

老化促進モデルマウス (SAM) における咀嚼筋活動について

横山佳郎 倉知正和 宇野光乗
村田辰夫 石神元

Masticatory Muscle Activities of Senescence Accelerated Mouse

YOKOYAMA YOSHIRO, KURACHI MASAKAZU, UNO MITSUNORI,
MURATA TATSUO and ISHIGAMI HAZIME

正常な成長過程ののち、急速かつ不可逆的に進展する老化特性をもつ老化促進モデルマウスの中から、変形性顎関節症を有するSAM-P系のうち、低発症頻度群P-1と高発症頻度群P-3を用いて、顎関節受容器の違いが、情報を集約・統合・制御し中枢処理系から末梢へと働きかける咀嚼筋の筋活動にどのように影響を及ぼすか、検討した。

老化促進モデルマウスの老化特性をもとに、P-1・P-3とも成長期・成熟期・退行変化期に相当する2ヶ月齢・4ヶ月齢・8ヶ月齢を雌雄各5匹ずつの計60匹を使用した。

その結果、「老化現象」は正常な成長ののち、ある一定の期間を経過すると急速に老化兆候を示し、咀嚼筋活動も減少するが、両咀嚼筋の活動電位間に差異がなかったことから、顎関節の器質的変化が存在しているも、咀嚼筋、顎関節、咬合の三者の依存関係は維持しているものと考えられる。

キーワード：老化促進モデルマウス、変形性顎関節症、咀嚼筋活動(咬筋・側頭筋)、老化(時間経過)

Low onset frequency group among the SAM-P systems which have the deformation temporomandibular arthrosis out of the senescence activating mouse which has the aging trait of progressing quickly and irreversibly, after a normal growth process. It was examined how muscle activity of the muscle of mastication which P-1 and the high onset frequency group P-3 are used, and the difference in a temporomandibular-joint receptor collects, unifies and controls information, and works on a treetop at last from a central processor would be affected.

Based on the aging trait of a senescence activating mouse, P-1-P-3 used a total of 60 animals of every five sexes each for the two-month age, four-month age, and eight-month age equivalent to a growth phase, period-of-maturity, and cataplasia term.

As a result, although "senility" shows aging signs quickly after normal growth when it passes a certain constant span, and muscle-of-mastication activity also decreases, since there was no difference between the action potential of both muscles of mastication, even if an organic change of the temporomandibular joint exists, I think that the dependence of three persons of a muscle of mastication, the temporomandibular joint, and occlusion is maintained.

Key words : Senescence accelerated mouse, Transformation unusually of temporomandibular disorder, Masticatory muscle activities (Masseter muscle, Temporal muscle), Senescence (Aging)

I. 緒 言

咀嚼、咬合と全身の健康との関連性が注目されてきており、また高齢者人口が増加の一途をたどる中、その咬合、咀嚼の重要性が指摘されている。こうしたことを背景として、咀嚼、咬合が全身の健康維持や寝たきりおよび痴呆の予防等のために重要な役割を果たしていることに関するいくつかの報告がされている^{1,2)}。

咀嚼、咬合時には、下顎運動を生じさせるための咀嚼筋等の働きや、上下顎の位置関係を程良く規制するための顎関節の助けが必要であり^{2,3)}、さらに顎関節には歯根膜・筋肉・顎関節など感覚受容器からの情報を集約・統合・制御し、中枢処理系から末梢へとフィードバックする働きがある^{4,5)}。

本研究は、老化に伴う顎関節受容器の器質的な変化が、情報を集約・統合・制御し中枢処理系から末梢へと働きかける咀嚼筋の筋活動にどのような影響を及ぼすかについて、老化促進モデルマウスSAM-P系を用いて検討した(図1)。

II. 実験方法

1. 実験動物の種類と飼育条件

実験動物には、老化促進モデルマウスの中から老化

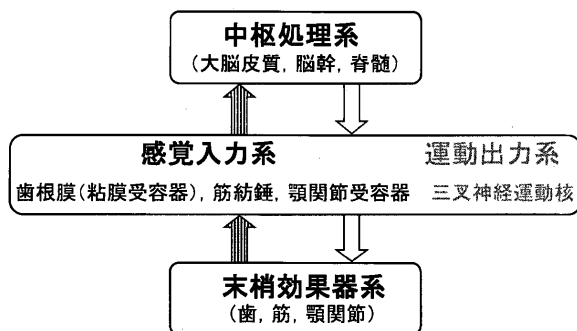


図1 神経伝達サイクル

特性として変形性顎関節症を有するSAM-P系のうち、その発症頻度の低い低発症頻度群 P-1 (以下P-1とする)と高発症頻度群P-3 (以下P-3とする)の2種類を用いた⁶⁻⁸⁾。P-1, P-3ともその成長期, 成熟期, 退行変化期にそれぞれ相当する2ヶ月齢(体重 25 ± 5 g), 4ヶ月齢(体重 30 ± 5 g), 8ヶ月齢(体重 30 ± 5 g)の雄雌各5匹ずつの計60匹を使用した(図2)。

飼育条件は、室温 22 ± 2 °C, 湿度 60 ± 5 %, 明暗12時間周期のもとで、固形飼料MF (オリエンタル酵母社)と水を自由に与えた。

2. 実験方法及び計測項目

実験方法は、船越⁹⁾、井手¹¹⁾らの報告に準じた。ネンブタール(0.1ml/100g体重)の腹腔内投与による麻酔下で割合した下顎左側側切歯に、#10のリーマーファイル挿入後、脳定位固定装置SR-5 N (成茂社)を用いてマウスの頭部を固定した。

記録電極は針電極とした。直径約0.45mmの注射針の中に直径0.35mmのエナメル線を通し、針先から約1mm露出、屈曲させたものを、刺入点付近の皮膚を露出して筋肉内に刺入、固定した。刺入点はマウス眼球後縁部と角突起を結んだ咬筋中央部と、マウス前頭骨と下顎下縁を結んだ側頭筋中央部とした。また、電極間距離は5mmとした(図3)。

電気刺激を下顎左側側切歯根管に挿入したリーマーファイルを通した歯根膜に与え、安静状態からの開口反射と2.0gの負荷を与えた開口状態からの下顎張反射の自発的活動電位(最大振幅)を誘発反応記録装置Neuropack-II Plus NEB-5021 (日本光電社)にて、high cut 100Hz, time const 0.01sec, sensitivity $10 \mu\text{V}/\text{DIV}$, chart speed 25mm/secの条件下で測定した。これを1匹につき5回ずつ計測し、その平均値を本実験の観測データとした(図4)。

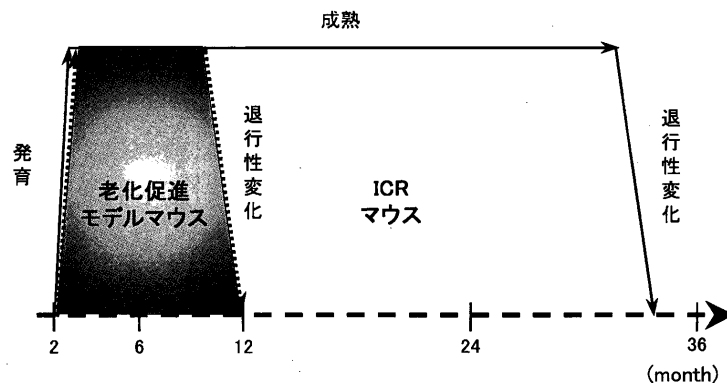


図2 ICRと老化促進モデルマウスの老化特性の時間経過

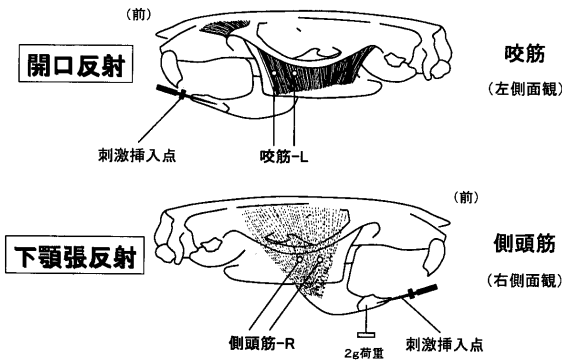


図3 活動電位測定部位

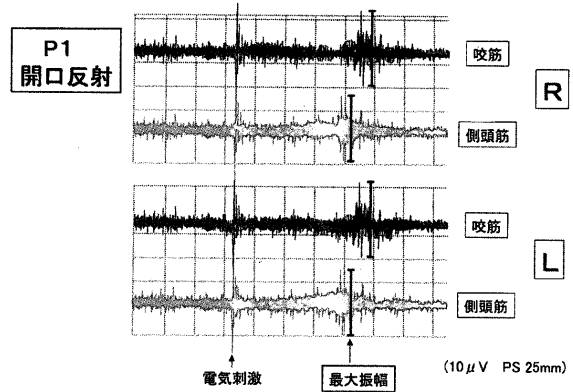


図4 筋電図測定部位

Ⅲ. 結果

1. 筋活動電位の平均値の変動様相

開口反射, 下顎張反射における筋活動電位の変動を筋肉の種類別, 左右側別, マウス別, 性別および観測時期別に求めた平均値と標準偏差から観察した。

開口反射(図5)では, 咬筋, 側頭筋ともに2・4ヶ月齢間では大きな差異はなく, 8ヶ月齢では減少したが, その減少程度はP1よりP3が大きいことがうかがわれる。

またP1, P3ともに左右側を比較すると左側がやや大きい傾向がうかがわれるが, 性差はうかがわれない。

下顎張反射(図6)では, 咬筋, 側頭筋いずれも計測時期間の比較では, 開口反射と同傾向の変動をし, 2, 4ヶ月齢に比較して8ヶ月齢で大きく減少しており, その減少程度はP3がP1より大きいことがうかがわれる。また筋の左右側間の比較では, 負荷した2.0gの影響と思われる差異が2・4・8ヶ月齢全てに, そして右側がやや大きいことがP1, P3ともうかがわれる。しかし性差についてはいずれもうかがわれない。

2. 分散分析と検定結果

開口反射, 下顎張反射における筋活動電位の変動をマウス(P1・P3)間, 筋肉(咬筋・側頭筋)間, 観測時期(2・4・8ヶ月齢)間を各要因とした3元配置の分散分析を行った。

図7は, 開口反射における各要因の母平均の推定値に水準間の検定結果を併記したグラフである。

マウス間, 月齢間に有意差が認められた。マウス間では, P3 (15.3uV)がP1 (16.9uV)より, そして月齢間では8ヶ月齢(12.7uV)が2ヶ月齢(17.7), 4ヶ月齢(17.8uV)より小さな値であることが認められた。筋肉間には有意差は認められなかった。

図8は, 下顎張反射における各要因の母平均の推定

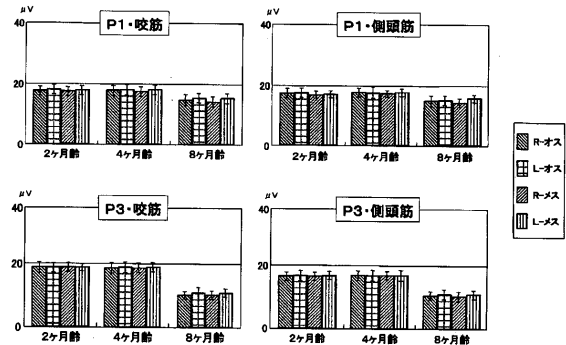


図5 開口反射時の筋活動電位の比較

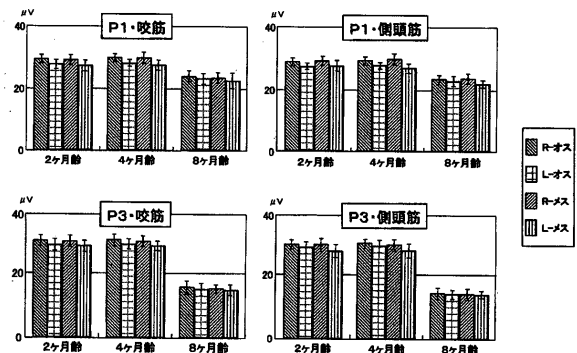


図6 下顎張反射時の筋活動電位の比較

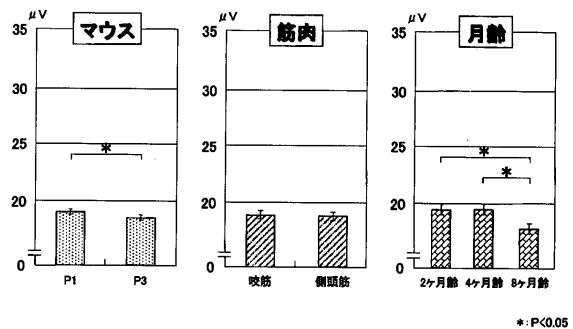


図7 開口反射時の母平均の推定と幅

*: P<0.05

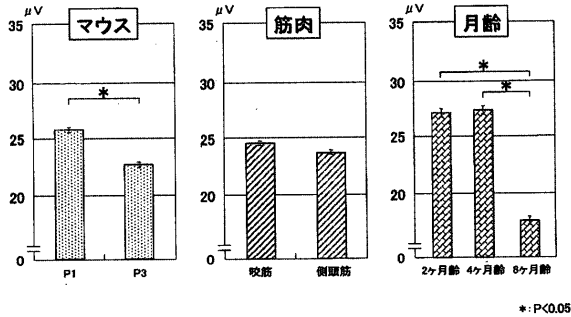


図8 下顎張反射時の母平均の推定と幅

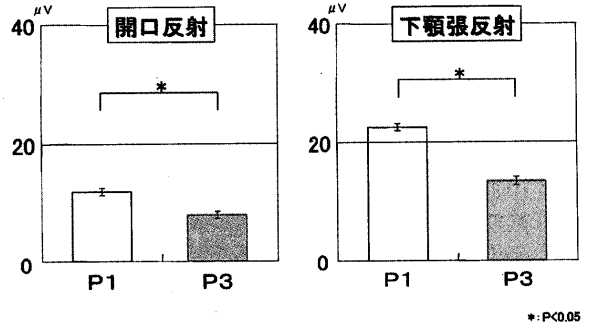


図9 8ヶ月齢におけるP1・3の比較

値に水準間の検定結果を併記したグラフである。

開口反射と同様にマウス間、観測時期間にのみ有意差が認められた。

マウス間では、P3 (23.3uV)がP1 (26.4uV)より、そして月齢間では8ヶ月齢(18.3uV)が2ヶ月齢(27.9uV)、4ヶ月齢(28.2uV)より小さな値であることが認められた。筋肉間には有意差は認められなかった。

3. 8ヶ月齢における筋活動電位の差異

8ヶ月齢でのマウスの筋活動電位を要因とした1元配置の分散分析を開口反射、下顎張反射別で行った。

図9は、P1、P3の咬筋、側頭筋の筋活動電位を一纏めとして求めた母平均の推定値に検定結果を併記したグラフである。

開口反射、下顎張反射いずれもP1に比較してP3が有意に小さな値であることを認めた。

IV. 考 察

本研究では、SAM-P系の2ヶ月齢、4ヶ月齢、8ヶ月齢のマウスを用いたが、その理由としては、老化度評点^{8,9)}、成長曲線、生存率曲線、ゴルベルツ関数などによる検討から、P系にみる「老化」は正常な成長過程の後、4~6ヶ月齢頃より現れ、急速かつ不可逆的に進展する促進老化であって、成長過程の途中から急速に老化する早熟とは区別されるべきものであるとの報告⁷⁾を根拠として、老化促進モデルマウス^{6,7)}とICR^{9,10)}の老化特性を時間経過にて比較した促進老化を基にして採択したものである。

こうした月齢のマウスを用いて測定した筋活動電位は、平均値による検察ではあるが開口反射において、左側の筋電位がわずかに大きい傾向が認められた。これはリーマーファイルを介して与えた電気刺激の影響による左右差と推察した。すなわち左側側切歯歯根膜に与えられた電気刺激は、潜時の長い侵害受容性の防御反射であり、これは左右側同等に発現するのではなく、同側は対側に比較して閾値が高く、応答の大きさ

はある一定の刺激強度まで常に大きな値を示し、同側優位に発現するという佐々木ら¹²⁾の結果と一致したものとなった。

また、下顎張反射において、右側の活動電位が対側よりやや大きいという傾向が認められたのは、2.0gという負荷加重によって限局した筋疲労が起りそれによって筋張力は低下するが、一定の力を維持するのに必要な活動電位の量は増大するという井手¹¹⁾、森本¹³⁾らの報告と一致した。

よって、筋に表れた活動電位の左右側差は、左右の顎関節の器質的変化による影響ではないと推察できる。

つぎに、筋活動電位の経日的な変動を有意差検定した結果、開口反射、下顎張反射ともに、咬筋、側頭筋の筋活動電位間に差がなかったことは、森本¹⁷⁾らの報告からも理解できるように、咀嚼筋支配の三叉神経節標識細胞の大きさ、数、大きさの分布は、咬筋、側頭筋ともにほぼ同様であり、豊富な交感神経支配であることから、刺激が加わると交感神経支配である閉口筋の咬筋、側頭筋間は相互に干渉し合い影響を受けていることを証したものと考える。

一方、2~4ヶ月齢の筋活動電位には大きな変化が認められず、4~8ヶ月齢では著しく減少することが認められたが、これはSAM-P系にみられる「老化」は、4ヶ月齢までは正常な成長を行うが、その後の8ヶ月齢までに老化兆候が大きく現れることを示したもので、SAM-P系の老化特性(Grading Score System)^{7,14)}とほぼ一致した。これにより、本マウスの特性は、少なくとも遺伝的モニタリングが均一であり、それぞれの老化病態が安定して発現したものと考えられる。

山田ら¹⁵⁾は、関節軟骨や滑液に豊富に存在し、細胞外基質の重要な構成成分として細胞の構築・維持に関与しているヒアルロン酸やコラーゲン量が、4ヶ月齢から減少し始め、10ヶ月齢では著明に減少したが、組織学的には、竹田ら⁷⁾、Chenら¹⁶⁾の報告と同様に、関節軟骨細胞層の菲薄化、亀裂、細胞構築や膠原線維構造の乱れ、軟骨の剥離、破壊が認められるも、炎症所見は

殆どみられなかったと報告している。

これらを考慮すれば、P-3はP-1に比較して8ヶ月齢で筋活動電位がより減少したのは、遺伝と促進老化の二つの要因が急速に進行したことによって生じた、顎関節部の器質的変化の差が表出したもので、促進老化現象の速度と密度の差⁷⁾であると考ええる。

以上より、「老化現象」は正常な成長の後、ある一定の期間を経過すると急速に老化兆候を示し、咀嚼筋活動も減少するが、両咀嚼筋の活動電位に差異がみられなかったことから、顎関節部に器質的変化が存在しても、咀嚼筋、顎関節、咬合の三者の依存関係が維持されていることを示唆したものと考える。

V. 結 論

老化促進モデルマウスの中から老化特性として変形性顎関節症を有するSAM-P系のうち、その発症頻度の低い低発症頻度群P1と高発症頻度群P3の2種類を用い、老化に伴う顎関節受容器の器質的な変化が咀嚼筋の筋活動にどのように影響を及ぼすかについて検討した結果、以下の結論を得た。

1. 開口反射、下顎張反射時の筋活動電位はP-1、P-3ともに2ヶ月齢(成長期)と4ヶ月齢(成熟期)では、大きな変化はみられなかったが、8ヶ月齢(退行変化期)で大きく減少した。
2. 8ヶ月齢における筋活動電位の減少程度は、P-3がP-1に比較して明らかに大きかった。
3. P-1、P-3に共通して、2、4、8ヶ月齢の全時期において咬筋、側頭筋の両筋活動電位間に差異がみられなかった。

VI. 文 献

- 1) 榊原悠紀田郎：「咬む」ことと8020運動。歯科評論，584：125～132，1991。
- 2) 平井敏博：高齢者における咬合・咀嚼機能の維持，老年歯科，9：3～12。
- 3) 船越正也，二宮裕三：下顎側方運動の制御における顎関節受容器の役割。岐歯学誌，1(1)：67～72，1974。
- 4) 河村洋二郎：口腔生理学，永末書店(京都)，185～189，1996。
- 5) 窪田金次郎：解剖学入門－咀嚼システム解明への道，日本歯科評論社(東京)，1～65，1988。
- 6) 竹田俊男：SAMモデル。医学のあゆみ，188(1)：68～74，1999。
- 7) 竹田俊男：老化促進モデルマウス(SAM)の開発。日病会誌，79(2)：39～46，1990。
- 8) Takeda, T. Hosokawa, M. Higuchi, K. Hosono, M. Akiguchi, I. Katoh, K : A novel murine model of aging, Senescence Accelerated Mouse (SAM). *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 19 : 185～192, 1994.
- 9) Liven, E. von der Marak, K. Silbermann, M : Morphologic and Cytochemical changes in Maturing and Osteoarthritic Articular cartilage in the Temporomandibular joint of mice. *Arthritis Rheum*, 28 : 1027～1038, 1985.
- 10) Takeda, T : The SAM Model of Senescence, Elsevier Science B. A. All rights reserved, 259～262, 1994.
- 11) 井手龍平：ラット歯根膜刺激による咬筋反射パターンの分析。岐歯学誌，8(1)：93～107，1980。
- 12) 佐々木啓一，稲井哲司：同側および対側歯根膜刺激によって誘発される開口反射とその相互作用。顎機能誌，5：157～161，1986。
- 13) 森本俊文：顎口腔機能分析の基礎とその応用－顎運動の生理，デンタルダイヤモンド社(東京)，26～35，1991。
- 14) Hosokawa, M. Kasai, R. Higuchi, K. Takeshita, S. Hashimoto, H. Honma, A. Irino, M. Toda, K. Matsu-mura, A. Matsushita, M. Takeda, T: Grading Score System : A Method for Evaluation of the degree of Senescence Accelerated Mouse (SAM). *Mechanisms of Ageing and Development*, 26 : 91～102, 1984.
- 15) 山田耕治：老化促進モデルマウス(SAM)顎関節下顎頭の加齢に関する免疫組織科学的研究。日顎誌，7(3)：55～68，1995。
- 16) Chen, W. H. Hosokawa, M. Tsuboyama, T. Ono, T. Iizuka, T. Takeda, T : Age-related changes in the Temporomandibular joint of the Senescence Accelerated Mouse (SAM) : SAM-P/3 as a new murine model of Degenerative joint Disease. *Am J Pathol*, 135 : 379～385, 1989.
- 17) 森本佳成，匠原悦雄，都築正史，川上哲司，細井栄二，杉村正仁：ラット咀嚼筋における交感，感覚および運動神経支配について。日顎誌，6(2)：26～38，1994。