顔面神経損傷後の回復過程に関する実験的研究

佐々木研一・松田康男・野間弘康

An experimental study on regenerating of facial nerve after injury

Kenichi SASAKI・Yasuo MATSUDA・Hiroyasu NOMA

I. 緒 言

口腔外科領域において顔面外傷や耳下腺腫瘍切除術後の顔面神経麻痺は、日常の臨床でしばしば経験することである。顔面神経麻痺は、顔面に醜形をきたし、患者の日常生活に大きな支障をきたす。そのような障害から患者を救う最良の方法は、外科的な顔面神経の修復である。従来より顔面神経損傷の修復に関する実験的研究は多数みられるが¹⁻⁵⁾、その多くは組織学的、あるいは電気生理学的な一面のみの実験であり、顔面神経再生を形態と機能の両面から追求したものは少ない。また顔面神経が運動神経であるということから、筋電図と神経再生について検索しているものもある⁶⁻¹¹⁾。しかしながら、筋電図から得るデータと神経線維再生を比較することは、直接に神経の再生を反映しない。そこでわたくしたちは、神経の機能的回復状態を記録する方法で、客観的かつ再現性が高いと評価されている神経最大伝導速度¹²⁾を検索するため、顔面神経活動電位を記録し、また組織学的方法として神経線維直径分布ヒストグラムを作製し、両者を比較検討した。

II. 研究材料および研究方法

1. 研究材料

実験動物には体重 3 kg 前後の雄の家兎を使用した。家兎購入後、固形飼料（オリエンタル社製、RC-4）と水道水で1週間飼育し、異常のないもの 33 羽を使用した。縫合材料には、atraumatic needle 付の吸収性縫合糸である 10-0 P.G.A. (polyglycolic acid) 縫合糸を使用した。縫合糸は、DAVIS+GECK 社より提供され

た monofilament のものを用いた。

2. 研究方法

1) 手術方法

pentobarbital (0.5 mg/kg) 静脈麻酔下に家兎の両側顔面を剃毛消毒し、2% xylocaine® 液で麻酔後、耳下腺部皮膚に切開を加え、ステノン氏管を損傷しないように皮下剥離した。次いで顔面神経本幹を確認後、実体顕微鏡下に microsurgical instruments を用いて茎乳突孔部までこれを追求し、茎乳突孔より 5~7 mm 遠位で神経幹を鋭的に切断した。これをただちに 10-0, P.G.A. 縫合糸にて 3~4 糸神経上膜縫合を行った。同様の手術を両側に行い経日的（手術 6, 8, 10, 12, 16, 20, 24 週後）に右側を電気生理学的、左側を組織学的に観察した。

2) 観察方法

(1) 電気生理学的観察

術後各週例について、保温加湿箱 (30°C) を用いて右側顔面神経を実体顕微鏡下に迅速に剖出し、刺激電極として直径 0.2 mm 銀製針電極を茎乳突孔部の顔面神経幹に、次に誘導電極として刺激部位より約 50 mm 遠位の頬枝上に直径 0.5 mm 銀製分極鉤電極を設置し、顔面神経の誘発活動電位 (nerve action potential, 以下 N.A.P. と略す) を双極誘導にて導出した (図 1)。刺激・誘導電極とも個々の電極間距離は 3 mm とした。潜時は刺激の artifact より、N.A.P. の立ち上がりまでとし、伝導距離は刺激電極の陰極から、誘導電極の刺激電極に近い側の電極までとし、剖出した神経において 1/10 mm まで正確に計測した。そして伝導速度を潜時と伝導距離より算出した。N.A.P. 確認にあたっては、筋電図を除去するため塩化スキサメトウムを投与し、純粋な N.A.P. であることを確認した。刺激装置には、三栄測器社製 electrostimulator 3 F31 を使用した。N.A.P. は岩崎通信社製シンクロスコープ SS-5004 と前置増幅器に三栄測器社製 biophysigraph 180 system を使用し、単掃引したものをシンクロスコープ用ポラロイドカメラ UP-11 にて記録した。刺激としては、矩形波電気刺激を用い、刺激持続時間 0.1 msec, supramaximam と

東京歯科大学第 1 口腔外科

(主任：野間弘康教授)

The First Department of Oral and Maxillofacial
Surgery, Tokyo Dental College (Chief: Prof.
Hiroyasu Noma)

受付日：昭和 57 年 12 月 6 日

図1 神経活動電位刺激・記録部位

した。ただし3 V以上の電圧はほとんど必要としなかった¹³⁾。

(2) 病理組織学的観察

N.A.P. 測定後、ただちに両側の総頸動脈より10%中性緩衝ホルマリン液にて灌流固定し、さらに断頭後同液に1週間浸漬固定した。固定完了後、左側の顔面神経の神経縫合部より、45 mm 遠位部を周囲組織とともに切り出し、通法に従いパラフィン包埋した。これより厚さ4 μ の神経横断切片を作製した。切片には H-E 染色、H・L.F.B. 染色、L.F.B. Holms 鍍銀染色を施し、神経線維の再生状態を経時的に観察した。また同切片内の神経線維の直径を計測し、各週例について神経線維直径分布ヒストグラムを作製した。

III. 結 果

1. 電気生理学的所見

図2は、N.A.P. の経時的变化を示したものである。正常例では潜時は短く波形は振幅の大きい2相性を呈した。6週例において N.A.P. は出現しなかったが、8週例では潜時の長い多数峰分かれた低電位の N.A.P. が得られた。10週例では、潜時はやや短縮し、振幅の増大がみられた。以後、12、16、20、24週後と経時的に潜時の短縮および振幅の増大傾向を示した。表1は N.A.P. の各計測結果をまとめたものである。明らかに最大伝導速度の増大が認められた。なお顔面神経の最大伝導速度の変化を図3に示す。黒丸は各週例の実測値を示したものであり、折れ線はそれらの平均値を結んだものである。手術8週後から手術12週後までの初期における平均最大伝導速度の増加率は顕著であるが、それ以後の曲線の傾斜は緩やかである。しかし手術24週後でもプラトーにはならず、以後も伝導速度はある程度増大を続けると

推測される。

2. 病理組織学的所見

縫合部より45 mm 遠位の神経横断切片について検索した。

正常神経：4～5 μ の神経線維が多くみられ、髄鞘は厚く、いわゆる車軸構造を呈する有髄神経線維が観察され、軸索は太くほぼ同じ径であった(図4, 5)。

手術6週後例：多数の細い軸索がみられ、その周囲には多数のシュワン細胞が存在していた。髄鞘の発達が悪く、染色性に乏しかった。また髄鞘のなかには4～5本の細い軸索が認められたが、無髄の軸索も多数観察された(図6, 7)。

手術8週後例：髄鞘の染色性は増し、手術6週後と比較すると髄鞘の発達が著明であったが、正常神経線維に比べると非常に細かった。1本の髄鞘内には数本の細い軸索をもつ線維を多数認めたが、1本の髄鞘内の軸索数は手術6週後より減少していた(図8, 9)。

手術10週後例：再生神経線維の直径の増加が明瞭となってきたが、髄鞘の直径は正常群と比較するとはるかに小さく、やはり1～2 μ がその大半を占めていた。1本の髄鞘内に数本の軸索を含むものもあるが、太い1本の軸索だけになったものも数多く認められた(図10, 11)。

手術12週後例：太い再生神経線維が増加していた。ほとんどの髄鞘内には、それぞれ太い軸索が1～2本認められ、髄鞘の染色性もよくなった(図12, 13)。

手術16週後例：再生神経線維はさらに太くなり、髄鞘厚を増し、染色性も良好であった。軸索はさらに太くなり、1本の髄鞘内に1本の軸索のものが大半であった(図14, 15)。

手術20週後例：非常によく成長した髄鞘をもつ神経線維が大半を占めているが、薄い髄鞘をもった細い再生神経線維も散在していた。同時に車軸構造もみられるよう

図 2 顔面神経活動電位の経時的変化

表 1 神経活動電位計測値

		潜 (m sec) 時	伝導距離 (mm)	最大伝導速度 (m/sec)	最大伝導速度平均値 (m/sec)
対照例	a	0.5	50.0	100.0	89.8±5.4
	b	0.6	52.0	86.6	
	c	0.7	60.0	85.7	
	d	0.6	54.6	91.0	
	e	0.6	51.5	85.8	
手術後 6 週例	a	—	—	—	—
	b	—	—	—	
手術後 8 週例	a	2.1	56.0	26.6	24.1±3.0
	b	2.2	45.0	20.4	
	c	2.2	48.0	21.8	
	d	1.8	50.0	27.7	
手術後 10 週例	a	1.4	51.0	36.4	32.1±2.7
	b	1.6	47.0	29.3	
	c	1.6	48.0	30.0	
	d	1.4	46.0	32.8	
手術後 12 週例	a	1.5	48.0	32.0	35.5±4.2
	b	1.2	48.3	40.2	
	c	1.6	49.0	30.6	
	d	1.3	51.0	39.2	
手術後 16 週例	a	1.4	54.0	38.5	39.7±3.9
	b	1.1	49.0	44.5	
	c	1.3	55.0	42.3	
	d	1.4	46.0	32.8	
	e	1.3	53.0	40.7	
手術後 20 週例	a	1.1	52.0	47.2	44.6±3.1
	b	1.1	53.5	48.6	
	c	1.2	51.0	42.5	
	d	1.0	45.0	45.0	
	e	1.1	44.0	40.0	
手術後 24 週例	a	1.1	55.6	50.5	50.2±4.8
	b	1.0	58.0	58.0	
	c	1.0	47.0	47.0	
	d	0.9	41.0	45.5	

になった。軸索の直径はさらに増大しているが、細い軸索も少数ながら認められた (図16, 17)。

手術24週後例：神経線維の太いものは、正常群のそれに近く、髄鞘厚も非常に厚く、ほとんどの髄鞘に車軸構造が認められた。また、染色性も良好であった。軸索の直径も増大していたが、正常群と比較するといまだ小さかった (図18, 19)。

3. 神経線維直径分布ヒストグラム

顔面神経に含まれる神経線維の太さとその百分率を図20に示す。

正常神経：神経線維 4,425 本について計測した結果、4~5 μ 径線維が 36.1% と最も多く、次いで 3~4 μ で 31.8%，さらに 5~6 μ が 18.1% であった。最も直径の大きな線維は 8~9 μ で、わずかに 0.05% であった。直径の分布範囲は 1~9 μ であり、4~5 μ 径をピークに

図 3 最大伝導速度の経時的変化

ほぼ正規分布をなしていた。

手術6週後例：再生有髄神経線維がきわめて少なく，計74本計測し得た結果，1～2 μ 径が最も多く，58.1%，次いで1 μ 未満が33.8%であり，分布範囲は1 μ 未満～4 μ であった。

手術8週後例：再生神経線維3,240本を計測した。そのうち，1～2 μ が最も多く54%であり，次いで2～3 μ が26.9%，分布範囲は1 μ 未満～6 μ で，ヒストグラムは左方偏位を呈した。

手術10週後例：再生神経線維2,683本計測中，1～2 μ が50.8%で，手術8週後に比べて減少していた。また3～4 μ 径線維は7.0%と増加していた。

手術12週後例：再生神経線維4,615本を計測した。直径3 μ 以下の線維はいずれも減少していた。3～5 μ 径線維は増加しており，分布範囲は径1 μ 未満～7 μ であった。

手術16週後例：再生神経線維5,087本を計測し，径2 μ 未満の線維は減少していたが，2～3 μ 径線維は手術

図 4 正常家兎顔面神経の H.L.F.B. 染色標本（横断面）強拡大

図 5 正常家兎顔面神経の L.F.B. Himes 鍍銀染色（横断面）強拡大

図 6 手術6週後例の H.L.F.B. 染色（横断面）強拡大

図 7 手術6週後例の L.F.B.Himes 鍍銀染色（横断面）強拡大

図 8 手術8週後例の H・L.F.B. 染色 (横断面)
強拡大

図 9 手術8週後例の L.F.B. Homes 鍍銀染色 (横断面) 強拡大

図 10 手術10週後例の H・L.F.B. 染色 (横断面)
強拡大

図 11 手術10週後例の L.F.B. Homes 鍍銀染色 (横断面) 強拡大

図 12 手術12週後例の H・L.F.B. 染色 (横断面)
強拡大

図 13 手術12週後例の L.F.B. Homes 鍍銀染色 (横断面) 強拡大

図 14 手術16週後例の H・L.F.B. 染色 (横断面)
強拡大

図 15 手術16週後例の L.F.B. Homes 鍍銀染色
(横断面) 強拡大

図 16 手術20週後例の H・L.F.B. 染色 (横断面)
強拡大

図 17 手術20週後例の L.F.B. Homes 鍍銀染色
(横断面) 強拡大

図 18 手術24週後例の H・L.F.B. 染色 (横断面)
強拡大

図 19 手術24週後例の L.F.B. Homes 鍍銀染色
(横断面) 強拡大

図 20 神経線維直径分布ヒストグラム

8週後例とほとんど同率であった。また3~7 μ 径線維は増加していた。

手術24週後例：再生神経線維4,625本を計測し、径2 μ 未満の線維はやはり減少していたが、2~3 μ 径には変化がなかった。3~6 μ 径は増加していた。

手術24週後例：再生神経線維3,526本を計測した。径1~2 μ の線維は減少していたが、径2~3 μ の線維は手術8週後例とほとんど差はなかった。また最大径線維と同径の線維まで出現し、5~7 μ 径線維も増加していた。ヒストグラムのピークは、1~2 μ 径であり正常群の分布と異なって依然として左方偏位したままであった。

IV. 考 察

運動神経の電気生理学的方法には、筋電図がよく用いられる。しかし筋電図は、神経、神経筋接合部、筋の要素が加わるため、神経自体の回復過程を検索するには不向きである。そこでわたくしたちは、より純粋に神経の回復過程を観察するために顔面神経の最大伝導速度と組織学的方法をあわせて用いて実験を行い、その結果について以下に考察する。

1. 顔面神経の最大伝導速度について

神経最大伝導速度は神経線維の直径によって左右されるといわれている。これは太い神経線維ほど、ランヴィエ絞輪間距離が長くなり、輪間節の数が減るため跳躍伝導の際に細いものよりも速く伝わるからである。わたくしたちが今回記録したN.A.P.は、複合活動電位であり、求めた最大伝導速度は1本の神経幹のなかで最も太い線維群のものであろう。また複合活動電位であるため、手術8週後例のように波形は峰分かれた複雑な形を呈するものもあったが、経日的に波形は単純化していった。神経最大伝導速度も手術8週後例では、平均24.1 m/secであったものが、経日的にしかも初期（手術8~12週後）には急速に回復した。以後、漸増し手術24週後では平均50.2 m/secまで回復した。正常顔面神経最大伝導速度は、89.8 m/secであり、手術24週後における回復率は約55.9%であった。斉藤¹⁴⁾は、成犬の知覚神経を用いた神経縫合実験で、初期に神経伝導速度の急激な回復傾向を認めている。さらに縫合後24週では、正常伝導速度の約45%に達するが以後は遅々としており、2年6か月を経過しても正常伝導速度の約50%に達するのみであったと述べている。また大湊¹⁵⁾は、家兎の脛骨神経、腓骨神経を用いて圧挫後の伝導速度回復を検索している。わたくしたちや斉藤の結果と同じく、初期には急速に回復し、180日で55~60%回復したと述べている。わたくしたちとは実験条件が異なるため、一概には比較できないものの、伝導速度の回復は、彼らの実験結果とはほぼ同じ傾向にあり、時期を経ても完全な回復は難しい

と思われる。

2. 顔面神経の最大伝導速度と神経線維直径分布ヒストグラムの関係について

神経線維直径分布ヒストグラムでは、最大伝導速度の回復が著明な手術8週後と手術10週後を比較すると、手術8週後にみられる峰分け波形は、遅い伝導速度の細い神経線維に混入して、速い伝導速度の太い神経線維が伸長してきたためで、ヒストグラムも1~2 μ 径線維が圧倒的に多いが、太いものは5~6 μ 径線維まで及んだ。手術10週後では、波形は単純化して峰分かれは認められず、最大伝導速度は上昇していた。この群のヒストグラムでは、1 μ 未満~6 μ までの線維で占められているが、太い線維の割合が増加している。しかし、手術12週以後の最大伝導速度の回復は緩徐であり、神経線維直径分布ヒストグラムにおいても太い神経線維の増加は鈍化していく傾向がみられた。また、手術12週を境に径2 μ 以下の神経線維は減少していくが、径3 μ 以上の神経線維は増加を続けて、徐々に正常神経線維直径分布ヒストグラムに近づいていった。全群を通じて2~3 μ 径線維は相対的に変化しなかった。これは、1~2 μ 径線維が2~3 μ 径へ、2~3 μ 径のものは、3~4 μ 径へと発育増大することを示していると思われ、塚本¹⁾も同様のことを示唆している。

Sanders と Whitteridge (1946)¹⁶⁾、Gasser と Erlanger (1927)¹⁷⁾、Pumphrey と Young (1938)¹⁸⁾、Hursh (1939)¹⁹⁾、斉藤 (1971)¹⁴⁾、大湊 (1970)¹⁵⁾は、伝導速度と神経線維直径とは相関関係にあることを述べている。また、当教室の松田²⁰⁾も、神経最大伝導速度は特に髄鞘再生と平行して回復したと述べており、伝導速度と神経線維直径との相関関係を指摘している。わたくしたちも今回の実験で同様の結果を得、そのなかでも最大伝導速度は、太い線維の影響を強く受けているように思われた。また、Gutmann および Sanders²¹⁾は、単なる圧迫による axonotmesis では fiber spectrum は受傷後200日で回復したが、神経縫合後では1年を経過しても正常には回復しなかったと述べている。さらに Peterson²²⁾によると、髄鞘の形成は108日以上も続くとしている。わたくしたちも手術24週後まで追跡した結果、再生神経線維直径分布ヒストグラム、および最大伝導速度は以後も徐々に回復していくが、ともに正常には復さないように思われた。

3. 神経再生の形態学的経過について

形態学的には、手術6週後に多数のシュワン細胞を認めた。これらのシュワン細胞は、Büngnersche Bandfasern²³⁾を形成していたものと思われる。また、この時期の髄鞘形成は乏しく、1本の髄鞘内に多数の細い軸索が認められた。これは効率よく再生するために、切断された軸索断端から多数の軸索が発芽している状態である。これら軸索は、やがて目的の終末器官へ到達すると1本

だけを残し、他は消失する²⁴⁾。手術8～10週後の所見が、この時期に相当すると思われる(図9, 11)。以後、軸索は徐々に径を増していった。一方、髓鞘の形成について杉田²⁵⁾は、ラット下歯槽神経を用いて出生直後から経目的に観察し、次の2時期に分類した。第1期を a burst of activity が、trigger されて一挙に大量の髓鞘を形成する時期、第2期は軸索直径の増加も加わって、髓鞘の厚みの増加と軸索直径の増加が調和を保って行われる時期であるとした。わたくしたちは顔面神経の再生について観察したが、杉田の所見と類似した所見を得た。すなわち、手術8週後は髓鞘形成が盛んに行われ、杉田のいう第1期を思わせた。次に手術10週以後は、軸索直径の増加がみられ、先に述べたごとく経目的に髓鞘形成線維数および髓鞘厚が増加、染色性がよくなり、コラーゲンが減少していくのが認められた。

V. 結 論

今回わたくしたちは、顔面神経を切断・縫合した後の再生状態を電気生理学的ならびに組織学的に観察し、以下の結論を得た。

1. 最大伝導速度は回復初期(手術8～12週後)には急速に、以後は緩徐に回復し、手術24週後に50.2 m/secに達した(正常家兎顔面神経伝導速度: 平均89.8 m/secの55.9%)。

2. 神経線維直径分布ヒストグラムは、回復初期にはほとんどすべてが直径1～2 μ 径の細い神経線維であったが、経目的に直径2～3 μ 径以上の太い線維が増加した。しかし手術24週後には直径1～4 μ のものが主体を占めるようになったが正常家兎顔面神経の直径分布ヒストグラム(4～5 μ のものがピーク)には及ばなかった。

3. 顔面神経最大伝導速度と神経線維直径分布ヒストグラム、特に最大径線維と相関関係があるように思われた。

引 用 文 献

- 1) 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. 日耳鼻会報 74: 1340 1971.
- 2) 戸川 清, 他: 神経再生と機能の回復. 災害医学 15: 395 1972.
- 3) 花田勝正: ヒトの顔面神経の線維分析的研究. 九州歯会誌 26: 212 1973.
- 4) Bunnell, S.: Surgical repair of the facial nerve. Arch Otolaryngol 25: 235 1937.
- 5) 吉原 宏: 猫及びブタオ猿の顔面神経を構成する有髓線維の線維分析的研究. 医学研究 29: 3886 1959.
- 6) 隈上秀伯, 他: 顔面神経切断後の回復過程に関する実験的研究. 日耳鼻会報 73: 83 1970.
- 7) 隈上秀伯, 他: 実験的顔面神経麻痺と筋挙縮

—組織化学的検索—耳鼻臨 64: 1485 1971.

- 8) 戸川 清, 他: 側頭骨外顔面神経麻痺の外科. 日耳鼻会報 74: 690 1971.
- 9) 山口良二, 他: 家兎顔面神経損傷後の神経再生の状態と筋収縮力. 臨床耳科 5: 104 1978.
- 10) 村田清高: 顔面神経外科における組織接着剤の検討. 臨床耳科 5: 114 1978.
- 11) Binns, P.M.: Experimental studies of the facial nerve. Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol 76: 665 1967.
- 12) 永木誠治: 運動神経最大伝導速度正常値におよぼす諸因子の検討. 臨床生理 3: 194 1973.
- 13) 島野圭司: 電気刺激によるネコ末梢顔面神経変性とその電子顕微鏡的研究. 耳鼻臨 69: 357 1976.
- 14) 斉藤次彦: 神経切断縫合後の sensory nerve action potential の実験的研究. 日大医誌 30: 299 1971.
- 15) 大湊八郎: 家兎末梢神経の再生に関する電気生理学的ならびに組織学的研究. 新潟医学会誌 84: 804 1970.
- 16) Sanders, F.K. and Whitteridge, D.: Conduction velocity and myelin thickness in regenerating nerve fibers. J Physiol 105: 152 1946.
- 17) Gasser, H.S. and Erlanger, J.: The role played by the sizes of the constituent fibers of a nerve trunk in determining the form of the action potential wave. Am J Physiol 80: 522 1927.
- 18) Pumphrey, R.J. and Young, J.Z.: The rate of conduction of nerve fibers of various diameters in cephalopods. J Exp Biol 15: 453 1938.
- 19) Hursh, J.B.: Conduction velocity and diameter of nerve fibers. Am J Physiol 127: 131 1939.
- 20) 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.
- 21) Gutmann, E. and Sanders, F.K.: Recovery of fiber numbers and diameters in the regeneration of peripheral nerves. J Physiol 101: 489 1943.
- 22) Peterson, E.R.: Myelin sheath formation in cultures of avian spinal ganglia. Am J Anat 96: 319 1955.
- 23) Büngner, O.: die Degenerations-und Regenerationsvorgänge am Nerven nach Verletzungen. Beitr Pathol Anat 10: 321 1891.
- 24) 草間敏夫, 中沢恒幸編: 神経の変性と再生 その基礎と応用. 第1版, 医学書院, 東京, 1975, 85頁.
- 25) 杉田光正: ラット下歯槽神経の髓鞘発生. 阪大歯誌 25: 110 1980.