下歯槽神経凍結処理後の再生に関する実験的研究

安部喜八郎*・武富啓起・貴島 均*

田代英雄・岡 増一郎*

Experimental study of regeneration after cryosurgery of inferior alveolar nerve

Kihachiro ABE*・Yoshiki TAKETOMI・Hitoshi KIJIMA*

Hideo TASHIRO・Masuichiro OKA*

はじめに

顎顔面領域におけるさまざまな外傷により知覚神経が障害されると、その支配領域に可逆的または、非可逆的に知覚麻痺が生じる事は周知の事実である。下歯槽神経領域では、下顎骨骨折¹⁾、あるいは、悪性腫瘍またはエナメル上皮腫などの外科的処置としての顎骨連続離断術などにより、神経が離断されると、患側の下唇およびオトガイ部皮膚の知覚麻痺が生じる。そのため、流涎、下唇の咬傷あるいは熱傷、飲食物の漏出などの機能的、物理的あるいは精神的障害が患者に多大の苦痛を強いる事となる。これらの障害は、主病変の治療に附随する不可避のものとして見過ごされてきたが、患者の快適な社会復帰の要望に伴いこれらの障害を予防する方法が望まれている。その方法として、腫瘍切除の際、注意深く下歯槽神経を残すか、近年しばしば用いられるマイクロサージャリーの手法による神経移植が下歯槽神経についてもなされるようになった²⁻⁴⁾。しかし、手術侵襲に対する下歯槽神経再生のようすは、神経切断、および神経縫合を用いた神経移植についてのみ臨床的または基礎的報告が有るのみで、しかも数が少ない⁵⁻⁷⁾。近年、口腔外科領域における種々の腫瘍の治療に際して、凍結外科療法が用いられるようになった^{8,9)}。しかし、この療法を用

いた場合、病巣の解剖学的位置関係により、周辺の末梢神経も同時に凍結され、そのため支配領域の知覚や運動が障害される事が考えられる。しかし、凍結外科後の神経障害に関する報告は、Gaster ら¹⁰⁾はラットの坐骨神経を用いて、Carter ら¹¹⁾は、ラットの正中および尺骨神経、Breidenbach ら¹²⁾はラットの顔面神経といずれの場合も神経周囲の環境は軟組織である。またこれらの実験的研究も肉眼的観察が主であり、口腔外科領域の神経機能の回復についての詳細な報告は、1976年橋本¹³⁾が家兎顔面神経を用いて系統的に行っているのみであり、下歯槽神経というほとんどが骨組織によって囲まれた解剖学的に特異な部位についての研究は全くないといっている。

そこで著者は、凍結された下歯槽神経がどのように機能的に再生するか家兎下歯槽神経の一部を選択的に凍結し、その後の再生過程を電気生理学的に検索し、神経離断後神経縫合した例、一部神経切除後再植例などと比較検討した。

対象および実験方法

実験動物として体重2～2.5 kg、雌家兎60羽を使用した。実験期間中は日本クレア社 固型飼料 (CR-2) を用いて飼育した。

凍結装置は液体窒素を冷媒とする Spemby 社製 Cryosurgery System DFS-30型を用い、凍結プローブは先端直径5 mm の半球形のものを用いた。

ペントバルビタール (Somnopenitil®, Pitman-Morre Co) 10mg/kg による静脈麻酔剤導入後、自発呼吸下に挿管し、GOF 全身麻酔下の手術を行った。顔面動脈が下顎骨下縁を横断する部位より1.5 cm 前方の両側下顎骨下縁を露出し、長さ1 cm 骨を歯科用エンジンを用いて削除し下歯槽神経を露出後神経周囲血管網を剝離した。その後以下の条件にて実験を行った。

1) 下歯槽神経切断後、atraumatic needle 付きの非吸

九州大学歯学部第1口腔外科学教室 (主任: 田代英雄教授)

* 九州大学歯学部第2口腔外科学教室 (主任: 岡増一郎教授)

First Department of Oral Surgery, Faculty of Dentistry Kyushu University (Director: Prof. Hideo Tashiro)

* Second Department of Oral Surgery, Faculty of Dentistry Kyushu University (Director: Prof. Masuichiro Oka)

受付日: 昭和56年8月20日

表 1 各動物群における活動電位出現までの期間

	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	過後
離断後神経縫合例	0/4	2/4	8/8	8/8	8/8						
凍結処理例	0/4	0/4	0/4	0/4	0/8	0/8	0/12	8/8	4/4		
一部切除後再植例		0/4	2/4	4/4	4/4						

(活動電位が観察された神経数/剖出神経数)

図 1 実験装置の概要

なお、神経周囲血管網の剝離および神経縫合は、実体顕微鏡下に、microsurgical instruments を用いて行った。また上記 3 群とは別に、無処置の家兎 4 羽を用い対照群とした。

以上 3 処置群の実験動物を種々の期間において屠殺し、神経下顎骨標本作製し、95% O₂, 5% CO₂ ガスにて飽和されたクレブス液を満した Organ bath 中で電気生理学的検索を行った。記録および刺激電極としては直径 1 mm, 電極間距離 5 mm の双極銀塩化銀電極を用いた。刺激装置としては、電気刺激装置 (日本光電 MSE-3 R), アイソレーター (日本光電 MSE-JM) を用い、持続 0.02 msec, 電圧は対照群にてあらかじめ判定された域値の約 3 倍の 50V, 単発矩形波刺激を与えた。観察記録装置としては、生体電気用前置増幅器 (日本光電 AVB-9) を用い、万能オシロスコープ (日本光電 VC-9) にて観察し、連続撮影装置 (日本光電 RLG-6101) にて記録した。なお、対照群においても、上記 3 処置群と同様に標本作製し観察記録した (図 1)。

結 果

下歯槽神経の一部を離断後 10-0 ナイロン糸にて神経単一縫合を行った群では、活動電位発生までに 4 ないし 6 週を要した。なお、術後 4 週目に活動電位を認めたものは 4 例中 2 例であり、6 週目では 8 例中 8 例であった。また術後 8 週目でも 8 例中 8 例に活動電位の発生を認めた (図 2, 表 1)。

電気刺激を加えた後、活動電位の立ち上がりまでの潜時と、刺激および記録電極間の神経束の距離を実測し、最大伝導速度を算出すると、4 週目では平均 48.5m/sec であり、6 週および 8 週目では平均 70.0m/sec となった。また対照群の最大伝導速度は 95.3m/sec であった。

活動電位の大きさは、術後日数の経過につれて増加するが、8 週を経過したものでも対照群の 50~70% にすぎなかった。

下歯槽神経の一部を長さ 5 mm にわたり切除後 10-0 ナイロン糸にて神経縫合し再植した群では、術後 6 週目に 4 例中 2 例、8 週目に 4 例中 4 例に活動電位の発生を認めた (表 1)。最大伝導速度は、術後 6 週目で 62.3m/sec, 8 週目で 70.3m/sec であり、対照群のそれまでは

図 2 対照と下歯槽神経離断後神経縫合群の術後各週における活動電位

収性縫合糸であるナイロン糸 (Nagatoishi Kikai Co. 4-SD ナイロン 10-0) を用いて神経単一縫合を行った。

2) 下歯槽神経の一部を凍結処理した。凍結条件としては、プローベの先端温度 -80°C (冷却速度約 50°C/分, 融解速度約 180°C/分) 1 回 3 分間持続し、約 5 分間隔にて 3 回繰り返した。

3) 下歯槽神経の一部を長さ 5 mm にわたり切除後、10-0 ナイロン糸を用いて神経縫合し再植した。

図3 対照と、下歯槽神経一部切除後再植群の術後各週における活動電位

図4 対照と、下歯槽神経凍結処理群の術後各週における活動電位

図5 下歯槽神経一部除去群における術後12週目の活動電位

回復していなかった。活動電位の大きさは、術後日数を重ねるに従い大きくなるが、術後10週目でも対照群の70%、80 μ V にしか回復しなかった(図3)。

下歯槽神経の一部を凍結した群では、術後18週目に活動電位の発生を8例中8例に認めたが、16週目では12例全例とも観察されなかった(表1)。最大伝導速度は、上記2群と同様、術後20週を経過した群でも平均71.5 m/sec と対照群のそれよりも遅かった。また電位の大きさも対照群の50~70%にしか回復しなかった(図4)。

ちなみに、下歯槽神経を長さ5 mm にわたって切除した2例において、術後12週目に、すでに活動電位が認められ、その大きさからしてそれ以前に神経の機能的回復、すなわち生物電氣的結合がなされていたと思われる(図5)。

考 察

骨質で形成された長い管腔内を走行する下歯槽神経は、下顎骨の外傷、または下顎骨連続離断などの外科的侵襲により障害され、その機能を一次的または永久に失う事がある。特に、下顎骨の悪性腫瘍またはエナメル上皮腫のような良性腫瘍などの外科的治療に伴う連続離断術時においては、下歯槽神経の損傷を防ぐため、注意深く同神経を残すか^{14,15)}、一旦摘出した神経を再植するか¹⁶⁾、または他の部位の神経を移植する方法²⁻⁴⁾が考えられている。しかし、下歯槽神経再生の特徴については、1978年山崎⁶⁾の、1980年松田⁷⁾のいずれも家兎を用いての神経縫合例での報告と、他には臨床的観察があるに過ぎない。

また、口腔外科領域の神経の凍結処理後の再生に付いての詳細は、1976年橋本¹³⁾の家兎の顔面神経を用いた報告がある。他領域においては、坐骨神経などの、いずれも軟組織で囲まれた神経を用いての研究であり、骨質内を走行する神経の凍結処理後の神経再生に関する報告は見出せない。

今回の検索で用いた凍結条件は、プローベの先端温度 -80°C 、持続3分間、5分間隔3回繰り返したものであるが、この条件設定にしても Gaster ら¹⁰⁾は、ラットの坐骨神経を -5°C から -60°C で1分間凍結、Carter ら¹¹⁾はラットの正中および尺骨神経を -100°C で1分間凍結、Breidenbach ら¹²⁾はラットの顔面神経を包含した悪性腫瘍を -185°C で、15、30、60秒間凍結、橋本¹³⁾は家兎顔面神経を -5°C から -75°C でいずれの場合も3分間凍結とさまざまである。このうち橋本¹³⁾は、プローベの表面温度 -20°C 以下で3分間持続して凍結すれば顔面神経はその機能を失うとしている。今回著者らも4例についてプローベの表面温度 -80°C 、3分間持続を1回行った例では、2週後についてのみ観察を行った結果、全例に活動電位の発生を認め、凍結処理の効果がこの条件では不十分なように思われた。悪性腫瘍に対して田中¹⁷⁾は、 -60°C 以下の温度で凍結するのがよいとし、西尾¹⁸⁾および Myers ら¹⁹⁾は反復凍結するのが効果的であるとしている。今回用いた凍結装置には、組織内温度をモニターするサーモカップルが附属しているが、その大きさからして実際の家兎下歯槽神経内の温度測定が困難であるので、プローベ先端温度を -80°C として使用し、持続3分間、5分間隔3回施行する事により完全な活動電位伝導のブロックが認められた。

凍結手術においては、冷却温度もさることながら、冷却、および融解速度が問題となる。Meryman²⁰⁾は、 $100^{\circ}\text{C}/\text{分}$ の急速冷却で -20°C 以下に凍結し、 $1\sim10^{\circ}\text{C}/\text{分}$ 程度のゆっくりとした温度勾配で融解すると組織破壊が最大になるとし、Zappi, Shulman²¹⁾は反対に緩徐凍結の

方が有効であるとしている。今回著者らが用いた凍結装置では、冷却速度約50°C/分、融解速度約180°C/分と、どちらかというと緩徐冷却急速融解となる。橋本¹³⁾の用いた冷却融解速度は不明であるが、-80°Cという低温にもかかわらず持続3分間1回では下歯槽神経の破壊ができなかったのは、この冷却融解速度の差も原因の1つと考えられる。

一般に切断後の末梢神経再生の速度はヒトでは初期に速く次第に遅くなり平均すれば1日約0.5 mm といわれているが、動物では全経過を通じてほぼ一定であるといわれている²²⁾。よって同一の神経であれば、神経損傷部位が末梢に近いほど、言いかえれば神経細胞より遠ければ遠いほど神経再生までの期間は短いといえる。したがって、侵襲の違いによる神経再生までの期間の比較は、同一部位での比較でなければ意味がない。顔面神経や坐骨神経での凍結手術後の神経再生までの期間と、今回著者らが行った下歯槽神経の凍結手術後のそれとは比較にならない。しかし、同一部位での神経切除、粉碎または凍結手術をした例での比較では、Gaster ら¹⁰⁾はラット坐骨神経を用い、その機能回復までの期間を観察しているが、7.5 mm 切除例では再生は起こらず、-20°C以下の凍結手術では再生までに12日から17.2日を要すとし、粉碎したものでは17.6日後に再生が認められたとしている。また橋本¹³⁾は家兎顔面神経が茎乳突孔を出て、上枝下枝に分岐する部位で5 mm 切除した例では、100日を経過しても神経再生は認められず、-20°C、持続3分間同一部位にて凍結した方は28日から30日後に機能の回復をみたし、いずれの場合も神経を凍結した方が早く機能的回復、神経再生が起こるとしている。しかし、1978年 Barnard ら²³⁾は、難治性の三叉神経痛や帯状疱疹などの外科的治療においてオトガイ孔附近でのオトガイ神経切断および凍結手術後再発までの期間を比較し、凍結手術を施行した方が長期間効果があつたとし、凍結手術を行った方が神経再生までに長期間を要する事がうかがえる。今回の著者らの検索でも、神経離断後神経縫合、神経切除後再植または、長さ5 mm にわたり切除したもののより凍結手術を行った方が神経再生までに長期を要した。この現象の原因として考えられる事は、1つには、下歯槽神経が他の部位に比して、低温侵襲に対する感受性 (cryosensitivity) が高いことが考えられる。そのため、離断または切除したもののより他の報告と異なり、凍結手術を行った方が再生までに長期を要する可能性がある。田中ら¹⁷⁾は、cryosensitivity は組織や細胞の種類、血流等によって異なるが、一般に癌、血管腫、乳頭腫などは cryosensitive であり細胞成分が少なく間質の多い組織は抵抗が強いとしている。また、下歯槽神経の解剖学的位置による特異性も原因の1つとして考えられる。顔面神経や坐骨神経で観察された他の報告⁹⁻¹⁰⁾と異なり、下歯槽神経は骨質で囲まれた管腔内を走行するため、凍

結壊死した神経組織が他を迂回する余地を与えず、障害物としてはたらく、再生までに長期を要するのかも知れない。この解剖学的特異性とあわせて今回はそれとの関係を検索していないが、神経再生の速度には周囲血管からの血流が微妙に関与しているようである。山崎⁶⁾は、家兎下歯槽神経の移植実験で、下歯槽神経周囲の血管網保存例では、血管網除去群より再生までに長期を要したとし、血管網保存群では末梢側縫合部に多量の線維性結合組織が形成されそれが障害物となったためだとしている。

なお、今回の実験で観察された下歯槽神経一部切除後再植例の神経再生までの期間は、山崎の報告⁶⁾とほぼ同様であった。

また、今回下歯槽神経一部切除例では術後12週で活動電位が観察されたが、山本²⁴⁾は、ヒトでは切除された神経の両断端の間隔が3 cm 以内であれば再生を起こすとしている。しかし、橋本¹³⁾は家兎顔面神経では、100日をすぎても再生をみなかったとしている。Weiss ら²⁵⁾は、動脈片を切断神経の中極端につなぐと再生神経がその中へ伸びるとしている。すなわち再生神経は管腔という周囲の物理的構造上の特性によってその方向が決定されている。他の報告にみられる顔面神経や坐骨神経の切断部位が管腔内ではないので今回の結果と相違した結果となつたのではないかと考えられるが、下歯槽神経の解剖学的特異性からして5 mm 程度のギャップを乗り越えて神経再生が起こっても不思議ではないように思われた。

結 論

下顎骨内を走行する下歯槽神経の凍結手術後の神経再生の過程を電気生理学的に観察記録し、下歯槽神経離断後神経縫合、切除後再植、切除した例と比較検討した結果

- 1) 下歯槽神経の一部を凍結手術した群では術後18週目に神経再生が認められた。
- 2) 下歯槽神経離断後神経縫合例では、4～6週後に神経再生が認められた。
- 3) 下歯槽神経を長さ5 mm にわたり切除後再植例では、6～8週後に神経再生が観察された。
- 4) 下歯槽神経を長さ5 mm 切除した例では術後12週目のみの観察ですでに神経再生が認められた。
- 5) 活動電位の大きさは各群とも日数の経過とともに大きくなるが、対照群の50～70%にしか回復しなかった。
- 6) 活動電位の最大伝導速度は、日数の経過とともに増大するが対照群の約80%弱までしか回復しなかった。

本研究は、昭和54年度、55年度、56年度の文部省科学

研究費(課題番号0048354)によって行ったものであり、本論文の主旨は、1981年6月12日第35回日本口腔科学会総会において発表した。

引用文献

- 1) Simpson, H.E.: Injuries to the inferior dental and mental nerves. *J Oral Surg* 16: 300 1958.
- 2) Hausamen, J.-E., Samii, M., Schmideder, R.: Repair of the mandibular nerve by means of autologous nerve grafting after resection of the lower jaw. *J Max -Fac Surg* 1: 74 1973.
- 3) 野間弘康, 他: 下顎骨切除後の下歯槽神経欠損を大耳介神経の遊離移植により再建した1例. *日口外誌* 25: 692 1979.
- 4) 北山誠二, 他: 下顎骨切除後の大耳介神経移植の経験. *日口外誌* 26: 797 1980.
- 5) 町田和之: 下歯槽神経切断後における変性と再生に関する実験的研究. *歯科学報* 77: 1661 1977.
- 6) 山崎康夫: 下歯槽神経移植に関する実験的研究 第1編 縫合法と縫合材料について, 第2編 移植片と周囲血管網について. *歯科学報* 78: 961 1978.
- 7) 松田康男: 下歯槽神経活動電位に対する神経損傷の影響 第1編 家兎における実験的研究. *歯科学報* 80: 1267 1980.
- 8) Gage, A.A., Koepf, S., Wahrle, D., et al.: Cruotherapy for cancer of the lip and oral cavity. *Cancer* 18: 1646 1965.
- 9) Emmings, F.G., Koepf, S.W., Gage, A.A.: Cryotherapy for benign lesions of the oral cavity. *J Oral Surg* 25: 320 1967.
- 10) Gaster, R.N., Davidson, T.M., Rand, R.W., et al.: Comparison of nerve regeneration rates following controlled freezing or crushing. *Arch Surg* 103: 378 1971.
- 11) Carter, R.N., et al.: The effect of cryosurgery on peripheral nerve function. *J Ray Coll Surg Eding* 17: 25 1972.
- 12) Breidenbach, L.M., Thomford, N., Pace, W. G.: Cryosurgery of tumors involving the facial nerve. *Arch Surg* 105: 306 1972.
- 13) 橋本良知: 冷凍外科に関する実験的研究, 神経の損傷と回復. *日口外誌* 22: 753 1976.
- 14) Becker, R.: Continuity resection of the mandible with preservation of the mandibular nerve. *Br J Oral Surg* 8: 45 1970.
- 15) 内田 稔, 他: 下歯槽神経, 血管を保存し下顎骨連続離断と即時再建を行った化骨性線維腫の1症例. *日口外誌* 25: 210 1979.
- 16) 石川武憲: 下顎連続離断術時の下歯槽神経血管束の新保存術式. *広大歯誌* 12: 114 1980.
- 17) 田中茂男, 永田 丕: 癌の Cryosurgery. *外科診療* 34: 1070 1973.
- 18) 西尾 仁, 永井 敏, 森田敏昭: 凍結によるマウス皮膚血管系機能障害の温度依存性. *日口外誌* 21: 17 1975.
- 19) Myers, R.S., Hammond, W.G., Ketcham, A. S.: Cryosurgery of experimental tumors. *J Cryosurg* 2: 225 1969.
- 20) Meryman, H.T.: Mechanics of freezing in living cells and tissues. *Science* 124: 515 1956.
- 21) Zappi, E., Shulman, S.: Cryo-immunization, the cold propagation in the target tissue and the resulting volume of the lesion. *Cryobiology* 8: 235 1971.
- 22) 小川徳雄, 他編: 生理学大系, 第9巻適応協同の生理学. 第1版, 医学書院, 東京, 1970, 566頁.
- 23) Barnard, J.D.W., Lloyd, J.W., Glynn, C.J.: Cryosurgery in the management of intractable facial pain. *Br J Oral Surg* 16: 135 1978.
- 24) 山本 亨: 頑固な疼痛とアルコール・ブロックによるその治療. *麻酔* 11: 807 1962.
- 25) Weiss, P., Taylor, A.C.: Further experimental evidence against "neurotropism" in nerve regeneration. *J Exp Zool* 95: 233 1944.