

| | |
|--------------------------|--|
| 機関番号：17701 | |
| 研究種目：基盤研究（C） | |
| 研究期間：2008 ～ 2010 | |
| 課題番号：20592406 | |
| 研究課題名（和文） | 胃食道酸逆流モデルラットにおけるブラキシズム様運動を誘発するメカニズムの解明 |
| 研究課題名（英文） | Elucidation of the mechanism to trigger brux like movement in gastric-esophageal acid reflux model |
| 研究代表者 | |
| 上村 裕希（KAMIMURA HIROKI） | |
| 鹿児島大学医歯学総合研究科・歯科矯正学分野・助教 | |
| 研究者番号：50464467 | |

研究成果の概要（和文）：ブラキシズムの発現メカニズムは未だ明確でない。最近、胃食道酸逆流症とブラキシズムとの関連性が示唆されているが、これを明らかにするには動物実験でその発現メカニズムを探求することが重要と考えられる。しかし、これを明らかにするためのモデルは存在しない。したがって、本研究では、咬筋活動の観察が可能な胃食道酸逆流刺激モデルラットを作製し、食道下部へ消化酵素刺激を直接与え、ブラキシズム様運動が誘発されることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：The expression mechanism of bruxism is not to be revealed. Although it is suggested that the relationship between Gastroesophageal acid reflux disease and bruxism, it is important to investigate the expression mechanism in an animal experiment for reveal. However, there is no animal model to clarify the relationship. Therefore, in the present study we created the gastric-esophageal acid reflux animal model for capable to observation of masseter muscle activity for explore the relationship between Gastroesophageal acid reflux and bruxism. We clarified that brux like movement was induced by stimulation.

交付決定額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|-----------|-----------|
| 2006年度 | | | |
| 2007年度 | | | |
| 2008年度 | 2,300,000 | 690,000 | 2,990,000 |
| 2009年度 | 600,000 | 180,000 | 780,000 |
| 2010年度 | 700,000 | 210,000 | 910,000 |
| 総計 | 3,600,000 | 1,080,000 | 4,680,000 |

研究分野：歯科矯正学

科研費の分科・細目：歯科矯正学

キーワード：ブラキシズム、歯科矯正

1. 研究開始当初の背景

睡眠時ブラキシズムは、顎関節症や歯周組織の破壊、歯の異常咬耗や楔上欠損など、口腔器官に破壊的影響を与える因子だけでなく、微小覚醒に起因する睡眠障害や心理社会的問題、自律神経の不調

などを伴うことが多い。過去一世紀以上にわたりブラキシズムに関する研究が行われ、ブラキシズムの誘因として咬合異常、情動ストレス、中枢性などの仮説が提唱されたが、未だにその発現メカニズムは不明である。このため、ブラキシ

ズムの治療として主に口腔内スプリント等による対症療法が行われており、未だ根本療法には至っていない。申請者らは、「胃食道酸逆流による咽頭・食道の酸刺激によってブラキシズムが惹起され、ブラキシズムに伴って唾液が分泌され、これを嚥下することにより、食道内の酸が洗い流される」との仮説のもと、ブラキシズムを有するヒトを対象に、胃食道酸逆流による食道内 pH の低下時にブラキシズムと唾液の嚥下が生じ、胃酸分泌抑制剤の短期間投与でブラキシズムの発現頻度が減少することを示した。これは、胃食道酸逆流の生理的ストレスがトリガーとなって自律神経系に変調をもたらし、唾液分泌量が減少した結果、ブラキシズムが惹起された可能性が考えられる。これは動物実験による証明が重要で、実験動物の食道内や咽頭などに実験的に酸刺激を与え、自律神経の変調をもたらす脳内ストレス物質の増加と唾液量が減少することにより、ブラキシズムが誘発されることを検証する必要があるが、このような報告は全くない。

2. 研究の目的

これまで報告のない、胃食道酸逆流刺激モデルラットを作製し、以下の3つの実験により、睡眠時ブラキシズムの発現メカニズムを解明することを本研究の目的とした。

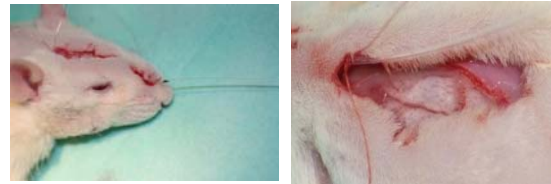
- (1) 食道への酸、消化酵素刺激によるブラキシズム誘発の検証
- (2) 食道への酸、消化酵素刺激による唾液分泌量の検証
- (3) 食道への酸および消化酵素刺激時の脳内神経伝達物質の検証

2. 研究の方法

胃食道酸逆流刺激モデルラットの作製: 対象には Wister 系雄ラット (体重、約 300g) を用いた。

- ① **刺激物質注入目的のカテーテルの設置:** 食道下部括約部同定目的に、鼻部を切開し鼻腔からカテーテルを胃まで挿入した (図 1 左)。カテーテルに硫酸バリウムを注入後、レントゲンを撮影し胃まで到達していることを確認し、鼻腔から食道下部括約部までの距離を計測した (図 2 上)。ラットは行動観察 BOX 内で自由に行動可能であったため、食道下部括約部に設置したカテーテルがずれないように、鼻部皮下で結紮した

(図 1 右)。実験終了後、レントゲン撮影と、食道下部の解剖を行い、食道下部括約部に設置したカテーテルがずれていない事を確認した (図 2 下) (図 3)。



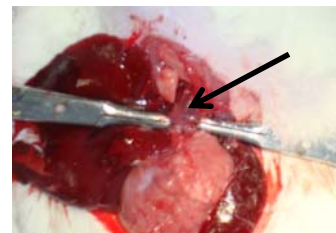
(図 1 左、カテーテルの鼻部からの挿入)
(図 1 右、カテーテルの鼻部での固定)



(図 2 上) (→は第 13 脊椎を示す)



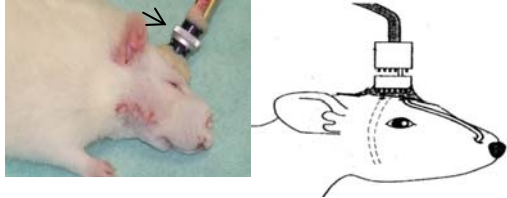
(図 2 下) (→は第 13 脊椎を示す)



(図 3、解剖的確認) (→はカテーテルを示す)

- ② **ブラキシズム様運動確認目的の咬筋電図設置:** 咬筋活動を観察するために、セボフルレン麻酔下で、右側の頬側から咬筋部の皮膚を切開し、ラットの咬筋に電極を設置する。電極にはステンレス線 (直径 1.0 mm) を用い、皮下注射針で刺入して設置した。電極は皮下を通して頭頂部まで到達させ、マイクロコネクターにろう着する。頭頂部頭骨に 3 本のステンレス製スクリューを部分的に埋入し、同部へ歯科用レジンを

を用いてマイクロコネクターを固定した(図3)。固定されたマイクロコネクター筋電アンプに接続し、デジタルレコーダーを用いて記録する(図4)。



(図3、咬筋電極の設置)



(図4、行動観察BOXと筋電図アンプ)

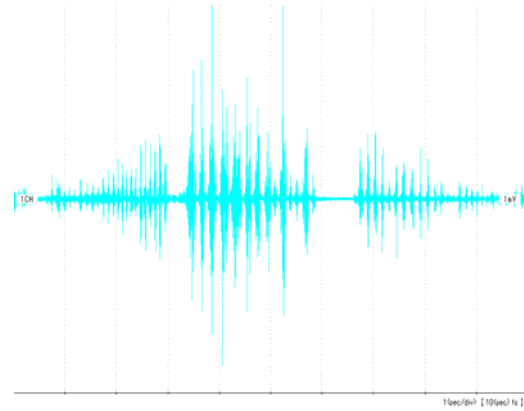
③ 外科処置回復期間と化学物質注入および筋活動解析:

ラットへの食道下部括約部へのカテーテル留置と咬筋への針電極を設置して、3~4日の回復期間を経た後、それぞれ生理食塩水刺激群(6匹)、酸・ペプシン刺激群(6匹)、コントロール群として外科処置のみ(6匹)行った。生理食塩水と酸・ペプシン刺激はそれぞれ、昼夜2回(0,1mm/20分)行い、咬筋筋電図の記録と同時に、ラットの行動観察とブラキシズム音の判定を目的にビデオ撮影を行った。なお、外科処置から回復期間および実験期間中を含めて室温は 26.0 ± 1.0 度に保たれた状態で、ラットは行動観察BOX内を自由に動き回ることが可能であり、照明時間は朝8:00に点灯、19:00に消灯し一定に保った。ラット行動時(体動、飲水、食餌、ブラキシズム様運動)における咬筋筋活動の解析は、2秒長をセグメントとし、セグメント解析によって、トータルパワー、区分周波数帯が得られる最大エントロピー法によるセグメント解析を用いて行った。

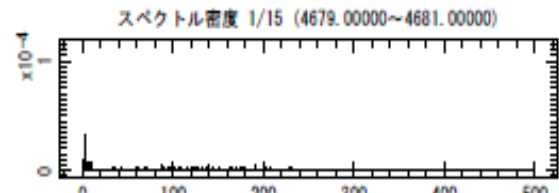
3. 研究成果

胃食道酸刺激モデルラットの咬筋EMGは良好な波形を示し、ブラキシズム様運動に伴う歯ぎしり音と咬筋筋活動

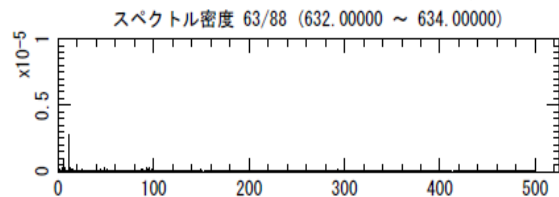
を記録した(図5)。最大エントロピー法によるセグメント解析の結果を(図6)に示す。



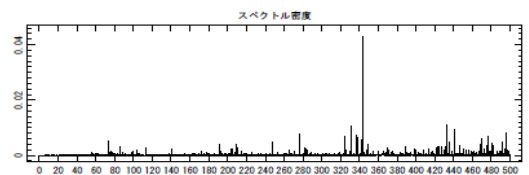
(図5、酸・ペプシン刺激によって得られたブラキシズム様運動咬筋筋活動)



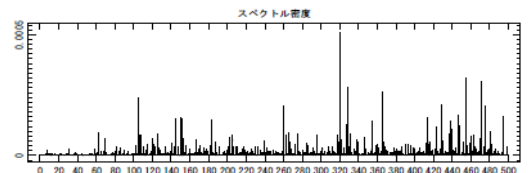
(図6a、グルーミング時のスペクトル解析)



(図6b、飲水時のスペクトル解析)



(図6c、食餌時のスペクトル解析)

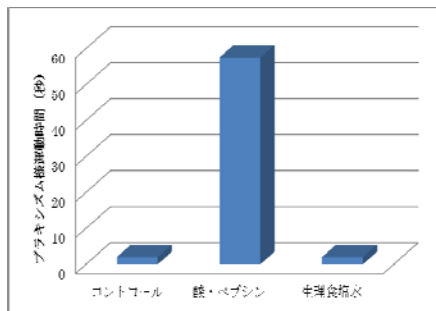


(図6d、ブラキシズム様運動時のスペクトル解析)

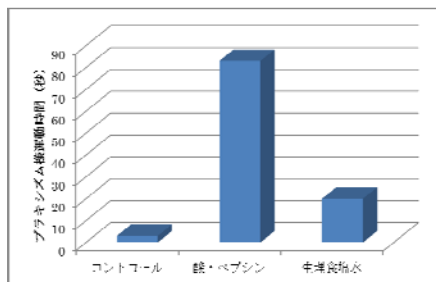
それぞれの解析の結果、グルーミングと飲水時には0-50Hz間、食餌時には340Hz、ブラキシズム様運動時には320-500Hzの間で筋活動の周波数帯が多く認められた。

【結果】

明期と暗期のそれぞれに化学物質刺激を行い、刺激後15分間でみられたブラキシズム様運動時間を確認した。明期においては酸・ペプシンによる刺激で平均57.5秒、生理食塩水および刺激を負荷しなかったコントロールにおいては平均2.0秒、暗期においては酸・ペプシンによる刺激で平均83.0秒、生理食塩水では20秒、コントロールでは3.0秒であった。明期・暗期ともに酸・ペプシンによる刺激では、生理食塩水およびコントロールと比較してブラキシズム様運動が有意に多く認められ、生理食塩水とコントロールでは差がなかった。グラフを(図7a, b)に示す。



(図7a、明期で化学物質刺激後15分間にみられたブラキシズム様運動時間)



(図7b、暗期で化学物質刺激後15分間にみられたブラキシズム様運動時間)

【結論】

本研究科から、ブラキシズム様運動確認のための胃食道酸逆流刺激モデルの有効性が示され、食道下部への酸・ペプシン直接刺激によってブラキシズム様運動が誘発されることが示唆された。

【今後の展望】

食道には、酸・ペプシンだけでなく胆汁なども逆流することが知られている。今後は、これらの物質を本研究で作製された胃食道酸逆流モデルラットに注入し、ブラキシズム様運動が誘発されるか検証を行うとともに、その誘発機構を神経生理学的に解明し、ブラキシズムの根本療法の開発に繋がりたいと考える。

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)

[雑誌論文] (計10件)

- ① Ohmure H, Oikawa K, Kanematsu K, Saito Y, Yamamoto T, Nagahama H, Tsubouchi H, and Miyawaki S. Influence of Experimental Esophageal Acidification on Sleep Bruxism: A randomized trial. *Journal of Dental Research*. 査読有り. 90, 2011; 665-671.
- ② Ogura M, Kamimura H, Al-Kalaly A, Nagayama K, Taira K, Nagata J, Miyawaki S. Pain intensity during the first 7 days following the application of light and heavy continuous forces. *European Journal of Orthodontics*. 査読有り. 31, 2009; 314-319.
- ③ Togawa R, Ohmure H, Sakaguchi K, Takada H, Oikawa K, Nagata J, Yamamoto T, Tsubouchi H, Miyawaki S. Gastroesophageal reflux symptoms in adults with skeletal Class III malocclusion examined by questionnaires. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*. 査読有り. 133, 2009; 10e1-10e6.
- ④ 宮脇正一. 胃食道酸逆流とブラキシズムとの新たな関係. *Dental Diamond*. 査読無し. 33(5), 2008; 74-77.

[学会発表] (計21件)

- ① 北嶋文哲, 上村裕希, 窪田健司, 大牟禮治人, 宮脇正一. 食道内の酸・ペプシンがラットのブラキシズム様運動に及ぼす影響. 第69回日本矯正歯科学会学術大会. 2010年9月27-29日. 横浜市.
- ② 宮脇正一. A new physiological significance of sleep bruxism. TOS annual meeting. 2010年9月4日. 台湾, 台北市.
- ③ 宮脇正一. 睡眠時ブラキシズムに対する考え方と対処法. 一般社団法人日本顎関節学会第27回学術講演会. 2010年5月16日. 大阪市.
- ④ 宮脇正一. お口と身体の意外な関係について. 第5回九州矯正歯科学会学術大会(市民公開講座). 2010年1月30, 31日. 鹿児島市.
- ⑤ 北嶋文哲, 上村裕希, 窪田健司, 永田順子, 宮脇正一. 食道刺激モデルの開発. 第5回九州矯正歯科学会学術大会. 2010年1月30, 31日. 鹿児島市.
- ⑥ 高田寛子, 大牟禮治人, 上原沢子, 楠元順哉, 水枝谷彬代, 崙山敏男, 坪内博仁, 宮脇正一. 咀嚼運動が胃排出能に及ぼす影響(第一報). 第5回九州矯正歯科学会学術大会. 2010年1月30, 31日. 鹿児島市.

- ⑦ 國則貴玄、永田順子、坂口勝義、楠元順哉、宮脇正一。一般集団における咬合と顎口腔機能の異常は胃食道逆流症のリスク要因となるか？。第5回九州矯正歯科学会学術大会。2010年1月30, 31日。鹿児島市。
- ⑧ 及川紀佳子、大牟禮治人、高田寛子、齋藤陽子、兼松恭子、山元隆文、坪内博仁、宮脇正一。睡眠時の咀嚼筋活動と食道内の酸クリアランスとの関係。第5回九州矯正歯科学会学術大会。2010年1月30, 31日。鹿児島市。
- ⑨ 及川紀佳子、大牟禮治人、高田寛子、齋藤陽子、兼松恭子、長濱博行、坪内博仁、宮脇正一。睡眠時の食道内への繰り返しの酸刺激が咀嚼筋活動に及ぼす影響。第68回日本矯正歯科学会学術大会。2009年11月16-18日。福岡市。
- ⑩ 宮脇正一。口、食道、胃の密接な関係—矯正歯科医の果たす役割—。第68回日本矯正歯科学会学術大会。2009年11月16-18日。福岡市。
- ⑪ 大牟禮治人、及川紀佳子、兼松恭子、北嶋文哲、楠本順哉、山元隆文、坪内博仁、宮脇正一。睡眠時の食道内への酸の注入がブラキシズムの発現に及ぼす影響。第68回日本矯正歯科学会学術大会。2009年11月16-18日。福岡市。
- ⑫ 國則貴玄、坂口勝義、永田順子、宮脇正一。一般集団における咬み合わせ、咀嚼機能、胃腸消化器症状ならびに睡眠障害に関する質問紙調査(第一報)。第68回日本矯正歯科学会学術大会。2009年11月16-18日。福岡市。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

上村 裕希 (KAMIMURA HIROKI)

鹿児島大学医歯(薬)学総合研究科・歯科矯正学分野・助教

研究者番号：50464467

(2) 研究分担者

宮脇 正一 (MIYAWAKI SHOUICHI)

鹿児島大学医歯(薬)学総合研究科・歯科矯正学分野・教授

研究者番号：80295807

乾 昭夫 (INUI AKIO)

鹿児島大学医歯(薬)学総合研究科・心身内科学分野・教授

研究者番号：80168418

永田 順子 (NAGATA JUNKO)

宮崎大学医学部付属病院・顎顔面口腔外科学分野・講師

研究者番号：50264429

福永 智広 (FUKUNAGA TOMOHIRO)

東北大学大学院歯学研究科・顎口腔矯正学分野・講師

研究者番号：70362994

大牟禮 治人 (OMURE HARUHITO)

鹿児島大学医歯(薬)学総合研究科・歯科矯正学分野・講師

研究者番号：00404484