

— 原 著 —

歯髄刺激による呼吸抑制効果

歯髄から三叉神経知覚核，延髄呼吸中枢，
そして横隔神経への反射弓の解析

幾 野 博

新潟大学歯学部口腔生理学教室 (指導: 島田久八郎教授)

(昭和57年11月16日受付)

Inhibitory Effect of Pulp Stimulation on Respiratory Activity

Analysis of Reflex Arch from Tooth Pulp to Trigeminal Sensory
Nucleus, Bulborespiratory Center and Phrenic Nerve

Hiroshi IKUNO

Department of Oral Physiology, Niigata University, School of Dentistry
(Director: Prof. K. Shimada, M. D.)

要 旨

口腔領域の痛み刺激が呼吸系へ及ぼす効果については、わずかの報告があるのみで、その結果も一致していない。今回、歯科臨床との対応を考え歯髄痛み刺激による呼吸反射の研究を行なった。実験にはラットを用い、 α -クロラロース・ウレタン麻酔を行なった。非動化後、人工呼吸下で下顎切歯歯髄腔に双極性電極を挿入し定電流刺激を行ない、末梢および中枢の呼吸活動を記録した。刺激効果を横隔神経活動を積分加算した量で判定すると、刺激強度0.3 mA以上、頻度50 Hz以上において抑制効果が認められた。しかし10~20 Hzの低頻度刺激の場合には興奮性効果が現われるものもあった。呼吸性活動のスパイク数をカウントする方法により刺激効果はより詳細に検討することができた。それによると吸息活動量は50~200 Hzの刺激頻度で直線的に減少し、抑制効果は刺激頻度に強く依存していた。

中枢の吸息活動は100 Hz以上の高頻度刺激に

より、量的抑制以外にリズムの変化をも伴った。呼息活動については何ら変化は認められなかった。歯髄刺激による三叉神経知覚核，延髄呼吸中枢，そして横隔神経までの潜時は、それぞれ2~3 msec, 6~7 msec, 10~12 msecであり一つの反射径路が求められた。この系の延髄内での遅延は3~5 msecとかなり長く、多くのインターニューロンを経由することがわかった。

序 論

有痛性あるいは侵害性刺激が自律神経系諸器官に種々の反射効果をもたらすことは、広く観察されている¹⁾⁻⁵⁾。歯科臨床では疼痛に対する配慮が特に必要とされ、痛み刺激による循環系への反射の報告は多い⁶⁾⁻¹⁰⁾。それに比べ歯牙，歯周組織，あるいは口腔粘膜に与えられた痛み刺激による呼吸反射の報告は少ない。口腔と同じ三叉神経支配領域下にある鼻粘膜からの呼吸反射の研究には参考になるものがいくつかある¹¹⁾⁻¹⁶⁾。Allen¹¹⁾，Angell¹²⁾，Yokota¹⁶⁾らはいずれも鼻粘膜刺激に

よる呼吸抑制を認めている。しかし鼻粘膜刺激の場合には純粋な痛み刺激による呼吸反射とは言い難い。

Kawamura¹⁷⁾, 三町¹⁸⁾, 渡部¹⁹⁾らは歯髄刺激による呼吸反射について報告しているが, それぞれの実験条件が異なるためか, 反射効果も様々で一致した結果は見られていない。

今回歯髄からの呼吸反射を研究するに当たり, 実験条件を十分検討し, 特に歯髄神経のみを刺激することに注意を払った。歯髄はその求心系が痛覚のみを感じさせ, 実験的に痛み反射を誘発させる部位として最適である。さらにこの刺激は臨床での歯牙切削時の痛みに対応し, この種の実験より切削時の反射効果を検討することができる。

刺激が四肢軀幹の皮膚に与えられると, 求心性情報は脊髄内で閼門通過説²⁰⁾と言われるような複雑な神経回路網を通り, 上位中枢へ伝達される。それに対し歯髄刺激による求心性情報は直接延髄に達し, 単純な反射弓が構成される。反射効果の解析にはこの点からも歯髄刺激の方がより有利である。

本実験では以上のような観点から歯髄電気刺激を行ない, その際の呼吸反射の解明を目的とした。さらに中枢内での神経連絡についても考察した。

実験方法

実験にはウィスター系雌雄成熟ラット (体重 250-350 g) を用いた。麻酔は反射効果が抑制を受けないよう考慮し, α -クロラロース (40 mg/kg) とウレタン (500 mg/kg) の混合液を腹腔内投与した。仰臥位に固定し, 気管カニューレおよび頸静脈カニューレ挿入後, 片側の下顎切歯に歯髄刺激用電極を固定した。必要に応じ臭化パンクロニウム (ミオブロック, 三共) を 0.1 mg/kg の濃度で静脈内に適宜投与して非動化を行ない, 人工呼吸下で実験を行なった。図1はその実験系を模式的に示したものである。なお左右の迷走神経は完全なまま残しておいた。

1. 歯髄刺激の方法

歯髄のみを選択的に電気刺激する方法として,

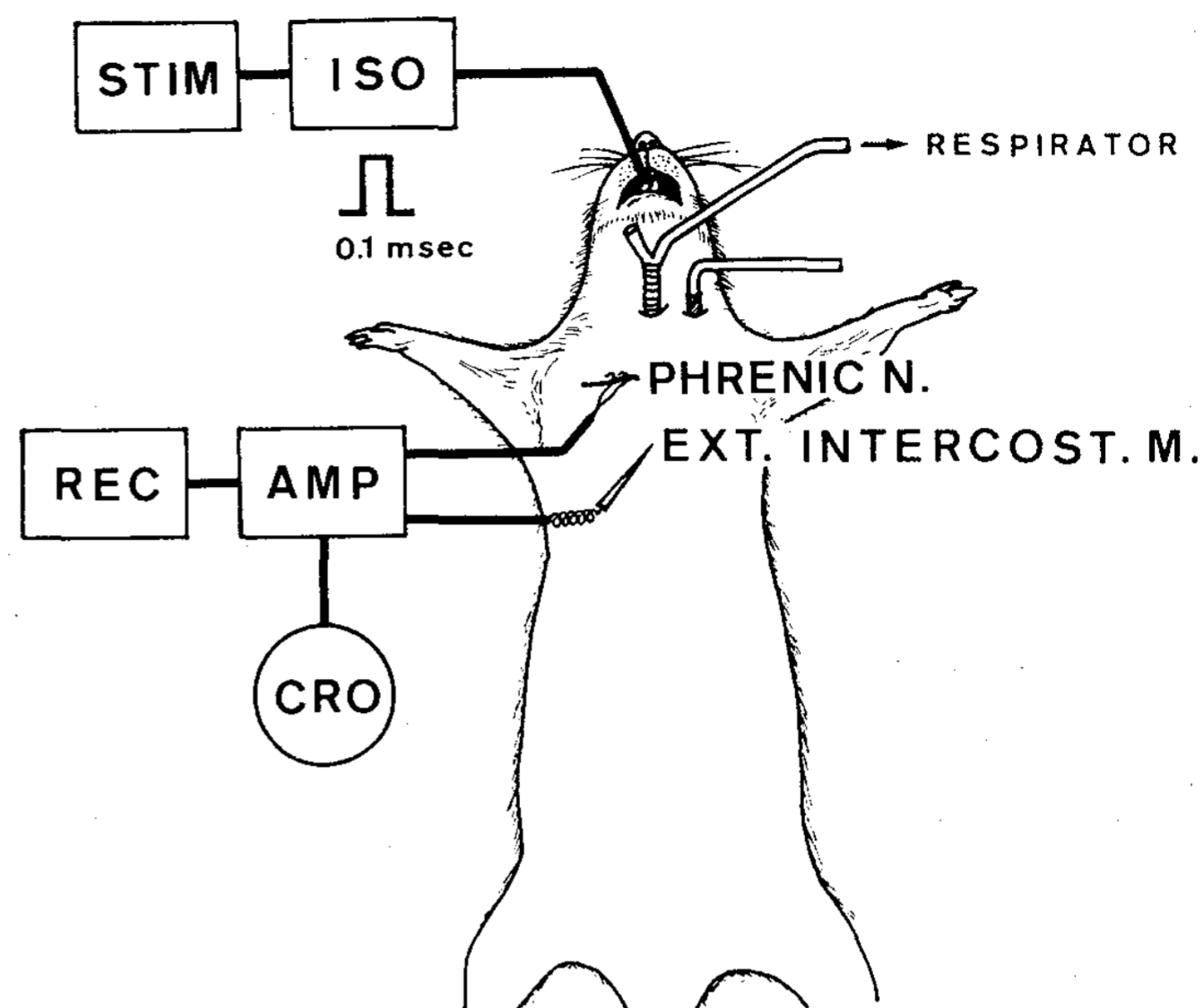


図1 ラットを用いた実験系の模式図
STIM: 刺激装置, ISO: アイソレータ,
REC: レコーダ, AMP: 生体用アンプ,
CRO: オシロスコープ。

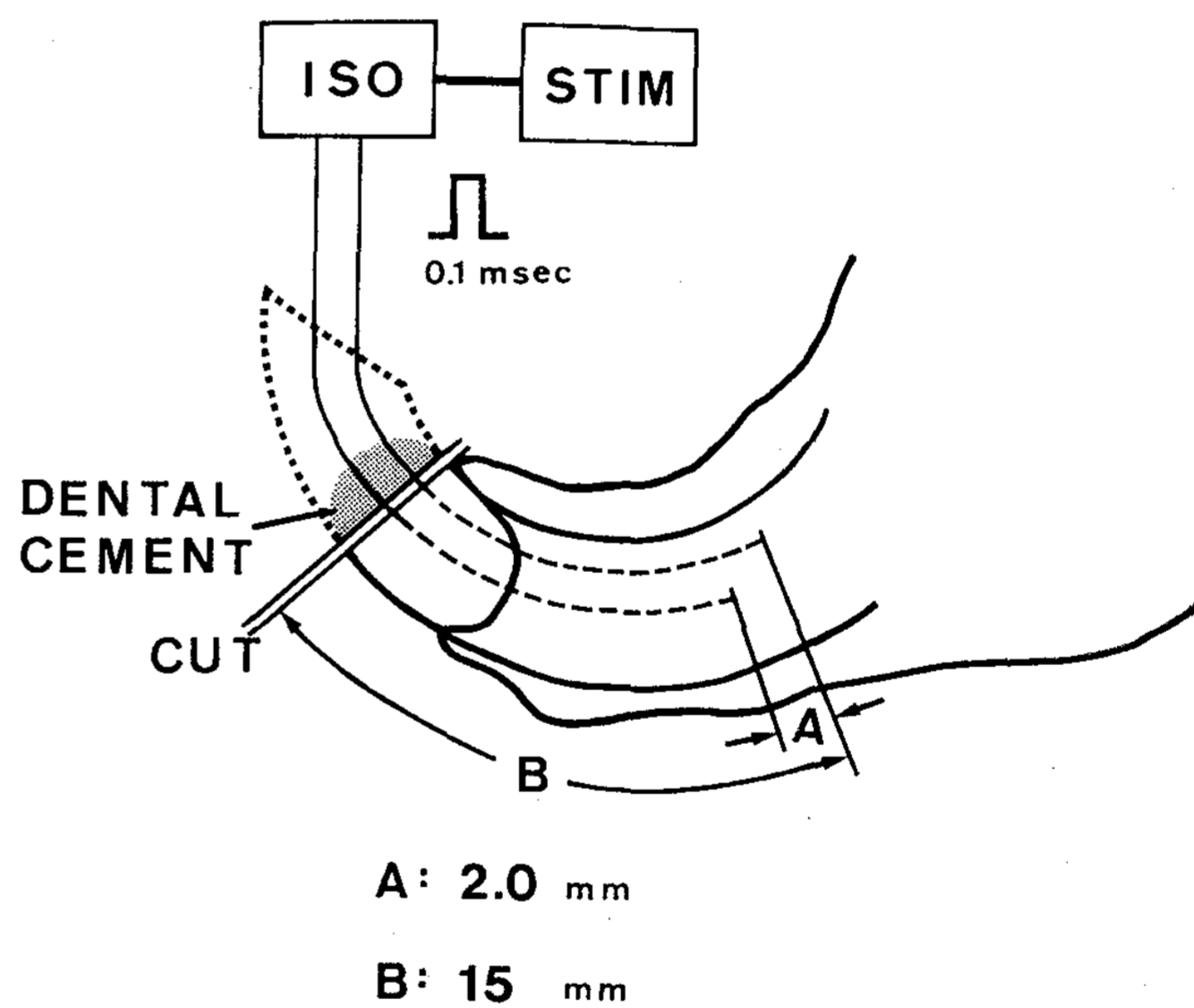


図2 刺激用電極と下顎切歯との位置関係
切歯の切縁側5 mmの部分を切断 (点線)
して電極を挿入, 固定する。
歯髄内に電極を B の深さ挿入し (破線),
先端部は A の距離だけ離しておく。

Toda ら²¹⁾の方法を一部改変した。一側の下顎切歯を切縁から 5 mm の位置で切断することにより, 電極挿入が確實, 容易なものとなった。先端部以外を絶縁した直径 0.1 mm のステンレススチール性電極を, 図2のように電極間距離 2 mm を保ちながら歯髄腔内に 15 mm の深さ挿入した。唾液などの口腔分泌液により歯周組織に刺激電流

が波及しないようにするため、切歯切断面を完全に乾燥させ歯科用セメントで電極を封入、固定した。刺激は電気刺激装置（日本光電, SEN 1101）を用いて、持続 0.1 msec, 強度 0.1 mA 以上の定電流矩形波により、10~200 Hz の頻度で刺激した。

2. 呼吸活動の記録

a. 末梢性呼吸活動

神経性の呼吸活動として頸部横隔神経を切断、分離し運動性活動を記録した。また呼息活動を記録する際や、動物を伏臥位に固定し横隔神経活動の誘導が困難な場合には、内外の肋間筋から同心針電極を用いて筋電図を記録した。

b. 中枢性呼吸活動

延髄呼吸中枢から呼吸ニューロン活動を記録するため、ラットの後頭骨を一部除去、そして小脳虫部を吸引除去した。記録用電極には、電位の誘導と組織の染色を兼ねて Fast Green FCF (クロマ社, 西ドイツ) を飽和させた 2 M NaCl 溶液を充填したガラス管微小電極 (電極抵抗 5~20 M Ω) を用いた。手動式マニピュレータで門付近の呼吸中枢を検索しニューロン活動を記録した。記録された呼吸ニューロン活動が吸息性か否かの判定には、同時に外肋間筋より吸息活動の筋電図を記録し両者の位相の同期性で行なった。

3. 誘発電位の記録

三叉神経知覚核と延髄呼吸ニューロンとの神経連絡を検討するため、歯髄刺激による誘発電位を同側の三叉神経知覚核から記録した。使用した電極は先に述べた呼吸ニューロン活動を記録したものと同様である。三叉神経知覚核に相当する部位を手動式マニピュレータで検索した。

4. 中枢記録部位の組織学同定

呼吸ニューロン活動、および三叉神経知覚核から誘発電位を記録した部位を組織学的に同定するため、記録後電気泳動的に Fast Green FCF を注入した。それには Thomas ら²²⁾の方法にのっとり、微小電極側を陰極、生体側を陽極にし 10 μ A の直流電流を 8 分間通電した。実験終了後脳を 10% ホルマリン液にて固定した。後日チオニン・ニッスル染色を施して組織標本作製し、光

学顕微鏡にて記録部位を確認した。

5. データの記録, 処理方法

以上述べた神経活動, 筋電図, および中枢神経活動は歯髄刺激時点とともにデータレコーダ (TEAC, MR-30) に収録された。記録されたこれらの呼吸性活動は、大まかな変化を観察する際にはインテグレータ (日本光電, EI-600G) により積分加算し、さらに詳細に検討する際にはスパイクカウンタ (ダイヤモンド, DSE-32) を用い 50 msec 間隔でスパイク数をカウントした。また刺激時点と効果出現までの応答潜時を求めるために、電気刺激装置 (日本光電, SEN 1101) を用いて呼吸活動を単一パルス (0.1 msec, 1.0 V) に正規化した。そして mini computer system (日本光電, ATAC 250) により post stimulus time histogram (PSTH) を作製した。

実験結果

I. 歯髄刺激による呼吸活動への抑制効果

歯髄を本実験のように双極性に電気刺激すると、持続 0.1 msec, 強度 0.5 mA 以下の刺激では、歯髄内の A δ および C 線維のみに興奮をおこさせ、歯周組織に分布する A β 線維には影響を与えないことが報告されている²¹⁾。そこでまず 0.5 mA の強さで歯髄内神経のみを刺激することにより呼吸活動にどのような変化を来たすのか、横隔神経活動で観察した。

強度を 0.5 mA に固定し、頻度を 10 Hz, 20 Hz, 50 Hz そして 100 Hz と高めながら、各々 30 秒間電気刺激した。図 3 は刺激前と刺激中の横隔神経活動の状態を 5 秒間表示したものである。刺激前には呼息相にも数発のスパイクが認められているが、これは 20 Hz 以上の刺激で完全に消失し、また 50 Hz 以上になると吸息相のスパイク数もかなり減少してくる。このように歯髄神経を電気刺激することによって吸息活動は抑制されることが示された。なお呼吸位相は刺激によりほとんど変化していない。

以下の実験でこのような歯髄からの呼吸抑制反射を、求心性情報量を変化させることにより詳細に研究した。さらにこの反射における中枢と末梢

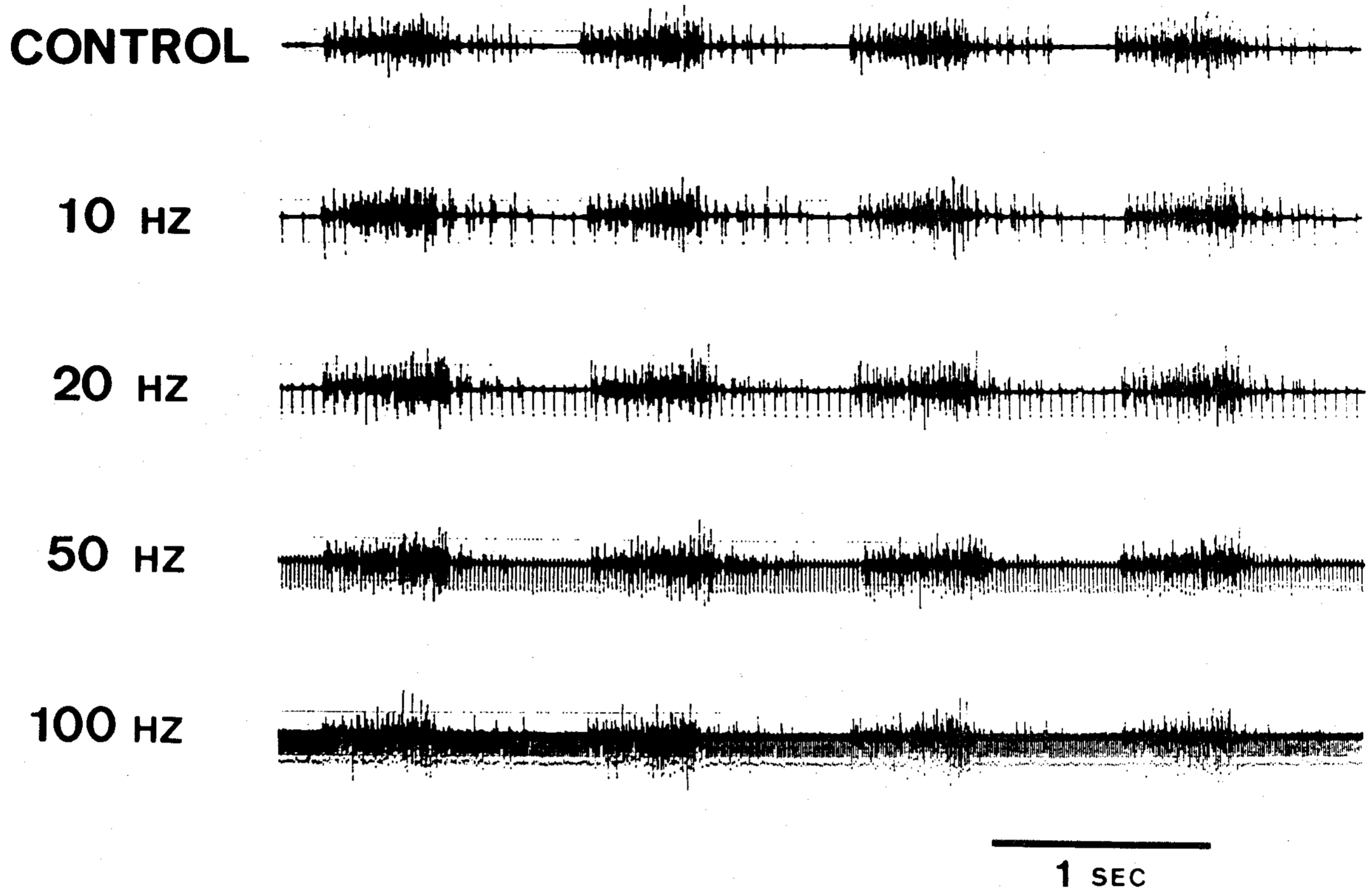


図 3 歯髄刺激時の横隔神経活動の変化

刺激強度：0.5 mA

刺激中の下向きの周期的な細い線はアーチファクトである。

の吸息活動の相異についても比較検討した。

II. 吸息活動抑制の閾値

1. 強度の効果

前に述べた如く、刺激頻度が 50 Hz 以上であると吸息活動は明らかに抑制される。よって頻度を 50 Hz に固定し、強度を 0.1 mA から 0.5 mA まで変化させて吸息活動が抑制を受ける閾値を求めた。30 秒間電気刺激、そして 2 分 30 秒間回復期間を置くという順序で刺激を行なった。吸息活動は横隔神経活動を積分加算（時定数 0.3 秒）して観察した。図 4 は刺激強度を高めていった際の横隔神経活動の一連の経過を示している。各刺激ごとに見られる大きな立ち上がり立ち下りはインテグレーターによるアーチファクトである。効果の判定は刺激前 30 秒間と刺激中 30 秒間の積分加算した横隔神経活動の大きさに差があるか否かを t 検定した。

その結果 0.2 mA 以下の刺激では有意差は見られず ($P > 0.3$)、0.3 mA で 90% に減少した ($P <$

0.05)。そして 0.5 mA では 64% ($P < 0.01$) にまで減少し、刺激終了後も数分間は刺激前の約 70% の大きさに減少したままで、いわゆる after effect が認められた。よって 50 Hz で刺激した場合の強度の閾値は 0.3 mA であり、それ以上の強さでは吸息活動に明確な抑制が認められた。

刺激を 0.5 mA 以上に高めていくと、呼吸抑制はしだいに強まった。1.0 mA 以上になっても抑制効果は刺激強度とともにさらに強まり、呼吸相が延長する傾向を示した。さらに 3.0 mA の強度まで刺激を高めると、時に呼吸停止の状態が観察された。ただ 0.5 mA 以上の強度の刺激の場合、歯髄神経だけでなく歯周組織に分布する求心性神経も刺激していると考えられる。よってこのような効果は歯髄、および歯周組織の両方からの反射としてとらえるべきである。

2. 頻度の効果

前述の実験から強度の閾値が判明したため、強度を 0.3 mA に固定し、頻度を 10 Hz から 200 Hz

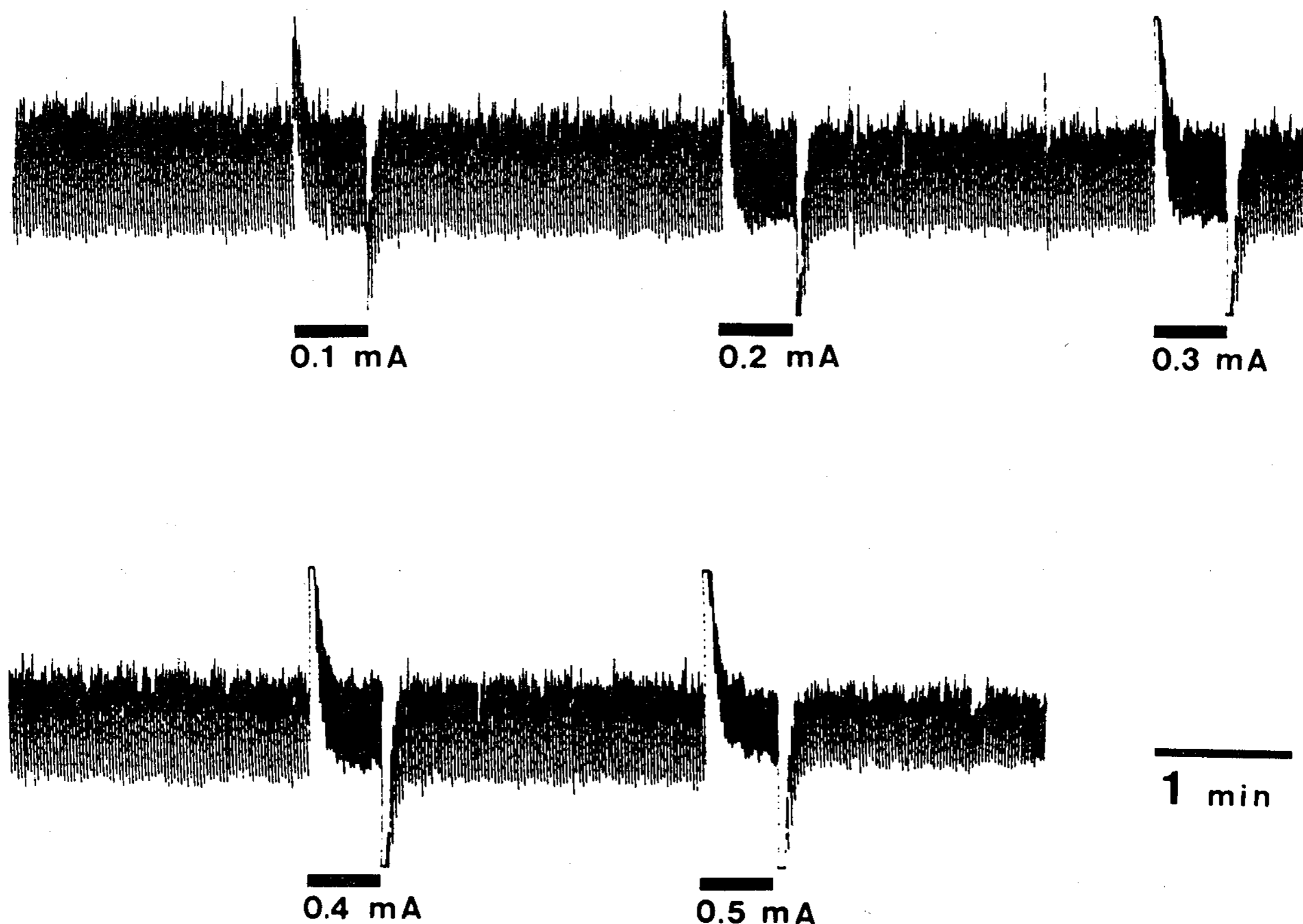


図4 歯髄刺激時の横隔神経活動積分曲線

刺激頻度：50 Hz

刺激開始および終了時の大きな変化はインテグレータによるアーチファクトである。

まで変化させ頻度の閾値を調べた。強度の閾値を求めた場合と同様の時間経過で刺激し、横隔神経活動を積分加算した量で観察、測定を行なった。図5はその一連の経過を示している。

吸息活動への抑制効果は、刺激頻度が10 Hzおよび20 Hzの場合には認められなかった ($P > 0.3$)。50 Hzの刺激で横隔神経活動は91%に減少し ($P < 0.05$)、それ以上の頻度で抑制効果は徐々に強まって行き、200 Hzでは57% ($P < 0.01$)に減少した。このように0.3 mAの強度で刺激した場合、横隔神経活動を積分加算した方法によると頻度の閾値は50 Hzであった。

なお10 Hz、20 Hzの低頻度刺激の場合、刺激前に比べて横隔神経活動量が増大するものが過半数以上の例において認められた。

III. スパイク数による吸息活動の量的変化の分析

1. 横隔神経活動

横隔神経活動を積分加算する方法で抑制効果を量的に求めた場合、図4、図5に示されるように

刺激開始および終了時、インテグレータによるアーチファクトの影響が大きく、刺激開始直後の変化を正確に把握することができない。そこで記録された横隔神経活動のスパイク数をカウントすることにした。この方法を用いると、図3の電気刺激中に見られるようなアーチファクトの量を差し引くことにより、真の横隔神経活動量が求められる。

神経活動のスパイク数を50 msec間隔でカウントし、各吸息相における最大スパイク数を吸息活動量とした。例えば図6の対照例には、約20秒間で12の吸息相が記録されているが、各吸息相の吸息活動量をそのピークの値で表わした。刺激前と刺激中30秒間の吸息活動量の平均をとり、効果の判定は刺激前後でt検定を行なった。

a. 刺激強度を変えた場合

歯髄刺激の頻度を50 Hzに固定し、強度を0.1 mAから0.5 mAまで高めていった。図6の上段に示すように、スパイク数は刺激を高めるにつれて減少していった。下に示す数字は刺激前と比較

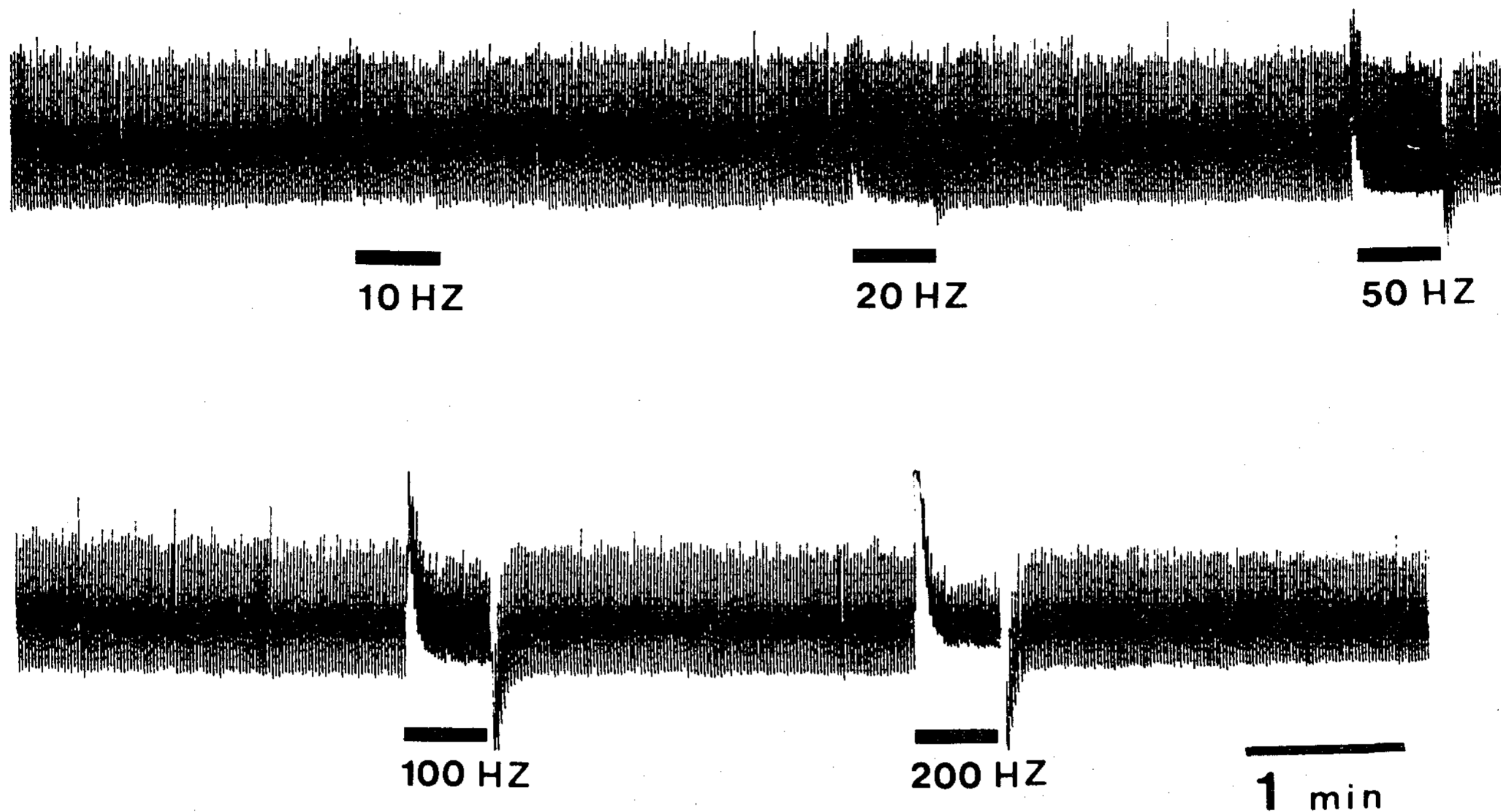


図 5 歯髄刺激時の横隔神経活動積分曲線
刺激強度：0.3 mA

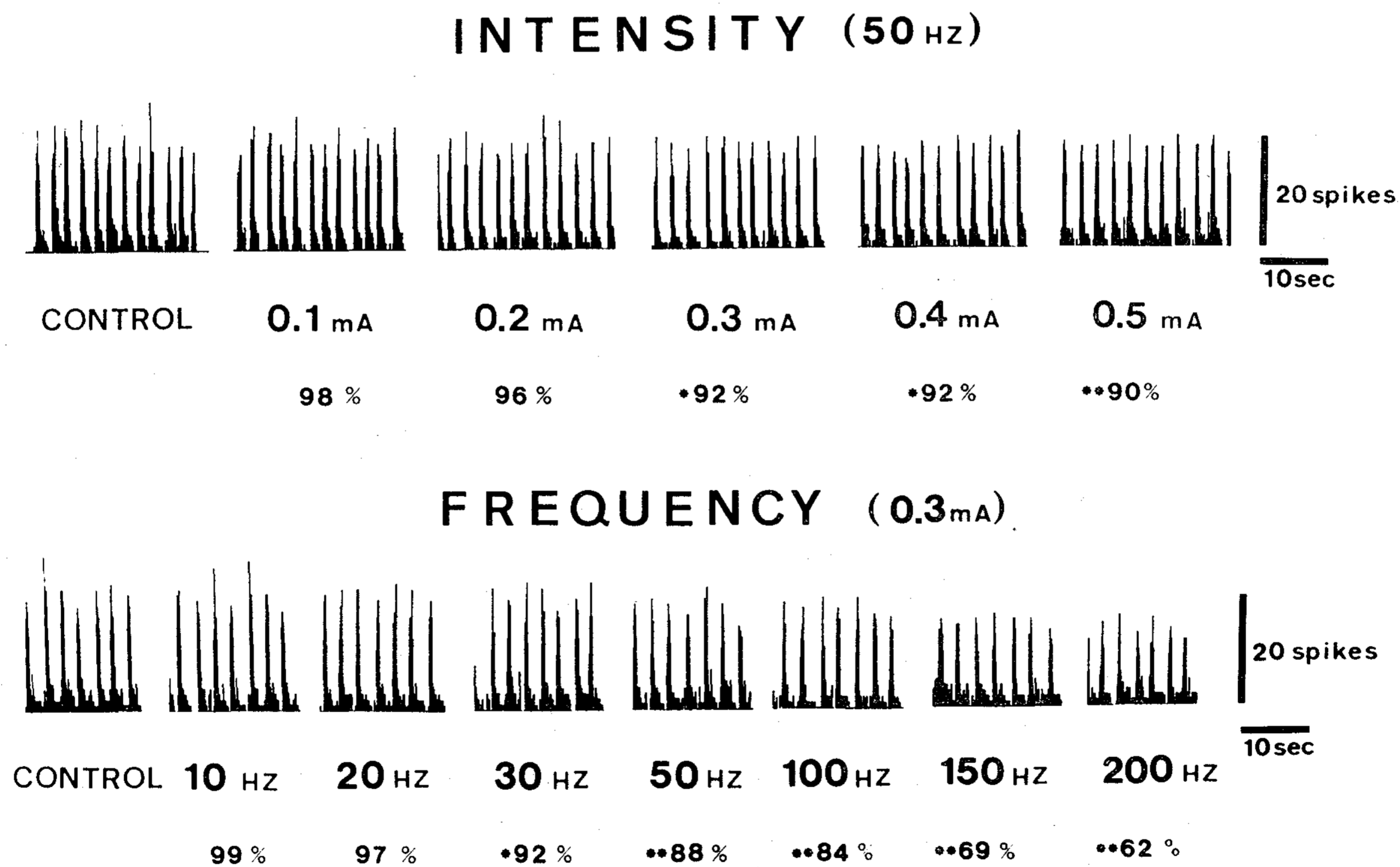


図 6 歯髄刺激による横隔神経活動のスパイク数の変化
上段：頻度を 50 Hz に固定して強度を変えた場合
下段：強度を 0.3 mA に固定して頻度を変えた場合
刺激効果の判定については本文参照。

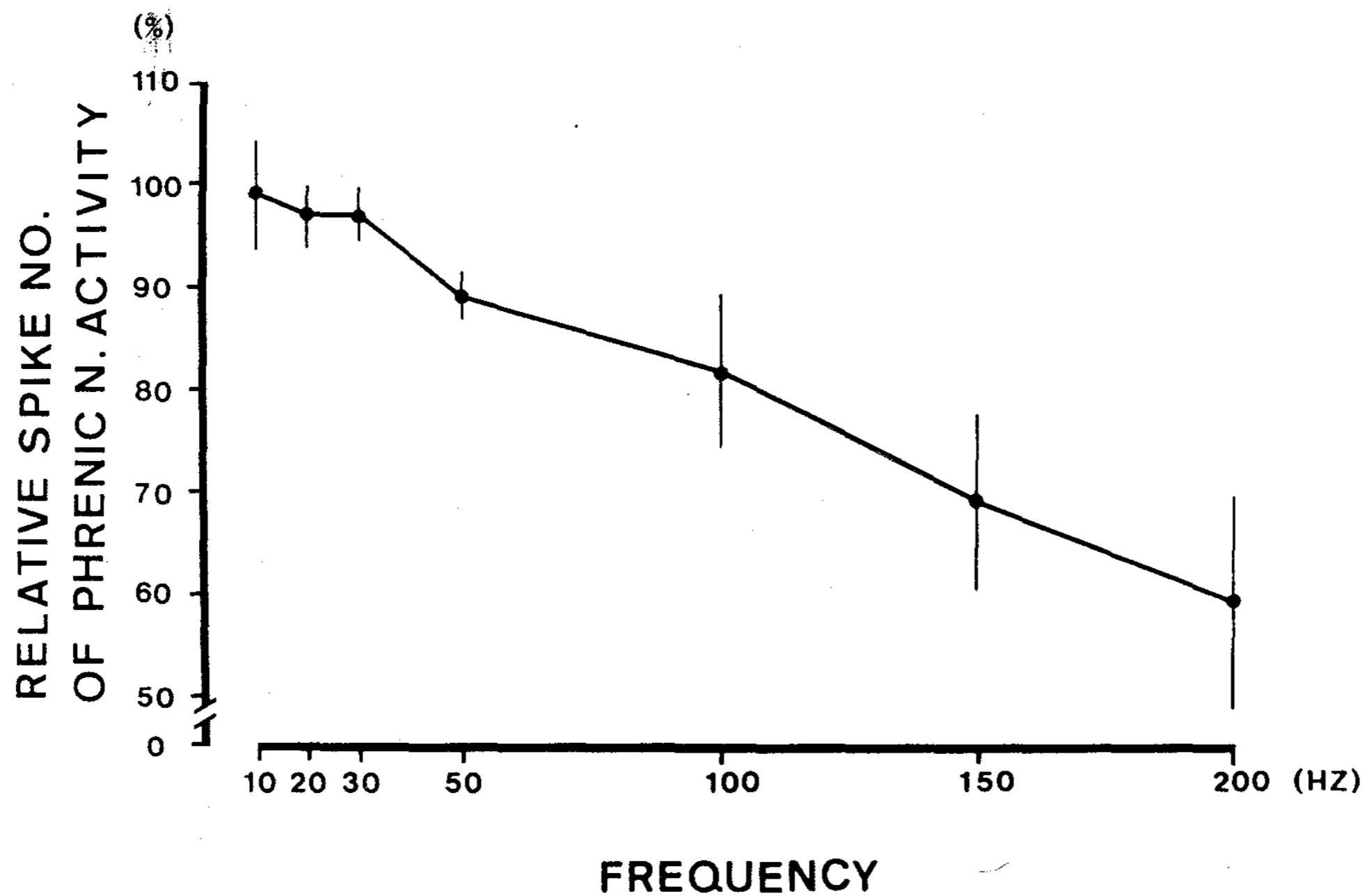


図7 齒髓刺激時の横隔神経活動と刺激頻度との関係
 数値は SE と共にプロットされている。
 50 Hz 以上で横隔神経活動はほぼ直線的に減少する。

したスパイク数を百分率で示し、アスタリスクの数は有意差の危険率 P を表わし、それぞれ*は $P < 0.05$, **は $P < 0.01$ である。

刺激強度が 0.3 mA 以上で有意の差が認められ、抑制量は 0.3 mA では 8%, 0.4 mA では 8%, そして 0.5 mA では 10%であった。これは積分加算した場合と同様の抑制効果である。

刺激強度を高めていくと呼息相が延長し呼吸数が減少しているのが図6上段に認められるが、その変化量はわずかに 1~2 回/min であった。そして刺激前後の呼息相の長さの間には有意差は認められなかった ($P > 0.3$)。さらに 0.5 mA 以上に高めると 1.0 mA 前後では呼息相は明らかに延長し、時に呼吸停止の状態が生じた。

b. 刺激頻度を変えた場合

刺激強度を 0.3 mA に固定し、頻度を 10 Hz から 200 Hz まで変化させた。30 Hz 以上になると明らかに抑制効果が認められ ($P < 0.05$)、スパイク数カウントによる方法では刺激効果の判定がより正確となり、頻度の閾値は 30 Hz であることがわかった。抑制量は 50 Hz で 10% 強、100 Hz で約 20%, 150 Hz および 200 Hz では約 30%と、かなりのスパイク数減少が認められた(図6)。

このように刺激頻度増加による吸息活動の抑制

効果は明瞭であり、その関係を図7に示す。縦軸は横隔神経活動のスパイク数によって表わした相対的吸息活動量である。50 Hz 以上の刺激でほぼ直線的に抑制効果が出現している。

2. 延髄吸息ニューロン活動

延髄呼吸中枢より吸息ニューロン活動を記録し、横隔神経の場合と同様の条件で齒髓刺激を行ないその効果を観察した。

図8の上段に示すニューロン活動は延髄呼吸中枢より得られたものであり、同時に記録した外肋間筋からの筋電図(下段)と呼吸位相が同期しているため吸息ニューロンと判断した。この吸息ニューロンについてスパイク数の変化を分析した。

a. 刺激強度を変えた場合

刺激頻度を 50 Hz に固定し強度を変えた場合の吸息ニューロン活動量が、図9の上段に示されている。横隔神経活動の場合と同様、0.3 mA 以上で吸息活動に抑制効果が認められ、その抑制量は 0.3 mA では 8% ($P < 0.05$)、0.4 mA では 11% ($P < 0.01$) そして 0.5 mA では 13% ($P < 0.01$) であり、各々約 10%前後であった。

b. 刺激頻度を変えた場合

30 Hz 以上の刺激で吸息活動量に抑制効果が出現し、その抑制量は 30 Hz で 7% ($P < 0.05$),

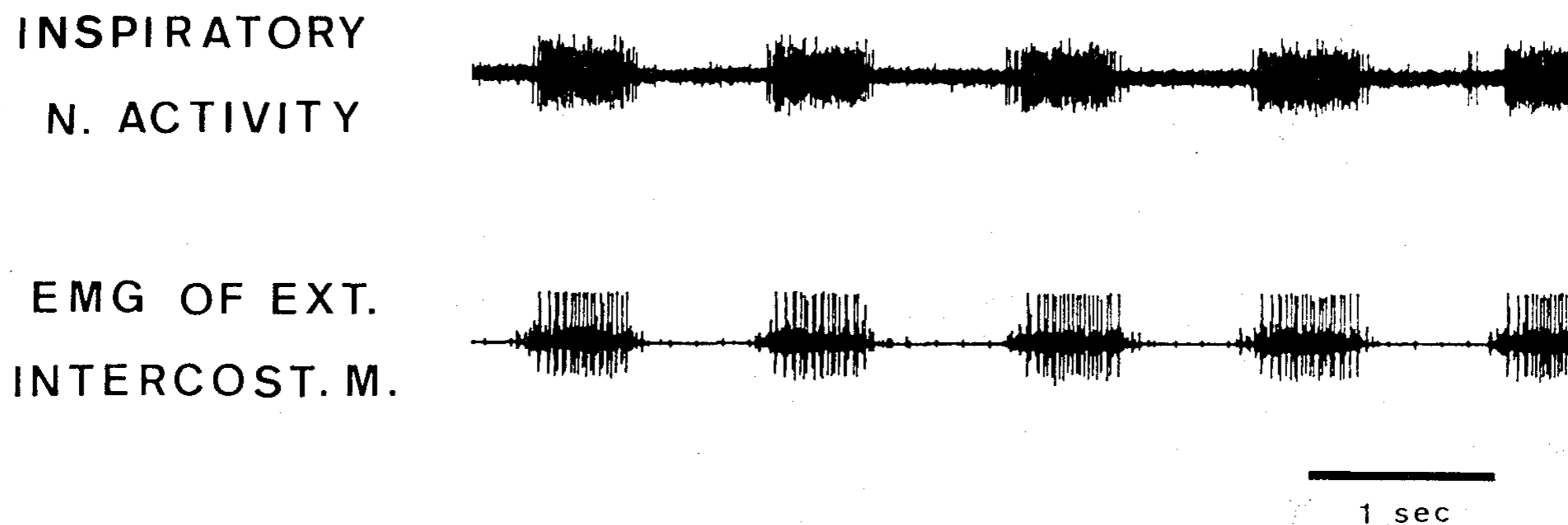


図 8 延髄呼吸中枢より記録した吸息ニューロン活動（上段）。同時に記録した外肋間筋からの筋電図（下段）と位相が一致している。

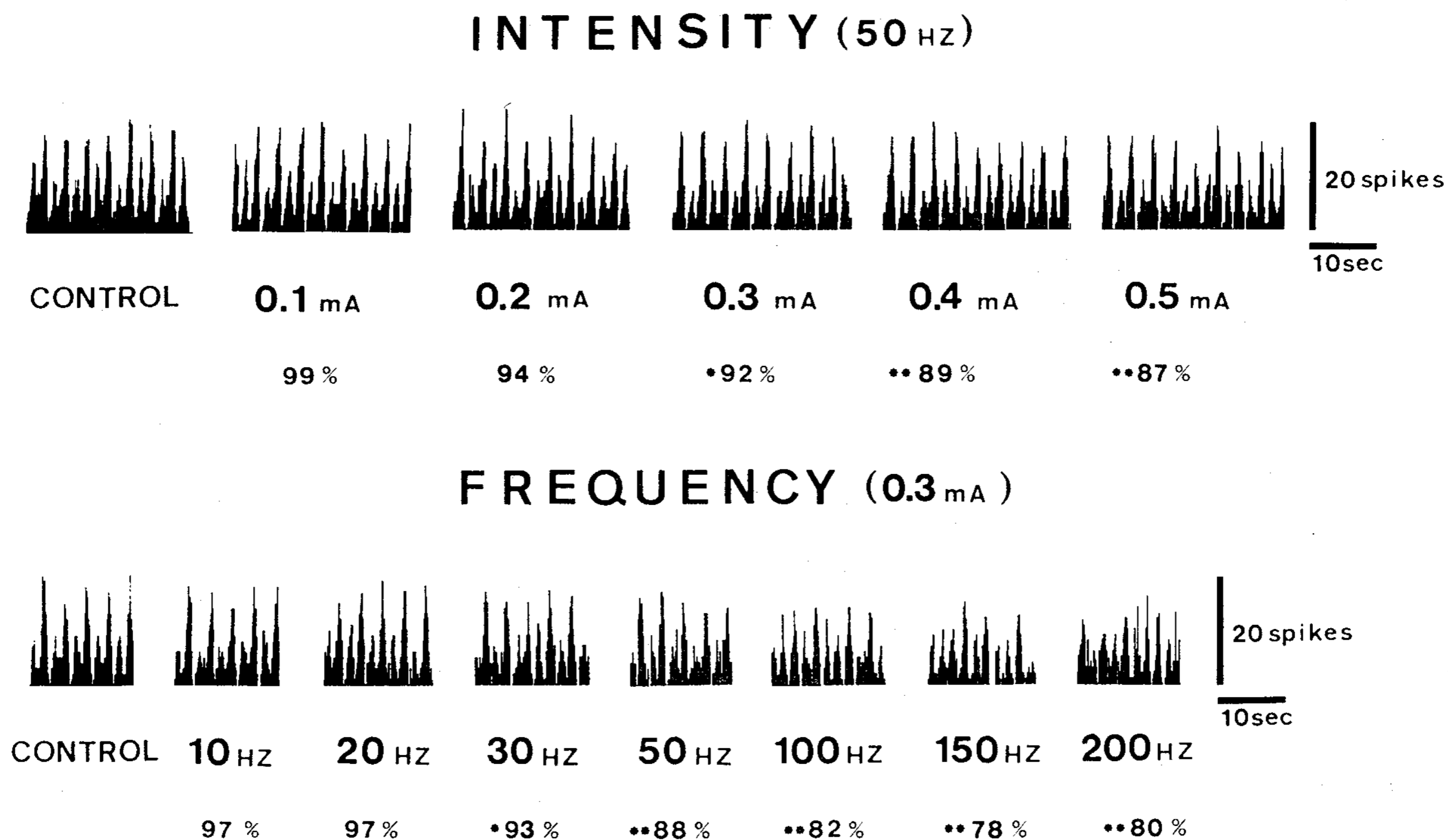


図 9 歯髄刺激による延髄吸息ニューロン活動のスパイク数の変化

上段：頻度を 50 Hz に固定して強度を変えた場合

下段：強度を 0.3 mA に固定して頻度を変えた場合

下段の 100 Hz 以上の刺激でスパイク数のばらつきが大きくなり、吸息・呼息の切り変えが不明瞭になっている。

50 Hz で 12% ($P < 0.01$), 100 Hz で 18% ($P < 0.01$), 150 Hz で 22% ($P < 0.01$), 200 Hz で 20% ($P < 0.01$) となり、ほぼ横隔神経の場合と同様であった。100 Hz 以上の高頻度刺激の場合、吸息活動量の減少に加え各々の吸息活動量のゆらぎが大きくなった。例えば吸息活動量の標準偏差は刺激前と比較して、30 Hz までは変化がなく、100 Hz で 1.3 倍、200 Hz では 2 倍近くになっている。このようなゆらぎの変化は横隔神経活動には見ら

れない中枢性の特徴である。

IV. 呼吸リズムへの影響

これまでの結果は吸息活動量について、末梢および中枢で観察したものであるが、ともに同じような抑制性の効果が認められた。ところが 100 Hz 以上の高頻度刺激を行なうと、延髄吸息ニューロンでは吸息から呼息への切り変わりが不明瞭になってくる（図 9）。スパイク数は吸息相に減少、呼息相に増加し、全相にわたってやや均一的な状

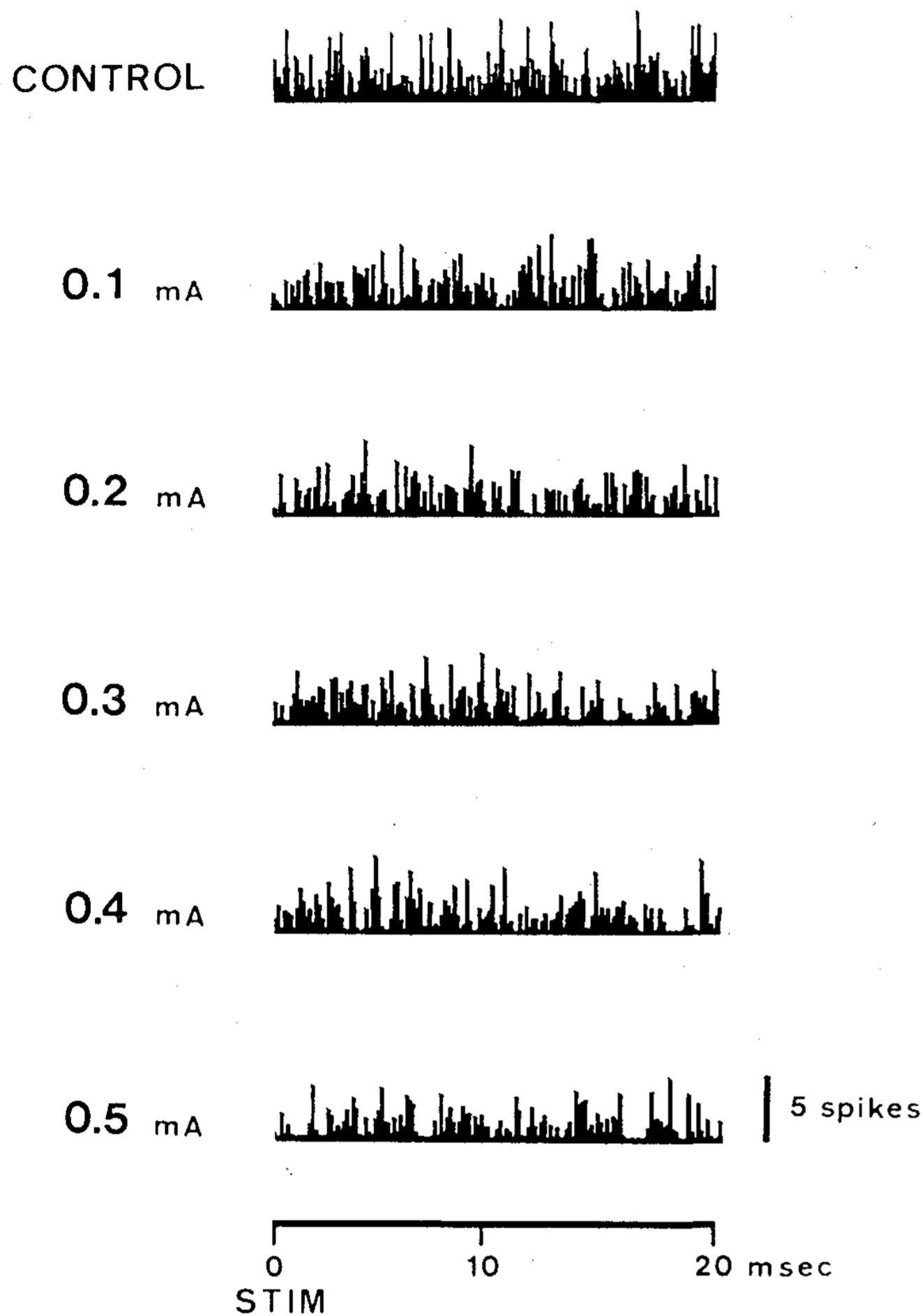


図 10 歯髄刺激時の横隔神経活動の PST ヒストグラム

0.2 mA 以上の刺激で 10 msec 以後にスパイク数の減少が見られる。説明は本文参照。

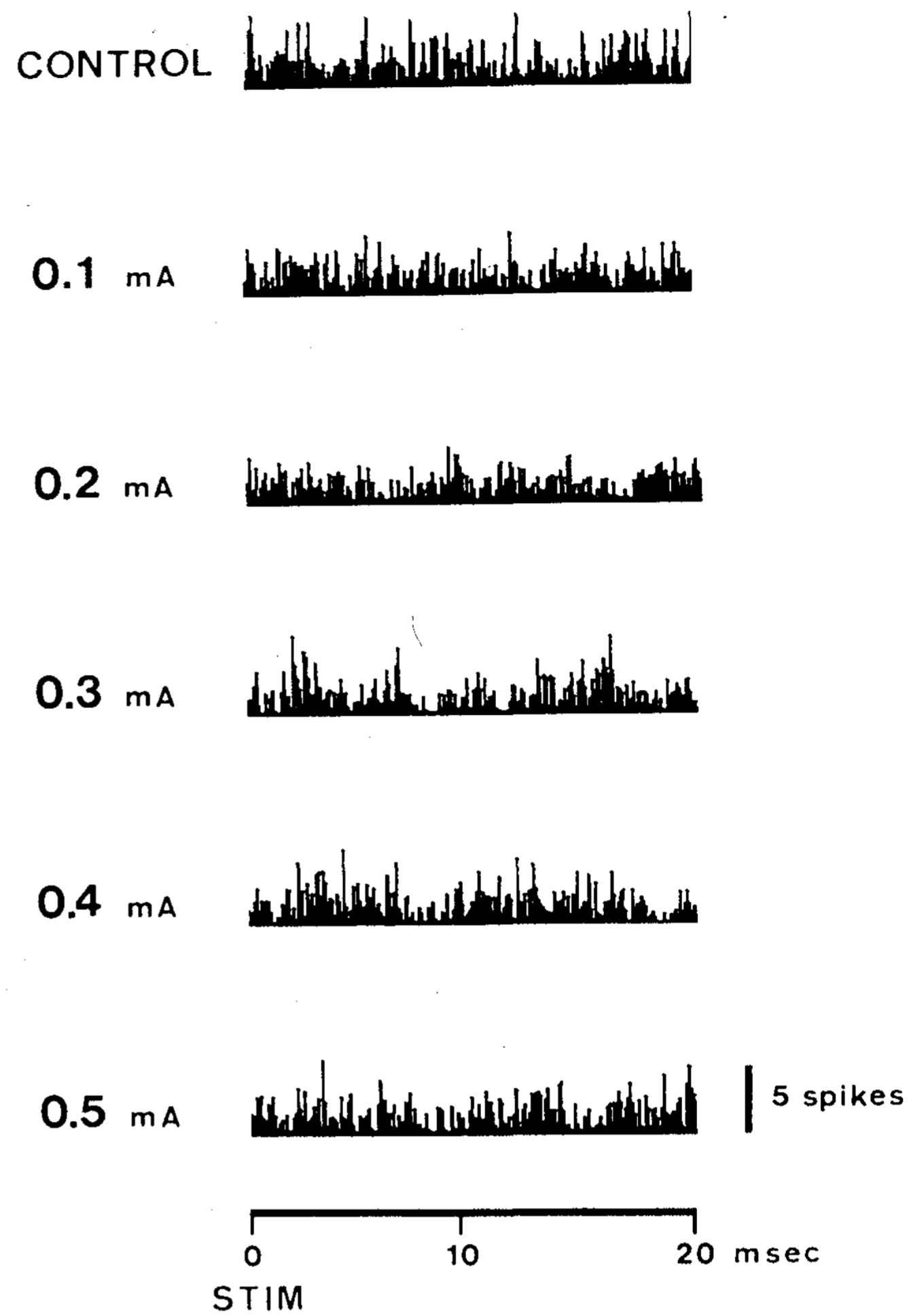


図 11 歯髄刺激時の延髄吸息ニューロン活動の PST ヒストグラム

0.2 mA 以上の刺激で 7~10 msec に抑制性の谷間が生じている。説明は本文参照。

態となる。そのため吸息と呼息の区別がわかりにくくなった。

高頻度刺激による延髄吸息ニューロン活動への効果をまとめると以下の2つとなる。一つは吸息活動量が減少し、そのゆらぎが大きくなることであり、もう一つは吸息・呼息の切り換えが不明瞭になるというリズムの乱れである。

このように延髄吸息ニューロンレベルでは複雑な現象が認められる。それに対し、末梢の横隔神経活動は一定のリズムと大きさをもった単純な形で出現する。このような相違は呼吸中枢の統御機能によるものと考えられる。

V. PSTH による解析

歯髄を電気刺激した後、横隔神経、あるいは延髄吸息ニューロン活動にどれくらいの潜時で抑制効果が出現するか、PSTH よりさらに細かい時間

経過を検討した。

直列につながっているようなニューロン回路では、一方を刺激し他方から記録を行なうと PSTH には一定潜時のもとに明確な興奮性の山や抑制性の谷が生じるはずである。しかし本反射では三叉神経知覚核から延髄呼吸中枢までの間に、複雑なニューロン回路および時間的あるいは空間的加重が想定され²³⁾、PSTH に明瞭な山なり谷が生じることは期待できない。そこで作製された PSTH について、各刺激ごとに同様の時間経過をもった変化がわずかでも認められた場合、刺激効果が生じたと判定した。

1. 横隔神経活動抑制の時間経過

図 10 に PSTH を示すが、これは 50 Hz で刺激した際の神経活動を単一パルスに正規化し、刺激時点を原点にして 20 msec 間隔で 400 回加算した

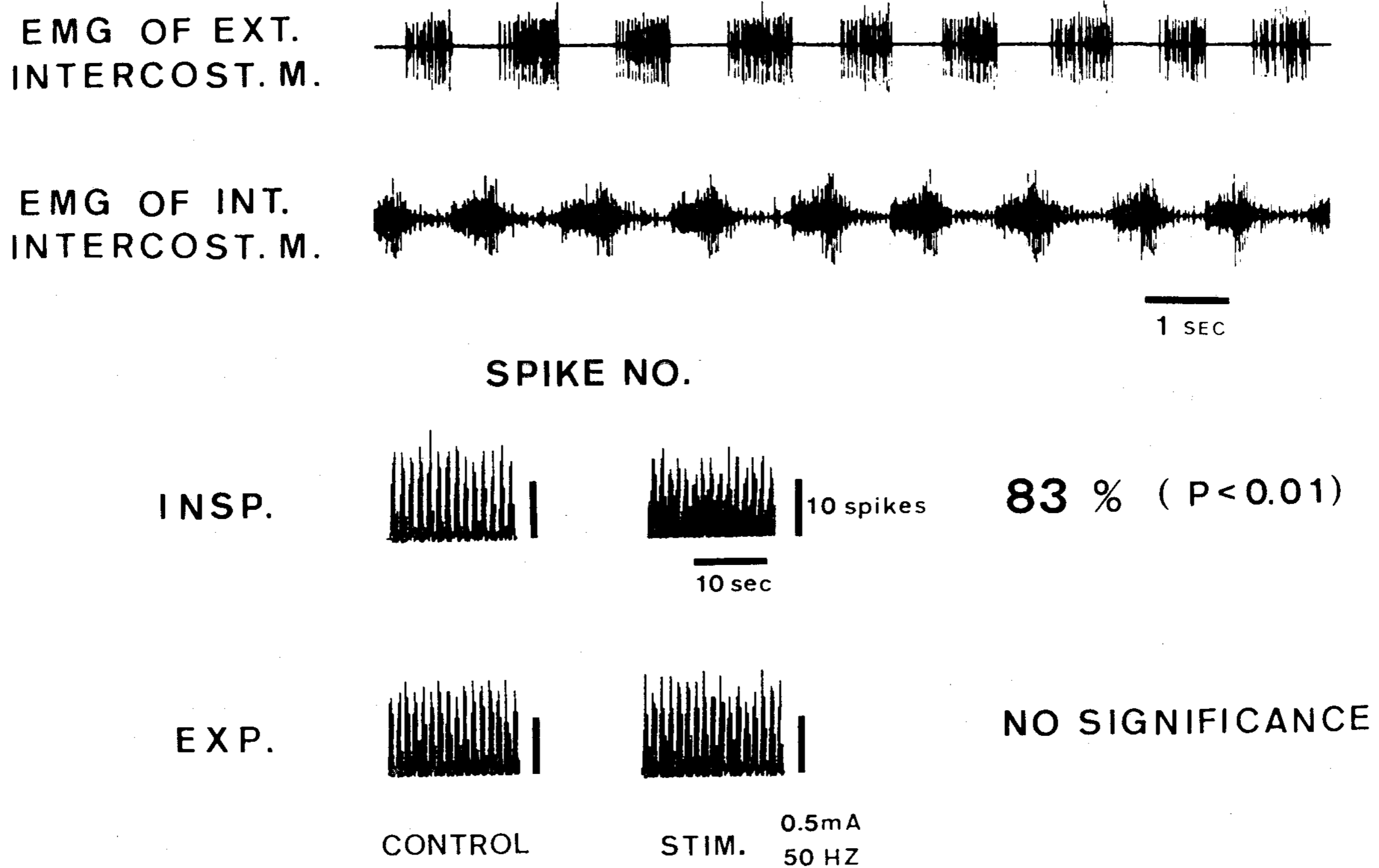


図 12 歯髄刺激の内外肋間筋に対する効果

上段：内外の肋間筋から記録された筋電図。互いに相反性を示し。上が吸息，下が呼息活動を表わす。
 下段：上段の筋電図のスパイクを 50 msec 間隔でカウントしたもの。吸息活動では抑制効果は認められるが，呼息活動では変化はない。

ものである。なお，コントロールとは刺激していない時の呼吸活動を 20 msec 間隔で加算したものである。

0.2 mA 以上の強度の刺激では，刺激後 10 msec 以後にスパイク数の減少が見られ，それは 0.4 mA になると明確になる。そして 0.5 mA の強度では抑制効果が強くなり刺激の全時間経過にわたってスパイク数が減少している。抑制効果の時間経過は 5 例の PSTH より 10~15 msec と算定された。また歯髄刺激により横隔神経活動に抑制が生じるまでの潜時は，ほぼ 10~12 msec であった。

横隔神経活動の記録は図 3 に示すように数本の神経線維から行なったため，スパイク数は神経束から記録した時ほど多くはない。

PSTH において後述の吸息ニューロンの場合(図 11) よりもむしろ横隔神経のスパイク数が少ないのはこのためである。

2. 延髄吸息ニューロン抑制の時間経過

延髄吸息ニューロンについての PSTH もまた横隔神経の場合と同様の手法で求められた(図 11)。この例では 0.2 mA 以上の刺激で 7~10 msec に抑制性の谷間が生じている。抑制効果の時間経過は 5 例の PSTH より 6~12 msec と算定した。また歯髄刺激により延髄呼吸中枢に抑制効果が出現するまでの時間経過は 6~7 msec であった。

VI. 呼息活動への影響

呼息活動の指標として，内肋間筋から筋電図を誘導し，同時記録している外肋間筋より得られたものと相反性に活動していることを確認した(図 12)。呼息筋および吸息筋の筋電図のスパイクを横隔神経の場合と同様，50 msec 間隔でカウントした。刺激前と 0.5 mA，50 Hz で刺激中の吸息および呼息活動のそれぞれのスパイク数を比較した。

吸息活動は刺激によりスパイク数が減少し(83

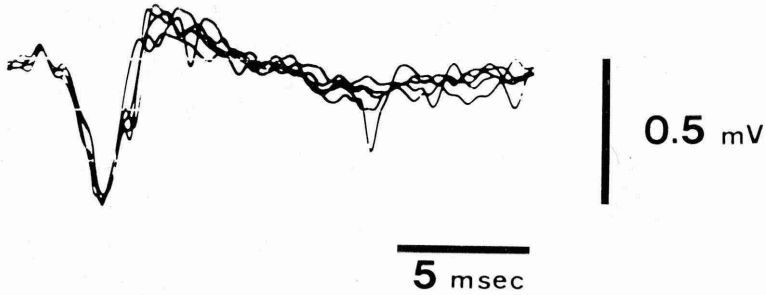
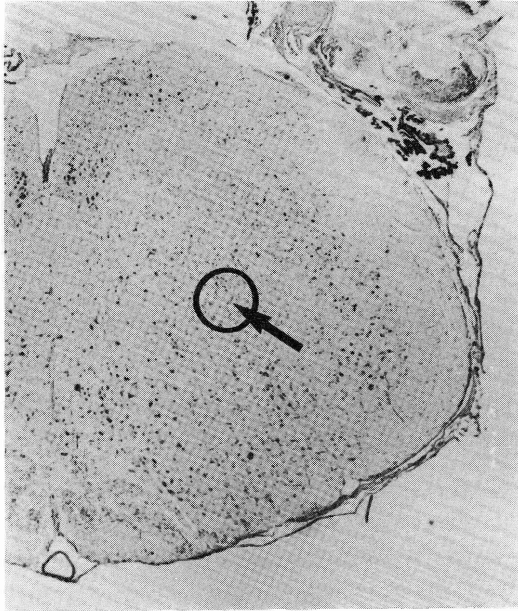
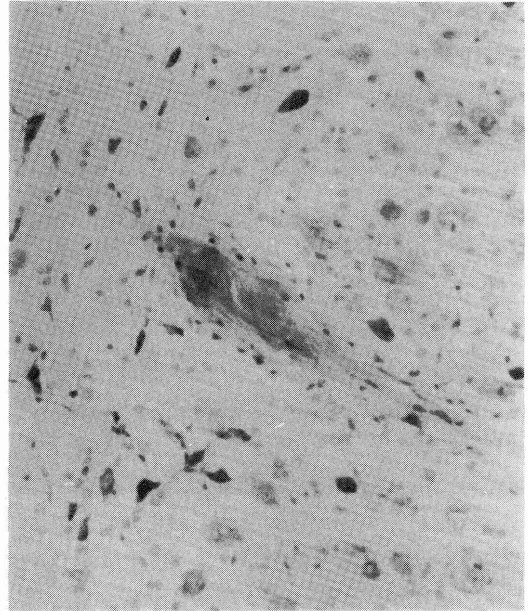


図 13 歯髄刺激による三叉神経知覚核の誘発電位
刺激時点を記録開始時とした。オシロスコープの掃引を5回重ね合わせた記録。刺激後3 msec に陰性シナプス電位が認められる。



X 28



X 400

図 14 延髄吸息ニューロン活動が記録された部位
右側の高倍率写真中の Fast Green FCF 生体染色の部位は疑核付近である。

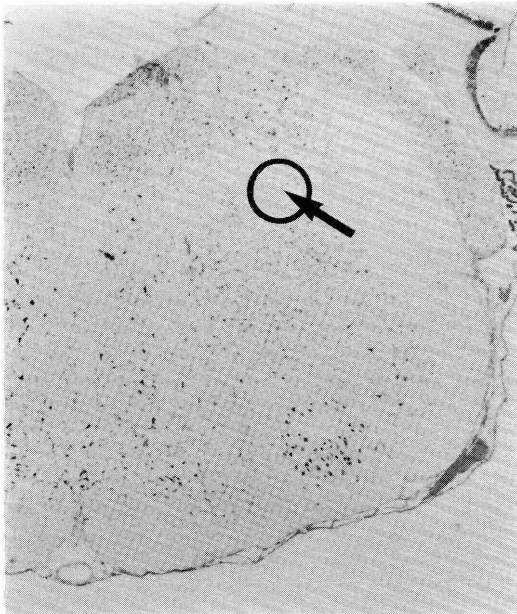
%, $P < 0.01$) 抑制効果が認められた。この抑制効果は吸息ニューロン活動や横隔神経活動で見られたのとほぼ同程度であった。つまり肋間筋でも同様の反射効果が出現しており、このことは内肋間筋の筋電図を用いた呼息活動の解析を価値あるものとしている。

内肋間筋の筋電図で記録された呼息活動ではスパイク数の変化に有意差は認められなかった ($P > 0.3$)。

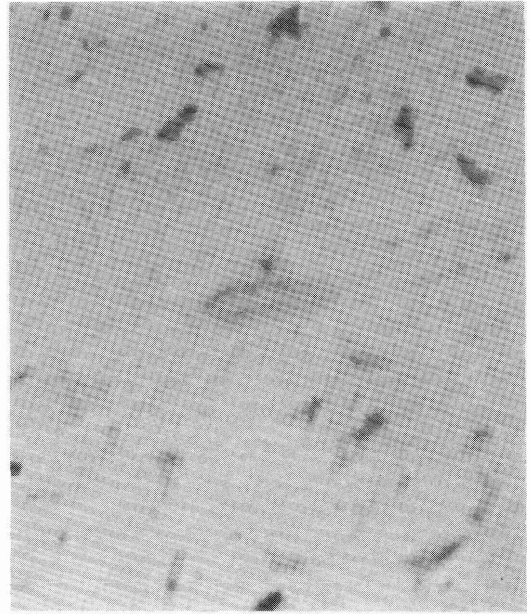
VII. 三叉神経知覚核からの誘発電位の記録

先の PSTH の解析により、歯髄から延髄呼吸中枢までの潜時が求められている。三叉神経知覚核から延髄呼吸中枢までの伝達時間を求めるためには、歯髄から呼吸中枢までの潜時より歯髄から三叉神経知覚核までの潜時を差し引けばよい。そこで 0.3~0.5 mA の強度の歯髄刺激による誘発電位を三叉神経知覚核から記録し潜時を求めた。

図 13 に示したような誘発電位が刺激側と同側



X 28



X 400

図 15 歯髄刺激による誘発電位が記録された部位

右側の高倍率写真中の Fast Green FCF 生体染色の部位は三叉神経知覚核である。

の三叉神経知覚核から記録された。誘発電位の多くは、陽一陰性のシナプス前電位とそれに続く高振幅性陰性のシナプス後電位を示した。シナプス後電位は $0.5\text{ mV} \sim 1.0\text{ mV}$ のものが記録された。誘発電位を記録した十数例全てにおいて、シナプス前電位のピークまでの潜時は $1.0 \sim 1.5\text{ msec}$ 、シナプス後電位ピークまでの潜時は $2 \sim 3\text{ msec}$ であった。

歯髄から延髄呼吸中枢までの潜時は $6 \sim 7\text{ msec}$ であり、歯髄から三叉神経知覚核までの潜時は $2 \sim 3\text{ msec}$ であるので、三叉神経知覚核から延髄呼吸中枢までの伝達時間は $3 \sim 5\text{ msec}$ であった。

VIII. ニューロンの組織学同定

延髄内で記録された吸息ニューロン活動や誘発電位が実際どのような部位から得られたものであるか、組織学的検索を行なった。記録終了後 Fast Green FCF を電気泳動的に微小電極より流出させた。その位置は後日作製した組織標本で、光学顕微鏡により十分確認できた(図14, 図15)。吸息ニューロン活動は図14の写真に示す位

置より記録され疑核付近にあたる。また誘発電位は図15に示すように三叉神経知覚核より記録されていた。

考 察

顎・顔面領域の三叉神経支配部位に与えられた求心性情報が呼吸反射を引き起こすことは古くから知られている^{11)~19)}。

歯髄刺激による呼吸反射に関する報告では、麻酔方法や歯髄刺激法がそれぞれ異なり、さらに反射効果も興奮あるいは抑制と相反したものとなっている^{17)~19)}。このように一致した結果が見出されていないのは、実験条件の相違が大きく影響していると考えられる。本実験は麻酔の深度、歯髄刺激法、および呼吸活動記録法について、各々再現性が良好であるような条件下で行なわれた。

1. 麻酔の影響について

歯髄刺激による三町¹⁸⁾、渡部¹⁹⁾の呼吸反射の実験は、無麻酔かあるいはそれに近い状態で行なわれており、麻酔の影響を排除した考慮がうかが

える。同じ三叉神経支配領域の鼻粘膜刺激による呼吸反射¹¹⁾¹²⁾¹⁶⁾では、麻酔薬および麻酔深度についても研究がなされており参考にすることができた。

Allen¹¹⁾はエーテル麻酔したイヌ、およびウサギでクロロホルムを鼻粘膜に与え、その時の呼吸反射の現われ方を麻酔の深度ごとに確めている。それによると 3rd stage では反射は出現せず、2nd stage になって初めて反射が確認されている。

Yokota¹⁶⁾はネコの鼻粘膜刺激による呼吸反射の実験で、 α -クロラロース・ウレタン麻酔を行なった方が、ネブタール麻酔の場合よりも反射が起こりやすいことを認めている。本実験でも α -クロラロース・ウレタン麻酔を用いる以前、ネブタール麻酔により同様の実験を行なったが、吸息活動の抑制は認められなかった。また α -クロラロース・ウレタン麻酔でも、麻酔後2時間以上経過してある程度の覚醒を待った方が反射効果は出現しやすかった。

このように顎・顔面領域の求心性刺激による呼吸反射は、麻酔深度が高まると容易に消失し、Hering-Breuer の反射のような強い呼吸抑制反射とは異なるものである。

2. 歯髄刺激について

本実験は歯髄からの呼吸反射を研究目的としたものであり、被刺激部位は歯髄のみに限定され、歯周組織に刺激を波及させないことが必要となる。特にラットの下顎切歯は歯根先端部が常に成長して萌出を続けるため、歯髄と歯周組織とは明確に境されていない²⁴⁾。そのため歯髄電気刺激の効果は歯周組織に波及しやすく、ラットでは特に歯髄神経のみが刺激されるよう考慮せねばならない。

その方法として、まず第一に双極電極を用いることである。もし単極刺激を行なうと歯周組織への刺激の波及は十分考えられる。

次の問題は刺激電流の強さについてである。双極電極を用いても電極間抵抗が実験例ごとと7~30 K Ω と異なっており、定電圧刺激では刺激の強さによる動物間相互の比較検討が不正確となる。

以上の点を考慮し、本実験では双極電極を使用し定電流刺激を行なった。

刺激条件に以上のような注意が払われると、余分な求心性線維は興奮していないと思われる。実際、誘発電位の記録は電極先端の細いものを使用し、しかも脳幹の限局した部位において初めて可能であった。

3. 顎・顔面領域からの呼吸反射

Kratschmer¹⁴⁾は1870年にタバコの煙などを無麻酔のウサギの鼻粘膜に与え無呼吸のおこることを報告している。またDixonら¹³⁾はエーテル麻酔したイヌの鼻粘膜を臭素ガスで刺激すると気管支が収縮することを認めている。近年になってAngellら¹²⁾は α -クロラロース・ウレタンで麻酔したイヌの鼻粘膜に水を流すことにより、呼吸抑制、さらには呼息相での呼吸停止、徐脈、そして血圧低下が生じることを報告している。

歯科治療時に関係する報告として、大久保ら¹⁵⁾は無麻酔のウサギの鼻腔に人の天然歯を切削した粉末を与え、呼吸運動が抑制されることを認めている。

Yokota¹⁶⁾はネコの鼻粘膜を直接電気刺激するか、あるいは上顎神経の鼻粘膜枝を電気刺激することにより、下喉頭神経より記録した呼吸性活動で吸息活動の抑制を認めている。この場合、呼吸活動の記録された神経が迷走神経核に由来するため、呼吸系への反射というよりもむしろ三叉-迷走神経反射の一つと見なされている。

以上の報告は鼻粘膜に物理的、あるいは化学的刺激を与えたものであり、純粋な痛み刺激ではない。本実験の目的である歯髄の痛み刺激による呼吸反射に関しては、今までにわずかし報告されていない¹⁷⁾⁻¹⁹⁾。

Kawamuraら¹⁷⁾はイヌの歯髄を直接双極性に電気刺激し、換気量の変化を観察して呼吸の促進効果を認めている。その促進効果は電気刺激がinductoriumを用いて得られたものなので、刺激頻度は低頻度であったと推測される。本実験でも低頻度刺激を行なった場合、約半数に吸息活動の促進が見られており、Kawamuraらの結果はこれに対応するものと思われる。またイヌとラッ

トという実験動物の相違が、彼らの場合の促進効果を大きくしたのかもしれない。

渡部ら¹⁹⁾は無麻酔のウサギで歯の表面から単極性に電気刺激を行なっている。このとき対極を下顎口唇に置いているので、純粋な歯髄のみの刺激になっているかは疑問が残る。呼吸活動への変化として呼吸数、呼吸振幅ともに増加していると記載されている。しかし論文中の図では、呼吸振幅は刺激直後一時的に増加はしているがその後明らかに減少しており、データの採用、および効果の判定に問題がありそうである。

三町¹⁸⁾は無麻酔に近いウサギの単極性歯髄刺激で、80 V の強さの単発刺激により呼吸停止が起こると報告している。この時の刺激条件が単極性、80 V の強度であったことを考慮すると、被刺激部位は歯髄より他へ拡がっている可能性がある。

このように歯牙あるいは歯髄刺激による呼吸反射の報告では、歯髄のみが刺激されたかどうかの問題が残る。歯髄刺激による呼吸反射の従来報告と本実験の結果とをまとめると、その反射は求心性情報量が少ない場合は促進効果、多い場合には抑制効果を起こすと言えよう。

それに対し鼻粘膜からの呼吸反射は強い抑制である。鼻粘膜は上気道であり、そこに与えられた有毒ガスや液体などが呼吸を抑制し、防御反射を引き起こすことは合目的であり十分うなづける。

一般に三叉-迷走神経反射などと、三叉神経支配領域全体を一まとめにした表現がなされているが、同じ三叉神経支配領域にあっても、鼻粘膜からと歯髄からとではそれぞれ異なる反射効果を示す。

4. 迷走神経中枢端電気刺激による呼吸反射との比較

呼吸反射の中で最もよく知られ、また多くの研究がなされているものに、迷走神経の求心性入力による Hering-Breuer の反射がある。この反射と本実験の反射とを比較検討した。

迷走神経中枢端を低頻度で電気刺激すると吸息活動は促進される²⁵⁾²⁶⁾。歯髄刺激の場合にも低頻度刺激では約半数において吸息活動に興奮効果が認められ、両者の効果は似ている。しかし 100 Hz

以上の高頻度刺激では迷走神経の場合、吸息活動は抑制され呼吸が停止してしまうのに対し、歯髄刺激ではこのような強い吸息抑制効果は見られなかった。

また島田ら²⁷⁾はウサギの迷走神経中枢端を電気刺激し、吸息ニューロン活動への効果を報告している。その場合、10~70 Hz の刺激頻度で呼息活動は著明に抑制され、それ以上に頻度を高めると抑制効果は小さくなっている。しかし本実験の場合、呼息活動には刺激頻度、強度の如何を問わず、吸息活動に見られたような抑制効果はなかった。このように迷走神経の場合と歯髄刺激の場合とでは反射効果はかなり異なっている。

Hering-Breuer の反射のように、迷走神経求心性情報は安静時においても吸息、呼息の両方に効果を及ぼし、呼吸リズム調節に関与している。しかし歯髄からの呼吸反射は異常時の一種の防御反射であり、その求心性情報はリズム形成機構にほとんど影響を与えてないと考えられる。

5. 中枢と末梢での反射効果の相異

歯髄を 100 Hz 以上の高頻度で刺激すると、延髄吸息ニューロン活動への効果は図 9 のように特徴的であった。すなわち吸息活動量のゆらぎが大きくなり、吸息、呼息の切り換えが不明瞭になるリズムの乱れが生じた。しかし横隔神経活動では、吸息活動量は抑制されても吸息ニューロンのようなリズムの変化は認められなかった。

このような相異が中枢と末梢とで生じる機構について、次のような考え方ができる。つまり、呼吸中枢には周期性を形成する機能が存在し、歯髄からの入力情報は個々の吸息ニューロンに影響を与えても、周期性を司る呼吸ニューロンには影響を与えず末梢の呼吸リズムは乱れないとする考え方である。あるいは、末梢に現われているのは個々のニューロン活動の総和であり、そこには個々のリズムの乱れはそれぞれに打消し合って表出されないとする考え方である。いずれにせよ、呼吸中枢の入力情報処理過程において、末梢からの高頻度刺激による影響から、固有の呼吸リズムおよび振幅の定常性を保つ機構が存在すると考えられる。

6. 三叉神経知覚核から延髄呼吸中枢への神経連絡

歯髄刺激による三叉神経知覚核までの潜時は図13のように誘発電位の記録により、正確に測定することができた。その潜時について今まで報告されているものでは²⁴⁾²⁸⁾²⁹⁾、誘導した部位が主知覚核、あるいは脊髄路核のどこであっても全てが3 msec以内であり、本実験の結果と一致している。

本実験結果に基づき神経の伝導速度を求めてみると、ラットの歯髄から延髄までの距離を約2.5~3 cmとして伝導速度は約8~15 m/secと算出される。この伝導速度はA δ 線維の範囲に相当し、A β 線維のようなそれ以上の伝導速度をもつ神経線維は関与していないことがわかる。つまり歯髄刺激が歯周組織に分布するA β 線維などには興奮をおこさず、歯髄神経のみを興奮させたことを裏付けている。

次に歯髄から延髄呼吸中枢、そして横隔神経までの伝達時間はPSTHより求められたがやや不明瞭な点があった。そこで従来報告されている結果と今回の結果とを比較し、本実験結果の解析が適当であったことを確認した。

歯髄から延髄呼吸中枢、および横隔神経までの伝達時間についてこれらを直接求めた報告はない。しかし延髄呼吸中枢から横隔神経までの伝達時間は求められている。

Cohen³⁰⁾は延髄呼吸中枢から記録した吸息ニューロン活動と、横隔神経活動のそれぞれに認められるoscillationの位相から、呼吸中枢—横隔神経間には3~5 msecの遅延があると報告している。またNakayamaら³¹⁾は脊髄の下行路を逆行性に刺激し延髄呼吸ニューロンより記録したところ潜時は2.1~2.3 msecであった。Nakayamaらの結果は脊髄運動ニューロンの伝達時間が含まれていないので、さらにシナプス遅延が加算され、ほぼCohenの値と同じと見てよからう。

本実験の結果も呼吸中枢—横隔神経間の伝達時間は3~6 msecであり、上記の報告とほとんど一致している。つまりPSTHに出現している谷間の部分を抑制効果と認め、そこまでの時間を潜時とするのに何ら差支えがないことが確認される。

ただ、横隔神経活動のPSTHでは吸息ニューロン活動のPSTHほど明確な抑制部分の谷間が出現せず、10 msec以後広範囲に抑制が認められる。これは個々の吸息ニューロンごとに、歯髄刺激による抑制を受ける潜時が異なっているため、横隔神経活動ではそれらが足し合わされた広い範囲に抑制効果が出現していると考えられる。

このように本実験で得られた結果は、従来の報告と比較しても妥当性を欠くものではない。すると三叉神経知覚核から延髄呼吸中枢までの神経伝達時間は3~5 msecと認められる。この遅延は知覚核—呼吸中枢間のわずか2~3 mmの距離の中で生じており、その間にはかなりのシナプスを含む複雑な神経回路網が考えられる。

Greenら²³⁾もネコの三叉神経知覚核と迷走神経核、あるいは副神経核との間に2~4 msecの遅延があることを認めており、三叉神経知覚核から他の神経構造へに多くのインターニューロンがあることを示唆している。

このように三叉神経知覚核から延髄吸息ニューロンの間に多数のインターニューロンが存在することはほぼ間違いないであろう。すると歯髄の高頻度刺激を行なった際の吸息ニューロン活動の乱れは、その神経回路網における時間的、および空間的加重によるものであり、吸息ニューロンへの抑制効果がより複雑になったものと考えられる。

結 論

α -クロラロース・ウレタンで麻酔したラットの下顎切歯歯髄を電気刺激し、それによる呼吸反射として以下の結論を得た。

- 1) 横隔神経活動は歯髄神経のみの電気刺激により抑制をうけた。
- 2) 抑制効果を起こす電気刺激の閾値は、持続0.1 msecの定電流矩形波刺激で、強度0.3 mA、頻度30~50 Hzであった。
- 3) 抑制効果は特に刺激頻度に依存し、抑制量は100 Hzで(17 \pm 8) %、150 Hzで(29 \pm 11) %、200 Hzで(40 \pm 12) %となり頻度を高めるとともに効果は強まった。
- 4) 100 Hz以上の高頻度刺激では、延髄吸息ニ

ニューロン活動と横隔神経活動とに対する抑制効果にちがいが見られた。吸息ニューロン活動では呼吸振幅のゆらぎが大きくなり、吸息・呼息の切り換えが不明瞭となるリズムの変化が生じた。それに対し横隔神経活動ではそのようなリズムの変化はなく、呼吸振幅の一樣な減少が見られただけであった。

5) 呼息活動は内肋間筋の筋電図で観察した限りでは特別な変化は起こらなかった。

6) 歯髄から三叉神経知覚核、延髄呼吸中枢、そして横隔神経までの伝導・伝達時間はそれぞれ2~3 msec, 6~7 msec, 10~12 msecであった。よって三叉神経知覚核から延髄呼吸中枢までの伝達時間は3~5 msecであり、その間には多数のシナプスを含むと考えられる。

稿を終わるにあたり、終始御懇篤なる御指導、御校閲を賜りました恩師島田久八郎教授に深謝致します。また組織標本ならびに写真製作に御協力頂いた佐藤清作氏に心から感謝致します。そして御理解、御協力下さいました本学口腔生理学教室の各位に厚く謝意を表します。

なお本研究の要旨は第59回日本生理学会、第24回歯科基礎医学会において発表した。

文 献

- 1) 林 芳雄： 歯牙処置の脾臓容積に及ぼす影響に就て(その1)。歯科学報, **56**: 338-343, 1956.
- 2) 小堀敏子： 三叉神経—自律神経反射の電気生理学的研究。歯基礎誌, **23**: 186-196, 1981.
- 3) 大久保信一, 佐々 良, 福田寿男, 木村義浩： 三叉神経刺激(歯牙切削及び電気刺激)の胃運動に及ぼす影響について。口腔衛生会誌, **9**: 268-270, 1959.
- 4) 菅谷英一： 口腔内侵襲と自律神経反射。日歯麻誌, **4**: 1-6, 1976.
- 5) 田村憲正： 口腔領域に於ける Reilly 現象の生理学的研究—三叉神経と迷走神経の干渉部位について—。歯基礎誌, **23**: 626-634, 1981.
- 6) Dellow, P. G. & Morgan, M. J.: Trigeminal nerve inputs and central blood pressure change in the cat. Archs Oral Biol., **14**: 295-300, 1969.
- 7) 土井 尚, 谷口幸治, 柴田寛一, 堀田 一： 抜歯時の心電図所見。口科誌, **20**: 1-13, 1971.
- 8) 木村義浩, [松雄光子, 福田寿男, 佐々 良： 低血圧状態における歯牙切削及び三叉神経電気刺激が血圧に及ぼす影響について。口腔衛生会誌, **9**: 271-276, 1959.
- 9) 玉生みい： 抜歯手術における血圧変動について。口病誌, **24**: 374-378, 1957.
- 10) 依田雄弘： 口腔侵襲の末梢脈波に及ぼす影響。第1報 歯牙電気刺激時の側頭部脈波および指尖部脈波の変動について。日口外誌, **11**: 162-172, 1965.
- 11) Allen, W. F.: Studies on the level of anesthesia for the olfactory and trigeminal respiratory reflexes in dogs and rabbits. Am. J. Physiol., **115**: 579-587, 1936.
- 12) Angell J., J. E. & Daly, M. De B.: Reflex respiratory and cardiovascular effects of stimulation of receptors in the nose of the dog. J. Physiol., **220**: 673-696, 1972.
- 13) Dixon, W. E. & Brodie, T. G.: Contributions to the physiology of the lungs. Part I. The bronchial muscles, their innervation, and the action of drugs upon them. J. Physiol., **29**: 97-173, 1903.
- 14) Kratschmer, F.: Über Reflexe von der Nasenschleimhaut auf Atmung und Kreislauf. Sber. Akad. Wiss. Wien, **62**: 147-170, 1870.
- 15) 大久保信一, 板倉一民, 牧 完充, 岡田治晴, 海老原信, 細野彦男： 歯牙切削時の粉末による呼吸運動への影響。口腔衛生会誌, **7**: 83-84, 1957.
- 16) Yokota, T.: Trigemino-vagal reflex elicited by tactile stimulation in cats. Jap. J. Physiol., **22**: 533-543, 1972.
- 17) Kawamura, Y., Miki, K., Funakoshi, M. and Fujimoto, J.: Studies on the responses induced by the stimulation of the trigeminal nerve. Med. J. Osaka Univ., **6**: 879-891, 1965.
- 18) 三町 任： 家兎切歯歯髄電気刺激の循環動態と呼吸におよぼす影響。日歯麻誌, **2**: 42-52,

- 1974.
- 19) 渡部一雄, 木村義浩, 爪田 巖, 松雄光子:
三叉神経知覚衝撃が呼吸運動に及ぼす影響に
ついて. 歯科学報, **59**: 825-828, 1959.
- 20) Melzack, R. & Wall, P. D.: Pain mecha-
nisms: A new theory. *Science*, **150**: 971-
979, 1965.
- 21) Toda, K., Iriki, A. and Ichioka, M.: Selec-
tive stimulation of intrapulpal nerve of
rat lower incisor using a bipolar electrode
method. *Physiol. Behav.*, **26**: 307-311, 1981.
- 22) Thomas, R. C. & Wilson, V. J.: Precise
localization of Renshaw cells with a new
marking technique. *Nature*, **206**: 211-213,
1965.
- 23) Green, J. D., De Groot, J. and Sutin, J.:
Trigemino-bulbar reflex pathways. *Am. J.*
Physiol., **189**: 384-388, 1957.
- 24) 日浦 透, 岡田和彦, 重永凱男, 匠原悦雄,
境 章: ラット歯髄神経, 特に切歯につい
て. 阪大歯学誌, **18**: 124-131, 1973.
- 25) Hukuhara, T. Jr., Kumadaki, N., Kojima,
H., Tamaki, H., Saji, Y. and Sakai, F.:
Effects of electrical stimulation of n. vagus
on the respiratory unit discharge in the
brain stem of cats. *Brain Res.*, **1**: 310-
311, 1966.
- 26) Wyss, O. A. M.: The part played by the
lungs in the reflex control of breathing.
Helv. Physiol. Acta, **12**: 26-35, 1954.
- 27) 島田久八郎, 川崎了二: 延髄呼吸性ニウロン
に対する迷走神経刺激効果について. 新潟医
会誌, **80**: 536-541, 1966.
- 28) Anderson, K. V. & Pearl, G. S.: Conduc-
tion velocities in afferent fibers from
feline tooth pulp. *Exp. Neurol.*, **43**: 281-
283, 1974.
- 29) Lisney, S. J. W.: Some anatomical and
electrophysiological properties of tooth-
pulp afferents in the cat. *J. Physiol.*, **284**:
19-36, 1978.
- 30) Cohen, M. I.: Synchronization of dis-
charge, spontaneous and evoked, between
inspiratory neurons. *Acta Neurobiol.*
Exper., **33**: 189-218, 1973.
- 31) Nakayama, S. & Von Baumgarten, R.:
Lokalisierung absteigender Atmungs-
bahnen im Rückenmark der Katze mittels
antidromer Reizung. *Pflügers Archiv*,
281. 231-244, 1964.