

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 24 日現在

機関番号：83901

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24790594

研究課題名(和文) 職業性心理ストレス要因が視床下部 - 下垂体 - 副腎皮質系の活動に及ぼす影響

研究課題名(英文) The correlation of psychosocial factors and hypothalamo-pituitary-adrenal axis.

研究代表者

間瀬 純治 (MASE, JUNJI)

愛知県がんセンター(研究所)・疫学・予防部・研究員

研究者番号：30506126

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)：Demand-Control-Support Modelで高いDemandかつ低いControlの高Strain群とそれ以外の群の間には毛髪コルチゾール量に有意な差は認められなかった(P=0.93)。Demand-Control-Support Modelで平均値と比して高Support群と低Support群の間に毛髪コルチゾール量の差に有意な差は認められなかった(P=0.52)

研究成果の概要(英文)：There is no correlation between high strain group and the others in Japanese worker's hair Cortisol (P=0.93). There is no correlation between high Support group and low Support group in Japanese worker's hair Cortisol (P=0.52).

研究分野：産業保健

キーワード：毛髪 コルチゾール

1. 研究開始当初の背景

(1) 毛髪の破碎する方法が未解明

(2) コルチゾールは生体が身体的・精神的なストレスに曝露することにより副腎皮質から分泌されるホルモンである。従来用いられている血清や尿、唾液中のコルチゾールと異なり、毛髪に含まれるコルチゾールは、その含有量が数か月間の分泌量を反映することが報告されるなど、毛髪が長期間のストレス状態の把握に適した生体試料である可能性に脚光があたっている。Raulら(2004)によってメタノールを用いたヒトの毛髪コルチゾールの抽出に関する報告がなされたが、抽出時間や温度などの抽出条件に未だ一定の見解が得られていない。そこで、本研究では毛髪コルチゾール抽出時間、温度、振盪の有無の3つの抽出条件について検討した。

(3) 疫学調査によるストレス要因と採取した毛髪に含まれるコルチゾール量の関連についての論文は渉猟し得なかった。

2. 研究の目的

(1) 毛髪粉碎方法の確立。

(2) メタノール浸漬による毛髪コルチゾール抽出の最適な条件を調べる。

(3) 疫学調査によるストレス要因を明らかにする。

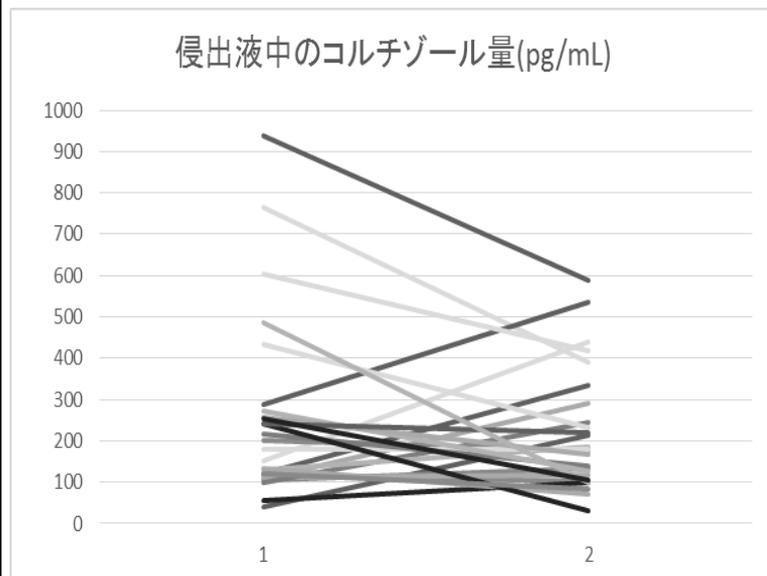
(4) ストレス要因と毛髪コルチゾール量の関連を明らかにする。

3. 研究の方法

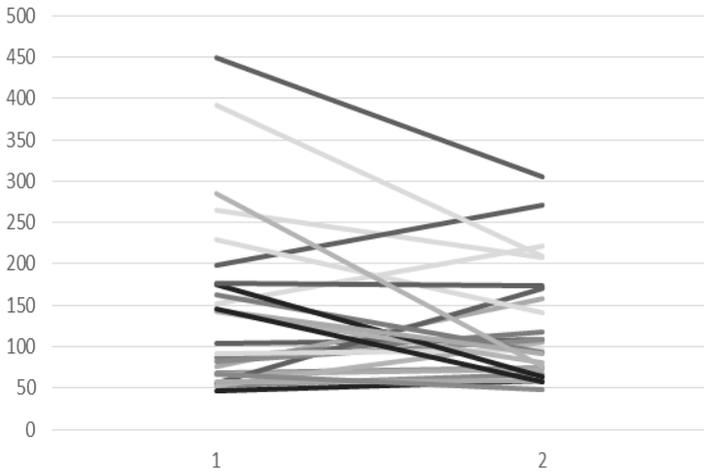
(1) 毛髪の破碎用には、ガラスホモジナイザー、液体窒素凍結後のハンマーを用いた粉碎、細胞破碎装置が用いられる。ガラスホモジナイザーは10 mg程度の少量の粉碎には適切であるが、本研究での毛髪200 mgの粉碎には、10分以上かけても、細かく粉碎できず、適切な破碎方法ではなかった。液体窒素凍結後のハンマー粉碎は、毛髪を袋に入れるなど種々の方法を試したが、ハンマーで粉碎する際の毛髪の飛散により回収困難な場合があり、適切な破碎方法ではなかった。細胞破碎装置は大型で特別な装置であり、本研究での使用は困難であった。今回、小片組織破碎用の金属製マイクロチューブ(2mL)とメタルクラッシャーが新たに市販された。この金属製マイクロチューブとクラッシャーを本学の小片組織破碎装置で使用した。

(2) 毛髪を鋏と細胞破碎装置を用いて粉状にした。毛髪10mgに対してメタノールを1mL加え、後述する抽出条件による抽出を終えた後、抽出液を10,000rpmで2分間遠心し、上澄みを蒸発させ、残留物を緩衝液にて懸濁し測定サンプルとした。測定サンプルは免疫抗体法を応用した血漿コルチゾール測定キットを用いて吸光度を二重測定した。メタノールによる抽出時間は、1、2、4、8、12、14、16、18、20、24、28、32時間の12通りとした。抽出条件は50℃または室温で、さらに振盪の有無の組み合わせの4条件で、時間との組み合わせの計48通りについて6サンプルずつ測定した(n=288)。

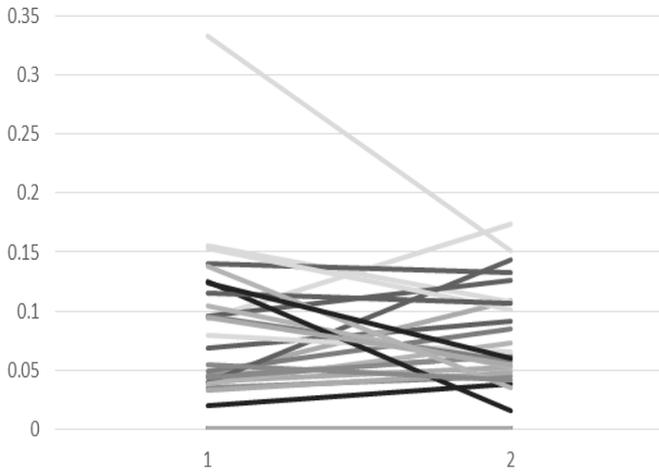
(3) 毛髪中に含まれるコルチゾールは1回目の平均値が256.8 pg/mL、95.6 pg/mg、0.058pg/1本・mm、2回目の平均値は220.1 pg/mL、124.5 pg/mg、0.051 pg/1本・mmであった。重量ベースではコルチゾール量は増加した。



侵出液中のコルチゾール量(pg/mg)

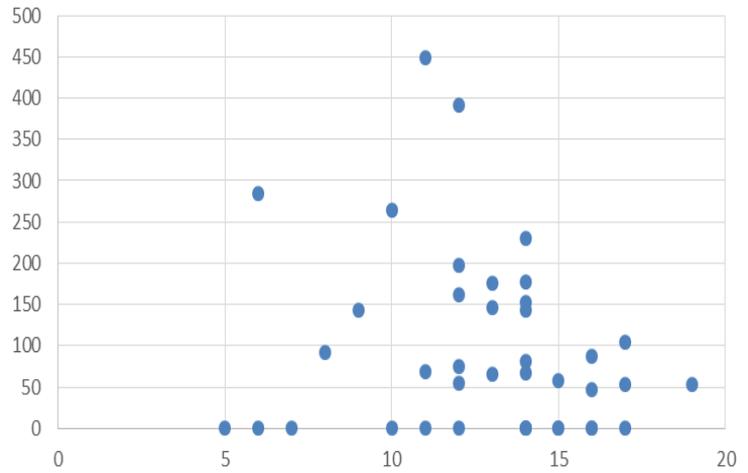


侵出液中のコルチゾール量(pg/1本・mm)

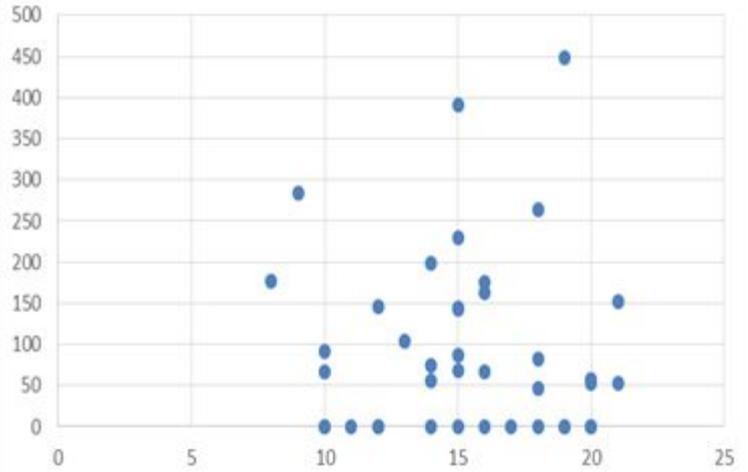


(4) 対象者から採取した毛髪を直近の3か月に伸長した部位にあたる頭皮側から3cmに切りそろえ、質量および本数を測定する。2-プロパノールで3回毛髪を洗浄した後、乾燥する。金属マイクロチューブに対象者の毛髪とメタルクラッシャーを入れ、小片細胞破碎装置を常温で使用し、細かい粉状に粉碎する。粉碎した毛髪の質量を測定した後、50 振盪ありの条件でメタノールに一晚浸漬し、抽出液を遠心後、上澄みを乾燥して得られた残渣を検体とする。検体は、乾燥した状態で、高速液体クロマトグラフィー（HP-LC）で測定するため、検査委託する。検査の委託先はコルチゾールを含む低分子の高速質量分析装置を有する数少ない検査会社で、過去に依頼して測定実績と信頼関係のあるあすか製薬メディカル（川崎市）とする。送付された各個人のコルチゾール濃度の検査結果を粉状毛髪の質量で除して、毛髪質量あたりのコルチゾール量を算出し、対象者の職業性心理ストレス要因の結果の関連を分析する。

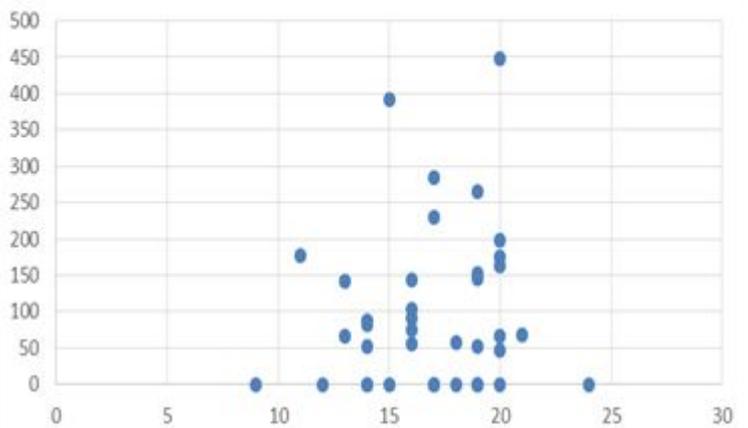
毛髪コルチゾール量(pg/mg)と仕事の要求度

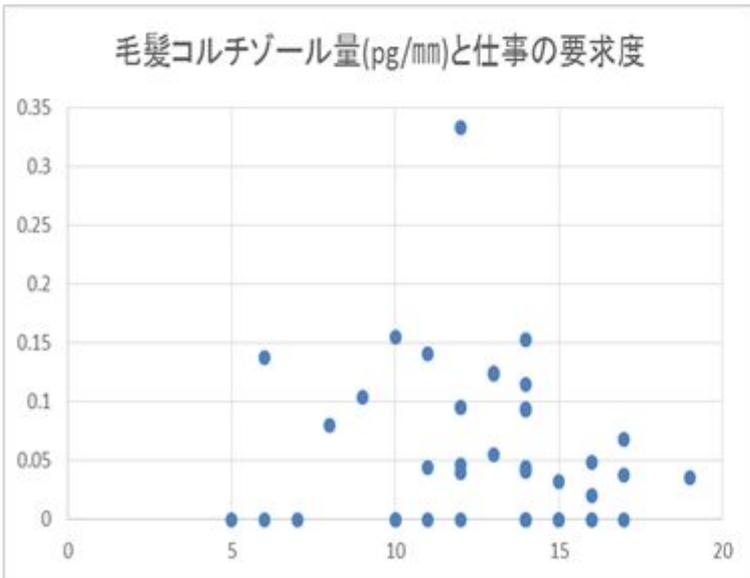
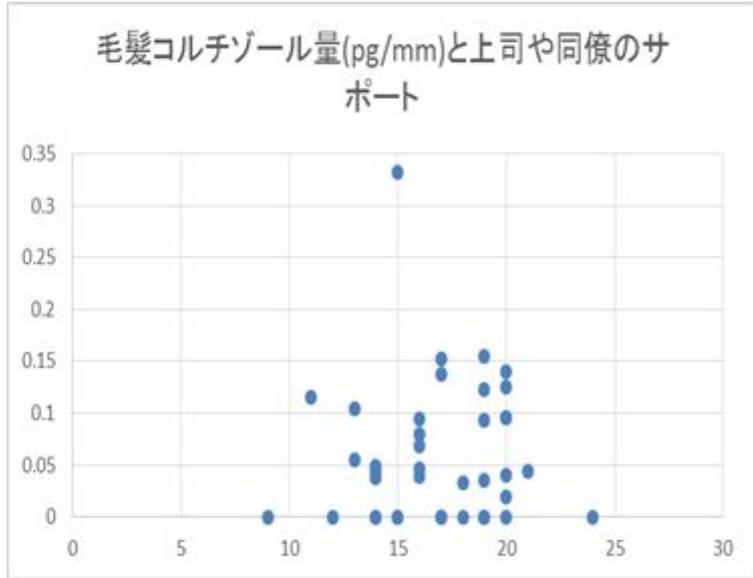
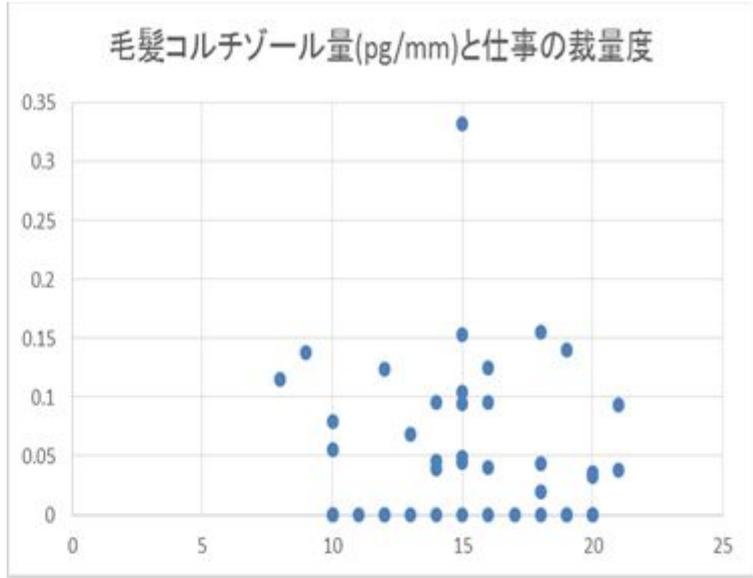
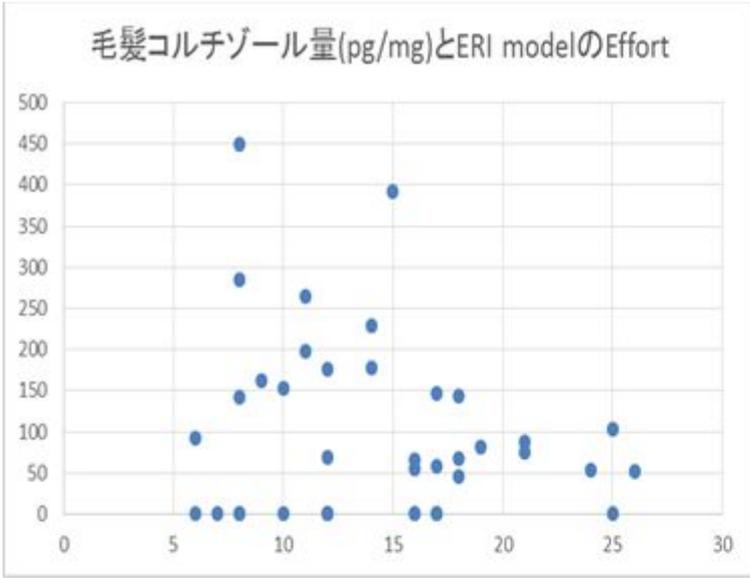


毛髪コルチゾール量(pg/mg)と仕事の裁量度



毛髪コルチゾール量(pg/mg)と上司や同僚のサポート





4. 研究成果

(1) 本研究の毛髪の破碎には、金属製マイクロチューブとメタルクラッシャーを使用することで、良好に毛髪を破碎することができた。

(2) 各条件のコルチゾール抽出量は経時的に多峰性を示した。時間を無視した4条件の比較では50 振盪ありの測定値が他の3条件に比べ有意に高値であった。(50 有: 5.8、50 無: 4.2、室温有: 4.3、室温無: 3.8(pg/mg)) 過去の文献では最適の抽出時間を16時間としている。4条件の抽出16時間の測定値は50 有: 4.2、50 無: 3.1、室温有: 4.8、室温無: 4.9(pg/mg)であり、有意な差は認められなかった。そのため、文献で示されている16時間、50、振盪ありをメタノール浸漬の条件設定とした。加温と振盪の効果は不明瞭で、適正な測定値を得られなかった可能性も考えられた。その要因として、3つのことが考えられた。第1

に、抽出量の経時的な多峰性は、コルチゾン等がコルチゾールと異なる時間に抽出された可能性が考えられた。毛髪各糖質コルチコイド抽出量の経時的な比較やコルチコイド等の消去など、コルチゾールの適切な抽出条件を検討したい。第2に、サンプル吸光度のうち9割以上が測定キットの推奨閾値未満の低濃度だったことが考えられた。推奨閾値内で吸光度を測定するために使用する毛髪や懸濁液の量を適切にすることでサンプル濃度を高くすべきである。第3に、手技として抽出液遠心後の沈殿物の混入、測定サンプルの懸濁不足、測定キットの標識物質の滴下量多寡があげられる。明らかなはずれ値を除外して検討したが変化は限定的であった。実施前に手技の見直し等をすべきである。

(3) 3事業所(卸売り業、倉庫業、児童福祉施設)に勤務する労働者を対象として研究の説明をし、同意を得た58名について、毛髪の採取と仕事に関する質問紙調査を行った。質問紙調査の結果を集計した結果、3事業所で職業性心理ストレス要因の多寡に有意な差は認められなかった。

(4) Demand-Control-Support Modelで高いDemandかつ低いControl群とそれ以外の群の間には毛髪コルチゾール量(毛髪重量mg、もしくは毛髪長mmあたり)に有意な差は認められなかった($P=0.93$ 、 $P=0.78$)。Demand-Control-Support Modelで平均値と比して高い群と低い群の間に毛髪コルチゾール量(毛髪重量mg、もしくは毛髪長mmあたり)の差に有意な差は認められなかった($P=0.52$ 、 $P=0.69$)。Effort-Reward Modelで高いEffort群とそれ以外の群の間には毛髪コルチゾール量(毛髪重量mg、もしくは毛髪長mmあたり)に有意な差は認められなかった($P=0.74$ 、 $P=0.59$)。Effort-Reward Modelで高いReward群と低い群の間に毛髪コルチゾール量(毛髪重量mg、もしくは毛髪長mmあたり)の差に有意な差は認められなかった($P=0.87$ 、 $P=0.69$)。

5. 主な発表論文等
該当なし

〔その他〕
該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

間瀬 純治 (MASE JUNJI)

愛知県がんセンター(研究所)・疫学・予防部・研究員

研究者番号：30506126