



冷却による実験的顔面神経麻痺の回復過程の組織学的検討

細見, 慶和

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1995-01-31

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲1345

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1001345>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏名・(本籍)	ほそ み よし かず 細 見 慶 和	(兵庫県)
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)	
学位記番号	博い第932号	
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当	
学位授与の日付	平成7年1月31日	
学位論文題目	冷却による実験的顔面神経麻痺の回復過程の組織学的検討	

審査委員	主査 教授	天津 睦 郎
	教授	伊 東 宏 教授 岡 田 安 弘

論 文 内 容 の 要 旨

【緒言】

ヒトの顔面神経は顔面神経管と呼ばれる長い骨性の管に取り囲まれるという走行の特異性をもっている。

臨床的には顔面神経麻痺は発生頻度が高いが、高率に治癒することも知られている。病理学的には神経幹周囲組織の肥厚や神経の浮腫、出血、炎症やウィルスの関与をおもわせるものなどがある。しかし、顔面神経の走行の特異性との関連については未だに定説は得られていない。

神経線維に障害が起きた際に神経幹が骨によって制限された空間内にあるために変性や再生の過程がどのように影響されるのかを組織学的に明らかにすることは顔面神経麻痺を理解するうえで重要である。顔面神経管を保存した上で神経障害が、どのような過程をたどるのかについての研究は虚血によるもの、ウィルスによるもの等があるが、麻痺発症早期から顔面運動回復までの微細構造の変化については不明である。

著者は、側頭骨内で顔面神経の易障害部位であるといわれる鼓室部を冷却することで顔面神経管の構造を保ちつつ高率に顔面神経麻痺を惹起し、かつ一定の回復傾向を示す砂ネズミを用いたモデルを作成した。このモデルを用いて経時的に顔面運動を観察し、光学顕微鏡と電子顕微鏡による観察を行い、顔面神経管内で神経障害が発生した場合の微細構造変化についての知見を得た。

【方法】

砂ねずみ(体重60gから90g)を用いた。麻酔後、顕微鏡下に鼓膜切開を行い中耳腔内にDME-LPG(ジメチルエーテル加液化プロパンガス)を噴霧し顔面神経管を冷却した。冷却時の中耳腔内の温度は微細温度センサーと電子温度計でモニターした。

これまでの実験結果に基づき中耳腔内を約30秒間約マイナス2℃から8℃になるように冷却を行った。

顔面神経麻痺は、瞬目反射と髭運動の消失で確認した。13匹の16耳を冷却し、顔面神経麻痺の発症

を確認した15側の顔面神経と顔面神経を冷却しなかった4側を対照として組織学的検討に用いた。冷却直後、3時間、36時間、3日、5日、7日、21日、35日後の顔面神経を各2側ないしは1側ずつ採取した。ネブタールで十分に麻酔後、開胸し灌流固定を行った。側頭骨を削開し、カルノフスキー原液で浸漬固定した後、10% EDTA液で脱灰し、顔面神経を鼓室部で顕微鏡下に約1.5mm採取し、四酸化オスミウム液で後固定を行った。エタノール系列で脱水後、エポキシ樹脂に包埋した。準薄切切片はトルイジンブルー染色を施し、光学顕微鏡で神経幹と周囲結合織、顔面神経管との関係を観察した。また超薄切切片は電子染色を施し神経幹内の微細構造の変化を電子顕微鏡で観察した。

【結果】

1. 顔面運動の観察

今回の実験では13匹、16側を冷却し、15側(94%)で顔面神経麻痺発症を確認した。冷却後、経時的に顔面運動(髭運動、瞬目運動)を観察した。冷却後7日目までは顔面運動は認められなかった。21日目、35日目で灌流固定を行った4匹では顔面運動は回復していた。

2. 光学顕微鏡による観察

1) 正常像; 鼓室部での顔面神経では神経上膜は薄く、顔面神経管と神経幹の間に非常に狭く疎な間隙が認められた。神経上膜と神経幹内には小血管も散在性に分布していた。

2) 冷却直後および冷却後3時間; 神経幹内には著明な変化は無く神経幹周囲組織にわずかに肥厚も見られたが神経幹と神経管の間には疎な間隙が存在した。

3) 冷却後36時間; 神経幹内で不規則な間隙が認められ、神経幹周囲の結合織も少し厚くなっていた。

4) 冷却後3日目、5日目; 神経幹内では正常な神経線維はほとんどなく神経幹周囲の結合織も著明に厚くなり、神経幹内や周囲結合織内の血管内腔が著しく拡大していた。

5) 冷却後7日目; 残存する髄鞘はほとんどなく、破壊された髄鞘は除去されている。著明に肥厚した神経幹周囲の結合織に多数の円形細胞が認められ、神経幹内や周囲結合織内の血管は拡大していた。

6) 冷却後21日目; 髄鞘を持つ細い神経線維が散在性に認められた。神経幹周囲の結合織は薄くなり、神経幹内および周囲結合織内の血管内腔は正常に比べて拡大しているが冷却後7日目に比べると細くなっていた。

7) 冷却後35日目; 有髄神経線維は21日目よりもさらに増加し、神経幹周囲の結合織は薄くなり、血管内腔は21日目に比べて縮小していた。

3. 電子顕微鏡による観察

1) 正常像; 有髄神経に太いものと細いものがあり、無髄神経も散見される。シュワン細胞も見られる。

2) 冷却直後、冷却後3時間; 太い有髄神経線維の髄鞘の層構造が高度に乱れ、軸索と髄鞘の解離が認められた。シュワン細胞には細胞質の部分的な融解も観察された。

3) 冷却後36時間; 髄鞘の乱れは高度となり、軸索が融解してしまったものや、軸索と髄鞘の高度な解離、ミトコンドリアの変性を示すものが認められた。生存していると思われるシュワン細胞はほとんど認められなかった。しかし、変性した髄鞘とシュワン細胞の基底膜との間には、細い再生軸索が散在性に認められた。これらの再生軸索は成長円錐に近いことを示す多数の小胞やいくつかの小型ミトコンドリアを含んでいた。

4) 冷却後3日目, 冷却後5日目; マクロファージが遊走し変性した髄鞘を貪食していた。軸索は完全に融解し, 変性神経線維の間には, 髄鞘が除去されて基底膜筒だけが存在した。その中には多数の再生軸索が認められ, 数本が共通の基底膜の中で線維束を形成していた。シュワン細胞と考えられる細胞が発見された。神経幹内では血管壁の細胞は細胞質に変化も見られたが融解等の形態破壊は認められなかった。

5) 冷却後7日目; 再生軸索の何本かが軸索束を形成し, 密に存在していた。これらの再生軸索に変性像はみられなかった。神経幹内では血管内腔は保たれていた。

6) 冷却後21日目; いくつかの再生軸索においてシュワン細胞による髄鞘の再形成がみられた。

7) 冷却後35日目; 有髄神経はさらに増加し, 冷却後21日目に比べて軸索は太く髄鞘も厚くなっていた。

【考察】

1. 冷却法について

冷却法による神経損傷ではシュワン細胞は死滅しても, その基底膜は残存し, 連続性は保たれ神経再生の過程では軸索伸長の足場を提供するなどの重要な存在である。今回の実験ではこの基底膜をはじめとして組織の連続性が保たれた状態での顔面神経管内の神経再生過程を観察できた。

2. 冷却による神経障害

今回の実験では組織は冷却の直接的影響で傷害されたものと冷却後の虚血による変性が加わったものの混在する状態であると考えられる。冷却後の変性した組織によって二次的に傷害を受けたと思われる神経線維は見いだせず, 神経変性は冷却そのもので規定されるものと考えられた。

3. 神経再生とその経過

マウス坐骨神経の凍結損傷では損傷後数時間以内にランビエ絞輪に再生芽形成が始まる。本研究で冷却後36時間で鼓室部内に見られた多数の再生軸索は成長円錐に近い部分であり, 少なくとも冷却後1日以内に神経再生が開始されたと考えられる。一般に一本の親軸索から数本の再生軸索が形成され, 基底膜筒内で軸索束を形成し, 一本が標的器官に達すると他の軸索は変性し, シュワン細胞は残った軸索に髄鞘を形成すると考えられている。顔面運動と組織像の関係から, 本研究で冷却後7日目以後に観察された再生軸索の減少はこのような機序と考えられる。冷却後7日目の再生軸索が標的器官に達しない時期でも, 再生軸索に変性所見は認められなかったことから, この時期における再生軸索に対する周囲の影響による傷害はなかったと考えられた。

4. 結合組織の反応と血液循環

血管腔はむしろ拡張し既に多数の再生軸索が伸張しており, これらに変性像は認められなかった。このことから顔面神経管内において本研究で認められた程度の結合組織の肥厚が存在しても血液循環とシュワン細胞の基底膜は保たれており再生軸索を変性させるような悪影響はなかったと考えられる。

【結語】

1. 冷却により実験的顔面神経麻痺モデルを作成した。
2. 本実験では神経の再生は冷却後1日以内に開始されていたと考えられた。
3. 顔面神経管内では冷却後7日目ごろに結合組織の反応性肥厚が最も著明だったが, この時期においても多数の再生軸索が存在し, これらに変性像は見られなかった。
4. 以上から顔面神経が傷害を受けた場合, 神経幹が顔面神経管内に存在するがゆえに神経線維が

周囲の影響によって変性に陥ったり、神経再生が悪影響を受ける可能性は低いと考えられた。

論文審査の結果の要旨

末梢性顔面神経麻痺は発症頻度の高い疾患であるが、従来その理由として末梢神経の中で骨に囲まれた経路が最も長い点に関与していると指摘されてきた。すなわち、骨性の枠組みの中での何らかの原因による阻血とその結果生じる浮腫が悪循環を形成し、発症するというものである。一方で、本症の多くをしめるBell麻痺の予後が比較的良好であることも知られている。

本研究の目的は、骨性の枠組みを保ったまま惹起せしめた顔面神経麻痺における神経の変性や再生の過程を経時的に観察し、末梢性顔面神経麻痺の成因解明の一助とすることにある。

砂ねずみ（体重60gから90g）を用い、中耳腔内にDME、LPG（ジメチルエーテル加液化プロパンガス）を噴霧し顔面神経管を冷却した。冷却直後、3時間、36時間、3日、5日、7日、21日、35日後の顔面神経を採取し、光学顕微鏡で神経幹と周囲結合織、顔面神経管との関係を観察し、電子顕微鏡で神経幹内の微細構造の変化を観察した。

1. 顔面運動の観察：94%で顔面神経麻痺発症を確認した。冷却後7日目までは顔面神経運動は認められなかった。21日目、35日目では顔面運動は回復していた。

2. 光学顕微鏡による観察：冷却直後では神経管内での変化は軽微であったが冷却後36時間では神経幹内で不規則な間隙が認められた。冷却後7日目では残存する髄鞘はほとんどなく神経幹周囲の結合織は著明に肥厚していた。冷却後21日目、35日目と正常に近くなっていった。

3. 電子顕微鏡による観察：冷却直後では有髄神経線維の髄鞘の層構造が高度に乱れ、軸索と髄鞘の解離が認められた。冷却後36時間では変性した髄鞘とシュワン細胞の基底膜との間には、すでに細い再生軸索が散在性に認められた。冷却後3日目から7日目では再生軸索の何本かが軸索束を形成し、これらの再生軸索に変性像はみられなかった。冷却後21日目では髄鞘の再形成がみられ、冷却後35日目では有髄神経は更に増加し、軸索は太く髄鞘も厚くなっていた。

冷却により実験的顔面神経麻痺モデルを作成した。本実験では神経の再生は冷却後1日以内に開始されていたと考えられた。

顔面神経管内では冷却後7日目ごろに結合織の反応性肥厚が最も著明だったが、この時期においても多数の再生軸索が存在し、これらに変性像は見られなかった。このことから顔面神経が傷害を受けた場合、神経幹が顔面神経管内に存在するがゆえに神経線維が周囲の影響によって変性に陥ったり、神経再生が悪影響を受ける可能性は低いと考えられた。

本研究は砂ねずみを用いた末梢性顔面神経麻痺について、その回復過程を光顕ならびに電顕的に研究したものであるが、従来ほとんど行われなかった顔面神経を取囲む骨性枠組みの存在が顔面神経麻痺の回復に与える影響につき新たな見解を示し得た点価値ある集積であると認める。よって本研究者は博士（医学）の学位を得る資格があると認める。