抜歯創治癒への交感神経系の影響に関する研究

— 歯肉および抜歯窩内活性酸素動態の検討 —

福 井 真 実

九州歯科大学大学院歯学研究科歯科麻酔学専攻 (指導: 西 正勝教授)

平成3年12月25日受理

The Influence of the Sympathetic Nervous System Activity on Healing of Tooth Extraction Wounds — A Study of Oxygen Free Radicals —

Mami Fukui

Department of Dental Anesthesiology (Director: Prof. Masakatsu Nishi)
Kyushu Dental College, Kitakyushu, Japan

The influence of the sympathetic nervous system activity on oxygen free radicals in tooth extraction wounds was studied in dogs. Cervical sympathetic trunks were stimulated continuously in seven healthy dogs by a portable pacemaker (group S). Postcervical ganglions were permanently blocked with pure ethanol in other seven dogs (group B). Bilateral gingival blood flow was measured in both groups by the hydrogen clearance method and the laser doppler method. Bilateral mandibular premolars and molars were extracted in all dogs of both groups. Activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-Px) and concentration of lipid peroxide (LPO) in gingivas and tooth extraction sockets of all dogs were measured on the fourth day after extraction.

The results were as follows :

1. Gingival perfusion significantly decreased in group S and increased in group B in ipsilateral side compared with contralateral side without any remarkable cardiodynamic changes.
2. In group S, the average levels of SOD, GSH-Px activities and LPO concentration in ipsilateral gingivas seemed to be higher than those in contralateral gingivas. The level of CAT activity in ipsilateral gingivas seemed to be the same as that in contralateral gingivas.
3. The levels of SOD and CAT activities in ipsilateral extraction sockets seemed to be lower and the level of GSH-Px activity was significantly lower than those in contralateral extraction sockets in group S. Ipsilateral LPO concentration, however, seemed higher.
4. In group B, the level of ipsilateral gingival SOD activity seemed to be lower, moreover the levels of CAT, GSH-Px activities and LPO concentration were remarkably lower than those in contralateral gingivas.
5. The levels of SOD, CAT, GSH-Px activities and LPO concentration in ipsilateral

extraction sockets showed no changes, the same as in contralateral side in group B.

These results suggest that ischemia occurring by hyperactivity of sympathetic nervous system accelerates the production of oxygen free radicals in tooth extraction wounds. It seems that increase of perfusion by sympathetic nerve blocks suppresses those accelerations.

Key words : Dogs / Sympathetic nervous system / Gingival blood flow / Tooth extraction wound / Oxygen free radicals / Radical scavengers

緒 言

抜歯は、歯科臨床の中で最もよく行われる手術のひとつであり、ほとんどの場合、正常な治癒経過をたどる。しかし、術後感染が見られないにもかかわらず、持続的疼痛を訴え、異常な治癒経過をたどる場合もある。このような抜歯後疼痛症例の中には、反射性交感神経性萎縮症 (reflex sympathetic dystrophy : 以下 RSD) の症例が含まれると言われている¹⁻³⁾。RSD は、手術や外傷などによる末梢神経損傷によって交感神経が持続的に緊張し、その結果、血管運動障害による局所血流低下と栄養障害が起きることによって発症すると言われている⁴⁾。そして、その臨床症状としては、難治性の疼痛、筋および骨などの萎縮が見られる⁴⁾。RSD の治療法としては、支配領域の血行を改善する交感神経ブロックが応用されており^{1,4-6)}、抜歯後疼痛を訴えた口腔顔面領域の RSD に対しても、星状神経節ブロック (stellate ganglion block : 以下 SGB) が有効であったとの報告が見られる¹⁻³⁾。しかしながら、交感神経系に支配される血流量の変化が抜歯後疼痛の発症および創傷治癒にどのように関与しているか、その機序について明らかにした研究は見られない。

ところで、全身的虚血状態であるショックモデルの研究から、虚血時に発生する種々の組織障害に活性酸素が関与することが示唆されている⁷⁻¹²⁾。活性酸素とは、狭義には O_2^- (スーパーオキシド)、 H_2O_2 、 $\cdot OH$ (ヒドロキシラジカル)、 1O_2 (一重項酸素) の 4 種であるが、これらの誘導体である $ROO\cdot$ (脂質ペルオキシラジカル)、 $ROOH$ (ヒドロペルオキシド)、 $RO\cdot$ (脂質アルコキシラジカル) なども生体酸化作用を持ち、広義の活性酸素と言われている¹³⁾。これらの活性酸素は細胞が酸素を利用する限り、生理的にも産生されている。しかし、正常な状態ではこれらを消去し、生体の過酸化を防ぐよう活性酸素のスカベンジャーが働いている。その代表が、 O_2^- を消去するスーパーオキシドジスムターゼ (super-

oxide dismutase : 以下 SOD)、 H_2O_2 を消去するカタラーゼ (catalase : 以下 CAT) およびグルタチオンペルオキシダーゼ (glutathione peroxidase : 以下 GSH-Px) である¹⁴⁾。ところがショックなどの異常な状態では、これらのスカベンジャーの抑制を越える活性酸素が産生されて生体酸化が進み、過酸化脂質 (lipid peroxide : 以下 LPO) が増加するとともに、各種疾患の発症、増悪といった生体障害を引き起こすと言われている¹⁵⁾。

このような活性酸素による組織障害は、抜歯創治癒においても発生する可能性がある。本研究では、実験的交感神経緊張モデルと実験的交感神経遮断モデルを作製して、抜歯後の歯肉および抜歯窩内組織の SOD, CAT, GSH-Px 活性ならびに LPO 濃度を測定し、抜歯創治癒過程における交感神経系の影響をフリーラジカル動態の側面から検討した。

研究方法

I. 実験モデル設定

歯周組織が健康とみなされる体重 9.5 - 15.5 kg の雑種成犬 14 頭を用い、交感神経緊張状態の異なる二つの実験モデルを設定した。すなわち、栗和田 (1989)¹⁶⁾、Izumi ら (1990)¹⁷⁾ の方法に従い、頸部交感神経幹を電氣的に刺激して交感神経緊張状態とした交感神経電気刺激群 (以下 S 群) と舩田ら (1990)¹⁸⁾ の方法に従い、後頸神経節にエタノールを注入して交感神経遮断状態とした交感神経ブロック群 (以下 B 群) の二群を設定した。そして S 群は、歯肉血流量の減少と刺激側の上眼瞼挙上、瞳孔散大で、B 群は歯肉血流量の増加をもって交感神経の状態を確認した。

実験犬は、サイアミラール (イソゾール®) 25 mg/kg の静脈内投与後、気管内挿管を施し、1.0 - 2.5% ハロセン、酸素 0.5 l/min、空気 2.5 l/min により自発呼吸下で麻酔維持を行った。静脈路は、右または左前肢より留置針により確保し、以後の輸液および薬剤投与経路とし

た。循環動態のモニターとしては、心電図 (第Ⅱ誘導)、末梢動脈圧、心拍数を用いた。末梢動脈圧は、右大腿動脈にカニューレーションし、圧トランスデューサー (P 231 D, 日本光電) を用いて連続的に測定した。圧トランスデューサーの校正は、水銀血圧計を用いて行った。心電図と末梢動脈圧は、ポリグラフ (RM-6000, 日本光電ポリグラフシステム) に記録し、心拍数は心電図記録から読み取った。

両群とも前頸部正中に皮切を加え、右側頸部迷走交感神経幹を露呈して迷走神経を分離した。交感神経幹を簡易電気刺激装置 (S-7272 B, 日本光電) で刺激し、刺激側の上眼瞼挙上と瞳孔散大を観察することにより機能的に神経同定を行った。神経同定後、S 群では交感神経幹に双極針電極 (UHE-109, ユニークメディカル) を刺入し、歯科用シリコンラバー印象材で電極周囲を覆った後、周囲組織に縫合固定した。B 群では右側後頸

神経節を露呈した。

続いて、歯肉組織血流量を水素クリアランス法とレーザードップラー法により計測した。

水素クリアランス血流計 (MHG-D 1, ユニークメディカル) は、ニードル型関電極 (UHE-100, ユニークメディカル) を左右下顎犬歯根尖相当部歯肉に経皮的に刺入し、不関電極 (UHE-001, ユニークメディカル) は大腿皮切部に埋入した後、縫合固定した。記録には 2 チャンネルレコーダー (TI-102, 東海医理科) を用いて、両側の水素クリアランスを同時に記録した。

初めに、水素クリアランス計で歯肉のクリアランス曲線を描かせ、得られた値を片対数グラフにプロットして、関電極の感度と水素ガス再循環の影響を検討した。その結果、歯肉組織血流量は、mono-exponential で、再循環時間は 15 秒以内であった (Fig. 1)。よって以後の血流量の解析は、クリアランス曲線ピークの 30 秒

Fig. 1 Analysis of clearance curve.

left : H_2 clearance curve of a gingiva.

right : The values of H_2 concentration from the slope of the gingiva were plotted on a semi-logarithmic scale against time. Each point was on one line. It shows that the gingival blood flow was constant. The blood flow is calculated from the equation.

$$F = 69.3 / T_{1/2} \text{ (ml/min/100 g)}$$

$T_{1/2}$ is the time in minute for the gingival H_2 concentration to be reduced to half of its numerical value.

後から開始し、1分間の曲線の傾きから算出した。

レーザー Doppler 血流計 (ALF 21, アドバンス) は、プローブに扇形の翼を取り付けて、測定部位への圧迫が可及的に少ない状態で歯肉に密着するようにした。プローブの固定は、翼を左右上顎第一後臼歯の歯肉頬移行部粘膜に縫合することによって行い、計測中の組織とプローブが相対的に同じ位置関係になるようにした。レーザー Doppler 血流計は、ポリグラフに接続し、記録した。

S 群は、モニター設定終了後、1時間の安定時間を設けて対照値 (刺激前値) を測定した。その後、ポータブルペースメーカー (EDP 20, BIOTRONIK) にて 0.9 msec, 6 V, 60 ppm の刺激を加え、刺激開始後の血流量減少と刺激終了後の血流量の刺激前値への回復を確認した。その後、刺激の強さを 1-8 V に変化させて、循環系の変動が少なく血流量変化が大きい刺激を求め、これを至適刺激とした。以後の刺激はすべて至適刺激で行った。

B 群ではモニター設定終了後、1時間の安定時間を設けて対照値 (ブロック前値) を測定した。その後、後頸神経節内に 1% リドカイン (キシロカイン®) 0.5 ml を注入し、5, 15, 30, 60, 90, 120 分後の血流量を計測して、実験側の血流量増加とブロック前値への回復を確認した。

両群とも循環動態の影響を受けずに血流量が変動することを確認した後、以下の実験に移った。

II. 血流量の測定

S 群では予備実験終了後 30 分の安定時間をおき、刺激前値を計測した。その後、至適刺激を加え、刺激開始 5 分後に刺激中値、刺激終了 5 分後に刺激後値を計測した。

B 群では予備実験終了後 30 分の安定時間をおき、ブロック前値を計測した。その後、純エタノール 0.5 ml を後頸神経節内に注入して永久ブロックを施し、5, 15, 30, 60, 90, 120 分後の血流量を計測して、血流量の持続的増加を確認した。そして血流量増加の安定する 30 分後の値をブロック後値として扱った。

III. フリーラジカルの測定

A. 抜歯と感染予防

血流量測定後、S 群は組織採取まで至適刺激による持続的刺激状態とし、B 群はエタノールによる永久ブロックの状態とした。

両群とも血流量測定終了後にハロセン吸入を中止し、ペントバルビタール (ネンブタール®) 25-50 mg を静

脈内投与し、下顎左右第二・第三前臼歯ならびに第一後臼歯を抜歯した。これらの歯牙はすべて 2 根で根の離開が大きいので、まずエアータービンを用いて歯根を分離し、メスによって歯周靱帯を可及的に離断した。そして注意深いヘーベル操作で脱臼させてから鉗子で抜去した。残根のあるもの、歯槽骨破折の著しいものは酵素活性および LPO 濃度の測定対象から除外した。抜歯後は非搔爬、開放創としてガーゼで圧迫止血した。

なお、術後感染予防のため、両群とも術中にセフトレキシール® 1 g 点滴投与、マイシリンゾル® 0.1 ml/kg 筋肉内投与、リンコシン® 600 mg による頸部手術創の洗浄を行った。また術後は、組織採取前日までマイシリンゾル 0.1 ml/kg/day の筋肉内投与を続けた。以上の処置により手術創の閉鎖不全、膿貯留、著しい浮腫などの治癒異常を呈したものは、一例もなかった。

B. 組織採取

組織採取は、すべての実験犬において抜歯後 4 日目に行なった。麻酔はペントバルビタール 25 mg/kg を静脈内投与し、必要に応じて 12.5-25 mg を追加投与した。両側総頸動脈にカニューレーションし、生理食塩液左右各 1000 ml で灌流、外頸静脈から脱血した後、下顎骨を採取し、ただちに -80°C で凍結保存した。

C. 酵素活性ならびに LPO 濃度測定方法

1. ホモジネートの作製

下顎骨組織から臼歯部頬側歯肉を剥離し、5 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.5) で十分に洗浄した後、水分をろ紙で軽くふき取り、湿重量を測定した。抜歯窩内組織は、搔爬採取し、湿重量を測定した。つづいて両者に 4 倍量の同一緩衝液を加え、ハサミで細切した後、氷冷下でホモジナイザー (キネマティカ POLYTRON® Basic Unit PT-K and Hand Unit PM) を用いて細胞破碎した。これを氷冷下で、マイクロホモジナイザー (池本理科工業) の teflon pestle を 1000 r. p. m で 3 往復させてホモジナイズした。こうして得られたホモジネートを超音波処理した後、12,000 × g, 50 分間高速遠心して上清を採取し、これを酵素標品として酵素活性ならびに LPO 濃度測定に用いた。

2. 酵素活性ならびに LPO 濃度の測定

酵素標品の酵素活性ならびに LPO 濃度の測定は、以下の方法で行なった。すなわち SOD 活性は、McCord ら (1969)¹⁹⁾ の方法に従い、キサンチン-キサンチンオキシダーゼ系で発生する O_2^- によるチトクローム C の還元阻害率から、CAT 活性は、Aebi (1984)²⁰⁾ の方法に従い、 H_2O_2 の 240 nm の吸光度の減少から、GSH-

Px 活性は, Maral ら (1977)²¹⁾ の方法に従い, NADPH の 340 nm の吸光度の減少から求めた. LPO 濃度は, Ohkawa ら (1979)²²⁾ の方法を一部改変し, チオバルビツール酸 (TBA) 反応によるマロンジアルデヒド (MDA) 相当量として測定した. 酵素比活性の決定に必要なタンパク量は, Bradford (1976)²³⁾ の方法に従い, タンパク試薬の 595 nm の吸光度の変化から求めた.

各測定法の再現性を確認するために, 酵素標品の測定に先立ち, 標準物質を用いて検量線を作成した. 標準物質としては, ウシ赤血球 SOD (3000 units, Sigma), ウシ肝 CAT (5000-9000 u/mg, 和光純薬), ウシ赤血球 GSH-Px (100 units, Sigma), 1,1,3,3-テトラエトキシプロパン (東京化成), ウシ血清アルブミン (和光純薬) を用いた.

a. SOD 活性の測定

終濃度が, 50 mM 重炭酸緩衝液 (pH 10.2), 0.1 mM エチレンジアミン四酢酸ナトリウム (EDTA) (同仁化学), 10 μ M チトクローム C (和光純薬), 0.05 mM キサンチン (和光純薬) となるように調整した反応液に, $0.5-1.0 \times 10^{-8}$ M のキサンチンオキシダーゼ (和光純薬) を加え, 550 nm での 1 分間あたりの吸光度が約 0.025 増加するようにした. この O_2^- 産生系に 5-50 倍に希釈した歯肉または抜歯窩酵素標品を添加してそれぞれの吸光度の増加を記録した. 酵素標品添加により得られた吸光度の増加値を片対数グラフにプロットして一次回帰直線を求め, 得られた直線式から吸光度の増加を 50% 阻害する酵素標品添加量を求めた. 酵素活性は, 下式より算出した.

比活性 (units/mg. p.) = 1 mg タンパク質 / 50% 阻害時タンパク質量

b. CAT 活性の測定

終濃度 0.2 M リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.4), 50 mM H_2O_2 からなる反応液に 10 倍希釈歯肉酵素標品または 100 倍希釈抜歯窩酵素標品を加え, 240 nm の吸光度の減少を 30 秒間記録した.

$$k = 1 / \Delta t \cdot \ln S_1 / S_2 = 1 / \Delta t \cdot \ln A_0 / A_{30}$$

k : 一次反応係数

Δt : 反応開始から終了時までの時間

S_1 : 反応開始時の基質量

S_2 : 反応終了時の基質量

A_0 : 反応開始時の吸光度

A_{30} : 反応終了時の吸光度

上式よりタンパク質 1 mg あたり 1 分間に 1 μ mol の

H_2O_2 の減少を触媒する酵素量を 1 unit/mg. p. とした.

c. GSH-Px 活性の測定

終濃度 50 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.4), 0.2 mM NADPH (オリエンタル酵母), 1 mM $Na_2S_2O_8$, 1 mM EDTA (同仁化学), 1 mM 還元型グルタチオン (GSH) (和光純薬), 1.5 mM H_2O_2 , 1 E. U/ml グルタチオンリダクターゼ (GSSG-R) (オリエンタル酵母) からなる反応液に 5 倍希釈歯肉酵素標品または 100 倍希釈抜歯窩酵素標品を加え, 340 nm の吸光度の減少を 1 分間記録した.

$$k = 1 / \Delta t \cdot \ln S_1 / S_2 = 1 / \Delta t \cdot \ln A_0 / A_{60}$$

上式よりタンパク質 1 mg あたり 1 分間に 1 μ mol の NADPH の減少を触媒する酵素量を 1 unit/mg. p. とした.

d. LPO 濃度の測定

20% 酢酸 (pH 3.5), 8.1% ドデシル硫酸ナトリウム (SDS) (和光純薬), 歯肉および抜歯窩酵素標品からなる反応液に 0.8% TBA (和光純薬) を加えて 95°C で 60 分間加熱し, その後水冷して反応を停止させた. この反応液に n-ブタノールとピリジン (15:1 v/v) を加え, 振とう混和した後, 3500 r. p. m. で 10 分間遠心分離し, 上層 (ブタノール層) を吸光度の計測に供した. まず標準物質として, 50 nmol/ml 1,1,3,3-テトラエトキシプロパンの吸光度曲線を日立 150-20 型ダブルビーム分光光度計を用いて描かせ, そのピーク波長である 532 nm における歯肉および抜歯窩酵素標品の吸光度を計測した.

$$OD_h / OD_s = C_h / C_s$$

OD_h : ホモジネート添加時の吸光度

OD_s : 標準物質添加時の吸光度

C_h : ホモジネート LPO 濃度

C_s : 標準物質 LPO 濃度

上式より酵素標品の過酸化脂質濃度を算出した.

e. タンパク質の定量

終濃度 0.01% プリリアントブルー G-250 (Sigma), 4.7% エタノール, 8.5% リン酸となるよう調整したタンパク試薬に 10-100 μ g / 0.1 ml 牛血清アルブミン液 (和光純薬) を加え, それぞれの 595 nm の吸光度を計測して検量線を作成した. 次にタンパク試薬に酵素標品を加えた時の 595 nm の吸光度を計測し, 検量線からそのタンパク量を求めた.

IV. 統計処理

測定値は, すべて Mean $\pm$ SD で示した. 統計学的検定は, 各群内での変動の検定に matched-pairs Wilco-

xon 検定を、両群間の検定に、Mann-Whitney 検定を用い、危険率 5% をもって有意差とした。また、差の検定において危険率 5% から 10% までの間にあるものは「傾向があるもの」と考えた。

結 果

I. 血流量変動

水素クリアランス法 (単位 ml/min/100 g) で、S 群実験側血流量は刺激前値 87.7 ± 19.8 、刺激中値 57.2 ± 30.6 で、刺激中値は刺激前値に対し 1% の危険率で有意に減少した。しかし、刺激後値は 88.7 ± 28.2 で、刺激前値に対する有意な変化は認められなかった。対照側血流量は、刺激前値 86.5 ± 26.8 に対し、刺激中値 82.5 ± 28.2 、刺激後値 83.4 ± 26.6 で刺激前値に対する有意な変化は認められなかった。両側刺激前値をそれぞれ 100% として各血流量を%変換して比較すると、刺激中値比に危険率 5% で有意差が認められた (Fig. 2)。

Fig. 2 The rate of gingival blood flow in group S. Bilateral blood flow at each time is expressed as a percentage of that at prestimulation. Ipsilateral blood flow decreased significantly ($p < 0.05$) during electric stimulation as compared with contralateral side.

B 群実験側血流量は、ブロック前値 62.0 ± 15.2 、ブロック後値 74.5 ± 20.6 で、ブロック後値はブロック前値に対し、危険率 5% で有意に増加した。対照側血流量は、ブロック前値 56.4 ± 9.0 、ブロック後値 53.9 ± 11.3 で、ブロック前値に対する有意な変化は認められなかった。両側ブロック前値をそれぞれ 100% として各血流量を%変換して比較すると、ブロック後値比に危険率 5% で有意差が認められた (Fig. 3)。

一方、レーザードップラー法では、測定値にばらつきが大きかったため、刺激前値およびブロック前値を 100% として各測定値を%変換し、有意差を検定した。

S 群実験側血流量比は、刺激前値を 100% とすると刺激中 77.0 ± 27.3 、刺激後 100.1 ± 12.6 となり、刺激中に減少する傾向があったが有意差は認められなかった。対照側血流量比は、刺激中 103.0 ± 17.6 、刺激後 96.6 ± 8.6 で有意な変化は認められなかった。

B 群実験側血流量比は、ブロック前値を 100% とする

Fig. 3 The rate of gingival blood flow in group B. Bilateral blood flow after block is expressed as a percentage of that before block. Ipsilateral blood flow increased significantly ($p < 0.05$) after block as compared with contralateral side.

とブロック後 117.3 ± 1.3 とブロック後に増加する傾向があったが有意差は認められなかった。対照側血流量比は、ブロック後 107.1 ± 8.6 で有意な変化は認められなかった。

血流量計測中に循環動態のパラメーター (収縮期血圧, 拡張期血圧, 平均動脈圧, 心拍数) には, いずれも有意な変動は認められなかった (Fig. 4)。

II. 酵素活性ならびに LPO の動態

A. 標準物質による酵素比活性, LPO 濃度, タンパク量の再現性

標準酵素ならびに MDA の検量線は, すべて良好な直線性を示し, その CV 値は, SOD $0-0.4\%$, CAT $0-0.5\%$, GSH-Px $0.1-0.3\%$, MDA $0-5.0\%$ であった。アルブミンの検量線は, $10-80 \mu\text{g}/0.1 \text{ ml}$ の範囲内では良好な直線性を示し, その CV 値は $0.1-0.6\%$ であった。酵素標品に含まれるタンパク量はすべて $10-80 \mu\text{g}/0.1 \text{ ml}$ の範囲内にあった。

Fig. 4 Cardiodynamic changes in both groups.

SBP : systolic pressure, DBP : diastolic pressure, MAP : mean arterial pressure, HR : heart rate

There were no changes in parameters during measurement of gingival blood flow.

B. SOD

S 群では歯肉内 SOD 活性 ($\text{u}/\text{mg. p.}$) は, 実験側 284.3 ± 101.9 , 対照側 249.7 ± 54.7 で, 有意差は認められないものの $0.05 < p < 0.10$ であり, 実験側で高値を示す傾向にあった。抜歯窩内 SOD 活性 ($\text{u}/\text{mg. p.}$) は, 実験側 13.6 ± 4.0 , 対照側 15.9 ± 5.8 で, 有意差は認められないものの $0.05 < p < 0.10$ であり, 実験側で低値を示す傾向にあった (Fig. 5)。

B 群では歯肉内 SOD 活性 ($\text{u}/\text{mg. p.}$) は, 実験側 183.3 ± 58.0 , 対照側 256.9 ± 89.4 で, 有意差は認められないものの $0.05 < p < 0.10$ であり, 実験側で低値を示す傾向にあった。抜歯窩内 SOD 活性 ($\text{u}/\text{mg. p.}$) は, 実験側 14.2 ± 3.8 , 対照側 14.7 ± 4.3 で有意差は認められなかった (Fig. 6)。

対照側の活性を 100% とした時の実験側の活性比 (%) は, 歯肉では S 群 113.1 ± 28.8 , B 群 80.0 ± 38.7 で, 有意差は認められないものの $0.05 < p < 0.10$ であり, S 群の活性比が B 群の活性比を上回る傾向にあった。抜歯窩では S 群 90.4 ± 22.9 , B 群 98.2 ± 14.7 で, 有意差は認められないものの $0.05 < p < 0.10$ であ

Fig. 5 SOD activity in gingiva and extraction socket in group S.

The activity seemed to be higher in ipsilateral gingiva and lower in ipsilateral extraction socket.

Fig. 6 SOD activity in gingiva and extraction socket in group B.

The activity seemed to be lower in ipsilateral gingiva. The activity in ipsilateral extraction socket showed no change, as in contralateral side.

Fig. 7 CAT activity in gingiva and extraction socket in group S.

The activity in ipsilateral gingiva showed no change, as in contralateral side. The activity in ipsilateral extraction socket seemed to be lower.

り、S群の活性比がB群の活性比を下回る傾向にあった。

C. CAT

S群歯肉内CAT活性 (u/mg. p.) は、実験側 19.1 ± 4.7 、対照側 19.0 ± 4.9 で有意差は認められなかった。抜歯窩内CAT活性 (u/mg. p.) は、実験側 3.5 ± 3.1 、対照側 5.2 ± 6.6 で、有意差は認められないものの $0.05 < p < 0.10$ であり、実験側で低値を示す傾向にあった (Fig. 7)。

B群歯肉内CAT活性 (u/mg. p.) は、実験側 27.8 ± 5.9 、対照側 36.4 ± 7.5 で実験側の活性は危険率 1% で有意に低い値を示した。抜歯窩内CAT活性 (u/mg. p.) は、実験側 3.1 ± 2.6 、対照側 2.8 ± 2.0 で有意差は認められなかった (Fig. 8)。

対照側の活性を 100% とした時の実験側の活性比 (%) は、歯肉で S 群 103.3 ± 24.3 、B 群 80.4 ± 26.8 で、両群間に危険率 5% で有意差が認められた (Fig. 9)。抜歯窩では、S 群 111.4 ± 93.4 、B 群 109.6 ± 38.4 で、有意差は認められなかった。

D. GSH-Px

S群歯肉内GSH-Px活性 (u/mg. p.) は、実験側 7.1 ± 3.5 、対照側 6.6 ± 2.1 で、有意差は認められないものの $0.05 < p < 0.10$ であり、実験側で高値を示す傾向にあった。抜歯窩内GSH-Px活性 (u/mg. p.) は、実験側 3.4 ± 1.1 、対照側 4.1 ± 1.3 で、実験側の活性は危険率 1% で有意に低い値を示した (Fig. 10)。

B群歯肉内GSH-Px活性 (u/mg. p.) は、実験側 6.1 ± 1.0 、対照側 7.8 ± 2.2 で、実験側の活性は危険率 1% で有意に低い値を示した。抜歯窩内GSH-Px活性 (u/mg. p.) は、実験側 3.8 ± 1.1 、対照側 3.9 ± 0.8 で有意差は認められなかった (Fig. 11)。

対照側の活性を 100% とした時の実験側の活性比 (%) は、歯肉では S 群 108.5 ± 39.6 、B 群 96.7 ± 49.3 で、有意差は認められないものの $0.05 < p < 0.10$ であり、S群の活性比がB群の活性比を上回る傾向にあった。抜歯窩では S 群 88.3 ± 34.6 、B 群 97.9 ± 19.3 で、両群間に危険率 5% で有意差が認められた (Fig. 12)。

E. LPO

S群歯肉内LPO濃度 (nmol/ml) は、実験側 $19.3 \pm$

Fig. 8 CAT activity in gingiva and extraction socket in group B.

The activity in ipsilateral gingiva was remarkably lower ($p < 0.01$). The activity in ipsilateral extraction socket showed no change, as in contralateral side.

7.3, 対照側 18.1 ± 6.6 で, 有意差は認められないものの $0.05 < p < 0.10$ であり, 実験側で高値を示す傾向にあった. 抜歯窩内 LPO 濃度 (nmol/ml) は, 実験側 31.5 ± 9.7 , 対照側 29.3 ± 6.9 で, 有意差は認められないものの $0.05 < p < 0.10$ であり, 実験側で高値を示す傾向にあった (Fig. 13).

B 群歯肉内 LPO 濃度 (nmol/ml) は, 実験側 16.8 ± 8.9 , 対照側 20.0 ± 9.5 で実験側濃度は危険率 1% で有意に低い値を示した. 抜歯窩内 LPO 濃度 (nmol/ml) は, 実験側 30.2 ± 5.2 , 対照側 30.5 ± 7.1 で有意差は認められなかった (Fig. 14).

対照側の濃度を 100% とした時の実験側の濃度比 (%) は, 歯肉では S 群 120.2 ± 72.4 , B 群 82.2 ± 18.5 で, 両群間に危険率 5% で有意差が認められた (Fig. 15). 抜歯窩では S 群 107.2 ± 19.4 , B 群 100.6 ± 14.3 で, 有意差は認められないものの $0.05 < p < 0.10$ であり, S 群の濃度比が B 群の濃度比を上回る傾向にあった.

Fig. 9 The rate of CAT activity in gingiva.

CAT activities in ipsilateral side of both groups are expressed as a percentage of those in contralateral side. There was significant difference ($p < 0.05$) between both groups.

考 察

I. 水素クリアランス法およびレーザードップラー法による歯肉血流量の測定

理想的な局所血流測定法とは, ①絶対値で血流量が得られること, ②測定精度が高いこと, ③再現性があること, ④分泌物の影響を受けないこと, ⑤連続的な記録が可能であること, ⑥血流の変化に瞬間的に応答すること, ⑦測定が簡便であること, ⑧非侵襲的に測定可能であることを満たす測定法と考えられる.

水素クリアランス法は, Kety (1951)²⁴⁾ の発表した理論に基づくもので, 不活性なガスを吸入させ, 生体組織に一定濃度で飽和させた後, ガスの供給を止め, 組織中に蓄積されたガスが血流によって洗い流される状態を解析して組織血流量を絶対値 (ml/min/100 g) で求める方法である. この方法によって Aukland ら (1964)²⁵⁾ は, 心筋, 腎, 骨格筋の局所血流量を測定し, venous out flow 法による測定結果と高い相関関係にあること

RIGHT
LEFT

** S.D.($p < 0.01$) vs CONTRALATERAL SIDE

Fig. 10 GSH-Px activity in gingiva and extraction socket in group S.

The activity in ipsilateral gingiva seemed to be higher. The activity in ipsilateral extraction socket was remarkably lower ($p < 0.01$).

を報告した。その後、本法と他の測定法との相関関係を見た報告は、Fieschi ら (1969)²⁶⁾ の脳における Microsphere 法との比較、田村ら (1978)²⁷⁾ の脳 venous out flow 法との比較があるが、いずれも有意な相関関係を認めている。よって本法による血流量測定は、①、②、③の条件を満たしていると言える。また本法では、複数の電極を使用し、同時に数ヶ所の血流を繰り返し測定することが可能で、⑦の条件も満たされている。しかしながら電極刺入に伴う組織障害の可能性があり、1回の測定に数分を要するため⑤、⑥、⑧の条件を欠いている。

一方、レーザードップラー法は、Stern (1975)²⁸⁾ が microcirculation への応用を報告して以来、組織血流測定法として応用されており、¹³³xenon を用いたクリアランス法、水素クリアランス法と有意な相関関係が認められている²⁹⁻³¹⁾。また梶谷ら (1983)³²⁾ は本法が精度、再現性に優れることを報告している。本法の原理は、組織にレーザー光を照射した時、赤血球からの散乱光がドップラー効果によりその速度と量に応じた周波数偏位を生じることによる。よって本法は、②、③、⑤、⑥、

RIGHT
LEFT

** S.D.($p < 0.01$) vs CONTRALATERAL SIDE

Fig. 11 GSH-Px activity in gingiva and extraction socket in group B.

The activity in ipsilateral gingiva was remarkably lower ($p < 0.01$). The activity in ipsilateral extraction socket showed no change, as in contralateral side.

⑦、⑧の条件を満たしており、歯肉組織血流量測定に応用した報告も多い^{16, 17, 33, 34)}。しかしながら、本法による測定値は、プローブによる圧迫の強弱、体動によるわずかな動揺などの技術的要素によって大きく変動する³³⁾ため、その信頼性に関しては疑問な点も多い。また歯肉血流の測定では、プローブ・歯肉間の唾液介在による反射散乱光受光障害や、個々の歯肉色素量の違いによる実測値のばらつきの可能性がある³³⁾。実際、本研究でもレーザードップラー法による測定値は個体間および同一個体内での左右測定値間にばらつきが多く、相対的な血流量の変化しか比較できなかった。

このような両測定法の特徴を生かすため、本研究では水素クリアランス法とレーザードップラー法を併用して血流量測定を行った。その結果、電気刺激開始直後からの急激な血流量減少と終了直後からの急激な血流量回復、およびブロック数分後から徐々に起こる血流量増加を連続的に観察し、その時の血流量の絶対値を計測することができた。よって水素クリアランス法とレーザー

Fig. 12 The rate of GSH-Px activity in extraction socket.

GSH-Px activities in ipsilateral extraction socket of both groups are expressed as a percentage of those in contralateral side. There was significant difference ($p < 0.05$) between both groups.

ドップラー法の併用による血流量測定は、歯肉血流量の研究に非常に有用な方法であると思われた。

II. 実験モデルの設定について

本研究では、頸部交感神経幹の支配領域である歯肉血流量の変化と電気刺激側の上眼瞼挙上および瞳孔散大により実験モデルの設定を確認した。

一般的に交感神経刺激時には、交感神経作動性 α -レセプターの作用により末梢血管が収縮し、血管抵抗増大と支配領域の血流減少が起こるとされている。口腔領域では、栗和田 (1989)¹⁶⁾、Izumi ら (1990)¹⁷⁾ が頸部交感神経幹電気刺激による歯肉血流量減少を観察しているが、この血管収縮応答は α -ブロッカーであるフェントラミンの前処置により完全に阻害されている。さらに、頸部交感神経幹電気刺激に対応した上眼瞼挙上と瞳孔散大は、 α -ブロッカー投与によって阻害されることが報告されている³⁵⁾。

一方、交感神経ブロック時には、支配領域の血管拡張

Fig. 13 LPO concentration in gingiva and extraction socket in group S.

The concentrations in ipsilateral gingiva and extraction socket seemed to be higher.

による血流量の増加が起こるとされている。ヒトの場合は、頭部・顔面領域を支配する頸部交感神経幹の神経節のひとつである星状神経節をブロックすることによって総頸動脈の血管径と血流量が増加し³⁶⁻³⁸⁾、耳朶容積脈波の増加³⁹⁾や顔面部皮膚温の上昇^{36, 39)}が観察されることが報告されている。イヌの場合は、交感神経線維は胸腔内で星状神経節を、胸腔外で後頸神経節を形成しており、後頸神経節はヒトの中頸神経節に相当している⁴⁰⁾。そして後頸神経節ブロックによって、同側総頸動脈血流量が増加することが報告されている¹⁸⁾。

また本研究において電気刺激とブロックで血流量は逆の変動を示しており、この変動が手術による機械的刺激によるものではないことがわかる。さらに血流量測定時の循環動態に有意な変動が認められなかったことより、血流変動は交感神経の緊張状態の違いによって引き起こされた局所の変化であると考えられた。以上より、血流量の変化と上眼瞼および瞳孔径の変化は、交感神経緊張状態の確認に有用であると考えられた。

III. 活性酸素消去系酵素活性および LPO の動態について

** S.D.($p < 0.01$) vs CONTRALATERAL SIDE

Fig. 14 LPO concentration in gingiva and extraction socket in group B.

The concentration in ipsilateral gingiva was remarkably lower ($p < 0.01$). The concentration in ipsilateral extraction socket showed no change, as in contralateral side.

全身の虚血状態であるショックモデルでは、 O_2^- 産生が亢進して、生体酸化が進むことが知られている^{10, 12, 41-43}。虚血時の O_2^- 産生は、図に示した二つの経路によると考えられている (Fig. 16)。すなわち、McCord (1985)⁹ の提唱するキサンチン-キサンチンオキシダーゼ系と白血球の食作用に伴う NADPH 還元系である。これら二つの経路によって産生された O_2^- は、虚血状態における生体過酸化進行の引き金になるという。すなわち、産生された O_2^- は、細胞膜リン脂質に作用してこれを酸化すると同時に、ホスホリパーゼ A_2 を活性化してアラキドン酸カスケードを賦活する。賦活されたアラキドン酸カスケードは、新たな活性酸素産生源およびケミカルメディエーターの産生源になりうる⁴⁴。このように、ひとたび O_2^- 産生が亢進して脂質に作用すると、多種の活性酸素が産生されて連鎖反応を繰り返すため、生体過酸化は加速度的に進行し、最終的には細胞機能が損なわれるという。加えて、このような状態ではタンパク質の S-S 結合が開裂し⁴⁵、変性劣化する。つま

* S.D.($p < 0.05$)

Fig. 15 The rate of LPO concentration in gingiva.

LPO concentrations in ipsilateral gingiva of both groups are expressed as a percentage of those in contralateral side. There was significant difference ($p < 0.05$) between both groups.

り、生体過酸化を阻止する活性酸素消去系酵素が失活される可能性がある。実験のショック時の SOD 活性変動を調べた研究からは、SOD 活性が虚血早期に上昇し⁴⁶、時間経過とともに低下する^{7, 43, 47}ことが報告されている。このような虚血時間の違いによる SOD 活性の変動は、活性酸素産生系亢進によるタンパク質変性の進行により生じると推察されている。すなわち虚血早期には、 O_2^- 産生亢進に対応した SOD 誘導で生体酸化を免れていたものが、時間経過とともに O_2^- 産生系優位となり、ついには SOD 自体が酸化され、失活したものと考えられている。

以上のように、軽度虚血状態においては、 O_2^- 産生亢進に続く活性酸素産生系の亢進とそれに伴う消去系酵素の誘導が、高度虚血状態では産生系過剰亢進による消去系酵素の失活が起こる可能性がある。

本研究 S 群においては、歯肉内の消去系酵素活性と LPO 濃度が高値を示す傾向にあったのに対し、抜歯窩内では消去系酵素活性は低値を示す傾向にあり、LPO

Fig. 16 Proposed mechanism for ischemia-induced production of superoxide.

upper : Xanthine-xanthine oxidase pathway

Ischemia develops intracellular acidosis and deplete ATP. The depletion of ATP results in an elevated concentration of AMP. The AMP is catabolized to hypoxanthine. It is no longer able to maintain an active transport, the cytosolic calcium concentration is elevated. The elevation activates Ca^{2+} protease capable of converting the dehydrogenase to the oxidase. Then it produces O_2^- and xanthine from O_2 and also hypoxanthine.

lower : NADPH reduction pathway

The leukocytes gathering in injured endothelial cells produce O_2^- in the stage of phagocytosis.

消去系酵素が失活された可能性がある。一方、B群の場合は、歯肉内では血流量増加により O_2^- 産生系の抑制とそれに伴う消去系酵素抑制および過酸化脂質産生抑制が起こるのに対し、抜歯窩内ではブロックによる血流量の増加は起こらず、対照側と同程度の虚血状態が存続するものと推測された。

IV. 臨床上的抜歯創治癒に対する交感神経系の関与について

悪性腫瘍組織、顎嚢胞内容液などの各種口腔疾患組織内での、活性酸素産生系亢進や SOD 活性の低下が報告されており⁴⁸⁻⁵⁰⁾、活性酸素と疾患の増悪の関係が示唆されている。

持続的交感神経緊張状態は、臨床的には、抜歯時の不安や疼痛、抜歯手術による末梢神経損傷、抜歯後の疼痛などを誘因として起こると考えられており、交感神経緊張による血流量の減少が疼痛をさらに増強して、いわゆる痛みの悪循環を形成すると言われている。この場合、交感神経緊張に起因する虚血が活性酸素産生系に働きかけ、組織為害性が発現している可能性がある。

本研究においても、交感神経緊張状態では活性酸素産生系亢進が見られるようである。しかし、このことから抜歯後疼痛の臨床病態を説明するためには、臨床的交感神経緊張と持続電気刺激による実験的交感神経緊張の活性酸素産生系に対する作用の相違、種差による相違、抜歯創における疼痛物質の存在等、なお明らかにすべき点が多く、今後の研究が必要と思われる。

ところで活性酸素産生系と消去系のバランスが崩壊している場合、組織障害の発生を予防して予後を改善するためには、産生系を抑制する方法と消去系を補強する方法が考えられる。産生系抑制としては、実験的虚血モデルにキサンチンオキシダーゼ阻害薬であるアロプリノールを投与した場合の組織障害発生抑制⁹⁾、生存率の向上⁹⁾が報告されている。また、消去系補強としては、SOD, CAT, GSH-Px, その他のラジカルスカベンジャーを単独あるいは同時に体外から投与した場合の組織障害発生抑制⁹⁾、生存率の向上^{7, 10, 12)}が報告されている。

本研究においては、交感神経ブロックは、抜歯窩内では産生系抑制作用も消去系賦活作用も有しておらず、創傷治癒に対する直接的な影響はないものと考えられた。しかしながら、交感神経ブロックによって血流遮断時のトロンボキサン産生を抑制しえたという報告⁵¹⁾も見られることより、交感神経ブロックが産生系亢進停止と歯肉内産生系抑制によって、創傷治癒不全を予防する可能性が示唆された。臨床的抜歯後疼痛に SGB を行って良好

濃度は高値を示す傾向にあった。また B 群においては、歯肉内消去系酵素活性は低値を示す傾向にあり、LPO 濃度も有意に低い値を示したのに対し、抜歯窩内では消去系酵素および LPO 濃度に差は認められなかった。このように歯肉と抜歯窩で消去系酵素活性および LPO 濃度の動態に差異があったのは、抜歯創が血流の豊富な歯肉と血流の少ない顎骨内抜歯窩組織といった二つの要素で構成されており、交感神経系の影響による組織血流状態の変化が一様でなかったためと考えられる。すなわち、S 群歯肉内では、交感神経刺激により血流量が刺激前の約 70% に低下しており、比較的軽度な虚血状態が招来され、消去系酵素の誘導が起こったのであろう。これに対し、抜歯窩内では、刺激前から少なかった血流量が刺激によってさらに減少して高度な虚血状態となり、

な治療結果を得たという報告¹⁻³⁾は、以上の仮定を支持するものであると考えられる。

結 論

拔牙創治癒に対する交感神経系の関与について検討する目的で、頸部交感神経幹を持続的に電気刺激する実験的交感神経緊張モデルと後頸神経節をアルコールでブロックする実験的交感神経遮断モデルを設定して、両群の歯肉血流量を測定した。血流量測定後、両群の左右下顎臼歯を拔牙し、拔牙4日後の歯肉および拔牙窩内組織のSOD, CAT, GSH-Px活性とLPO濃度を測定した。その結果、

1. 実験側歯肉血流量は、循環動態の変動を伴うことなく、交感神経緊張モデルで対照側に対して有意に減少し、交感神経遮断モデルで有意に増加した。

2. 交感神経緊張モデルでは、刺激側歯肉内SOD, GSH-Px活性, LPO濃度は、非刺激側に比べて高値を示す傾向にあり、CAT活性は、非刺激側とほぼ同じ値を示した。

3. 交感神経緊張モデルでは、刺激側拔牙窩内SOD, CAT活性は非刺激側に比べて低値を示す傾向にあり、GSH-Px活性は有意に低い値を示した。しかし、LPO濃度は非刺激側に比して高値を示す傾向にあった。

4. 交感神経遮断モデルでは、ブロック側歯肉内SOD活性は非ブロック側に比べて低値を示す傾向にあり、CAT, GSH-Px活性およびLPO濃度は有意に低い値を示した。

5. 交感神経遮断モデルでは、ブロック側と非ブロック側における拔牙窩内SOD, CAT, GSH-Px活性およびLPO濃度は、それぞれほぼ同じ値を示した。

以上の結果より、拔牙創治癒過程における交感神経緊張状態は、拔牙創の虚血状態を惹起し、活性酸素産生系を亢進することで、組織為害性を発現する可能性が示唆された。また交感神経ブロックは、拔牙窩内活性酸素動態に直接的には影響しないものの、間接的には産生系の抑制に携わり、創傷治癒不全を予防する可能性が示唆された。

稿を終えるにあたり、本研究に終始御懇切なる御指導と御校閲を賜った恩師、西正勝教授に深甚なる感謝の意を表します。また本研究に御協力をいただいた歯科麻醉学教室員各位に感謝の意を表します。

本研究の一部は、平成3年度九州歯科大学後援会研究

援助費によって行なわれたことを付記し、謝意を表する。

本研究の一部は、第19回歯科麻醉学会総会（平成3年9月25、26日、松本市）において発表した。

引用文献

- 1) 増田 豊, 加々美健一, 武田昭平, 世良田和幸, 梁 洸子, 清水比登実, 仁木 寛, 八代 亮, 与儀 洋: 種々の原因により発生したcausalgiaの6例. ペインクリニック 1 (2): 147-155, 1980.
- 2) 高橋 勇, 竹下貴久, 河原道夫, 高田和彰, 下里常弘, 福井哲郎, 菊地博達, 盛生倫夫: 拔牙後カウザルギーに対する星状神経節ブロック療法. 日歯麻誌 11 (4): 486-491, 1983.
- 3) 今村佳樹, 湯田康正, 塩谷正弘, 大瀬戸清茂, 長沼芳和, 山上裕章, 唐澤秀武, 町田仁史, 西 正勝, 大野健次, 若杉文吉: 口腔顔面領域の反射性交感神経性萎縮症の臨床的検討. ペインクリニック 9 (5): 618-624, 1988.
- 4) 木村邦夫, 兵藤正義: 反射性交感神経萎縮症. 外科MOOK 36, ペインクリニック: 140-151, 1984.
- 5) Khoury, R., Kennedy, S. F. and Macnamara, T. E.: Facial causalgia: report of case. J. Oral Surg. 38: 782-783, 1980.
- 6) Dunningham, T. H.: The treatment of Sudeck's atrophy in the upper limb by sympathetic blockade. Injury 12 (2): 139-144, 1980.
- 7) Lefer, A. M., Araki, H. and Okamatsu, S.: Beneficial actions of a free radical scavenger in traumatic shock and myocardial ischemia. Circ. Shock 8: 273-282, 1981.
- 8) Itoh, M. and Guth, P. H.: Role of oxygen-derived free radicals in hemorrhagic shock-induced gastric lesions in the rat. Gastroenterology 88: 1162-1167, 1985.
- 9) McCord, J. M.: Oxygen-derived free radicals in post-ischemic tissue injury. N. Engl. J. Med. 312 (3): 159-163, 1985.
- 10) Kunimoto, F., Morita, T., Ogawa, R. and Fujita, T.: Inhibition of lipid peroxidation improves survival rate of endotoxemic rats. Circ. Shock 21: 15-22, 1987.
- 11) Obayashi, H., Koshi, S., Miyauchi, Y. and Inoue, M.: Inhibition of posthemorrhagic transfusion-induced gastric injury by a long-acting superoxide dismutase derivative. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 196 (2): 164-169, 1991.
- 12) 国元文生: エンドトキシン血症に対する脂質過酸化抑制の効果. 麻酔 35 (1): 84-90, 1986.
- 13) 二木鋭雄: 活性酸素とはなにか. 活性酸素—化学, 生物学, 医学—, 医歯薬出版, 東京, 1991, 1-32.
- 14) 中野 稔: 活性酸素の消去. 活性酸素—化学, 生物学, 医

- 学一, 医歯薬出版, 東京, 1991, 64-85.
- 15) 吉川敏一: 疾患. 過酸化脂質と生体, 学会出版センター, 東京, 1985, 289-313.
 - 16) 栗和田しづ子: 歯肉の逆伝導性血管拡張に関する研究—レーザードプラー血流計による検討—. 歯基礎誌. 31: 564-576, 1989.
 - 17) Izumi, H., Kuriwada, S., Karita, K., Sasano, T. and Sanjo, D.: The nervous control of gingival blood flow in cats. *Microvasc. Res.* 39: 94-104, 1990.
 - 18) 舩田昭夫, 榎木賢三, 天羽敬祐: 星状神経節ブロックの両側総頸動脈血流, 心拍出量に及ぼす影響. 第24回日本ペインクリニック学会総会プログラム抄録集: 147, 1990.
 - 19) McCord, J. M. and Fridovich, I.: Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemocuprein. *J. Biol. Chem.* 244 (22): 6049-6055, 1969.
 - 20) Aebi, H.: Catalase in vitro. *Methods. Enzymol.* 105: 121-126, 1984.
 - 21) Maral, J., Puget, K. and Michelson, A. M.: Comparative study of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase levels in erythrocytes of different animals. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 77 (4): 1525-1535, 1977.
 - 22) Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K.: Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 95: 351-358, 1979.
 - 23) Bradford, M. M.: A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254, 1976.
 - 24) Kety, S. S.: The theory and applications of the exchange of inert gas at the lungs and tissues. *Pharmacol. Rev.* 3: 1-41, 1951.
 - 25) Aukland, K., Bower, B. F. and Berliner, R. W.: Measurement of local blood flow with hydrogen gas. *Circ. Res.* 14: 164-187, 1964.
 - 26) Fieschi, C., Bozzao, L., Agnoli, A., Nardini, M. and Bartolini, A.: The hydrogen method of measuring local blood flow in subcortical structures of the brain. Including a comparative study with the ^{14}C antipyrine method. *Exp. Brain Res.* 7: 111-119, 1969.
 - 27) 田村 晃, 浅野孝雄, 卓 允信, 間中信也, 平川公義, 佐野圭司: 水素クリアランス法による脳局所血流量の測定—方法および Venous Out Flow 法との相関—. 脳神経 30 (1): 47-54, 1978.
 - 28) Stern, M. D.: In vivo evaluation of microcirculation by coherent light scattering. *Nature* 254: 56-58, 1975.
 - 29) Holloway, G. A. Jr.: Cutaneous blood flow responses to injection trauma measured by laser doppler velocimetry. *J. Invest. Dermatol.* 74 (1): 1-4, 1980.
 - 30) 齊田 宏, 村上元康, 関 真理, 三宅健夫: レーザードップラー法によるラット胃粘膜血流測定の検討—接触式水素ガスクリアランス法との比較—. 日消誌 81 (1): 16-21, 1984.
 - 31) 井戸健一, 寺田友彦, 川本智章, 吉田行雄, 堀口正彦, 田中昌宏, 木村 健, 安田是和, 柏井昭良: レーザードップラー法による犬肝組織血流測定の試み—水素ガスクリアランス法との比較—. 日消誌 81 (5): 1269, 1984.
 - 32) 梶谷文彦, 伯耆徳武, 友永 轟, 忠岡信一郎, 中井正信, 後藤真巳, 三戸恵一郎, 鍵山光康, 平松 修, 小笠原康夫, 西原 浩: レーザードプラー血流計測. 医学のあゆみ 124 (5): 376-381, 1983.
 - 33) 山倉久史, 岡田菜穂子, 戸塚明美, 大竹 徹, 宮下 元, 長谷川紘司: レーザー・ドップラー血流計を用いた歯肉毛細血管血流量の基礎的研究. 日歯周誌 28 (2): 646-653, 1986.
 - 34) Baab, D. A., Öberg, P. A. and Holloway, G. A.: Gingival blood flow measured with a laser doppler flowmeter. *J. Periodont. Res.* 21: 73-85, 1986.
 - 35) Koss, M. C., Hey, J. A. and Gherezghiher, T.: Characterization of adrenergic receptors of the cat iris and nictitating membrane. *J. Ocul. Pharmacol.* 6 (3): 183-194, 1990.
 - 36) 一色 淳, 近江明文, 向田幹雄, 沖田泰治, 益子道夫: 星状神経節ブロックの皮膚温, 指尖容積脈波, 血流量に及ぼす影響. ペインクリニック 7 (3): 325-328, 1983.
 - 37) 真下 節, 稲垣喜三, 富 勝治, 吉矢生人: 星状神経節ブロックの効果判定におけるレーザー・ドップラー皮膚血流量計の使用経験. ペインクリニック 8 (5): 697-700, 1987.
 - 38) 上村浩一: 星状神経節ブロックと頸部硬膜外ブロックの総頸動脈血流に及ぼす影響に関する比較研究. ペインクリニック 8 (4): 461-470, 1987.
 - 39) 山室 誠, 兼子忠延: 第6および第7頸椎横突起を指標とする星状神経節ブロックの比較検討. 麻酔 27 (4): 376-389, 1978.
 - 40) Stromberg, M. W.: 自律神経系. 犬の解剖学 (Miller, Christensen, Evans 編, 和栗秀一, 醍醐正之監訳). 学窓社, 東京, 1983, 391-403.
 - 41) 守田敏洋, 国元文生, 小川 龍: ショック時の臓器過酸化脂質の変化とその意義—2. エンドトキシンショック時の肝臓過酸化脂質とSOD活性—. 麻酔 30 (3): 281-284, 1981.
 - 42) 安達 寛, 本松研一: 脱血性ショックにおけるスーパーオキシドの関与の可能性—血清過酸化脂質とキヌレニンの産生に対するアロプリノールの影響を中心として—. 麻酔 31 (2): 153-158, 1982.
 - 43) 守田敏洋: エンドトキシン血症ラットの肝臓内過酸化脂質の検討. 麻酔 34 (5): 656-663, 1985.
 - 44) 森田育男: アラキドン酸カスケード. 過酸化脂質と生体, 学会出版センター, 東京, 1985, 229-251.
 - 45) 小川 龍: 過酸化脂質とショック. 臨床麻酔 9 (10): 1165-1172, 1985.
 - 46) 岩井 彰, 伊藤 誠, 横山善文, 安江直二, 今井新平, 城

- 卓志, 松佐古敬, 遠藤一夫, 川合 孝, 松葉周三, 加藤直也, 武内俊彦: 脱血・再輸血ラットにおける胃粘膜内 SOD 活性の動態. 日消誌 87 (9): 1809-1814, 1990.
- 47) Sakaguchi, S., Kanda, N., Hsu, C. C. and Sakaguchi, O.: Lipid peroxide formation and membrane damage in endotoxin-poisoned mice. Microbiol. Immunol. 25 (3): 229-244, 1981.
- 48) 鈴木 貢: 顎, 口腔疾患の臨床的考察(終報)顎骨嚢胞の臨床生化学的考察(その6)一特に顎嚢胞の増大因子に関する臨床生化学的検討一. 口科誌 29: 460-468, 1980.
- 49) 岡部多加志: VX-2 癌上顎洞内移植家兎の組織における Superoxide dismutase アイソエンザイムの存在様式に関する研究. 九州歯会誌 34 (6): 752-763, 1981.
- 50) 西野一寿: 口腔領域各種疾患における組織内活性酸素消去系酵素の活性値に関する研究. 九州歯会誌 44 (1): 123-141, 1990.
- 51) 崎尾秀章, 広瀬 健, 奥田千秋: 下肢血流遮断によるトロンボキサン A_2 放出について一交感神経系の関与一. 麻酔 38 (2): 211-215, 1989.