

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 9 月 29 日現在

機関番号：27102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592926

研究課題名(和文)末梢型ベンゾジアゼピン受容体遺伝子多型解析を用いた補綴治療リスク診断

研究課題名(英文) Risk assessment of prosthodontic treatment by peripheral benzodiazepine receptor gene polymorphism

研究代表者

正木 千尋 (Masaki, Chihiro)

九州歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：60397940

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：ストレスの感受性の指標であるPBR遺伝子多型と睡眠時ブラキシズムや睡眠前後における精神的ストレス変化との関連についての検討を行った。被験者の口腔粘膜細胞を採取後、PBR遺伝子の増幅後遺伝子多型の同定を行い、また睡眠時ブラキシズムの評価を行うために、睡眠中の咬筋の筋活動を測定した。さらに睡眠前後における精神的ストレスの指標として唾液中CgAの測定を行った。睡眠前後のCgAを比較したところ、G/G群は入眠前よりも起床後のCgAレベルが上昇する傾向が示された。以上より、PBR遺伝子多型が睡眠中のブラキシズムによるストレスマネジメントに影響を及ぼす可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Peripheral-type benzodiazepine receptor (PBR) gene polymorphism is associated with stress sensitivity, but it is not yet clear whether polymorphisms in this gene have any influence on psychological stress. The present study was performed to examine the relationship between sleep bruxism and PBR gene polymorphism. The PBR gene was amplified using phi29 DNA polymerase after collection of DNA from oral mucosa cells. We also measured masseter muscle activity during sleep using portable electromyography to evaluate sleep bruxism. Furthermore, stimulated whole-saliva samples were collected for quantification of salivary chromogranin A (CgA) level. Thirty-two subjects (68.1%) had the G/G genotype, 13 (27.6%) had G/A, and 2 had A/A. The number of bruxism events was significantly higher in the G/A than the G/G group. Changes in salivary CgA levels were significantly lower in the G/A than G/G group. PBR gene polymorphism may influence psychological stress management through bruxism during sleep.

研究分野：医歯薬学

キーワード：睡眠時ブラキシズム 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。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、申請者ら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。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関連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。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。

### 2. 研究の目的

本研究では、PBR 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評価することで、補綴治療のリスク診断につなげること目指し、PBR 遺伝子多型と睡眠時ブラキシズムの関連を明らかにすること、また、PBR 遺伝子多型と睡眠前後での精神的ストレスの変化との関連を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) 研究に同意を得られた欠損のない個性正常咬合である健常有歯顎者 58 名 (男性 30 名、女性 28 名、平均年齢 24.0 歳) を選択した。除外基準としては睡眠障害および神経障害があること、歯科治療中であること、薬剤を服用していること、喫煙者であることとした。被験者からアプリケーションを用いて口腔粘膜細胞を採取後、phi 29 DNA polymerase にてゲノム DNA を増幅、Touch-down PCR 法にて PBR 遺伝子を増幅後、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。エクソン

4 の翻訳開始基から 485 番目の塩基の違いから G/G ホモ型、G/A ヘテロ型、A/A ホモ型の 3 種類に分類した。

(2) 睡眠中の咬筋筋電図測定には携帯型筋電計 (夢眠計®, Sleepwell 社) を用い、30% MVC (Maximal Voluntary Contraction) 以上で 3 秒以上連続する筋活動をブラキシズムイベントと判定した。睡眠検査のスケジュールとして、就寝時間を 23 時、起床時間を 6 時 45 分とした。

(3) 精神的ストレスの生化学的指標として唾液中クロモグラニン A (CgA) を入眠前の 22:30 と起床後の 7:00 の 2 回測定し、タンパク補正を行った。入眠前と起床後の CgA レベルの比を睡眠前後のストレス変化として評価した。唾液中の CgA 濃度は ELISA 法を用い、唾液中タンパク濃度は BCA 法を用いて、タンパク室濃度での補正を行った。

(4) ストレスの心理学的指標として日本語版 State-Trait Anxiety Inventory (STAI) を用いた。状態不安尺度 (STAI-Y1) と特性不安尺度 (STAI-Y2) のうち、ストレス感受性の評価として STAI-Y2 を用いた。

(5) 統計学的分析として各群の比較には Mann-Whitney の U 検定を用い、睡眠前後の比較には Wilcoxon signed rank test を用いた。

### 4. 研究成果

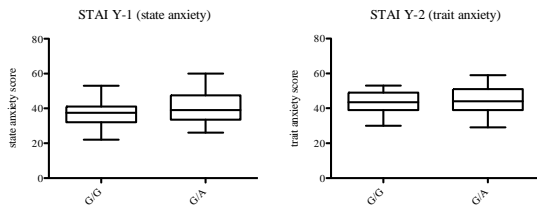
(1) 58 名の被験者を検討したところ、G/G ホモ型が 65.5% の 38 名、G/A ヘテロ型が 31% の 18 名、A/A ホモ型が 3.4% の 2 名であった。

(2) 遺伝子多型別のブラキシズムイベント数を検討したところ、G/G ホモ型を持つものは 2 回以上 3 回未満が最も多く、一方、G/A ヘテロ型をもつものは全体的にばらついており、1 回未満の被験者が 4 名もみられる一方、1 時間あたり 8 回以上もブラキシズムイベントを行った被験者が 6 名いた。A/A ホモ型に関しては 2 回以上 4 回未満に分布していた。

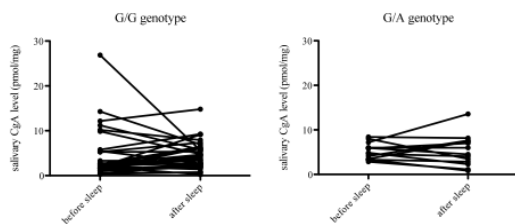
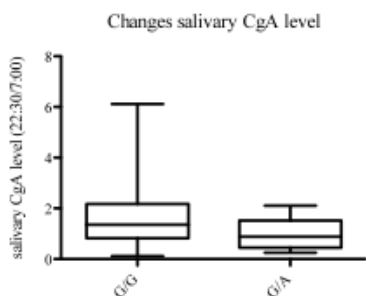
Table 1

Genotype	(a)	(b)
	n=58 (%)	n=47 (%)
G/G	38 (65.5)	32 (68.1)
G/A	18 (31.0)	13 (27.6)
A/A	2 (3.4)	2 (4.2)

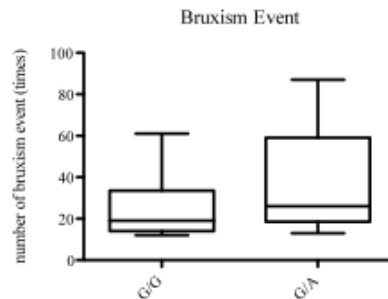
(3) 遺伝子型別に 1 時間当たり 2 回以上のブラキシズムイベントを行っている被験者の割合を検討したところ、G/G 群では 84.2% が 2 回以上のブラキシズムを示したが一方、G/A 群は 72.2% が 2 回以上のブラキシズムイベントを示した。G/G 群の方が G/A 群と比較し、2 回以上のブラキシズムイベントを行う割合が高かったものの、有意差はみられなかった。(4) 各遺伝子多型と STAI との関連を検討したところ、STAI-Y1 および STAI-Y2 とともに有意な違いは認められなかった。



(5)睡眠時ブラキシズム前後での精神的ストレス変化に個人差があるか否かを検討するため、睡眠1時間あたり2回以上のブラキシズムイベントを行った被験者を選択し、ブラキシズム前後でのストレス変化の検討を行ったところ、ブラキシズムイベント数が2回以上のものはG/G群が84%であり、G/A群は72%であった。睡眠前後のCgA量の比をG/G群とG/A群で比較したところ、G/G群は中央値1.35、G/A群では中央値0.83でありG/G群の方が有意に高い値を示した。つまり、G/G群では精神的ストレスが起床後に増加傾向にあるのに対し、G/A群では睡眠前後でほとんど変化しない可能性が示された。



(6)ブラキシズムイベントを1時間あたり2回以上行った被験者の中でブラキシズムイベント数を比較したところG/G群は中央値19、G/A群は中央値26で有意にG/A群の方が高い値を示した。G/A群の方がG/G群よりもブラキシズムイベント数では有意に高い値を示しました。ストレス感受性の高いG/G群は、低頻度のブラキシズムであることが多く、一方、G/A群は高頻度のブラキシズムを引き起こす可能性があるため、補綴治療のリスクになる可能性が示唆された。



以上より、1時間あたりブラキシズムイベント2回以上行った場合、PBR遺伝子多型の違いがストレスマネジメントに影響を及ぼす可能性が示唆された。また、2回以上/時のブラキシズムイベントを行った場合、PBR遺伝子多型の違いによりブラキシズムイベントの発生数に関連がある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 1件)

T. Murakami, C. Masaki, H. Takahashi, M. Makino, T. Mukaibo, Y. Kondo, T. Nakamoto, R. Hosokawa. Sleep bruxism is affected by peripheral benzodiazepine receptor gene polymorphisms, International Journal of Stomatology & Occlusion Medicine, 7, 13-17, 2014. (査読有)

DOI: 10.1007/s12548-013-0101-z

〔学会発表〕(計 0件)

〔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件)

名称：  
発明者：  
権利者：

種類：  
番号：  
出願年月日：  
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

正木 千尋 (MASAKI CHIHIRO)  
九州歯科大学・歯学部・助教  
研究者番号：60397940

### (2) 研究分担者

細川 隆司 (HOSOKAWA RYUJI)  
九州歯科大学・歯学部・教授  
研究者番号：60211546

中本 哲自 (NAKAMOTO TETSUJI)  
九州歯科大学・歯学部・准教授  
研究者番号：30514989

近藤 祐介 (KONDO YUSUKE)  
九州歯科大学・歯学部・助教  
研究者番号：00611287

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：