

平成 22 年 3 月 31 日現在

研究種目	: 基盤研究 (C)
研究期間	: 2007 ~ 2009
課題番号	: 19500473
研究課題名 (和文)	: 中学生のメンタルヘルスマネージメントのための唾液バイオマーカーの探索
研究課題名 (英文)	: Search for saliva biomarkers used for mental health management of junior high school student
研究代表者	
	山口 昌樹 (YAMAGUCHI MASAKI)
	岩手大学・工学部・教授
	研究者番号 : 50272638

研究成果の概要 (和文) : 中学生のメンタルヘルスマネージメントの管理に利用可能な唾液バイオマーカーの探索を行うことを目的として, 心身ストレス検査, 唾液バイオマーカーの探索, 心理教育の改善を行った。中学一年生 70 名を対象にし, 唾液バイオマーカーを 3 週間にわたって経時的に検査したところ, 生徒の心理的状态が唾液アミラーゼ (sAA) に反映されることが示された。心身ストレス検査をもとに唾液から分析可能なストレスマーカーを探索し, 交感神経指標である sAA, 内分泌指標であるコルチゾール (sCORT), 免疫指標である免疫グロブリン (sIgA) の 3 つに特定した。心身ストレス検査結果の重回帰分析をもとに, 唾液ストレスマーカーを用いれば, 不登校児童が重篤な精神状態に陥る前にスクリーニングできる可能性があることを示した。

研究成果の概要 (英文) : In order to search for salivary biomarkers used for the mental health management of junior high school student, a psychosomatic stress test, a search for salivary biomarkers and an improvement on the psychology education were carried out. It was revealed that the salivary amylase activity (sAA) statistically correlate with the subjective evaluation of psychosomatic stress from a salivary test using seventy healthy subjects in first-year junior high school students for 3 weeks. Three salivary stress markers, sAA as an index of sympathetic nervous system, salivary cortisol (sCORT) as an index of endocrine system and salivary IgA (sIgA) as an index of immune system, were identified through the psychosomatic stress test. It was indicated that the salivary stress markers might be a useful screening method for preventing to be a non-attendance at school using the multiple regression analysis.

交付決定額

(金額単位 : 円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野 : 総合領域

科研費の分科・細目 : 人間医工学 リハビリテーション科学・福祉工学

キーワード : (1) バイオマーカー (2) モニタリング (3) 唾液 (4) 児童生徒
(5) ストレス (6) 情動 (7) 交感神経 (8) センサ

1. 研究開始当初の背景

①社会的背景

1年間に30日以上欠席した小中学校の生徒で、病気や経済的・物理的制約など明確な理由がないにもかかわらず、学校に行かない、あるいは行けない状況、すなわち「不登校」と考えられる生徒数は、12万人に達した。各クラスに1人の不登校の生徒がいてもおかしくないということになり、日本の将来を担う子供達を襲っている重大な社会問題である。

不登校の解消（再登校）のために様々な支援が手探りで行われているが、その問題は、せっかく様々な支援方法が提案されているのに、スクールカウンセラーや担任教師が、支援の効果を客観的に把握できず、ひとりひとりに適した支援方法の選択が難しいことにある。また、不登校は主に欠席日数で評価されており、どうしても支援のタイミングが遅れぎみとなり、その予防措置が取りづらい。

このように、不登校はどの生徒にでも起こりうる状況であるにもかかわらず、客観的なデータは必ずしも十分でなく、科学的な根拠に基づく状況の把握方法や予防・ケア方法がまだ確立されていない。

②学術的背景

もし、生徒の心身状態に関する何らかの客観的な、定量化された指標（サイン）をフィードバックしつつ不登校という状況に至る過程やそのケアの効果を把握できるようになれば、特に直接支援における心理教育において有用であると考えられる。不登校生に対しては、引きこもり、家庭内暴力などの反社会的行動や、うつ病、適応障害などの精神疾患を水際で食い止めるために行われている療育において、生徒ひとりひとりに適切なケア方法を取捨選択するというオーダーメイド療育の実現が可能となる。不登校には到っていないがその兆候（不登校サイン）が現れた不登校の予備軍に対しては、より早期に適切なケアを開始することで不登校の予防が可能となる。

本研究者らは、唾液に含まれるバイオマーカー（以下、唾液バイオマーカー）を用い、ヒトの生理状態の変化を、精神的・肉体的な痛みを伴わず（非侵襲的）にモニタする方法を研究している。バイオマーカーとは、人が発する生体情報を、血液、間質液、唾液、尿などの生体サンプルに含まれる生化学物質の濃度から読み取り、客観的に定量化した指標を意味している。本研究者らは、今までに、ヒトの交感神経系の活性変動に伴って、唾液に含まれる消化酵素の一つである α -アミラーゼ（以下、唾液アミラーゼ）の濃度（活性）も変動するという医学的知見に着目し、従来にない全く新しい唾液式の交感神経モニタの開発を行ってきた。ヒト唾液の生

化学物質を迅速分析可能な携帯装置は世界的にも類がないため、本分析技術は産学連携特許として日米欧に特許出願した。

脳波、脳血流量、血圧、心拍数や心電図などの物理計測だけでは押さえ込めなかった生理状態を定量評価するには、交感神経系、内分泌系、免疫系など複数の観点からの評価が可能バイオマーカー（化学計測）が必要不可欠なものとなりつつある。特に、不登校という状況以外は特段の問題もない「見かけ上の健常者」である生徒に対する電極の装着や採血は倫理的問題が生じるので、医療行為ではない唾液の採取で実施できる唾液バイオマーカーによる非侵襲的な計測は、未成年の児童生徒を対象とする検査方法として最適と考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、唾液バイオマーカーの計測で得られた生徒の生理状態に関する情報を、不登校生の直接支援にフィードバックし、スクールカウンセラーや担任教師の効果的な介入を支援するメンタルヘルスマネジメント手法を確立することをその最終的な目的としている。その基礎研究として、不登校生のメンタルヘルスマネジメントに適した唾液バイオマーカーの探索を行うために、下記の3項目を実施した。

- (1) 心身ストレス検査：中学生を被検者とし、唾液バイオマーカー検査を実施し、日常の学校生活で生徒の心身状態を検証する。
- (2) 唾液バイオマーカーの探索：交感神経系、内分泌系、免疫系に関する複数の唾液バイオマーカーの中から、不登校という状態をよく反映して濃度変化し、かつできるだけ簡便・低コストで分析可能なものを探索し、検査に必要とされるバイオマーカーの種類、検査時期、回数などを決定する。
- (3) 心理教育の改善：質問票・心理テストの結果と唾液バイオマーカーの相関性を解析することで、客観的な定量評価に基づくストレスコーピング方法を考案する。

3. 研究の方法

(1) 心身ストレス検査

被検者は、検査に参加することに同意したA中学校1年生70名（男子36名、女子34名、12-13歳）であった。本調査のプロトコルは、富山大学と筑波大学の双方に設置された倫理委員会の承認を受けた。この実施に先立ち、PTA、中学校教員関係者及び県教育委員会には、検査の趣旨を説明して実施の了解を得た。被検者とその保護者には、検査の趣旨を口頭と書面の双方で十分に説明し、書面で同意を得た。

本検査は、A中学校の教室内で実施した。唾液の採取は、登校直後（8:25）、給食前

(12:15), 授業終了後 (15:20) の計 3 回とし、登校直後と授業終了後は、ホームルーム中に行うことで、授業への妨げがないようにした。また、質問紙の回答は、授業終了後に実施した。

メンタルヘルス指標としては、神経症の症状把握に用いられる日本語版 GHQ-28 (日本文化科学社) と、精神的な不安尺度を測るために用いられる日本語版 STAI (実務教育出版) の 2 つの質問紙を用いた。

(2) 唾液バイオマーカーの探索

心身ストレス検査の結果をもとに下記を実施し、これらの結果を相互に比較検討する。

- (i) 唾液バイオマーカー: 交感神経系の指標としてアミラーゼ, 内分泌系の指標としてコルチゾール, 免疫系の指標として IgA 等, 複数項目を分析する。性差の指標としては、デヒドロエピアンドロステロン (DHEA) とエストジオールを唾液から分析する。
- (ii) 問診票・テスト: 中学生用メンタルヘルスチェックリスト (32 項目), 中学生用コーピング測定尺度 (10 項目×3 下位尺度) および視覚アナログ尺度 (VAS) の 3 種類をもとに、心因性要因の発掘を目指す。
- (iii) その他: 身長, 体重, 肥満度 (BMI) など を記録する。

(3) 心理教育の改善

唾液バイオマーカーと問診票・テストの結果のデータベース化を図る。複雑な相関関係を有する複数の測定項目から効率よく情報を引き出すこと (探索) を可能とすること目的として、重回帰分析を用いた心理教育手法のアルゴリズムの構築を試みる。また、データを 3 次元可視化することで、利用者が視覚的にデータの傾向を捉えることができるようにする。

重回帰分析では、各々の変数を平均が 0, 分散が 1 となるように標準化し、従属変数を唾液アミラーゼ活性, 説明変数を質問紙による得点とした。

4. 研究成果

心身ストレス検査では、中学年生を対象にし、唾液バイオマーカーを 3 週間にわたって検査した。sAA の日内変動は、朝低く日中で高値を示すという既報の傾向と一致した (図 1)。精神健康調査票 (GHQ) の社会的活動障害尺度の高値群 (4 以上) で、低値群 (2 以下) と比べ sAA が有意に高かった (図 2, $p < 0.05$)。また、状態-特性不安検査 (STAI) の状態不安尺度の高値群 (50 以上) でも、低値群 (35 以下) と比べ sAA が有意に高かった ($p < 0.05$)。これらより、生徒の心理的状态が唾液ストレスマーカーに反映されることが示された。

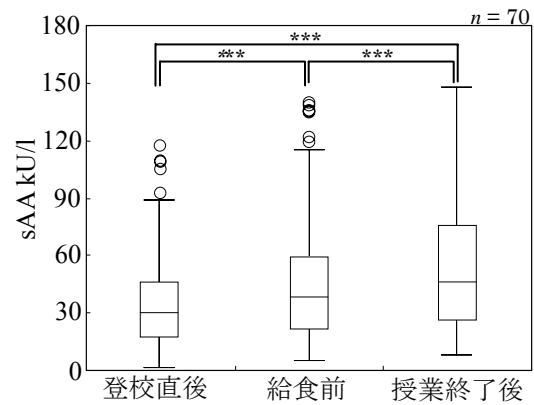


図 1 学校生活における唾液アミラーゼ活性の経時変化 (***: $p < 0.001$)

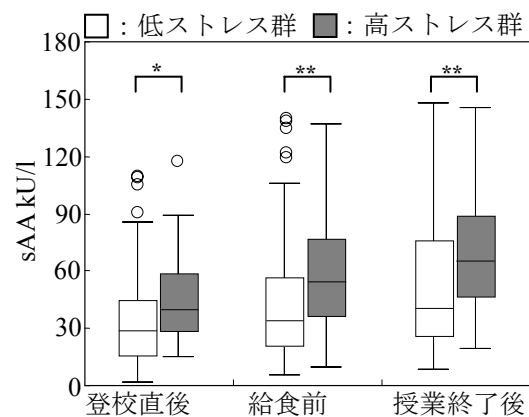


図 2 低ストレス群と高ストレス群の比較 (GHQ-28, 社会的活動障害, *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$)

唾液バイオマーカーの探索では、唾液から非侵襲的に分析可能で、かつ心身状態との相関が認められるバイオマーカーとして、交感神経指標である sAA, 内分泌指標である sCORT, 免疫指標である sIgA の 3 つに特定した。

心理教育の改善では、唾液バイオマーカーと GHQ, STAI との関連性について重回帰分析した結果、唾液ストレスマーカーを用いれば、心身ストレス以外は特段の問題がない見かけ上の健常者を、うつ病などの重篤な精神状態に陥る前にスクリーニングすることが可能であることが示唆された。

以上のように、唾液バイオマーカーが中学生の心身ストレスの指標になり得るかを検証することを目的として、3 年間に渡り本研究を遂行した結果、唾液バイオマーカーによる非侵襲的な検査手法が、不登校予防のためのスクリーニングへの応用が可能であると考えられた。

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 10 件)

※以下の雑誌論文は全て査読有

- ① Yusuke Tahara, Suguru Yoshikawa, Vivek Shetty, and Masaki Yamaguchi: Immunochromatographic cortisol biosensor using enzyme-labeled conjugate, *Sensors and Materials*, Vol.22 (2010) in press
- ② M. Yamaguchi, Y. Tahara, S. Kosaka: Influence of concentration of fragrances on salivary α -amylase, *International Journal of Cosmetic Science*, Vol.31, No.5 (2009) pp.391-395
- ③ 山口昌樹, 吉田 博, 岡部 則夫: 唾液アミラーゼモニターの検査成績, ライフサポート, Vol.21, No.3 (2009) pp.130-134
- ④ 村上 満, 田原 祐助, 竹田 一則, 山口昌樹: 唾液アミラーゼ活性は中学生の心身ストレスの指標になり得るか, *生体医工学*, Vol.47, No.2 (2009) pp.166-171
- ⑤ Yusuke Tahara, Naomi Morito, Hajime Nishimiya, Hideyuki Yamagishi, Masaki Yamaguchi: Evaluation of environmental and physiological factors of a whole ceiling-type air conditioner using a salivary biomarker, *Building & Environment*, Vol.44, No.6 (2009) pp.1156-1161
- ⑥ Masaki Yamaguchi, Josaku Sakakima, Shoshi Kosaka, Minako Nakabayashi: A Method for Evaluating the Discomfort Induced by Odor Using a Biochemical Marker, *Sensors & Actuators B*, 131 (2008) pp.143-147
- ⑦ Kazunori TAKEDA, Maiko WATANABE, Mieko ONISHI and Masaki YAMAGUCHI: Correlation of Salivary Amylase Activity With Eustress in Patients With Severe Motor and Intellectual Disabilities, *The Japanese Journal of Special Education*, Vol.45, No.6 (2008) pp.447-457
- ⑧ Masaki Yamaguchi, Junichi Wakasugi, Josaku Sakakima: Competitive and product inhibition-based α -amylase activity analysis method, *Clinical Biochemistry*, Vol.41, No.4-5 (2008) pp.325-330
- ⑨ Masaki Yamaguchi, Naoko Hanawa, Kei Hamazaki, Kimiharu Sato and Kimihiro Nakano: Evaluation of the acute sedative effect of fragrances based on a biochemical marker, *The Journal of Essential Oil Research*, Vol.19, No.5 (2007) pp.470-476
- ⑩ 山口昌樹, 花輪 尚子, 吉田 博: 唾液アミラーゼ式交感神経モニタの基礎的

性能, *生体医工学*, Vol.45, No.2 (2007) pp.161-168

[学会発表] (計 11 件)

- ① 山口昌樹, 高橋 貴之, 吉野 雄一朗, 佐々木 誠: 有限要素法を用いたイムノセンサのデジタルシミュレーションへのアプローチ, *電気化学会第77回大会*, 3E24, 2010年3月31日, 富山大学
- ② Masaki Yamaguchi, Suguru Yoshikawa, Yusuke Tahara, Daisuke Niwa, Yoshikatsu Imai, Vivek Shetty: Point-of-Use Measurement of Salivary Cortisol levels, *The 8th IEEE Conference on Sensors (Sensors2009)*, A4P-G03, pp.343-346, Christchurch, New Zealand, 2009年10月26日
- ③ 山口昌樹: ストレスを評価する, 第46回日本臨床生理学会総会 教育講演, 2009年10月23日, 岩手県民情報交流センター
- ④ Y. Nakajima, T. Takahashi & M. Yamaguchi: Diurnal variation of salivary cortisol and amylase activity in fatigued state, *Environmental Health Risk 2009*, WIT Transactions on Biomedicine and Health, Vol.14, pp.381-390, Ashurst, Southampton, UK, 2009年9月21日
- ⑤ Yusuke Tahara, Takayuki Takahashi, Kazunori Takeda, Tasuku Miyoshi, Masaki Yamaguchi: Mental Health Evaluation using Chemical Sensor as Human-Machine Interface, *2009 IEEE 11th International Conference on Rehabilitation Robotics (ICORR2009)* WeEPOD3.4, pp.447-450, Kyoto, Japan, 2009年6月25日
- ⑥ 山口昌樹, 高橋 貴之, 田原 祐助, 三好 扶, 吉田 博, 竹田 一則: データマイニングを用いた唾液バイオマーカーに基づく中学生の不健康群の推定, *日本生体医工学会大会プログラム・論文集*, Vol.47, Suppl.1, 23amO-2-5, p.58, 2009年4月23日, 東京都タワーホール船堀
- ⑦ Yamaguchi M: Noninvasively Evaluation on Human Stress Using Salivary Biomarker, *EHRlich II — 2nd World Conference on Magic Bullets*, No.665, Nürnberg, Germany, 2008年10月3日
- ⑧ M. Yamaguchi, S. Kosaka, Y. Tahara, A. Date: Immuno-chromatographic Test-strip for Skin Cathepsin L Analysis, *Pacific Rim Meeting on Electrochemical and Solid-state Science (PRIME2008)*, ECS Transactions: Chemical Sensors 8, No. 3073, pp.67-73, Honolulu, HI, USA, 2008年9月14日

- ⑨ Masaki YAMAGUCHI, Yusuke TAHARA, Shoshi KOSAKA, Vivek SHETTY: Synthesis of a Glucose Oxidase-Cortisol Conjugate Used for Electrochemical Biosensor for Cortisol Analysis, The International Conference on Electrical Engineering 2008 (ICEE2008), pp.1-4, Okinawa, Japan, 2008年7月9日
- ⑩ Masaki Yamaguchi, Kazutaka Teramura, Yusuke Tahara, Josaku Sakakima: A NOVEL HAND-HELD MONITOR OF SYMPATHETIC NERVOUS SYSTEM USING BIOMARKER, 2nd World Conference of Stress (STRESS07), Book of Abstracts, 8_03_P, pp.479-480, Budapest, Hungary, 2007年8月24日
- ⑪ M. Yamaguchi, J. Sakakima, M. Nakabayashi, S. Kosaka: Evaluation Device of Discomfort Effect of Odor Using Biochemical Marker, International Symposium on Olfaction and Electronic Nose (ISOEN 2007), pp.73-74, St. Petersburg, Russia, 2007年5月5日

〔図書〕(計2件)

- ① ヒューマンサイエンスとセンシング調査研究委員会編, 山口昌樹 (分担執筆): 心と体のセンシング, 海文堂出版(株), 東京 (2009) 180p.
- ② 山口昌樹 編著 (分担執筆): ヒューマンインタフェースのための計測と制御, (株)シーエムシー出版, 東京 (2009) 332p.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計1件)

名称 : 新規コンジュゲートおよびそれを用いたコルチゾールの分析方法, キット, ならびにそのための装置
 発明者 : 山口昌樹, 田原 祐助, 吉田 博
 権利者 : 富山大学, ニプロ(株)
 種類 : 特許
 番号 : 特開 2009-210417 号
 特願 2008-053723 号
 出願年月日 : 2008年3月4日
 国内外の別 : 国内

○取得状況 (計4件)

名称 : 酵素センサおよびそれを用いた分析装置, 酵素センサの製造方法, ならびにアミラーゼ活性測定方法
 発明者 : 山口昌樹, 小松 昭彦, 澤田 修一, 水野 康文, 鈴木 一人
 権利者 : ヤマハ(株), 富山大学
 種類 : 特許
 番号 : 特許第 4130937 号
 取得年月日 : 2008年6月6日

国内外の別 : 国内

名称 : アミラーゼ活性測定用試薬, 測定方法, および装置

発明者 : 山口昌樹, 吉田 博, 草場 宜廷, 水野 康文

権利者 : 富山大学, ニプロ(株), ヤマハ発動機(株)

種類 : 特許

番号 : 特許第 4165698 号

取得年月日 : 2008年8月8日

国内外の別 : 国内

名称 : 生体液分析器具, 及びかかる生体液分析器具を用いた生体液分析方法

発明者 : 山口昌樹

権利者 : 科学技術振興機構

種類 : 特許

番号 : 特許第 4301906 号

取得年月日 : 2009年5月1日

国内外の別 : 国内

名称 : アミラーゼ活性測定キット

発明者 : 山口昌樹, 吉田 博, 渥美 尚大, 木村 定明, 鈴木 一人, 東 朋幸, 松田 篤志, 草場 宜廷, 水野 康文, 橋本 政和

権利者 : 富山大学, ニプロ(株)

種類 : 特許

番号 : 特許第 4341984 号(分轄出願)

取得年月日 : 2009年7月17日

国内外の別 : 国内

〔その他〕

ホームページ :

<http://www.mech.iwate-u.ac.jp/~yamaguchi/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

山口昌樹 (YAMAGUCHI MASAKI)

岩手大学・工学部・教授

研究者番号 : 50272638

(2)研究分担者

竹田 一則 (TAKEDA KAZUNORI)

筑波大学・大学院人間総合科学研究科・教授

研究者番号 : 90261768