

## 唾液マーカーでストレスを測る

山口 昌樹

**要約：**厚生労働省の人口動態統計資料によると、1977年から1997年までは年間20,000-25,000人で推移していた自殺者数は、1998年に一気に年間3万人を越え、それ以降3万人前後で推移している。このことから、自殺に至る一因であるストレスが原因の神経精神疾患は、既に深刻な社会問題となったことが窺われる。さらに、ストレスは、神経精神疾患以外にも生活習慣病など様々な疾患の引き金の1つと考えられている。そこで、ストレスの状態を遺伝子レベルで診断し、疾患の予防や治療につなげようとする試みが始まっている(1)。これは、慢性ストレスの検査と言い換えることができよう。一方で、疾患の前段階、すなわち人が日常生活で感じているストレスの大きさを客観的に把握する試みもなされている。その目的の1つは、自らのストレス耐性やストレスの状態をある程度知ることによって、うつ病や慢性疲労症候群などの発症を水際で食い止めようという予防医療である。もう1つは、五感センシングが挙げられる。独自の価値観で快適性を積極的に追求する人が増えてきており、それと呼応するように、快適さを新しい付加価値とした製品やサービスが、あらゆる産業分野で創出されている(2)。消費者と生産者の何れもが、味覚や嗅覚を定量的に知ることよりも、それらの刺激で人にどのような感情が引き起こされるかということ(五感センシング)に興味がある。これを可能にするためのアプローチの1つが、唾液に含まれるバイオマーカーを用いた定量的なストレス検査である。これらは、急性ストレスの検査が中心的なターゲットといえよう。ストレスとは、その用語が意味する範囲が広く、研究者によっても様々な捉われ方、使われ方がなされていることが、かえって混乱を招いているようだ。代表的な肉体的ストレスである運動とバイオマーカーの関係については、これまで

に様々な報告がなされている(3)。筆者が注目しているのは、主として精神的ストレスであり、人の快・不快の感情に伴って変動し、かつ急性(一過性)もしくは慢性的に生体に現れるストレス反応である。ここでは、唾液で分析できるバイオマーカーを中心に、このようなストレス検査の可能性について述べてみたい。

### 1. バイオマーカー

人体に加えられた様々な刺激は、感覚器で検知され、末梢神経を介して脳(中枢神経系)に伝達される。脳では、それらの刺激が認知され統合される。刺激に対応するために脳から発せられた指令は、交感神経系や内分泌系を介して全身に伝達され、各器官の亢進(活性化)や抑制(沈静)などの生体反応として現れる。

バイオマーカーとは、このような人が発する生体情報を、血液、間質液、唾液、尿などの生体サンプルに含まれる化学物質の濃度から読み取り、数値化・定量化した指標を意味している。交感神経系や内分泌系に直接・間接的に関与するバイオマーカーでは、ストレスの強度に応じて濃度が顕著に変化するものがあり、ストレスマーカーとも呼ばれる。脳波(EEG)、脳血流量、血圧、心拍数や心電図(ECG)などの物理計測だけでは押さえ込めなかったストレスを定量評価するには、バイオマーカー(化学計測)は必要不可欠なものとなりつつあり、その技術開発には大きな社会的ニーズがある。

ストレスマーカーは、血液に含まれるものが多く、その一部は唾液でも分析可能である(表1)(4)。唾液から分析できるストレスマーカーは、非侵襲で、随時性、簡便性に優れ、血液のようにサンプルの採取がストレスにならないというメリットがある。ただ、今のところ急性ストレス検査が中心で、慢性ストレス

表 1 ストレスマーカーとしての可能性が指摘されている生化学物質

指 標	生化学物質	体液	特 徴
交感神経系 内分泌系	コルチゾール (CORT)	血液 唾液	ストレス指標として古典的に用いられてきた。
	エピネフリン (EP)	血液	副腎髄質から分泌されるカテコールアミンの 80% はエピネフリン。
	ノルエピネフリン (NE)	血液	古典的なストレス指標。ホルモンであると同時に神経伝達物質。血中濃度が低く唾液での分析は困難。
	ドーパミン (DA)	血液	ノルエピネフリンとともに、神経伝達物質。
	クロモグラニン A (CgA)	唾液	副腎髄質クロム親和性細胞や交感神経から分泌されるタンパク質の一種で、精神的ストレスを反映。
	アミラーゼ (AMY)	唾液	唾液アミラーゼは、交感神経系の直接神経作用と、ノルエピネフリン作用の両作用で分泌される。
	セロトニン (EDTA)	血液 骨髄液	生理的活性アミンの一種で、脳のセロトニンは神経伝達物質である。睡眠、体温、情緒・気分、食欲の調節に関係する。
	5-ハイドロキシインドール酢酸 (5-HIAA)	尿	セロトニンの代謝物を測る中枢神経ホルモン検査で測定される。
	黄体刺激ホルモン (LTH)	血液	別名プロラクチン。生理作用は、乳腺の発育や乳汁分泌の開始など。ストレスに伴って変化。
	成長ホルモン (GH)	血液	別名ソマトトロピン。ストレスや運動で分泌が増加することが知られる。
	$\beta$ -エンドルフィン	血液	内因性モルヒネ様ペプチドの一種。鎮痛活性が高く、快楽物質ともいわれる。
副腎皮質刺激ホルモン (ACTH)	血液	視床下部の刺激で分泌され、副腎皮質のステロイド合成を促す下垂体前葉ホルモンで、朝高く夜低いという明瞭な日内変動がある。	
免 疫 系	免疫グロブリン	血液	B 細胞によって作られる抗体の一種で、IgA を測定することが多い。精神的ストレスと関係。
	ナチュラルキラー (NK) 細胞活性	血液	ガン細胞やウイルス感染細胞などから生体を防御する免疫活性の指標となる。
	インターロイキン (IL)	血液	サイトカインの一種で、脳内ストレス応答機構に関与している。

検査の可能性は十分に検証されているとはいえ、今後の課題であろう。

ストレス研究において、コルチゾールやノルエピネフリンは、ゴールド・スタンダードとして多用されてきた。特に、内分泌系の指標であるコルチゾールは、血液中の基準値が 10-15  $\mu\text{g}/\text{dl}$  と比較的高いので、免疫測定法 (ELISA) など高感度な分析法を用いれば唾液から分析できる (5, 6)。最近では、マイクロ電気泳動などによる分析時間の短縮化も検討されている (7)。クロモグラニン A というホルモンの一種も、ELISA を用いて唾液から分析でき、そのストレスマーカーとしての可能性が指摘されている (8, 9)。一方、交感神経系の指標であるノルエピネフリンでは、その基準値は 24 時間蓄尿でも 10-90  $\mu\text{g}/\text{日}$  ほどしかなく、血液検体による検査が行われており、唾液による分析はまだ不可能である。これらのホルモンは、刺激から分泌まで通常 20-30 分の時間遅れがあることも、ストレス検査における扱いにくさの 1 つである。

免疫系は、生体の 2 大情報伝達制御機構である神経

系と内分泌系の影響を強く受けることから、免疫グロブリンやナチュラルキラー (NK) 細胞活性などのバイオマーカーについて、ストレスとの関係が研究されている。IgA は唾液からも分析でき (S-IgA)、タバコ・飲酒頻度 (10) や、細菌や感染症などの生物的ストレス (11) との関係が検討されている。NK 細胞活性では、筆記試験による低下が報告されている (12)。しかし、これらの免疫系の指標と精神的ストレスに関する報告はまだそれほど多くない。

## 2. 唾液アミラーゼとストレス

筆者は、交感神経系の新しい指標として、唾液腺における  $\alpha$ -アミラーゼ分泌 (唾液アミラーゼ) に着目している。唾液アミラーゼは、交感神経-副腎髄質系 (Sympathetic nervous-adrenal medullary system, SAM system)、すなわちノルエピネフリンの制御を受けていることが判っている (13, 14)。さらに、唾液アミラーゼ分泌は、SAM system だけでなく直接神経作用による制御システムも存在する (図 1)。この直接神経作用

により唾液アミラーゼ分泌が亢進される場合には、応答時間が1～数分と短く、ホルモン作用に比べて格段にレスポンスが早い。すなわち、唾液アミラーゼを用いれば、唾液腺が低濃度のノルエピネフリンの増幅器の役割を果たすだけでなく、コルチゾールよりも迅速に反応する優れた指標となり得ると期待できる。

さらに、不快な刺激では唾液アミラーゼ活性が上昇し、快適な刺激では逆に低下することを見出し、唾液アミラーゼによって快適と不快を判別できる可能性があることを示した(15, 16)。

### 3. 交感神経モニタと生体情報収集システム

使用環境に左右されず、迅速に交感神経の興奮／沈静を検査するために、唾液アミラーゼ活性による携帯式の交感神経モニタを試作した(図2 (a), (b))(17, 18)。本モニタは、使い捨て式のテストストリップと本体(110 × 100 × 40 mm<sup>3</sup>, 350 g)で構成されており、共同研究パートナーである医療機器メーカーから、2005年末より市販されている(図2 (c))。

この交感神経モニタでは、唾液アミラーゼの基質としてクロモゲン(Gal-G2-CNP)を用い、それを試験紙に含浸した。Gal-G2-CNPは、 $\alpha$ -アミラーゼで加水分解されると、時間とともに黄色に発色する。本反応は、基質がなくなるまで続くので、酵素活性を定量するには、反応時間を規定できるような機構が必要である。そこで、唾液採取紙とアミラーゼ試験紙の2つを用意し、それらを使い捨て式のテストストリップに組み込み、本体に設けた唾液転写機構で唾液を定量してから、所定時間内に唾液アミラーゼ活性を分析する

方法を考案した。本モニタは、30  $\mu$ l 程の唾液を採取するのに30秒、転写と分析に30秒が必要であり、計1分ほどで唾液アミラーゼ活性を分析できる。

唾液アミラーゼは、他のストレスマーカーと比べて下記の利点があると考えている。

- 1) 非侵襲性：唾液由来であり、採血が不要でサンプルの採取による精神的・肉体的苦痛が少なく、また医療従事者でなくともサンプルを採取できる。
- 2) 随時性：100  $\mu$ l 程のサンプル量ならば、1分程で



(a) 本体に装着した使い捨て式のテストストリップ (110 × 100 × 40 mm<sup>3</sup>, 350 g)



(b) テストストリップを口腔に挿入すると約30秒で唾液が採取できる



(c) 市販されたストレス測定器 (ニプロ株, COCORO METER, 130 × 87 × 40 mm<sup>3</sup>)

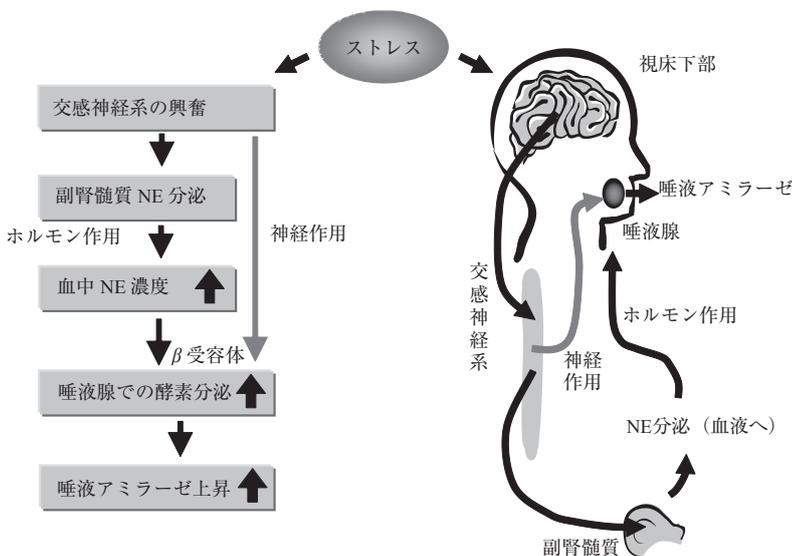


図1 ストレスによる唾液アミラーゼ分泌の機序  
NE：ノルエピネフリン

図2 唾液アミラーゼ活性を分析して交感神経活性を評価する携帯式交感神経モニタ

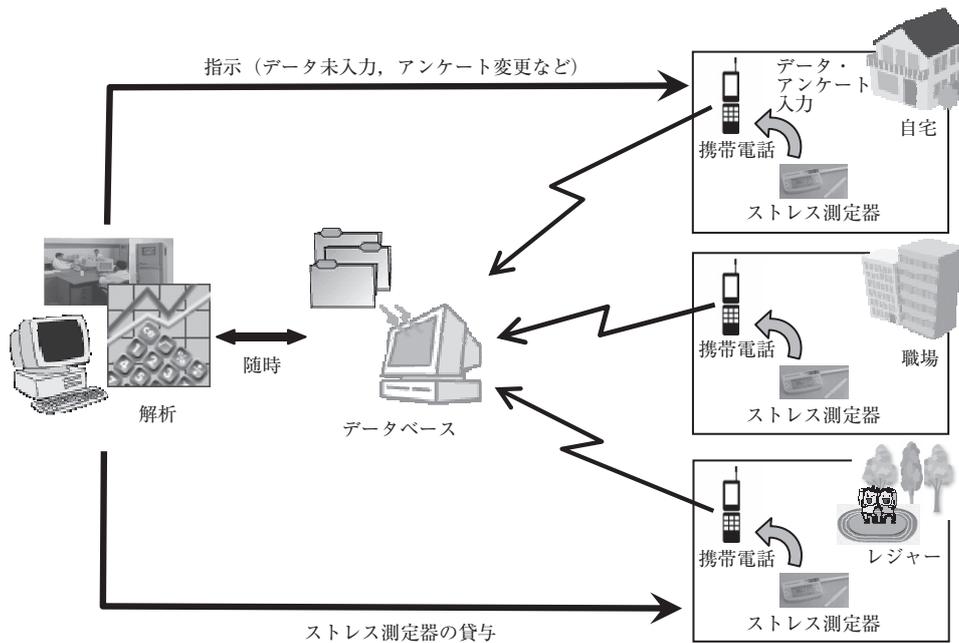


図3 携帯電話を介したストレス/快適性情報のリアルタイム収集システム

採取できる。

- 3) 即時性：唾液アミラーゼ活性が高く，酵素法で分析できるので，分析時間が1分以内。
- 4) 簡便性・携帯性：ドライケミストリー・システム（試験紙）を用いれば，分析方法をシンプルにでき，測定器の携帯化が可能。
- 5) 経済性：酵素法で分析できるので，ELISAなどの免疫法に比べ，分析コストが1/100。

もし，ストレス検査が研究室内だけでなくフィールド (*in use*) でも定量的に実施できるようになれば，個人の日常の生活空間（環境）におけるストレスの度合いを知るための有用な手段となる。図3は，そのようなストレス/快適性評価を行うために構築した，携帯電話を介した生体情報のリアルタイム収集システムである。人を測定対象とした研究では，標準的な検査プロトコルというのは決めがたく，むしろ状況や環境に応じて適切な検査プロトコルを考えていくことが大変重要である。このシステムを用いれば，ほぼリアルタイムでデータを収集・解析できるので，早い段階で検査の成果を確認し，検査プロトコルの問題解決を図ることができる。また，各被検者の動向を常時把握することが可能なので，データ未入力（欠損値）やアンケート変更などにも迅速に対応できる。このシステムは，健康・福祉機器，医薬品や工業製品の有用性を評価する手法としても利用できるであろう。

#### 4. 五感センシング

人の持つ五感を模擬したセンサーは，五感センサーなどと呼ばれ，ロボット，バーチャルリアリティーや人工臓器への応用が考えられている。脳は，五感から入力された膨大な情報をリアルタイムに処理して外界を認識しており，その仕組みの解明については，医学的，心理学的，分子生物学的側面から，多くの研究者が独自に研究を進めている。筆者は，視覚，聴覚，味覚や嗅覚などの刺激によって，人にどのような感情が引き起こされるかということに興味を持ち，刺激の検出から感情の動きに伴って起こる身体的・生理的变化に至る過程（情動）までを含めて，五感センシングと呼んでいる。この場合，五感刺激（人への入力）を定量することよりも，感情（人からの出力）を数値化することに，より大きな意義がある。

五感センシングへのアプローチの1つとして，快・不快の感性に深く関わる生体反応を，バイオマーカーで計測することを目指している（図4）。従来のストレス検査では，交感神経系のみ，もしくは内分泌系のみを計測するものが中心であった。また，体の状態は時々刻々と変化するのに，被検者が健常であるかどうかは主観的に判断されており，疾患などの影響を定量的に考慮していなかった。五感センシングでは，神経系，内分泌系の情報伝達制御機構だけでなく，これらの影響を強く受ける免疫系も重要な指標となろう。すなわち，これら3つの系に関わる複数のストレスマー

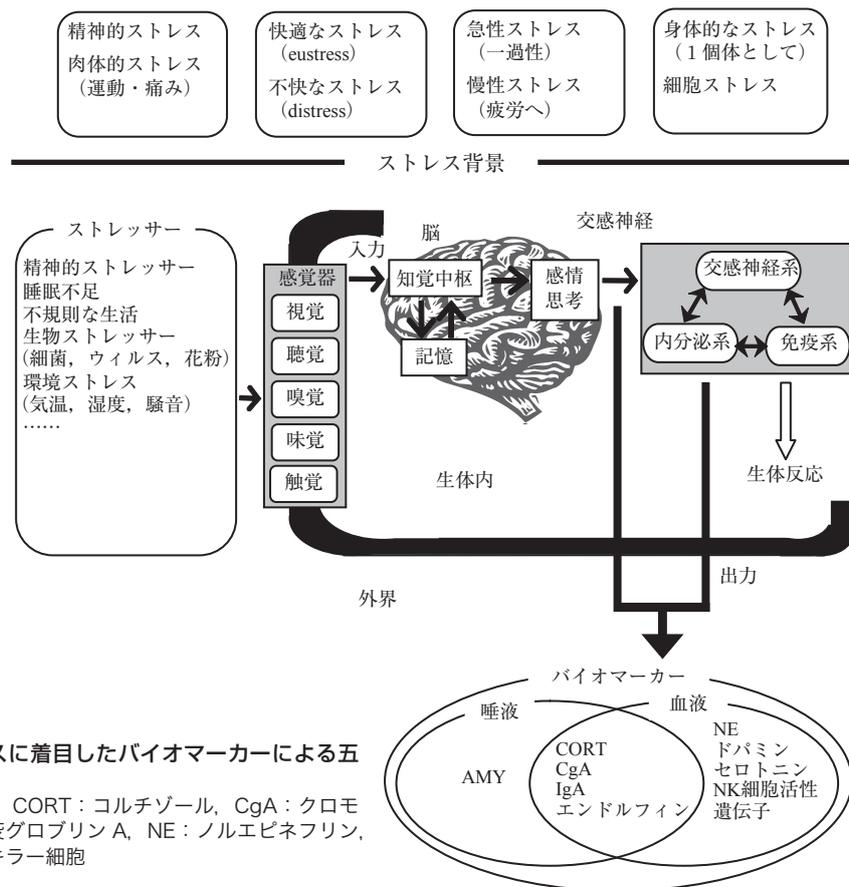


図4 精神的ストレスに着目したバイオマーカーによる五感センシング

AMY:  $\alpha$ -アミラーゼ, CORT: コルチゾール, CgA: クロモグラニン A, IgA: 免疫グロブリン A, NE: ノルエピネフリン, NK細胞: ナチュラルキラー細胞

カーを同時に分析することが、五感センシングを実現するキーテクノロジーの1つとなる可能性がある。

## 5. おわりに

ストレスマーカーは、疾患の診断や予防医療などの医学的利用のみでなく、視点を変えれば日常生活から産業製品まで、私達のQOLの向上に役立てることができる。唾液は血液由来なので、濃度差こそあるが血液とほとんど同じ化学成分が含まれており、新規のストレスマーカーの発見も期待されている。

謝辞: 本研究の一部は、(独)科学技術振興機構 (JST) の研究資金によって行われている。

## 著者プロフィール

### 山口 昌樹 (やまぐち まさき)

富山大学理工学研究部 生命・情報・システム学域, 助教授, 工学博士。

◇ 1987年信州大学大学院修士課程修了, 同年プラザー工業(株)入社。'94年信州大学大学院博士後期課程修了(博士)。'95年東京農工大学助手, '99年富山大学助教授, 現在に至る。'01年日経BP技術賞受賞, '04年(有)バイオ情報研究所を創業(兼業)。◇研究テーマ: 専門領域は生体医学で, 生命計測工学, 健康・福祉工学, ストレス研究に従事。◇趣味: スキー, 旅行。◇主な著書: 唾液は語る(工業調査会), 生命計測工学(コロナ社), 健康・福祉工学ガイドブック(工業調査会)。



## 文 献

- 1) Rokutan K, et al. Bio Industry. 2002;19:19-24.
- 2) マーチン・リンストローム. 五感刺激のブランド戦略. ダイアモンド社; 2005. p. 323.
- 3) Pedersen BK, et al. Physiol Rev. 2000;80:1055-1081.
- 4) 山口昌樹, 他. 生命計測工学. コロナ社; 2004. p. 137-155.
- 5) Vining RF, et al. Ann Clin Biochem. 1983;20:329-335.
- 6) Kirschbaum C, et al. Neuropsychobiology. 1989;22:150-169.
- 7) 田中喜秀. 産総研 TODAY. 2006;24-25.
- 8) Simon JP, et al. Proc Natl Acad Sci USA. 1988;85:1712-1716.
- 9) Nakane H, et al. Int J Psychophysiol. 2002;46:85-89.
- 10) McMillan SA, et al. J Clin Pathol. 1997;50:819-822.
- 11) Gleeson M. Pediatr Res. 1993;33:554-556.
- 12) Glaser R, et al. Psychiatry Res. 1985;16:233-239.
- 13) Groza P, et al. Rev Roum Physiol. 1971;8:307-312.
- 14) Speirs RL, et al. Arch Oral Biol. 1974;19:747-752.
- 15) 山口昌樹, 他. 医用電子と生体工学. 2001;39:234-239.
- 16) Takai N, et al. Arch Oral Biol. 2004;49:963-968.
- 17) Yamaguchi M, et al. Biosens Bioelectron. 2004;20:491-497.
- 18) Yamaguchi M, et al. Biosens Bioelectron. 2006;21:1007-1014.