

原 著

固形飼料ならびに粉末飼料飼育ラットの咀嚼筋機能
および下顎枝の成長発育に関する研究

添 野 一 樹

岩手医科大学歯学部歯科矯正学講座

(主任: 石川富士郎教授)

(受付: 1991年12月18日)

(受理: 1992年1月7日)

Abstract: This study was undertaken to determine the effects of soft diet on the masticatory function, as well as the growth and development of the rat mandibular ramus. Four-week-old male Wistar rats, immediately after weaning, were randomly divided into hard (H) and soft (S) diet groups. They were further subdivided into five small groups by age; five-week-old to nine-week-old groups. The muscle function was examined on the basis of the creatine kinase (CK) activity in the masticatory muscles. Morphological changes of the mandibular ramus were measured on radiographs, while changes in the internal structure of the ramus were studied using decalcified sections. The CK activity in the masticatory muscles initially increased in both the H and S groups. However, at six weeks the CK activity in Group H reached a steady level. The activity in Group S continued to increase until seven weeks, and then finally equalled that of the Group H level at eight weeks. Morphologically, the vertical dimensions of the coronoid process, mandibular notch, and condylar process were larger in Group H. In contrast, the horizontal dimensions of these structures were larger in Group S. Histologically, partially mineralized bone was recognized at each masticatory muscle attachment site in both groups. However, mineralized bone seen in Group H was more conspicuous than in Group S. In other areas of the mandible, Group H had a higher level of mineralized bone throughout the experimental period, while the S group had a higher level of partially mineralized bone. In conclusion, Group S showed maldevelopment of the mandible deficiency and low bone metabolism.

緒 言

わが国における若年世代の不正咬合増加の原因に、軟性食品の嗜好と発達期における顎骨の発育不全との関連性があげられる。一方、咀嚼機能と顎・顔面領域の成長発育に関する研究

は、基礎、臨床の両面から広範に行われている。実験動物を用いた基礎的研究によると、成長期における咀嚼機能の低下は咀嚼筋¹⁻³⁾をはじめ、顎骨⁴⁻¹⁵⁾、顎関節^{16,17)}、唾液腺^{18,19)}などの広範囲にわたる口腔諸器官の弱体化を誘発することが知られている。特に筋機能の低下と顎発育との関

Studies of masticatory muscle function and growth and development of the mandibular ramus in hard and soft diet of rat.

Kazuki Soeno

(Department of Orthodontics, School of Dentistry, Iwate Medical University, Morioka, 020 Japan)

岩手県盛岡市中央通1丁目3-27 (020)

Dent. J. Iwate Med. Univ. 17: 1-15, 1992

連性については、発育低下に対し、おもに顎骨の大きさ、あるいは外形的な変化を中心に検討されてきた。本研究では成長期のラットを固形飼料、ならびに粉末飼料で飼育し、これらの咀嚼筋機能について検討した。さらに下顎枝形態とともに、下顎枝内部の変化にも注目し比較検討した。

材料と方法

1. 実験材料

実験には断乳直後の4週齢 Wistar 系雄性ラット 110 匹を用いた。これらを無作為に 55 匹ずつの 2 群に分け、固形飼料飼育群（以下 H 群と略す）ならびに粉末飼料飼育群（以下 S 群と略す）とした。飼料にはオリエンタル酵母株式会社製マウス・ラット用固形飼料 MF、および同粉末飼料 MF を用いた。飼育には、室温 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 、湿度 50～65%、12 時間の明・暗サイクルに調節された部屋で行い、飼料と水は常時自由に摂取させた。

2. 実験方法

経時的な観察をおこなう目的で H, S 両群に、それぞれ 1 週間間隔で 5 週齢（飼育期間 1 週間）から 9 週齢（飼育期間 5 週間）まで、11 匹ずつの実験週齢群を設定した。

飼育期間中は、全身成長の指標として 1 週間に 1 回の割合で体重を計測した。また下顎枝内部の石灰化領域を同定することを目的として、塩酸テトラサイクリン（以下 TC と略す）を 20 mg/kg の割合で、屠殺 1 週間前より 3 日間連続で皮下注射した（Fig. 1）。

各実験週齢群は飼育期間終了後、エーテルの大量吸入にて屠殺した。ただしくレアチンキナーゼ（以下 CK と略す）活性を測定する目的で H, S 両群の各実験週齢群から無作為に 5 匹ずつを抽出し、これらに対しては断頭にて屠殺した。

屠殺後、ただちに左側下顎骨を摘出し、10% 中性緩衝ホルマリン液で 24 時間固定し、その後 X 線写真撮影を行った。断頭により屠殺した実験動物は、さらにドライアイスエタノール

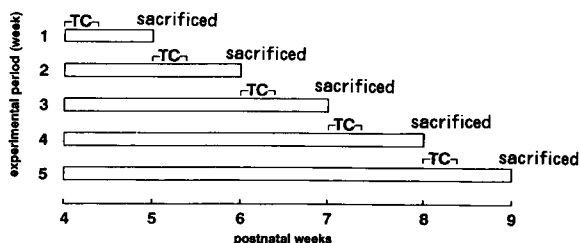


Fig. 1 Experimental protocol.

TC: Administration of tetracycline
(20 mg/kg s.c. once daily for 3 days.)

にて右側頭頸部を凍結した状態で、咬筋浅層、側頭筋、内側翼突筋および外側翼突筋の筋腹の中央を摘出し、CK 活性の測定用資料とした。

(1) CK 活性の測定

摘出した咀嚼筋 4 筋は、凍結状態のまま湿重量を測定した。つづいて 10～20 倍量の Tris-HCl Buffer (50 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, 1 mM メルカプトールエタノール) とともに、マイクロテストチューブ内でさらに凍結し、歯科用エンジンをういてラウンドバーで切削、粉碎した。室温で解凍後、超音波粉碎機でさらにホモジナイズし、 4°C 、 $14000 \times g$ で 15 分間遠沈した。続いて上清を採取し 100～200 倍希釈した後、N-アセチルシステインで再活性化し、UV 法²⁰⁾にて測定した。

(2) 下顎枝形態計測

固定時に撮影した X 線写真は、下顎骨の外側がカセットとして用いたビニールシートを介してフィルム面に接するように静置し、SOFRON TYPE SRO-M 50 にて加速電圧 20 kV、管電流 5 mA、露出時間 40 秒の条件下で撮影した。撮影したフィルムから 4.6 倍に拡大した写真上で、Fig. 2 に示す計測点を設定した。これらの計測点はグラフィックソフトウェア meas 1 にて、デジタイザーにより座標入力した。

オトガイ孔中央を通る下顎下縁平面に垂直および水平な基準平面を設定し、基準平面から入力した各座標までの距離を算出し（Fig. 2）、H 群と S 群の飼育期間をとおしての下顎枝の距離的変動について比較検討した。

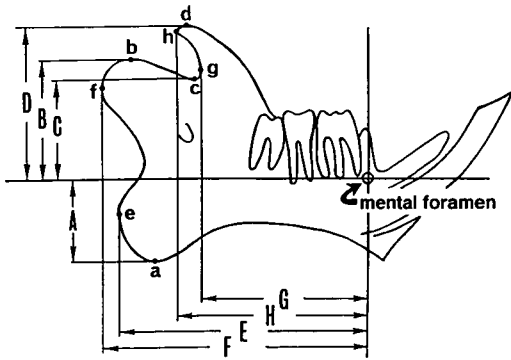


Fig. 2 Reference points and dimensions in linear measurement.

- a: The most inferior point of angular process
- b: The most superior point of condylar process
- c: The most inferior point of mandibular notch
- d: The most superior point of coronoid process
- e: The most posterior point of angular process
- f: The most posterior point of condylar process
- g: The most anterior point mandibular notch
- h: The most posterior point of coronoid process
- A: Vertical dimension between point a and mental foramen
- B: Vertical dimension between point b and mental foramen
- C: Vertical dimension between point c and mental foramen
- D: Vertical dimension between point d and mental foramen
- E: Horizontal dimension between point e and mental foramen
- F: Horizontal dimension between point f and mental foramen
- G: Horizontal dimension between point g and mental foramen
- H: Horizontal dimension between point h and mental foramen

(3)下顎枝内部の観察

固定を終了した下顎骨は、水洗後 Villanueva bone 染色液中でブロック染色し²¹⁾、ついで樹脂包埋を行った²²⁾。重合後の包埋ブロックは、同一断面を観察する目的でブロッ

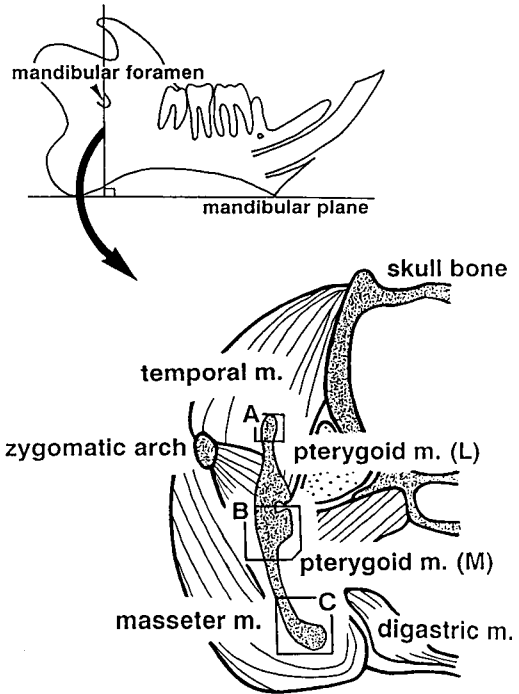


Fig. 3 The upper illustration is the lateral view of a rat mandible. The vertical line indicates the undecalcified section of the mandibular ramus. The lower picture illustrates the frontal plane at the vertical line of mandibular ramus.

- A: upper region
- B: middle region
- C: lower region

クの面をそれぞれ下顎下縁平面に平行な面、直交する面、および下顎骨外側面に平行な面を基準線として調整し、下顎下縁平面に垂直でかつ下顎孔中央を通る面です約 80 μm の下顎枝前頭断非脱灰研磨標本を作製した (Fig.3)。作製した標本は蛍光顕微鏡下で上部(A)、中央部(B)、および下部(C)に分けて観察した (Fig.3)。

また、標本における TC 沈着域、石灰化骨、低石灰化骨、骨髓空隙の占有面積率を求め、H 群と S 群とについて比較検討した。面積の計測には画像解析装置 IBAS 2000 (カールツァイス社製) を用い、Fig.4に示す顕微鏡下の 1 視野中のそれぞれの面積を計測し、占有面積率を算出した。

(4)統計処理

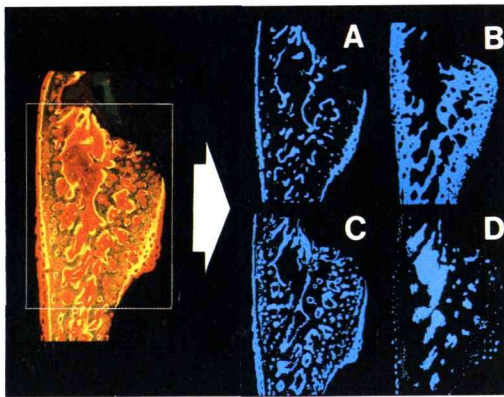


Fig. 4 Selective images from fluorescent microphotographs.
 A: area labeled with tetracycline,
 B: mineralized bone,
 C: partially mineralized bone,
 D: bone marrow cavity

実験データは棄却検定を行った後、正規性および等分散性を検討した。各週齢におけるH, S両群の比較は、平均値の差、あるいは比率の差をt検定 ($P < 0.05$) を用いて検討した。

結 果

1. 体重

体重の変動曲線を Fig.5 に示す。飼育期間をとおしてH, S両群ともに1週間当たり40g程度の割合で直線的な増加を示し、最終的な飼育期間終了時のH群およびS群の平均体重は、それぞれ261.3g, 270.9gであった。各週齢でH, S両群間に有意な差は認められなかった。

2. 咀嚼筋内CK活性

咀嚼筋4筋の飼育期間をとおしてのCK活性の変動を Fig.6 に示す。一般に翼突筋群に比較して咬筋と側頭筋ではCK活性が高いが、変動は咀嚼筋4筋でほぼ類似した傾向が認められた。特徴として、H, S両群ともに5週齢から6週齢にかけて類似した増加傾向が認められ、その後は、H群では咬筋、側頭筋が5500 IU/g、内側翼突筋、外側翼突筋が4500 IU/g前後のレベルをほぼ一定に推移する傾向が認められた (Fig.6)。一方、S群はH群に比較してCK活性が高く、7週齢まで増加傾向が認められ咀嚼筋

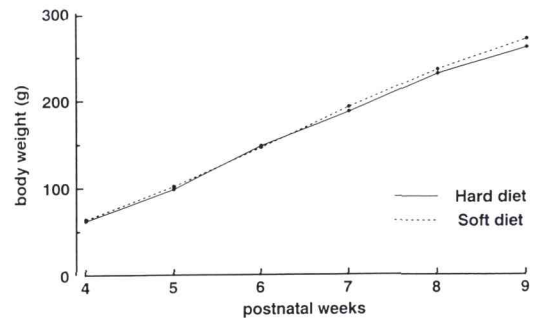


Fig. 5 Changes in body weight in rats.
 (—); hard diet, (···); soft diet

4筋ともに、この時点でH, S両群を通じて飼育期間中の最大値を示した。咬筋、側頭筋、内側翼突筋、外側翼突筋はそれぞれ、6700 IU/g, 6200 IU/g, 5100 IU/g, 5600 IU/gであった。8週齢において減少傾向が認められ、それ以降はH群と同程度に推移する傾向が認められた。

3. 下顎枝形態

距離的計測項目として Fig.2 に示した垂直成分距離、および水平成分距離を、飼育期間をとおした変動曲線として Fig.7, 8 に示す。

(1) 垂直成分距離

角突起 (Fig.7A) では、H, S両群はほぼ一致した増加を示しており、飼育期間をとおして有意な差は認められなかった。一方、関節突起 (Fig.7B)、下顎切痕 (Fig.7C)、および筋突起 (Fig.7D) では、6週齢以降でH群がS群を上回る傾向が認められた。これら3部位で筋突起の8週齢および9週齢を除き、H, S両群間に有意の差が認められた。

(2) 水平成分距離

垂直成分距離と同様に、角突起 (Fig.8E) では、H, S両群はほぼ一致した増加を示しており、6週齢を除き有意な差は認められなかった。一方、関節突起 (Fig.8F)、下顎切痕 (Fig.8G)、および筋突起 (Fig.8H) では、垂直成分距離とは逆にS群がH群を上回る傾向が認められた。下顎切痕の9週齢以外では、6週齢以降H, S両群間に有意の差が認められた。

4. 下顎切歯の挺出状態について

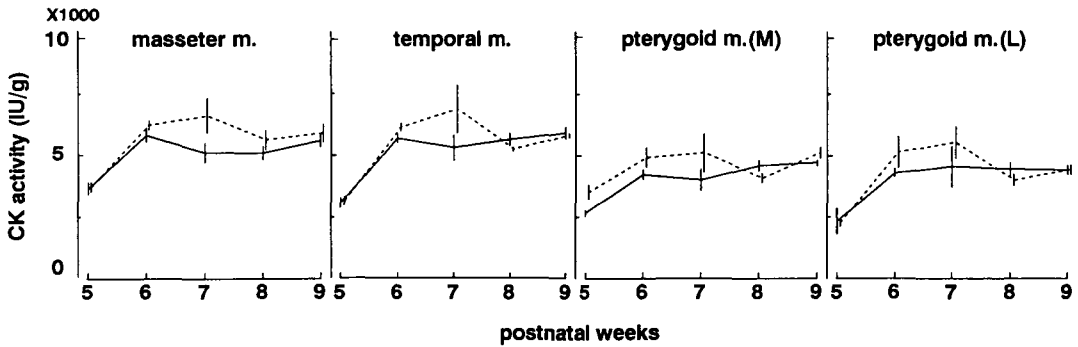


Fig. 6 Changes in creatine kinase activity in masticatory muscles. Values are expressed as mean and S.E. (—) ; hard diet, (···) ; soft diet

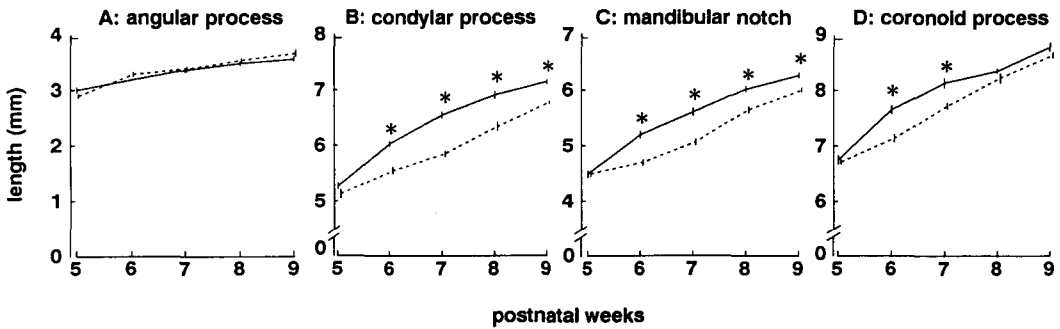


Fig. 7 Changes in vertical measurements of mandibular ramus in rats. Values are expressed as mean and S.E. (* $p < 0.05$) A: angular process, B: condylar process, C: mandibular notch, D: coronoid process (—) ; hard diet, (···) ; soft diet

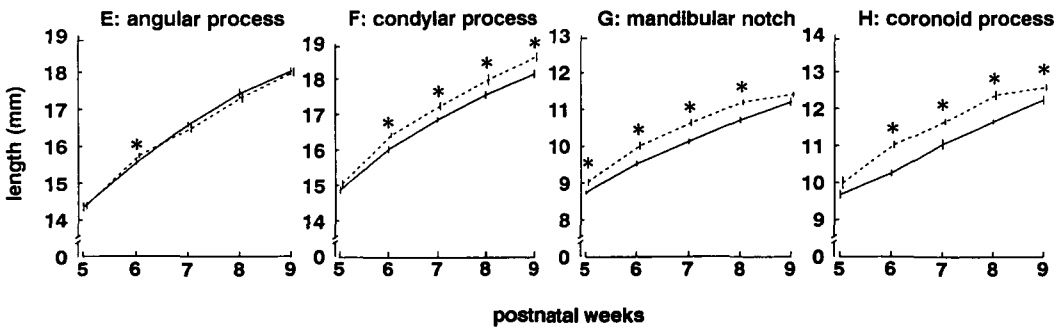


Fig. 8 Changes in horizontal measurements of mandibular ramus in rats. Values are expressed as mean and S.E. (* $p < 0.05$) E: angular process, F: condylar process, G: mandibular notch, H: coronoid process (—) ; hard diet, (···) ; soft diet

H, S 両群の切歯の挺出状態に関しては摘出した下顎骨および X 線写真の観察から検討した。結果として両群の切歯の長さには差は認められなかった。

5. 下顎枝内部構造

(1) 組織所見

前頭断シェーマとして Fig.3 に示した上部, 中央部, 下部の 3 部位における蛍光顕微鏡像を Fig.9~11 に示す。

a. 上部 (Fig.3A, Fig.9)

断面外形の幅では H 群が S 群を全体的に上回っていた (Fig.9)。組織所見は, 5 週齢では H 群, S 群ともに, 低石灰化骨と骨髓空隙から構成され, とくに低石灰化領域は側頭筋附着部で著明に認められた。また内側では低石灰化層に沿った TC の沈着がわずかに認められた。

6 週齢以降では, H 群, S 群ともに上方から内側にかけての側頭筋附着部の低石灰化層が週齢とともに薄くなる傾向を認めた。逆に下層の TC の沈着部位が著明に認められるようになり, さらに下層では石灰化骨が増加する傾向が認め

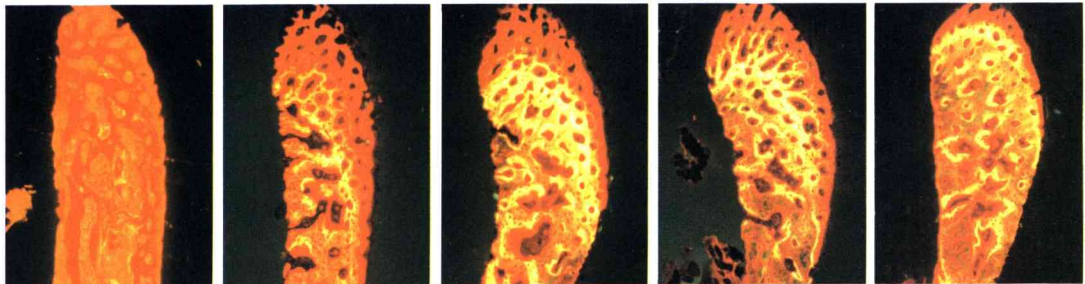
られた。以上の所見は, 特に H 群で著明であった。

b. 中央部 (Fig.3B, Fig.10)

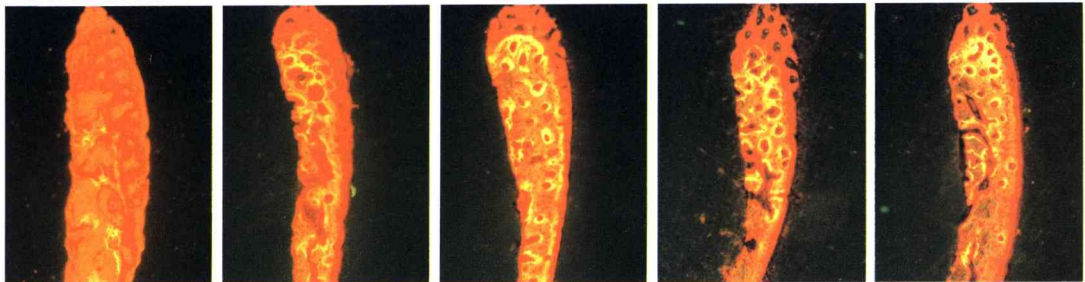
上部と同様に 5 週齢から 6 週齢にかけて最も著明な変化が認められ, 断面外形上での幅は, 各週齢で H 群が S 群を上回る傾向を示した。組織所見では, 5 週齢では H, S 両群ともに低石灰化骨と骨髓空隙から構成され, 石灰化骨はわずかに内側に観察されるだけであった。外側の咬筋深層附着部および内側の内側翼突筋附着部で著明な低石灰化層が認められ, とくに内側翼突筋附着部の膨隆部で, H, S 両群ともに低石灰化領域が著明であり, その内側では, H, S 両群ともに上部に比べ, TC の沈着が顕著に認められた。

6 週齢以降では, 上部に比べ H 群, S 群ともに内側で比較的顕著に石灰化骨が認められるようになり, 週齢とともに増加する傾向が認められた。このような傾向は, とくに H 群で著明で, S 群では低石灰化骨が比較的広い範囲に認められた。この傾向にとまって, 上部と同様

Hard diet



Soft diet



5W

6W

7W

8W

9W

Fig. 9 Fluorophotographs of the mandibular ramus at the upper region specified in Fig. 3A.

に内外側の筋付着部および骨髓空隙周囲での低石灰化層は、飼育期間とともに厚みを減じる傾向が認められた。

c. 下部 (Fig.3C, Fig. 11)

断面外形では各週齢をとおして H, S 両群間に相違がみられ、骨低部での外形は S 群が H 群に比べ丸みを呈しており、その傾向は週齢とともに顕著に認められた。組織所見では H, S 両群ともに類似した傾向が認められ、5 週齢ではおもに低石灰化骨と骨髓空隙から構成され、石灰化骨はほとんど認められなかった。H, S 両群ともに内側に比較的に広い骨髓空隙が認められた。

6 週齢以降では全周に認められた低石灰化層が、下顎骨低部から外側にかけての咬筋浅層付着部骨膜直下に一致して顕著に認められるようになり、同時に内側では石灰化骨の増加が認められた。(Fig. 11)

(2)占有面積率

各部位における TC 沈着域、石灰化骨、低石灰化骨、および骨髓空隙の飼育期間中の占有面

積率を変動曲線として、Fig. 12 に示す。なお、石灰化骨に関しては、TC 沈着域を含めた値を用いた。

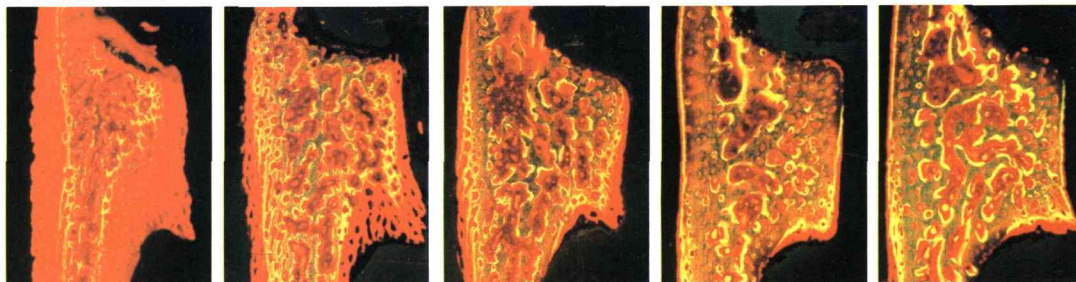
a. テトラサイクリン沈着域 (Fig. 12 a)

5 週齢では上部および下部が H, S 両群ともに 2%前後であるのに対し、中央部では H 群が 6.2%, S 群が 3.8% と比較的高い値を示していた。上部および下部では、その後 H, S 両群ともに増加傾向が認められた。上部においては 7 週齢以降で H 群が S 群を上回る増加傾向を示し、9 週齢で H 群が 13.6%, S 群が 6.4% まで増加した。一方、下部では 8 週齢まで H, S 両群がほぼ同様に推移し、9 週齢で H 群が 7.0%, S 群が 10.1% と、上部とは逆に S 群が H 群を上回る傾向を示した。中央部では、6 週齢以降増加傾向がほとんど認められず、飼育期間をとおして H, S 両群ともに 7~8% に推移し、9 週齢では H 群, S 群ともに 7.2% であった。

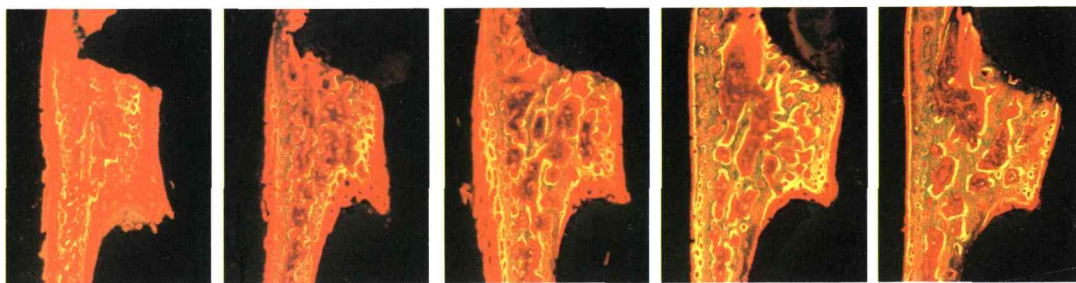
b. 石灰化骨領域 (Fig. 12 b)

すべての部位で週齢とともに増加傾向を示した。上部では飼育期間をとおして、H 群が S 群

Hard diet



Soft diet



5W

6W

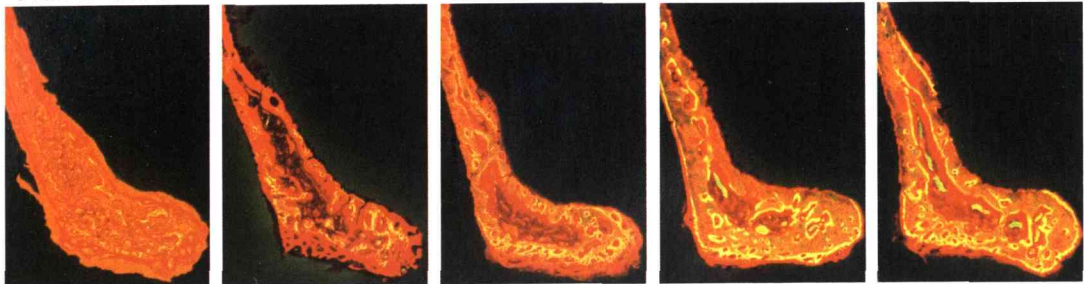
7W

8W

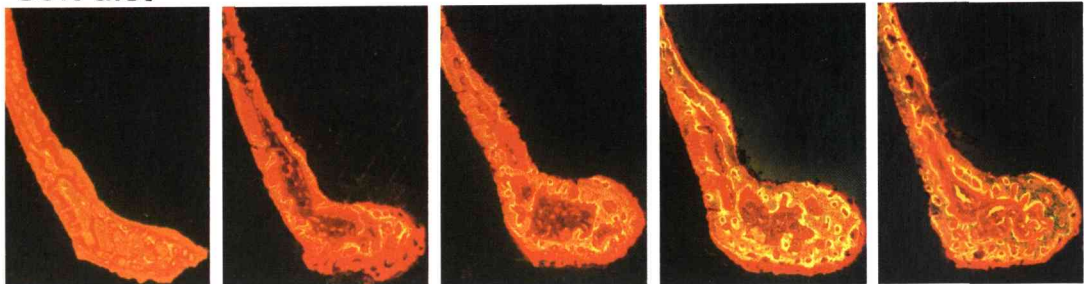
9W

Fig. 10 Fluorophotographs of the mandibular ramus at the middle region specified in Fig. 3B.

Hard diet



Soft diet



5W

6W

7W

8W

9W

Fig. 11 Fluorophotographs of the mandibular ramus at the lower region specified in Fig. 3C.

を上回る増加が認められ、特に7週齢以降で差が広がり、9週齢ではH群が43.9%、S群が39.5%を占めていた。またH、S両群ともに6週齢から8週齢にかけての増加が顕著であった。中央部では、5週齢ですでにH群が18.1%、S群が14.9%と上部および下部に比べ高い値を示していた。H群がS群をわずかに上回る傾向を認めるものの、差が広がる傾向は認められず、9週齢ではH群、S群はそれぞれ55.3%、50.1%を占めていた。H、S両群ともに5週齢から6週齢にかけて最も顕著な増加が認められた。下部では、飼育期間をとおしてH、S両群がほぼ一致した増加傾向を示していた。5週齢ではH群が6.3%、S群が3.4%と、両群ともに低い値を示したが、その後直線的な増加を示し、9週齢では、H群、S群はそれぞれ43.6%、46.5%であった。

c. 低石灰化骨領域 (Fig. 12 c)

低石灰化骨の占有面積率はすべての部位でS群がH群を上回り、石灰化骨の占有面積率とは逆に週齢とともに減少傾向を示した。上部で

は5週齢でH群が64.2%とS群の58.3%を上回るものの、その後は全体にS群がH群を上回る傾向を認め、9週齢ではH群、S群はそれぞれ17.4%、30.5%であった。中央部は上部と類似した傾向が認められた。5週齢ではH群が52.8%、S群が51.5%と類似した値を示すものの、その後は各週齢でS群がH群を8%程度上回っており、9週齢においては、H群が9.1%、S群が17.4%であった。下部では、上部および中央部と異なりH、S両群間に有意な差は認められず、一致して減少する傾向が認められた。5週齢ではH群、S群はそれぞれ50.1%、53.8%を占めていたが、その後直線的な減少傾向を示し、9週齢ではそれぞれ18.7%、20.0%まで減少した。

d. 骨髓空隙領域 (Fig. 12 d)

上部、中央部および下部ともに比較の変動幅は小さかった。飼育期間をとおして、上部および中央部ではH、S両群ともに30%前後を占めていた。一方、下部では5週齢から6週齢にかけてこれよりもやや高く40%前後を推移し、

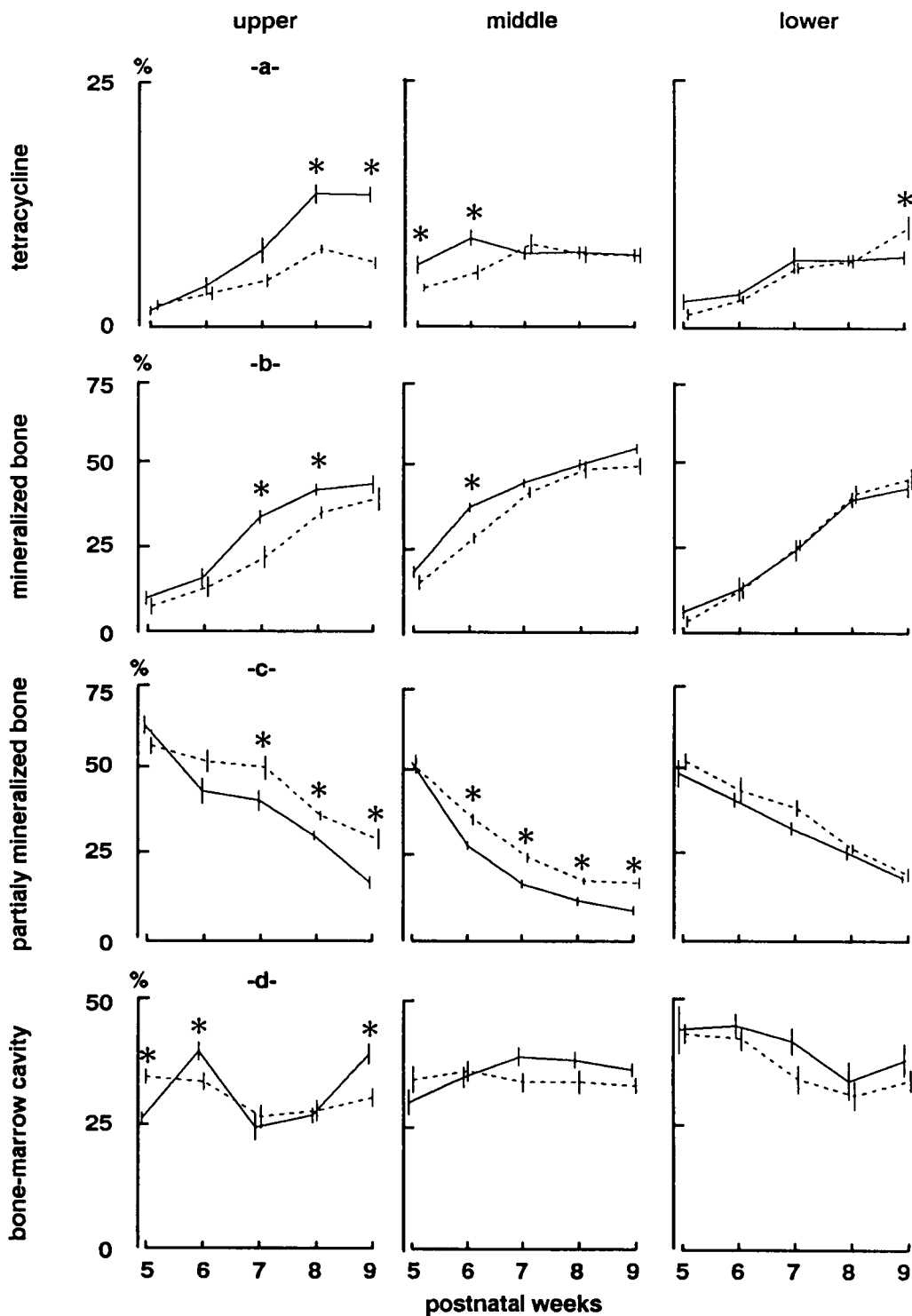


Fig. 12 Changes in the ratios of tetracycline (a), mineralized bone (b), partially mineralized bone (c), and bone marrow cavity (d). Values are expressed as mean and S.E. (* p < 0.05) (—); hard diet, (---); soft diet

その後減少傾向が認められた。最終的には9週齢において、上部ではH群、S群がそれぞれ38.7%、30.0%を占め、同様に中央部では35.6%、32.5%、下部では37.7%、33.5%と比較的類似した占有面積率を示していた。中央部および下部では、全体にH群がS群をわずかに上回る傾向が認められた。

考 察

1. 実験方法について

実験動物を用いた顎・顔面頭蓋における形態的な研究では、成熟までの期間が短いこと、純系を得やすく個体間の変動が少ないこと、多数を飼育できることなどの理由により、ラットが広く用いられている。また正常ラットの顎・顔面頭蓋の成長について、過去に詳細な報告^{23,24)}もあり、本実験においてもラットを用いた。

ラットを実験動物として用いる場合、上述した利点を有する反面、嚙歯類特有の切歯の挺出に関する問題があげられる。この点に関し菊田⁹⁾は固形および練飼料飼育ラットについて切歯の削合が顔面頭蓋の成長発育に直接影響しないことを述べている。またWattとWilliams⁴⁾は硬い飼料の摂取による切歯の摩耗が歯の伸びすぎを防いでいるのに対し、軟い飼料の場合は、歯のすり合わせやケージを噛むことで代償していると述べている。本実験では、切歯の挺出状態について、H、S両群間に明らかな差は認められなかった。このことから摩耗に要する筋機能はH、S両群でほぼ同じ程度のもと考えられ、飼料の物性の違いによる影響は主に臼歯部での咀嚼量の差に反映したものと考えられる。

軟食飼育による体重への影響については、本実験と同様に体重への影響は認められないとする報告^{4,8,9)}、体重が増加する²⁵⁾、あるいは逆に減少する¹⁰⁾など、一致した所見がみられない。軟食飼育により体重の増加を促進させる要因として、混水または粉碎化による消化・吸収の促進、摂取量の増加などが挙げられるが、その一方で増加量が低下する要因として混水による水

溶性蛋白やビタミンの溶出および変性、水分の過剰摂取による相対的な飼料摂取量の低下などが考えられる。本実験ではこのことを考慮して飼料と水は別々に自由摂取させ、飼料の性状の違いによる全身発育の差を最小限におさえることを試みた。その結果H、S両群間の体重の差は極めて小さく、全身発育の違いはほとんどなかったものと考えられる。

2. 筋機能について

CKは筋細胞より逸脱される酵素の1つであり、臨床的に血清CK活性値は各種診断に用いられている。また運動量に応じて血清CK活性が増加することが知られている^{26,27)}。H、S両群の咀嚼機能をCK活性より評価するうえでは筋機能の相違が咀嚼筋を中心として限局するため、血清CK活性には反映しにくいことを考慮し、本実験では咀嚼筋中に含有されるCKを直接測定した。

ラットの成長過程における筋組織中のCK活性の変化について、Andresら²⁸⁾はヒラメ筋、腓腹筋および長指伸筋について観察し、単位筋重量あたりのCK活性値は生後40日頃まで増加し、成体ではヒラメ筋が3500~4100 U/g、腓腹筋、長指伸筋が9000~10000 U/gに達することを示している。この増加期間は、本実験ではCK活性の増加がH、S両群で一致して認められた5から6週齢に相当するものと思われる。また筋組織によりCK活性値の増加のピークが異なることに関し、Andresら²⁸⁾はヒラメ筋では筋線維の90%をI型線維が占めるのに対し、長指伸筋ではI型線維は3%を占めるにすぎず、80%はIIb型線維であることと関連していることを述べている。咀嚼筋4筋のCK活性値は、Andresら²⁸⁾が報告したヒラメ筋と長指伸筋の間に位置することからI型およびIIb型線維の構成比も中間的な値を示すものと推測される。I型線維は疲労抵抗性筋線維として酸化的代謝能力に優れ、収縮速度が遅く、持続的運動に適している。これに対して、IIb型線維は解糖系能力に優れ、収縮速度が速く、瞬発的な運動に適した筋線維である。これらのことを

考慮すると、最終的には活性の高い咬筋および側頭筋では、硬い食塊の粉碎機能に關与する II b 型線維の含有率が比較的高く、咀嚼力の維持や顎位のコントロールに關与する内側翼突筋、外側翼突筋では I 型線維の含有率が上回っているものと考えられる。

飼育期間をととしての CK 活性の変動に関しては、5 週齢から 6 週齢にかけて H 群、S 群ともにほぼ一致した増加傾向が認められた。この時期は成長期であるとともに授乳から飼料摂取への転換期であり、CK 活性値が増加傾向を示すことから、筋組織の分化過程にあるものと考えられる。このため、筋機能の差が CK 活性値の差として反映しなかったものとも思われる。その後 7 週齢において咀嚼筋 4 筋ともに、S 群が H 群を最も大きく上回った。ヒト血清 CK 活性では筋肉量、運動量、筋細胞の膜透過性、CK クリアランスの違いなどにより生理的な変動を生じることが知られており、運動量によっては翌日に数倍の活性ピークがみられ、前の値に復するまでに 4~5 日を要するともいわれている²²⁾。6 から 8 週齢における S 群での CK 活性値の増加は、H 群に比較して筋機能の小さい S 群では、血中への CK の移行が少ないことを示唆しており、結果として、飼料の物性の差による筋機能の差を反映しているものと考えられる。その後、8 から 9 週齢にかけてはこのような差異は認められなくなり、S 群の CK 活性は減少傾向を示し、H 群とほぼ一致して推移する傾向が認められた。このような減少傾向は筋機能とは別に、機能低下に伴う筋線維の發育低下に起因する可能性が考えられる。軟食飼育下におけるマウス咀嚼筋について Maeda ら^{1,2)}は、コハク酸脱水素酵素に対する酵素染色により筋線維を標別し、酵素活性の極めて高い線維および活性の極めて低い線維ともに幅径が小さく、また筋紡錘の發育が遅れることを報告している。一方、筋支配神経切断に伴う組織変化として筋線維の萎縮、幅径の減少などがすでに知られている。Andres ら³⁾は、ラットの座骨神経を切断し、ヒラメ筋、腓腹筋および長指伸筋にお

ける術後の筋内 CK 活性値の変動について報告し、5 日齢の処置では、その後の成長發育に伴う CK 活性の増加率は小さくなり、同様の処置を 40 日齢で行うと CK 活性は経日的に低下を示し、その傾向は特に II b 線維の含有率の高い長指伸筋で著明であることを述べている。本実験が Andres ら³⁾の方法と異なる点は、神経切断のような急激な変化を与えたものではなく、咀嚼運動量の差によって生じる筋組織の發育の違い、あるいは廃用性萎縮様変化の可能性について検討したものである。本実験で認められた 6 から 8 週齢の S 群における CK 活性値の増加は、筋機能の低下にともなうエネルギーの減少の結果を反映するものであり、8 から 9 週齢における CK 活性の減少は Maeda ら^{1,2)}の報告にみられるような、筋組織そのものにおける發育の低下を反映している可能性が考えられる。

3. 下顎枝形態の変化について

実験動物を用いた頭蓋・顎顔面領域の成長發育に関する形態的研究では、乾燥頭蓋骨、頭部 X 線規格写真などの計測が主に行われている。本実験では X 線の入射方向、基準平面、計測部位が異なることなどから、頭部 X 線規格写真とは直接の比較はできない。しかし筋機能の低下による影響として下顎枝高の低下、および顎角の開大などの所見で一致した見解が得られた。

本実験でもちいた計測項目において、関節突起、下顎切痕、および筋突起での垂直成分距離の変動に關し、H 群が S 群を上回る傾向があり、これは 6 週齢から 7 週齢と比較的早い時期から認められる。しかしその後は飼育期間とともに H、S 両群間の差が大きくなる傾向は認められず、むしろ早い時期に生じた差がそのまま継続する傾向が認められた。そのことは、Table 1 に示す各週齢の平均値から得られる一次回復直線の比較からもうかがわれる。本来、成長發育を直線としてとらえることには問題があるが、本実験の観察期間でのラット下顎枝の変化に關しては、週齢と計測値との間に最も相関の低かった S 群の角突起垂直成分でも相関

Table 1 Regression line ($Y = b + aX$). (* $p < 0.05$)

| | | vertical | | horizontal | |
|------------------|-----------|----------------------|---------|-----------------------|---------|
| angular process | hard diet | $Y = 2.897 + 0.140X$ | (0.987) | $Y = 13.621 + 0.921X$ | (0.992) |
| | soft diet | $Y = 2.813 + 0.177X$ | (0.962) | $Y = 13.757 + 0.880X$ | (0.991) |
| condylar process | hard diet | $Y = 4.990 + 0.464X$ | (0.976) | $Y = 14.261 + 0.805X$ | (0.991) |
| | | * | | * | |
| | soft diet | $Y = 4.844 + 0.437X$ | (0.998) | $Y = 14.452 + 0.868X$ | (0.987) |
| mandibular notch | hard diet | $Y = 4.201 + 0.439X$ | (0.984) | $Y = 8.223 + 0.610X$ | (0.997) |
| | | * | | * | |
| | soft diet | $Y = 3.989 + 0.397X$ | (0.998) | $Y = 8.656 + 0.593X$ | (0.975) |
| coronoid process | hard diet | $Y = 6.505 + 0.477X$ | (0.970) | $Y = 9.014 + 0.652X$ | (0.999) |
| | | * | | * | |
| | soft diet | $Y = 6.204 + 0.494X$ | (0.999) | $Y = 9.565 + 0.651X$ | (0.978) |

() correlation coefficient
* $P < 0.05$

関係 0.962 であったことから直線の比較を試みた。その結果、関節突起、下顎切痕、および筋突起において y 切片にのみ有意の差が認められ、勾配係数には差が認められなかった。したがって飼料の物性の違いによる下顎枝形態の差は断乳後の初期の段階で最も大きく生じ、その後の増加量は H, S 両群でほぼ一致することが認められた。

一方、垂直成分距離とは逆に水平成分距離では下顎枝上方部の関節突起、下顎切痕、筋突起において S 群が H 群を上回る傾向が認められた。この傾向は、垂直成分距離と同様に比較的早い時期から認められ、その後の差が大きくなる傾向は認められない。一次回帰直線の比較でも垂直成分距離と同様に、y 切片のみに差が認められ、H, S 両群が類似した増加傾向のまま平行に推移していることが認められた。

このような下顎枝形態の相違が咀嚼機能の差により生じたものであると考える、環境要因が

頭蓋・顎顔面領域の成長に対し優性であることを示した functional matrix theory²⁹⁻³¹⁾ の概念からも理解できる。垂直成分距離での H 群と S 群の差は、機エネルギーが形態に直接反映した変化と考えられる。一方、水平成分距離の比較では、機エネルギーとして下回る S 群が H 群を上回っている。このことは発育不全が単に矮小化にとどまらず、下顎骨の外形上の変化にも影響を与えているものと思われる。すなわち S 群で認められる下顎枝高の低下、顎角の開大等により、結果的に水平成分距離で S 群が H 群を上回ったものと考えられる。(Fig. 13)

4. 下顎枝内部の変化について

筋機能の低下にともなう顎骨内部の変化について岩崎は¹³⁾、硬組織時刻描記法により、咬筋神経切断後の咬筋深層付着部の変化を検索し、付着部の骨の添加が減少することを報告している。本実験で観察した下顎枝の 3 部位において、H, S 両群ともに上部の側頭筋付着部、中央

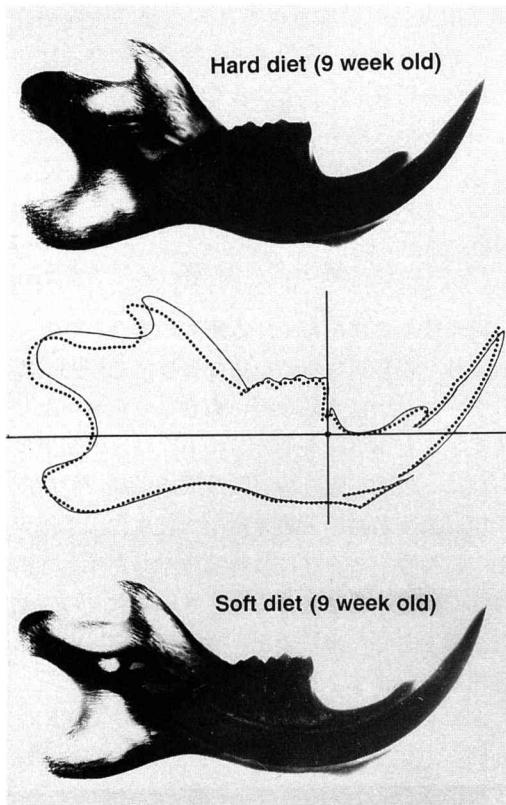


Fig. 13 Comparison of the mandible was made at the end of experiment (9 weeks old) between rats fed on hard diet and soft diet.

(—); hard diet, (···); soft diet

部の咬筋深層付着部および内側翼突筋付着部、下部の咬筋浅層付着部に著明な低石灰化像が認められ、特にH群で著明であった。粉食飼育と筋の支配神経切断とは、筋機能の低下に関しては類似するものの、外科的侵襲の有無、機能低下の程度などを比較するには問題も多い。しかし本実験での結果は岩崎¹³⁾の報告と非常に類似した現象として捉えられるものと考えられる。このことから筋付着部直下での骨の基質合成は他の部位に比較して顕著であり、筋機能の低下が基質合成の低下につながる事が十分に考えられ、本研究の結果はその可能性を示唆するものである。また、本実験では、筋付着部直下での低石灰化像は付着する筋の種類により低石灰化層の幅に相違がみられ、特に中央部で観察された下顎孔下方の内側翼突筋付着部におい

ては著明な低石灰化像が認められた。従来、咀嚼筋は、開口筋と拮抗し下顎骨を維持する機能を有している。なかでも前述したCK活性値からの筋の特性と機能量の推定からラットの内側翼突筋は、瞬発的な運動を主体とした咬筋、側頭筋に比べ、外側翼突筋とともに持続的な運動に関与する割合が高いものと思われる。

咀嚼機能の違いによる顎骨の成長発育の相違はさらに内方の海綿骨でも観察された。Wolffの骨の内部構造はそれに加えられる応力のパターンを表すという骨の法則によると、海綿骨は外力により骨に生じる内部応力の影響を受け、これに反応して骨梁構造を形成するものと考えられる³²⁾。大腿骨頭に認められる骨梁構造はこの典型例の一つとしてあげられている。この場合、大腿骨頭に生じる内部応力は、主として体重をささえることで生じる圧縮応力である。これに対し下顎枝では、解剖学的に関節包内の下顎窩と下顎頭の間スペースが存在すること、またここには関節円板が介在し、可動性および弾性を有することから、噛みしめ時あるいは咀嚼時に生じる圧縮力が単に上下的な圧縮応力であるとは考えにくい。したがって大腿骨頭と下顎枝では内部応力の性質が異なるものと思われる。

本実験では骨髓空隙および骨小腔周囲において類骨像ならびにその外周でテトラサイクリンの沈着が認められたが、このような現象は飼育期間をとおして全体的に固形食飼育群で著明に認められた。このことから下顎枝内部での骨梁形成には内部応力が多分に関与していることが考えられるが、H群とS群の骨梁構造の相違をもたらした要因が応力の大きさによるものなのか、あるいは咀嚼運動などにより生じる連続的な応力分布の変化であるのかに関しては、なお検討する必要があるものと思われる。

本実験では内部構造を観察するとともにその構成要素の占有率により検討を行ったが、各構成要素の占有率、およびその変動は部位により差が認められる。これは筋の付着状態の違いと筋の作動にともなう内部応力の分布の違いが影

響しているものと思われる。

H群とS群との比較では、特に上部および中央部の低石灰化骨の占有率に差が認められた。結果に示すとおり、低石灰化骨は下部も含め全体に週齢をとおして減少傾向を示すが、各週齢でのH,S両群間の比較では6週齢以降、低石灰化骨の占有率は常にS群がH群を上回っていた。

また、S群が下顎枝形態あるいは断面形態の大きさでH群を下回することを考慮すると、基質合成量がH群を上回することは考えられず、咀嚼筋機能の違いが下顎枝内部での石灰化に要する時間に影響を及ぼしていることを示唆するものと思われる。このことは、石灰化骨の占有率がH,S両群で同程度あるいはH群で上回ることから推定される。またテトラサイクリンの占有率からみてもH群が上回っており、骨形成がH群で優位であることは明らかである。一方、骨髓空隙の占有率でもH群がわずかに上回っていた。これらのことはH群の骨髓空隙の発達が骨組織同様活発であることを示すもので、H,S両群での咀嚼機能の差は骨の形成とともに骨髓空隙の発達、骨の吸収系への影響も含め、骨代謝全体に影響を及ぼすことが示唆される。

結 論

ラットを用いて軟食による咀嚼機能の低下が顎発育に及ぼす影響について検討した。

飼料の粉末化により咀嚼筋4筋の機能低下が生じ、同時に筋付着部での骨形成の低下が認められた。さらに海綿骨部でも骨形成の低下、石灰化の遅れ、骨髓空隙の未発達など、骨代謝全体の低下を示唆する所見が得られた。また下顎枝の形態計測により矮小化とともに形態的な相違が認められた。このことから軟食による咀嚼筋機能の低下は、局所的な代謝の低下による下顎枝の矮小化と、成長にともなう下顎の位置変化などから顎骨の形態変化を誘発することが示唆された。

レトルト食品、インスタント食品などの粉碎

加工型食品の増加とともに軟食嗜好傾向が高まっている今日、若年者の咀嚼器官の発達になんらかの影響が生じていることが予測される。このことから健全な咀嚼器官を育成する立場からは、機能面に重点をおいた育成が重要になるものと考えられる。

謝 辞

稿を終えるにあたり、本研究の機会を与えて下さり、ご懇篤なるご指導ならびにご校閲を賜りました石川富士郎教授に衷心より感謝いたします。また本実験を進めるにあたり、ご配慮ならびにご校閲を賜りました本学歯学部口腔解剖学第二講座名和橙英雄教授、口腔生化学講座太田稔教授、ならびに教養部数学一戸孝七教授に深く感謝の意を表します。さらに数々のご助言を頂きました歯科矯正学講座の皆様にご心から感謝いたします。

本論文の要旨は、第32回岩手医科大学歯学会例会(1991年、盛岡)ならびに第50回日本矯正歯科学会大会(1991年、大阪)にて発表した。

参 考 文 献

- 1) Maeda,N., Kawasaki,T., Osawa,K., Yamamoto, Y., Sumida,H., Masuda,T. and Kumegawa,M.: Effects of long-term intake of a fine-grained diet on the mouse masseter muscle. *Acta.Anat.* 128: 326-333, 1987.
- 2) Maeda, N., Sato, M., Osawa, k., Kawasaki, K., Masuda, T. and Kumegawa, M.: Postnatal development of the mouse temporal muscle and effects of a fine-grained diet on the muscle spindle. *Anat.Anz.* 165: 177-192, 1988.
- 3) Andres,V., Cusso,R.and Carreras,J.: Effect of denervation on the distribution and developmental transition of phosphoglycerate mutase and creatine phosphokinase isozymes in rat muscles of different fiber-type composition. *Differentiation* 43: 98-103, 1990.
- 4) Watt,D.G.and Williams,H.M.: The effects of the physical consistency of food on the growth and development of the mandible and the maxilla of the rat. *Am. J. Orthod.* 37: 895-928, 1951.
- 5) 河野寿一: 抜歯が顎・顔面頭蓋と顎関節の成長発育に及ぼす影響について, 歯学, 65: 457-500, 1977.

- 6) 菊池 哲: ラットの咬筋神経切断による下顎骨発育へ及ぼす影響について, 歯科学報, 77: 595-628, 1977.
- 7) 廬 俊雄: ラットの下顎神経切断による顎顔面発育へ及ぼす影響について, 歯科学報, 79: 2305-2365, 1979.
- 8) Beecher, R.M. and Corruccini, R.S.: Effects of dietary consistency on cranio facial and occlusal development in the rat. *Angle Orthod.* 51: 61-69, 1981.
- 9) 菊田 徹: ラット脳頭蓋および顔面頭蓋の成長発育に及ぼす食物の硬度の影響, 鶴見歯学, 11: 141-170, 1985.
- 10) Kiliaridis, S., Engstrom, C. and Thilander, B.: The relationship between masticatory function and craniofacial morphology. I A cephalometric longitudinal analysis in the growing rat fed a soft diet. *Eur. J. Orthod.* 7: 273-283, 1985.
- 11) Engstrom, C., Kiliaridis, S., and Thilander, B.: The relationship between masticatory function and craniofacial morphology. II A histological study in the growing rat fed a soft diet. *Eur. J. Orthod.* 8: 271-279, 1986.
- 12) Kiliaridis, S.: Muscle function as a determinant of mandibular growth in normal and hypocalcaemic rat. *Eur. J. Orthod.* 11: 298-308, 1989.
- 13) 岩崎智之: 咬筋神経切断後のラット下顎骨咬筋深層付着部の組織学的変化に関する研究, 日矯歯誌, 49: 118-131, 1990.
- 14) 深沢裕文, 坂本敏彦: 閉口運動に関与する筋群切除後のラット下顎骨の成長発育に関する形態学的研究, 日矯歯誌, 41: 521-530, 1982.
- 15) Vilmann, H., Juhl, M. and Kirkeby, S.: Bone-muscle interactions in the muscular dystrophic mouse. *Eur. J. Orthod.* 7: 185-192, 1985.
- 16) 深沢裕文: 閉口運動に関与する筋群切除後のラット下顎頭の成長発育に関する研究, 日矯歯誌, 39: 303-318, 1980.
- 17) 黒江和斗: 下顎頭と下顎窩の加齢変化に及ぼす咀嚼の影響, 日矯歯誌, 50: 196-209, 1991.
- 18) 金 俊熙: 液状飼料がマウス顎下腺の発達と老化に及ぼす影響, 日矯歯誌, 49: 73-86, 1990.
- 19) 吾郷昭夫, 鈴木秀作, 濱道真由美, 佐畑ひとみ: 飼料による実験動物への影響VI. マウス唾液腺に及ぼす飼料硬度の影響について, 実験動物技術, 26: 46-52, 1991.
- 20) Oliver, I.T.: A spectrophometric method for the determination of creatine phosphokinase and myokinase. *Biochem. J.* 61: 116-122, 1955.
- 21) Villanueva, A. R.: A born stain for osteoid seams in fresh, unembedded, mineralized bone. *Stain Technol.* 49: 1-8, 1974.
- 22) 紺野俊幸, 高橋栄明: 非脱灰骨標本の作成法, 高橋栄明編集, 骨形態計測ハンドブック, 西村書店, 新潟, 28-33頁, 1983.
- 23) 花田晃治: 頭部X線規格写真によるラットの顎顔面頭蓋の成長発育に関する研究, 口病誌, 43: 18-74, 1967.
- 24) 関本恒夫, 大竹章夫, 鈴木啓之, 柏木朗男, 宮尾真知子, 河野寿一, 原 秀一, 河内慶子, 服部吉秀, 渋井尚武: ラットの下顎・顔面頭蓋の成長発育に関する研究, 歯学, 65: 647-667, 1977.
- 25) Rothwell, N.J. and Stock, M.J.: A paradox in the control of energy intake in the rat. *Nature* 273: 146-147, 1978.
- 26) 庄司進一: クレアチンキナーゼ (CK), 日本臨牀 47 (増刊: 広範閉血液・尿化学検査, 免疫学的検査-上): 285-287, 1989.
- 27) 金井正光: クレアチニンフォスフォキナーゼ, 臨床医 9 (増刊): 1854-1858, 1989.
- 28) Andres, V., Cusso, R. and Carreras, J.: Distribution and developmental transition of phosphoglycerate mutase and creatine phosphokinase isozymes in rat muscles of different fiber-type composition. *Differentiation* 41: 72-77, 1989.
- 29) Moss, M.L. and Rankow, R.M.: The role of the functional matrix in mandibular growth. *Angle Orthod.* 38: 95-103, 1968.
- 30) Moss, M.L. and Salentijn, L.: The primary role of functional matrices in facial growth. *Am. J. Orthod.* 55: 566-577, 1969.
- 31) Moss, M. L. and Salentijn, L.: The capsular matrix. *Am. J. Orthod.* 56: 474-490, 1969.
- 32) William, R.P.: 作田 守監修プロフィットの現代歯科矯正学 第1版, クインテッセンス出版, 東京, 199-226ページ, 1989: 第8章 矯正歯科治療計画の立案: 限界と特殊な問題