

論 文

唾液アミラーゼを用いるメンタルストレスに及ぼす環境要因の分析

Analysis of Environmental Factors Influencing Mental Stress Using Salivary Amylase

蒲生 啓司 (高知大学教育学部)

大野 敬太 (高知大学教育学部)

GAMOH Keiji and OHNO Keita

Faculty of Education, Kochi University

ABSTRACT

It is known that stimulation due to exercise load or environmental changes have various effects as stress. It has been suggested that stress response substances in saliva (salivary amylase) due to the exercise load do not depend on the exercise intensity and it is influenced by the mental state before and after the exercise. In this study, salivary amylase was measured in the field of the exercise that caused changes in mental state, focusing on changes in individual mental state due to the exercise load. By tracking the changes, we analyzed the environmental factors of mental stress changes based on saliva amylase reflecting stress changes. The change of salivary amylase concentration was confirmed as being originated from mental stress. These results suggest that the monitoring of salivary amylase could be used as a noninvasive indicator of mental stress.

I. 研究の背景と目的

ストレスが原因と考えられる神経精神疾患や生活習慣病は、既に深刻な社会問題となっている。ストレスについては、その言葉の意味する範囲が広く、専門家によっても様々な捉え方がある。しかしながら、ストレスの持つ性質上、生活習慣に基づく疾患のような慢性ストレス、何らかの刺激によって五感が感じ取る急性ストレス、原因から考える肉体的ストレスと精神的ストレスに区別されている^{1, 2)}。人が日常の生活の中で感じているストレスの大きさを客観的に表す方法の開発も進んできた。そのねらいは、自らのストレス状態を知ることによって、慢性疲労症候群やうつ病等の発症を未然に防ぐことができるのではないかとこの予防医療の視点である。

ストレスによる α -アミラーゼ(唾液アミラーゼ)の分泌機序については、ストレスによって交感神経系が興奮し副腎髄質ノルエピネフリンが分泌され、それによって血中ノルエピネフリン濃度が上昇し、唾液腺での酵素が分泌され、その結果唾液アミラーゼが上昇する、と説明されている^{3, 4)}。また別ルートで、交感神経系の興奮が直接唾液腺での酵素分泌を促し唾液アミラーゼを上昇させることも知られている。いずれもストレスに敏感に反応し、交感神経系の亢進に伴って唾液アミラーゼの分泌量は増加するが、ストレス負荷中およびストレス直後にピークに達し、50~100%の分泌量の増加が観察されると言われている。

発達障害の早期診断の開発、障害特性の解明および適切かつ効果的な教育支援の在り方をめざす研究の立場から考えれば、発達障害者のおかれた環境が、どのように精神的なストレス(メンタルストレス)をもたらすのかを追究することは、発達障害者への適切な教育支援を考える上で極めて重要な意味を持つと考えられる。すなわち、発達障害者のおかれた日常の生活や運動などの環境が、どのようにメンタルストレスをもたらすのかについて、そのバイオマーカーとして知られる唾液アミラーゼに注目して測定し、その測定結果を考察することによって、教育支援の提案に繋げていくことができるのではないかと考えられる。発達障害者への教育支援は、発達段階と障害の特性に応じて個別に教育支援を行っていくことが基本である。そもそも精神的・肉体的ストレスを追跡(モニター)することが可能なのだろうか。例えば、日常的に取入れる立場であれスペシャリストの立場であれ、運動を考えた時に、その質と量の観点から、運動による肉体的ストレスと求められる運動の形態に応じた精神的ストレスの両面を持っている。運動も含めて、人は様々な環境におかれた時に、その人の感情変化によって変動し、急性もしくは慢性的に生体に表れるストレス反応であるメンタルストレスを、サンプリングの容易な唾液中のバイオマーカーで追究できるのではないかと考えている。

そこで本研究では、発達障害者への適用の前段として、健常者を被験者として、可能な限り環境要因としての1日の生活と運動刺激(練習や試合を含む)に密着して、ストレスバイオマーカーとして考えられている唾液アミラーゼの測定を行い、急性および精神的ストレス検査の可能性を追究することを目的とした。ここでは、著者の一人が自ら被験者となり、運動の種類(柔道、長距離走、水泳)や運動者の置かれた環境(柔道における練習、合同練習、試合)によるストレスの変化に着目し、分析試料として入手し易い唾液試料を用いて、唾液アミラーゼの濃度変化をもたらす環境要因とメンタルストレスの関係性を追究する

II. 研究の方法

唾液中の唾液アミラーゼの測定には、酵素分析装置唾液アミラーゼモニター(NIPRO)、唾液アミラーゼモニターチップ(NIPRO)を用いた。唾液アミラーゼとストレスの関係およびその計測方法については、山口らの報告^{5, 6)}が多数あり、2005年には、医療機器メーカーとの共同開発で唾液アミラーゼモニターを上市している。これは、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の、唾液アミラーゼ活性による携帯式の交感神経モニターを可能にした酵素分析装置である^{7, 8)}。測定は、初めに専用のドライチップを舌下部に入れて唾液を含浸させ、一定時間(約30秒)後チップを取出してモニター器に挿入する。1分後には唾液中のアミラーゼ活性がKIU/Lの単位で表示されて終了する。

唾液アミラーゼを指標とする交感神経モニターでは、基質としてのクロモゲン(Gal-G2-CNP)をドライ試験紙に含浸しており、これが唾液アミラーゼによって加水分解されることによって発色団がリリースされて黄色に発色するので、それを被色法で計測する原理である。他のストレスマーカーと比べて本キットを用いて唾液アミラーゼを計測する利点には、次のような観点がある:ドライ試験紙を用いる唾液採取は、非侵襲性でありサンプリングによる精神的・肉体的苦痛が少なく安全性が高い、測定結果を得るまでの操作が簡便で分析時間が短く、簡便性・迅速性に優れている。更に、本キットを携帯・移動することができるため、何時でも何処でも測定が可能である。このコンセプトが、本研究の目的の達成に大きく寄与している。

唾液採取に関しては、被験者の唾液中各成分の通常値は、血液などの通常値と違って、あくまで参考値と考えるべきであると言われているほど再現性に乏しいという指摘もある。よって、唾液中成分の通常値の差異をできるだけ少なくするために、食事や精神的ストレスの影響が少ないと考えられる朝食前と就寝前の唾液を朝食前に42回、就寝前に21回ほど唾液を採取し、その分析データを被験者の通常値とした。精神的ストレスと唾液アミラーゼの変化に

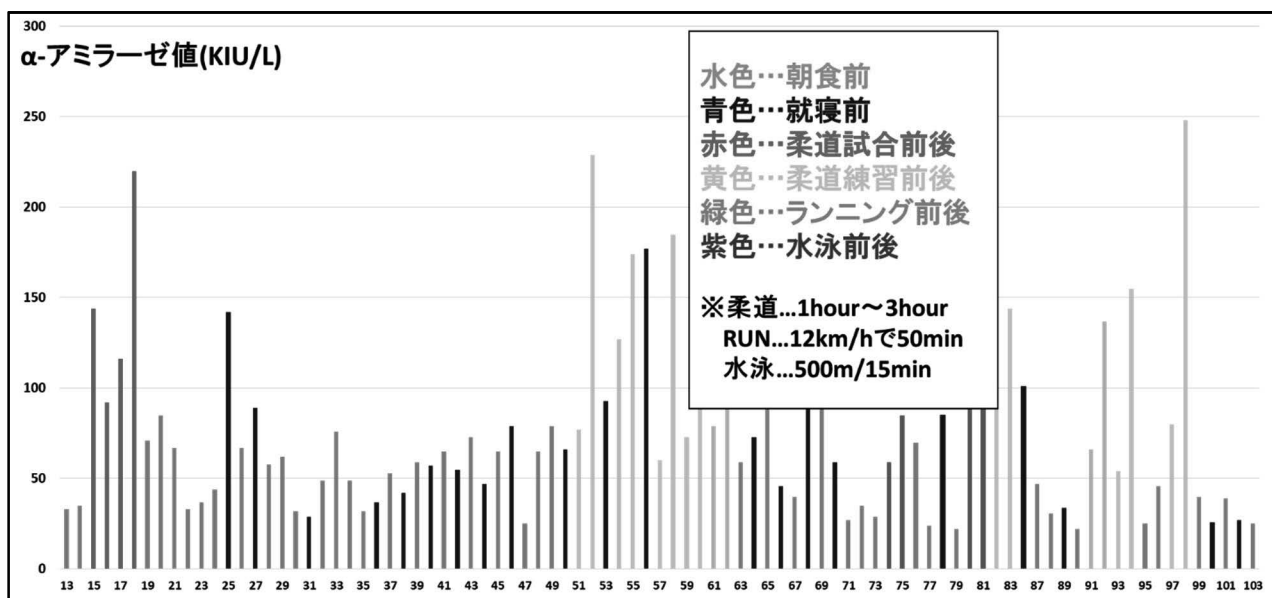


図 1. 本研究で測定した全唾液アミラーゼ濃度

表 1. 本研究で実施した唾液アミラーゼの測定条件

項目	α-アミラーゼ測定条件
分析機器	酵素分析装置 唾液アミラーゼモニター(NIPRO)
使用チップ	(乾式臨床化学分析用)唾液アミラーゼモニターチップ(NIPRO)
採取時間 (検体数・運動回数)	平常時 朝食前(42), 就寝前(21)
	環境別 柔道: 試合(1回), 合同練習(4回), 通常練習(3回)
	運動種別 柔道(7回), ランニング(2回), 水泳(2回)

ついて、環境別で測定するために、柔道競技において、試合、合同練習および通常練習のそれぞれ前後の唾液を分析し、通常値と比較した。運動種別によるストレス変化について測定するために、柔道を7回、長距離走を4回、水泳を2回のそれぞれ前後の唾液を分析して比較した。上記のことを表1. にまとめた。

Ⅲ. 結果および考察

本研究で測定した全唾液アミラーゼ濃度の結果を図1.

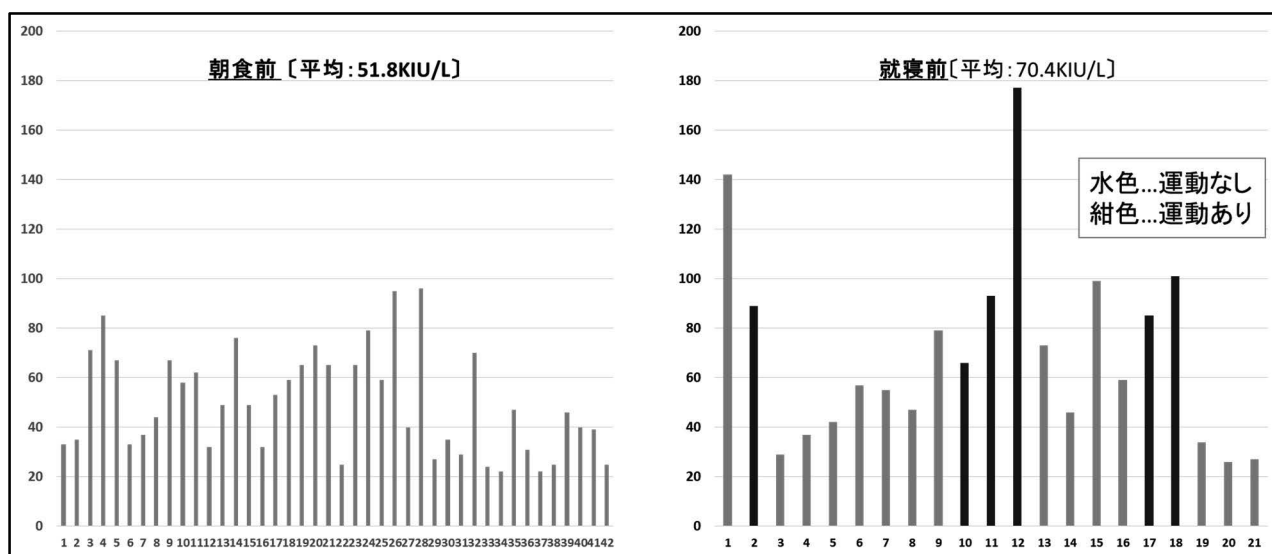


図 2. 朝食前・就寝前における唾液アミラーゼ濃度

に示した。以下、その詳細を述べる。

3-1. 朝食前・就寝前における唾液アミラーゼ濃度の結果

図2. に示した通り、唾液アミラーゼ濃度の基準値を調べるため、朝食前に42回、就寝前に21回唾液を採取した。朝食前の平均値は49.7 KIU/L、17時以降に運動なしの場合の就寝前の平均値は50.7 KIU/L、17時以降に運動した場合の就寝前の平均値は101.8 KIU/Lであった。唾液アミラーゼの日内変動および日差については、明らかな傾向は無いものの、昼間高く夜間と早朝には低い傾向がみられるという報告がある⁹⁾が、早朝と就寝前の値が相対的に低く一定している点で一致している。むしろここでの結果は、就寝前の運動の有無の比較で、運動が唾液アミラーゼ濃度を上昇させることが観察された。日常生活の中での比較であるので、この唾液アミラーゼの上昇は、肉体的ストレスによる上昇と考えられる。運動をしない場合の就寝前の唾液アミラーゼ濃度の値は、朝食前の値とほぼ同じ値であった。よって、被検者の平均値は、約50 KIU/Lであると推察できた。

試合当日の朝食前の唾液アミラーゼ濃度の値が144 KIU/Lと非常に高い値を示したことから、試合を迎える早朝の精神状態がストレスに大きく影響することが示唆された。また、運動をした時の就寝前の平均値が101.8 KIU/Lであったことから、運動により上がった唾液アミラーゼの値が平均値に落ち着くまでにはある程度の時間が必要であること、すなわち一旦刺激として受けた運動のストレスが、肉体的ストレスとして内在することが示唆された。また、夕方以降に運動することで、食事の時間が遅くなることから、食事の影響もあると考えられた。

3-2. 睡眠時間と朝食前全唾液アミラーゼ濃度の結果

図3. に示した通り、睡眠時間と唾液アミラーゼ濃度の値を比較した。睡眠時間が極端に短かったり、長かったりした場合はストレスがかかり、唾液アミラーゼ濃度が上昇

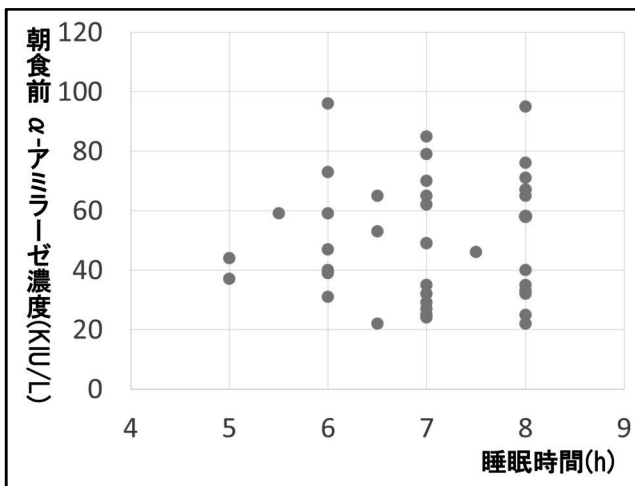
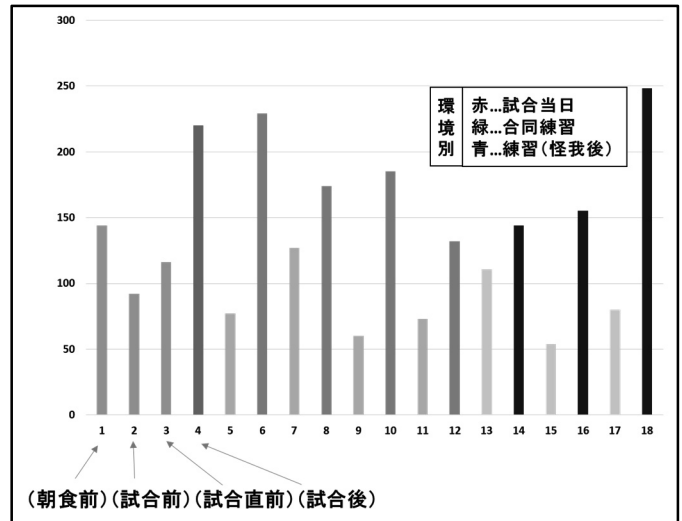


図 3. 睡眠時間と朝食前の唾液アミラーゼ濃度



	試合当日	合同練習	練習
前	92	84.3	81.7
後	220	180	182.3

図 4. 柔道前後の環境別唾液アミラーゼ濃度[平均値 KIU/L]

すると予想した。しかし、睡眠時間と唾液アミラーゼ濃度には関係性がみられなかった。ただ、次の日にイベントがある場合や暑くて寝苦しかった場合において、朝食前の唾液アミラーゼの値が上がったということが観察された。よって、睡眠時間というよりは、睡眠の質や精神状態(次の日にイベントごとがあるなど)に影響するのではないかと推察した。

3-3. 柔道競技前後における環境別全唾液アミラーゼ濃度の結果

図4. に示した通り、試合という状況(環境)の違いによって唾液アミラーゼ濃度の上昇が顕著にみられた。やはり、緊張やプレッシャーからストレスが上昇したと考えられる。また、試合にあたって、(前日ではあるが)県をまたぐなどの長距離の移動が体に負担がかかり、ストレスと感じなかった可能性が考えられる。通常練習で唾液を採取した時は、被験者の怪我後であったことが影響し、ストレスの値が上昇した可能性があると考えられた。また、試合後の唾液アミラーゼの濃度は、試合時間は5分間と短いにも関わらず、数時間の練習後よりも唾液アミラーゼ濃度が高いことは、試合という強度の緊張感を保つ精神状態と共に、急激に体へ負荷がかかる運動の質的要素がストレスを増大させる可能性が高いことを示唆している。このことは、次に述べる運動別の水泳前後の結果からも推察された。別

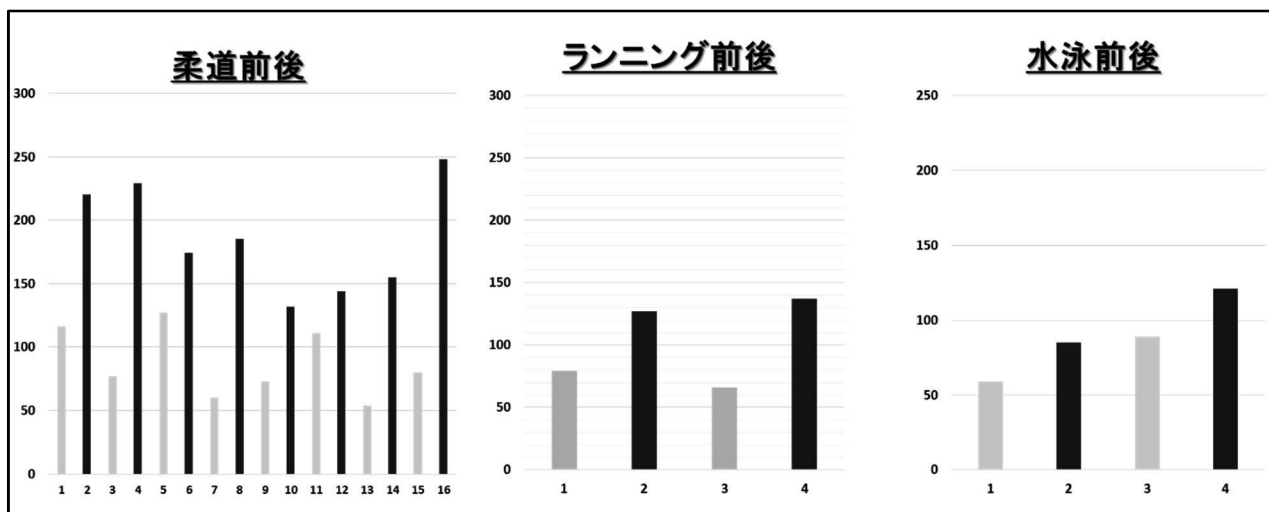


図 5. 運動種類別 唾液アミラーゼ濃度

の事例で、学生を対象に、定期試験がどのようなストレスを与えるのかについて調べた結果からは、試験一週間前、試験前日および試験終了直後の唾液アミラーゼの値は、やや上昇している蛍光にあることが報告されている⁹⁾。これも、精神的なストレスを受けてからアミラーゼの分泌までの時間が短いこと、即ち唾液アミラーゼが交感神経系からの直接制御による分泌であることを裏付けている。

3-4. 運動種別の全唾液アミラーゼ濃度の結果

図5. に示した通り、運動種の違いから対人競技である柔道競技が前後共に一番唾液アミラーゼ濃度が高いことから、怪我等の可能性が高いことから感じる恐怖感がストレスとして現れているのだと考えられる。また、相手の力が加わるため、想定外の動きや体への負荷により、ストレスがかかっていると考えられる。競技時間を60minに換算すると、水泳が一番高い値を示した。これは、他の競技に比較すると、15分間に急激に体に負荷がかかったことから、ストレスが大きくかかったのではないかと考えられる。これは、柔道の環境別のデータからも唾液アミラーゼ考察された。急激な運動は体にかかるストレスが大きなものになることが示唆される。また、水泳は慣れていないことから、精神的なストレスがかかっていると考えられる。

なお、表2. に示したように、筋肉トレーニング後に水泳をした際には、筋肉トレーニング後の唾液アミラーゼ濃度に比べて水泳後の値は下がっているといった結果を得ることができた。水泳にはリラックス効果があると言われていたが、被験者自身がそれを感じている訳ではないので、運動種の違いによるものと考えられた。また、60minに換算すると水泳とランニングは比較しやすいが、競技時間が決まっていない柔道は比べに難しいことがわかった。更に、

表 2. 運動種別・運動時間の唾液アミラーゼ比較

	柔道	ランニング	水泳
前	83.1	51.5	74
後	181.0	112.8	103
増加幅	97.9	61.3	29
60min換算	63.8	73.6	116

[平均値 KIU/L]

※柔道…練習時間に合わせて調整
 RUN…50min→60min
 水泳…20min

図4. および図5. の結果より、長時間にわたって徐々に負荷をかけるよりも、短時間に急に負荷をかける方が唾液アミラーゼの値が高いことがわかった。身体的、精神的にも急な負荷は大きなストレスになることが推察された。

IV. 今後の課題

以上の結果および考察から、本研究によって得られた成果と今後の課題について述べる。ここでは、いわゆるストレスを評価する手法として、簡便かつ迅速に交感神経の興奮と沈静を検査できる唾液アミラーゼモニタを用いた。既に、唾液アミラーゼが精神的ストレスのストレスマーカーとして有用か否かについて、急性または慢性ストレスに分けて検討している報告がある¹⁰⁾。また、唾液アミラーゼ活性の変化量を算出し、ストレスの種類で比較した結果、唾液アミラーゼによる快・不快の判別が可能になることが示され、特に急性のストレス評価に有効であることが報告

されている¹¹⁾。運動をストレスの環境要因と捉えると、運動前後の精神的変化と唾液アミラーゼなどのストレス応答物質の関連から、運動負荷によるその濃度変化は、運動強度に依存するのではなく、運動前後の精神状態にも影響されることが示唆されている¹²⁾。また、大学生を対象としたストレス研究において、ストレス負荷の前後で遂行機能、主観的ストレス受容度および唾液アミラーゼを評価することで、運動習慣の有無が一過性のストレスに対する遂行機能の応答とストレス受容度に及ぼす影響を明らかにする研究が行われているが¹³⁾、厚生労働省の定義に基づく運動習慣の有無で、はたして比較できるのかという疑問がある。ストレス負荷の与え方にもよるが、その前後で唾液アミラーゼ活性度の変化と主観的なストレス反応は必ずしも一致しないことが示されており、遂行機能とストレス受容の関係は、主観的および生理的ストレス受容で異なる可能性が報告されている¹⁴⁾。

本研究での唾液アミラーゼ濃度測定結果について、ストレスの環境要因という視点で比較してみると、朝食前の平均値は49.7 KIU/L、就寝前の平均値は69.7 KIU/Lであった。朝食前に比べて就寝前の方が約20 KIU/L高い値であったことがわかる。これは夕食と夕方以降の運動の影響であると考えられた。この結果から、食事や運動によって上昇した唾液アミラーゼ値が平均値に落ち着くためには、ある程度の時間が必要であることが示唆された。睡眠時間と唾液アミラーゼ濃度には関係性がみられなかった。睡眠時間というよりは、睡眠の質や精神状態（次の日にイベントがあるなど）に影響するのではないかと推察した。柔道競技の練習と試合では、唾液アミラーゼ濃度に違いがあった。試合時に唾液アミラーゼ濃度の上昇が顕著にみられたことから、緊張やプレッシャーによるメンタルストレスが上昇したと考えられる。このことから、環境要因の違いは、明らかに被検者にストレス負荷の変化を与えていると考えられる。しかしながら、試合前後の唾液を一度しか採取していないため、再現性が得られず正確さに欠けると言わざるを得ない。今後、採取回数を増やして検討することが必要である。

運動の種類、運動競技という環境要因から考えると、ランニングや水泳前後に比べて、対人競技である柔道競技が一番唾液アミラーゼ濃度の高い結果が得られた。対人競技は、怪我等の可能性が高いことからメンタルストレスがわかり、唾液アミラーゼの濃度にも影響したと考えられる。また、相手の力が加わるため、想定外の動きや体への負荷により、ストレスがかかっていると考えられる。唾液アミラーゼの全実験の結果から見ると、長時間にわたって徐々に負荷をかけるよりも、短時間に急に負荷をかける方が唾液アミラーゼの値が上昇することがわかった。身体的にも精神的にも、急な負荷は大きなストレスになることが推察

された。

先にも述べたように、本研究は、発達障害者への適用を考え、適切な教育支援を得るための事前研究として提供されたものであるが、個人のレベルで特徴的な唾液アミラーゼ濃度の変動を、メンタルストレスの個別の変動と捉えることができる。発達障害者が受けるストレス、すなわち日常での精神的急性ストレスを知ることは、適切な教育支援を行うためにも必要である。発達障害者に対する実験方法の困難さ、即ちサンプリング＝口腔内へのドライチップの導入＝の問題がある。短期間での計測ではあるが、個人の運動量や運動種別の負荷による個別ストレスの変化を読み取ることができたことは、大きな成果であった。したがって、様々な日常の活動や集団行動などにおける唾液アミラーゼの測定が可能になれば、発達障害者にとってメンタルストレス負荷の度合いを把握することができ、その結果、確かな教育支援の方法が生み出されるだろうと期待される。唾液アミラーゼ濃度の計測によるメンタルストレス増減のデータが、個別指導のレベルで蓄積され、その有用性や必要性が高まるのではないかと考えられる。

謝辞

本研究の一部は、JSPS 科研費(課題番号 17K186500A)の助成を受けたものである。ここに謝意を表する。

付記

本研究は、高知大学教育学部に受理された卒業論文(大野敬太著)の一部を再解析・再校正し、加筆・修正したものである。

引用文献

- 1) B.K. Pedersen, L. Hoffman-Goetz: Exercise and the Immune System: Regulation, Integration, and Adaptation, *Physiol Rev.*, **80** (3), 1055-1081 (2000).
- 2) 山口昌樹: 唾液マーカーでストレスを測る, *日薬理誌 (Folia Pharmacol. Jpn.)*, **129**, 80-84 (2007).
- 3) P. Groza, V.Zamfir, D.Lungu: Postoperative salivary amylase changes in children, *Rev. Roum. Physiol.*, **8**, 307-312 (1971).
- 4) R.L. Speirs, J. Herring, W.D. Cooper, C.C. Hardy, C.R.K. Hind: The influence of sympathetic activity and isoprenaline on the secretion of amylase from human parotid gland, *Arch. Oral Biol.*, **19**, 747-752 (1974).
- 5) 山口昌樹, 金森貴裕, 金丸正史, 水野康文, 吉田 博: 唾液アミラーゼ活性はストレス推定の指標になり得るか, *医用電子と生体工学*, **39** (3), 234-239 (2001).
- 6) N. Takai, M. Yamaguchi, T. Aragaki, K. Eto, K. Uchihashi, Y. Nishikawa: Effect of psychological stress

- on the salivary cortisol and amylase levels in healthy young adults, *Arch. Oral Biol.*, **49**, 963-968 (2004).
- 7) M. Yamaguchi, T. Kanemori, M. Kanemaru, N. Takai, Y. Mizuno, H. Yoshida: Performance evaluation of salivary amylase activity monitor: *Biosens. Bioelectron.*, **20**, 491-497 (2004).
- 8) M. Yamaguchi, M. Deguchi, J. Wakasugi, S. Ono, N. Takai, T. Higashi, Y. Mizuno: Hand-held monitor of sympathetic nervous system using salivary amylase activity and its validation by driver fatigue assessment, *Biosens. Bioelectron.*, **21**, 1007-1014 (2006).
- 9) 下村弘治, 金森きよ子, 西牧淳一, 芝紀代子: 教育現場でのストレスマーカーとしての唾液アミラーゼと唾液コルチゾール測定の有用性について, *生物試料分析*, **33(3)**, 247-254 (2010).
- 10) 浅海靖恵, 石部久美子, 桑野智未, 古多部佑, 内匠ひかる, 永田小百合, 三嶋佳奈, 三角侑希: 唾液アミラーゼによる精神的ストレスの評価 急性・慢性ストレスについて検討, *理学療法学*, Supplement 2012(0), 48101347-48101347 (2013).
- 11) 中野敦行, 山口昌樹: 唾液アミラーゼによるストレスの評価, *バイオフィードバック研究*, **38(1)**, 3-9 (2011).
- 12) 川島聡子, 萩原久美子, 下永田修二, 野村 純, 野崎とも子: 運動前後の精神的変化とストレス応答物質の関連, *千葉大学教育学部研究紀要*, **54**, 263-270 (2006).
- 13) 石原 暢, 富田有紀子, 小笠原都貴子, 竹花 滯, 水野眞佐夫: 運動習慣が急性ストレスに対する遂行機能および主観的・生理的ストレス受容度に及ぼす影響, *日本生理人類学会誌*, **21(1)**, 3-9 (2016).
- 14) 辻 弘美, 川上正治: アミラーゼ活性に基づく簡易ストレス測定器を用いたストレス測定と主観的ストレス反応測定との関連性の検討, *大阪樟蔭女子大学人間科学研究紀要*, **6**, 63-73 (2007).

