

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 19 日現在

機関番号：13102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2013

課題番号：25540122

研究課題名(和文)1本の毛髪によるストレスの「日輪」の可視化

研究課題名(英文)A pilot study for visualizing diurnal hormonal secretion pattern within a hair

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

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)：本研究は、日々成長する毛髪に含まれると推定されるストレス・ホルモンを毛髪の断面により分析することで言わばストレスの変遷(日変化)を可視化しようとする試みである。結論から述べれば、毛髪断面からのストレス・ホルモンの分析における技術的課題をクリアするには至らなかった。しかしながら、今後の課題について明確になるとともに、毛髪断面のアガロース固着によるタンパク質染色方法やストレス・ホルモンの終夜分泌パターンなど、今後、研究を継続する上で有用な技術および科学的知見が得られた。

研究成果の概要(英文)：The hormones shows a characteristic diurnal secretion pattern, the higher in the morning and lower in the evening. This diurnal hormonal secretion in the blood might be recorded within a hair just like as "an annual ring of tree," because the hair growth, which is about 0.3 mm every day, is involved one of the most active cellular activity in the body. The challenge of this study is to visualize this diurnal pattern by using biochemical analysis, such as protein staining and immunostaining. This objective has yet to be achieved so far. However, there accumulated the techniques and knowledge to reach a final goal, such as development of making hair section technique and protein staining procedure for the hair section, and observation of detailed hormonal diurnal pattern, especially during night through morning.

研究分野：情報学

科研費の分科・細目：人間情報学・感性情報学

キーワード：ストレス 感性生理学 感性生理学 実験系心理学

1. 研究開始当初の背景

本研究の目的は、毛髪中に含まれているストレス関連ホルモンの濃度変化を毛髪断面上で可視化し、ストレスの客観的評価のための新たな方法論を築くことにある。

「病は気から」と言うように、人間の精神と身体とは密接に関連している。実際に、近年の生化学分析の著しい進歩により、生体内に分泌されている特定の生化学物質が人間の精神状態に応じて鋭敏に変化していることが知られている。我々の過去の研究でも、例えば、卒業研究に伴うある免疫物質(IgA)の変化(図1)や、高いストレスに晒されている看護・介護職従事者における同物質(群)の特徴的な分泌動態が示されている(図2)。

また更に、ごく最近の研究で、これら血中に分泌される生化学物質は毛髪の成長過程において毛髪中にも取り込まれており、したがって毛髪中の同成分を分析することでストレスを定量的に評価できる可能性が示唆されている。例えば、Dettenbornら(2010)は数十mgの毛髪資料中に含まれるコルチゾール(ストレスによって分泌されるホルモン)を分析し、ストレスとの関連を報告している[1]。

ここで本研究の仮説に至る2つの事実がある。1つは毛髪の成長速度がおおよそ一定であること(1か月≒1cm、1日≒0.3mm)。もう1つはコルチゾール等の多くの生化学物質は概日変化(多くの場合は朝高・夕低の変化)を有することである。つまり、仮に日々成長する毛髪の成長過程において、体内に分泌される生化学物質がその濃度変化に応じて取り込まれるならば、これは図3に示すように毛髪中にはその濃度変化の記録が木の年輪のように刻まれているはずである。また更に、それらの生化学物質は精神的なストレスにより増減するはずであるから、これはいわばストレスの履歴を記録した生体資料(媒体)であると考えられる。既に我々の過去の研究において、毛根から約4-6cmの検体においても十分な量のコルチゾール・DHEA・テストステロン等の存在が確認されており(図4)、このことは約半年前までのストレスの履歴を可視化できる可能性に開いている。

2. 研究の目的

本研究は上記の仮説の下、毛髪中に記録されていると考えられる生化学物質—特にストレスに関連して変動するホルモン等—を可視化することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究の挑戦は、(1)毛髪の縦方向の断面を作成し、(2)断面中に存在するターゲットの物質を生化学的手法により可視化する、ものである。

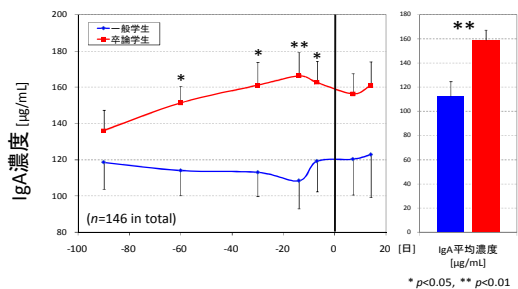


図1. 卒業研究実施者における唾液中IgA濃度の変化(対照群は学部2・3年生)

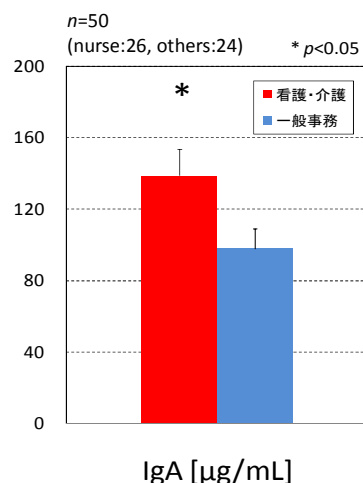


図2. 看護・介護職従事者におけるIgA濃度(対照群は一般事務職)

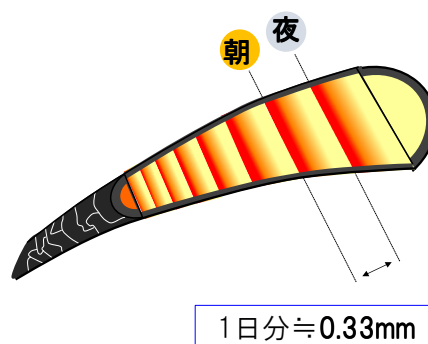


図3. 本研究の仮説: 概日変化を伴う生化学物質の分泌変化の履歴が毛髪断面上に反映されている

[1] L. Dettenborn, A. Tietze, F. Bruckner, C. Kirschbaum, "Higher cortisol content in hair among long-term unemployed individuals compared to controls," *Psychoneuroendocrinology*, **35**(9), 2010.

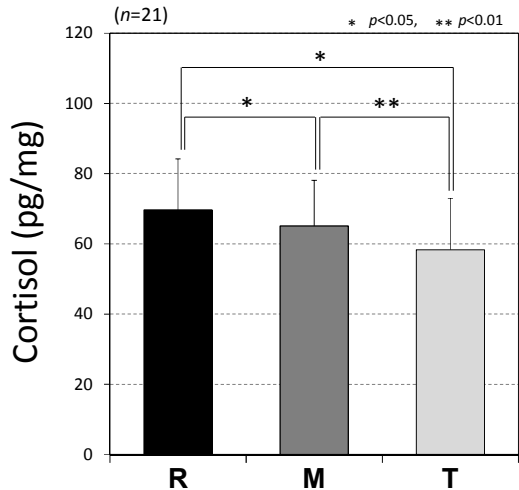


図4. 毛髪中のコルチゾール濃度：毛根からそれぞれ 0-2cm(R), 2-4cm(M), 4-6cm(T)のセグメント 25mg より定量

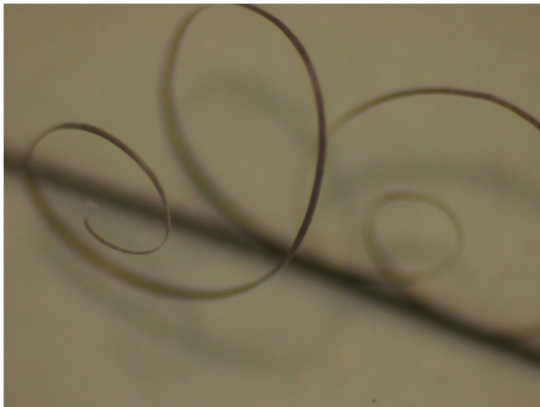


図5. 作成した毛髪（縦）断面

4. 研究成果

本研究は、日々成長する毛髪に含まれると推定されるストレス・ホルモンを毛髪の断面により分析することで言わばストレスの変遷（日変化）を可視化しようとする試みである。結論から述べれば、毛髪断面からのストレス・ホルモンの分析における技術的課題をクリアするには至らなかった。しかしながら、新たに明らかになった課題のいくつかは解決し、また今後の課題について明確になったため、今後、研究を継続する上で有用な成果が得られた。以下にその概要を述べる。

第一に、毛髪断面の作成において当初予定していたクリオスタットは毛髪資料の包埋材料に対する毛髪の外側のケラチン構造が固く、他の生化学資料（例えばラットの脳のように）毛髪断面の切片資料を作成することはできなかった。しかし、これに対しては後に別の物理的手段を用いて解決し、毛髪を 3cm 以上作成することが出来るようになった（図5）。

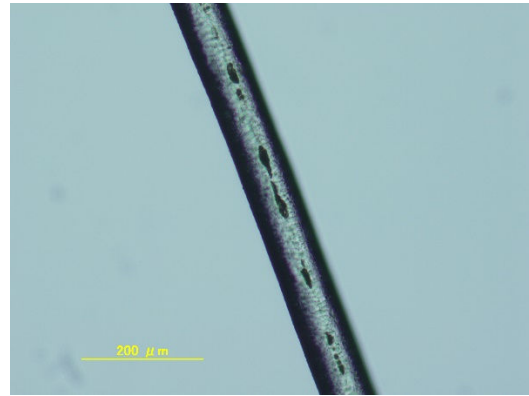


図6. タンパク質染色後の毛髪断面*
*断面は手前側。ケラチンのパターンは裏側のものが映り込んでいる

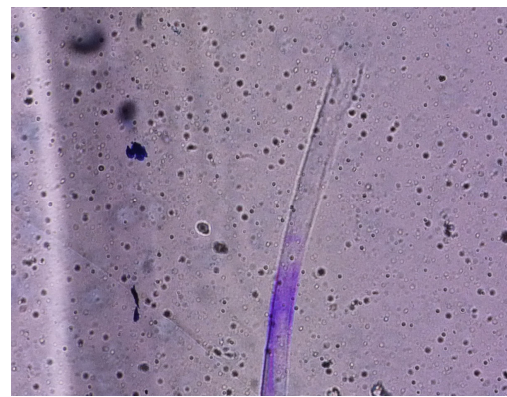


図7. アガロースゲル上にて染色した場合

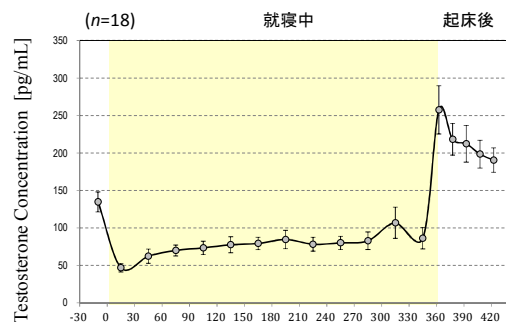
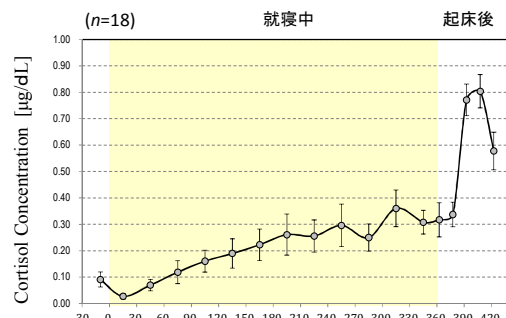


図8. コルチゾール（上）とテストステロン（下）の終夜～朝の濃度変化 (AV±SE)

次に、生体のあらゆる物質の概日変化が毛髪内に記録されているという想定のもと、毛髪断面のタンパク質染色を実施した。これについては、当初は染色の効果が認められなかったが、検討を重ねた結果、最終的には断面をアガロース等のゲルで固着することで解決した。しかしながら、断面の染色結果について当初期待していた程、明確な周期的パターンは確認されない、もしくは、周期パターンが認められた場合でもそれがターゲットの物質の概日変化に由来するものであると確認するには至らなかった(図6)。更に、染色による発色の様子をより詳細に検証するために、アガロースゲルに転写する方法も試みたが、これも転写自体を安定に行うためにはさらに技術的な改善が必要であることが分かった(図7)。

このように、毛髪断面上に明確な周期パターンが認められなかったことから、一旦元の仮説に立ち返り、特定のタンパク質やターゲットになりうるストレス関連ホルモンの概日変化が本当に特徴的な概日変化を示すものであるか再度検証する為の終夜睡眠実験を行った。その結果、これら生化学物質は起床時においてのみ特異的な分泌を示す事が判明し、これはやはり毛髪中にある種の周期的パターンの存在を強く示唆するものであった(図8)。したがって、やはり毛髪断面上の染色における技術的問題(光学的観察の限界)により毛髪断面におけるタンパク質の観察が困難である可能性が考えられる。

これに対し、現在は抗体による特定のホルモンの蛍光定量分析に取り組んでいる。両実験を通じて最も困難な課題は、毛髪断面からのターゲット物質の流出を抑制しつつ、可視化する為の染色物質や蛍光抗体物質を毛髪断面まで届ける、という矛盾した操作を実現しなければならない点である。これについては、今後もいくつかのアイデアを実施する。

5. 主な発表論文等

[学会発表] (計2件)

1. 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). -with acceptance rate: 75%
2. Shusaku Nomura, Masako Hasegawa-Ohira, Toyonari Fujikawa, and Kanetoshi Ito, "Increased cortisol secretion after awakening following lavender inhalation during sleep," Abs. The Association for

Chemoreception Sciences (AChemS)
2013 Annual Meeting, p.83, 2013.4.19,
Huntington Beach (USA).

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

(2) 研究分担者

本多 元 (HAJIME HONDA)
長岡技術科学大学・工学部・准教授
研究者番号: 20192742

霜田 靖 (YASUSHI SHIMODA)
長岡技術科学大学・工学部・准教授
研究者番号: 00291154