

Title	神経切断後の感覚神経終末数の再生 : 切断端結紮実験
Author(s)	高原, 利和
Journal	, (): -
URL	http://hdl.handle.net/10130/2345
Right	

平成 22 年度 卒業論文

神経切断後の感覚神経終末数の再生
— 切断端結紮実験 —

第 116 期生

74 番 高原 利和

東京歯科大学生理学講座
論文指導教員：田崎 雅和 教授

Regeneration of Sensory Nerve Terminals
after Cutting Nerve Fiber
— Cutting Nerve Ligation Experiment —

No. 74 : Toshikazu Takahara
Department of Physiology

Tokyo Dental College

Director : Professor Masakazu Tazaki

目 的

感覚神経終末は知覚を受容する神経終末であり、感覚神経線維の末梢側に位置する。下顎第三大臼歯の抜歯時やインプラント体埋入時に誤って感覚神経線維を損傷すると、知覚麻痺と損傷部位から末梢側の神経線維に Waller 変性が生じる^{1,2)}。その後、神経線維は再生するが、再生に要する時間は条件により異なっている³⁾。感覚神経線維の損傷は損傷部より末梢に存在する感覚神経終末も変性と再生をきたすことになる。感覚神経終末の変性および再生に関する形態学的検索には Pacinian corpuscles⁴⁾ や Meissner's corpuscles⁵⁾ などの報告がある。しかし、感覚神経終末の再生時期と出現数ならびに出現し器官化した神経終末の形態の変異性を観察した報告は極めて少ない^{6,7)}。

本報告は Encapsulated corpuscles と Bush-like endings の再生時期および出現数ならびに Encapsulated corpuscles の変異性について神経切断後の条件を変え観察した。

材料および方法

1) 実験動物および観察部位

使用した動物は 4~6 週齢の雄のハツカネズミ 16 個体を使用した。観察部位は下唇粘膜部に分布する感覚神経線維および感覚神経終末を対象に観察した。

2) オトガイ神経の切断

4~6 週齢のハツカネズミはペントバルビタールナトリウム注射液（大日本製薬）0.15~0.20ml を腹腔内に投与し麻酔した。右側オトガイ部皮膚を切開し、オトガイ孔とそこから出るオトガイ神経を露出させた。実体顕微鏡下にて神経幹と血管とを分離し、血管に損傷を与えないよう留意しながら右側オトガイ神経を切断した(図 1; 矢印)。切断した末梢側の神経束断端は眼科用縫合糸で結紮した。一方、切断した中枢側の神経束断端は切断したままの状態とした。切断した中枢側の神経断端と、結紮した末梢側の神経断端は切断面を合わせた状態に復元して切断前の位置に正した。その後、切開した皮膚を復元させ眼科用縫

合糸で皮膚を縫合した。

3) メチレンブルー生体染色

オトガイ神経切断後、1、2、4 ならびに 20 週齢の 2~5 個体にメチレンブルー生体染色を施した。動物はペントバルビタールナトリウム注射液を過剰投与し、安楽死させた後、下唇粘膜有毛部皮膚を除去し、下唇粘膜部を露出、摘出した。下唇粘膜は、37℃に加温した 0.01%メチレンブルー溶液中に 5~10 分間浸漬して、感覚神経線維および感覚神経終末を染色した。その後、4℃、8%モリブデン酸アンモニウム溶液で 12 時間固定した。生体染色を施した下唇粘膜部は実体顕微鏡下で筋付着部、結合組織ならびに角化層を取り除き、プレパラート上で伸展し、50%グリセリン溶液で封入、伸展標本とした⁶⁻⁸⁾。

4) 感覚神経終末の形態、出現数の観察

神経切断側および対照側下唇粘膜部における神経終末の形態、出現数の経日的変化の観察は 16 個体の伸展標本の写真撮影を弱拡大で行った(図 2、3)。その写真を元に光学顕微鏡強拡大の視野下で観察した。感覚神経終末の観察の対象は Encapsulated corpuscles と Bush-like endings であり上記方法で形態および出現数について検索した。

結 果

1) 神経線維の走行状態

ハツカネズミの下唇粘膜部は、左右のオトガイ孔から出るオトガイ神経の下唇枝により左右対称に支配されていた(図 1)。

図 2 は、右側オトガイ神経切断後 1 週齢の下唇粘膜の伸展標本である。正中より右側のオトガイ神経の染色性は悪く、神経支配は全くない状態であった。

右側オトガイ神経切断後 2 週齢の下唇粘膜の伸展標本では、切断側の神経要素は対照側と比較すると、若干染色性が弱く軸索は細いながらも再生してきている標本を認めた。

図 3 は、右側オトガイ神経切断後 20 週齢の下唇粘膜の伸展標本である。正中

より右側のオトガイ神経は左側とほぼ同程度の染色性があり、一見対照側と変わらない神経支配様式であった。感覚神経線維は神経線維切断後、2週齢、4週齢、20週齢と経日的に染色性は増す状態であり、神経線維の回復が徐々に観察できた。

2) 感覚神経終末の形態変化

対照側のハツカネズミ下唇粘膜部には、Encapsulated corpuscles(図4 矢印部)およびBush-like endings(図5 矢印部)の2種類の感覚神経終末が観察された。その他に自由神経終末が存在した。Encapsulated corpusclesは軸索あるいは被膜の状態により4種類に分類されたが、図4に示すsimple typeが多く観察できた。

切断後1週齢の標本は、感覚神経線維自体が全く染色されず、Encapsulated corpusclesおよびBush-like endingsの2種類の感覚神経終末は観察できなかった。特にEncapsulated corpusclesの内棍内軸索は染色されず被膜様の構造物が観察できるものもあった。切断後2週齢の標本では感覚神経線維が一部再生され、被膜内に侵入するものも観察されるようになった。4週齢、20週齢と、週齢が増えるとともに被膜内に侵入する軸索が確認できるようになった(図6、7 矢印部)。しかし、図6に示すように被膜内の内棍内軸索の状態がはっきり観察できないものもあった。再生されたEncapsulated corpusclesの内棍内軸索の形態は、対照側のものと比較し極めて複雑なものが多かった。

一方、Bush-like endingsは1週齢、2週齢の標本では観察することができなかったが、4週齢と20週齢のそれぞれ1標本に観察することができた。それ以外の標本にはBush-like endingsを観察することは全くできなかった。

3) 感覚神経終末の出現数

図8は、内棍内軸索を認めたEncapsulated corpusclesの出現数の経日的変化である。神経切断・結紮後1週齢でEncapsulated corpusclesの再生は生じなかった。2週齢で対照側と比較し約20%の出現頻度であった。その出現数の平均値±標準偏差は10個±10個(標本数:4個体)であった。4週齢では対照側と比較し約30%の出現頻度であった。その出現数の平均値±標準偏差は16個±

8 個(標本数 : 5 個体)であった。20 週齢では対照側と比較し約 40%の出現頻度であった。その出現数の平均値±標準偏差は 18 個±4 個(標本数 : 5 個体)であった。Encapsulated corpuscles の再生は、神経切断・結紮後、徐々に増加する傾向を示した。

一方、図 9 は Bush-like endings の出現数の経日的変化である。4 週齢の 1 標本に 6.4%、20 週齢の 1 標本に 15.2%の出現頻度を見たが、それ以外の 1 週齢から 20 週齢の 14 標本には Bush-like endings を観察できなかった。

考 察

下唇粘膜部における感覚神経線維と神経終末との観察にメチレンブルー生体染色を行った⁶⁻⁸⁾。感覚神経終末の変性と再生過程を観察する方法で、神経切断側の粘膜全体と対照側とを同時に染色し比較検討できることは大変有用でこの種の研究では見当たらない利点である。

1) 神経線維の走行状態

ハツカネズミ下唇粘膜において神経切断後 7 日目に感覚神経線維と神経終末の再生が確認できた報告^{6,7)}があるが、本研究では切断側の感覚神経線維はメチレンブルー生体染色で染色できず、切断側の下唇粘膜部で感覚神経線維はまだ再生過程の状態でなかった。これはオトガイ神経切断部での処置の条件によるものと考えられる。徳田の報告⁶⁾では神経切断後、創面を合わせた状態のものであり、正木の報告⁷⁾は神経切断後、創面を合わせ両断端の神経上膜縫合を行った実験である。一方、本実験では切断後、末梢側の切断端を結紮したことにより神経線維の再生が遅れ、1 週齢の標本に神経要素が観察できなかったものと考えられる。

切断後の神経線維の再生は切断近位側から再生芽を出し、それは損傷部位に近いランビエ絞輪から出て、シュワン細胞基底膜と髄鞘の間隙を伸びていくとの報告がある⁹⁻¹¹⁾。このことから、末梢側の切断端を結紮したことは基底膜の連続性が絶たれ、神経の再生に時間を要するものと考えた。

神経切断後の切断端における処置の状態を他の報告と比較すると、神経束を

結紮することで神経再生に要する時間が延長することが明らかになった。

2) 感覚神経終末の形態変化

徳田⁶⁾、正木⁷⁾の報告より再生が遅いものの、オトガイ神経切断後2週齢の標本に Encapsulated corpuscles を確認することができた。徳田の報告⁶⁾では切断後10日目に対照側と同様の Encapsulated corpuscles 確認しているが、本実験では Encapsulated corpuscles 内の再生してきた軸索が細く Encapsulated corpuscles としてあまりはつきり確認できないものも多く存在した。このように、再生してきた内棍内軸索径が細い報告はサル¹²⁾の指の皮膚における Meissner 小体での報告¹²⁾とも一致するものであった。

切断後4週齢の標本では、再生してきた Encapsulated corpuscles 内の軸索もはつきりしてくるものの、軸索の形態は複雑なものも多く存在した。このことは先の報告^{6,7,13)}と一致するものであった。これは Encapsulated corpuscles における内棍の層板細胞の変性により、再生軸索の進入部位が一定でない^{12,13)}ため生じるものと考えられる。

Bush-like endings は切断後4週齢と20週齢のそれぞれ1標本に認めたが、それ以外の標本では認めなかった。正木の報告⁷⁾では2週齢ですでに観察しており、徳田の報告⁶⁾では20日目の標本で観察している。本研究では2週齢では観察できなかったことから、Bush-like endings の再生はこれらの報告より遅いものといえる。本研究では3週齢を観察しなかったため再生 Bush-like endings の出現時期を徳田の報告⁶⁾とは比較できないものの、Encapsulated corpuscles と同様に再生時期は若干遅くなるものと思われる。

3) 感覚神経終末の出現数

Encapsulated corpuscles の終末数の出現数は対照側より少なく、切断後2週齢ではほぼ10個前後となり、4週齢と20週齢ではほぼ20個前後であり、徳田の報告⁶⁾と比較するとほぼ同様か若干少ない状態であった。また、切断後25日ごろまでにその出現数が一定になる報告⁶⁾とほぼ一致する傾向を示していた。一方、正木の報告⁷⁾による出現数のほぼ半分程度であったことから、切断後の断端

の条件の違いにより異なった結果が生まれたと考えられる。

神経切断端の条件は、正木⁷⁾、徳田⁶⁾、本実験と条件は悪くなる。神経断端における成長円錐が伸張していく足がかりとなるシュワン細胞と基底膜へのアプローチは本実験が最も困難な条件であることから、本実験が最も少ない出現数であったものとする。

Bush-like endings の終末数の出現数は徳田の報告⁶⁾と同様、ほとんど再生しなかったが、正木によると4週齢でほぼ10個程度の出現数があり、Encapsulated corpuscles の終末数の出現数と同様、切断端の条件により異なったものと考えられる。

Encapsulated corpuscles と Bush-like endings との終末数の出現数とこれらの切断端の条件を考えると、神経損傷後、迅速かつ好条件で処置を行うことで、再生する感覚神経終末数は増加するものと考えられる。

結 論

対照側では、感覚神経線維および神経終末におけるメチレンブルー生体染色に対する染色性や神経要素に対する経日的変化はみられなかったが、切断側では経日的に神経線維の変性が起こり、徐々に再生していく様子を観察できた。神経要素の再生はおおよそ2週目ごろから開始されると考えられる。また感覚神経終末の再生はその種類によって、再生程度が異なるものであった。

Encapsulated corpuscles は、切断後、経日的に再生してくるが、その形態は正常部の形態とは異なり、複雑に変化するものが認められた。Bush-like endings においても、切断後、経日的に再生してくるが、その形態は単純化しているものが多かった。

Encapsulated corpuscles の再生は、切断後2週齢から始まりその数は、経日的に増加するが、対照側と同数までの再生は見られなかった。Bush-like endings は Encapsulated corpuscles よりもさらに遅く、切断後4週齢から再生するものが見られた。しかし、その出現数は Encapsulated corpuscles と比べると極めて少なかった。

他の報告と比較し、神経切断端の条件によりこれら神経要素の再生状態が異

なる。つまり神経切断後の処置により感覚神経線維の再生の速さ、感覚神経終末数が異なることが明らかになった。このことから臨床で神経損傷を起こした際、すばやい適切な処置が臨まれるともなと思われた。

謝 辞

本稿を終えるにあたり、本研究の機会を与えて戴き、終始御懇篤な御指導、御高閲を賜りました東京歯科大学生理学講座田崎雅和教授ならびに教室員各位に深謝いたします。

参考文献

1. 佐野 豊(1974) : 神経解剖学, 67-70, 第1版, 南山堂, 東京.
2. 草間敏夫, 藤井正子, 川名悦郎(1975) : 神経変性の形態学, 草間敏夫, 中沢恒幸編, 神経の変性と再生, その基礎と応用, 85-99, 医学書院, 東京.
3. 清水信夫(1975) : 神経損傷時の組織化学, 草間敏夫, 中沢恒幸編, 神経の変性と再生, その基礎と応用, 105-123, 医学書院, 東京.
4. Zelena, J. (1981): Multiple innervation of rat Pacinian corpuscles regenerated after neonatal axotomy, *Neuroscience*, 6: 1675-1686.
5. Ide, C. (1982): Regeneration of mouse digital corpuscles, *Amr. J. Anat.*, 163: 73-85.
6. 徳田兼章(1983) : オトガイ神経切断後の下唇粘膜における感覚神経線維および神経終末の再生, *歯科学報*, 83 : 867-890.
7. 正木日立(1987) : オトガイ神経切断一次縫合および二次縫合における下唇

粘膜部の感覚神経終末の再生に関する実験的研究, 歯科学報, 87 : 1-27.

8. 田崎雅和(1982) : ハツカネズミ下唇粘膜部における Bush-like endings および encapsulated corpuscles の形態に関する経日的変化, 歯科学報, 82 : 893-914.
9. 高崎義人(1993) : 末梢神経再生における Schwann 細胞基底膜の役割に関する実験的研究, 日口外誌, 39 : 240-253.
10. 溝口明, 井出千束(1995) : 神経細胞の突起はいかにして伸び, いかにして結合するか, 生体の科学, 46 : 24-31.
11. 井出千束, 鳥越甲順(2002) : 末梢神経の再生, 実験医学, 20 : 804-810
12. 立川厚太郎(1988) : Meisser 小体の変性と再生に関する実験的組織学的研究, 日手会誌, 5 : 881-892.
13. 南保秀行(1991) : 神経修復術後の感覚神経終末の超微細構造の変化に関する実験的研究, 日口外誌, 37 : 595-613.

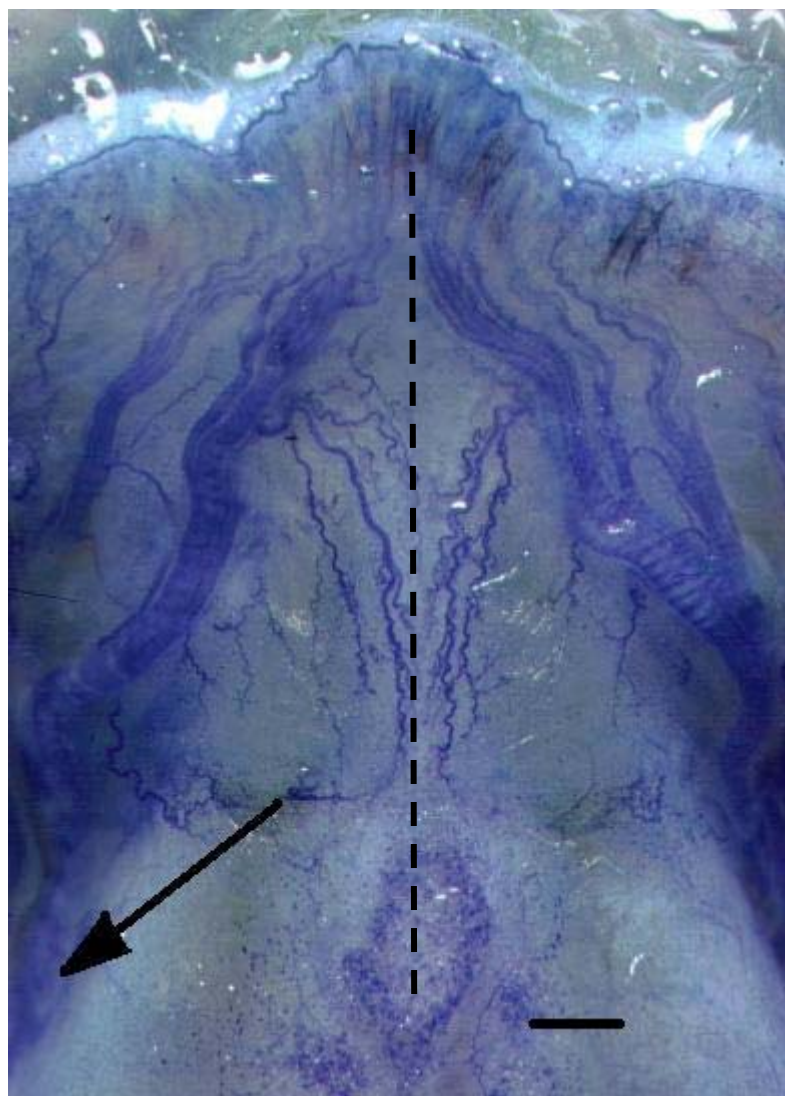


図1 ハツカネズミ下唇粘膜部とオトガイ神経

矢印；オトガイ孔より出る右側オトガイ神経 破線；正中線 染色；メチレンブルー生体染色 横線；1mm

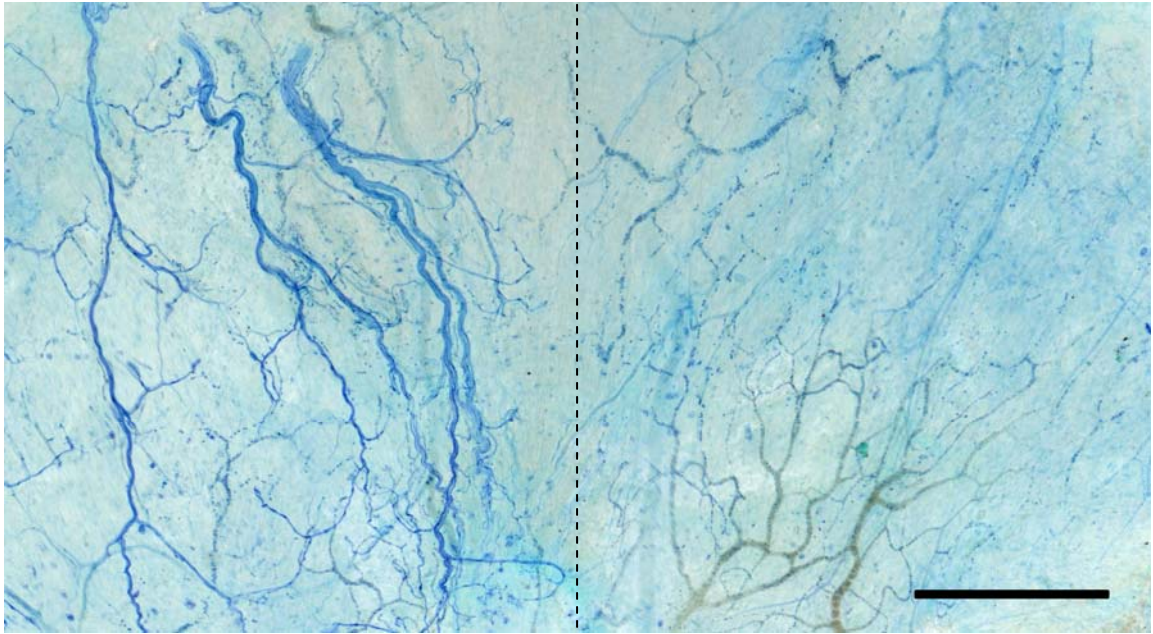


図2 オトガイ神経切断後1週齢の下唇粘膜

破線より右側は切断側、左側は対照側を示す。破線；正中線 染色；メチレンブルー
生体染色 横線；500 μ m

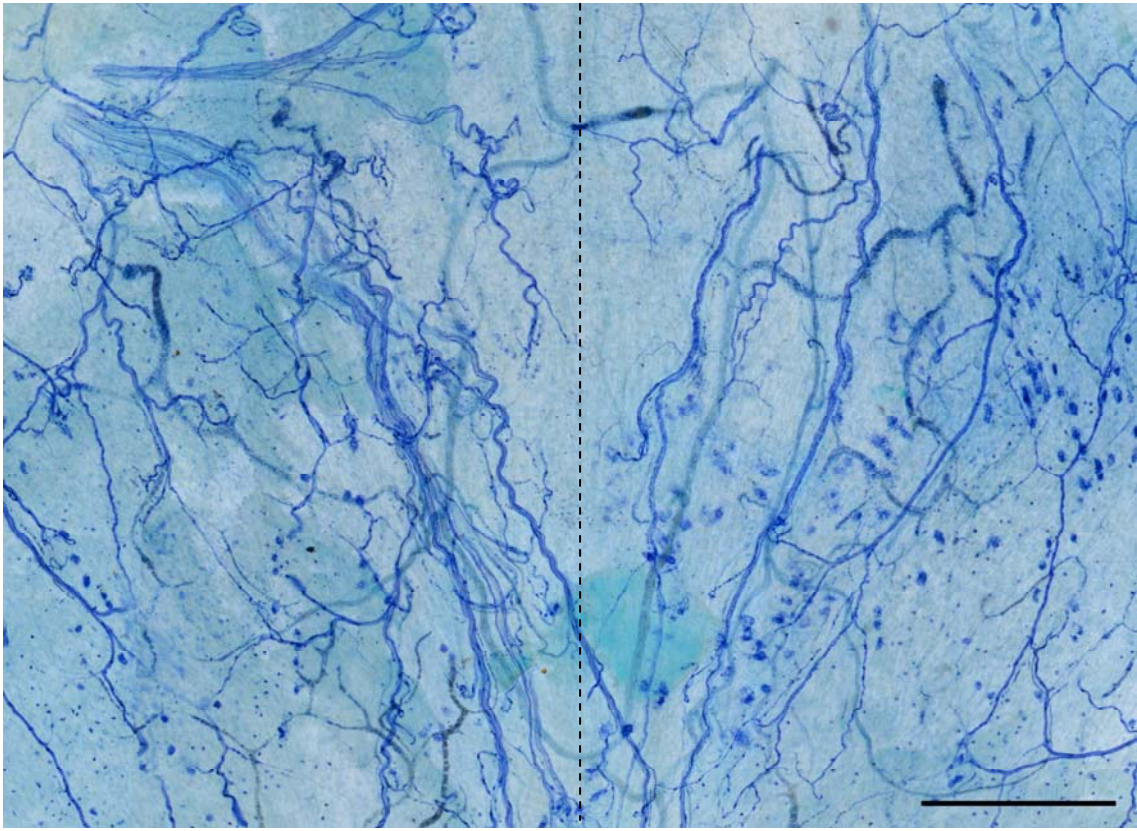


図3 オトガイ神経切断後 20 週齢の下唇粘膜の伸展標本

破線より右側は切断側、左側は対照側を示す。破線；正中線 染色；メチレンブルー
生体染色 横線；500 μ m

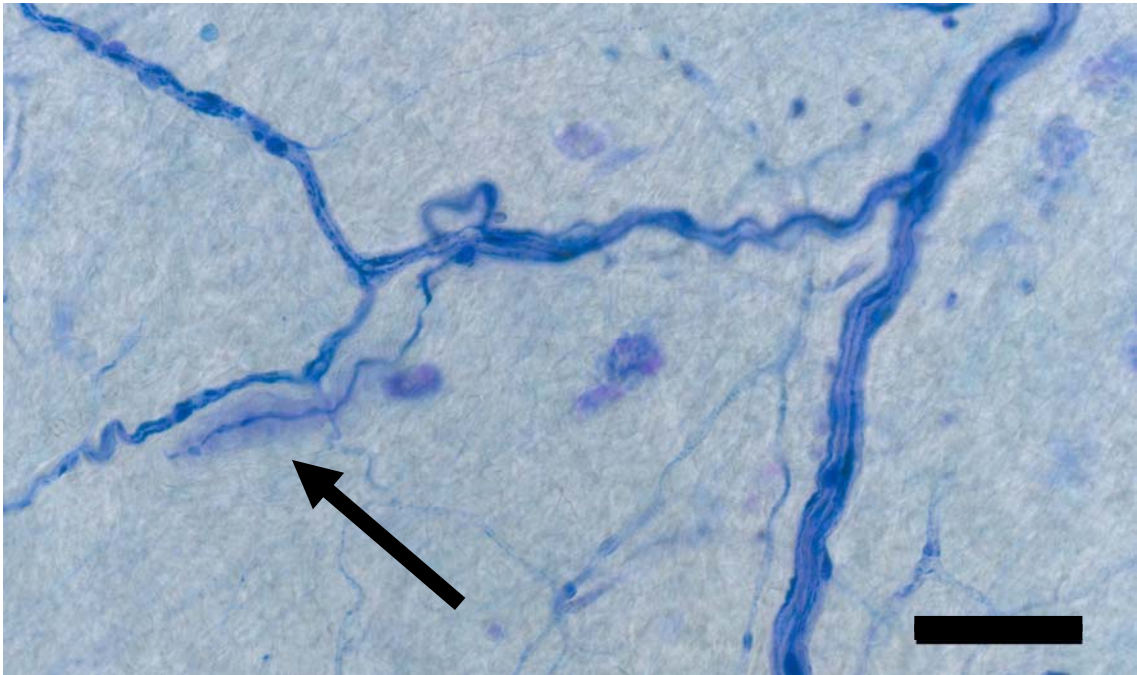


図4 対照側の Encapsulated corpuscles

矢印；simple type 染色；メチレンブルー生体染色 横線；50 μ m

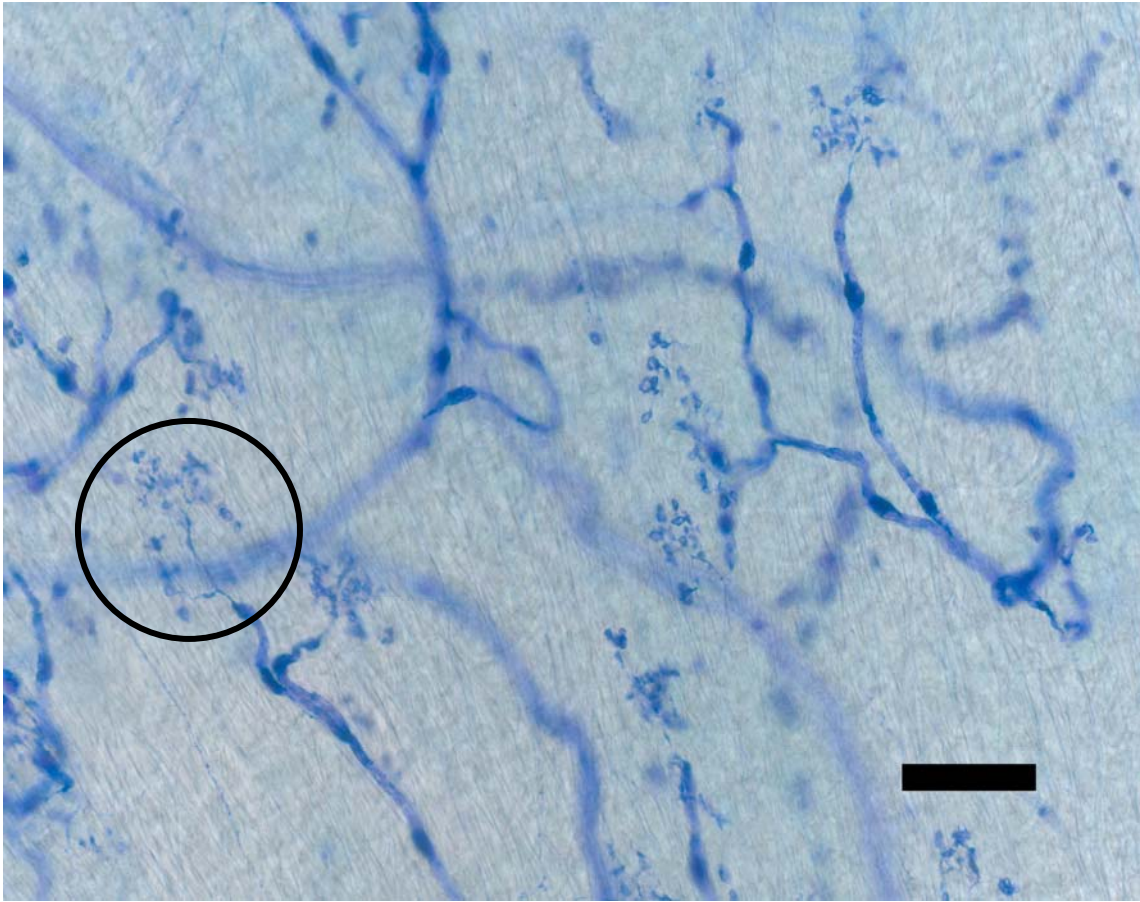


図5 対照側の Bush-like endings (円枠内)
染色；メチレンブルー生体染色 横線；50 μ m

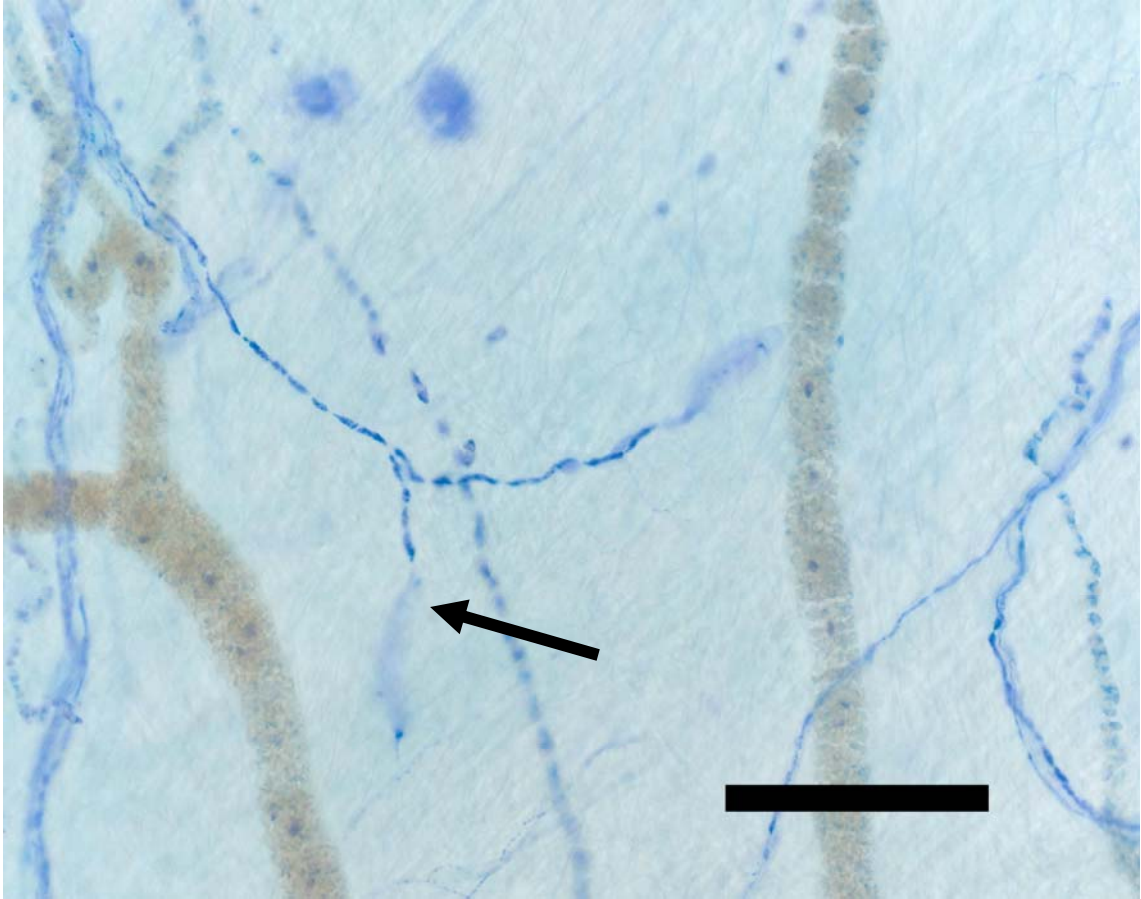


図6 オトガイ神経切断後4週齢の Encapsulated corpuscles (矢印)

細い感覚神経線維の再生とともに、軸索が被膜内侵入する。 染色；メチレンブルー生体染色 横線；100 μ m

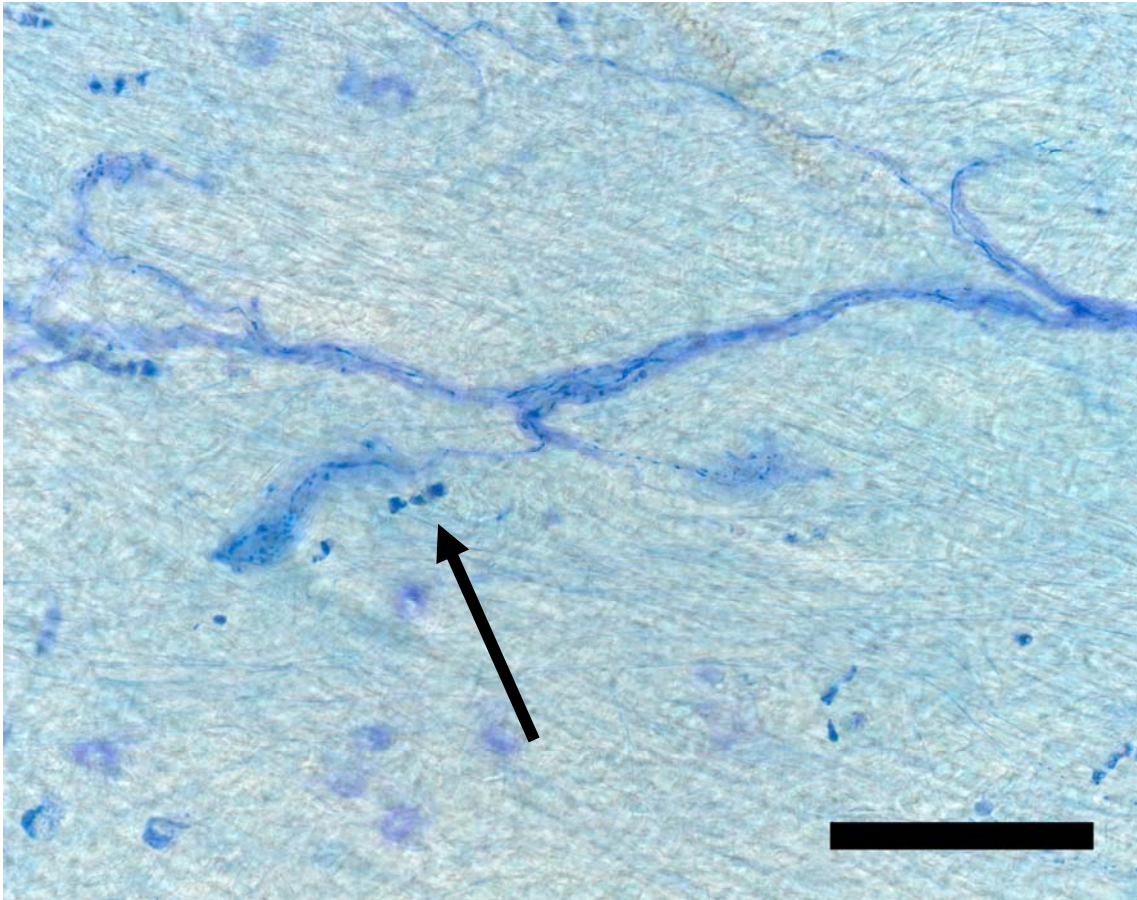


図7 オトガイ神経切断後20週齢の Encapsulated corpuscles (矢印)

経時的に感覚神経の再生が見られ、軸索が被膜内侵入している。染色；メチレンブルー生体染色 横線；100 μ m

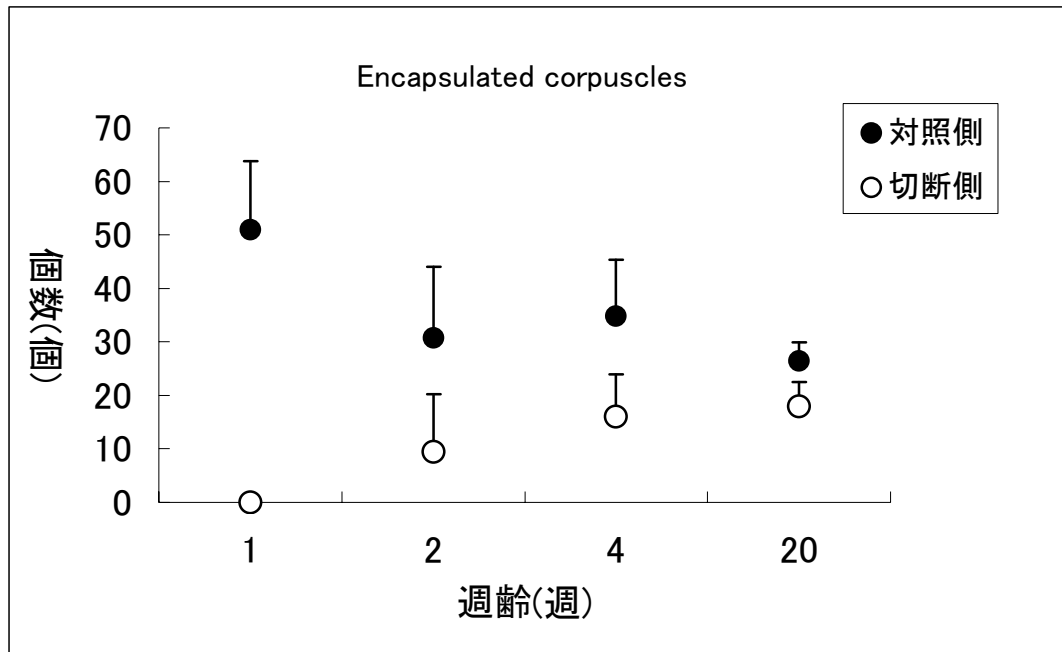


図 8 Encapsulated corpuscles の出現数の経日的変化

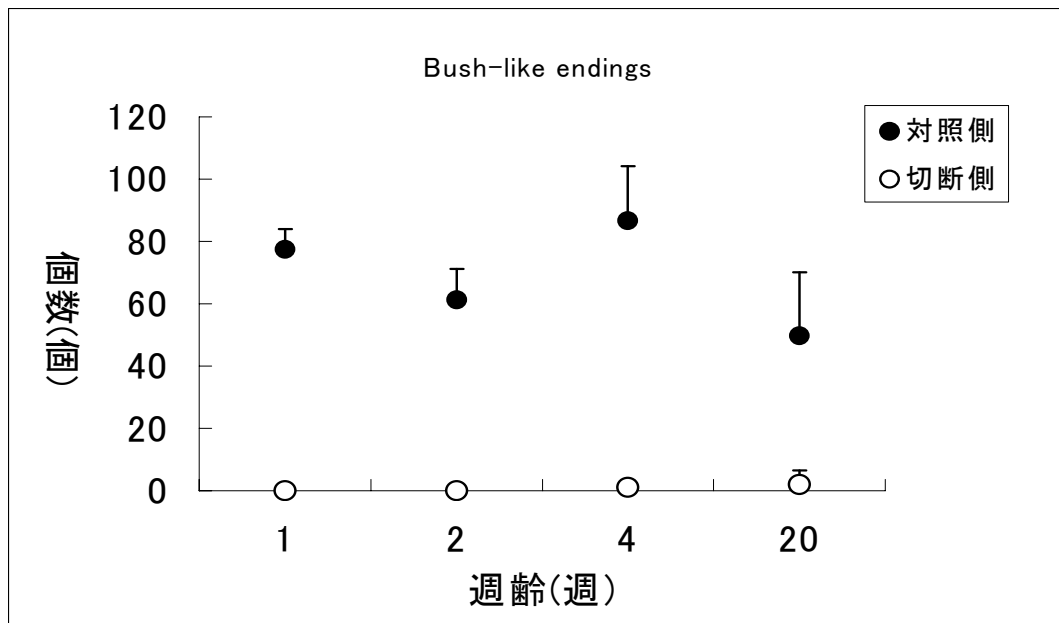


図 9 Bush-like endings の出現数の経日的変化