

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 21 日現在

機関番号：37114  
 研究種目：若手研究（B）  
 研究期間：2010 ～ 2011  
 課題番号：22791898  
 研究課題名（和文） 末梢型ベンゾジアゼピン受容体遺伝子解析の治療リスク診断への応用

研究課題名（英文） The Relationship between Sleep Bruxism and Peripheral-type Benzodiazepine Receptor Gene Polymorphism

研究代表者  
 牧野 路子 (MICHIKO MAKINO)  
 福岡歯科大学・歯学部・助教  
 研究者番号：50550729

研究成果の概要（和文）：

本研究の目的は、末梢型ベンゾジアゼピン受容体（PBR）遺伝子多型が睡眠時ブラキシズムおよび唾液中ストレスに及ぼす影響を明らかにすることとした。睡眠時ブラキシズムの評価方法として、携帯型筋電計を用い、精神的ストレスマーカーとして唾液中 CgA を、ストレスの感受性の評価として PBR 遺伝子多型の同定と特性不安検査（STAI）を行った。PBR 遺伝子多型群では有意にブラキシズムイベントが多く認められたため、睡眠時ブラキシズム発現のリスクが高い可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

The objective of this study is to clarify the relationship between sleep bruxism behavior and Chromogranin A(CgA) level in saliva and Peripheral-type Benzodiazepine Receptor(PBR) gene polymorphism. We used small electromyographic monitors for measuring sleep bruxism. We measured the concentration of CgA in saliva as a stress biomarker. We analyzed PBR gene and administered the StateTrait Anxiety Inventory (STAI) to the subjects. The groups of the polymorphism of the PBR gene were significantly correlated with the number of bruxism event. We suggested that the subjects of the polymorphism PBR gene might have a higher risk of Sleep bruxism.

交付決定額

(金額単位：円)

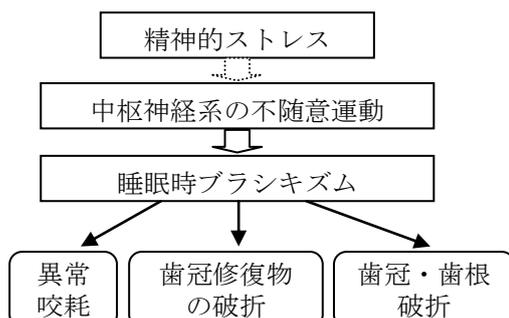
|         | 直接経費      | 間接経費    | 合計        |
|---------|-----------|---------|-----------|
| 2010 年度 | 2,000,000 | 600,000 | 2,600,000 |
| 2011 年度 | 1,000,000 | 300,000 | 1,300,000 |
| 総計      | 3,000,000 | 900,000 | 3,900,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・補綴系歯学

キーワード：ブラキシズム，ストレス，遺伝子多型

1. 研究開始当初の背景



現在、睡眠時ブラキシズムは精神的ストレスと密接な関係にある中枢性の不随意運動と考えられている。睡眠時ブラキシズムの弊害として上図のような異常咬耗やインプラント治療などの歯科補綴治療の失敗、歯冠修復物の破折などが挙げられる。しかしながら、精神的ストレスの評価が難しいため、未だ睡眠時ブラキシズムの病因、メカニズムについては明らかでない。そのため、睡眠時ブラキシズムについては対症療法としてのナイトガードの装着が主な治療法と考えられている。

る。Selye (*Nature* 138, 32, 1936) により「ストレス学説」が提唱されて以来、ストレス応答機序の裏付けにより、数種の物質がストレスマーカーとして認知され、さらに近年の分子生物学や脳科学の進展とともに、新たなストレス応答機序の研究やストレスマーカーの研究が進んでいる。そこで、申請者はストレス刺激のない状態で採取できる唾液中からクロモグラニン A (CgA)、コルチゾールを精神的ストレスの評価指標として用いて研究を行い、睡眠時ブラキシズムとの関連について興味ある知見を得てきている (*Int J Prosthodont* 22, 19-26, 2009)。

一方、近年、血小板における末梢型ベンゾジアゼピン受容体 (Peripheral-type benzodiazepine receptors : PBR) の発現と特性不安と相関することが報告され注目を集めている。PBR は副腎皮質に数多く存在するタンパク質で、コルチゾールなどのステロイドホルモンの合成を促す働きがある。生体にストレスが加わると、コルチゾールの合成が盛んになる一方で、PBR も多量に産生され、血小板にも PBR が存在しストレスにより増加することが報告されている (*Psychopharmacology* 162, 2002, 301-303)。さらに PBR 遺伝子の遺伝子多型の解析からストレス感受性の評価が可能であると報告されている (*Folia Pharmacol Jpn.* 2005, 125, 33-36)。

このことから、唾液中ストレスマーカーに加え、PBR 遺伝子多型解析を用いて精神的ストレスを遺伝的要因も含めて総合的に評価することにより、精神的ストレスと睡眠時ブラキシズムとの関連に基づいた歯科補綴治療リスク診断システムの開発が可能になるのではないかとこの着想に至り研究に着手した。

## 2. 研究の目的

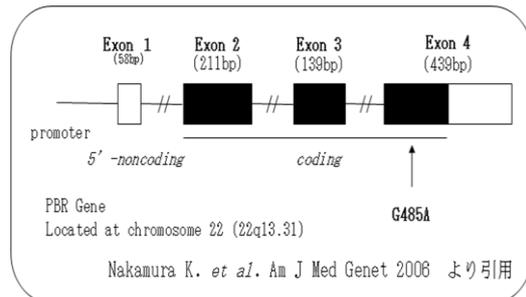
PBR の遺伝子多型と睡眠時ブラキシズムの関連を明らかにし、PBR の遺伝子検査により睡眠時ブラキシズムの診断と遺伝的リスクを診断することを目的とする。

## 3. 研究の方法

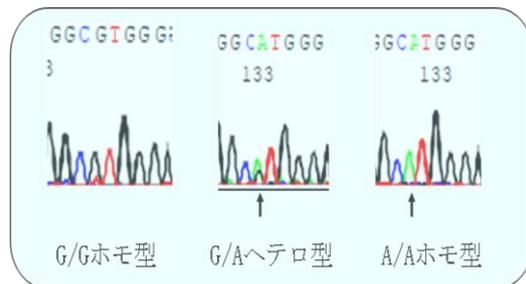
本研究は九州歯科大学研究倫理委員会の承認を得て行った(承認番号 N010-20)。神経障害、睡眠障害および睡眠に影響のある薬剤を服用していない 20 名(男性 14 名, 女性 6 名:平均年齢 28.95 歳)を被験者とした。

### (1) 遺伝子多型の同定

被験者からアプリーターを用い、口腔粘膜細胞を採取後、phi29 DNA polymerase を用いゲノム DNA の増幅を行った。その後、Touch-down PCR 法を用いて PBR 遺伝子の増幅後、ダイレクトシーケンシング法にて、遺伝子多型を同定した(下図参照)。



PBR 遺伝子の Exon4 の翻訳開始基から 485 番目の塩基の置換を調べることにより G/G ホモ型, G/A ヘテロおよび A/A ホモ型に分類した。



### (2) 各パラメータの測定

#### ① 特性不安検査 (STAI-JYZ)

睡眠前に特性不安尺度の評価のため自記式質問表 (STAI-JYZ) に記入した。

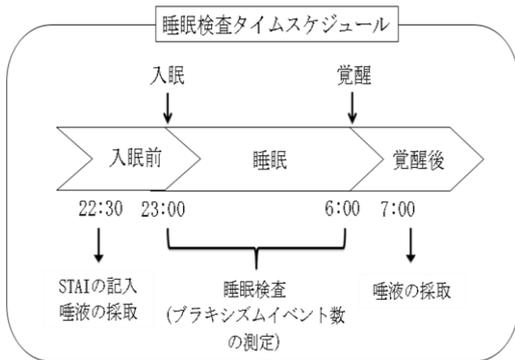
#### ② 睡眠時ブラキシズムの測定

睡眠時ブラキシズムの測定には睡眠時に咬筋の筋電位活動を記録するため携帯型筋電計(夢眠計, SleepWell 社<sup>®</sup>)を使用した。計測前に各被験者に 3 秒間の随意性最大咬みしめを 3 回行わせ、その最大振幅の平均を 100% Maximum Voluntary Contraction (MVC) とし、その 20%MVC の活動レベルを超え、しかも持続時間 3 秒以上である筋活動をブラキシズムイベントとした (Ikeda T. *et al. J Orofac Pain*, 1996)。

#### ③ 睡眠前後の CgA 量の変化

睡眠前後に唾液を採取後、唾液中ストレスタンパクである CgA は ELISA 法を用い、唾液中タンパク質濃度は BCA 法を用いて測定した。唾液中 CgA 濃度は唾液中タンパク質濃度当たりで表し、睡眠前後の CgA 量の変化について唾液中 CgA 比(唾液中 CgA7:00/10:30)を算出し分析に用いた。

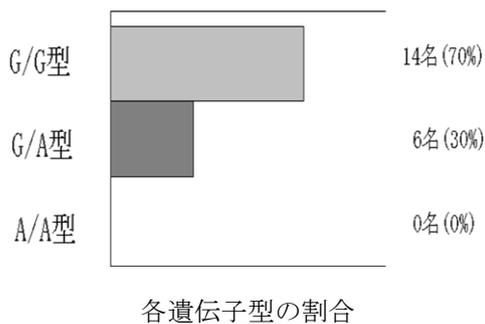
睡眠検査のタイムスケジュールを以下に示す。



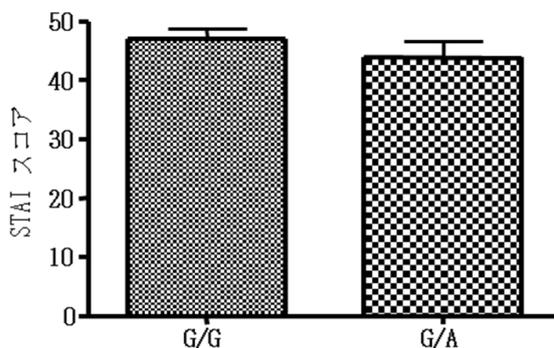
(3) 遺伝子型と各パラメータの関連を検討  
統計学的解析として Mann-Whitney の U 検  
定を用い、 $p < 0.05$  を有意水準とした

#### 4. 研究成果

20 名のうち 6 名 (30%) の被験者に G/A ヘテ  
ロ型の PBR 遺伝子多型がみられ、それ以外の  
70% は G/G ホモ型であった。また、A/A ホモ型  
は検出されなかった。

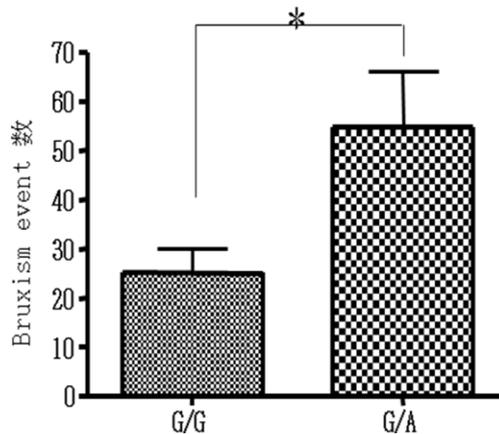


STAI スコア (特性不安尺度) は G/A 群  
 $43.83 \pm 6.63$ , G/G 群  $47.07 \pm 6.63$  であつた。  
G/A 群の方がスコアは低い傾向がみられたが  
有意な差は認められなかった。



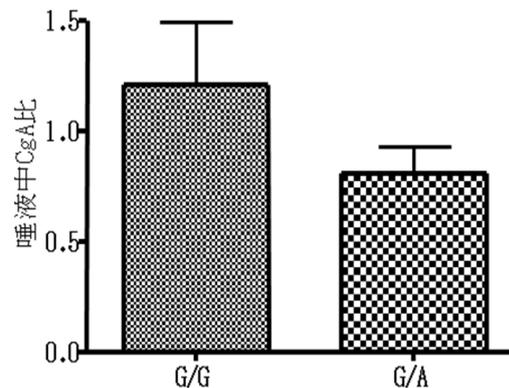
各遺伝子型における STAI スコアの比較

Bruxism event 数は G/A 群  $54.7 \pm 28.5$  回,  
G/G 群  $25.1 \pm 19.0$  回で G/A 群では有意に多く  
認められた。(\* $p < 0.05$ )



各遺伝子型における Bruxism event の比較

睡眠前後の CgA 濃度は G/A 群では減少して  
いたものの、G/G 群では逆に増加傾向が認め  
られた。



各遺伝子型における唾液中 CgA 比の比較

本研究より PBR 遺伝子多型群 (GA 群) は睡眠  
時ブラキシズム発現のリスクが高い可能性  
が示唆された。また、不安を受けにくいとい  
われている GA 群では睡眠前後で精神的スト  
レス指標の CgA 量が減少する傾向が示され  
たことから、PBR 遺伝子多型患者はブラキシ  
ズムをすることでストレスを抑制している可  
能性が示唆された。  
PBR 遺伝子多型は睡眠時ブラキシズムおよ  
び睡眠前後のストレス変化に影響を及ぼす可  
能性が示唆された。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に  
は下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 3 件)

① 村上貴也, 正木千尋, 高橋英敬, 牧

野路子, 中本哲自, 細川隆司. 末梢型ベンゾジアゼピン受容体(PBR)遺伝子多型と睡眠時ブラキシズムとの関連について, 第71回九州歯科学会, 2011/5/29. 福岡

② T. Murakami, C. Masaki, H. Takahashi, M. Makino, T. Nakamoto, R. Hosokawa, Association of Peripheral-type Benzodiazepine Receptor gene polymorphism with Sleep Bruxism. 第59回 Japanese Association for Dental Research 学術大会, 2011/10/8, 広島

③ 高橋英敬, 正木千尋, 柄慎太郎, 友枝圭, 近藤祐介, 丸山俊正, 牧野路子, 吉田政樹, 中本哲自, 細川隆司. ナイトガード装着が睡眠前後における精神的ストレスに与える影響, 23年度日本補綴歯科学会九州支部学術大会, 2011/11/6, 長崎,

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計 0)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

牧野 路子 (MAKINO MICHIKO)

福岡歯科大学・歯学部・助教

研究者番号: 50550729

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号:

(3) 連携研究者 ( )

研究者番号: