



Title	発達期の吸啜・咀嚼運動における咀嚼筋活動の縦断的解析
Author(s)	山田, 雅治
Citation	大阪大学, 2024, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/95993
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

学位論文

発達期の吸啜・咀嚼運動における 咀嚼筋活動の縦断的解析

山田 雅治

大阪大学大学院歯学研究科

口腔科学専攻 歯科麻酔学講座

指導教員：加藤 隆史教授（口腔生理学講座）

緒言

吸啜と咀嚼とはヒトを含む哺乳類における摂食運動であり、顎のリズム運動である。出生時、哺乳類は栄養を吸啜運動によって母乳から摂取するが、離乳を期に摂食運動は吸啜から咀嚼へ移行する。咀嚼運動は固形物を切断・破碎し、嚥下に適した形状の食塊を形成するリズム運動である。哺乳類は咀嚼運動を獲得することで、様々な食性のものを摂取できるようになる。摂食運動における吸啜から咀嚼への移行は、過去の研究においてモルモット (Iriki A et al., 1988) やラット (Westneat MW et al., 1992 ; Thiels E et al., 1990), ウサギ (Wessel T et al., 2006), イヌ (Iinuma M et al., 1991), ブタ (Thexton AJ et al., 1998) など様々な哺乳類で共通して観察されていることから、哺乳類に共通する基本的な発達過程であると考えられる。吸啜から咀嚼への移行に伴うリズム運動や咀嚼筋活動の研究は様々な動物で行われてきた。Iinuma らはイヌを用いて、歯の萌出前に上歯槽神経と下歯槽神経を破壊すると、吸啜から咀嚼への移行が遅れたと報告した (Iinuma M et al., 1994)。また、Kobayashi らは先天的に歯牙が欠損しているマウスも咀嚼運動を獲得することを報告している (Kobayashi M et al., 2002)。このことは、吸啜から咀嚼への移行は歯の萌出や離乳と関連する可能性を示唆している。モルモットは出生時にすでに歯が萌出しているものの、出生後に吸啜から咀嚼への移行が認められ、離乳前に咀嚼運動を誘発する大脳皮質咀嚼野が可塑的に形成される可能性を Iriki らは報告した (Iriki A et al., 1988)。Westneat らはラットの咬筋と開口筋、外舌筋の吸啜運動時と咀嚼運動時の筋電図を離乳前後の期間に横断的に記録し、リズムや筋間の活動のタイミングを解析した研究から、吸啜と咀嚼はリズム運動を生成する神経機構を共有している可能性を示唆した (Westneat MW et al., 1992)。他にも Langenbach らは、ウサギの咬筋と側頭筋、開口筋、外舌筋の吸啜運動時と咀嚼運動時の筋活動を記録し、筋活動バーストの特性を比較した研究において、吸啜運動と咀嚼運動の筋活動が類似していたことから、吸啜と咀嚼はリズム運動を生成する神経機構を共

有している可能性を示唆した (Langenbach GEJ et al., 1992). 一方で, Iinuma らは発達期のイヌの口腔に人工乳首を挿入し, 吸啜運動や咀嚼運動時の咬筋と側頭筋の筋活動を記録した研究において, 吸啜から咀嚼への移行が認められる離乳時期に咬筋と側頭筋の筋電図振幅の優位性が逆転したことを報告しており, これは吸啜運動と咀嚼運動の運動特性が異なっている可能性を示唆している (Iinuma M et al., 1991).

咀嚼時のリズム運動の発達変化について, これまでいくつかの研究が報告されている. Westneat らはラットを用いて, Huang らはブタを用いて, 咀嚼リズムは発達期に上昇することを示した (Westneat MW et al., 1992 ; Huang X et al., 1994). Liu らはラットにペースト食を離乳期から与えて飼育すると咀嚼リズムが遅くかつ不安定になることを報告している (Liu ZJ et al., 1998). Fujishita らは発達期のマウスに粉餌を与えて飼育することで, 咀嚼リズムが遅くなり, 食性に応じた咀嚼運動の調節が障害される可能性を報告した (Fujishita A et al., 2015). これらのことから, 咀嚼運動は離乳後の期間にさらに成熟し, 変化していく可能性が示唆される.

上記のように in vivo での発達に伴う吸啜運動や咀嚼運動を明らかにした研究は散見されるものの, これらの摂食運動の発達過程の詳細は解明されていない. 一方で, 発達に伴う顎や咀嚼筋, 摂食運動を支配する三叉神経系の解剖学的な研究や in vitro での発達に伴う三叉神経系の機能的変化に関する研究は多くある. Miyata らは, ラットにおいて咬筋のミオシン重鎖 (Myosin heavy chain ; MHC) のアイソフォームの分布が, 21 日齢では neonatal MHC が主要であったものの, 42 日齢にかけて MHC II a や MHC II b の割合が増加したこと, さらに筋線維径も 21 日齢から 42 日齢で急激に増大することを明らかにした (Miyata H et al., 1996). 上下顎の咬合の発達に関しては, Diner や Denes らが, ラットは一生歯性で, 35 日齢あたりに咬合が完成すると報告した (Diner H et al., 1978 ; Denes BJ et al., 2018). Nasution らはラットの下顎骨標本を用いた in vitro の実験によって, 歯根膜感覚の求心性神経における伝導速度や歯への機械的刺激に対する歯根膜受容器の閾値

が成獣と同等になるのは 35 日齢であると報告している。三叉神経系においては、Kubota らはマウスにおいて、出生時、顔面神経運動ニューロンの細胞体径は三叉神経運動ニューロンの細胞体径よりも大きかったが、出生後は、三叉神経運動ニューロンが急激に発達し、6 日齢で三叉神経運動ニューロンの細胞体径は顔面神経運動ニューロンの細胞体径より増大することを報告している (Kubota K et al., 1988)。Miyata らはラットにおいて、三叉神経運動ニューロンの細胞体径は 42 日齢まで増大することを報告している (Miyata H et al., 1996)。Paik らは 2 日齢から 31 日齢のラットに対して免疫組織学研究を行い、三叉神経閉口筋運動ニューロンとシナプスを形成するグルタミン作動性ニューロンの結合面積や、三叉神経中脳路核ニューロンとシナプスを形成する神経終末の数が 31 日齢まで増大することを報告している (Paik S et al., 2011 ; Paik S et al., 2012)。Nakamura らは 2 日齢から 17 日齢のラットに対してパッチクランプ法を用いた研究によって、開口筋運動ニューロンはグルタミン酸受容体の特性が変化しなかったのに対し、閉口筋運動ニューロンはその特性が 9 日齢までに有意に変化したことを示した (Nakamura S et al., 2022)。このように摂食運動に関係する顎口腔器官や、摂食運動を主に支配する三叉神経系、とりわけ閉口筋運動ニューロンは、摂食運動が劇的に変化する離乳前後の期間に急速に発達する。しかし、これらの形態学的研究や *in vitro* の機能的研究についても 35 日齢前後までは詳細に研究されているが、それ以降の日齢に関する研究は少ない。加えて、ヒトやラットを含めた動物の咀嚼運動は個体差が大きいため、発達に伴う咀嚼運動の機能的研究においては 1 個体を長期に渡って縦断的に記録し解析する縦断的研究デザインの必要性が指摘されている (Thomas NR et al., 1983 ; Green JR et al., 1997)。これらのことを踏まえると、発達に伴う咀嚼運動の変化をより詳細に明らかにするために、*in vivo* で 1 個体の動物の咀嚼筋活動を長期間縦断的に記録し解析する実験系を確立することが重要であると考えられる。

また、これまでの発達に伴う咀嚼運動の研究は、臼歯で食餌を臼磨する Chewing に限られてきた。しかし、咀嚼運動には前歯で食餌を剪断する Biting と臼歯で臼磨する

Chewing の 2 つの運動特性の異なるリズム性の咀嚼運動が連続して認められることが過去の研究において、ヒト (Hiimäe KM et al., 1996) やラット (Hiimäe KM et al., 1968 ; Thomas NR et al., 1983), マウス (Kobayashi M et al., 2002) で報告されている。げっ歯類において Biting は Chewing と同様に咀嚼運動において重要な運動である。Biting は食餌を口腔内に入れるための咀嚼運動であり、咀嚼では Biting と Chewing の 2 つのリズム運動が交互に繰り返される。しかし、この Biting の発達過程を調べた研究は過去に報告されておらず、Biting と Chewing は同じ発達過程を辿る可能性が仮説として考えられるが、詳細は不明である。

そこで、本研究では 14 日齢から 49 日齢までのラットの摂食運動時の咀嚼筋活動を縦断的に記録し、吸啜から咀嚼への移行における運動特性の変化と、その後続く咀嚼運動の筋電図学的特性の成熟過程を明らかにすることを目的とした。

方法

1. 実験動物

実験には Sprague-Dawley ラット(日本エスエルシー株式会社, 静岡県, 日本)の母ラットと生後 7 日齢の仔ラット 5 匹の群れを 3 群使用した。実験動物は 12 時間毎に明暗サイクルをコントロールした恒温の環境(気温 $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$, 湿度 50%)で, 水と飼料を自由に摂取することができるケージで飼育した。21 日齢で離乳するまで, 仔ラットは母ラットと同じケージで飼育した。各群で 5 匹のうち 4 匹に咬筋と側頭筋へ筋電図電極を埋入し 49 日齢まで記録を行った。ラットの体重を 10, 14, 21, 24, 28, 35, 42, 49 日齢で記録した。実験期間中に体重が極端に減少した個体や, 49 日齢までに筋電図電極が咬筋・側頭筋から外れてしまった個体は除外した。最終的に 8 匹の個体で 49 日齢まで記録を行った。

動物実験は大阪大学大学院歯学研究科動物実験委員会の承認(承認番号: R04-010)を受け, ARRIVE guideline 2.0 (Percie du Sert N et al., 2020), The National Institute of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (NIH Publications No. 80-23, 1996 年改訂)の規定に従った。実験に使用する動物の数は, 倫理規定に従い最小限に抑えた。除外した実験動物は速やかにペントバルビタールの過量投与により安楽死させた。

2. 外科処置および飼育方法

咬筋・側頭筋への筋電図用電極埋入のための外科処置を 10 日齢で実施した (Fig. 1A)。イソフルラン吸入麻酔器 (2%, 空気流量 0.4 L/min, Viatris Inc., ペンシルベニア州, アメリカ合衆国) を接続したプラスチック箱内でラットを緩徐導入した。ピンセットで後肢に侵害刺激を加えた際に屈曲反射が生じないことを確認し, 十分な麻

酔深度を得たことを確認した。外科処置中は、カスタムメイドした鼻マスクにイソフルラン吸入麻醉器を接続し、鼻マスクを介して麻醉管理を行った。麻醉は自発呼吸下で行い、麻醉維持におけるイソフルラン濃度は、1.5 ～ 2.0%とした。体温管理のため、ラットの腹側にヒーティングパッドを設置し、37 °Cで管理した。

まず、ラット頭頸部の皮膚をアルコールとクロルヘキシジンで消毒した後、頭部皮下に2%リドカイン（リドカイン注「NM」2%，シオノギファーマ株式会社，大阪府，日本）で局所麻醉を施行した。頭部の皮膚に切開を加え、頭蓋骨周囲の結合組織を剥離し、頭蓋骨を剖出させた。頭蓋骨後頭部を乾燥させ、接着性レジンセメント（スーパーボンド®，サンメディカル株式会社，東京都，日本）を使用して、頭蓋骨に菲薄なレジン層を構築した。

後頭骨に固定する筋電図ケーブル接続用のコネクタ（6 × 4 × 2 mm，ユニークメディカル株式会社，福岡県，日本）のコネクタピンにポリウレタン素材で被覆されたステンレスワイヤー（φ 0.08 mm，ユニークメディカル株式会社，福岡県，日本）を筋電図電極と不関電極としてはんだ付けした。コネクタを光重合型コンポジットレジン（ジーシー グレースフィル ゼロフロー，株式会社ジーシー，東京都，日本）で被覆したのち、レジンコーティングされた後頭骨に接着性レジンセメントを使用して固定した（Fig. 1B）

つぎに右側咬筋と右側側頭筋に双極性筋電図電極を埋入した。双極性電極を埋入する際、ラットの解剖学的なランドマークを指標として埋入位置を全個体で可及的に揃えた。咬筋電極を眼窩後縁から1 mm 尾側で眼窩下縁から3 mm 腹側の位置に電極間距離を2 mm にして埋入した。側頭筋筋電図電極を眼窩後縁から3 mm 尾側で、頬骨弓より頭側の位置に電極間距離を1 mm にして埋入した。咬筋筋電図電極を埋入する際には顔面神経を損傷ないように細心の注意を払った。

不関電極を Bregma から尾側 1 mm，外側 1 mm の位置の硬膜上に設置した。27 ゲ

ージの注射針（テルモ株式会社，東京都，日本）を使用して硬膜に傷をつけないように頭蓋骨のみに穴をあけた．その穴を通して，不関電極を硬膜上に設置した．処置終了後，創部にゲンタマイシン軟膏（ゲンタシン軟膏 0.1%，高田製薬株式会社，埼玉県，日本）を塗布した．母親の嗅覚を刺激しないように，処置後，ラットの皮膚に付着した血液を生理食塩水でふき取り，さらにケージ内の床敷のにおいをつけた綿球で体表全体を擦ったのち，母親のもとに戻した．21 日齢で離乳するまで，処置されたラットは母親のもとで飼育された．

3. 摂食行動

摂食行動の記録は 14 日齢で吸啜運動を 21, 24, 28, 35, 42, 49 日齢で咀嚼運動を記録した．すべての摂食運動は活動期である暗期に記録を行った．

3.1. 吸啜運動

母ラットの頭部から胸部までを外気から密閉でき，さらにイソフルラン麻酔器と排気ガスチューブを接続できる専用チャンバーを製作した．母ラットの頭部から胸部をこの専用チャンバーに格納したのち，イソフルラン麻酔器と排気ガスチューブを専用チャンバーに接続した．1 ～ 2%のイソフルラン麻酔下（流量 0.4 L/min）で母ラットを麻酔し仰向けに固定した．次に頭部のコネクタに筋電図ケーブルを接続した仔ラット 2 匹を仰向けに固定された母ラットの腹部においた（Fig. 1C）．

記録は 22 ± 1 °C に設定された 25 × 40 × 20 cm のプラスチック箱内で実施した．記録時間は約 20 ～ 45 分とした．この期間で吸啜運動を認められなかった場合は，母ラットを麻酔から覚醒させ，1 時間ほど回復させたのちに再度施行した．

3.2. 咀嚼運動

咀嚼運動の記録においては、ラットを1匹ずつアクリル樹脂のケージ（20 × 20 × 20 cm）においた。記録用試料として、Pellet と Pasta stick の2種類の異なる食料を与えた。Pellet（MF 固型 No.18, オリエンタル酵母工業, 東京都, 日本）は直径約 4 mm, 重量 75 ~ 85 mg のもので、通常、ラットの飼育に使用する Pellet（ ϕ 10 mm, 4 g）と同じ組成のものを与えた。Pasta stick は直径が 1.2 mm で、長さ 1 ~ 7 cm のものをラットの体格に合わせて、21 日齢のラットには長さ 1 cm の Pasta stick を、49 日齢のラットには長さ 5 ~ 7 cm の Pasta stick を与えた。Pasta stick には Nutella（Ferrero, ピエモンテ州, イタリア共和国）によってチョコレートの風味付けを行った。

Pasta stick と Pellet は各記録日で、それぞれ 2 ~ 6 個与えて記録した。記録前には 3 時間の絶食を行った。ラットが試料を咀嚼しない場合は、30 ~ 60 分の中断のち、再度施行した。

4. 筋活動記録

摂食時の咬筋・側頭筋の筋電図は増幅器（Model3500, A-M systems, ワシントン州, アメリカ合衆国）で 100 ~ 10000 Hz のバンドパスフィルターを施行したのち、100 倍に増幅し、AD 変換器（CED1401plus, Cambridge Electronic Design, ケンブリッジシャー県, イギリス）で 5000 Hz のサンプリングレートのデジタル信号に変換した。筋電図信号は PC（Inspiron 15 5000, Dell Technologies Inc., テキサス州, アメリカ合衆国）において専用ソフトウェア（Spike2®, Cambridge Electronic Design, ケンブリッジシャー県, イギリス）を使用し保存した。同時にラットの摂食行動をビデオカメラ（HC-VZX990M, パナソニック株式会社, 大阪府, 日本）で撮影した。

5. 電極確認

筋電図記録が終了したのち、49 日齢もしくは 50 日齢にペントバルビタール (80 mg/kg, 腹腔内投与) で麻酔し、生理食塩水と 4%パラホルムアルデヒドを使用して灌流固定を行った後、断頭し頭部標本を作製した。頭部標本を 4%パラホルムアルデヒド内で保存した。実験動物用マイクロエックス線 CT 装置 (R-mCT2, リガク・ホールディングス株式会社, 東京都, 日本) を使用して頭部標本の CT 撮影を行った。CT 画像上で咬筋・側頭筋に筋電図電極が留置できているかを全個体において確認した (Fig. 1D)。咬筋は下顎角から頬骨弓にかけて、側頭筋は下顎骨筋突起から側頭鱗にかけて走行しているが、CT 画像の解剖学的ランドマークから、咬筋・側頭筋の走行を推測し、当該位置に筋電図電極が留置されていることを確認できれば、咬筋・側頭筋に電極が適切に留置できていると判断した。全個体において、CT 画像から咬筋・側頭筋に適切に電極が留置されていることを確認した。次に、頭部標本の皮膚を慎重に剥離し、咬筋・側頭筋内に電極が留置されていること、感染などの異常所見を認めないことを最終的に肉眼で確認した。

6. 筋電図解析

筋電図の解析には専用ソフトウェア (Spike2®, Cambridge Electronic Design, ケンブリッジシャー県, イギリス) をオフライン環境下で使用した。吸啜運動および咀嚼運動の筋電図波形の定量的解析のため、連続する 10 サイクルの筋活動周期をそれぞれ 2 ~ 11 か所抽出した (Fig. 2A)。抽出した筋電図波形に対して、陰性波形を反転し陽性化する整流、前後 0.02 秒のポイントの平均値をとる平滑化、サンプリングレートを 5000 Hz から 500 Hz にするダウンサンプリングの波形処理を行った (Fig. 2B)。筋電図解析には、この処理された筋電図波形を使用した。定量化する解析項目を、リズム、筋活動バースト持続時間、咀嚼筋活動の協調性とした。

リズムを求めるために、まず側頭筋筋電図波形に対して自己相関解析を行った (Fig. 2C)。次に自己相関解析で得られた波形に対して高速フーリエ変換 (FFT サイズ 2048, 周波数分解能 0.24 Hz, 窓関数 Hanning 窓) を行った。そして最もパワー値の高い周波数値をリズムとして定義した (Fig. 2D)。

筋活動バースト持続時間を求めるために、連続する 10 サイクルの各筋活動周期の振幅の最小値を同定し、その平均値から閾値を設定し、筋活動バーストを抽出した (Fig. 2E)。抽出された筋活動バーストの時間を筋活動バースト持続時間として定義した。吸啜運動と咀嚼運動の運動特性の比較においては、各摂食運動において閾値は平均値の 2 倍とした。離乳以降の咀嚼運動の発達変化を定量化する際には、Pasta biting の側頭筋筋電図波形のみ閾値を平均値の 2 倍としたが、Pasta biting の咬筋筋電図波形と Pellet chewing の咬筋・側頭筋筋電図波形においては平均値の 3 倍を閾値として筋活動バーストの持続時間を求めた。

咀嚼筋活動の協調性を示す項目として、咬筋・側頭筋間の筋活動の相関性を示す相互相関と咬筋・側頭筋間の筋活動のタイミングを示すタイムラグの 2 つを求めた。まず咬筋・側頭筋筋電図波形に対して相互相関解析を施行した (Fig. 2F)。相互相関解析の結果、最も高い相関係数の値を、相互相関を示す値として定義した。つぎに相互相関解析の結果で、最も高い相関係数を示すときの時間軸の値を、タイムラグを示す値として定義した。タイムラグの値が正の値である場合、筋活動周期の中で側頭筋が咬筋より先に活動しており、負の値であるならば、筋活動周期の中で咬筋が側頭筋よりもタイムラグ値の絶対値の秒数分、先に活動していることを示す。

7. 統計

統計検定では統計用ソフトウェア (ORIGIN PRO, 株式会社ライトストーン, 東京都, 日本) を使用した。外科処置をしたラットと外科処置を行わなかったラットの経

日的体重変化の比較には、二元配置反復測定分散分析を使用した。吸啜運動と咀嚼運動の運動特性の比較において、リズム、筋活動バースト持続時間、咀嚼筋活動の協調性の項目で Nipple attachment と Rhythmic sucking, Pasta biting, Pellet chewing の運動特性を、一元配置反復測定分散分析と事後解析として Tukey 検定を用いて統計を行った。離乳以降の咀嚼運動の発達過程の解析においては、Pasta biting, Pellet chewing の各運動の経日的発達変化に関して、リズム、筋活動バースト持続時間、咀嚼筋活動の協調性の項目を、一元配置反復測定分散分析と事後解析として Tukey 検定を用いて検討した。Pasta biting, Pellet chewing の運動間の経日的発達変化の比較においては、二元配置反復測定分散分析と事後解析として Tukey 検定を用いて統計を行った。本文ではデータを平均値 $\pm$ 標準偏差で記載した。グラフには全個体の平均値と標準偏差、各個体の値を示した。有意水準は $P < 0.05$ とした。

結果

1. 体重変化

処置日である 10 日齢から筋活動記録の最終日である 49 日齢まで記録した。体重は 10 日齢の処置前の 16.8 ± 1.7 g から、49 日齢の 205.9 ± 10.1 g まで約 12 倍増加した (10 日齢: 16.8 ± 1.7 g, 14 日齢: 22.9 ± 1.8 g, 21 日齢: 35.1 ± 3.3 g, 28 日齢: 62.2 ± 4.6 g, 35 日齢: 108.7 ± 6.9 g, 42 日齢: 157.0 ± 9.2 g, 49 日齢: 205.9 ± 10.1 g)。予備実験において外科処置を行わず飼育したラット ($n = 8$) の体重も 10 日齢の 17.0 ± 2.2 g から 49 日齢の 207.3 ± 16.0 g まで約 12 倍増加した (10 日齢: 17.0 ± 2.2 g, 14 日齢: 23.4 ± 3.8 g, 21 日齢: 41.3 ± 5.2 g, 28 日齢: 68.6 ± 6.4 g, 35 日齢: 115.2 ± 10.1 g, 42 日齢: 163.3 ± 13.5 g, 49 日齢: 207.3 ± 16.0 g)。本研究で使用した 10 日齢で処置したラットと、予備実験において外科処置を行わずに飼育したラットで、体重増加の経日的変化に統計的な差を認めなかった。(Time×Group effect: $F(6,84) = 1.181$, $P = 0.31$) (Fig. 1E)

2. 摂食時の筋電図波形

2.1. 吸綴運動

吸綴運動の記録は 14 日齢で行った。Westneat や Blass らは、吸綴運動を Nipple attachment, Rhythmic sucking, Stretch response の連続する 3 つのリズム運動に分類できると報告している。Nipple attachment は乳首を捕捉する際にみられる運動である。Rhythmic sucking は Nipple attachment に続いてみられるリズム運動であり、捕捉した乳首から母乳を吸啜する運動である。Stretch response は Rhythmic sucking によって母親の乳首から口腔内に射乳された母乳を嚥下する際に認められる運動で

ある。(Westneat MW et al., 1992 ; Blass EM et al., 1980).

本研究では吸啜運動の記録に際し、イソフルラン麻酔下の母ラットを仰向けに固定して、仔ラットを母ラットの腹部においた。14 日齢の仔ラットはまだ開眼していなかったが、仔ラットは直ちに母ラットの乳首を探索する行動を示し、最終的に乳首を捕捉した。本研究では、Nipple attachment と Rhythmic sucking の 2 つのリズム運動を認めたが Stretch response を認めなかった。Nipple attachment では約 5 ～ 20 周期の咬筋と側頭筋が同期した連続した筋活動バーストを認めた。Rhythmic sucking では Nipple attachment と同様、咬筋と側頭筋の同期した筋活動を認めたが、Nipple attachment と異なり、約 0.5 Hz の非常に遅い筋活動周が約 3 ～ 50 周期以上連続する運動であった。Nipple attachment と Rhythmic sucking の両運動とも咬筋・側頭筋の筋活動バーストの振幅は 21 日齢以降の咀嚼運動時の振幅よりも小さかった (Fig. 3,4).

2.2. 咀嚼運動

ラットが咀嚼する際、まず前歯での齧り取り咀嚼である Biting によって Pasta stick を口腔内に取り込んだのち、臼磨咀嚼である Chewing が認められた。咀嚼する試料によって、咀嚼における行動学的特性が異なり、Pasta stick の咀嚼では長時間の Biting と短時間の Chewing を認めたが、Pellet の咀嚼では短時間の Biting と長時間の Chewing を認めた。

Pasta stick 咀嚼時の咬筋と側頭筋の筋電図波形は Biting と Chewing で明らかに異なり、Biting では活動リズムが速く、Chewing では遅かった。また Bitingの方が Chewing よりも安定した筋活動周期を示した。Pasta stick の咀嚼では Chewing の回数が少なかったため Biting における咬筋と側頭筋の筋電図波形を解析した。

Pellet 咀嚼時の筋電図波は、Pasta stick 咀嚼時と同様に Biting と Chewing で咬筋

と側頭筋の筋活動の特性が異なっていた。Biting では咬筋と側頭筋の筋活動バーストはほぼ同じタイミングで生じるのに対し、Chewing では側頭筋の筋活動バーストが咬筋の筋活動バーストよりも先行する傾向を認めた。Biting は Chewing よりもリズムが速く、筋活動バーストの振幅が小さい傾向を認めたが、Biting の筋活動は不規則で、解析に十分な筋活動バースト数を認めなかった。そのため、Pellet 咀嚼の解析では Chewing の筋電図のみを解析した。

Fig. 5 に離乳以降の 21 日齢、35 日齢、49 日齢の Pasta biting と Pellet chewing の咬筋・側頭筋筋電図の一例を示す。Processed EMG は解析のために整流、平滑化、ダウンサンプリングされた連続する 10 サイクルの筋電図波形を示す。Superposed EMG は Processed EMG を使用し、咬筋筋活動バーストの Onset 時間を Trigger として各筋活動周期を重ね合わせた波形を示す。咬筋の筋活動バーストの同定は筋活動バースト持続時間を求める際に使用した閾値をもとに実施した。Averaged EMG は Superposed EMG の波形を平均化した波形である。太線が平均値を、色のある帯の範囲が標準偏差を示す。

Pasta Biting 時の咬筋・側頭筋の筋活動は、Processed EMG の波形において、10 サイクルの筋活動バーストに要する時間が成長とともに短縮した (Fig. 5A, Processed EMG)。Averaged EMG の波形において、咬筋・側頭筋ともに成長とともに筋活動バーストの持続時間が短くなり、側頭筋では開口時においても筋活動は停止せず、持続的な筋活動を示すようになった。また Pasta biting では咬筋と側頭筋はほぼ同じタイミングで筋活動バーストが生じ、成長してもそのタイミングの傾向は類似していた (Fig. 5A, Averaged EMG)。Pellet chewing では Processed EMG の波形において 10 サイクルの筋活動バーストに要する時間が短縮した (Fig. 5B, Processed EMG)。Averaged EMG において、咬筋と側頭筋の筋活動バーストの持続時間は短くなる傾向があった。また、筋活動周期において側頭筋は咬筋よりも先に

活動しており，成長とともに側頭筋の筋活動バーストのピークが右方移動することにより，咬筋と側頭筋の活動のタイミングの時間差は短縮する傾向がみられた．そして Pasta biting と異なり，Pellet chewing では側頭筋における開口時の持続的な筋活動を認めなかった (Fig. 5B, Averaged EMG).

3. 筋電図解析

3.1. 吸啜運動と咀嚼運動の運動特性の比較

吸啜運動として，14 日齢に記録した Nipple attachment と Rhythmic sucking を，咀嚼運動として，21 日齢に記録した Pasta biting と Pellet chewing の筋電図波形を，リズム，筋活動バースト持続時間，咀嚼筋活動の協調性（相互相関・タイムラグ）について定量化し，比較した．Nipple attachment と Rhythmic sucking, Pasta biting, Pellet chewing の間で，リズム ($F(3,21) = 260.662$, $P < 0.01$)，筋活動バーストの持続時間（咬筋： $F(3,21) = 61.304$, $P < 0.01$ ），側頭筋： $F(3,21) = 43.571$, $P < 0.01$ ），咀嚼筋活動の協調性（相互相関： $F(3,21) = 6.815$, $P < 0.01$ ，タイムラグ： $F(3,21) = 29.314$, $P < 0.01$ ）で群間に有意な差を認めた．

吸啜運動の Nipple attachment と Rhythmic sucking を比較すると，Nipple attachment (3.2 ± 0.4 Hz) は Rhythmic sucking (0.5 ± 0.1 Hz) よりもリズムが有意に速かった ($P < 0.01$) (Fig. 6A)．筋活動バーストの持続時間においては，咬筋では Nipple attachment が 0.15 ± 0.04 秒であったのに対し，Rhythmic sucking では 0.43 ± 0.08 秒と有意に長かった ($P < 0.01$) (Fig. 6B)．側頭筋においても，筋活動バーストの持続時間は Nipple attachment が 0.14 ± 0.03 秒であったのに対し，Rhythmic sucking では 0.47 ± 0.13 秒であり，Rhythmic sucking は Nipple attachment と比べ，有意に長かった ($P < 0.01$) (Fig. 6C)．しかし咀嚼筋活動の

協調性において咬筋と側頭筋の筋活動の相関性を示す相互相関は、Nipple attachment (0.73 ± 0.06) と Rhythmic sucking (0.82 ± 0.10) で、統計的な差を認めなかった ($P > 0.05$) (Fig. 6D). 咬筋と側頭筋の活動のタイミングを示すタイムラグでは Nipple attachment では -0.01 ± 0.02 秒を示し、Rhythmic sucking では -0.02 ± 0.02 秒を示した. Nipple attachment と Rhythmic sucking とともにタイムラグは負の値であったことから、両運動とも咬筋の筋活動バーストは側頭筋の筋活動バーストよりも先行していた. しかし、タイムラグは Nipple attachment と Rhythmic sucking との間に有意差を認めなかった ($P = 0.79$) (Fig. 6E).

吸啜運動である Nipple attachment, Rhythmic sucking と咀嚼運動である Pasta biting, Pellet chewing を比較すると、Nipple attachment (3.44 ± 0.43 Hz) と Rhythmic sucking (0.55 ± 0.11 Hz) は、Pasta biting (4.86 ± 0.23 Hz) と Pellet chewing (4.12 ± 0.35 Hz) よりもリズムの周波数値が有意に低かった (Fig. 6A). 筋活動バーストの持続時間に関しては、咬筋では、Nipple attachment が 0.15 ± 0.04 秒、Rhythmic sucking が 0.43 ± 0.08 秒であり、Pasta biting が 0.14 ± 0.02 秒で Pellet chewing が 0.13 ± 0.04 秒であった. Nipple attachment は Pasta biting と Pellet chewing と比較して、咬筋の筋活動バーストの持続時間に有意差を認めなかったのに対し、Rhythmic sucking は Pasta biting と Pellet chewing よりも筋活動バーストの持続時間が有意に長かった ($P < 0.01$) (Fig. 6B). 側頭筋においては、筋活動バーストの持続時間が Nipple attachment では 0.14 ± 0.03 秒であり、Rhythmic sucking では 0.47 ± 0.13 秒であったのに対し、Pasta biting は 0.16 ± 0.01 秒で、Pellet chewing では 0.15 ± 0.01 秒であった. 咬筋と同様に、側頭筋の筋活動バーストの持続時間は、Nipple attachment は Pasta biting と Pellet chewing と比較して有意差を認めなかったのに対し、Rhythmic sucking は Pasta biting と Pellet chewing よりも有意に長い持続時間を示した ($P < 0.01$) (Fig. 6C). 咀嚼筋

活動の協調性において咬筋・側頭筋間の筋活動の相関性を示す相互相関では、Rhythmic sucking は Pellet chewing よりも咬筋・側頭筋間の筋活動の相関性が有意に高かった ($P < 0.01$)。また咀嚼運動において 21 日齢の Pasta biting と Pellet chewing では、Pasta biting は Pellet chewing よりも咬筋・側頭筋間の筋活動の相関性が有意に高かった ($P < 0.05$) (Fig. 6D)。咬筋・側頭筋間の筋活動のタイミングを示すタイムラグでは、Nipple attachment (-0.01 ± 0.02 秒) と Rhythmic sucking (-0.02 ± 0.02 秒) が負の値を示したのに対し、Pasta biting では 0.00 ± 0.01 秒とほぼ 0 秒であり、Pellet chewing では 0.04 ± 0.01 秒と正の値を示した。タイムラグの値が正の場合、筋活動周期内で側頭筋が咬筋よりも先行して活動していることを示している。すなわち、この結果から、筋活動周期において、吸啜運動では咬筋が側頭筋よりも先に活動し、Pasta biting では咬筋と側頭筋がほぼ同時に活動し、Pellet chewing では側頭筋が咬筋よりも先に活動することが示された。Nipple attachment は Pellet chewing よりもタイムラグが有意に小さく ($P < 0.01$)、Rhythmic sucking は Pasta biting ($P < 0.05$)、Pellet chewing ($P < 0.01$) よりもタイムラグが有意に小さかった (Fig. 6E)。

3.2. 離乳以降の咀嚼運動の発達変化

3.2.1. リズム

Pasta biting と Pellet chewing の離乳以降の 21 日齢から 49 日齢までのリズムの経日的変化を示したグラフを Fig. 7A に示す。Pasta biting のリズムは離乳直後の 21 日齢から 49 日齢にかけて 41% 上昇し、直線的で有意な経日的な上昇を認めた (21 日齢: 4.86 ± 0.23 Hz, 24 日齢: 5.48 ± 0.53 Hz, 28 日齢: 5.68 ± 0.55 Hz, 35 日齢: 6.10 ± 0.45 Hz, 42 日齢: 6.54 ± 0.32 Hz, 49 日齢: $6.81 \pm$

0.42 Hz. $F(5,35) = 25.631$, $P < 0.01$. 21 日齢 vs. 24 日齢 : $P < 0.05$, 24 日齢 vs. 35 日齢 : $P < 0.05$, 28 日齢 vs. 42 日齢 : $P < 0.01$, 35 日齢 vs. 49 日齢 : $P < 0.05$). Pellet chewing のリズムは離乳直後の 21 日齢から 49 日齢にかけて 17% 上昇し, Pasta biting と同様に直線的に有意な経日的な上昇を示した (21 日齢 : 4.14 ± 0.35 Hz, 24 日齢 : 4.38 ± 0.41 Hz, 28 日齢 : 4.38 ± 0.32 Hz, 35 日齢 : 4.60 ± 0.43 Hz, 42 日齢 : 4.71 ± 0.34 Hz, 49 日齢 : 4.82 ± 0.29 Hz. $F(5,35) = 9.482$, $P < 0.01$. 21 日齢 vs. 35 日齢 : $P < 0.01$, 28 日齢 vs. 49 日齢 : $P < 0.01$). 両咀嚼運動のリズムにおける 21 日齢からの変化率を示したグラフを Fig. 7B に示す. リズムの経日的な変化率は Pasta biting と Pellet chewing で有意に異なり, 28 日齢以降, Pasta biting は Pellet chewing よりも有意にリズムが上昇した (Time effect : $F(5,35) = 28.576$, $P < 0.01$; Behavior effect : $F(1,7) = 450.921$, $P < 0.01$; Time $\times$ Behavior effect : $F(5,35) = 10.752$, $P < 0.01$. 28 日齢 : $P < 0.05$, 35 日齢 : $P < 0.01$, 42 日齢 : $P < 0.01$, 49 日齢 : $P < 0.01$).

3.2.2. 筋活動バースト持続時間

Pasta biting と Pellet chewing の離乳以降の 21 日齢から 49 日齢までの咬筋・側頭筋の筋活動バーストの持続時間の経日的変化を示したグラフを Fig. 7 に示す (咬筋 : Fig. 7C, 側頭筋 : Fig. 7E). 咬筋の筋活動バーストの持続時間は, Pasta biting では 21 日齢から 49 日齢にかけて直線的に 36% 減少した (21 日齢 : 0.13 ± 0.02 秒, 24 日齢 : 0.12 ± 0.02 秒, 28 日齢 : 0.11 ± 0.03 秒, 35 日齢 : 0.11 ± 0.02 秒, 42 日齢 : 0.09 ± 0.01 秒, 49 日齢 : 0.08 ± 0.01 秒. $F(5,35) = 10.285$, $P < 0.01$. 21 日齢 vs. 42 日齢 : $P < 0.01$, 28 日齢 vs. 49 日齢 : $P < 0.01$). Pellet chewing でも 21 日齢から 49 日齢まで咬筋の筋活動バースト持続時間は 36% 減少した. (21 日齢 : 0.12 ± 0.03 秒, 24 日齢 : 0.11 ± 0.02 秒, 28 日齢 : $0.11 \pm$

0.04 秒, 35 日齢 : 0.11 ± 0.03 秒, 42 日齢 : 0.10 ± 0.03 秒, 49 日齢 : 0.08 ± 0.02 秒. $F(5,35) = 3.697$, $P < 0.05$. 21 日齢 vs. 49 日齢 : $P < 0.01$). 両咀嚼運動の咬筋の筋活動バースト持続時間における 21 日齢からの変化率を示したグラフを Fig. 7D に示す. 咬筋の筋活動バースト持続時間の経日的な変化に Pasta biting と Pellet chewing で統計的な差を認めなかった (Time $\times$ Behavior effect : $F(5,35) = 1.259$, $P = 0.31$).

次に側頭筋の筋活動バーストの持続時間のグラフを示す (Fig. 7E). Pasta biting の側頭筋の筋活動バーストの持続時間は 21 日齢から 49 日齢にかけて 39%減少し, 直線的に有意な減少を認めた (21 日齢 : 0.16 ± 0.01 秒, 24 日齢 : 0.14 ± 0.02 秒, 28 日齢 : 0.13 ± 0.02 秒, 35 日齢 : 0.13 ± 0.01 秒, 42 日齢 : 0.11 ± 0.01 秒, 49 日齢 : 0.10 ± 0.02 秒. $F(5,35) = 17.142$, $P < 0.01$. 21 日齢 vs. 28 日齢 : $P < 0.05$, 24 日齢 vs. 42 日齢 : $P < 0.01$, 35 日齢 vs. 49 日齢 : $P < 0.05$). Pellet chewing の側頭筋の筋活動バースト持続時間は経日的に有意に減少した (21 日齢 : 0.14 ± 0.01 秒, 24 日齢 : 0.12 ± 0.01 秒, 28 日齢 : 0.13 ± 0.01 秒, 35 日齢 : 0.12 ± 0.01 秒, 42 日齢 : 0.12 ± 0.01 秒, 49 日齢 : 0.12 ± 0.01 秒. $F(5,35) = 3.629$, $P < 0.01$). しかし, Pasta biting とは異なり 21 日齢から 24 日齢にかけて筋活動バースト時間は有意に減少し ($P < 0.05$), その後 49 日齢まで有意な変化を認めなかった. 両咀嚼運動の側頭筋の筋活動バースト持続時間における 21 日齢からの変化率を示したグラフを Fig. 7F に示す. 側頭筋の筋活動バーストの持続時間の発達変化は, Pasta biting と Pellet chewing で有意に異なった (Time $\times$ Behavior effect : $F(5,35) = 9.614$, $P < 0.01$). 28 日齢以降, Pasta biting の方が Pellet chewing よりも有意に側頭筋の筋活動バースト持続時間は減少した (28 日齢 : $P < 0.05$, 35 日齢 : $P < 0.05$, 42 日齢 : $P < 0.01$, 49 日齢 : $P < 0.01$).

3.2.3. 咀嚼筋活動の協調性

Pasta biting と Pellet chewing の 21 日齢から 49 日齢までの相互相関とタイムラグの経日的変化を示したグラフをそれぞれ Fig. 7G と Fig. 7I に示す。咬筋・側頭筋の筋活動の相関性を示す相互相関は、Pasta biting では 21 日齢から 49 日齢にかけて経日的な変化を認めなかった (21 日齢 : 0.81 ± 0.06 , 24 日齢 : 0.76 ± 0.07 , 28 日齢 : 0.81 ± 0.05 , 35 日齢 : 0.82 ± 0.04 , 42 日齢 : 0.81 ± 0.06 , 49 日齢 : 0.78 ± 0.06 . $F(5,35) = 1.655$, $P = 0.17$)。Pellet chewing では相互相関に経日的に有意な変化を認めた (21 日齢 : 0.69 ± 0.06 , 24 日齢 : 0.83 ± 0.07 , 28 日齢 : 0.83 ± 0.05 , 35 日齢 : 0.82 ± 0.03 , 42 日齢 : 0.84 ± 0.04 , 49 日齢 : 0.82 ± 0.07 . $F(5,35) = 8.268$, $P < 0.01$)。特に 21 日齢から 24 日齢にかけて有意に相互相関は上昇し ($P < 0.01$)、その後 49 日齢まで経日的な変化を認めなかった。相互相関の 21 日齢からの変化率は Pasta biting と Pellet chewing では経日的な変化は異なり (Time $\times$ Behavior effect : $F(5,35) = 6.144$, $P < 0.01$)、24 日齢以降、Pellet chewing は Pasta biting より有意に変化率が大きかった (24 日齢 : $P < 0.01$, 28 日齢 : $P < 0.01$, 35 日齢 : $P < 0.01$, 42 日齢 : $P < 0.01$, 49 日齢 : $P < 0.01$) (Fig. 7H)。

咬筋と側頭筋の筋活動のタイミングを示すタイムラグは、Pasta biting では 21 日齢から 49 日齢まで約 0 秒であり、経日的な変化を示さなかった (21 日齢 : -0.00 ± 0.01 秒, 24 日齢 : 0.00 ± 0.01 秒, 28 日齢 : 0.00 ± 0.01 秒, 35 日齢 : -0.00 ± 0.01 秒, 42 日齢 : -0.00 ± 0.01 秒, 49 日齢 : -0.00 ± 0.01 秒. $F(5,35) = 1.545$, $P = 0.20$)。一方、Pellet chewing ではタイムラグに経日的に有意な変化を認め (21 日齢 : 0.04 ± 0.01 秒, 24 日齢 : 0.03 ± 0.01 秒, 28 日齢 : 0.03 ± 0.01 秒, 35 日齢 : 0.03 ± 0.00 秒, 42 日齢 : 0.03 ± 0.01 秒, 49 日齢 : 0.03 ± 0.01 秒, $F(5,35) = 7.043$, $P < 0.01$)、21 日齢から 24 日齢にかけて有意にタイム

ラグは減少し ($P < 0.05$), その後 49 日齢まで変化を認めなかった. タイムラグにおける 21 日齢からの変化量は, 両運動の経日的変化に有意な差を認め (Time $\times$ Behavior effect : $F(5,356) = 6.144$, $P < 0.01$), 24 日齢以降, Pellet chewing は Pasta biting より変化量が有意に大きかった (24 日齢 : $P < 0.01$, 28 日齢 : $P < 0.01$, 35 日齢 : $P < 0.01$, 42 日齢 : $P < 0.01$, 49 日齢 : $P < 0.01$) (Fig. 7J).

考察

本研究は離乳前から離乳後長期にかけての発達期のラットの摂食時における咀嚼筋筋活動を縦断的に記録し、摂食運動の経日的変化を明らかにした。発達に伴う摂食運動の咀嚼筋筋活動について本研究の要約を以下に示す。(1) 発達期のラットの長期間におよぶ咀嚼筋活動を縦断的に記録できる実験系が確立された。(2) 離乳前 14 日齢の吸啜運動と離乳後 21 日齢の咀嚼運動の咀嚼筋筋活動の特性はリズム、筋活動バーストの持続時間、咀嚼筋間の協調運動において一部類似していた。(3) 咀嚼運動である Pasta biting と Pellet chewing ではリズム、筋活動バーストの持続時間、咀嚼筋活動の協調性において異なった発達過程を示した。これらの結果から発達期のラットの摂食運動における咀嚼筋活動の縦断的解析は、発達に伴う摂食運動の生理学的機構の解明に有用であることが示唆された。

1. 離乳前の吸啜運動と離乳後の咀嚼運動の比較

1.1. 吸啜運動の特性

本研究では、離乳前である 14 日齢で吸啜運動時の咀嚼筋活動を記録し、Nipple attachment と Rhythmic sucking という 2 種類の筋電図波形の特性が異なるリズム運動が認められた。14 日齢のラットにおける顎運動のリズムは Nipple attachment では 3.2 ± 0.4 Hz と、Rhythmic sucking の 0.5 ± 0.1 Hz より速かった。また筋活動バーストの持続時間は、咬筋と側頭筋のいずれにおいても Rhythmic sucking が Nipple attachment より約 3 倍長かった。これらの結果から Nipple attachment と Rhythmic sucking では、リズムの生成や筋活動バースト持続時間を調節する機構が異なる可能性が示唆された。Westneat らは発達期のラットを用いて、咬筋（閉口

筋)と顎二腹筋前腹(開口筋), 胸骨舌骨筋(舌骨下筋), オトガイ舌筋(外舌筋)の摂食時の筋活動を記録し解析している. それによると Nipple attachment のリズムは 3 Hz から 4 Hz ほどであり, Stretch response は 0.5 Hz ほどの運動であった. また咬筋の筋活動バースト持続時間は 15 日齢の Nipple attachment では 0.10 ± 0.03 秒, 12 日齢の Rhythmic sucking では 0.40 ± 0.08 秒で, Rhythmic sucking の咬筋の筋活動バーストの持続時間が Nipple attachment より 3 倍以上長いことを報告している (Westneat MW et al., 1992). つまり, Westneat らの報告は, 本研究の吸啜運動のリズムや筋活動バーストの持続時間の結果と近似していた. しかし, 咬筋と側頭筋の活動の協調性を解析すると, 相互相関とタイムラグで Nipple attachment と Rhythmic sucking の間に差を認めなかった. さらに, 両運動ともタイムラグは負の値を示したことから, 筋活動周期の中で咬筋は側頭筋よりも先行して活動することが明らかとなった. このような両筋の活動パターンは Nipple attachment や Rhythmic sucking において舌や口唇運動を円滑に遂行できるように下顎の位置を調整することに役立っていると考えられる.

1.2. 吸啜運動と咀嚼運動の比較

本研究では, 咀嚼運動を 21 日齢以降に記録し, Pasta stick と Pellet を使用して Biting 時と Chewing 時の咬筋と側頭筋の筋活動を記録した. Shimoda らはラットが自発的に固形食に対する摂食様行動を開始するのは 16 日齢以降であると報告している (Shimoda M et al., 2023). 本研究に先行して実施した予備実験では 16 日齢以降もさらに数日間は, 摂食運動を認める個体と認めない個体がみられた. そのため, 本研究では咀嚼運動の記録を離乳時期である 21 日齢で実施し, その結果, Pasta stick と Pellet の咀嚼時の筋活動を全個体で記録できた. 21 日齢では, Pasta biting と Pellet chewing のリズムは約 4 Hz であり, 14 日齢で認められた Rhythmic

sucking のような約 0.5 Hz の遅いリズムの運動は認められなかった。筋活動バーストの持続時間においても 14 日齢で認められた約 0.4 秒の長い持続時間をもつ Rhythmic sucking のような運動は、21 日齢の咀嚼運動では認められなかった。咬筋・側頭筋間の筋活動の相互相関やタイムラグは 14 日齢の吸啜運動では Nipple attachment と Rhythmic sucking の間に有意差を認めなかった一方、21 日齢の咀嚼運動においては、咬筋・側頭筋間の筋活動の相互相関は Pasta biting が Pellet chewing より有意に高く、咬筋・側頭筋間の筋活動のタイムラグは Pasta biting と Pellet chewing で有意に異なった。このことから咀嚼運動における Pasta biting と Pellet chewing は、咀嚼筋活動の協調性が異なる運動であることが示された。また、Pellet chewing は 14 日齢で記録された Nipple attachment や Rhythmic sucking とタイムラグや相互相関などの咀嚼筋活動の協調性において異なった。しかし、Pasta biting は Nipple attachment と咬筋・側頭筋の筋活動バーストの持続時間、閉口筋活動間の協調性（相互相関・タイムラグ）において、その特性に差を認めず、類似した筋活動特性をもつ運動であることが示された。Westneat らは発達期のラットを用いて、Langenbach らは発達期のウサギを用いて、摂食時の咬筋や開口筋の筋活動のリズムやタイミングを解析した研究によって、吸啜運動における Nipple attachment と咀嚼運動における Chewing はリズム運動を生成する神経機構を共有している可能性を報告している（Westneat MW et al., 1992 ; Langenbach GEJ et al., 1992）。本研究においても Nipple attachment と咀嚼運動（Biting, Chewing）のリズムが近似していること、筋活動バーストの持続時間に差を認めないことから、Nipple attachment は Biting と Chewing と神経機構を共有している可能性を示唆している。しかし、本研究では咀嚼筋活動のタイミングを示すタイムラグは Nipple attachment と Pasta biting で類似しているが、Nipple attachment と Pellet chewing は異なっていた。従って、Westneat らの報告とは異なり、Nipple attachment は

Chewing ではなく Biting とリズム運動を生成する神経機構を共有している可能性が示唆された。

1.3. 吸啜から咀嚼への移行

Nipple attachment が Biting とリズム運動を生成する神経機構を共有している可能性は、行動発達の過程を考慮しても妥当と考えられる。吸啜は乳首を捕捉する Nipple attachment、母乳を吸啜する Rhythmic sucking、嚥下時にみられる Stretch response というリズム運動が連続して生じる。また咀嚼では前歯で剪断する Biting、臼磨咀嚼する Chewing というリズム運動が連続して生じる。このように Nipple attachment と Biting はともに摂食運動の一連の流れにおいて最初に発現する運動であることから行動学的にも類似している。さらに、食物を口腔内に取り込む Biting の獲得は、ラットが自発的に固形飼料の摂食行動を開始し、飼料を咀嚼できるようになるために必要な過程と考えられる。ラットの前歯は離乳前の 9 日齢には萌出し (Pinette M et al., 2020)、離乳前の早期に Biting に必要な前歯の咬合は完成されている。さらに、14 日齢から飼料にアクセスしはじめ、その後餌を舐めたり齧る行動が観察される (Shimoda M et al., 2023)。このような過程を経て、Nipple attachment が Biting へと移行する可能性が考えられる。

一方、Chewing は Biting とは異なる獲得過程を経ると考えられる。Westneat らは、12 日齢のラットに強制的にペースト食を口腔内へ挿入すれば、Chewing 様の顎運動が生じたことを報告している (Westneat MW et al., 1992)。したがって、12 日齢までに、Chewing の筋活動パターンを調節する基本的な神経機構が形成される可能性を示唆する。しかし、摂食行動のなかで Chewing を確実に実行できるのは、21 日齢頃となる。つまり、咀嚼運動の獲得には、咀嚼筋活動のパターンを調節する神経機構とは異なる機構が必要と考えられる。例えば、ウサギの脳皮質咀嚼野を破

壊すると、自発的な咀嚼運動はできないが、強制的に食餌を口腔内に挿入すると咀嚼ができるので (Inoue T et al., 1989), 大脳皮質は咀嚼運動の開始に関与することを示している。モルモットにおいて、新生仔では大脳皮質吸啜野が存在するが、成獣では大脳皮質吸啜野と異なる領域に大脳皮質咀嚼野が存在する (Iriki A et al., 1988)。したがって、行動学的に Biting から Chewing に至る一連の咀嚼運動を獲得するためには、脳幹レベルで筋活動パターンを制御できる機構を統合し、機能を発現させる役割を担う大脳皮質のような高次脳の発達も必要と考えられる。

2. 離乳以降の咀嚼運動の発達変化

Biting と Chewing は固形の食餌 (Pellet, Pasta stick) を摂食する際に認められ、両運動では咬筋と側頭筋の筋電図波形の特性は異なった。加えて、Biting と Chewing の発達過程もリズム、筋活動バーストの持続時間、咀嚼筋活動間の協調性において、異なった過程を示した。Kobayashi らは、成獣マウスの Biting と Chewing は一連の咀嚼の流れで交互に出現し、筋電図波形のリズムや振幅など、明らかに異なった筋活動特性をもった運動であることを報告している (Kobayashi M et al., 2002)。Hiimäe らもヒトにおいて Biting と Chewing は咀嚼時に交互に認められる運動であり、両運動でリズムや開閉口路が異なることを報告している (Hiimäe KM et al., 1996)。Biting と Chewing が運動特性の異なる運動であることはラット、マウス、ヒトで共通して認められるため、動物の咀嚼においては普遍的な現象であると考えられる。

2.1. 咀嚼運動時のリズムの変化

Biting と Chewing のリズムは 21 日齢から 49 日齢までの発達期において、経日的に有意に上昇した。過去の横断的研究においても Chewing のリズムは発達期に経日的に速くなる可能性がラット (Westneat MW et al., 1992)、ブタ (Huang X et al.,

1994) で報告されており、本研究の結果と一致している。また本研究では、Biting と Chewing でリズムの経日的発達変化は異なった。21 日齢から 49 日齢にかけて Chewing はリズムが 17%速くなったのに対し、Biting は 41%速くなり、Biting は Chewing より有意にリズムの変化が大きく、速くなったことが示された。ラットでは、21 日齢から 35 日齢にかけて臼歯の咬合は完成し (Diner H et al., 1978 ; Denes BJ et al., 2018)、咬合面積は増加する。また、頭蓋骨は 20 日齢から 50 日齢にかけて約 35%増大するため (Spence JM et al., 1940)、この間に口腔容積も増加すると考えられる。したがって、Chewing で処理できる食餌量の増加に応じて、口腔内に取り込む時間当たりの食餌量を増加させるため、Biting のリズムが Chewing よりも成長とともに速くなった可能性が考えられる。

2.2. 咀嚼運動時の筋活動バースト持続時間の変化

咬筋・側頭筋の筋活動バーストの持続時間は成長とともに経日的に減少した。閉口筋の筋活動バースト持続時間が経日的に減少したことは、試料を剪断・破碎する能率が成長とともに上昇したことによって、閉口筋の活動する時間が減少したためと考えられる。過去の研究においてもラット (Westneat MW et al., 1992)、ブタ (Huang X et al., 1994)、ヒト (Green JR et al., 1997) で発達期の動物の咀嚼時の筋活動バースト持続時間の変化を報告している。Westneat らは Chewing 時の咬筋や開口筋の筋活動バーストが、Huang と Green は Chewing 時の咬筋や側頭筋、開口筋の筋活動バースト持続時間が経日的に減少することを、摂食時の咀嚼運動の咀嚼筋活動を記録することにより示しており、本研究の結果と一致する。本研究において、咬筋の筋活動バースト持続時間の経日的発達変化は Pasta biting と Pellet chewing で有意な差を認めなかった一方、側頭筋の筋活動バースト持続時間の経日的発達変化は Pasta biting と Pellet chewing で有意に異なった。また Pasta biting で

は、成長とともに開口相においても側頭筋の持続的な筋活動を認めるようになった。Iinuma らは 28 日齢から 50 日齢の発達期のイヌにシリコン状の人工乳首を用いて疑似咀嚼を行い、側頭筋と咬筋では筋活動バーストの振幅値の経日的変化に差があると報告している (Iinuma M et al., 1991)。つまり、咬筋と側頭筋は、協同筋であっても咀嚼時の機能的役割に違いがあるため、発達の過程にも差が生じると考えられる。Blanksma らはヒトで、習慣的なリズムによる Biting と随意的にリズムを速くした Biting を行わせ、咬筋と側頭筋の筋活動を記録した研究において、側頭筋ではリズムを随意的に速くしても活動のタイミングが変化しなかった一方、咬筋では活動のタイミングが筋活動周期内で速く出現したことを報告した (Blanksma NG et al., 1995)。このことから、ヒトは Biting において顎運動の調節を、側頭筋ではなく咬筋の活動パターンを変化させることにより行っている可能性が示唆され、咬筋と側頭筋で機能的な役割が異なっている可能性が考えられる。さらに、本研究において、Pasta biting 時に側頭筋が開口相においても筋活動をしたことは、咬筋と側頭筋は下顎の閉口運動に関与するものの、側頭筋は開口時の下顎の位置の調節にも関与する可能性を示唆する。

2.3. 咀嚼運動時の咀嚼筋活動の協調性の変化

咀嚼筋活動の協調性において、Pellet chewing では 21 日齢から 24 日齢にかけて咬筋・側頭筋間の筋活動の相関性を示す相互相関は有意に上昇し、タイムラグは有意に減少した。一方、Pasta biting では 21 日齢から 49 日齢にかけて、相互相関とタイムラグに経日的に有意な差を認めなかった。このような発達過程に差が生じる一因には、前述のように Biting のほうが Chewing よりも早期に獲得されることにある可能性が考えられる。また、離乳直後に Chewing においてこれらの変数に変化が生じるのは、臼歯の萌出時期と関係する可能性が考えられる。ラットでは 19 日齢に臼

歯の萌出が開始し、35 日齢頃に臼歯の咬合が完成する (Diner H et al., 1978 ; Denes BJ et al., 2018). そして、歯根膜感覚受容器も 35 日齢頃に成熟する (Nasution FH et al., 2002). Green らはヒトにおいて、乳歯列が未完成の 12 ヶ月から乳歯列が完成している 48 ヶ月までの小児の咬筋、側頭筋、顎二腹筋前腹の Chewing 時の筋活動を記録した研究によって、咬合面積が増加するに伴って筋活動の協調性を示す相互相関の値が増加することを報告している (Green JR et al., 1997). これは、ラットにおいても、臼歯の咬合が不十分な離乳直後に、咀嚼筋活動の相互相関が低いこととも一致する. したがって、離乳直後に観察される Chewing における咀嚼筋活動の協調性の変化は、歯の萌出や咬合状態の変化に対して、発達中の咀嚼運動を順応させる過程を示している可能性がある.

2.4. 発達に伴う咀嚼運動のダイナミクス

本研究結果から、ラットでは離乳直後の 21 日齢から 49 日齢の若齢期にかけて、咀嚼運動のリズム、咀嚼筋活動バーストの持続時間、咀嚼筋活動の協調性が経日的に変化することが示された. したがって、咀嚼運動は、離乳直後や咬合が完成するまでの限られた期間だけに発達するのではなく、その後の成長に伴ってさらに発達するものと考えられる. また、この期間では、咀嚼筋活動を示す各特性の変化は、Pasta biting や Pellet chewing とで異なることが示されたので、本研究で発達期のラットを用いて咀嚼筋活動を長期にわたって縦断的記録したことによって、咀嚼を構成する運動それぞれが、固有の発達の過程を持つ可能性を示すことができた. さらに、離乳前の吸啜から咀嚼への移行を考慮すると、咀嚼運動の発達には複数の段階があるとも考えられる. 過去の研究では、特定の時期や幼齢期において実験的介入をして、咀嚼運動、特に Chewing の発達への影響を調べた研究が複数ある. 例えば、Iinuma らは離乳前のイヌの上歯槽神経と下歯槽神経をアルコールで破壊し

て、咬筋・側頭筋の Chewing 様の筋活動パターンの出現が遅れたと報告している (Iinuma M et al., 1994). さらに, Liu らはラットを用いて, 18 日齢で離乳してから 50 日齢までペースト食で飼育すると, 成獣後の Chewing のリズムが不安定になったと報告している (Liu ZJ et al., 1998). 本研究における発達期のラットを用いた咀嚼筋活動の縦断的記録の実験系では, このような実験的介入による咀嚼機能の発達の経日的変化を明らかにすることができる. さらに, 口腔内への実験的介入だけでなく, 中枢神経系への実験的介入の影響も観察できるも可能であることから, 咀嚼運動の発達に伴う生理学的機構の変化の解明だけでなく, 咀嚼運動発達の障害モデルの開発などにも有用である可能性が示唆された.

3. 本研究の限界

本研究にはいくつかの限界がある.

筋電図電極を咬筋・側頭筋に埋入する際, 方法の項に記載したように解剖学的ランドマークを使用しながら, 全個体に可及的に同位置に埋入したが, 咬筋表層の筋膜付近や, もしくは深部に埋入していた可能性がある. 49 日齢の記録終了後に CT 画像と剖検により電極位置を確認したが, Spence らはラットの頭蓋は 10 日齢から 50 日齢にかけて約 50% 増大すると報告していることから (Spence JM et al., 1940) 成長により電極位置が多少変化している可能性は否定できない.

本研究では, 吸啜運動の記録の際に, イソフルランによる麻酔を母ラットに施した. 予備実験で, 仔ラットの吸啜を母ラットが無麻酔の状態で記録すると, 母親の体動がノイズとなり, 解析可能なデータを記録することが困難だった. そこで本研究では, 吸啜運動の記録時に母ラットのみにイソフルランを吸引させた. Lee らはヒトにおいて薬物動態学的にイソフルランの母乳を介した乳児への影響は無視できると報告している (Lee JJ et al., 1993). さらに, 予備実験において無麻酔下の母ラットで記録

された Nipple attachment のリズムと、イソフルラン麻酔下で記録された Nipple attachment のリズムが近似していたことから、母乳を介したイソフルランの仔ラットへの影響は少ないと考えられる。また、吸啜は、Nipple attachment, Rhythmic sucking, Stretch response の 3 つの連続するリズム運動で構成される (Westneat MW et al., 1992; Blass EM et al., 1980) が、本研究では Stretch response を認めなかった。過去の報告では、ペントバルビタール麻酔下の母親の乳首を捕捉し Rhythmic sucking を行っているタイミングで、人工的に挿入したカニューレから牛乳を口腔内に注入することにより Stretch response を誘発しており (Westneat MW et al., 1992)、母ラットが麻酔下にあると射乳が生じない可能性が考えられる。したがって、イソフルラン麻酔により、母ラットの射乳反射が生じず、嚥下運動である Stretch response が生じなかった可能性は否定できない。

結語

発達期のラットの咀嚼筋活動の長期的縦断的解析により、離乳前後の期間においては、咀嚼運動の Biting は吸啜運動の Nipple attachment と一部で運動特性が類似しているが、Chewing は吸啜運動と運動特性が異なることが明らかとなった。咀嚼運動は、長期に渡って運動特性が変化し続けるが、その発達過程は日齢によって特異的な発達過程を示し、さらに Biting と Chewing で異なった発達過程を示した。従って、咀嚼運動は複雑な発達のダイナミクスをもつ運動であることが明らかとなった。このことから本研究によって、摂食運動の発達に関する生理学的研究においては、発達過程の日齢変化を詳細に定量化できる縦断的研究の有用性が示された。

本論文の要旨の一部は、Physiology & Behavior 誌に「Longitudinal electromyographic analysis of jaw-closing muscle activities during ingestive behaviors from pre-weaning to juvenile periods in rats.」として掲載した。

謝辞

本稿を終えるに鑑み、本研究を行う機会を与えていただき、終始懇切なる御指導、御鞭撻を賜りました大阪大学大学院歯学研究科口腔科学専攻歯科麻酔学講座の丹羽均教授に謹んで感謝の意を表します。

本研究の遂行にあたって、昼夜を問わず常に御助言、御指導をいただきました大阪大学大学院歯学研究科口腔生理学講座の加藤隆史教授、また、親身に御助言いただきました松本歯科大学総合歯科医学研究所顎口腔機能制御学部門の増田裕次教授に深甚なる謝意を表します。

最後に、本研究の円滑な進展のために多大なる御理解、御協力を示していただいた大阪大学大学院歯学研究科口腔科学専攻歯科麻酔学講座、口腔生理学講座の構成員の皆様により深く御礼申し上げます。

参考文献

- Blanksma, N.G. and T.M.G.J. van Eijden, Electromyographic heterogeneity in the human temporalis and masseter muscles during static biting, open/close excursions, and chewing. *Journal of Dental Research*, 1995. 74(6): p. 1318-1327.
- Blass, E.M. and M.H. Teicher, Suckling. *Science*, 1980. 210(4465): p. 15-22.
- Denes, B.J., et al., A longitudinal study on timing and velocity of rat molar eruption: Timing of rat molar eruption. *Lab Animal*, 2018. 52(4): p. 394-401.
- Diner, H., M.D. Chou, and E.H. Sobel, The effects of neonatal stunting on the development of rats: effects of early single dose cortisone on dental development and maturation of nursing and mature rats. *Pediatric Research*, 1978. 12(9): p. 948-951.
- Fujishita, A., et al., Effects of feeding a soft diet and subsequent rehabilitation on the development of the masticatory function. *Journal of Oral Rehabilitation*, 2015. 42(4): p. 266-274.
- Green, J.R., et al., Development of chewing in children from 12 to 48 months: longitudinal study of EMG patterns. *Journal of Neurophysiology*, 1997. 77(5): p. 2704-2716.
- Hiiemäe, K.M. and G.M. Ardran, A cinefluorographic study of mandibular movement during feeding in the rat (*Rattus norvegicus*). *Journal of Zoology*, 1968. 154 (2): p. 139-154.
- Hiiemäe, K.M., et al., Natural bites, food consistency and feeding behaviour in man. *Archives of Oral Biology*, 1996. 41(2): p. 175-189.
- Huang, X., G. Zhang, and S.W. Herring, Age changes in mastication in the pig. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 1994. 107(4): p. 647-

654.

- Iinuma, M., S. Yoshida, and M. Funakoshi, A role of periodontal sensation in development of rhythmical chewing in dogs. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 1994. 107(2): p. 389-395.
- Iinuma, M., S. Yoshida, and M. Funakoshi, Development of masticatory muscles and oral behavior from suckling to chewing in dogs. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 1991. 100(4): p. 789-794.
- Inoue, T., et al., Modifications of masticatory behavior after trigeminal deafferentation in the rabbit. *Experimental Brain Research*, 1989. 74(3): p. 579-591.
- Iriki, A., S. Nozaki, and Y. Nakamura, Feeding behavior in mammals: corticobulbar projection is reorganized during conversion from sucking to chewing. *Developmental brain research*, 1988. 44(2): p. 189-196.
- Kobayashi, M., et al., Electrophysiological analysis of rhythmic jaw movements in the freely moving mouse. *Physiology & Behavior*, 2002. 75(3): p. 377-385.
- Kubota, K., et al., Morphological studies of the neuromuscular mechanism shifting from sucking to biting of mice. *Acta anatomica*, 1988. 133(3): p. 200-208.
- Langenbach, G.E.J., P. Brugman, and W.A. Weijs, Prewaning feeding mechanisms in the rabbit. *Journal of Developmental Physiology*, 1992. 18(6): p. 253-261.
- Lee, J.J. and A.P. Rubin, Breast feeding and anaesthesia. *Anesthesia*, 1993. 48(7): p. 616-625.
- Liu, Z.J., et al., Functional properties of jaw and tongue muscles in rats fed a liquid diet after being weaned. *Journal of Dental Research*, 1998. 77(2): p. 366-376.
- Miyata, H., et al., Morphological changes in the masseter muscle and its motoneurons during postnatal development. *The Anatomical Record*, 1996. 244(4):

p. 520-528.

- Nakamura, S., et al., Postnatal maturation of glutamatergic inputs onto rat jaw-closing and jaw-opening motoneurons. *Neuroscience*, 2022. 480: p. 42-55.
- Nasution, F.H., K. Toda, and K. Soma, Functional maturation of periodontal mechanoreceptors during development in rats. *Brain research. Developmental brain research*, 2002. 139(2): p. 307-312.
- Paik, S., et al., Ultrastructural analysis of glutamate-immunopositive synapses onto the rat jaw-closing motoneurons during postnatal development. *Journal of Neuroscience Research*, 2011. 89(2): p. 153-161.
- Paik, S., et al., γ -Aminobutyric acid-, glycine-, and glutamate-immunopositive boutons on mesencephalic trigeminal neurons that innervate jaw-closing muscle spindles in the rat: ultrastructure and development. *Journal of Comparative Neurology*, 2012. 520(15): p. 3414-3427.
- Percie du sert, N., et al., The ARRIVE guidelines 2.0: updated guidelines for reporting animal research. *BMJ Open Science*, 2020. 4(1): e100115.
- Pinette, M. and R.W. Bavis, Influence of chronic hyperoxia on the developmental time course of the hypoxic ventilatory response relative to other traits in rats. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 2020. 280: 103483.
- Shimoda, M., et al., Long-term changes in oral feeding behaviors of growing rats. *Odontology*, 2022. 111(2): p. 342-349.
- Spence, J.M., Method of Studying the Skull Development of the Living Rat by Serial Cephalometric Roentgenograms. *Angle Orthodontist*, 1940. 10(3): p. 127-139.
- Thexton, A.J., A.W. Crompton, and R.Z. German, Transition from suckling to drinking at weaning: A kinematic and electromyographic study in miniature pigs.

Journal of Experimental Zoology, 1998. 280(5): p. 327-343.

- Thiels, E., J.R. Alberts, and C.P. Cramer, Weaning in rats .2. pup behavior patterns. Developmental Psychobiology, 1990. 23(6): p. 495-510.
- Thomas, N.R. and S.C. Peyton, Relationship of masseter electromyographic activity to mandible position in the freely-moving rat. Archives of Oral Biology, 1983. 28(11): p. 1043-1046.
- van Wessel, T., et al., Daily activity of the rabbit jaw muscles during early postnatal development. Neuroscience, 2006. 140: p. 137-146.
- Westneat, M.W. and W.G. Hall, Ontogeny of feeding motor patterns in infant rats - an electromyographic analysis of suckling and chewing. Behavioral Neuroscience, 1992. 106(3): p. 539-554.

Figure legend

Fig. 1：実験プロトコールと体重の経日的変化

A：実験スケジュール。 B：10日齢で咬筋と側頭筋に筋電図電極を埋入し、頭部にコネクタを固定した後のラット。 C：外科処置を行ったラット（実線：n=8）と外科処置を行わなかったラット（点線：n=8）の体重の経日的変化に差を認めなかった。グラフは平均±標準偏差で示す。 D：14日齢で吸啜運動を記録した。母親は頭部と胸部を専用のイソフルラン吸入器に覆われ、仰向けに固定されている。仔ラットは頭部のコネクタに筋電図記録用ケーブルが接続されている。 E：実験終了後に作成された頭部標本のCT画像。赤矢頭は咬筋と側頭筋の双極性電極を示しており、咬筋と側頭筋の走行部位に電極が留置できていることを解剖学的に確認した。

Fig. 2：筋電図解析の一例

A：21日齢のPellet chewingの筋電図波形の一例。咬筋（Mass）と側頭筋（Temp）の波形を示す。 B：Aの波形に整流、平滑化、ダウンサンプリングの処理をした波形。 C：Bの側頭筋筋電図波形に自己相関解析を行った結果。 D：Cの波形に高速フーリエ変換を行った結果。最もPower値の大きい周波数値をBの側頭筋波形のリズムとした。 E：各筋活動周期の最小の振幅値をもとに閾値を設定し、筋活動バーストを同定した。筋活動バーストの持続時間を筋活動バースト持続時間とした。 F：Bの咬筋と側頭筋の筋電図波形に相互相関解析を行った結果。最も高い相関係数の値をBの波形の相互相関を示す値とし、そのポイントのX軸の値をタイムラグの値とした。

Fig. 3：14 日齢の吸啜運動の筋電図波形と 21～49 日齢の咀嚼運動の筋電図波形の一例

14 日齢（P）の Nipple attachment と Rhythmic sucking, 21 日齢から 49 日齢の Pasta biting と Pellet chewing の咬筋（Mass）と側頭筋（Temp）の筋電図波形の一例を示す。14 日齢の吸啜運動と 21 日齢の咀嚼運動を比較すると、Rhythmic sucking のリズムが遅く、筋活動バーストの持続時間が長いことが明らかである。

Fig. 4：Fig. 3 の波形に波形処理を行ったあとの筋電図波形の一例

Fig. 3 の筋電図波形に整流、平滑化、ダウンサンプリングを行った 14 日齢（P）の吸啜運動と 21 日齢から 49 日齢までの咀嚼運動の咬筋（Mass）と側頭筋（Temp）の筋電図波形を示す。

Fig.5：21 日齢以降の咀嚼運動の筋活動バーストを平均化した一例

Pasta biting（A）と Pellet chewing（B）の 21, 35, 49 日齢（P）の咬筋（Mass）と側頭筋（Temp）の解析用に処理された筋電図波形（Processed EMG）と各筋活動バーストを重ね合わせた波形（Superposed EMG）と各筋活動バーストを平均化した波形（Averaged EMG）を示す。Superposed EMG は咬筋波形の筋活動バーストの Onset 時間をトリガーとして重ね合わせた。Averaged EMG はそれを平均化した波形で、太線が平均を帯の範囲が標準偏差を示す。矢頭は筋活動バーストのピークを示している。

Fig. 6 : 14 日齢の吸啜運動と 21 日齢の咀嚼運動の比較

14 日齢の Nipple attachment と Rhythmic sucking, 21 日齢の Pasta biting と Pellet chewing の筋電図波形の特性を比較した. A : リズム, B : 咬筋の筋活動バースト持続時間, C : 側頭筋の筋活動バースト持続時間, D : 相互相関, E : タイムラグ. 棒グラフは平均 $\pm$ 標準偏差で示す. ◆は各個体の実数値を示す. # : $P < 0.05$, ## : $P < 0.01$.

Fig. 7 : 離乳以降の咀嚼運動の発達変化

21 日齢から 49 日齢の Pasta biting と Pellet chewing の発達変化を示す. 左の列が Pasta biting と Pellet chewing の日齢ごとの実数値を示す. 濃線が平均 $\pm$ 標準偏差を, 薄線が各個体の実数値を示す. 右の列は 21 日齢 (P) からの変化率を示す. 赤線が Pasta biting を青線が Pellet chewing を示す (平均 $\pm$ 標準偏差). A,B : リズム, C,D : 咬筋の筋活動バースト持続時間, E,F : 側頭筋の筋活動バースト持続時間, G,H 相互相関, I,J : タイムラグ. # : $P < 0.05$, ## : $P < 0.01$ between days. \$: $P < 0.05$, \$\$: $P < 0.01$ between behaviors.

Fig. 1

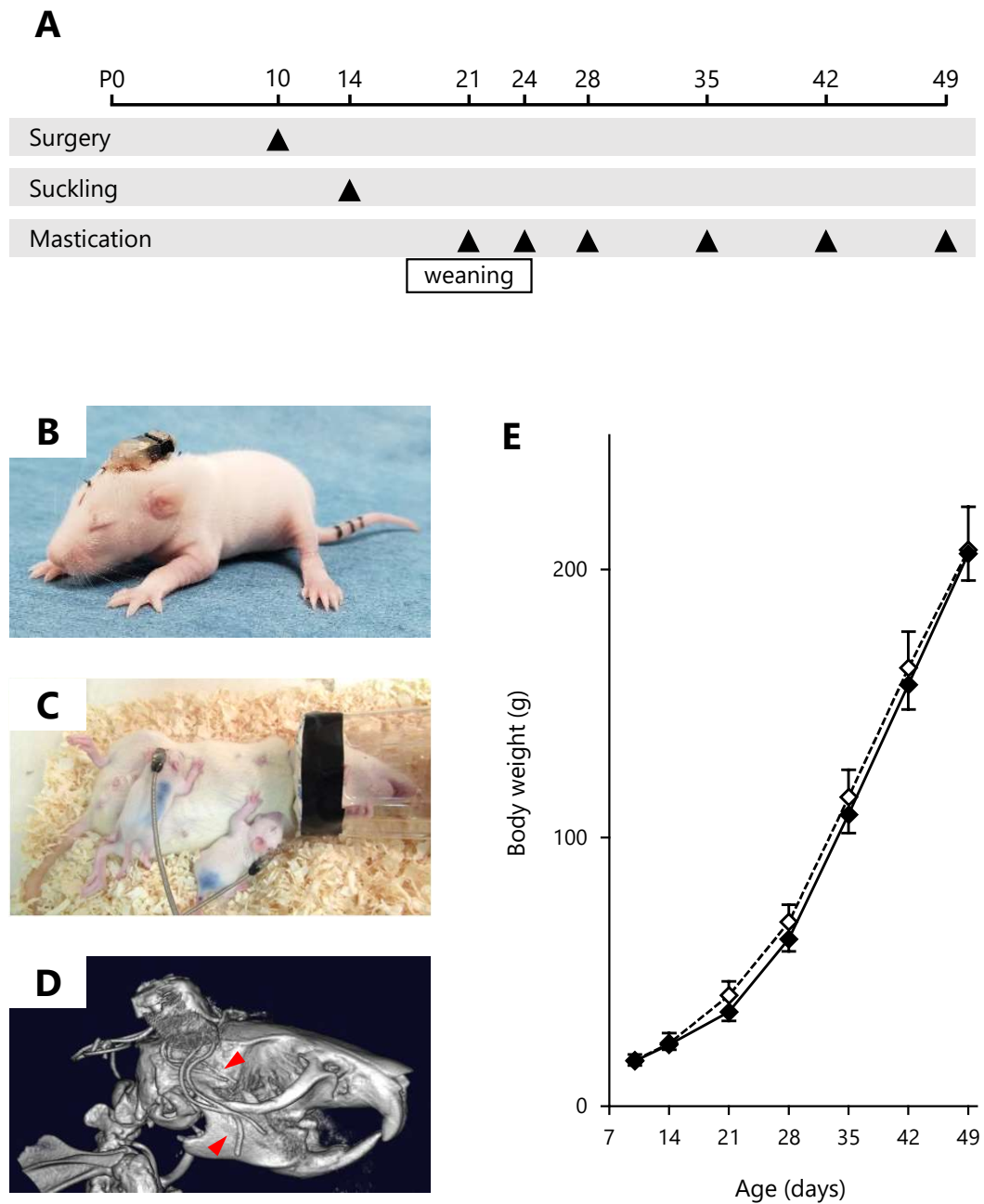


Fig. 2

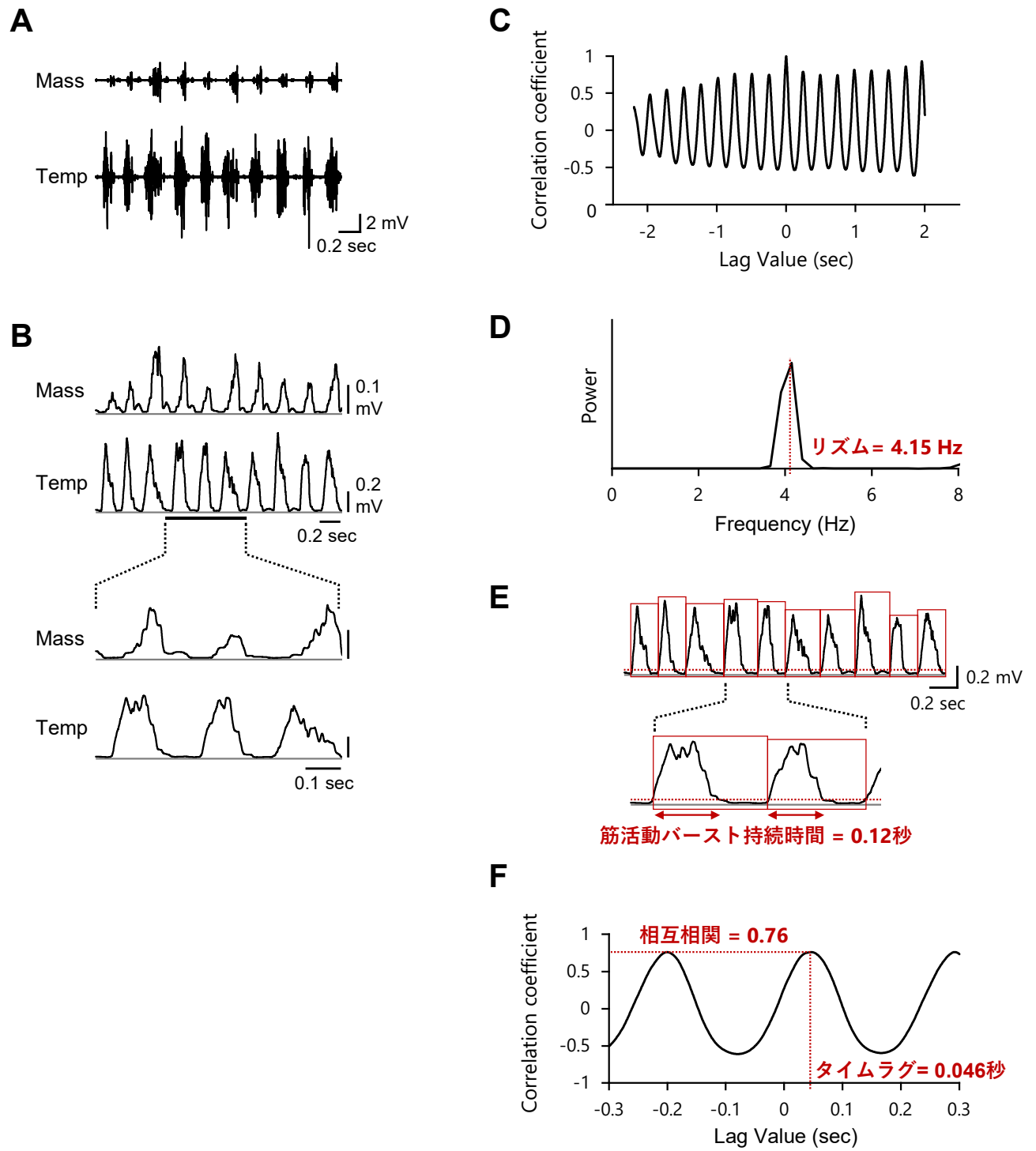


Fig. 3

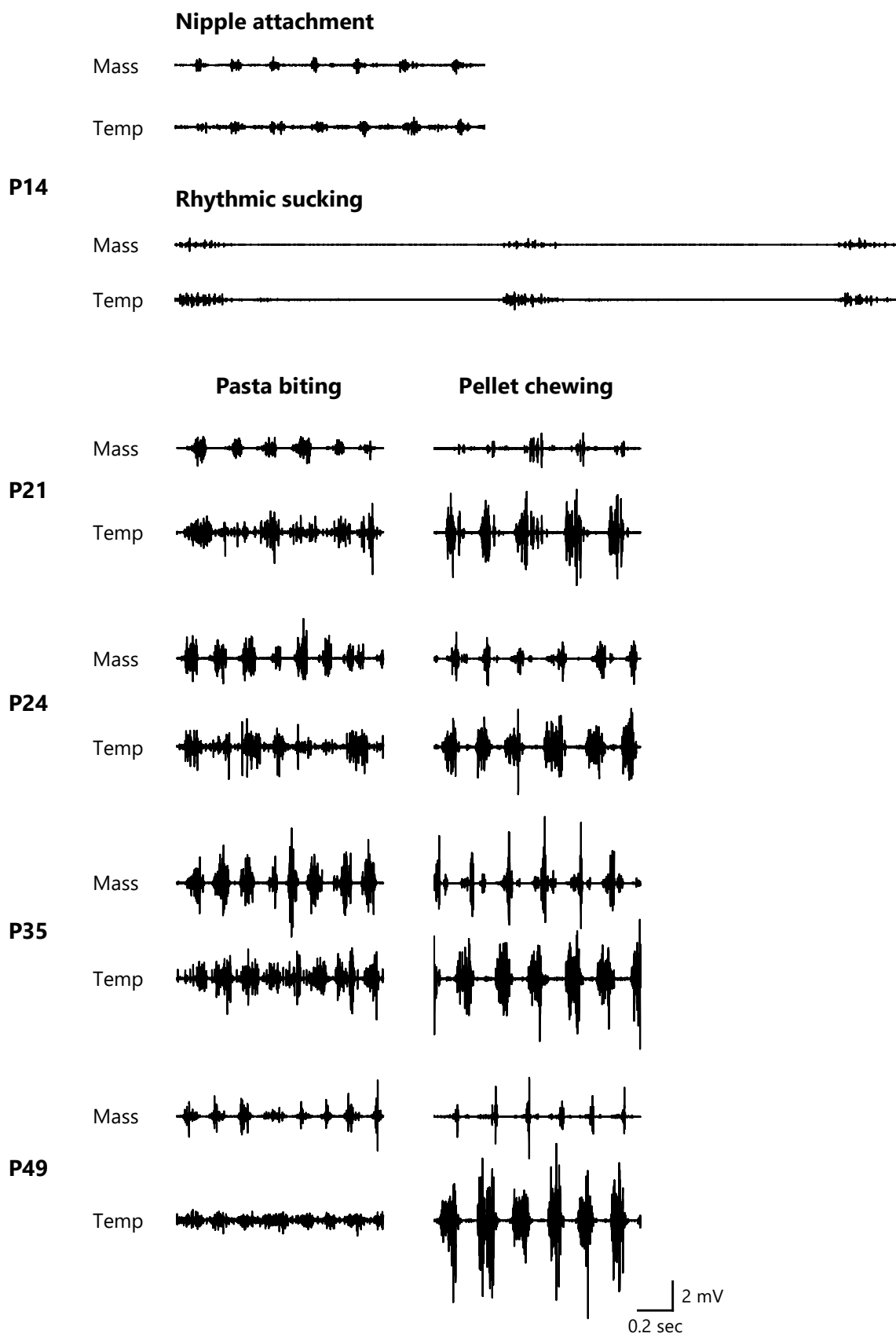


Fig. 4

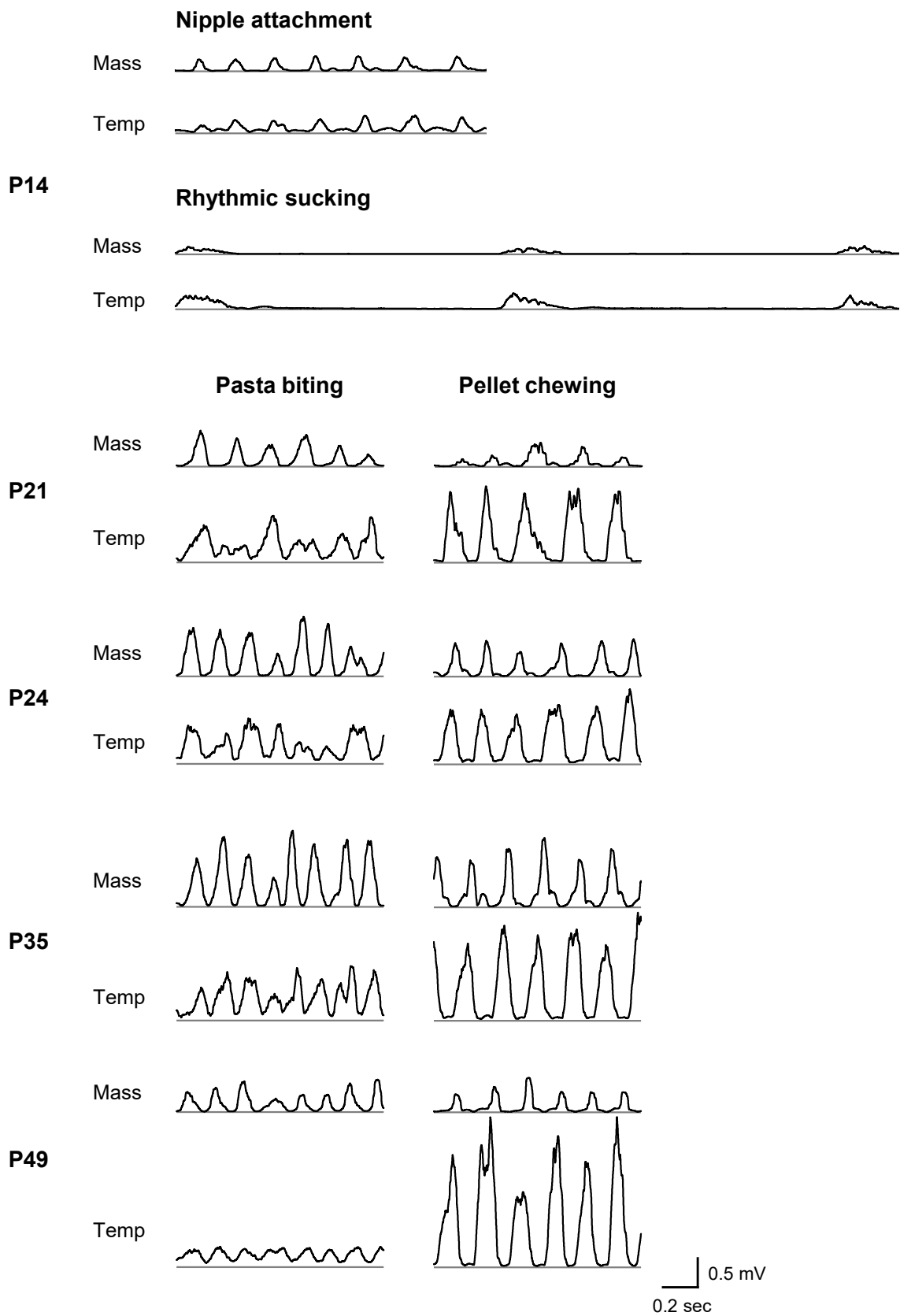
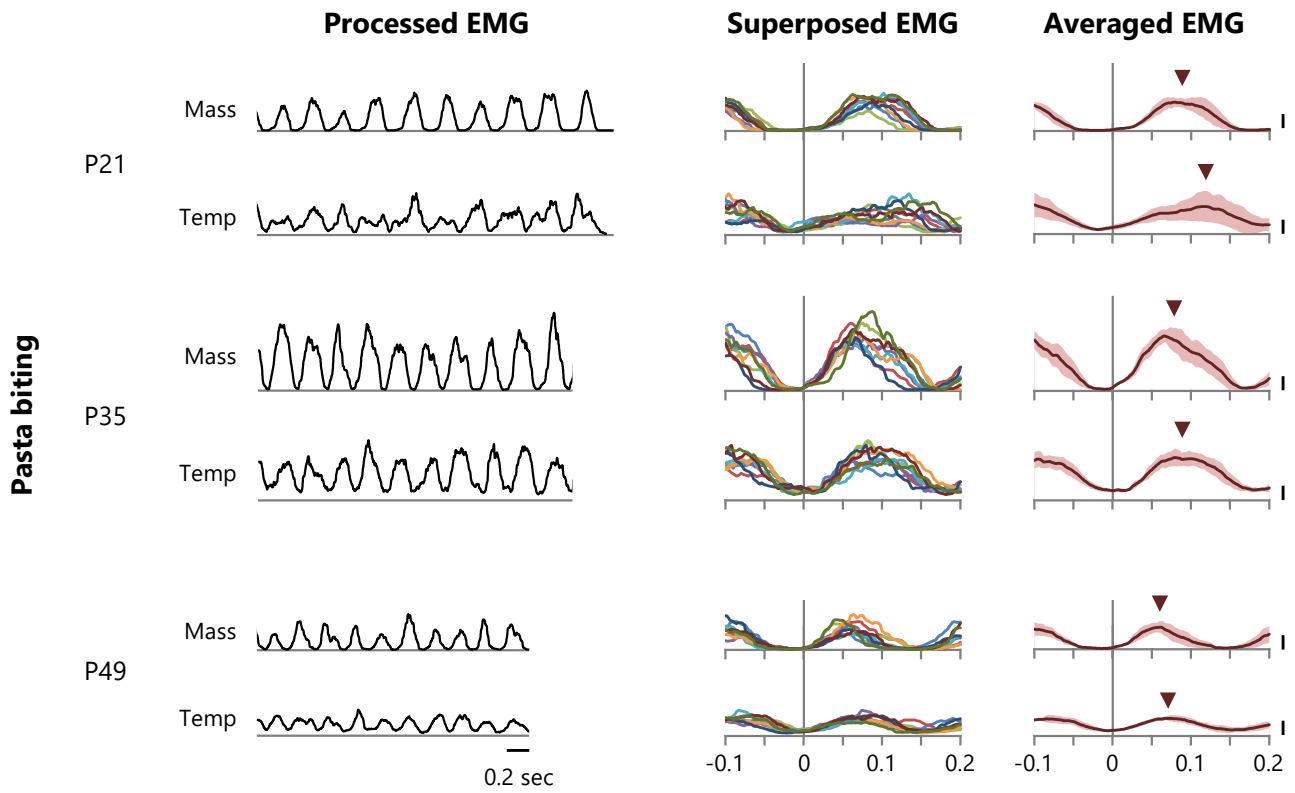


Fig. 5

A



B

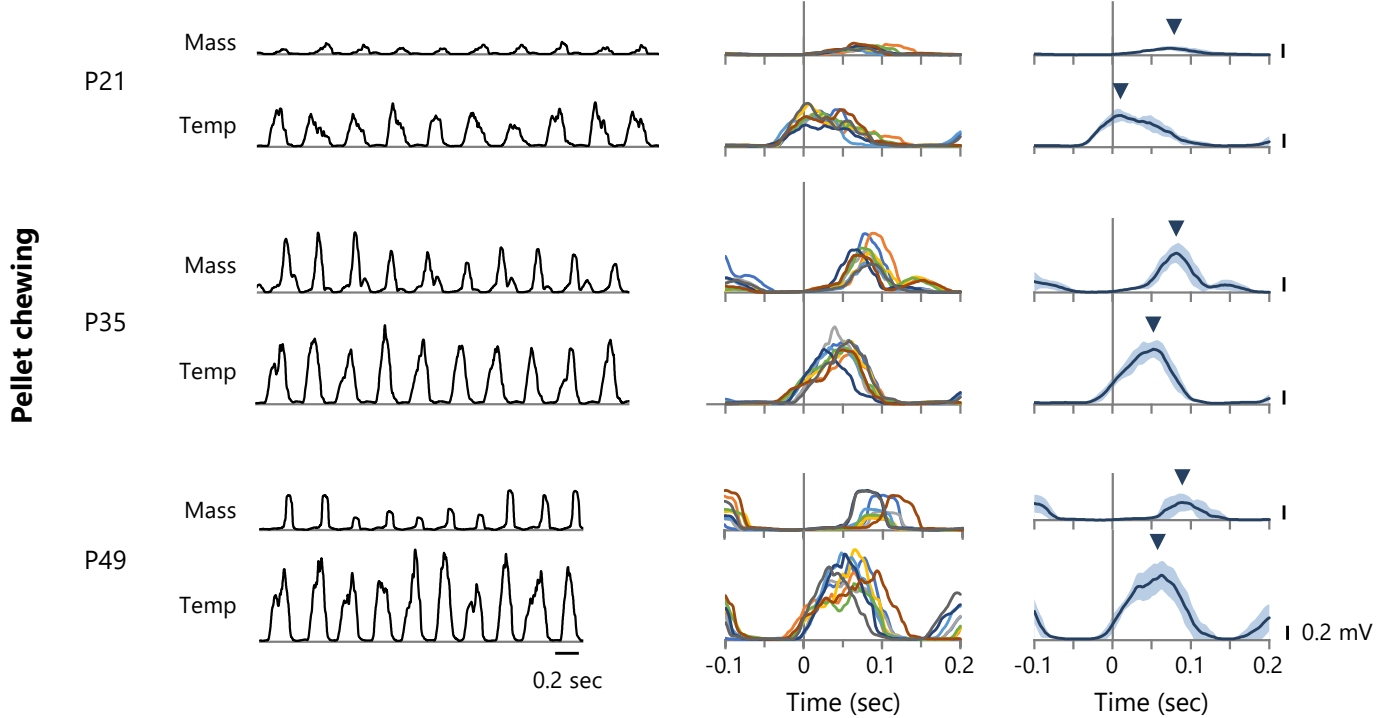


Fig. 6

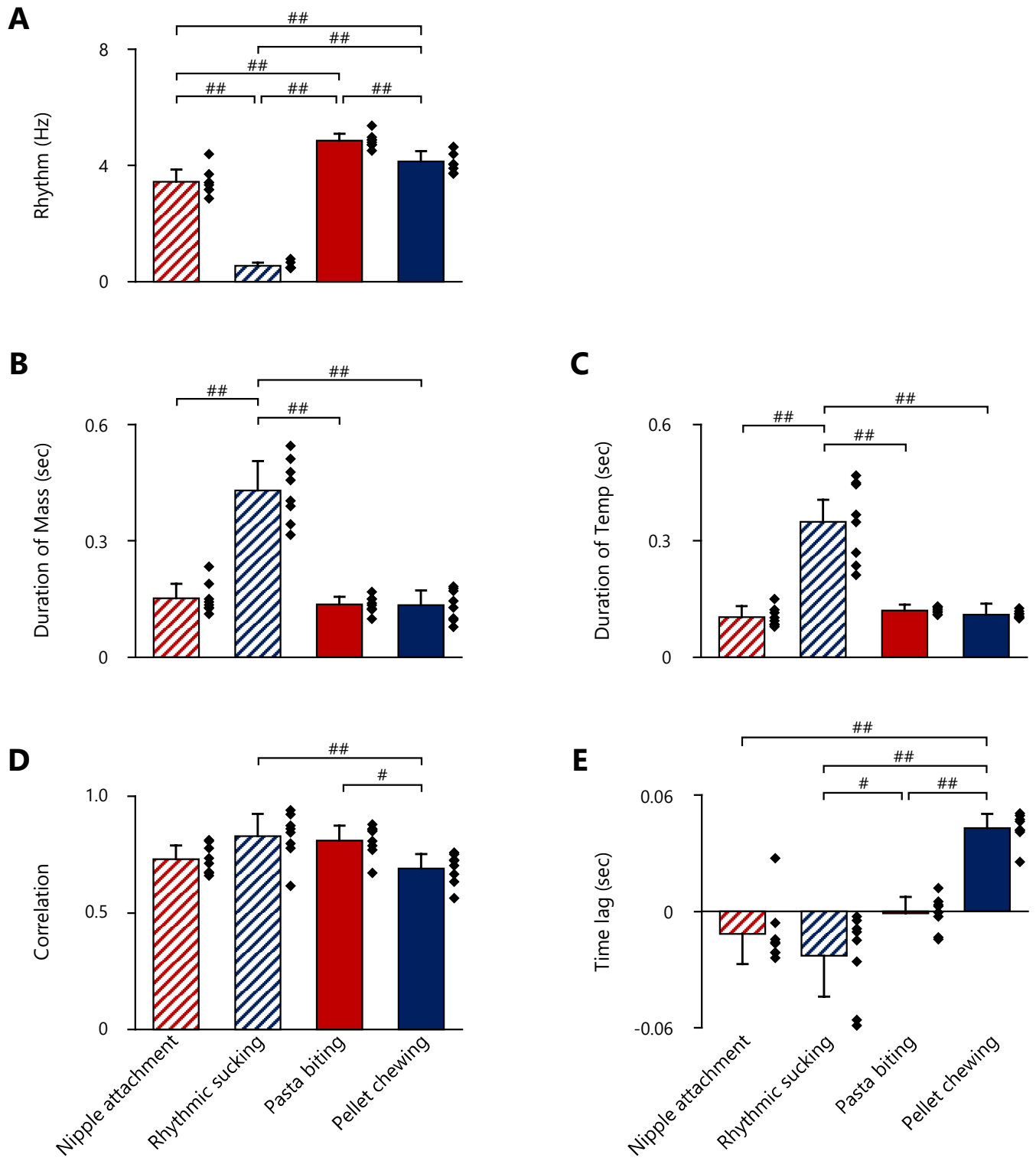


Fig. 7

