

令和 4 年 6 月 28 日現在

機関番号：44512

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K09838

研究課題名(和文)脳腸ペプチドによるストレス起因性顎口腔機能異常の改善に対する効果の検証

研究課題名(英文)Effects of brain-gut peptides on the amelioration of stress-induced abnormalities of maxillofacial function.

研究代表者

八木 孝和 (Yagi, Takakazu)

神戸常盤大学短期大学部・口腔保健学科・教授

研究者番号：10346166

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、ストレスと三叉神経系との関係に着目し、ストレス物質である副腎皮質ホルモン放出因子(CRF)の脳内投与、または身体拘束によるストレス発生下で生じる歯ぎしり様運動の発現機構の一端を解明することである。CRFの脳内投与では、咬筋筋電図の発火が増大し、三叉神経中脳路核の近傍の橋結合腕傍核ならびに青斑核に抗c-Fos抗体陽性反応を認めた。拘束ストレスでは三叉神経運動核周囲や視床下部の外側核などの神経核で免疫陽性細胞を認め、c-Fos とオレキシンの二重標識細胞が認められた。以上から、橋結合腕防核、青斑核ならびにオレキシン細胞は歯ぎしり様行動に関与する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究はストレスと三叉神経系との関係に着目した。ストレス物質である副腎皮質ホルモン放出因子(CRF)の脳内投与、又は身体拘束によって疑似的なストレス状況下を生み出し、脳標本切片と顎口腔系の機能的変化を解析した。その結果、脳内において、ストレス発生時に顎運動と関係がある三叉神経領域や睡眠-覚醒リズムと関係のある青斑核、ならびにストレスとの関係が深い視床下部領域のオレキシン細胞の活動が認められた。以上より、ストレス時における歯ぎしりなどの口腔領域の運動の変調との関与に上記領域が関与している可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to elucidate some of the mechanisms of the development of bruxism-like movements induced by intracerebroventricular administration of corticosteroid releasing factor (CRF), a stressor, or by physical restraints, focusing on the relationship between stress and the trigeminal nervous system. The parabrachial nucleus of the connecting arm and the locus coeruleus in the region of the trigeminal mesencephalic tract nucleus were positive for anti-c-Fos antibodies. In restraint stress, immunopositive cells were observed around the trigeminal motor nucleus and in the lateral nucleus of the hypothalamus, and double-labeled cells of c-Fos and orexin were observed. These results suggest that the connecting arm antinuclear nucleus, locus coeruleus, and orexin cells may be potentially contributing to bruxism-like behavior.

研究分野：歯科

キーワード：顎口腔パラファンクション 副腎皮質ホルモン放出因子 オレキシンニューロン ストレス

### 1. 研究開始当初の背景

高齢化率が世界一である本邦では、2060年には高齢者が全人口の40%程度になると推定され<sup>1)</sup>、増加する国民医療費も65歳以上が61%以上を占めており<sup>2)</sup>、健康寿命の延長が医療政策の目標になっている。近年では、国民の健康寿命の延伸のための取り組みとして、顎口腔機能の維持・回復が重要であることが分かってきた。口腔機能の低下は、オーラルフレイルへつながり、さらにフレイルへと移行することが報告されている<sup>3)</sup>。平成28年の調査において、80歳で20本以上の歯が残存している者の割合は平成5年から4倍以上に増加している<sup>4)</sup>ことを踏まえると、歯が残存していても口腔機能が低下している状態が問題になってきており、歯科医療の主眼は、「如何に口腔機能を維持・回復するか」<sup>5)</sup>へと変わりつつある。

一方、顎口腔パラファンクション(PF)、特に睡眠時ブラキシズム(歯ぎしりや噛み締め; SB)は、国際睡眠関連疾患分類で単純反復性運動障害に分類され、睡眠障害の一要因であり、種々の口腔疾患の危険因子で咬合崩壊等を伴う摂食障害の一因でもある<sup>6)</sup>。また、唾液分泌の低下は口腔乾燥症、嚥下障害やオーラルフレイルを招くとされている<sup>7)</sup>。SBの発症や唾液分泌量の減少にはストレスや口腔の運動機能低下等の因子が絡み合っており、臨床研究の結果からは中枢性要因の重要性が示唆されている<sup>8)</sup>。過去の基礎研究の知見からは、過剰な咬合高径の増加は、筋紡錘-三叉神経中脳路核で伝えられるシグナルが過剰



図1 脳腸相関・HPA系経路と顎口腔機能異常の関係

となり、脳内経路は不明であるがストレスを惹起しブラキシズム様運動を誘発することが推測されている<sup>9,10)</sup>。

ストレスには様々な要因が存在している。脳腸ペプチドの一つである副腎皮質刺激ホルモン放出因子(CRF)は、視床下部室傍核(PVN)において産生され、視床下部-下垂体-副腎(HPA)系を介するストレス反応の中心的役割を担っており、精神症状(不安,抑鬱)や消化管機能異常<sup>11)</sup>と関係することが知られている(図1)。身体拘束ストレス下に置かれたラットを用いた研究では、PVNにおけるCRFの発現が増加するが、拘束ストレス中に木の棒を「咬む」とCRF発現の増加が抑制されることが示されている<sup>12)</sup>。しかし、拘束ストレスによるPVNでのCRFの発現増強がどのように「咬む」行為で調整されるのかは不明である。また、臨床的にもどのようなストレス応答がSBと深く関係しているのかについても判っていない。

### 2. 研究の目的

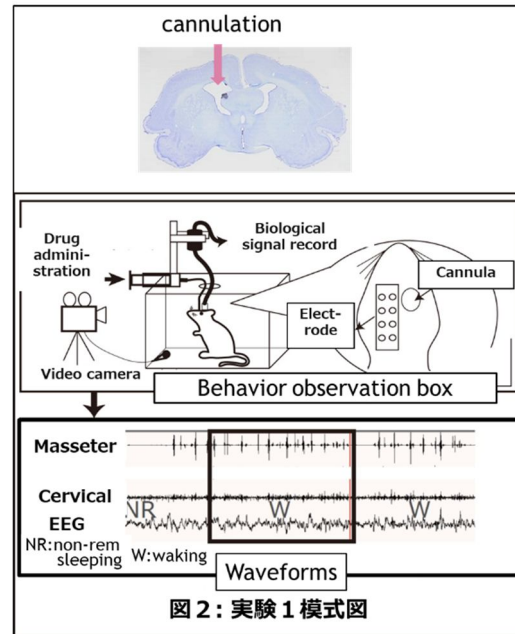
本研究では、ストレスと三叉神経系との関係に着目し、ストレス物質であるCRFの脳内投与、又は身体拘束による疑似的なストレス発生状況下で生じる顎口腔系の機能的変化を分析することで、PFの発現機構の一端について解明することを目的とした。

### 3. 研究の方法

本研究では、2つの実験を行い、ストレス刺激に対する、顎運動の変化と顎運動制御に関わる脳領域の組織学的変化について解析した。

実験1：ラット(N = 6)に咬筋筋電図と脳波の記録用電極、及び、側脳室内へ薬液を注入するためのカニューレを留置した。自由行動下のラットに対して、CRFの脳内投与を行い顎運動活動の観察と記録を行った。

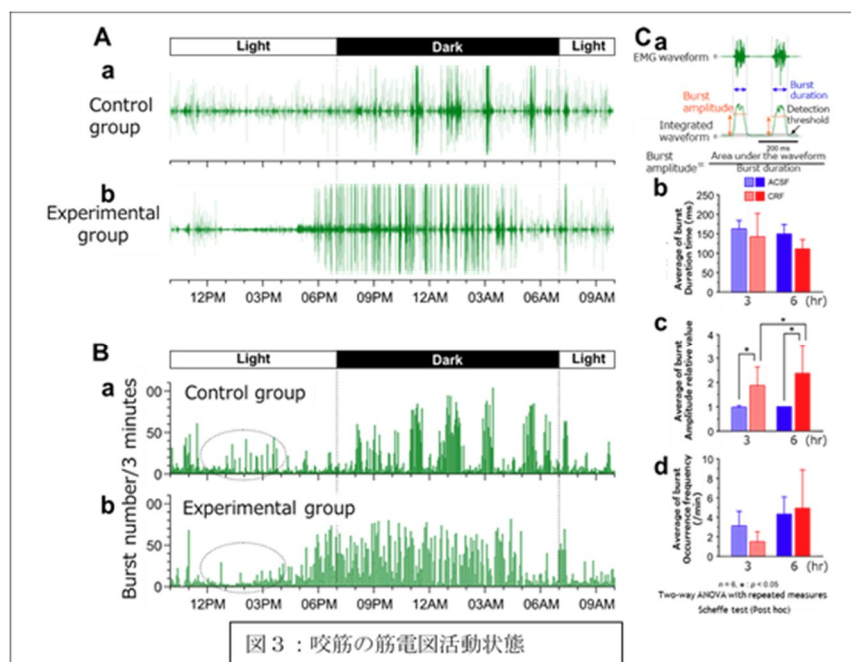
ケージに馴化後、頭部に電極設置とカニューレを留置し記録装置と接続した状態で7日間の術後回復を行った後に人工脳脊髄液(ASCF)あるいはCRFを脳内投与し、データを記録し、7日間のwashout後、前回の逆の試薬を投与し、その影響を分析した(図2)。記録後、深麻酔下で経心的に灌流固定を行ない、作製した前頭断スライス切片に対し抗 c-Fos 抗体を用いた免疫染色を行なった。



実験2：急性ストレスモデルとして、マウスに対し拘束ストレスを行なった。マウス頭部に咬筋筋電図の記録用電極を埋め込み、7日間の回復期間を設けた。次に、50mLの遠沈管に60分間拘束し、実験1と同様に免疫染色を行なった。咬筋の筋活動は、拘束前に1時間、拘束中に1時間計測した。

#### 4. 研究成果

明期にラット脳室内にCRFを投与し、咬筋筋電図のバースト活動を記録したところ、投与後数時間は活動が低下したが、その後上昇に転じ、24時間の総活動量は増大する傾向を示した(図3)



CRF投与後の脳波の周波数解析結果から、咬筋活動が低下している時間帯に一致して、脳波の徐波成分が増加するとともに、通常の明期・暗期でみられる各周波数成分構成比の周期的変動が認められなくなり、正常な睡眠-覚醒リズムが乱されることが示唆された(図4)

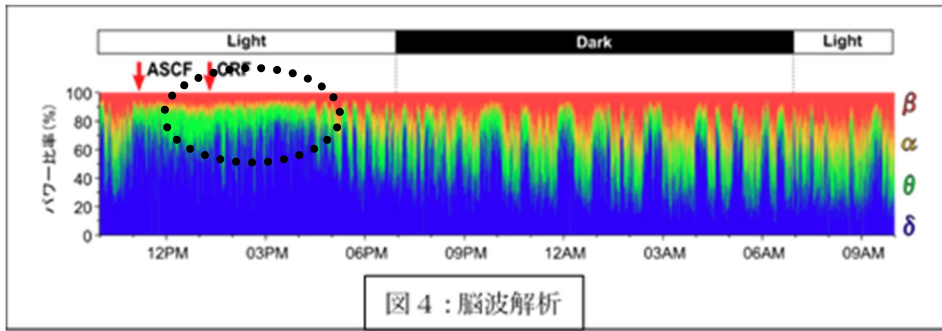


図4：脳波解析

また、抗 c-Fos 抗体による免疫染色を行った結果、三叉神経中脳路核の近傍にある橋結合腕傍核ならびに青斑核 (LC) に陽性反応を認めた (図 5)。覚醒をもたらす上行性網様体賦活系の一部である青斑核は、ストレス反応の惹起にも重要な役割を担っており、また、隣接する三叉神経中脳路核への投射を持つことも知られていることから、CRF 投与後に観察された睡眠-覚醒リズムの攪乱や咀嚼筋活動の変調には、青斑核の関与が想定される。また、初期の応答の発現には、扁桃体等への投射がある橋結合腕傍核外側部の関与が考えられるが、個体差が大きく、さらなる検証が必要と考えられた。

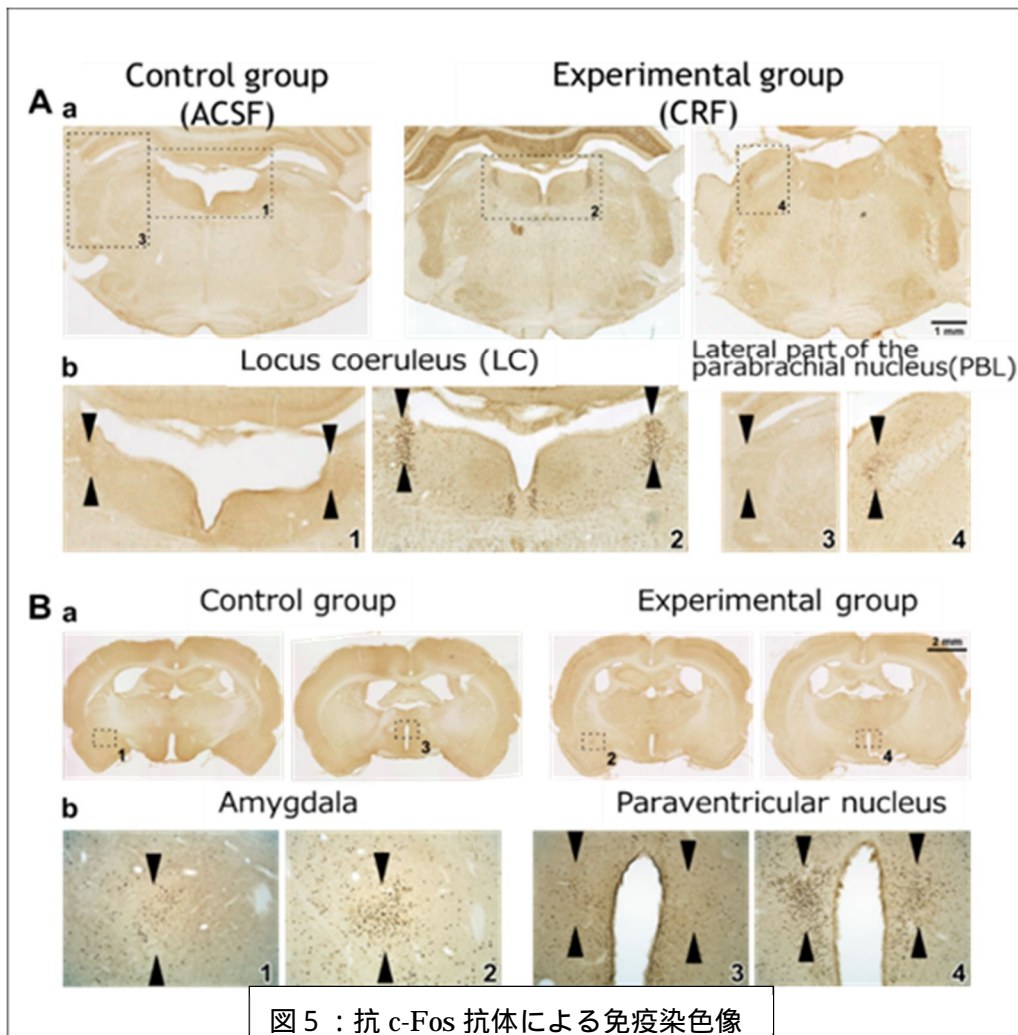


図5：抗 c-Fos 抗体による免疫染色像

一方、拘束ストレスを负荷したマウスでは、一部の個体で歯ぎしり様の咬筋活動を認めた。同マウス脳の c-Fos タンパクの発現を調べたところ、脳幹の三叉神経運動核周囲や視床下部の外側核 (図 6A) をはじめとする複数の神経核において免疫陽性細胞が認められた。これまでの報告において、視床下部外側核に豊富に存在するオレキシン細胞はストレス環境下で活動が亢進することが判っていることから、抗オレキシン抗体を加えた二重免疫染色を行なった結果、c-

Fos 陽性かつオレキシン陽性の細胞が認められた (図 6 B)。

以上のことから,拘束ストレスによって,オレキシン陽性細胞が活性化し,歯ぎしり様行動の発現に何らかの関与をしている可能性が示唆されていた。

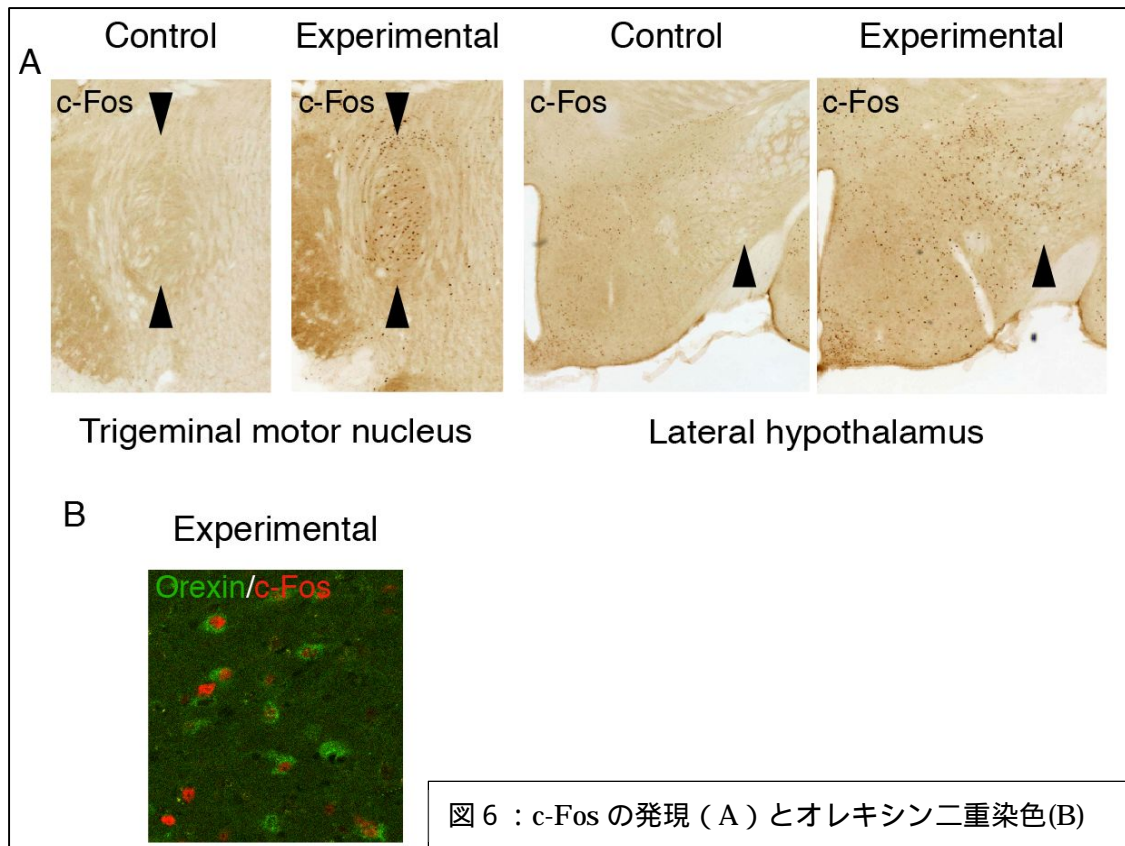


図 6 : c-Fos の発現 ( A ) とオレキシン二重染色(B)

< 引用文献 >

1. 平成 29 年版 厚生労働省白書( p467) , p34-35 , 2017.
2. 令和元年度国民医療費の概況 ( p7 ) , p 6 , 2019
3. オーラルフレイル対応マニュアル 2019 年版 , 公益社団法人日本歯科医師会.
4. 平成 28 歯科疾患実態調査 ( p36 ) , 2017.
5. 中医協報告 , H25.11.22 , 2013.
6. 米国睡眠医学会 . 睡眠障害国際分類第 2 版 . 東京 : 医学書院 ; 198-201 , 2010 .
7. 高齢期における口腔機能低下 学会見解論文 2016 年度版 , 水口 , 津賀 , 池邊ら他 11 名 , 老年歯学 , 31(2) , p81-99 , 2016
8. Kato T, Lavigne GJ. Sleep bruxism: a sleep related movement disorder. Sleep Medicine Clinics, 5:9-35, 2010.
9. Yagi T, Morimoto T, Hidaka O, Iwata K, Masuda Y, Kobayashi M, Takada K. Adjustment of the occlusal vertical dimension in the bite-raised guinea pig. J Dent Res, 82 (2):127-30, 2003.
10. Zhang W, Kobayashi M, Moritani M, Masuda Y, Dong J, Yagi T, Maeda T, Morimoto T, An involvement of trigeminal mesencephalic neurons in regulation of occlusal vertical dimension in the guinea pig. J Dent Res, 82 (7): 565-9, 2003.
11. The role of CRF family peptides in the regulation of food intake and anxiety-like behavior. Nakayama N; Suzuki H; Li JB; Atsuchi K; Tsai M; Amitani H; Asakawa A; Inui A, Biomol Concepts, 2011; 2 (4), pp. 275-80.
12. Hori N, Yuyama N, Tamura K. Biting suppresses stress-induced expression of corticotropin-releasing factor (CRF) in the rat hypothalamus. J Dent Res 83(2): 124-8, 2004.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Yagi Takakazu, Ataka Koji, Cheng Kai-Chun, Suzuki Hajime, Ogata Keizaburo, Yoshizaki Yumiko, Takamine Kazunori, Kato Ikuo, Miyawaki Shouichi, Inui Akio, Asakawa Akihiro	4. 巻 64
2. 論文標題 Red rice koji extract alleviates hyperglycemia by increasing glucose uptake and glucose transporter type 4 levels in skeletal muscle in two diabetic mouse models	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Food & Nutrition Research	6. 最初と最後の頁 4226 ~ 4235
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.29219/fnr.v64.4226	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Ogata Keizaburo, Ataka Koji, Suzuki Hajime, Yagi Takakazu, Okawa Ayumi, Fukumoto Takamasa, Zhang Boyang, Nakata Masanori, Yada Toshihiko, Asakawa Akihiro	4. 巻 2020
2. 論文標題 Lavender Oil Reduces Depressive Mood in Healthy Individuals and Enhances the Activity of Single Oxytocin Neurons of the Hypothalamus Isolated from Mice: A Preliminary Study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine	6. 最初と最後の頁 1 ~ 9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1155/2020/5418586	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Taira Sayuri, Oga Yasuhiko, Yagi Takakazu, Miyawaki Shouichi	4. 巻 79
2. 論文標題 Treatment of complete transposition of upper right canine and first premolar and scissors-bite on second molars by non-extraction and retention of the transposed positions	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Orthodontic Waves	6. 最初と最後の頁 179 ~ 187
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/13440241.2020.1843355	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Suzuki Hajime, Ataka Koji, Asakawa Akihiro, Cheng Kai-Chun, Ushikai Miharuru, Iwai Haruki, Yagi Takakazu, Arai Takeshi, Yahiro Kinnoyuke, Yamamoto Katsuhiko, Yokoyama Yoshito, Kojima Masayasu, Yada Toshihiko, Hirayama Toshiya, Nakamura Norifumi, Inui Akio	4. 巻 9
2. 論文標題 Helicobacter pylori Vacuolating Cytotoxin A Causes Anorexia and Anxiety via Hypothalamic Urocortin 1 in Mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 6011
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-42163-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yagi Takakazu, Yamashiro Takashi, Miyawaki Shouich	4. 巻 77
2. 論文標題 Treatment of severe maxillary hypoplasia with oligodontia and complete bilateral cleft lip and palate by maxillary anterior segmental distraction osteogenesis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Orthodontic Waves	6. 最初と最後の頁 57 ~ 65
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.odw.2017.12.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Oga Yasuhiko, Tomonari Hiroshi, Kwon Sangho, Kuninori Takaharu, Yagi Takakazu, Miyawaki Shouichi	4. 巻 89
2. 論文標題 Evaluation of miniscrew stability using an automatic embedding auxiliary skeletal anchorage device	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Angle Orthodontist	6. 最初と最後の頁 47 ~ 53
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2319/121117-857.1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Yagi T, Saitou M, Iwai H, Miyawaki S.
2. 発表標題 Does an intracerebral administration of corticotropin- releasing factor cause oral parafunction?
3. 学会等名 The 9 the International Orthodontic Congress (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 八木孝和、斎藤 充、後藤哲也、小柳宏太郎、菅 真有、宮脇正一
2. 発表標題 副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモンの脳内投与が顎機能に及ぼす影響
3. 学会等名 日本矯正歯科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 T. Yagi, E. Kuramoto, H. Seki, M. Saito, H. Iwai A. Yamanaka, T. Goto
2. 発表標題 Neurodegeneration of trigeminal nervos system affects the mastication in triple transgenic Alzheimer's disease model mice
3. 学会等名 Japanese Association of Oral Biology
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 八木孝和、山城隆、宮脇正一
2. 発表標題 多数歯欠損を伴う両側性唇顎口蓋裂に対する上顎骨前方部分延長術を利用した1治験例
3. 学会等名 日本口蓋裂学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 菅真有、八木孝和、日野沙耶佳、宮脇正一
2. 発表標題 マルチブラケット治療前の患者の心理的評価と顎顔面形態との関係
3. 学会等名 日本矯正歯科学会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<https://researchmap.jp/read0223>



## 6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	宮脇 正一 (Miyawaki Shouichi) (80295807)	鹿児島大学・医歯学域歯学系・教授  (17701)	
研究分担者	浅川 明弘 (Awakawa Akihiro) (10452947)	鹿児島大学・医歯学域医学系・教授  (17701)	
研究分担者	齋藤 充 (Saito Mitsuru) (50347770)	鹿児島大学・医歯学域歯学系・教授  (17701)	
研究分担者	安宅 弘司 (Ataka Kouji) (30563358)	鹿児島大学・医歯学総合研究科・特任講師  (17701)	
研究分担者	倉本 恵梨子 (Kuramoto Eriko) (60467470)	鹿児島大学・医歯学域歯学系・助教  (17701)	
研究分担者	前田 綾 (Maeda Aya) (10457666)	鹿児島大学・医歯学域歯学系・助教  (17701)	
研究分担者	菅 真有 (Syga Mayu) (50779973)	鹿児島大学・医歯学域附属病院・助教  (17701)	
研究分担者	小柳 宏太郎 (Koyanagi Kotaro) (20806476)	鹿児島大学・附属病院・医員  (17701)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	岩井 治樹  (Iwai Haruki)  (30452949)	鹿児島大学・医歯学域歯学系・助教     (17701)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関