

機関番号：14401

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009 ~ 2010

課題番号：21791888

研究課題名 (和文) 睡眠中の咀嚼筋活動発生に関わる自律神経・覚醒調節機構の解明：動物モデルでの検証

研究課題名 (英文) Association between masticatory muscle, autonomic and cortical activity during sleep in animal model

研究代表者

加藤 隆史 (KATO TAKAFUMI)

大阪大学・歯学研究科・講師

研究者番号：50367520

研究成果の概要 (和文)：睡眠中の咀嚼筋活動と心拍上昇や大脳皮質活動増加との関連がノンレム睡眠で認められ、薬物投与により交感神経活動を抑制しても、咀嚼筋活動の発現様式が保持されている可能性が示された。また、咀嚼筋の活動調節に関わる複数の大脳皮質部位から咀嚼筋前運動ニューロンへの直接投射が、ノンレム睡眠中の咀嚼筋活動上昇に関与する可能性が推察される。

研究成果の概要 (英文)：Jaw muscle activities were associated with autonomic and cortical activation during NREM sleep. This association seems preserved when autonomic activity was pharmacologically suppressed. Cortical areas related to jaw motor control projected to the brainstem neurons such as trigeminal premotoneurons. Arousal activity such as cortical and autonomic activations can be related to the genesis of jaw motor activity that might be further modulated under the influences of cortical descending inputs during NREM sleep.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

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：睡眠、咀嚼筋活動、ブラキシズム、自律神経活動、マイクロアローザル、ノンレム睡眠、大脳皮質

## 1. 研究開始当初の背景

睡眠時ブラキシズム (SB 患者) の睡眠中に発生する過度の閉口筋活動は、歯の異常な咬耗や破折、歯の喪失、補綴・修復・インプラント治療の失敗、顎関節症の原因・増悪因子と考えられてきた。

実験動物を用いた過去の研究から、覚醒時と比較すると、睡眠中の骨格筋運動ニューロンの興奮性が低下していることが報告されており、咀嚼筋においても筋トーンスの低下や種々の顎反射の活動性が低下する。さらに、運動ニューロンの興奮性の低下は、ノンレム睡眠では上位中枢からの

興奮性の低下によって、またレム睡眠では脳幹網様体から直接抑制性入力を受けることによって生じ、レム睡眠での興奮性の低下はノンレム睡眠と比べて著明である。一方で、交感神経活動はノンレム睡眠では著明に低下しレム睡眠では増加していることや、ノンレム睡眠では徐波を特徴とする睡眠脳波が出現するが、レム睡眠では覚醒時に似た脳波を示す。したがって、運動機能、自律神経機能や大脳皮質活動が、覚醒、ノンレム睡眠、レム睡眠で異なる調節下にある。

一方、ヒトを用いた研究から、睡眠時ブラキシズムの生理学的特徴として、1) 80%程度の咀嚼筋活動がノンレム睡眠に発生し、2) 咀嚼筋活動の発現に伴って、交感神経活動・脳波活動・心拍数の上昇など、マイクロアローザル（微小覚醒）が認められることが報告されている。しかし、このようなノンレム睡眠における咀嚼筋活動の発現と微小覚醒や自律神経活動との機能的相関の詳細は不明で、動物モデルを用いて、その機構を明らかにする試みは極めて少ない。

## 2. 研究の目的

自然睡眠中の動物を用いて、咀嚼筋活動と自律神経活動および大脳皮質活動との機能的相関を生理学的および解剖学的に検証する。

## 3. 研究の方法

自然睡眠時の咀嚼筋活動発言における、自律神経活動と大脳皮質活動との関連と、実験的に自律神経活動に変化を与えたときにその相関がどのような影響を受けるか調べた。外科手術にて脳電図・眼電図・頸筋筋電図・心電図・咀嚼筋筋電図を記録する電極を実験動物の体内に設置した。手術後、約2週間動物の回復を待ち、この間、記録環境に順応させるためのトレーニングを行った。睡眠覚醒の記録は、防音箱の中で頭部を記録ケーブルで接続し、摂食・飲水など自由に行動できる状態で行った。記録される生体電気信号は増幅器を通してアナログ/デジタル変換を行い、睡眠覚醒記録解析システムに記録し、同時に動物の行動もビデオを用いて記録した。 $\alpha 2$  アゴニストの clonidine と生理食塩水を、それぞれ腹腔内投与した。

覚醒、ノンレム睡眠、レム睡眠の状態は、睡眠覚醒記録解析システム上で、脳波の振幅、頸筋筋活動、眼電図活動をもとにして

10 秒ごとのスコアリングエポックについて判定した。また、ビデオ記録を用いて動物の行動を解析した。咀嚼筋の活動量・心拍数は10秒ごとの平均値として算出した。

さらに、大脳皮質活動と咀嚼筋活動との機能的な相関を解剖学的に検索するため、電気刺激によって咀嚼筋活動を誘発できる大脳皮質部位に順行性トレーサーを注入した。咀嚼筋筋電図を外科手術にて設置した動物を、頭部に設置した着脱器を介して脳定位固定装置に固定して順行性トレーサー-biotinylated dextranamine (BDA) を大脳皮質に注入する実験を行った。あらかじめ開窓して被覆しておいた右側大脳皮質前方部の脳硬膜を露出し、ガラスコーティングエルジロイ電極を用いて、大脳皮質に連続電気刺激を与え、リズムカルな咀嚼筋活動を生じさせる部位を同定した。同定した部位に、BDA を封入した微小ガラス管電極をし入試、電気泳動法にて注入した。トレーサー注入後、開窓部を被覆して、飼育ケージに戻した。トレーサー注入 10 日後、動物を灌流・固定し、脳を摘出し、その後マイクロトームを用いて脳の連続前頭断切片(65um)を作成した。BDA 可視化のため、脳切片を 0.02MPBS で洗浄し、diaminobenzidine、過酸化水素、硫酸ニッケルアンモニウムを含むトリス緩衝液に親戚氏反応させた。反応後の切片は、ゼラチンコーティングしたスライドガラスに貼り付け、ひと晩乾燥させた後、カバーガラスで封入した。

顕微鏡下で、BDA の注入部位を確認し、脳幹における BDA 標識終末の分布様態を観察し、デジタルカメラを用いて顕微鏡写真の撮影を行い、画像処理ソフトを用いてコントラストのみ調整を行った後、検鏡像のトレースを行った。

## 4. 研究成果

clonidine の投与下では、いずれの動物においても記録時間に占めるノンレム睡眠の量に大きな変化が認められなかったが、レム睡眠が出現しないか著明に減少した。生理食塩水の投与下では、ノンレム睡眠およびレム睡眠の量には変化が認められなかった。ノンレム睡眠中の平均心拍数は、clonidine 投与によって減少したが、生理食塩水投与では平均心拍数は変化を示さなかった。一方、clonidine 投与下においても、ノンレム睡眠中の咀嚼筋活動は消失せず、咀嚼筋活動の出現に伴って、心拍数が一過性の増加を示すことや、脳波活動が徐波から覚醒脳波に変化することが観察

された。したがって、自律神経活動を抑制した条件化においても、ノンレム睡眠中の咀嚼筋活動は、マイクロアローザルと関連して出現することが示唆された。

bregma から前方 0-5mm, 側方に 4-7mm の大脳皮質領域領域へ連続電気刺激を与えるとリズムカルな顎運動を誘発することができた。大脳皮質からは、咀嚼筋を支配する三叉神経運動核周囲の前運動ニューロンや中脳、視床への神経投射が認められ、その投射パターンは、種々の顎運動を誘発する大脳皮質部位によって異なっていた。睡眠中の咀嚼筋活動発生に伴う睡眠中の一過性の覚醒時に大脳皮質の活動性が増加するので、皮質から三叉神経運動前ニューロンへの直接投射を介して、咀嚼筋活動の活動様態に何らかの影響を与える可能性が考えられる。今後は、上位中枢と咀嚼筋前運動ニューロンとの機能的な相関を生理学的に検証することが重要と思われる。

#### 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)

[雑誌論文] (計 6 件)

- ① Kanayama H, Masuda Y, Adachi T, Arai Y, Kato T, Morimoto T. Alteration of masticatory muscle EMG activities during chewing after a reversible bite-raising in guinea pigs. Archives of Oral Biology, in press. 2011 査読有り
- ② Kato T, Masuda Y, Kanayama H, Nakamura N, Yoshida A, Morimoto T. Heterogeneous activity level of jaw-closing and -opening muscles and its association with arousal levels during sleep in the guinea pig. American Journal of Physiology:Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 298:R34-42, 2010. 査読有り
- ③ Kato T, Lavigne GJ. Sleep bruxism: a sleep related movement disorder. Sleep Medicine Clinics, 5:9-35, 2010. 査読有り
- ④ Kanayama H, Masuda Y, Adachi T, Arai Y, Kato T, Morimoto T. Temporal alteration of chewing jaw movements after a reversible bite-raising in guinea pigs. Archives of Oral Biology, 55:89-94, 2010. 査読有り
- ⑤ 加藤隆史, 増田裕次, 森本俊文. 咀嚼: 「味」から「おいしさ」へ. 日本味と匂い誌, 16(1):43-51, 2009. 査読有り
- ⑥ 加藤隆史, 神山潤. 顎口腔系の機能との関係. 特集: 児童生徒の“こころ”に向き合う学校歯科保健一歯・口腔にみられる所見・症状と学校歯科医の課題一. 日本学校歯科医会誌, 103(1):12-15, 2009. 査読無し

[学会発表] (計 12 件)

- ① 加藤隆史. 「睡眠中の自律神経活動と一過性の覚醒」第 25 回生体・生理工学シンポジウム (BPES2010) ‘心不全における自律神経系および呼吸異常の病態メカニズム’ 2010 年 9 月 24 日.
- ② 加藤隆史. 「睡眠中の顎口腔運動とその異常」第 52 回歯科基礎医学会 ‘顎顔面口腔機能は脳によってどのように制御されるか?’, 2010 年 9 月 20 日.
- ③ T. KATO, N. NAKAMURA<sup>2</sup>, Y. MASUDA<sup>2</sup>, T. ADACHI<sup>2</sup>, A. YOSHIDA<sup>1</sup>, and T. MORIMOTO. Rhythmic Masseter Twitches In REM Sleep Of The Guinea Pig. The 88<sup>th</sup> general session & exhibition of the IADR, #2781, Spain, Barcelona, July13, 2010.
- ④ 加藤隆史. 「睡眠関連運動異常症としての睡眠時ブラキシズム」日本睡眠学会 ‘睡眠時ブラキシズムと睡眠障害・歯科的問題との関連’, 2010 年 7 月 2 日.
- ⑤ Kato T. Overview of sleep bruxism. Korean Society of Sleep Medicine 09, Seoul, Korea, November 21, 2009.
- ⑥ Kato T. Bruxism in PSG. Korean Society of Sleep Medicine 09, Seoul, Korea, November 20, 2009.
- ⑦ 加藤隆史. 「睡眠関連疾患と歯科一歯ざしりは疾患か?」第 16 回日本未病システム学会学術総会, 2009 年 11 月 1 日.
- ⑧ 加藤隆史. 睡眠医学と歯科医学の missing link—睡眠時ブラキシズムの研究から—第 8 回日本睡眠歯科学会, 東京, 2009 年 9 月 27 日.
- ⑨ Kato T. Sleep bruxism: an overview from sleep medicine. The International Academy of Advanced Interdisciplinary Dentistry, ‘Sleep Medicine and Sleep Bruxism’, September 23, 2009, Tokyo.
- ⑩ 中村典正, 加藤隆史, 足立忠文, 山下秀一郎, 森本俊文, 増田裕次. 安静時におけるモルモット閉口筋筋感覚ニュー

ロン活動の変化. 第 51 回歯科基礎医学会, 2009 年 9 月 11 日.

- ⑪ 金山隼人, 加藤隆史, 足立忠文, 山田一尋, 森本俊文, 増田裕次. モルモットを用いた実験的咬合高径低下. 第 51 回歯科基礎医学会, 2009 年 9 月 10 日.
- ⑫ 加藤隆史. 「脳と睡眠からブラキシズムを考える」第 118 回日本補綴歯科学会学術大会, 2009 年 6 月 5 日.

[図書] (計 5 件)

- ① Kato T. The role of peripheral sensory factors in bruxism: physiological interpretation for clinical dentistry. In: Bruxism: Theory and Practice, edited by Paesani D, Quintessence, 67-85, 2010.
- ② 加藤隆史, 加藤久美. 歯ぎしり. 小児科臨床ピクシス 14—こどもの眠り— (総編集: 五十嵐正, 専門編集: 神山潤), 中山書店, 76-79, 2010.
- ③ 加藤隆史, 三上章良. 睡眠時の口腔顔面異常症. 歯科医師のための睡眠医学: その実践と概要 (古谷野潔監訳). クインテッセンス, 101-108, 2010.
- ④ 加藤隆史. 睡眠の神経生物学. 歯科医師のための睡眠医学: その実践と概要 (古谷野潔監訳). クインテッセンス, 11-19, 2010.
- ⑤ Kato T, Blanchet P. Orofacial related movement disorders in sleep. In: Sleep Medicine for Dentists, edited by Lavigne GJ et al., Quintessence, p. 101-108, 2009.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

加藤 隆史 (KATO TAKAFUMI)  
大阪大学・歯学研究科・講師  
研究者番号: 50367520