

筋組織の外科的侵襲後の筋機能回復過程

宮下照展

Influence by Invasive Surgical Procedures for the Anterior Digastric Muscle
on the Neuromuscular Junctions and the Myohyoid Nerve in Rat

Terunobu MIYASHITA

To examine the influence of surgical injury to the digastric muscles on the functions of neuromuscular junctions and the retrograde axonal transport of the myohyoid nerve, the following two procedures were performed in rat : 1) liftoff of the anterior digastric muscles from surrounding tissues at the perimysium and 2) neurectomy of the myohyoid nerve.

The acetylcholine esterase (AChE) activity and the number of type 2C muscle fiber muscle tissues were histochemically examined 3, 7, 14, 21, 28, 42, 56 and 84 days after the surgery. In addition, the recovery of retrograde axonal transport was evaluated by the injection of horseradish peroxidase (HRP) into the muscle tissue followed by histochemical detection of HRP-positive cells in the medulla. In the liftoff group, HRP-positive cells were detected at the nucleus of the fifth spinal tract on day 21, while the AChE activity in the muscle tissue was observed on day 28. These results suggest that the retrograde axonal transport was recovered first and thereafter the function of neuromuscular junction might be recovered.

Type 2C muscle fibers tended to decrease after day 28, though once increased on day 14, suggesting that replacement of degenerated fibers by newly growing ones might have occurred. In the neurectomy group, neither AChE activity nor HRP retrograde transport was observed even on day 84, indicating that no re-innervation occurred. Type 2C muscle fibers increased in number on day 14, but unlike the liftoff group, they decreased gradually after day 21, suggesting that no replacement by intact fibers occurred.

Key words : anterior digastric muscle, myoneural junction, acetylcholine esterase, horseradish peroxidase (HRP), type 2C fibers

緒 言

筋組織にとって支配神経の断裂は大きな侵襲である¹⁻³⁾。運動神経の支配が絶たれると末梢筋の

機能は失われ、筋線維が萎縮し瘢痕化をきたし、その影響で顎骨が変形するとの報告がある^{4,5)}。顎口腔領域では表情筋や軟口蓋諸筋のように筋束が小さくても審美的、形態的に重要で、かつ発音や

受付：平成21年9月25日，受理：平成21年10月21日
奥羽大学大学院歯学研究科顎口腔外科学専攻
(指導：大野 敬教授)

Department of Oral Surgery Major, Ohu University,
Graduate School of Dentistry
(Director : Prof. Takashi OHNO)

嚥下などの機能に不可欠な筋組織が存在する。これらの筋線維では支配神経の連続性が保たれていても、わずかな外科的侵襲で機能が全て失われてしまう場合もあるという^{7,8)}。

一方、滝沢²⁾は顎骨から剥離された咬筋が再附着する際、筋組織の一部に形態的变化を認めるが、機能的影響は小さいと報告している。また、遊離された骨格筋であっても神経血管吻合が可能であれば十分に機能回復するとの報告もある⁴⁻⁶⁾。

そこで本研究では、周囲組織から筋束を剥離する外科的侵襲が筋組織に及ぼす影響と筋機能の経時的な回復様相を、神経筋接合部と筋線維タイプの変化を酵素組織化学的に、さらに逆行性軸索輸送の変化を HRP 標識することによって検討した。

材料と方法

1. 実験動物

実験動物には8～10週齢の雄 Wistar 系ラット(体重250～300g)を用いた。オリエンタル社製実験動物用固形試料と水道水を1週間以上自由に与え、健康状態に異常がないことを確認したのち実験に供した。

2. 外科的処置

ラットを仰臥位とし、上顎切歯にマスクを装着して Diethyl Ether[®](WAKO)および FLUOTHANE[®](武田薬品)の全身麻酔下に下顎骨のオトガイ下部から舌骨部までを剃毛し、正中の下顎間軟骨結合部から舌骨部に向かって皮膚切開を加え、顎二腹筋前腹および咬筋を明示した。本研究では、実験群を以下の2群に分けて行った。

1) 神経切断群

顎二腹筋前腹と咬筋を確認し、両筋の筋膜の境界に位置する顎舌骨筋神経を明示し(写真2)、メスで切離した。尚、神経の切断端は、中枢側、末梢側ともに翻転結紮した。

2) 筋剥離群

顎二腹筋前腹を起始部および停止部に附着している腱に侵襲を与えないようにして筋腹のみを無鉤モスリート鉗子を用いて周囲組織と筋膜との間隙で完全に剥離し、筋束に進入する微細な顎舌骨筋神経顎二腹筋枝およびオトガイ下動静脈を筋腹から切離した(写真1)。

3. 観察方法

手術後3, 7, 14, 21, 28, 42, 56, 84日を経過したラット各5匹および、対照群としての未処置ラットの顎二腹筋前腹についてを以下の観察を行なった。なお、観察には光学顕微鏡(Nikon XUW-31)を使用し、データの統計処理には Mann-Whitney U-test with Bonferroni correction を用いた。

1) 組織化学的観察

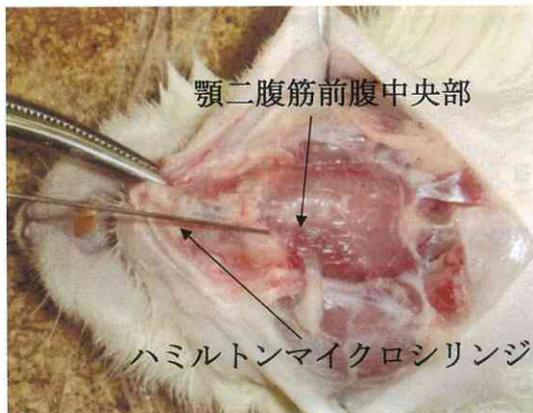
顎二腹筋前腹を起始部から停止部にわたって採取し、水練和したトラガカントゴム[®](和光純薬社製)によりコルク栓(径15mm, 厚さ5mm)上に筋線維が垂直になるように植立し、液体窒素で冷却したイソペンタン[®]を用い20～30秒で急速凍結固定した。標本は-25℃のクリオスタット(Leitz社製 Cryostat 1720)内で厚さ8μmの連続切片を作製した。埜中の方法⁹⁾に準じて神経筋接合部の機能判定のためにアセチルコリンエステラーゼ(以下 AChE)染色を行い40倍の接眼レンズ視野あたりの陽性数を計測した、また筋線維タイプの変化を検索するためにアデノシントリホスファターゼ(以下 ATPase)染色を行い全筋線維数あたりのタイプ2C線維の出現率を算定した。

2) 神経追跡実験

神経追跡実験は伊藤¹⁰⁾、羽山¹¹⁾の方法に準じて行った。検索期間の48時間前に10% horseradish peroxidase-wheat germ agglutinin(以下 WGA-HRP[®]; TOYOBO)溶液を顎二腹筋前腹に注入した。まず、ラットを仰臥位とし、FLUOTHANE[®]全身麻酔下にオトガイ下部に皮切を加え、顎舌骨筋神経、オトガイ下動静脈を傷つけないように注意しながら顎二腹筋前腹を明示し、筋腹中央に、ハミルトンマイクロシリンジを用いて10μm 注入した(写真3)。生理食塩水で洗浄後完全閉鎖創とし、ラットを48時間生存させた後にチオペンタール(ラボナール[®])0.2～0.3mg/gの腹腔内麻酔下で灌流固定を行った。左心室心尖から上行大動脈に向けてカニューレを挿入し、ヘパリン加生理食塩水200mlを灌流して血液を除去した。次に、1%パラホルムアルデヒドと1%グルタルアルデヒドを含む0.1Mリン酸緩衝液(pH7.2)で灌流固定し、その後10%蔗糖を含む0.1Mリ



a



c



b

写真 1

- a 筋剥離群
顎二腹筋前腹を起始部から停止部にかけて完全に剥離した。
- b 神経切断群
顎二腹筋前腹と咬筋の間に見られる顎舌骨筋神経のみを切断し反転結紮した。
- c WGA-HRP注入時の写真
起始部から顎二腹筋前腹中央部にハミルトンマイクロシリッジ使用し、10%WGA-HRPを10 μ l 手で注入した。

を均質を含むもの、または不均質に含んでも核が比較的明瞭に分かるものを陽性細胞とし観察した¹³⁻¹⁶⁾(図1)。

sp 5に見られる HRP 神経標識細胞数の平均を算定し、経時的变化を観察し、統計学的に対照群と実験群を比較した。

実験結果

1. 組織化学的所見

1) AChE 染色

対照群：顎二腹筋前腹中央部に AChE 活性が多数みられ機能的に神経筋接合部が確認された(写真2a)。一視野あたりの筋線維数に対し AChE 活性を示すものは平均 64.2 ± 21.31 個であった(図2)。

神経切断群：術後3日例では AChE 活性が顎二腹筋前腹中央部にみられたが、術後7日例で消失しその後84日例においても観察できなかった

ン酸緩衝液200mlで灌流した¹²⁾。HRP 神経標識細胞体観察のため、頭頂開頭部より大脳を取り出し延髄と橋を摘出し、30%蔗糖と1%グルタルアルデヒドを含む0.1Mリン酸緩衝液中に4℃で24時間浸漬した。その後、厚さ60 μ mの水平断凍結連続切片を作製し、Tetramethylbenzidine(以下 TMB[®])を用いて HRP を発色し可視化した。HRP 反応終了後にゼラチンコーティングを施したスライドガラスに切片を張り付け、室温下で約4時間乾燥させ光学顕微鏡明視野にて HRP 神経標識細胞を検索した。中枢での局在を検索するに当たって、門部(obex)を最後野とし、橋に存在する三叉神経脊髄路核(以下 sp 5)に出現した HRP 神経標識細胞数を計測した。HRP 神経標識ニューロンの検索において HRP 反応産物

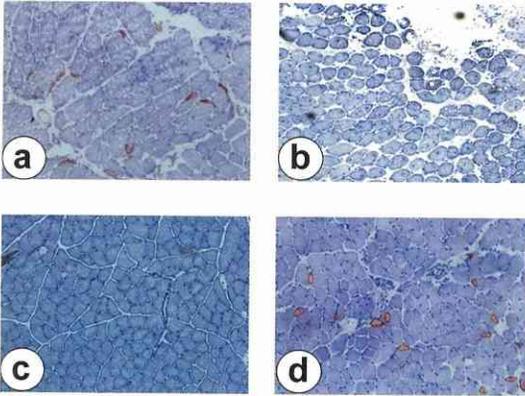


写真2 AChE 染色

- a) 対照群：筋腹中央部にAChE活性が認められる。(×200)
- b) 神経切断群84日例：AChE活性が認められない。(×200)
- c) 筋剥離群7日例：AChE活性が認められない。(×200)
- d) 筋剥離群28日例：AChE活性が認められる。(×200)

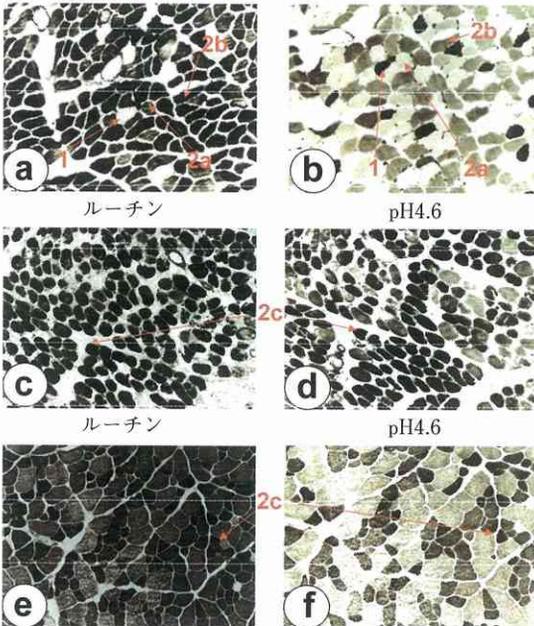


写真3 ATPase染色

- a, b 対照群：タイプ1, 2A, 2B線維を示す。(×200)
- c, d 神経切断群14日例：ルーチン(c), pH4.6(d)両者に濃染するタイプ2C線維が出現した。(×200)
- e, f 筋剥離群14日例：神経切断群に比べ若干少ないがタイプ2C線維が出現した。(×200)

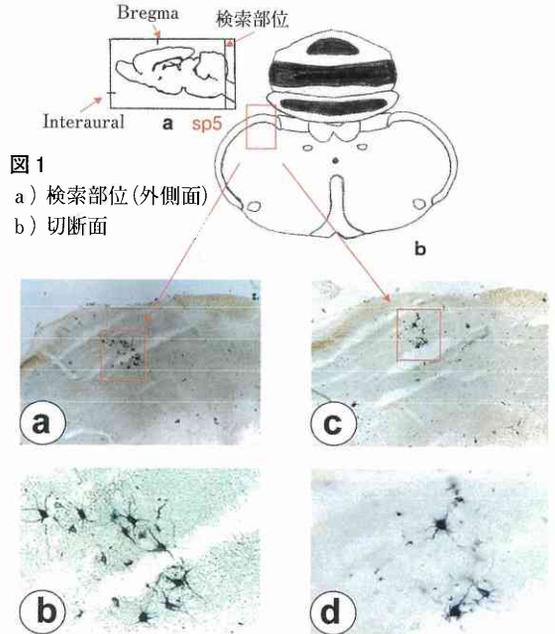


図1

- a) 検索部位(外側面)
- b) 切断面

写真4 WGA-HRP神経標識法による中枢局在

a, b 対照群 c, d 筋剥離群

対照群および筋剥離群術後21日例から84日例において三叉神経脊髄路核 (sp 5) にHRP神経標識細胞が確認された。

- a) 対照群弱拡大 (×50)
- b) 対照群強拡大 (×400)
- c) 実験群弱拡大 (×50)
- d) 実験群強拡大 (×400)

(写真2d)。

筋剥離群：AChE 活性数は術後3日例で減少し術後7日例で消失したが(写真2b), 術後28日例で再度出現した(写真2c)。以後、微増傾向を示し、術後84日例では対照群に対し51.7%まで回復していた(図2)。

2) ATPase 染色所見

アルカリ前処置により淡染するものをタイプ1線維、濃染するものをタイプ2線維とし、さらにタイプ2線維のうち酸前処理のpH4.6で淡染するものをタイプ2A線維、pH4.2で淡染するものをタイプ2B線維、いずれのpHでも淡染しないものをタイプ2C線維とした。

対照群：観察される線維はタイプ1, タイプ2aおよびタイプ2bでタイプ2cは認められなかつ

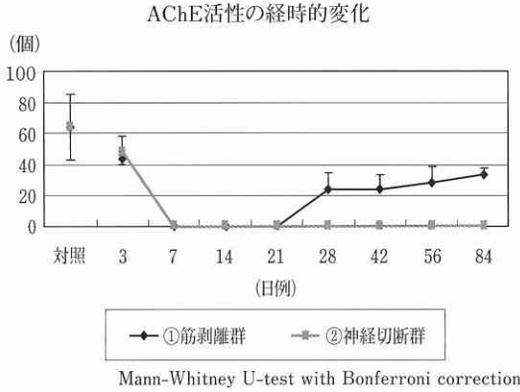


図2 AChE活性を認めた神経筋接合部の経時的変化
 両群ともに術後3日例で減少し術後7日例で消失した。神経切断群では術後3日例以降観察されなかった。筋剥離群で28日例で再度出現した後、増加傾向を示し、術後84日例では対照群に対し51.7%まで増加した。

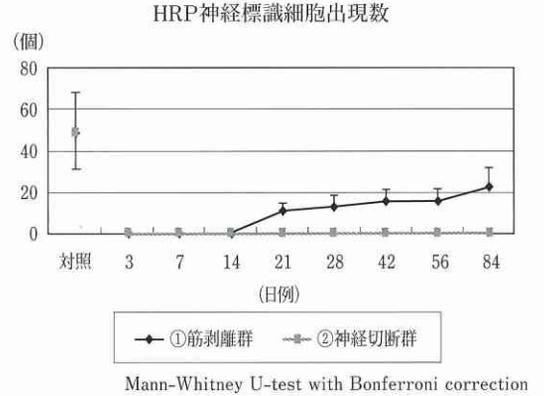


図4 HRP神経標識細胞の出現数の経時的変化
 神経切断群では術後84日例まで見られなかった。筋剥離群では術後21日例以降に微増する傾向がみられ、術後84日例では対照群に対し46.1%まで回復した。

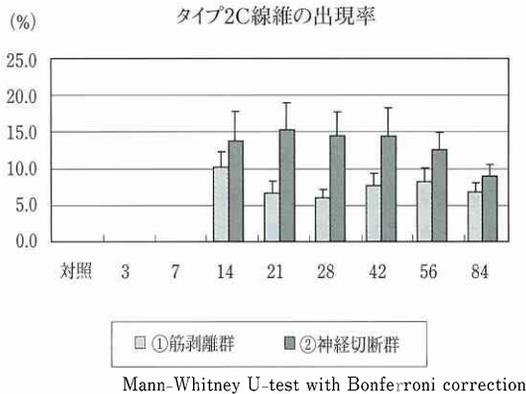


図3 タイプ2C線維の出現率
 両群とも術後14日例で出現し、以後術後84日例まで認められた。しかし、出現率は両群間に差がみられた。

が、14日例以降実験期間を通じ統計学的な有意差は認められなかった (図3)。

2. 神経追跡実験

対照群：逆行性軸索輸送による HRP 神経標識細胞が sp 5 にて確認できた (写真4a, b)。連続切片で sp 5 中の標識細胞は平均は 48.6 ± 4.39 個であった (図4)。

神経切断群：術後3日例から84日例まで、HRP 神経標識細胞は確認できなかった。

筋剥離群：術後3日例から術後14日例までは、HRP 神経標識細胞は認められなかったが、術後21日例から出現した後、徐々に増加する傾向がみられ、術後84日例では対照群に対し46.1%まで増加していた (写真4c, d)。

対照群と実験群の間に統計学的な有意差は認められなかった (図4)。

考 察

神経線維が断裂すると、その情報は中枢に伝達され一次変性 (障害変性) と二次変性 (ワラー変性) が生じる。やがて断裂部より末梢方向へ再生軸索が伸長し、末梢神経側に残存する神経内膜管内に進入する^{1,17)}。神経断裂後の回復経過を検索する上で、神経線維内に出現する再生軸索の観

た (写真3a, b)。

神経切断群：術後14日例でタイプ2C 線維が出現し (写真3e, f)、56日例以降減少傾向に転じた (図3)。

筋剥離群：術後14日例で神経切断群同様タイプ2c 線維がはじめて出現した (写真3c, d)。術後21日例以降出現率は減少したものの実験期間を通じて筋剥離群と比べつねに低い出現率を示した

察は不可欠である。しかし、この再生軸索の伸長は形態学的な回復であり、必ずしも機能的回復を示すものではない^{2,12,18,19)}。AChE はニューロンで合成され、神経刺激に応じてシナプス部の神経末端から放出される²⁰⁾。筋発生の段階では筋芽細胞が融合し筋管細胞の増加に伴い AChE 活性も増加する^{21~23)}。分化した筋細胞においては神経筋接合部に終板型 AChE として特異的に高い密度で局在するが、神経損傷や断裂により筋機能が低下し消失すると終板型 AChE の活性は失われる^{24,25)}。したがって、この AChE 活性の分布様相や分布領域を経時的に検索することにより、運動神経損傷後の機能回復様相を把握できる。

本研究の神経切断群では AChE 活性が消失した。支配神経の連続性が絶たれ、中枢側から末梢側に再生軸索が伸長できず形態的にも修復しなかったと推測できる。一方、筋剥離群は術後28日例以降に神経筋接合部の AChE 活性を認めている。筋束を周囲組織から剥離することにより、筋組織に侵入する微細な神経線維は筋線維に近い位置で連続性を絶たれ一時的に神経支配が失われる。その後、神経縫合や神経線維を筋線維内に挿入するような処置を施さなくても^{1,3)}、神経断端面に近接した位置に筋束が収まると、神経断端から筋膜周囲に神経線維が侵入し、軸索が伸長して新たな神経筋接合を得て機能回復すると考えられる。

タンパク質と凝集素の複合体からなる WGA-HRP は、末梢側の神経断端から逆行性に軸索輸送され中枢に標識物質として現れ、神経線維連絡の検出に用いられる^{10,11,13)}。三叉神経に支配される顎二腹筋前腹の遠心性線維の起始核は橋の背外側部にある三叉神経運動核領域の腹内側部に局在する³¹⁾。筋組織から逆行性に輸送される神経標識細胞が脳幹の運動核に局在しているが、時間があればこの運動核からシナプスを1つ介して三叉神経脊髄路核への投射経路も観察可能である。本研究においては、顎二腹筋前腹における支配神経の連続性の回復と遠心性線維機能の回復を検索する手段として三叉神経脊髄路核での標識細胞を観察することで、少なくとも筋剥離による神経損傷の回復が行われたことの証拠となる。神経追跡実験から、筋剥離群の術後21日例以降に多角形で大

きく、樹状突起を有する HRP 神経標識細胞を sp5 に確認することができたので、術後21日以前には末梢における神経の軸索輸送は再開していたと判断できる。

筋原線維は組織化学的にすべてタイプ2C線維である。それらは成長発育に伴って神経支配を得るとタイプ1線維、タイプ2A線維、タイプ2B線維に分化成熟する^{9,32~34)}。根本³⁵⁾はラット顎二腹筋前腹においても、これらと同様の結果が得られたと報告している。一方、高田¹⁾は神経支配を失った骨格筋線維はタイプ2C線維に変化し運動機能を失うが、再神経支配が得られれば筋機能は回復し、その経過中にタイプ2C線維が出現することを明らかにしている。また、滝沢²⁾はタイプ2C線維は再生途上の筋や未分化な筋線維ばかりでなく、手術侵襲が加わった筋線維の一部では筋線維内の神経線維が部分的に断裂し、その結果タイプ2C線維が出現すると述べている。本研究では、骨格筋の分化が終了している8~10週齢のラットを使用した^{21,36,37)}。顎二腹筋前腹は顎舌骨筋神経の細枝である顎二腹筋枝に支配され、周囲の筋組織とは筋膜で隔てられ筋束を区別しやすい骨格筋である³⁰⁾。そのため神経切断群では顎二腹筋前腹に触れず、最も少ない侵襲で神経支配を完全に絶つことができ、筋剥離群では高い再現性で周囲組織から顎二腹筋前腹のみを剥離する手技を加えられた。また、起始と停止には両群とも侵襲を加えておらず、筋線維長の変化を考慮せずに検索が可能であった¹⁾。本研究の結果では、両群ともに術後14日例以降にタイプ2C線維が出現している。しかし、出現率には差が見られた。これは筋衛星細胞 (Satellite Cell) が関与していると考えられる。筋線維が成熟する間は多く見られるが成長とともに減少している。筋線維に何らかの変化が起きると出現するとの報告がある⁹⁾。筋再生が筋発生と大きく異なることは基底膜内で再生が起こることと、神経支配下にあることが多いことである^{9,38)}。壊死が筋線維の一部に見られた際、再生も筋線維の一部で進行する。すなわち神経切断群で出現したタイプ2C線維は、AChE 活性や HRP 神経標識細胞の検索結果からも、神経支配を絶たれ、運動機能を失い、萎縮傾向にある筋線維であること

は明らかである。一方、筋剥離群の AChE 活性と HRP 神経標識細胞の検索結果から術後21日例までは神経支配を失っているため、この時期に出現したタイプ2C線維は神経切断群に類似していると考えられる。しかし、術後28日例以降は筋組織における AChE 活性と sp 5 で HRP 神経標識細胞が認められ、遠心性線維の機能回復を示唆する所見を得た。これらのことから、神経剥離群において術後84日例までに認められるタイプ2C線維は神経支配を絶たれた線維と再神経支配を得られた再生途上の線維とが混在していると考えられる。

筋束を周囲組織から剥離する手技は筋線維に大きな侵襲を与える。本研究において術後21日例で神経線維の連続性を示唆する所見を得ることはできた。しかし、術後84日例においても正常な顎二腹筋前腹に比べ、筋剥離群における神経筋接合部の AChE 活性の回復は51.7%、HRP 神経標識細胞数の回復は46.1%である。支配神経が切断された影響は、長期にわたり末梢機能にも影響を及ぼすため、いかに支配神経を温存して手術できるかが機能回復に重要であると考えられる。

結 論

ラット顎二腹筋を用いて支配神経切断および筋剥離に伴う筋組織への影響について検索した。

その結果、支配神経切断により、神経筋接合部における AChE 活性は低下、消失し、ほぼ同時に筋組織内からの逆行性軸索輸送も遮断される。

一方、筋組織を周囲組織から剥離した場合も一時的に支配神経の連続性が断たれるが、術後21日までに神経軸索における物質輸送は再開されるものと考えられた。しかし、一時的な神経線維の断裂であっても、支配神経を完全に切断された筋線維と同様に末梢の筋組織にはタイプ2C線維が出現した後は、実験期間を通じて消失することはなかった。すなわち筋組織への直接的な侵襲はわずかであっても、神経線維が一時的にでも断裂した場合は、長期的に筋線維の変性が続くことが示唆された。

謝 辞

稿を終わるに臨み、御指導、御鞭撻を頂いた奥羽大学歯

学部口腔外科学講座主任大野敬教授に深謝するとともに、終始直接御指導、御校閲を賜った奥羽大学歯学部口腔外科学講座高田訓教授に衷心より謝意を表します。また、数々の御協力を頂いた奥羽大学歯学部口腔外科学講座、口腔病態解析制御学講座の諸先生方に厚く御礼申し上げます。

本論文の要旨の一部は、第62回NPO法人日本口腔科学会学術集会（平成20年4月17日 福岡）、第46回奥羽大学歯学会（平成20年11月8日 郡山）において発表した。

文 献

- 1) 高田 訓：凍結乾燥同種神経移植後の移植神経ならびに末梢筋組織の修復過程に関する実験的研究. 奥羽大歯学誌 **19** ; 332-351 1992.
- 2) 滝沢知由：ラット咬筋剥離後の回復に関する実験的研究. 奥羽大歯学誌 **24** ; 161-173 1997.
- 3) 金 秀樹：除神経筋への神経移植後の治癒経過に関する実験的研究—組織化学的ならびに定量形態学的研究—. 奥羽大歯学誌 **27** ; 237-250 2000.
- 4) 浜田智弘, 高田 訓, 小坂橋 勉, 金 秀樹ほか：ラットを用いた神経血管柄付遊離筋肉移植実験における移植後筋組織の変化. 日口診断会誌 **19** ; 240-245 2006.
- 5) 光島 勲：遊離血管柄付筋肉移植の研究臨床例における移植筋の形態学的検索. 日形外誌 **12** ; 1007-1017 1989.
- 6) 岩成進吉：骨格筋の外科的侵襲による機能と形態の変化—家兎ヒラメ筋切断縫合後の修復過程における筋収縮力と病理形態像について—. 日大歯学 **58** ; 670-680 1984.
- 7) 舘村 卓, 野原幹司, 藤田義典, 和田 健：スピーチエイドの鼻咽腔閉鎖機能賦活効果の生理学的背景鼻咽腔閉鎖不全に伴う口蓋帆拳筋疲労とスピーチエイドによる疲労抑制. 日本口蓋裂学会雑誌 **23** ; 273-281 1998.
- 8) 高田 訓, 舘村 卓, 大野朝也, 原 久永ほか：鼻咽腔閉鎖機能と口蓋帆拳筋の組織化学的所見との検討. 日本口蓋裂学会雑誌 **24** ; 61-69 1999.
- 9) 埜中征哉：臨床のための筋病理入門 第三版；2-39 日本医事新報社 東京 1989.
- 10) 伊藤和夫：ニューロンの染色・標識法 HRP の順行性、逆行性標識. 生体の科学 **36** ; 360-362 1985.
- 11) 羽山高雄：神経線維連絡の追跡法：WGA-HRP法を中心に. 日本味と匂学会誌 **6** ; 77-80 1999.
- 12) 林 由季：ラット下嚥槽神経切断後の神経の回復過程—定量形態学および HRP 神経標識法による検索—. 奥羽大歯学誌 **33** ; 195-206

- 2006.
- 13) 安田浩一, 古澤清文, 田中三貴子, 奥田大造ほか: ラット顎舌骨筋に分布する一次求心線維の形態学的検索— HRP 神経標識法による咬筋求心線維との比較—. 口科誌 **47**; 16-23 1998.
 - 14) Uemura, M., Sonomura, T., Tamanaka, A., Tabata, J. T. and Nakashima, M.: Topographical representation of motoneurons innervating the transverse mandibular muscle in the trigeminal motor nucleus, with special reference to rats. *J. Oral Biosci.* **49**; 136-142 2007.
 - 15) 中山洋子: 呼吸に同期して活動するラットオトガイ舌骨運動神経細胞の中樞局在の検討とサブスタンス P 陽性軸索終末の生後変化. 鶴見歯学 **28**; 287-299 2002.
 - 16) 田中三貴子: オトガイ舌骨筋支配神経の軸索末梢経路と中樞局在—ラットを用いた電気生理学的および形態学的検討—. 鶴見歯学 **24**; 37-55 1998.
 - 17) 野間弘康, 佐々木研一: カラーグラフィックス下歯槽神経麻痺; 201-228 医歯薬出版 東京 2002.
 - 18) 野村 進: 末梢神経の再生. 日整会誌 **53**; 105-114 1979.
 - 19) 江川 豪: ラットの咬筋神経切断によるミオシンアイソフォームの変化. 奥羽大歯学誌 **29**; 99-109 2002.
 - 20) 田守徳樹: ラット閉口筋運動ニューロンと開口筋運動ニューロンのアセチルコリンエステラーゼ活性の差について. 九州歯会誌 **55**; 206-216 2001.
 - 21) 小沢鉄二郎, 嶋田 裕, 真崎知生: 筋発生の細胞生物学; 259-313 学会出版センター 東京 1983.
 - 22) Hall, Z. W.: Multiple forms of acetylcholinesterase and their distribution in endplate and non-endplate regions of rat diaphragm muscle. *J. Neurobiol.* **4**; 343-361 1973.
 - 23) Tennyson, V. M., Brzin, M. and Kremzner, L. T.: Acetylcholinesterase activity in the myotube and muscle satellite cell of the fetal rabbit. An electronmicroscope cytochemical and biochemical study. *J. Histochem. Cytochem.* **21**; 634-652 1973.
 - 24) Sketelj, and Brzin, M.: 16S acetylcholinesterase in endplate-free region of developing rat diaphragm. *Neurochem. Res.* **5**; 653-658 1980.
 - 25) Wilson, B. W., Linkhart, S. G. and Nieberg, P. A.: Acetylcholinesterase in singly and multiply innervated muscle of normal and dystrophic chickens. *J. Exp. Zool.* **186**; 187-192 1973.
 - 26) 安田憲弘, 古屋英毅, 相山誓夫: 切断されたラット三叉神経抹消枝の再生に関する実験的研究—ファストブルーによる軸索輸送を指標にして—. 日歯麻誌 **28**; 41-50 2000.
 - 27) Amano, N., Yoshino, K., Kawagishi, S. *et al.*: Dual innervation of the Tooth Pulp by the Mesencephalic Trigeminal Nucleus and Trigeminal Ganglion occurs in the Cat, Dog and Monkey, but not in the Rat and rabbit: an HRPStudy. *Dentistry in Japan* **35**; 25-29 1999.
 - 28) Yasuda, K., Furusawa, K., Tanaka, M. *et al.*: The Distribution of Afferent Neurons in the Trigeminal Mesencephalic Nucleus and the Central Projection of Afferent Fibers of the Mylohyoid Nerve in the Rat. *Somatosens Mot. Res.* **12**; 309-315 1995.
 - 29) Allen, W. F.: Localization in the ganglion semilunare of the cat. *J. Comp. Neurol.* **38**; 1-25 1924.
 - 30) 堀田 一: 三叉神経の各種神経根切断・切除後に起こる半月状神経節の軸索変化に就いての実験的研究. 精神誌 **41**; 469-520 1937.
 - 31) 藤田恒太郎: 人体解剖学改訂第41版; 365-444 南江堂 東京 1999.
 - 32) 岡田理美, 埜中征哉, 石浦章一, 杉田秀夫: ラット筋線維の発育分化に関する組織化学的研究. 神経内科 **15**; 363-370 1981.
 - 33) Brooke, M. H., Williamson, E. and Kaiser, K. K.: The behavior of our fiber types in developing and reinnervated muscle. *Arch. Neurol.* **25**; 360-367 1971.
 - 34) 山上隆裕: 凍結による骨格筋線維の変性, 崩壊, 再生過程における組織化学的研究. 歯基礎誌 **27**; 1025-1054 1985.
 - 35) 根本隆一: ラット開閉口筋の発育・分化経過と支配に関する研究. 奥羽大歯学誌 **26**; 287-299 1999.
 - 36) 内山秀一, 玉木哲朗, 中野昭一: ラット骨格筋の絶対成長と体重を基準とした相対成長に関する研究. 日本生理誌 **56**; 7-16 1994.
 - 37) 石原昭彦, 勝田 茂, 藤田紀盛: 発育にともなうラット神経, 筋神経の組織化学的特性の変化について. 体育学研究 **29**; 125-133 1984.
 - 38) David, H. C.: Muscle tissue. Ham's histology ninth edition; 388-409 J. B. Lippincott Company Philadelphia 1987.
- 著者への連絡先: 宮下照展, (〒963-8611) 郡山市富田町字三角堂31-1 奥羽大学歯学部口腔外科学講座
Reprint requests : Terunobu MIYASHITA, Department of Oral Surgery, Ohu University School of Dentistry 31-1 Misumido, Tomita, Koriyama, 963-8611, Japan