

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23593032

研究課題名(和文)筋機能MRIを用いた咀嚼筋疲労の分子イメージング

研究課題名(英文)Energy metabolism in human masseter muscle observed by mfMRI and 31P-MRS

研究代表者

北原 亨(KITAHARA, TORU)

九州大学・歯学研究科(研究院)・講師

研究者番号：00274473

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円、(間接経費) 1,140,000円

研究成果の概要(和文)：咬筋疲労の定量的評価を目的として、筋機能MRI(mfMRI)および31P-MR spectrum(31P-MRS)の有用性の検討を行った。

1：クレンジング後、左右側咬筋平均T2値は安静時に比べ有意に増加し、回復期5分後・10分後・15分後には有意に減少し、平均T2値は安静時T2値に収束する傾向が見られた。2：30% Maximum Voluntary Contraction負荷とともにクレアチンリン酸は減少し、筋収縮の終了後に回復傾向を示した。一方、無機リンは負荷とともに増加し、負荷終了後減少を示した。

結論：mfMRIおよび31P-MRSは、咬筋疲労の評価に有用であると考えられた。

研究成果の概要(英文)：1. T2 mapping of the individual masseter muscles showed that 30% MVC produces significant increases in the values. The T2 relaxation time decreased rapidly after the contraction. 2. Using 31P-MRS, it was observed that muscle activation produced significant decreases in the signal intensity of phosphocreatine (PCr), leading to recovery after releasing the 30% MVC, while the inorganic phosphate level (Pi) showed moderate increases and returned to its former condition.

The current state of investigation indicates that the mechanism responsible for the increased T2 results from osmotically-driven shifts in the muscle water that increase the volume of the intracellular space, and from intracellular acidification. Both mfMRI and MRS, a quantitative noninvasive biochemical sampling technique, represent viable alternatives for metabolic studies of the masseter muscle.

These findings suggested the effectiveness of both mfMRI and 31P-MRS as promising tools to study masseter muscle fatigue.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・矯正・小児系歯学

キーワード：咀嚼筋 疲労 筋機能MRI 31P-MRS

1. 研究開始当初の背景

咀嚼筋疲労や痛みは開口障害や咀嚼障害、慢性疼痛を引き起こし、医療のエンドポイントである「生活の質の向上」に大きく関わっていることが認識されるようになった。近年、咬筋の痛みに対して、超音波装置や MR 装置を用いた画像評価の報告 (Ariji Y et al. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2004, Gambarota G et al. NMR Biomed 2005) が散見される。しかしながら、咀嚼筋疲労の診断は、問診触診といった患者の主観に頼ることが多く、客観的な診断法ははまだ確立されていない。

分子生物学の発展からヒトゲノム時代を経て構造生物学が出現し、遺伝情報から分子構造が解明され、分子機能が評価・活用できる時代となった。MR 技術の発展により、現在では解剖学的構造のみならず生体の機能情報も画像化することが可能になってきている。血流情報の画像化や組織灌流を示す灌流画像、生体内水分子の拡散状態を画像化する拡散強調画像 (Shiraishi et. al., Dentomaxillofac Radiol 2011) など特に MR を用いた画像診断技術の発展は著しい。

T2 値変化のマッピングによる筋活動の機能評価を MRI で同時に行うという筋機能 MRI (mfMRI) の手法を用いることで、広い撮像領域と優れた空間分解能によって、実験的クレンチング後の咀嚼筋の疲労状態は可視化され、定量的な評価が可能となる。また、生体内の化合物の非侵襲的測定を可能にしたことにより、生理的環境を維持した状態での疲労物質の代謝変化は 31P-MR spectrum (31P-MRS) によって測定可能となった (Pola et. Al., Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy 2012)。

2. 研究の目的

筋機能 MRI (mfMRI) とは、Fleckenstein ら (Fleckenstein J et al. Am J Roentgenol 1988) が報告した“運動に参与した筋の横緩和時間 (T2 値) は上昇する”および“骨格筋の活動様相を MRI で評価するには、筋が活動し、疲労した後の状態 (T2 値が上昇した状態) で評価する”という事実を利用し、骨格筋を含む軟部組織の形態評価と、T2 値変化のマッピングによる筋活動の機能評価を MRI で同時に行うという手法である。

MRI パラメータの1つである横緩和時間 (T2 値) には組織特異性があり、水分含有量に比例した値であるだけでなく、運動に参与した筋の運動後の値は増加することが知られており、運動に参与した筋の定量評価に用いる指標として用いられてきた。また、筋の活動性の画像化に関しては、運動前後の筋の T2 値画像を作成し比較提示する、筋機能 MRI を Akima ら (Akima H et al. Eur J Appl Physiol 2004;91:7-14) が提案している (図

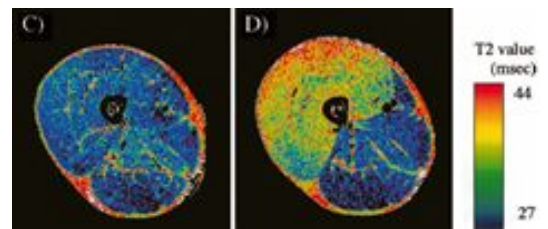


図 1 C, D: 屈伸運動前後の大腿筋 T2 map image (Akima H et al. Eur J Appl Physiol 2004; 91(1):7-14 より転載)

1)。

MR 機能イメージング法の研究は盛んに行われ、細胞レベルでの生化学代謝反応を計測する MRS が用いられるようになった。

31P は生命活動に必須となるアデノシン 3 リン酸やクレアチンリン酸 (PCr) といった高エネルギーリン酸化合物に含まれており、筋のエネルギー代謝を評価する上で重要な核種であり、31P-MRS によるクレンチング前後の疲労関連物質 (PCr, ATP, Pi) を評価しようと考えている。

咀嚼筋の疲労や痛みは、様々な咀嚼障害 (顎関節症など) として顎変形症の患者に最も多く認められることが知られている。この咀嚼筋の機能障害の発症メカニズムに関しては未だ不明な部分が多い。咀嚼筋にクレンチングなどの過剰な負荷を与えると筋組織に炎症性変化が起こるとされるが、その炎症の有無や程度の評価は、主に患者の訴える疲労感や疼痛の強さなどから判断され、客観的かつ定量的な評価法は乏しく、生理学的情報と生化学的情報が統合された診断法の確立は急務であるといえる。

この研究の目的は、患者にとって侵襲のない検査法である mfMRI および MRS を用いて、生理学的情報・生化学的情報を同時に取得し比較することができる、分子イメージングによる新たな画像診断手法が妥当であるかを検証し、咀嚼筋疲労診断法を確立することである。

3. 研究の方法

一般健常被験者 20 名を対象として、ウレタンブロックを臼歯部に設置した状態で、30% Maximum Voluntary Contraction (MVC) の咬み締めを 5 分間持続するという検査プロトコルを採用し、以下の仮説の検証を行った。

仮説 1: 筋機能 MRI (mfMRI) において、持続咬み締め前後の咬筋の横緩和時間 (T2 値) は一過性に上昇する。

クレンチングにともない咀嚼筋内で起こっている変化を T2 値で解析し、筋肉のエネルギー代謝や生理・生化学的变化を評価に加え、筋疲労診断を確立することが可能かどうかを探る目的で一連の研究を行なう。MRI にはこの T2 値の分布を直接画像化できる撮像

法があり、作成された画像は T2 map と呼ばれている (図 2)。

1.5T の MRI 装置 (Intera Achieva 1.5T, Nova Dual, Philips Medical system 社製) を用い、sensitivity-encoding SENSE-NV-16 coil を使用して、左右側咬筋の冠状断画像の T1 値画像と T2 値画像を撮像した。撮像は、安静時および 5 分間のクレンジング終了直後、その後 5 分経過ごとにクレンジング終了後 20 分経過時まで行った。安静時およびクレンジング後の T2 値を経時的に計測可視化し T2map 作成した。定量した T2 値の算出は TE を変化させることによりを行った。

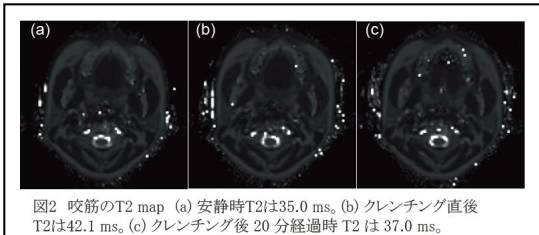


図2 咬筋のT2 map (a) 安静時T2は35.0 ms。(b) クレンジング直後T2は42.1 ms。(c) クレンジング後 20 分経過時 T2 は 37.0 ms。

仮説 2 : 31P-MR spectrum (31P-MRS) を用いて評価した場合、持続咬み締め前後の咬筋中の高エネルギーリン酸化合物 (PCr、ATP、Pi) は一過性に減少する。

1.5T MRI 装置 (Intera Achieva 1.5T, Nova Dual, Philips Medical system 社製) を用いて左右側咬筋の 31P-MR spectroscopy を行った (図 1)。専用の P-100 coil を用いて、scan mode: single volume で data 収集を行った。関心領域の設定は ISIS 法にて行った。

MR 検査のプロトコールは次のとおりである。1) 安静時に撮像、2) クレンジング中に撮像、3) クレンジング終了直後より 4 回撮像 (回復時 1、回復時 2、回復時 3、回復時 4)。1 回の撮像時間は 4 分 47 秒であった。

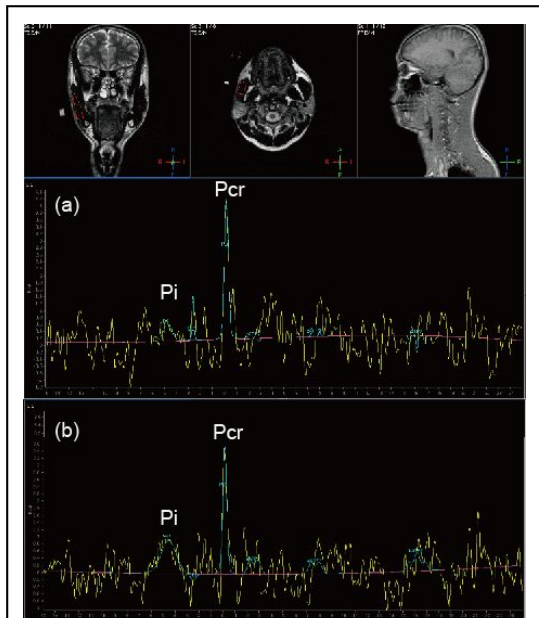


図3 咬筋の P-MRS (a) 安静時の 31P-MR spectrum、(b) クレンジング時の 31P-MR spectrum

安静時、クレンジング時、および各回復時の 31P-MR spectrum において、持続咬み締め

前後の咬筋中の高エネルギーリン酸化合物 (PCr、Pi) を計測した。これらの値より PCr および Pi の回復率を求めた。PCr(Pi) の回復率は以下のように定義した。PCr(Pi) 回復率 (%) = 各時期の PCr(Pi) / クレンジング前の PCr(Pi)

4. 研究成果

成果 1 : クレンジング後、左右側咬筋平均 T2 値は安静時に比べ有意に増加し、回復期 5 分後・10 分後・15 分後には有意に減少し、平均 T2 値は安静時 T2 値に収束する傾向が見られた (図 4)。

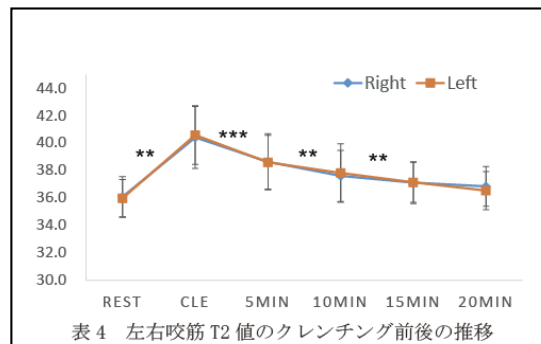


表 4 左右咬筋 T2 値のクレンジング前後の推移

成果 2 : 30%MVC 負荷とともにクレアチンリン酸は減少し、筋収縮の終了後に回復傾向を示した。一方、無機リンは負荷とともに増加し、負荷終了後減少を示した (図 5)。

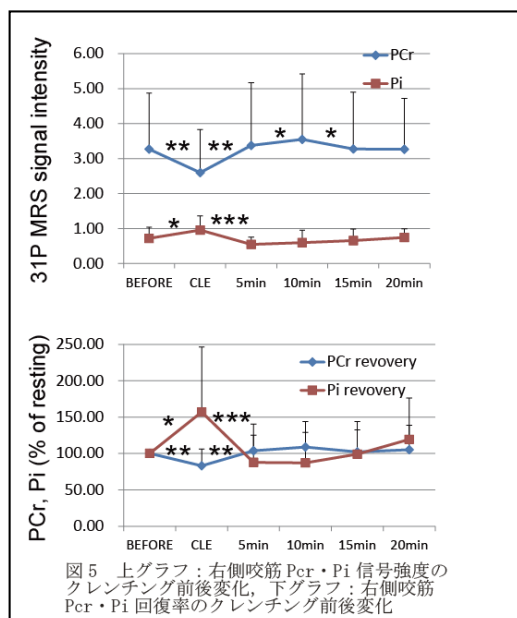


図5 上グラフ：右側咬筋 PCr・Pi 信号強度のクレンジング前後変化、下グラフ：右側咬筋 PCr・Pi 回復率のクレンジング前後変化

考察 : T2 値の延長は、筋細胞内における pH 低下による咬筋の酸性化を示しており、これによって一時的な浸透圧の変化が起こり、水が細胞外から細胞内に移動することによって引き起こされると考えられている。

運動中に解糖系による代謝経路の動員が高まり、乳酸などの酸性物質が過剰に産生されると、筋の pH は低下することになる。Pi のケミカルシフトは筋細胞内 pH に依存して変化することから、PCr と Pi のケミカルシフトを利用して、筋細胞内 pH を推定するこ

ともできる。今回以下に示す Taylor ら (Taylor et. al. Mol. Bio. Med., 1983) による推定式を用いて咬筋 pH を算出した。

$$\text{Intracellular pH} = 6.75 + \log\left[\frac{-3.27}{(5.69 - \text{pH})}\right]$$

(pH と Pcr のケミカルシフトの差)

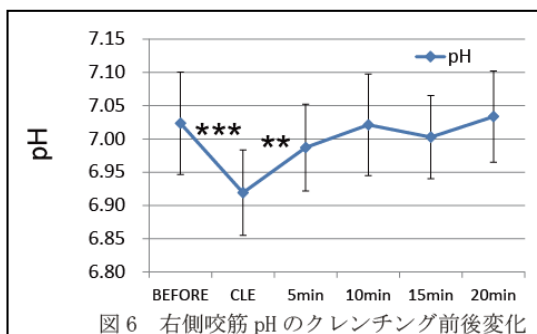


図6 右側咬筋 pH のクレンチング前後変化

mfMRI はこの現象を捉えることで、一方、³¹P-MRS は高エネルギーリン酸化合物の可視定量化により、非侵襲的な咀嚼筋活動の測定手法として有用であることが示唆された。

【結論】mfMRI および ³¹P-MRS は、咀嚼筋疲労の評価に有用であると考えられた。

参考文献

1. Arijji Y, Sakuma S, Izumi M, Sasaki J, Kurita K, Ogi N et al. Ultrasonographic features of the masseter muscle in female patients with temporomandibular disorder associated with myofascial pain. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology* 2004;98:337-341.
2. Gambarota G, Philippens M, Cairns BE, Dong XD, Renema WK, Heerschap A. MRS assessment of glutamate clearance in a novel masticatory muscle pain model. *NMR Biomed* 2005;18:345-351.
3. Shiraishi T, Chikui T, Yoshiura K, Yuasa K. Evaluation of T2 values and apparent diffusion coefficient of the masseter muscle by clenching. *Dentomaxillofac Radiol* 2011;40:35-41.
4. Pola A, Sadananthan SA, Yaligar J, Nagarajan V, Han W, Kuchel PW et al. Skeletal muscle lipid metabolism studied by advanced magnetic resonance spectroscopy. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* 2012;65:66-76.
5. Fleckenstein J, Canby R, Parkey R, Peshock R. Acute effects of exercise on MR imaging of skeletal muscle in normal volunteers. *Am. J. Roentgenol.* 1988;151:231-237.
6. Akima H, Takahashi H, Kuno S-y, Katsuta S. Coactivation pattern in human quadriceps during isokinetic knee-extension by muscle functional MRI.

European Journal of Applied Physiology 2004;91:7-14.

7. Taylor DJ, Bore PJ, Styles P, Gadian DG, Radda GK. Bioenergetics of intact human muscle. A ³¹P nuclear magnetic resonance study. *Mol Biol Med* 1983;1:77-94.

5. 主な発表論文等

1. 北原 亨: フィルムレスペーパーレスのセファロメトリックプレディクション、顎変誌 22(4):287-290. 2012

2. 佐々城 真、飯久保正弘、下里 舞、笹野高嗣: 咬筋における筋疲労と浮腫性変化の関連に関する研究、日本口腔診断学会総会プログラム・抄録集(26):79. 2013

6. 研究組織

(1) 研究代表者

北原 亨 (KITAHARA TORU)

九州大学・歯学研究科(研究院)・講師

研究者番号: 00274473

(2) 研究分担者

高橋 一郎 (TAKAHASHI ICHIRO)

九州大学・歯学研究科(研究院)・教授

研究者番号: 70241643

湯浅 賢治 (YUASA KENJI)

福岡歯科大学・歯学部・教授

研究者番号: 40136510

飯久保 正弘 (IIKUBO MASAHIRO)

東北大学・歯学研究科(研究院)・講師

研究者番号: 80302157