

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 15 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23593001

研究課題名(和文) ストレス応答としての瞳孔散大反応の有用性とそのメカニズムの解明

研究課題名(英文) The mechanism of pupil dilation response during cold pressor test

研究代表者

岡 俊一(OKA, Shunichi)

日本大学・歯学部・准教授

研究者番号：20256879

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：歯科治療はストレスを伴う。本研究は、ストレスマーカーである唾液中ホルモンと麻酔深度のパラメーターである瞳孔を組み合わせたものである。つまり唾液中 アミラーゼなどを用い、cold pressor testでのストレス負荷により生じる瞳孔散大反応(PDR)が、単なる交感神経反射か？あるいはより中枢レベルの反射なのか？のメカニズムを解明することを本研究の目的とした。

その結果、唾液中のアミラーゼは刺激直後に上昇し、コルチゾールは刺激10～12分あるいは20～22分に上昇した。交感神経の上昇は、負荷開始30～60秒前後にみられた。瞳孔散大はそのピークが、負荷30～60秒後にみられる傾向にあった。

研究成果の概要(英文)：Dental treatments accompany the stress. This study was evaluated the mechanism of pupil dilation response(PDR) during cold pressor test. One competing hypothesis for the PDR was that PDR was that like the pupillary light reflex, it was not a simple reflexive response.

Cold pressor test increased the value of alpha-amylase at during and 1-3 min, that of cortisol at 10-12 min and 20-22 min after stress. The stress came from cold pressor test induced the exciting of sympathetic nerve system using Heart Rate Variability. Pupil dilated immediately after cold pressor test, at 30-60 sec

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：瞳孔 痛み ストレス 唾液 ホルモン

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 歯科治療は患者に多大な肉体的および精神的ストレスを与える。しかし、現在まで、歯科治療中のストレスを瞬時に測定する方法はない。一般にストレス応答機序には、視床下部 - 下垂体 - 副腎 (HPA) 系と自律神経 - 副腎髄質系の二つの系統がある。なかでも HPA 系のコルチゾールがストレスマーカーとして用いられてきた。近年、自律神経 - 副腎髄質系のストレスマーカーとして、唾液中のアミラーゼが注目されている。

(2) 痛み刺激で瞬時に散大し、痛みの強さに比例する瞳孔散大反応 (PDR) のメカニズムについて、単なる交感神経反射か、あるいはより中枢レベルの反射なのか意見は分かれる。我々のこれまでの研究では、瞳孔は痛みの客観的指標になり、また痛みの強さが同一でも、その与え方を変えた場合、瞳孔は感じ方、怖さに比例して散大することがわかっている。我々のこれまでの結果は、刺激により生じる PDR は、単なる交感神経反射ではないことを示唆している。

(3) 瞳孔は従来、脳の賦活、認識過程や注意などに関する情報を提供している。また鎮痛作用のないプロポフォルでの鎮静下でも、PDR はその濃度によって減少することが分かっている。つまり PDR は、意識状態および鎮静状態の客観的指標になることを示唆している。またこれらの結果は、PDR がストレスの程度を測定するのに有用であることも示唆している。

### 2. 研究の目的

(1) 本研究は、cold pressor test という痛み (tonic pain) を伴うストレス刺激を与え、ストレス前、ストレス時およびストレス後の唾液中のアミラーゼおよびコルチゾールを測定し、PDR との関係を検討した。同時に痛みの程度、心拍変動等を測定した。

(2) 具体的には本研究は、tonic pain 刺激の瞳孔の測定、ストレスの指標としての瞳孔径の有効性、刺激時の瞳孔散大反応のメカニズムの解明を目的として行なった。

### 3. 研究の方法

(1) 健康成人 25 名を対象とした。ユニットに装着後、心拍変動 (Heart Rate Variability: HRV) から自律神経の度合いをみるために、心電図電極を装着した。また血圧計を装着した。

(2) 対照値として、まず刺激がない状態、つまり安静時の瞳孔径の測定を 2 分間行なった。また舌下部にコットンロールを 2 分間置き、刺激がない状態で唾液を採取した。同様に、安静時での HRV を 2 分間測定した。

(3) その後、右手を手首まで、4 の水に 2 分間浸し、tonic pain つまりストレス刺激を行なった。ストレス負荷開始と同時に、瞳孔径および HRV の測定を開始し、また舌下部にコットンロールを置いた。ストレス刺激終了とともに瞳孔径の測定も中止し、HRV の計測およびコットンロールも取り出し、唾液を採取した。

(4) その後、ストレス刺激開始後 3~5 分、10~12 分、20~22 分、30~32 分と、唾液の採取、HRV の計測を行なった。

### 4. 研究成果

(1) 健康成人の年齢は、 $31.4 \pm 3.4$  歳 (mean  $\pm$  S.D.) であった。25 名中 2 名が 4 の冷水に手首を入水すること、つまり cold pressor test が出来ず、被験者から除外した。統計分析は、SAS Proc Mixed model program を用いて行った。

(2) Heart Rate Variability (HRV) を用いて心の揺らぎである自律神経、つまり心拍数、Low Frequency (LF)、High Frequency (HF)、LF/HF を測定した。心拍数は、対照値:  $74.9 \pm 8.6$  bpm, cold pressor test 中:  $77.6 \pm 9.7$  bpm, ストレス開始後 3~5 分:  $71.4 \pm 9.2$  bpm, ストレス開始後 10~12 分:  $71.0 \pm 7.0$  bpm, ストレス開始後 20~22 分:  $72.96 \pm 7.4$  bpm, ストレス開始後 30~32 分:  $72.2 \pm 6.2$  bpm であった。LF は、対照値:  $619 \pm 443$  ms<sup>2</sup>/sec, cold pressor test 中:  $1042 \pm 1294$  ms<sup>2</sup>/sec, ストレス開始後 3~5 分:  $930 \pm 846$  ms<sup>2</sup>/sec, ストレス開始後 10~12 分:  $641 \pm 460$  ms<sup>2</sup>/sec, ストレス開始後 20~22 分:  $651 \pm 464$  ms<sup>2</sup>/sec, ストレス開始後 30~32 分:  $738 \pm 532$  ms<sup>2</sup>/sec であった。HF は、対照値:  $323 \pm 241$  ms<sup>2</sup>/sec, cold pressor test 中:  $276 \pm 233$  ms<sup>2</sup>/sec, ストレス開始後 3~5 分:  $428 \pm 481$  ms<sup>2</sup>/sec, ストレス開始後 10~12 分:  $276 \pm 189$  ms<sup>2</sup>/sec, ストレス開始後 20~22 分:  $321 \pm 300$  ms<sup>2</sup>/sec, ストレス開始後 30~32 分:  $283 \pm 186$  ms<sup>2</sup>/sec であった。また LF/HF は、対照値:  $2.3 \pm 1.0$  %, cold pressor test 中:  $4.7 \pm 2.39$  %, ストレス開始後 3~5 分:  $2.9 \pm 1.4$  %, ストレス開始後 10~12 分:  $2.8 \pm 1.5$  %, ストレス開始後 20~22 分:  $2.7 \pm 1.3$  %, ストレス開始後 30~32 分:  $3.1 \pm 1.3$  % とストレス負荷時である cold pressor test 時に有意に上昇した。

(3) 心拍変動のうち、刺激中の変動を 30 秒間隔でみると、心拍数は、0~30 秒:  $78.8 \pm 10.4$  bpm, 30~60 秒:  $78.0 \pm 10.6$  bpm, 60~90 秒:  $77.2 \pm 10.7$  bpm, 90~120 秒:  $76.0 \pm 9.2$  bpm, LF は、0~30 秒:  $1204 \pm 1351$  ms<sup>2</sup>/sec, 30~60 秒:  $1072 \pm 1022$  ms<sup>2</sup>/sec, 60~90 秒:  $991 \pm 1876$  ms<sup>2</sup>/sec, 90~120 秒:  $900 \pm 1000$  ms<sup>2</sup>/sec であった。また HF は、0~30 秒:  $281 \pm 224$  ms<sup>2</sup>/sec, 30~60 秒:  $239 \pm 220$  ms<sup>2</sup>/sec, 60~90 秒:  $291 \pm 326$  ms<sup>2</sup>/sec, 90~120 秒:  $294 \pm 295$  ms<sup>2</sup>/sec,

LF/HF は、0~30 秒:4.8±3.7%、30~60 秒:6.0±4.1%、60~90 秒:4.3±3.4%、90~120 秒:3.6±2.0%であり、交感神経の指標とされる LF/HF は、刺激中、特に 30~60 秒の間に有意に上昇した。

(4) 唾液中 アミラーゼ濃度は、対照値:32.6±16.7 KU/L, cold pressor test 中 80.7±40.1 KU/L, ストレス開始後 3~5 分:63.1±33.7 KU/L, ストレス開始後 10~12 分:47.7±32.6 KU/L, ストレス開始後 20~22 分:44.5±23.5 KU/L, ストレス開始後 30~32 分:36.6±22.5 KU/L となり、ストレス中およびストレス後 1~3 分に有意に上昇した。またコルチゾール濃度は、対照値:0.1±0.1 μg/dl, cold pressor test 中:0.2±0.1 μg/dl, ストレス開始後 3~5 分:0.2±0.1 μg/dl, ストレス開始後 10~12 分:0.3±0.1 μg/dl, ストレス開始後 20~22 分:0.6±0.3 μg/dl, ストレス開始後 30~32 分:0.5±0.3 μg/dl となり、ストレス始後 10~12 分後から上昇し始め、20~22 分後に有意な上昇がみられた。

(5) 瞳孔径は、ストレス開始前の安静時は、全体の平均が、6.2±0.3mm であった。瞳孔径は、刺激直後より散大し始め、そのピークは 59.5±0.8 秒後であった。またピーク時の瞳孔径は、6.5±0.4mm であった。さらに瞳孔径はその後、刺激前に比べると散大し続けていたが、その大きさは徐々に縮小した。また、瞳孔径の変化は、アミラーゼ値を有意に予測したが、コルチゾールを予測することは出来なかった。

(6) 痛みの程度を表す Visual Analogue Scale 値は、ストレス開始 0~30 秒:7.97±1.1cm, 30~60 秒:9.3±0.8cm、60~90 秒:9.3±1.0cm、90~120 秒:8.4±1.4cm であった。この冷水による痛み、つまり tonic pain は LF/HF と有意な相関関係がみられた。

(7) 血圧の変動は、対照が 120±12/65±14 mmHg であったが、cold pressor test 中は、145±13/87±9mmHg と上昇したが、ストレス負荷を止めたと同時に下がり始め、その後は対照値と変化はみられなかった。

(8) ストレス反応は、心身両面に現れることが多く、特にストレスと自律神経系との関係が知られている。つまり、ストレス負荷時の自律神経系の状態を調べることで、ストレスの状態も客観的に評価することが可能とされている。今回用いた唾液中のストレスホルモンである アミラーゼ活性値は、自律神経系の交感神経-副腎髄質系の活動に基づいている。またコルチゾールは、ストレス応答機序のうち、視床下部-下垂体-副腎 (HPA) 系を反映している。本研究結果は、アミラーゼの活性値が、ストレス負荷開始直後、つ

まりストレス負荷中およびストレス開始後 3~5 分後に増加している。しかし、コルチゾール値はストレス開始 10~12 分後に増加し始め、そのピークはストレス開始 20~22 分後にみられた。このことは、従来通り、ストレス応答機序が異なること、そして アミラーゼの方が、瞬時にストレスに応答することを表している。

(9) またストレス負荷の指標として、心の揺らぎを表す心拍変動が知られている。心臓は、交感神経と副交感神経両者の影響を受けており、心拍変動の RR 間隔時系列の周波数成分をパワースペクトル分析することで、ストレス下において心臓自律神経系のうち交感神経または副交感神経系のどちらが優勢であるかを知ることができる。この心拍変動の周波数分析には、今回測定した交感神経系の影響を受ける低周波成分 (LF) と副交感神経活動の影響を受ける高周波成分 (HF) がある。また LF/HF は、交感神経活動の指標として認知されている。本研究では、この LF/HF は cold pressor test 時に有意に上昇した。またストレス負荷時の 2 分間を詳細に 4 段階に分けてみると、ストレス開始 30~60 秒の間にその上昇は顕著であった。このことは、冷水を用いたストレス負荷では、ストレス開始 30~60 秒時に交感神経の緊張はピークであったことを示している。

(10) ストレス負荷時、つまり tonic pain 時の瞳孔変化は、phasic pain 時とは異なった波形を示した。つまり刺激開始直より瞳孔は散大し始め、そのピークはストレス開始 60 秒前後にみられた。また LF/HF と瞳孔散大との関係を見ると、 $r=0.76$  と有意に相関した。

(11) 本研究結果は、cold pressor test を用いて 2 分間負荷することで瞳孔は、刺激直後より瞳孔径が散大し始め、そのピークは刺激開始後約 60 秒後であった。瞳孔径の変化と アミラーゼの間には有意な相関関係がみられたが、コルチゾールとの間には関係がみられなかった。つまり、瞳孔径はストレス反応の指標として有用であった。刺激時による瞳孔散大反応は、自律神経系-副腎髄質系の反応を表している可能性が高い。

(12) 本研究結果より、cold pressor test は、痛みおよび交感神経の興奮を引き起こし、同時に瞳孔を散大させた。アミラーゼ活性値の上昇、その後のコルチゾールの上昇を引き起こした。また瞳孔散大は、アミラーゼ活性値の上昇を予知させたが、コルチゾールの上昇は予知させることはできなかった。これらのことから、cold pressor test により生じる瞳孔散大反応は、ストレス応答の有力な指標になる可能性が高いことを示唆された。

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3件)

中西 穂波、岡 俊一、石井 宏卓、金博和、見崎 徹、大井 良之、高齢者における唾液中 アミラーゼと歯科治療時間について、日歯麻誌、査読有、40、2012、201 - 202

Shimizu O, Shiratsuchi H, Ueda K, Oka S, Oi Y, Alteration of the actin cytoskeleton and localization of the  $\alpha 6 \beta 1$  and  $\alpha 3 \beta 3$  integrins during regeneration of the rat submandibular gland, Arch Oral Biol, 査読有、57、2012、1127-1132

Kim B, Takada K, Oka S, Misaki T, Influence of blood pressure on cardio-ankle vascular index (CAVI) examined based on percentage change during general anesthesia, Hypertens Res, 査読有、34、2011、779 - 783

[学会発表](計5件)

Oka S, Nakanishi H, Oi Y, Suzuki N, Human salivary  $\alpha$ -amylase during cold pressor test, FDI 2013 Istanbul Annual World Dental Congress, 2013年8月29日、Istanbul, Turkey

鈴木勲、岡 俊一、鈴木直人、大井良之他9名、2番目、東京都葛飾区における在宅寝たきり老人の歯科治療(第14報)高齢者における唾液量とストレスホルモンの関係、日本老年歯科医学会第24回学術大会、2013年6月5日、大阪国際会議場

岡 俊一、中西穂波、里見ひとみ、関野麗子、金 博和、鈴木直人、大井良之、歯科治療時の アミラーゼの変動、第22回日本歯科医学会総会・学術集会、2012年11月10日、大阪国際会議場

大原義治、岡 俊一、他11名、9番目、東京都葛飾区における在宅寝たきり老人の歯科治療(第13報)高齢者における唾液中ストレスホルモンと歯科治療時間について、日本老年歯科医学会第23回学術大会、2012年6月22日、つくば国際会議場

Oka S, Nakanishi H, Oi Y, Suzuki N, Propofol reduces the pupil dilation response to noxious stimulation in humans, 15<sup>th</sup> WFSA World Congress of Anaesthesiologists, 2012年3月27日、Buenos Aires, Argentina

[図書](計1件)

Nakajima I, Oka S, Ohba H, Yoshida M, Movement -Related Cortical Potentials Associated with Oral and Facial

Functions in Humans, Applications of EMG in Clinical and Sports Medicine, 2012、375 - 398

[産業財産権]

出願状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

岡 俊一(OKA, Shunichi)

日本大学・歯学部・准教授

研究者番号：20256879

(2)研究分担者

鈴木 直人(SUZUKI, Naoto)

日本大学・歯学部・教授

研究者番号：10226532

岡田 明子(OKADA, Akiko)

日本大学・歯学部・准教授

研究者番号：10434078

中島 一郎(NAKAJIMA, Ichiro)

日本大学・歯学部・教授

研究者番号：90198078

大井 良之(OI, Yoshiyuki)

日本大学・歯学部・教授

研究者番号：60271342

(3)連携研究者

( )

研究者番号：