

平成 30 年 6 月 27 日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K20599

研究課題名(和文) 蛋白同化ステロイドによる咀嚼筋の早期賦活化が顎口腔機能及び顎顔面形態に与える効果

研究課題名(英文) Effects of early activation of mastication muscles by anabolic steroids on stomatognathic function and dentofacial morphology

研究代表者

中村 文 (NAKAMURA, Aya)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(歯学系)・客員研究員

研究者番号：50711959

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、A型ボツリヌス毒素を咬筋もしくは側頭筋に注入した咀嚼機能低下モデルを作製した。その後、筋肉増強作用を有する蛋白同化ステロイドを投与することで、低下した状態にある筋機能を賦活化し、成長とともに顎口腔機能および顎顔面形態にどのような効果をもたらすか評価した。咀嚼機能低下モデルでは、顕著な筋活動の低下が認められ、下顎骨の劣成長が認められた。また、機能面では顎運動パターンが変化し、咀嚼効率が減少したことが示唆された。ステロイドを投与し早期賦活化を促した場合、下顎骨成長は回復傾向にあったが、下顎頭形態の十分な回復は認められなかった。

研究成果の概要(英文)：In this study, we developed masticatory hypofunctional models using botulinum neurotoxin type A injection into the masseter or temporalis muscle, and administered the anabolic steroid having the muscle enhancing action. We evaluated the effect of stimulating muscle function in hypofunction and the effect on stomatognathic function and dentofacial morphology with growth.

In the masticatory hypofunctional model, the muscle activity was significantly smaller and growth of mandible was reduced, which suggesting that the chewing efficiency decreased with changes in the jaw trajectory pattern. Although the growth of mandibular morphology tended to recover, adequate recovery of morphology around the mandibular condyle was not observed when steroids are administered to the hypofunctional model.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：咀嚼 マウス

1. 研究開始当初の背景

近年、摂食食物の軟食化により、よく噛まない、あるいは上手に飲み込めないなど、咀嚼の拙劣な子どもが増加していることが指摘されている。摂食・嚥下の基本的な機能の獲得期は離乳期に相当し、この時期に摂食・嚥下の基本動作を獲得するとされている。このため、この時期に適切な機能の獲得が行われなかった場合、将来において、食べる機能に障害を残すことが考えられる。

我々は現在までに、口腔運動疾患の病態発症機構解明のため、マウスを用いて、軟食化モデルや不正咬合モデルを構築し、咀嚼・嚥下機能発達と障害のメカニズムを解明し、軟食化や不正咬合が咀嚼中枢形成障害や形態成長不全を引き起こすことを明らかにしてきた。

さらに、離乳期より軟食飼育したマウスを成長発達期以降に固形飼料飼育に切り替えるリハビリテーションモデルを作製した。その結果、成長期を過ぎて固形飼料飼育に切り替えたマウスにおいて、咀嚼機能の十分な回復は認められなかった。これにより、適切な咀嚼機能獲得には臨界期が存在することが示唆された。

咀嚼機能低下モデルに関しては、これまでウサギやラットなどの成長期の動物モデルに筋切除術や、神経切断などを行い、頭蓋顔面領域の形態成長に及ぼす影響について、多くの研究がなされてきた。しかし、実験方法として筋切除は広範な侵襲を及ぼし、瘢痕や血液供給の減少、神経切断では、感覚障害を引き起こすことが知られている。

近年、ボツリヌス毒素は筋に注入することで、侵襲や環境変化をもたらすことなく、特定の咀嚼筋機能低下を引き起こすことが可能であるため、広く用いられている。

しかしながら、機能に及ぼす影響については、筋電図学的研究に限定され、下顎運動に関する報告は行われておらず、咀嚼運動などの機能的観点からそのメカニズムの解明を試みた研究は殆ど行われていない。

2. 研究の目的

本研究では、咀嚼機能低下モデルマウスとして、A型ボツリヌス毒素製剤(ボトックスピスタ®注用50単位、アラガン・ジャパン株式会社)を咬筋もしくは側頭筋に注入した咀嚼機能低下モデルを作製して、離乳直後のCPG形成期前に、筋肉中の速筋線維を肥厚させ筋肉増強作用を有する蛋白同化ステロイドを投与することで、低下した状態にある筋機能を賦活化し、成長とともに、顎口腔機能、および、顎顔面形態にどのような効果をもたらすか評価することを目的とした。

3. 研究の方法

咀嚼機能低下モデルマウスとして5週齢のICRマウスに、A型ボツリヌス毒素製剤(以下BoNT/A)を咬筋もしくは側頭筋に注入した咀嚼

機能低下モデルを作製した。(図1)

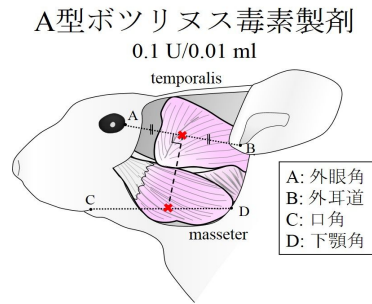


図1. BoNT/A 注入部位

このモデルを実験対象として、磁気センサを応用した小動物3次元顎運動測定システムにて、自由行動下における、マウスの機能時の顎運動および咀嚼筋(咬筋・側頭筋)筋電図の同時記録を行った。(図2)

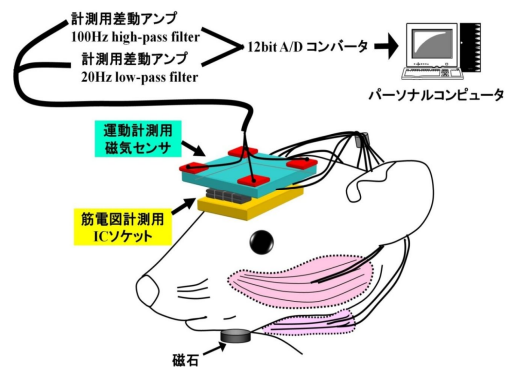


図2. 3次元顎運動・筋活動計測システム

その後、10週齢時に筋肉増強作用のある持続性蛋白同化ステロイド剤(プリモボラン・デポー)40μg/mlを投与し、20週齢まで飼育を継続し、動物実験用3DマイクロCTを用いて撮影を行い、形態の変化を観察した。(図3)

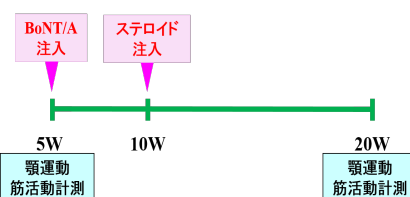


図3. タイムスケジュール

4. 研究成果

(1) 形態成長

下顎骨形態について、機能低下群では、下顎枝の劣成長、下顎角の開大、下顎頭幅径の縮小、下顎頭の骨密度低下が認められた。ステロイド群では、下顎枝の成長および下顎角の開大は改善傾向にあった。しかしながら、下顎頭周囲形態には有意な回復が認められなかった。下顎頭周囲の骨成長が十分に行われなかったことは、同部位の顎運動様式との関連が示唆される。

(2) 筋活動

各群の注入前後の筋活動の比較を図に示す。

(図4) BoNT/A を注入した筋は、注入後に筋活動時間および筋活動量が有意に低下する結果となった。

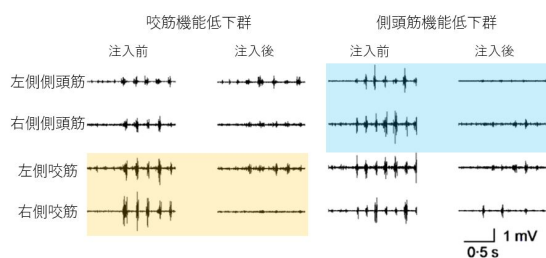


図4. BoNT/A 注入前後の筋電図

しかしながら、咬筋もしくは側頭筋機能低下時に BoNT/A を注入していない筋の活動の増加は認められなかった。つまり、それぞれの筋低下を補おうとするもう一方の筋による補償機構は働かないことが示唆された。(図5)

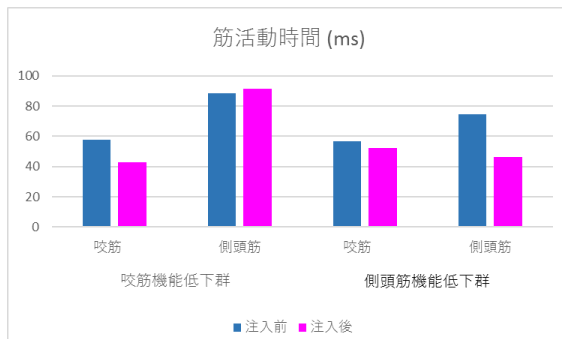


図5. BoNT/A 注入前後の筋活動時間の比較

(3) 顎運動

BoNT/A 注入後の顎運動では、咬筋機能低下群において、粉碎臼磨期に相当する前方滑走時の咀嚼運動経路において、顎運動経路のばらつきが大きく不安定となった。(図6)

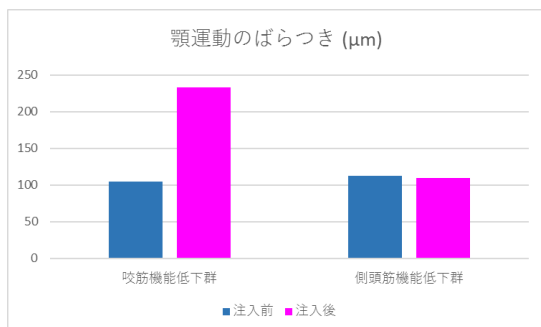


図6. BoNT/A 注入前後の粉碎臼磨期の顎運動のばらつきの比較

筋紡錘は閉口筋において豊富に存在し、筋の緊張状態の感知や、下顎の位置や運動感覚の信号を脳に送る。また、筋紡錘や歯根膜の求心性神経からの感覚情報は、脳幹においてパターンジェネレーターの活動に影響を与え、咀嚼運動や咬合力の調整に役立つことが報告されている。今回の研究においても、BoNT/A の注入によって、筋紡錘をはじめとした求心性入力に影響がおよび、顎運動が不

安定になったことが示唆された。

一方、側頭筋機能低下群では、粉碎臼磨距離が有意に短くなった。(図7)

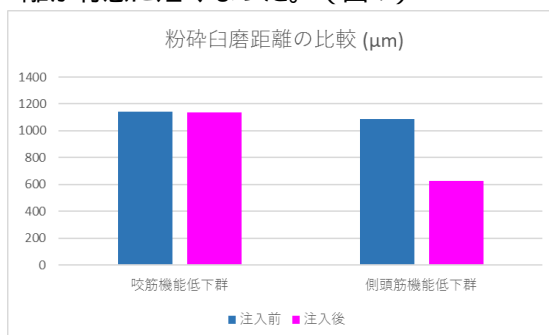


図7. BoNT/A 注入前後の粉碎臼磨距離の比較

側頭筋機能低下群では、本来閉口相前期に働くはずの側頭筋が働かないために、下顎の後方牽引の抑制がおり、これより、顎運動は、グライディングからチョッピング傾向の顎運動軌跡に変化し、咀嚼効率が減少する咀嚼運動パターンに変化したことが示唆された。

【結論】

以上の結果から、咀嚼機能低下モデルでは、顕著な筋活動の低下が認められた。また、筋紡錘をはじめとした求心性入力に影響が及び顎運動が不安定となった。さらに、顎運動パターンが変化し、効率的な粉碎臼磨運動が困難となり、咀嚼効率が減少したことが示唆された。

現在の筋活動計測システムでは、電極の耐久性の問題から、長期的な計測を確立できておらず、経時的な筋の補償の過程を解明することが今後の課題である。

また、機能低下モデルに対してステロイドを投与し、低下した状態にある筋機能を賦活化することで、下顎骨の成長は正常に回復する傾向にあるものの、下顎頭周囲の形態は回復しにくいことが示唆された。

しかしながら、現在の磁気センサを用いた顎運動計測では、オトガイ1点の運動計測に限定されているため、下顎頭などの直接計測できない。下顎頭のような軟組織に隠れた下顎骨上の点を計測するには並進運動だけでなく、回転運動も含めた運動解析を行うため、3点3次元解析が必要となる。このため、今後は、高精度ハイスピードカメラと動物実験用3DマイクロX線CTを組み合わせた6自由度顎運動解析システムの開発を進めていく必要がある。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計1件)

Mechanism of motor coordination of masseter and temporalis muscles for increased masticatory efficiency in mice.

Yoshimi T, Koga Y, Nakamura A, Fujishita A, Kohara H, Moriuchi E, Yoshimi K, Tsai CY, Yoshida N. J Oral Rehabil. 2017 May;44(5):363-374. doi:10.1111/joor.12491. 査読有り

該当なし

(3)連携研究者
該当なし

〔学会発表〕(計 5 件)

1. 森内 絵美, 吉見知子, 藤下あゆみ, 中村文, 濱中僚, 古賀義之, 吉田教明: モーションキャプチャーを用いた小動物 6 自由度顎運動解析システムの開発. 日本顎口腔機能学会第 56 回学術大会, 川越, 4 月 {日本顎口腔機能学会第 56 回学術大会プログラム・事前抄録集, p.18-19, 2016}
2. 森内絵美, 吉見知子, 藤下あゆみ, 中村文, 小原悠, 濱中僚, 古賀義之, 吉田教明: モーションキャプチャーを応用した 6 自由度顎運動計測システムを用いた多点同時解析, 第 75 回日本矯正歯科学会大会, 徳島, 11 月 {第 75 回日本矯正歯科学会大会 プログラム・抄録集, p.179, 2016}
3. 吉見知子, 森内絵美, 藤下あゆみ, 中村文, 内海大, 吉見圭子, 古賀義之, 蔡吉陽, 吉田教明: ボツリヌス毒素注入後の咀嚼筋機能低下によるマウス咀嚼運動の変化. 日本顎口腔機能学会第 54 回学術大会, 鹿児島, 4 月 {日本顎口腔機能学会第 54 回学術大会プログラム・事前抄録集, p.20-21, 2015}
4. 吉見知子, 森内絵美, 藤下あゆみ, 中村文, 内海大, 吉見圭子, 古賀義之, 蔡吉陽, 吉田教明: マウスにおける閉口相での咬筋および側頭筋の協調運動のメカニズムについて, 第 74 回日本矯正歯科学会大会, 福岡, 11 月 {第 74 回日本矯正歯科学会大会 プログラム・抄録集, p.171, 2015}
5. 森内絵美, 吉見知子, 藤下あゆみ, 中村文, 内海大, 古賀義之, 吉田教明: ハイスピードカメラと 3D マイクロ X 線 CT を用いた小動物 6 自由度顎運動解析システムの構築, 第 74 回日本矯正歯科学会大会, 福岡, 11 月 {第 74 回日本矯正歯科学会大会 プログラム・抄録集, p.173, 2015}

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

該当なし

○取得状況(計 0 件)

該当なし

〔その他〕

ホームページ等

該当なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

中村 文 (NAKAMURA, Aya)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(歯学系)・

客員研究員

研究者番号: 50711959

(2)研究分担者