

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 24 日現在

機関番号：27102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2013

課題番号：25670826

研究課題名(和文) ストレス制御分子の遺伝情報を基軸としたパラファンクションの分子医学的制御戦略

研究課題名(英文) The effect of stress-related gene expression on nocturnal parafunction.

研究代表者

細川 隆司 (HOSOKAWA, RYUJI)

九州歯科大学・歯学部・教授

研究者番号：60211546

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：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にどのような影響を及ぼしているかは明らかでない。そこで本研究では、PBR遺伝子多型と睡眠時ブラキシズムや精神的ストレスとの関連を明らかにすることを目的とした。研究に同意を得られた健常有歯顎者58名の被験者から口腔粘膜細胞を採取後、遺伝子多型を同定し、睡眠中の咬筋筋電図測定とともに精神的ストレスを評価した。ブラキシズム数はG/A群がG/G群と比較し有意に多く認められた。一方、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。

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 before and after sleep bruxism. The present study was performed to examine the relationship between sleep bruxism and PBR gene polymorphism. The PBR gene was amplified after collection of DNA from oral mucosa cells. Polymorphisms were identified by direct sequencing after PBR gene amplification by PCR. We also measured masseter muscle activity during sleep using portable electromyography to evaluate sleep bruxism. 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.

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：ストレスマーカー ベンゾジアゼピン ブラキシズム パラファンクション 睡眠

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。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。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。これまで、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 (Makino M, Masaki C. et al. *Int J Prosthodont* 22, 19-26, 2009), (Tomoeda K, Makino M, Masaki C. et al. *International Journal of Stomatology and Occlusion Medicine*. 4: 54-58, 2011)。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。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, 301-303, 2002)。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.* 125, 33-36, 2005)。このことから、唾液中の精神的ストレスマーカーに加え、ストレス制御分子である 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リスク診断が可能になるのではないかとこの着想に至った。さらに顎機能異常者におけるナイトガード装着前後のストレスマーカーの変動および PBR 遺伝子多型との関連を検討することでナイトガードの効果を事前に予測し最適化できるのではないかと着想した。

2. 研究の目的

ストレス制御分子である PBR 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 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した。

3. 研究の方法

研究に同意を得られた健常有歯顎者 58 名 (男性 30 名、女性 28 名、平均年齢 24.0 歳) の被験者から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。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。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。またストレスの心理学的指標として State-Trait Anxiety Inventory (STAI) を用いた。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 Willcoxon signed rank test を用いた。

4. 研究成果

各被験者における PBR 遺伝子多型の解析を行ったところ、58 名中 GG ホモ型は全体の 65.5% の 38 名、GA は 31% の 18 名、AA は 3.4% の 2 名であった (Fig. 1)。

また、ブラキシズムイベントを 1 時間あたり 2 回以上しているものをブラキサーとして検討したところ、G/G ホモ型が 32 名、G/A ヘテロ型が 13 名、A/A ホモ型が 2 名であった。

ブラキシズムイベントに関しては G/A 群が中央値 26、G/G 群が中央値 19 と G/A 群の方が有意に高い値を示した ($P < 0.05$) (Fig. 2)。一方、ストレスの精神的指標である STAI においては Y-1、Y-2 とともに各遺伝子型間に有意な差は認められなかった (Fig. 3)。

さらに、ブラキシズムイベントを 2 回以上行った被験者での睡眠前後の CgA 量を比較したところ、G/G 群、G/A 群ともに有意な差を認めなかった (Fig. 4)。一方、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が、G/A 群における睡眠前後の CgA レベルはほとんど変化しない傾向が示された (Fig. 5)。

遺伝子型	G/G	G/A	A/A
n=58	38(65.5%)	18(31.0%)	2(3.4%)

Fig. 1 各遺伝子型の割合

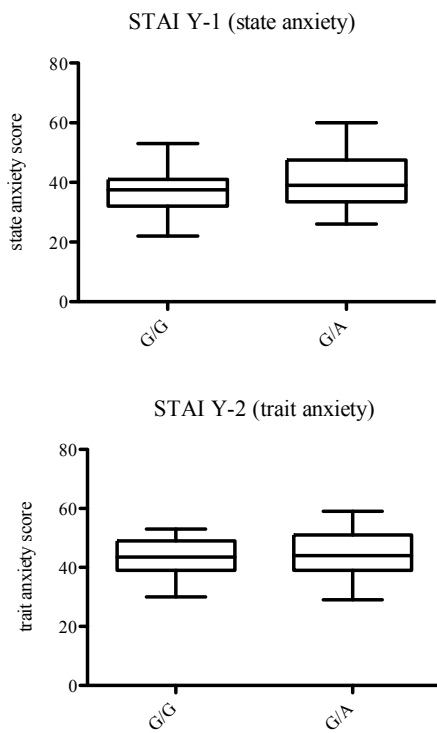


Fig. 2 G/G 群と G/A 群における STAI Y-1 スコアと STAI Y-2 スコアの比

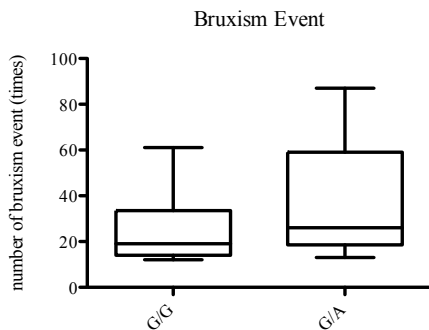


Fig. 3 G/G 群と G/A 群における睡眠時ブラキシズム数の比較

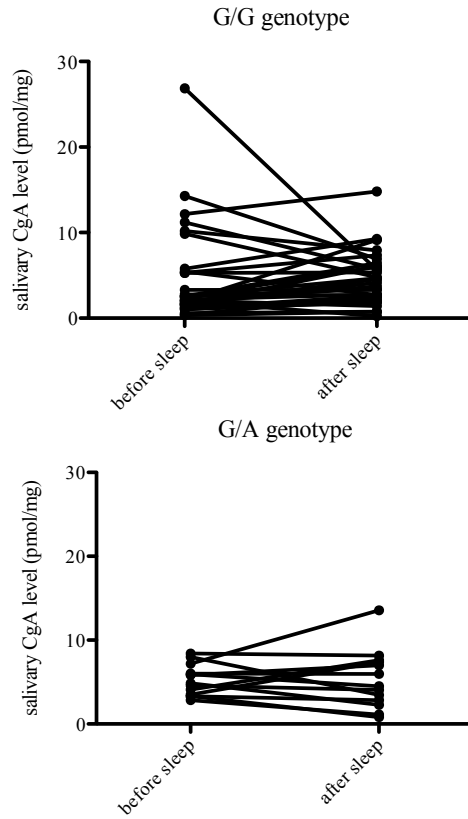


Fig. 4 G/G 群と G/A 群における睡眠前後の唾液中 CgA 量の比較

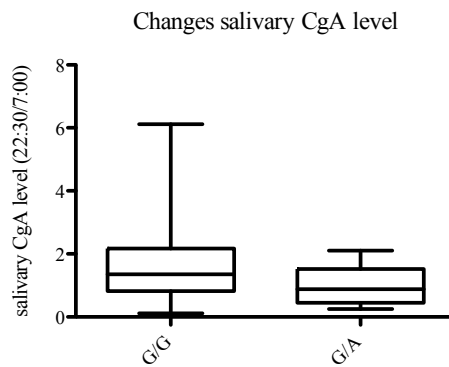


Fig. 5 G/G 群と G/A 群における睡眠前後の CgA 量の変化量の比較

本研究の結果より、PBR 遺伝子の G/G ホモ型は G/A ヘテロ型と比較してブラキシズムイベントが少なく、起床後の精神的ストレスが上昇しやすい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)

Takaya Murakami, Chihiro Masaki, Hidetaka Takahashi, Michiko Makino, Taro Mukaibo, Yusuke Kondo, Tetsuji Nakamoto, Ryuji 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：
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

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

(2)研究分担者

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

正木千尋 (MASAKI CHIHIRO)
九州歯科大学 歯学部 助教
研究者番号：60397940

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

向坊太郎 (MUKAIBO TARO)
九州歯科大学 歯学部 助教
研究者番号：50635117

(3)連携研究者

()

研究者番号：