

平成 30 年 6 月 8 日現在

機関番号：12602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K11338

研究課題名(和文) 成長期鼻呼吸障害に伴う舌運動制御メカニズムの変調に関する末梢中枢連関の包括的解析

研究課題名(英文) Comprehensive analysis of peripheral-central coupling on modulation of tongue motion control mechanism with nasal respiratory disorder during growth periods

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) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：成長期における鼻閉が、大脳皮質一次運動野顔面領域、舌突出筋収縮特性、開口反射に与える影響について検討を行った。大脳皮質一次運動野顔面領域について、オトガイ舌筋、顎二腹筋前腹の皮質内マイクロ刺激陽性部位の総数は5週齢から9週齢まで有意に増加し、9週齢と11週齢で有意差を認めなかった。また、鼻閉群の陽性部位総数はすべての週齢で対照群に対して有意に小さな値となった。成長期後期の鼻閉における開口反射と舌突出筋収縮特性の検討は、開口反射で潜時と振幅が有意に延長し、舌突出筋収縮特性で舌突出力が有意に増加した。成長期初期・後期の片側鼻閉による呼吸障害は、顎顔面領域の機能成熟に影響を与えることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：We examined the effects of nasal obstruction during the growth phase on the face primary motor cortex (face-M1), the contractile properties of the tongue-protruding muscles (TPM), and the jaw-opening reflex (JOR). The total number of positive intracortical microstimulation sites for the genioglossus and anterior digastric muscles in face-M1 was significantly increased from 5 wks to 9 wks of age, and there was no significant difference at 9 wks of age and 11 wks of age. The total number of positive sites in the nasal obstruction group was significantly smaller than that of the control group at all weeks of age. In late growth stage, the latency and amplitude by the JOR were significantly prolonged and the tongue protruding force by the contractile properties of the TPM was significantly increased. These results suggest that the respiratory disturbance by unilateral nasal obstruction in early and late growth stage may have significant effects on maturation of craniofacial function.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：鼻閉 大脳皮質一次運動野 開口反射 舌機能

## 1. 研究開始当初の背景

鼻呼吸障害・口呼吸は、鼻咽腔疾患や鼻閉などによる鼻気道内の何らかの問題によって呼吸障害、発音障害、嚥下障害などの生体にとって重要な機能に障害を生じさせる鼻気道障害の一つである。呼吸障害により最も影響を受ける組織として舌が挙げられるが、舌は呼吸・咀嚼・嚥下・発音などに関与する多機能器官であり、歯列にも多大な影響を与える。しかし、鼻呼吸障害に伴う舌感覚の変調およびそれに伴う舌運動制御のメカニズムに関する報告は国内外を問わず見当たらない。

そこで、成長期における鼻呼吸障害が与える影響について、効果器としての舌運動機能、舌関連反射および舌体性感覚受容器応答特性などの末梢における運動制御、大脳皮質一次体性感覚野および一次運動野舌領域の可塑性に対する中枢性運動制御の3点について解明し、効果器、末梢感覚、中枢制御の関連性を検討していくことにより、最終的には、成長期の鼻呼吸障害における舌運動制御の変調が顎顔面発育に与える影響を解明し、小児期の呼吸障害に対する治療時期の提示、筋機能訓練などの論理的基盤の構築など矯正歯科治療にフィードバックしていくことを目的とし、研究開始に至った。

## 2. 研究の目的

片側鼻閉を行った鼻閉ラットを実験動物とし、成長期における鼻閉が、効果器としての舌運動機能、舌関連反射および舌体性感覚受容器応答特性などの末梢における運動制御、大脳皮質一次体性感覚野および一次運動野舌領域の可塑性に対する中枢性運動制御の3点に与える影響について明らかにすることを目的として行った。

## 3. 研究の方法

### 大脳皮質一次運動野の可塑的变化

鼻閉における一次運動野の可塑的变化について検討するために、6日齢 Wistar 系雄性ラット 72 匹を用いた。8日齢で片側鼻腔の完全閉鎖術を行う実験群と、偽手術を行う対照群（各 n=36）に分けた。鼻閉は、片側外鼻孔を低温麻酔下にて焼灼する完全閉鎖術にて行った。

皮質内微小電気刺激（ICMS）による記録は、両群とも 5、7、9 および 11 週齢で行った（各 n=9）。ケタミン麻酔下で脳定位固定装置にラット頭部を固定し、刺激電極として直径 100 $\mu$ m のタングステン微小電極を使用し、刺激電流として 60 $\mu$ A、333Hz、12 pulses の矩形波を用いて行った。電極の刺入部位は、bregma を基準に

前方に 0.0~4.5mm、側方に 0.0~5.0mm の範囲とし、0.5mm 間隔で刺入、深さを 0.5mm ずつ変化させた。ICMS により誘発される舌運動および顎運動はオトガイ舌筋（GG）および左右顎二腹筋（LAD,RAD）から筋電図（EMG）を用いて記録した。ICMS で連続した 5 回の電気刺激を加え、EMG で 3 回以上の筋活動が誘発された部位を ICMS 陽性部位とした。ICMS で電気刺激後 40 ミリ秒以内に EMG で基線より 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。さらに重心は、GG、LAD および RAD の陽性部位の 3 次元的座標の平均から算出した。分析項目は体重、SpO<sub>2</sub>、ICMS 陽性部位数、重心および潜時とした。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。

### 成長期後期における開口反射および舌突出筋収縮特性

成長期後期の鼻閉における開口反射を検討するために、6日齢 Wistar 系雄性ラット（n=60）を用いた。5週齢で、片側鼻腔の完全閉鎖術を行う実験群（n=30）と、偽手術を行う対照群（n=30）に分けた。両群ともに 7、9、11 週齢において、ステンレスワイヤー双極電極を下歯槽神経に刺入し、電気刺激（1 pulse、持続時間 0.2ms）により開口反射を誘発した際の両側顎二腹筋の筋電図を記録した。分析項目は潜時、持続時間、振幅とし、各週齢において両群間と同一群間の比較検討を行った。

また、成長期後期の鼻閉における舌突出筋の収縮特性を検討するために、6日齢 Wistar 系雄性ラット（n=42）を用いた。8日齢で、片側鼻腔の完全閉鎖術を行う実験群（n=21）と、偽手術を行う対照群（n=21）に分けた。両群ともに 7、9、11 週齢において、舌機能評価のパラメータである単収縮力の最大力、収縮時間、半減期、強縮力の最大力（60Hz、80Hz）、疲労度について測定を行った。

### オトガイ舌筋の筋組成

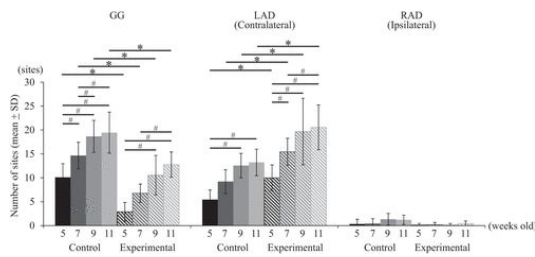
鼻閉におけるオトガイ舌筋の筋組成に与える影響を検討するために、6日齢 Wistar 系雄性ラット（n=12）を用いた。8日齢で、片側鼻腔の完全閉鎖術を行う実験群（n=6）と、偽手術を行う対照群（n=6）に分けた。両群ともに 5、7、9 週齢において、オトガイ舌筋の MHC-slow、MHC-fast、MHC-IIa および MHC-IIb の筋線維数・割合、各筋線維の直径、断面積について測定を行った。

#### 4. 研究成果

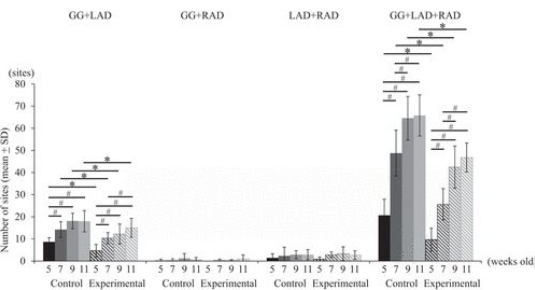
##### 大脳皮質一次運動野の可塑性的変化

実験群の群内比較では、GG、LAD、RAD、GG+LAD、GG+RAD、LAD+RAD および GG+LAD+RAD 陽性部位数の総和が5週齢から9週齢まで有意に増加し、9週齢と11週齢で有意差を認めなかった。同様に対照群の群内比較では、陽性部位数総和が5週齢から9週齢まで有意に増加し、9週齢と11週齢で有意差を認めなかった。実験群の陽性部位数総和はすべての週齢で対照群に対して有意に小さな値となった(図1-3)。

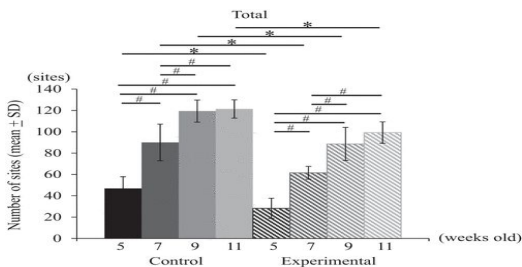
(図1)



(図2)

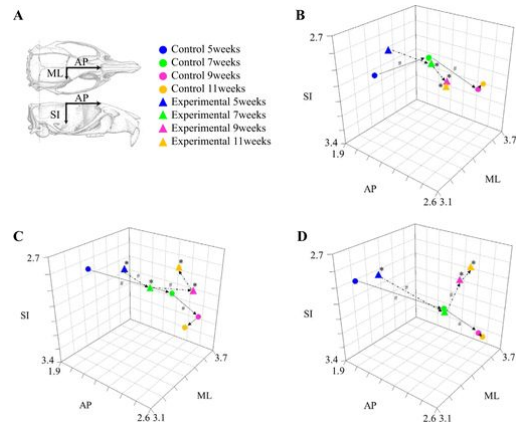


(図3)



実験群の GG の重心は、対照群に対して7、9 および 11 週齢で有意に内側に位置した。実験群の LAD の重心は、対照群に対して5週齢で有意に吻側に位置し、7、9 および 11 週齢で有意に内側に位置した。実験群の RAD の重心は、対照群に対して5週齢で有意に吻側に位置し9 および 11 週齢で有意に内側に位置した(図4)。

(図4)

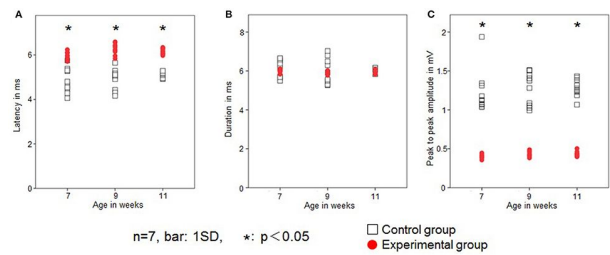


実験群の GG、LAD および RAD の潜時は、すべての週齢において対照群に対して有意な差は認めなかった。

##### 成長期後期における開口反射および舌突出筋収縮特性

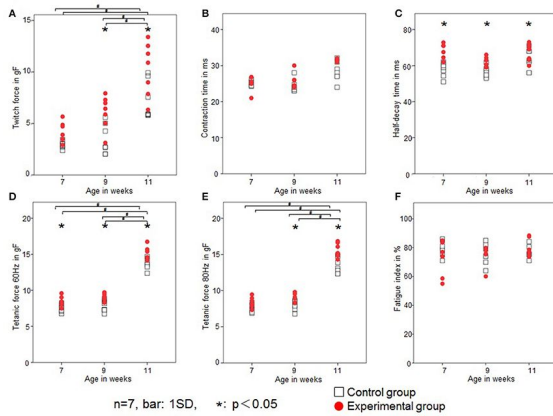
開口反射について、実験群は対照群と比較して、潜時は有意に延長し、振幅は有意に小さな値を示した(\* $p < 0.05$ )。両群間の持続時間に有意差は認められなかった。すべての分析項目において、同一群内における週齢間に有意差は認められなかった(図5)。

(図5)



舌突出筋収縮特性について、実験群は対照群と比較して、単収縮力の最大力、強収縮力の最大力(80Hz)では9,11週齢で、半減期、強収縮力の最大力(60Hz)では7,9,11週齢で有意に増加していた。群内比較では、単収縮力の最大力、強収縮力の最大力(60Hz、80Hz)で実験群、対照群ともに7週齢と11週齢間、9週齢と11週齢間で有意に増加していた。疲労度 は5週齢で有意に減少していた(図6)。

(図6)



### オトガイ舌筋の筋組成

実験群では速筋 (MHC-fast) の断面積・直径、タイプ□a 線維の断面積、タイプ□b 線維の直径が 7、9 週齢で増加し、タイプ□a 線維の直径、タイプ□b 線維の断面積は、5、7、9 週齢で増加が認められた。

本研究は、先行研究を応用した片側鼻閉塞による鼻閉モデルを作製し、鼻閉による呼吸障害について、顎口腔領域の反射調節機構および末梢器官の機能変化を開口反射、舌機能を指標として、また、中枢性運動制御の変化を大脳皮質一次運動野の機能局在の変化を指標として評価した。

これらの成果は、H24-26 の研究代表者の基盤研究の成果と合わせて、成長期中のあらゆる時期における呼吸機能の変調が顎顔面領域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ると考えられる。

### 5 . 主な発表論文等 (研究代表者は下線)

#### [雑誌論文](計 7 件)

Ogawa T, Okihara H, Kokai S, Abe Y, Karin Harumi UK, Makiguchi M, Kato C, Yabushita T, Michikawa M, Ono T. Nasal obstruction during adolescence induces memory/learning impairments associated with BDNF/TrkB signaling pathway hypofunction and high corticosterone levels. *J Neurosci Res*. 96(6):1056-1065. 2018. 査読有

Hsu JC, Watari I, Funaki Y, Kokai S, Ono T. Unilateral nasal obstruction induces degeneration of fungiform and circumvallate papillae in rats. *J Formos Med Assoc*.

117(3):220-226. 2018. 査読有

Suzuki K, Kokai S, Uesugi S, Nishiyama A, Ono T. Evaluation of the laterality of the tissue oxygen saturation of masticatory muscles in subjects with facial asymmetry. *Orthod Waves*. 76(4):232-237. 2017. 査読有

Abe Y, Kato C, Uchima Koecklin KH, Okihara H, Ishida T, Fujita K, Yabushita T, Kokai S, Ono T. Unilateral nasal obstruction affects motor representation development within the face primary motor cortex in growing rats. *J Appl Physiol* (1985). 122(6):1494-1503. 2017. 査読有

Uchima Koecklin KH, Hiranuma M, Kato C, Funaki Y, Kataguchi T, Yabushita T, Kokai S, Ono T. Unilateral Nasal Obstruction during Later Growth Periods Affects Craniofacial Muscles in Rats. *Front Physiol*. 10;7:669. 2017. 査読有

Makiguchi M, Funaki Y, Kato C, Okihara H, Ishida T, Yabushita T, Kokai S, Ono T. Effects of increased occlusal vertical dimension on the jaw-opening reflex in adult rats. *Arch Oral Biol*. 72:39-46. 2016. 査読有

Uchima Koecklin KH, Kato C, Funaki Y, Hiranuma M, Ishida T, Fujita K, Yabushita T, Kokai S, Ono T. Effect of unilateral nasal obstruction on tongue protrusion forces in growing rats. *J Appl Physiol*. 118(9):1128-35. 2015. 査読有

#### [学会発表](計 13 件)

小川卓也, 沖原秀政, 小海暁, 阿部泰典, Uchima Koecklin Karin Harumi, 牧口実央, 加藤千帆, 藪下忠親, 道川誠, 小野卓史 成長期鼻呼吸障害に伴う記憶・学習機能および海馬組織の変化に関する多角的解析 第76回日本矯正歯科学会大会 2017年10月18-20日 札幌

Suzuki K, Kokai S, Uesugi S, Nishiyama A, Ono T. Evaluation of the laterality of the tissue oxygen saturation of masticatory muscles in subjects with facial asymmetry. The 93rd congress of the European Orthodontic Society. 2017年6月5-10日. Montreux, Swiss.

Ogawa T, Okihara H, Kokai S, Michikawa M, Ono T. Nasal obstruction induces memory and learning impairment and decreases the number of hippocampal neurons in growing mice. The 93rd congress of the European Orthodontic Society. 2017年6月5-10日. Montreux, Swiss.

Uchima Koecklin Karin Harumi, 加藤千帆, 片口卓, 小海暁, 小野卓史 ラット晩期成長期における片側鼻閉は頭蓋顔面機能に影響を及ぼす(Unilateral nasal

obstruction during later growth periods affects craniofacial function in rats)(英語)  
第 81 回口腔病学会学術大会 2016 年 11 月 26 日 東京  
阿部泰典, 加藤千帆, Uchima Koecklin Karin Harumi, 沖原秀政, 石田宝義, 藪下忠親, 小海暁, 小野卓史 成長期における鼻呼吸障害はラット大脳皮質一次運動野顎顔面領域の発達に影響を与える  
第 75 回日本矯正歯科学会大会 2016 年 11 月 8-9 日 徳島  
Uchima Koecklin KH, Kato C, Kataguchi T, Okihara H, Ishida T, Fujita K, Yabushita T, Kokai S, Ono T. Force changes of the tongue-protruding muscles after nasal obstruction during the growth period in rats.  
第 75 回日本矯正歯科学会大会 2016 年 11 月 8-9 日 徳島  
Abe Y, Uchima Koecklin KH, Kato C, Kokai S, Ono. Effects of nasal obstruction on development of the motor representation within the facial primary motor cortex in growing rats. The 92nd Congress of the European Orthodontic Society. 2016 年 6 月 11-16 日. Stockholm, Sweden.  
Hsu J, Watari I, Ono R, Mizumachi-Kubono M, Funaki Y, Kokai S, Ono T. Degeneration of fungiform and circumvallate papillae following molar extraction and unilateral nasal obstruction in rats. The 17<sup>th</sup> International Symposium on Olfaction and Taste. 2016 年 6 月 7 日 横浜  
沖原秀政, 伊藤仁一, 小海暁, 石田宝義, 平沼摩耶, 加藤千帆, 藪下忠親, 石田和人, 道川誠, 小野卓史 成長期における咀嚼刺激低下は海馬 BDNF/TrkB signaling の低下に起因した記憶・学習機能障害を呈する 第 74 回東京矯正歯科学会学術大会 2015 年 11 月 18-20 日 福岡  
阿部泰典, 加藤千帆, 舟木幸葉, 沖原秀政, 藤田紘一, 石田宝義, 藪下忠親, 小海暁, 小野卓史 成長期ラットにおける大脳皮質一次運動野顎顔面領域の機能局在の発達 第 74 回日本矯正歯科学会大会 2015 年 11 月 18-20 日 福岡  
牧口実央, 舟木幸葉, 加藤千帆, 沖原秀政, 藤田紘一, 石田宝義, 藪下忠親, 小海暁, 小野卓史 成獣ラットにおける開口反射は咬合高径増加に対して長期的に順応する 第 74 回日本矯正歯科学会大会 2015 年 11 月 18-20 日 福岡  
Uchima Koecklin KH, Kato C, Funaki Y, Hiranuma M, Ishida T, Fujita K, Yabushita T, Kokai S, Ono T. Increase in force and changes in the contractile characteristics of the tongue-protruding muscles after nasal obstruction in growing rats. 8th International Orthodontic Congress. 2015 年 9 月 27-30 日. London, UK.  
沖原秀政, 伊藤仁一, 小海暁, 石田宝義,

平沼摩耶, 加藤千帆, 藪下忠親, 石田和人, 道川誠, 小野卓史 成長期における咀嚼刺激低下は海馬 BDNF/TrkB signaling の低下に起因した記憶・学習機能障害を呈する 第 74 回東京矯正歯科学会学術大会 2015 年 7 月 16 日 東京

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

○取得状況(計 0 件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
取得年月日:  
国内外の別:

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

小海暁 (KOKAI, Satoshi)  
東京医科歯科大学 医歯学総合研究科 非常勤講師  
研究者番号: 50431937

### (2)研究分担者

米満郁男 (YONEMITSU, Ikuo)  
東京医科歯科大学 医歯学総合研究科 助教  
研究者番号: 00431940

小野卓史 (ONO, Takashi)  
東京医科歯科大学 医歯学総合研究科 教授  
研究者番号: 30221857

### (3)研究連携者 なし

### (4)研究協力者 〔主たる渡航先の主たる海外共同研究者〕

〔その他の研究協力者〕

加藤千帆 (KATO, Chiho)

東京医科歯科大学 歯学部附属病院

医員

研究者番号：80706987

沖原秀政 (OKIHARA, Hidemasa)

東京医科歯科大学 歯学部附属病院

医員

研究者番号：80754960