

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 22 日現在

機関番号：13102

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2011～2014

課題番号：23680023

研究課題名(和文) 体組織液・爪・毛髪由来の生化学物質による心的ストレス評価

研究課題名(英文) Psychological stress evaluation using biochemical substances derived from human intercellular-fluid, nail, and hair samples

研究代表者

野村 収作(NOMURA, SHUSAKU)

長岡技術科学大学・工学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：80362911

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,600,000円

研究成果の概要(和文)：人間がストレスに曝されると体内に特定のホルモンの過剰分泌が生じることが知られている。本研究の目的は、(1)体組織液・爪・毛髪よりこれらストレス関連ホルモンを抽出・定量する技術を開発すること、および(2)これらストレス関連ホルモンにより中・長期にわたる精神的ストレスの評価を行うことである。その結果、体組織液・爪・毛髪よりテストステロンを含む新しいストレス関連ホルモンの抽出が可能となった。また長期のインターナショナル生を対象としたフィールド調査により同ホルモンによるストレス評価の有効性が示された。

研究成果の概要(英文)：Psychological stress on human leads to hypersecretion of hippocampus-pituitary-adrenal (HPA) hormones as typified by cortisol. Thus these hormones are called as "stress hormone." The objective of this study is: (1) to develop the technique to determine such stress hormones from human intercellular fluid, hair, and nail sample and (2) to test the feasibility of these hormones as an objective stress measure. As a result of this project, the variety of stress hormones, including sexual hormones such as testosterone, were successfully determined with the subject's intercellular fluid, hair, and nail sample. The efficacy of these hormones as the stress measure was illustrated with the subjects who engaged in a long term on-the-job-training.

研究分野：アンビエント生体医工学

キーワード：ストレス 感性生理学 感性情報学 実験系心理学 精神神経内分泌学 精神神経免疫学

1. 研究開始当初の背景

「病は気から」というように、人間の心と身体が密接に相互作用しながら働いていることは経験的には自明である。その一方で、この経験的事実は近年の生化学分析技術の発展により科学的に実証されつつある。

例えば、ごく最近の精神神経内分泌学研究 (Psychoneuroendocrinology: PNI) によって、人間が精神的なストレスに曝されると体内の特定のホルモンが過剰に分泌されることが明らかにされてきた。このことは換言すれば、そのようなホルモンが人間の精神的ストレスのパロメータとして活用できること、つまりは精神的ストレスの客観的 (物質的) 評価の可能性を示している。

一方、近年の生化学分析技術の発展により、体内に分泌するホルモンの分析手法もより簡便になってきた。とりわけ、血液や尿だけでなく人間の唾液からターゲットとなるホルモンの定量分析技術も開発された。ことストレスの評価を目的とする場合、唾液は血液と比べて採取に対する心理的・物理的障壁が決定的に少ないという大きなメリットがある。

このような背景のもと、唾液によって精神的ストレスを定量評価する、というこの新しい研究領域はストレス研究の新機軸として爆発的に拡大した。

これに対し本研究は、この現在進行形で発展し続けているストレス評価研究を、次の二つの方針により新たな段階へ発展させることを目論んだ。一つは、従来知られているパラメータとなり得る物質あるいはそれ以外の物質を網羅的に調査して、精神ストレスに対する生体の反応を体系的にとらえること。もう一つは、唾液の検体よりターゲットとなる物質を定量分析する方法を開発すること。特に、体表面から簡便な道具を用いて採取可能な体組織液や、また、長期的なストレスの変遷が蓄積されていると想定される爪や毛髪などを検体として用い、ストレス評価のための新しいツールを開拓することを試みた。

2. 研究の目的

体内に分泌される特定のホルモンや免疫物質は精神的ストレスの客観的指標になり得る。研究代表者も、これまで唾液中に分泌されるホルモン等によるストレスの評価研究を行ってきた。

既に述べたように唾液検体は血液や尿に比べて簡便に採取できる。しかしながら唾液検体にも制約は存在する。例えば、歯周病等による出血がある場合、ごく微量の血液であっても生化学分析の精度を大きく損なうことが知られている。また、食事や喫煙による影響、口腔内の pH の影響など唾液特有の交絡因子の影響も正確に見積もることは困難である。

更に、唾液にはその様な技術的な問題の他に、ストレス評価の物差しとしての時定数の問題がある。唾液中の (あるいは血中も同様に) ホルモン濃度は 30 分程度の時間でも大きく変動する。これはごく短期的な精神的ストレスを評価する場合には非常に優れた“ストレス・センサー”になり得る。しかしながらその一方で、数週間や数ヶ月にわたる中・長期的な期間にわたるストレスを評価する場合、このような鋭敏性は不利に働く。つまり、唾液を採取する直前に経験したストレスによって中・長期的なストレスに纏わる情報 (ベースライン値) がマスクされてしまう可能性がある。

以上の唾液検体によるストレス評価の制約を踏まえ、本研究では体組織液・爪・毛髪などの検体による新たなストレス評価手法の開発を目的とした。このうち、体組織液は唾液に替わる新規な、尚かつ、技術的制約の少ない検体候補として研究を進めた。また、爪や毛髪については、その成長過程で血中よりターゲットのホルモン等が取り込まれるため、より長期間にわたるストレスの変遷 (いわばストレスの蓄積) を評価できる可能について研究を行った。

更にこれらの検体から、ストレスに関連して変動することが既に知られている物質と、更に、変動することが想定される物質を同時に評価した。これにより、ストレスの客観的な評価手法における、生理的背景・機序を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

本研究は研究期間全体を通じて、(1) 体組織液・爪・毛髪からのストレス関連物質の抽出技術の確立、(2) 実験研究による各物質のストレス評価指標としての有効性・適用可能範囲の評価、(3) フィールド調査研究によるフィジビリティ・スタディ、の各段階により研究を遂行した。

4. 研究成果

(1) 体組織液・爪・毛髪からのストレス関連物質の抽出技術の確立、および(2) 実験研究による各物質のストレス評価指標としての有効性・適用可能範囲の評価について

体組織液

唾液に替わる検体として、体組織液からのストレス関連物質の抽出および定量分析に関する方法を開発した。

これは、無痛型の穿刺器具を用いて体組織液を回収するものである。穿刺器具は、表面に円錐型の微細針構造を数百本有するアレイ構造になっている (図1)。これを皮膚表面に押し当てることで、皮膚表面からにじみ出る体組織液を回収する。またその際、回収した液体中に含まれるナトリウムイオン濃

度をリファレンス値とすることで、染み出た体組織液中に含まれるターゲットとなるホルモン等の相対量を決定できる。同手法により、ストレス関連ホルモンであるコルチゾール、デヒドロエピアンドロステロン(DHEA)、デヒドロエピアンドロステロンサルフェート(DHEA-S)、テストステロンの定量プロトコルを確立することができた。

更に、この同手法によるストレス関連物質の評価手法に関する信頼性・再現性の調査を行った。その結果、例えば体組織液および唾液よりそれぞれ定量したコルチゾールの濃度との間に統計的に有意な相関関係を見出し、したがって同手法の有効性が示された(図2)。

以上、体組織液を検体とするストレス関連物質の抽出・定量技術の開発は世界で初めて実現されたものであり、現在、特許申請中である。

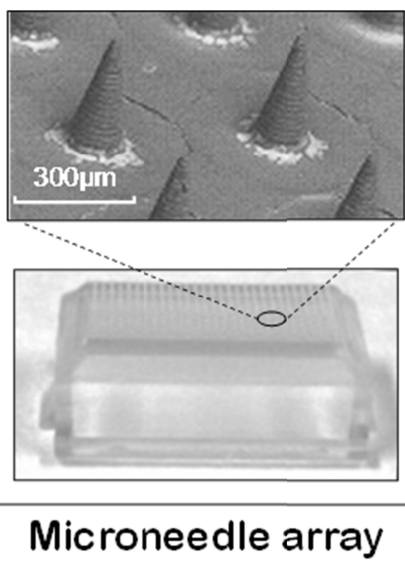


図1：体組織液採取用の微細針アレイ

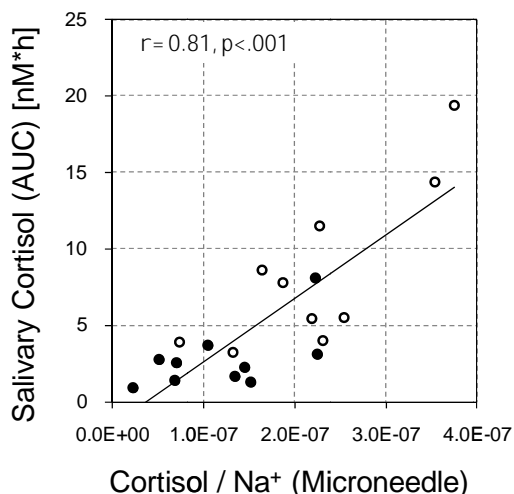


図2：体組織液中および唾液中コルチゾールの相関関係

爪・毛髪

本研究課題の開始時点において、ストレス評価研究における検体として唾液を用いる研究が主流であり、爪・毛髪からの抽出は世界でもまだ少数の研究事例しか報告されておらず、更にターゲットとしてはストレス・ホルモンの代表格であるコルチゾールの定量事例しか報告されていなかった。

本課題ではまずはそれら少数の報告によるコルチゾールの抽出プロトコルの再現性から確認し、更にその改善および他のストレス関連ホルモンの抽出を試みた。

その結果、体組織液と同様に爪・毛髪検体によりストレス関連ホルモンであるコルチゾール、デヒドロエピアンドロステロン(DHEA)、デヒドロエピアンドロステロンサルフェート(DHEA-S)、テストステロンの定量プロトコルを確立することができた。特にテストステロンについては各検体において世界初の成果であり、また DHEA、DHEA-S についても毛髪においては世界初の成果であった。

さらに、コルチゾールの定量プロトコルにおいては、従来は毛髪が数百本以上必要であったが、毛髪検体の粉碎や凝縮後の懸濁プロセスを見直すことでこれを大幅に改善し、10本程度の毛髪でも定量可能となる手法を開発した。

これら独自に開発した爪・毛髪からのストレス関連ホルモンの定量プロトコルに基づき、その有効性・適用可能範囲の評価試験を実施した。その結果、ストレス関連ホルモンとして特に重要なコルチゾールについては、十分な有効性があることが示された。例えば毛髪におけるコルチゾールの残存量変化を評価した結果、約半年前に生成された毛髪部位においても十分にコルチゾールが定量可能であること、つまりは半年前のストレス状態を遡って評価できる可能性を示した。また、毛髪中の性ホルモンに関しては男女の差異が体内と同様に認められることを示した。

(3) フィールド調査研究によるフィジビリティ・スタディ

一般に慢性的なストレスにさらされていると言われている看護・介護職従事者、および、感情労働としての特徴的な性質を有する保育士らを対象に、フィールドの事前調査・労働形態の調査・従事者の構成(人数・年齢・性別)を行い研究実施の許可を得たフィールドを対象にアンケート及びホルモン定量の為に唾液採取を行った。さらに、ストレスの変遷を調べるためのモデル研究として長期(5~6ヵ月)にわたるインターンシップ従事者における派遣前~派遣中~派遣終了後のアンケート及びホルモン定量の為に唾

液・毛髪・爪採取を行った。被験者は総計 300 名強、調査ポイント（時点）は 1400 点にのぼった。

主な成果として、5 カ月間にわたるインターンシップ従事者を対象とした中・長期的な

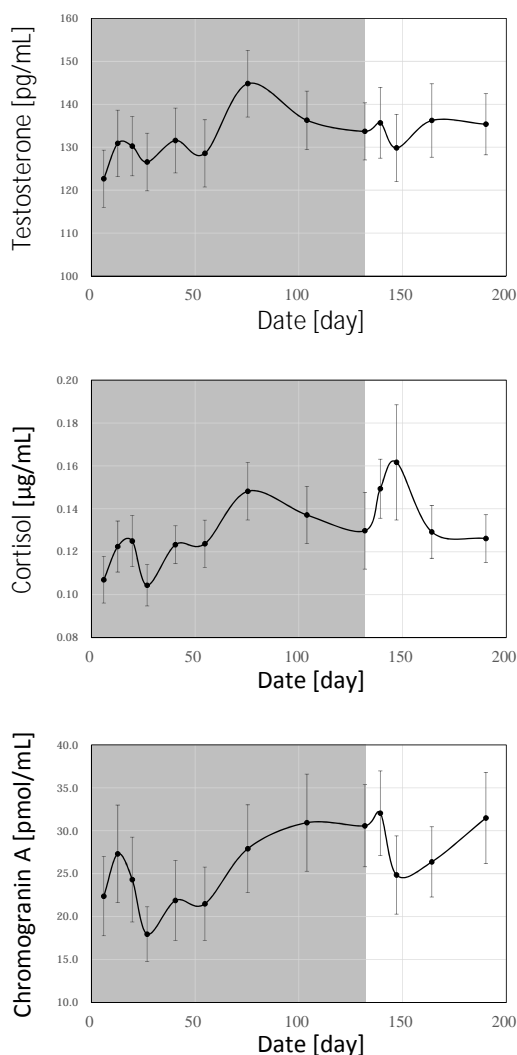


図3：長期インターンシップ従事者におけるストレス関連ホルモン等の変動。背景色が灰色の期間がインターンシップ期間。

ストレス評価研究において、当初想定された通りインターンシップ期間後半において各種ストレス関連物質の増大が統計的に有意に認められた（図3）。このことは、心理的なストレス状態の悪化と共に認められ、したがって本研究課題の主眼であるストレス評価の方法論は、中・長期にわたる社会心理的なストレスに対する評価指標としても有効であることが示された。

一方、同インターンシップ従事者を対象とした研究において興味深い事実も観察された。これは、インターンシップ期間中における心理的また生理的なストレス指標の悪化（ストレスの蓄積）が、インターンシップ開始“前”における被験者の性格特性またスト

レス・ホルモンのレベルにより大きく異なるというものである。このことは、近い将来に想定される環境変化に対する、ストレス・ホルモンの変動が、事後的な、実際にストレス負荷がかかる事態における生理・心理的ストレスの蓄積を予測するものであることを示唆している。この成果は、いわば“ストレス耐性”の事前評価の可能性を示唆するものであり、非常に興味深い。今後検証を重ねる必要がある。

以上、本研究課題により得られた成果については国内外の論文誌において発表され、またその一部について特許を出願した。

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18件)

大平雅子, 高原円, 佐藤誠也, 藤川豊成, 伊藤兼敏, 野村収作, 「就寝中のラベンダー呈示が起床後の唾液中コルチゾール分泌に及ぼす影響」, 生体医工学, 52(6), pp.282-287, 2014.12.1.

野村収作, 「青色のストレス反応抑制効果 - 唾液コルチゾールによる検証」, 映像メディア学会誌, 68(12), pp.537-539, 2014.11.25.

Shusaku Nomura, Yasushi Hanasaka, and Hiroshi Ogawa, “Multiple Pulse Wave Measurement toward Estimating Condition of Human Arteries,” IADIS International Journal on WWW/Internet, 11(3), pp.116-125, 2014.2.18. ISSN: 1645-7641

野村収作, 大平雅子, 鈴木健太, 野崎綾子, 吉川泰生, 佐藤利幸, 「微細針穿孔法による起床時コルチゾール反応の経皮的な評価」, ライフサポート, 24(2), pp.48-55, 2012.8.25.

鈴木健太, 大平雅子, 野崎綾子, 内山尚志, 吉川泰生, 佐藤利幸, 野村収作, 「生体液中コルチゾールの経皮的な定量の試み」, 電子情報通信学会和文誌 D, J-95D(1), pp.162-165, 2012.1.1.

Shusaku Nomura, Masako Hasegawa-Ohira, Kuniaki Yajima, Santoso Handri, and Yoshimi Fukumura, “Evaluating the Attitude of a Student in e-Learning Sessions by Physiological Signals,” International Journal of Computer Information Systems and Industrial Management Applications, 4, pp.101-108, 2011.7.1.

〔学会発表〕(計58件)

Shusaku Nomura and Yoshimune Kato, "Enhancement of nightlong salivary melatonin secretion by a feeble light exposure during sleep," Abs. the 22nd Congress of the European Sleep Research Society, P310, p.86, 2014.9.15, Tallinn (Estonia).

野村収作, 「四ヶ月間のインターンシップにおける生理的ストレス評価研究 - 唾液ストレス・バイオマーカーによる短期前向き研究」, 第16回日本感性工学大会資料, PJ4, pp.1-2, 2014.9.5, 東京.

野村収作, 「PID 制御系としての生体システム - ストレス生理応答の時定数」, 第3回アンビエント・フィードバック・システム (AFS) 研究会資料, p.3, 2014.8.29, 徳島.

Shusaku Nomura, Kazumichi Suguri, and Masako Hasegawa-Ohira, "An impact of the awakening on the secretion of the HPA- and the SAM-related substances in saliva," Abs. 43rd Annual Meeting of the International Society of Psychoneuroendocrinology, P038, p.1, 2013.8.21, Leiden (The Netherlands).

野村収作, 山口歩, 大平雅子, 「毛髪・爪・組織液からのコルチゾールの定量手法の検討」, 生活生命支援医療福祉工学系学会連合大会 (LIFE2012) 資料, pp.1-4, 2012.11.2, 名古屋.

Shusaku Nomura, Koichi Ito, C.M. Althaff Irfan, and Masako Hasegawa-Ohira, "Alleviation of the Stress-induced Hypothalamus-pituitary-adrenal (HPA) System Enhancement by Blue Color," Abs. 12th International Congress of Behavioral Medicine, 19(Suppl 1), S71, 2012.8.29, Budapest (Hungary).

野村収作, 大平雅子, 野崎綾子, 鈴木健太, 吉川泰生, 佐藤利幸, 「経皮的に採取した組織液を用いたストレスホルモンの評価」, 日本生理人類学会第64回大会資料, pp.160-161, 2011.6.12, 福岡.

Shusaku Nomura, Mika Morishima, Masao Migita, Tota Mizuno, Akio Nozawa, Ikuo Suzuki, Shuhei Izawa, Jun-ichi Imai, and Masako Hasegawa-Ohira,

"Variations in Salivary Secreted Hormones and Immune Substances of Male University Students during their Final Examinations," Abs. 70th Annual Scientific Meeting of American Psychosomatic Society, p.56, 2012.3.16, Athens (Greece).

Shusaku Nomura, Santoso Handri, and Hajime Honda, "Development of a bionanodevice for detecting stress levels," Proc. International Symposium on Global Multidisciplinary Engineering 2011(IOP Conference Series: Materials, Science and Engineering), 21(012029), pp.1-7, 2011.1.24, Nagaoka.
DOI:10.1088/1757-899X/21/1/012029

〔図書〕(計3件)

Shusaku Nomura, "Salivary Hormones, Immunes and Other Secretory Substances as a Possible Stress Biomarker", in Biomarker, pp.247-270, Tapan Kumar Khan, Ed., InTech, Croatia, 2012.4.1. (ISBN 978-953-51-0577-0)

Santoso Handri and Shusaku Nomura, "Kansei's Physiological Measurement and Its application (2)- Estimation of human states using PCA and HMM", in Kansei Engineering and Soft Computing: Theory and Practice, Ying Dai, Basabi Chakraborty, and Minghui Shi, Eds., pp.319-329, IGI Global, Pennsylvania, 2011.8.1. (ISBN13:9781616927974)

Shusaku Nomura, "Kansei's Physiological Measurement and Its application (1)-Salivary Biomarkers as a New Metric for Human Mental Stress", in Kansei Engineering and Soft Computing: Theory and Practice, Ying Dai, Basabi Chakraborty, and Minghui Shi, Eds., pp.303-318, IGI Global, Pennsylvania, 2011.8.1. (ISBN13:9781616927974)

〔産業財産権〕
出願状況 (計1件)

名称: ストレス評価方法
発明者: 野村収作, 鈴木健太, 野崎綾子,
吉川康生, 佐藤利幸
権利者: 同上
種類: 特許
番号: 特許開 2012-251857

出願年月日：平成 24 年 12 月 20 日
国内外の別： 国内

6 . 研究組織

(1)研究代表者

野村 収作 (NOMURA SHUSAKU)
長岡技術科学大学・工学部・准教授
研究者番号：80362911