

学位論文内容の要旨

愛知学院大学

論文提出者

黒木 梢

論文題目

液状飼料飼育がウサギ内側翼突筋線維の成長に
与える影響

I. 緒言

顎顔面骨および咀嚼筋の成長は、機能的負荷の低下の影響を受けやすいとされる。軟食化傾向や、不正咬合による咀嚼機能の低下は、筋線維の廃用性萎縮などを引き起こし、顎口腔機能や顎骨形態の成長発育に、悪影響を及ぼすことが懸念される。内側翼突筋は、下顎の挙上だけでなく側方移動させる時にも強く働き、グライディング運動を伴う咀嚼運動において、特に重要な役割を果たす。したがって吸綴からグライディング運動へと摂食時の運動パターンが変化する過程での内側翼突筋の変化を把握することは、顎顔面の発育と内側翼突筋の関係を理解する上で重要である。本研究では、液状飼料飼育による機能的負荷の低下を与えたウサギ内側翼突筋の経時的な成長発育変化を検討した。また、正常な機能的負荷を与えたウサギ内側翼突筋と比較を行い、成長発育に及ぼす影響についても検討した。

II. 飼料ならびに方法

1. 飼料

日本白色種ウサギの雄を生後 4 (離乳前)、9、12、18 (青年期)、33 (成獣期) 週齢の 5 群で各群 6 羽を用いた。離乳期 (生後 5 週齢) より、粉末飼料を篩にかけ 250 μm 以下の微粒粉末にしたものと粉末ミルク (60g) を 60°Cのお湯に溶かし適温まで冷ましたものを用い液状飼料飼育を行った。飼料の量は、10 週齢までは体重の増加に合わせて調節し、10 週齢以降は 1 日 100g に一定とする制限給餌を行い、水は自由に与えた。予定週齢に達した

ウサギを深麻酔にて安楽死させ、内側翼突筋を摘出した。筋は横断切片を得るために表層筋線維の走行に垂直に中央部で分割し、液体窒素で冷却したイソペンタン中で凍結固定し、 -80°C で保存した。

2. 研究方法

1) 組織化学的解析

-20°C に設定したクリオスタット内で筋中央部横断面の厚さ $7\mu\text{m}$ の連続切片を作製した。mATPase 染色法を行い、タイプ I、IC、IIC、IIA、IIAB、IIB に分類した。マウスモノクローナル抗 MHC slow 抗体およびマウスモノクローナル抗 MHC fast 抗体を用いた免疫組織染色を行い、mATPase 染色の切片と比較した。

2) 計測方法

解剖学的層構造を考慮し、10 箇所を計測部位とし、各部位毎に 70 本の筋線維を測定し、筋線維タイプを判別し、本数、直径を計測した。統計処理は、一元配置分散分析と多重比較 (Tukey-Kramer) にて群内比較、群間比較を行った。各検定の有意レベルは危険率 5%で行った。また、先行研究の固形飼料飼育のデータを用い、比較検討を行った。

III. 結果

1. 体重の成長発育

固形飼料群、液状飼料群とも体重は、4 週齢から 33 週齢時まで増加し続け、33 週齢時の体重は固形飼料群では $3000.0\pm 40.8\text{g}$ 、液状飼料群では

2950.0±50.0gであった。いずれの週齢においても固形飼料群と液状飼料群の間で体重に有意差は認めなかった。

2. 内側翼突筋筋線維直径の変化

1) 筋線維直径の液状飼料による経時的変化

液状飼料群では18週齢から33週齢の期間で直径の有意な増大を認めたのはタイプIIBのみで、タイプIIA、IIABは18週齢まで、タイプIICは9週齢までしか直径が増大しなかった。タイプI、IC線維は4週齢以降のいずれの週齢も直径に有意差を認めず、明らかな直径の増大を認めなかった。

2) 筋線維直径の固形飼料群と液状飼料群の比較

9週齢時には、タイプI線維とタイプIC線維は、液状飼料群の固形飼料群の68.8%および73.7%までしか成長しておらず、有意差を認めた。しかし、タイプIIC、IIA、IIAB線維に有意差を認めなかった。12週齢および18週齢においては、液状飼料群のタイプI線維直径は、固形飼料群に対し12週齢で65.5%、18週齢で79.0%までしか成長せず、いずれも有意差を認めた。33週齢時では全ての筋線維タイプにおいて、液状飼料群の方が有意に直径が小さくなった。したがって、固形飼料群に対し液状飼料群の筋線維直径は、特に遅筋線維が強く萎縮する傾向を認めた。

3. 内側翼突筋筋線維タイプ構成比率の変化

1) 筋線維タイプ構成比率の液状飼料群の経時的変化

液状飼料群の構成比率では有意な減少が認められたのは 4 週齢時から 9 週齢時の期間のみであったが、タイプ I 線維の割合は 9 週齢時ですでに $2.8 \pm 1.0\%$ に減少し、33 週齢時には $0.8 \pm 0.4\%$ となった。タイプ IC 線維は、液状飼料群では経時的には有意な変化を認めなかった。タイプ IIC 線維は、12 週齢時と比較し 33 週齢時に有意な減少を認めた。タイプ IIA 線維は成長に従い減少する傾向を認め、33 週齢時には $23.8 \pm 10.0\%$ と 4 週齢時と比較して有意な減少を認めた。タイプ IIAB 線維は 4 週齢時には観察されず、9 週齢時から観察され、それ以降は経時的に増加する傾向を認め、9 週齢時と 33 週齢時の間に有意差を認めた。タイプ IIB 線維も 9 週齢以降で発現を認め、18 週齢から 33 週齢にかけての期間で有意な増加を認めた。

2) 筋線維タイプ構成比率の固形飼料群と液状飼料群の比較

9 週齢時においてタイプ I、IC 線維の割合は固形飼料群と比較し、液状飼料群において有意に減少した。特に液状飼料群のタイプ I 線維は、固形飼料群を 100% とすると 23.7% まで減少していることとなり、著しい減少を認めた。一方、タイプ IIC、IIAB 線維は液状飼料群の方が固形飼料群よりも有意に増加したが、タイプ IIA 線維の構成比率には有意差を認めなかった。12 週齢時では、液状飼料群におけるタイプ I 線維の減少とタイプ IIC 線維の増加を認めたが、他の筋線維タイプでは有意差を認めなかった。18 週齢時では、液状飼料群において有意にタイプ I、IC 線維の構成比率が小

さくなくなった。そして、33週齢時ではタイプI線維のみ液状飼料群の方が有意に構成比率が小さかった。

IV. 考察

1. 液状飼料飼育による体重の変化が内側翼突筋筋線維に与える影響

4週齢から33週齢までの期間を通じて、固形飼料群と液状飼料群の間に有意な体重の違いは認めなかった。したがって、本実験で認められた内側翼突筋の筋線維直径の減少は発育状態の違いによる変化ではなく、食物性状の違いにより内側翼突筋への機能的負荷が低下したことによるものだと考えられる。

2. 筋線維直径の変化

33週齢時に全ての筋線維タイプで液状飼料群の直径が減少していたことから、液状飼料飼育は内側翼突筋の正常な成長を妨げ、特に遅筋線維に強い影響を及ぼすことが明らかとなった。骨格筋への機能的負荷の低下は廃用性筋萎縮を引き起こし、筋線維の直径を減少させることが知られている。固形飼料の咀嚼では、固い食物を粉砕する必要があるため、大きなグラインド運動を伴うのに対し、液状飼料の摂食は、下顎の開閉口運動のみで側方運動は伴わないリッキングによって行われるとされる。したがって、本研究における内側翼突筋筋線維直径の減少も食物の粉砕やグラインド運動を行わなくなったことによる、機能的負荷の著しい減少の結果、生じたものであると考えられた。内側翼突筋の場合は、咬合相の中期の下顎のグラ

インド運動時に働いており、食物を粉砕する時ほどの強い力を必要とせず等張性収縮に近い運動であると考えられ、遅筋的な筋線維が活動の主体であると推察される。したがって、液状飼料の摂取のように、グラインド運動のような下顎の側方運動を伴わない場合、内側翼突筋においては、タイプ I などの遅筋の活動を著しく減少させることになるかと予想される。つまり液状飼料飼育では、咬筋と異なりもともと活動の主体であった遅筋の活動頻度が著しく減少したことが、本研究において見られた内側翼突筋の遅筋線維の強い萎縮を引き起こしたと考えられた。

3. 筋線維タイプ構成比率の変化

液状飼料群では固形飼料時と比べて特に 4 週齢から 9 週齢にかけてのタイプ I 線維の減少が顕著で、この期間では液状飼料群にタイプ IIAB、IIB の有意な増加も見られた。このことから機能的負荷の減少は成長初期の段階において強い速筋化を引き起こすことが示された。一般に骨格筋への機能的負荷が減少した場合、筋線維タイプは速筋化が進むことが知られている。閉口筋においても負荷や使用頻度が十分に減少した場合には同様の変化が起こると推察される。本研究では、液状飼料にて飼育を行ったが、液状飼料の摂食は主にリッキングにより行われることから側方運動自体伴わない顎運動パターンが主体となる。したがって、内側翼突筋では離乳直後から一貫して強い速筋化を引き起こしたのではないかと考えられる。

4. 液状飼料飼育による内側翼突筋の変化が顎顔面骨格に与える影響

粉末飼料飼育を行ったウサギを用いた研究では、頬骨弓の幅径の減少や下顎角の開大が報告されている。今回の結果から、内側翼突筋は全ての筋線維タイプにおいて廃用性筋萎縮が認められ、粉末飼料飼育を行ったウサギと比較しても強く廃用性筋萎縮が生じていた。また、志賀はヒトの咬筋と内側翼突筋に対する筋線維の付着走行について検討し、咬筋が頭蓋に対して垂直的に付着しているのに対し、内側翼突筋は斜めに付着していることを報告している。これらのことを考えると、咬筋と内側翼突筋とでは食物性状の変化が与える影響の大きさが異なることが考えられた。したがって、食物性状の変化による内側翼突筋の機能的負荷の低下は顎顔面骨格の幅にも影響を及ぼす可能性が推測される。

V. 結論

成長期の咀嚼機能に対する負荷の低下は、正常な内側翼突筋筋線維の成長発育を大きく変化させる。このことより不正咬合や食物性状の変化などによる機能的負荷の低下は、顎顔面ならびに口腔領域の正常な成長発育を阻害する可能性が示唆された。