

研究種目：基盤研究（B）  
 研究期間：2006～2008  
 課題番号：18390555  
 研究課題名（和文） 顎口腔機能障害を伴う遺伝子改変マウスを用いた摂食・嚥下機能発達のメカニズムの解明  
 研究課題名（英文） Investigation into mechanism of development of stomatognathic function using knock-out mice accompanied by oral motor disorders  
 研究代表者  
 吉田 教明（YOSHIDA NORIAKI）  
 長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授  
 研究者番号：40230750

## 研究成果の概要：

本研究では、離乳後に固形飼料と液状飼料でそれぞれ飼育したマウスの咀嚼機能の変化を解析し、軟食化が咀嚼機能の発達を妨げるという仮説を検証した。軟食を日常摂取すると、吸啜から咀嚼への転換は行われるものの、顎口腔機能を司る中枢機構の発達が阻害される可能性が示唆された。また、歯のないマウスを用いて、歯および歯根膜の存在が咀嚼機能の発達にどのような役割を果たすかを検証した。歯根膜機械受容器からの入力が開口筋活動の末梢性調節に重要な役割を果たしており、適度な食刺激が正常な咀嚼機能の獲得をもたらすと考えられた。

## 交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
平成 18 年度	6,200,000	1,860,000	8,060,000
平成 19 年度	5,100,000	1,530,000	6,630,000
平成 20 年度	4,000,000	1,200,000	5,200,000
年度			
年度			
総計	15,300,000	4,590,000	19,890,000

## 研究分野：顎口腔機能解析

科研費の分科・細目：歯学・矯正・小児系歯学

キーワード：顎運動、筋電図、顎口腔機能、摂食・嚥下機能、軟食化

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 近年、歯科における新しい治療分野として、摂食・嚥下障害へのアプローチに注目が集まっている。わが国では、高齢化が急速に進行しており、加齢による機能低下や脳卒中に代表される脳血管障害などの後遺症による摂食・嚥下障害の患者が増加傾向にある。誤嚥による窒息や肺炎は全身状態に影響し、時には死に直結するため、地域における高齢者の在宅・施設ケア、リハビリテーション、介護などの取組が大きな課題となっている。

一方では、「噛めない子、噛まない子」「うまく飲み込めない子」が増えていると言われている。発育期において「よく噛む」訓練ができていないため、口腔器官の運動ならびに感覚機能の発達に基づく摂食・嚥下機能が十分には獲得されない。離乳後の食べ物の軟食化が原因の一つに挙げられているが、厳密な意味での科学的エビデンスに裏付けられている訳ではない。発達期の子供の口を健康に育て、一生涯にわたり「口から食べる楽しみ」「生きる喜び」を維持するための新しい歯科

臨床を提供する取組が社会のニーズとも合致するものである。

離乳期以降の「食べる」「飲み込む」機能は先天的にプログラミングされたものではなく、学習により獲得されるものである。吸啜運動から咀嚼運動への移行後は、様々な性状の食物摂取による口腔感覚受容器への刺激は、中枢の神経回路網にフィードバックされる。このことにより、神経回路の組み換えが盛んに行われ、一連の学習過程を経て、リズムカルな摂食・嚥下運動が脳幹部にプログラミングされると考えられている。

(2) 歯や歯根膜の役割には、食物を粉砕する機能とともに、咀嚼の感覚情報を脳に伝える事があげられる。歯根膜機械受容器は、髪の毛一本を感知する高感度の圧センサーである。咀嚼中の食物の性状に関する膨大な感覚情報は、開閉口反射の反射弓、あるいは咀嚼中枢、さらには視床を経て、大脳皮質へ送られる。咀嚼機能の生後発達、歯根膜機械受容器からいかに多くの感覚刺激が上位中枢へ伝達されるかに依るところが大きい。歯および歯根膜の存在が出生後の咀嚼機能の発達にどのような影響を及ぼすかは大変興味深いところである。

## 2. 研究の目的

本研究では、無歯顎のモデルとなる、歯の萌出不全を特徴とする大理石骨病 (op/op) マウスや液状飼料飼育マウスと健常マウスの咀嚼時および嚥下時の顎運動と筋活動を比較することで、摂食・嚥下機能の発達と学習のメカニズムを解明することを目的とする。健常マウスにおける正常像を op/op マウスにおける異常像と照らし合わせることで、摂食・嚥下機能獲得の過程を理解する。

摂食・嚥下の基本的な機能の獲得期は離乳期に相当し、噛み応えのある離乳食の摂取を増加することで、摂食・嚥下機能の基本動作が獲得される。この時期は食べる事によって顎口腔機能の獲得と顎口腔諸器官の成長を促す、非常に重要な時期と考えられている。発達期に、適切な機能の獲得が行われなかった場合、将来において、摂食・嚥下機能に障害を残す原因となることも考えられる。そこで、食べ物を丸呑みするモデルとして、液状飼料飼育マウスの顎口腔機能を解析することにより、摂食・嚥下機能を獲得する臨界期の有無、あるいは臨界期を逃した後の、機能回復についても明らかにすることで、噛むこと、飲み込むことの重要性を検証する。

## 3. 研究の方法

### (1) 顎運動計測

顎運動計測システムの主要な部分は、磁石と磁気センサから構成される。磁気センサとして、小型のホール素子 (2.7 mm × 2.35 mm

× 0.95 mm, HW-301B, 旭化成社製) を用い、4つのセンサからなるユニットを鼻骨に取り付ける。一方、標点となる磁石を下顎骨上の顎二腹筋前腹起始部に取り付け、下顎骨上の一点3次元運動記録(開閉・左右・前後)が可能となる。平面配置のセンサにより3次元の運動を計測するために、磁石の磁気軸とセンサの磁場受感面が垂直になるように配置する。4つのセンサは外界の温度や湿度変化による影響を遮断するために、エポキシ樹脂で包埋する(図1)。センサはあらかじめキャリブレーションを行い、正確な位置づけを行うため、スライディングジグを用いて、磁石とセンサの相対的位置関係を保ったまま、マウスに移植する。空間分解能は、開閉方向が 10 μm、前後、側方方向が 20 μm と高精度の運動計測が可能である。

### (2) 筋電図計測

筋電図を記録するために、一對のナイロンコーティングした銀線電極を直視下にて、両側の咬筋と片側の顎二腹筋および茎突舌骨筋に挿入する。筋電図用電極は、皮下を通して頭頂部に取り付けたコネクタに接続する(図1)。実験動物が拘束されることなく、自由に行動できるように、筋電図と顎運動記録装置からの出力は flexible なケーブルを介して、増幅器に送られる。

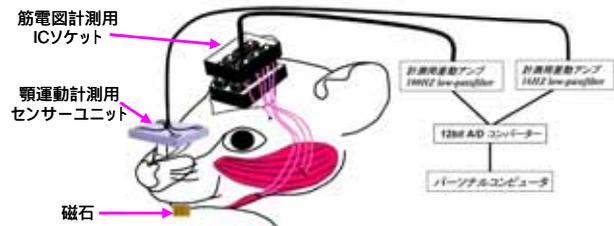


図1 3次元顎運動・筋電図計測システム

### (3) 顎運動・筋電図の解析

顎運動の解析：顎運動の最大開口から次の最大開口までを咀嚼運動の1周期として20周期を抽出し、開口量、下顎前方移動量、下顎側方移動量、1周期の周期時間(全周期時間)の平均値を求める。嚥下運動については、嚥下発生の指標として、咀嚼周期中にみられる顎舌骨筋の大きな筋活動が発現する下顎運動周期を嚥下の周期と定義する。

最大開口から筋活動開始、停止およびピークまでの時間、ピーク値の平均値を求める。

## 4. 研究成果

### (1) マウスの基本的な顎運動

基本的な顎運動記録を図2に示す。下顎運動は、パターンの違いから捕食期と粉碎臼磨期に分けられた。上から開閉運動、側方運動、前後運動の1次元表示を示す。下段には、矢状面に投影した2次元の顎運動軌跡を示す。

捕食期では、閉口時に下顎位は咬頭嵌合位まで達せず、食物をかじり取ってから、下顎を後退させて食物を口腔内に取り込む運動がみられた。粉碎臼磨期において、矢状面における咀嚼サイクルは、閉口相、前方移動相、開口相の3相に分けられた。閉口時に咬頭嵌合位に達すると、続いて前方滑走、すなわち食物を臼磨する運動がみられ、最前方位からは開口相へ移行した。捕食期と粉碎臼磨期では、矢状面における運動軌跡の回転方向が反時計回りから時計回りへと逆転した。捕食期の咀嚼軌跡は1ストロークごとにきわめて不規則で、一定のパターンはみられなかったが、粉碎臼磨期では、比較的規則的で、一定のパターンがみられた。

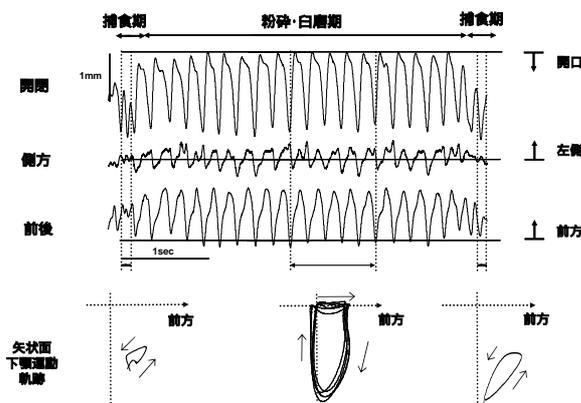


図2 マウスの基本的な顎運動

### (2) 下顎運動と筋電図の記録

固形飼料飼育マウスのペレット咀嚼時の顎運動と同期して記録した筋電図を図3に示す。上から下顎運動の各成分、右側咬筋、左側咬筋、右側顎二腹筋の筋電図を示す。下顎運動に同期して、閉口時は咬筋、開口時には顎二腹筋のリズミカルな筋活動が認められた。

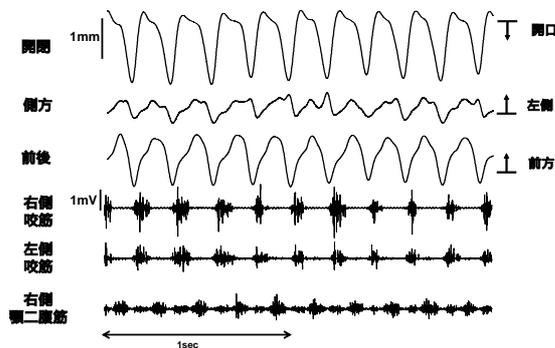


図3 下顎運動と筋電図の記録

下顎運動の周期時間について、物性の異なるペレットとパン咀嚼時を比較した。固形飼料飼育群では、前方移動相周期時間と全周期時間に食品間で有意差を生じた。一方、液状

飼料飼育群では、各相および全周期時間のいずれも有意差は認められなかった。

下顎運動量について、ペレットとパン咀嚼時を比較した。固形飼料飼育群では、側方移動量に食品間で有意差を生じた。一方、液状飼料飼育群では、前方移動量、側方移動量、最大開口量のいずれも有意差は認められなかった。

### (3) 顎運動経路の安定性

咀嚼機能の客観的評価について、咀嚼運動の10ストロークを抽出し、開閉口路を10分割した後、各分割点の座標値の水平成分の標準偏差SDを開口量ODで除算したSD/ODの平均値を咀嚼系路の安定性として評価した(図4)。また、各ストロークにおける全周期時間、閉口相時間、前方移動相時間、開口相時間を算出し、10ストロークの平均値と標準偏差から変動係数を求め、咀嚼リズムの安定性として評価した。液状飼料飼育群において、咀嚼経路の不安定性の指標となるSD/ODの値が固形飼料飼育群と比較して、矢状面における閉口相以外は、1桁大きな値を示した。運動リズムの安定性においても、前方移動相を除いて、液状飼料飼育群が固形飼料飼育群よりも変動係数が大きな値を示した。

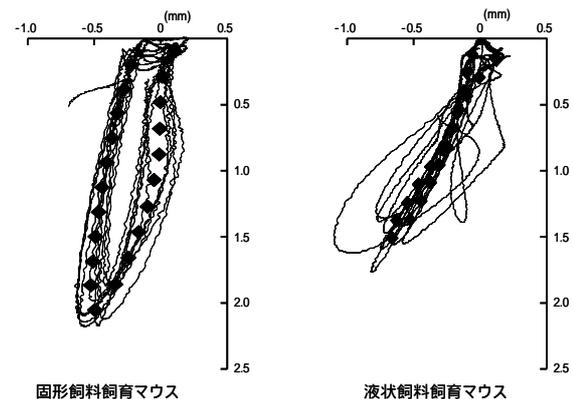


図4 前頭面における咀嚼系路の重ね合わせ

### (4) 歯が存在しなければ、咀嚼機能の正常な発達は損なわれるのか?

健常マウスとop/opマウスの下顎運動軌跡を図5に示す。矢状面における咀嚼サイクルは、健常マウスでは閉口相、前方移動相、開口相の3相に分けられた。一方、op/opマウスでは、明らかな前方移動相が認められず、閉口相と開口相の2相に分けられ、咀嚼パターンの獲得に有意な差がみられた。食品の硬度が低下するに従って、前方移動相の周期時間が短縮するという傾向がわかっており、柔らかい食品の咀嚼に適したパターンが習得されたものと考えられる。周期時間について、健常マウスと比較してop/opマウスの全周期時間と開口相時間は有意に長かった。

筋活動に関して、活動量は咬筋、顎二腹筋

ともに両群に有意差がみられなかった。活動時間は、咬筋では両群に有意差がみられなかったものの、顎二腹筋の活動時間は op/op マウスの方が健常マウスよりも有意に長かった。以上のことから、op/op マウスは、開口相において、舌を積極的に使用して、食物を口蓋に押しつけ、すりつぶすような咀嚼様式を獲得したことが示唆された。これらの結果は、歯が存在しなければ、咀嚼機能の正常な発達は損なわれることを示している。

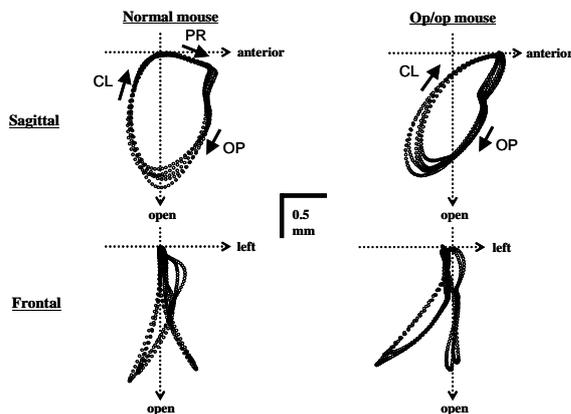


図5 健常マウスと op/op マウスの下顎運動軌跡

#### 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 8 件)

Mostafeezur R, Yamamura K, Kurose M, Yamada Y, Mastication-induced modulation of the jaw-opening reflex during different periods of mastication in awake rabbits, Brain Res, 1254, 28-37, 2009, 査読有り

Sanefuji K, Zerredo JL, Kurose M, Tanaka M, Koga Y, Yamada Y, Yoshida N, Possible effects of periodontal inputs on the masticatory function. J Jpn Soc Stomatognath Funct, 14, 89-95, 2008, 査読有り

Kitaura H, Yoshimatsu M, Fujimura Y, Eguchi T, Kohara H, Yamaguchi A, Yoshida N, An anti-c-Fms antibody inhibits orthodontic tooth movement, J Dent Res, 87, 396-400, 2008, 査読有り

Kudo T, Mishima R, Yamamura K, Mostafeezur R, Zakir HM, Kurose M, Yamada Y, Difference in physiological responses to sound stimulation in subjects with and without fear of dental treatments, Odontology, 96, 44-49, 2008, 査読有り

Yozgatian JH, Zerredo JL, Hotokezaka H, Koga Y, Toda K, Yoshida N, Emotional stress- and pain-related behaviors evoked by experimental tooth movement, Angle Orthod, 78, 487-494, 2008, 査読有り

Kokai S, Yabushita T, Zerredo JL, Toda K, Soma K, Functional changes of the temporomandibular joint mechanoreceptors induced by a lateral mandibular shift in rats, Angle Orthod, 77, 436-41, 2007, 査読有り

Yamada M, Koga Y, Okayasu I, Sanefuji K, Yamada Y, Oi K, Yoshida N, Influence of soft diet feeding on development of masticatory function, J Jpn Soc Stomatognath Funct, 12, 118-125, 2006, 査読有り

吉田教明, 成長期における咀嚼機能の発達と学習のメカニズム解明に向けた実験的アプローチについて、顎機能誌、13, 2-10, 2006, 査読有り

〔学会発表〕(計 7 件)

Kitaura H, Yoshida N (他 5 名) Recombinant mouse M-CSF receptor c-fms inhibits TNF- $\alpha$ -induced osteoclastogenesis. The 30th Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research, 2008 年 9 月 14 日, Montreal, Canada

Zerredo JL, Yoshida N (他 4 名) Biting behavior induced by acute stress in the rat during experimental tooth movement, 6th International Conference on Methods and Techniques in Behavioral Research, 2008 年 8 月 28 日, Maastricht, Netherlands

黒瀬雅之, 吉田教明, 山田好秋 (他 5 名) 自由運動下のマウスを用いた咀嚼運動パターンの解析, 第 49 回歯科基礎医学学会学術大会ならびに総会, 2007 年 8 月 30 日, 札幌

吉田教明, 顎口腔機能の発達を解明するための実験計画の立案, 第 5 回口腔機能セミナー, 2007 年 8 月 27 日, 岐阜

黒瀬雅之, 山田好秋 (他 4 名) 遺伝子改変マウスに応用可能な咀嚼運動様式の基礎データの収集, 第 1 回三叉神経領域の感覚-運動統合機構研究会, 2007 年 1 月 28 日, 松本

實藤恭子, 岡安一郎, ゼレドジョージ, 古賀義之, 吉田教明 (他 3 名) 咀嚼機能獲得に果たす歯の役割 - 無歯顎 op/op マウスを実験モデルとした機能解析 -, 第 65 回日本矯正歯科学会大会, 2006 年 9 月 15 日, 札幌

Yamada M, Koga Y, Okayasu I, Zeredo JL,  
Yoshida N (他2名) Daily of soft food  
influences development of masticatory  
function, 84th IADR, 2006年6月28日,  
Brisbane, Australia

山田 好秋  
新潟大学・医歯学総合研究科・教授  
80115089

〔図書〕(計 4件)

岡安一郎, 山田好秋, 吉田教明, 大井久美子、マウスにおける咀嚼運動研究のための慢性実験系、日本顎口腔機能学会編、顎運動および筋電図検査法、67-72、2008  
吉田教明, 古賀義之, 松尾恭子、顎口腔機能の発達を解明するための実験計画の立案、日本顎口腔機能学会編、顎運動および筋電図検査法、73-79、2008

久保 圭, 岡野耕大, 倉田知香, 武元嘉彦, 松岡なつき, 窪田直子, 増田裕次, 吉田教明, 山崎要一, 三浦宏之、下顎側方限界運動量の左右差と咀嚼筋活動量の相関について、日本顎口腔機能学会編、顎運動および筋電図検査法、108-111、2008

埴 総司, 内海 大, 安村真一, 山田千晶, 寺部やよひ, 谷岡款相, 松田慎平, 小川徹, 荒川一郎, 岡安一郎, 志賀 博：問診・ガム咀嚼・ロールワッテ試験による主咀嚼側判定結果と筋活動に関する検討、日本顎口腔機能学会編、顎運動および筋電図検査法、104-107、2008

北浦 英樹  
長崎大学・医歯薬学総合研究科・助教  
60295087

(3)連携研究者  
なし

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

吉田 教明

長崎大学・医歯薬学総合研究科・教授

40230750

(2)研究分担者

古賀 義之

長崎大学・医学部・歯学部附属病院・講師

50175329

岡安 一郎

長崎大学・医学部・歯学部附属病院・助教

80346923

ゼレド ジョージ

長崎大学・医歯薬学総合研究科・助教

10363459