

令和 3 年 6 月 11 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K11939

研究課題名(和文)顎機能障害を伴う咀嚼筋疲労の分子イメージング

研究課題名(英文)Molecular Imaging of Masseter Muscle Fatigue Using Muscle Functional MRI and <sup>31</sup>P-MRS in Temporomandibular disorders

研究代表者

北原 亨(Kitahara, Toru)

九州大学・大学病院・講師

研究者番号：00274473

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)：咀嚼筋疲労に関して、MR T2強調画像におけるT2緩和時間(T2値)と筋電図(EMG)における周波数積分値(IEMG)に着目し研究を進めた。骨格筋活動評価のゴールドスタンダードである筋電図法による測定結果との関連については、四肢の筋で相関が認められるとの報告があるのに対して、咀嚼筋については十分な検証されていないため、咀嚼筋活動に伴うT2値延長と筋電図測定値との関係も含め検討を行った。将来的には、表面筋電図、筋機能MRIとMRSを用いた咀嚼筋の疲労の定量的測定法を、診断ならびに治療結果の評価に加え、さらには矯正歯科領域の不正咬合という病態の解明を、生化学的側面から展開したいと考えている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

咀嚼筋疲労についての検索は、原因・病態・予後等において重要であり、咀嚼筋疲労は開口障害や咀嚼障害、慢性疼痛を引き起こし、医療のエンドポイントである「生活の質の向上」に大きく関わっているが、その検査・診断法が十分に確立されているとは言えない。

実験的咬みしめでは下顎前突患者群、健常者群の両群ともにT2時間とIEMGが一過性に増加した。患者群の咬みしめ時のIEMGの増加の程度は健常者群に比べて小さくなっており、一方、患者群のT2時間の延長は健常者群に比べ大きくなっていった。患者群では咬みしめ時の一過性の筋活動の増加は少ないように思われたが、筋疲労の程度はより深刻であると推察された。

研究成果の概要(英文)：Establishing a diagnostic method that combines physiological and biochemical information is necessary for the objective and quantitative evaluation of masticatory muscle fatigue.

The transverse relaxation time (T2 time), measured using mf-MRI, and the integrated electromyogram (IEMG) were used to investigate the reliability as parameters for measuring masticatory muscle fatigue. Hypothesis 1. The jaw deformity patient group has less muscle activity during clenching than the healthy subject group. Hypothesis 2. The jaw deformity patient group are more likely to fatigue during clenching compared to the healthy subject group.

In order to establish a diagnostic standard of masticatory muscle fatigue using IEMG in EMG and T2 time in mf MRI parameters, it is believed necessary to collect and examine more materials.

研究分野：医師薬学

キーワード：咀嚼筋疲労 横緩和時間(T2時間) QOL(Quality of Life) 顎変形症患者

### 1. 研究開始当初の背景

骨格筋疲労の分子メカニズムはホメオスタシス(恒常性)の低下現象であると言える。骨格筋の収縮という負荷がかかると、筋肉系・神経系・循環器系をはじめ多くの系が絶え間なく機能するが、オーバーワークになると細胞内の様々な機能分子が酸化されるという事態が起こり、急性疲労から亜急性疲労へと移行し、慢性疲労症候群のような厳しい疲労から抜け出すことが困難となることもある。

咬筋の痛みに関しては、超音波装置やMR装置を用いて画像評価した報告が散見され、超音波装置を用いて画像評価したArijiらの研究では、患者群では健康人に比べて、筋肉に浮腫性変化がみられ(Ariji Y et al. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2004), MRIを用いた実験的咬みしめ研究(Nagayama K et al. J Comput Assist Tomogr 2010)では、筋痛患者の咬筋は自由水が増加していたとの報告は認められる。しかしながら、咀嚼筋疲労の診断は問診触診といった患者の主観に頼ることが多く、客観的な診断法はいまだ確立されていない。

下顎前突患者は健康者に比較してタイプⅠ線維(赤筋)が優位であり、タイプⅡ線維(白筋)の選択的萎縮、比率の減少がみられ、この現象は顎機能の障害により、最大咬合力が弱いことに起因している可能性も示唆されており(北川善政ら 日顎変形誌. 1991;1(1):72-9)や、下顎前突患者における筋疲労については、咬みしめ時の筋活動に関して最大咬みしめ時、正常者は咀嚼筋の中で咬筋が優位であるのに対し、下顎前突者では側頭筋筋活動に比べて咬筋筋活動が弱く機能的な不調和があること(小笠原利行ら 日本口腔科学会雑誌. 1999;48(1):54-9)という研究結果が見受けられる。

このように健康者と下顎前突患者の咀嚼筋の生理学的特徴の違いに関する研究は散見されるが、筋機能MRIおよび<sup>31</sup>P-MRSを併用した筋疲労、特に回復期についての研究はほとんどなされていない。MR装置を用いることで、非侵襲的に内在性代謝物質を検出し、形態・機能情報だけでなく、咀嚼筋のエネルギー代謝情報をも取り込んだ複合的な診断法が求められてきている。

分子イメージングとは、生物が生きた状態のまま外部から生体内での細胞・分子の活動様態を観察することである(図1)。

咀嚼筋疲労評価の際には、筋機能MRIにおける横緩和時間(T<sub>2</sub>)、および<sup>31</sup>P-MRS(核磁気共鳴分光法)における化学シフト(ケミカルシフト)に多角的疲労評価指標として着目した。生体内の分子機能の直接的な可視化が可能となり、生理・生化学的情報および解剖学的情報を同時に取得、これらのシナジー効果によって、新たな咀嚼筋疲労診断手法の確立が期待される。

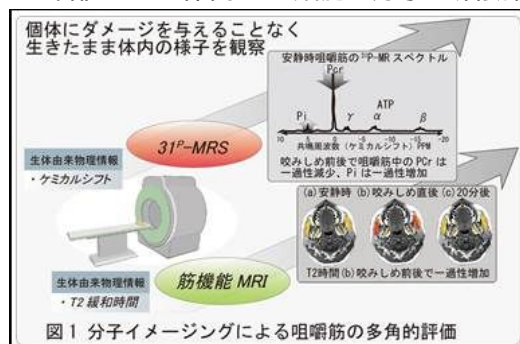


図1 分子イメージングによる咀嚼筋の多角的評価

### 2. 研究の目的

筋機能MRI(mfMRI)とは、Fleckensteinら(Fleckenstein J et al. Am J Roentgenol 1988;151:231-237)が報告した“運動に参与した筋の横緩和時間(T<sub>2</sub>値)は上昇する”および“骨格筋の活動様相をMRIで評価するには、筋が活動し、疲労した後の状態(T<sub>2</sub>値が上昇した状態)で評価する”という事実を利用し、骨格筋を含む軟部組織の形態評価と、T<sub>2</sub>値変化のマッピングによる筋活動の機能評価をMRIで同時に行うという手法である。

MRIパラメータの1つである横緩和時間(T<sub>2</sub>値)は水分含有量に比例した値であるだけでなく、運動に参与した筋の運動後の値は増加することが知られている。下肢骨格筋の活動性の画像化に関しては、運動前後の筋のT<sub>2</sub>値画像を作成し比較提示する、筋機能MRIをAkimaら(Akima H et al. Eur J Appl Physiol 2004;91:7-14)が提案している。

MRスペクトロスコピー(MRS)はMRによる分子イメージングとして最も代表的である。細胞レベルでの生化学代謝反応を計測することが可能で、<sup>1</sup>H-MRS、<sup>13</sup>C-MRSなどがある。なかでも、<sup>31</sup>P-MRSは生命活動に必須となるアデノシン三リン酸、クレアチンリン酸(PCr)や無機リン(Pi)といった高エネルギーリン酸化合物を定量対象としており、四肢骨格筋においては研究報告があり(Kemp GJ et al. Acta Physiologica 2014)、実験的咬みしめ前後の疲労関連物質(PCr, ATP, Pi)を半直接的に定量可能である。(図2)。

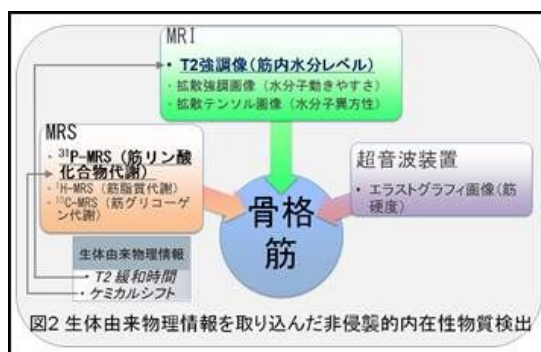


図2 生体由来物理情報を取り込んだ非侵襲的内在性物質検出

咀嚼筋の疲労や痛みは、様々な咀嚼障害（顎関節症など）として顎変形症の患者に最も多く認められることが知られている。この咀嚼筋の機能障害の発症メカニズムに関しては未だ不明な部分が多い。咀嚼筋にクレンチングなどの過剰な負荷を与えると筋組織に炎症性変化が起こるとされるが、その炎症の有無や程度の評価は、主に患者の訴える疲労感や疼痛の強さなどから判断され、客観的かつ定量的な評価法は乏しく、生理学的情報と生化学的情報が統合された診断法の確立は急務であるといえる。

これまで、大腿四頭筋など大きな断面積を有する骨格筋においては、患者にとって侵襲のない検査法である mfMRI および  $^{31}\text{P}$ -MRS を用いて、筋疲労の分子イメージングが行われてきた。これにより、筋の生理学的情報・生化学的情報を同時に取得し比較することが行われるようになった。

咀嚼筋疲労は顎機能障害（顎関節症）の一般的プロブレムであり、その発症継続化因子の1つにクレンチング（咬みしめ）が考えられている。顎機能障害が存在した場合、開閉口咀嚼筋の筋活動量、活動比率や左右的均衡性などに変化が現れ、その治療を成功させるには筋活動の平衡を得ることが重要である。

この研究の目的は、顎機能障害を伴う患者を対象とし、侵襲のない検査法である筋機能 MRI および  $^{31}\text{P}$ -MRS を用いて、生理学的情報・生化学的情報を同時に取得し比較することができる、分子イメージングによる定量的検証、および、新たな咀嚼筋疲労診断法を確立することである。

### 3. 研究の方法

以下の作業仮説を検証する。

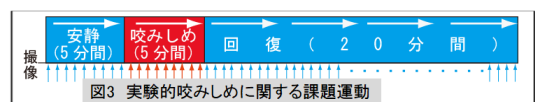
仮説 1：治療前の筋機能 MRI において、持続かみしめ前後の咀嚼筋の横緩和時間（T2 値）は一過性に上昇する。また、左右側で T2 値に有意差がある。

仮説 2： $^{31}\text{P}$ -MRS を用いて評価した場合、持続かみしめ前後の咀嚼筋の高エネルギーリン酸化合物のうち、PCr は一過性に減少し、Pi は一過性に増加する。また、左右側で信号強度に有意差がある。

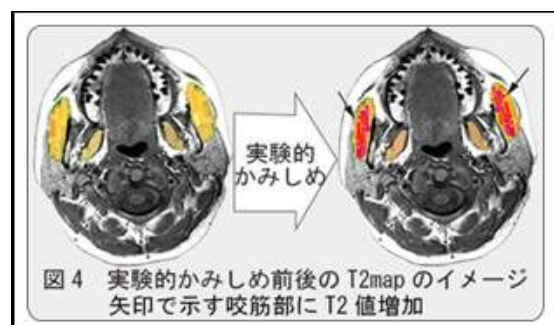
仮説 3：顎変形症患者群は健常者群と比較してかみしめ時の筋活動が低い。

実験的咬みしめによる被験筋は咬筋・側頭筋・外側翼突筋とした。疲労による組織内変化の観察対象は、下顎前突を呈する顎変形症成人患者 16 名（男性 7 人、女性 9 人、29.4 歳 $\pm$ 9.1 歳）と、ホームページで公募した健常ボランティア 17 名（男性 9 人、女性 8 人、26.9 歳 $\pm$ 2.8 歳）とした。下顎前突患者は適格基準を 20 歳以上の患者 外科的矯正治療法の適応について文書による同意が得られている患者 ANB 角が  $0^\circ$  以下、あるいは Wits appraisal が  $-5\text{mm}$  以下の下顎前突患者とし、健常者群は 20 歳以上で矯正歯科ホームページを通して応募してきた協力の同意を得られたものとし、倫理審査委員会承認された UMIN-CTR 登録済の本実験を実施した。

課題運動：最大かみしめ咬合力を 100%MVC (maximum voluntary clenching) とした時の 30%MVC の咬合力を、ウレタンブロックを臼歯部に設置した状態で、一定時間（5 分間）維持させた。課題運動前後には安静期間（前に 1 セット、後に 4 セット設定する）を確保した（図 3）。



筋機能 MRI：実験的咬みしめにもとない咀嚼筋内で起こっている変化を T2 値で解析し、筋肉のエネルギー代謝や生理・生化学的变化を評価に加え、筋疲労診断を確立することが可能かどうかを探る目的で一連の研究を行なった。1.5T の MRI 装置 (Intera Achieva, フィリップス社製) を用いて、被験者の咀嚼筋の安静時およびクレンチング後の T2 値を経時的に計測可視化し定量を行った。TE を変化させ T2 値を算出し T2map を作成した（図 4）。



MR スペクトロスコピー (MRS) : MRS は、生体内の化合物の非侵襲的測定を可能にしたことにより、生理的環境を維持した状態で代謝変化を測定できるため、ヒト骨格筋代謝の研究を飛躍的に発展させる主要な役割を果たしてきた。最大の利点の1つは、細胞内にフリーに存在する物質、つまり、生化学反応に直接関与する物質の濃度を算出できることであり、本研究における疲労した咀嚼筋組織内のリン酸化合物にあたる。

分子イメージングによるリン酸化合物の定量化と可視化：筋肉の  $^{31}\text{P}$ -MRS では、その組織に含まれるクレアチンリン酸、無機リン酸、および ATP を構成する3つのリン原子などが測定対象となる。それぞれのリン原子が吸収・放出する電波の周波数が  $10^6$  程度異なる。その周波数の差が化学シフトと呼ばれ、Hz の単位あるいは ppm で表示される。

この化学シフトによって、生きた筋細胞内の ATP、クレアチンリン酸、無機リン酸が区別され、それぞれの信号強度から相対的な濃度が定量できる (図5)。

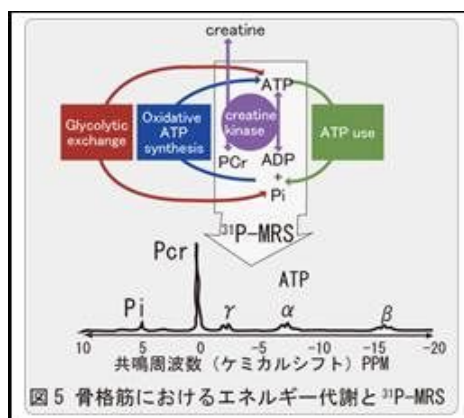


図5 骨格筋におけるエネルギー代謝と  $^{31}\text{P}$ -MRS

$^{31}\text{P}$ -MRS は、骨格筋のリン酸エネルギー代謝評価に用いられる。スペクトルの各ピークの化学シフトは分子の種類を表し、また、ピークの面積はその存在量を反映している。図5には PCr と Pi のケミカルシフトを利用した筋細胞内 pH 推定式が示されている (Taylor DJ et al. Mol Biol Med. 1983;1(1):77-94)

筋電図における咬みしめにおいても筋機能 MRI および  $^{31}\text{P}$ -MRS によって得られたデータとの比較のため安静5分間 最大咬みしめの30%相当の咬みしめ持続5分間 安静5分間 安静5分間 安静5分間のスケジュールを通して、筋電図測定を行い、周波数中央値ならびに周波数積分値 (IEMG) を評価する。

#### 4. 研究成果

結果1 図6に健常者3名の実験的咬みしめ前後の外側翼突筋 T2 時間推移を示す。mfMRI に関しては外側翼突筋などの深部筋活動であっても、高い空間分解能を有する特性のため非侵襲的に定量評価が可能であり、外側翼突筋上頭の T2 時間は比較的高値を示す結果であった。

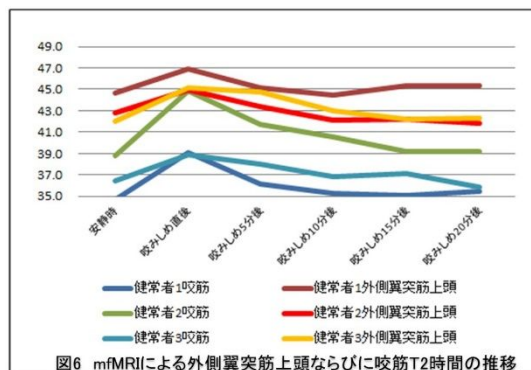


図6 mfMRIによる外側翼突筋上頭ならびに咬筋T2時間の推移

結果2 外側翼突筋上頭対象の  $^{31}\text{P}$ -MRS に関して、直径 10cm 小型コイルでは深度に対する感度能力の不足が考慮されたため、信号収集用リンコイル (直径 17cm) を用いて、外側翼突筋上頭領域に興味領域設定が逸脱することが無いよう最大限配慮しながら位置づけし試験的信号取得を行ったが、外側翼突筋上頭を対象筋とした  $^{31}\text{P}$ -MRS によるクレアチンリン酸 (PCr) 信号強度、無機リン (Pi) 信号取得は困難との結論に至った

下肢で既に報告されている運動前後の筋機能 MRI で取得可能な T2 値変化ではあるが、咀嚼筋全般では未確認であり、断面積の比較的小さい咀嚼筋活動の指標となりうるかについては検討の余地がある。骨格筋活動評価のゴールドスタンダードである筋電図法による測定結果との関連については、四肢の筋で相関の報告があるのに対して、咀嚼筋については十分な検証されていないため、実験的咬みしめに伴う T2 値延長と筋電図測定値との関係の検証と検討を進めることとした。

結果3 実験的咬みしめ前後の患者群、健常者群咬筋・側頭筋の T2 時間推移について咬みしめ直後、両群とも T2 時間の延長を示し、健常者群に比べ患者群の T2 値の大きな延長が認められた。健常者では咬筋、側頭筋が同程度の延長量であったのに対し、患者群では側頭筋が大きく延長する結果が得られた。(図7)。

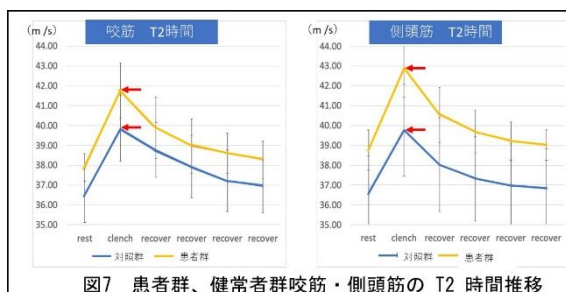


図7 患者群、健常者群咬筋・側頭筋の T2 時間推移

#### 結果 4

図 8 に患者群、健常者群咬筋・側頭筋の周波数積分値推移を示す。

咬みしめ前後、両群とも一過性の増加を示した。また健常者群に比べ患者群の咬筋の IEMG の増加量は小さな値であった

また、健常者では咬筋、側頭筋が同程度の活動量、増加量であったのに対し、患者群では側頭筋に対して咬筋の活動量が小さいという結果が得られた。

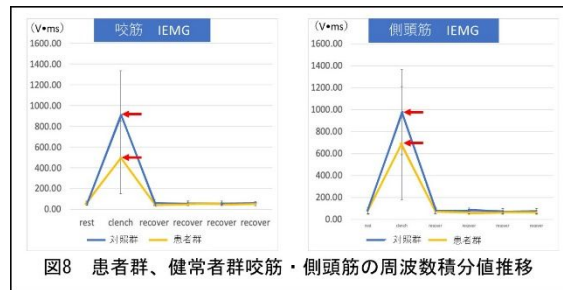


図8 患者群、健常者群咬筋・側頭筋の周波数積分値推移

#### 考察

健常者群においては咬筋、側頭筋の筋活動増加量、T2 時間延長量が同程度であり、咬合力発現時の咬筋、側頭筋のバランスが取れていることが考えられた。患者群においては咬筋、側頭筋の筋活動増加量、T2 時間延長量は側頭筋の方が大きく、咬合力発現時に側頭筋の方が優位であると考えられた(図 9)。



図9 患者群咬筋・側頭筋の周波数積分値ならびにT2時間推移

健常者群に比べて、患者群は増加する筋活動量が小さいにも関わらず T2 値の延長は大きく、同程度の作業量であれば患者群のほうが疲労しやすい状態である可能性が示唆された。

#### 結論

EMG における IEMG、mfMRI における T2 時間、これら 2 つのパラメータは咀嚼筋疲労診断基準の確立に有用であると考えられるが、さらなる資料の収集・検討が必要であると考えられた。

#### 参考文献

1. Ariji Y, Sakuma S, Izumi M, Sasaki J, Kurita K, Ogi N, et al. Ultrasonographic features of the masseter muscle in female patients with temporomandibular disorder associated with myofascial pain. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology. 2004;98(3):337-41.
2. Nagayama, K., et al. (2010). "Clinical significance of magnetization transfer contrast imaging for edematous changes in masticatory muscle." J Comput Assist Tomogr 34(2): 233-241.
3. Kitagawa Y, Hashimoto K, Shioda S. Histochemical Study of the Masseter Muscle in Patients with Maxillofacial Deformity 1st report : Analysis of Female Cases The Japanese Journal of Jaw Deformities. 1991;1(1).
4. Ogasawara T, Ishii Y, Yamamoto S, Yamada T, Iwasa M, Hayashi K, et al. Isotonic and Isometric EMG Analysis of Jaw Closing Muscles Activity in Patients with Mandibular Prognathism Journal of The Japanese Stomatological Society 1999;48(1):54-9.
5. Fleckenstein J, Canby R, Parkey R, Peshock R. Acute effects of exercise on MR imaging of skeletal muscle in normal volunteers. Am J Roentgenol. 1988;151(2):231-7.
6. Akima H, Takahashi H, Kuno S-y, Katsuta S. Coactivation pattern in human quadriceps during isokinetic knee-extension by muscle functional MRI. European Journal of Applied Physiology. 2004;91(1):7-14.
7. Kemp G.J., et al. Quantification of skeletal muscle mitochondrial function by 31P magnetic resonance spectroscopy techniques: a quantitative review. Acta Physiologica. 2014.
8. Taylor DJ, Bore PJ, Styles P, Gadian DG, Radda GK. Bioenergetics of intact human muscle. A 31P nuclear magnetic resonance study. Molecular biology & medicine. 1983;1(1):77-94.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Toshihiro Shimokawa, Toru Kitahara, Masahiro Arakawa, Hiroto Hyakutake, Kenji Yuasa, Ichiro Takahashi
2. 発表標題 Molecular imaging of masticatory muscle fatigue with skeletal class III Patients by mf-MRI and EMG
3. 学会等名 The 9th International Orthodontic Congress ( 国際学会 )
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 荒川雅弘、北原亨、飯久保正弘、湯浅賢治、高橋一郎
2. 発表標題 下顎前突症患者における筋機能MRIおよび31P-MRSを用いた咬筋疲労の分子イメージング
3. 学会等名 日本顎変形症学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 荒川 雅博, 北原 亨, 飯久保正弘, 湯浅賢治, 高橋 一郎
2. 発表標題 下顎前突症患者における筋機能MRIおよび31P-MRSを用いた咀嚼筋疲労の分子イメージング
3. 学会等名 九州矯正歯科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 荒川 雅博, 北原 亨, 飯久保正弘, 湯浅賢治, 高橋 一郎
2. 発表標題 下顎前突症患者における筋機能MRIおよび31P-MRSを用いた咀嚼筋疲労の分子イメージング
3. 学会等名 日本矯正歯科学会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	飯久保 正弘  (likubo Masahiro)  (80302157)	東北大学・歯学研究科・教授   (11301)	
研究分担者	湯浅 賢治  (Yuasa Kenji)  (40136510)	福岡歯科大学・口腔歯学部・客員教授   (37114)	
研究分担者	高橋 一郎  (Takahashi Ichiro)  (70241643)	九州大学・歯学研究院・教授   (17102)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------