顔面神経修復手術の機能回復に関する実験的研究

高田 和雄

Experimental studies on functional recovery of facial nerve repair operation

Kazuo TAKADA

I. 緒 言

顔面神経麻痺はいろいろな原因によって発現する。日常、遭遇する末梢性顔面神経麻痺は、外傷や手術によって顔面神経が損傷を受け、表情筋が麻痺を呈することが多く、症例によっては自然治癒もみられる。あえて外科的手術を必要としないこともあるが、各種の外科的手段を尽して、その機能回復に努めねばならない場合もあり、この場合にはいくつかの方法があげられる。今日、最も多く用いられているものは縫合術、移植術、吻合術などによる神経接合術があり、いずれも広く普及している。

顔面神経麻痺における診断法、治療法、予後などに関しては、森本¹⁾、北村²⁾、義和田³⁾らの総合的な報告がみられ、また側頭骨外麻痺の手術的療法については、Conley⁴⁻⁶⁾、Lathrop⁷⁾、北村⁸⁾らが幾多の症例を発表している。側頭骨外手術法は、神経縫合術と神経移植術が主であり、神経縫合術は従来より神経上膜縫合が実施され、顕微手術の進歩とともに⁹⁾、funicular suture 法が開発されて一般に試みられるようになってきている¹⁰⁻¹²⁾。また通常、大きな神経欠損の修復には神経移植術が行われる。この術式における神経移植法には、自家移植、同種移植、異種移植があげられている。実験的自家移植はPhilippeaux と Vulpian¹³⁾ に始まり、その後、種々実験的研究や臨床的应用が発表されている。Sanders と Young¹⁴⁾、Gutmann と Sanders¹⁵⁾ は異種移植について、組織反応が強く、シュワン細胞の増殖はなく、再生線維はほとんど移植片中に伸長しないと報告し、また Seddon¹⁶⁾ は異種移植片の使用は適当ではないと述べ、今日では自家移植法が臨床的に広く使用されている。

顔面神経麻痺に対する実験的な研究は、いくつか知られている。Boyle¹⁷⁾ はサルで、茎乳突孔外での顔面神経

の部分切除を行い、術後の電気生理学的な、また組織学的な検索を行っている。Binns¹⁸⁾ はネコの茎乳突孔外で顔面神経の切断縫合を行い、その回復過程について報告している。また玉置¹⁹⁾ は家兎の茎乳突孔外で顔面神経幹部を切断後、接着剤による神経の接合を行い、回復過程を電気生理学的、組織学的に検索し、隈上²⁰⁾ は家兎で神経管内での顔面神経切断、切除、自家神経移植、そして神経管外での切断を行い同様の検索を行っている。さらに塚本²¹⁾ は家兎で顔面神経上唇枝の切断縫合、自家神経移植を行い、神経終末部軸索の再生状態を組織学的に検索している。

神経筋終板における実験では、多量のコリンエステラーゼ（以下 ChE と略す）が存在していることを、1949 年 Koelle と Friedenwald²²⁾ が提言した。これによるとアセチルコリン（以下 ACh と略す）の分解酵素である ChE は、その組織化学的検索法であるチオコリン法により、神経筋終板における ChE の存在を証明することに成功した。さらに Brown²³⁾ は、それを電子顕微鏡使用による研究によって立証して以来、神経筋終板での ChE の存在が確認され、神経筋終板の形態的検索にも応用しうようになった^{24,25)}。しかし神経筋終板の組織化学的検索を行った結果と、その筋を使用した筋電図所見とを対比させた報告はほとんどなく、わずかに蓮江²⁶⁾、Hakelius²⁷⁾、船越²⁸⁾ らの報告がみられるにすぎない。特に、顔面神経修復手術後の支配神経領域での、神経筋終板の詳細は不明である。

そこで著者は、顔面神経修復手術後の機能回復過程に関する形態学的根拠を得ようと考え、家兎顔面神経修復手術後の神経の変化を経時的に観察し、また末梢部口輪筋部での鍍銀法、ならびに ChE 活性の組織化学的検索によって、神経組織の変性および再生過程を追求し、ついで同部の誘発筋電図を記録して、神経筋終板における ChE 活性に関する組織化学的所見と比較検討した。

II. 実験方法

1. 実験動物および飼育法

実験動物には体重 3.0 kg 前後の雄の成熟家兎を選択し、個別の飼育かごに入れ、購入後、約 1 週間の飼育期

東北歯科大学口腔外科学教室第 2 講座

(主任：足立 深教授)

The Second Department of Oro-Maxillo-Facial Surgery Tohoku Dental University (Chief: Prof. Fukushima Adachi)

受付日：昭和 58 年 7 月 25 日

表 1 実験例数

実験方法	期 間 (週)					
	1	2	3	4	8	12
1 顔面神経切断 (羽)	2	2	2	2	2	2
2 顔面神経縫合 (羽)	2	2	2	2	2	2
3 顔面神経移植 (羽)	2	2	2	2	2	2

間中、異常のないことを確認したものを実験に供した。飼料としてはオリエンタル実験動物固型飼料と水道水を自由に与えた。

2. 手術術式および実験期間

耳静脈よりペントバルビタール・ナトリウム 0.7 ml/kg の静脈麻酔下に、耳前部を剃毛、1.5% W/V ヨードチンキ、70%エタノールで消毒後、エビネフリン1/8万倍含有2%リドカイン溶液約 2 ml を手術部に注入し、数分間放置してから、手術を開始した。耳前部より口角部にかけて皮膚切開し、まず咬筋を露出させてから、咬筋上を上方に剝離し、耳下腺前部の顔面神経上唇枝を露出した。露出後、上唇枝が耳下腺を出て、約10 mm のところで鋭利な刃物を使用して切断した。実験群は神経切断群・神経縫合群・神経移植群の3群に分けた。神経切断群は切断後、神経両断端を放置したまま皮膚縫合を行った。神経縫合群は切断後、ただちにケイセイ 9.0 ナイロン (針付) 縫合糸で手術用顕微鏡下 (甲南カメラ研究所社製 K-280, 図1) に顕微手術用の器具を用い、神経上唇縫合で2~3 糸縫合し、断端がよく接合しているのを確認した後に、縫合部を生理食塩水で洗浄した (図2)。その後、縫合部をあらかじめ採取しておいた外頸静脈片で被い保護した。また神経移植術では上唇枝を7 mm 切除し、術側の大耳介神経を長さ10 mm に切除し、上唇枝の欠損部へ遊離自家移植した。縫合方法は上述した方法と同様である。

各実験群の実験期間は1週、2週、3週、4週、8週12週とし、各実験群における実験期間別の例数は表1に示すとおりである。なお対照群には正常家兎4羽を用いた。

3. 神経の組織学的検索法

1) 顔面神経修復手術部の材料採得と切片の作製

各実験期間を経過した家兎は、ペントバルビタール・ナトリウム静注により麻酔死をさせたのち、各実験群ごとに、神経修復部を含めて神経片を採取し、10% 中性ホルマリンにて1週間固定した。通法に従い脱水、パラフィン包埋した後、4.5 μ の神経縦断連続切片を作製した。神経修復手術を行った部位の病理組織学的観察には H-E 染色、Holmes 鍍銀染色を行い、神経線維の変性と再生の状態を観察した。

2) 上唇組織の採取と切片の作製

各実験期間を終了した家兎は各実験群ごとに、顔面神

経上唇枝支配領域である上唇組織を採取した。組織片は付着した血液などを取りのぞくため、ただちに0.44M スクロースで十分に洗浄し、イソペンタン、アセトン、ドライアイスなどを用いて凍結させた。

切片の作製方向は、外皮面に垂直とし、クリオスタット (AO 社製 cryo-cut II microtome) 内で、厚さ15~20 μ および 6~8 μ の連続凍結切片を作製し、前者の切片には鍍銀法による神経染色 (鈴木氏鍍銀法) と、神経酵素の組織化学的検索を行い、後者の切片には H-E 染色を施した。なお鍍銀法による神経染色では、十分な固定を行うため中性ホルマリン原液に1週間浸漬した。

本研究での ChE の組織化学的検索法は比較的簡便で、しかもすぐれた成績の得られる Karnovsky と Roots²⁹⁾ の one step method に多少の改良を加えた古川³⁰⁾ の方法に準じて検索を行った。

ChE (広義の ChE) には、非特異的 ChE (狭義の ChE) と特異的 ChE すなわちアセチルコリンエステラーゼ (以下 AChE と略す) とがある。この両者を判定するために非特異的 ChE の抑制剤が用いられる。この抑制剤には種々のものが使用されているが、本研究では弗磷酸ジイソプロピル (以下 DFP と略す) を用いた。DFP は 10^{-4} M では、AChE、ChE (狭義の ChE) とともに抑制されるが、低濃度では ChE (狭義の ChE) 活性のみが抑制され、AChE 活性は比較的抑制されない理由から、 10^{-7} ~ 3×10^{-7} M DFP が AChE 活性検出の際の ChE (狭義の ChE) 抑制剤として用いられている³¹⁾。すなわち浸漬液の組成における、蒸留水の代わりに $1 \text{ ml } 3 \times 10^{-7}$ M DFP を混入した inhibition medium を用いた。

4. 電気生理学的観察

ペントバルビタール・ナトリウム静脈麻酔下に、家兎顔面神経幹部に刺激電極を設置し、針電極を上唇部に刺入して固定し、誘発筋電図を記録観察した。また電気刺激を与えない安静時における自家放電についても観察した。

電極は三栄測器社製脳波用単針電極を用い、刺激装置には三栄測器社製電気刺激装置 3 F 46、定電圧アイソレート 5361 を使用した (図3)。家兎顔面神経を露出し、縫合部より中枢5 mm の顔面神経幹に刺激電極を設置し、2極間距離は10 mm とした。なお本研究で用いた刺激は、電圧5 V、持続時間0.2 m sec の矩形波電流とした。

筋電図の誘導には、三栄測器社製の双極針電極を使用した。誘導電極は上唇の筋組織に刺入し、さらにときどきその位置、方向、深さなどを変え、上唇筋組織内における活動電位を観察した。

活動電位の観察記録には、三栄測器社製メディカルオシロスコープ 311 と、ボラロイドカメラ M 75 D を用いた。オシロスコープの時定数は0.01 sec とした。

以上の方法を用いて活動電位出現の時期、また電気刺激を与えない安静時における自家放電についても調査した。

III. 実験成績

1. 対照（正常家兎上唇の組織所見）

鍍銀所見：筋層部では黒色に鍍銀された太い神経線維束がみられ、これら神経線維束は筋層に並行して走行していた。また神経線維束よりの分岐は、筋線維束をとり囲むように走行し、非分岐性の遊離終末を形成していた（図4）。

組織化学的所見：ChE 染色では、筋線維内に多数の茶褐色あるいは茶黒色に染まっている神経筋終板がみられた。その形態は円形、橢円形、C字状形、不正形を示すものなどがあり、その大部分の ChE 染色陽性部は境界明瞭であったが、一部に境界が不明瞭なものもあった。さらに強拡大像では ChE 活性陽性部は全体が一樣に濃く染まる場合と、内部が薄く染まる場合、あるいは網目状を呈し、その周辺部が濃く染まる場合とがあった。一般に不正形のものは、内部構造が不明瞭に染まることが多かった（図5）。

2. 神経切断群

1) 術後1週

神経切断部所見：神経切断端間隙には、断端より生じたシュワン細胞の増殖と小円形細胞の増殖が認められ、これらの細胞の増殖が両断端を満たしていた（図6）。また切断面より約3～4mm程度中枢側には軸索の断片状の破壊、あるいは吸収、消失が観察された。末梢側神経線維もほとんどは吸収、消失し、変性残遺物が一部にみられた。

上唇部所見：鍍銀所見；筋層中における太い神経線維は、膨化、念珠状変性を呈しており、筋線維周囲の神経線維にも膨化状変性や断裂像が観察された（図7）。

組織化学的所見；筋線維中における ChE 活性陽性部の外形および内部構造には、ほとんど変化がみられないが、軽度の活性の低下を示し、活性陽性部周辺の不規則なものもみられた。しかし ChE 活性陽性部の大きさは対照の大きさとほとんど変化はなかった（図8）。

2) 術後2週

神経切断部所見：神経切断端間隙では、H-E 染色で小円形細胞浸潤およびシュワン細胞の増殖が認められた。シュワン細胞の増殖は、不規則に配列する部分と、シュワン細胞連鎖よりなる索状線維形成を認める部分とが混在しており、切断部より中枢側の神経線維は、術後1週目と同様に軸索の断片状の破壊、吸収、消失がみられ、さらに空胞化しているシュワン鞘が観察された。また末梢側神経組織は変性軸索の吸収、消失が術後1週目より著明であった。

上唇部所見：鍍銀所見；筋層部に存在する太い神経線維束の数は減少し、大部分の神経線維は膨化または念珠状変性を示していた（図9）。また筋線維周囲の神経線維は断裂し、断裂片の顆粒状化も観察された。

組織化学的所見；筋線維中における ChE 活性陽性部の多くは円形ないし橢円形を呈していたが、活性の低下がみられ、周辺および内部ともに一樣に薄く染まっていた。一部では陽性部の周辺が不規則に凹凸を呈し、内部に顆粒状の小泡が出現していた（図10）。

3) 術後3週

神経切断部所見：神経切断端間隙は H-E 染色で、シュワン細胞の増殖により間隙が満たされ、増殖したシュワン細胞の索状線維形成がみられた。鍍銀染色では切断端間隙に、シュワン細胞に沿うように、不規則に蛇行状を示す微細な再生神経線維が一部に観察された。末梢側でも索状線維形成は著明であるが、再生神経線維の出現は認められなかった。

上唇部所見：鍍銀所見；筋層部では対照に多くみられた太い神経線維束はみられず、断裂し顆粒状となった変性残遺物が観察された。しかし変性神経線維あるいは変性残遺物の数は、術後2週目より少なくなっているように思われた。筋線維周囲の神経線維は断裂、あるいは顆粒状の部分もみられたが、変性軸索が吸収され消失している部分もあった。

組織化学的所見；筋線維中における ChE 活性陽性部の多くは円形、橢円形を呈していたが、一部に不定形を呈するものもみられた。ChE 活性は低下し、周辺、内部ともに一樣に薄く染まり、また周辺が不規則に凹凸を呈し、内部の顆粒状の小泡は術後2週目と比べてやや増加していた（図11）。

4) 術後4週

神経切断部所見：神経切断端間隙では鍍銀所見で、微細な再生神経線維が術後3週目よりわずかに増加する傾向がみられ、それら再生神経線維は非常に細い線維であった。また末梢側でも微細な再生神経線維が認められたが、大径のものはなく、再生神経線維の数も少なかった。

上唇部所見：鍍銀所見；筋層部では黒く鍍銀された太い神経線維束はみられず、断裂し小顆粒状の変性残遺物が観察された。また筋線維周囲では変性残遺物がほとんど吸収され消失されていた。

組織化学的所見；筋線維中における ChE 活性陽性部は、対照あるいは術後1週目よりも数の減少を認め、特に円形あるいは橢円形を示した境界の明瞭な、そして ChE 活性陽性部の内部が濃く染まるものは減少し、形は不定形で周辺が不規則であるものが増加していた。また活性の低下が著明で、周辺と内部とがともに薄くしか染まらないものや、内部の染色性が悪く小泡状のものが多く観察された。周辺の一部が崩壊したり、分節を形成

しているものもみられた(図12)。

5) 術後8週

神経切断部所見：神経切断端間隙では不規則で、蛇行状を呈する再生神経線維や、平行に伸長する再生神経線維が、術後4週目よりわずかに多くなっていたが、それらはいまだ微細な神経線維であり、大径の再生神経線維はほとんど観察されなかった。また H-E 染色では小円形細胞浸潤は消失し、長橢円形の核を有するシュワン細胞の索状線維が認められた。末梢側でも再生神経線維が術後4週目よりも増加しているのが観察された。

上唇部所見：鍍銀所見；筋層部の太い神経線維束はほとんど認められず、その変性残遺物が観察され、筋層内およびその周囲には微細な再生神経線維の出現はみられなかった。筋線維周囲では変性残遺物がまだわずかにみられたが、ほとんど吸収、消失していた。

組織化学的所見；筋線維中における ChE 活性陽性部の数はかなり少なくなり、活性度も著しく低下していた。周辺部は崩壊したり、分節を形成し、境界は不明瞭で、わずかに外形をとどめているものや、不正形を呈しているものが多くみられた。また ChE 活性陽性部が小さく、しかも活性の著しく低いものが認められた。

6) 術後12週

神経切断部所見：神経切断端間隙では再生神経線維の数が多くなり、また大径の神経線維の増加傾向がみられた。しかし、その数および太さは後述する神経縫合群、神経移植群と比べて、成熟した大径の神経線維は認められず、またその数も少なく良好な再生状態といえなかった。

上唇部所見：鍍銀所見；筋層部には十分に黒く鍍銀されていないが、微細な再生神経線維が観察された。また筋線維周囲でも微細な再生軸索がわずかに認められた(図13)。

組織化学的所見；筋線維中には再生神経筋終板と思われる活性の比較的高い、境界の明瞭な円形の ChE 活性陽性部が認められたが、これらの直径は小さく、その数も少なかった(図14)。また変性過程にあると思われる境界不明瞭なものや、周辺が不規則なものも観察された。

3. 神経縫合群

1) 術後1週

神経縫合部所見：神経縫合部では小円形細胞の浸潤およびシュワン細胞の増殖がみられ、シュワン細胞は連鎖よりなる索状線維形成を認めるところもあるが、不規則にシュワン細胞が増殖配列されているところも観察された(図15)。また神経切断群と同様に切断面より中枢側3~4mmの範囲に、軸索の断片状の破壊あるいは吸収、消失などの外傷性変化がみられたが、さらに中枢部では、このような変化はなく正常な神経線維が観察された。

上唇部所見：鍍銀所見；筋層部に存在する太い神経線

維束は、膨化、念珠状変性を呈していた。筋線維周囲の神経線維にも膨化あるいは念珠状変性が観察された。

組織化学的所見；筋線維中における ChE 活性陽性部の外形および内部構造は、軽度の活性の低下を示し、活性陽性部の境界は不規則なものも観察された。また活性陽性部の大きさは正常のものに比較してほとんど差異はみられなかった(図16)。

2) 術後2週

神経縫合部所見：神経縫合部では H-E 染色でシュワン細胞の増殖がみられ、それら大部分のシュワン細胞が索状線維形成を示すようになった。また術後1週目より小円形細胞浸潤は減少しているのが観察された。鍍銀所見では神経縫合部の一部に、非常に微細な再生神経線維がシュワン細胞に沿って観察された(図17)。しかし末梢側には再生神経線維は認められなかった。

上唇部所見：鍍銀所見；筋層部における神経線維は膨化あるいは念珠状変性を示し、神経線維束の数は減少していた。筋線維周囲の神経線維では念珠状変性、断裂像が認められた。

組織化学的所見；筋線維中における ChE 活性陽性部では、ほとんどが円形ないし楕円形を呈していたが、活性の低下が術後1週目より進行していた。また陽性境界部の周辺は不規則なものも観察された。

3) 術後3週

神経縫合部所見：神経縫合部での H-E 染色で小円形細胞浸潤は次第に減少し、シュワン細胞の索状線維形成が観察された。鍍銀染色でこれらシュワン細胞の索状線維に沿って、微細な再生神経線維がみられた。再生神経線維は術後2週目と比べて増加する傾向が認められた。また末梢側にも一部に微細な再生神経線維の出現が観察された。

上唇部所見：鍍銀所見；筋層部における神経線維束の数は術後2週目より減少し、神経線維は膨化あるいは念珠状変性を示し、断裂している像もみられた。筋線維周囲の神経線維には対照で認められた線維状の神経線維がみられず、断裂あるいは顆粒状となり、またそれらが吸収され消失していた(図18)。

組織化学的所見；筋線維中における ChE 活性陽性部の多くは、円形、楕円形を示し、一部には不定形を呈しているものも観察された。術後2週目と比較すると活性の低下を認め、周辺、内部とも一様に薄く染まっているものや、内部がやや薄く染まり、同部に顆粒状の小泡を含むものも観察された。また ChE 活性陽性部の周辺は不規則で凹凸を呈しているものが多くみられた(図19)。

4) 術後4週

神経縫合部所見：神経縫合部では鍍銀染色で術後3週目と比較すると、再生神経線維はその数を増しているがいまだに細く、大径の神経線維は観察されなかった。末梢側にも再生神経線維が多くなり、術後3週目よりもや

やその径を増している再生神経線維がみられた。

上唇部所見：鍍銀所見；筋層部では神経線維の数が減少し、断裂像あるいは小顆粒状の変性残遺物を認め、筋線維周囲では形、大きさなど不定な変性軸索の遺物を認めたがほとんど吸収されていた。

組織化学的所見：筋線維中における ChE 活性陽性部は、対照よりも少なくなり、形は円形あるいは楕円形を呈するものよりも不定形の活性陽性部がみられた。ChE 活性は低下し、その周辺は不規則で、内部の染色性が悪く、小泡状のものも観察された。

5) 術後8週

神経縫合部所見：神経縫合部では鍍銀染色で平行に走る部分と、蛇行状に走行する再生神経線維が観察され、それら再生神経線維は成熟して径を増し、術後4週目と比較して大径の神経線維が多くなっているのが観察された(図20)。しかし正常神経組織に匹敵するほどの大径の神経線維は少なかった。また末梢側にも術後4週目と比較して大径の再生神経線維が認められた。

上唇部所見：鍍銀所見；筋層部には微細な再生神経線維が数多くみられた(図21)。また筋線維周囲でも再生軸索が認められ、それらは筋組織に達していた。

組織化学的所見：筋線維中における ChE 活性陽性部は微小ではあるがやや活性が高くなり、その活性陽性部の境界もわずかに明瞭になっていた。また変性過程にあると思われる ChE 活性の低いものや、ChE 活性陽性部の境界不明瞭なものも認められた。

6) 術後12週

神経縫合部所見：神経縫合部では、鍍銀染色で術後8週目よりさらに再生神経線維が数を増し、より成熟し、大径の神経線維もより多く観察され、正常神経組織の像に近づいた。しかし、正常神経組織と比較すれば、再生神経線維の数はまだ少なく、また大径の神経線維も少なかった(図22)。

上唇部所見：鍍銀所見；筋層部では術後8週目より再生神経線維の数が増加していた。術後8週目では神経線維束を形成するものは少なかったが、この時期では神経線維束を形成するものも多く観察された。筋線維周囲での再生軸索は、量的にも増加し、分岐も多く、神経終末の再生は良好であった(図23)。

組織化学的所見：筋組織中には再生神経筋終板と思われる ChE 活性陽性部は、術後8週目に比較して増加していた。またその外形は円形、楕円形のものが多く、不定形のものはほとんど観察されなかった。

4. 神経移植群

1) 術後1週

神経移植部所見：中枢側縫合部では小円形細胞浸潤を認め、シュワン細胞増殖がみられた。シュワン細胞は索状線維形成のみられるところもあった。末梢側縫合部でも小円形細胞浸潤およびシュワン細胞の増殖が認めら

れ、また移植片内部にも小円形細胞浸潤がみられた。中枢側では神経縫合群の場合と同様で、中枢側縫合部より中枢側3～4mmの範囲に軸索の破壊、吸収、消失などの外傷性変化が観察された。

上唇部所見：鍍銀所見；筋層部に存在する太い神経線維束は、膨化、念珠状変性を呈していた(図24)。また筋線維周囲の神経線維にも膨化あるいは念珠状変性を認めた。

組織化学的所見：筋線維中における ChE 活性陽性部の外形および内部構造は、軽度の活性の低下を示し、活性陽性部の境界は不明瞭となり、不規則なものも観察された。

2) 術後2週

神経移植部所見：中枢側縫合部では H-E 染色で小円形細胞の浸潤、シュワン細胞の索状線維形成がみられ、末梢側縫合部ではシュワン細胞の索状線維形成がみられる部分と、不規則にシュワン細胞の増殖がみられる部分とが観察された。鍍銀染色で一部に微細な再生神経線維が中枢側断端より伸長し、中枢側縫合部に進入し始めているのが観察されたが、しかし移植片内部にはほとんど再生神経線維は認められなかった。

上唇部所見：鍍銀所見；筋層部における神経線維束の数は減少しているような観を呈していたが、神経線維は膨化あるいは念珠状変性を示し、筋線維周囲の神経線維では念珠状変性、断裂像が認められた。

組織化学的所見：筋線維中における ChE 活性陽性部では、ほとんどが円形ないし楕円形を呈していたが、術後1週目より活性は低下し、そして陽性境界部の周辺が不規則なものや、活性陽性部の境界の不明瞭なものが観察された(図25)。

3) 術後3週

神経移植部所見：H-E 染色で中枢側縫合部での小円形細胞浸潤は少なくなっていた。末梢側縫合部での小円形細胞浸潤は、術後2週目より減少してはいたが、中枢側縫合部と比較すると著明であった。鍍銀染色で中枢側縫合部より伸長した再生神経線維は、移植神経内部にも観察され、また末梢側縫合部でも、増殖したシュワン細胞に沿って再生神経線維が認められた(図26)。

上唇部所見：鍍銀所見；筋層部における神経線維束の数は、術後2週目より減少しているように観察された。筋線維周囲の神経線維は対照で認められた線維状のものがみられず、断裂あるいは顆粒状の変性残遺物として認められ、一部にはそれが吸収、消失していた。

組織化学的所見：筋線維中における ChE 活性陽性部の多くは、円形、楕円形、また不定形を呈し、術後2週目と比較すると活性の低下を認め、周辺部の境界は不明瞭かつ不規則で凹凸を呈していた。

4) 術後4週

神経移植部所見：中枢側縫合部では鍍銀染色で、再生

神経線維の数は多く観察され、移植神経内部には再生神経線維束が平行に伸長していた (図27)。末梢側縫合部にも微細な再生神経線維が術後3週目と比較すると多くみられ、神経線維の径もわずかに増大しているのが認められた。また末梢側にも再生神経線維が観察された。

上唇部所見：鍍銀所見；筋層部では神経線維の数は減少し、断裂像あるいは小顆粒状の変性残遺物を認め、筋線維周囲では小顆粒状の変性軸索の残遺物がみられたり、あるいはそれが吸収、消失していた。

組織化学的所見；筋線維中における ChE 活性陽性部は、対照よりも少なくなり、形が不定形の活性陽性部が観察された。活性陽性部の周辺は不規則で、ChE 活性も低下し、内部の染色性が悪く、小泡状のものも観察された (図28)。

5) 術後8週

神経移植部所見：中枢側縫合部は鍍銀染色で、大径の再生神経線維がみられ、移植片内部にも術後4週目より大径の神経線維が観察され、神経線維の数も増加していた (図29)。末梢側縫合部では中枢側縫合部ほどの大径の神経線維ではないが、かなり多数のそして径の増大している再生神経線維が認められた (図30)。しかし正常神経組織のような大径の神経組織はほとんどみられなかった。

上唇部所見：鍍銀所見；筋層部では、微細な再生線維あるいは再生神経線維束が観察された。また筋線維周囲でも再生軸索が認められ、それらは筋組織に達していた (図31)。

組織化学的所見；筋線維中における ChE 活性陽性部は小さいけれども、やや活性の高い ChE 陽性部がみられた。その活性陽性部の境界はわずかに明瞭になっていた (図32)。

6) 術後12週

神経移植部所見：中枢側縫合部は鍍銀染色で、平行に伸長する再生神経線維や、蛇行状に走行する再生神経線維が観察され、末梢側縫合部では再生神経線維の量は、中枢側縫合部より少ないけれども、術後8週より大径の神経線維が観察された (図33)。しかし神経縫合群と比較すると末梢側縫合部は、再生神経線維の数は少なく、大径の神経線維も少なかった。また移植神経内部にも、大径の神経線維が平行に走行しているのが認められた。

上唇部所見：鍍銀所見；筋層部においては、術後8週目より再生神経線維の数が増加していた。また筋線維周囲でも再生軸索は、数の増加を認め、分岐も多く観察された。

組織化学的所見；筋組織中には、再生神経筋終板と思われる ChE 活性陽性部が、術後8週目に比べて増加していた。また ChE 活性陽性部の境界は明瞭となり、その外形は円形、楕円形を呈するものが多く観察された

(図34)。

5. 筋電図所見

1) 正常家兎筋電図所見

正常家兎上唇部より得られた誘発筋電図波形では、比較的単純で最大放電振幅 3~4 mV 程度で、潜時は 2.5~3.0 m sec であった (図35)。また安静時における活動電位は全く認められなかった。

2) 神経切断群筋電図所見

顔面神経切断群での術後1週目には安静時に自発放電である fibrillation voltage を認めた (図36)。この fibrillation voltage は単相ないし2相性の波形を示し、振幅は70~200 μ V と小さく、きわめて不規則であった。しかし顔面神経幹部の電気刺激による誘発波は観察されなかった。術後2週目でもほぼ術後1週目と同じような fibrillation voltage を認めた (図37)。術後3週目、術後4週目の所見では、術後1週目、術後2週目の fibrillation voltage と比較すると放電持続時間が短い、70~200 μ V の単相ないし2相性の波形が観察されたが、電気刺激による誘発波は認められなかった。術後8週目でも誘発筋電図はみられず、また自発放電も観察されなかった。術後12週目では、かなり低電位で、波形は比較的複雑な、多相性を示す誘発波が観察され、この時期では安静時に fibrillation voltage は認められなかった (図38)。

3) 神経縫合群筋電図所見

顔面神経縫合群では術後1週目に放電振幅70~200 μ V と小さく、不規則で持続時間は短い、単相ないし2相性の波形が観察された (図39)。しかし顔面神経幹部の電気刺激による誘発波は認められなかった。術後2週目でも誘発筋電図はみられず、安静時に50~200 μ V の単相ないし2相性の波形が観察された。術後3週目、術後4週目においては安静時における自発放電はほとんどみられず、また誘発筋電図も認められなかった。術後8週目、術後12週目では誘発波を認め術後12週目では術後8週目と比較すると誘発波の振幅は増大し、また潜時は短縮する傾向がみられ、対照に類似した波形を認めた (図40, 41)。なお安静時における自発放電は観察されなかった。

4) 神経移植群筋電図所見

顔面神経移植群では術後1週目に不規則な放電振幅70~200 μ V と小さく、持続時間の短い、単相ないし2相性の波形を認めたが、顔面神経幹部の電気刺激による誘発波は観察されなかった。術後2週目でも誘発波は認められず、50~200 μ V の単相ないし2相性の波形を認めた (図42)。術後3週目、術後4週目においては、安静時における自発放電はほとんど観察されず、また誘発波も認められなかった。術後8週目、術後12週目では誘発波を認め、術後12週目では術後8週目と比べて振幅が増大し、潜時の短縮する傾向がみられた (図43, 44)。

IV. 考 察

1. 神経線維の変性と再生について

神経線維を切断または挫滅すると、その切断部、挫滅部の近くでは、傷害変性としての1次変性が起こり、次いで切断された遠位の神経線維には、いわゆるワラー変性⁸²⁾が起こる。またその後、中枢側では時間の経過とともに、外傷性変性部より変性が進行し、逆行性変性が起こる。ワラー変性の出現する時期は、2分以内⁸³⁾、あるいは48時間後^{84~86)}と報告者により異なるが、最初の変性は軸索に起こり、12~48時間内にランヴィエの絞輪にミトコンドリアが集合し、その結果、48時間内に軸索の電子度が高くなることにより、濃縮されるといわれている。髄鞘は48時間位では異常を認めず、3~4日にかけて、層内の分離や変性がみられるようになり、7日後では、原形をとどめないほどに分解すると同時に、この時期での軸索は、消失していると報告されている^{84, 85, 87)}。霜野⁸⁸⁾、松下⁸⁹⁾らは、有髄神経線維の軸索は平均して3~5日で変性崩壊を認め、髄鞘では3~7日目で、変性が現れると報告し、一般的に軸索の変性は、髄鞘の変性より早いと述べている^{40, 41)}。また神経切断後の末梢部における変性について、最も強い変性像を呈する時期は、渡部⁴²⁾は迷走神経および坐骨神経で8日目とし、塚本²¹⁾は顔面神経上唇枝の神経切断縫合を行って、組織学的に検索した結果、術後7日目が最も顕著であり、術後2週目まで続くとしている。また野村⁴³⁾は、切断後放置した顔面神経核の変性は、術後7日目が最も著明であったと報告している。

中枢側では時間の経過とともに、外傷性変性部よりさらに中枢部へ向かって、変性が進行（逆行性変性）することが報告され、この逆行性変性の起こる範囲は、Blümcke ら⁴⁴⁾は切断部位から第1、第2または第3の絞輪まで上行する。すなわち新しい成長円錐ができたところであると述べている。また塚本²¹⁾は5mm以上変性が進んだものは、1例もないと報告している。

本研究でも術後1週目より術後12週目までの全例で、5mm以上変性が進んでいる例はなく、直接の逆行性変性が起こる範囲は、末梢神経線維では非常に限定され、逆行性変性というより、神経切断のための局所傷害変性と考えられた。

中枢側神経線維は切断端より逆行性変性を起こすが、残存している健全な軸索の先端より神経線維の再生を開始するといわれている⁴⁵⁾。神経再生に関しては、Young⁴⁶⁾は神経が切断されると、その断端より細胞が増殖することを報告しているが、その構成細胞はシュワン細胞と線維芽細胞であることを、Murray と Stout⁴⁷⁾、Abercrombie と Johnson⁴⁸⁾ らが組織培養を行い証明している。また荒川⁴⁹⁾のラット脛骨神経切断実験によると、切

断後2日に両神経断端間隙は、フィブリン様物質と組織球で満たされ、時間の経過とともに、フィブリン様物質は次第に縦方向の線状構造になり、切断後4日には、両断端より増殖する細胞がフィブリン様物質に沿って伸長し、両断端を結合するに至ると報告している。

野村⁵⁰⁾は、neural scar の構造に組織学的検索を加えると、楕円形の核をもつ細胞が平行に並び、その間に大型の円形核をもつ細胞がみられるが、これらは組織培養では、それぞれシュワン細胞と線維芽細胞に相当する。このシュワン細胞は索を形成し、神経切断部の両端を連結している。この伸長したシュワン細胞の索が、神経切断部の軸索再生の道になると報告している。また同じ野村⁵⁰⁾によれば neural scar を通過して、末梢側断端に達するまでの時間は scar delay あるいは initial delay とよばれ、その neural scar の性質、距離によって異なるが、実験的に約10日であるとされている。すなわち術後3日には軸索より再生線維が伸長し始め、術後5日より neural scar が両断端間を架橋するが、この時期には再生線維は、neural scar の中に侵入し始める。術後7日には侵入する線維数は増加し、術後10日ごろには再生線維の一部が末梢側断端に到達している。術後14日ごろでは再生線維の増加とともに、再生線維は neural scar 長入点付近で少し乱れ、両断端間のはば中枢側1/3寄り複雑に迂曲し、その後比較的平行に走り、末梢側断端に達すると報告している。再生線維は細胞索に沿って進むといわれ⁵¹⁾、また Nakai と Kawasaki⁵²⁾ は、神経線維はシュワン細胞と特に親和性があることを報告している。Holmes と Young⁵³⁾ は、神経再生で重要なのはシュワン細胞であり、その増殖は神経切断後2~3日より始まり、2~3週で最高に達すると述べている。

本研究でも神経切断群では、術後1週目にシュワン細胞の増殖を認め、術後3週目に一部微細な再生神経線維がみられた。その後、神経線維の数は増加する傾向が認められたが、線維は細く、数も少なかった。神経縫合群では術後2週目に、再生神経線維がみられ、その後再生線維は漸次数の増加と径の増大がみられ、術後12週目には正常神経の像に近づいた。

末梢側 Schwann tube における再生では、Holmes と Young⁵³⁾ は再生軸索は経時的に順調に太くなり、15日で 1.2μ 、25日で 2.3μ 、100日で 7μ になると述べている。松下³⁹⁾は家兎の坐骨神経を切断縫合後、銀染色で10日後には少数の細小な再生神経線維が、縫合部の索状線維に伝わって末梢側に侵入し始め、以後、末梢側に認められる再生神経線維は、漸次多数となり、径も増大すると述べている。しかし塚本²¹⁾は、末梢部における再生線維量は正常な中枢部における線維量には及ばないと報告している。機能回復に基づく再生速度は、Gutmann ら⁵⁴⁾によると挫滅で3mm/日、神経切断縫合後は2mm/日であると、臨床的に有用な報告をしている。また野村⁵⁰⁾

は末梢神経の再生に際して、神経切断後の再生軸索は、次第に成熟し、また軸索尖端が伸長し、終板に選択的に結合することにより、機能的な再生がみられると述べている。Weiss と Campbell⁵⁵⁾ は、筋における神経の機能的再生に関与する因子として、(1) 中枢断端よりの再生線維量、(2) neural scar 中に分散する線維量、(3) 末梢断端に入る線維量、(4) 再生線維の二次的吸収の程度、(5) 神経筋接合部に関与する線維の比率、(6) 筋内の神経線維の拡がりの程度、(7) 筋線維の状態をあげている。Holmes と Young⁵⁸⁾ は、神経縫合の場合、再生に影響する要素な因子は3つあり、(1) 中枢側断端の再生能力、(2) 末梢側断端の再生能力、(3) 両断端の結合力であると述べている。

野村⁵¹⁾は末梢神経を切断し、両神経断端の間隔が2～3 mm 程度では数日で間隔が充填され、外部よりの結合組織の侵入を許さないから、両断端の再生初期のシュワン細胞増殖が妨げられない限り、たとえ通過する線維束間の間隔が広くても、全量としては十分な再生線維が末梢に到達できると述べると同時に、間隔が5 mm 以上になると、シュワン細胞増殖力以上に周囲よりの結合組織の侵入力が強まり、再生線維量は少なくなると報告している。再生軸索はシュワン細胞のない場所へ向かった場合は、ある程度の距離を伸びることができても、結局、結合組織などに妨げられて進行できなくなる。したがって、神経縫合や神経移植を必要とする場合は、遠隔器官に軸索を到達させる道として、神経組織、すなわち Schwann tube が役立つと野村⁵⁰⁾は報告している。

神経縫合法は、再生軸索の通過が容易であるという再生軸索の量的問題と、過誤支配という質的問題により、最近では神経上膜縫合や funicular suture などが広く普及されている⁵⁶⁾。塚本²¹⁾は顔面神経主幹のように直径の太い神経では、funicular suture を考慮しなければならないが、分岐枝のような直径の細い神経では、縫合糸が異物になる危険性があり、神経上膜縫合や、もしそれが不可能ならば、Conley の貫通縫合術で十分であると述べている。

Binns¹⁸⁾ は顔面神経を切断後縫合すると、顔面の運動は6～7週後に回復すると報告し、Boyle¹⁷⁾ は側頭骨外で5～10 mm の切除を行うと、3か月後には9匹のサルのうち7匹に、顔面の運動があらわれるようになったと述べている。また James ら⁵⁷⁾ はイヌの顔面神経を切除し、生存した例では顔面神経機能の回復が認められたと報告している。玉置¹⁹⁾の顔面神経切断後、接着剤による修復実験においては、術後6週目で少数ながら終板が再生し、閉眼半分以上可能なものが30例中18例、術後9週目には閉眼半分以上可能な全例となり、術後13週になると24例に完全閉眼が可能で、残り6例もほとんど閉眼可能であったと述べている。また限上ら²⁰⁾は顔面神経での自家移植実験で、術後90日頃には潜時の遅い、振幅の小

さいスパイク数の少ない誘発波がみられ、術後140日後より閉眼が可能であったと述べている。塚本²¹⁾は顔面神経上唇枝を切断縫合し、再生線維が筋組織に達して、終板を形成するのは術後5週目であると報告している。

本研究においては上唇部の神経線維は、神経切断群の術後1週目にワラー変性を示し、術後12週目には微細な再生神経線維が認められた。神経縫合群、神経移植群では、術後8週目に再生軸索が筋組織に達し、術後12週目では上唇部筋肉での再生は良好で、神経線維は量的に増加し、分岐も多くなっていた。

損傷を受けた神経に対する処置として、その欠損が短い場合には、従来、一般的に行われている神経縫合法により解決されるが、神経欠損の間隔が大きく両断端の接合が不可能な場合、つまり臨床的には外傷などで、神経の一部が欠損している時、あるいは耳下腺手術時、顔面神経が腫瘍と強く癒着しているため、剝離が不可能で、腫瘍と一括して、神経の一部を摘出しなければならない場合には、補填の手段として神経移植が必要となる²¹⁾。顔面神経の神経移植術に用いる移植神経には大耳介神経、外側大腿皮神経、伏在神経などが用いられている⁵⁸⁾。

自家神経移植は Bunnell と Boyes⁵⁹⁾ を始め、多くの成功例が報告されている。Sanders⁶⁰⁾ は自家神経移植の成績を検索した結果、特にすぐれた成績は、手指や顔面神経のごとき細い神経移植の場合であり、太い神経の成績は不良であると述べている。また Brooks⁶¹⁾ は、移植の最大の問題は移植片の脈管再生で、長大な神経片は壊死になりやすいので使用すべきでないと述べている。移植神経の中枢側縫合部では、神経縫合部の線維構造と同様であるが、移植神経の末梢側縫合部は、まったく異なった線維構造であるといわれている。伊与⁶²⁾によれば移植中枢側の縫合部では、中枢側断端が正常軸索よりなっているが、移植神経末梢側縫合部は再生線維よりなり、さらに移植中枢側の縫合部では、再生線維の到達する時間と neural scar 形成の時間とがほとんど同時なので、再生軸索とシュワン細胞の共同編成による線維構造が形成される。これに反し移植神経末梢側縫合部では、再生線維の到達と neural scar 形成との間に、時間的ずれがあるので、縫合部では軸索の到達するまでに、結合組織とシュワン細胞の配列が固定化されるためであると述べている。また、塚本²¹⁾は移植術後10週目において、末梢部は中枢部におけるより平均30.1%の線維が減少し、移植術の場合は、縫合部が2か所のため、末梢部の線維の再生率は、縫合術に比べてかなり低下すると述べている。

本研究でも中枢側縫合部では神経縫合群とはほぼ同じ所見で、末梢側縫合部では術後3週目より微細な再生神経線維を認め、その後神経線維は数と径を増したが、中枢側縫合部と比べると再生神経線維の数は少なく、大径の神経線維も少なかった。

2. 神経筋終板の変化について

ChE の組織化学的証明法としては、チオコリン法としての Koelle と Friedenwald 法⁸²⁾、Koelle 改良法⁸³⁾、Karnovsky と Roots 法⁸⁴⁾ などがあり、チオ酢酸法として Crevier と Bélanger 法⁸⁵⁾、Sávy と Csillik 法⁸⁶⁾ などがある。Karnovsky と Roots⁸⁴⁾ によって発表されたチオコリン法による証明法は多くの利点があり、さらに古川⁸⁰⁾はこの方法に多少の改良を加えてすぐれた結果を得ている。そこで著者も古川⁸⁰⁾の方法を用いて組織化学的な検索を行った。なおヨウ化アセチルチオコリンは非特異的 ChE でも、特異的 ChE、すなわち AChE でも加水分解されるので、これら両酵素の鑑別には、実験方法の項で述べたごとく、非特異的 ChE の抑制剤として DFP を用いた。

運動神経線維とその終末には、ACh とそれを合成するに必要な酵素（コリン-Aチセル酵素）が含まれていることが知られている。またこの組織は ACh を加水分解する強力な酵素をもち、この神経酵素の ChE は神経筋接合部、特にそのシナプス後部に集中しており、その存在は組織化学的方法で容易に示すことができる (Koelle と Friedenwald⁸²⁾)。これらが筋線維の収縮機構において、重要な役割を果たすものであることは明らかにされており、運動神経のインパルスが軸索終板部に達すると、化学的伝達物質である ACh が放出される。この ACh はシナプス間隙を拡散して、筋の終板膜表面にある受容器と結合し、この部位の主として陽イオンに対する透過性を亢進させ、脱分極を起こさせる。これにより筋線維膜にインパルスが発生して筋収縮が起こる。続いて神経筋終板、特にシナプス後部表面に集中して存在する AChE によって、ACh が加水分解され、筋線維の収縮が解放され、同時にシナプス前終末で ACh が再合成される⁸⁵⁾。

神経筋終板における ChE 活性の分布状態や形態、大きさなどは、動物の種類や筋の種類によって異なるといわれている⁸⁶⁾。蓮江²⁶⁾はラット下腿三頭筋の ChE 染色よりみた神経筋終板には、(1)円板状で内部が網目状を呈するもの、(2)全体としてC型に近いもの、(3)一部がちぎれて島嶼状あるいはアメーバ状を呈するもの、(4)構造が一様で全体として楕円形を呈するものがみられたと述べている。Holmstedt⁶⁷⁾、Häggqvist⁶⁸⁾ らによると、神経筋終板には円板状を呈するものと、房状を呈するものとがみられると報告している。また船越²⁵⁾は正常家兎口輪筋では、AChE の高度活性を示す多数の神経筋終板が認められたと述べ、その外形は円形、楕円形、C字形状、不定形などを示し、一般に円形および楕円形を呈するものが多く認められ、円形、楕円形、C字形状のものは、境界は明瞭であるが、不定形を示すものは、境界が不明瞭なものであったと報告している。

本研究における正常家兎口輪筋でも、ChE が高度活性を示す多数の神経筋終板を認め、その外形は円形、楕

円形、C字形状、不定形などを示したが、そのほとんどは円形、楕円形で、境界は明瞭なものであった。

脱神経された神経筋終板の ChE 活性に関する報告は多く、脱神経後、神経筋終板の ChE 活性は長期間認められている。Kupfer⁴⁹⁾ はラットの尺側および正中神経切断後39日で、神経筋終板における ChE は72%減少したと報告しているが、Sávy と Csillik⁷⁰⁾ は同じくラットの腓腹筋脱神経後 5～6 か月でも、ChE 活性の存在を認めている。蓮江²⁶⁾はラット下腿三頭筋完全脱神経後 1 週で、神経筋終板の内部構造が不鮮明となり、その後、経過とともに崩壊し、24 週でも ChE 活性が認められたが、46 週では ChE 活性は証明しえず、筋組織の活性はきわめて高度となり、脂肪組織が増加して、ほとんど結合織に置換されていたと報告している。Carlsson ら⁷¹⁾はネコにおいて脱神経後24～36週で、神経筋終板の残存を認め、Hakelius と Nyström⁷²⁾はネコの腓骨筋脱神経後 7 週でも、かなり高い ChE 活性を示すと述べている。また室⁶⁴⁾は、イスの坐骨神経切断後の神経筋終板における ChE 活性は 2～3 週後では変化がないが、3 か月後ではまばらとなり、形も小さくなったと述べている。Bergner⁷³⁾ はモルモットの腓腹筋で、脱神経後、31 日目に ChE 活性が低下し、38 日目に活性は約半減し、45 日目には 1/4 になると述べている。

一方、神経筋終板の再生に関して、蓮江²⁶⁾は運動神経の部分的切断において、最初は ChE 活性の低下を示すが、12 週後において新生終板をみたと述べている。塚本²¹⁾は家兎の顔面神経上唇枝の切断縫合、および神経移植を行い、術後10週で神経筋終板は、正常形態を示したと報告している。Hines⁷⁴⁾ はラットを用いて、坐骨神経を挫滅し、神経損傷後、20 日目より ChE 活性が再び増加し、60 日目にはほぼ正常に復すると述べ、Csillik と Sávy⁷⁵⁾ の結果では、26～42 日目に再生神経線維が認められるが、いまだ、この時期には神経筋終板の再生像ではなく、150～200 日目で変性した神経終板の近くに直径 2～3 μ の ChE 活性が現れ、次第に対照に近づき、再生過程がみられたと報告している。

本研究における上唇部での神経筋終板は、全期間を通じて完全に消失をきたすことはなく、神経切断群では、術後1週目より ChE 活性の低下が始まり、形態の縮小、境界の不明瞭化、分節形成など種々の形態的变化、ならびにその数の減少が認められた。このような変化は経時的に著明となったが、術後12週目では形態は小さいが、ChE 活性のやや高い神経筋終板が出現した。神経縫合群、神経移植群は術後1週目より ChE 活性の低下が始まり、形態の縮小、境界の不明瞭化などを認め、経時的経過とともに著明となったが、術後8週目には ChE 活性のやや高い、小さな神経筋終板を認め、術後12週目では数の増加、また大きな形態の ChE 活性陽性部が観察された。

3. 筋電図所見について

骨格筋がその運動神経支配を失うと、自発放電を起すという結果を、Brown と Pennybacker⁷⁶⁾ は筋電図上で、fibrillation および fasciculation としてとらえた。この自発放電は神経支配が断絶されてから、どの時期に発現し始め、どの位の期間持続するかについて、多くの報告がなされている⁷⁷⁾。自発放電の開始時間は動物により異なり、家兎では、術後3～7日より自発放電がみられたと報告されている^{78,79)}。蓮江⁸⁰⁾はラット坐骨神経完全切断において、切断後20時間、43時間では筋電図で、安静時自発放電は観察されないが、切断後72時間頃より筋電図上に、安静時自発放電が出現し始めたことと報告している。脱神経筋の自発放電発生についての機序は明らかでないが、流血中の ACh に対して、筋終板の感受性が高まる結果、終板電位が発生し、筋線維の自発放電が起こるといわれている。また ACh に感受性のある場所は、終板付近だけでなく、筋線維の膜全体に広がり、その結果 ACh の感受性が増大すると考えられている⁸⁰⁾。

本研究においては、神経切断後1週目より自発放電を認め、術後3週目、術後4週目でも、術後1週目より放電持続時間は、短い自発放電を認めた。また神経縫合群、神経移植群においても、神経切断群に比べて、安静時に放電持続時間の短い自発放電がみられ、術後2週目まで観察された。

神経縫合後や神経移植後、運動神経では筋電図や運動神経伝導速度の判定などにより、神経再生の状態を知ることができる^{81,82)}。

本研究では顔面神経の活動電位を誘発導出することで、神経再生の状態について調査し、活動電位の出現時期を観察した。これにより再生線維の程度を知ることが可能で、経時的に活動電位波形を調べて、その波形が対照に近くなるほど、神経の再生状態が良好であると考えられることができる。

隈上⁸³⁾は、家兎顔面神経手術後の口輪筋誘発筋電図において、潜時の遅い、振幅の小さな、スパイク数の少ない誘発波を認めたことと報告し、一般にこのような潜時の延長は、再生神経線維が細いことと、再生線維におけるランヴィエ紋輪間距離が短いことによって、インパルスの伝導速度が遅延するためであると考えられている。

Hakelius *ら*⁸⁷⁾ はネコの脱神経後の遊離筋移植において、随意運動時の活動電位は術後4週で出現したが、この時期では、神経再支配の組織化学的所見は観察されず、術後6週において初めてみられることから、運動神経再支配の徴候は、筋電図所見と組織化学的所見とで必ずしも一致しないと述べている。しかし蓮江⁸⁰⁾はラット下腿三頭筋脱神経後の筋電図所見と、神経筋終板における ChE 活性について観察し、ChE 活性度の減少と fibrillation voltage の所見とがほぼ同様な時間的推移を示したと述べている。また船越⁸⁸⁾は唇弁反転術を行い、移

植部における神経組織の変性および再生過程を報告し、術後20日目までは神経筋終板の変化が比較的著明にみられ、一方、筋電図学的にはこの期間、誘発波を認めず、fibrillation voltage のみが出現したが、術後1か月では神経筋終板の再生を思わせる所見がみられ、筋電図では明らかに誘発波を認め、AChE 活性よりみた神経筋終板の変化と、筋電図所見とはほぼ一致する結果を得たと報告している。

本研究においても、組織化学的所見と筋電図所見とはほぼ一致していた。すなわち顔面神経切断群では、術後1週目より安静時に fibrillation voltage を観察し、組織化学的には ChE 活性の低下を認め、術後12週目では筋電図的に誘発波を認め、また組織化学的には神経筋終板の再生を思わせる、ChE 活性の高い陽性部が観察された。神経縫合群、神経移植群では、術後8週目に誘発波を観察し、組織化学的には、神経筋終板の再生を思わせる所見が認められ、術後12週目では ChE 活性は高まり、その数も増え、また筋電図的には波形が増大傾向を示し、神経筋終板の変化と筋電図所見とはほぼ一致していた。

V. 結 論

家兎の顔面神経上唇枝の神経切断、神経縫合および神経移植を施行し、手術部の神経線維の変化を経時的に観察した。また顔面神経上唇枝の支配領域である上唇部での組織学的検索を行い、末梢部上唇部の神経組織の変性および再生過程を追求した。さらに上唇部の誘発筋電図を採取して、運動機能の変化を明らかにし、次のような結果を得た。

1. 顔面神経切断群術後1週目の神経切断端間隙では、シュワン細胞の増殖が認められ、術後3週目には一部微細な再生神経線維がみられた。その後、神経線維の数が増加する傾向を示したが、線維は細く、そしてその数も少なかった。神経縫合群での神経縫合部では、術後1週目にシュワン細胞がみられ、術後2週目には微細な再生神経線維の出現を認め、その後、再生神経線維は、漸次数の増加と径の増大がみられ、術後12週目には正常組織の像に近づき、かなり大径の神経線維となることが観察された。神経移植群での中枢側縫合部では、神経縫合群とはほぼ同じ所見であった。末梢側縫合部では、術後3週目より微細な再生神経線維を認め、その後、神経線維は漸次数と径を増し、大径の神経線維として観察された。しかし中枢側縫合部と比較すると再生神経線維の数は少なく、また大径の神経線維も少なかった。

2. 上唇部の神経線維は、鍍銀法において再神経切断群の術後1週目にワラー変性を示し、術後3週目では変性残遺物が認められ、術後12週目には微細な再生神経線維が認められた。神経縫合群、神経移植群の術後1週目で

も、ワラー変性を示し、術後8週目では再生軸索が筋組織に達し、術後12週目では上唇部筋肉での再生は良好で、神経線維は量的に増加し、分岐も多くなっていた。

3. 上唇部での神経筋終板は、全期間を通じて完全に消失をきたすことはなかった。

神経切断群では術後1週目より、ChE活性の低下が始まり、形態の縮小、境界の不明瞭化などを認め、その数も減少し、それらの変化は経時的に著明となったが、術後12週目では、やや活性の高い、小さなChE活性陽性部が出現した。神経縫合群、神経移植群でも、ChE活性の低下は術後1週目より始まり、形態の縮小、境界の不明瞭化などを認め、経時的経過とともに著明となったが、術後8週目にはChE活性のやや高い、小さな神経筋終板を認め、術後12週目では数の増加と増大を示すようになり、活性度も増強した。

4. 筋電図的には神経切断群の術後1週目より自発放電を認め、術後3週目、術後4週目でも持続時間は短い。自発放電が認められた。術後12週目には電気刺激時に、振幅の低い誘発波を認めた。神経縫合群、神経移植群においても術後1週目に、神経切断群に比べて、放電持続時間の短い自発放電が、安静時にみられた。術後8週、術後12週目には fibrillation voltage は消失し、電気刺激時に誘発波を認め、術後12週目では誘発波は振幅の増大と潜時の短縮を認めた。

稿を終えるに臨み、終始ご指導、ご校閲を賜った、東北歯科大学口腔外科学教室第2講座足立深教授、同口腔病理学教室河原裕憲教授に深謝するとともに、ご懇篤なご助言とご校閲を賜った城西歯科大学口腔外科学教室第1講座角田豊作教授に対し、衷心より感謝致します。また本研究を遂行するにあたり、格別のご教示、ご援助をいただいた東北歯科大学口腔外科学教室第2講座船越良一前教授に対し、深謝の意を表します。さらに数々のご協力をいただいた東北歯科大学口腔外科学教室第2講座の医局員各位に感謝いたします。

なお、本研究の一部は、科学研究費（奨励研究 56770 974）で行われた。

本論文の要旨の一部は、第33回日本口腔科学会総会（昭和54年4月5日）、第11回東北歯科大学学会（昭和54年6月23日）、第24回日本口腔外科学会総会（昭和54年10月5日）、第35回日本口腔科学会総会（昭和56年6月12日）において発表した。

引用文献

- 1) 森本正紀：耳鼻咽喉科学上巻。第2版、医学書院、東京、1968、536頁。
- 2) 北村 武、戸川 清、今野昭義、他：顔面神経麻痺の神経外科的療法。千医会誌 45: 330 1969。
- 3) 養和田寛子：顔面神経麻痺の臨床的研究。耳鼻臨床 62: 735 1969。
- 4) Conley, J.J.: Facial nerve grafting in treatment of parotid gland tumors. Arch Surg 70: 359 1955.
- 5) Conley, J.J.: Facial rehabilitation following radical parotid-gland surgery. Arch Otolaryng 66: 58 1957.
- 6) Conley, J.J.: Facial nerve grafting. Arch Otolaryng 73: 322 1961.
- 7) Lathrop, F.D.: Management of the facial nerve during operations on the parotid gland. Ann Otol 72: 780 1963.
- 8) 北村 武：唾液腺腫瘍。耳喉 41: 797 1969.
- 9) Smith, J.W.: Microsurgery of peripheral nerves. Plast Reconstr Surg 33: 317 1964.
- 10) 伊藤鉄夫、石川文彦：末梢神経の funicular suture に関する実験的研究。整形外科 15: 821 1964.
- 11) 石川文彦：神経縫合法ことに funicular suture 法に関する実験的研究。広大医誌 17: 359 1966.
- 12) 後藤欣生：Funicular suture による自家神経移植の実験的研究。日本外科室函 36: 478 1967.
- 13) Philipeaux, J.M. and Vulpian, A.: Note sur des essais de greffe d'un tronçon du nerf lingual entre les deux bouts du nerf hypoglosse, apres excision d'un segment de ce dernier nerf. Arch Physiol Norm Path 3: 618 1870.
- 14) Sanders, F.K. and Young, J.Z.: The degeneration and re-innervation of grafted nerves. J Anat 76: 143 1941.
- 15) Gutmann, E. and Sanders, F.K.: Functional recovery following nerve grafts and other types of nerve bridge. Brain 65: 373 1942.
- 16) Seddon, H.J.: Nerve grafting. J Bone and Joint Surg 45-B: 447 1963.
- 17) Boyle, W.F.: Facial-nerve paralysis, an experimental investigation of facial-nerve regeneration in monkeys. Laryngoscope 76: 1921 1966.
- 18) Binns, P.M.: Experimental studies of the facial nerve. Trans Amer Acad Ophthal Otolaryng 71: 665 1967.
- 19) 玉置弘光：末梢性顔面神経麻痺の研究。日耳鼻 71: 1220 1968.
- 20) 限上秀伯、佐藤憲生、竹林茂夫：顔面神経切断後の回復過程に関する実験的研究。日耳鼻 73: 83 1969.
- 21) 塚本嘉一：顔面神経修復手術と術後の神経再生に関する実験組織学的研究。日耳鼻 74: 1340 1971.
- 22) Koelle, G.B. and Friedenwald, J.S.: A histochemical method for localizing cholinesterase activity. Proc Soc Exp Biol Med 70: 617 1949.

- 23) Brown, L.M.: A thiocholine method for locating cholinesterase activity by electron microscopy. *Bibliotheca Anat* 2: 21 1961.
- 24) Koelle, G.B.: The histochemical differentiation of types of cholinesterases and their localizations in tissues of the cat. *J Pharmacol Exp Ther* 100: 158 1950.
- 25) Koelle, G.B.: The elimination of enzymatic diffusion artifacts in the histochemical localization of cholinesterases and a survey of their cellular distributions. *J Pharmacol Exp Ther* 103: 153: 1951.
- 26) 蓮江光男: 骨格筋の筋電図と組織像との対比に関する実験的研究. *日整会誌* 38: 335 1964.
- 27) Hakelius, L., Nyström, B. and Stalberg, E.: Histochemical and neurophysiological studies of autotransplanted cat muscle. *Scand J Plast Reconstr Surg* 9: 15 1975.
- 28) 船越良一: 唇弁反転術における移植部の神経組織学的ならびに神経生理学的研究. *歯科学報* 77: 881 1977.
- 29) Karnovsky, M.J. and Roots, L.: A "direct-coloring" thiocholine method for cholinesterases. *J Histochem Cytochem* 12: 219 1964.
- 30) 古川 正: 歯根端病巣における神経線維に関する病理組織学的研究. *歯科学報* 68: 1175 1968.
- 31) Koelle, G.B., Davis, R. and Gromadzki, C.G.: Electron microscopic localization of cholinesterases by means of gold salts. *Ann N Y Acad Sci* 144: 613 1967.
- 32) Waller, A.: Experiments on the section of the glossopharyngeal and hypoglossal nerves of the frog, and observations of the alterations produced thereby in the structure of their primitive fibres. *Phil Trans Roy Soc Lond* 140: 423 1850.
- 33) Williams, P.L. and Hall, S.M.: Chronic wallerian degeneration-an in vivo and ultrastructural study. *J Anat* 109: 487 1971.
- 34) Nathaniel, E.J.H. and Pease, D.C.: Degenerative changes in rat dorsal roots during wallerian degeneration. *J Ultrastruct Res* 9: 511 1963.
- 35) O'Daly, J.A. and Imaeda, T.: Electron microscopic study of wallerian degeneration in cutaneous nerves caused by mechanical injury. *Lab Invest* 17: 744 1967.
- 36) Vial, J.D.: The early changes in the axoplasm during wallerian degeneration. *J Biophysic Biochem Cytol* 4: 551 1958.
- 37) Webster, H.D.: Transient, focal accumulation of axonal mitochondria during the early stages of wallerian degeneration. *J Cell Biol* 12: 361 1962.
- 38) 霜野良男: 神経組織の螢光顕微鏡的観察. *京都府医大誌* 59: 887 1956.
- 39) 松下正義: 末梢神経の切断による神経線維の変性及び再生に関する病理組織学的並びに電子顕微鏡的研究. *岡医会誌* 71: 8253 1959.
- 40) Cravioto, H.: Wallerian degeneration, ultrastructural and histochemical studies. *Bull Los Ang Neurol Soc* 34: 233 1969.
- 41) Ohmi, S.: Electron microscopic study on wallerian degeneration of the peripheral nerve. *Z Zellforsch* 54: 39 1961.
- 42) 渡部龍一, 佐藤敏夫, 伊藤 司: 末梢神経線維の髄鞘変性に関する実験的研究. *福島医誌* 6: 131 1956.
- 43) 野村 侃: 家兎顔面神経切断接合の顔面神経核細胞への影響. *日耳鼻* 79: 492 1976.
- 44) Blumcke, S., Niedorf, H.R. and Rode, J.: Axoplasmic alterations in the proximal and distal stumps of transected nerves. *Acta Neuropath* 7: 44 1966.
- 45) 岡本道雄, 中村泰尚, 今泉正充: 末梢神経の構造. *最新医学* 23: 2240 1968.
- 46) Young, J.Z.: The functional repair of nervous tissue. *Physiol Rev* 22: 318 1942.
- 47) Murray, M.R. and Stout, A.P.: Schwann cell versus fibroblast as the origin of the specific nerve sheath tumor, observations upon normal nerve sheaths and neurilemmomas in vitro. *Amer J Path* 16: 41 1940.
- 48) Abercrombie, M. and Johnson, M.L.: The outwandering of cells in tissue cultures of nerves undergoing wallerian degeneration. *J Exp Biol* 19: 266 1942.
- 49) 荒川弥二郎: 末梢神経縫合術に関する基礎的研究. *十全医会誌* 74: 121 1966.
- 50) 野村 進: 末梢神経の再生. *日整会誌* 53: 105 1979.
- 51) 野村 進: 末梢神経損傷に対する手術術式の検討. *整形外科* 18: 1242 1967.
- 52) Nakai, J. and Kawasaki, Y.: Studies on the mechanism determining the course of nerve fibers in tissue culture. *Z Zellforsch* 51: 108 1959.
- 53) Holmes, W. and Young, J.Z.: Nerve regeneration after immediate and delayed suture. *J Anat* 77: 63 1942.
- 54) Guttman, E., Guttman, L., Medawar, P.B. and Young, J.Z.: The rate of regeneration of nerve. *J Exp Biol* 19: 14 1942.
- 55) Weiss, P. and Campbell, C.J.: Nerve fiber counts and muscle tension after nerve regeneration in the rat. *Amer J Physiol* 140: 616 1944.
- 56) 彦坂一雄: 末梢神経再生に関する実験的研究, 縫合部における神経束断端の適合性について. *日整会誌* 53: 1547 1979.

- 57) James, A.G., Karlan, M., Kinsey, D.L. and Meagher, J.M.: Spontaneous regeneration of the seventh nerve. *Arch Surg* 81: 223 1960.
- 58) 柳原尚明: 顔面形成外科, 第1版, 医学書院, 東京, 1973, 450頁.
- 59) Bunnell, S. and Boyes, J.H.: Nerve grafts. *Amer J Surg* 44: 64 1939.
- 60) Sanders, F.K.: The repair of large gaps in the peripheral nerves. *Brain* 65: 281 1942.
- 61) Brooks, D.: The place of nerve-grafting in orthopaedic surgery. *J Bones and Joint Surg* 37-A: 299 1955.
- 62) 伊与曉洋: 末梢神経縫合術の研究, 特に縫合部に於ける微細構造と機能再生との関係, 中部整災誌 10: 552 1967.
- 63) Crevier, M. and Bélanger, L.F.: Simple method for histochemical detection of esterase activity. *Science* 122: 556 1955.
- 64) Sávy, G. und Csillik, B.: Beiträge zur methodik der histochemischen cholinesterase-reaktion. *Acta Histochem* 6: 307 1959.
- 65) Katz, B. (佐藤昌康監訳): 神経, 筋, シナプス. 第1版, 医歯薬出版, 東京, 1973, 99頁.
- 66) 室 隆雄: 神経体液学説に関する研究. 末梢神経および血管系における cholinesterase 活性分布について, 日新医学 47: 812 1960.
- 67) Holmstedt, B.: A modification of the thiocholine method for the determination of cholinesterase. *Acta Physiol Scand* 40: 331 1957.
- 68) Häggqvist, G.: Cholinesterases and innervation of skeletal muscles. *Acta Physiol Scand* 48: 63 1960.
- 69) Kupfer, C.: Histochemistry of muscle cholinesterase after motor nerve section. *J Cell Comp Physiol* 38: 469 1951.
- 70) Sávy, G. and Csillik, B.: The effect of denervation on the cholinesterase activity of motor end plates. *Acta Morph Acad Sci Hung* 6: 289 1959.
- 71) Carlsson, C.A., Bolander, P. and Sjöstrand, J.: Biochemical and histochemical changes in the feline gastrocnemius muscle during regeneration of ventral roots. *J Neurol Sci* 14: 95 1971.
- 72) Hakelius, L. and Nyström, B.: Histochemical studies of end-plate formation in free autologous muscle transplants in cats. *Scand J Plast Reconstr Surg* 9: 9 1975.
- 73) Bergner, A.D.: Histochemical demonstration of the effect of nerve section on cholinesterase activity at motor end plate in the gastrocnemius muscle of the guinea-pig. *Brit J Exp Path* 38: 160 1957.
- 74) Hines, M.: A histochemical study of the localization of cholinesterase in skeletal muscle during its regeneration. *Anat Rec* 138: 283 1960.
- 75) Csillik, B. und Sávy, G.: Die regeneration der subneuralen apparate der motorischen endplatten. *Acta Neuroveget* 19: 41 1958.
- 76) Brown, D.D. and Pennybacker, J.B.: Fibrillation and fasciculation in voluntary muscle. *Brain* 61: 311 1938.
- 77) Sunderland, S.: Nerves and nerve injuries. ed 2, Churchill Livingstone Co, London, 1968, p 251.
- 78) Feinstein, B., Pattle, R.E. and Weddell, G.: Metabolic factors affecting fibrillation in denervated muscle. *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 8: 1 1945.
- 79) Robert, E.D. and Oester, Y.T.: Nerve impulses trophic effect, absence of fibrillation after prolonged and reversible conduction block. *Arch Neurol* 22: 57 1970.
- 80) 久保田 鏡: 生理学大系Ⅶ. 第1版, 医学書院, 東京, 1976, 333頁.
- 81) 西堀 実: 末梢神経再生の老若の差異に関する実験的研究 (電気生理学的研究). 昭和医会誌 35: 235 1975.
- 82) 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. 歯科学報 78: 961 1978.

図の説明

- 図 1 本実験で用いた手術用顕微鏡
- 図 2 神経縫合時の所見
- 図 3 電気刺激装置およびメディカルオシロスコープ
- 図 4 対照：筋線維周囲の神経線維（鈴木氏鍍銀法，×200）
- 図 5 対照：筋層における多数の ChE 活性陽性部（Karnovsky-Roots 法，×200）
- 図 6 神経切断群：術後1週，神経切断端間隙（H-E 染色，×100）
- 図 7 神経切断群：術後1週，筋層中における膨化，念珠状変性を呈する神経線維束（鈴木氏鍍銀法，×200）
- 図 8 神経切断群：術後1週，周辺の不規則な ChE 活性陽性部（Karnovsky-Roots 法，×400）
- 図 9 神経切断群：術後2週，筋層において膨化，念珠状変性を呈する神経線維束（鈴木氏鍍銀法，×200）
- 図 10 神経切断群：術後2週，周辺の凹凸を呈する ChE 活性陽性部（Karnovsky-Roots 法，×400）
- 図 11 神経切断群：術後3週，大きさの縮小，活性低下を示す ChE 活性陽性部（Karnovsky-Roots 法，×400）
- 図 12 神経切断群：術後4週，分節を形成する ChE 活性陽性部（Karnovsky-Roots 法，×400）
- 図 13 神経切断群：術後12週，筋線維周囲の微細な再生軸索（鈴木氏鍍銀法，×200）
- 図 14 神経切断群：術後12週，再生 ChE 活性陽性部（Karnovsky-Roots 法，×400）
- 図 15 神経縫合群：術後1週，神経縫合部（H-E 染色，×100）
- 図 16 神経縫合群：術後1週，活性の低下を示す ChE 活性陽性部（Karnovsky-Roots 法，×400）
- 図 17 神経縫合群：術後2週，神経縫合部（Holmes 鍍銀染色，×100）
- 図 18 神経縫合群：術後3週，筋層において膨化，念珠状変性を呈する神経線維束（鈴木氏鍍銀法，×200）
- 図 19 神経縫合群：術後3週，内部に染色性が悪い ChE 活性陽性部（Karnovsky-Roots 法，×400）
- 図 20 神経縫合群：術後8週，神経縫合部（Holmes 鍍銀染色，×100）
- 図 21 神経縫合群：術後8週，筋層における神経線維束（鈴木氏鍍銀法，×200）
- 図 22 神経縫合群：術後12週，神経縫合部（Holmes 鍍銀染色，×100）
- 図 23 神経縫合群：術後12週，筋線維周囲での再生神経線維（鈴木氏鍍銀法，×200）
- 図 24 神経移植群：術後1週，筋層において膨化を呈する神経線維束（鈴木氏鍍銀法，×200）
- 図 25 神経移植群：術後2週，周辺が不規則な ChE 活性陽性部（Karnovsky-Roots 法，×400）
- 図 26 神経移植群：術後3週，神経移植部（Holmes 鍍銀染色，×100(上)・×200(下)）
- 図 27 神経移植群：術後4週，中枢側縫合部（Holmes 鍍銀染色，×100）
- 図 28 神経移植群：術後4週，内部の染色性が悪い ChE 活性陽性部（Karnovsky-Roots 法，×400）
- 図 29 神経移植群：術後8週，神経移植部（Holmes 鍍銀染色，×100）
- 図 30 神経移植群：術後8週，末梢側縫合部（Holmes 鍍銀染色，×100）
- 図 31 神経移植群：術後8週，筋線維周囲の微細な再生軸索（鈴木氏鍍銀法，×200）
- 図 32 神経移植群：術後8週，再生 ChE 活性陽性部（Karnovsky-Roots 法，×400）
- 図 33 神経移植群：術後12週，末梢側縫合部（Holmes 鍍銀染色，×100）
- 図 34 神経移植群：術後12週，再生 ChE 活性陽性部（Karnovsky-Roots 法，×400）
- 図 35 対照における誘発筋電図（／：刺激）
- 図 36 神経切断群：術後1週，fibrillation voltage
- 図 37 神経切断群：術後2週，fibrillation voltage
- 図 38 神経切断群：術後12週，誘発筋電図（／：刺激）
- 図 39 神経縫合群：術後1週
- 図 40 神経縫合群：術後8週，誘発筋電図（／：刺激）
- 図 41 神経縫合群：術後12週，誘発筋電図（／：刺激）
- 図 42 神経移植群：術後2週
- 図 43 神経移植群：術後8週，誘発筋電図（／：刺激）
- 図 44 神経移植群：術後12週，誘発筋電図（／：刺激）