

令和 5 年 5 月 24 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K10377

研究課題名（和文）成長期の鼻呼吸障害における筋機能の変調が顎顔面発育に影響を与えるか

研究課題名（英文）Does modulation of muscle function in nasal obstruction during growth affect maxillofacial development?

研究代表者

小海 暁 (Kokai, Satoshi)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・非常勤講師

研究者番号：50431937

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、成長期における慢性的な鼻呼吸障害が咀嚼運動に重要な役割を担う大脳皮質咀嚼野の発達に与える影響について、皮質内微小電気刺激を用いて解明することを目的とした。大脳皮質咀嚼野への皮質内微小電気刺激による顎運動をハイスピードカメラを用いて撮影し、計測を行った結果、成長期の鼻呼吸障害が同部位における顎顔面運動表象の発達に影響を与えることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

矯正歯科臨床において、鼻閉や口呼吸を有する者が多く見受けられる。大脳皮質咀嚼野は咀嚼運動の制御に関与する高次機能領域である。本研究は、SpO₂レベルと大脳皮質咀嚼野に着目し、成長期における鼻呼吸障害が末梢における変化のみならず、咀嚼運動の中樞神経系である大脳皮質咀嚼野の発達に与える影響について初めて明らかにした。今後の歯科臨床のみならず、歯科医学や神経生理学の発展に寄与するところが極めて大きいと考えられる。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to elucidate the effects of chronic nasal breathing disorders during growth on the development of the masticatory area of the cerebral cortex, which plays an important role in masticatory movements, using intracortical microelectrical stimulation. The results of the measurement of jaw movement by intracortical microelectrical stimulation of the cortical masticatory area using a high-speed camera revealed that nasal breathing disorder during growth affects the development of maxillofacial motor representations in the same area.

研究分野：矯正歯科

キーワード：鼻呼吸障害 成長期 咀嚼野 大脳

1. 研究開始当初の背景

成長期の鼻呼吸障害は、身体の健全な成長発育に対して多大な影響を与える。応募者はこれまで、鼻呼吸障害と口腔・顔面領域における末梢感覚受容器・反射および大脳皮質・海馬などの中枢機能との関連について検討を行ってきた。その結果、鼻呼吸障害に伴い、口腔領域体性感覚系神経回路の再編成、海馬 BDNF/TrkB シグナル制御不全、舌運動制御メカニズムの変調などの末梢中枢連関の崩壊が明らかになった。一方、筋機能に関しては、口腔周囲筋における遅筋の速筋化が報告されている。しかし、詳細なメカニズムについては解明されていなかった。

2. 研究の目的

近年、鼻呼吸障害が顎顔面の成長発育に与える影響について広く議論されている。矯正歯科臨床においても、上顎前突や開咬を主訴とする患者の中に、鼻閉や口呼吸を有する者が多く見受けられる。特に、成長期に鼻呼吸障害と診断される小児は増加しており、鼻呼吸障害を有する小児は下顎骨の後方回転やアデノイド様顔貌を引き起こすことが報告されている。慢性的な鼻呼吸障害が経皮的動脈血酸素飽和度 (SpO_2) を低下させることは広く知られており、ラットにおける片側鼻閉塞は咬筋と顎二腹筋前腹 (AD) の低成長や一次運動野における皮質内微小刺激 (ICMS) 陽性反応部位数の減少を引き起こすことが明らかとなっている。

大脳皮質咀嚼野は咀嚼運動の制御に関与する高次機能領域である。ラットの大脳皮質咀嚼野は A 領域と P 領域に分けられ、A 領域は一次運動野内、P 領域は島皮質腹側部に位置している。麻酔下において大脳皮質咀嚼野を刺激して誘発される顎運動は、自然咀嚼による筋電図活動のパターンと強い類似性を認める。そこで、自然咀嚼のモデルとして ICMS による顎運動が利用されている。

鼻呼吸障害が顎顔面領域の形態や機能の発達に大きく影響を与えることは数多く報告されているが、鼻呼吸障害による中枢神経系への影響については未だ明らかでない。そこで本研究では、成長期における慢性的な鼻呼吸障害が咀嚼運動に重要な役割を担う大脳皮質咀嚼野の発達に与える影響について、ICMS を用いて解明することを目的とした。

3. 研究の方法

生後 8 日齢の Wistar 系雄性ラット 48 匹を実験群と対照群 (各 $n=24$) に無作為に分けた。両群とも 8 日齢で低温麻酔を施し、実験群ラットは電気焼灼器具で右側外鼻孔を焼灼して鼻孔を閉塞させ、対照群ラットは右側外鼻孔の 1~2mm 上方を焼灼する偽手術を行った。感染防止用のテトラサイクリン塩酸塩を塗布後、保温観察し、母ラットの元に戻した。実験時、ラットの体重と SpO_2 を測定した。 SpO_2 は連続した 40~50 秒間の平均値とした。

ICMS による記録は、両群ともに 5、7 および 9 週齢で行った。塩酸ケタミン麻酔下にて開頭して脳を剖出後、脳定位固定装置にラットの頭部を固定し、タングステン微小電極を刺入することで ICMS を行った。本実験では、脳内マッピングを行うための最小限の刺激として $60\mu A$ の電気刺激 (持続時間 0.5ms、30Hz) を使用した。電極の刺入部位は、A 領域では bregma を基準に前方 2~4 mm、側方に 2~4 mm、深さ 2~4 mm に、P 領域では bregma を基準に後方 2mm~前方 2 mm、側方 4.5~6.5 mm、深さ 4~6 mm の範囲とし、前後、側方には 0.5mm 間隔、深さは 0.2mm 間隔で刺入して計測を行った。

ICMS により誘発される顎運動は、右側 AD (RAD) および左側 AD (LAD) の筋電図 (EMG) を用いて記録した。ICMS により 5 回の刺激を与え、EMG にて 3 回以上の筋活動が誘発された部位を ICMS 陽性反応部位とした。ICMS による電気刺激後、EMG で安静レベルより 2SD を超えて大きな電圧が認められた場合を筋活動が誘発されたと判定した。また、ICMS による大脳皮質咀嚼野のマッピング後にリン酸緩衝生理食塩水による灌流を行い、脳切片を作成し、HE 染色することによって刺激部位の妥当性を判定した。さらに重心は LAD および RAD の陽性反応部位の 3 次元的座標の平均から算出した。開口量の測定は、下顎前歯にマーカーを取り付けた状態でハイスピードカメラを用いて ICMS による顎運動を撮影し、下顎骨の最大開口位と安静位の垂直距離を計測した。統計学的解析は、多重比較に Sidak 法による単純主効果分析を用い、有意水準は 5% とした。

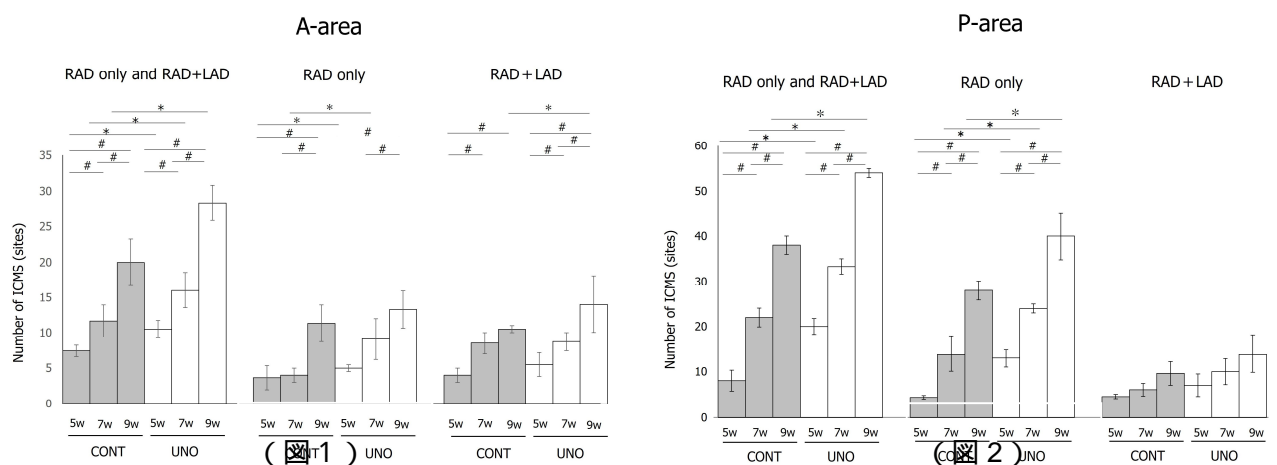
4. 研究成果

ICMS (図 1, 2)

ICMS 陽性反応部位の総数において、対照群と実験群の両群にて、A 領域と P 領域ともに ICMS 陽性反応部位数は 5 週齢から 9 週齢において増加が認められた。また、それぞれの週齢数において、実験群が対照群に比べて有意に増加した。

RAD のみの ICMS 陽性反応部位数では、A 領域の対照群と実験群にて、9 週齢は 5 週齢、7 週齢より有意に増加した。対照群と実験群の比較では、5 週齢と 7 週齢において実験群の方が対照群よりも有意に増加した。一方、P 領域では、対照群と実験群にて、5 週齢から 9 週齢にかけて有意に増加した。対照群と実験群の比較では、それぞれの週齢数において実験群の方が対照群よりも有意に増加した。

RAD と LAD の同時 ICMS 陽性反応部位数においては、P 領域における実験群、対照群ともにそれぞれの年齢において有意差を認めなかった。しかし、A 領域の対照群 5 週齢よりも 7 週齢と 9 週齢で有意に増加し、実験群では、5 週齢から 9 週齢にかけて有意に増加した。さらに、9 週齢において実験群の方が対照群よりも有意に増加した。



重心 (図 3)

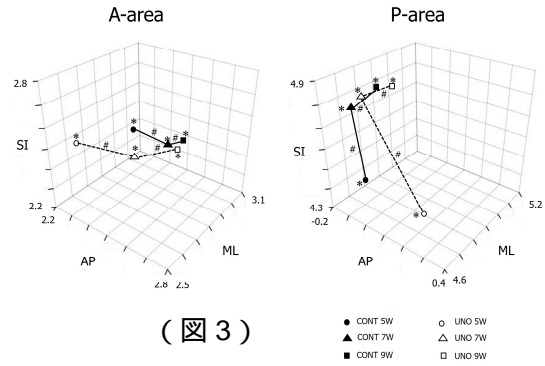
A 領域における対照群の群内比較では、5 週齢から 9 週齢にかけて吻側へ、7 週齢から 9 週齢にかけて側方に有意に移動していた。

しかし、深さについてはどの年齢においても有意差を認めなかった。実験群でも同様の傾向が認められた。対照群では実験群に比べ、5 週齢から 9 週齢にかけて重心が有意に側方に移動していたが、いずれの年齢においても深さに有意差は認めなかった。P 領域における対照群の群内比較では、5 週齢から 9 週齢にかけて大きく尾側に移動しており、実験群

では、5 週齢から 9 週齢にかけて対照群よりも尾側、側方、深部へ有意に移動していた。7 週齢と 9 週齢では、実験群は対照群に比べ重心が側方へ、5 週齢では実験群は対照群に比べ、吻側に移動していた。

本研究は、成長期の慢性的な鼻閉塞によって大脳皮質咀嚼野に引き起こされる影響に着目し、成長期の鼻呼吸障害が同部位における顎顔面運動表象の発達に影響を与えることを明らかにした。

これらの成果は、成長中の鼻呼吸障害が大脳皮質の機能成熟に影響を与えることを解明するための一端として非常に有意義な結果であったと考える。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Ishidori Hideyuki, Okihara Hidemasa, Ogawa Takuya, Abe Yasunori, Kato Chiho, Aung Phyo Thura, Fujita Akiyo, Kokai Satoshi, Ono Takashi	4. 巻 55
2. 論文標題 Nasal obstruction during the growth period modulates the Wnt/ catenin pathway and brain derived neurotrophic factor production in association with tyrosine kinase receptor B mRNA reduction in mouse hippocampus	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 European Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 5~17
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/ejn.15547	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Aung Phyo Thura, Kato Chiho, Abe Yasunori, Ogawa Takuya, Ishidori Hideyuki, Fujita Akiyo, Okihara Hidemasa, Kokai Satoshi, Ono Takashi	4. 巻 11
2. 論文標題 Functional Analysis of Rhythmic Jaw Movements Evoked by Electrical Stimulation of the Cortical Masticatory Area During Low Occlusal Loading in Growing Rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Physiology	6. 最初と最後の頁 1-16
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fphys.2020.00034	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Aung Phyo Thura, Kato Chiho, Abe Yasunori, Ogawa Takuya, Ishidori Hideyuki, Fujita Akiyo, Okihara Hidemasa, Kokai Satoshi, Ono Takashi	4. 巻 11
2. 論文標題 Functional Analysis of Rhythmic Jaw Movements Evoked by Electrical Stimulation of the Cortical Masticatory Area During Low Occlusal Loading in Growing Rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Physiology	6. 最初と最後の頁 1-16
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fphys.2020.00034	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Fujita Akiyo, Kato Chiho, Abe Yasunori, Ishidori Hideyuki, Li Ruixin, Thura Aung Phyo, Ogawa Takuya, Okihara Hidemasa, Kokai Satoshi, Ono Takashi	4. 巻 783
2. 論文標題 Unilateral nasal obstruction affects development of cortical orofacial motor representation in the cortical masticatory area of growing rats	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neuroscience Letters	6. 最初と最後の頁 136700~136700
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neulet.2022.136700	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Koecklin Karin Harumi Uchima, Kato Chiho, Abe Yasunori, Yabushita Tadachika, Kokai Satoshi, Ono Takashi	4. 巻 13
2. 論文標題 Histological and contractile changes in the genioglossus muscle after nasal obstruction in growing rats	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-023-32921-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計6件(うち招待講演 0件/うち国際学会 2件)

1. 発表者名 三澤 英里, 沖原 秀政, 小川 卓也, 小海 暁, 阿部 泰典, 加藤 千帆, 石通 秀行, 藤田 秋世, 高野 力磨, 谷川 萌, 孫 文情, 小野 卓史
2. 発表標題 成長期咀嚼刺激低下はWnt signaling pathwayおよびARHGAP33の分子伝達を変調する
3. 学会等名 第80回日本矯正歯科学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Akiyo Fujita, Chiho Kato, Yasunori Abe, Takuya Ogawa, Phyo Thura Aung, Hideyuki Ishidori, Ruixin Li, Hidemasa Okihara, Satoshi Kokai, Takashi Ono
2. 発表標題 Unilateral nasal obstruction affects development of motor representation in the cortical masticatory area in growing rats
3. 学会等名 The 9th international Orthodontic Congress (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Phyo Thura Aung, Chiho Kato, Yasunori Abe, Takuya Ogawa, Hideyuki Ishidori, Akiyo Fujita, Ruixin Li, Hidemasa Okihara, Satoshi Kokai, Takashi Ono
2. 発表標題 Low occlusal loading affects the neuromuscular control of jaw movements induced by anterior part of cortical masticatory area in growing rats
3. 学会等名 The 9th international Orthodontic Congress (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 石通 秀行, 沖原 秀政, 小川 卓也, 小海 暁, 阿部 泰典, 加藤 千帆, ピョースラ・アン, 藤田 秋世, 小野 卓史
2. 発表標題 マウス成長期鼻呼吸障害は海馬におけるWnt signaling pathwayに変調をもたらす
3. 学会等名 第78回 日本矯正歯科学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Li Ruixin, Kato Chiho, Abe Yasunori, Fujita Akiyo, Ogawa Takuya, Ishidori Hideyuki, Misawa Eri, Okihara Hidemasa, Kokai Satoshi, Ono Takashi
2. 発表標題 Altered neuromuscular behavior during cortically-elicited rhythmic jaw movement in obese Zucker rat
3. 学会等名 第81回日本矯正歯科学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Sun Wenqian, Ogawa Takuya, Okihara Hidemasa, Ishidori Hideyuki, Misawa Eri, Kato Chiho, Ono Takashi
2. 発表標題 Impact of change in food properties on learning/memory function in the growing mice
3. 学会等名 第81回日本矯正歯科学会大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	渡 一平 (Watari Ippei) (10431941)	東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教 (12602)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	小野 卓史 (Ono Takashi) (30221857)	東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授 (12602)	
研究分担者	加藤 千帆 (Kato Chiho) (80706987)	東京医科歯科大学・歯学部附属病院・特任助教 (12602)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関