原 著 論 文

咀嚼運動における咬筋のエネルギー代謝

馬場 俊輔

Energy Metabolism of the Rat Masseter Muscle on Masticatory Movements

Shunsuke Baba

Abstract : Energy metabolic events on skeletal muscle fatigue have been reported using ^{31}P magnetic resonance spectroscopy (^{31}P -MRS). In this study the degree of rat masticatory movements during feeding was determined by the signal intensity of a force transducer. The biting force of anesthetized rat caused by electrical stimulation was measured with a original biting force meter, and also the changes of levels of phosphocreatine (PCr), inorganic phosphate (Pi) and intracellular pH (pHi) in the masseter muscle during masticatory movements were observed using in vivo ^{31}P -MRS.

The results obtained were as follows :

1. There was a linear relationship between the biting force and the signal intensity in a biting force range of 0 to 90 g. The highest frequencies of occurrence in masticatory force and cycle during feeding were 40 g and 5 Hz respectively, and the maximum masticatory time was 32 min.
2. ^{31}P -MRS measurements were carried under the conditions of the electrical stimulation for 32 min and the various masticatory forces-cycles. PCr/Pi ratios during the stimulation increased significantly under the conditions of 40 g -7 Hz, 90 g -3, 5, 7 Hzs, and pHi value during the stimulation changed significantly under the condition of 90 g -7 Hz. Both of them recovered after the stimulation.

These findings may suggest that the energy metabolism in the rat masseter muscle contraction is performed mainly under aerobic circumstance, and relate to masticatory force and cycle.

Key words : ^{31}P -MRS, energy metabolism, masticatory movements, rat masseter muscle

I. 緒 言

咀嚼運動にとって共通の基本的特徴は反復するリズムミカルな運動であり、咀嚼リズムの形成メカニズムは中枢神経系に内在するリズム発生器によって形成されることが知られている¹⁻⁵⁾。一方で、末梢の感覚情報がどのように運動調節に関与しているかを咀嚼システムにおける神経筋機構の本質的な問題として研究されてきた⁶⁻¹⁰⁾。そのなかで、咬筋は各動物特有の食性や咀嚼運動様式に機能的に順応していることが酵素組織化学的な研究¹¹⁾からわかっており、また、咀嚼中の筋電位を埋込電極によって導出した研究から、食物の性状に即して鋭敏に咀嚼サイクルや筋放電時間が変化する¹²⁾ことが報告されている。さらに、河野ら¹³⁾は咬筋の ATPase activity に対する pH の影響から虚血時に観察される咬筋収縮張力の減少を説明している。しかしながら、筋電図による研究では咀嚼運動と咬筋のエネルギー代謝状態との関係を把握できず、また組織化学的な研究では摘出咬筋を用い、経時的な観察は不可能である。そこで本研究では *in vivo* かつ *in situ* で、咀嚼運動に伴うラット咬筋のエネルギー代謝状態を ³¹P-Magnetic Resonance Spectroscopy (以下、³¹P-MRS と略す) で観察した。³¹P-MRS 測定は麻酔条件下で行うため、まず覚醒条件下で咀嚼時の咬筋の歪み信号から咀嚼時間と咀嚼頻度を記録し、さらにその歪み信号強度と咬合圧との関係を求めた。次に得られた咀嚼時間、咀嚼頻度および咬合圧で咀嚼様運動負荷条件を設定し、麻酔下ラットに咬筋電気刺激によるリズムミカルな咀嚼様下顎運動を負荷した。このような運動負荷におけるエネルギー代謝状態を ³¹P-MRS で観察することによって、咀嚼サイクルや咬合圧の違いが、咬筋のエネルギー代謝状態および細胞内 pH (以下、pHi と略す) に与える影響と、咀嚼リズム形成への関与について検討した。

II. 材料と方法

1. 材 料

実験動物として、ラット雄、wistar 系、体重 470～520 g を用いた。咀嚼飼料にはオリエンタル酵母工業社製 MF を用いた。麻酔は sodium pentobarbital (50 mg/kg、腹腔内投与) で行った。

2. 方 法

1) 咀嚼運動時の咬筋歪みの記録

咀嚼運動の記録は、咬合圧センサから得られる一時的でしかも爆発的な信号ではなく、リズムミカルな咬筋の収縮によって得られる咬合圧を観察しなければならぬため、ラット 3 匹を用いて咬筋にフォーストランスデューサ (スターメディカル F-041 S)¹⁴⁾ を縫着し、咀嚼中の咬筋の歪み信号を咀嚼運動として記録した。このフォーストランスデューサはベリリウム銅の基板にストレインゲージを接着しシリコンで被包したものである。フォーストランスデューサの縫着のため麻酔下ラットの左側の下顎枝後縁から咬筋相当部を剃毛後、外耳道下部から下顎角後縁を経て下顎角下縁まで切開し、さらに下顎下縁に平行に前方に約 15 mm 切開を加え、筋肉およびその他周囲組織に損傷を与えないように皮膚と筋膜を反転して咬筋を露出させた。フォーストランスデューサを咬筋中央部で浅層前部と後部との境界面に、筋腹深部まで絹糸で縫着した。術後は感染防止のためペニシリン G (2,000 単位/kg) を 6 日間連続で筋肉内注射した。フォーストランスデューサのリード線はラットの咀嚼運動を可及的に束縛しないように皮膚下に埋覆させ頸部上方から導出した。そこからさらにリード線を保護するとともにラットの運動を阻害しないように、実験用ケージの上端に固定したテンションワイヤの中に通し input box (日本光電 JP-610 G) に接続した。信号は歪みアンプ (日本光電 AVP-11) を用いて増幅した後、磁気テープ (TEAC R-81) に記録した。

2) 咀嚼様運動負荷条件の設定

(1) 一連の咀嚼時間

フォーストランスデューサ縫着後、7 日目に皮膚縫合部の治癒を確認してから 24 時間、摂水のみで飼料を与えず十分空腹状態にしてから咀嚼させた。一連の咀嚼行動¹⁵⁾が終わると、再度摂水のみで 24 時間絶食させ、これを 3 回繰り返した。咬筋の歪み信号記録は各ラットについて一連の咀嚼行動中連続して行い、咀嚼時間も測定した。

(2) 咀嚼サイクル

磁気記録した咀嚼運動時の咬筋歪み信号から咀嚼サイクルを算出するために周波数分析を行った。サンプリング周波数を 100 Hz とし、ウィンド関数には Hamming を用いた。パワースペクトルは FFT アルゴリズムによって求め、使用したパラメータは平均周波数 (Mean Power Frequency 以下、MPF と略す)

図 1 咬合圧センサの仕様

図 2 咬合圧センサ
荷重—出力特性

で、周波数帯域を 2~12 Hz とした。各ラットにおけるすべての咀嚼行動からそれぞれ任意の 16 秒間ずつ 4 区間、計 96 秒間ずつ解析した。

(3) 咬筋歪み信号から咬合圧への換算

覚醒時の咀嚼時の歪み信号を記録した後、フォーストランスデューサを縫着した状態で麻酔の後、固定台に固定し、上下切歯間に図 1 に示す咬合圧センサを挿入した。このセンサは市販の圧センサ（共和電業 PS-10 KA）の下面に硬質ゴムを取り付け、さらに真鍮製の受圧面を設けることによって、荷重方向がセンサに対して垂直でなくても、図 2 に示すように荷重と出

図 3 歪み原波形

図 4 測定系の模式図

力の関係に直線性が得られるようにした自作のものである。

電気刺激のために左側咬筋相当部の皮膚を剃毛後、咬筋中央部で筋線維走行に平行に電極間距離 20 mm のカーボン製の棒状表面電極（直径 4 mm、長さ 10 cm）を貼付した。刺激は電気刺激装置（ダイヤモンド DPS-160）を用いて、持続時間 1 ms で閾値から順次上げた。この時の、咬筋歪み信号と咬合圧センサからの出力を同時記録して、有意に相関している範囲を検討し、咬筋歪み信号から咬合圧への換算を試みた。

その際、咀嚼運動時の咬筋歪み信号から、できるだけ咀嚼運動だけに関与している信号を解析するために、シグナルプロセッサ（日本電気三栄 7 T 18 A）を用いて図 3 に示す咬筋歪みの原波形から移動平均法を用いて 5 項移動平均を 2 回繰り返す、データの平滑化¹⁰⁾を行い、さらに解析に影響を及ぼさない範囲で全試行中の最大歪み強度の 1/50 以下のデータを除去した。移動平均によって残った歪み信号の振幅が歪められないように補正を加え、原波形の振幅とした。さらに、方法 2)、(2) から得られた MPF $\pm$ 2 SD の周波数成分のみを解析の対象として、歪み信号強度とその頻度を、各ラットにおける 3 回の咀嚼行動から任意の 5 分間より求めた後、歪み信号強度に、咬合圧との同時記録から得られた関係式を適用し、全試行について咬合圧とその頻度分布を求めた。

3) ^{31}P -MRS 測定

麻酔下で、Nuclear Magnetic Resonance (以下、NMR と略す) 測定用テフロン製ラット固定台に固定し、図 4 に示すように左側咬筋に電気刺激用カーボン製表面電極を貼付した。また NMR 測定用に図 4 のようにサーフェスコイル (直径 10 mm) を用いた。測定部位は咬筋中央部とした。刺激強度は、咬合圧センサを用いて、ペンレコーダ (日本電気三栄 RT 2108) で記録しながら、方法 2), (3) により求めた最多頻度の咬合圧と信頼できる最大咬合圧が、麻酔下のラットで得られる刺激電圧に調整した。なお NMR 測定時には咬合圧センサを脱着した。刺激時間は方法 2), (1) で得られた最長咀嚼時間とし、刺激周波数は方法 2), (2) で得られた咀嚼サイクルと +2 Hz および -2 Hz の 3 種類の周波数パターンとした。刺激持続時間は 1 ms で一定とした。刺激強度 2 種類と刺激周波数 3 種類の組合せから 6 種類の刺激条件として、

それぞれにラット 6 匹を用いた。

NMR 測定装置は横型超伝導磁石 NMR (GE CSI-II, 4.7 テスラ) で、測定条件は、パルス幅 20 μs 、パルス間隔 2 s、加算回数 100 回とした。測定は刺激前、刺激中および刺激後に 4 分ごとに経時的に行った (図 5)。

咬筋のエネルギー状態はクレアチンリン酸 (以下、PCr と略す) と無機リン酸 (以下、Pi と略す) の共鳴線の面積と化学シフト値で解析した。PCr と Pi の組織中の濃度は、NMR スペクトルのおおの共鳴線の面積に比例するので、エネルギー状態の指標として PCr と Pi の面積比 (以下、PCr/Pi 比と略す) を求めた。pHi は、Pi ピークと PCr ピークの化学シフト値 (σ) から、次の式によって計算した。

$$\text{pHi} = 6.75 + \log \{ (\sigma - 3.27) / (5.69 - \sigma) \}^{17}$$

PCr/Pi 比と pHi は、それぞれ時間経過で得られたため、時間要素による一元配置分散分析を用いて、それぞれの刺激時間中に経過時間が PCr/Pi 比と pHi の変化にどのように関係しているかを検討した。

III. 結 果

1. 咀嚼様運動負荷条件の設定

1) 一連の咀嚼時間からの咬筋電気刺激時間の決定
咀嚼が 5 分以上の一連の咀嚼行動の回数は延べ 36 回、咀嚼時間の平均は 19 分 25 秒、最短咀嚼時間は 9 分 8 秒であった。一連の咀嚼時間の最長は 32 分 5 秒

図 5 NMR プロトコル

図 6 歪み-咬合圧相関図

図 7 咬合圧の分布

であった。そこで咀嚼様運動負荷条件としての刺激時間を、最長咀嚼時間に相応する 32 分とした。

2) 咀嚼サイクルからの咬筋電気刺激周波数の決定
MPF は 5.04 Hz となり、標準偏差は 0.40 であった。この事実から、咀嚼様運動負荷条件としての刺激周波数を MPF を中心として ± 2 Hz、つまり 3, 5 および 7 Hz とした。

3) 咬筋歪み信号から換算した咬合圧による咬筋電気刺激強度の決定

図 6 に、ラット A, B, C における咬筋の歪み信号強度に対する咬合圧をプロットして示した。ラット A では咬合圧 90 g までは相関係数 0.998 ($p < 0.001$) で有意に正の相関を示した。ラット B では咬合圧 180 g までは相関係数 0.994 ($p < 0.001$) で有意に正の相関を示した。ラット C では咬合圧 120 g までは相関係数 0.997 ($p < 0.001$) で有意に正の相関を示した。すなわち 3 例とも 90 g の咬合圧以下では高い相関を示し、有意に相関している範囲では咬筋歪み信号が咬合圧に比例していることがわかった。

咬筋の歪み信号を咬合圧へ換算した全試行の結果を図 7 に示した。最小咬合圧は 8 g で、その後、急激に頻度が増加し 40 g で最多頻度の $6.3 \pm 0.8\%$ を示した。8 g から 40 g の咀嚼頻度は、全咀嚼頻度に対して 38.2% であった。咬合圧が大きくなるにつれ減少傾向を示し、92 g 以上は全咀嚼頻度の 10% にすぎなかった。歪み信号強度と咬合圧の関係から、図 7 に示す咬合圧の分布では 90 g 以上は直線性がなく、信頼性を欠いたものの、92 g 以上は全体の 10% にすぎなかったために 40 g のピーク頻度以上の頻度が 90 g 以

上では存在しないことが示唆された。そこで咀嚼様運動負荷条件としての刺激強度を、40 g を中心とする高頻度帯域の 32~48 g (以下、40 g とする) と、累積 90% を示し信頼できる最大咬合圧の 90 g が得られる刺激強度とした。

2. ^{31}P -MRS による咬筋エネルギー代謝の測定

1) PCr/Pi 比と pH_i の経時的変化

麻酔下ラットに負荷した咀嚼様運動負荷条件は、結果 1. で得られたデータから、刺激時間を 32 分、刺激周波数を 3, 5 および 7 Hz、刺激強度を 40 g と 90 g とした。

40 g-3 Hz, 40 g-5 Hz, 40 g-7 Hz, 90 g-3 Hz, 90 g-5 Hz, および 90 g-7 Hz の刺激条件での ^{31}P -NMR スペクトルをそれぞれ図 8~13 に示した。図 14 にそれぞれの刺激条件における PCr/Pi 比を経時的に示した。また図 15 にそれぞれの刺激条件における pH_i を経時的に示した。

40 g-3 Hz の刺激条件では、図 8, 14 にみられるように PCr/Pi 比は刺激開始後低下し 8 分後 3.18 ± 1.30 まで低下し刺激終了までほとんど変化せず、刺激終了後は回復を示した。また pH_i は図 15 に示すように刺激開始後から低下し始め 8 分で最低値 6.98 ± 0.06 を示した後、刺激終了まで 7.00 ± 0.03 で平衡状態を保ち、刺激終了後 4 分で 7.11 ± 0.07 まで回復した。40 g-5 Hz の刺激条件では、図 9, 14 にみられるように PCr/Pi 比は刺激開始後低下し 8 分で最低値 2.02 ± 0.35 を示した後、わずかに増加し、刺激終了後に 8 分で回復を示した。また pH_i は図 15 に示すよ

図 8 40 g-3 Hz 刺激下での ^{31}P -NMR スペクトル 図 10 40 g-7 Hz 刺激下での ^{31}P -NMR スペクトル 図 9 40 g-5 Hz 刺激下での ^{31}P -NMR スペクトル 図 11 90 g-3 Hz 刺激下での ^{31}P -NMR スペクトル

うに刺激開始後 24 分まで徐々に低下し続け、28 分後と同じ最低値 6.94 ± 0.06 を示し、刺激終了後 8 分で回復した。40 g-7 Hz の刺激条件では、図 10, 14 にみられるように、PCr/Pi 比は刺激開始後 4 分で最低値 1.60 ± 0.55 を示し、その後増加傾向を示し、刺激終了後 8 分で回復した。また pH_i は図 15 に示すように刺激開始後 4 分で 6.97 ± 0.07 まで低下し、さらに

20 分で 6.90 ± 0.13 まで低下した後、増加傾向を示し、刺激終了とともに回復した。90 g-3 Hz の刺激条件では、図 11, 14 にみられるように PCr/Pi 比は刺激開始後 12 分で最低値 1.61 ± 0.51 を示し、その後わずかに増加した後、一定に推移した。刺激終了後 8 分で回復を示した。また pH_i は図 15 に示すように刺激開始後 8 分で最低値 6.89 ± 0.06 を示し、その後増加

図 12 90 g-5 Hz 刺激下での ^{31}P -NMR スペクトル 図 13 90 g-7 Hz 刺激下での ^{31}P -NMR スペクトル

傾向を示した。90 g-5 Hz の刺激条件では、図 12, 14 にみられるように PCr/Pi 比は 12 分で最低値 1.21 ± 0.32 を示し、その後増加傾向を示し、刺激終了後 8 分で回復を示した。また pH_i は図 15 に示すように 12 分で最低値 6.91 ± 0.05 を示し、その後増加傾向を示した。90 g-7 Hz の刺激条件では、図 13, 14 にみられるように PCr/Pi 比は 8 分で最低値 0.75 ± 1.4 を示

図 14 PCr/Pi 比の変化

図 15 p_H_i の変化

した後、増加し刺激終了後8分で回復を示した。またpHiは図15に示すように刺激開始後4分から低下し始め、16分後に最低値 6.81 ± 0.11 まで低下し、その後増加し続け、刺激終了後8分で回復した。

これらPCr/Pi比とpHiの時間経過における一元配置分散分析で、刺激時間の要因で危険率5%で有意な変化を示した刺激中のPCr/Pi比は、40 g-7 Hz、90 g-3 Hz、5 Hzおよび7 Hzの刺激条件の場合であった。一方pHiは、刺激時間の要因で危険率5%で有意な変化を示したのは90 g-7 Hzの刺激条件の場合のみであった。

このことから、咀嚼時の咬筋の平均的運動範囲を超える刺激では経時的に有意に変化することがわかった。

IV. 考 察

1. 咀嚼様運動負荷条件の設定について

³¹P-MRSは覚醒条件下での測定は困難であるため、咀嚼運動時の咬筋エネルギー代謝を測定するには、麻酔条件下でラット咬筋に咀嚼様運動を負荷した状態で³¹P-MRSを測定しなければならない。そこで咀嚼様運動負荷条件として一連の咀嚼時間、咀嚼サイクルおよび咬合圧を考え、これらの条件を覚醒時のラット咬筋に縫着したフォーストランスデューサからの咬筋歪み信号により求めた。しかしながら、フォーストランスデューサを縫着した状態ではアーチファクトの原因となり³¹P-MRSの測定が困難なこと、さらにフォーストランスデューサの縫着部位の違いから歪み信号強度に個体差が生じることより、歪み信号をすべて咬合圧に換算してデータを解析する必要がある。そこで歪み信号強度と咬合圧との関係を求めて高い相関性が得られることを、さらに信頼できない咬合圧が咬合圧頻度構成に影響を及ぼさないことを確認した上で、歪み信号から得た一連の咀嚼時間、咀嚼サイクルおよび咬合圧を咀嚼様運動負荷条件として麻酔下ラットに負荷した。その際の咬合圧は咬合圧センサで確認した。

1) 歪み信号と咬合圧について

ラットの咀嚼に伴う咬合圧の測定は咬合圧計を用いて研究されているが、それらはどれも瞬間的に発揮される咬合圧の測定の報告^{18,19)}であり、リズムカルな咀嚼運動時の咬合圧の報告はない。咬合圧計では、それを咬合して初めて咬合圧を感知するためラットの学習

によって獲得するか、あるいは強制的に使用させるかのいずれかであり、自由咀嚼時の咬合圧の測定は困難である。そこで、本研究ではこれらの問題点を解決するため、咬合圧計の代わりに、主に消化管運動の慢性実験に^{14,20)}に用いられてきた慢性植込型フォーストランスデューサを咬筋に縫着して咀嚼時の咬筋の偏位、すなわち筋の変形状態を測定し、その歪み信号強度を換算して咬合圧を求めた。このフォーストランスデューサの咬筋の収縮に伴う歪み信号強度は咬合圧との間に図6に示すように高い正の相関性をもつ直線が得られ、全咀嚼頻度の90%を占める咬合圧8~90 gは、いずれの例においても十分に直線の範囲内にある一方、勾配には差異がみられる。これは咬筋でのフォーストランスデューサの縫着部位の違いによるものと考えられる。Nordstromら²¹⁾は、開口に伴い咬筋深層前部の筋節長が後部に比べてより増大することを報告し、Weijsら²²⁾は咬筋深層後部に比べ、前部の方が咀嚼の1サイクルにおいて最大筋活動が早期に出現することを報告している。このことから咬筋の部位によって咀嚼サイクルにおける筋活動パターンの違いが、フォーストランスデューサからの出力に影響していると考えられる。筋張力は等尺性収縮における筋活動量に比例する²³⁾ものの筋の歪みが筋張力に比例するという報告はなく、歪みが咬合圧に追従できなくなるのは、等張性から等尺性への移行が進むと筋張力に追従できなくなるからだと考えられる。しかし、今回の咀嚼様運動負荷条件として設定した40 gと90 gの咬合圧はどのラットにおいても直線性が得られている範囲内であり、咀嚼時の咬合圧を得るために、歪みを測定することは両者の高い相関関係が得られる範囲内では有効といえる。

本実験では、歪みと咬合圧を同時測定するため咬合圧センサを上下切歯間に挿入した。したがって、咬合圧をセンサの厚み、すなわち2.5 mmだけ咬合挙上された状態で測定したことになる。張力と筋活動の関係は収縮する筋の長さに関わり²⁴⁾、特に開口量に応じて等尺性張力が変化する²⁵⁾ことが報告されている。これは咬合挙上によってすでに張力が発生することを意味し、Nordstromら²⁵⁾は2.5 mmの開口量で約10 gの張力がかかっていることを示している。したがって、本実験で測定した咬合圧のうち約10 gは咬合挙上によるものと考えられる。

2) 一連の咀嚼時間について

平川ら¹⁵⁾によると一連の咀嚼時間は10数秒から約

10 分であると報告しているが、今回の結果では最長約 32 分であった。これは空腹状態での咀嚼時間を検討するために、24 時間飼料を与えない状態から咀嚼を開始させたことによると思われる。この事実は、本実験で用いた固形飼料では、32 分間の一連の咬筋運動が可能であることを示した。

3) 咀嚼サイクルについて

Thomas ら²⁰⁾は咀嚼時の咬筋筋電図から、飼料の大きさや硬さによって咀嚼リズムは変化するとし、大きいペレット状飼料で 5.3 Hz、小さいペレット状飼料で 4.9 Hz と報告している。同様に咬筋筋電図から平川ら¹⁹⁾、Weijrs ら²²⁾は咀嚼運動のサイクルは約 5.1 から 5.2 Hz とし、本実験の MPF の結果とほぼ同じであった。

4) 咬合圧の分布について

Daunton¹⁹⁾によればラットでの約 700 g の咬合圧は特別な学習がなくても記録できると報告しているが、これは咀嚼時に連続して発揮できる咬合圧とは違い、一瞬の随意に発揮しうる咬合圧であるため本実験の片側咬筋での歪み信号に相応する咬合圧と大きく異なると考えられる。

本実験では咬合圧の発生頻度は 40 g をピークに約 150 g まで観察できたが、ラット A では図 6 に示すように 90 g で歪み信号強度と咬合圧の間に直線性がなくなったために、これ以上の咬合圧の分布に関しては信頼性に欠ける。しかし、この 90 g までの咬合圧が全咀嚼頻度の約 90% を占めており、90 g 以上の咬合圧の頻度が、咀嚼頻度構成に重大な影響を及ぼすとは考えられないために 40 g の咬合圧が最多頻度であると考えられる。

2. ³¹P-MRS

1) 刺激方法

リズムミカルな咀嚼運動の再現は皮質咀嚼野への連続刺激によって得られ、咀嚼運動のモデルとして検討されてきた^{1,2,4)}。しかしながら、このモデルは顎運動からのアプローチであり、咀嚼時の筋収縮に伴う筋疲労を考慮した場合、このモデルで得られる筋疲労は咀嚼時の咬筋エネルギー状態と異なる可能性は否定できない。

つまり筋疲労の発現因子は中枢性疲労要因として筋収縮に関与する中枢神経系の興奮に加えて、筋疲労時に蓄積する NH₃が神経伝達物質の濃度に影響する²⁷⁾ため筋エネルギー状態に変化が起これと考えられてお

り、また末梢性でも神経・筋の興奮伝達などの一連の電気生理的变化が考えられている^{28,29)}。このことから皮質咀嚼野の刺激によって一連の電気生理的变化が生じた場合、咬筋の収縮に伴うエネルギー状態のみを把握できなくなる。

そこで本研究ではこれらの中枢性および神経筋接合部の筋疲労に関わる要因を除去し、可及的に無侵襲的に測定するために咬筋表面からの電気刺激法を用いた。

電極は NMR の強い磁場による影響を受けないように非磁性体のカーボン製とし、かつ刺激部位と NMR 測定用コイルが 3 mm と近接しているため長さ約 10 cm のカーボン棒を用い、刺激用カーボン電極のリード線をコイルから離すようにした。

2) 咬筋のエネルギー代謝状態について

安静時の筋肉には、一定量の ATP と PCr およびグリコーゲンが蓄えられており、

の過程でエネルギーが供給され、この時の分解で生じた Pi が解糖を促進する。有酸素的環境下では解糖系で生じたピルビン酸はラクテートと平衡を保ちつつ TCA 回路に入り、効率よく ATP をつくって PCr の減少を抑制するが、無酸素的環境下では解糖系のみにより ATP を産出するために PCr が減少し、解糖で生じた乳酸が蓄積して pH_i を低下³⁰⁾させ、それによって筋小胞体からの Ca²⁺ 放出低下^{31,32)}やトロポニンに対する結合定数の低下を招き筋収縮力が低下³³⁾し、筋疲労が発現するといわれている。

咬合圧発生頻度分布でのピーク値を示した 40 g の刺激では図 14 に示したように刺激頻度を増加させるとエネルギー貯蔵物質である PCr が減少し、ATP の分解で生じる Pi が増加し PCr/Pi 比は低下するが、筋収縮による血流の減少から有酸素的エネルギー代謝の低下と筋収縮による ATP の消費により PCr は対照より低いほぼ一定レベルで保たれている。90 g 咬合圧の刺激では 40 g に比べて、PCr が減少する。しかも刺激頻度や刺激時間に応じて低下した PCr/Pi 比や pH_i が刺激中に回復を示した。

ラットの後肢を用いた ³¹P-MRS の実験で強縮性収縮運動を与えたときに高い刺激頻度では PCr/Pi 比の低下の後、刺激中にその回復を示し、pH_i も PCr/Pi 比に遅れて回復する³⁴⁾ことが報告されている。また、4 Hz の単収縮でもわずかに回復する³⁵⁾ことが報告さ

れている。本実験においても、PCr/Pi 比が 40 g-7 Hz と 90 g の咬合圧で刺激中に有意に回復を示し、pHi についても 90 g-7 Hz の刺激条件で、最大の低下を示したものの、刺激中に有意に回復を示した。これらの事実は四肢の骨格筋で得られた Rumeur ら³⁴⁾や高田ら³⁵⁾の結果が、咬筋でも得られたことを示している。

刺激開始後の PCr/Pi 比の低下は筋収縮に伴い増加した ATP の消費と血流量の低下による有酸素的 ATP 産生の低下のためであり、また pHi の低下は有酸素的環境下でのラクテートと TCA 回路に供給されるピルビン酸に平衡状態が保てなくなり、無酸素的環境下での解糖反応による乳酸の蓄積増加によると考えられる。一方、刺激中での PCr/Pi 比と pHi の回復については、Dawson ら³⁶⁾のカエルの骨格筋を用いた実験によれば、反復収縮による筋収縮時の張力の減少は、直接のエネルギー源である ATP の濃度の減少と比例せず、また筋収縮時の張力の減少と ATP の消費量の減少との間には比例関係が認められたと報告している。また、Rumeur ら³⁷⁾は、刺激に対して血流が順応した結果として、pH が回復し筋線維が再活性化されて PCr が回復したとし、この回復には筋線維タイプが関係していると報告している。これら事実は刺激による咬筋張力の減少に伴い筋運動量が減少することによって、ATP の消費量が減少し、さらに血流に対する順応の結果として、刺激中での PCr/Pi 比や pHi が回復することを示唆するものである。本実験のすべての刺激条件で PCr/Pi 比、pHi ともに刺激終了時にはほぼ集束する傾向がみられたことは、張力を変化させることによって咬筋のエネルギー状態を一定に保つ機構が働いているとも考えられる。

本実験の刺激条件で得たエネルギー状態を、有酸素的 ATP 産生系の寄与が十分である群 (40 g-3, 5 Hz) と、有酸素的エネルギー供給能力が低下し、無酸素的エネルギー代謝の寄与が増大し、張力維持が困難に陥った群 (90 g-7 Hz) に分けることができ、40 Hz-7 Hz, 90 g-3, 5 Hz はその中間状態といえる。

このことは咀嚼サイクルおよび咬合圧の違いと咬筋のエネルギー状態との間で、咀嚼時の咬筋の平均的運動範囲内では有酸素的環境を維持して活発に ATP を産生していることを示している。逆に有酸素的環境下でのエネルギー状態を維持するために咀嚼時に咀嚼サイクルや咬合圧を微妙に変化させているとも考えられる。

さらに咀嚼運動の獲得にあたり、末梢受容器からの入力を調整することによって 1 回のストロークごとにパターンを変化させている³⁸⁾ことは知られているが、それ以上に咀嚼筋のエネルギー状態を維持するために 1 回のストロークに必要なエネルギー量が咀嚼情報³⁹⁾として獲得されており、それが維持できる範囲で咀嚼サイクルの形成と調節が営まれていることを示唆している。それゆえに末梢からの感覚入力を遮断³⁾しても、中枢に咀嚼情報として獲得したエネルギー状態維持のためのパターンが存在するため、なおリズムカルな下顎運動が可能になり得ると考えられる。

最近の報告⁴⁰⁾によれば顎機能異常患者は咀嚼時の時間経過とともにサイクルタイムの増加がみられることから考えて、筋エネルギー状態が早期に低くなるために、それを維持する上でサイクルタイムの増加を図らねばならないと仮定すると非常に興味深い。

V. 結 論

咀嚼運動が咬筋エネルギー代謝に及ぼす影響を明らかにする目的で、³¹P-MRS を用いてラット咬筋におけるエネルギー代謝の測定を試み、以下の結果を得た。

1. フォーストランスデューサを咬筋に縫着することによって、ある程度の範囲内で咬合圧と咬筋の歪みに相関関係が認められ、咀嚼運動解析に十分応用できることが明らかになった。
2. 一連の咀嚼時間の最長は 32 分 5 秒で、平均 19 分 25 秒だった。
3. 咀嚼サイクルは 5.04 ± 0.40 Hz だった。
4. 咬合圧分布は 40 g をピークに徐々に低下し、90 g では累積 90% を示した。
5. 以上の咀嚼時における平均的咬筋運動範囲の結果をもとに、咀嚼様運動負荷条件を 40 g と 90 g の咬合圧が得られる刺激強度にし、刺激頻度を 3, 5 および 7 Hz にし、刺激時間を 32 分にすることで、³¹P-MRS を用いて咀嚼運動状態付近の咬筋エネルギー状態を測定できることがわかった。
6. ³¹P-MRS の結果を刺激時間の要因で一元配置分散分析した結果、PCr/Pi 比は 40 g-7 Hz, 90 g-3, 5 および 7 Hz で有意に変化し、pHi は 90 g-7 Hz で有意に変化した。

7. PCr/Pi 比は刺激終了時にはすべての刺激条件で 2.6~3.4 に、pHi は 6.94~7.01 に集束する傾向が

みられた。

8. 以上の結果から、咀嚼運動状態付近の咬筋運動範囲の中でも、エネルギー状態に違いがあり、平均的咀嚼運動であれば有酸素的エネルギー供給能力の範囲内であることが明らかとなり、この結果は咬筋から顎機能状態を探る上で、有用な指標のひとつになり得ると考える。

稿を終えるにあたり、終始ご懇篤なるご指導とご校閲を賜った川添堯彬教授に深甚なる感謝の意を表します。

また、本研究を進めるにあたり貴重なご助言、ご協力をいただいた明治鍼灸大学生理学教室西川弘恭教授に厚くお礼申し上げます。

さらに、種々ご教示をいただいた大阪歯科大学歯科補綴学第2講座田中昌博講師をはじめ、何かとご協力いただいた教室員ならびに明治鍼灸大学メディカルMRセンター員各位に深謝いたします。

本論文の一部は 12th International Conference on Oral Biology (1992 年 7 月 6 日, エジンバラ)、日本 ME 学会専門別研究会第 42 回顎口腔機能研究会 (1992 年 10 月 16 日, 北九州) ならびに第 20 回日本磁気共鳴医学会大会 (1992 年 10 月 29 日, 札幌) において発表し、要旨は、第 420 回大阪歯科学会例会 (1992 年 12 月 12 日, 大阪) において発表した。

なお、本研究の一部は平成 4 年度大阪歯科大学学術奨励助成金により行った。

文 献

- 1) Dellow, P.G. and Lund, J.P. : Evidence for central timing of rhythmical mastication, *J Physiol (Lond)*, 215 : 1~13, 1971.
- 2) Nakamura, Y., Kubo, Y., Nozaki, S. et al : Cortically induced masticatory rhythm and its modification by tonic peripheral inputs in immobilized cats, *Bull Tokyo Med Dent Univ*, 23 : 101~107, 1976.
- 3) Nakamura, Y., Enomoto, S. and Kato, M. : The role of medial bulbar reticular neurons in the orbital cortically induced masticatory rhythm in cats, *Brain Res*, 202 : 207~212, 1980.
- 4) Chandler, S.H. and Goldberg, L.J. : Intracellular analysis of synaptic mechanisms controlling spontaneous and cortically induced rhythmical jaw movements in the guinea pig, *J Neurophysiol*, 48 : 126~138, 1982.
- 5) 中村嘉男 : 咀嚼運動の神経・筋メカニズム—顎運動を中心に—(3) 咀嚼運動のリズム形成とコントロール, *歯界展望*, 63 : 477~492, 1984.
- 6) Funakoshi, M. and Amano, N. : Periodontal jaw muscle reflexes in the albino rat, *J Dent Res*, 53 : 598~605, 1974.
- 7) Lamarre, Y. and Lund, J.P. : Load compensation in human masseter muscles, *J Physiol (Lond)*, 253 : 21~35, 1975.
- 8) Yemm, R. : Neurophysiologic studies of temporomandibular joint dysfunction, *Oral Sci Rev*, 7 : 31~53, 1976.
- 9) 中村隆志 : 咀嚼運動調節機構の生理的特性に関する研究, *阪大歯学誌*, 32 : 36~55, 1987.
- 10) 堀尾 強, 河村洋二郎 : 咀嚼運動に及ぼす食品テクスチャーの影響, *歯基礎誌*, 30 : 481~488, 1988.
- 11) 北川善政 : 顔面神経切除の顎・顔面成長に及ぼす影響に関する実験的研究, *日口外誌*, 34 : 522~541, 1988.
- 12) Thomas, N.R. and Peyton, S.C. : An electromyographic study of mastication in the freely-moving rat, *Arch Oral Biol*, 28 : 939~945, 1983.
- 13) 河野治夫, 加藤 康, 岡部栄逸朗ほか : 咬筋興奮—収縮連関に対する pH の効果とその性格, *歯基礎誌*, 26(Suppl.) : 346, 1984.
- 14) 伊藤 漸 : Extraluminal strain gage force transducer の作製と慢性植込, *日平滑筋誌*, 13 : 33~43, 1976.
- 15) 平川輝行, 本田栄子, 原 巖ほか : ラットの顎運動を伴う日常行動の筋電図学的研究, *九州歯会誌*, 44 : 788~804, 1990.
- 16) 松田 稔 : デジタル信号処理入門, 75~85, 日刊工業新聞社, 東京, 1987.
- 17) Seo, Y., Murakami, M., Watari, H. et al : Intracellular pH determination by a ^{31}P -NMR technique, the second dissociation constant of phosphoric acid in a biological system, *J Biochem*, 94 : 729~734, 1983.
- 18) Daunton, N.G. : Differentiation of bite force response in the rat, *J Comp Physiol Psychol*, 85 : 367~372, 1973.
- 19) Daunton, N.G. : Sensory components of bite-force response in the rat, *J Comp Physiol Psychol*, 91 : 203~220, 1977.
- 20) Sarna, S.K., Soergel, K.H., Harig, J.M. et al : Spatial and temporal patterns of human jejunal contractions, *Am J Physiol*, 257 : G 423~G 432, 1989.
- 21) Nordstrom, S.H., Bishop, M. and Yemm, R. : The effect of jaw opening on the sarcomere length of the masseter and temporal muscles of the rat, *Arch Oral Biol*, 19 : 151~155, 1974.
- 22) Weijs, W.A. and Dantuma, R. : Electromyography and mechanics of mastication in the albino rat, *J Morphol*, 146 : 1~34, 1975.
- 23) Inman, V.T., Ralston, H.J., Saunders, J.B. de C.M. et al : Relation of human electromyogram to muscular

- tension, *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 4 : 187~194, 1952.
- 24) Bouisset, S. and Goubel, F. : Integrated electromyographical activity and muscle work, *J Appl Physiol*, 35 : 695~702, 1973.
- 25) Nordstrom, S.H. and Yemm, R. : The relationship between jaw position and isometric active tension produced by direct stimulation of the rat masseter muscle, *Arch Oral Biol*, 19 : 353~359, 1974.
- 26) Thomas, N.R. and Peyton, S.C. : Relationship of masseter electromyographic activity to mandible position in the freely-moving rat, *Arch Oral Biol*, 28 : 1043~1046, 1983.
- 27) Lockwood, A.H., McDonald, J.M., Reiman, R.E. et al : The dynamics of ammonia metabolism in man, effects of liver disease and hyperammonemia, *J Clin Invest*, 63 : 449~460, 1979.
- 28) Bigland-Ritchie, B. : EMG/force relations and fatigue of human voluntary contractions, *Exerc Sport Sci Rev*, 9 : 75~117, 1981.
- 29) Gibson, H. and Edwards, R.H.T. : Muscular exercise and fatigue, *Sports medicine*, 2 : 120~132, 1985.
- 30) Fitts, R.H. and Holloszy, J.O. : Lactate and contractile force in frog muscle during development of fatigue and recovery, *Am J Physiol*, 231 : 430~433, 1976.
- 31) Nakamaru, Y. and Schwartz, A. : Possible control of intracellular calcium metabolism by $[H^+]$, sarcoplasmic reticulum of skeletal and cardiac muscle, *Biochem Biophys Res Commun*, 41 : 830~836, 1970.
- 32) Nakamaru, Y. and Schwartz, A. : The influence of hydrogen ion concentration on calcium binding and release by skeletal muscle sarcoplasmic reticulum, *J Gen Physiol*, 59 : 22~32, 1972.
- 33) Fuchs, F., Reddy, Y. and Briggs, F.N. : The interaction of cations with the calcium-binding site of troponin, *Biochim Biophys Acta*, 221 : 407~409, 1970.
- 34) Le Rumeur, E., Le Moyec, L., Chagneau, F. et al : Phosphocreatine and pH recovery without restoration of mechanical function during prolonged activity of rat gastrocnemius muscle, an in vivo ^{31}P NMR study, *Arch Int Physiol Biochim*, 97 : 381~388, 1989.
- 35) 高田信二郎, 井形高明, 高井宏明ほか : 低周波電気刺激で生じるラット骨格筋の単収縮運動と強縮性収縮運動におけるエネルギー代謝の相違について— ^{31}P -MRSの応用—, *リハ医学*, 27 : 125~130, 1990.
- 36) Dawson, M.J., Gadian, D.G. and Wilkie, D.R. : Muscular fatigue investigated by phosphorus nuclear magnetic resonance, *Nature*, 274 : 861~866, 1978.
- 37) Le Rumeur, E., Le Moyec, L., Toulouse, P. et al : Muscle fatigue unrelated to phosphocreatine and pH, an "in vivo" ^{31}P NMR spectroscopy study, *Muscle Nerve*, 13 : 438~444, 1990.
- 38) 中村嘉男 : 咀嚼運動の大脳皮質性制御, *日本生理誌*, 49 : 619~632, 1987.
- 39) 船越正也 : 咀嚼情報の生理学的意義, *阪大歯学誌*, 35 : 1~5, 1990.
- 40) 河野 亘 : ガムのテクスチャーが咀嚼運動に及ぼす影響の多変量解析, *補綴誌*, 35 : 178~192, 1991.