

機関番号：10101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659882

研究課題名(和文)嚥下関連筋群に対する神経筋電気刺激療法後のエネルギー代謝と筋病理学的解析

研究課題名(英文)Energy metabolism and muscle pathology in swallowing muscles after electric nerve stimulation

研究代表者

北川 善政(KITAGAWA, Yoshimasa)

北海道大学・歯学研究科(研究院)・教授

研究者番号：00224957

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円、(間接経費) 840,000円

研究成果の概要(和文)：嚥下機構はきわめて複雑で、嚥下筋の筋病理学的変化については不明な点が多い。本研究ではヒト咀嚼筋、嚥下筋の筋繊維構成を調べた。また幼弱ウサギを使用してSoft Diet 実験を行った。ヒトオトガイ舌筋ではタイプ2B 線維は認められなかった。咀嚼筋は食性や顎運動様式に順応した組織化学的特徴を有していることが示唆された。Soft dietにより強い咀嚼力や咀嚼の持続が不要となり、閉口筋である咬筋および内側翼突筋に順応性変化が起こった可能性が考えられた。一方、外側翼突筋の機能がこれらの筋とは異なるために、閉口筋とは異なった順応性変化を生じたと考えられた。

研究成果の概要(英文)：Swallowing mechanism are very complicated and muscle pathology of the swallowing muscles has yet to be clarified. Histochemical characteristics of the human masticatory muscles and swallowing muscles were investigated in this study. Experimental studies of soft diet using young rabbits were also performed. Human masseter muscle and swallowing muscle showed unique histochemical characteristics reflecting highly differentiated masticatory and swallowing function. The soft diet experiment showed transformation of the muscle fiber types, suggesting that long-term soft diet leads to adaptations of the pterygoid muscles. Two heads of the lateral pterygoid muscle revealed different adaptation from jaw-closing muscles under soft-diet conditions.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：筋線維タイプ 咀嚼筋 ATPase

1. 研究開始当初の背景

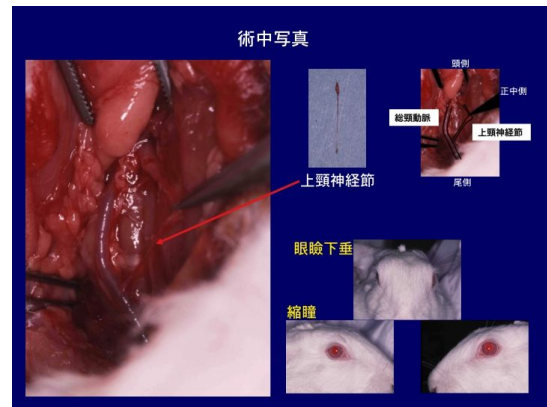
- (1) 嚙下機構はきわめて複雑で、口腔期の咀嚼運動、咽頭期における知覚神経系、脳幹の嚙下中枢、嚙下関与筋が巧妙なタイミングできわめて協調的に機能することで成り立っている。
- (2) 嚙下障害や誤嚥のメカニズム、嚙下筋の筋病理学的変化については不明な点が多い。
- (3) 研究代表者の北川は現在まで一貫して咀嚼筋に興味を持ちあらゆる角度から研究を行ってきた。
- (4) この咀嚼筋研究手法を嚙下筋に応用し、筋病理学的、生理学的に取り組みたいと考えている。

2. 研究の目的

- (1) 本研究では、顎関節構造および筋線維構成がヒトと類似したウサギを用い、成長期粉末飼料 (soft food) 咀嚼が咬筋および内・外側翼突筋の組織化学的特徴に及ぼす影響について検討する。
- (2) 交感神経切除実験を行い、交感神経が筋繊維分化、代謝に及ぼす影響を検索する。
- (3) 手術材料を用いヒト嚙下関与筋の組織化学的特徴を調べる。
- (4) 臨床では嚙下障害症例の咀嚼筋および嚙下筋の筋電図、下顎張反射を解析する。
- (5) 咀嚼筋、嚙下関与筋の MR スペクトロスコピー(MRS) によるエネルギー代謝解析の知見と併せて、嚙下障害の筋病理学的エビデンスを確立することを目的とする。
- (6) 嚙下機構や病態の解明にせまる一助としたい。

3. 研究の方法

- (1) Soft diet 実験：雄性ウサギ(日本白色種) 10 匹で、離乳期 3 週齢より粉末飼料飼育の実験群 5 匹(soft diet)、固形飼料飼育の対照群 5 匹(control)とした。24 週齢で、咬筋、内側翼突筋中央部、外側翼突筋上下頭より筋肉を採取、凍結連続切片を作製した。ATPase, NADH-TR 染色により、筋線維をタイプ 1, 2A, 2B, 2C に分類、各筋のタイプ 1 面積率、タイプ別構成比率、筋線維直径を測定した。
- (2) 手術材料を用い筋生検：咀嚼筋、舌骨上筋群、軟口蓋筋群(口蓋帆挙筋、口蓋帆張筋)、咽頭筋群(上咽頭収縮筋、中咽頭収縮筋、輪状咽頭筋、甲状咽頭筋)、舌骨下筋群(甲状舌骨筋、肩甲舌骨筋)の筋生検(5mm X 5mm)を施行。
- (3) 交感神経切除実験：雄性ウサギ 10 匹で、離乳期 3 週齢頸部交感神経を切除した実験群 5 匹(sympathectomy)と対照群 5 匹(control)とした。24 週齢で、咬筋を採取、凍結連続切片を作製した。
- (4) 組織化学的染色：直ちに液体窒素イソペンタンで急速凍結し-80 以下で保存する。凍結連続切片を作製し、actomyosin ATPase, NADH-TR, Gomori-trichrome, HE 染色を施行。ATPase 染色に基づき筋線維



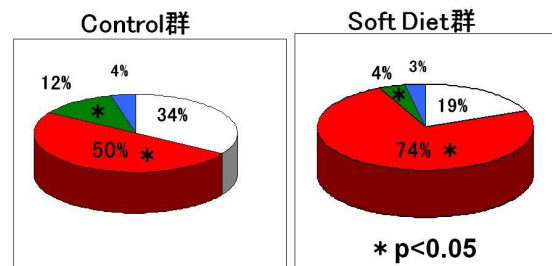
をタイプ 1, 2A, 2B, 2C に分類する。各筋線維の比率、直径を算出する。

- (5) 免疫組織化学的研究：ABC 法で Neonatal MHC、 α -cardiac MHC 筋線維を分類する。
- (6) 1P MR スペクトロスコピー(MRS)によるエネルギー代謝解析：シーメンス社製 1.5T MRI/MRS システムを使用し、Pcr、Pi、ATP()のピーク吸収域を測定。Pcr/ATP および Pcr/Pi を計算する。

4. 研究成果

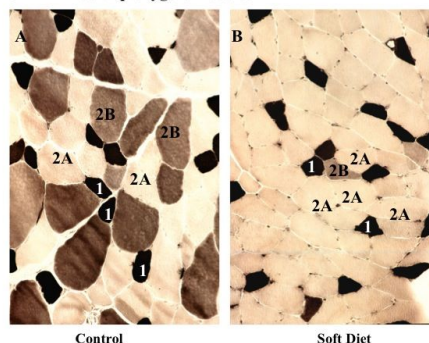
- (1) 雄性ウサギ咬筋および内側翼突筋は類似した組織化学的特徴を有していた。
- (2) Soft Diet により咬筋や内側翼突筋では、下記のような筋線維タイプの転換が観察された。
- (3) タイプ 2B → 2A (強い力を必要としない) 同時にタイプ 1 → 2A (持続運動を必要としない) Simultaneous 2-way Conversion を示した。

咬筋深層の筋線維タイプ分布(数の比率)



□ タイプ 1 ■ タイプ 2A ■ タイプ 2B ■ タイプ 2C
 北海道大学
 HOKKAIDO UNIVERSITY

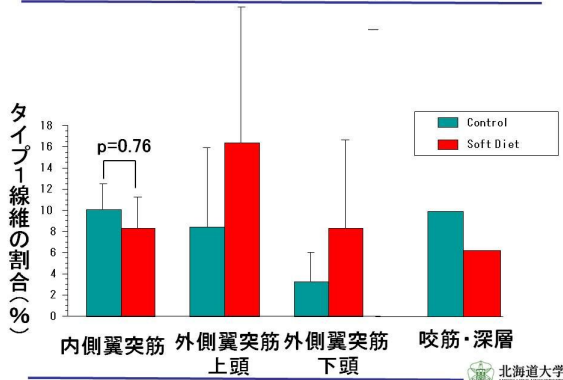
Fig. 1 Medial pterygoid muscles ATPase pH4.45



- (4) soft diet 群では control 群に比較してタイプ 1 およびタイプ 2B 面積率が低下

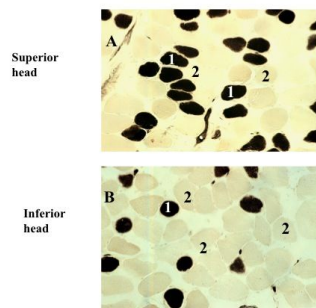
する傾向を示した。

タイプ1線維の割合(面積率:%)



- (5) これに対して soft diet 群の外側翼突筋の上頭では、control 群に比較してタイプ1が増加してタイプ2Aが減少する傾向を示した。下頭でも soft diet 群では control 群に比較してタイプ2Aが有意に ($p < 0.05$) 減少してタイプ1が増加する傾向が認められた。

Fig. 4 Lateral pterygoid muscles: Control group ATPase pH4.30



- (6) 外側翼突筋の上頭は Static、下頭は Phasic な機能を有していた。Soft Diet によりタイプ 2A 1 への転換がみられ Jaw closer と逆の結果であった。
- (7) Soft diet により強い咀嚼力や咀嚼の持続が不要となり、閉口筋である咬筋および内側翼突筋に順応性変化が起こった可能性が考えられた。一方、外側翼突筋の機能がこれらの筋とは異なるために、閉口筋とは異なった順応性変化を生じたと考えられた。

Fig. 5

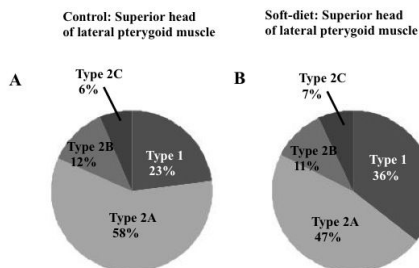
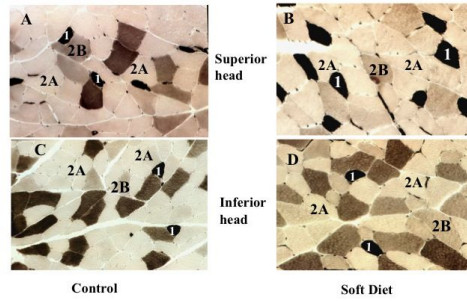
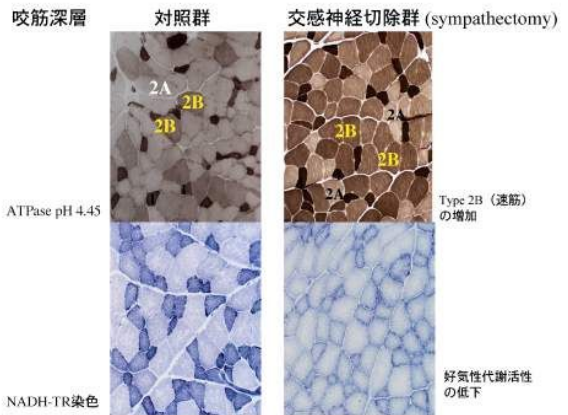


Fig. 7 Lateral pterygoid muscles ATPase pH4.45

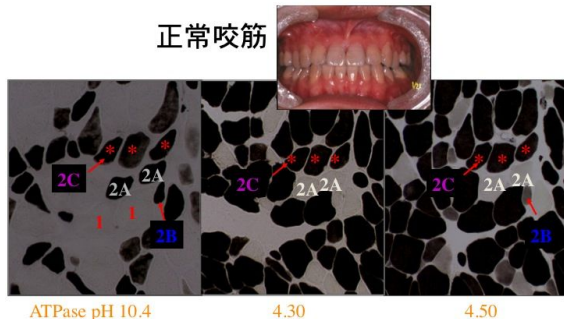


- (8) 交感神経切除実験では、壊死、再生線維などヒト顎変形症や筋ジストロフィーと似たような異常所見がみられ、筋線維の分化、エネルギー代謝には交感神経が調節していることが示唆された。



- (9) ヒト胸鎖乳突筋は四肢筋と似た構造でタイプ1、2A、2Bの3種類の筋線維がモザイク状に配列していた。
- (10) オトガイ舌筋ではタイプ2B線維は認められなかった。
- (11) ヒト咬筋には胎児型 (type2C)、心筋型 (α -cardiac MHC) ミオシンアイソフォーム MHC が存在し、Type 1 (遅筋) が多く、Type 2 (速筋) が極端に小さい事を報告してきた。咀嚼筋は食性や高度に分化した顎運動様式に機能的に順応した組織化学的特徴を有していることが示唆された。

正常咬筋



ATPase pH 10.4 4.30 4.50

Type 1 (遅筋) が多い
Type 2 (速筋) が小さい
四肢筋にはない特殊な筋線維タイプ (neonatal, α -cardiac MHC) Type 2C

1. 食事が文明の発達に伴って次第に調理した柔らかいものになり、大きな咬合力を必要としなくなったため。
2. 食生活や高度に分化した運動様式に機能的に順応した組織化学的特徴を有している。

(12) 31P MR スペクトロスコピー(MRS)は、非侵襲的に筋線維内の高エネルギーリン酸化合物の代謝を解析できる優れた方法である。本研究により嚙下筋のエネルギー代謝情報が得られ、病態解明に寄与すること大と考える。

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 3 件)

Kitagawa Y, Sato J, Ogasawara T, Nojyo Y, Enomoto S, Sano K: Enzyme histochemical adaptive responses of the medial pterygoid muscle and two heads of the lateral pterygoid muscle to long-term soft diet feeding in growing rabbits. *Odontology* 査読有 Aug 4. [Epub ahead of print], 2013. <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10266-013-0127-0>

Fukuda T, Hirai Y, Maezawa H, Kitagawa Y, Funahashi M:

Electrophysiologically identified presynaptic mechanisms underlying amylinergic modulation of area postrema neuronal excitability in rat brain slices. *Brain Res.*1494: 9-16, 2013.doi:10.1016/j.brainres.2012.11.051.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006899312018458>

Satoh T, Sato J, Abe T, Satoh A, Imamachi K, Kitagawa Y: Difficulty in diagnosis of tetanus in Japan: report of a case and review of the literature. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine, and Pathology* 25(1): 550-60, 2012.

doi:10.1016/j.ajoms.2012.01.013

〔学会発表〕(計 4 件)

北川善政: 顔の変形から何が学べるか. 鹿児島大学医歯学総合研究科大学セミナー、招待講演.2014年3月10日(鹿児島大学歯学部、鹿児島)

佐藤 淳、小笠原利行、佐野和生、北川善政: 交感神経切除が成長期のウサギの咬筋に及ぼす影響について. 第27回日本顎関節学会総会・学術大会、2014年7月19-20日、(九州大学医学部百年講堂、福岡)

Kitagawa Y: 「自分じゃ気づかない、寝ている間のいびきと歯ぎしり」 OSAS: Surgical treatment. Sustainability Weeks 2013 in Hokkaido University. 2013年9月29日(北海道大学歯学部講堂、札幌)

Kitagawa Y: Unique Characteristics of the Masseter Muscle in Patients with

Jaw Deformity. Sustainability Weeks 2012 in Hokkaido University. 2012年9月15日(北海道大学歯学部講堂、札幌)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.den.hokudai.ac.jp/kouge1/oralsurg1.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

北川 善政(KITAGAWA, Yoshimasa)

北海道大学・大学院歯学研究科・教授

研究者番号: 00224957

(2)研究分担者

井上 農夫男(INOUE, Nobuo)

北海道大学・大学院歯学研究科・特任教授

研究者番号: 20091415

(3)研究分担者

山崎 裕(YAMAZAKI, Yutaka)

北海道大学・大学院歯学研究科・教授

研究者番号: 90250464