

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月4日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010～2011

課題番号：22659361

研究課題名（和文） 除神経嚥下筋におけるエネルギー代謝と筋病理学的解析

研究課題名（英文） Energy metabolism and muscle pathology in denervated swallowing muscles

研究代表者

北川 善政 (KITAGAWA YOSHIMASA)

北海道大学・大学院歯学研究科・教授

研究者番号：00224957

研究成果の概要（和文）：嚥下機構はきわめて複雑で、嚥下筋の筋病理学的変化については不明な点が多い。本研究ではヒト咀嚼筋、嚥下筋の筋繊維構成を調べた。また幼弱ウサギを使用して Soft Diet 実験、交感神経切除実験を行った。ヒトオトガイ舌筋ではタイプ 2B 線維は認められなかった。咀嚼筋は食性や顎運動様式に順応した組織化学的特徴を有している。Soft Diet により筋線維タイプの転換が観察された。交感神経切除実験では、筋線維の分化、エネルギー代謝には交感神経が調節していることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：Swallowing mechanism are very complicated and muscle pathology of the swallowing muscles has yet to be clarified. Histochemical characteristics of the human masticatory muscles and swallowing muscles were investigated in this study. Experimental studies of soft diet and sympathectomy using young rabbits were also performed. Human masseter muscle and swallowing muscle showed unique histochemical characteristics reflecting highly differentiated masticatory and swallowing function. The soft diet experiment showed transformation of the muscle fiber types. Sympathectomy experiment suggested that sympathetic nerve modulates differentiation and metabolism of the muscle fibers.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,800,000	0	1,800,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,900,000	330,000	3,230,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系歯学

キーワード：筋線維タイプ、咀嚼筋、MRS、ATPase

1. 研究開始当初の背景

(1) 嚥下機構はきわめて複雑で、口腔期の咀嚼運動、咽頭期における知覚神経系、脳幹の嚥下中枢、嚥下関与筋が巧妙なタイ

ミングできわめて協調的に機能することで成り立っている。

(2) 嚥下障害や誤嚥のメカニズム、嚥下筋の筋病理学的変化については不明な点が多

- い。
- (3) 研究代表者の北川は現在まで一貫して咀嚼筋に興味を持ちあらゆる角度から研究を行ってきた。
 - (4) この咀嚼筋研究手法を嚙下筋に応用し、筋病理学的、生理学的に取り組みたいと考えている。
- ### 2. 研究の目的
- (1) 本研究では、片側迷走神経咽頭枝切除により嚙下障害動物モデルを作製する。
 - (2) 顎関節構造および筋線維構成がヒトと類似したウサギを用い、成長期粉末飼料 (soft food) 咀嚼が咬筋および内・外側翼突筋の組織化学的特徴に及ぼす影響について検討する。
 - (3) 交感神経切除実験を行い、交感神経が筋繊維分化、代謝に及ぼす影響を検索する。
 - (4) 手術材料を用いヒト嚙下関与筋の組織化学的特徴を調べる。
 - (5) 臨床では嚙下障害症例の咀嚼筋および嚙下筋の筋電図、下顎張反射を解析する。
 - (6) 咀嚼筋、嚙下関与筋の MR スペクトロスコピー (MRS) によるエネルギー代謝解析の知見と併せて、嚙下障害の筋病理学的エビデンスを確立することを目的とする。
 - (7) 嚙下機構や病態の解明にせまる一助をしたい。
- ### 3. 研究の方法
- (1) 動物実験：成犬を用い正常嚙下関与筋のマクロ解剖を理解する。各筋について筋線維構成を詳細に調べる。成犬の片側迷走神経咽頭枝切除により嚙下障害モデル動物を作成。同様に筋病理学的検討を行い、dystrophin 解析、電顕で除神経後の変化を調べる。
 - (2) Soft diet 実験：雄性ウサギ (日本白色種) 10 匹で、離乳期 3 週齢より粉末飼料飼育の実験群 5 匹 (soft diet)、固形飼料飼育の対照群 5 匹 (control) とした。24 週齢で、咬筋、内側翼突筋中央部、外側翼突筋上下頭より筋肉を採取、凍結連続切片を作製した。ATPase, NADH-TR 染色により、筋線維をタイプ 1, 2A, 2B, 2C に分類、各筋のタイプ 1 面積率、タイプ別構成比率、筋線維直径を測定した。
 - (3) 交感神経切除実験：雄性ウサギ 10 匹で、離乳期 3 週齢頸部交感神経を切除した実験群 5 匹 (sympathectomy) と対照群 5 匹 (control) とした。24 週齢で、咬筋を採取、凍結連続切片を作製した。
 - (4) 手術材料を用い筋生検：咀嚼筋、舌骨上筋群、軟口蓋筋群 (口蓋帆挙筋、口蓋帆張筋)、咽頭筋群 (上咽頭収縮筋、中咽頭収縮筋、輪状咽頭筋、甲状咽頭筋)、舌骨下筋群 (甲状舌骨筋、肩甲舌骨筋) の筋生検 (5mm X 5mm) を施行。
 - (5) 組織化学的染色：直ちに液体窒素イソペ

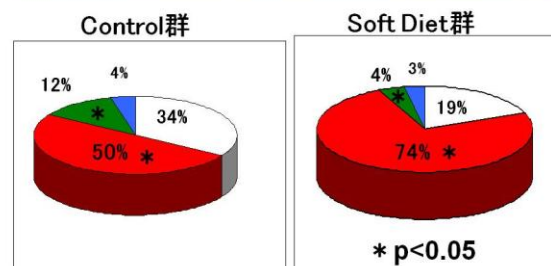
ンタンで急速凍結し-80°C以下で保存する。凍結連続切片を作製し、actomyosin ATPase, NADH-TR, Gomori-trichrome, HE 染色を施行。ATPase 染色に基づき筋線維をタイプ 1, 2A, 2B, 2C に分類する。各筋線維の比率、直径を算出する。

- (6) 免疫組織化学的研究：ABC 法で Neonatal MHC、 α -cardiac MHC 筋線維を分類する。
- (7) 1P MR スペクトロスコピー (MRS) によるエネルギー代謝解析：シーメンス社製 1.5T MRI/MRS システムを使用し、Pcr、Pi、ATP (α 、 β 、 γ) のピーク吸収域を測定。PCr/ β -ATP および PCr/Pi を計算する。

4. 研究成果

- (1) 雄性ウサギ咬筋および内側翼突筋は類似した組織化学的特徴を有していた。
- (2) Soft Diet により咬筋や内側翼突筋では、下記のような筋線維タイプの転換が観察された。
- (3) タイプ 2B \rightarrow 2A (強い力を必要としない) 同時にタイプ 1 \rightarrow 2A (持続運動を必要としない) Simultaneous 2-way Conversion を示した。

咬筋深層の筋線維タイプ分布 (数の比率)

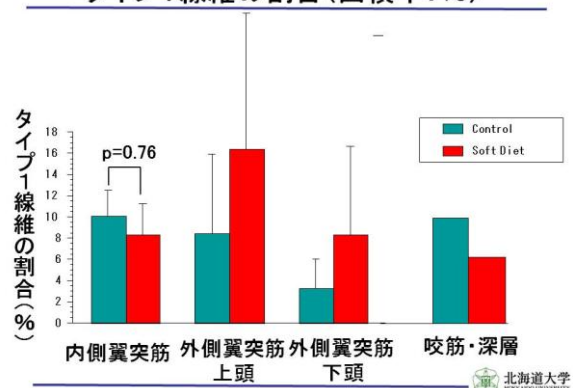


□ タイプ 1 ■ タイプ 2A ■ タイプ 2B ■ タイプ 2C

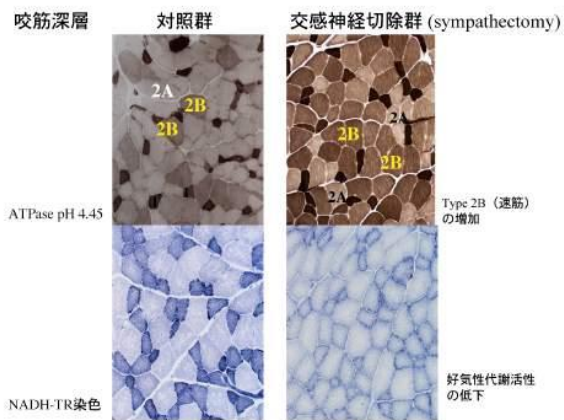
北海道大学
HOKKAIDO UNIVERSITY

- (4) soft diet 群では control 群に比較してタイプ 1 およびタイプ 2B 面積率が低下する傾向を示した。

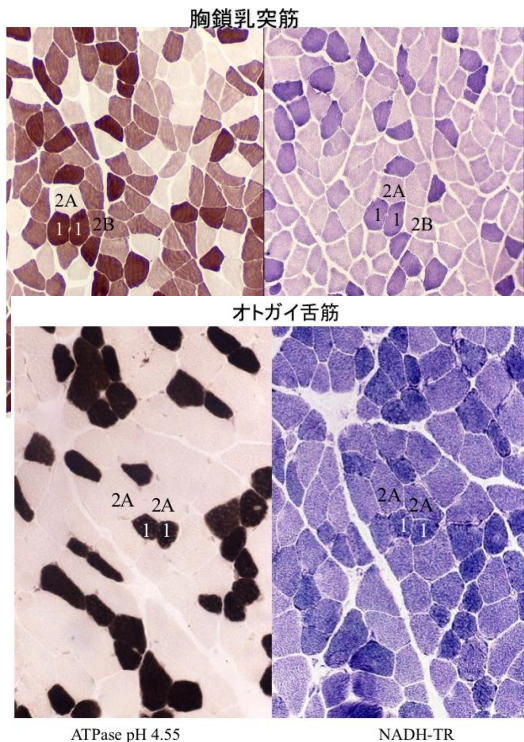
タイプ 1 線維の割合 (面積率: %)



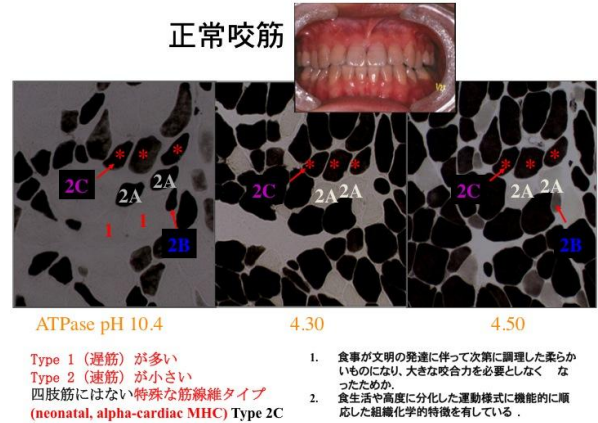
- (5) これに対して soft diet 群の外側翼突筋の上頭では、control 群に比較してタイプ 1 が増加してタイプ 2A が減少する傾向を示した。下頭でも soft diet 群では control 群に比較してタイプ 2A が有意に ($p < 0.05$) 減少してタイプ 1 が増加する傾向が認められた。
- (6) 外側翼突筋の上頭は Static、下頭は Phasic な機能を有していた。Soft Diet によりタイプ 2A → 1 への転換がみられ Jaw closer と逆の結果であった。
- (7) 交感神経切除実験では、壊死、再生線維などヒト顎変形症や筋ジストロフィーと似たような異常所見がみられ、筋線維の分化、エネルギー代謝には交感神経が調節していることが示唆された。



- (8) ヒト胸鎖乳突筋は四肢筋と似た構造でタイプ 1、2A、2B の 3 種類の筋線維がモザイク状に配列していた。

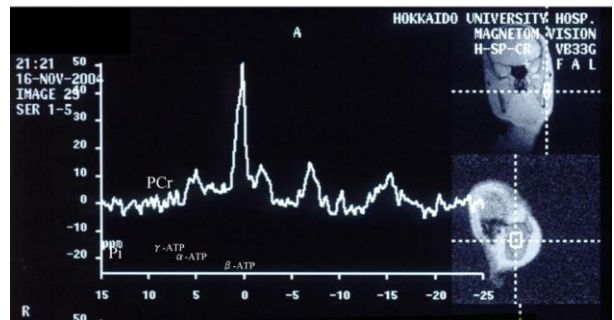


- (9) オトガイ舌筋ではタイプ 2B 線維は認められなかった。
- (10) ヒト咬筋には胎児型 (type2C)、心筋型 (α -cardiac MHC) ミオシンアイソフォーム MHC が存在し、Type 1 (遅筋) が多く、Type 2 (速筋) が極端に小さい事を報告してきた。咀嚼筋は食性や高度に分化した顎運動様式に機能的に順応した組織化学的特徴を有していることが示唆された。



- (11) ^{31}P MR スペクトロスコピー (MRS) は、非侵襲的に筋線維内の高エネルギーリン酸化合物の代謝を解析できる優れた方法である。本研究により嚥下筋のエネルギー代謝情報が得られ、病態解明に寄与すること大と考える。

^{31}P -MRS



5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

- ① Kitagawa Y, Sato J, Kuriyama M, Sano K, Hashimoto K: Ring fibers visualized by electron microscopy in a Japanese patient with malignant hyperthermia. Odontology 査読有 99(1):101-4, 2011.
<http://www.springerlink.com/content/1618-1247/99/1/>

- ② 北森正吾、鄭 漢忠、原橋綾子、山崎 裕、北川善政：交合挙上副子を用いた咬合挙上が咽頭期嚥下運動に及ぼす影響について. 北海道歯学雑誌、査読有、31(2)：96-105, 2010.
<http://eprints.lib.hokudai.ac.jp/dspace/handle/2115/45766>

〔学会発表〕(計2件)

- ① 北川善政：矯正歯科領域で知っておくべき筋の基礎知識を整理しよう. 第38回日本臨床矯正歯科医会札幌大会、2011年2月10日、(札幌コンベンションセンター、札幌)
- ② 佐藤 淳、小笠原利行、佐野和生、北川善政：成長期の soft diet がウサギの咬筋および内・外側翼突筋におよぼす影響について. 第23回日本顎関節学会学術大会、2010年7月24日、(タワーホール船堀、東京)
- ③ 北森正吾：咬合挙上が咽頭期嚥下運動に及ぼす影響について. 平成22年度北海道歯学会秋期学術大会、2010年11月19日、(北海道大学歯学部講堂、札幌)
- ④ 北森正吾、鄭漢忠、原橋綾子、山崎裕、北川善政：咬合挙上副子を用いた咬合挙上が咽頭期嚥下運動に及ぼす影響について. 日本摂食・嚥下リハビリテーション学会、2010年9月3日、(朱鷺メッセ、新潟)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.den.hokudai.ac.jp/kougel/oralsurg1.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

北川 善政 (KITAGAWA YOSHIMASA)
北海道大学・大学院歯学研究科・教授
研究者番号：00224957

(2) 研究分担者

井上 農夫男 (INOUE NOBUO)
北海道大学・大学院歯学研究科・特任教授
研究者番号：20091415
山崎 裕 (YAMAZAKI YUTAKA)
北海道大学・北海道大学病院・講師
研究者番号：90250464