

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：16101

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2016～2017

課題番号：16H07016

研究課題名(和文) 成長期における咀嚼性刺激の変化が咀嚼筋及び下顎骨の性状に及ぼす影響

研究課題名(英文) The influence of masticatory loading stimulus on the quality masticatory muscle and mandible during growth

研究代表者

七條 なつ子 (HICHIJO, Natsuko)

徳島大学・病院・助教

研究者番号：60779940

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：成長途中において、軟らかい食事から咀嚼性刺激の高い硬い食事に変更することで、顎顔面骨格の成長が硬い食事によって育った下顎骨の大きさや質に回復(catch-up)されるのか否かを検証した。成長期の早期に、食事を軟性から硬性に変化させると、硬い食事でも育った下顎骨の成長と有意差ない大きさや形に育つことがわかった。しかし、軟らかい食事ばかりを続けると、有意に成長は小さくなることも示された。また、体重は軟らかい食事、硬い食事、軟性から硬性に食事を変化させたどのグループでも、成長終了時の重さに大きな違いはなかった。

研究成果の概要(英文)：I tested the hypothesis that early-diet change (from soft-diet to hard-diet) during growth can catch up with the mandibular formation and quality of hard-diet group. The mandibular formation in the early catch-up group didn't show no significant differences, compared to the hard-diet group. However, a decrease in food consistency has resulted in less bone characteristics and morphology. Moreover, animals in three groups (hard-diet group, early-diet change (soft-hard) group and soft-diet group) showed similar weight at the end of growth.

研究分野：歯学

キーワード：歯学 食育 成長 顎顔面骨格 オーラル・フレイル

## 1. 研究開始当初の背景

近年、外食産業の成長とともに軟らかく調理されて効率よく摂取できるものが好まれ、食事時の咀嚼回数は極めて少なくなった。平成 17 年に食育基本法が制定され、「咀嚼」の重要性が注目されるようになった。咀嚼は、消化および口腔内の自浄作用を助けるほか、脳機能の保持、情緒の安定など心身の発育も含め重要な役割を果たしている。最近では、高齢者の歯科口腔機能の低下を表す「オーラル・フレイル」という新しい考え方も注目されており、今までのう蝕や歯周病などの改善を主眼に置いた対策に加え、各ライフステージにおける「食べ方」の支援など、「食育」への関わりがより一層求められている。

顎顔面骨格の成長においては咀嚼筋を介した咀嚼性刺激が顎顔面形態に大きく関与すると考えられている。そのため、摂取する食物の性状は、適正な刺激を顎顔面骨格や咀嚼筋へ伝達する上で重要な因子と考えられる。

そこで、成長途中において軟食飼育から硬食飼育への変更、すなわちヒトにおける成長期の食育指導の実施により、咀嚼性刺激が増加し顎顔面骨格の成長が回復 (catch-up) されるのか否かを検証すれば、食育指導の重要性に科学的根拠を与えることが可能になると考えるに至った。

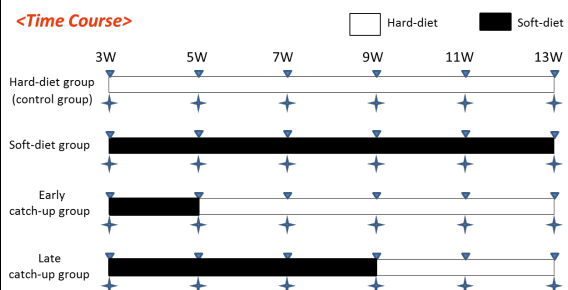
## 2. 研究の目的

本研究室では、咀嚼性刺激の減少に伴い筋線維の速筋化が生じること (Kawai et al., 2010) や、成長発育期の食餌の物性の低下に伴う咀嚼刺激の低下が、咀嚼筋機能および下顎頭軟骨の代謝活性を低下させ (Hichijo N et al., 2014)、下顎骨の形態と骨質にも変化を惹起したことを示した (Hichijo N et al., 2015)。本研究室以外でも咀嚼性刺激と顎顔面形態の成長に関する様々な報告がされている (Kiliaridis et al., 1989, Sato et al.,

2005, Benjamin et al., 2014) が、未だ不明な点が多い。これまでで、成長発育期の食餌の物性の低下に伴う咀嚼性刺激の低下が、咀嚼筋機能を顕著に低下させ、下顎骨の形態と骨質にも変化を惹起することは明らかになってきているものの、低下した機能を回復させる方法や回復させることが可能なのかを検討した報告はない。本研究では、食育による顎骨への咀嚼性刺激の回復が、顎顔面形態や顎口腔機能に及ぼす影響を評価し、食育指導の重要性に対し科学的な根拠を与えることを目的とした。Catch-up 群が硬食群と有意差のない成長を示したならば、成長途中における食育指導は骨格的不調和を防ぎ、改善も期待できることが明らかとなる。

## 3. 研究の方法

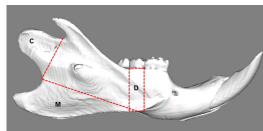
本研究では、離乳直後の 3 週齢から 13 週齢までの Wistar 系雄性ラットを使用し、通常の固形飼料にて飼育した硬食群と粉末状の軟性飼料を与えて飼育した軟食群、5 週齢目に軟食から硬食に変更する early catch-up 群、9 週齢目に軟食から硬食に変更する late catch-up 群の 4 群に分ける。13 週齢まで異なる性状の食餌にて飼育した後、ラットを屠殺し、以下の評価を行う。



### (1) 実験動物用 X 線 CT を用いた下顎骨の形態計測ならびに骨密度とミネラルの測定

右側下顎骨を摘出し、2 種類の実験動物用 X 線 CT ( $\mu$ CT 40, Scanco Medical AG, Brüttisellen, Switzerland; Latheta LCT-200, Hitachi Aloka Medical, Tokyo, Japan) を用いてラット下顎骨のミネラル分布及び骨量と骨密度を測定し、4 群間で比較

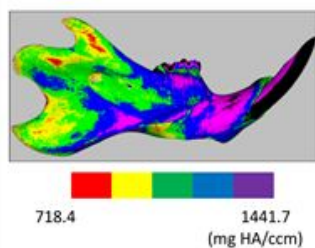
検討を行う。ミネラル量や骨量の測定部位としては、咀嚼時に刺激が加わりやすいと考えられる下顎頭、咬筋附着部、臼歯部歯槽基底部の3か所とする。



<Fig.1>

(Fig.1) また、ミネラルの分布をカラーマップに示して

視覚的にも評価する。

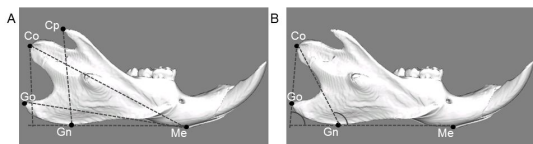


(Fig.2)

さらに各群のラット下顎骨を三次元構

築し、形態計測を行う。 <Fig.2>

(Fig.3)



<Fig.3>

(2) 下顎頭軟骨の成長発育能に対する検討

ラットの左側顎関節部を一塊として摘出する。10%ethylendiamine teraacetic acidにて4週間脱灰後、通法に従いパラフィン包埋し、ロータリーマイクロームにより厚さ5 μmの矢状断連続切片を作製後、各切片にhematoxylin-eosin染色を施し、組織学的変化を光学顕微鏡を用いて観察する。さらに下顎頭軟骨の組織像をデジタルカメラを用いて撮影し、下顎頭中央の関節軟骨表層、増殖軟骨層、成熟軟骨層および肥大軟骨層の厚径の測定をする。また、IGF-1受容体抗体による免疫組織化学染色を行い、下顎頭軟骨中央部の増殖軟骨層と成熟軟骨層においてのIGF-1受容体陽性細胞数を算定し、評価する。

(3) 飼料の性状がラット咀嚼筋 MyHC アイソフォームに及ぼす影響

屠殺後、咬筋浅層、顎二腹筋前腹、側頭筋を摘出し、液体窒素で冷却したイソペンタン中で急速凍結する。各筋について厚さ 10 μm

の凍結切片を作製し、免疫組織染色を施す(一次抗体; MyHC : 219-1D1, MyHC A : 333-7H1, MyHC A+X : 332-3D4, MyHC A+B+X : 340-3B5, 二次抗体; Goat anti-Mouse, Donkey anti-Goat, Peroxidase-anti-peroxidase)。各筋より平均 100 個の筋線維横断面を選択し、MyHC アイソフォームごとに(MyHC-, A, X, B)写真撮影を行って、各 MyHC アイソフォームを有する筋線維の比率ならびに横断面積を求め両群の比較を行なう。

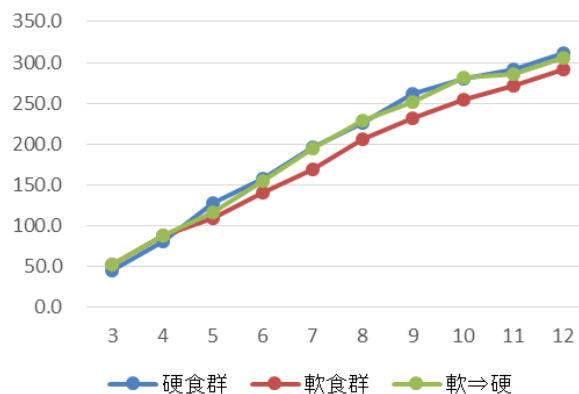
#### 4. 研究成果

研究方法として、4群に分け、3項目の検討事項を立てていたが、他の業務との両立が予想以上に困難であった。また、切片の製作や免疫組織化学染色も思い通りにいかず、3項目の達成には至らなかった。

よって、硬食、軟食、および5週齢目に軟食から硬食に変更する early catch-up 群の3群間の検討を行った。

##### (1) 体重変化

体重の変化

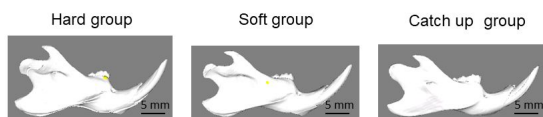


硬食群と比較して軟食群は、成長途中は有意に小さな値を示したが、12週齢の成長が終了したと考えられる時点ではほぼ同じ値となった。また、early catch-up 群では、5週目までは、軟食群と同じ成長を示したが、硬食に切り替えた後の6週目からは硬食群の体重変化のグラフにほぼ一致した。12週齢時の体重は、軟食群がやや小さいものの、3群ともほぼ同じ値となった。よって、成長期の早

期に、軟食飼育から硬食飼育に食餌形状を変えると、成長終了時の体重は硬食飼育したコントロール群とほぼ変わらないことが分かった。

## (2) 実験動物用 X 線 CT を用いた下顎骨の形態計測

3 群の形態計測学的変化を比較した。



Mandibular measurements	Hard group		Soft group		Catch up group	
	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.
Linear measurements (mm)						
Me-Co	22.06	0.34**	21.14	0.78**	21.96	0.61
Me-Go	20.34	0.58	19.54	0.69	20.32	0.54
Cp-GnMe	13.50	0.51**	12.04	0.19*	12.38	0.32*
Co-GnMe	11.14	0.55*	9.70	0.70**	10.35	0.40
Angular measurements (°)						
CoGo/GnMe	82.20	2.75**	88.70	3.07**	84.10	2.35
CoGn/GnMe	108.6	2.02	112.2	2.46	111.7	1.53

(下図)

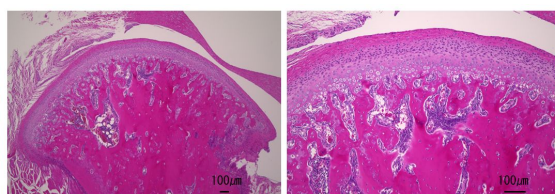
三次元構築を行い、全体的な形態をみると、軟食群の下顎骨は硬食群よりも全体的に小さく、下顎頭の発達が悪っていた。Early catch-up 群では、軟食群と硬食群の間くらいであり、筋突起の発達が 2 群と比較してやや劣っている印象を受けた。

形態計測所見として、以前と同様に軟食群は硬食群と比較して、下顎枝高が有意に小さく、下顎角および下顎枝の傾斜角は、有意に大きな値を示した。一方で、early catch-up 群がほかの 2 群と比較して有意差を示したのは、下顎骨の全体的な高さであり、硬食群より有意に小さな値を示した。前後的な大きさや角度計測所見としては、2 群と比較して明らかな差は認められなかった。よって、5 週齢で食餌を硬食に変えると、下顎骨の全体的な大きさとしては、硬食群と明らかな差は認めず、catch-up できることがわかった。

(3) 下顎頭軟骨の成長発育能に対する検討  
コントロール群として、硬食群の下顎頭を HE 染色し、観察した。

(右上図 倍率：左×4、右×10)

硬食群の下顎頭軟骨組織では、各軟骨層の区



分が明瞭で成熟軟骨層における細胞が密に存在することがわかる。また、硬食群の下顎頭中央部の全軟骨層の厚径は、以前報告したデータと似た値を示した。

切片の作製が思うようにうまくいかず、最終的には外部機関に発注し切片を作製したことや、研究に十分時間が割けなかったことより、軟食群や catch-up 群の切片の作製が本報告に間に合わなかった。今後、継続して成果を出していきたい。

## (4) 下顎歯牙周囲組織の組織像

咀嚼時に最も負担がかかるのは歯牙である。以前、報告したものでも、食餌の変化でミネラル量に変化が認められ、下顎頭や咬筋附着部は筋肉を介した間接的的刺激である一方、臼歯部歯槽基底部分は歯の直下であることより、咬合の影響をより強く受けたと推察した。そのため、今回、下顎頭を HE 染色すると同様に、下顎骨全体と歯牙の周囲組織も



左上段：歯牙全体像

倍率：× 2

下段：歯牙周囲

倍率：× 4

観察することとした。(下図)

上図は、硬食群の最前方臼歯の切片である。この標本では 2 本の歯根が、それがはまっている歯槽とともに縦断されており、歯根と歯槽を結ぶ歯根膜がよくわかる。歯頸では粘膜下組織の緻密な膠原繊維が、歯頸に対してほぼ直角に固く結合しているのが観察され



る。歯頸以外の部分では歯根膜の結合組織繊維はやや斜め方向で歯根を歯槽に結び付けている。歯根の表面に見える薄紫色の縁取りはセメント質と考えられる。これをコントロールとして、他群との歯牙または周囲組織の違いがあるかどうかを観察していく。

#### 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)

Manami Shirai, Nobuhiko Kawai, Natsuko Hichijo, Masahiko Watanabe, Hiroyo Mori, Silvia Naomi Mitsui, Akihiro Yasue, Eiji Tanaka.

Effects of gum chewing exercise on maximum bite force according to facial morphology. Clin Exp Dent Res, 査読有り, 2018;1-4. DOI : 10.1002/cre2.102

〔学会発表〕(計 7 件)

白井愛実, 川合暢彦, 三井なおみ, 七條なつ子, 泰江章博, 堀内信也, 田中栄二.

骨格性下顎前突症患者の顎口腔機能に対する術後ガム咀嚼訓練の効果. 第 76 回日本矯正歯科学会大会, 平成 29 年 10 月 18~20 日, さっぽろ芸文館、ロイトン札幌、札幌市教育文化会館(北海道札幌市).

七條なつ子, Mitsui SN, 荒井大志, 川合暢彦, 田中栄二.

片側性の多数歯根肥大歯により開咬を呈した症例. 第 76 回日本矯正歯科学会大会, 平成 29 年 10 月 18~20 日, さっぽろ芸文館、ロイトン札幌、札幌市教育文化会館(北海道札幌市).

白井愛実, 川合暢彦, 七條なつ子, 森博世, 泰江章博, 田中栄二.

骨格性下顎前突症患者における外科的矯正治療前後の顎口腔機能評価. 第 27 回特定非営利活動法人日本顎変形症学会総会・学術大会, 平成 29 年 6 月 15~16 日, 東京ビッグサ

イト TFT ホール(東京都江東区).

白井愛実, 川合暢彦, Bayarsaikhan Od, 七條なつ子, 森博世, 泰江章博, 堀内信也, 田中栄二.

下顎骨単独骨切り術と上下顎同時移動術を行った骨格性下顎前突症例の顎顔面形態の比較. 第 75 回日本矯正歯科学会大会, 平成 28 年 11 月 7~9 日, アスティ徳島・むらさきホール(徳島県徳島市).

天真寛文, 渡邊佳一郎, 白井愛実, 七條なつ子, 田中栄二.

新たな下顎臼歯の遠心移動量および移動様式の予測指標の開発 - 第 2 報 -. 第 75 回日本矯正歯科学会大会, 平成 28 年 11 月 7~9 日, アスティ徳島・むらさきホール(徳島県徳島市).

渡邊佳一郎, 天真寛文, 白井愛実, 七條なつ子, 田中栄二.

新たな下顎臼歯の遠心移動量および移動様式の予測指標の開発 - 第 1 報 -. 第 75 回日本矯正歯科学会大会, 平成 28 年 11 月 7~9 日, アスティ徳島・むらさきホール(徳島県徳島市).

七條なつ子, 黒田晋吾, 佐藤南, 阿部直樹, 古谷昌裕, 田中栄二.

ガミースマイルを伴う過蓋咬合症例に対する上顎前歯部圧下の有用性. 第 26 回特定非営利活動法人日本顎変形症学会総会・学術大会, 平成 28 年 6 月 24-25 日, 学術総合センター(東京都千代田区).

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

七條 なつ子 (HICHIJO, Natsuko)  
徳島大学・病院・助教  
研究者番号: 60779940