Bradykinin 動脈内投与における犬下歯槽神経の 反応ならびに Morphine 作用について

猪 木 令 三 林 毅 松 本 憲

大阪大学歯学部 薬理学教室*

〔受付：昭和50年7月18日〕

抄録：合成 bradykinin の外頸動脈内投与によって誘発されるイヌ犬歯下歯槽神経での firing に対する morphine の作用を検討した。Bradykinin によって発火される線維は、歯齦の圧、触刺激によって発火する active fiber でなく、歯髄電気刺激に反応し、或いは反応しない silent fiber であった。Morphine 前処置は、この bradykinin 発火を抑制しなかった。

結 言

Armstrong ら¹⁾により bradykinin が biogenic な pain producing substance として取り上げられ、Guzman ら²⁾によってその動脈内投与により惹き起こされる pseudoaffective response が下熱鎮痛薬により抑制されること、さらにその下熱鎮痛薬の疼痛抑制が、末梢における bradykinin との拮抗であることが報告された³⁾。その後 Satoh ら⁴⁾、Besson ら⁵⁾、大塚ら⁶⁾は、bradykinin 動脈内投与による視床核や脊髄後角 neuron での unit discharge を指標とした中枢における実験で、morphine がその活性を抑制することを報告した。Inoki ら⁷⁾は、イヌ犬歯露髄表面に貯溜した生理的食塩水中に歯髄の電気刺激により bradykinin 様物質が遊離されること、そしてこの bradykinin 様物質の遊離は、morphine をはじめ aspirin や aminopyrine で抑制されることを報告し、morphine の末梢作用を pain producing substance 遊離抑制の面から報告した。

一方、Wagers and Smith⁸⁾によって、イヌ歯髄電気刺激による下歯槽神経から single fiber の活動電位が記録され、少量の morphine はこの電位を変化させないとした。溝口⁹⁾も同様に、mor-

phine 3 mg/kg により歯髄電気刺激による下歯槽神経での誘発電位の変化はないと報告している。これらの成績は、morphine が中枢神経内 neuron においてのみ抑制作用を示すことを示唆している。

本実験は、bradykinin を外頸動脈に close arterial injection した場合、誘発される下歯槽神経における single または multi-unit discharge を指標とし、bradykinin の歯髄での chemalgogenics としての作用、および morphine の末梢部位における抑制作用の有無の確認のために行なったものである。

実験方法

Mongrel 種健康成犬のうち歯髄の大きいもののみを実験に供した。Nembutal (35mg/kg i.p.) 麻酔犬の下顎頰側オトガイ孔部より下顎角まで顎骨を除去し、下顎管中に存在する下歯槽神経を動静脈を傷つけることなく剝離し、その中枢端にて切断した。また、頰側で露髄した下顎犬歯の dentine 内両側凹部に Fig. 1 に示す如くアマルガム充填し、露髄面には先端 2 mm 間隔の白金双極電極を、アマルガム充填部にはそれぞれ導線を附着させ、歯髄および歯牙電気刺激を行なった。歯牙

Effect of morphine on the response of canine inferior alveolar nerve by intra-arterial administration of bradykinin.

Reizo INOKI, Takeshi HAYASHI and Ken MATSUMOTO (Department of Pharmacology, Osaka University, Dental School, Osaka)

* 大阪市北区常安町 32 (〒530)

Jap. J. oral Biol., 17 : 333-338, 1975.

Fig. 1 Schematic illustration of the experiment

の機械的刺激には、歯牙の先端を圧迫することにより、pricking（刺刺激）には、露髄表面を歯科用ブローチにて軽く刺すことにより行なった。また、歯髄への bradykinin の局所適用には、露髄表面に他所に漏れることなく少量を滴下した。合成 bradykinin 動脈内投与には、あらかじめ、内頸動脈（Internal Carotid A.）、後頭動脈（Occipital A.）、舌動脈（Lingual A.）を結紮し、外頸動脈より合成 bradykinin $1\mu\text{g}$ 0.1ml を注入した。

神経線維の活動電位は、通例に従い、monopolarly に歯牙刺激を目標にしながら、オトガイ神経を除去した下歯槽神経で、山田ら¹⁰⁾の報告を参考にしながら探索した。不関電極は下顎骨表面に置いた。すなわち、記録電極には白金線を用い、cathode follower を介し、microelectrode amplifier（日本光電 MZ-3B）、Biophysical Amp.（AVB-2）にて増巾し、陰極線オシロスコープ（VC-7 日本光電）に投射した像を、連続撮影装置にて撮影記録した。動物には Flaxedil の適当量を投与し、筋肉の運動を抑制した状態で、人工呼吸下で実験を行なった。Fig. 1 に実験の概要図を示した。

実験成績

1. 種々の刺激に対する active fiber および silent fiber の反応

下歯槽神経を、電顕用ピンセットにて細かく分けていくと、spontaneously に firing を起こしている active fiber と、全く firing を示さない silent fiber に二大別される。

Active fiber における spontaneous firing は、歯牙の機械的刺激によって容易に firing の増加

を示した。歯牙を 0.1m sec. と 30 m sec. の各々短、長持続時間で電気刺激した場合も影響を受けず、また歯髄の pricking によっても何ら反応を示さなかった。

一方、silent fiber は歯牙の機械的刺激には全く反応を示さないが、電気刺激の場合全く反応を示さないものと、反応を示すものの二種類が区別された。Pricking 刺激に対しては、大多数の例で反応を示したが、電気刺激に反応するものでも反応せず、逆に電気刺激で反応しなくても pricking 刺激に反応するものがあった。（Fig. 2）

Fig. 2 Active and silent fibers of the inferior alveolar nerve

2. Active fiber および silent fiber に対する bradykinin の影響

i) Active fiber

Active fiber に対する合成 bradykinin $1\mu\text{g}$ 0.1ml 動脈内投与は、投与直後から 120sec. に至って spontaneous firing に何ら影響を及ぼさなかった。（Fig. 3）すなわち spontaneous firing rate は、bradykinin の投与によって、その rate を増加したり、減少したりしなかった。

ii) Silent fiber

Silent fiber の中、歯髄の電気刺激や pricking によって反応を示す fiber に、又は電気刺激には反応しないが pricking に反応を示す fiber に bradykinin $1\mu\text{g}$ 0.1ml 動脈内投与によって投与後約 20sec. で現われ始め、60sec. で最高となり 180sec. に至って漸次減弱する firing を示す fiber が認められた。Fig. 4 の下左右図に本例を示したが、右図は active fiber 観察中に bradykinin 投

Fig. 3 Effect of bradykinin on the active fiber

Fig. 4 Effect of bradykinin on the silent fiber

与によって、firing の出現した例である。この場合、back にある spontaneous firing rate に対し bradykinin は影響を及ぼしていないことが観察された。

Silent fiber での bradykinin の効果を総括すると、Table 1 の如くなる。すなわち、silent fiber 全 34 例のうち、歯髄電気刺激に反応した fiber は 21 例で、そのうち bradykinin 動脈内投与により反応するもの 9 例、反応しないもの 12 例であった。一方、電気刺激に反応しない fiber 13 例のうち、bradykinin に反応したもの 3 例、しなかったもの 10 例であった。全体より見ると bradykinin に反応した fiber は 12 例で、約 35% であった。

3. Bradykinin の露髄表面への局所適用の影響

Bradykinin $10^{-5} \sim 10^{-6}$ g/ml を、露髄表面に他所に漏れることなく滴下し、その時出現する fiber の反応を観察した。Active fiber において spontaneous firing は全く影響を受けなかった。また silent fiber においても、歯髄電気刺激に反応するもの、反応しないもの、いずれの fiber においても影響がなかった。即ち bradykinin 動脈内投与で反応を示した兩種 fiber においても、全く影響がなかった。(Fig. 5)

4. Bradykinin 動脈内投与において誘発される下歯槽神経 firing に対する morphine の影響

Bradykinin 動脈内投与によって firing を示した 4 例について、morphine 3 mg/kg i.v. の前処置の効果を検討した。4 例中 3 例が無効で、morphine 投与後 10, 20, 30 min. でも bradykinin 投与による firing は消失しなかった。また 1 例

Table 1. Summarization of bradykinin effect on the silent fiber

		Silent fiber (B)			
		34 (100%)			
Electric stimulation		Responsive (B-a)		Irresponsive (B-b)	
		21 (62)		13 (38)	
Bradykinin (1µg/0.1ml i.a.)		Responsive		Responsive	
		3 (9)	10 (29)	9 (26)	12 (36)

Fig. 5 Local application of bradykinin onto the pulp

Fig. 6 Effect of morphine on Bradykinin-induced response

では消失が10分後で認められたが、回復も示されなかった。(Fig. 6) (Table 2)

考 察

下歯槽神経において、spontaneous firing を示

す active な線維は mechano-sensitive な線維で、歯牙の機械的刺激によって容易に発火し、また粗の局在性を示し、当該歯牙の圧迫のみならず歯齦の圧迫によっても反応を示すものであった。この active fiber では、歯髄の電気刺激や pricking によって発火の増加を示すことがなく、明らかに歯髄からのものとは異なる。

Kawamura and Nishiyama¹¹⁾ によれば、これらの fiber の終末は歯根膜に終り、歯牙よりの圧、触覚を中枢に伝える fiber であるという。歯髄の電気刺激によって、しかも長い持続時間で閾値上電圧で反応を示した fiber はいずれも silent fiber で、これは歯髄の pricking によっても反応を示した。Bradykinin 1 μg 0.1ml の動脈内投与は、この mechano-sensitive な active fiber の firing に対し何ら影響を及ぼさなかった。

一方 silent fiber の中には、歯髄刺激によって反応した fiber と、bradykinin 動脈内投与によって反応を示した fiber を含んでいる。検索した34例の silent fiber 中、bradykinin によって反応を示したのは12例で35%であった。Funakoshi and Zotterman¹²⁾ は、歯髄神経の温度変化に対する反応をイヌで検討し、圧や振動によって興奮せず、温度に反応する fiber の伝導速度は A-δ 群に属することを明らかにし、窪田¹³⁾ は、歯髄に熱刺激を与えた際にのみ応答する神経 fiber で、歯牙の圧迫や振動に全く反応しない fiber を痛覚伝導 fiber とみなして、歯牙切削の影響を検討している。本実験で bradykinin によって興奮する silent fiber は、温度感覚に対する反応こそ検索していないが、恐らく同種類の fiber とみなされる。しかし bradykinin によって反応を示した fiber の中には、歯髄の電気刺激に対して irresponsive なものもあり、歯髄の電気刺激に反応する fiber 以外にも bradykinin は影響を及ぼすようである。Fjällbrant and Iggo¹⁴⁾ は、皮膚において mechano および thermal stimulation に対

Table 2. Summarization of morphine effect

Total experiment	Morphine effect(+)	Morphine effect(-)
4	1	3
	(No recovery)	

し, nociceptive であると考えられる fiber の反応から, bradykinin や serotonin のごとき chemical excitants が, afferent fiber の nociceptor に対して specific でないことを報告している。Lim¹⁵⁾ は, bradykinin を脾動脈に投与した際活性化される求心線維は, その conduction velocity から C 線維よりも A γ , δ およびそれより太い線維であることを示しているが, 本実験で, mechano-sensitive な active fiber に対して, bradykinin が影響を及ぼさないことを考慮に入れると, 歯髄の場合はかなり純粋に痛覚線維を刺激すると考えてよいであろう。一般に, bradykinin を外頸動脈内投与後, 反応は約 15-20sec. で出現し, 約 120-180sec. で漸次消失した。Onset-latency が Lim¹⁶⁾ のヒトの場合約 14sec. であり, Satoh⁴⁾ のウサギ後角細胞の発火の場合は 7-15sec. であることを考えると, Lim¹⁷⁾ のいう paravascular sensory nerve での chemoreceptor まで血管を越えて到着する必要時間が, 歯髄の場合も大体同じと考えてよいであろう。

予想に反して, 露髄表面に適用した bradykinin 10^{-5} ~ 10^{-6} g/ml は, active fiber ならびに silent fiber に何ら影響を及ぼさなかった。中島¹⁸⁾ は, dentine, および inferior dental nerve の歯髄神経からの記録が, 露髄中に適用した種々の発痛物質により変化することを研究し, 10^{-6} g/ml bradykinin により適用後すぐに, 高放電を示す持続性の発火が現われるとしている。本実験での negative result は, なお検討の余地を残しているが, 局所適用による bradykinin の receptor までの approach が容易でないと思われる。

後角細胞での Satoh, Nakamura and Takagi⁴⁾ の実験では, morphine 2 mg/kg が bradykinin-induced response を抑制したのに反して, 本実験では morphine 3 mg/kg の静脈内前投与によっても, silent fiber の bradykinin による発火には影響を及ぼさなかった。換言すれば, morphine は末梢において bradykinin による発火を抑制しない。この成績は, Lim の二頭犬における morphine の鎮痛作用点は中枢性であることを肯定し, また Wagers and Smith⁸⁾ の, morphine 2.5-5 mg/kg が dental nerve receptor で何ら作用

しないとの結論を肯定させる。

一方, morphine が多くの臓器で postganglionic nerve と effector cell の impulse transmission を抑制することが知られ, また電氣的に刺激された ileum からの acetylcholine release を抑制することが知られている。

Bradykinin あるいは, bradykininogen が交感神経興奮後, いわゆる sympathetic after-vasodilatation によって組織中に遊離されることが考えられる。従って, Inoki⁷⁾ の成績と考えあわせると, morphine の作用は bradykinin の産生か遊離機序に影響し, 一度遊離された後の bradykinin 作用, 例えば本実験での bradykinin-firing のような作用に対しては, 無影響と考えるのが妥当であろう。

林¹⁹⁾ は, ラット足蹠皮下灌流液中に種々の侵害刺激によって遊離される bradykinin が, aspirin によって比較的 non-specific に抑制され, morphine によっては, その遊離に神経機構が関与すると考えられる場合にのみ特異的に抑制がみられると報告している。

以上の成績を総合すれば, bradykinin の頸動脈内投与によって反応する fiber は, 少なくとも mechano-sensitive 以外の silent fiber に限られ, この反応は morphine の前処置によっても抑制されないことが判明した。

結 語

Bradykinin 1 μ g の 0.1ml を外頸動脈より close arterial injection を行ない, 下歯槽神経からの放電を記録した。

1. 歯牙および歯齦の圧, 触刺激によって発火する active fiber の spontaneous firing に対して, bradykinin 1 μ g 0.1ml の動脈内投与は, 何ら影響を及ぼさなかった。

2. Morphine 3 mg/kg i.v. は, active fiber の spontaneous firing に対して何ら影響しなかった。

3. 歯髄の電気刺激に反応する fiber, および反応しない silent fiber 中には, bradykinin に対して反応する fiber が存在し, 一般に bradykinin 動脈内投与後, bradykinin による firing

は15-20sec. で出現し, 約120-180sec. で消失した。

4. Morphine 3 mg/kg i.v. 投与は, この bradykinin による firing を抑制または消失させなかった。

文 献

- 1) ARMSTRONG, D. A. J., JEPSON, J. B., KEELE, C. A. and STEWART, J. W.: Pain producing substance in human inflammatory exudates and plasma. *J. Physiol.*, **135** : 350-370, 1957.
- 2) GUZMAN, F., BRAUN, C. and LIM, R. K. S.: Visceral pain and the pseudoaffective response to intra-arterial injection of bradykinin and other algescic agents. *Arch. Int. Pharmacodyn.*, **136** : 353-384, 1962.
- 3) LIM, R. K. S., KRAUTHAMER, G., GUZMAN, F. and FULP, R. R.: Central nervous system activity associated with the pain evoked by bradykinin and its alteration by morphine and aspirin. *Poc. Natl. Acad. Sci., U. S.*, **63** : 705-712, 1969.
- 4) SATOH, M., NAKAMURA, N. and TAKAGI, H.: Effect of morphine on bradykinin-induced unitary discharges in the spinal cord of the rabbit. *Europ. J. Pharmacol.*, **16** : 245-247, 1971.
- 5) BESSON, J. M., CONSEILLER, C., HAMANN, K.-F. and MAILLARD, M.-C.: Modifications of dorsal horn cell activities in the spinal cord, after intra-arterial injection of bradykinin. *J. Physiol.*, **221** : 189-205, 1972.
- 6) OTSUKA, M. and KONISHI, S.: Action of certain polypeptides on frog spinal neurons. *J. J. Pharmacol.*, **21** : 685-687, 1971.
- 7) INOKI, R., TOYODA, T. and YAMAMOTO, I.: Elaboration of a bradykinin-like substance in dog's canine pulp during electrical stimulation and its inhibition by narcotic and nonnarcotic analgesics. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **279** : 387-398, 1973.
- 8) WAGERS, P. W. and SMITH, C. M.: Responses in dental nerves of dogs to tooth stimulation and the effects of systemically administered procain, lidocain and morphine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **130** : 89-105, 1960.
- 9) 溝口幸二: Morphine の中枢作用点と Levallorphan 拮抗について. 日本薬理学雑誌, **60** : 326-346, 1964.
- 10) YAMADA, M., MARUHASHI, J., SUGAYA, K., HARA, G. and MASUDA, M.: Physiologic studies on the innervation of tooth. *J. Dent. Res.*, **32** : 110-116, 1953.
- 11) KAWAMURA, Y. and NISHIYAMA, T.: Study on bulbar and spinal projection of nerve impulses from teeth of cat. *I.A.D.R. eleventh general meeting of Japanese division-printed abstracts* : 7, 1963.
- 12) FUNAKOSHI and ZOTTERMAN: A study in the excitation of dental nerve. *Sensory Mechanism in Dentine* (edited by Anderson, D.J.), 60-70, Pergamon Press, London, 1963.
- 13) 窪田隆一: 歯牙切削により生ずる生体反応に関する研究. 大阪大学歯学雑誌, **9** : 2 : 27-35, 1964.
- 14) FJÄLLBRANT, N. and IGGO, A.: The effect of histamine, 5-hydroxytryptamine and acetylcholine on cutaneous afferent fibers. *J. Physiol.*, **156** : 578-590, 1961.
- 15) LIM, R. K. S., GUZMAN, F., RODGERS, D. W., GOTO, K., BRAUN, C., DICKERSON, G. D. and ENGE, R. J.: Site of action of narcotic and non-narcotic analgesics determined by blocking bradykinin-evoked visceral pain. *Arch. Int. Pharmacodyn.*, **152** : 25-58, 1964.
- 16) LIM, R. K. S.: Neuropharmacology of pain and analgesia. *Pharmacology of Pain*, (edited by Lim, R. K. S., Armstrong, D. A. J. and Pardo, E. G.), 196-217, Pergamon Press, London, 1968.
- 17) LIM, R. K. S., LIU, C. N., GUZMAN, F. and BRAUN, C.: Visceral receptors concerned in visceral pain and the pseudoaffective responses to intra-arterial injection of bradykinin and other algescic agents. *J. Comp. Neurol.*, **118** : 269-294, 1962.
- 18) 中島捷行: 発痛物質のネコ歯髄神経に対する効果. 日本歯科保存学雑誌, **16** : 235-247, 1973.
- 19) 林 毅: 鎮痛薬の末梢作用点に関する薬理学的研究. 歯科基礎医学会雑誌, **17** : 295-308, 1975.