

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 8 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24792076

研究課題名(和文)BDNF遺伝子メチル化から評価した抑うつ状態と睡眠時ブラキシズムとの関連性

研究課題名(英文)Relationship between Sleep Bruxism and depression, which was evaluated with methylated DNA

研究代表者

内田 昌範(uchida, masanori)

大阪大学・歯学部附属病院・医員

研究者番号：10573454

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：ストレスによる睡眠時ブラキシズムの誘発は以前より示唆されているが、睡眠時ブラキシズムの原因は未だ解明されておらず、治療法の確立には至っていない。また、ストレスがDNA損傷を引き起こすと報告がなされ、ストレスとDNA損傷の関係が明らかとなってきた。

ストレスと睡眠時ブラキシズムの関係について比較検討した結果、質問紙により高ストレス群、低ストレス群に分類された2群において、高ストレス群の方が低ストレス群より、睡眠時ブラキシズムの程度が高い傾向が認められたが、有意な差は認めなかった。また睡眠時ブラキシズムの程度とDNA損傷においては、睡眠時ブラキシズムの程度とDNA損傷の程度の相関は認められなかった。

研究成果の概要(英文)：Stress has also long been suggested as the causal factor of Sleep Bruxism. Thus, the relations between stress and Sleep Bruxism have not been sufficiently clarified yet. Another hand, in the field of the stress, relations stress and DNA damage became clear in late years.

As a result of this study. Although, high stress group showed higher Sleep Bruxism scores than low stress group divided by CES-D score, there is no significant difference between two groups. In addition, there is no significant difference DNA damage score between Sleep Bruxiers and Non Sleep Bruxiers.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学 歯科補綴学一般

キーワード：睡眠時ブラキシズム ストレス DNA損傷 CometAssay Grindcare 質問紙

1. 研究開始当初の背景

睡眠時ブラキシズムは、異常な歯の咬耗や歯冠・歯根の破折、歯冠修復装置や歯冠補綴装置の脱離・破壊、歯の疼痛、歯髄炎、歯周組織の破壊、咬合崩壊、審美障害を生じ、咀嚼筋の疼痛や顎機能障害の原因であるとされている。従来、睡眠時ブラキシズムに影響を及ぼすとされる因子として、遺伝的因子、形態的因子(不正咬合、咬合異常、咬合干渉など)、社会心理学的因子(情動ストレス、精神遅滞など)、病態生理学的因子(睡眠関連疾患、薬物摂取、アルコール摂取など)があげられており、過去、睡眠時ブラキシズムの様々な病因が検討されてきたが、根本的な原因は未だ解明されておらず、またその治療法も確立されていない。その主な理由として、睡眠時ブラキシズム診断が、困難であったこと、また、原因因子の判定の客観的指標が少なかったことが考えられる。

睡眠時ブラキシズム診断は、睡眠時ポリグラフ検査がゴールドスタンダードであるが、入院が必要であり、日常的环境下での計測とはいえないことから、常に再現性の検討が必要となる。また、その他の臨床的検査法として問診、咬耗の程度、咬筋肥大の有無、舌や圧痕などを評価する方法が報告されているが、決定的なものがないのが現状である。しかしながら、近年、睡眠時ブラキシズムの測定が可能なポータブル筋電計が開発され、その有効性も確認されており、自宅という普段の環境下で夜間咀嚼筋活動を測定・解析することにより、睡眠時ブラキシズムの確定診断ができるようになってきた。

一方ストレス反応においては、従来質問紙によるストレスの評価が一般的であったが、近年、クロモグラニンA、コルチゾールと言った、生体内のストレス応答物質を測定することによりストレス反応を客観的に評価できるようになってきた。また、DNA 損傷の観点からストレス反応を説明できるメカニズムをわかるようになってきた等、ストレスの評価を DNA 損傷からもアプローチできるようになってきた。

2. 研究の目的

DNA 損傷によりストレスの評価を客観的に行い、睡眠時ブラキシズムの関連について検討を行うことを目的として研究を行った。

3. 研究の方法

被験者は、健常成人 18 人(男性 14 名、平均年齢 29.1 歳、女性 4 名、27.3 歳)とした。除外基準は Eichner の分類が B3, B4, C1 ~ 4 である者、経口避妊薬あるいはステロイド剤を服用中の者、心療内科にストレス治療等の既往歴がない者とした。

睡眠時ブラキシズムの測定、評価には自宅という日常環境下で睡眠時ブラキシズムの測定が可能な Grindcare 3.0, (Mecotech 社)を用いて行った(図 1)。

被験者には連続 5 日間の測定をしてもらい、一日目は初夜効果を考慮し、測定値から省い

た。

また、ストレスの評価は従来の質問紙である(Beck Depression inventory (BDI), Center for Epidemiologic Studies Depression Scale (CES-D), Zung Self-rating Depression Scale (Zung-SDS))の3種類を用いて主観的に評価を行った。

さらに客観的評価をするため採血を行い、CometAssay Electrophoresis System 2 (TREVIGEN)を用いて comet assay を用いて DNA 損傷を検出した。採血は午前 10 に行い、採血後は遠心分離を行い、-40℃にて凍結保存した。末梢白血球をスライドガラス上でアガロースの薄層に封入し、細胞溶解液の中で 60 分間溶解し、これをアルカリ性溶液に 20 分間浸した。次にアルカリ条件下で電気泳動(25V, 20 分間)した。その後、PBS (pH 7.2) バッファで 5 分間×2 回中和し、99.9%エタノールに 10 分間浸して脱水した。これに DNA 染色を行い、蛍光顕微鏡によって観察する。comet assay 画像解析システムにより tail DNA を測定した。tail DNA は全輝度に対する DNA 損傷部(Tail 部)の輝度として定義される。1 人あたり 100 個の白血球を選び、その中央値を各個人の DNA 損傷度として解析に用いた。

質問紙により分類された高ストレス群、低ストレス群間での睡眠時ブラキシズムの程度の比較において Mann-Whitney U test, DNA 損傷の程度と睡眠時ブラキシズムの程度の比較には Pearson の相関係数を用いた。

統計分析には、SPSS® 17.0J for Windows (SPSS Japan Inc.)を用いた。有意水準はすべて 5%とした。



(図 1)

4. 研究成果

質問紙により、高ストレス群、低ストレス群に分けた 2 群において、高ストレス群の方が低ストレス群より、睡眠時ブラキシズムの程度が高い傾向が認められたが、有意な差は認めなかった ($P=0.10$)。

また睡眠時ブラキシズムの程度と DNA 損傷の比較においては、睡眠時ブラキシズムの程度と DNA 損傷の程度の相関は認められなかった ($r=0.46, P=0.33$) (表 1)。

(表 1)

	N=18	相関係数	有意確率
睡眠時ブラキシズム		0.46	0.33

ブラキシズム活動に影響するとされる因子として、遺伝的因子、形態的因子(不正咬合、咬合異常、咬合干渉など)、社会心理学的因子(情動ストレス、精神遅滞など)、病態生理学的因子(睡眠関連疾患、薬物摂取、アルコール摂取など)があげられている。ブラキシズムは覚醒時ブラキシズムと睡眠時ブラキシズムに分けられる。このうち睡眠時ブラキシズムの原因として、過去には不正咬合などの末梢性因子が重要視されてきたが、現在では、睡眠時ブラキシズムは末梢性因子とは関係なく、深い睡眠から浅い睡眠への移行時、すなわちノンレム睡眠の stage 3 に集中して生じる微小覚醒に続発する覚醒現象であるとする説が有力となっている。中枢性因子の中では、従来から情動ストレスが睡眠時ブラキシズムの有力な原因とする報告があるが、最近の研究では必ずしも両者の関係は支持されないとする報告も見られ、両者の関係をさらに詳細に検討する必要がある。そこで、本研究においては、ストレスと睡眠時ブラキシズムとの新たな知見を得るために、ストレスはいくつかの質問紙を用い評価を行い、また DNA 損傷も評価している。

睡眠時ブラキシズムの測定に用いた Grindcare 3.0 (Mecotech 社) は睡眠時ブラキシズムレベルの決定に信頼性と妥当性を十分に有することは確認されている。Bite Grindcare の優れている点は、自宅における日常の環境下で睡眠時ブラキシズムの評価ができる点である。情動ストレスが影響しうる睡眠時ブラキシズムの評価に対して、同じ環境で睡眠できるという点は非常に意義があると考えられる。

先行の研究において、慢性的なストレスの暴露は長期間にわたる 2 アドレナリン受容体およびその下流のシグナル伝達の活性化をひき起こすことが知られており、Gs タンパク質およびプロテインキナーゼ A の活性化は DNA 損傷をひき起こす活性酸素を増大させることが知られている。ストレスがない場合には p53 による細胞周期の停止のあいだに修復されている DNA 損傷も、慢性的なストレス負荷がかかっている状況においては、アレスチン 1 と MDM2 による持続した p53 の低下をもたらし DNA 損傷の修復が行われにくいことが考えられている。こうした Gs タンパク質と アレスチン 1 による 2 つのシグナル伝達経路の同調により、2 アドレナリン受容体を介した慢性的なストレス反応は DNA 損傷を蓄積すると考えられている。

ストレスが睡眠時ブラキシズムに影響を与えてとしても、慢性的なストレスによる影響が大きいのか、急性なストレスによる影響が大きいのか知見が少ないのも現状である。急性なストレスを測る質問紙としてデイリーハッスルズ等があるが、今回は用いなかった。

今回、DNA 損傷と睡眠時ブラキシズムとの関

連がなかった結果となったが、被験者数がかなり少ないことが考えられる。また、ストレスと睡眠時ブラキシズムとの関連があったとしても、睡眠時ブラキシズムを行うことにより、生体にかかるストレスを軽減している可能性も否定できない。その反応が起きている場合は今回の実験系では、睡眠時ブラキシズムの頻度が高い人であっても、睡眠時ブラキシズムを行うことにより、生体のストレスを軽減し、DNA 損傷を回復している可能性がある。次に、採血は一回しか行っていないため、その一点の横断研究というリミテーションは考えられる。就寝前、起床時、日中の作業終了後等、いろいろな場面で継続的に採血する必要もあると考える。その場合は採血がストレスとならないような工夫も必要になってくる。

今後は、採血のポイントを増やすことで横断研究ではなく、縦断研究とし、ストレスと睡眠時ブラキシズムの因果関係を調べていく必要があると考える。

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)

[学会発表](計 5 件)

松下登, 石垣尚一, 内田昌範, 宇野浩一郎, 矢谷博文. 健常成人の口腔内における冷・温知覚閾値の調査. 平成 25 年度 公益社団法人日本補綴歯科学会 関西支部学術大会. 2013.11.23,24.大阪

松下登, 石垣尚一, 内田昌範, 宇野浩一郎, 矢谷博文. 口腔内における冷・温知覚閾値を用いた定量的感覚検査プロトコルの確立. 日本顎口腔機能学会 第 51 回学術大会. 2013.10.5,6.新潟

宇野浩一郎, 高岡亮太, 福田修二, 内田昌範, 桑原俊也, 石垣尚一, 矢谷博文. 顎関節症患者の疼痛発現に関連する精神心理学的リスク因子の検討. 第 26 回日本顎関節学会学術大会. 2013.7.19,20,21.東京.

松下登, 石垣尚一, 内田昌範, 宇野浩一郎, 矢谷博文. 定量的感覚検査による舌および口蓋における冷・温知覚閾値の特徴. 日本顎口腔機能学会 第 50 回記念学術大会. 2013.4.20,21.東京.

宇野浩一郎, 高岡亮太, 松下登, 福田修二, 宮内鉄平, 小野清美, 内田昌範, 奥田眞夫, 石垣尚一, 矢谷博文. 女性顎関節症患者における疼痛発現様相および生活習慣に対する精神心理学的因子の関与. 平成 24 年度 社団法人日本補綴歯科学会 関西支部学術大会, 2013.3.2.3.滋賀.

(1)研究代表者

内田 昌範 (UCHIDA MASANORI)
大阪大学・歯学部附属病院・医員
研究者番号：10573454