

令和元年6月20日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11589

研究課題名(和文) マルチチャンネルレコーディングシステムを利用した摂食嚥下機能時の大脳皮質活動記録

研究課題名(英文) Development of a rat model for studying the behavioral assessment of dysphagia

研究代表者

白石 成 (Naru, Shiraishi)

新潟大学・医歯学系・助教

研究者番号：60585355

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)：多チャンネル電極を用い大脳皮質活動の記録(マルチニューロンレコーディングシステムを用いたニューロン記録)においては、その実験手技の獲得は概ね可能であった。さらに、口腔顔面領域の感覚入力の変化については、咀嚼時の重要な感覚の1つである歯根膜感覚に着目し、ラットの臼歯部を便宜的に抜去したモデルの確立に加え、3次元X線透視装置を使用した咀嚼嚥下行動の関係性について評価することに成功した。また、咀嚼筋や嚥下関連筋に対する筋電図を用いた定量的な記録方法についても確立し、覚醒動物の自由行動での咀嚼・嚥下行動の評価を実施した。これらの成果の一部は学会にて発表するに至った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、咀嚼や嚥下時の口腔機能がもたらす大脳皮質をはじめとした上位脳への効果を解明することを目的とし、高齢者の咀嚼・嚥下機能維持・改善のための歯科治療の重要性を明らかにすることであった。第一に、覚醒動物(麻酔で眠っていない動物)での摂食運動の記録方法の確立を目指し、レントゲンを用いた3次元計測ならびに筋電図による咀嚼や嚥下時の筋活動記録を選択した。自由行動では、嚥下のタイミングは咀嚼運動には影響を与えないこと、さらに歯の喪失に伴う口腔機能や咀嚼機能の低下は咀嚼のみに影響を与えるわけではなく、嚥下時の顎運動サイクルの延長を認め、嚥下動作にも影響を与えることが考えられた。

研究成果の概要(英文)：We have optimized tooth extraction and implant procedures and established protocols for high-speed biplanar videofluoroscopy (XROMM) imaging and analysis of mandible and tongue markers to permit objective assessment of feeding kinematics over time in freely behaving rats before and after dental manipulations. Rats were chronically implanted with radiopaque beads into the skull, mandible, and tongue to characterize kinematics of feeding behaviors using XROMM. In addition, We have successfully developed a series of surgical procedures and the protocol to obtain the natural feeding behavior in rats. The bipolar polyurethane-coated stainless steel wire electrodes were placed in the bilateral masseter, right suprahyoid and right thyrohyoid muscles for electromyogram (EMG) recording. These protocols are extremely meaningful to assess the behavioral changes of jaw and tongue kinematics, and to analyze the effects on mastication and swallowing during natural feeding and for dysphagia.

研究分野：歯科補綴学分野

キーワード：摂食嚥下 覚醒動物 咀嚼

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

### 1. 研究開始当初の背景

咀嚼運動誘発やリズム運動様式を制御するのは大脳皮質咀嚼野であるが、これに加えて一次運動野の the face primary motor area (face-M1) や一次体性感覚野の primary somatosensory area (face-S1) が詳細な運動制御を担うとされる。咀嚼時の顎口腔領域からの感覚入力源として、歯の欠損に従い、歯根膜周囲の神経終末の消失とともに、これらの反射機構も大きく変化すると考えられるが、歯の欠損後に歯根膜などを介した顎口腔系の反射機能がどのように変化するのか、また咀嚼・嚥下時の中枢制御機構がどのように変わっていくのかについては、いまだ明らかになっていない。また、口腔顔面領域からの感覚入力の変化は、face-M1 と face-S1 両領域のニューロンに可塑性変化を与えることが期待されており、多チャンネル電極を用いたマルチニューロンレコーディングを用いて、ラットを対象とした覚醒下摂食行動記録を行う。

### 2. 研究の目的

(1) ラットでの多チャンネル電極を用いた覚醒下摂食行動におけるニューロン活動の記録法を確立する。

(2) ラットの咬合回復モデル作成法(健全歯列, 欠損歯列, インプラント補綴)を確立する。

(3) 1, 2) を利用して得られたスパイク情報の解析を行い, 口腔内の形態・機能回復過程における脳の情報処理と神経細胞間の相互作用の経時的・空間的な動態の変化を解明する。

### 3. 研究の方法

(1) 多チャンネル電極を用いた覚醒下摂食行動におけるニューロン活動の記録法の確立

1) 3次元X線透視を用いて, 摂食嚥下動態の記録法の確立。

2) 脳定位固定装置下にて, マルチチャンネル電極を挿入固定。

3) 手術終了後に, 覚醒自由行動下での記録が可能であることを確認。

4) ニューロン活動の時間的・空間的分布を解析。

5) 実験終了後に動物を屠殺して, 大脳皮質の記録部位を確認。

(2) 自由行動下での咀嚼・嚥下運動の筋活動記録方法の確立

1) 全身麻酔下ラットにて, 筋電図記録用電極(顎二腹筋, 咬筋, 甲状舌骨筋)を挿入固定。

2) 回復後に無麻酔・自由行動下での摂食運動の記録。

3) 咀嚼と嚥下に関する筋電図の解析

(3) ラットの咬合回復モデル作成法(健全歯列, 欠損歯列, インプラント補綴)の確立

1) 全身麻酔下ラットにて, 上顎臼歯部の抜歯。抜歯後の治癒期間は1か月とする。

2) 直径1mmのラウンドバーにてドリリング後, 純チタン製スクリュー型ミニインプラント(直径1mm, 長径2mm)を埋入。オッセオインテグレーション獲得期間を1か月とする。

3) ニューロン活動, 筋活動の測定と行う。

4) 動物を屠殺して, 大脳皮質の記録部位を確認。

### 4. 研究成果

(1) チャンネル電極を用いた覚醒下摂食行動におけるニューロン活動の記録法の確立

ニューロン活動の記録に先立ち, 咀嚼・嚥下時の行動様式の記録の確立を目指した。行動様式の記録には, 3次元X線透視装置を用いた運動学的解析を実施した。開閉口運動の記録のために, ラット下顎骨にマーカーを埋入, 舌運動の記録のために舌尖・舌奥・中央にそれぞれマーカーを留置した。

解析の一例を図に示す。図1は咀嚼・嚥下時の舌の垂直的な移動距離を示し, Tongue Angle は舌の後方マーカーと中間位マーカーを結ぶ線と, 中間位マーカーと前方マーカーを結ぶ線との角度を表す。嚥下時には舌尖・舌中央・舌奥の挙上がみられ, Tongue Angle は飼料の取り込み時や嚥下運動前後に大きく変化することが確認された。

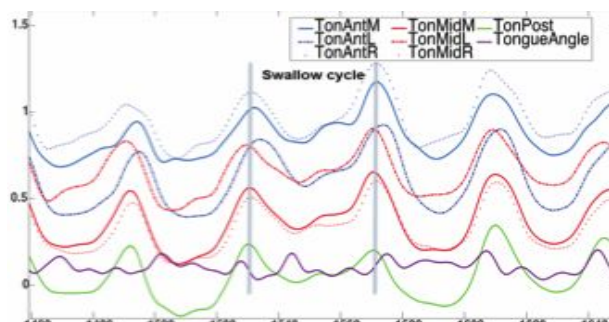


図1. 舌運動の軌跡

図2に下顎運動, 舌運動, Tongue Angle のパワースペクトル密度解析を示す。下顎と舌は7-8Hz, Tongue Angle は13-14Hz付近にパワースペクトル密度のピークを示し, 咀嚼時の舌の形態変化は垂直的な変位量に比較してより動的であることが示唆された。

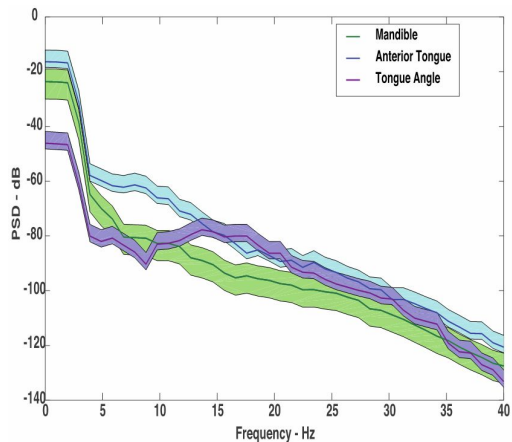


図2 . 下顎, 舌, Tongue Angle のパワースペクトル密度

ニューロン活動の記録については、実験プロトコルの確立は概ね達成できたと考えられたが、複数匹からのデータ採取とその解析には至らず、今後の課題となった。

(2) 自由行動下での咀嚼・嚥下運動の筋活動記録方法の確立

覚醒下・自由行動下でのラットの摂食運動を記録するために、顎二腹筋, 咬筋, 甲状舌骨筋に電極を挿入固定する手技の確立を目指した。図3に記録された筋電図を示す。

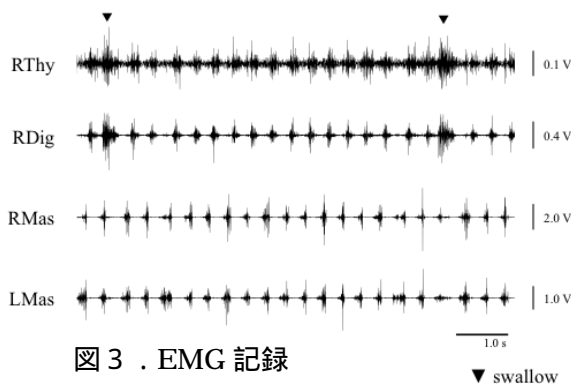


図3 . EMG 記録

摂食運動時の筋電図解析により、嚥下直前の咬筋筋活動(咀嚼運動)と舌骨下筋筋(嚥下)の間隔に規則性は確認されず、嚥下中枢は咀嚼運動に影響を及ぼさないことが示唆された。

(3) ラットの咬合回復モデル作成法(健全歯列, 欠損歯列, インプラント補綴)の確立

(1)に示した咀嚼・嚥下の行動様式の記録を利用し、口腔障害モデルとして、抜歯による咀嚼障害モデル, その後のインプラントによる咬合回復モデルを作成した。モデル動物の口腔内写真を図4に示す。

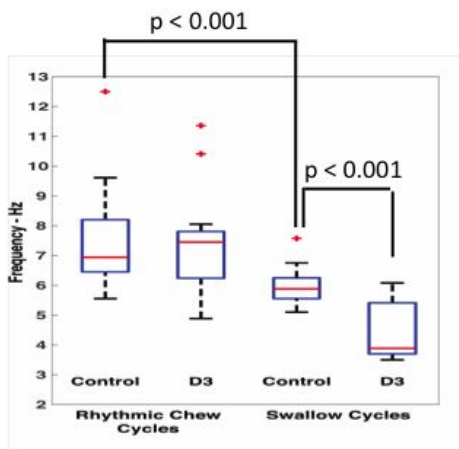


Before procedure

Tooth extraction

Dental implantation

図4 . 健全・抜歯後・インプラント補綴後のラット口腔内写真



解析の1例として、抜歯前後の咀嚼時と嚥下時の下顎運動の周波数解析結果を図5に示す。抜歯前のコントロール群での比較では、咀嚼サイクルと嚥下時の下顎運動の速度は有意な差を認めたと、抜歯後の比較では有意差を認めなかった。さらに、嚥下時の比較では、抜歯前後で下顎運動の速度に有意な差を認めたと。上顎左側臼歯部欠損による少数歯の歯牙欠損はリズムカルな咀嚼運動に影響を与えないが、その後の嚥下時の下顎運動を緩慢にさせることから、口腔移送や嚥下時には、顎位の安定が重要であることが示唆された。

図5 . 抜歯前後の下顎運動の周波数解析

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

Filiz Bunyak, Naru Shiraishi, Kannappan Palaniappan, Teresa E. Lever, Limor Avivi-Arber, and Kazutaka Takahashi , Development of semi-automatic procedure for detection and tracking of fiducial markers for orofacial kinematics during natural feeding , Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc. 2017 Jul. , 査読有 , 2017: 580-583 , doi:10.1109/EMBC.2017.8036891.

〔学会発表〕(計4件)

Naru Shiraishi, Kouta Nagoya, Takanori Tsujimura, Makoto Inoue , Development of a rat model for studying the behavioral assessment of dysphagia. , Dysphagia Research Society (DRS) 27th Annual Meeting , San Diego, USA , 2019.3.7-9.

Shiraishi N, Avivi-Arber L, Zimerman A, Kataria N, Lever T, Inoue M, Ross C, Takahashi K , Analysis of the relationship between oral environmental changes and alternations in mastication/swallowing patterns of rats using 3D videofluoroscopic technique. , 7th ESSD Congress , Barcelona, Spain , 2017/9/21-22

Bunyak F, Shiraishi N, Palaniappan K, Lever T, Avivi-Arber L, Takahashi K , Development of semi-automatic procedure for detection and tracking of fiducial markers for orofacial kinematics during natural feeding. , The 39th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society , Jeju Island, Korea , 2017/7/11-15

Shiraishi N, Avivi-Arber L, Lever T, Inoue M, Ross C, Takahashi K , Development of a rat model for studying the relationship between oral environmental changes and alterations in mastication/swallowing patterns. , 25th Anniversary Annual Meeting Dysphagia Research Society , Portland, USA , 2017/3/2-4

〔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：  
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：井上 誠

ローマ字氏名：(INOUE, makoto)

所属研究機関名：新潟大学

部局名：医歯学系

職名：教授

研究者番号 ( 8 桁 ): 00303131

研究分担者氏名 : 辻村恭憲

ローマ字氏名 : (TUSJIMURA, takanori)

所属研究機関名 : 新潟大学

部局名 : 医歯学系

職名 : 准教授

研究者番号 ( 8 桁 ): 00548935

研究分担者氏名 : 佐々木啓一

ローマ字氏名 : (SASAKI, keiichi)

所属研究機関名 : 東北大学

部局名 : 歯学研究科

職名 : 教授

研究者番号 ( 8 桁 ): 30178644

(2)研究協力者

研究協力者氏名 :

ローマ字氏名 :

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。