

博士（歯学）佐藤華織

学位論文題名

ヒト咬筋のエネルギー代謝と筋線維組成の関連性の検討

学位論文内容の要旨

【緒言】ヒト咬筋において ATP 再合成の際にエネルギーの供給源として最も速やかに働くクレアチニンリン酸 (PCr) の濃度は、正常者では咀嚼運動や咬みしめなどの機能時に低下するのに対し、筋症状を有する顎関節症患者やプラキシズム患者では安静時でも低下していることが明らかとなってきている。このような PCr 濃度のちがいについては、四肢の筋肉において筋線維組成の違いが関与しているという報告はあるものの、ヒト咬筋の筋線維組成の違いが PCr 濃度へ及ぼす影響に関する研究はない。そこで本研究では、ヒト咬筋におけるエネルギー代謝と筋線維組成の関係を明らかにする第 1 段階として、筋症状を認めない顎変形症患者の咬筋浅層について検討を行った。

【方法】

＜対象＞被験者は北海道大学歯学部附属病院を受診し、顎矯正手術を施行予定で咀嚼筋に疼痛を認めない顎変形症患者の女性 8 名（年齢： 20.1 ± 1.4 歳）である。被験筋は咬筋浅層で、8 名のうち 6 名は両側咬筋、残りの 2 名は片側のみとした。被験者の咬合接触歯数は上顎が 3 歯から 7 歯で平均 5.0 ± 1.5 歯、下顎が 3 歯から 7 歯で平均 4.9 ± 1.6 歯であった。

＜エネルギー代謝分析＞ ^{31}P -MRS により行った。すなわち、MR 装置を用い、localize 可能な 2D-CSI 法により voxel size を $10 \times 20 \times 30\text{mm}^3$ として咬筋浅層の PCr, α , β , γ -ATP, 無機リン (Pi) の各々のピークのスペクトルを得た後、エネルギー代謝状態のパラメータとして PCr と β -ATP のピークの面積比 (PCr/ β -ATP 比) を算出した。なお、MRS の測定時期は咬筋採取日の 2～9 日前で、測定時の金属によるアーチファクトを防ぐ目的でワイヤーやプラケットなどの矯正装置をはずして測定した。

＜組織化学的分析＞顎矯正手術中に MRS の測定領域である咬筋浅層の上下的、前後のおよび内外的中央より約 $5 \times 5 \times 5\text{mm}^3$ の筋組織採取し、包埋、液体窒素で凍結した後、 $10\text{ }\mu\text{m}$ の連続切片を作製した。ミオシン ATPase 染色後、筋線維を Type I 線維、Type I M 線維、Type II A 線維、Type II B 線維、Type II C 線維に分類し、各切片の総線維数に対する各筋線維数の割合を筋線維組成率すなわち各筋線維数/総筋線維数として算出した。また Type I 線維と Type II 線維の組成比すなわち Type I / Type II 比も算出した。

＜統計学的分析＞

PCr/ β -ATP 比と Type I / Type II 比および各筋線維組成率との関連性を Spearman の順位相関係数により分析した。いずれも $p < 0.05$ を有意とした。

【結果および考察】

1. エネルギー代謝分析

- すべての被験筋より PCr, Pi, α , β , γ -ATP の各ピークが同定でき、筋症状を有する顎関節症患者のスペクトルでみられるような明らかな PCr ピークの低下は認められなかった。
- 各咬筋の PCr/ β -ATP は 2.88~5.29 の間に分布し、その平均値および標準偏差は 3.87 \pm 0.92 であり、本研究と同装置、同条件で測定した正常男子の PCr/ β -ATP 比と比較して有意差は認められなかった。

以上の点から、本研究の被験者群は臨床所見だけでなく、エネルギー代謝状態の面からも筋疲労など機能的な異常をもつ可能性は少ないことが示唆された。

2. 組織化学的分析

- ミオシン ATPase 染色による各咬筋の筋線維組成率は Type I 線維 : 12.1~91.6%, Type I M 線維 : 1.5~67.6%, Type II A 線維 : 0~60.9%, Type II B 線維 : 2.3~80.4%, Type II C 線維 : 0~50.6% と四肢の筋肉には通常見られない中間型筋線維を比較的多く含んだ広範囲な分布を示した。
- 中間型の Type I M 線維と Type II C 線維の組成率の平均値と標準偏差はそれぞれ 13.1 \pm 16.6%, 6.6 \pm 13.4% であり、比較的多かった。

被験者群の筋線維組成が広範囲な分布を示した理由について、①同一筋内での部位の違いによる影響②先天的要因③後天的要因が推測される。①の部位による影響については本研究ではいずれの被験者でも咬筋浅層の上下的、前後のおよび内外的中央より筋採取したため、部位による違いの影響は少ないと考えられた。②の先天的要因として、被験者群は遺伝的要因が原因の一つとして挙げられている顎骨の形態異常を伴う咬合不全であるため、顎骨と同様に第一鰓弓由来である咬筋筋線維組成も発生段階で何らかの遺伝的影響を受けた可能性が示唆された。③の後天的要因としては咬合状態が要因の 1 つとして考えられた。被験者群の咬合状態は咬合接触点が少なく、左右的な咬合接触バランスも悪い傾向にあるため、その咬合状態に適応した下顎運動をすることにより咬筋筋線維に多方向から力が加わり筋線維組成に影響を与えた可能性も示唆された。またこのことは、中間型筋線維の比率が高くなった原因の一つとして考えられた。

3. PCr/ β -ATP 比と筋線維組成との関連性について

- Type I 線維と Type II 線維の比である Type I / Type II 比と PCr/ β -ATP 比との関連性について Spearman の相関分析相関係数は 0.046 であり、有意な相関は認められなかった。
- 各 Type の筋線維組成率と PCr/ β -ATP 比との相関係数は Type I 線維が -0.116, Type I M 線維が -0.095, Type II A 線維が -0.211, Type II B 線維が -0.020, Type II C 線維が -0.148 であり、いずれも有意な相関は認められなかった。

これらの結果から今回の被験者群では PCr 濃度と筋線維組成との間に明らかな相関は認められず、ヒト四肢筋とは異なった結果を示した。そのため、ヒト咬筋浅層における PCr 濃度の大小は、酵素組織化学的分類による筋線維組成の違いだけでは説明できないことが示唆された。これは咬筋の組織学的、機能的複雑性によるものと考えられた。しかし今回の被験者の中間型筋線維の組成率がこれまでの正常者のデータに比較して若干高かったことから、今回の結果を顎変形症のない正常者に当てはめるのには慎重を要するが、中間型筋線維を有するという点から考えて、正常者咬筋での PCr 濃度と筋線維組成の関係は、中間型を有しない四肢筋での関係よりも今回の被験者の結果に近いものと推察された。したがって、筋症状を

有する頸関節症患者の咬筋の PCr 濃度の低下に酵素組織化学的分類による筋線維組成の違いが主因となって関与する可能性は小さいものと考えられた。

【結論】

以上の結果から、以下の結論を得た。

- 筋線維組成は、四肢の筋肉には通常見られない中間型筋線維 (Type I M 線維や Type II C 線維) を比較的多く含んだ広範囲な組成を示した。
- Type I, Type II A, Type II B, Type I M, Type II C の各タイプの筋線維組成率と PCr / β -ATP 比の間、および Type I / Type II 比と PCr / β -ATP 比との間にはいずれも有意な相関は認められなかった。
- ヒト咬筋浅層における PCr 濃度の大小は、酵素組織化学的分類による筋線維組成の違いだけでは説明できないことが示唆された。また、その原因の一つとして、咬筋が中間型筋線維を含んだ複雑な筋線維組成を有する点が考えられた。

学位論文審査の要旨

主査 教授 大畠 昇
副査 教授 吉田 重光
副査 教授 赤池 忠

学位論文題名

ヒト咬筋のエネルギー代謝と筋線維組成の関連性の検討

審査は審査担当者が各々、申請者に対して提出論文とそれに関連した学科目について口頭により試問を行ない、各審査員からの報告を元に主査がその結果をまとめた。

初めに申請者に本論文の要旨の説明を求め、申請者から以下のような内容についての論述がなされた。

正常ヒト咬筋では ATP 再合成の際にエネルギーの供給源であるクレアチニンリン酸 (PCr) の濃度が咀嚼運動や咬みしめなどの機能時に低下するのに対し、筋症状を有する顎関節症患者や プラキシズム患者では安静時でも低下していることが明らかとなってきている。このような PCr 濃度の違いについては、四肢の筋肉において筋線維組成の違いが関与しているという報告はあるものの、ヒト咬筋の筋線維組成の違いが PCr 濃度へ及ぼす影響に関する研究はない。本研究は、ヒト咬筋における PCr 濃度と筋線維組成の関係について検討したものである。

被験者は北海道大学歯学部附属病院を受診し、顎矯正手術を施行予定で咀嚼筋に疼痛を認めない顎変形症患者 8 名の 14 咬筋浅層である。

PCr 濃度はエネルギー代謝分析である ^{31}P -MRS (magnetic resonance spectroscopy) の localize 可能な 2D-CSI 法により顎矯正手術直前に測定した。voxel size を $10 \times 20 \times 30 \text{ mm}^3$ として咬筋浅層の PCr, α , β , γ -ATP, 無機リン (Pi) の各々のピークのスペクトルを得た後、エネルギー代謝状態のパラメータとして PCr と β -ATP の面積比 (PCr/ β -ATP 比) を算出した。

筋線維組成分析は顎矯正手術中に MRS の測定領域である咬筋浅層の上下的、前後的および内外的中央より採取した約 $5 \times 5 \times 5 \text{ mm}^3$ の筋組織に対して組織化学的方法であるミオシン ATPase 染色を施行した。筋線維を Type I, I M, II A, II B, II C に分類し、各切片の各筋線維数/総筋線維数と、Type I と Type II の組成比すなわち Type I/Type II 比も算出した。

PCr/ β -ATP 比と Type I/Type II 比および各筋線維組成率との関連性を Spearman の順位相関係数により分析した。

エネルギー代謝分析では筋症状を有する顎関節症患者のスペクトルでみられるような PCr ピークの低下は認められず、各咬筋の PCr/ β -ATP は 2.88~5.29 の間に分布し、本研究と同装置、同条件で測定した正常男子の PCr/ β -ATP 比と比較して有意差は認められなかった。し

たがって本研究の被験者群は臨床所見だけでなく、エネルギー代謝状態の面からも筋疲労をもつ可能性が少ないと示唆された。

組織化学的分析により筋線維組成率は Type I : 12.1~91.6%, Type I M : 1.5~67.6%, Type II A : 0~60.9%, Type II B : 2.3~80.4%, Type II C : 0~50.6% と広範囲な分布を示した。また四肢の筋肉では認められない中間型の Type I M と Type II C の組成率の平均値と標準偏差はそれぞれ $13.1 \pm 16.6\%$, $6.6 \pm 13.4\%$ であり比較的多かった。

$\text{PCr}/\beta\text{-ATP}$ 比と Type I / Type II 比および各 Type の筋線維組成率との間に有意な相関は認められなかった。

被験者群の筋線維組成が広範囲な分布を示した理由について、骨格性咬合不全に関連した遺伝的影響、咬合状態が関与した後天的影響が考えられた。また咬合状態が中間型筋線維の比率が高くなった原因の一つとして考えられた。

今回の被験者群では PCr 濃度と筋線維組成との間に明らかな相関は認められず、ヒト四肢筋とは異なった結果を示した。そのため、ヒト咬筋浅層における PCr 濃度の大小は、組織化学的分類による筋線維組成の違いだけでは説明できないことが示唆された。これは咬筋の組織学的、機能的複雑性によるものと考えられた。今回の結果を顎変形症のない正常者に当てはめるには慎重を要するが、中間型筋線維を有するという点から考えて、正常者咬筋での PCr 濃度と筋線維組成の関係は、中間型を有しない四肢筋での関係よりも今回の被験者の結果に近いものと推察された。したがって、筋症状を有する顎関節症患者の咬筋の PCr 濃度の低下に酵素組織学的分類による筋線維組成の違いが主因となって関与する可能性は小さいものと考えられた。

以上の論述に引き続き、本研究ならびに関連する研究、また関連領域について質問を行った。主な質問項目は以下の通りである。

1. 筋の収縮機構と筋疲労及び筋疼痛の発生について
2. 筋線維の染色法について
3. MRS について
4. 組織化学分析結果とエネルギー代謝分析結果の相違について
5. 今後の研究の展開と将来展望、臨床応用について

上記の質問項目に対して、申請者からいずれも適切で十分な回答が得られた。申請者の説明から、咬筋について非侵襲的方法である MRS 分析により測定された PCr 濃度と筋線維組成との比較を行った点は独創的であるとともに、咬筋が四肢の筋とは異なり組織学的にも機能的にも複雑であることが示されたことは臨床的にも非常に興味深いことであり高く評価できるものである。また試問の内容から、関連学科目についても幅広い学識を有していることが認められた。さらに将来の研究の展望に関しても MRS 分析の臨床応用の可能性を含めて本研究を元にして今後ますます発展してゆく可能性が高いと思われることから、学位申請者は博士（歯学）に値するものと判断した。