

## ラットの終日咀嚼筋活動に関する筋電図学的研究

石塚 泰男, 丹根 一夫

### An Electromyographic Study of Masticatory Muscle Activity during Whole Day in Rats

Yasuo Ishizuka, Kazuo Tanne

(平成7年3月31日受付)

#### 緒 言

歯科矯正学における重要な問題に、顎口腔機能と顎顔面形態の問題がある。両者の関連性を明らかにするために、従来種々の研究が動物やヒトを対象として行われてきた。このうち、ラットは入手し易い実験動物であるため、様々な研究で多用され、顎骨や咀嚼筋の形態、機能<sup>1,2)</sup>ならびに摂食や摂水行動に伴う顎運動および咀嚼筋活動などが明らかにされてきた<sup>3-9)</sup>。

一方、動物の活動や生理機能には昼夜に応じた日内変動のあることがよく知られている。この点を解明するために、給餌、給水量の変化やセンサーに対する反応を測定することにより、行動の日周期が論じられてきた。その結果、夜行性の齧歯類では、その多くは夕刻より夜半にわたって活発な活動を繰り返すことが明らかにされた<sup>9-14)</sup>。しかし、顎運動を直接測定することによって、終日にわたる動物の行動を検討した研究は少なく<sup>9)</sup>、摂食、摂水以外のすべての行動時における顎運動あるいは咀嚼筋活動について、どのような特徴があるのかほとんど明らかにされていない。

本研究では、終日筋電図採得分析システム<sup>15)</sup>のラットへの応用の適否について検討するとともに、ラットの咬筋筋電図を24時間連続して記録し、終日の筋活動を定性的、定量的に明らかにすることを目的とした。

#### 材料および方法

##### I. 実験材料

実験には5~7週齢のWistar系雄性ラット(体重

120~250g) 6匹を用いた。電極にはポリエチレンチューブ(外径0.8mm)で被覆されたステンレス線(直径0.2mm)を用いた。ラットにベントバルビタールナトリウム50mg/kg(ネプタール1ml/kg, ダイナボット社)と硫酸アトロピン0.5mg/kg(硫酸アトロピン注射液タナベ1ml/kg, 田辺製薬)の混合液をラット腹腔内に注入し、全身麻酔下で頭部皮膚を剥離後、記録用の相極電極を左側咬筋浅層筋腹中央部まで皮下を貫通させ、その断端を筋膜上に設定した。記録用電極の位置は被験筋の走行と平行に3mm間隔とし、皮下での安定をはかるため頬骨弓に縫合、固定した。不関電極は頭部皮下に埋設し、記録用電極とともに歯科用アクリリックレジンおよび歯科用セメントで頭蓋骨に接着、固定した。なお、筋電図の記録を行う前に一週間の回復期間を置いた。

電極の損傷を防ぐために、ラットを一匹ずつケージに入れ飼育した。動物飼育室内は蛍光灯による人工照明を行い、点灯は8時、消灯は20時とした。水および飼料(固形飼料MF, オリエンタル酵母工業)は十分に与え、自由に摂取できるようにした。

##### II. 筋活動の記録および分析方法

筋電図の記録は動物飼育室内において行った。この際、できる限りラットの自由な運動を拘束しない状態を考慮したが、装置の破損を避けるためケージ内にアクリル板を挿入し、ラットが前後方向へのみ移動できるようにした。

咬筋筋電図は、終日筋電図採得分析システム<sup>15)</sup>を用いて、連続24時間にわたり記録した。動物舎内で安定した筋電図の記録を行うためには交流障害をはじめとしたノイズの混入を防ぐ必要がある。そこで電極からの距離を可及的に短くした状態で小型生体アンプ(HDX-82, オックスフォード; 規格DC~800Hz

広島大学歯学部歯科矯正学講座(主任:丹根一夫教授)本論文の要旨は平成6年12月の第42回国際歯科研究学会日本部会(JADR)総会において発表した。

(±3 dB) に接続した。増幅された信号はダイレクトアンプを組み込んだ携帯用データレコーダ (HR-30 J, ティアック; 規格 25~280 Hz (±3 dB)) に記録した。この装置ではテープ速度 1.5 mm/sec で、90分テープ1本に24時間の記録が可能である。

記録した筋電図はフィルターを介して平滑化し (図1), A/D コンバータを用いてサンプリングタイム 500 $\mu$ sec でパーソナルコンピュータのメモリに収録した後、集計を行った。筋活動量の集計に際しては、スライスレベルを 100 $\mu$ V に設定し、それ以上の電位を示したバーストの個数および持続時間を算出した (図2)。

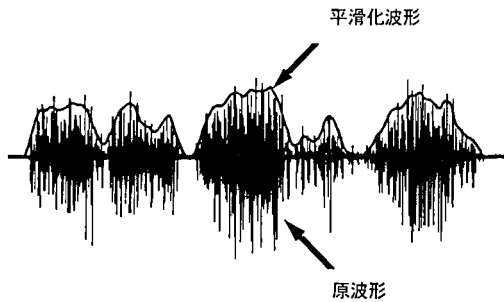


図1 筋電図の原波形とフィルタによる平滑化処理後の出力波形との重ね合わせ。

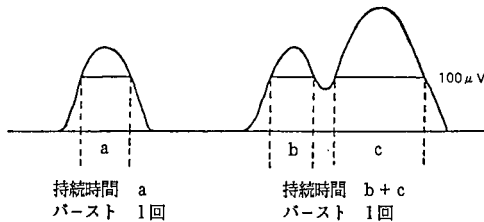


図2 バーストの持続時間と出現回数の求め方。  
左の波形では、あるスライスレベルでの持続時間を a, バーストを 1 回とし、右のように多峰性の波形では、持続時間を b+c, バーストを 1 回と数えた。

時間帯ごとの筋活動の終日筋活動に対する割合は t-検定を用いて比較検討した。また、時間帯ごとの咬筋バーストの持続時間の平均の比較は Wilcoxon 検定を用いて統計学的に検討した。

### 結 果

終日の筋活動の記録、分析を行うに先立って、ラットの咬筋バーストのパワースペクトルを求め、その周波数特性を検討した。安静時に比較的持続時間の長い

筋放電を示す部分および固形飼料摂食時のリズムカルな筋放電を示す部分では最大のピークを明瞭に認める、比較的集中した周波数分布を呈した。また、毛づくろい行動時には多様な筋放電を示し、周波数分布は低域から高域まで幅広く存在した。各行動時の周波数分布は大きな変動を示したが、ピーク周波数はいずれも 100~250 Hz の範囲にあった (図3)。

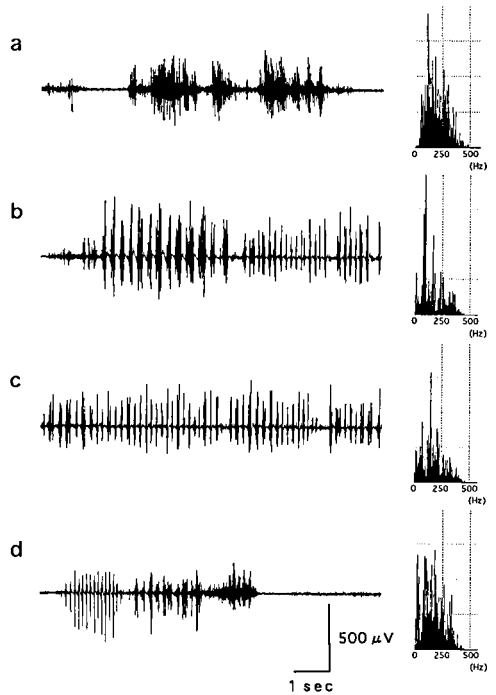


図3 咬筋筋電図の原波形とパワースペクトルの1例。それぞれ10秒間のバーストについてパワースペクトルを求めた。

- a: 安静時に見られる比較的持続時間の長いバースト
- b: 摂食時に見られるリズムカルなバースト (咀嚼運動初期)
- c: 摂食時に見られるリズムカルなバースト (咀嚼運動中期)
- d: 毛づくろい行動時に見られるバースト

バーストの大きさは各個体により違いがみられたが、最大電位はほぼ 400~500 $\mu$ V の範囲にあった (図3)。100 $\mu$ V を超える電位を示したバーストには個体差が認められたが、平均すると終日で35065回、その総持続時間は3086秒であった (図4 a, b)。

時間帯ごとの筋活動量の終日筋活動に対する割合について、バーストの出現回数および総持続時間を4時間ごとに集計した。終日に占める暗期 (20~8時) の筋活動時間の割合は64.9%で、明期 (8~20時) では

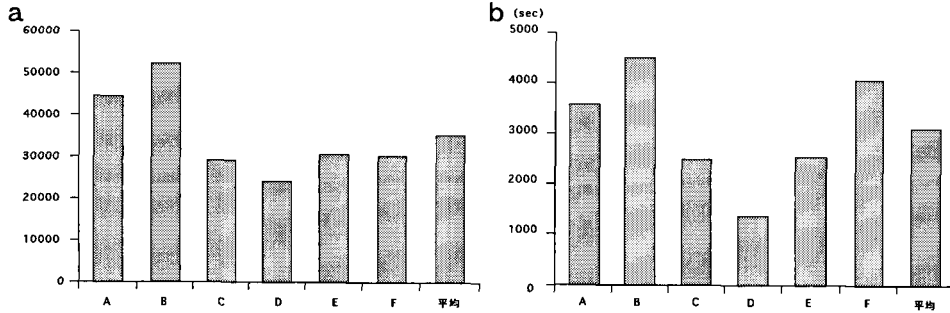


図4 各個体の咬筋活動量と平均値。  
終日咬筋バーストの出現回数 a および総持続時間 b。

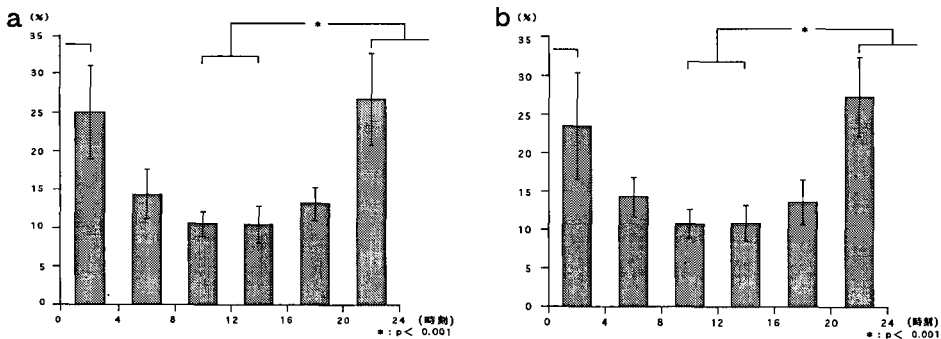


図5 時間帯ごとの咬筋活動量。  
咬筋バーストの出現回数 a および総持続時間 b について4時間ごとに集計し、終日に占める割合を調べた。

35.1%であった。時間帯でみると、バーストの出現回数および総持続時間のいずれについても、20～4時では大きな値が、8～16時では小さな値が認められた。また、4～8時および16～20時は両期の境界域を示した(図5 a, b)。そこで以下については、暗期を20～4時、明期を8～16時として、筋活動の比較を行った。その結果、咬筋バーストの出現回数および総持続時間のいずれにおいても0.1%の危険率で両者の間に有意差が認められた。

バーストを持続時間の長さに応じて分類し、各範囲の出現回数がそれぞれの時間帯に占める割合を調べると、明期と暗期のいずれにおいても32～128 $\mu$ secの範囲にほとんどのものが含まれていた。特に、約40%のバーストが64～96 $\mu$ secの範囲にあった。一方、バーストの平均持続時間は暗期で85.6 $\pm$ 22.9 $\mu$ sec、明期で92.1 $\pm$ 32.3 $\mu$ secとなり、暗期の方が5%の危険率で明期よりも有意に小さな値を示した。また、その分布についても、明期では持続時間の長いものまで広く認められたが、暗期では短くなる傾向を示した(図6)。

## 考 察

### I. 研究方法について

#### 1. 実験方法

動物の活動には通常日周変動があり、摂食、摂水や睡眠などの行動のほか、生理機能にも明暗と関係して昼夜のリズムがあることがよく知られている。夜行性の齧歯類では、行動の日周期に系統差が存在するとされてはいるものの<sup>10,12,13)</sup>、その多くは夕刻より夜半にかけて活発な活動を繰り返すことが報告されている<sup>9-13)</sup>。終日の活動や行動の日周期について、従来は給餌、給水量の変化<sup>13,14)</sup>やセンサーに対する反応<sup>12)</sup>を測定した結果から論じられてきた。しかし、給餌、給水量の変化では、摂食、摂水などの行動を結果として捉えることになるため、顎運動や咀嚼筋活動そのものを直接評価することが困難であった。また、摂食、摂水以外の行動に伴う咀嚼筋活動については適当な測定方法がなく、まったく検討されていない。

従来より、ラットの顎運動のような小さな動きを計測する場合、X線映画法<sup>3,4)</sup>や筋電図法<sup>5-7)</sup>などが用

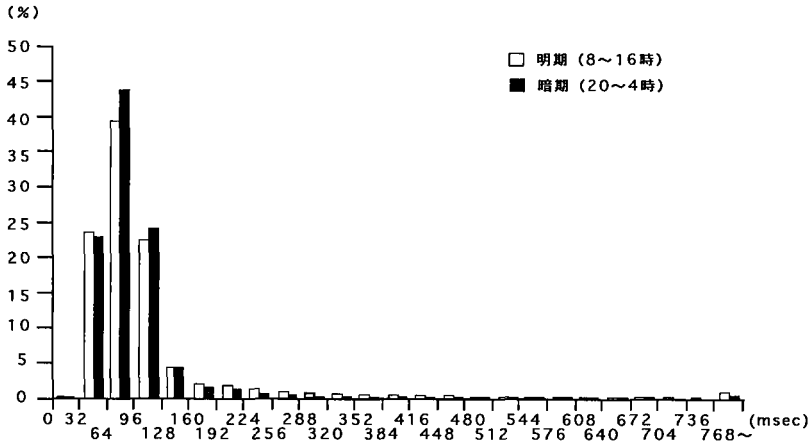


図6 咬筋バーストの持続時間の分布。  
バーストを持続時間の長さによって分類したときのそれぞれの時間帯における各範囲の出現率を表す。

いられてきた。筋電図を用いた研究では、Weijs ら<sup>5)</sup> がラットの下顎運動と咀嚼筋活動の関係を、Thomas ら<sup>6)</sup> は食物の種類によって、咀嚼筋の活動パターンに差異があることを、それぞれ報告した。しかし、ほとんどの研究は特定の行動を短時間についてのみ記録し、分析しようとしたものであり、終日にわたる行動について、顎運動を直接検討したものは少なく、唯一平川ら<sup>9)</sup> の報告が見られるに過ぎない。また、従来より一般的に行われている原波形をそのまま利用する方法では、長時間の筋電図を記録、分析するために膨大な量のデータ処理が必要になる。

本研究では終日筋電図採得分析システム<sup>15)</sup>を用い、咀嚼筋の中で最大の機能能力を発揮する咬筋の筋活動を記録、分析することによって咀嚼筋活動の検討を行った。本システムを用いることにより、終日の筋電図の記録に際し、テープの交換の必要がなくなり、また筋電図の再生時にフィルタを介して平滑化を行うことにより、扱うべきデータ量の減少が可能になった。

## 2. 筋電図の測定について

筋電位の導出に際して、単極誘導では関電極と不関電極との間の電位差を導出することになるため、電極間距離が大きくなり、アーチファクトの混入を招来しやすい。また被験筋以外の筋の活動電位の重量が生じるため、ラットの咬筋のように狭い範囲の筋活動を記録するためには相極誘導の方が適している。このような観点より、本研究では相極誘導による筋電位の導出を行った。

筋活動の記録に際しては、連続24時間にわたる記録を目的として、終日筋電図採得分析システム<sup>15)</sup>を用いた。本システムにおいては、携帯用データレコーダ

の周波数特性(規格 25~280 Hz ( $\pm 3$  dB))に依存し、すべての周波数の筋放電の記録は不可能である。しかし、予備実験の結果から、咀嚼運動時や安静時における咬筋バーストのピーク周波数はこの範囲に含まれており、ほとんどの筋放電を捉えることの可能性が示された。さらに、本システムでは記録した筋電図を再生する際に平滑化処理を施すことにより、多数の運動単位の干渉波からなる一群のバーストを一回の筋活動として捉えるが、筋活動時のピーク周波数を含め、その前後の周波数を記録すれば、平滑化処理後の波形に大きな差は生じないものと考えられる。

また、筋活動量の集計に際してのスライスレベルの設定では、ノイズの混入を避け、かつある程度の筋活動を伴うバーストの集計を行うことを目的としたために、最大電位の1/4~1/5に相当する 100  $\mu$ V をその指標として選んだ。

## II. 研究結果について

### 1. 終日の咬筋活動量

咀嚼筋の活動は摂食時のみならず、摂水時や毛づくろい行動時などにも認められる。従来、これらの際の咀嚼筋筋電図について行動の違いによる筋活動の差異や咀嚼筋の種類による筋活動パターンの変化が報告されている<sup>5-7)</sup>。

一方、終日の筋活動について平川ら<sup>9)</sup> は全顎運動時間は9時間3分で、そのうち摂食行動は1時間44分、摂水行動は15分、毛づくろい行動は7時間4分であったと報告している。本研究において、100  $\mu$ V を超える電位を示したバーストの総持続時間は3086  $\pm$  1067秒であった。100  $\mu$ V を超える電位は全筋活動の一部で

はあるが、摂食行動のみならず、その他の行動時にも生じると考えられる。本研究における結果と平川らの報告とで顎運動時間に大きな差がみられたのは、本研究ではスライスレベルとして設定した  $100\mu\text{V}$  におけるバーストの総持続時間を集計しているのに対して、平川らは一連のバーストをインターバルも含めて顎運動時間として集計しているためである。

## 2. 咬筋活動の日内変動

咬筋バーストの出現回数および総持続時間は、いずれも20~4時における大きな値と、8~16時における小さな値を呈した。また、4~8時および16~20時は両期の境界域を示した。照明条件は8~20時が明期で、20~8時が暗期であったことから、筋活動と照明条件には数時間のずれが認められた。栗原<sup>12)</sup>は誘導電波感応方式測定法を用いてラットの自発運動を測定し、明期に低く暗期に高い、明暗周期に同調した規則的な日周パターンを描くことを報告している。斎藤ら<sup>13)</sup>はマウスの飲水行動量(リッキング回数)を調べ、同様の報告をしている。一方、平川ら<sup>9)</sup>は筋電図をもとにラットの顎運動の日内変動を検討し、行動量と明暗リズムの間に約2時間のずれがあったと報告している。本実験でも咬筋活動量を測定した結果、従来の報告と同様に明暗周期との間に数時間のずれはあるものの、暗期に減少し明期に増加する規則的な日周変化が明かとなった。

終日に占める暗期の筋活動時間の割合は64.9%で、明期のそれは35.1%であった。この結果は夜間顎運動率が63.1%であったとする平川ら<sup>9)</sup>の報告とほぼ一致していた。

## 3. 咬筋活動の持続時間

咬筋バーストの平均持続時間は暗期で85.6 msec、明期で92.1 msec となり、わずかに暗期の方が短くなる傾向にあった。Thomas ら<sup>6)</sup>は異なる種類の飼料を摂取させた際の咀嚼筋筋電図を記録し、大きなベレット状の飼料の場合、咬筋では持続時間が  $99 \pm 6$  msec であったと報告している。また、平川ら<sup>9)</sup>は咀嚼過程の進行にともなって筋電図のパターンが変化することから<sup>8)</sup>、一連の摂食行動の中期の咬筋バーストの持続時間を調べ、 $102.0 \pm 15.5$  msec と述べている。これらの値は本実験で最も多い出現率を認めた64~96 msec の範囲よりもわずかに長いものであった。この理由としては、スライスレベルの高さの違い、すなわち、 $100\mu\text{V}$  以上の値を示したバーストについてのみ、持続時間を算出したことが挙げられる。

その他の行動時のバーストの持続時間について、摂水時の  $32.5 \pm 5.1$  msec、毛づくろい行動時の  $39.5 \pm 2.4$  msec (持続時間の短いもの) ないし  $120.0 \pm 12.6$

msec (持続時間の長いもの) および安静時の  $4.5 \pm 1.8$  sec という報告<sup>9)</sup>があるが、これらは摂食時のように高い電位を示さないため、さらに短い計測値となったと考えられる。

本研究ではスライスレベルを  $100\mu\text{V}$  と設定したため、集計された値の多くは摂食行動に伴うものであったと考えられる。しかし、明期と暗期では持続時間の分布にわずかながら差異が認められ、明期では持続時間のかなり長いバーストまで認められた。暗期では、筋活動量の著しい増加を考慮すると、摂食行動を中心とする持続時間の比較的短いバーストの割合が相対的に増加するために、持続時間の長いものの割合が減少したものと考えられた。

## 結 論

Wistar 系雄性ラットの終日にわたる咬筋筋電図を24時間連続して記録し、咀嚼筋活動の標準的な様相について明らかにした。

1. 咀嚼時や安静時にみられる咬筋バーストの周波数分布は大きな変動を示したが、ピーク周波数は  $100\sim 250$  Hz の範囲にあった。

2.  $100\mu\text{V}$  を超える電位を示したバーストは終日で35064回あり、その総持続時間は3086秒であった。

3. 咀嚼筋活動には日周期が存在し、暗期の活動は増加することが認められた。

4. バーストの平均持続時間は明期と比較して、暗期にはわずかに短くなっていた。これは摂食行動の増加に伴い、持続時間の比較的短い筋活動の割合が高まるためと考えられた。

## 文 献

- 1) Chong, D.A. and Evans, C.A.: Histologic study of the attachment of muscles to the rat mandible. *Arch. Oral Biol.* 27, 519-527, 1982.
- 2) Chong, D.A., Evans, C.A. and Heeley, J.D.: Morphology and maturation of the periosteum of the rat mandible. *Arch. Oral Biol.* 27, 777-785, 1982.
- 3) Weijs, W.A.: Mandibular movements of the albino rat during feeding. *J. Morphol.* 145, 107-124, 1975.
- 4) Hiiemae, K. and Ardran, G.M.: A cinefluorographic study of mandibular movement during feeding in the rat (*Rattus norvegicus*). *J. Zool.* 154, 139-154, 1968.
- 5) Weijs, W.A. and Dantuma, R.: Electromyography and mechanics of mastication in the albino rat. *J. Morphol.* 146, 1-34, 1975.
- 6) Thomas, N.R. and Peyton, S.C.: An electromyographic study of mastication in the fleely-moving

- rat. *Arch. Oral Biol.* **28**, 939-945, 1983.
- 7) Thomas, N.R. and Peyton, S.C.: Relationship of masseter electromyographic activity to mandible position in the fleely-moving rat. *Arch. Oral Biol.* **28**, 1043-1046, 1983.
  - 8) Thexton, A.J. and Hiimae, K.M.: Masticatory electromyographic activity as a function of food consistency. *J. Dent. Res.* **54** (special issue A): 193, 1975.
  - 9) 平川輝行, 本田栄子, 原 巖, 中村修一, 中原 敏: 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.
  - 10) 辻敬一郎, 海老原史樹文: 齧歯類の行動と遺伝—マウスの研究を中心に—. 代謝 **17**, 495-508, 1980.
  - 11) 山内忠平, 野村達次: 実験動物の生体学; 実験動物学総論 (田嶋嘉雄編). 朝倉書店, 東京, 151-184, 1972.
  - 12) 栗原 久: F344/DuCrj (Fischer) 系ラットの行動特性; 自発運動および条件回避反応習得過程について. 実験動物 **29**, 327-333, 1980.
  - 13) 斎藤 徹, 勝山 慎, 海老野耕一, 高橋和明: 雄マウスにおける飲水行動量 (リッキング回数) パタンの日周期リズムについて. 実験動物 **29**, 359-363, 1980.
  - 14) Zucker, I.: Light-dark rhythms in rat eating and drinking behavior. *Physiol. Behav.* **6**, 115-126, 1971.
  - 15) 山田建二郎, 須ノ内勇次郎, 渡辺八十夫, 石田真奈美, 宮本圭介, 蔡 吉陽, 米田尚登, 山田哲郎, 山内和夫: 終日筋電図採得分析システム. 広大歯誌 **25**, 332-336, 1993.