

機関番号：72101

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20300224

研究課題名（和文）陰性ストレス下における陽性感情の効果に関する分子生物学的研究

研究課題名（英文）Verifying the effect of positive emotion on distresses

研究代表者

村上 和雄 (MURAKAMI KAZUO)

財団法人国際科学振興財団・バイオ研究所・所長

研究者番号：70110517

研究成果の概要（和文）：環境ストレスに対するコーピングとして陽性感情（「笑い」や快情動）の有効性を検証した。銀行員と医療従事者を対象としたところ、表情筋ストレッチによる「笑い」体操の実施や、他者との関係における共感性から生まれる社会的な「笑い」の体感が、高い職場ストレスを緩和した。一方、離乳直後の個別飼育ラットは拘束や恐怖負荷によるストレスに対して脆弱になるが、仔ラット同士の遊びを模倣した tickling 処理により快情動を惹起させるとストレス作用が軽減された。

研究成果の概要（英文）：Emotional laughter is highly relevant for social interaction, especially for social communication in human beings or animals. We verified the practical effectiveness of the “laughter” or “positive emotion” as coping to environmental stresses that cause serious and negative impacts on the daily lives. We conducted two different approaches of occupational stress workshop to evoke the positive emotion toward bank clerks or healthcare professionals, both of them are recognized to feel relatively high levels of occupational stress. One approach was a self-physical exercising to provoke laughter including the facial strained muscle stretch and breathing. The other was half-constructed encounter group to develop interpersonal relationships with the social laughter or smiling by building empathy with others. In this study, we found that both different approaches to evoke the positive emotions exhibited effectively to reduce the mental and physiological distresses of participants. In the animal model for studying the environmental stress, post-weaning social isolation of rodents considerably alters fear and anxiety behaviors and changes neuroendocrine functions. In the current study, we observed that the tickling treatment, which mimics tumble-and-play manner, could reduce restraint stress-induced reactions and modulate fear-related behavior of isolated adolescent rats.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	5,900,000	1,770,000	7,670,000
2009年度	3,400,000	1,020,000	4,420,000
2010年度	5,500,000	1,650,000	7,150,000
年度			
年度			
総計	14,800,000	4,440,000	19,240,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：健康・スポーツ科学・応用健康科学

キーワード：笑い、陽性感情、SOC、共感性、エンカウンター・グループ、社会隔離、Tickling

1. 研究開始当初の背景

社会構造の急激な変化に伴う環境ストレス（生活ストレスや職場ストレスなど）が増大の一途を辿っている。こうしたストレスは「うつ」、「適応障害」、「生活習慣病」などの疾患の原因となり、社会的活動性の低下を招く。我々はこれまで健康やストレスとの関連において、陽性感情の表出のひとつである「笑い」の心身に対する影響を様々な角度から検討してきた。まず、漫才鑑賞による「笑い」が、2型糖尿病患者の食後血糖値の上昇を著しく抑制することを見出した。その際に末梢血白血球で発現変動する遺伝子の発現が「笑い」により調節されることを明らかにした。また、心理指標において「笑い」が「活気」を増し、「怒り」「疲労」「混乱」の陰性感情を減少させる効果があった（Diabetes Care 2003、Psychother. Psychosom. 2006、J. Psychosom. Res. 2007、Biomed. Res.、2007、Life Sci. 2009）。さらに脳波測定をしたところ、「笑い」により $\alpha 2$ 成分が増えたことから「笑い」がリラックス効果を有していることを見出した。このとき、笑いの効果が得られた被検者と得られなかった被検者を比較すると、遺伝子レベルでの群間差が認められたことから、我々は笑いに対するなんらかの感受性の相違があるものと推測した（平成19-20年科学研究費基盤研究（B）笑いに対する感受性を規定する遺伝子の探索、研究成果報告書）。

一方、動物を用いた環境ストレスのモデルとして代表的なものに、幼若期ラットの個別飼育ストレスが挙げられる。授乳期の母仔隔離や幼若期の社会隔離飼育により他個体との相互作用が減少すると、脳内システムの発達形成、認知行動や社会性の発達に大きく作用する。更に、このような幼若期の環境要因がさまざまなストレスに対する脆弱性を生むことが報告されている。ストレス応答に関わる脳内システムは、幼若ラットの発達過程に応じて動的に形成されるが、その過程で仔ラット同士の遊び「rough and tumble play」から生まれる快情動の重要性が着目されはじめている。我々はこの遊び「rough and tumble play」を模倣した tickling 刺激を用いて離乳直後から隔離飼育したラットに快情動を惹起させ、環境ストレス下のラットに対する作用を解析している。これまでに離乳直後の仔ラットに対して継続的な快刺激（tickling 刺激）を与えることで、視床下部の摂食調節物質関連の遺伝子の発現変化をもたらすことを明らかにし（Mol. Med. Reports, 2009）、刺激期間の違いにより、作用する脳部位が異なること（J Health Counseling, 2009）、海馬 CA3 領域の神経

新生を促進すること（Neurosci. Res, 2010）を報告してきた。

2. 研究の目的

本研究は、陽性感情を表出することが心理的な陰性ストレスに対するコーピングとして有効であると仮説を立て検証することを目的とする。そのため、職場ストレスの高い職種（銀行員、医療従事者）のヒトと、環境ストレスモデルの動物を研究対象とした。ヒトを対象とした研究では、高い職場ストレス状態と評価されたヒトに「笑い」を体験してもらい、心理指標や生化学指標の変化を解析する。ここでの「笑い」の体験とは、①自分で笑い顔をつくるための表情筋ストレッチ体操を取り入れた「笑い」誘発プログラムの研修、と②ポジティブな共感性の変容を促すことにより他者との相互関係から誘発される「社会的な笑い（ほほえみ）」を体感する半構成的エンカウンター・グループ形式のワークショップを意味する。動物モデルでは、隔離飼育した幼若期ラットに対して tickling による陽性刺激を施した場合、拘束ストレス脆弱性や恐怖ストレスに対する効果を生化学指標や行動学的指標および脳内遺伝子の発現変動をもとに解析する。

3. 研究の方法

(1)ヒトでの検証

①自分で笑い顔をつくるための表情筋ストレッチ（笑み筋体操）による笑いの研修効果の検証

本研究は筑波大学大学院人間総合科学研究科倫理委員会の承認を得て実施した。職場ストレスに差があると予想される銀行業務の閑散期（8月）と繁忙期（11月）の2回に渡って表情筋ストレッチ（笑み筋体操）を中心とした「笑い誘発プログラム研修」を実施した。男性行員27名を対象に通常業務が終了した夕方6時以降から1時間の研修を行い、研修前後で心理指標および生化学指標の測定を行った。年齢、実務経験、職位に関する質問紙のほか、POMS 短縮版30項目による気分の尺度、DAMS（Depression and Anxiety Mood Scale）による抑うつ・不安尺度、GSES（General Self-Efficacy Scale）による自己効力感を評価した。また、職業性ストレス簡易調査票を用いて、労働者個人のストレスプロフィールを評価した。客観的な身体の生化学的なストレス反応を測定するため、唾液を採取し、唾液中のアミラーゼ活性、コルチゾール濃度、クロモグラニン濃度を測定した。

笑い誘発プログラム研修の内容

閑散期（8月）：ストレスのメカニズムや反応、笑いの介入効果について、プログラム考案者による講話形式で行った。研修時間は1時間であった。

繁忙期（11月）：呼吸法、リズム運動、表情筋ストレッチ（笑み筋体操）、積極的に肯定的感情を引き起こすゲーム、笑いのレッスンをワークショップ形式で行った。研修時間は1時間であった。

②「社会的な笑い（ほほえみ）」を体感する半構成的エンカウンター・グループ形式のワークショップ効果の検証

医療従事者（リハビリテーションスタッフ26名）を対象に、半構成的エンカウンター・グループ形式を用いた1日研修を実施し、その効果について、心理指標、生化学指標の視点から解析した。ここでは特に健康生成論における個人のストレス対処力の指標であるSOC（sense of coherence）を調べ、SOCスコアと「社会的な笑い」研修の効果との相関に着目して検証した。データ取得ポイントとして、研修前2回（ひと月に1回づつ）、研修直後1回、研修後2回（ひと月に1回づつ）の計5回とした。ただし採血は研修実施2ヶ月前と1ヶ月前の2回と、研修終了1ヶ月後に1回実施した。心理指標用に用いた質問紙は、年齢、性別、健康調査、気分尺度のPOMS短縮版30項目、ストレス対処力評価のSOC、共感性評価は共感性プロセス尺度（葉山ら）である。さらに血液を採取し、末梢白血球中のNK細胞活性、血中ストレスホルモンのMHPG濃度、コルチゾール濃度を測定した。

「社会的な笑い」を体感する半構成的エンカウンター・グループ形式ワークショップ

エンカウンター・グループでは安心感を醸成し、参加者の自己効力感を高め、他者との間でポジティブな共感性が生まれることを重視した半構成的なプログラム内容を考案した。プログラム考案者が実施したエンカウンター・グループ形式のワークショップを通して、参加者は「社会的な笑い」を体感することを目的とした。研修は通常の病院業務がない土曜日に行い、7時間にわたって研修プログラムを実施した。内容はペアで誉めあう研修、視点を変える訓練、相手の行動変容を促すために否定的な内容を伝える研修、などである。この研修は青森県健康福祉部こどもみらい課の事業でいじめ虐待自殺予防ワークショップとして実施したものを基に医療従事者用の内容に変更して行った。

(2)動物モデルでの検証

快刺激負荷は、上述の tickling 刺激(5分間/日)を施行した(T群)。仔ラットは tickling 刺激に対して快情動の指標である 50kHz の

啼鳴反応を示した。快情動の音声解析は、周波数成分の解析により 50kHz の音声を検出して行った。また、刺激の報酬特性は、刺激前後での接近潜時（最大 30 秒）を測定して評価した。

①一過性の快刺激（tickling刺激）が拘束ストレスに及ぼす効果の検証

離乳直後(21日齢雄)の Wistar ラットを2週間個別飼育した後、金網で30分間拘束ストレスを与えた。拘束解放直後、T群(n=7)と対照群(C群;n=7)における内分泌系および自律神経系の応答について末梢血液中のストレス関連因子を測定した。また、各脳部位における網羅的な遺伝子発現解析から、群間で1.5倍以上の発現変動した遺伝子に対して遺伝子オントロジー(GO)解析を行い、tickling 刺激に特異的に発現変動する遺伝子群を抽出した。

②反復的な快刺激が恐怖条件づけに及ぼす効果の検証

離乳直後(21日齢雄)の F344/N ラットを個別飼育し、反復的(5日/週)に2週間 tickling を施した群(T群;n=33)と対照群(C群;n=32)に対して恐怖条件づけ実験を行い、freezing 反応を解析した。

4. 研究成果

(1)ヒトでの検証結果

①表情筋ストレッチ(笑み筋体操)による「笑い」によって緊張-不安、怒り-敵意、疲労が有意に低下した：男性行員の平均年齢は39.9歳(SD=10.5)、実務経験は15.4年(SD=10.4)であった。職業性ストレス簡易調査票の結果では、閑散期の総合健康リスクは113、繁忙期の総合健康リスクは116であった。全国平均と比較し、健康問題が起きるリスクは13%、16%大きいとされた。閑散期に比べて、繁忙期では唾液中のストレスホルモンであるコルチゾール濃度が有意に増加(p<0.05)し、気分尺度(POMS)の「混乱」は増加傾向(p<0.1)を示した。これは、繁忙期における銀行業務の労働量の増加に相関して、男性職員のストレス状態が高くなることを示唆している。8月研修前後のPOMSの得点を分析した結果、研修前よりも研修後に緊張-不安、怒り-敵意、疲労が有意に低下した(図1)。11月研修前後では、笑いトレーニングの実施後、ストレスホルモンである唾液中コルチゾール濃度が有意に減少する(p<0.01)と同時に、POMSにおける「緊張・不安」、「うつ」、「怒り・敵意」、「混乱」の4項目において有意な減少(p<0.05)が見られ(図2)、DAMSにおいても「抑うつ・不安気分」項目の有意な減少(p<0.05)が確認された。さらに注目すべき点として、今回の笑いトレーニングは、「活気(POMS)」

と「肯定的気分 (DAMS)」を有意に増加 ($p<0.01$) させる効果も有していることが実証された。

銀行員は業務の中で常に厳格さや正確さが求められ緊張が強いられている。閑散期に行った1時間ほどの笑いの講話の効果として、緊張、不安、怒り、敵意といった気分が緩和され、疲労感が低下した。笑いの分類やメカニズムなどの講話だけでは気分に変化を認めないと考えていたが、研修後には肯定的な気分へと変化を認められた。このことは行員にとって普段耳にしないような笑いの講話だけでも短期的な気分転換効果があることが示された。また繁忙期では、ほとんどの被験者が心理的にも生理的にも比較的高い職場ストレスを感じていることを確認した。本研究では、そのような被験者に対して、軽い運動と積極的な「笑い」を引き出す複合的なプログラムを実施したところ、効果的なストレス緩和作用を發揮することが実証された。さらには被験者の活気や肯定的気分が醸成された点においても成果を得ることができた。本プログラムには、呼吸法、軽い運動、表情筋のストレッチ、そして積極的に肯定的な感情を引き起こす練習など多様な「笑い」の要素が盛り込まれており、「笑い」のもたらすストレス緩和効果が明らかとなった。

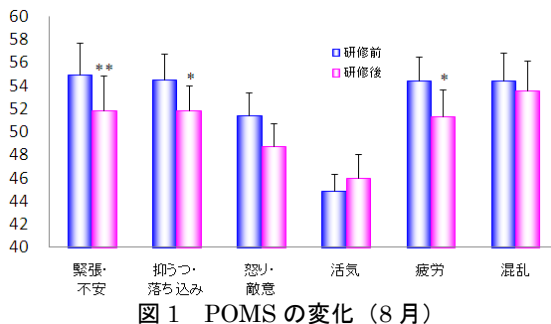


図1 POMSの変化 (8月)

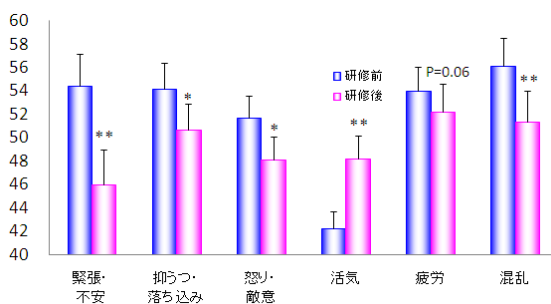


図2 POMSの変化 (11月)

② ストレス対処力 (SOC) の違いによって「笑い」の効果異なる可能性がある：参加医療従事者 (リハビリテーション部) 26名の平均年齢は29.8歳 (SD=6.0)であった。研修前に比べて研修後はPOMS「活気」が有意に改善された。また血中のMHPG濃度が研修前に比べて研修後は有意に増加 ($p<0.05$) し、血中のNK活性が研修前に比べて研修後は有意に増加 ($p<0.05$) した。今回の被験者は全員

同じ職場内で勤務しているが、全体としての研修の効果に関して個人差が大きく一律の成果を明らかにすることはできなかった。このうち特に効果が顕著に表れた4名について解析すると、研修後におけるPOMSの「緊張」「混乱」「疲労」は低下傾向を示し、「活気」は増加が見られ、改善効果が認められた。さらに共感性プロセス尺度の下位尺度である「ポジティブな感情の共有」「ポジティブな感情への好感」がともに増加した。共感性プロセス尺度の下位尺度にはネガティブ感情への同情などのネガティブな共感指標もあるが、これらは変化せず、ポジティブな感情に対する共感尺度が増加したことは研修の狙い通りの効果と言える。ストレス対処力の指標であるSOCのスコアはデータ取得期間 (6ヶ月) を通してあまり変化がなく安定していたが、今回特筆すべき点として研修効果が顕著に表われた4名はいずれも被験者全体の中でSOCが高い群に属していたことが挙げられる。これらから、今回試みた研修の結果に及ぼした影響の一つとして、その人がもつストレス対処力が考えられた。つまり、SOCの差は学習や意欲、情動などと関連する可能性が考えられ、さらに「笑い」の効果とSOCの相関が示唆された。また、本研究からグループで一律に行う研修で効果を上げるために、あらかじめSOCでスクリーニングをかけて、研修内容や研修時間を変えるなどの工夫も効果的であると思われる。

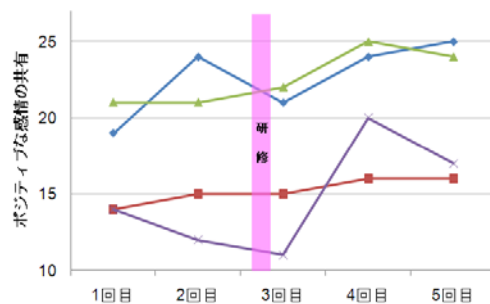


図3 効果があったリハビリスタッフの共感尺度の推移

一連の結果から「笑い」を体感することによってストレスレスキュー効果を引き起こすことが検証されると同時に、「笑い」に対する感受性を左右する要因があることが示唆された。

(2)動物モデルでの検証結果

① 拘束ストレスによる自律神経系のストレス応答は一過性の快刺激によって軽減された：拘束ストレスにより上昇する血中アドレナリン濃度は、一過性のtickling刺激により有意に減少することが確認された。また有意差は確認できなかったが、ノルアドレナリン濃度も減少する傾向が認められた (図4)。一方、拘束ストレスによる血中コルチコステロ

ン濃度変化を測定したところ、拘束解放後 15 分をピークに上昇し、その後減少した。この動態は tickling 刺激の有無にかかわらず差は見られなかった。

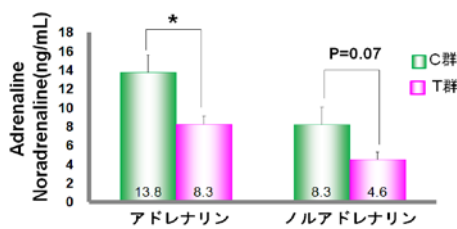


図 4 拘束終了 60 分後のアドレナリン・ノルアドレナリン濃度

②拘束ストレス直後に与えた快刺激によって、発現変動した遺伝子群：1.5 倍以上発現変動した遺伝子の数を表 1 に示す。1.5 倍以上発現変動した遺伝子を対象に Gene Ontology 解析し、特徴的な GO を抽出した (表 2)

	Up	Down
視床下部	171	190
海馬	481	235
線条体	179	353

表 1 tickling 刺激で発現変動した遺伝子数 (1.5 倍以上)

	Up	Down
視床下部	1.cell adhesion 2.biological adhesion 3.behavior 4.locomotory behavior 5.response to external stimulus	1.gas transport 2.oxygen transport
海馬	1.positive regulation of protein 2. protein modification process 3.biopolymer modifytion	1.oxygen transport 2.gas transport 3.ntracellular signaling cascade 4.hemoglobin metabolic process 5.negative regulation of behavior
線条体	1.feeding behavior 2.regulation of synaptic plasticity 3. RNA-dependent DNA replication 4.telomere maintenance via telomerase 5.regulation of neuronal synaptic	1.hemopoiesis 2.gas transport 3. oxygen transport

表 2 抽出された遺伝子が割り当てられる Biological Process の GO Term(p-value<1.0E-4)

視床下部では細胞接着や粘着、外部刺激に対する応答や自発運動行動に関連する遺伝子群が増加し、海馬ではタンパク質輸送・修飾に関連する遺伝子群、線条体では食行動、シナプス可塑性、DNA の複製・伸長に関連する遺伝子群が増加した。また、発現減少した遺伝子群は、視床下部・線条体ではガス輸送・酸素輸送に関連する遺伝子群が抽出され、海馬では細胞内シグナル伝達、ヘモグロビンの代謝、行動抑制に関連する遺伝子群が抽出された。

③恐怖条件づけに関わるストレス応答は、反復的な tickling 刺激によって軽減された：恐怖条件づけの 96 時間後の保持テストでは条件提示中と提示後において、T 群は C 群より freezing 率が有意に低下した (図 5)。

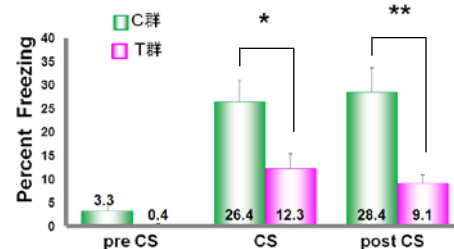


図 5 恐怖条件づけ 96 時間後のフリージング率

一連の結果より、個別飼育によってストレス脆弱性が生じた幼若期ラットにおいては、快情動を惹起することにより、ストレス応答性が軽減されることが明らかになった。すなわち、快情動(陽性感情)の持つ生体への作用のひとつとして、本研究の仮説であったストレスレスキュー効果を有することが裏付けられた。

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 6 件)

1. Yamamuro T, Senzaki K., Iwamoto S., Nakagawa Y., Hayashi T, Hori M., Sakamoto S., Murakami K., Shiga T., Urayama O.: Neurogenesis in the dentate gyrus of the rat hippocampus enhanced by tickling stimulation with positive emotion. Neuroscience Research, 68(4):285-9, 2010 (査読有)
2. Hayashi T. and Murakami K. : The effects of laughter on post-prandial glucose levels and gene expression in type 2 diabetic patients. Life Sciences, 85(5-6): 185-187, 2009 (査読有)
3. Hori M., Hayashi T., Nakagawa

- Y., Sakamoto S., Urayama O. and Murakami K.: Positive emotion-specific changes in the gene expression profile of tickled rats. *Molecular Medicine Reports*, 2: 157-161, 2009 (査読有)
4. Hori M., Ohnishi J., Hayashi T., Nakagawa Y., Sakamoto S., Urayama O. and Murakami K. : Positive motion-specific changes in gene expression profile in tickling rat. *Journal of Health Counseling* 15: 37-48, 2009 (査読有)
5. 三木明子, 森岡真美 : 銀行員における笑いの研修前後の気分の変化. *産業衛生学雑誌*, 52 (Suppl) ,630,2010
6. 堀美代, 大西淳之, 林隆志, 坂本成子, 村上和雄 : 社会隔離飼育された幼若ラットのストレス反応性に及ぼすticklig効果. *動物心理学研究*, 60(2), 219, 210

[学会発表] (計 8 件)

- ①. 堀美代, 大西淳之, 林隆志, 坂本成子, 村上和雄 : 社会隔離ストレスに対する快情動に及ぼす効果の解析. *人体科学会第 20 回大会*, 2010 年 12 月 11 日, 倫理研究所 (東京都)
- ②. 三木明子, 森岡真美, 村上和雄, 大西淳之, 堀美代, 坂本成子 : 男性銀行員における笑いの研修の効果—笑いの介入前後の気分の変化を検討して—. *第 41 回日本看護学会 (地域看護)*, 2010 年 10 月 15 日, 大津プリンスホテル (滋賀県)
- ③. 堀美代, 大西淳之, 林隆志, 坂本成子, 村上和雄 : 社会隔離飼育された幼若ラットの恐怖条件付けに及ぼすtickling効果. *第 13 回日本行動神経内分泌研究会*, 2010 年 9 月 13 日, 茨城県古河市ネーブルパーク (茨城県)
- ④. 堀美代, 大西淳之, 林隆志, 坂本成子, 村上和雄 : 社会隔離飼育された幼若ラットのストレス反応性に及ぼすticklig効果. *日本動物心理学会第 70 回大会*, 2010 年, 8 月 29 日, 帝京大学八王子キャンパス (東京都)
- ⑤. 三木明子, 森岡真美 : 銀行員における笑いの研修前後の気分の変化. *第 83 回日本産業衛生学会*, 2010 年 5 月 28 日, フェニックス・プラザ (福井県)
- ⑥. 堀美代, 大西淳之, 林隆志, 坂本成子, 村上和雄 : 心と遺伝子発現—快情動を表出するモデル動物での検証. *第 16 回ヘルスカウンセリング学会学術大会*, 2009 年 9 月 20 日, 筑波大学東京キャンパス
- ⑦. 林隆志, 堀美代, 河合徳枝, 坂本成子, 村上和雄, 林啓子 : 笑いやすさを既定する遺伝子と反映する遺伝子. *第 7 回心と遺*

伝子研究会, 2008 年 8 月 28 日, 筑波大学 (茨城県)

- ⑧. 堀美代, 浦山修, 林隆志, 中川嘉, 坂本成子, 村上和雄 : 一時的及び継続的な笑い(Tickling刺激)でオン・オフする遺伝子スイッチの違い. *第 7 回心と遺伝子研究会*, 2008 年 8 月 28 日, 筑波大学 (茨城県)

[その他]

ホームページ等

<http://mind-gene.com/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

村上 和雄 (MURAKAMI KAZUO)
(財)国際科学振興財団・バイオ研究所・
所長
研究者番号 : 70110517

(2)研究分担者

林 隆志 (HAYASHI TAKASHI)
(財)国際科学振興財団・バイオ研究所・
研究員
研究者番号 : 80399329
堀 美代 (HORI MIYO)
(財)国際科学振興財団・バイオ研究所・
研究員
研究者番号 : 90399329
坂本 成子 (SAKAMOTO SHIGEKO)
(財)国際科学振興財団・バイオ研究所・
研究員
研究者番号 : 60419869
大西 淳之 (OHNISHI JUNJI)
東京家政大学・家政学部・
准教授
研究者番号 : 40261276
浦山 修 (URAYAMA OSAMU)
筑波大学・大学院人間総合科学研究科・
教授
研究者番号 : 90114743
三木明子 (MIKI AKIKO)
筑波大学・大学院人間総合科学研究科・
准教授
研究者番号 : 30315569
林 啓子 (HAYASHI KEIKO)
筑波大学・大学院人間総合科学研究科・
教授
研究者番号 : 50156436