生理実験器具の工夫について

歯学部 口腔生理学教室 高橋 義弘

はじめに

私の教室では、歯学部という特殊性から、主に顎顔面口腔領域の神経制御機構の解明に焦点を当てた研究を行っている。私の教室での主な仕事は実験介助であり、その内容は以下のとおりである。

- 1. 実験の準備と手術の準備 2. 手術の介助 3. データの取り込み(記録)
- 4. 実験後のデータの整理と処理 5. 実験動物の標本作成
- 動物の飼育管理(健康状態のチェックも含めて)
 使用する動物は、ヒトを初め、ウサギ、ラット、ネコ、カエルなど多種に わたる。
- 7. 学生教育実習の介助 8. その他(学会プレゼンテーション、講義の介助など)

神経制御機構解明には、顎顔面口腔領域の末梢あるいは中枢各部への刺激方法と、神経細胞、神経線維あるいは筋肉からの記録方法が重要な課題である。こうした教室の一連の研究の過程で、私に特に強く求められる業務は、刺激方法と記録方法の改良と考案である。

そこで今回は、私が現在までに教室で作成した機器のうち、歯を中心とした口腔内への刺激と、神経あるいは筋肉からの活動記録に関連したものをご紹介したい。

刺激方法について

使用する実験動物が多種にわたることから、それぞれの口腔の大きさも異なり、特に歯の形態はまちまちである。また同じ動物であっても、前歯と奥歯では全く異なる形態をしている。したがって、それぞれに対応した刺激器具(刺激棒、刺激子)を作成する必要がある。また実験によっては、刺激の強さを変化させ反応を記録することも必要となる。

既成の市販器具もあるが、それらに比し手製のものは以下の利点があげられる。

- 1. 市販の歪み計を応用した器具よりも、はるかに安価である。
- 2. 刺激部位に応じた最良の形に加工作成することができる。

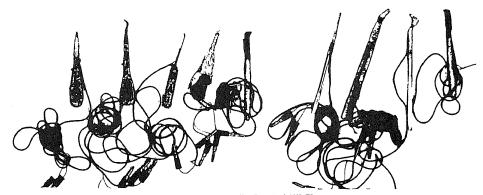
刺激部位に適当な刺激を加えるには、刺激子の先端をほどよく加工しなければならない。たとえば、金属の刺激子をそのまま歯に当てると不快感がひどいので、接触する刺激子先端を歯科材料で被覆した。また、カエルやラットの粘膜を刺激する場合は、刺激子先端を歯科材料で丸めて痛み刺激とならないよう工夫した。この方法によれば先端の大小を自由に変えられ、刺激面積を自由に変えられることも利点の1つとなった。

3. いろいろな強さの刺激を加えることができる。

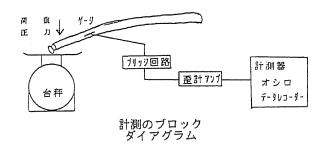
刺激棒と刺激子の柄の素材を変化させることで、非常に弱い強さ(数g重) の刺激から、非常に強い(数kg重)刺激まで、連続的に対応できる。

4. 短時間で作成できる。

修理と修正が必要になった場合に、この点が極めて至便である。



刺激部位にあわせ作成した刺激子



記録方法について

1. 神経活動の記録方法



2. 筋電図の記録

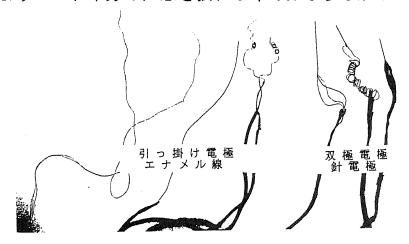
筋電図の記録は、麻酔された動物で行う場合は、神経線維からの直接記録に比べればはるかに簡単である。反面、筋電図は神経からの直接記録が難しいヒトで行われることが多く、できるだけ痛みを与えないような工夫をした記録電極を使用する必要がある。皮膚表面貼付式の表面電極であれば痛みを与える心配はないが、おおまかな解析にしか使えない。詳細な解析には筋肉に直接針入する針電極が不可欠となる。市販の針電極では、刺激器具と同様に、コストがかかるし自由な修正、修理ができない。

そこで手製の針電極を作成したが、そのポイントを以下に列挙する。

1) 制作手順

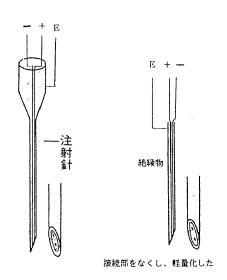
できるだけ痛みを与えないために、皮下注射針の中でもできるだけ細い注射針 (1/5G) の中に、2本の細いエナメル線 $(100\,\mu\,\text{m}$ あるいは $50\,\mu\,\text{m}$) をエポキシ樹脂系 (絶縁物接着剤)で封入した。この場合に、細い注射針の中にエナメル線を曲がらないように挿入するにはかなりの労苦を必要とした。また接着剤で固定する際に、細いエナメル線は切れやすく工夫が必要だった。

エナメル線を固定した後、注射針の先端から出たエナメル線を針先に沿って 切断した。鋭利に切断しないとエナメル線がささくれ、過度の痛みを被験者に 与えてしまうので、十分な注意を払わなくてはならなかった。



2) 軽量化

注射針基部の注射筒との接続部分をそのまま残すと重くなりすぎるため、刺入した針電極が垂れ下がり被験者に不必要な痛みを与えたり、やや時間の長い実験では、電極の重みで針先がずれ、同一の神経筋単位の活を記録できなくなることがあった。そこで、注射針基部をヤスリで削り、接続部分を折ってとりはずす方法をとると、うまく記録できることがわかった。



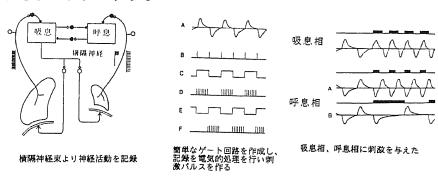
— 44 **—**

実際の刺激と記録の例

次に、いろいろな刺激方法と記録方法を組み合わせた実例を以下に紹介する。

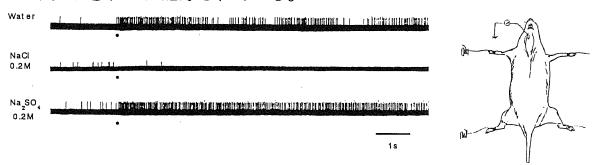
1. 呼吸の外部調節

麻酔したウサギまたはネコの横隔神経束(吸息運動神経束)を分離切断し、神経線維活動を双極電極で直接記録した。吸息性の呼吸活動をゲート回路で電気的に処理しトリガー信号に変換後、迷走神経中枢端に双極電極で求心性の電気刺激を吸息相あるいは呼息相のいろいろな時点で与えた。これにより迷走神経活動がどのように呼吸を調節しているのかを解明することができた。図には工夫したゲート回路と記録を模式的に示す。



2. 上喉頭神経からの記録(水受容器の発見)

麻酔したラットの舌根部に水を流すと、咽頭部の粘膜感覚を支配する上喉頭神経の求心性活動が大きく増加した。各種電解質溶液(0.2M NaC1溶液、0.2M Na₂SO₄ 溶液などさまざまな溶液)を刺激溶液として用い求心性活動の変化を調べることで、咽頭部に水に特異的に反応する水受容器のあることを発見した。記録のための誘導部位が狭いため、単極性の吊り下げ電極を作成し使用した。図では単一のスパイクがきれいに記録されている。



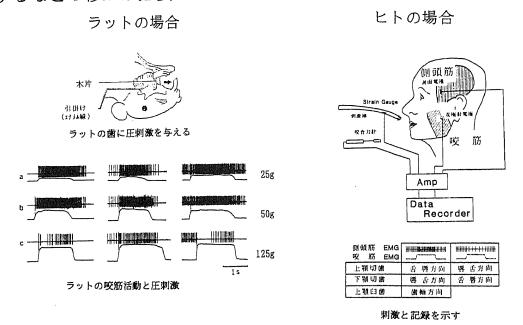
3. 歯からの顎反射

1) ラットの場合

麻酔したラットの歯に圧刺激を与えると、閉口筋(咬筋)筋電図に反射活動が生じる。圧刺激はストレンゲージを貼りつけたエボナイト棒で手動で与え、咬筋筋電図は2本のエナメル線を筋肉内に刺入し引っかけ電極で行った。実験後台秤で刺激圧を較正することで高価な装置を使わなくとも、図に示すように弱い刺激(a:25 g)、中等度の刺激(b:50 g)と強い刺激(c:125 g)を判別可能であった。この実験から、刺激圧の違いによって咬筋に生じる顎反射が異なることが解明できた。

2) ヒトの場合

ヒトでもラットと同様に歯からの顎反射を記録できた。筋電図の記録の項で述べたように、咬筋筋電図記録用針電極には工夫が必要だった。同じ閉口筋の側頭筋には強い痛みのため針電極は使わず表面電極とした。刺激子はラットの場合と原理は同じだが、より強い刺激圧を加える必要から、歯ブラシの柄を刺激子の補強のために使った。ただし、ストレンゲージの感応性を高めるためには、貼りつけ部を細くするなどの修正が必要となった。



嫡 文

- 1. 島田久八郎, 高橋義弘他:呼吸の外部調節(抄). 新潟歯学会誌, 4:114, 1975.
- 2. 真貝富夫, 高橋義弘他:上喉頭神経と舌咽神経の嚥下における機能の相違について. 新潟歯学会誌, 6: 10-19, 1976.
- 3. 田口 洋, 高橋義弘他:ラット上顎切歯圧刺激による歯根膜顎反射. 歯基礎誌, 28: 253-269, 1986.
- 4. 稲井千絵, 高橋義弘他:ヒト切歯への圧刺激と咬筋反射応答(抄). 新潟歯 学会誌, 17:32, 1987.
- 5. 真貝富夫, 高橋義弘他:味覚性入力による腎交感神経活動の変化. 第23回味 と匂いのシンポジウム論文集: 139-142, 1989.
- 6. 真貝富夫, 高橋義弘他:ラット歯根膜感覚入力による副腎神経および腎神経 活動の増大(抄). 歯基礎誌, 34(補冊):169, 1992.