

学位論文題名

唾液中ストレスマーカの動態分析

学位論文内容の要旨

【目的】

生体にストレスが加わったときに放出される生化学物質は血圧や心拍数、血糖値を上昇させる等、生体がストレスに対処で出来るよう作用する。これらの生化学物質はストレスマーカーとも呼ばれており、近年、唾液中のアミラーゼ、コルチゾール、クロモグラニン A をストレスマーカーとして用いることが注目されている。

ストレスの研究分野では検査試料として血液を用いてカテコールアミンやコルチゾールを定量したストレス評価も行われているが、採血にともなう疼痛がストレスマーカーに影響を与える可能性がある。また唾液中ストレスマーカーについて、ストレスに対する個人ごとの感受性や反応速度の違いがあり、その変動の詳細は不明な点が多い。したがって、ストレスマーカーを用いたストレス評価は臨床的に確立されたものではなく、まだ研究途上の段階にあると著者らは考えている。

本研究では、採血時の唾液中アミラーゼ、コルチゾール、クロモグラニン A の動態を明らかにするとともに、歯科治療時のこれらのストレスマーカーの変動を治療内容や受診回数といった条件で比較分析し、歯科治療の術中や予後の評価法として用いることが出来るかどうかについて検討することを目的とした。

【方法】

1) 採血をストレスサーとする実験

被験者は外科的、内科的疾患を有しない健康な成人男性で、定期健康診断時に採血を予定する者(30名、年齢は24歳から43歳、平均年齢34.2歳)とした。採血は座位にて肘正中静脈あるいは橈側静脈から行われた。採血日以前の唾液として健康診断の1-3日前に採取し、以後、採血直前、採血5分後、10分後、15分後に連続的に全唾液を採取した。

2) 歯科診療をストレスサーとする実験

被験者は歯科受診希望者で外科的、内科的疾患を有しない健康な成人男性(31名、年齢は20歳から48歳、平均年齢36.8歳)とした。治療内容は抜歯5名、抜

歯を伴わない一般的な歯科治療 26 名であった。初診日、再診 1 日目、再診 2 日目において、診療の直前および直後に分泌された全唾液を採取した。

データ解析

唾液中のアミラーゼ、コルチゾール、クロモグラニン A 濃度には個人差があるため、採血日以前に採取した唾液中の各ストレスマーカー濃度ならびに歯科初診日診療前の各ストレスマーカー濃度を 1 として正規化し、変動比を算出した。

得られたデータは統計解析ソフト SPSS for WINDOWS を用いて paired t-test をおこない、有意水準 5%未満を統計学的有意差があると判定とした。

【結果】

1) 採血前後の唾液中アミラーゼ、コルチゾール、クロモグラニン A 濃度の変化
アミラーゼ濃度の変動比は採血直前、採血 5、10、15 分後において非採血日と比較して有意な上昇を示した。コルチゾール濃度の変動比は採血 10、15 分後において非採血日と比較して有意な上昇を示した。クロモグラニン A 濃度の変動比は採血直前、採血 5、10、15 分後において非採血日と比較して有意な上昇を示した。

非採血日の時点でのアミラーゼ、コルチゾール、クロモグラニン A 濃度が測定平均値より高い被験者を高濃度群、低い被験者を低濃度群と分類した。低濃度群では各ストレスマーカー濃度の変動比は採血直前から採血 15 分後にかけて非採血日と比較して有意な上昇を示したが、高濃度群では有意な上昇を示さなかった。

2) 歯科診療初診日から再診 2 日目までの唾液中アミラーゼ、コルチゾール、クロモグラニン A 濃度の変化

歯科治療を受けたすべての被験者 (31 名) における唾液中アミラーゼ、コルチゾール、クロモグラニン A 濃度を診療日ごとに比較したところ、再診 2 日目の診療前後にアミラーゼおよびコルチゾール濃度の変動比が初診日診療前と比較して有意な低下を示した。

抜歯を受けた被験者 (5 名) において、抜歯直前にはコルチゾール濃度が、抜歯直後にはアミラーゼおよびコルチゾール濃度が初診日診療前と比較して変動比の有意な上昇を示した。一方、抜歯翌日にはコルチゾールおよびクロモグラニン A 濃度が初診日診療前と比較して変動比の有意な低下を示した。

TBI, PMTC を初診日から 3 回にわたり受けた被験者 (7 名) において、1 回目治療前 (初診日診療前) と比較して、1 回目治療後から 3 回目治療後にかけて各マーカー濃度の変動比の有意な低下が散見された。

【考察】

ストレス過多が生体へ及ぼす悪影響を回避するためには、正確なストレス評価を行うことが必要であると考えられるが、これまで多く用いられてきた質問表によるストレス評価は主観的要素の影響を受けやすく、より客観的な評価を行うことが望まれる。生体の内因性物質をストレスマーカーとして測定することは客観

的なストレス評価方法として期待されるところである。採血のように疼痛や恐怖を伴う採取方法を用いるとストレスを過大に評価してしまう危険性があることが示唆され、採取時にストレスを与えにくい唾液を用いることによって正確なストレス評価法が確立出来ると考えられる。

唾液中アミラーゼ、コルチゾール、クロモグラニン A には採血によるストレスに対して固有の反応速度があることが明らかとなったことから、より正確なストレス評価を実現するためには、断面的ではなく連続的な採取を行うことが望ましいと考えられる。

唾液中ストレスマーカー基準値が高値である被験者はストレスマーカー濃度の変動が少ないことが示され、少なくとも慢性ストレスあるいは恒常的なストレスマーカー濃度の違いそのものが生体の急性ストレスに対するアミラーゼ、コルチゾール、クロモグラニン A 濃度の変動に、個人差を生じる要因の 1 つであると考えられる。

歯科治療においては、患者に対し快適さを与える口腔清掃等の処置は、それ自体にストレス軽減効果があると考えられる。唾液中ストレスマーカー濃度測定によりストレス軽減効果を数値化することが可能であると考えられ、近年重要視されつつあるメンタルヘルスの観点からも歯科医療の新しい役割が生まれる可能性がある。

初診時の不安や恐怖が再診時には緩和されると考えられる。また、抜歯は強いストレスとして作用していることが示唆されたことから、唾液中ストレスマーカー濃度測定により、抜歯など侵襲が高い治療においてどの程度のストレスを患者に与えたかを評価可能であると考えられ、インフォームド・コンセントの質やストレスを与えにくい治療環境の追求が可能になると考えられる。

今後、慢性ストレスによる唾液中ストレスマーカー濃度の特性を明らかにすることで、ストレス関連疾患の診断や予後の評価にも応用可能であると思われ、唾液中ストレスマーカー濃度測定の臨床的意義は大きいものと考えられる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 船 橋 誠
副 査 教 授 田 村 正 人
副 査 講 師 兼 平 孝

学 位 論 文 題 名

唾液中ストレスマーカーの動態分析

審査は、主査、副査全員の出席の下に、先ず申請者が提出論文の概要の説明を行った後に、その内容および関連した学科目について口頭試問により行われた。審査論文の概要は以下のとおりである。

近年、人間のストレスを客観的に評価するためのストレスマーカーとして、唾液中のアミラーゼ、コルチゾール、クロモグラニン A を用いることの有効性がいくつもの研究成果として報告され、血液中のストレスマーカーの定量と比較して検体採取が簡便であることも相まってその有用性が注目されている。しかし、様々なストレスに対するこれら唾液中微量成分の変動については不明な点が多くある。そこで本研究では、1) 通常の注射針を用いた採血はそれ自体ストレスになる可能性があるが、実際に唾液中のアミラーゼ、コルチゾール、クロモグラニン A の動態はどのように変化するのか、2) 歯科治療の内容および受診回数によってストレスマーカーはどのように変動するのか、について明らかにするために実験を行った。また、唾液中ストレスマーカーの動態を解析し、歯科治療中の患者の状態や予後の評価法としてこれらのストレスマーカーを用いることができるかどうかについて考察した。

まず、定期健康診断時に採血する予定の健康な成人男性 30 名について、採血日の 1-3 日前、採血直前、採血 5、10、15 分後に全唾液を採取し分析した。アミラーゼ濃度は採血直前、採血 5、10、15 分後において、コルチゾール濃度は採血 10、15 分後において、クロモグラニン A 濃度は採血直前、採血 5、10、15 分後において非採血日と比較して有意な上昇を示した。また、被験者の中に各ストレスマーカー濃度が、採血日の 1-3 日前において既に高値を示す例があり、これらを高濃度群とし、その他を低濃度群と分類して、各ストレスマーカー濃度を比較したところ、低濃度群においては採血直前から採血 15 分後にかけての全てのストレスマーカー濃度が採血日の 1-3 日前と比較して有意な上昇を示したが、高濃度群では有意な変化を認めなかった。

次に、歯科治療をストレスサーとする実験を行った。被験者は歯科受診希望者で外科的、内科的疾患を有しない成人男性 31 名とした。初診日、再診 1 日目、再診 2 日目にお

いて、診療の前後に全唾液を採取して分析した。再診2日目の診療前後にアミラーゼおよびコルチゾール濃度が初診日診療前と比較して有意な低下を示した。抜歯を受けた被験者（5名）において、抜歯直前にはコルチゾール濃度が、抜歯直後にはアミラーゼおよびコルチゾール濃度が初診日診療前と比較して有意な上昇を示した。

これらの結果から、採血はそれ自体が刺激となりストレスマーカー濃度を変化させる原因となることが明らかとなり、血液中のストレスマーカーを測定するよりも、非侵襲的に採取できる唾液に含まれる物質をストレスマーカーとして用いることの有用性が示された。また、慢性ストレスあるいは恒常的なストレスマーカー濃度の違いそのものが生体の急性ストレスに対するストレスマーカー濃度の変動に個人差を生じる要因の1つであると考えられた。唾液中ストレスマーカー濃度測定により、歯科治療によるストレスを評価できると考えられ、今後、慢性ストレスによる唾液中ストレスマーカー濃度の特性を明らかにすることで、ストレス関連疾患の診断や予後の評価にも応用可能であると考えられた。

口頭試問の概要は以下のとおりである。

1. 採血を用いた理由。
2. 男性のみを被験者に用いているが理由はあるのか。
3. 唾液採取に2種類のを使い分けているのはなぜか。
4. 高濃度群と低濃度群の2群に分けているがその理由はなにか、また3群にはならないのか。
5. 各ストレスマーカー測定値の個人差についてはどうか。
6. アミラーゼ濃度がストレス以外で上昇することはあるのか、それはどのような場合なのか。
7. 採血1時間後ではストレスマーカー濃度はどうなるのか。
8. ストレスマーカー測定は臨床的に意義があるのか。

いずれの質問についても、申請者から得られた回答や説明は、専門的知識に基づいた的確なものであった。本研究は血液に由来する唾液コルチゾールおよび唾液腺で固有に分泌されるアミラーゼとクロモグラニンAを直接定量し、注射による採血自体がストレスとなり、これら唾液中ストレスマーカーの濃度に変化が生じることを明らかにしたもので、非侵襲的に採取できる唾液を用いたストレス評価法の優位性に科学的根拠を示したことが高く評価された。また、簡便に採取できる唾液を用いて、歯科治療の過程における患者のQOLを客観的に評価できる可能性を示した点についても高い評価を得た。本研究の内容は歯科医学の関連領域の発展に大きく貢献するものであり、申請者が博士(歯学)の学位を授与されるにふさわしいものと認められた。