休息期間をとり, その間下顎は安静位に保持した。

1) 振動の頻度

3匹のラットにて最適な振動頻度を決定した。筋電図記録用電極は咬筋浅層部に刺入し, 振動方向, 下顎位 (開口量) はそれぞれ咬合平面に対して水平方向, 7 mmとした。頻度はこれまでにヒトの咀嚼筋やウサギの下顎挙筋におけるTVR誘発実験^{5, 8)} で用いられた範囲内の120, 130, 140, 150 Hzで検索した。この際頻度をランダムに変化させながらそれぞれの頻度について5回以上の試行を行い誘発される筋電図応答を比較した。

2) 振動方向および下顎位 (開口量)

1匹のラットにて振動頻度を150 Hzに固定しTVRを誘発した。筋電図記録用電極は咬筋深層部ならびに側頭筋前部 (垂直部) に刺入した。振動方向は刺激装置のマニピュレータ装着方向と矯正用ワイヤーの屈曲方向によって変化させ, 咬合平面に対して垂直, 水平の2方向を比較した。筋の伸張度については生体を用いた本実験では個々の筋長を変化させることはできないため, ラットを受動的に開口させることによって最適な下顎位を求めた。振動が垂直方向の場合は, 開口量 (上下切歯間距離) を0 mm, 安静位, 2.5, 5, 7.5, 8 mmの6パターンに, 水平方向の場合は安静位, 5, 7.5 mmの3パターンにランダムに変化させて記録した。その際それぞれの開口量について5回以上の試行を行い誘発される筋電図応答を記録し, その応答量の平均値を比較した。

実験 II 閉口筋に与えた痛み刺激がTVRに及ぼす影響

痛み刺激は, 深部組織に痛みを起こすことが知られている高張食塩水 (5%) 0.4 ml⁹⁾, あるいは無髓 (C) 線維や細径の有髓 (A δ) 線維を特異的に興奮させ, 実験的起炎剤として用いられているマスタードオイル (MO: 20% in mineral oil) 40 μ l¹⁰⁾ を片側側頭筋筋腹に注入することで与えた。注射針 (26gauge) をポリエチレンチューブ ($\phi 0.45$ mm) を介して1 mlディスプレイシリンジ (5%食塩水), あるいは50 μ l Hamiltonシリンジ (MO) と連結した。その後この注射針を片側側頭筋の前方深層部に刺入した。針刺入後, 少なくとも20分の間隔をおいた後に記録を開始した。実際に刺激溶液を注入するまでの間に針先から刺激溶液が漏洩するのを防止するためにあらかじめチューブ先端と針の部分には0.9%生理食塩水を充填しておいた。

まずコントロールとして10秒間の振動刺激を9回行い, 誘発される筋電図応答を記録した。9回の刺激は0 (1回目), 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 7, 10分後に行った。実験Iの場合と同様に, 振動刺激直前にマニピュレータを操作して7 mm開口させ, 刺激終了後速やかに下顎安静位まで閉口させた。コントロール記録終了後5分の間隔をおいて, 5%食塩水は3分, MOは2分かけて片側側頭筋に注入した。注入後は注入終了直後 (0分後), 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 7, 10, 15, 20, 30, 40分後にそれぞれ振動刺激を与え誘発される筋電図応答を記録した。

TVR応答の記録と解析

刺激により誘発された筋活動電位は生体アンプにて増幅 ($\times 1000$) 後, high-pass (150Hz) およびlow-pass (1 kHz) フィルター処理を行い, データレコーダに収録すると同時に3 kHzのサンプリング速度でA/D変換しコンピュータに取り込んだ (power 1401: ケンブリッジエレクトロニクス社製)。振動刺激は1 kHzのサンプリング速度でA/D変換しコンピュータに取り込んだ。

解析は波形解析ソフト (Spike2: ケンブリッジエレクトロニクス社製) にて行った。まず誘発された筋電図を全波整流し, 移動平均法にてスムージングを行った。振動刺激開始後8秒間の波形についてその部分の面積 (area) を計測し, TVR応答量として解析の対象とした (図1)。TVR応答量 (area) は任意単位 (arbitrary unit: A.U.) にて表した。さらに実験IIについては, 9回行ったコントロールの平均応答量を100%となるよう規格化した上で, 注入終了後のそれぞれの時間経過で記録されたTVR応答量について比較を行った。

統計的検定は, 安静位と任意の顎位の比較を行う際にはOne-way ANOVA on ranks.とpost hoc. Dunn's Methodを, 刺激溶液注入前と注入後の比較を行う際に

はMann-Whitney Rank Sum Testを行った。

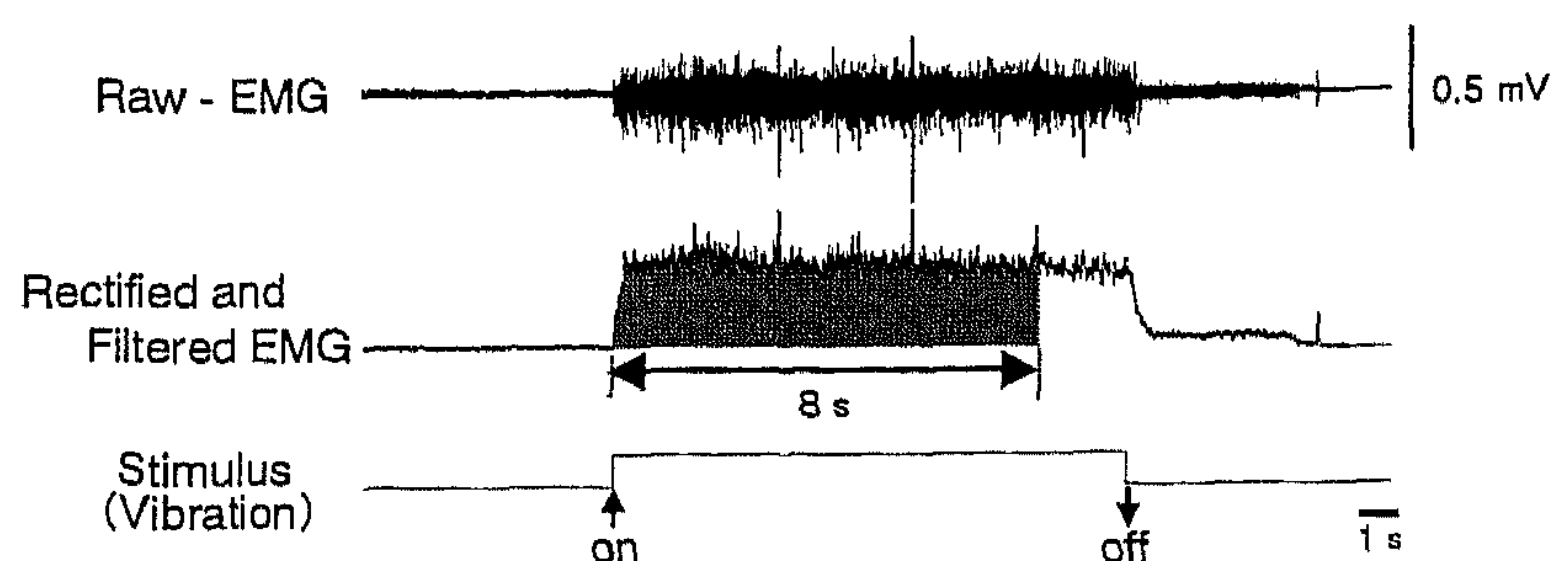


図1 振動刺激により誘発されるTVR応答の解析方法

上段：振動刺激により誘発された筋電図原波形

中段：原波形を全波整流し，low-passフィルターをかけた波形刺激開始（↑on）から8秒間の波形についてその部分の面積（●部分）を計測し，TVR応答量とした。

結 果

I. TVR誘発実験モデルの確立

1. ラット閉口筋におけるTVR

麻酔されたラットにおいて，下顎骨を振動させることによって刺激と同期した筋電図応答（TVR）が両側閉口筋（咬筋，側頭筋）に認められた（図2，コントロー

2. 至適TVR誘発条件の決定

1) 振動頻度

振動刺激の振幅を1 mmに保ち頻度を120, 130, 140, 150 Hzに変化させたところ，咬筋，側頭筋ともに頻度が大きいほどTVR応答は増大する傾向が認められた。以後，振動の頻度は150 Hzとした。

2) 振動方向および開口量

垂直方向に刺激した場合の右側-咬筋，右側-側頭筋の結果を図3Aに示す。右側-咬筋におけるTVR応答量の平均値は，開口量が0 mm，安静位，2.5，5，7.5，8 mmにおいてそれぞれ0.10，0.10，0.10，0.12，0.86，0.96 (A.U.)であった。開口量が7.5，8 mmで安静位と比較して応答量が有意に増加した ($p < 0.05$)。右側-側頭筋における平均値は，それぞれ0.03，0.03，0.05，0.22，0.15，0.15 (A.U.)であった。開口量が5，7.5，8 mmで安静位と比較して応答量が有意に増加した ($p < 0.05$)。左側-咬筋，側頭筋でも同様の結果が得られた。

水平方向に刺激した場合の右側-咬筋，右側-側頭筋の結果を図3Bに示す。右側-咬筋におけるTVR応答量の平均値は，開口量が安静位，5，7.5 mmにおいてそれぞれ0.02，0.23，0.42 (A.U.)であった。右側-側頭筋における平均値は，それぞれ0.01，0.17，0.23 (A.U.)であ

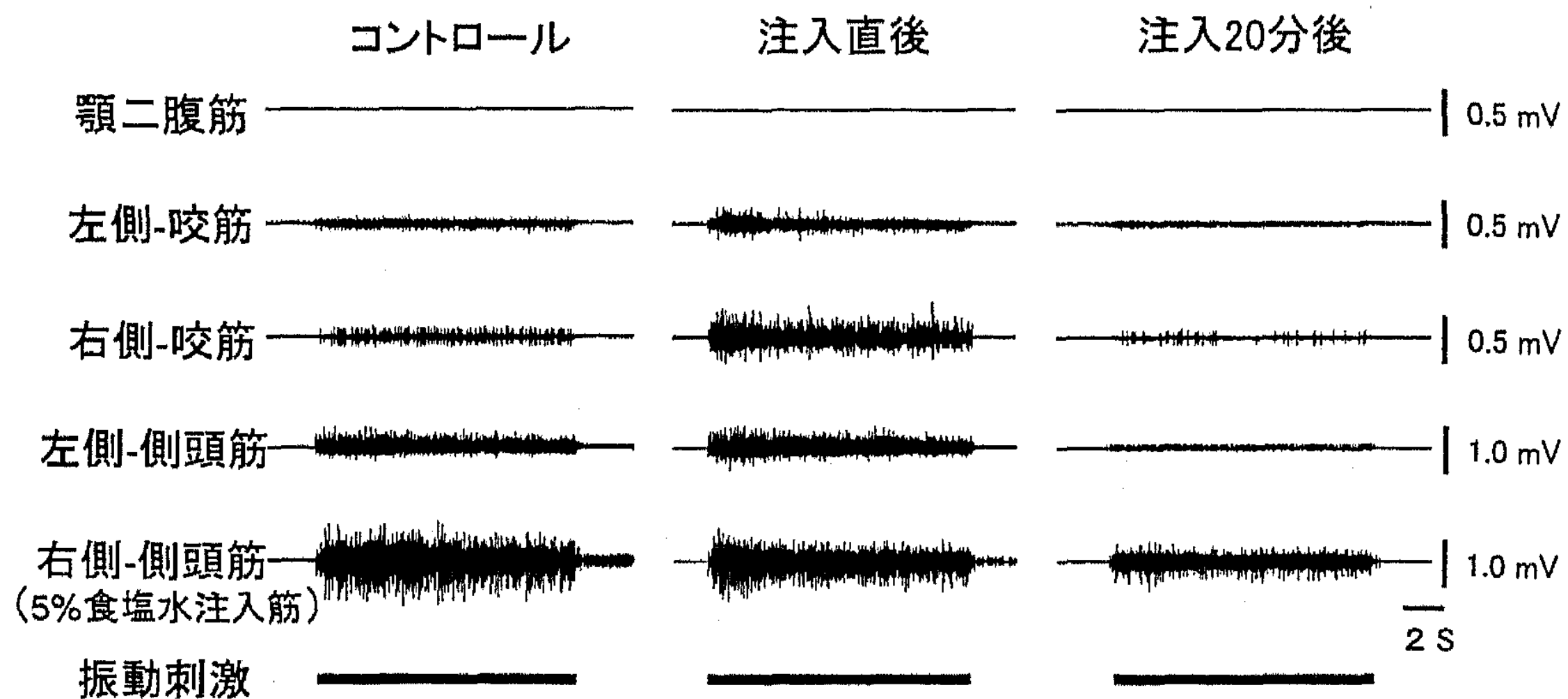


図2 TVRの一例

コントロール：振動頻度:150 Hz；振動方向:垂直；開口量:7 mm

顎二腹筋以外全ての筋に応答が観察された。

注入直後：右側-側頭筋部へ5%食塩水を注入。

注入20分後：コントロールと比較してすべての閉口筋で応答が減弱した。

ル)。両側咬筋では振動刺激開始とほぼ同時に筋電図応答が誘発され，振動終了とほぼ同時に消失した。両側側頭筋では振動刺激開始とほぼ同時に筋電図応答が誘発され，振動終了後も数秒間は微小な筋活動が残存した。両筋とも10秒間の振動刺激中，TVR応答はほぼ一定のレベルで推移した（図2，図1も参照）。一方，開口筋（顎二腹筋）には振動刺激中，筋活動は認められなかった。

った。咬筋では，7.5 mmにおいて安静位と比較して応答量が有意に増加した ($p < 0.05$)。側頭筋では5，7.5 mmにおいて安静位と比較して応答量が有意に増加した ($p < 0.05$)。左側-咬筋，側頭筋でも同様の結果が得られた。

開口量の変化にともなう応答変化を比較すると，至適条件は開口量5-8 mmの範囲であった。しかし開口量

7.5, 8 mmは、ラットにおける受動的な開口量としては最大値に近く、開口そのものが閉口筋活動や時にリズムミカルな下顎運動を誘発したりしたため、本研究では開口そのものが筋活動に直接的な影響を与えない切歯間距離 7 mmを振動刺激時の開口量と決定した。

垂直方向に刺激した場合（図 3 A）と水平方向に刺激した場合（図 3 B）を比較すると、開口量または筋によって至適振動方向が異なった。開口量が 5 mmにおいては咬筋では水平方向、側頭筋では垂直方向に刺激した場合が大きかった。一方、7.5 mmにおいては咬筋では

垂直方向、側頭筋では水平方向に刺激した場合が大きかった。このように咬合平面に対して垂直、水平の 2 方向の比較では、至適振動方向を決定し得る結果は得られなかった。

以上の振動の頻度、振動方向および開口量の 3 種のパラメータについての実験結果をもとに、振動刺激中に反射性顎運動が生じない麻酔状態下の至適TVR誘発条件を振動頻度については150 Hz、振動方向については筋線維の走向を考慮して咬合平面に対して垂直方向、開口量については 7 mmと決定し、以後の実験を行った。

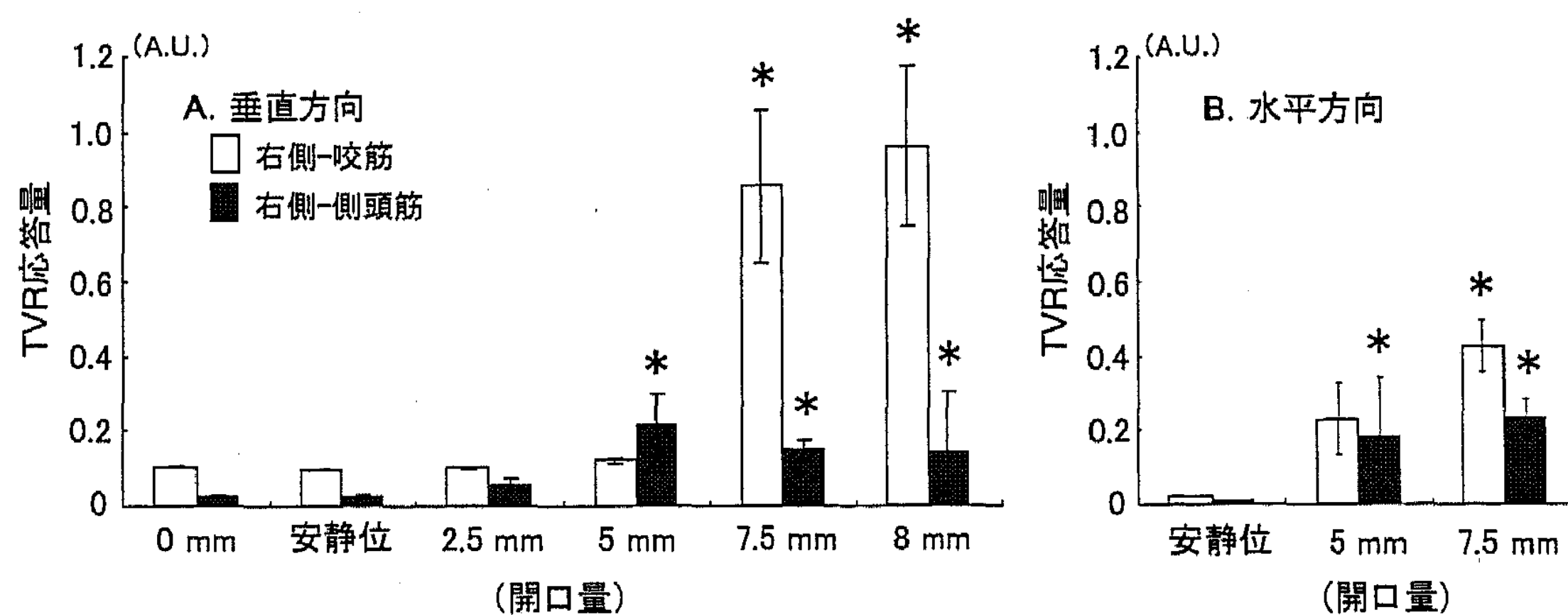


図 3 開口量、振動方向とTVR応答量

Mean \pm SE (n = 5)

*: $P < 0.05$ (ANOVA and Dunn's Method, 安静位と比較して有意差あり)

II. 閉口筋に与えた痛み刺激がTVRに及ぼす影響

前項I. で得られた実験モデルを用いて、閉口筋に与えた痛み刺激がTVRを変化させるかどうか検討した。

1. 高張食塩水（5%）注入によるTVR応答の変化

5%食塩水を片側側頭筋に注入することによって、閉口筋に誘発されるTVRが変調した。変調様式は、注入後の時間経過、あるいは記録する筋の種類により異なっていた。時間経過と変調様式の関係には、個体間で差異が認められたが、それぞれの筋における基本的な変調様式はほぼ一定であった。一方、閉口筋と異なり5%食塩水注入後も振動刺激によって顎二腹筋活動が誘発されることはなかった。また、実験に用いた6匹のうち2匹において5%食塩水注入開始直後に注入側-側頭筋に持続的な筋活動が誘発された。しかし、すべての例において注入終了時にはこの筋活動は消失していた。図2, 4に右側-側頭筋に5%食塩水を注入した時の同一個体から得られたTVR応答変化の一例を示す。図2は顎二腹筋、両側咬筋ならびに両側側頭筋に誘発されたTVRの筋電図原波形である。注入終了直後（図4中aで示す）では注入筋以外の閉口筋において振動刺激によって誘発されるTVR応答が増強された。これに対し、注入終了20分後（図4中bで示す）ではすべての閉口筋において振動刺激によって誘発されるTVR応答

は減弱し、コントロールや注入終了直後に側頭筋で観察された刺激終了後の後発火も消失した。図4は閉口筋それぞれについて時間経過にともなうTVR応答の変化の典型例である。この例では5%食塩水注入によってコントロールのmean \pm 2 SDラインを超えた有意な減弱が、注入側-側頭筋では注入終了3分から20分後にかけて、対側-側頭筋では注入終了1.5分から40分後にかけて、注入側-咬筋では注入終了20分後に、対側-咬筋では注入終了後3分から20分後にかけて認められた。一方、有意な増強は注入側-咬筋の注入終了直後から1分後にかけてと対側-咬筋の注入終了直後に認められた。

注入前後のTVR応答の変化について6匹のラットを用いて定量的に検討した（図5）。各ラットの注入前の平均TVR応答量を100%として規格化すると、応答量は注入側-側頭筋（図5A）では注入終了0.5分後から減弱が認められ、1, 2, 3, 4, 7分後にはコントロールと比較してそれぞれ $60 \pm 25\%$, $52 \pm 25\%$, $54 \pm 24\%$, $55 \pm 27\%$, $67 \pm 30\%$ と有意に減弱し（ $p < 0.01$ ）、30分後には注入前のTVR応答量付近まで回復した。対側-側頭筋（図5B）では応答量は注入終了直後に120%に増強した（有意差なし）が、1.5, 2, 30, 40分後にそれぞれ $80 \pm 8\%$, $76 \pm 14\%$, $70 \pm 11\%$, $77 \pm 15\%$ と有意に減弱した（ $p < 0.01$ ）。注入側-咬筋（図5C）では応答量は

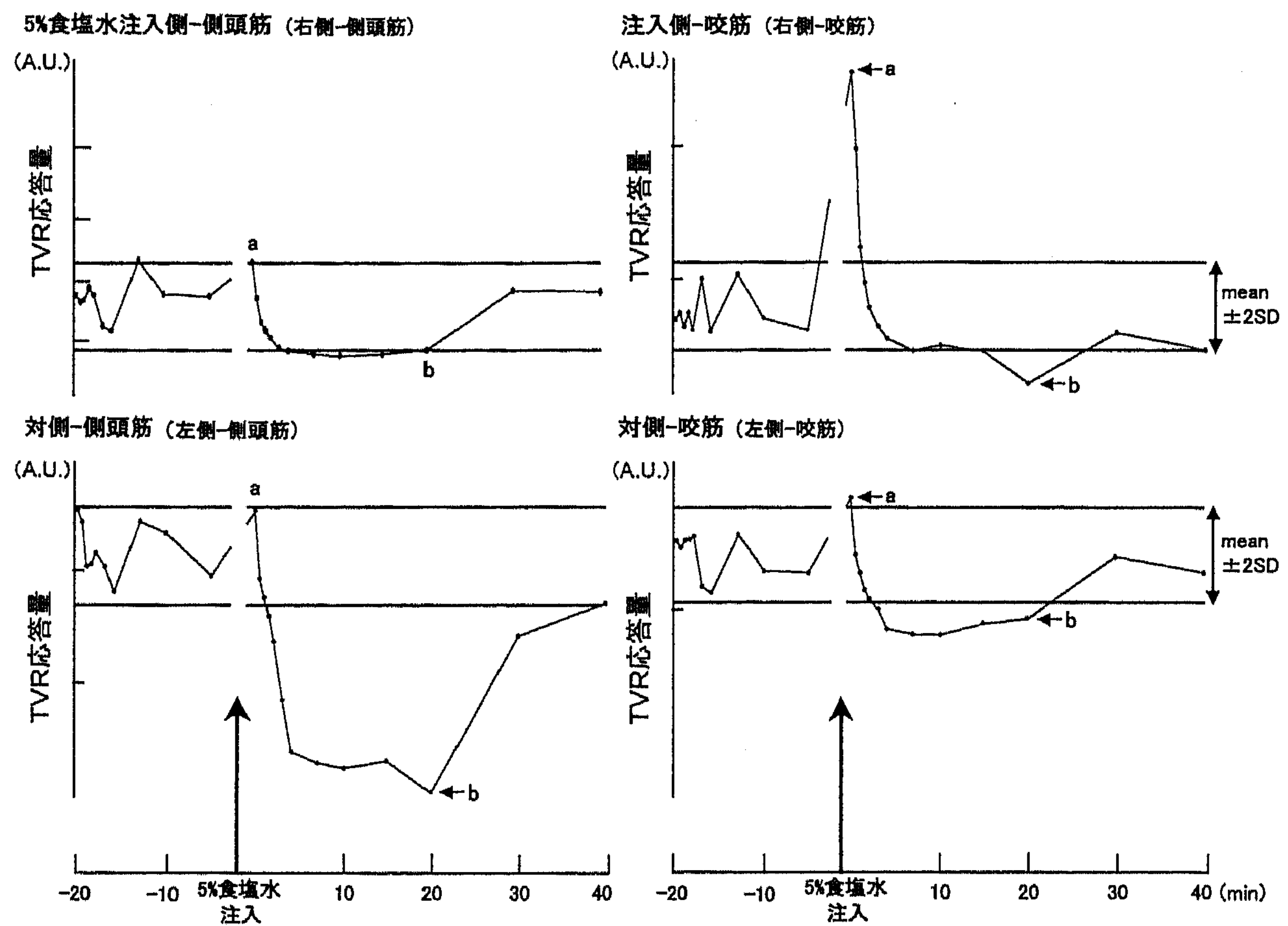


図4 右側-側頭筋部へ5%食塩水を注入した時のTVR応答変化の一例
筋間で5%食塩水注入によるTVR応答の変化(増強と減弱)の比較をし易くするために4筋のコントロールのmean \pm 2SDラインは同間隔に設定した。

a: 注入終了直後, b: 注入終了20分後

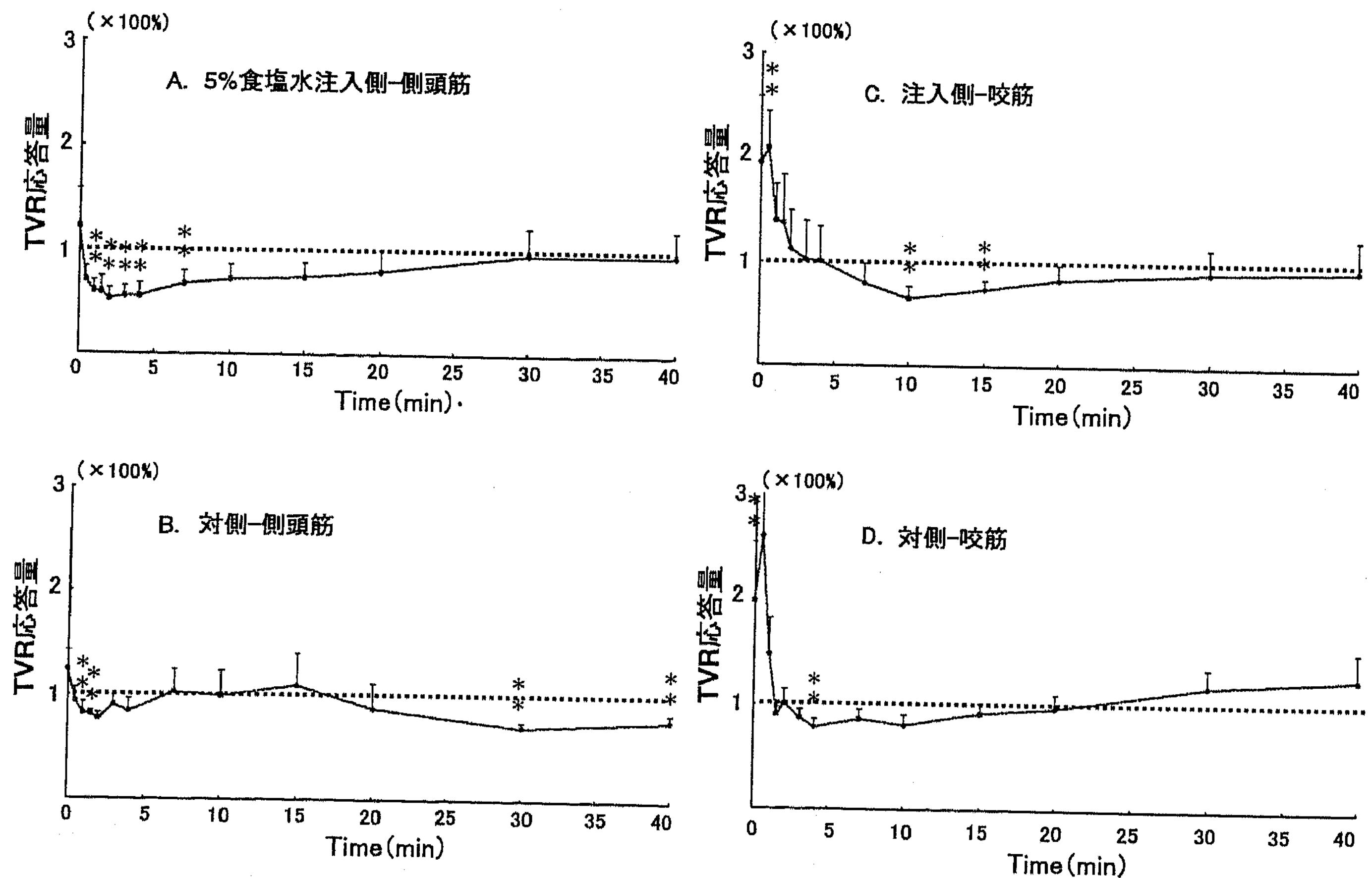


図5 5%食塩水注入によるTVR応答の変化

Mean \pm SE (n = 6)

** : $P < 0.01$ (Mann-Whitney Rank Sum Test, コントロールと比較して有意差あり)

注入側-側頭筋ではTVR応答の減弱を認め、30分後に回復した。

注入側ならびに対側-咬筋では減弱に先立って一過性の増強を認めた。

注入終了0.5分後にコントロールと比較して $200 \pm 85\%$ と有意な増強が認められた ($p < 0.01$)。その後誘発される応答は徐々に減弱し、10, 15分後にはそれぞれコントロールに対し $65 \pm 28\%$, $73 \pm 19\%$ と有意に減弱した ($p < 0.01$)。対側-咬筋 (図 5 D) でも応答量は注入終了直後にコントロールに対し $200 \pm 130\%$ と有意な増強が認められたが ($p < 0.01$)、その後減弱し4分後には $78 \pm 17\%$ と有意に減弱した ($p < 0.01$)。

2. マスタードオイル (MO) 注入によるTVR応答の変化

MOを片側側頭筋に注入することによって、閉口筋に誘発されるTVRが変調した。変調様式は、注入後の時間経過、あるいは記録する筋の種類により異なっていた。MOの注入後も振動刺激によって顎二腹筋活動が誘発されることはなかった。

注入後のTVR応答の変化について5匹のラットを用いて定量的に検討した (図 6)。5%食塩水注入実験と同様に各ラットの注入前の平均TVR応答量を100%として規格化すると、注入側-側頭筋 (図 6 A) では注入終了0.5分後から誘発される応答は徐々に減弱し、3, 4, 7, 10, 15, 20, 30, 40分後にそれぞれ $67 \pm 27\%$, $60 \pm 26\%$, $52 \pm 29\%$, $53 \pm 30\%$, $47 \pm 27\%$, $47 \pm 21\%$, $45 \pm 21\%$, $45 \pm 22\%$ と有意に減弱した (4分後のみ $p < 0.05$, 他は $p < 0.01$)。対側-側頭筋 (図 6 B) では応答量は注入

終了直後に $155 \pm 53\%$ と有意に増強し ($p < 0.05$)、2分後までは有意差はなかったものの増強が認められた。3分後から徐々に減弱し10, 15, 20, 30, 40分後にそれぞれ $68 \pm 15\%$, $54 \pm 22\%$, $49 \pm 18\%$, $60 \pm 20\%$, $53 \pm 14\%$ と有意に減弱した ($p < 0.01$)。注入側-咬筋 (図 6 C) では応答量は注入終了直後から徐々に減弱し、1.5, 15, 20, 30, 40分後にそれぞれ $55 \pm 40\%$, $47 \pm 46\%$, $52 \pm 45\%$, $51 \pm 43\%$, $52 \pm 46\%$ と有意に減弱した ($p < 0.05$) が、2分から10分後にかけては個体間での応答のばらつきが大きく有意な変化は認められなかった。対側-咬筋 (図 6 D) では応答量は注入終了直後、0.5, 1分後にそれぞれ $160 \pm 2\%$, $102 \pm 48\%$, $205 \pm 35\%$ と有意に増強し (順に $p < 0.01$, $p < 0.01$, $p < 0.05$)、有意差はなかったものの4分後まで増強が認められた。その後は注入前のTVR応答量付近を推移した。

考 察

本実験は伸張反射経路が関与する緊張性振動反射 (tonic vibration reflex: TVR) を閉口筋の α 運動神経または γ 運動神経の興奮性を知る指標の一つとして臨床応用するために計画された基礎的な研究である。臨床応用を考慮して、振動刺激は下顎骨を介して閉口筋に加える方法を選択した。下顎は顎関節部の形態が複雑な上、

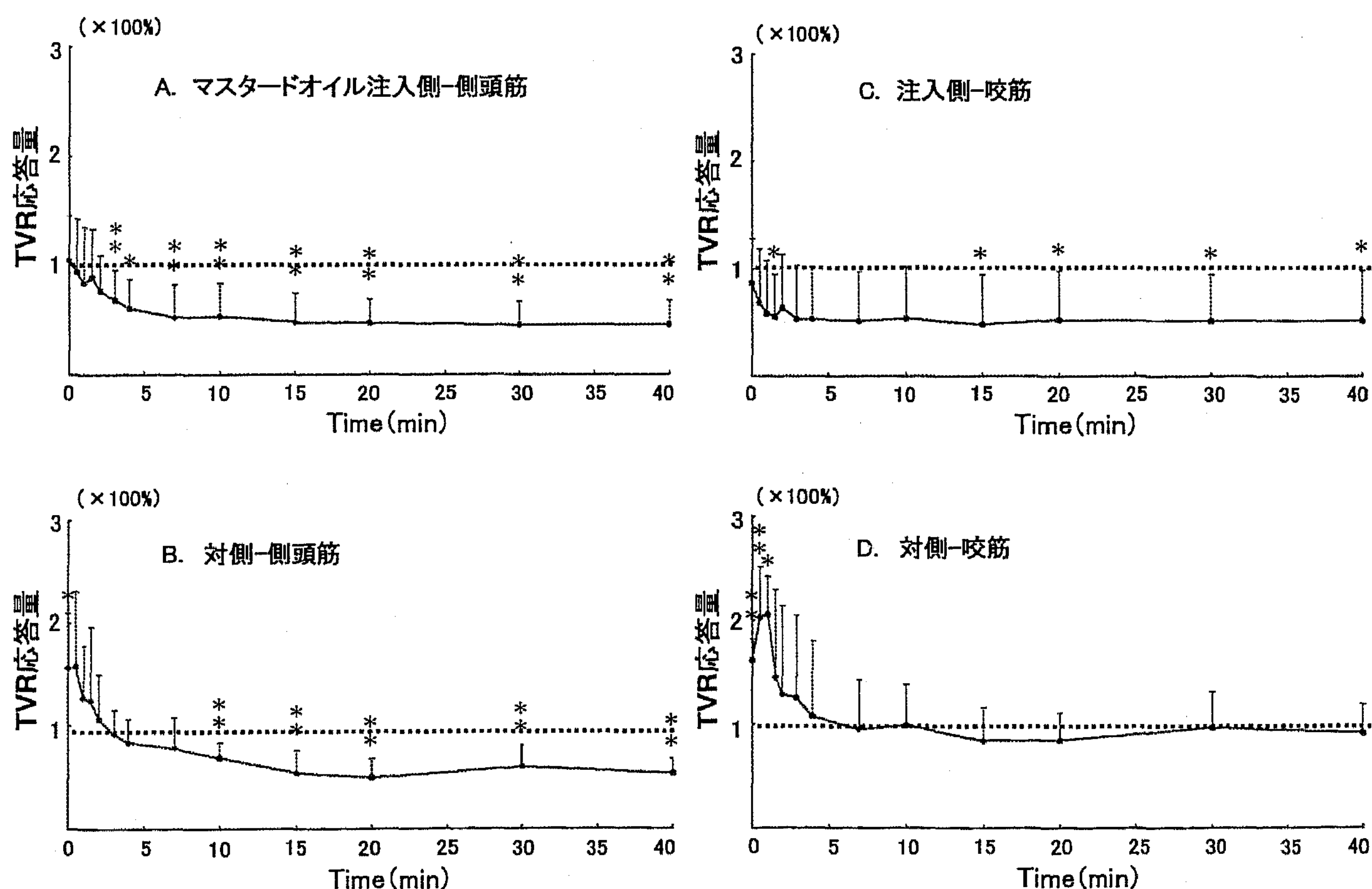


図 6 マスタードオイル注入によるTVR応答の変化

Mean+SE (n = 5)

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$ (Mann-Whitney Rank Sum Test, コントロールと比較して有意差あり)

注入側-側頭筋ではTVR応答の減弱を認め、40分を超えてもなお減弱は維持された。

対側-側頭筋ならびに咬筋では減弱に先立って一過性の増強を認めた。

咬筋・側頭筋の走行・付着形態が複雑なため、まずオトガイ部に加えた振動刺激がそれぞれの筋に有効に伝達される振動方向および下顎位（開口量）等を検索した。

I 至適TVR誘発条件

反射活動が安定して記録できる部位を検索する目的で一定の振動刺激条件下に咬筋・側頭筋の任意の位置からTVR応答を記録した。その結果、咬筋深部ならびに側頭筋前部（垂直部）でより明確な応答が得られた。ラットにおける咬筋深部ならびに側頭筋前部はそれぞれの筋で筋紡錘が密に分布する部位である¹¹⁾。ヒトでも下顎張反射は筋紡錘が密に分布する咬筋深部と側頭筋前部に誘発されるとの報告¹²⁾がある。したがって、TVRは筋紡錘の分布密度が高い部位に生じやすいと考えられる。

振動刺激の至適頻度に関してはBrownら¹³⁾の行ったネコのヒラメ筋でのTVR誘発実験ならびにGrassiら⁸⁾の行ったウサギの下顎骨に振動刺激装置を固定したTVR誘発実験の結果から、120-180 Hzが効果的であると推察された。しかし、本研究では使用した刺激用振動モータの性能上、150 Hzが上限であった。事実、本実験では150 Hzで最大のTVRが記録され、さらに高頻度で刺激すればより大きな応答が得られる可能性が残された。

振動を受容する筋紡錘は筋長に依存しその感度に変化する。そこで、閉口筋の筋長を決定する重要な因子である至適下顎位を求めた。その結果、垂直・水平のいずれの振動方向においても開口量が大きいほどTVR応答量は大きくなった。これは、本実験では麻酔動物を用いたため α 運動神経の興奮性の低下あるいは上位からの影響で γ 運動神経の活動が低下したことによる筋紡錘の感受性低下が影響していると考えられる。また、筋紡錘の一次終末・二次終末は共に筋の長さに比例してその感受性が増すことが知られており¹⁴⁾、麻酔下で明瞭なTVRを誘発するためにはあらかじめ筋を伸張させ、筋紡錘を受容器とする反射経路の興奮性を高めておく必要性が示唆された。一方、至適振動方向に関しては、咬合平面に対して垂直・水平の2方向を検討したが、開口量や被験筋による影響の方が大きく、咬筋・側頭筋に共通した至適振動方向は決定できなかった。

ラットをモデルにTVRを誘発する実験では、下顎骨に刺激を加える限りにおいては、開口量を大きく取る必要はあるものの、振動方向は特に重要な因子ではないことが明らかとなった。

II 閉口筋に与えた痛み刺激がTVRに及ぼす影響

至適誘発条件を決定した後、最近筋痛のモデルとして採用されているマスタードオイル (MO)¹⁵⁾ および高張食塩水 (5%)⁷⁾ を閉口筋に注入しTVR応答の変化を観察した。その結果、これらの痛み物質投与はTVR応答に変調を来し、刺激の種類・被験筋の種類・注入からの時間経過によりその変調様式が異なることが明らかとなっ

た。

本実験ではTVRが時間経過を追ってくり返し誘発されるため、長時間の収縮による筋疲労がその応答性に変化を来すことが予想された。そこで、この影響を低減する目的で刺激物質注入（化学刺激）前後の記録を同じ時間経過で行った。すなわち、振動刺激の時間間隔を刺激前（コントロール記録）と刺激後で一致させた。その結果、化学刺激後のTVR応答の変化はコントロール時のバラツキを有意に上回るものであった（図4参照）。これはたとえ筋疲労が生じていたとしても化学刺激の効果は観察できたことを示唆している。さらに、ウサギの下顎拳上筋に誘発されるTVRに関して行ったGrassiら⁸⁾の研究から、15分間の連続振動刺激はTVR応答の振幅に影響しないことが示されている。これらの事実より、痛み刺激後に観察されたTVR応答の変調は振動刺激をくり返すことによる筋紡錘の振動刺激に対する順応や筋疲労によるものではなく痛み刺激の影響であることが示唆された。

実験的筋痛モデル動物におけるTVR応答様式

高張食塩水およびMOを注入した側頭筋は、いずれの刺激においても注入後TVR応答の減弱を認めたが、回復時間においては刺激物質によって異なった。すなわち、高張食塩水の場合30分後には注入前の応答に回復したが、MOの場合40分を超えてもなお減弱は維持された。注入した筋以外の共働筋においては一過性の増強後に注入前より減弱する筋がそれぞれ2筋ずつ認められ、時間を経て注入前より増強を認める筋はなかった。これらの事実より痛み刺激によってTVR応答は共働筋の一部において一過性に増強されるものの、全般的には減弱されると考えられる。

刺激物質注入筋とそれ以外の共働筋におけるTVR応答変調様式の相違

用いた刺激物質は発痛物質としての共通点を持つ¹⁶⁾と同時に組織に対する破壊作用に違いがある。高張食塩水はヒトの筋への注入により慢性痛に似た痛み感覚を生じる⁹⁾。一方、MOはヒフへ塗布するだけで痛みを生じさせ¹⁷⁾かつ、CFA (complete Freund's adjuvant) などと並ぶ代表的な実験起炎剤で¹⁸⁾、皮下や深部組織へ注入すると急性炎症様の症状が誘起される¹⁹⁾。本研究は、筋にこれらの刺激物質を注入することで咀嚼筋の筋痛モデルを設定し、痛みが筋紡錘を受容器とする反射経路にどのような影響を及ぼすかを検索した。その結果、いずれの刺激物質もTVR応答の減弱効果を示したが、その効果時間にかかなりの差が認められた（図5, 6）。すなわちMOで長時間効果が持続したが、これはMOの持つ組織破壊作用が高張食塩水と比較して強いので、結果としてより強い痛み刺激を生じさせた結果と考えられる。一方、組織破壊作用そのものがTVR応答変調に寄与した可能

性はあるものの、MOを注入した筋以外にもTVR減弱効果が及んだことから（図6 B,C）組織破壊作用だけでなく炎症反応の結果substance Pやセロトニンなどの化学物質の遊離が活発になることによる感作の影響¹⁹⁾も考えられる。

TVR応答変化の神経機序

過去の研究において末梢に与えた侵害刺激が痛み感覚の上行路において、受容器レベルでの興奮性増強、あるいは中枢における痛み中継ニューロンの興奮性増大やシナプス伝達効率の上昇、さらには中枢での新たなシナプス形成など、刺激に対する感受性を増大させることが明らかにされている。さらに、侵害刺激受容により、中枢の疼痛抑制系が賦活され侵害刺激に対する感受性の低下²⁰⁾や、自律神経活動や情動をはじめとする高位脳の活動をも変化させる²¹⁾。これらの上行路での興奮性変化と疼痛抑制系のような正反対の効果をもつ系との相互作用や、さらには自律神経系や様々な脳部位の活動変化が混在するが故に、疼痛時運動系に現れる変化は複雑となり、その解釈は困難である。本研究で観察された痛み刺激によるTVR応答の変化に関してもその神経機序を明らかにすることは容易ではないが、その原因を推察すると、1) 筋感覚神経からの興奮性入力を受ける閉口筋運動神経の興奮性変化、2) 振動受容器である筋紡錘の振動感覚受容性の変化、あるいは3) 中脳路核に在る神経細胞の細胞体に作用するシナプス入力により生じるIaの興奮性変化、のいずれかに起因すると考えられる。

痛み刺激が閉口筋運動神経の興奮性を変化させた可能性に関連した研究として、Yuらは麻酔したラットの顎関節にMOを注入した結果、注入側の咬筋ならびに顎二腹筋に持続的な興奮反射応答を認め、痛み刺激が三叉神経脊髄路核尾側亜核を経由して三叉神経運動神経に興奮性効果を生ずる反射経路を推察している²²⁾。しかし、本研究ではほとんどの場合咀嚼筋に持続発火が認められていない。これは下行疼痛抑制系の働きによってYuらの示した反射経路が抑えられたためと考えられ³⁾、この反射系に依存した運動神経の興奮性変化は除外できると推察される。

次に、振動感覚受容性変化の原因として刺激物質が持つ組織そのものに対する破壊効果が筋紡錘に及んだ可能性と筋紡錘の感度に影響した可能性が想定される。組織そのものに対する破壊効果が筋紡錘に及んだ可能性に関しては前述のように注入筋以外の筋にもTVR応答の変化が記録されており、否定できる。他方、後者に関連した研究としてRoらは最近麻酔したラットで筋感覚を伝導する三叉神経中脳路核細胞の活動を記録し、5%食塩水を咬筋へ注入するとその86%で咬筋伸張刺激に対する応答様式が変化することを報告している⁷⁾。彼らは、Ia様の応答様式を示した神経細胞では5%食塩水注入後、

伸張刺激に対し促通と抑制の両方を観察し、注入後に応答様式が変化しなかった例はわずか1例であったと報告している。さらに、これらの変化は γ 運動神経系遮断剤であるグロプロマジン投与によって消失したことから、5%食塩水の伸張刺激に対する効果は γ 運動神経活動の変化に起因すると考察している。一方、Svenssonらはヒトの咬筋神経を刺激して誘発されるH-reflexを指標として痛み刺激の閉口筋運動神経への効果を調べた²³⁾。その結果、H-reflexに著明な変調がなかったことから、Ia-afferentから閉口筋運動神経へのシナプス結合に痛み刺激は影響しないと結論付けている。Roら、Svenssonらの結果は咬筋への痛み刺激が筋紡錘の感度をどのように変化させるか明確にはしていないが、少なくとも本実験でTVR応答の変化として記録された閉口筋活動変化がIa-afferentと閉口筋運動神経のシナプス以前の段階、すなわち γ 神経活動の変調が関与していることを強く示唆している。

最後に、中脳路核細胞体におけるシナプス制御の可能性を示唆する事実として、中脳路核細胞体に観察されるシナプス前線維の多くが背側縫線核からの軸索終末であること、またこのシナプスにおける伝達物質がセロトニンと同定されている²⁴⁾点が挙げられる。このシナプスの機能的意義は未だに不明であるが、侵害刺激受容後の下行性疼痛抑制系において、大縫線核からのセロトニン性線維が重要な役割を果たしていることが知られており、このシナプスを介してIa感覚神経細胞の興奮性が抑制される可能性も否定できない。

以上より、痛み刺激によるTVR応答減弱の要因として筋紡錘の振動感覚性変化がもっとも強く示唆される。しかし、詳細には解明されていないものの三叉神経中脳路核におけるシナプスを介したIa感覚神経細胞の興奮性変化が関与する可能性も十分に考えられる。

文 献

- 1) 森本俊文: 筋緊張亢進の生理機構. 歯界展望, 77 (2): 367-375, 1991.
- 2) 船越正也: 顎運動の生理. 日口外誌, 33: 1060-1063, 1987.
- 3) Yu, X. -M., Sessle, B. J., Vernon, H. and Hu, J. W.: Effects of inflammatory irritant application to the rat temporomandibular joint on jaw and neck muscle activity. Pain, 60: 143-149, 1995.
- 4) Westberg, K.-G., Clavelou, P., Schwartz, G. and Lund, J. P.: Effects of chemical stimulation of masseter muscle nociceptors on trigeminal motoneuron and interneuron activities during fictive mastication in the rabbit. Pain, 73: 295-308,

- 1997.
- 5) Takata, Y., Nakajima, T. and Yamada, Y. : Quantitative evaluation of the tonic vibration reflex (TVR) in the masseter muscle. *Journal of Oral Maxillofacial Surgery*, 54 : 1307-1313, 1996.
 - 6) Clark, F. J., Matthews, P. B. C. and Muir, R. B.: Response of soleus Ia afferents to vibration in the presence of the tonic vibration reflex in the decerebrate cat. *Journal of Physiology*, 311 : 97-112, 1981.
 - 7) Ro, J. Y. and Capra, N. F. : Modulation of jaw muscle spindle afferent activity following intramuscular injections following intramuscular injections with hypertonic saline. *Pain*, 92 : 117-127, 2001.
 - 8) Grassi, C., Deriu, F. and Passatore, M. : Effect of sympathetic nervous system activation on the tonic vibration reflex in rabbit jaw closing muscles. *Journal of Physiology*. 469 : 601-613, 1993.
 - 9) Stohler, C. S., Zhang, X. and Lund, J. P. : The effect of experimental jaw muscle pain on postural muscle activity. *Pain*, 66 : 215-221, 1996.
 - 10) Woolf, C. J. and Wall P. D. : Relative effectiveness of C primary afferent fibers of different origins in evoking a prolonged facilitation of the flexor reflex in the rat. *The Journal of Neuroscience*, 6 (5) : 1433-1442, 1986.
 - 11) Karlsen, K. : The location of motor end plates and the distribution and histological structure of muscle spindles in jaw muscles of the rat., p521-548, Anatomical Institute, Norway, 1972.
 - 12) Taylor, A. : *Neurophysiology of the Jaws and Teeth.*, P. 96-141, MACMILLAN PRESS, London, 1990.
 - 13) Brown, M. C., Endgerg, I and Matthews, P. B. C.: The relative sensitivity to vibration of muscle receptors of the cat. *Journal of Physiology*, 192 : 773-800, 1967.
 - 14) Inoue, H., Morimoto, T. and Kawamura, Y. : Response characteristics and classification of muscle Spindles of the masseter muscle in the cat. *Experimental Neurology*, 74 : 548-560, 1981.
 - 15) Hu, J. W., Sessle B. J., Raboisson, P., Dallel, R. and Woda, A. : Stimulation of craniofacial muscle afferents induces prolonged facilitatory effects in trigeminal nociceptive brain-stem neurons. *Pain*, 48 : 53-60, 1992.
 - 16) Mizumura, K. and Kumazawa, T. : Reflex respiratory response induced by chemical stimulation of muscle afferents. *Brain Research*, 109 : 402-406, 1976.
 - 17) Ma, Q. -P. and Woolf, C. J. : Progressive tactile hypersensitivity: an inflammation-induced incremental increase in the excitability of the spinal cord. *Pain*, 67 : 97-106, 1996.
 - 18) Ren, K. and Dubner, R. : An inflammation/hyperalgesia model for the study of orofacial pain. *Journal of Dental Research*, 75 : 217, 1996.
 - 19) Kniffki, K. -D., Mense, S. and Schmidt, R. F. : Muscle receptors with fine afferent fibers which may evoke circulatory reflexes. *Circulation Research*, 48: I-25-31, 1981.
 - 20) Bar, D. L., Dickenson, A. H. and Besson J. -M. : Diffuse noxious inhibitory controls(DNIC) . I. II. Effects on dorsal horn convergent neurones in the rat. *Pain*, 6 : 283-327, 1979.
 - 21) Kandel, E. R., Schwartz, J. H. and Jessel, T. M. : The Autonomic Nervous System and the Hypothalamus, In *Principles of neural science.*, p. 960-981, McGraw-Hill, New York, 2000.
 - 22) Yu, X. -M., Chiang, C. Y., Tsai, C. M. and Sessle, B. J. : Involvement of trigeminal subnucleus caudalis (medullary dorsal horn) in craniofacial nociceptive reflex activity. *Pain*, 81: 115-128, 1999.
 - 23) Svensson, P., Graven-Nielsen, T. and Arendt-Nielsen, L. : Experimental jaw-muscle pain does not change heteronymous H-reflexes in the human temporalis muscle. *Experimental Brain Research*, 121 : 311-318, 1998.
 - 24) Copray, J. C. V. M., Liem, R. S. B., Horst, G. J. and Willigen, J. D. : Origin, distribution and morphology of serotonergic afferents to the mesencephalic trigeminal nucleus of the rat. *Neuroscience Letters*, 121 : 97-101, 1991.