

令和元年6月13日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K20649

研究課題名(和文) ボツリヌス毒素誘発性機能低下モデルを用いた顎口腔機能・形態発育障害の治療法検討

研究課題名(英文) Experimental investigation using hypofunction model following botulinum neurotoxin injections on developmental disorders of the craniofacial morphology and the masticatory function

研究代表者

藤下 あゆみ (FUJISHITA, Ayumi)

長崎大学・病院(歯学系)・医員

研究者番号：30755723

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では顎口腔機能の低下が顎顔面領域に及ぼす影響について検討するため、ボツリヌス毒素の咀嚼筋投与により構築した顎口腔機能低下モデルマウスにおいて、顎機能解析および顎骨形態計測を行った。

成体および乳幼児期顎口腔機能低下モデルの機能解析では、顎運動の安定性の低下と顎運動軌跡の変化を認めた。また、経時的に収集した形態データ解析においては、コントロールと比較して下顎骨形態の変化を認めた。これらの結果より、乳幼児期における顎口腔機能の低下は咀嚼様式の変化と顎骨形態への影響をもたらし、成長期における顎顔面成長および適切な咀嚼機能の獲得を阻害する可能性があることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究ではボツリヌス毒素を筋注入することで、血液供給を持続させたまま、手術に伴う瘢痕を形成することなく特定の咀嚼筋機能を低下させ、顎骨の形態変化を解析することが可能であった。また、形態データと顎運動・咀嚼筋筋電図の同時記録とを組み合わせることで、同一個体の機能および形態変化を関連付けて検討することができ、その結果機能と形態との相互関連が示唆された。本研究結果は成長期における摂食機能障害、ならびに顎骨の発育不全に起因する不正咬合の早期治療・形態機能回復リハビリテーションの検討に貢献するものであると考える。

研究成果の概要(英文)：In this study, we use the mice model for evaluating the effect of muscle hypofunction following botulinum neurotoxin injections on the craniofacial growth. We took the CT data for morphological analysis. In addition, three-dimensional jaw movements and EMG of the masseter and temporalis muscles were recorded while mice were chewing. Hypofunction group showed unstable jaw movement and their jaw movement trajectories were changed. Besides, in morphological analysis, hypofunction group showed changes of the mandible shape compared with the control group. These results suggest that a part of functional disorders affect the all mechanisms of mastication. Furthermore, it appears to have a great effect on craniofacial morphology and masticatory function at the growth period.

研究分野：歯科矯正学

キーワード：マウス 機能低下 咀嚼運動メカニクス ボツリヌス毒素

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

1. 研究開始当初の背景

近年、児童において「噛まない子・噛めない子」の増加が社会的な問題となっている。咀嚼・嚥下の基本的機能は生後に獲得されるため、発達期に適切な機能獲得が行われない場合、将来において、食べる機能に障害を残す可能性がある。加工技術の発達や少量で栄養価の高い軟食の普及といった食習慣の変化は、食事時の咀嚼・嚥下の頻度を大幅に減少させ、発育時の咀嚼・嚥下機能獲得に悪影響を及ぼすことが示唆されている。また、現代社会における不正咬合をはじめとする顎口腔形態異常の増加についても、食習慣などの生活様式の変化によるものと言われて久しい。食品の軟食化や近代社会生活を送る上での生活様式の変化に起因した習癖など生活習慣の大きな変化は、人体に機能的変化を生じさせ、形態異常をも発症させるリスクを増大させる。

その中でも成長期における悪習癖は、永続的な形態異常発現を引き起こすだけでなく、顎顔面領域の成長発達、咀嚼、嚥下、呼吸、発音など顎口腔機能のシステム構築にも悪影響を及ぼすことが分かっている。故に、筋機能療法 (MFT) などの様々な機能改善が試みられているが、顎口腔機能低下と機能発達および形態成長との関連についての基礎的報告は乏しく、これらの機能療法が明確な科学的根拠に基づいて行われていないのが現状である。

2. 研究の目的

(1) 咀嚼・嚥下機能低下が顎口腔諸器官に対し、どのような変化をもたらし、機能発達と形態成長にどういった影響を与えるのか。

(2) 成長発達期における咀嚼・嚥下機能障害に対して、機能的介入による正常な機能・形態獲得は可能か。訓練開始の期限はいつか。完全獲得が不可能な場合はどの程度まで回復可能か。以上の点を明らかにして、咀嚼・嚥下機能の発達と形態的障害発生との関連メカニズムを解明することによる、顎口腔機能障害および顎骨の形態不全に起因する不正咬合の予防、治療、回復リハビリテーション法の開発を目標とする。

3. 研究の方法

マウスの離乳期である生後3週齢に、A型ボツリヌス毒素(以下 BoNT/A)を咀嚼筋(両側咬筋・両側側頭筋)に筋注し神経筋伝達を遮断、hypofunction を惹起する。2週毎に形態計測を行い、マウスの成長終了期である生後15週齢まで飼育を行った後、3次元顎・舌運動記録・筋活動計測等を行った。また、予備実験として成体マウス咀嚼筋に BoNT/A を注入して機能データを取得し、機能解析を行った。

(1) 動物実験用3DマイクロCT(RmCT; リガク)を使用して経時的なマウス頭部3Dデータを2週間隔にて記録する。得られた撮影データからマイクロCT断層画像を切り出し、DICOM画像解析ソフト(i-VIEW; モリタ製作所)を用いて形態計測を行う。

(2) 3次元運動記録用磁気センサユニットを頭蓋骨、顎運動標点磁石を下顎骨オトガイ下部に、筋活動記録用電極を咬筋、側頭筋、顎二腹筋、顎舌骨筋に装着する。3日間の回復期間後、無麻酔下で3次元顎運動(開閉、前後、左右)と筋活動の同時計測を行う(図1)。

顎運動および筋電図の記録から、摂食行動を食品の取り込み期(補食期)と、リズムカルな開閉口運動を伴う咀嚼期(粉碎臼磨期)に分類し解析に用いる(図2)。

顎運動解析は咀嚼サイクルの各運動相時間、開口量、咬合滑走量、経路の安定性を算出する。筋活動解析は各筋の筋活動開始点及び停止点、単位時間あたりの活動量積分値、活動持続時間の平均値を求める。また顎運動との関連活動を評価する。

4. 研究成果

成体マウスにおいて、咬筋および側頭筋に生理食塩水を注入した control 群、咬筋に BoNT/A を注入した咬筋機能低下群、側頭筋に BoNT/A を注入した側頭筋機能低下群の3群で咀嚼時の顎運動および筋活動解析を行った。



図1 3次元顎運動・筋活動計測システム

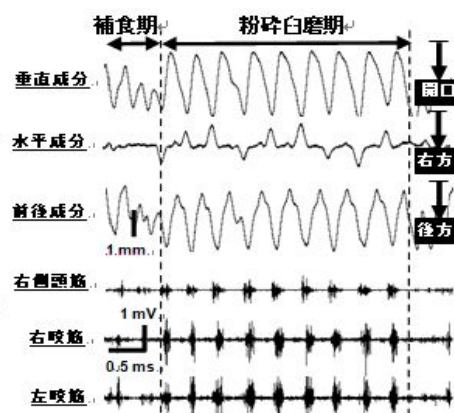


図2 下顎運動と筋電図

筋活動に関しては、各群の注入前後比較において、咬筋機能低下群における咬筋活動時間および咬筋活動量が、また、側頭筋機能低下群における側頭筋活動時間および側頭筋活動量と咬筋活動量が注入後に有意に減少し、BoNT/A による機能低下モデルの構築が達成できた(図 3)。

	EMG duration (ms)		EMG area (AD per units)	
	MAS	TEMP	MAS	TEMP
Control group				
Before injection	60.7 ± 8.8	79.8 ± 8.2	0.0088 ± 0.0040	0.0069 ± 0.0025
After injection	63.7 ± 12.1	83.3 ± 18.4	0.0099 ± 0.0019	0.0072 ± 0.0031
Significance	NS	NS	NS	NS
Mas-hypofunction group				
Before injection	58.0 ± 8.4	88.3 ± 14.7	0.0079 ± 0.0022	0.0061 ± 0.0022
After injection	43.1 ± 10.7	91.4 ± 15.7	0.0024 ± 0.0009	0.0056 ± 0.0019
Significance	*	NS	*	NS
Temp-hypofunction group				
Before injection	56.7 ± 10.8	74.8 ± 10.7	0.0091 ± 0.0028	0.0057 ± 0.0016
After injection	52.5 ± 9.8	46.5 ± 26.1	0.0063 ± 0.0030	0.0021 ± 0.0050
Significance	NS	*	*	*

Values are presented as the standard deviation of the mean of each group. Individual differences were examined using a paired *t*-test.
**P* < 0.05; NS indicates not significant.

図3 3群における BoNT/A 注入前後の筋活動比較

また、咬筋もしくは側頭筋機能低下時に、機能低下していない筋活動の増加が認められなかったことから、急性実験においてそれぞれの筋低下に対する他筋の補償機構は働かないことが示唆された。

顎運動解析では、側頭筋機能低下群において食物粉碎期にあたる閉口相後期の時間および下顎移動距離が減少した。咬筋機能低下群においては下顎前方位における顎位のばらつきが特徴的に認められた(図 4)。乳幼児期からの機能低下モデルマウスにおいても顎運動の安定性の低下と運動軌跡の変化を認めた。

乳幼児期機能低下モデルにおける顎形態解析では、コントロールと比較して下顎頭幅および下顎枝高さに減少傾向を認め、機能低下による形態成長への影響が示唆された。

以上の結果より、乳幼児期における顎口腔機能の低下は咀嚼様式の変化をもたらし、適切な咀嚼機能の獲得を阻害する可能性があることが示唆された。また、顎骨形態への影響も認められ、機能と形態との相互関連が示唆された。今後はサンプル数の増加と顎顔面形態の更なる解析により、機能と形態の関連メカニズムの特定を検討する。

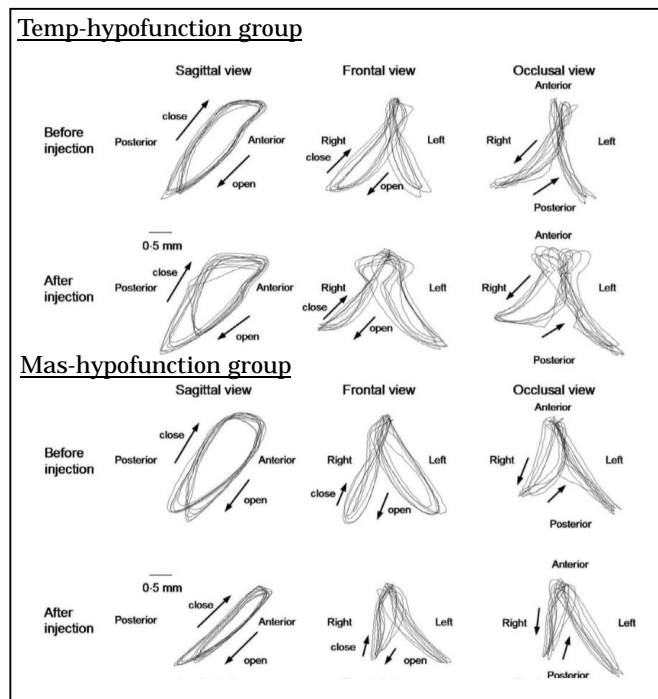


図4 BoNT/A 注入前後の顎運動軌跡

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 1 件)

- (1) Yoshimi T, Koga Y, Nakamura A, Fujishita A, Kohara H, Moriuchi E, Yoshimi K, Tsai C.Y, Yoshida N. Mechanism of motor coordination of masseter and temporalis muscles for increased masticatory efficiency in mice. J Oral Rehabil. 44(5): 363-374, 2017. doi: 10.1111/joor.12491. [査読有]

[学会発表] (計 6 件)

- (1) 安田 豪、山田 佳奈、森内 絵美、吉見 知子、藤下 あゆみ、濱中 僚、小原 悠、古賀 義之、吉田 教明、モーションキャプチャーを用いた6自由度顎運動と筋電図の同時計測による顎口腔機能解析、第62回日本顎口腔機能学会学術大会、2019
- (2) 藤下 あゆみ、山田 佳奈、安田 豪、森内 絵美、吉見 知子、小原 悠、濱中 僚、古賀 義之、吉田 教明、6自由度顎運動計測システムを用いた異なる性状の食品咀嚼時のマウス顎運動解析、第77回日本矯正歯科学会学術大会、2018
- (3) Yoshimi T, Yasuda G, Moriuchi E, Fujishita A, Kohara H, Hamanaka R, Koga Y, Yoshida

N, Coordination of masticatory muscles and jaw movement in six degrees of freedom depending on food texture during mastication in mice, The 11th Asian Pacific Orthodontic Conference, 2018

- (4) 安田 豪、森内 絵美、吉見 知子、藤下 あゆみ、小原 悠、濱中 僚、古賀 義之、吉田 教明、モーションキャプチャーを用いた6自由度顎運動計測システムの改良と測定精度、第76回日本矯正歯科学会大会、2017
- (5) 森内 絵美、吉見 知子、藤下 あゆみ、中村 文、小原 悠、濱中 僚、古賀 義之、吉田 教明、モーションキャプチャーを応用した6自由度顎運動解析システムを用いた多点同時解析、第75回日本矯正歯科学会大会、2016
- (6) 森内 絵美、吉見 知子、藤下 あゆみ、中村 文、小原 悠、濱中 僚、古賀 義之、吉田 教明、モーションキャプチャーを用いた小動物6自由度顎運動解析システムの開発、第56回日本顎口腔機能学会学術大会2016

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

長崎大学医歯薬学総合研究科歯科矯正学分野ホームページ

<http://ortho.dh.nagasaki-u.ac.jp/index.html>

長崎大学研究者詳細情報

<http://research.jimu.nagasaki-u.ac.jp/IST>

長崎大学教員個人業績

<http://gyoseki.jimu.nagasaki-u.ac.jp/IST>

6. 研究組織

(1)研究分担者

なし

(2)研究協力者

なし

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。