〔特別寄稿〕

歯科脳科学入門—中脳路核の歯髄ニューロンの話

天 野 仁 一 朗

九州歯科大学健康促進科学専攻生命科学講座摂食神経科学分野 (旧口腔科学講座)

平成 19 年 3 月 13 日受付

平成 19 年 3 月 14 日受理

An Introduction to the Brain Science of Dentistry: The Story of the Discovery
of Mesencephalic Trigeminal Primary Neurons Innervating Tooth Pulp

Niichiro Amano

Division of Oral Neuroscience, Department of Biosciences, Science of Health Improvement,
Kyushu Dental College, Kitakyushu, Japan

E-mail: nlamano@bronze.ocn.ne.jp

In 1994 we developed a useful new subject for the sixth-year dental students, “The Brain Science of Dentistry”, which included lectures and laboratory practice concerning the relation between feeding and brain functions. As an example of the contents of the lectures, how dental pulp neurons were discovered in the mesencephalic trigeminal nucleus will be described.

It has been generally accepted that the tooth pulp is supplied by small myelinated A δ and unmyelinated C fibers, which elsewhere in the body are involved in nociception. However, several histological and physiological studies have shown the presence of a substantial proportion of pulpal afferents with conduction velocities and diameters which would be expected for A β processes. Additionally, a related structure, the periodontal ligament, has been demonstrated to receive a dual innervation from the trigeminal ganglion (TG) and the mesencephalic trigeminal nucleus (MTN). Based on these findings, we suspected the existence of afferent processes innervating the tooth pulp whose cell bodies are part of the MTN. We examined this possibility in the adult cat using retrograde axonal transport of horseradish peroxidase (HRP). There are at least two decisive problems to overcome if one is to demonstrate HRP-labeled tooth pulp neurons in the TG and MTN after depositing HRP in pulp chambers of the permanent teeth: (1) preventing an inhibition of axonal transport of HRP due to acute pulpitis following the surgical procedures required to apply HRP to pulp tissues, and (2) controlling leakage of HRP through the apical foramina into the surrounding periodontal tissues. To solve the first problem, prednisolone, an anti-inflammatory synthetic steroid, was given (5 mg/kg, i.m.) immediately after surgery and every 12 h throughout the survival period of 3 days. In all prednisolone-treated cats,

a considerable number of labeled neurons were found in both the TG and MTN, ipsilaterally. On the other hand, no labeled neurons were observed in the MTN in cats receiving no steroids. To check the presence of HRP leakage, we used two techniques. All teeth injected with HRP and the surrounding alveolar bone were decalcified, sectioned serially, and processed using the TMB technique. Examination under dark-field illumination revealed no evidence of HRP spread as far distally as the apical foramina and periodontal ligaments. The HRP-gel implant method is considered to be easier for localizing the spread of HRP, compared to the fluid injection method. In two additional steroid-treated cats, 1 μ l of 30 % HRP entrapped in 5 % polyacrylamide gel was placed in the pulp horn of the mandibular left canine. This procedure resulted in the labeling of 10 and 13 MTN neurons in the respective cats. When the number of HRP-labeled tooth pulp neurons in the MTN and TG were compared among five different mammalian species (rats, rabbits, cats, dogs, and monkeys), a conspicuous species difference was found in the tooth pulp innervation by the MTN. In cats, dogs and monkeys, HRP-labeled neurons were found in both the TG and MTN, but no labeled neurons were counted in the MTN of rats and rabbits. In conclusion, dual innervation of the tooth pulp by the TG and MTN occurs in the cat, dog, and monkey, but not in the rat and rabbit. This species difference in pulpal innervation might be brought about by a cumulative dominance over the teeth closely associated with feeding habits.

Key words: Tooth pulp/Dual innervation/Mesencephalic trigeminal nucleus/
Trigeminal ganglion/Horseradish peroxidase/Species difference

はじめに

九州歯科大学は1994(平成6)年進学・専門課程制度を廃止し、6年一貫教育制度に切り替えて新カリキュラムを発足させたが、それに伴い口腔科学講座は、歯科の講義・実習を履修し終わった6年次後期の学生に対する総合講義Ⅱの中で『歯科脳科学』(Brain Science of Dentistry)を立ち上げ、摂食と脳の関わりについて講義と実習を行ってきた。3年前に講座名が現行の摂食神経科学分野に変更となったが、それまでは他大学はもちろん、学内の教員や学生たちからも口腔科学講座は何を教える講座か、と問われ続けてきた。その問いに答える意味もあって、平成18(2006)年6月教室のスタッフと共同執筆で、『絵でわかる－歯科臨床に役立つ脳と神経の話』(215頁)をクインテッセンス社から出版し、歯科脳科学の何たるかを世に知らしめた。この本の中でも9項目にわたりその研究の顛末について解説しているが、九歯大赴任の翌年から10年間、教室員一丸となって取り組んだ動物実験による研究「中脳路核の歯髄ニューロ

ンの話」を歯科脳科学の序説として紹介する。

脳の最小構成単位、ニューロン

わたしたちの脳の中には莫大な数の、約1,000億(10の11乗)個の神経細胞、すなわちニューロンがおさまっている。世界の人口は最近の報告では65億人で、世界人口の15倍ほど多いニューロンが複雑な神経回路網を形成して脳に組み込まれている。この複雑な神経回路網が人間の精神を生み出し、自意識を形成し、記憶や学習を行い、さらには喜怒哀楽の感情を作り出す。中枢と呼ばれる脳・脊髄には色々な形態のニューロンが存在するが、どのニューロンも基本的には樹状突起、細胞体、軸索の3つから成っている。本稿の主役である歯根膜や歯髄の一次感覚ニューロンは2本足の双極で、末梢性軸索は感覚受容器に、もう一方の中枢性軸索は二次ニューロンにシナプスする。軸索は活動電位(インパルス)を軸索終末に向けて伝える電線の役割を果たし、細胞体の役割は電気信号を作り出すことであるが、もう一つの役割、神経伝達物質の合成については後で述べる。情報は

同一ニューロン内では電気的な興奮、つまりインパルスとして伝わるのに対して、ニューロンとニューロン間ではシナプス間隙があって化学物質、すなわち神経伝達物質を介して伝わる化学伝達である。

軸索輸送

細胞体の神経伝達物質の合成機能について説明すると、核に蓄えられた遺伝情報に従いニューロンの生存に必要なタンパク質の合成が行なわれる。そのなかに神経伝達物質の生合成も含まれる。図1に示すように、ほとんどの伝達物質が放出される軸索終末部で合成されるのに対して、アセチルコリン、ノルアドレナリン、オキシトシンのような物質は細胞体で部分的に合成され、いったんゴルジ装置に運ばれて膜と同じ成分の被膜に包まれた被膜小胞 (coated vesicle) に処理された後、微小管と呼ばれる直径 24 nm の中空管状タンパク線維をレールとして、細胞体から軸索終末に向けて自走してゆく。この運搬過程を順行性軸索輸送といい、そのスピードは速いものでは1日に 30 ~ 40 cm である。

シナプス間隙に流れ込んできた周囲環境からの外来物質は、伝達物質の放出を終えた帰りの coated vesicle に処理されて、細胞体に向けて自走してゆく逆行性軸索輸

送も存在する。西洋ワサビの辛味成分である過酸化酵素 HRP (horseradish peroxidase) は逆行性軸索輸送によく乗っかり、ベンチジン反応処理すれば黒紫色の物質を産生するので、現在、神経解剖学のトラクト・トレーシング (神経路標識) 実験に盛んに用いられている。細胞体内の黒丸はライソゾームで、逆行性輸送された HRP は最終的にここで加水分解処理されて消失する。ニューロンの生存に必須の神経成長因子 NGF (nerve growth factor) は唾液腺などで生合成され、逆行性軸索輸送によってニューロンの細胞体に運ばれ、そこで効果を現す。破傷風毒素やヘルペスウイルスなどはニューロンにとって有害なものであるが、これらを逆行性輸送する自殺輸送も存在する。今日では順行性、逆行性軸索輸送において coated vesicle を動かすモーター分子は同定されていて、それぞれキネシン、ダイニンと名づけられている。

順行性軸索輸送の分子メカニズム (図2)

順行性軸索輸送のモーター分子はキネシンであるが、微小管上の coated vesicle を自動車にたとえれば、それを動かすエンジンがキネシンで、ガソリンに相当するのが ATP (アデノシン三リン酸) である。東京大学解剖学

図1 軸索輸送の模式図。

廣川信隆は急速凍結法を完成させ、
2001年に45種類のモータ分子群
「キネシンスーパーファミリー蛋白
(KIFs)」の遺伝子を全て特定した。

キネシンは分子量 60 万のモータ蛋白質で、1 対の球状頭部 (ATP 分解酵素をもつ) を微小管にくっつけ、手の平状の尾部を輸送する被膜小胞にくっつけている。微小管の+端に向かって歩くように移動する。

図2 順行性軸索輸送の分子メカニズム。

(Essentials of Neural Science and Behavior (Eds: kandel, Schwartz, Jessell, 1995) Fig.4-6 より改変)

講座の廣川信隆先生は急速凍結法を完成させ、微小管上の coated vesicle とキネシン分子の配置関係を電顕写真で初めて世に示した。さらに 2001 年にキネシン・スーパーファミリー蛋白 KIFs の遺伝子をすべて特定した。たとえば、KIF3 は発生において体の左右を決める働きに関与し、KIF17 は記憶・学習に関連する NMDA 型グルタミン酸受容体を含む vesicle の輸送に関与しているので、KIF17 の発現遺伝子を欠損したノックアウト・マウスでは記憶・学習機能が劣化することが行動実験によって示されている。この KIFs の業績で廣川先生は今日ノーベル医学生理学賞に最も近い日本人との評判である。

三叉神経中脳路核の歯根膜受容器ニューロン (図3)

一般に、一次感覚ニューロンの細胞体は中枢 (脳と脊髄) の外、すなわち末梢側の神経節 (ganglion) に集合している。しかしながら、三叉神経系の一次感覚ニューロンの細胞体は三叉神経節 (trigeminal ganglion; 別名、半月神経節、ガッセル神経節) と三叉神経中脳路核 (trigeminal mesencephalic nucleus) の 2 箇所が存在する。中脳路核は末梢側に位置するはずの神経節が脳内に取り込まれた例外的な神経核 (nucleus) であって、

神経堤と外胚葉ブラコード (板) の 2 重の胚性起原を持つ特殊性によるためと考えられている¹⁾。動物は進化の過程で餌を食うのに有利な顎を獲得したが、顎をもった現存する動物には必ず中脳路核が存在する²⁾。

三叉神経節ニューロンの末梢性突起が顔面頭部の皮膚、口腔粘膜、歯髄、歯根膜などに分布し、触・圧覚、温・冷覚、および痛覚の受容器を支配することは古くから知られていた。一方、中脳路核ニューロンの末梢性突起が咬筋、側頭筋、内側翼突筋といった閉口筋に分布していることは古くから知られていたが、1940 年 Corbin³⁾ がネコ中脳路核の破壊に伴う変性神経線維を形態学的に検索する実験によって、閉口筋以外に歯、歯肉を支配している可能性が提議された。さらに 1963 年 Jerge⁴⁾ が、1978 年には Linden⁵⁾ が、それぞれネコ中脳路核に金属微小電極を挿入して、開口に応答するユニット活動と、歯根膜、歯肉、口蓋の機械的刺激に応答するユニット活動を記録し、Corbin の形態学的所見を電気生理学的に立証した。その後、HRP トレーシング法⁶⁾ または微小電極法⁷⁾ を使用して、ラットの中脳路核においても歯根膜受容器ニューロンの存在が確認されている。今日の理解では、中脳路核の末梢性突起は筋紡錘および歯根膜、歯肉、口蓋の機械受容器を支配するので、中脳路核は顎口

歯根膜受容器は三叉神経節と三叉神経中脳路核から支配を受けている

図3 歯根膜の2重神経支配

腔の固有感覚に関与する低閾値機械受容器ニューロンの集合する神経核であるとされている。他方、中脳路核の中樞性突起は主として三叉神経運動核の閉口筋支配領域に投射するが、そのほか三叉神経主感覚核や運動核周囲の網様体、とくに三叉神経上領域にも投射することがHRPトレーシングによって明らかにされている⁹⁾。系統発生学的には、中脳路核は筋紡錘ならびに歯根膜機械受容器からの感覚フィードバックを咀嚼筋運動ニューロン群に反映させやすい運動核の近接位置に移動していったと考えられている²⁾。

歯根膜の2重神経支配の機能的意義

既述のように、歯根膜受容器は三叉神経節と中脳路核から2重に神経支配を受けている。1989年 Byers & Dong⁹⁾は、ネコの三叉神経節と中脳路核に放射性アミノ酸（トリチウムのプロリンまたはロイシン）を注入した後、歯根膜神経終末に軸索輸送されたトレーサーをオートラジオグラフィーでシルバー・グレイン数としてカウントした。図4はその結果を模式的に表している。このByers & Dongの実験結果から、歯根膜受容器の2重神経支配の機能的意義として、三叉神経節は歯根中央部の受容器を、中脳路核は根尖部の受容器をそれぞれ支配するという機能分担が提議されている。

ブレベインの話

口腔生理学の教師は学生たちにこう教える、「象牙質または歯髄に加えられた自然刺激は、それがどのような

ネコ犬歯根膜の神経支配：

歯根中央部付近の神経線維→三叉神経節

根尖部付近の神経線維→中脳路核

矢印の線の太さは大体の投射線維量を反映する。

図4 歯根膜の2重神経支配に関するトレーシング研究。
(Byers & Dong, 1989より改変)

種類の刺激であれ、誘発される感覚は常に痛覚である^{10,11)}。それゆえ、古来、歯の電気刺激は純粋な痛み刺激として痛覚実験に盛んに用いられてきた」と。

しかし、歯の刺激によって誘発される感覚は本当に痛覚だけであろうか。1964年のJ. Dental Researchに東京医科歯科大学の清水徳三¹²⁾は、ヒトの歯の電気刺激に

よって痛みとは異なるプレペインが誘発されることを報告している。清水によれば、成人男性の上顎切歯を電気刺激すると、弱い刺激では明白に痛みとは言えない、一種独特の感覚、プレペイン (pre-pain; 痛みの前段階の感覚の意) が生じ、その時点から 32 % だけ刺激強度をあげると明確な痛みとなる。当時、世界的に流行し始めた電気生理学実験によって、イヌの歯髄神経の最高伝導速度は 40 ~ 50 m/sec であり¹³⁾、ネコでは 30 ~ 40 m/sec である¹⁴⁾と報告されていた。清水はこれらの動物実験データを引用して、歯髄神経には速い痛みを伝える A δ 線維だけでなく、触・圧覚を伝える A α , A β 線維も存在し、プレペインにはこれら A α , A β 線維が関係していると考察した。

清水徳三のプレペインに関する報告から 17 年後、当時、清水と同じ東京医科歯科大学の顎口腔総合研究施設にいた角野隆二ら (1981 年)¹⁵⁾ は、より厳密な刺激方法を用いて成人被験者にプレペインを発生させ、体性感覚の最高中枢である大脳皮質一次体性感覚野ではプレペインとペインを相異なる感覚として受容されていることを誘発脳波の違いから実証することを試みた。歯の電気刺激方法として、健全な上顎中切歯の唇面に 2 mm 四方の通電性ゴム膜 (陰極電極) を、また同側口角部の粘膜面に 2 cm 四方の銀板 (不関電極) をそれぞれ接着した。被験者を暗い静かな部屋に仰臥させて刺激歯に注意を集中させた状態で、アイソレーターを介して一定頻度で単発の矩形波電流刺激を与えた。被験者は刺激に対して歯に何らかの感覚が生じたとき、および、その感覚が明らかに痛みとして識別できたときにランプのボタンを押して、それぞれプレペインとペインの閾値の電流値を知らせた。誘発脳波については、刺激歯と反対側の大脳皮質一次体性感覚野が存在する中心後回付近 (頭頂部) の頭皮に銀皿電極を貼りつけ、歯の電気刺激により誘発される脳波を単極誘導し、平均加算処理した。

歯に加える単発の矩形波電流刺激の強さを増大させていった場合、被験者に誘発されるプレペインの感覚内容は、刺激歯に局限した「何かがかすかに触れる」ような感覚であった。10 Hz 以下の繰り返し刺激では、「叩かれる」ような感じであり、10 Hz 以上では「歯に風が当たる」ような感覚で、いずれも痛みを伴わなかった。さらに刺激強度をあげると、今まで感じていた感覚は空間的および時間的な広がりを見せ、この時被験者は初めて痛みを訴えた。プレペインとペインが誘発される最小の刺激の強さ、つまり閾値電流を 5 人の被験者で測定した。図 5 は上顎中切歯に 1 Hz の頻度で矩形波電流刺激を加え、

図5 5人の成人被験者の上顎中切歯に 1 Hz の頻度で電流刺激を加え、刺激の持続時間を 0.3 ミリ秒から 100 ミリ秒まで変化させたときのプレペインとペインを誘発する閾値電流の平均値 (三和ら, 1981 より改変)

持続時間を 0.3 ミリ秒から 100 ミリ秒まで変化させたときのプレペインとペインの強さ・時間曲線を 5 人の平均値で示している。持続時間 1 ミリ秒まではプレペインとペインの閾値電流値は徐々に低下するが、2 ミリ秒以上ではほぼ一定となり、基電流はプレペインで $17.9 \pm 5.8 \mu A$ ($n=5$)、ペインでは $37.2 \pm 11.8 \mu A$ ($n=5$) であった。このようにペイン発生の際の閾値電流の約半分程度でプレペインが誘発されることが判明した。

図 6 は 1 人の被験者の反対側頭頂部から脳波を記録しておき、左側上顎中切歯に 1 Hz の頻度で持続 10 ミリ秒の矩形波電流刺激を与え、刺激強度を徐々に高めていったとき誘発される脳波を 50 回平均加算処理したものである。上段左の矢印のところで歯に電気刺激が加えられたが、刺激強度 $30 \mu A$ で脳波に初期成分 N_1-P_1 が現われ、このとき被験者はプレペインを訴えた。その後、刺激強度の増大とともに N_1-P_1 の振幅は増大し、それに並行して被験者の感じるプレペインの強さも増大した。刺激強度が $70 \mu A$ に達したとき、脳波に明瞭な後期成分 N_2-P_2 が出現し、このとき被験者はペインを訴えた。その後の刺激強度の増大と N_2-P_2 の振幅増大、および被験者の感じるペインの強さの増大の間には相関が認められた。以上の実験結果から角野¹⁵⁾ は、大脳皮質に至る歯髄入力にはプレペインのための伝導速度の速い触・圧覚経路と、ペインのためのシナプスが多くて伝達に時間のかかる痛覚経路の 2 つが備えられていると考察した。このように体性感覚の最高中枢である大脳皮質一次体性感

図6 1人の被験者の上顎中切歯を50回反復電気したときの反対側中心後回の脳波を加算処理した。左上矢印で刺激開始。
(三和ら, 1981より改変)

覚野の誘発脳波の記録から、ヒトにおいてはプレベインとペインは互いに異質の感覚として受容されていることが証明された。

歯髄における触・圧覚を司る太い神経線維および機械的受容器の存在

既述のように、歯の電気刺激が純粋な痛み刺激として1950年頃から痛覚実験に盛んに用いられてきた理由は、歯髄には痛みを伝える細い有髄のA δ （直径2～5 μ m）および無髄のC線維（直径1 μ m以下）しか分布していないと信じられていたからである。1983年Holland & Robinson¹⁶⁾は、ネコにおいて下歯槽神経から分かれ脈管神経隙を通り下顎犬歯に入ってきた歯髄神経について、根尖側1mmのレベルで神経線維の直径スペクトラムを電顕で調べた。驚いたことには、多い場合は1犬歯当たり323本の有髄線維のうち約40%が触・圧覚を伝える太いA β レンジ（直径5～12 μ m）であった。それでは何故、歯髄には細いA δ およびC神経線維しか分布していないと考えられてきたのか。図7は文献16に掲載されているFig. 6を和訳したものであり、ネコ下顎犬歯の歯髄に分布する有髄線維の直径スペクトラムを3つの

図7 同一ネコでの神経線維直径スペクトラム。
(G.R. Holland, 1983より改変)

部位について比較したものである。△で示めされる歯冠レベルでの有髄線維はA δ レンジ（直径2～5 μ m）の1峰性分布を呈するのに対して、○で表される根尖側1mmのレベルでの有髄線維はやや優勢なA δ レンジの分布に加えてA β レンジ（直径5～12 μ m）の分布も認められる。全有髄線維の約40%という高い割合で根尖孔から入ってきた太いA β レンジの有髄線維でも、根管を上昇するさい“branching and narrowing”¹⁶⁾を繰り返し、歯冠レベルの髓室に到達するときには全てが細いA δ かC線維に変わってしまっていると考えられる。昔の組織学者は歯冠レベルで調べた歯髄神経線維の直径スペクトラムの結果をもって、歯髄には細いA δ とC線維しか分布していないと考えていたようである。

一方、Cadden et al. (1982)¹⁷⁾はネコ下顎犬歯の歯髄に入ってゆく下歯槽神経線維の伝導速度を電気生理学的に計測した。計測された80本の有髄線維のうち32本（40%）は28 m/秒を越える伝導速度を示し、これは皮膚の触・圧覚を伝えるA β 線維の伝導速度30～70 m/sに相当するものであった。

さらに、Dong et al. (1985)¹⁸⁾はネコ下顎犬歯の歯髄を支配する三叉神経節ニューロンの活動を細胞外記録した。impulse collision testおよびcold block testを用いて一次ニューロンの活動であることを同定後、歯髄の電気刺激および機械的刺激に応答するニューロンの存在を示した。図8は下顎犬歯の唇側エナメル質に機械的刺激を舌側方向に加えた時に誘発されるインパルスの記

図8 ネコ三叉神経節で記録した1個の歯髄機械受容ニューロン.
(W.K. Dong et al., 1985より改変)

録である。Aにおいて鈍な棒による4秒間の圧迫は無効であったが、Bにおけるタッピング刺激では1～3発の発射があった。CおよびDはそれぞれ128 Hz、256 Hzの音叉による3～4秒間の振動刺激であるが、EおよびFのそれぞれのタイムインターバル・ヒストグラムには、128 Hzおよび256 Hzに相当する部分と倍音部分に発射のピークが認められた。Gは歯冠をサンドペーパーでこすった時のペリスチムラス・ヒストグラムで、1から4へとペーパーの目は粗くなってゆき、5は滑らかな木の棒、6は金属の棒でそれぞれ歯冠をこすった場合である。歯冠に対するタッピングおよび振動刺激に応答する歯髄ユニットは、歯冠への温熱刺激には応答しなかった。以上のように、歯髄には動的な機械的刺激に応答する速順応性 mechanoreceptors が存在することが判明したが、それらの形態や存在部位はまだ不明である。Dong et al.¹⁸⁾ は、歯髄には咀嚼や嚥下時の tooth contact を感知する重要な非侵害性機能が備わっていると考えた。

HRP 逆行性標識法による歯髄一次ニューロンに関する研究の歴史

1983年頃、筆者は前任地の岐阜歯科大学（現朝日大学歯学部）において、ラット中脳路核から歯根膜機械受容器ニューロンの活動を記録しながら、歯髄も歯根膜のように三叉神経節と中脳路核から2重神経支配を受けているのではないかと考えをめぐらしていた。筆者の頭の中では、ヒトの歯髄の電気刺激によるプレペインの話とネコの歯髄にAβ低閾値機械受容線維が多いという報告が重なり合って、ネコの歯髄にHRPを適用すれば、ひょっとすると中脳路核においてHRPで逆行性標識された歯髄一次ニューロンが発見できるのではないかと考えるようになった。ところで、HRPがトレーサーとして神経解剖学実験に初めて用いられたのは、1971年 Kristensson et al.¹⁹⁾ による舌下神経運動ニューロンの局在性に関する研究である。表1から明らかなように、Kristensson et al.の報告の4年後の1975年に Arvid-

表1 Summary of labeling of tooth pulp afferents with HRP injected into pulp tissue

Authors (year)	Animal	Teeth injected with HRP	State and amount of HRP injected (per tooth)	Administration of Prednisolone	*Number of labeled cell bodies in TG (per tooth)	Number of labeled cell bodies in MTN (per tooth)
Furstman, L. et al. (1975)	Rat	Incisor	20 % solution, 5 μ l	No	5	Not examined
Arvidsson, J. (1975)	Cat	Canine	50 % solution 0.5—1.5 μ l	No	24	Not examined
Chiego, D.J. et al. (1980)	Monkey	Premolars and molars	Isotope (H^3 -HRP) 1 μ l	No	[†] Not counted	6—10
Arvidsson, J. & Gobel, S. (1981)	Cat	Canine and posterior teeth	5 % solution 0.5—2 μ l	No	15—27	Not examined
Marfurt, C.F. & Turnur. D.F. (1984)	Rat	Molar	40 % solution or 5 % WGA-HRP 0.5—1.0 μ l	No	[†] Not counted	0
Capra, N.F. et al. (1984)	Cat	Canine	Crystalline 4 mg	No	[†] Not counted	0
<hr/>						
*Yoshino, K. et al. (1987)	Cat	Canine	30 % solution 1—2 μ l	No	24	0
	Cat	Canine	30 % solution 1—2 μ l	Yes	90	33

*: Number of labeled cell bodies is shown on the average.

[†]: HRP-positive cells were found, but their number were not counted.

#: Present paper

sson²⁰⁾ と Furstman et al.²¹⁾ は、それぞれネコおよびラットの歯髄に HRP を投与した後、逆行性標識された歯髄一次ニューロン細胞体を三叉神経節で見いだしている。表 1 に掲げた 7 例の実験を見ると、Chiego et al. (1980)²²⁾ が初めて中脳路核において歯髄一次ニューロン細胞体の存在を報告するまでは誰も中脳路核に注目しなかったし、Chiego et al. の報告の後でさえ、ラットおよびネコで実験を行った Marfurt & Turner (1984)²³⁾ と Capra et al. (1984)²⁴⁾ は中脳路核での存在を否定している。中脳路核において歯髄一次ニューロンの存在を報告しているのは、Chiego et al. (1980)²²⁾ と私たち (1987²⁵⁾, 1988²⁶⁾, 1989²⁷⁾, 1994²⁸⁾, 1996²⁹⁾, 1997³⁰⁾, 1999³¹⁾) だけである。

1980 年ミシガン大学歯学部 of Chiego et al.²²⁾ は 5 頭

のサルの前側下顎小臼歯と大臼歯の頰面に 5 級窩洞を形成し、露出させた歯髄組織に放射性アイソトープでラベルした³H-HRP 溶液 1 μ l を、歯根膜または歯肉を汚染させないように手術顕微鏡による監視下に注入し、窩洞をアマルガムで密封した後、動物を 72 時間生存させた。彼らの研究目的は三叉神経節、上頤神経節、ならびに耳神経節などの自律神経節の歯髄支配について検討することであったが、予想外の結果として、5 頭すべての注入側の中脳路核に 6 個から 10 個の³H-HRP 標識細胞体が見いだされた。また、アイソトープの微細な痕跡も見逃さないオートラジオグラフィ法によって³H-HRP 投与歯の根尖部に何の放射性痕跡も検出されなかったことから、³H-HRP の他組織への漏洩の可能性を否定し、細胞体の³H-HRP 標識は歯髄から中脳路核に軸索輸送された

^3H -HRP によるものであることを強調した。

1984 年 ペンシルベニア州立大学の Marfurt & Turner²³⁾ は歯髓一次ニューロンの中枢性突起の投射経路を調べる研究において、ラットの大臼歯の歯髓に投与した HRP を他組織に漏洩させないように、以下のような工夫を行った。片側上顎第一大臼歯の 3 つの髓角が露出するまで歯冠を削去し、髓室の歯髓組織を取り除いた後、次亜塩素酸ソーダで洗浄した髓腔内に 0.5 ~ 1.0 μl の 40 % HRP または 5 % HRP-WGA 溶液を満たした。歯髓神経の断端からの HRP 取り込みを直視下に 1 時間行わせたのち、髓腔内の HRP 溶液を新鮮な液に交換し、なおも 1 時間直視下に取り込みを行わせた。つぎに窩洞内の HRP 溶液を完全に洗い流したのち、窩洞を封鎖した。

動物の灌流固定後、HRP 投与歯を周囲の歯槽骨も含めて摘出し、HRP 酵素を失活させない中性 EDTA 溶液に浸漬し 2, 3 週間かけて脱灰し、凍結連続切片を作成し、暗視野顕微鏡下で投与歯脱灰標本を観察した。その結果、根尖周囲組織への HRP の漏洩はまったく見られず、根尖孔を 1 本の細い糸となって通過する HRP 反応産物の痕跡が観察された。以上のような厳密な方法によって HRP 漏洩の問題を解決した Marfurt & Turner²³⁾ はラットの中脳路核に標識細胞体が見いだされなかった結果を受けて、仮にラットの歯髓に機械的刺激を感じる機能があったとしても、その神経情報は三叉神経節を経由して脳に運ばれるに違いないと考察している。もちろん、サルの中脳路核に少数の ^3H -HRP 標識細胞体を見いだした Chiego et al. (1980)²²⁾ の結果について言及している。

従来行われてきた実験方法の改善

私たち (1987)²⁵⁾ は歯髓に A β 神経線維がとくに多く認められるネコを用いて実験を行うことにした。歯髓組織に HRP を適用する方法は、表 1 のいずれの研究者も行っているように、切削によって生活歯の歯髓腔を開放し、その窩から HRP を歯髓組織に投与する方法を採らざるを得ない。このような方法で歯髓腔に HRP を投与する限り、1) 歯の切削や外科的処置に伴う機械的および熱的刺激、あるいは HRP そのものによる化学的刺激により急性歯髓炎が引き起こされ、浮腫に伴う歯髓腔内圧の充進により軸索輸送が停止してしまう問題、2) 歯髓腔内に投与した HRP が根尖孔外に漏れ出て、付近の歯根膜神経末端から取り込まれ中脳路核に軸索輸送されたのではないかと HRP 漏洩の問題がつきまとう。

まず、1) の問題に対して、私たちは以下のような実

図9 我々の実験における歯髓への HRP 投与方法。

験方法を確立した。

1) 歯髓組織への HRP 投与方法

8 頭の成猫において HRP 投与歯（下顎の 1 犬歯、但し 1 頭のみ下顎の 1 犬歯と後続の 3 臼歯）の X 線撮影を行い、歯髓腔の形態および根尖の完成度を把握。歯の切削に伴う発熱を極力抑えるため、エアータービンで注水下に歯冠をハーフクラウン状に削去し、歯髓腔を開放。デンタルファイルを用いて根管の歯頸側 2 分の 1 を越えない部位まで抜髄および根管拡大 (図 9, a)。次亜塩素酸ナトリウムと過酸化水素水を用いて根管を清掃後、さらに滅菌生理食塩水で洗浄。再び X 線撮影をおこない、HRP 投与部位が根管の歯頸側 2 分の 1 を越えていないことを確認後、5 頭のネコでは 30 % HRP・生食水 1 ~ 2 μl をゼラチンスポンジ小片に含ませ歯髓表層部に貼付。残りの 3 頭では歯髓腔の開放後、マイクロシリンジで同量の HRP 溶液を歯髓表層部に注入 (図 9, b)。歯髓腔の開放部をグラスアイオノマーセメントで完全に封鎖。

2) HRP 投与歯における急性歯髓炎の防止と術後管理

HRP 投与の直後および術後 3 日間の生存期間中、急性歯髓炎を防止する目的で 6 頭の動物にステロイド系抗炎症剤プレドニゾロン 2.5 mg/kg を 12 時間ごとに筋内投与。但し、残りの 2 頭はコントロールとしてプレドニゾロンを非投与。全ての動物に HRP 投与直後のみ抗生剤を筋内投与。

中脳路核において多数の HRP 標識細胞体の発見

HRP 投与後 3 日目に脳幹および両側三叉神経節の凍

図 10 抗炎剤を投与したネコの中脳路核 (a, b) および三叉神経節 (c) で見いだされた HRP 標識ニューロン細胞体と軸索.

表 2 ステロイド系抗炎剤を全身投与した群 (A～F) と投与しなかった群 (G, H) の三叉神経節および中脳路核で検出された HRP 標識細胞体の数

ネコ	HRP 投与歯 (下顎)	抗炎剤プレ ゾニゾロン の投与	投与歯の根尖 の完成程度	HRP 標識細胞体の数		三叉神経節／ 中脳路核の比
				三叉神経節	中脳路核	
A	犬歯	あり	未完成	60	40	1.5
B	犬歯	あり	完成	77	23	3.3
C	犬歯	あり	完成	81	26	3.1
D	犬歯	あり	完成	82	33	2.5
E	犬歯	あり	完成	149	45	3.3
F	犬歯と 3 臼歯	あり	完成	933	92	10.1
G	犬歯	なし	完成	24	0	—
H	犬歯	なし	完成	25	0	—

結連続切片を作製し、すべての切片に Mesulam の TMB 反応 (1978) を施し HRP を発色させた.

驚いたことに、HRP 投与側の三叉神経節および中脳路核に黒紫色の HRP 反応産物を含む多数の、大型の神経細胞体および軸索が観察された (図 10, a-c). 表 2 において、下顎 1 犬歯の歯髄組織に HRP を投与した全動物の投与側三叉神経節に 24 ～ 149 個の HRP 標識細胞体が出現した. HRP 投与歯が犬歯を含む下顎 4 歯の、

多数歯の場合 (ネコ F) は 933 個に増加した. 下顎 4 歯の歯髄を支配するニューロンは三叉神経節の後外側部に局在した. 下顎犬歯を支配するニューロンは臼歯支配のニューロンに比べて三叉神経節のより後外側方に位置し、外側隆起部に密集していた.

中脳路核においては、炎症剤投与の 6 頭全て (ネコ A～F) に 23 ～ 92 個の HRP 標識細胞体を確認された (表 2). 下顎犬歯を支配するニューロンは、中脳路核の

吻尾のほぼ全領域（耳孔の前方 3.5 mm から後方 3.5 mm の範囲）に見いだされた。下顎 4 歯の歯髄を支配するニューロンの吻尾の分布は、下顎犬歯支配ニューロンの場合とほとんど差がなかった。これら歯髄支配の中脳路核ニューロンの吻尾的分布はまた、歯根膜支配の中脳路核ニューロンのそれ³²⁾に似て、中脳路核の尾側端に集中していた。抗炎症剤非投与の 2 頭（ネコ G および H）においては、従来の報告²⁴⁾のように中脳路核に 1 個の標識細胞体も見つけることはできなかった（表 2）。なお、HRP 非投与側の三叉神経節および中脳路核には、全動物において標識細胞体は 1 個も見いだされなかった。

以上の結果から、ネコの歯髄は歯根膜と同じように三叉神経節および中脳路核から二重支配を受けていることがわかったので、歯髄支配の三叉神経節ニューロンと中脳路核ニューロンの数の比率を算出した。表 2 の右端に示すように、歯根の完成した下顎 1 犬歯の歯髄（ネコ B ～ E）においては三叉神経節ニューロンと中脳路核ニューロンの比は約 3:1 であるのに対して、歯根未完成の 1 犬歯の歯髄（ネコ A）では 1.5:1 であった。下顎 4 歯の歯髄（ネコ F）における支配比は約 10:1 であった。

中脳路核における歯髄支配の一次ニューロンのラベリングには、HRP 投与後の抗炎症剤プレドニゾロンの全身投与が不可欠であり、プレドニゾロンを投与しなかった 2 頭のネコでは中脳路核に 1 個のラベルされたニューロンも見いだされなかった。この重要な所見を、私たちは、抗炎症剤プレドニゾロンが密封された歯髄腔内での急性歯髄炎の発生を抑え、浮腫形成に伴う局所圧による HRP 軸索輸送の停止を中和したと解釈した。ウサギ迷走神経に注入した三重水素ロイシンまたはメチオニンの軸索輸送が毛細血管圧より少し高い圧（30 mmHg）で停止することが実験的に確かめられている³³⁾。

HRP 漏洩の問題

もう 1 つの HRP 漏洩の問題であるが、歯髄腔内に HRP を投与する方法を採用する限り、投与する HRP 量をできるだけ極微量に抑えても、あるいは投与部位を根尖孔からできるだけ遠ざけても、HRP が根尖孔の外に漏れ出た可能性を完全に否定することはできない。しかし、この可能性を打ち消す目的で、私たちは以下の 2 つの実験を行なった。

1 番目の実験は、HRP 投与歯の根尖孔の外に HRP が漏れ出していないことを組織学的に証明することである。灌流固定を終えたネコの HRP 投与犬歯と周囲の歯槽骨を一体のまま取り出し、HRP 酵素を失活させない

よう低温下で EDTA を用いて脱灰した。凍結連続切片を作り、TMB 反応を施した後、暗視野顕微鏡ですべての切片を観察したが、HRP が投与部位から遠く離れた根尖孔や歯根膜にまで拡散している様子は全く見られなかった。仮に、暗視野顕微鏡で検出できない程度の微量の HRP が根尖孔の外に漏れ出ていたとしたならば、そのような微量の HRP によって表 2 の中脳路核に認められたように、23 個から 45 個におよぶ大型の一次求心性ニューロン細胞体のラベリングが起こったことを説明することは不可能である。

2 番目の実験では、5 % ポリアクリルアミド・ゲルに 30 % HRP を閉じ込め、その 1 μ l をブレドニゾロン処理したネコの下顎犬歯の髄角部に置いた。ポリアクリルアミド・ゲルは電気泳動の支持体として常用され、重合される架橋の作用により検体分子の移動を遅らせる効果がある³⁴⁾。5 % のポリアクリルアミド・ゲルでは、重合される架橋（網目）のサイズが分子量 45,000 の HRP 分子をゆるく閉じ込め、HRP の歯髄組織内での拡散を局在化させると同時に神経終末への作用時間を延長させる³⁴⁾。この方法を用いても、中脳路核に 10 ～ 13 個の HRP 標識細胞体が確認された。もちろん、この場合も HRP 投与歯と周囲の歯槽骨を脱灰後検鏡したが、HRP の漏洩は認められなかった。

5 種の動物の中脳路核における歯髄一次ニューロン

既述のように、歯髄支配の中脳路核ニューロンはサルで見いだされた（Chiego et al.）²²⁾が、ラットでは見いだされなかった（Marfurt & Turner）²³⁾。しかし、我々はネコにおいて見いだした²⁵⁻³¹⁾。そこで教室の吉野 1996²⁸⁾は、ネコを含めてラット、ウサギ、イヌ、サル、5 種の動物の歯髄に HRP を投与して、中脳路核と三叉神経節における歯髄一次ニューロンの数、分布および細胞体のサイズを比較した。実験はラット（Wistar）、ウサギ（日本白）、ネコ（雑種）、イヌ（雑種）についてはいずれも 4 匹を、サル（*Macaca fuscata*）については 2 匹をそれぞれ用いて行われた。なお、2 匹のサルは、愛知県犬山市にある京都大学霊長類研究所の共同利用プロジェクトを利用して頂いた。5 種の動物の中脳路核と三叉神経節において歯髄一次ニューロンの数を比較する実験では、種間の差なく同数の歯に同一量の HRP を投与する必要がある。そこで、1 歯の歯髄に投与する、30 % HRP・生食水を含ませた一定の大きさのゼラチンスポンジ小片の数を統一することにした。ゼラチンスポンジ小片の湿重量の測定値から校正した 1 歯の歯髄に投与され

動物値	HRP 投与歯	HRP 標識ニューロン細胞体数	
		三叉神経節	中脳路核
ラット A	1 臼歯	148	0
	B	197	0
	C	200	0
	D	301	0
ウサギ A	4 臼歯	8	0
	B	14	0
	C	28	0
	D	128	0
ネコ	A (左側)	106	2
	A (右側)	225	20
	B	427	33
	C	461	10
	D	933	92
イヌ	A	39	5
	B (左側)	77	3
	B (右側)	182	12
	C	565	33
サル	A	197	2
	B	924	13

図 11 5 種の動物の三叉神経節および中脳路核における歯髄ニューロンの数.

る HRP 重量は、ネコ、イヌ、サルでは $470 \mu\text{g}$ 、またウサギでは $190 \mu\text{g}$ であった。ネズミでは第 1 および第 2 臼歯の狭小な歯髄腔に同一量の HRP 結晶末を投与した。HRP の他組織へのコンタミネーションを防止するため、すべての操作は手術顕微鏡下に行なわれた。術後すべての動物に抗炎症剤プレニゾロンを全身投与した。

実験結果については、誌面の都合で、歯髄一次ニューロンの数だけについて述べる。HRP でラベルされた歯髄一次ニューロンは、種にかかわらず、三叉神経節、中脳路核とも、もっぱら HRP 投与側に出現した。図 11 の左の表は、5 種のすべての個体における HRP 標識ニューロン数を示している。注目すべきことは、ラットとウサギの三叉神経節では相当数の標識ニューロンが見いだされたのに、中脳路核では 1 個も認められなかった。一方、ネコ、イヌ、サルの中脳路核では、それぞれ 2～92 個、3～303 個、2～13 個の標識ニューロンが見いだされた。図 11 の右にそれぞれの動物における吻尾の分布を示す。標識ニューロン数は 5 種の動物間とはもとより、同一種の個体間でも相当の変動があったが、これは実験系に働くいろいろな要因のせいと考えられる。

おわりに

教室の吉野²⁰⁾が行なった、5 種の動物の中脳路核における歯髄一次ニューロンの有無に関する実験結果は、サルにおける Chiego et al.²²⁾の結果、およびラットにおける Marfurt & Turner²³⁾の結果にそれぞれ一致した。歯髄に受容野をもつ中脳路核一次ニューロンはネコ、イヌ、およびサルには存在するが、ラットとウサギには存在しないことが明らかになった。この結果を見ても思いつくことは、中脳路核の歯髄一次ニューロンの存在が動物の食性と関係しているのではないかということである。ネコ、イヌ、サルでは巨大な犬歯による切り裂き機能が発達しているのに対して、ラットとウサギではノミのような鋭い切歯による齧り取りの機能が発達している。このように中脳路核の歯髄一次ニューロンは肉食動物に豊富に存在しているようであるが、その他クマやブタ、あるいはイノシシなどにも存在する可能性が高い。

中脳路核の歯髄一次ニューロンの機能的意義として、2 つのことが考えられる。1 つは、前述の Dong et al.¹⁸⁾がネコについて考察したように、歯髄内の機械的受容器が咀嚼や嚥下時の tooth contact を感知する非侵害性機能を果たしているのではないかという考えである。2 つ

図 12 ネコ犬歯髄の電気刺激に対する中脳路核一次ニューロンの応答。

目は、肉食動物の損耗の激しい歯の硬組織の修復を促進するために、中脳路核の歯髄一次ニューロンが自律神経反射を誘発し、象牙芽細胞の再石灰化機能を活性化させる CGRP のような生理活性物質の神経分泌を高めている可能性が考えられる。

教室の院生 Pan (1997)³⁰⁾ は、麻酔ネコの中脳路核に金属微小電極を刺入し、象牙質アマルガム窩洞を介する同側犬歯の歯髄の電気刺激に対して安定した短潜時の 2 相性応答を示す単一ニューロンの細胞外記録に成功している。図 12, A の単一ニューロン活動は 666 Hz の歯髄刺激に 1:1 の様式で追隨し、組織学的に中脳路核からの記録であることが確認されたので、中脳路核歯髄一次ニューロンと判定された。図 12, B は、図 12, A のニューロンが漸増する歯髄単発刺激に対する all or none 応答を示す。歯髄一次ニューロンからの記録であることの傍証として、歯髄の刺激強度が増すにつれてスパイク潜時がわずかに減少する、Matthews (1977)³⁵⁾ の見つけた歯髄神経終末のカプリングに起因する現象が図 12, B に認められる。今後の研究課題として、Dong et al.¹⁸⁾ の実験のように、歯髄の自然刺激に対する応答性を検討することが残されている。

本稿の内容のあらすじは、平成 19 年 1 月 31 日に開催された、同じタイトルの最終講義において口演された。

文 献

- 1) Dubner, R., Sessle, B. J., and Storey, A. T.: Chapter

- 8, Peripheral components of motor control. In: Dubner, R., Sessle, B. J., and Storey, A. T. (Eds.), *The Neural Basis of Oral and Facial Function*, Plenum Press, New York, 1978, pp. 211-245.
- 2) 楠 豊和, 岸田令次, 佐藤やす子, 門田哲夫, 小山洋道: 下等脊椎動物の顎運動中枢. 日本歯科評論 No. 516: 181-186, 1985.
- 3) Corbin, K. R.: Observations of the peripheral distribution of fibers arising in the mesencephalic nucleus of the fifth cranial nerve. *J. Comp. Neurol.* 73: 153-177, 1940.
- 4) Jerge, C. R.: Organization and function of the trigeminal mesencephalic nucleus. *J. Neurophysiol.* 26: 379-392, 1963.
- 5) Linden, R. W. A.: Properties of intraoral mechanoreceptors represented in the mesencephalic nucleus of the fifth nerve in the cat. *J. Physiol. (Lond.)* 279: 395-408, 1978.
- 6) Gonzro-Sanz, L. M., and Insausti, R.: Fibers of trigeminal mesencephalic neurons in the maxillary nerve of the rat. *Neurosci. Lett.* 16: 137-141, 1980.
- 7) Amano, N., and Iwasaki, T.: Response characteristics of primary periodontal mechanoreceptive neurons in the trigeminal mesencephalic nucleus to trapezoidal mechanical stimulation of a single tooth in the rat. *Brain Res.* 237: 309-323, 1982.
- 8) Jones, T.E., Yoshino, K., Kawagishi, S., Iwamoto, M., and Amano, N.: The central termination of trigeminal mesencephalic neurons in the rat. *J. Kyushu Dent. Soc.* 55: 364-384, 2001.
- 9) Byers, M., and Dong, W. K.: Comparison of trigeminal receptors location and structure in the periodon-

- tal ligament of different types of teeth from the rat, cat, and monkey. *J. Comp. Neurol.* 279: 117-127, 1989.
- 10) Brashear, A. D.: The innervation of the teeth. *J. Comp. Neurol.* 64: 169-185, 1936.
- 11) Munford, J. M.: Toothache and Orofacial Pain, 2nd Ed., Churchill Livingstone, Edinburgh, 1976, p.74.
- 12) Shimizu, T.: Tooth pre-pain sensation elicited by electrical stimulation. *J. Dent. Res.*, 43: 467-475, 1964.
- 13) Yamada, M. and Sakada, S.: The effect of some chemicals on cervix dentis. *J. Dent. Res.* 40: 975-987, 1961.
- 14) Brookhart, J. M., Livingston, W. K., and Haugen, F. P.: Functional characteristics of afferent fibers from tooth pulp of cat. *J. Neurophysiol.* 16: 634-642, 1953.
- 15) 三輪全三, 小野博志, 角野隆二: ヒト歯髄の電気刺激により誘発される感覚と反応. 歯基礎誌, 23: 565-575, 1981.
- 16) Holland, G. R., and Robinson, P. P.: The number and size of axons at the apex of the cat's canine tooth. *Anat. Rec.* 205: 215-222, 1983.
- 17) Cadden, S. W., Lisney, S. J. W. and Matthews, B.: A β fibre innervation of tooth-pulp in the cat, with a discussion of the functions of nerves supplying tooth-pulp. In: Matthews, B. and Hill, R. G. (Eds.), *Anatomical, Physiological and Pharmacological Aspects of Trigeminal Pain*. Excerpta Medica, Amsterdam, 1982, pp. 41-49.
- 18) Dong, W. K., Chudler, E., and Martin, R.: Physiological properties of intradental mechanoreceptors. *Brain Res.* 334: 389-395, 1985.
- 19) Kristensson, K., Olsson, Y., and Sjöstrand, J.: Axonal uptake and retrograde transport of exogenous proteins in the hypoglossal nerve. *Brain Res.* 32: 399-406, 1971.
- 20) Arvidsson, J.: Location of cat trigeminal ganglion cells innervating dental pulp of upper and lower canines studied by retrograde transport of horseradish peroxidase. *Brain Res.* 99: 135-139, 1975.
- 21) Furstman, L., Saporta, S., and Kruger, L.: Retrograde axonal transport of horseradish peroxidase in sensory nerves and ganglion cells of the rat. *Brain Res.* 84: 320-324, 1975.
- 22) Chiego Jr., D. J. C., Cox, C. F., and Avery, J. K.: H^2 -HRP analysis of the nerve supply to primate teeth. *J. Dent. Res.* 59: 736-744, 1980.
- 23) Marfurt, C. F., and Turner, D. F.: The central projections of tooth pulp afferent neurons in the rat as determined by the transganglionic transport of horseradish peroxidase. *J. Comp. Neurol.* 223: 535-547, 1984.
- 24) Capra, N. F., Anderson, K. V., Pride, J. B., and Jones, T. E.: Simultaneous demonstration of neuronal somata that innervate the tooth pulp and adjacent periodontal tissues, using two retrogradely transported anatomic markers. *Exp. Neurol.* 86: 165-170, 1984.
- 25) Amano, N., Yoshino, K., Andoh, S., and Kawagishi, S.: Representation of tooth pulp in the mesencephalic trigeminal nucleus in the cat, as revealed by retrogradely transported horseradish peroxidase. *Neurosci. Lett.* 82: 127-132, 1987.
- 26) 吉野賢一, 安東俊介, 河岸重則, 山本英次, 橋本元伸, 松岡弘毅, 岸本一雄, 天野仁一郎: HRP 逆行性輸送による歯髄支配の三叉神経中脳路核および三叉神経節ニューロンの形態学的研究. 歯基礎誌 30: 293-305, 1988.
- 27) Yoshino, K., Andoh, S., Kawagishi, S., Yamauchi, M., Jones, T. E., Amano, N.: Innervation of the tooth pulp by the mesencephalic trigeminal nucleus in the cat: A retrograde horseradish peroxidase study. *Brain Res.* 503: 152-155, 1989.
- 28) 吉野賢一, 河岸重則, 高月義子, 橋本元伸, 天野仁一郎: 電顕による Waller 変性判定法を用いた歯髄支配の三叉神経中脳路核ニューロンの研究 (ネコ). 九州歯会誌 48: 327-341, 1994.
- 29) 吉野賢一: HRP 法による歯髄支配の三叉神経節及び中脳路核一次ニューロンの種差に関する研究. 九州歯会誌 50: 600-610, 1996.
- 30) Pan, C-Y.: Properties of primary afferent neurons in the feline mesencephalic trigeminal nucleus responding to electrical pulpal stimulation. *J. Kyushu Dent. Soc.* 51: 13-28, 1997.
- 31) Amano, N., Yoshino, K., Tawagishi, S., Takatsuki, Y., Tanase, Y.: Dual innervation of the tooth pulp by the mesencephalic trigeminal nucleus and trigeminal ganglion occurs in the cat, dog and monkey, but not in the rat and rabbit: An HRP study. *Dentistry in Japan*, 35: 25-29, 1999.
- 32) Gottlieb, S., Tayler, A., and Bosley, M. A.: The distribution of afferent neurons in the mesencephalic nucleus of the fifth nerve in the cat. *J. Comp. Physiol.* 228: 273-283, 1984.
- 33) Dahlin, L.B., and McLean, W.G.: Effects of graded experimental compression on slow and fast axonal transport in rabbit vagus nerve. *J. Neurol. Sci.* 72: 19-30, 1986.
- 34) Schwanzel-Fukuda, M., Morrell, J. I., and Pfaff, D. W.: Polyacrylamide gel provides slow release delivery of wheat germ agglutinin (WGA) for retrograde neuroanatomical tracing. *J. Histochem. Cytochem.* 31: 831-836, 1983.
- 35) Matthews, B.: Responses of intradental nerves to electrical and thermal stimulation of teeth in dogs. *J. Physiol. (Lond.)* 264: 641-664, 1977.