

令和元年6月3日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K11191

研究課題名(和文) 解剖学的標準化と統計画像を応用した咀嚼筋局所活動の3次元解析

研究課題名(英文) Three-dimensional analysis of masticatory muscle local activity with spatial normalization and statistical imaging

研究代表者

山口 哲史 (Yamaguchi, Satoshi)

東北大学・大学病院・講師

研究者番号：50400263

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、咀嚼筋の活動を骨格筋機能的磁気共鳴画像(muscle functional magnetic resonance imaging: mfMRI)で解析する際に、解剖学的標準化と統計画像を応用することで筋内部の局所活動を3次元的に可視化することを目的として開始された。最初に咀嚼筋内部における運動に伴うT2変化の特徴を筋電図測定値と比較することで明確化し、次に咀嚼筋の解剖学的標準化の手法を確立し、その精度を検証した。本研究の成果により、被験者群に共通する咀嚼筋局所活動を可視化できる可能性が示され、その手法の基礎が確立された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

骨格筋機能的磁気共鳴画像(muscle functional magnetic resonance imaging: mfMRI)によって、咀嚼筋の内部における活動、さらにはその機能の分布を統計学的に解析する方法を確立することを目的に研究を行い、解析手法の基盤となるデータを得た。筋内部の局所的活動は個人差が大きく、被験者群やタスクに共通する特徴を統計学的に解明することは、筋機能の維持や回復の効率化に寄与すると考えられる。

研究成果の概要(英文)：This study was started with the aim of three-dimensional visualizing masticatory muscle internal activity by applying spatial normalization and statistical imaging when analyzing the masticatory muscle activity with mfMRI. First, the characteristics of T2 shift associated with exercise within the masticatory muscles were clarified by comparison with electromyographic measurements. Second, a technique for spatial normalization of the masticatory muscles was established and its accuracy was verified. The results of this study suggested the possibility of visualizing the masticatory muscle local activity common to the subject group, and the basis of the method was established.

研究分野：医歯薬学

キーワード：咀嚼筋 MRI

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

顎口腔系は、咀嚼筋が神経系に統合制御されることによって、咀嚼・嚥下などの重要な機能を営んでいる。顎口腔機能の低下は摂食・嚥下障害を引き起こすだけでなく、認知機能等にも影響を及ぼすことが示唆されていることから、正常な顎口腔機能を営む上で重要な役割を担う咀嚼筋について、主に筋電図を使用した多くの研究が行われてきた。その結果、筋電図での活動導出が容易な咬筋や側頭筋に関しては、筋内部の機能的分化等も含めた詳細な解析が多数報告されている。しかし、筋電図では体内深部の翼突筋を含めた全咀嚼筋の局所活動分布を同時に評価し、全咀嚼筋の活動様相を解明することは不可能であった。

そこで申請者は、横緩和時間(T2)の変化を指標とすることで、広範囲の筋活動を定量的に評価可能な骨格筋機能的磁気共鳴画像(muscle functional magnetic resonance imaging: mfMRI)を咀嚼筋活動解析に初めて応用し、片側咀嚼における咀嚼筋全体の活動定量化や、片側1歯クレンチングにおける咀嚼筋内局所活動の定量評価と3次元マッピングを報告してきた。特に後者は、筋電図では測定困難な咬合変化に伴う全咀嚼筋における活動様相の変化を明らかにすると共に、筋活動分布の可視化という新たな概念を提起するものであった。しかし、同一被験者の画像であっても運動タスク前後で咀嚼筋の位置が異なるため、これまでは画素単位でのT2の直接比較ではなく、運動前画像の平均T2との差を利用した代替的な方法によってマッピングを行っていた。また、被験者ごとに局所活動分布をマッピングしても、その評価は視覚による定性的なものに留まっており、客観的かつ定量的な解析方法を確立する必要があった。

一方、脳機能画像の分野では、既に同一被験者内での自動位置合わせ(Registration)や、解剖学的標準化と統計画像による群間解析法が確立されており、正常脳機能のマッピングや機能的および形態的な異常の検出等に応用され、様々な知見が報告されている。

一般的に、骨格筋は容易に変形することから高精度なRegistrationを行うことが困難であるとされてきた。しかし、咬合した状態の頭顔面部は剛体に近く変形もわずかであるため、咀嚼筋については脳と同様な解析が可能であると考えられる。実際に、申請者は過去に同一被験者のポジトロン断層法(PET)画像とMR画像でRegistrationを行い、MR画像の解剖学的情報を利用してPET画像を解析することで下顎側方運動時の咀嚼筋活動について報告している。

咀嚼筋のmfMRI解析に対して、Registrationや解剖学的標準化を応用することが出来れば、これまで不可能であった全咀嚼筋の筋内活動分布に対する統計学的評価が可能となる。この方法は、多くの被験者の咀嚼筋活動を統計学的に比較することで筋内機能分布の正常象を解明出来るだけでなく、顎口腔機能障害の原因となる咀嚼筋活動の異常を客観的に評価可能な画像診断法への応用の可能性も秘めている。

2. 研究の目的

本研究では、まず運動強度と運動持続時間を変化させて健常有歯顎者にクレンチング運動を行わせ、撮像したMRIから算出した咀嚼筋内のT2変化を、同じクレンチング運動時の筋電図測定値と比較することで、mfMRIで筋活動の指標として利用するT2変化の特徴を解析する。そのうえで、過去に撮像したMRIを用いて、自動位置合わせ(Registration)や解剖学的標準化などの手法を検証し、複数被験者の咀嚼筋内活動を群間解析し、筋内機能分布解明の可能性を検証する。

3. 研究の方法

(1) 被験者

健常被験者6名(男性3名、女性3名:平均 30.7 ± 5.0)が参加した。事前に、各被験者に本研究の目的、方法および安全性について十分な説明を行い、同意を得た。除外基準は顎口腔系における機能異常およびその既往、歯・歯周組織由来の疼痛、神経・筋・代謝関連の疾患、MRI禁忌とした。研究に先立ち、「東北大学大学院歯学研究科研究倫理専門委員会」の承認を得た(受付番号:24-32)。

(2) 咬合力計

強磁場内でも使用可能な光ファイバー製の小型圧センサー(FOP-M-BA, Fiso Technologies Inc.)を応用し、1.0mmおよび0.5mmの熱可塑性樹脂板(山八歯材工業株式会社)と即時重合レジン(ユニファスト、GC)を用いて作製した中空のマウスピースの内部に満たした水の圧力を測定する装置を咬合力計として使用した。マウスピースは均等に咬合する様に被験者の口腔内で調整した。実験の直前には、フォースゲージ(ZP-1000N, IMADA)と樹脂製の歯列模型を使用して咬合力を模した外力を加えながら内部水圧を同時に測定することで、水圧と咬合力との関係を確認した。圧センサーは光ファイバーケーブルによって操作室にあるコンディショナ(EVO-SD-2, Fiso Technologies Inc.)に接続し、コンディショナと接続したノートPC上の専用ソフトウェアを使用して、MRガントリ内にいる被験者の咬合力を操作室からリアルタイムに観測可能とした。

(3) MRI撮像

全てのMR画像の撮像には、東北福祉大学感性福祉研究所内に設置されたMAGNETOM Verio 3T(SIEMENS)を用いた。被験者は仰臥位とし、咬合力計を装着し、頭部をヘッドコイルに固定した。撮影シーケンスはスピンエコー法($TR=2300ms$, $TE=20/60ms$, flip angle=90deg, 22slice,

slice thickness=3mm, matrix=256x256, FOV=250mm, pixel size=1.0x1.0mm, scan time=7min25s.)を用い、頭頸部全体を撮像した。

(4) 研究デザイン

咬合力計のマウスピースを上顎に装着し、30秒および60秒の持続的なクレンチングを運動タスクとした。運動強度は、同じ咬合力計で測定した最大噛み締め時の水圧から算出した最大咬合力(maximum voluntary clenching: MVC)の、10%、20%、30%、40%とした。

全ての運動タスクの前(安静時)および直後にMR画像の撮影を行った。運動タスク実行直後にMR撮影を開始するために、被験者にはMRガントリ内において仰臥位でタスクを行わせた。操作室内のコンディショナに接続されたPCの画面に出力された測定値をプロジェクタにより撮影室内のスクリーンに投影し、ヘッドコイルに付属したミラーからスクリーンに映った測定値を被験者にフィードバックすることで一定水圧を維持させた。

(5) 画像解析

撮影したMR画像は、MRlcro (Chris Rorden: <http://www.cabiatl.com/micro/>)を用いてAnalyzeフォーマットに変換した。その後、ImageJ (Research Services Branch, National Institutes of Health: <http://rsbweb.nih.gov/ij/>)を用いてT2画像を再構成した。

関心体積(volumes of interest: VOIs)の解析は、Avizo6.1 (Visualization Science Group)を用いて行った。設定したVOIを、対応する安静時および運動後のT2画像に適用し、各VOI内の平均T2をそれぞれ算出した。同一被験者内で、VOIごとに8つの安静時T2が算出され、同じ撮影日の安静時MR画像が複数ある場合は、同一日の安静時平均T2の中から最小の値を、その日の安静時平均T2の代表値として用いた。VOIごとにタスク後の平均T2から安静時平均T2を減算することで単位体積あたりのT2変化量である平均T2を求めた。さらに、被験者ごとに各VOI内に含まれるvoxel数を全ての条件間で平均することによって平均voxel数を算出し、各VOIの平均T2と同じVOIの平均voxel数を乗算することで各VOIの全体のT2変化量であるT2を算出した。

(6) 筋電図

MRI撮像時と全く同じ運動タスク(10、20、30、40%MVCでの30および60秒クレンチング)を仰臥位で行わせながら筋電図を記録した。筋活動の導出部位は、咬筋の筋腹~下部および側頭筋前腹とし、皮膚表面の皮脂等を可及的に除去した後、咀嚼筋活動導出用の表面電極(Duo-trode, Myotronics)を貼付した。導出した信号の測定には生体アンプ(BIOTOP 6R12, NEC)とAD変換器(NR-500, KEYENCE)を使用し、PCに4チャンネル同時に記録した。サンプリング周波数は5kHzとした。筋電図波形の解析にはMatlab 2016b (MathWorks)を使用し、30秒間と60秒間の筋電図積分値(integrated electromyography; iEMG)を算出した。筋電図測定値は最大筋力発揮時の測定値を用いて標準化するのが一般的であるが、本研究ではT2変化量と比較するために測定値をそのまま使用した。

(7) 統計解析

T2、T2、iEMGのそれぞれに対して、被験者間および筋間の分散について、級内相関係数(intra-class correlation coefficient: ICC)を算出して評価したところ、全てのICCが0.1以上の値を示した。本研究の目的は、各測定値やパラメータ間の線形関係を、被験者間変動などの変量因子の調整を行いながら解析することであるため、統計解析には線形混合モデルを用いた。作成したモデルのパラメータ推定には制限付き最尤法を使用し、モデルの検証と比較には尤度だけでなくパラメータ数も考慮する赤池情報量基準(Akaike's Information Criterion: AIC)を使用した。全ての統計処理はSPSS22.0 (IBM)で行い、有意水準は5%とした。

まず、クレンチング持続時間の変化がT2変化量と筋電図測定値に与える影響を評価するために、30秒クレンチングと60秒クレンチングの全てのデータについて、被験者と筋を変量因子、クレンチング持続時間(30秒と60秒)と運動強度(10、20、30、40%MVC)およびクレンチング持続時間と運動強度の交互作用を固定因子とし、T2とiEMGをそれぞれ従属変数とした線形混合モデルで解析した。被験者間および筋間の変動を考慮した回帰係数について、クレンチング持続時間による差の有無を有意な交互作用の有無として検討した。

次に、30秒クレンチングと60秒のクレンチングのそれぞれについて、T2変化量および筋電図測定値と咬合力との関連を線形混合モデルによって解析した。被験者と咬合力およびそれらの交互作用を固定因子とし、T2、T2、iEMGをそれぞれ従属変数としたモデルを使用して、咬合力との回帰係数について被験者間の差の有無を検討した。

(8) 頭頸部MR画像のテンプレートに対する空間的標準化

健常有歯顎者10名(男性8名、女性2名、平均28.6歳)を対象に、過去に撮像した全歯列クレンチング前後の頭頸部MR画像を利用して、脳画像の3D nonlinear registrationにおいて定評のあるAdvanced Normalization Tools (ANTs)を使用して、頭頸部全体の空間的標準化を行った。リファレンスとなるテンプレート画像には、IXI画像データベースの中から、頭頸部全体が含まれているものを選出して使用した。

低ノイズでコントラストが強く解剖学的情報が豊富なTE20画像を、頭頸部テンプレートに対してnonlinear registrationするためのtransformationを、全てのTE20画像について算出した。

(9) Dice similarity coefficient (DSC)の算出

頭頸部テンプレートに対する3D nonlinear registrationの精度を検証する目的で、下記の式によってDice similarity coefficient (DSC)を算出した。

$$DSC(A, B) = 2N(A \cap B) / \{N(A) + N(B)\}$$

Aは各被験者のTE20画像の咀嚼筋外形をマニュアルトレースして作製したマスク画像に対して、頭頸部テンプレートに対して nonlinear registration するための transformation を適用した画像のマスク領域を表し、Bは頭頸部テンプレートの咀嚼筋外形をマニュアルトレースして作製したマスク画像のマスク領域を表す。N(A)はAに含まれるVoxel数、N(B)はBに含まれるVoxel数、N(A∩B)はAとBに共通する領域に含まれるVoxel数である。マスク画像の作製と共通領域を検出するための画像演算およびVoxel数のカウントは、Fijiを用いて行った。

4. 研究成果

(1) T2変化、筋電図測定値、運動強度、運動持続時間および咬合力の関係

線形混合モデル(クレンチング時間と運動強度および交互作用を固定因子、被験者と筋を変量因子)による推定された切片と回帰係数をプロットした30秒および60秒クレンチングにおける運動強度に対するT2とiEMGの散布図を図1に示す。iEMGを従属変数としたモデルでは、交互作用が有意であったが(P=0.009)、T2を従属変数としたモデルでは交互作用は有意でなかった(P=0.630)。この結果から、咀嚼筋のT2は、運動持続時間が増加しても特に高負荷領域において変化が少なく、筋電図とは特性が異なることが示唆された。

平均T2とT2およびiEMGの4筋合計値を従属変数とした線形混合モデル(咬合力と被験者および交互作用を固定因子、変量因子は無し)によって推定された切片と回帰係数をプロットした咬合力に対する平均T2とT2およびiEMGの散布図を30秒クレンチングのみ図2に示す。全てのモデルで咬合力に伴う有意な変化が認められ(P<0.001)、交互作用は30秒クレンチングのiEMG(P<0.001)と、60秒クレンチングの平均T2(P=0.047)およびiEMG(P<0.001)で有意だった。30秒クレンチングと60秒クレンチングの両方で交互作用が有意でないのはT2のみであった。この結果から、咀嚼筋のT2変化と咬合力との関連は、筋電図と比較して被験者間の差が少ないことが示された。

(2) 咀嚼筋の空間的標準化とDSC

視覚的な確認では、空間的標準化の精度は十分高く、DSCの中央値は運動前後でそれぞれ0.65と0.67であった。

これらの成果により、運動前後のMR画像におけるT2の変化を統計学的に解析し、被験者群に共通する咀嚼筋局所活動を可視化できる可能性が示された。

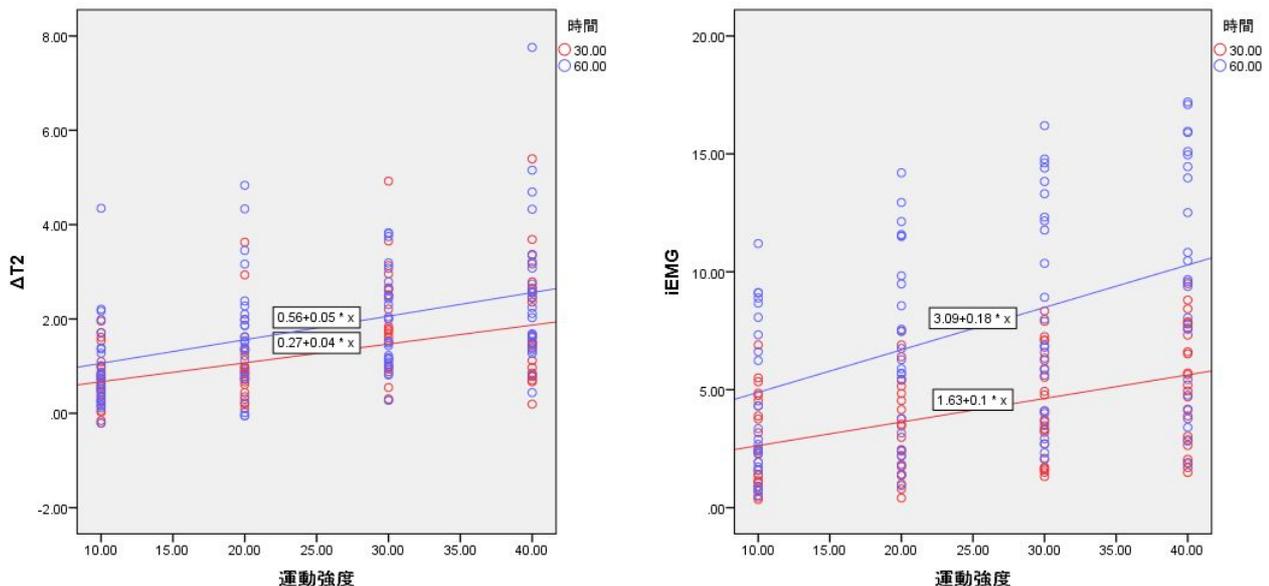


図1 運動強度に対するT2とiEMGの散布図と線形混合モデルによって推定された切片と回帰係数による30秒および60秒クレンチングのプロット

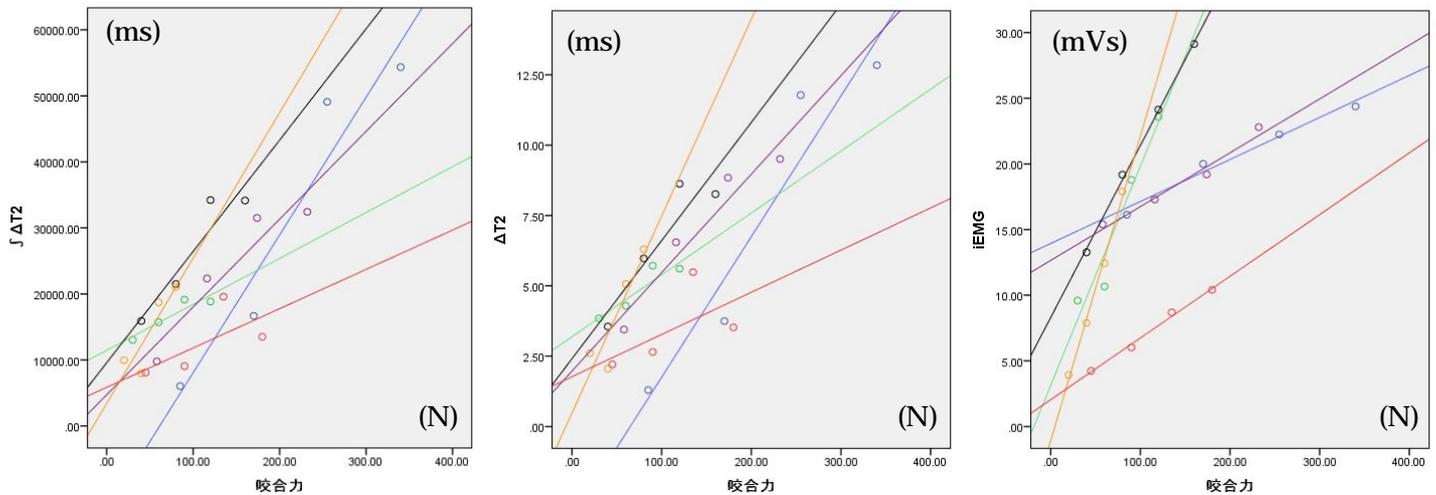


図2 30秒クレンチングにおける咬合力に対する ΔT_2 、 ΔT_2 、iEMG の散布図と線形混合モデルによって推定された切片と回帰係数による全被験者のプロット

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

Satoshi Yamaguchi, Chika Okada, Yoshihiko Watanabe, Makoto Watanabe, Yoshinori Hattori. Analysis of masticatory muscle coordination during unilateral single-tooth clenching using muscle functional magnetic resonance imaging. Journal of Oral Rehabilitation, 2018; 45(1): 9-16. doi: DOI: 10.1111/joor.12583.

〔学会発表〕(計3件)

山口哲史. 3次元機能画像を応用した咀嚼筋活動分布解析による咬合評価の可能性. 第28回日本全身咬合学会学術大会, シンポジウム1, 2018年11月24日, 於鶴見大学会館

藤居剛志, 山口哲史, 渡辺誠, 服部佳功. 骨格筋核磁気共鳴画像による咀嚼筋活動評価の特性. 日本補綴歯科学会平成29年度東北・北海道支部学術大会, 一般口演, 2017年10月29日, 於東北大学星陵オーデトリウム.

藤居剛志, 山口哲史, 渡辺誠, 服部佳功. mfMRIによる咀嚼筋活動評価の信頼性. 日本顎口腔機能学会第57回学術大会, 一般口演, 2016年10月2日, 於東北大学星陵オーデトリウム.

6. 研究組織

(1)研究協力者

研究協力者氏名: 渡辺 誠

ローマ字氏名: (WATANABE, makoto)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。