

2013 年度博士論文

高齢者の唾液コルチゾールの
日内変動と季節変動を考慮したストレス評価に関する研究

桜美林大学大学院 老年学研究科 老年学専攻

兔澤 恵子

【目次】

I. 緒言	1
II. 研究の背景	3
1. 高齢社会の現状と高齢者の健康づくり	
2. ストレスの定義と概念の変遷	
3. ストレス研究モデルと研究の多様化	
4. コルチゾールのストレス応答	
5. 唾液コルチゾール研究の推移	
6. 唾液コルチゾールの日内変動と季節変動に関する先行研究	
III. 研究の意義	21
IV. 研究の目的	21
V. 研究Ⅰ：老人ホーム入居高齢者の唾液コルチゾールの日内変動および季節変動	23
1. 目的	
2. 対象および方法	
3. 結果	
4. 考察	
VI. 研究Ⅱ：高齢者の唾液コルチゾールのストレス評価指標としての有用性の検討	34
研究Ⅱ-1：森林浴が唾液コルチゾールに及ぼす影響	34
1. 目的	
2. 対象および方法	
3. 結果	
4. 考察	
研究Ⅱ-2：運動の継続が運動負荷時の唾液コルチゾールの変化に及ぼす影響	41
1. 目的	
2. 対象および方法	
3. 結果	
4. 考察	
VII. 総合考察	47
1. 高齢者の唾液コルチゾールの変動要因	
2. 唾液コルチゾールの変動要因を考慮したストレス反応の評価	
3. 唾液コルチゾールをストレス評価指標とすることの意義	
4. 本研究の限界と課題および展望	
VIII. 終わりに	53
謝辞	54
図, 表	55
文献	65

I. 緒言

健康長寿への願いは、古代より人々の願望であり、かなりの長寿を達成した今日の我々もまた、更なる健康長寿を求めている¹⁾。人々が願う長寿とは、単に寿命が長いというだけではなく、疾病を予防し、障害をもって過ごす期間を短縮し、その人にとっての活動的な時期を最大限に伸ばさせることである。そして、日常生活において喜びを見いだすことができる状態で生き抜くことを目指していると考えられる。

しかし、現代はストレスの時代と言われ、環境や人的・物的状況が断続的あるいは持続的なストレス状態をもたらしている。近年は、ストレスに関する様々な要因が健康を阻害することについて多くの報告がなされており、神経精神疾患や循環器系疾患、感染症、生活習慣病などの疾病の引き金になると考えられている²⁻¹¹⁾。「国民健康・栄養調査」(平成 20 年)による結果では、ストレスを感じている人の割合は61%である。「健康日本21」最終評価(平成 23 年公表)結果においてもストレスを感じている人の割合はベースライン時の 54.6%より増加を示し、就労世代でストレスを感じている人が多い。高齢者では 70 歳以上の男性にストレスを感じる者が増加していることが示されている。また、共生社会政策統括官の高齢社会対策による「団塊の世代の意識に関する調査結果」(平成 24 年度)においては、日常生活での悩みやストレスの有無について、37.6%が「感じている」と回答している。将来の介護については 75 歳以上で約5割の人が不安になることがあるという結果を示しており、老化やライフイベントに伴う心身および社会的体験によるストレスが高いことが推察されている。

このような背景のなかで、健康維持に役立てるためにストレスの存在を客観的かつ簡便に測定する方法が求められている。現在よく用いられている質問紙法による回答方法は、主観的な症状を重視するものであり、認知機能の低下などが伴えば回答することが困難な場合も多い。そこで、日常生活において生じるストレス反応を定量的に測定する方法として唾液コルチゾールが多く用いられている。コルチゾールの検査は、1971 年に Engvall と Perlman によって酵素標識検出方法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA; EIA)が開発され、コルチゾール濃度の精度の高い測定が可能となり、血清と唾液コルチゾール濃度の相関係数が $r=0.90\sim 0.97$ と確認されて以降、唾液コルチゾールは最も非侵襲的かつ簡便な生物学的マーカーとして用いられている¹²⁻¹⁷⁾。

コルチゾールは、副腎皮質の束上層より分泌されるグルココルチコイドであり、分泌の特性には、内因性の約 24 時間周期の概日リズム(circadian rhythm)がみられる。これは、中枢時計の視床下部視交叉上核(suprachiasmatic nucleus: SCN)からの視床下部を含む他の神経内分泌細胞への神経出力によるものと考えられている¹⁸⁻¹⁹⁾。また、概日リズムの生理的意義は、生体機能に時間的秩序をつくりだし、昼夜変化に合わせた活動と休息の諸機能を最適化することから、約 24 時間の分泌リズムを測定し、分析することで健康管理に役立つと考えられている²⁰⁾。従って、唾液コルチゾールをストレス指標として用いるためには、まず通常の日内変動および季節変動を明らかにし、その濃度が示す意味を吟味する必要がある。しかし、これまでの研究では、ストレス評価の際に日内変動や季節変動の影響を考慮されていないものがほとんどである。

本研究は、唾液コルチゾールを高齢者のストレス指標として用いるための基礎資料として、高齢者の唾液コルチゾールが日常生活においてどのような日内変動および季節変動を示すかについて明らかにすることにより、日内変動および季節変動などの基礎的変動要因に基づくストレス評価指標としての有用性を確立することを目的に実施した。

II. 研究の背景

超高齢社会のただ中にある今日、高齢者を取り巻く社会的背景はどのように示されているか、ストレスに関連する事柄はどのように受け止められているか、また、ストレスの定義や概念については何時から、誰によってどのように始まり、どのように発展してきたか、これらの変遷について、生理学、心身医学、心理学、社会科学、内分泌学や精神神経免疫学、そして時間生物学などの学問的背景による関連性を概観することを通して、今日の唾液コルチゾールを用いた研究に至る背景について明らかにする。さらに、唾液コルチゾールに関する先行研究により、今後の唾液コルチゾール研究の有用性と可能性について概観する。上記のことから、本研究の研究意義を確認し、研究目的を明らかにすると共に、研究の構成と方向性を示す。

1. 高齢社会の現状と高齢者の健康づくり

わが国の高齢化率は上昇を続け、平成24(2012)年1月に国立社会保障・人口問題研究所が公表した「日本の将来推計人口」における出生中位・死亡中位推計結果によると、2013年には25.1%となり、2035年には33.4%となる。また、65歳以上の高齢者人口は、平成24(2012)年10月1日現在、男性1,318万人、女性1,762万人で、男性対女性の比率は3対4であり、女性が多い。平均寿命は、2011(平成23)年に男性が79.4歳、女性が85.9歳であったが、2060(平成72)年には男性が84.2歳に、女性が90.9歳に上昇して推移すると考えられている。そして、厚生労働省の調査結果(2012年9月)では百寿者が5万人を超え、2050年には68万人を超えると推測されている。さらに、1950(昭和25)年には1人の高齢人口に対して12.1人の現役世代の人口であったのに対し、2012(平成24)年には高齢者1人に対して現役世代が2.6人になっている。今後、高齢化率は上昇を続け、現役世代の割合は低下し、平成72(2060)年には1人の高齢人口に対して1.3人の現役世代という比率になると推測されている。これらのことは、将来身体が虚弱になり、日常生活を送る上で介護状態になるのではないかという不安を増強させる理由になっているものと推察される。

このように、世界に類をみない長寿国になったことは日本国として喜ばしいことであり、行く先を見据えながら導いてきた先人達のこれまでの知恵と努力を讃える一方で、さらに調整を加えながら慎重な対応を継続していく必要がある。我々はこれからも、高齢化率の上昇と総人口の減少という大きな課題に対峙しつつ、高齢者の持てる能力に見合った自立した生活の維持や、日常生活のなかで喜びを見いだすことができるような社会環境づくりに注視し、健康長寿を目指して考慮してゆくことが求められている。

わが国が長年に渡り実施してきた戦略のなかに「健康日本21」がある。2010年3月を目途に10年間推進してきた後、さらに2年間延長し取り組んできた。「健康日本21」の趣旨は、国民の健康寿命の延伸を実現するために、個人の力をもとに、社会全体として国民の主体的な健康づくり運動を推進し、効果的に健康づくりに関する意識の向上を進めることであった。また、運動の目標設定は、栄養・食生活、身体活動・運動、休養・こころの健康づくり、たばこの健康影響、アルコール

の慢性影響、歯の健康、糖尿病・循環器・がんの予防の観点から生活習慣の改善、有病者や死亡率の減少などであった。

このうち、こころの健康づくりについては、平成19年4月10日付けの厚生科学審議会地域健康増進栄養部会による中間評価報告書によると、「睡眠による休養を十分とれない」については、中間実績値21.2%が、最終評価では18.4%となり、ベースライン値の23.1%を下回り目標値(21%以下)は達成されている。しかし、「最近1ヶ月間にストレスを感じた人」の中間実績値は62.2%となり、ベースライン時を7.8%超えて平成25年度の目標値49%以下に逆行している。また、1997年以降14年連続して年間自殺者数が3万人を超えており、その大きな原因となっているうつ病は年々増加の傾向にある。人間がどのようにストレスに対処し解消していくかを明らかにすることは、社会的要請の高い問題であると同時に、生物学的観点からも重要な課題となっている²¹⁾。ストレス対策では、何がストレスの原因であるかということの解明とともに、個別的あるいは集団に対しての啓蒙活動を継続して実施することが必要であると考えられている。しかし、ストレスは予想を超えて多岐に渡り、多様な背景が絡み合って我々を刺激してくる。例えば、少資源で狭い国土という生存環境、情報手段と交通の発達による国際交流の促進、人口構成の老齢化、高度技術化、高学歴社会、少産少死などという自然環境と社会の特徴があるために、過密、競争、世代間の相克、過負担、適応困難などというストレスを個人に強い、また国際関係の緊張や食糧とエネルギーの外国依存は、貿易摩擦などのような国家的ストレスとなって表出してきた²²⁾。さらに、このようなストレス社会のもとでは、人間そのもののストレス耐性が低くなり、人間的に偏りと脆弱化をもつ人が増えている。スピード化、多様化、変化の激しさ、情報化、画一化、国際化などという特性をもつ現代社会とストレス過剰の日本社会においてストレスケアは非常に重要であると考えられている。加えて、年金問題などによる老後の生活基盤の不安定さや社会経済の急激な変化に伴い、人々のストレスに関連する健康障害が顕在化している。

ストレスを感じている人の割合は減少しにくい傾向にあるが、睡眠による休養を十分とれない人の割合については減少している。ストレスが睡眠を含む休養によって緩和されることも期待される。しかし、睡眠確保のための睡眠補助品やアルコール使用者の割合は増加しており、睡眠による休養を十分とれない人の割合の減少の背景には、眠剤が入手しやすくなったことも影響していると考えられている。

一方、地震や津波、放射線汚染などの自然災害や関連する事故は、人々に生活環境の変化や多くの多様な喪失感によって、心身の健康に強烈な持続的ストレスを与えていることが推察される。このような地球規模で生じる大きな問題から、個別的な日常生活のなかのささやかな煩わしさに至るまで、年齢や性別を超えて、身体的あるいは精神的に、そして長期的あるいは短期的に、時には幾重にも重なりあって、一個の人間が影響を受けることになる。これらのストレスに対する対処行動は、耐え切れず自ら生命を絶つ者、またストレスに打ち勝とうと奮起する者など多様である。

2. ストレスの定義と概念の変遷

1) ストレスの定義

ストレスという言葉は、物理学や材料工学の専門用語であったものが、生命現象の記述に用いられるようになったものである。ストレスという用語が学際的に使用されるようになった今日、あらゆる分野に共通した定義づけをすることが困難になってきている。生物を対象としたストレスを広義に定義する場合は、ハンス・セリエ(Hans Selye, 1907-1982)が1935年に提唱した、全身適応症候群としてのとらえかたが一般的である。Selyeが記述したストレスの定義は、「外界からのあらゆる要求(demand)に対する生体の非特異的な反応」である²³⁾。この定義の意味は、外から力が加えられたときに生じる物体の「歪み」であり、Selyeはこれを生体に当てはめて生物学的ストレスと呼ぶようにした。その際の、外から加えられた力とはあらゆる外界からの刺激のことであり、どんなときであれ、ストレスを生じさせるものをストレスャー(Stressor)と定義している²³⁾。

Selyeが重視した非特異的の反応については、原因と結果の関係をを用いて説明される。すなわち、原因となるストレスャーは、共通するストレスという生体反応を生じさせ、その結果に至るとするものである。例えば、結婚生活の不一致がすぐに消化性潰瘍に結びつくわけではなく、ストレスという共通の生体変化を通して消化性潰瘍という結果に結びつくことになる。ストレスャーそのものはそれぞれ特異的な事柄であるが、ストレスという非特異的な状態によって、それぞれの特異的な原因から非特異的な結果を生じさせる。その際、遺伝や過去の経験といった内的条件や気候、また薬物や食事などの外的条件が結果として反応の特異性に大きく関与すると説明している。

ストレスは、あらゆる刺激に対する生体の全身的・局所的な生体防衛反応であることから、全身適応症候群(general adaptation syndrome: GAS)と呼ばれている²⁴⁾。生体の外的な環境要因だけでなく、生体内の精神・神経の要因や化学性の濃度要因なども挙げられる。全身適応症候群とは、反応が身体の一部に限局されるのではなく広範な部位に及ぶという意味であり、またそれらの反応が生体にとって防御的かつ生体の適応状態を意味する。そして、個々の症状が互いに関連し合った症候群であることを示している。全身適応症候群という用語は、他に“汎適応症候群”や“一般適応症候群”などの言葉も用いられている。局所適応症候群について提唱された場合に対比することを考慮して全身適応症候群と呼んだほうが分かりやすいという考え方もある。

全身適応症候群は、大きく警告反応期・抵抗期・疲弊期の3つの期間から構成される²⁵⁾。これらのことについて概説することは、身体機能や生体反応を確認するうえで役立つことになる。 「警告反応」は、ストレスャーの曝露に伴う初期の急激な機能低下の時期(ショック相)とその反対による機能増大の期間(反ショック相)からなる。ショック相は生体が急激にストレスャーに遭遇したときの反応であり、ショックを受けている時期といえる。体温下降や低血圧、低血糖や血液の濃縮、神経系の活動低下、筋緊張の低下、毛細血管と細胞膜の透過性の低下、異化的な組織破壊、アシドーシス、白血球の減少などが生じ、胃・十二指腸などに潰瘍や点状出血などができる。反ショック相では、生体がショックから立ち直って反対の反応が生じてくる。つまり、血圧や体温、血糖値が上昇し正常になり、神経系は賦活されて活動性が高まり、筋肉の緊張は増加する時期をいう。

「抵抗期」では、ストレスに対して引き続き安定して適応性と抵抗力を維持する。副腎皮質の脂質量は回復するが時には刺激前値を上回って増大し、それを維持する。その背景には副腎皮質の実質細胞の増加があり、副腎重量も増大する。この時期には、最初からのストレスには強い抵抗力を維持するが、他のストレスにはもろく弱い交絡感作がみられる。この抵抗期は動員される適応ホルモンが限定され、広く対応することはできない。適応の持続に必要な適応エネルギーとはホルモンの存在を指し、ホルモンの存在やその質的対応の有無が抵抗力の維持に重要である。生体の適応能力は当面する負荷に対応した固有のホルモンの容量で決まることになる。「疲弊期」は、抵抗期を越えても尚ストレスが持続すると、生体の適応ができなくなり破綻する。そのためショック期と似て再び体温や血圧が低下し、胸腺やリンパ節は萎縮し、副腎皮質の働きは低下し、体重も減少して死に至る。

1930年代は、新種のホルモンを発見することがテーマになる時代であったことを示す資料は多い。Selye は、卵巣ホルモンの研究途中で、ラット/人を用いた実験において卵巣や胎盤の各種抽出物(エキス)は、動物の体内へ注入されることで生体内の臓器に変化を起こすことができることを用いて、種々の抽出液、ホルマリン、X線、低温、高温、出血、機械的外傷、痛み、飢餓、運動などの互いに関連しないと考えられる多種多様なストレス刺激に対し、三徴候である、①副腎皮質の肥大、②胸腺やリンパ節の萎縮、③胃内壁の出血が共通して認められることを発見した。エキスに含まれる物質のホルモンが原因で起こると仮定し、エキスの純度を高めて変化が顕著になる事実を確認しようとしたが、純度を上げれば上げるほど変化は小さくなったことから、ホルモンが存在しなくとも組織には未知の有効成分があると考え、細胞組織固定剤で毒性の強いホルマリンを希釈して注射すると48時間以内に三徴候が顕著に現れ落胆したと言われている。しかし、このような反応についての病態の事実と内分泌研究を基礎とした分析から、ストレスの構造と機能を体系化し、ストレス概念を提唱するに至っている。Selye はこれらの研究結果を「A syndrome produced by diverse noxious agents」の論文にまとめ、1936年に英科学雑誌「Nature」に発表したことからストレス研究は本格的に始まった。

ストレスの評価に関連する事柄についてみると、Selye は、防御反応が生体を活性化し、ある時にはストレスが結果的にプラスの効果をもたらすことにもなることについて、人間のストレスのメカニズムは共通であるが、ストレスの種類や程度の差および受け手側の生体条件の差でディストレス(Distress)やユウストレス(Eustress)という結果に分かれることを説明している²⁵⁾。Distressとは、心や身体が不快な状態のことで、病態的ストレスとも呼ばれる。また Eustress とは、心身が快い状態のことで、治療的ストレスとも呼ばれる。

Selye から始まったストレスの内分泌学的研究により、今日、視床下部-下垂体-副腎皮質系(hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis: HPA系)が人間のストレスやその緩和に深くかかわっていることが知られている。そして、人間の身体は、特に意識しなくとも生命維持に向かった活動になっており、同様に身体は各臓器固有の機能の維持と他臓器との調和を至適に図っている²⁶⁾。人間の健康とストレスを関連させて考えるとき、さまざまな生体反応が生じる急性のストレスの

みならず、慢性的ストレスの視点も重要になると考えられる。人間の健康状態は、ストレスによる変化後の適応現象として関心がもたれており、現代社会の人間のストレスを Eustress や Distress の両面から新たに検討がなされることが期待されている。

2) ストレスの概念の変遷

ストレスを定義したのは Selye であるが、その概念の基礎となるものは、フランスの生理学者のクロード・ベルナール (Bernard, C 1813-1878) や、ウォルター・キャンノン (Cannon, W. B. 1871-1945) らの研究にもみられる。

Selye 以前の二人の研究者は、生命維持に重要な視点を人間の内部環境と外部環境との関係から提唱している。Bernard は、気象や気温などの生体にとって外部となる環境を外部環境と呼び、それに対して生体機構によって維持されているものを内部環境と呼んだ。内部環境とは、身体を満たしている血液とリンパであり、内部環境が変化すると各臓器に影響が出現する。また、外部環境が大きく変化しても内部環境には大きな変化は生じない。重要なことは、外部環境にうまく適応して、内部環境を一定に保っていくことが健康維持の上から重要であるという概念を提唱している。一方 Cannon は、ホメオスタシス (homeostasis: 恒常性) と緊急反応の考え方を提唱した。Bernard が提唱した、どんなに変化しても内部環境は一定に保たれるという現象は、Cannon によってホメオスタシスと呼ばれるようになった²³⁾。内部環境の一定とは、完全に一定であるのではなくほぼ一定の状態を示し、ある範囲内に保たれていることである。一定に保たれていることは生命の維持に不可欠であるが、恒常性も受身的ではなく、外部環境を敏感に感じ取り、その刺激に対応して、自律神経系や内分泌系を常に働かせ、積極的に維持していくとしている。また、悲しみや怒り、強敵や大出血などに遭遇したときの身体的な反応では、一連の身体的変化が生じるが、これを緊急反応と言い、その際に最も関連するものが交感神経のアドレナリンであり、生体に歪みを生じた場合、生体の内部環境がストレス刺激に応じて、交感神経-副腎髄質系 (sympathetic-adrenal-medullary axis : SAM 系) を中心とした一連の適切な反応により、内部環境を一定に保つことができることを強調している。自律神経の興奮による瞳孔散大や末梢血管収縮、血圧上昇、心拍数の増加などの交感神経系の反応が引き起こされて、生体の恒常性を変化させることが知られている。

その後、ストレスに関する研究は、生理学、心理学、社会学、疫学 (衛生・公衆衛生学)、大脳生理学、精神神経免疫学、心身医学、精神医学などの学際的な領域を含む総合医学的なアプローチにより、心と身体との関連を統合して全人的な視点から科学的に解明する試みとして発展してきている。主に全身的なストレス反応を社会科学的な手法とリンクさせ、また、心身相関を病態のメカニズムの基盤とし、心と身体の関係から病態生理の解明が試みられている。人間に応用される生理学的理論、臨床的な部分から公衆衛生的な部分まで、展開する心理社会的な分野の間には完結していない部分があり、その理由は、原因や結果の因果関係に人間特有の精神現象、社会現象など、複雑な現象を想定しなければならないからであると考えられている。

1960年代には、神経内科医であるホームズ (Holmes, T.H) らが、米国民が発病に先んじて何

らかの生活事件(Life event; ライフイベント)に遭遇していることに着目し、回復時間をもとにストレス濃度を調査した結果、前年のストレス濃度との合算から病気になる可能性を予測し、「社会再適応評価尺度」を開発した。心理社会的ストレスを扱う臨床ストレス研究が科学として位置づけられた。しかし、Life event が個人差を無視したストレス因子として扱われすぎたことによる強固な批判も起こっている。

1977年に心理学者であるラザルス(Lazarus, Richard.S. 1922-2002)は、日常ストレス説(Daily Hustle)を主張し、毎日のささやかな煩わしさが実際のストレス因子となり、その煩わしさは、ある特定人物が、特定の環境をどのように認知し評価するか、ということによって生ずることを説いた²⁷⁾。この日常ストレスの主張は、ストレスが受け手にとってどういう意味を持つかに左右される相互交流的な現象であり、個別性のある日常生活行動においては、特にその個人の認知的評価が重視された。認知とは、その個人の主体的な実際の感じ方で、自分からみた評価を包含する。ストレス評価では、一次的にはその出来事との出会いが自分にとって害、脅威、挑戦であるかということがとらえられる。さらに、ストレス評価に対しては、認知-心理的対処(Coping, コーピング)が生じ、その一次的評価は変化して新たな一次的評価を生み、さらに新たな二次的評価を生み、不適切なコーピングは逆にストレス増大の方向に働く。このように、心理的ストレスにはプロセスがあり、最終的には人間の情動に影響し、長期的な結果として健康・不健康や社会活動の高/低を決定する。そして、心理的ストレス過程は心理的・生理的脳機能であり、精神機能の中心課題でもある情動と緊密に影響し合っている。心理社会的ストレスが生理的ストレスと同等機序と見なうことになって、生理学的理論と心理社会的理論の間の見失われてきた連鎖は、脳科学(神経科学)の展開に伴い連結されるようになったと考えられている。

精神生理学的には、アレキサンダー(Alexander, F. 1891-1965)、シフネオス(Sifneos, P.E.)らによって研究が進められ、神経系と内分泌系の生理学の発展により、精神が身体を支配していること、身体機能が神経系の中枢機能にいかに関与しているかが理解されるようになった。中でも Alexander は、心身医学の誕生と発展に貢献した心身医学的アプローチとは、これまでの分析的な医学への基本的な生物学的事実が無視されてきたことへの反動として、身体的、つまり生理学、解剖学、薬理学、外科学、栄養学などで用いる方法論と概念を、他方では心理学的方法論と概念を同時に調和させて用いることであるとした²⁸⁾。

1998年、セリグマン(Seligman, S.)は、人間のポジティブな精神機能に注目し、長所を伸ばすことが全体の成長に重要であるというPositive Psychologyの考え方を主張した。これまでの心理学は精神的障害や人間の弱さに焦点をあててきたとして、本来の障害や弱さだけでなく人間の優れた機能(human strength)に注目し、ストレス耐性を高めたり、幸福感を高めたりするために心理学がどのような貢献ができるかについての実証的な研究と実践を試みている。さらに、レジリエンス(Resilience)、コバサ(Kobasa)、ハーディネス(Hardiness)、そしてアントノフスキー(Antonovsky)らによるSOC(Sence of Coherence; 首尾一貫性)などによって、今日のストレス研究は詳細な検討から統合して全人的にとらえる方法へと発展している。

ストレスの定義は、しばしば相対的なものになったり、判定者の価値観によって左右されるものになったりするという見方がある。Lazarus らは、ストレスは、ストレッサーそれ自体によって引き起こされるのではなく、生体がそれをどのように受け止め、どう考え、どう対応したのかで決まることを示した。このストレス反応の個体差を説明するモデルはトランSACTIONALモデル(Transactional Model)と呼ばれ、ストレス過程を人間と生活環境との相互作用とみなす考え方である²⁹⁾。

今日、ストレッサーがストレスと呼ばれていたり、また、ストレッサーとストレスを合わせてひとまとめにしてストレスと呼ばれていることも多く、ストレスとストレッサーが厳密に区別されないまま日常語となっている現状があるが、ストレスの概念を考える際にはストレスとストレッサーとははっきりと分けて考えることが重要である^{30,31)}。

3. ストレス研究モデルと研究の多様化

ストレスをどのようにとらえ、どのように体系化されてきたかを明らかにしておくことは重要である。

Selye により体系化された概念は、現在のストレス研究のモデルと大きく異なることはなく、負荷するストレッサーの量に応じた身体反応が出ることを仮定した生物医学モデル(biomedical model)である。このモデルは負荷されたストレッサーを定量化し、結果として生じた生体反応を測定し、因果関係を証明しようとするもので、ストレス研究に限らず、現代医学では生物医学モデルを基本的に研究が行われることが多い。しかし、臨床的には、Lazarus の説く持続的・慢性的な性質をもつ、日常生活で引き起こされる些細な職場や家庭での人間関係および仕事量、労働や生活環境などの心理・社会的因子が複雑に絡み合っている。従って、従来の自然科学の要素還元論的アプローチを用いた方法を基盤とした生物医学モデルに加え、心理社会的要素を含めた全体としての相互作用や関係性を視野に入れて学際的に考察することが重要である。

ストレス研究の方法は今日多様である。細胞内情報伝達に重要な役割を果たす分子生物学的研究法や、生体のストレス応答を個体全体として理解しようとする生理学的研究、ストレスに対する内分泌系の反応である HPA 系の変動に焦点をあてた内分泌学的研究、ナチュラルキラー(NK)細胞などの免疫能とストレスの関係を調べる免疫学的研究、ストレスの生体に及ぼす影響を薬物効果で評価する薬理学的研究、画像解析術の進歩により脳の機能的側面を解析する画像解析的研究、実験法や質問紙法・面接法・観察法によりストレスを評価する心理学的研究、子どもの時からの体験と関連して考える発達学的研究、集団における分布や要因を研究する疫学的研究、そして、社会環境や社会変化との関連でみる社会学的研究などがある。このように、専門性が異なることで概念や研究方法も多様化している。しかし、いずれもストレスが Selye の全身適応症候群であるとしたことから出発しており、ストレスの原因が何であるかを問わず、またどのように受けたものでも生体に等しく全体に生じることを源としている³²⁾。

ストレスを測定する方法も同様に多様である。ストレッサーをチェックするものとしては、質問紙評価票を用いた社会的再適応評価尺度や日常苛立ち度尺度などがある。また、自律神経機能を測定するものとしては、心電図 R-R 間隔変動係数、心拍動により出現した動脈内圧の変化を記録

した指尖容積脈波, 精神性発汗から生じた皮膚電気抵抗の変化を測定する皮膚電気反射などがある. 精神生理学的検査としては, 精神緊張や覚醒水準の変化を敏感に反応することから簡単な緊張状態をもうけて眼球運動をみる試み, 頭皮に電極をおいて電位変動をみる脳波, 精神作業を行った際の事象関連電位などが用いられている. そして, ストレスの生理学的な反応をみるものとしては, 血中・唾液中・尿中のコルチゾール, アミラーゼ, 免疫グロブリンA, クラモグラニンA, リゾチーム, サイトカイン, アドレナリン, ノルアドレナリン, ドーパミン, アルドステロン, メラトニン, ラクトフェリンなどがあげられる. 中でもコルチゾールを用いた研究が最も多く, ストレスマーカーの代表的なものとなっている³³⁾.

4. コルチゾールのストレス応答

1) 副腎の構造と機能

コルチゾールは副腎皮質の束状帯から分泌されるホルモンである. 人間の副腎皮質は, 形態学的に球状帯・束状帯・網状帯の3つの帯からなり, 最外層は球状帯で副腎皮質の10~15%を占め, アルドステロンを合成して血中の塩濃度を調節する. 中間層は副腎皮質の75~80%を占める束状帯と副腎髄質に接している網状帯からなる. コルチゾールは, 副腎皮質の束状層において副腎皮質刺激ホルモン(adrenocorticotrophic hormone:ACTH)の刺激を受け合成・分泌を促される. そして内層の網状帯からは, 男性ホルモンのアンドロステロンや女性ホルモンのプロゲステロンなどの性ホルモンが分泌され, それぞれ3つの帯は分泌するホルモンが異なる. コルチゾール分泌を促進させる ACTH は, 視床下部から放出された副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン(corticotropin releasing hormone:CRH)が放出させることによる. つまり, コルチゾールは, 視床下部から放出される CRH の刺激を受けて下垂体前葉で合成・分泌される ACTH の刺激を受け, 分泌が促進される. 一方, 副腎髄質ホルモンは, 生後は機能的には自律神経系的一部分を成し, 3つのホルモン(アドレナリン, ノルアドレナリン, ドーパミン)を一般循環へ放出する³³⁾.

2) ホルモンに関する内分泌学の発展

1902年にイギリスの生理学者バイリス(William Bayliss)とスターリング(Ernest Starling)によって, 胃で消化される食物が小腸の一部に触れるや否や化学物質が分泌され, 血流を介して胆汁の分泌を促すことを発見したのが内分泌学的研究の最初と言われている. その後, 甲状腺ホルモンが1919年にケンダル(Kendall)によって, インスリンが1921年にバンティングとベスト(Banting&Best)によって発見され, また1950年以降には体液中に存在する生理学的調節因子としてのホルモンが次々に同定されるようになった³⁴⁾.

CRH の発見は, 内分泌学の発展に大きく貢献した. 1981年にウイリィ・ヴァレ(Wylie Vale)らがACTH放出を促す因子, ACTHと β エンドルフィン分泌活性を有する41個のアミノ酸残基からなるペプチドのコルチコトロピン放出ホルモンを発見している. その少し前に, 視床下部で合成される因子によって下垂体前葉からホルモン分泌が促されることを最初に報告したのは, イギリスのジ

ェフリー・ハリス(Geoffrey Harris, 1913-1971)であり, “神経内分泌学の父”と呼ばれている. CRHは主として視床下部室傍核(paraventricular nucleus of the hypothalamus: PVN)小細胞領域に存在する³⁴⁾. これらの発見は, わずか30数年前のことである.

ホルモンの語源は, ギリシャ語の“刺激する”, “興奮させる”, “呼び覚ます”などを意味する言葉に由来する. 生体内外の情報に応じて産生・分泌され, 標的器官の代謝経路の速度や程度を制御している. ホルモン情報は哺乳動物や他の高等動物の重要な生命活動を調節し, 恒常性の維持を行う重要な役割をしている. 内分泌系と並んで神経系が同じような機能を果たしているが, 神経系において情報は神経伝達物質を介して直接他の細胞に伝達される. 両者は相補的で, インシュリンの分泌速度は神経の影響を受けているし, 甲状腺ホルモンは視床下部のニューロンの機能を調節している例からも, 内分泌系と神経系が連動していることは明らかである.

3) ストレスホルモンと生体リズム

コルチゾールの分泌は, 下垂体前葉ホルモンの分泌に影響を与えるフィードバック機構や栄養代謝産物の中間段階への作用を含む体液性情報, および睡眠などの刺激を受ける神経性情報によって促進される. 体液性情報はACTHの分泌がストレスにより刺激されることからストレスホルモンとも呼ばれる. また神経性情報は, 視交叉上核にある時計中枢が時計遺伝子の発現を受けて刺激を末梢に伝えることによる.

ストレスホルモンは, 代謝の中間段階について肝臓での糖新生と末梢組織中の脂肪やタンパクなどの異化作用により, ブドウ糖, 遊離脂肪酸とグリセロール, アミノ酸を循環血中に放出させる. これらは細胞内エネルギー源として利用される. また, 末梢血管平滑筋への作用により, カテコールアミン, AVP(arginine vasopressin), アンジオテンシンIIなど血管収縮因子の作用を増強させ, 逆にプロスタグランジンE₂や一酸化窒素など血管拡張因子の合成を抑制することにより血圧を上昇させる. 神経系については, グルココルチコイド受容体が脳内にも広く分布し, 認知, 記憶, 情動, 睡眠など多彩な生理機能に関与する. そして, コルチゾールは, 様々な生理活性によって生体防御に働くと同時に, 下垂体前葉と視床下部に細胞内受容体と細胞膜上のグルココルチコイド受容体を介してフィードバックをかけ, それぞれCRHとACTHの分泌を抑制する. 海馬経由の負のフィードバックも知られており, ストレス応答としては, これらの作用が相まってストレスからの防御作用を発揮すると考えられている.

ヒトを含め多くの生物は, その身体機能に周期的な変動をもっており, その変動は生体リズムと呼ばれる. その中でも, 生体内にそのリズムを形成する機構が存在するものを内因性リズムという. 内因性の生体リズムでは約1日の周期のリズムが最もよく知られている. このリズムを生み出すのは視床下部の視交叉上核であり, 生体時計(biological clock)と呼ばれる. コルチゾールの日内リズムは, この生体時計の影響を受け分泌されるACTHの日内変動を反映したリズムである. リズムを発生する機構は, 季節性に繁殖する動物には特に重要であり, 日照時間が生殖活動の開始と終了を決定していると考えられている. このような生体に備わっていることを証明するラットの副腎

機能に関する実験をみると、ラットの成体では副腎の摘出によって、記憶、学習、視床下部-下垂体系機能と関連のある海馬で特定のニューロンが失われることが報告されている。また、副腎摘出と同時にグルココルチコイドを投与するとニューロンの喪失を防止できることから、グルココルチコイドが脳の特定領域の細胞および構築の完全性を維持していると考えられている³⁵⁾。

これらのことから、生体に備わっている日内変動や季節性による変動は、研究が進めば評価尺度として有用になる可能性を有していると考えられる。

4) 時間生物学の発展

生体時計については、体内時計、生物時計、周日リズム、サーカディアンリズムなどの言葉で取り上げられており、学問的には時間生物学(Chronobiology)において扱われている。時間生物学は広義において生物機能を時間の関数として理解する学問であり、狭義においては周期的な環境に対する生体の適応機構を理解する自然科学であり、中心的課題は生物時計の理解にあるとしている³⁶⁾。

生体リズムの研究の始まりについて本間は、「Circadian Physiology」(Taylor & Francis, 2006)の引用をもとに、生体リズムの発見が、1729年にフランスの天文学者ドゥメラン(J.J.De Mairan)によって、オジギソウの葉の開閉運動が恒常暗でも持続することの発見に始まり³⁷⁾、そのリズムの発現は、「感受性の強い植物は太陽を見ることなくその存在を感じる」といった外因性説で始まったと紹介している³⁸⁾。また、生物が示す内因性の性質については、その100年後にフリーランリズムを提唱したスイスの天文学者ド・キャンドール(A.P.De Candolle, 1778-1841)によって最初に明らかされた。そして、1930年代に入ると、リズム現象に関心をもつ研究者が増え、1937年に始めて時間生物学学会が医学研究者を中心にして設立された³⁸⁾。1950年代にドイツの生理学者アショフ(J.Aschoff, 1919-1996)は、ヒトの体温調節の研究から時間生物学の研究を始め、リズム周期の一般則を提案すると共に、世界で始めて時間隔離実験室において人間のフリーラン(自由継続)実験を実施し、フリーランリズムの存在を確認した。さらに、ルーマニアのハルバーク(F.Halberg)は米国に渡って研究を重ね、ミネソタ大学においてサーカディアンリズム(Circadian Rhythm)を提唱した。ヒトを含む哺乳類の内因性リズムは、約1日の周期の Circadian Rhythm (概日リズム:サーカ; Circa はおおよそ・約, ディアン;dian は1日という意味)を示すことを1960年に米国で開催された Cold Spring Harbor のシンポジウムで報告している³⁹⁾。この概日リズムは、哺乳動物だけではなく単細胞生物にも存在するほか、原核生物であるシアノバクテリアにもその存在が示されている⁴⁰⁾。

5) 体内時計の特徴と生体リズム

地球上の生命は、38億年前に地球上に誕生し、大気やオゾン層の薄い今より過酷な地球環境の中で、太陽からの恵みや害を受けつつ、様々な自然現象や宇宙現象の振動に応答したり、進化を繰り返したりしながら、数十億年をかけてその適応の所産として体内に時計遺伝子を獲得してきた。

体内時計の特徴には温度補償性という機能があり、一般的にはからだを調節するための様々なはたらきの強さやスピードは温度に依存して変化する。例えば、10°C上昇すると反応速度は2~3倍になる。ところが体内時計のはたらきは、温度が大きく変化してもほとんど変わらない。気温が大きく変化しても、生物は時を正確に刻み続けることができる。生物リズム機構を獲得できなかった生命体は、進化の中で消え去っていったと考えられている。もし人間が、太陽光が全く届かない洞窟の中で生活していても、ほぼ同じリズムが繰り返され、時計遺伝子が転写や翻訳を経て時計蛋白をつくり、周期的な繰り返しが生体リズムを生み出すこととなる。概日リズムは人を含む動物において、睡眠や摂食のパターンを決定する点で重要であると考えられている。時間生物学は、生物時計の構造と機能、生理・生態学的意義、社会や産業とのかかわり、生物時計の機能不全と疾病、生体リズム障害の治療と予防、臨床医学など広範囲なテーマを持つ。そして、体内リズムの諸機能が規則的に刻まれることで健康維持に影響を及ぼすことや、健康のバランス状態に相関することなど、それぞれの基本的な学問における追求と同時に、医学と生物学が相互補完的な関係を保ちながら、有用性を高めるために研鑽することによって発展するものであると考えられる。

5. 唾液コルチゾール研究の推移

1980年代は、生物学的活性を有する血液コルチゾールの信頼性に立脚し、測定方法の開発に伴って唾液によるコルチゾールの測定方法が加えられ、唾液コルチゾールが血液コルチゾール濃度を反映するののかという問いに対する解答を求めて唾液および尿を用いた研究が進められ、発展した経緯が伺える。Ferguson らの研究により、血液コルチゾールおよび唾液コルチゾールの2つの測定値は 0.90~0.97 という非常に高い正の相関係数を示すことが明らかとされており、また同様の結果を得たとする研究も数多い⁴¹⁻⁴⁸⁾。

唾液中のコルチゾールを用いた研究の始まりは、キッシュバウム(Kirschbaum C) らの「Salivary Cortisol in Psychobiological Research: An Overview」¹³⁾によれば、唾液中の副腎皮質ステロイド測定に関する研究が、シャノン・アイラ(Shannon et al. 1959) やカツツら(Katz and Shannon, 1964)⁴⁹⁾による開拓的な研究によって始められたこととされる。血中量のホルモンが微量であること等から定量には高感度な測定方法が必要とされるという方法論的な問題のため、当初は受け入れられなかった。しかし、1959年にアメリカのバーソン(S.A. Berson) とヤロー(R.S. Yalow)により、RIA (radio immuno assay) 法が開発されたことによってごく微量の化学物質の測定方法が発展していく。インスリンを測定するために開発された方法が原型となり、改良されてホルモン・薬物・病原体などの多くの物質の測定法においても確立され、それまでは不明であったコルチゾールなどの血液中のホルモン濃度が測定できるようになった。このことは、内分泌学が飛躍的に進歩するきっかけとなった。つまり、疾病の確定の診断が確実かつ容易になった。この業績は存命中の S.A. Berson に、1977年のノーベル医学生理学賞をもたらしている³⁶⁾。

しかし、RIAは放射性ヨウ素を用いた分析方法であったことから、長時間の使用が出来ないため測定時間に制約があった。その制約を打開したのは、1971年のエンゲバル(Engvall) とパールマ

ン(Perlman)によって開発された時間制約のない発色・蛍光・発光基質で検出する酵素標識方法(enzymelinked immunosorbent assay, ELISA; EIAとも呼ばれる)である。標識にアルカリフォスファターゼ(ALP)やホースラディッシュペルオキシターゼ(HRP)を用いて分析する方法である。他にRIAに似た測定方法として、抗ホルモン抗体の代わりにホルモン結合タンパクを用いたCPBA(competitive protein binding assay)や、受容体を用いたRRA(radio receptor assay)、抗原を抗体ではさみ込むサンドイッチ法による高感度化が可能なIRMA(immunoradiometric assay)などがある³⁶⁾。

これらの検査方法の進歩により、唾液は血液と異なり、採取方法が簡便で非侵襲的であることから、精神面での調査に有効であるとされ、早い時期から精神内分泌学的に用いられてきた⁵⁰⁾。

6. 唾液コルチゾールの日内変動と季節変動に関する先行研究

わが国の唾液コルチゾールを用いた研究の変遷をみると、Kubotaらが1972年に「Biochemical studies on human Salivary proteins」を報告したのを端緒として⁵¹⁾、1981年にはHiramatsuらがコルチゾールのRIA検査方法による臨床適応の妥当性について報告し、その後急増している⁵²⁾。ここでは、唾液コルチゾールを用いた研究に関するこれまで明らかにされた知見は何か、特に日内変動および季節変動に関する研究、年齢差および性差に関する研究、身体的および心理的ストレスに関する長・短期的ストレス研究、唾液採取および保管方法について、さらに、唾液コルチゾール濃度による評価について概観する。

6-1) 日内変動と季節変動に関する研究成果と課題

日内変動および季節変動に関する研究では、被験者が健康である場合には、多くの研究においてサーカディアンリズムによる同様のコルチゾール反応の結果を報告している。日内変動については、Kirschbaumらの研究において、48人の学生と54人の母親を被験者として3日間連続で行った結果では、いずれも顕著に安定して早朝に高濃度を示したことが報告されている⁵³⁾。一方、午後から夕方濃度については外部の刺激によって下降する多様な個人内変動があり、早朝のような安定した変動ではないことも示されている。個人内変動の安定性に関する調査結果については、Walkerらの研究があり、5日間連続して調査された結果において比較的安定して早朝に最高値となり、また夜間に最低値となったと報告されている⁵⁴⁾。その他の研究においては、1日のみの研究であっても、一定の環境を調整した中で実施された唾液コルチゾールの結果からは、通常分泌が24時間周期のホルモンのフィードバックシステムにより管理されていることが明らかにされている⁵⁵⁾。

一方、基本形態を示さない場合がある。例えば、成人男性を対象とした調査では、コルチゾール濃度は、睡眠からの覚醒と密接な関係があり、睡眠時間の減少は耐糖能、視床下部-下垂体-副腎系、自律神経系に悪影響を及ぼすとした報告がある⁵⁶⁾。また、生活リズムの規則性との関連性を検討した結果では夜型より朝型の方が規則的な生活リズムをとると言われているが、1歳6ヶ

月から就学前までの乳幼児を対象にした生活習慣と生体リズムの研究では、起床時と就寝前の調査結果から、血中コルチゾールのピークは朝型では朝に高く夜には低く、夜型では朝と夕の2つのピークを呈すること、睡眠不足や起床時刻の遅延などにより早朝のコルチゾール濃度に影響するという報告がある^{57,58)}。このように、睡眠は、二双性の日内変動を引き起こすなど日常生活リズムに影響を及ぼしていることが推察される。また、Price らは、幼児の 24 時間周期のリズムについて調査し、生後3ヵ月目で通常のコルチゾールの分泌リズムが観察されたことを報告している⁵⁹⁾。この研究は、自宅で母親が抽出器で唾液を吸引するという採取方法を用いており、自然なストレスの少ない方法で実施された画期的な調査であったことから有意義なものとして評価されている。

また、園田らが朝食前後、昼食前後、夕食前後、眠前の7回にわたり唾液を採取して比較した研究結果では、クッシング症候群や副腎摘出術後の被験者では、日内変動が消失する特徴的なパターンを示すことが報告されている^{60,61)}。クッシング症候群では、ACTH 非依存性に副腎皮質が自律的にコルチゾール分泌をきたしたり、下垂体腺腫からの自律的 ACTH 分泌(クッシング病)、異所性 ACTH 産生腫瘍などにより高コルチゾール血症となり、日内変動が消失しやすくなる。診断には 2008 年のアメリカ内分泌学会が規定した臨床ガイドラインによる基準が用いられている。また、平均年齢 30 歳の慢性の統合失調症を持つ者を対象とした研究では、50%が正常な日内変動を示し、他は日中に最低濃度を示したとする報告があり⁶²⁾、統合失調症やうつ病を持つ被験者ではコルチゾールに乱れが生じることが示されている⁶³⁾。

また、Lasikiewicz らは、中高年者ボランティア 147 名を対象として血清コルチゾールの日内変動の基礎的な研究を行っている。覚醒時から 15 分間隔で4回、その後3時間ごとに4回の採血を行い、被験者の 78%に覚醒直後の血清コルチゾール値に変動が確認されたことから、血清コルチゾール値は病気の有無や睡眠の質に影響を受けることを明らかにしている⁶⁴⁾。これらのことから、血清コルチゾールの日内変動は、睡眠パターンや特定の疾患の存在によって全く異なった形態をとるが、正常な日内変動の形態は、生後3ヵ月目から早朝に高く夜間に低値となる緩やかな曲線を描くことが報告されている。

季節変動については、寒冷や温熱、日照時間などが HPA 軸を刺激し影響すると言われている。Walker らは、健康な男性を対象にした四季の比較研究において、冬季と夏季の唾液コルチゾール濃度に有意差がある⁶⁵⁾ことを示した。また、King らは、176 名(男性 48.7 歳、女性 48 歳)を対象に、綿花で唾液採取する方法により、21 時と 23 時、翌日の 5 時半と 7 時半の計4回採取した唾液コルチゾールの結果から、朝に高く夜に低い結果を報告し、また春季に最も低く、冬季と秋季に最高濃度を示すことを報告している⁶⁶⁾。この調査では、性別と年齢に関する調査も同時に実施しているがこれらの有意な関連は認めていない。

これらの先行研究の対象者は健康な若者や成人であり、高齢者を対象とした研究はほとんどない。

6-2) 加齢反応および年齢差に関する研究成果と課題

コルチゾールの代謝速度は加齢とともに遅延するが、ACTHの分泌の日内変動および基礎値は、加齢による影響をほとんど受けないと言われてきた。先行研究においても、基礎的コルチゾール濃度は、加齢による変化は殆ど示さないとする研究が多い⁶⁷⁻⁷⁶。しかし、中には加齢によって著しく低下するとした結果⁷⁷⁻⁷⁹や増加するとした結果もみられる⁸⁰⁻⁸⁴。

例えば、年齢による唾液コルチゾール濃度の変化がないとする研究では、Waltmanらが平均年齢28歳と69歳の2つのグループで各11名を対象に調査した結果では、明らかな相違を示さなかったと報告している⁶⁷。加齢に伴い低下するとした研究では、Brandenbergerらがトリア大学で健康な20～26歳の720名を対象とした研究において、朝と午後と夕方の3回測定した調査結果では、男性は年齢による相違は認められなかったが、女性では加齢に伴ってコルチゾール濃度が低下したという結果を報告している⁷⁷。また、Maesらの研究では、一般の健康者とうつ病をもつ18～58歳の患者を対象とした調査結果において、35歳を転換点に年齢の高い方が低濃度であったと報告している⁷⁸。その他、老化によりストレスに応じてコルチゾールが増加するという仮説を立てた研究では、家庭と研究室で一定の課題を課し、その前後に調査を実施した研究がある。課題として15分間のスピーチ(準備10分間・スピーチ5分間)を15時から17時の間に実施し、実施前と実施後20分、雑誌を読んで40分経過後の60分後に、4回唾液を採取しコルチゾール濃度を測定したところ、年齢が高いグループほど実施後にわずかに低下する反応であったのに対し、強健な若い男性では最も大きく、最も延長して反応を示し、70歳以上の女性ではどの反応においても最小で、女性では年齢による影響はないことが報告されている。老化によりストレスに応じてコルチゾールが増加するという結果を得るには至っていない⁷⁹。

一方、年齢とともに増加するとする研究もいくつかみられる。Rozenbergらは、238名の入院患者と217名の退院患者の41～99歳までの対象者を40代、50代、60代、70代、80代の5つのグループに分けて比較した結果、年齢別では61歳以上から70歳代、80歳代と、加齢に伴ってコルチゾールが高濃度を示すことを報告している⁸⁰。さらに、Nicolsonらは、健康な男女56名を40代、60代、70代の3つの年齢別グループに分けて、2日間連続して朝8時、午後16時、夜21時の3回唾液を採取し年齢の関連をみている。いずれも朝に高く夜に低い日内変動の形を示し2日間とも明確な違いはなかったが、基礎的なコルチゾール濃度は高齢者のグループで高濃度を示すことを報告している⁸⁴。

加齢による影響は、コルチゾール代謝速度の遅延がみられる場合があるとするものから、ストレスが加わった後の変動については、若者と変わらないとする研究や、下降するとした研究、逆に顕著に高くなるとする研究も存在することから、統一した見解が得られていないといえる。

6-3) 性差に関する研究成果と課題

コルチゾールの性差に関する研究では、Nicolsonらは、男女の有意差を認められなかったことを報告している⁸⁴。また、Kirschbaumらの研究では、女性の年齢とHPA活動との関係をみると、年

齢が上がるとともに減少または無変化であったことを示し、ストレスに対する反応については男性および女性ともに同様に上昇する反応を示すと報告している⁸⁵⁾。一方、性差を認めたとする研究もある⁸⁶⁻⁸⁸⁾。男性は変わらないが女性は加齢と共に低下するという研究が目立つ⁸⁹⁻⁹¹⁾。Laudatらは、早朝のコルチゾール値の性別比較について健康な35人の女性と23人の男性を比較検討した結果、男性の被験者で2倍高く、女性は年齢の上昇に伴ってコルチゾール濃度が安定することを報告している⁸⁶⁾。そして、Brandenbergerらの研究では、朝と午後と夕方の3回唾液を採取した結果、男性は年齢による相違は認められなかったが、女性では年齢が高くなるに従いコルチゾール濃度が低濃度であるとする結果を報告し、性差を認めている⁷⁷⁾。

性差については、HPA系の活動が加齢とともに減少または無変化であるとした研究がある一方で、男性より女性は低いとする報告がやや多くみられている。これらは、ストレスに対する反応の結果も混在しており、本質的には性差の有無が明確にされていないと推察された。

6-4) 身体的および精神的ストレスの短期・長期的ストレスに関する研究成果と課題

唾液コルチゾールによるストレス反応については、1982年に、シュタール(Stahl)とデルナー(Dorner)が、痛みを伴う前立腺生検により唾液コルチゾールが増加することを報告したのが最初とされる⁹¹⁾。また、身体的ストレスについては、運動などによって増加することが知られている。クック(Cook)らは1986年に、マラソンの後にはベースラインと比較し唾液コルチゾールが大きく増加したことを報告している⁹²⁾。その予備的研究において、健康な訓練された男性による5kmのレースを1週間隔で2回実施した結果、レースの実施後には唾液コルチゾール濃度がレース前の2.5倍に増加すること、2回とも同様の变化を示したことを報告している。これらのことから、激しい運動による身体的エネルギーの消耗に対して、コルチゾールが増加することにより糖新生とその強化がはかれること、運動によるエネルギー減少につながるどのようなことでも、コルチゾールの合成と放出を刺激する現象は、生理的に合目的であることが示されている。

精神的ストレスについては、Masonが1968年に行ったレビューにおいて、精神的な刺激が副腎のコルチゾール活性に影響を及ぼす強力な刺激となることが報告されている⁵⁰⁾。その後も精神的なストレスについての報告も数多く行われている^{93,94)}。Hubertらの研究では、サスペンスに満ちた映画における不安状態時の反応について調査し、唾液コルチゾールが有意に高濃度を示すことを明らかにしている⁹³⁾。また、試験による一過性のストレス反応を調査したJonesらの研究では、40人の医学生を対象としたテストによるストレスについて、テスト3日前とテスト当日と非試験日を比較した結果、試験の前日のみにコルチゾールが高濃度を示したことを報告している⁹⁵⁾。Kirschbaumらは、研究を通して精神的なストレス刺激に対する反応がストレスに対する感情処理に依存していることや、感情的処理が有害であるという潜在的な個人の認識が、コルチゾール分泌に主要な影響を与えていることを指摘している¹³⁾。

試験勉強における反応でみられるように、2~3日継続したストレスと推察される場合であっても、結果的にストレス反応としては試験前日あるいは試験直後において影響が認められ、唾液コルチ

ゾールによるストレス反応は、短期的な影響をとらえるのに有効な方法であると考えられる。従って、ストレス反応が数日以上に渡って加わる慢性的で、長期的なストレスは、その変化の程度によりストレスの大きさを把握することは容易ではないと考えられる。つまり、唾液コルチゾールの変動は、身体的および精神的なストレスが小さなイベントの実施前後に反応を示し易く、このような短期的なストレス反応を知る方法として有効なものと考えられている。

6-5) 唾液採取および保管方法に関する研究成果と課題

どのような新しい測定方法についても、サンプリングの容易さ、貯蔵方法や分析方法に対する信頼性について確保する必要がある。1981年以降、採取方法や採取した唾液の保管方法についての研究の発展がみられている。採取方法については、直接容器に唾液を吐き出す方法やガムを噛むことで唾液を排出しやすくする方法がある。しかし、前者は唾液中の細菌数を多くすることによる測定結果への影響が懸念され、また後者は採取後の処理が複雑になることから、積極的に肯定されていない。一般的であるのは、綿とチューブがセットになっているサリベット(Salivette; Sarstedt 社)を用いる方法である。唾液分泌を増加させるためにクエン酸入りの綿が含まれているサリベットも販売されているが、これはクエン酸が検体の pH を低下させて測定結果に影響を与えていると言われている。クエン酸の入っていない綿のサリベットについても測定値が大きく歪むという報告がなされたことがあった。しかし、その後 Vining らによって影響はないことが確認され、測定可能とする考えに訂正されるなど、サリベットを用いる方法が一般化するまでに多くの経過を要したことが報告されている⁹⁶⁾。また、自然に分泌された唾液をストローなどで容器に採取する方法である PD(Passive Drool)により採取することも薦められている。一方で、唾液分泌流量がコルチゾール濃度に全く影響しないことから、綿を噛むことによって流出を容易にすることができることが知られている。

これらのことから、今日の唾液の採取方法は、綿花やチューブによるサリベットで自然に分泌された唾液を浸み込ませ、あるいは流出させて採取する方法が適切であることが証明されている。採取した唾液は、3,000rpm の遠心分離を2分間行った後 0.5-1ml を測定のため保管する。

唾液の保管方法については、カーン(Kahn)らの研究により、2週間は室温保管が可能であることが証明されている⁴⁸⁾。さらに1989年には Kirschbaum らが最高30日間は常温で変化がないことを示している¹³⁾。これらのことから、比較的長期間の保管が可能になり、便利で活用範囲が拡大することが明らかにされている。

6-6) コルチゾール濃度に関する研究成果と課題

コルチゾールは、副腎において最も分泌量が多く、生理的分泌量は 10~20mg/day である³²⁾。また、コルチゾールの分泌に関する反応については、若者に比べて高齢者は ACTH の回復がわずかに遅れることが加齢変化の一端として知られている。しかし、Nicorson らは、スピーチテストによるコルチゾールの分泌反応は、若者と比較して高齢者の反応が遅れることはなかったと報告し

ている⁸⁴⁾。先述したように年齢の影響が明確になっていないことから、評価においては比較する年齢層や調査内容などによる変化を注意深く見極める必要があると考えられる。

唾液コルチゾール濃度の正常値は、Ferguson らは 2~20nmol/L⁹⁷⁾、市原は 5~25 μg/dL⁹⁸⁾としており、類似した数値が記述されている。Kirschbaum らの研究においては、午前7時から9時の平均したコルチゾール濃度は 14.3±9.1nmol/L、午後3時から5時の平均濃度は 4.5±3.5nmol/L、午後8時から10時の平均濃度は 2.0±1.7nmol/L であったことを示している¹³⁾。また、高齢者のコルチゾール濃度に関連した先行研究では、Meulenberg らは、唾液の方が血液に比較して数値が低く、その割合は最高 50%も低い結果をもたらすことも中にはある⁹⁹⁾としている。新開や渡辺らの研究は、血清コルチゾールに比べて唾液コルチゾールは約 30 分の1の濃度で、両者はよく似た日内変動を示したと述べている¹⁰⁰⁾。

唾液コルチゾール濃度の判断について、Kirschbaum らは2つ以上の連続的に測定した結果の比較においては、少なくとも 2.76nmol/L および前濃度から 15%以上の濃度の増加がみられる場合は、分泌エピソードを意味すると述べており¹³⁾、これを参照した研究が目立つ。さらに、沖はキット間の誤差を考慮に入れ測定結果をみていく必要性を述べ、少なくとも 10%程度の幅をもって判断することが必要であることを示唆している¹⁰¹⁾。

その他、コルチゾール濃度に影響する要因についてダワイス(Dawes)らは、健康者であっても前日からアルコールや喫煙を避けること、また抗痙攣薬、甲状腺ホルモン剤、抗うつ薬を服用している対象者は測定結果に影響を及ぼすことを指摘している¹⁰²⁾。また、コルチゾールの測定値を疾病の診断に用いる場合には、激しい運動を避けること、飲食・歯磨きは少なくとも採取1時間前には控えること、また、精神的および機能的な刺激を控えた環境を整えることが大切であるとしている。

そして、岡部は、高齢者の唾液コルチゾールの基準値については、真の健康な高齢者が非常に少ないため、老人ホームや病院通院患者などを対象としたサンプリングから求める方法が妥当であると述べている¹⁰³⁾。

6-7) 唾液腺の分泌メカニズムに関する研究成果と課題

唾液は、歯と口腔粘膜を絶えず潤す唾液腺の分泌液である。唾液腺は、耳下腺、顎下腺、舌下腺からなる三つの大唾液腺(左右に一对)と小唾液腺から成り、分泌液はそれぞれの腺からの分泌液と歯肉溝滲出液によってなる。そして、安静時における唾液の全唾液量に占める各唾液腺からの割合は、耳下腺 25%、顎下腺は 60%、舌下腺 7~8%、小唾液腺 7~8% であることが示されている¹⁰⁴⁾。

唾液腺の神経支配については、副交感神経と交感神経より二重支配を受け、唾液分泌は唾液神経核からの副交感神経のインパルスによって主にコントロールされる。唾液神経核は、ほぼ橋と脊髄の接続部に位置しており、舌やその他の口腔領域からの求心性の感覚線維を通した味覚刺激と機械的刺激によって興奮する。例えば、ストレスの多い状況では、唾液神経核の上位の中枢

による抑制の影響をうけて口腔乾燥がしばしば喚起される。交感神経の刺激は、副交感神経刺激より遥かに少ない刺激により唾液分泌速度を上昇させる¹⁰⁹⁾。

唾液分泌のメカニズムについては、唾液分泌を促進する主要な刺激が味覚であり、その求心路は顔面神経(VII)と舌咽神経(IX)を經由して延髄の孤束核に入力する。また、咀嚼刺激が特に重要な刺激である。神経支配について詳細にみると、舌下腺と顎下腺への副交感神経の遠心路は顔面神経に由来し、顎下神経節を經由する。耳下腺に入る遠心路は舌咽神経に由来し、耳神経節を經由する。これらの神経経路は、唾液腺腺房細胞の表面でアセチルコリン(ACh)を放出することにより水分分泌を調節することが示されている¹⁰⁵⁾。

分泌速度については、多くの要因が安静時唾液の分泌速度に影響を及ぼしている。水分量、身体の姿勢、光の状態、喫煙、生物学的リズム、薬物、精神的な刺激、機能的刺激などである。年間の体内リズムについては、耳下腺の唾液分泌速度の場合は冬にピーク値となることが示されている。また、夏は分泌速度が35%低下することが示されており、原因は体内水分量の減少によるものと考えられている。唾液分泌速度は姿勢によっても異なり、座位よりも立位の方が分泌速度は増し、臥位により分泌速度は落ちる。また、唾液も約24時間周期の生体リズムを有し、分泌速度は午後3時頃にピークに達し、一般に睡眠中はほぼ停止することが知られている。安静時に唾液の分泌速度の一時的な増加を引き起こすのは、嗅覚の刺激と喫煙の影響による。そして、分泌速度は安静時で0.3~0.4mL/分、刺激時で1.5~2.0 mL/分であり、1日につき約0.5~0.6Lの唾液が分泌される¹⁰⁷⁾。加齢に関する唾液分泌速度については、長い間加齢に伴って唾液は減少すると考えられてきたが、15歳以上の場合は年齢と無関係であり、安静時でも刺激時でも加齢によって唾液の分泌速度に影響を及ぼすことはほとんどないことが示されている¹⁰⁸⁾。

唾液に関する加齢変化については、唾液分泌量の減少(唾液腺機能低下)があるといわれており、一般的な症状として口腔乾燥がある。これらの症状は加齢とともに増加し、65歳以上では約30%に存在するといわれる。一方、歩行可能で且つ養護施設に入所している人々における口腔乾燥などの罹患率は16~72%と推定されている。口腔乾燥症の対策はあるものの直接的に改善につながっているかどうかについては今後の解明が期待されている¹⁰⁹⁾。また、唾液中のコルチゾールは唾液腺を囲む毛細血管内に存在する血液中遊離コルチゾールが、腺房細胞と細胞間結合部を透過して唾液中に拡散したものである。従って唾液中のコルチゾールは唾液生産量に影響されずに血中コルチゾールの変化を反映するとされている¹¹⁰⁾。血漿から唾液腺腺腔への輸送には、腺房細胞を経る方法と細胞間結合部を経る方法があり、腺房細胞の基底側膜には神経終末からアセチルコリンが分泌し、ムスカリン性アセチルコリン受容体に結合すると水分分泌の引き金となる。また、腺房細胞内で小器官の中に貯留される。タンパク質のリン酸化反応によって分泌が引き起こされ放出する。唾液腺腺腔側のタンパク質と相互作用することにより開口分泌に関与すると考えられているが、腺腔側のタンパク質についてはまだ明らかにされていない¹¹⁴⁾。唾液分泌の仕組みについてはまだ未解明な部分が残されている。

III. 研究の意義

今日、ストレスを感じている人が過半数を超え、ストレスに関連する心身の疾患や不調が大きな問題となっている。また、高齢者割合の急激な増加のなかで、伝達能力の低下している高齢者や伝達手段に課題をもつ対象者も増加しており、客観的かつ簡便な方法によりストレス状態を測定する方法が求められている。

本研究は、簡便で非侵襲的に採取できる唾液を検体とし、そのコルチゾール濃度を測定することで、客観的かつ簡便にストレス状態の評価を可能にしようとするものである。また、コルチゾールには日内変動や季節変動が存在することが知られているが、わが国の高齢者の唾液コルチゾールの日内変動や季節変動はこれまで明らかにされていない。本研究は、高齢者の唾液コルチゾールの日内変動や季節変動を明らかにし、これらの時間的秩序との対比により、唾液コルチゾール濃度をストレス指標とすることを可能にしようとするものである。

本研究により、唾液コルチゾールが簡便で非侵襲的なストレス指標となることが示されることにより、伝達能力の低下している高齢者や伝達手段に課題をもつ対象者の潜在的なストレス状態の把握、そして広く、心身状態の変化を知る手がかりになることに貢献できるようになり得るものと考えられる。

IV. 研究の目的

唾液コルチゾールを用いたこれまでの研究は、若年者や壮年者を対象としたものが多く、高齢者を対象とした研究は数少ない。また、イベント前後のコルチゾール濃度差に着目した短期的ストレス反応に関する研究は数多くみられるが、唾液コルチゾールの日内変動や季節変動の影響について考慮されていないものがほとんどである。さらに長期的ストレス反応に関する研究は、短期的なストレス反応についての研究に比較し数少ない。また、唾液コルチゾール濃度の評価基準が確立されていないことやストレス反応の時間潜時などから、ストレス評価指標として用いるためには明確にすべきことが多い。唾液コルチゾール研究の歴史は浅く、コルチゾールに関する標準化やストレス評価の実用化に向けての研究はまだ途上にあると考えられる。しかし、コルチゾールは、約 24 時間の分泌リズムによって昼夜の変化に合わせた活動と休息の諸機能を最適化することで生体機能に時間的秩序をつくりだしていることから、健康管理に役立つストレス評価指標を作成する試みは有効であると考えられる。

本研究は、高齢者の唾液コルチゾールの時間生物学的な基礎的変動要因を明らかにすることにより、ストレス評価指標としての有用性を確立することを目的とした。まず、研究 I では、高齢者の唾液コルチゾールの時間生物学的な基礎的変動要因を明らかにするために、有料老人ホーム入所者を対象として、唾液コルチゾールの日内変動および季節変動を明らかにすることを目的とした。

研究 II は、高齢者の唾液コルチゾールのストレス評価指標としての有用性を検証することを目的とした。研究 II では、森林浴による唾液コルチゾールの変化、および、運動を負荷した際の唾

液コルチゾールの変化, さらに, 運動を 3 ヶ月間継続することにより, 運動を負荷した際の唾液コルチゾールの変化がどう変容するのかを明らかにする過程において, 研究 I で明らかにした唾液コルチゾールの日内変動および季節変動の結果を考慮した検討を行った.

V. 研究 I : 老人ホーム入居高齢者の唾液コルチゾールの日内変動および季節変動

1. 目的

唾液コルチゾールは、簡便で非侵襲的、かつ客観的なストレスマーカーとして知られていることから、近年多くの研究で用いられるようになってきている。しかしながら、先行研究においては高齢者を対象とした唾液コルチゾールの研究が少ない。また高齢者のストレス評価については日内変動および季節変動の影響を十分に考慮されていないものがほとんどである。従って、ストレス評価の妥当性を高めるために、唾液コルチゾールの特性について詳細に確認する必要がある。

本研究では、唾液コルチゾールを高齢者のストレス指標として用いるための基礎資料として、高齢者の唾液コルチゾールが日常生活においてどのような日内変動および季節変動を示すかについて明らかにすることを目的に実施した。

2. 対象および方法

1) 対象者

群馬県の北部山間部にある介護付き有料老人ホームに入所する男女 150 名中、公募に応募した 18 名(男性 7 名, 女性 11 名), 平均年齢(±標準偏差) 79.0(±8.0)歳を対象とした。性別の平均年齢は, 男性 74.9±9.4 歳, 女性 79.8±7.7 歳であった。また対象者は, 身体的, 精神的な症状や苦痛の所見がなく, 食事, 入浴, 近所での買い物や散歩などの日常生活動作が完全に自立しており, また, 老研式活動能力指標の下位尺度の手段的自立得点が満点の高次生活機能が保たれている者とした。対象の主な日課は, 朝食 7 時半, 昼食 12 時, 夕食 17 時半に自立した入所者専用の食堂に出向いて取る食事時間を軸として, その間に, 散歩や知人との談話, 自室での読書やテレビ観賞, 施設内イベントへの参加などであり, 多様な過ごし方をしている。

自記式質問紙により把握した対象の生活状況及び医療状況については, 対象者全員が喫煙習慣および飲酒習慣はなく, 睡眠状態や食欲は良好で, 齲歯および口腔トラブルなく, 健康状態は良いと自覚していた。現病歴については, 高血圧 6 名(男性 3 名, 女性 3 名), 心臓疾患 2 名(男性 1 名, 女性 1 名), 前立腺肥大症 1 名(男性), 胃炎 1 名(女性), 顎関節症 1 名(女性)がみられた。服用薬剤については, 降圧剤・血管拡張剤(アダラート[®], ノルバスク[®], エースコール[®], ニューロタン[®], プレミネント[®], セララ[®], フルイトラン[®], アーチスト[®], シグマート[®]), 抗血小板薬(アンプラーグ[®]), 高脂血症治療薬(メバロチン[®], ルピディル[®]), 睡眠薬(ハルシオン[®], レキソタン[®], ベンザリン[®], マイスリー[®]), 胃腸機能調整薬(ガスモチン[®]), 下剤(マグミット[®], カマ[®])を使用していた。コルチゾールに影響を呈する可能性のあるクッシング症候群, アルコール多飲者, うつ病, 神経性食欲不振症, 先天性副腎低形成, 異所性 ACTH 産生腫瘍などの疾患¹¹¹⁾をもつ高齢者はいなかった。

2) 研究期間

本研究は 2009 年 9 月から 2010 年 8 月にかけて実施した。

3) 採取日の条件

各季節における唾液採取日の平均気温および日照時間は、「国土交通省地域別による気象観測データ調査の結果」を用いた。時期別の平均気温(±標準偏差)は、秋季 5.5(±2.9)度、冬季 4.4(±1.9)度、春季 17.8(±0.9)度、夏季 27.7(±1.5)度であり、日照時間帯(時間数/日)は、秋季 7-17 時(8.6 時間)、冬季 8-18 時(8.4 時間)、春季 6-17 時(9.8 時間)、夏季 6-17 時(9.9 時間)であった。

4) 唾液の採取方法

採取方法は、専用のサリベットを用い、口を軽く水で漱ぎ滅菌綿花を2~3分口に入れ唾液を浸み込ませ、専用のピンセットとシリンジにより1~2ml採取した。検体はすみやかに専用フリーザー(-20℃以下)に冷凍保存し、シーズンごと採取後7日以内にEIAにより濃度を測定した。採取時間は1日10回、6時(3回)、8時、9時、11時、14時、16時、19時、21時に採取した。初回の6時は練習を兼ねて連続3回採取しその平均値を求めた。採取時期は10-12月(秋季)、1-3月(冬季)、4-6月(春季)、7-9月(夏季)とし、その期間内の1日に日内変動に準じた同時刻帯で、一定の方法により唾液採取を実施した。

5) 分析方法

唾液コルチゾールを従属変数とし、性別、年齢、季節、測定時刻を独立変数とした一般線形モデル(General Linear Model: GLM)にて日内変動と季節変動の影響について検討した。なお、統計学的解析には、統計パッケージ IBM SPSS Statistics version 21 を用いた。

6) 倫理的配慮

施設玄関ロビーの掲示板で一般公募を行い、応募者に口頭および文書による説明を行い、文書による同意を得たうえで実施した。また、本研究は、桜美林大学研究倫理委員会の倫理審査を受け承認を得たうえで実施した。

3. 結果

1) 日内変動及び季節変動

Table 1 に唾液コルチゾールの日内変動および季節変動を男女別に示した。唾液コルチゾールの全平均濃度は、6時の初回が12.9ng/mL、2回目は13.2ng/mL、3回目は14.3ng/mLであり、これらの3回の平均濃度は13.5ng/mLであった。その後、8時は11.2ng/mL、9時は10.3ng/mL、11時は8.8ng/mL、14時は7.8ng/mL、16時は6.8ng/mL、19時は5.3ng/mL、そして21時の4.2ng/mLと朝から夜にかけて漸次下降した。季節変動については、秋季に最も高濃度を示し、夏季に最も低濃度を示した。また、Fig. 1 に示したように、各季節の日内変動は、いずれも同様に早朝に高濃度であり漸次下降を示した。

2) 多変量分析結果

Table 2 に一般線形モデルによる唾液コルチゾールの関連要因の分散分析表を示した。主効果では、年齢、性別、季節、測定時刻のいずれも唾液コルチゾールに有意に影響していた。これら

の唾液コルチゾールに影響する要因の主効果の偏回帰係数(B)を Table 3 に示した。年齢が上がるほど唾液コルチゾールは高くなる傾向を示し、年齢の B は(0.115)であった。

性別では女性に対する男性の B は(3.782)と有意に高値を示した。季節では、夏季に対する秋季の B は(2.026)と有意に高値を示した。冬季および春季の B は夏季より高値を示したが、統計学的には有意ではなかった。測定時刻では、21 時に対する 6 時の B が(9.257)、8 時の B が(6.360)、9 時の B が(5.137)といずれも有意に高値を示した。11 時(B=4.323)および 14 時(B=3.940)の 21 時に対する B も高値を示したが統計学的には有意ではなかった。

交互作用についてみると、性別と時刻の交互作用が有意に唾液コルチゾールに影響していた (Table 2)。交互作用の内容を検討するため Fig. 2 に唾液コルチゾールの日内変動を性別に示した。男性に比較して女性は、早朝の 6 時に 14.8ng/mL と高濃度を示した後、9 時に 9.2ng/mL と急激に低下し、その後漸次下降を示した。一方、男性では 6 時の 11.8ng/mL から 9 時の 11.8ng/mL までほぼ横ばいの濃度を示した後、漸次下降傾向を示した。性別と季節、季節と測定時刻の交互作用は認められなかった。

4. 考察

超高齢社会のただ中であって、自ら体調の変化に気付けない高齢者あるいは伝達能力の低下や伝達手段に課題をもち、意思疎通が困難な対象者の潜在的なストレス状態を把握する方法として、客観的に評価できるストレス指標の開発が求められてきた。1980 年代以降、血清や唾液のコルチゾール濃度は客観的なストレス評価方法としてしばしば用いられている。例えば、健全な若者による 5km の走行後に唾液コルチゾール濃度が 2.5 倍に増加したとする身体的ストレスに関する報告⁹³⁾や、僅か 6 分間の一桁の単純計算タスクにおいて唾液コルチゾール濃度が上昇したとする精神作業による軽度のストレス反応に関する報告¹¹²⁾がある。これらは、実施した事柄によるストレス反応の強度や変化の有無について客観的に測定できる可能性を示した。しかし、ストレス評価に当たっては、ベースラインとなる実施前コルチゾール濃度が示す数値の意味について評価を行っていないものがほとんどであった。ベースラインとなる実施前濃度は、その時の基礎となるストレス状態を反映し、実施前のストレス状態は実施前の心身の健康状態を把握する上で貴重な資料となるため、重要であると推察される。

1) 唾液コルチゾールの日内変動について

唾液コルチゾール濃度は、高齢者においても早朝に高く、夜間に向かって漸次下降する傾向を示した。他の年齢集団を対象とした先行研究と比較すると、Kirschbaum らが、学生 48 人と母親 54 人を対象に 3 日間にわたり測定した唾液コルチゾールの値は、個人内変動はあるものの、早朝は 3 日間ともに全員が安定して高濃度を認めたと報告している⁵⁶⁾。また、唾液コルチゾールの個人内変動を検討するために健康な若者 5 名を対象者に 5 日間、日中 2 時間ごとの測定を実施した Walker らの研究結果でも、唾液コルチゾール濃度は早朝に高く、漸減して夜間に低下を示して

おり⁵⁷⁾、本研究はこれらの結果と一致するものであった。また、Nicolsonらは、40歳以上70歳代までの高齢者を含む対象者に対して朝8時、午後4時、夜9時の3回の唾液コルチゾール濃度の測定を行い、8時の濃度は午後より高濃度を示し、夜9時は低濃度であったことを示している⁸⁷⁾。これらの若年者および中高年者を対象とした従来の知見に加え、本研究では後期高齢者を含む高齢者においても、唾液コルチゾール濃度は早朝高く、夜間に向かって漸次下降する日内変動を有することを明らかにした。

2) 唾液コルチゾールの季節変動について

本研究により高齢者における唾液コルチゾール濃度は、秋季に最も高く、夏季に最も低い季節変動があることが明らかとなった。そして、いずれの季節においても早朝に高濃度を、夜間に低濃度となる日内変動を示した。唾液コルチゾールの季節変動に関する先行研究は数少なく、男子大学生10名という若年者を対象として、コルチゾールの日内変動の季節差について調査検討した本間らによる研究では、夏季に比較し冬季には有意に位相が後退することが示され、その原因は日照時刻の変化にあると考察されている¹¹³⁾。このように、本間らは冬季に高いとする結果を報告しているが、筆者らの研究では秋季に最も高い唾液コルチゾール濃度を示した。マサチューセッツ大学の行動神経学研究所で22歳から70歳までの女性72名、男性75名を対象としたKingらの研究では、唾液コルチゾールは秋季と冬季に最も高く、春季と夏季に最も低いことが示され、その原因として、日照時間や気温、うつ病や感染症、および心血管疾患とグルココルチコイドレベルが関連することを考察している⁶⁹⁾。本研究における秋季とは10月から12月の時期を設定しており、秋季と冬季の差が日照時間差は0.2時間、平均気温差は1.1度であり、ほぼ同条件であったことから、本間らの報告とも矛盾しないものと考えられる。

季節変動の背景を考える際、生理学的に懸念されやすい、唾液の分泌速度の遅延が夏季の暑さによる脱水によって引き起こされるということではなく、また、分泌速度はコルチゾール濃度に影響することがないことが明らかにされていることから、季節の変動に伴う他の変動要因を考慮する必要があると考えられる。本間らの研究において冬季に最も高いとする結果を導き出した被験者は若者であり、本研究において秋季に最も高いとする結果を導き出した被験者が高齢者であることから考えられることは、冬季と秋季との季節差の違いのみならず、日照時間と気温差の変化の背景について注目する必要がある。それは、夏季から秋季に向けて変動する日照時間および激しい気温差に適応するために生体が受けるストレスと、秋季から冬季に適応するために受けるストレスとでは前者のストレスが大であることが推察される。若者より高齢者の方が適応力の低下を伴うことから、夏季から秋季への日照時間差1.3時間、気温差平均22.2度の大きな環境の季節変動幅は、高齢者の方により大きなストレス反応をもたらしている可能性がある。

3) 唾液コルチゾールの年齢特性について

加齢による唾液コルチゾール濃度の変化はないとする報告が多いものの、先行研究において

は、多様な結果が示され統一した見解が得られていないことが明らかにされていた。本研究結果では、高齢者の唾液コルチゾール濃度は加齢に伴って増加することが示された。年齢が唾液コルチゾールに及ぼす影響について類似した知見に、中高年者を3つの年齢層に分けて調査した結果、唾液コルチゾールが加齢に伴い上昇したとする Nicolson らの報告がある⁸⁷⁾。この報告では、普通に日常生活を営んでいる高齢者を対象として、8時、16時、21時に採取した唾液のコルチゾール濃度を他の年齢層の対象のものと比較した結果、8時の濃度は、40歳代の平均濃度が11,3nmol/L、50歳代の平均濃度が12.5nmol/L、70歳代以上が15.5nmol/Lと加齢によって上昇することが示されている。その理由としては、加齢によって基礎的なHPA系全体の活動性が上昇すると考察されていた。これらの対象者よりもより高齢な者を対象とした本研究において、さらに高濃度を示した背景も同様の理由によるものと推察される。

さらに、本研究では高齢期においても年齢が上がるほど唾液コルチゾール濃度が上昇することが示されたことから、唾液コルチゾール濃度の評価に際しては年齢差についても考慮する必要があることが示唆された。加齢による変化は殆ど示さないとする先行研究結果についてみると、Brandenbergerらの研究では調査対象者の年齢が20～26歳という比較的若い年齢層を対象とした研究であったことが影響していると考えられる⁷⁷⁾。年齢差について検討する場合には、比較対象とする対照群の年齢や年齢幅の分布に注意する必要があると推察された。

4) 唾液コルチゾールの性差について

唾液コルチゾールの性差を検討した先行研究の結果は、男性は女性よりも高濃度を示すとしたものから、ストレスに対して同様の反応を示すなどさまざまであり、統一した見解が得られていないと考えられた。本研究において、女性の唾液コルチゾール濃度は早朝に最も高濃度を示した後に急激な下降曲線を描いたのに対し、男性の唾液コルチゾールの低下は緩やかであり、男女共に日中は安定し横ばいに近い曲線を示すことが確認された。加齢に伴って女性の唾液コルチゾール濃度は低下する、あるいは安定するというBrandenbergerらやLaudat⁸⁶⁾の報告があり、本研究の日中における結果については類似しているといえる。また、20～50代の就労者の男女を対象に1日5回、起床時、朝食前後、昼食前後、16時に唾液を採取した研究結果では、休日の変動では起床時はわずかに女性が高く10時以降は男性が女性より僅かに高値を示しており、高齢者を対象とした本研究結果と類似した結果を示している¹¹⁴⁾。

早朝のコルチゾール濃度が高い場合、背景として不眠や苦痛、光との関係などによる反応があることが考えられている。しかし、本研究中においては、不眠や苦痛を訴えた高齢者はいなかったことから、女性のコルチゾール濃度が早朝に高かったことについては、光などの環境要因による影響ではないものと推察される。唾液コルチゾールの性差の背景を考える際には、ストレス反応の性差についても考慮する必要がある。社会的心理的な性別役割分業による視点からみると、ストレスが一般に高いと思われるのは、女性、低所得者、無配偶者などであるとみられる傾向がある。従って、加齢によって女性の日中の唾液コルチゾールが安定あるいは小さくなることは、性

別役割分業における役割が減少している可能性も考えられる。さらに、役割を終えて自分のやりたい事に自ら参加している場合にはストレスとはならないか、あるいは小さいストレスでしかないことも推察される。

女性はケアの提供という社会的役割によって不快なストレスを示すこともあるという解釈もなされるが、男性では無配偶者による家事の負担が結婚によって低下する可能性があるなどの理由による変動があるとみられている。本研究においては、女性は施設内では食事や洗濯による強制される家事はなく、男性もまた食事などの基本的な生活行動は施設によって管理されていることから、こういった影響は少ないと考えられる。本研究の唾液コルチゾール濃度は身体的因子や社会的環境因子によるストレスの影響は比較的少ない状況において示された結果であるが、朝の整容や家事など女性に多くみられる生活行動は、本研究で示された性差に何らかの関与をしている可能性がある。

男性のコルチゾール濃度が比較的安定していることについて、Brandenberger らは、若者を対象に1日3回測定した結果から、男性の唾液コルチゾール濃度の日内変動は小さい幅で安定していることを報告している⁷⁾。本研究においても、被験者の施設における生活行動は心身ともに安定した状態で実施されたと考えられる。

本研究結果より、唾液コルチゾールの変動を検討する際には、性差と測定時刻帯を念頭において検討する必要があることが示された。

5) 唾液コルチゾールの日内変動における大小の変化について

Table 1 に示した唾液コルチゾールの総平均濃度は、日中の9時以降21時までの時刻の間、2時間に約1.0ng/mLの下降を示した。一方、季節変動をみると、四季の日内変動においては大小の変化が生じている。それらの変動がどのような現象を意味しているかについて考える。まずは、14~16時ごろに認める小さな唾液コルチゾール濃度の上昇である。次に、女性の早朝に顕著に示された唾液コルチゾールの高濃度の現象であり、これらの現象について考察する。

(1) 午後のわずかな唾液コルチゾールの上昇について

本研究において、秋季の男女および冬季の男性の唾液コルチゾール濃度が14時~16時頃にわずかに上昇を示した。このような現象をKirschbaum らも認めており、その理由を細胞性ストレス応答による活性酸素との関連で説明している¹³⁾。

活性酸素は、生物がミトコンドリアにおいて酸素を水に変換する過程でエネルギーを得る際に不可避免的に産生される。また細胞外からの刺激によっても発生する。生体には酸化された分子を還元する抗酸化防御機構が備わっており、酵素反応と抗酸化物質によるものがある³⁵⁾。酵素反応とは、余分な活性酸素を酵素の働きで還元あるいは消去する反応であり、その抗酸化酵素にはカタラーゼやペルオキシターゼなどの活性酸素を無害化する酵素がある。また、活性酸素によるストレスの程度は活性酸素の産生と抗酸化防御とのバランスで決まると考えられている。細胞内酵素

で分解しきれない余分な活性酸素の増加によって細胞を傷つけ生活習慣病などの疾病を増加させてしまう原因となることが知られている。

生物学的には、抗酸化能の日内変動は、早朝から昼間の特に午後3時付近で最も高くなり、逆に夜間は低くなることが示されている³⁵⁾。抗酸化能の日内変動に関する研究では、15～16時以外に午前8～9時、11～12時、20～21時にも「比較的小さな変化(relatedly small changes)」がみられることを挙げており、日内変動を測定する場合にはこの時刻においても測定した方が良いことが提案されている¹³⁾。

本研究における唾液コルチゾール濃度の「比較的小さな変化」を詳細にみると、男性において秋季と冬季の8時と冬季の11時、16時にわずかに上昇をみている。女性においては16時にわずかに上昇しているものの、平均濃度は男女ともに経時的に漸減する下降曲線を示している。このことから、Kirschbaumらの研究に類似しているものもあるが一致しているとは言えない。

本研究においては、限られた季節の主に15～16時に小さな変動がみられたことは、対象者の年齢が高いことによることも考えられ、他の先行研究でも示されていたように高齢者の場合は日中の変動差が小さく安定していることによるものと考えられる。また、これらの唾液コルチゾール濃度の上昇が秋季及び冬季に生じている理由としては、唾液コルチゾール濃度の水準が高い時期に集中していることから、環境の温度変化に対応するための身体的、心理的な適応反応であることが推察された。また、季節変動に基づく環境要因によるストレスに加えて、覚醒からの経時的な細胞レベルでの身体的な適応によるストレスの影響による可能性も考えられる。

(2) 唾液コルチゾールの早朝高濃度(Cortisol Awakening Response: CAR)について

早朝にコルチゾールが高濃度を示す反応はCortisol Awakening Response (CAR)と呼ばれている。この反応は、断眠生活下でもコルチゾールの日内リズムが起床時に相当する時刻にピークを迎える概日リズムがみられることから、内因性のものと考えられている³⁵⁾。加えて、先行研究においては次のような理由が示されている。例えば、起床前の光刺激がコルチゾール濃度を高めること¹¹⁵⁾、疲労感、喫煙、睡眠時間や継続した睡眠の質、肥満などの心理社会的変数と関係があること¹¹⁶⁾、睡眠との関係において被験者の78%に覚醒直後の濃度に変動が確認され、その変動の理由に睡眠の質や疾病と関連したことが説明されている¹¹⁷⁾。さらに、心理社会的変数との関連においては、ストレスフルな女性群は低ストレス群と比較して起床30分後の数値が高いこと、勤務日というだけで高濃度となることなど、明らかに仕事に対する要求度の高さが早朝の唾液コルチゾール濃度の高さと相関していること、仕事の報酬が高い人ほど起床時の唾液分泌が多いことなどが報告されている¹¹⁸⁻¹²¹⁾。生理学的には、Eva Friesらは、人間が覚醒直後に示すCARは覚醒後の健康状態やその日の仕事や行事に対する予期的反応として海馬を刺激すること、脳の扁桃核、前頭葉皮質、視交叉上核などの刺激により反応を引き起こすことが主要な要因であると報告している¹²²⁾。

これらのことから、早朝に唾液コルチゾールが高濃度を示すことに対する見解には、睡眠の質

を含む覚醒に至るまでの事柄の影響と、覚醒直後からそれ以降の事柄に対する予期的刺激による影響の2側面からとらえられると考えることができる。

本研究における女性の対象者の場合、知見にあるような喫煙、睡眠時間や睡眠の質、肥満、仕事との関係で生じるストレスフルな状態の存在については考えられない。基礎調査の結果からは喫煙習慣のある対象者や肥満の者はおらず、睡眠の質に関する不眠を訴えた者もいなかった。本研究におけるCARの理由として推察されることは、睡眠の質や光による環境要因、脳の機能による影響が考えられる。後者としては、個別的で自発的な役割意識などによる1日の始まりとしての予期的刺激が海馬を刺激し、脳機能が生体を生活行動に適応させるための精神生理学的な準備反応あるいは予期的ストレス反応を引き起こしていることが考えられる。

6) 唾液コルチゾール値の日内変動と日常生活行動との関連について

コルチゾールの生体反応に関する基礎的研究は、全ての日常生活を遮断した状態において行われることが望ましいとされる一方で、ストレスは日常的なものであることから、日常生活における状態でのコルチゾール反応を測定する意味も同時に必要であるとする考え方がある。しかし、被験者の測定背景を整えるためには、高齢者を対象とする調査方法の基本として施設を利用中の高齢者を対象とすることが望ましいと考えられており¹⁰³⁾、本研究においては有料老人ホームに入所中の自立した日常生活を送っている高齢者を対象とした。

本研究結果から、食事や排泄、衣生活、こまごまとした散歩や趣味などの通常の日常生活動作は、唾液コルチゾール濃度の日内変動曲線に大きな影響を及ぼさないものと考えられた。例えば、被験者の主な日課にある食事(朝食7時半、昼食12時、夕食17時半)は唾液コルチゾール濃度に影響を及ぼしていないと考えられた。日内変動における小さな変動については活性酸素による細胞性ストレス応答の影響であり、昼食の影響については3時間の時間差から考えて影響があるとは言い難い。8時と9時の唾液コルチゾールの結果は、朝食直後および朝食後30～60分後の濃度であり影響を及ぼす可能性がある。しかし、14時の調査は昼食後約1.5～2時間後の結果であり、夕食は19時の調査が食後約1～1.5時間後の結果であることから影響は受けず、21時に至っては同様に全く食事による影響は考えられない。

7) コルチゾールのストレス反応の対処メカニズムについて

本研究の結果から、日常生活上で生じているこまごまとした言動や感情によるストレス反応は、生体リズムの最適化によって調整されているものと考えられた。この場合の最適化とは、その人の生命体としての目的である健康状態を最も効率的に元の状態に取り戻すことであり、生命体としての肉体を導く健康な精神を調整する機能がイメージされている。

ストレス反応においては、交感神経-副腎髓質(SAM)系および視床下部-下垂体-副腎(HPA)系の2種類のストレス反応経路が賦活化される。また、内分泌系の機能維持に最も重要なメカニズムであるフィードバック機構が視床下部と下垂体前葉に作用し、CRHおよびACTHの分泌を抑制す

るように働く。

日常生活動作やその時々が生じた感情に対するコルチゾールが、刺激を受けてからどのくらいで反応を示すかについては、HPA系の活動を評価する3つのテストを用いて明らかにされている。Kahn や Kirschbaum ら、そして Lehnert らは、CRH テストを実施し、合成 h-CRH100 μ g を注入後 60~180 分間に渡り 10~15 分間隔で 5~10 分間の唾液分泌が起こることを報告した¹²³⁾。ACTH テストについては多くの研究者によって実施され、250 μ g の合成 ACTH を筋肉または静脈注射することによって、60 分後に唾液コルチゾールはピークに達することが知られている。また、唾液コルチゾールのピークは、コルチゾールの迅速な唾液への移動により血清コルチゾールのピークの 1~2 分後に観察されることが報告されている。

コルチゾールのストレス反応が ACTH を介する間接的なものであることからストレス指標として不適切ではないかと疑問視されることがある。しかし、血中のコルチゾールの半減期は 1.4~3 時間であり経時的採取による活用は臨床上問題ないとされている。測定する対象のストレスサーが生体を与える影響の全貌を把握するためには、時間を追って測定することでそのストレスの強度やピークを知ることができる。目的の対象となるストレスサーが唾液コルチゾールに反応を示すかどうかを確認する場合は決めた時刻に測定することで目的は達成される。調査の条件や状況を十分に整えた計画による実施が大切であると考えられる。

8) 日内変動および季節変動を考慮したストレス評価について

唾液コルチゾール濃度をストレス指標として用いるために客観的な判断をするためには、唾液コルチゾール濃度の正常値や変化量の意義について検討する必要がある。唾液コルチゾール濃度の正常値について報告をした研究は少なく、市原が示した 5~25 μ g/dL と、Ferguson らが示した 2~20 nmol/L が代表的なものである。唾液コルチゾール濃度の単位が質量濃度であらわされたり、モル濃度であらわされたりするため、使用する際には注意する必要がある。先行研究で唾液コルチゾール濃度に用いられている単位は、[μ g/dL] や [μ g/mL]、[ng/mL]、分子量を用いた [nmol/L] など多様であり、換算が必要であることが使いにくさの一つになっているものと考えられる。本研究では唾液コルチゾールの単位として ng/mL を用いた。単位を換算し結果を先行研究のデータと比較してみることとする。市原が示した正常値 (5~25 μ g/dL) を ng/mL の単位であらわすと、0.5~2.5 ng/mL となる。また、Ferguson らが示したモル濃度を用いた正常値 (2~20 nmol/L) を ng/mL の単位であらわすと、分子量 27.59 を用いて換算すると、0.7~7.3 ng/mL となる。Kirschbaum らの研究で示された、成人の午前 7 時から 9 時の平均唾液コルチゾール濃度 14.3 \pm 9.1 nmol/L は約 5.2 \pm 3.3 ng/mL となる。また、午後 3 時から 5 時の平均濃度 4.5 \pm 3.5 nmol/L は 1.6 \pm 1.3 ng/mL、午後 8 時から 10 時の平均濃度 2.0 \pm 1.7 nmol/L は 0.7 \pm 0.6 ng/mL となる。これらのことから、本研究で示された高齢者の唾液コルチゾール濃度は総じて先行研究で示された正常値より高い数値を示しているといえる。

唾液コルチゾール濃度の変化の判断について Kirschbaum らは、2つ以上の連続的に測定した

結果を比較する際には、少なくとも 2.76nmol/l(=1.0ng/mL)あるいは前値から 15%以上の濃度の増加がみられる場合は分泌エピソードを意味すると述べている¹³⁾。さらに、沖はキット間の誤差を考慮に入れる必要性を指摘し、従って少なくとも 10%程度の幅をもって判断することが必要であることを示唆している¹⁰³⁾。

多くの先行研究において、小児から成人までの年齢層で、唾液コルチゾール濃度は早朝に高く、夜に向かって漸減する下降曲線を描くことが報告されていた。本研究の結果、高齢者の唾液コルチゾールの総平均濃度も、早朝に高く、日中は夕方に向けて漸減することが明らかになった。6時から21時の日内変動の幅は、男性で平均6.3 ng/mL、女性で平均11.7 ng/mLと非常に大きなものであった。また、夏季は秋季に比較し平均約 2.3 ng/mL、冬季や春季に比較し平均約 1.6 ng/mL 低値を示すことが明らかとなった。これらのことから、唾液コルチゾールをストレス評価の指標として用いる際には、測定時刻帯や測定した季節を考慮することによって、濃度の高低の意義を検討する必要があると考えられる。本研究で明らかになった知見をもとにすると、過去に実施された先行研究の唾液コルチゾール濃度やその変化を再検討することも可能となるものと考えられる。

9) 本研究の限界について

本研究では、被験者の日常生活状態を一定条件に整えることが必要であるという観点から施設利用中の高齢者を対象とした。また、生体リズムを測定する際にはできるだけ被験者を拘束しないことが必要である²⁰⁾ことから、今回は同施設に入所中の高齢者が無理のない普段の生活状態において調査を実施した。しかし、自由意志の参加者を対象としたため、対象者数は少数に留まった。また、自立した生活を送っている高齢者でも決められた時間での唾液採取は心理的なストレスとなった可能性も否定できず、本調査の限界と考えられた。

今後は、調査対象者数や調査場所を拡大し、本研究結果の普遍性を確認する必要がある。

10) まとめ

老人ホームに入所中の高齢者の日常生活における唾液コルチゾールの日内変動と季節変動を明らかにした。明らかとなった高齢者の唾液コルチゾールの変動要因を Table 4 にまとめた。

- (1) 高齢者の唾液コルチゾールは、四季を通じて早朝に高く、夜間にかけて漸次下降する日内変動を示した。従って、ストレス評価を行うにあたっては測定時刻を考慮する必要がある。
- (2) 高齢者の唾液コルチゾール濃度の年間を通じた分布は、6時では 13.5 ± 5.3 ng/mL、8時では 11.2 ± 5.7 ng/mL、9時では 10.3 ± 4.1 ng/mL、11時では 8.8 ± 4.2 ng/mL、14時では 7.8 ± 3.2 ng/mL、16時では 6.8 ± 3.6 ng/mL、19時では 5.3 ± 2.9 ng/mL、そして21時では 4.2 ± 2.6 ng/mLであった。
- (3) 高齢者の唾液コルチゾールの季節変動は、秋季に最も高濃度、夏季に最も低濃度を示した。従って、季節をまたぐような期間をおいた唾液コルチゾールの変化からストレス評価を行うに

あたっては季節の変動を考慮する必要がある。

- (4) 高齢者の唾液コルチゾールは、年齢が上がる程高くなる傾向を示したことから、ストレス評価を行うにあたっては年齢差についても配慮する必要がある。
- (5) 高齢者の唾液コルチゾールは、女性では早朝に高くその後急激に低下し、日中は男性が高濃度で推移する交互作用を示した。従って、ストレス評価を行うにあたっては性別と時刻帯の交互作用も考慮する必要がある。

VI. 研究Ⅱ：高齢者の唾液コルチゾールのストレス評価指標としての有用性の検討

研究Ⅰにより、高齢者においても唾液コルチゾールの明確な日内変動が認められ、また、秋季に最も高く、夏季に最も低い季節変動があることが明らかになった。そこで、高齢者に森林浴や運動を負荷した際に生じる唾液コルチゾールの変化を、時間的秩序と対比することにより、唾液コルチゾールをストレス指標として用いることの有用性を検討した。

研究Ⅱ-1：森林浴が唾液コルチゾールに及ぼす影響

1. 目的

森林浴とは、1982年林野庁によって「健康・保養に国内の森林を活用しよう」と提唱された際に用いられた造語である。これまで、森林浴が健康に影響を及ぼす効果は、軽運動による筋力・心肺機能の強化、リラックスによる前頭前野活動の鎮静化やストレス緩和による自律神経機能の改善、免疫力の改善など、多くの効果があることが知られている。しかし、森林浴に対するストレス効果は、外観的かつ主観的な健康イメージとしてとらえられてはいるものの、森林浴のストレス緩和効果を客観的に評価した研究はほとんどない。

本研究は、中高年者における唾液および血清コルチゾールに森林浴がどのような影響を及ぼすのかを明らかにすることを目的とした。

2. 対象および方法

1) 対象者

対象者は群馬県K村に在住する19名(男性14名、女性5名)で、平均年齢(±標準偏差)は58.3(±22.5)歳であった。対象を年齢別に成人群、年齢32.7±14.6歳、高齢者群、年齢75.0±3.7歳に分類した。夏季休暇中の1日および1週間後の1日に自主参加者を対象として実施した。

2) 研究期間

本研究は2009年8月中旬から下旬にかけて実施した。

3) 森林浴実施場所と実施日の条件

森林浴は群馬県K村の丘陵地帯で実施した。調査地の群馬県利根郡K村は、83%山林の豊かな森林環境にある。森林浴コースは、事前に村職員と現地調査を行い選定した。標高約100mの小高い丘での散策で、山頂では10分ほどの休憩をとり下山する約1時間の行程である。

森林浴日の条件は、天候は晴れ、気温30~32℃、湿度58~60%、風速0~4m/secであった。森林浴は、緑豊かな木々の間を通る歩きやすい土の歩道を30分ほど登り、山頂で休憩を取ったのち下山する、約1時間の行程で実施された。また、コントロールとした非森林浴日は、1週間後の同時刻帯に設定した。非森林浴日には、対象には森林浴を実施した時刻帯(午前11時~12時半)を、K村の公民館内において、テレビ鑑賞などによりくつろいだ状態で過ごさせた。非森林浴日の天候、気温・湿度および風速については森林浴日とほぼ同条件であった。

4) 唾液および血液の採取方法

最初に唾液採取を行い、次に血液採血を実施した。専用のサリベットを用い、口を軽く水で漱ぎ滅菌綿花を2~3分間口に入れ唾液を浸み込ませ、専用のピンセットとシリンジにより1~2ml採取した。検体はすみやかに専用フリーザー(-20℃以下)に冷凍保存し、採取後の7日間以内にEIAによりコルチゾール濃度を測定した。採血は、唾液採取後に実施し、その後すぐに遠心分離した後、唾液と同一の方法でコルチゾール濃度を測定した。

5) 分析方法

(1) 森林浴前後および非森林浴日の森林浴前後に相当する時刻のコルチゾール濃度の差をpaired-t testにて検定した。また、唾液コルチゾールと血清コルチゾールの関係についてはpearsonの相関係数を用いて統計学的検定を行った。

(2) 森林浴による唾液コルチゾール濃度の変化に、研究Iによって得られた高齢者の唾液コルチゾールの変動要因を照らし合わせ、森林浴によるストレス反応について検討した。

6) 倫理的配慮

K村の住民への一般公募により対象を募り、応募者に事前に説明会を開き、口頭及び文書による説明を行い、文書による同意を得たうえで実施した。なお、本研究は、群馬パース大学の倫理委員会の倫理審査を受け、承認を得たうえで実施した。

3. 結果

Fig. 3に、森林浴日および非森林浴日の唾液コルチゾールおよび血清コルチゾールの変化を示した。森林浴の実施前の唾液コルチゾール濃度は血清コルチゾール濃度より有意に高値を示した。唾液コルチゾールおよび血清コルチゾールは同様の変動を示し、両者の相関係数は0.58($p < .01$)であった。また、森林浴の実施前の唾液コルチゾール濃度は19.2ng/mLと、非森林浴日の同時刻の唾液コルチゾール濃度15.8ng/mLに比較し高値を示した。森林浴日には11時から1時間半で唾液コルチゾールおよび血清コルチゾールとも有意に低下し、森林浴後の値は、非森林浴日の同時刻の水準よりも低くなっていた。非森林浴日にも低下傾向がみられたが統計学的には有意ではなかった。

Table 5に、年齢別および性別に森林浴日および非森林浴日の唾液コルチゾールの変化を比較した結果を示した。いずれの群も森林浴日には、唾液コルチゾールおよび血清コルチゾールとも森林浴により有意に濃度が低下した。なお、血清コルチゾール濃度の方が唾液コルチゾールより2~4ng/mL低値で同様の変動を示した。

非森林浴日の前後比較においても森林浴日と同時刻の濃度は下降を示したが統計学的有意差は認めなかった。

また、森林浴日の森林浴の実施前の唾液コルチゾールは、女性が男性より高濃度であり、また森林浴後には女性が男性より低値を示し、変動幅は女性の方が有意に大きかった($p < .05$)。

年齢別比較では、成人群と高齢者群間に有意差を認めなかった。

4. 考察

森林浴には、軽運動による心肺機能の強化、リラックスによる前頭前野活動の鎮静化、ストレス緩和による自律神経機能の改善、好感イメージによる主観的健康観の上昇などの効果があることが知られている。しかし、高齢者において森林浴のストレス緩和効果について客観的に評価を行った研究はまだ少ない。

本研究は、森林浴が、高齢者の唾液および血清コルチゾールに及ぼす影響を明らかにすると共に、唾液および血清コルチゾール濃度を同時に検査することを通して、唾液と血清によるコルチゾールの相関関係を確認した。さらに、森林浴前後の唾液コルチゾールの変化を、研究 I で得られた唾液コルチゾールの日内変動および季節変動に照らし合わせて検討することにより、森林浴がストレス反応に及ぼす影響について考察した。

1) 唾液および血清のコルチゾール濃度の相関関係

Kirschbaum らが血清と唾液のコルチゾール濃度の相関係数が 0.54~0.97 であること、そして 80%が 0.90~0.97 であったことを確認した¹³⁾1980 年代以降、唾液コルチゾールと血清コルチゾールの相関については多くの研究によって確認されている。従って、唾液コルチゾールは最も非侵襲的かつ簡便な生物学的マーカーとして多く用いられるようになっている。

本研究で用いた採取および検査方法において唾液と血清のコルチゾールの相関係数の確認を行った結果、先行研究と同様に有意な相関関係を示すことが明らかにされた。また、本研究の結果では、血清コルチゾールより唾液コルチゾールの方が平均して高い濃度を示した。Vining らは、唾液コルチゾールは全体としては血中コルチゾールより高い値を示すことを報告しており¹²⁴⁾、本研究の結果もこれを支持するものといえる。先行研究では、血清よりも唾液コルチゾール濃度の方が低いとする研究結果もあるが、唾液と血清のコルチゾール濃度の相違に対する見解の多くは唾液採取方法の相違による影響について触れられている程度で、具体的な根拠について説明されているものは見当たらない。

唾液および血清コルチゾールの検査方法による相違については、血清コルチゾールの採取方法の相違が取り上げられることはない。しかし、注意点として早朝の安静、空腹時に採血することがあり、採血そのものがストレスを伴うものという課題を含んでいるといえる。一方、唾液の採取方法による相違については、キットの種類による相違があることが報告されている。キットの種類については唾液の採取方法の項で前述しているが、多様な採取方法による工夫や解釈を経て、綿とチューブがセットになっているサリベット(Salivette; Sarstedt 社)を用いる方法が今日では一般的になりつつある。また、個人間による濃度の相違については、個人によってストレスの時期やタイミングが異なることによる影響を反映しやすいことから、個人内変動を基礎とした健康管理に活用することが一層望ましいと考えられている。

本研究では、採血による苦痛の影響を考慮し、唾液を採取した後に血液の採取を実施した。

2) 高齢者の唾液コルチゾールの変動要因を考慮したストレス反応の評価の有用性

本研究において、唾液コルチゾール濃度は森林浴の実施前に比較して森林浴の実施後に顕著に下降を示したことから、森林浴にストレス緩和効果があることが考えられた。一方、森林浴の実施前の唾液コルチゾールレベルは非森林浴日に比較して高く、森林浴日には普段の日常生活に加えてさらにストレスが加わっていることが考えられた。この森林浴前の高い唾液コルチゾールレベルの背景について考察する必要がある。

本研究による森林浴前の唾液コルチゾール濃度は平均 19.2ng/mL であり、研究 I の結果と照らし合わせてみると、夏季の11時の平均唾液コルチゾール濃度(8.8ng/mL)の約2.2倍を示した。森林浴前の唾液コルチゾール濃度は非森林浴日の森林浴の実施前と同時刻の唾液コルチゾール濃度よりも高く、森林浴開始前には、日内変動や季節変動、さらには日常生活のストレスの影響を凌駕する何らかのストレス反応が生じていたと考えられる。

小山らは、高原地帯の歩行コースを歩行する森林部と、市街地を歩行するコースを都市部として、これらの歩行環境の違いによる唾液コルチゾール濃度の変化をクロスオーバー法により検討している。その結果は、「わくわくした群」より「落ち着いた群」の方が有意に低値を示した¹²⁵⁾と説明している。森林浴による身体的な活動に併せて精神的状態が大きく影響することを示唆している。森林浴に対する楽しみや喜び、何らかの期待感によるわくわくした気分を持つことによって唾液コルチゾール濃度は上昇し、一方、開放感や満足感、または安心感などの落ち着いた気分になることによって唾液コルチゾール濃度は下降を示したものと推察されている。本研究では心理面の調査を実施していないことから同様の変化とは言えないものの、森林浴実施前に高濃度であったことは、わくわくした気分に対応する心理的、精神的変化による気分の高揚などの可能性が考えられる。また、森林浴後の方が非森林浴後の唾液コルチゾール濃度よりも低濃度を示したことは、森林浴のストレス緩和効果が具体的に示されたと考えられ注目される場所である。

季節変動については、夏季は最も唾液コルチゾール濃度が低値を示す時期であることから、本研究で示された唾液コルチゾールの高水準の濃度はストレス反応の程度が高いことを示唆している。

性差については森林浴実施前の唾液コルチゾール濃度は女性が顕著に高いことが示されたが、森林浴の実施後には男性が女性より高い濃度を示していた。この唾液コルチゾール濃度の経時的な変化の性差は、早朝に女性が高く、日中には男性が安定して女性より高い反応を示した研究 I の結果と同様であり、唾液コルチゾール濃度の日内変動の男女差を表していると考えられる。高齢者女性の日常生活行動や物事に臨む際の姿勢には、自分自身の支度に関するだけでなく周囲への気遣いや状況への変化に対する対応が敏感であること、緊張感あるいは不安感が男性よりも高く、反応しやすい傾向があるように推察された。

このように、森林浴による唾液コルチゾールの変化を、通常の日常生活でみられる変動に照らし合わせると、とくに日内変動および季節変動、性差を考慮することにより、ストレス反応をより詳細に評価することが可能になることが示された。

3) 唾液コルチゾールの短期的ストレス評価指標としての有用性

森林浴によって唾液コルチゾール濃度は有意に下降することが明らかになった。このことについて、高柳らは、2つの異なる環境を設定し比較研究している。森林浴については、夏日の朝に秋葉原駅広場の都市繁華街に樹木および68m²の芝生を敷き詰めた緑陰環境を整え、また、コントロール群として同じ西口広場にテントを用意し、共に対象を1時間座位で過ごさせた。この結果、唾液コルチゾール濃度は緑陰群による環境において有意に下降を示したことから健康に好影響を得たとしている¹²⁶⁾。自然環境に準じた環境の設定および約1時間の調査時間、また時間帯が朝であっても夏季の暑い中で実施されていることから得られた結果である。

環境条件が精神安定に影響していることについて調査した他の研究では、林らが、晴天時と雨天時の森林内の光による環境の違いが及ぼす影響について調査し、明るい園路であっても暗い園路であっても唾液コルチゾールには変化がなかったことから、環境要因の中でも天候の影響を与えない状況もあることを示している¹²⁷⁾。また、森林による自然環境が健康増進効果やストレス緩和効果、精神的な疲労回復効果があることなどの報告がみられる¹²⁸⁻¹³³⁾。さらに、病室の環境が及ぼす影響について、ベッドの位置が精神面に及ぼす影響をみたものでは、ベッドが窓際にある場合と壁側にある場合では心理状態に違いがあることが報告されている¹³⁴⁾。

実施時間とストレス反応との関係からみると、高原地帯で20分間歩行を行った群と自転車エルゴメータを用いた有酸素運動を20分間行った群について、それぞれ変化が認められなかったことが報告されている¹³⁴⁾。また、新井らの研究においても、20分間自転車運動を行った群と読書群において実施前後の唾液コルチゾール濃度に有意差がみられていない¹³⁵⁾。これらのことから、20分間程度の歩行や有酸素運動、また20分間程度の読書や自転車運動による刺激は、唾液コルチゾール濃度に影響を与えにくいことが考えられる。少なくとも60分間程度、経時的な方法で観察することによって生体のHPA系の反応が得られるものと推察される。本研究においても同様の課題が残った。つまり、短期的なストレス反応に関する研究においては経時的な調査が有効かつ必要であることが示唆されたと考えられる。

唾液コルチゾール濃度が上昇する原因として、介入者による影響の可能性を示唆した報告がある。井川らの森林浴に関する先行研究において、単独散策と案内人が同行した散策の違いを比較した結果、案内人が同行した散策の方が単独散策よりも開始前の唾液コルチゾール濃度が高濃度を示し、散策後は案内人が同行した方が有意に下降を示したと報告されている。単独散策によるストレス反応の理由としては、非日常的である森林散策においては緊張感や不安感が増えることから唾液コルチゾールが上昇すると指摘している¹³⁶⁾。このことについては、本研究においても村役場の職員による案内人が同行し同様の結果を得ていることから、森林浴実施前に示された高濃度の理由には、案内人の存在も影響したことが考えられる。その背景として、非日常的な行動と案内人によって緊張感が増えることが理由となっていることに加えて、案内人の存在が単独で緊張感に影響していることだけでなく、最初の森林浴に対するイメージが、案内人の存在と非日常的な森林浴によって拡大されることがある。さらに次のイメージがより大きい次のイメージに増

大することによって参加者の緊張した気持ちが構成され、さらに次のイメージに作り変えられてゆくことによる安心感や満足感、あるいは緊張感や不安感などの心理状態に影響を及ぼしていたのではないかと考えられる。予測と現実が交叉しながら発展していくように推察される。

予期的なストレスに関する研究では、同じホテルに宿泊した被験者達は、翌日の行き先が決まっただけで、都市部に行く予定の被験者達は翌朝の時点でコルチゾール濃度が高まりをみせ、また森林浴に行く被験者達のコルチゾール濃度は安定していたことが報告されており、その理由として、被験者の主観的評価の影響が示唆されている¹³⁷⁾。このことは、本研究において、森林浴実施前に高濃度を示したことの背景の一つとなる可能性を含んでいると考えられる。快環境や仲間との交流による期待感や精神的活性化、森林浴への期待感などが森林浴前のストレスを高めることになるものと思われる。翌日の目的に対する準備行動は、森林浴または都市部に対するイメージを抱えて過ごすことから、当日の朝の気分を大きく左右し、快の感情でない場合には予期せざるを得ないイメージと現実との間を最適化するための葛藤や緊張感が生じると推察され、こうした心理状態と現実がストレスを形成しているものと考えられる。

これらのことから、短期的ストレスについては、晴天と雨天による光刺激の違いや、読書と自転車などのような20分以内の短期的、軽度の刺激においては唾液コルチゾールによる反応は弱く、夏季の朝といえども暑さの厳しい環境における刺激や他者との関係で意思決定を必要とするような刺激においては強い刺激となることが示されている。つまり、環境要因の影響の中でも、人的環境と自然環境による影響力の違いがあることが推察される。また、影響の仕方が異なることが懸念され、経時的な調査によってストレスによるストレスの反応の相違が分かる可能性がある。

4) 本研究の限界について

本研究で行った森林浴は、自発的な森林浴ではなく、介入による半強制的な森林浴が及ぼす影響についての調査であったことから、介入によるストレスの影響の可能性がないとはいえない。介入なし群を対比させることでさらに対象の主体性への影響の詳細が明らかになるものと考えられる。また、森林浴の影響については、森林浴が終了した後にさらに経時的に調査することにより、さらなる知見が得られる可能性もある。性別比較においては男女の対象数が異なっていたことも本研究の限界であったと考える。

5) まとめ

中高年者を対象として森林浴が唾液コルチゾールに及ぼす影響を明らかにした。とくに、唾液コルチゾールの日内変動と季節変動を考慮して高齢者のストレス反応を考察した。本研究では下記のことになった。

- (1) 高齢者の唾液コルチゾールと血中コルチゾール濃度の関係は、先行研究と同様に高い相関を示すことが明らかとなった。血清コルチゾールより唾液コルチゾールの方が平均して高いコルチゾール濃度を示した。

- (2) 森林浴日は非森林浴日と比較し、唾液コルチゾール濃度の低下の度合いが大きく、中高年者のストレス緩和効果があるものと考えられた。
- (3) 非森林浴日の結果は、午前が高く午後に向かって下降する日内変動の影響を受けていることが示された。この変動には研究 I の結果と同様の性差が認められた。
- (4) 森林浴による唾液コルチゾール濃度の変化には年齢の有意な関与を認めなかった。
- (5) 森林浴実施前に唾液コルチゾールが高濃度を示した要因としては、森林浴に期待する楽しみや嬉しさといった気分の存在、また森林浴に対する好イメージによる心理状態や案内人の同行などによる環境が影響している可能性が推察された。
- (6) 森林浴のような短期的ストレス反応による調査にあたっては、経時的調査が有効となる可能性が示唆された。

これらのことから、森林浴による唾液コルチゾールの変動について、日内変動および季節変動、性差を考慮して考察することにより、ストレス反応をより詳細に検討することが可能となることが明らかにされたと考えられる。

研究Ⅱ-2: 運動の継続が運動負荷時の唾液コルチゾールの変化に及ぼす影響

1. 目的

高齢者の急激な増加に伴い、支援や介護の必要な高齢者数が増加しており、厚生労働省の調査による要介護・要支援認定者数の変遷を見れば、2000年に約218万人であったものが2009年には約469万人に増加している。健康長寿を目指して、生活習慣病や糖尿病などの代謝異常によるメタボリックシンドロームの有病者数も増加の一途を辿り、予防対策が勧められている。一方、運動を始めた人でも継続する割合は、3～6ヶ月以内に中断してしまう人が45～50%と多いことから、継続困難な原因の追求や対策が急がれている。

こうした社会背景の中で、中高年者の健康増進対策として運動指導、栄養指導、温泉入浴による「総合健康増進プログラム“すぷりんぐ”」が複合的な介入プログラムとして開始された。このプログラムの理論背景には、運動と学習による総合的な学習を自ら積極的に取り組み、意欲的に実行することで自己に対する信頼感や自信を高めようとする“自己効力感”，継続した行動力を育てる“行動変容”を目指すバンデューラ(A. Bandura,)の理論¹³⁸⁾が用いられている。健康行動を個々の生活のなかにスムーズに取り入れて習慣化できるきっかけとするための支援活動として、支え合う仲間づくり、運動・栄養に関する知識や情報提供のための指導計画などが有効であると考えられる。

運動負荷によるコルチゾールの変化については数多くの研究が行われているが、運動負荷前後のコルチゾールの変化に及ぼすコルチゾールの日内変動の影響を考慮したものは少ない。また、運動を継続した場合に、運動によるストレス反応がどう変容するのかを検討した研究はみられない。そこで本研究は、運動によるストレス反応が、3ヶ月間の運動の継続によりどう変容するのかを、高齢者の唾液コルチゾールをストレス指標として用いることにより明らかにすることを目的に実施した。

2. 方法

1) 対象者

埼玉県の越生町、鳩山町、毛呂山町の広報に募集案内を出し、“総合健康増進プログラム”に応募登録した162名のうち、運動のみを継続して実施した、男性3名、女性13名の計16名を対象とした。年齢は54～82歳、 67.5 ± 6.9 歳(平均±標準偏差)である。内訳は、高齢者11名(70.7 ± 5.3 歳)、成人5名(60.4 ± 4.2 歳)である。

2) 方法

対象に対し、自重やセラバンドを用いた運動を、インストラクターの指導のもとに、1回あたり準備体操を含めて約90分間、週2回、2010年の7月から3ヶ月間行わせた。また、安全性の確保のため、事前説明、事前調査、オリエンテーション、また毎月1度の特別健康講義による個々の健康状態についての指導が加えられた。さらに毎回体調チェック表による体調の確認、運動前後の血圧測定を行い、運動前の血圧が収縮期血圧180mmHgおよび拡張期血圧110mmHg以上の場

合には運動を中止することや、水分補給について具体的な説明と確認が行われた。このプログラムは午前と午後に開催されており、午前と午後については無作為に分けられた。

3) 唾液採取方法

唾液の採取方法は、専用のサリベットを用い、口を軽く水で漱ぎ滅菌綿花を2~3分間口に入れて唾液を浸み込ませ、専用のピンセットとシリンジにより1~2ml採取した。検体はすみやかに専用フリーザー(-20°C以下)に冷凍保存し、採取後7日間以内に EIA により濃度を測定した。また、唾液の採取については、午前中の運動前(10時半頃)、運動後(12時頃)と、同様に午後の採取は、運動前(14時半頃)、運動後入浴前(16時頃)に実施した。

4) 分析方法

(1) 唾液コルチゾール濃度について、年齢区分別の比較および性別の比較は t 検定を用いて平均値の差を検定した。また、ベースライン時の運動のない講習日と運動日の比較、ベースライン時および3ヶ月後の運動負荷前の比較、ベースライン時の運動前後の比較、3ヶ月後の運動前後の平均値の差の比較は paired-t test を用いた。それぞれ、午前の運動、午後の運動別に比較した。

(2) 研究 I によって得られた高齢者の唾液コルチゾールの変動要因に基づき、運動のない講習日(コントロール日)、ベースラインの運動前後、3ヶ月後の運動前後の唾液コルチゾール濃度を検討した。

5) 倫理的配慮

本研究の実施にあたっては、公募により対象を募り、応募者に事前に説明会を開き、口頭及び文書による説明を行い、文書による同意を得たうえで実施された。また本研究は、東京都健康長寿医療センター研究所の倫理委員会の倫理審査を受け、承認を得たうえで実施した。

3.結果

Table 6 に、年齢別・性別・測定時刻別・測定時期別にみた唾液コルチゾールの総平均濃度を示した。年齢別比較では、成人群(54~64歳)より高齢者群(65~82歳)が有意に高値を示した($7.6 \pm 1.9 \text{ ng/mL}$ v.s. $10.8 \pm 4.8 \text{ ng/mL}$, $p < .001$)。

高齢者群のみについて性別の比較を行った結果では、女性より男性が有意に高値を示した($9.5 \pm 3.6 \text{ ng/mL}$ v.s. $14.0 \pm 5.9 \text{ ng/mL}$, $p < .05$)。

日内変動についてみると、午前の総平均は午後の総平均より有意に高値を示した($11.8 \pm 5.4 \text{ ng/mL}$ v.s. $8.9 \pm 3.6 \text{ ng/mL}$, $p < .01$)。

時期別に総平均濃度を比較した結果では、ベースライン時の運動のないコントロール日が $7.9 \pm 2.1 \text{ ng/mL}$ と最も低く、ベースライン時の運動日が $10.9 \pm 4.3 \text{ ng/mL}$ とやや高く、秋季に実施した3ヶ月後の運動日が $13.5 \pm 5.5 \text{ ng/mL}$ とともに高値を示し、ベースライン時より3ヶ月後の総平均濃度が有意に高濃度を示した($p < .001$)。

Fig.4 に唾液コルチゾールの運動前後の変化および 3 ヶ月間の運動介入前後の運動による変化を示した。

運動負荷による唾液コルチゾールの変化をみると、ベースライン時の午前の運動では 10.3 ± 3.9 ng/mL から 13.2 ± 6.7 ng/mL と有意に増加したのに対し、午後の運動では唾液コルチゾールの平均値はわずかに増加したもののその変化は有意ではなかった。

3 ヶ月間の運動介入後には、午前の運動、午後の運動とも運動負荷により唾液コルチゾールの平均値は低下する傾向がみられた。しかし、3 ヶ月間の運動介入後の運動前後の唾液コルチゾールの平均値には統計学的有意差はみられなかった。

3 ヶ月間の運動介入後の、運動前の唾液コルチゾール濃度は、ベースライン時より有意に高い水準となった(午前の運動前:ベースライン時 10.3 ± 3.9 ng/mL v.s. 介入後 15.8 ± 5.5 ng/mL, 午後の運動前:ベースライン時 8.45 ± 3.19 ng/mL v.s. 介入後 12.8 ± 4.1 ng/mL)。

4.考察

運動不足やストレスを感じている高齢者は半数を超えて多いことが知られている。そして、運動不足やストレスは、時には慢性疾患の発生を誘発することが知られている。従って、高齢者が定期的に適度な運動を継続することができるようにサポートすることは、ストレス反応の軽減や心理的安定の確保、自尊心の維持、慢性疾患の予防などにつながるという意味で重要であると考えられる。

総合的健康増進プログラム“すぶりんぐ”の介入運動プログラムにおいて、ベースラインと3ヶ月後の運動実施前後の唾液コルチゾール濃度を比較することをおして、運動の効果について考察した。さらに、唾液コルチゾールの運動前後の変化、運動を継続したことによる影響について、研究 I で得られた唾液コルチゾールの日内変動および季節変動に照らし合わせて検討することにより、運動によるストレス反応および運動の継続が運動によるストレス反応に及ぼす影響について考察した。

1) 運動によるストレス反応

ベースライン時において、本研究の運動介入プログラムによる運動は、唾液コルチゾール濃度を上昇させた。その上昇の度合いはとくに午前中の運動で大きかった。平常の生活では研究 I で示されたように午前中の唾液コルチゾールは大きく低下する。本研究においては、ベースライン時の運動のない講習日は、午前中の運動日と同時刻帯の唾液コルチゾール濃度はやや増加する傾向がみられたが、その変化は有意ではなかった。また、午後の運動日と同時刻帯の唾液コルチゾール濃度は低下傾向を示したが、その変化は統計学的には有意ではなかった。これらのことから、ベースライン時の午前の運動は、日内変動に逆行し大きく唾液コルチゾールを上昇させたことから、大きなストレス負荷となっていたと考えられた。

一方、ベースライン時の午後の運動では、唾液コルチゾールの増加は有意でなかったことから、

ベースライン時の午後の運動は日内変動を打ち消す程度のストレス負荷であったと考えられた。

運動による唾液コルチゾールの上昇は、短期的な比較的激しい刺激に対する反応として上昇を示したものと思われる。このことは、Cookらの5kmのマラソン走行前後による唾液コルチゾールの比較において、実施後に上昇を示したとする研究結果と類似するものである⁹²⁾。この場合のマラソンランナーは、それまで日々練習を積んできた走者達であるが、短期的ストレスの結果として唾液コルチゾールの上昇を示している。また、車いすマラソン競技実施前後を比較した結果の報告では、競技前日を基準として競技直前、直後、翌日の唾液コルチゾール変化を測定した結果、競技直後にピークを呈し、翌日には基準程度までに低下したこと、順位の優れている者は早く下降する傾向があること、その理由がトレーニングの結果であることを挙げている¹³⁹⁾。気候などの環境因子や体調などを含む身体的因子によっても影響することが推察される。さらに、トレーニングを重ねることによって早くコルチゾール濃度が下降する可能性を示唆していることは、注目すべき点である。

本研究において3ヶ月間の運動の継続により、午前・午後とも運動による唾液コルチゾールの変化は有意ではなくなったことから、運動の継続により、運動によるストレス反応が小さくなったものと考えられた。定期的な継続した運動習慣によって、運動を行った際の唾液コルチゾールの分泌反応について、RudolphやSothmannの研究ではコルチゾールやカテコールアミンが低下したことを報告している^{140,141)}。これらのことは、運動習慣のない者が運動を行うと、ストレス反応により唾液コルチゾールは増加するが、運動を長期的に継続することにより運動によるストレス反応は減弱することを示唆している。

3ヶ月間という運動期間は決して長い期間とはいえないが、運動を継続することの影響をとらえるには有意義であると考えられる。運動の継続期間に関して、Khatiriらは、実験的なストレス刺激として運動トレーニングを負荷し、心臓血管系と神経内分泌系に及ぼす影響を実験した結果、12～16週間の運動トレーニングにより、心拍増加反応や血圧上昇反応は減弱すること、またジョギング、自転車などの有酸素運動は、筋力トレーニングのような無酸素運動よりも一層効果的であることを報告している。しかし、身体活動や運動が日常生活にある心理社会的ストレスを軽減するかどうか調べた研究はまだない¹⁴²⁾。

高齢者について、運動の継続的なトレーニングがコルチゾールに及ぼす影響を検討した数少ない研究では、週2回、3ヶ月間にわたり、14時半から16時にストレッチを10分間と自転車エルゴメータ運動を10分間、計20分間実施した影響をみている。この結果は、トレーニング前後で唾液コルチゾールが下降したものの有意差を認めず、その原因については運動が低強度であったことによるものであると考察している¹⁴³⁾。唾液コルチゾールは漸減する日内変動を示すことから、この研究では運動の負荷強度が弱く、日内変動を凌駕して唾液コルチゾール濃度を上昇させるほどのものではなかったことが推察される。

運動は不安などに対して良好な効果を持つ一方、その実施方法によっては好ましくない効果をもつことが明らかとなっている。運動選手においては、過度の運動トレーニングや競技に対する心

理的負荷などにより、いわゆるオーバートレーニング状態の出現が報告されている。身体的愁訴としては、動悸、息切れ、立ちくらみ、不安、うつ、胸痛、手足のしびれ、不眠、血圧の上昇などが特徴的である。運動が快の刺激となるためには、初期のストレスを乗り越えて運動を継続することが要求されている。運動の強度に関する程度や持続時間については、その個人や集団の状況、特に運動への意欲が維持されているかどうかをサポートすることが大切であると考えられる。

本研究において、運動を継続することにより唾液コルチゾールの上昇反応がみられなくなった原因としては、短期的な比較的激しい刺激に対する反応として活性化させる HPA 系の反応において、運動を反復することにより、運動刺激による視床下部の CRH 分泌あるいは脳下垂体の ACTH 分泌の反応性を減弱させることが考えられる。

しかしながら、運動を開始して 3 ヶ月後の運動前の唾液コルチゾール濃度が、ベースライン時の運動前あるいは運動のない日より高濃度を示すことについてはまだ課題が残る。

2) 高齢者の唾液コルチゾールの変動要因を考慮したストレス反応の評価

本研究の結果、ベースライン時の運動後の唾液コルチゾール濃度は上昇を示した。しかし、運動を継続することによって、3 ヶ月後の運動後は運動前に比較し下降を示した。また、コントロール日の唾液コルチゾール濃度は、日内変動および季節変動による変動の範囲内にあり、午後に向かって下降する変動曲線上にあった。

ベースライン時における運動による唾液コルチゾールの上昇反応は、運動によってストレスを受けた身体を安定した状態に戻そうとする心身の反応であると考えられた。そしてまた、3 ヶ月間の運動を継続した運動前後の生体の変化は、毎回の運動の刺激によりストレスを受けた身体が、運動の刺激を受けた状態を通常のこととして認知した結果によるものと考えられる。

3 ヶ月間の運動の継続により、運動前の唾液コルチゾールはベースライン時に比較し 4～6ng/mL の高濃度を示したが、この高水準は、夏季から秋季にかけての変動(約 2ng/mL)よりもやや大きかった。この結果は、運動の継続が慢性的なストレス負荷となる可能性を示唆するものと考えられる。

3) 本研究の限界について

本研究は、ベースラインと運動を継続した 3 ヶ月後の運動による唾液コルチゾールの変化を検討したものであるが、3 ヶ月後の調査においてもコントロール日の調査を実施することで、季節変動の影響をさらに詳細に検討できたものと考えられる。今後は、年齢比較において対象となる成人の件数や調査場所を増やして実施することで結果の信頼性や普遍性を確認する必要がある。

4) まとめ

中高年者を対象として 3 ヶ月間の運動の介入を行い、運動前後の唾液コルチゾールの比較により、運動のストレス反応および運動を継続することによる運動のストレス反応への影響を検討した。

とくに、唾液コルチゾールの日内変動と季節変動を考慮してストレス反応を検討した結果、下記のこと明らかになった。

- (1) ベースライン時の午前の運動は、日内変動に逆行し大きく唾液コルチゾールを上昇させたことから、大きなストレス負荷となっていたと考えられた。
- (2) ベースライン時の午後の運動では、唾液コルチゾールは変化しなかったことから、ベースライン時の午後の運動は日内変動を打ち消す程度のストレス負荷であったと考えられた。
- (3) 3ヶ月間の運動の継続により、午前・午後とも運動による唾液コルチゾールの変化は有意ではなくなったことから、運動の継続により、運動によるストレス反応は小さくなるものと考えられた。
- (4) 3ヶ月間の運動の継続により、運動前の唾液コルチゾールは4~6ng/mLの高濃度を示したが、この高水準は、夏季から秋季にかけての変動(約 2ng/mL)よりもやや大きく、運動の継続はストレス負荷となる可能性が示された。

VII. 総合考察

コルチゾールはストレス反応の結果として分泌されるためこれまで数多くの先行研究においてストレス指標として扱われてきた。特に唾液コルチゾールは採取が簡便で非侵襲的であることからストレス指標として有用性が高いと考えられている。しかし、一方ではコルチゾールの分泌には時間生物学的な変動がみられる。唾液コルチゾールを簡便で非侵襲的なストレス指標とするためにはまず基礎的な変動要因を解明する必要があると考え本研究を着想するに至った。内分泌学的には、コルチゾールの分泌を促す CRH の発見は 1981 年のことであり、歴史の浅い分野であることもあり、唾液コルチゾールの特性や扱い方については課題も多い。また、従来のストレス研究の対象者は若年者や労働者が多いが、高齢者が著しく増加した今日、高齢者を対象としたストレス研究の必要性がますます高まっている。このような背景をふまえた本研究の目的は、日本の高齢者の唾液コルチゾールの日内変動および季節変動という時間生物学的な基礎的な変動要因を明らかにすることにより、ストレス評価指標としての有用性を確立することである。

本研究により、日本の高齢者において未解明な唾液コルチゾールの日内変動および季節変動が明らかとなり、唾液コルチゾールが簡便で非侵襲的なストレス指標となることが示されることにより、伝達能力の低下している高齢者の潜在的なストレス状態、心身状態の変化を知る手がかりになることに貢献し得ると考えられる。

まず、高齢者における唾液コルチゾールの日内変動と季節変動についての基礎的な研究を行い、明らかになった知見をもとに、森林浴や運動などのストレス刺激を受けた際の唾液コルチゾールの変動について考察し、高齢者の唾液コルチゾールのストレス評価指標としての有用性の検討を行った。これらの一連の研究によって示された知見について総合的な考察を加えた。

1. 高齢者の唾液コルチゾールの変動要因

研究 I では、高齢者においても唾液コルチゾールは他の年齢層の対象と同様に、早朝に最も高く夜に向かい漸次下降する日内変動を示すこと、また、この日内変動は四季をとおしてみられるが、秋季に高く、夏季に低い季節変動を示すことが明らかになった。唾液コルチゾールが漸次下降する日内変動を示したことから、平常の日常生活行動は、唾液コルチゾールに大きな影響を与えないものと考えられた。したがってこの平常時の唾液コルチゾールの日内変動・季節変動との比較によりストレス負荷の度合いを評価できるものと考えられた。また、研究 I では、女性の唾液コルチゾールは早朝に高濃度を示した後急激に下降し、男性より低濃度で漸減する時刻と性の交互作用があることも明らかになった。女性の唾液コルチゾールが早朝に高濃度を示す背景としては、整容や家事などの役割などの負担による影響が考えられた。また、唾液コルチゾールは年齢があがるほど高濃度を示す傾向がみられた。この背景としては、老化によるコルチゾールの反応性の低下による二次的なものである可能性も考えられた。

1) 森林浴による高齢者の唾液コルチゾールの変動

森林浴により唾液コルチゾールが大幅に低下したことから、森林浴にはストレス緩和効果があるものと考えられた。しかしながら、当初、森林浴の前後に示された唾液コルチゾールの濃度がどういう意味を示しているかについては不明確であり、また、下降したことの意味を明確には説明することが出来なかった。今回、研究 I により高齢者の各季節、各時刻帯の普段のコルチゾール濃度の目安が示されたことで、唾液コルチゾールの変動について客観的な判断をすることが可能になり、森林浴によるストレス緩和の効果であったかどうかについて見極めることが可能になったと考えられる。

唾液コルチゾールの水準が最も低い夏季において、約1時間の行程で案内人の同行のもとで行われた森林浴は、唾液コルチゾールの変動幅が日常生活でみられる日内変動の約2倍の大きさであったことが明らかになり、森林浴による軽運動によって本来の水準に下降したことが示された。これらのことから、ただ単に数値が下降したということだけであれば、健康に役立つ指標としてあまり役立てることが出来ないが、自分のベース・ストレスを知ることを通して活用範囲が拡大される可能性があると考えられる。また、唾液コルチゾールは森林浴によって明らかに大きな下降を示したが、コントロール群においても同時刻に下降を示した。森林浴の影響を受けない状況においてみられた唾液コルチゾールの下降は、午前から午後に向けて漸次下降する日内変動の影響を受けて生じていることが考えられた。森林浴による唾液コルチゾールの下降は日内変動の幅を超え非常に大きなものであったことから、森林浴のストレス緩和効果は大きいことが示されたといえる。このような、唾液コルチゾールの大きな変動は、従来の研究では、大きなストレス負荷刺激による短期的ストレス反応として唾液コルチゾールの増加という形でみられることが多かった。本研究では、日内変動を超える低下という現象を通じてストレス緩和効果の存在を検証できたと考えられる。

女性の森林浴実施前の唾液コルチゾール濃度が男性より高値を示したことは、研究 I で示された性差と共通していた。イベントに臨む際の緊張感や役割意識などによるストレス反応は男性より女性の方が大きいことを推察させる結果であった。

年齢比較においては、有意差は得られなかったものの、高齢者の方が成人より高い濃度を示し、下降幅は高齢者の方が大きいことが示された。研究 I において唾液コルチゾール濃度に及ぼす年齢の影響が有意であったことから、年齢によるストレス反応の差を検討する場合には、補正が有効であると考えられる。

森林浴による高齢者の唾液コルチゾールの変動を検証した研究 II-1 では、唾液コルチゾールと同時に、血清コルチゾール濃度を測定し、双方の相関についても検証した。先行研究では非常に高い相関係数を示したのもみられるが、本研究の相関係数は $r=0.58$ であった。安静時だけでなく森林浴を負荷した際の値も用いて相関係数を算出していることを考慮すると、唾液コルチゾールの変動が血清コルチゾールの変動を如実に反映していることを裏付けていると考えられる。

森林浴前の唾液コルチゾールの水準が高く、変動幅が大きくなった背景としては、森林浴に対

する期待感や案内人の存在などによる緊張感のあるストレス状態から、実際に行った際の安心感、仲間との交流による解放感などにより、ストレス緩和作用が大きく働いたものと考えられる。

このようなストレス緩和作用のある森林浴は、海馬などの脳神経機能にも良い刺激を与えるものと考えられる。海馬は、大脳の側頭葉内側の側脳室下角底部に位置し、エピソード記憶などの顕在性記憶の形成や保持に不可欠な部位であると共に、人間の情動の表出や意欲、記憶、自律神経活動に関与している部分である。ストレスが海馬にどのような形態的あるいは機能的な変化を起こすかについては、サルを用いて行われた研究がある。宇野らは、ストレスや薬物により上昇するコルチゾールが海馬の機能や形態的失調を起こし、海馬の機能の一端としてのコルチゾール分泌の調整、視床下部でのCRH分泌のnegative feedbackの減退を導き、コルチゾールの高値が遷延し、海馬の障害を起こすという悪循環を繰り返すことを報告している¹⁴⁴⁾。ケニアの霊長類研究所での研究において、仲間から脅かされ傷つけられて十分な餌を取れず1ヶ月足らずで死に至ったサルを解剖した結果では、慢性胃潰瘍、副腎皮質の肥厚、胸腺の萎縮など、Selyeの記載した記録に一致した典型的なストレス病変が確認されたと同時に、海馬に著明な萎縮と細胞数の減少、神経細胞の樹状突起の退縮を認められており、海馬の再生不能な変性と細胞消失が生前のコルチゾールの高値によるものと考察している。

海馬は、視床下部の高位にあって視床下部でのCRF分泌の調整を担う機能を有しているという報告がある¹⁴⁵⁾。ストレスを軽減することで海馬の機能も活性化され、前頭葉の機能である適切な判断に基づいた計画の立案や、順序性のある行動をとることが保持されてゆくことになる可能性が推察される。

2) 運動による高齢者の唾液コルチゾールの変動

単発的な運動による唾液コルチゾールの変動は、運動の実施前後の唾液コルチゾール濃度を、平常の日常生活時の唾液コルチゾールの日内変動と対比することにより明らかにすることができたと考えられる。一方、3ヶ月以上の長期にわたり運動を継続することによる運動開始前の唾液コルチゾール濃度の変化については、季節変動の影響を考慮して検討する必要があるものと考えられた。

これらのことから唾液コルチゾールをストレス指標として用いる際には、森林浴や運動のような単発的なストレス刺激による短期的ストレス反応をみる場合には、対照群を設定するとともに、とくに日内変動を考慮する必要があること、数ヶ月以上にわたる変化について検討する場合は、対照群を設定するとともに、季節変動の影響を考慮する必要があることが明らかとなった。また、ストレス反応の性差や年齢差を検討する際には、平常の生活時の唾液コルチゾールの変動にみられる性差や年齢差を十分に考慮する必要があることが示された。

2. 唾液コルチゾールの変動要因を考慮したストレス反応の評価

唾液コルチゾールの日内変動および季節変動を考慮してストレス反応を評価することの妥当性について述べてきた。森林浴のような短期的イベントの効果を確かめようとする場合には、判定時間によっては効果の発現結果に影響を及ぼすことがある。本研究の場合、森林浴終了後に1回の測定を実施した。しかしながら、森林浴終了後も継続して測定した場合には、経時的な変化の推移を知ることができ、森林浴効果の持続時間がわかることになる。短期的なストレス反応を検証する場合には、生体機能のメカニズムの発現時間を考慮する必要があると考えられる。

コルチゾールは脂質に溶やすく、脂質の豊富な細胞膜をとおして速く広まることが可能であり、血流によって唾液腺の分泌の腺房細胞へ運ばれ細胞膜を通り抜ける。また、ACTHの刺激を受けてから分泌反応にいたるまでの潜時がある。刺激から分泌のピークに達する時間に通常 20~30分、また刺激の内容によっては5~50分程度が必要であると言われており、ストレス反応の発現時間については未解明の部分もある。しかしながら、神経科学的見解では、正常なACTHの反応はHPA系および交感神経-副腎髄質系の2系統のストレス反応経路によってすみやかに賦活化され、最適化されることが明らかになっている。先行研究では6分間の単純計算タスクの場合でも、速やかに反応を示していることも事実である。速やかな唾液コルチゾール濃度の上昇が、精神神経学的な要素が大きいストレス反応によりもたらされるのか、あるいは逆に、身体的要素が大きい場合でも即効性の高い刺激として反応するのか、明確な解答は得られないが、ストレス反応の評価を行う際には考慮する必要があるのではないかと思われる。人間の心身の反応における「こころ」と「からだ」の刺激に対する反応は切り離して考えられない関係があることが学問的には明らかにされている。本研究II-2における運動の継続の影響でみられた反応も、運動を継続することによる身体的負荷と心理的負担の両面からの刺激がストレス反応として示されたものと考えられる。

これらのことから、短期的なストレスの状況を評価する場合には、経時的に実施前後の調査回数を増やすことで確実なデータを得ることができると考えられる。また、長期的なストレスの状況を評価する場合には、運動を行わない日の同時刻による調査を実施することで、ストレス反応を評価するための対比データを得ることができるものと考えられる。

心理的側面における評価が主観的判断に基づくものに対し唾液コルチゾールは生体のストレス反応を客観的にとらえられる。ストレス評価に唾液コルチゾールを用いた先行研究は、圧倒的に短期的ストレスに関するものが多いが、本研究結果より、適切な対照群を設定し、季節変動を考慮することで、長期的ストレスの評価を行うのにも有効な方法であると考えられる。

運動の効果としては、短期的恩恵として、リラクゼーションの強化、ストレスおよび不安の低減、気分の強化があげられ、長期的恩恵として、一般的安寧の獲得、メンタルヘルスの改善、認知機能の改善、運動の制御とパフォーマンスの向上および技能の向上が示されている¹⁴⁶⁾。本研究で認められた運動を継続することによるストレス反応の変化が、これらの運動の効果とどう関連しているかを検討することも今後必要と考えられる。

3. 唾液コルチゾールをストレス評価指標とすることの意義

研究Ⅱ-1により、高齢者においても唾液コルチゾールと血清コルチゾールの濃度は比較的高い相関を示し、唾液コルチゾールは血清コルチゾールを反映するものと考えられた。高齢者のストレス指標としての唾液コルチゾールは、検査方法が簡便で非侵襲的な客観的な視標であり、とくに、伝達能力の低下している高齢者または伝達手段に課題をもつ対象者、あるいは自ら体調の変化に気付けない対象者の潜在的なストレス状態の把握にとって有用で意義あるものと考えられる。

Odagiriらは、トライアスロンによるストレス反応に関する研究において、対象を疲労困憊群と活気群に分け、競技の前日、当日、翌日の競技の実施前後に相当する時刻帯の血清コルチゾールを比較している。前日および当日は活気群がわずかに高く、翌日は疲労困憊群がわずかに高く、双方の有意差はみられなかったが、3日間の比較においてはトライアスロン当日のストレス反応が最も高いことを報告している。また、競技後に活気が維持できず、疲労困憊に陥った群ではACTH、ノルアドレナリン濃度の低下がみられることを示している。すなわち持久運動直後に心理的疲労困憊状態を呈する者は、長時間の持久運動後に内分泌系および自律神経系のホメオスタシスの乱れが生じていたことが考えられる。一方、見方を変えれば、当日の両群の長時間に渡る運動時に唾液コルチゾールの分泌が高まり、ストレス反応が生じたにもかかわらず疲労困憊状態に陥らずに何とか維持したことに着目し、内分泌反応が良好に保たれたことについて、活気ある状態であったと解釈できることを報告している¹⁴⁷⁾。疲労困憊していると感じている者でも、コルチゾールの分泌は盛んであることは、健康な身体状態を保持しているとする健康に対する解釈とストレス反応に対する前向きな見方を示している。

ストレス反応については、Selyeが提唱した、外的刺激に対する全身性のストレスの回復過程による反応というとらえ方と、ラザルスが提唱したように、その時のその人が受け手としてどういう意味を持つかに左右される相互交流的な個人的現象としてのとらえ方がある。唾液コルチゾールにより把握されるストレス反応は、生体のストレス反応として示されるコルチゾールの反応と、日常的かつ交感神経系の機能によって反映される心理的反応の双方が総合して反映されているものと考えられる。本人の主観を優先する評価は身体的側面を見過ごしてしまう危険性があり、身体的側面を優先すると心理的側面が見過ごされてしまいがちになることを踏まえると、ストレス評価の際には心身両面の反応に注意や配慮をすることが大切であると考えられる。

本研究において、3ヶ月間の運動継続後に運動前の唾液コルチゾール濃度が高濃度を示した背景としては、Eustressの反映の可能性もあるが、実際には介入研究のため運動を継続しなければならぬという負担感や運動予期反応、ストレス反応以外の運動の効果などが複雑に混在した状態であることが考えられる。今後の研究において、運動を継続することによるストレス反応に影響する、季節変動、心理的側面の評価、ストレス反応以外の運動の効果などを解明する必要がある。

4. 本研究の限界と課題および展望

研究Ⅰにおいては、被験者の日常生活状態を一定条件に整えることが必要であるという観点から施設利用中の高齢者を対象として、高齢者の唾液コルチゾールにおける日内変動および季節変動に関する調査を実施した。また、生体リズムを測定する際にはできるだけ被験者を拘束しないことが必要であることから、同施設に入所中の高齢者が無理のない普段の生活状態において調査を実施した。しかし、自由意志の参加者を対象としたため、対象者数は少数に留まった。また、自立した生活を送っている高齢者でも決められた時間での唾液採取は心理的なストレスとなった可能性も否定できず、本調査の限界と考えられた。今後、調査対象者数や調査場所を拡大し、本研究結果の普遍性を確認する必要があると考えられる。

森林浴が唾液コルチゾールに及ぼす影響を検討した研究Ⅱ-1 においては、検者が設定した介入による森林浴が及ぼす影響についての調査であったことから、介入によるストレスの影響がないとはいえない。自発的に森林浴を行う群を対比させることで森林浴の効果の詳細がさらに明らかになるのではないかと考えられる。また、本研究では、森林浴終了後の過程については検討していない。森林浴終了後の唾液コルチゾールを経時的に測定することにより、森林浴の効果の持続の様子なども明らかになるものと考えられる。さらに本研究では男女の対象数が異なっていたが、性別比較においては男女数を合わせることを望ましいと考えられた。

運動の継続が運動負荷時の唾液コルチゾールの変化に及ぼす影響を検討した研究Ⅱ-2 は、ベースラインと運動を継続した 3 ヶ月後の運動による唾液コルチゾールの変化を検討したものであるが、3 ヶ月後の調査においてもコントロール日の調査を実施することで、季節変動の影響をさらに詳細に検討できたものと考えられる。

VIII. 終わりに

人のストレスを評価し、その健康への影響を明らかにし、ストレス対策をおこなっていくためには、まず、ストレスの評価方法が確立していなければならない。これまでの先行研究にみられる結果は、多くが前後の比較に着目したものが目立ち、結果として示された数値の意味が解釈しきれないままになることが多々みられた。従って、本研究において、明らかにすべきことは、高齢者のストレス評価指標を示すことと、示されたストレス評価指標の妥当性を確認することであった。本研究により高齢者の唾液コルチゾールの日内変動および季節変動が明らかとなり、これらの時間生物学的変動要因を考慮することによりストレス評価指標として有効性があるという結果を導き出すことができた。しかしながら、まだまだ内容の吟味をすることや研究数が少ないことから多くの課題があることはいうまでもない。

研究開始当初においては、唾液で何が測定できるか、そして同時に、唾液コルチゾールでストレスは測定出来るのか、という問いに打ち負かされて思考を発展できない時期が続いた。しかし、唾液の課題ともいべき即効性や経済的な課題はあるものの、唾液コルチゾールは、非侵襲的で、客観的かつ手軽な測定方法という利点を最大に活かしながら、使いやすさを検討していくべき価値のあるストレス評価指標であると考えられる。ストレス反応を手軽に測定できる機器の開発が多方面で進められているが、即効性があってもどのように対処するかという点においては次の課題が登場するであろうし、活用の仕方は多様であり、また課題を含んでいると考えられる。

ストレスに関する定義は、それぞれの学問分野で微妙に異なり、必ずしも一致していない。しかし、概略的には単純に生体に対する外からの要求に対して生じた生体の非特異的变化である、という Selye の定義がもちいられている。そして、歴史的には、医学的、生理学的発展に始まり、心理社会的あるいは精神神経学的分野での発展を経て、内分泌学や脳神経学分野における研究が進められている。そして、コルチゾールが最終産物となる HPA 系や交感神経系による SAM 系によって即効性の反応もみられている。さらに膨大な 140 億個と言われる神経細胞の働きが注目され、解明が進められている。

本研究においては、今まで数少なかった唾液コルチゾールに関する研究の中でも、明らかにされていなかった高齢者における唾液コルチゾールの日内変動と季節変動を明らかにした。高齢者にストレス刺激を加えた際の唾液コルチゾールの変動の評価への応用をとおして、高齢者の唾液コルチゾールのストレス評価指標としての有用性を確認した。

今後は、本研究で得られた知見をもとに、さらなるストレス研究を進めていきたい。

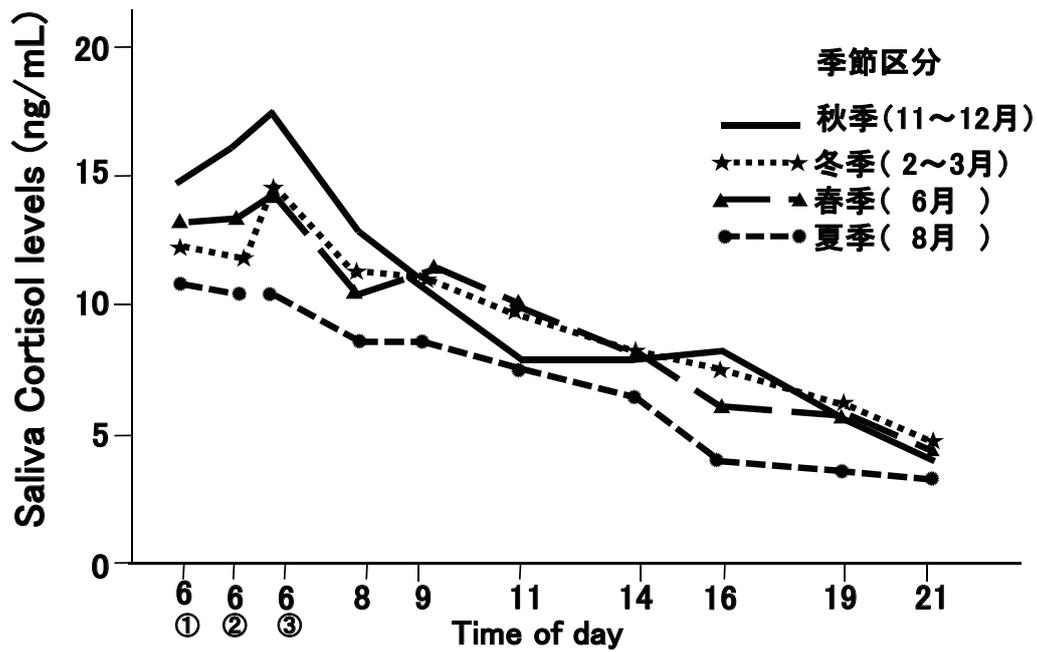
謝辞

本研究を行うにあたってご協力いただきました多くの被験者の皆様や施設の方々にまず御礼申し上げます。また、研究Ⅱ-2 は、平成 21 年度厚労科研補助金[H21-循環器など(生習)一般-002「温泉利用が健康増進に与える効果及び安全性に関する研究」(研究代表者・藤原佳典)]の一環として実施いたしました。多大なご協力と御指導を賜りました藤原佳典先生に深く感謝申し上げます。最後になりましたが、ご指導ご鞭撻をいただきました指導教授の渡辺修一郎先生、主査の長田久雄先生、副査の芳賀博先生、その他の諸先生方にこの場をおかり致しまして心から深く感謝の意を表します。

Table.1 唾液コルチゾールの日内変動および季節変動

季節\時刻		6	8	9	11	14	16	19	21
合計	合計	13.5 ± 5.3	11.2 ± 5.7	10.3 ± 4.1	8.8 ± 4.2	7.8 ± 3.2	6.8 ± 3.6	5.3 ± 2.9	4.2 ± 2.6
n=18	10-12月	15.5 ± 6.2	13.4 ± 7.0	11.1 ± 2.2	8.2 ± 2.2	8.1 ± 3.1	8.5 ± 3.2	5.8 ± 1.9	4.2 ± 1.4
	1-3月	13.2 ± 4.2	11.4 ± 4.3	10.8 ± 5.6	9.5 ± 5.6	8.3 ± 3.5	7.0 ± 4.0	5.4 ± 4.0	4.3 ± 2.9
	4-6月	13.6 ± 6.6	10.6 ± 6.7	10.7 ± 4.3	9.5 ± 5.0	8.3 ± 3.4	7.4 ± 3.6	6.3 ± 3.0	4.9 ± 3.0
	7-9月	11.6 ± 4.3	9.5 ± 4.8	8.9 ± 2.9	7.7 ± 3.1	6.5 ± 2.7	4.3 ± 2.0	3.9 ± 1.8	3.3 ± 2.9
Male	合計	11.8 ± 3.7	11.5 ± 6.2	11.8 ± 3.6	10.3 ± 4.8	8.7 ± 3.1	8.1 ± 3.9	6.5 ± 3.2	5.5 ± 2.9
n=7	10-12月	13.1 ± 2.5	14.2 ± 8.3	11.2 ± 2.6	8.7 ± 2.5	8.8 ± 4.1	9.0 ± 4.1	5.9 ± 1.9	4.5 ± 1.3
	1-3月	8.8 ± 4.1	10.3 ± 2.0	12.0 ± 6.7	13.5 ± 7.2	8.7 ± 2.1	11.3 ± 4.1	9.8 ± 5.9	7.3 ± 4.2
	4-6月	11.6 ± 4.8	9.3 ± 5.3	12.9 ± 3.6	11.0 ± 6.8	10.0 ± 2.0	8.0 ± 3.9	7.2 ± 2.1	6.3 ± 3.2
	7-9月	12.2 ± 3.9	11.0 ± 6.2	10.9 ± 2.9	9.7 ± 3.3	7.3 ± 3.4	5.2 ± 2.2	4.4 ± 2.3	5.0 ± 3.5
Female	合計	14.8 ± 6.1	11.1 ± 5.4	9.2 ± 4.2	7.5 ± 3.2	7.1 ± 3.2	5.7 ± 2.9	4.4 ± 2.3	3.1 ± 1.6
n=11	10-12月	19.1 ± 8.7	12.1 ± 5.3	11.0 ± 2.1	7.4 ± 1.8	7.2 ± .5	7.8 ± .9	5.7 ± 2.1	3.8 ± 1.8
	1-3月	14.6 ± 3.2	11.8 ± 4.9	10.4 ± 5.6	8.1 ± 4.7	8.2 ± 4.0	5.5 ± 2.9	3.9 ± 1.7	3.3 ± 1.6
	4-6月	15.6 ± 8.0	12.0 ± 8.2	8.5 ± 4.0	8.1 ± 2.2	6.7 ± 3.9	6.8 ± 3.6	5.3 ± 3.7	3.4 ± 2.0
	7-9月	10.9 ± 5.1	8.0 ± 3.0	6.8 ± 1.0	5.7 ± .2	5.6 ± 1.7	3.3 ± 1.2	3.3 ± 1.3	1.7 ± .3

表中の数値はng/mL(±SD)



N=18, General Linear Model, Main effect: Time of day $p < .0001$, Season $p < .001$

Fig. 1. 唾液コルチゾールの日内変動の季節差

Tabel 2.

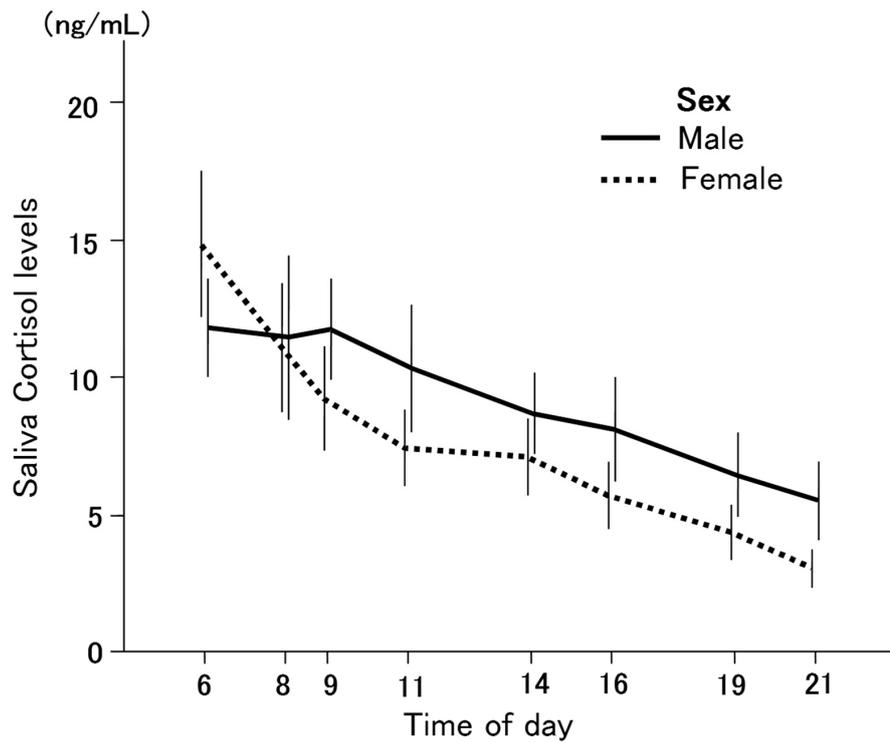
一般線形モデルによる唾液コルチゾールの関連要因の分散分析表

要因	F 値	自由度	有意確率
年齢	17.080	1	<.001
性別	21.762	1	<.001
季節	6.655	3	<.001
測定時刻	22.164	7	<.001
性別 × 季節	.525	3	.666
性別 × 測定時刻	3.335	7	.002
季節 × 測定時刻	.637	21	.890
性別 × 季節 × 測定時刻	.735	21	.796

$R^2 = .517$ (調整済み $R^2 = .401$)

Table 3. 唾液コルチゾールに影響する
要因の主効果の偏回帰係数 (B)

パラメータ	B	標準誤差	有意確率
年齢 (歳)	0.115	0.029	<.001
性別 (男性/女性)	3.782	2.449	.124
季節 (秋季/夏季)	2.026	2.594	.033
季節 (冬季/夏季)	1.637	2.157	.124
季節 (春季/夏季)	1.555	2.446	.094
時刻 (6時/21時)	9.257	2.446	.001
時刻 (8時/21時)	6.360	2.446	.010
時刻 (9時/21時)	5.137	2.446	.037
時刻 (11時/21時)	4.323	2.447	.078
時刻 (14時/21時)	3.940	2.446	.108
時刻 (16時/21時)	1.620	2.446	.508
時刻 (19時/21時)	1.637	2.446	.504



N=18, 一般線形モデルによる比較. 主効果は時刻 ($p < .001$), 性 ($p < .001$)
 時刻と性の交互作用 ($p < .001$) (縦線は±標準偏差を示す)

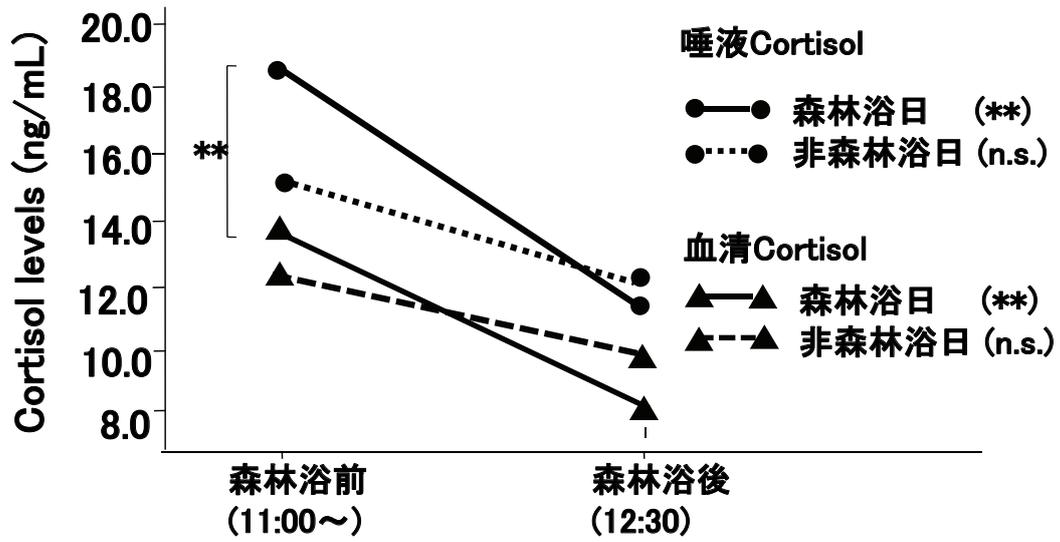
Fig. 2. 唾液コルチゾールの日内変動の性別比較

Table 4.
 高齢者ストレス指標としての唾液コルチゾールの
 変動要因

1. 日内変動 朝高>夜低	
時刻	総平均濃度
6	13.5 ± 5.3
8	11.2 ± 5.7
9	10.3 ± 4.1
11	8.8 ± 4.2
14	7.8 ± 3.2
16	6.8 ± 3.6
19	5.3 ± 2.9
21	4.2 ± 2.6

2. 季節変動 秋季高>夏季低
 3. 年齢別変動 高齢者高>成人低
 4. 性別変動 男性高>女性低(*早朝は女性高い)

n=18 main effect: sex. age. Time. Season 2009.-2010.
 saliva cortisol levels (ng/mL)



N=19, ** p<.01 (paired-t test)

Fig. 3. 森林浴日および非森林浴日の唾液および血清コルチゾールの変化

Table5. 森林浴日および非森林浴日の唾液コルチゾール濃度の年齢別および性別比較

検体	区分	n	森林浴日			非森林浴日		
			実施前	実施後	P	実施前	実施後	P
	合計	19	19.2 (7.3)	12.0 (6.9)	.003 ***	15.8 (7.0)	12.7 (4.6)	.010 **
			7.2		**	3.1		
唾液	年齢別							
	成人 (21~55歳)	11	19.2 (9.1)	12.4 (7.6)	.047 *	15.4 (6.3)	14.6 (6.1)	ns
	高齢者 (72~79歳)	8	19.3 (9.1)	11.6 (6.6)	.003 ***	16.0 (4.0)	11.1 (2.5)	.015 *
	性別							
	男性	14	18.8 (6.0)	12.1 (6.1)	.008 **	16.1 (5.6)	13.6 (5.1)	ns
	女性	5	20.4 (10.9)	11.7 (9.6)	.007 **	15.0 (3.0)	10.3 (1.2)	.028 *
	合計	19	14.2 (4.1)	8.8 (3.0)	<.001 ***	12.8 (4.2)	11.0 (3.3)	ns
血清	年齢別							
	成人 (21~55歳)	11	15.1 (3.8)	9.6 (1.5)	.003 ***	12.5 (4.1)	12.2 (4.6)	ns
	高齢者 (72~79歳)	8	13.3 (4.4)	8.0 (2.5)	.005***	13.1 (4.3)	10.0 (1.5)	ns
	性別							
	男性	14	14.41(4.0)	9.6 (2.8)	<.001 ***	13.3 (4.7)	11.5 (3.8)	ns
	女性	5	13.5 (4.7)	6.5 (2.3)	.029 *	11.8 (2.6)	9.6 (1.1)	ns

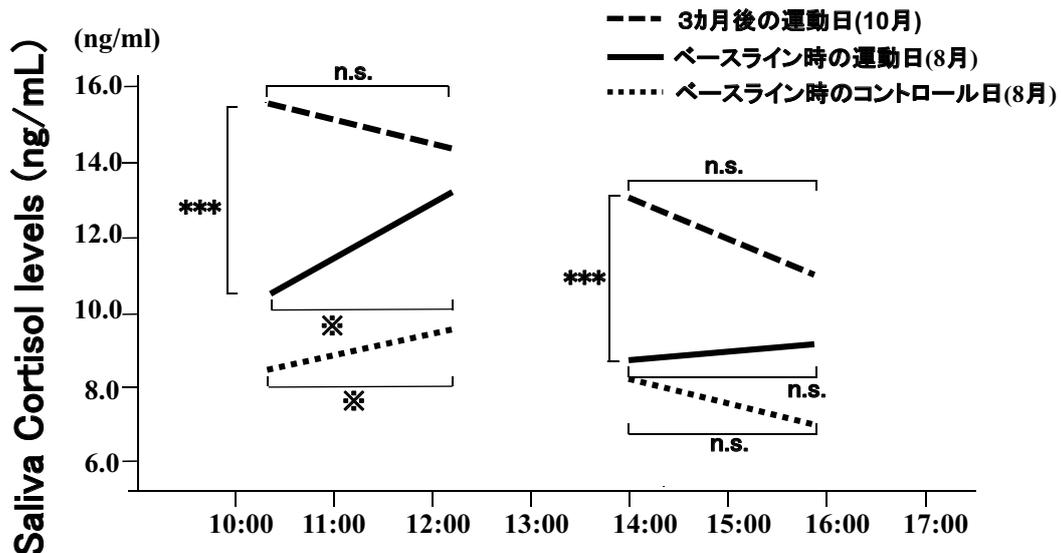
表中の数字は ng/mL(±SD)

paired t-test *p<.05 **p<.01 ***p<.005

Table 6. 年齢別・性別・測定時刻別・測定時期別にみた唾液コルチゾールの総平均濃度

変動要因	測定条件	総平均濃度	S.D.	P
年齢別 (n=16)	成人 (54~64歳)	7.6	± 1.9	} 0.001
	高齢者 (65~82歳)	10.8	± 4.8	
高齢者 (n=11)				
性別	男性	14.0	± 5.9	} 0.05
	女性	9.5	± 3.6	
時刻別	午前	11.8	± 5.4	} 0.01
	午後	8.9	± 3.6	
時期別	ベースライン(夏季)	10.9	± 4.3	} 0.001
	運動なし日(夏季)	7.9	± 2.1	
	3ヶ月後(秋季)	13.5	± 5.5	

表中の数値はng/mL(±SD)
paired-t test *<0.05



N=11, paired-t test: * t-test:※ 実施前後と3か月後の比較 *, ※ p<.01

Fig. 4. 唾液コルチゾールの運動前後の変化および
3ヶ月間の運動介入前後の運動による変化

1 引用文献

- 1) 渡辺修一郎: 高齢者の健康と生活の質, 健康長寿をめざす取り組み, 老年学要論, 東京 : 112-122 (2007).
- 2) Bartrop RW, Luckhurst E, Lazarus L, Kiloh LG, Penny R.: Depressed lymphocyte function after bereavement, *Lancet*, 1:834-836(1977).
- 3) McVie R, Levine L, New MI: The biological significance of the aldosterone concentration. *Pediatr Res*, 13: 755-759(1979).
- 4) Steven J, Schleifer, Steven E. Keller, Maria Camerino, John C. Thornton, Marvin Stein : Suppression of lymphocyte stimulation following bereavement, *JAMA*, 250: 374(1983).
- 5) Cohen S, Tyrrell DA, Smith AP: Psychological stress and susceptibility to the common cold, *N.Engl. J. Med*, 325: 606(1991).
- 6) Cohen S, Frank E, Doyle WJ, Skoner DP, Rabin BS, Gwaltney JM Jr : Types of stressors that increase susceptibility to the common cold in healthy adults, *Health Psychol*, 17: 214(1998).
- 7) McEwen, B.S: Allostasis and allostatic load; implications for neuropsychopharmacology, *Neuropsychopharmacology*, 22: 108-124(2000).
- 8) Chandola T, Britton A, Brunauer E, Hemingway H, Malik M, Kumari M, Badrick E, Kivimaki M, Marmot M: Work stress and coronary heart disease; what are the mechanisms? *Eur. Heart J*, 29: 640-648(2008).
- 9) Bonde JP: Psychosocial factors at work and risk of depression, a systematic review of the epidemiological evidence. *Occup Environ Med*, 65: 438-445(2008).
- 10) Eller NH, Netterstrom B, Gyntelberg F, Kristensen TS, Nielsen F, Steptoe A, et al: Work-related psychosocial factors and the development of ischemic heart disease, a systematic review. *Cardiol Rev*, 17: 83-97(2009).
- 11) Kahn SE, Maxwell JU, Barron JL: Salivary cortisol assessment in the evaluation of hypothamic-pituitary-adrenal function. *S Afr Med J*, 65: 843-846(1984).
- 12) Umeda T, Hiramatsu R, Iwaoka T, Shimada T, Miura F, Sato T: Use of saliva for monitoring unbound free cortisol levels in serum, *Clinica Chimica Acta*, 110:245-253(1981).
- 13) Kirschbaum C, Hellhammer DH: Salivary cortisol in psychobiological research; an overview, *Neuropsychobiology*, 22: 150-169(1989).
- 14) Luthold WW, Marcondes JA M, Wajchenberg BL: Salivary cortisol for the determination of Cushing's syndrome. *Clin Chim Acta*, 151:33-39(1985).
- 15) Francis SJ, Walker RF, Riad-Fahmy D, et al: Assessment of adrenocortical activity in term newborn infants using salivary cortisol determinations. *J Pediatr*, 111:129-133(1987).
- 16) Pruessner JC, Wolf OT, Hellhammer DH, Buske-Kirschbaum A, vonauer K, Jobst S, et al: Free cortisol levels after awakening; a reliable biological marker for the assessment of

- adrenocortical activity, *Life Sci*, 61; 2539-2549 (1997).
- 17) Weibel L: Methodological guidelines for the use of salivary cortisol as biological marker of stress. *Presse Med*, 32: 845-851(2003).
 - 18) Buijs RM, Fleur SE, Wortel J, Van Heyningen C, Zuiddam L, Thomas C, et al: The suprachiasmatic nucleus balances sympathetic and parasympathetic output to peripheral organs through separate preautonomic neurons. *J Comp Neurology*, 8; 464:36-48(2003).
 - 19) 棚橋祐典, 本間さと, 本間研一: 生物時計と神経内分泌リズム. *脳と神経*, 58(5): 390-399(2006).
 - 20) 本間研一: 健康指標としての生体リズム, *人間工学と健康指標*, 30(5): 275-280(1994).
 - 21) 一條秀憲: ストレスと生活, ASK ファミリーによるストレス応答, 細胞がストレスを感じる仕組みと疾患, *日本薬理学学会誌(Folia pharmacol.Jpn.)*, 129: 89-93(2007).
 - 22) 河野友信, 田中正敏: 現代生活とストレス-現代社会のストレスとストレスケアの意義-, *ストレスの科学と健康*, 朝倉書店, 東京: 2-6(1986).
 - 23) 田中正敏, 河野友信, 石川俊男編集: セリエのストレス理論; ストレスの事典. 朝倉書店 10:21-23 (2005).
 - 24) Selye H: A syndrome produced by diverse nocuous agents *Nature*; 138. 32 (1936).
 - 25) 竹宮隆, 竹中晃二, 下光輝一編: 運動とストレス科学. 杏林書店. 東京:125-130 (2002).
 - 26) 林峻一郎, 河野友信, 石川俊男編集: ストレス研究の歴史と展望, 現象から原理へ; ストレスの事典. 朝倉書店 10.5-28(2005).
 - 27) Lazarus RS, Folkman S: *Stress, Appraisal, and Coping*. 445, Springer, New York(1984). (本明寛, 春木豊, 織田正美 監訳: ストレスの心理学. 401, 実務教育出版, 東京(1991).)
 - 28) 木村和正, 河野友信, 石川俊男編集: アレキサンダーの理論; ストレスの事典. 朝倉書店 10.10-12 (2005).
 - 29) 日本ストレス学会, 財団法人パブリックヘルスリサーチセンター監修: ストレス科学事典, 実務教育出版(2011).
 - 30) 宮岡等, 河野友信, 石川俊男編集: 精神障害, ストレスとは何か; ストレスの事典. 朝倉書店 10.116-117 (2005).
 - 31) 城佳子. 生命科学とストレスに関する研究の動向. *ストレス科学研究*, (20):2-5 (2005).
 - 32) 日本比較内分泌学会編: ホルモン実験ハンドブック I ~ III, 学会出版センター, (1991).
 - 33) 寺内康夫, 鯉淵典之, 後藤英司他: Principle and Practice 内分泌・代謝. 11-21(2011).
 - 34) 近藤保彦, 小川園子, 菊水健史, 山田一夫, 富原一哉: 脳とホルモンの行動学, 行動神経内分泌学への招待, 東京, 西村書店: 1-10(2010).
 - 35) Ben, Greenstein, Diana, Wood, 高野幸路監訳: 一目でわかる内分泌学第二版. *メディカル・サイエンス・インターナショナル*. 206-217(2008).
 - 36) 石田直理雄, 本間研一編集: 時間生物学. 東京. 朝倉書店. 2-9(2008).
 - 37) De Mairan: *Histoire de L'Academie Royale des Sciences*, :35-36(1729).

- 38) 本間研一：時間生物学の歴史-世界編. 時間生物学, Vol 18(1): 36-39(2012).
- 39) Halberg.F, Biological Clocks: Temporal coordination of physiologic function. Cold Spring Harb Symp, Quant Biol, 25: 289-310(1960).
- 40) Halberg.F, Carandente.F, Cornelissen, G: Glossary of chronobiology. Chronobiologia 4, Supplement (1977).
- 41) Ferguson DB, Price DA, Wallace S: Effects of physiological variables on the concentrations of cortisol in human saliva. Adv Physiol Sci, 28: 301-312 (1980).
- 42) Atkinson JH Jr, Kremer EF, Ward HW, Risch SC, Hopper BR, Yen SS: Pre-and post-dexamethasone saliva cortisol determination in chronic pain patients. Biol Psychiatry, 19:1155-1159(1984).
- 43) Burke PM, Richler RJ, Smith E, et al: Correlation between serum and salivary cortisol levels in depressed and nondepressed children and adolescents. Am J Psychiatry, 142: 1065-1067(1985).
- 44) Fell LR, Shutt DA, Bentley CJ: Development of a salivary cortisol method for detecting changes in plasma 'free' cortisol arising from acute stress in sheep. Aust Vet J, 62: 403-406(1985).
- 45) Hanada K, Yamada N, Shimoda K, Takahashi K, Takahashi S: Direct radioimmunoassay of cortisol in saliva and its application to the dexamethasone suppression test in affective disorders. Psychoneuroendocrinology, 10: 193-201(1985).
- 46) Cook NJ, Harris B, Walker RF, et al: Clinical utility of the dexamethasone suppression test assessed by plasma and salivary cortisol determinations. Psychiatry Res, 18: 143-150(1986).
- 47) Shannon IL, Prigmore JR, Brooks RA, et al: Parotid saliva, serum, and urine 17-hydroxycorticosteroids following a two-hour intravenous infusion of adrenocorticotropin. J Dent Res, 38: 1237(1959).
- 48) Kahn J-P, Rubinow DR, Davis CL, et al: Salivary cortisol: A practical method for evaluation of adrenal function. Biol Psychiatry, 23: 335-349(1988).
- 49) Katz FH, Shannon IL: Identification and significance of parotid fluid corticosteroids. Acta Endocrinol, 46: 393-404(1964).
- 50) Mason JW: A review of psychoendocrine research on the pituitary-adrenal cortical system. Psychosom Med, 30: 576-607(1968).
- 51) Kubota Y, Ueki H, Hirakawa N, Shoji S: Biochemical studies on human salivary proteins. IX. Cleavage and modification of saliva-parotin-A by chemical reagents and their effects on the biological activities. Yakugaku Zasshi, 92(7): 801-807(1972).
- 52) Hiramatsu R: Direct assay of cortisol in human saliva by solid phase radioimmunoassay and its clinical applications. Clin Chim Acta, 17: 239-249(1981).

- 53) Kirschbaum C, Hellhammer DH: Salivary cortisol in psychoneuroendocrine research, recent developments and applications. *Psychoneuroendocrinology*, 19: 313-333(1994).
- 54) Walker RF, Joyce BG, Dyas J, et al: Salivary cortisol: 1. Monitoring changes in normal adrenal activity; in Read GF, Riad-Fahmy D, Walker RF, et al (eds): *Immunoassay of Steroids in saliva*. Cardiff, Alpha Omega : 308-316(1984).
- 55) Guechot J, Lepine JP, Cohen C, Fiet J, Lempérière T, Dreux C : Simple laboratory test of neuroendocrine disturbance in depression: 11 p.m. saliva cortisol. *Neuropsychobiology*, 18: 1-4(1987).
- 56) Spiegel K, Leproult R, Van Cauter E: Impact of sleep dept on metabolic and endocrine function. *Lancet*, 354:1435-1439(1995).
- 57) 横山富士男, 高萩健二, 村田繁雄他:健康小児における唾液中 Cortisol 値の日内変動と Dexamethasone Suppression Test. *脳研究会会誌*,12(2): 92-93(1986).
- 58) 津田郎子, 木村礼, 鮫島道和他:子どもの生活習慣と生体リズム(第1報)-体温リズムとコルチゾールリズムへの影響-*金大医保つるま保健学会誌*,1(30): 95-103(2006).
- 59) Price DA, Close GC, Fielding BA: Age of appearance of circadian rhythm in salivary cortisol values in infancy. *Arch Dis Child*, 58: 454-456(1983).
- 60) 園田浩一朗, 坂本竜一, 渡辺哲博ら:唾液コルチゾール測定の有用性及び内分泌疾患患者への応用, *日本内分泌学会*, 82(2): 416(2006).
- 61) Lewy AJ, Wehr TA, Goodwin FK, Newsome DA, Markey SP:Light suppresses melatonin secretion in humans.*Science*, 210: 1267-1269(1980).
- 62) 横山富士男橋本慎一古関雅章ら:慢性精神分裂病における唾液中コルチゾール値の日内変動とデキサメサゾン抑制試験, 116: 325-330(1988).
- 63) Guechot J, Fiet J, Passa P, Villette JM, Gourmel B, Tabuteau F, Cathelineau G, Dreux C: Physiological and pathological variations in saliva cortisol. *Horm Res*, 16: 357-364(1982).
- 64) Lasikiewicz N, Hendrickx H, Talbot D, Dye L: Exploration of basal diurnal salivary cortisol profiles in middle-agedadults: associations with sleep quality and metabolic parameters. *Psychoneuroendocrinology*, 33(2): 143-151(2008).
- 65) Walker RF, Riad-Fahmy D, Read GF: Adrenal status assessed by direct radioimmunoassay of cortisol in whole saliva or parotid saliva. *Clin Chem*, 24: 1460-1463(1978).
- 66) King JA, Milagros CR, Yunsheng MM, et al: Sequence and Seasonal Effects of Salivary Cortisol. *Behavioral Medicine*, Summer, 26: 67-73(2000).
- 67) Waltman C, Blackman MK, Chrousos GP, Riemann C, Harman SM: Spontaneous and glucocorticoid-inhibited adrenocorticotrophic hormone and cortisol secretion are similar in healthy young and old men. *J Clin Endocrinol Metab*, 73: 495-502(1991).
- 68) Barton RN, Horan MA, Weijers JWM, Sakkee AN, Roberts NA, van Bezooijen CFA: Cortisol production rate and the urinary excretioin of 17-hydroxycorticosteroids, free

- cortisol, and 6 β -hydroxycortisol in healthy elderly men and women. *J Gerontol Med Sci*, 48: M213-218(1993).
- 69) Olsson T, Viitanen M, Hagg E, Asplund K, Grankvist K, Eriksson S, Gustafson Y: Hormones in “young” and “old” elderly: Pituitary–thyroid and pituitary–adrenal axes. *Gerontology*, 35: 144-152(1989).
 - 70) Ekins R: Measurement of free hormones in blood. *Endocrine Reviews*, 11: 5-46(1990).
 - 71) Jensen HK, Blichert-Toft M. Serum corticotrophin, plasma cortisol and urinary excretion of 17-ketogenic steroids in the elderly (age group: 66-94 year) *Acta Endocrinol*, 66: 25-34(1971).
 - 72) Carroll BJ, Feinberg M, Greden JF, et al: A specific laboratory test for the diagnosis of melancholia. *Arch Gen Psychiatry*, 38: 15-22(1981).
 - 73) Van Cauter E: Pulsatile ACTH secretion ; in Wagner T, Filicori M (eds): *Episodic hormone secretion: From basic science to clinical application*. Hameln, TM-Verlag :65-75(1987).
 - 74) Kugler J, Kalveram KT: Is salivary cortisol related to mood states and psychosomatic symptoms in Weiner H, Florin I, Murison R, et al (eds): *Frontiers of Stress Research*. Toronto, Huber: 388-391(1989).
 - 75) Guechot J, Fiet J, Passa P, et al: Clinical evaluation of saliva cortisol. *J Clin Chem Clin Biochem*, 19: 685-686(1981).
 - 76) Hellhammer DH, Kirschbaum C, Belkien L: Measurement of salivary cortisol under psychological stimulation; in Hingtgen JN, Hellhammer D, Huppmann G (eds): *Advanced Methods in Psychobiology*. Toronto, Hogrefe,: 281-289(1987).
 - 77) Brandenberger G, Follenius M, Muzet A: Interactions between spontaneous and provoked cortisol secretory episodes in man. *J Clin Endocrinol Metab*, 59:406-411(1984).
 - 78) Maes M, Calabrese J, Lee M, Meltzer HY: Effects of age on spontaneous cortisolaemia of normal volunteers and depressed patients, *Psychoneuroendocrinology*, 19: 79-84(1994).
 - 79) Drafta D, Schindler AE, Stroe E, Neacsu E, Age-related changes of plasma steroids in normal adult males. *J Steroid Biochem*, 17: 683-687(1982).
 - 80) Rozenberg S, Bosson D, Peretz A, Caufriez A, Robyn C: Serum levels of gonadotrophins and steroid hormones in the post-menopause and later life. *Maturitas*, 10: 215-224(1988).
 - 81) Copinschi G, Van Cauter E: Effects of ageing on modulation of hormonal secretions by sleep and circadian rhythmicity, *Horm Res*, 43: 20-24(1995).
 - 82) Sharma M, Palacios-Bois J, Schwartz G, et al: Circadian rhythms of melatonin and cortisol in aging, *Biol Psychiat*, 25: 305-319(1989).
 - 83) Armanini D: Corticosteroid receptors in lymphocytes: a possible marker of brain involution. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 49: 429-434(1994).
 - 84) Nicolson. N, Storms. C, R. Rudolf and Sulon.J: Salivary Cortisol Levels and Stress

- Reactivity in Human Aging. *Journal of Gerontology: Medical Sciences*, 52 (2) (1997).
- 85) Kirschbaum C, Wust S, Hellhammer D: Consistent sex differences in cortisol responses to psychological stress, *Psychosom Med*, 54: 648-657(1992).
 - 86) Laudat MH, Cerdas s, Fournier C, et al: Salivary cortisol measurement: A practical approach to assess pituitary-adrenal function. *J Clin Endocrinol Metab*, 66:343-348(1988).
 - 87) Wagner JA, Horvath SM, Kitagawa K, Bolduan NW: Comparisons of blood and urinary responses to cold exposures in young and older men and women, *J Gerontol*, 42: 173-179(1987).
 - 88) Greenspan SL, Rowe JW, Maitland LA, McAloon-Dyke M, Elahi D: The pituitary-adrenal glucocorticoid response is altered by gender and disease, *J Gerontol Med Sci*, 48: 72-77(1993).
 - 89) Heuser IJ, Gotthardt U, Schweiger U, et al: Age-associated changes of pituitary-adrenocortical hormone regulation in humans; importance of gender, *Neurobiol Aging*, 15: 227-231(1994).
 - 90) Seeman TE, Berkman LF, Gulanski BI, et al: Self-esteem and neuroendocrine response to challenge, *MacArthur studies of successful aging*, *J Psychosom Res*, 39: 69-84(1995).
 - 91) Stahl. F, Dorner. G: Response of salivary Cortisol levels to stress situation. *Endokrinologie*, 80: 158-162(1982).
 - 92) Cook NJ, Read GF, Walker RF, et al: Changes in adrenal and testicular activity monitored by salivary sampling in males throughout marathon runs. *Eur J Appl Physiol*, 55: 634-638(1986).
 - 93) Hubert W, de Jong-Meyer R: Emotional stress and saliva cortisol response. *J Clin Chem Clin Biochem*, 27: 221-222(1989).
 - 94) Munck A, Guyre PM, Holbrook NM: Physiological functions of glucocorticoids. *Endocr Rev*, 5: 25-44(1984).
 - 95) Jones KV, Copolev DL, Outch KH: Type A, test performance and salivary cortisol. *J Psychosom Res*, 30: 699-7 (1986).
 - 96) Vining RF, McGinley RA: The measurement of hormones in Saliva: Possibilities and pitfalls. *J Steroid Biochem*, 27: 81-95(1987).
 - 97) Ferguson D B. *Oral Bioscience*. Churchill Livingstone: 136(1999).
 - 98) 市原清志: *臨床検査*, 45(6) :617-631(2001).
 - 99) Meulenberg PM, Ross HA, Swinkels LM, et al: The effect of oral contraceptives on plasma-free and salivary cortisol and cortisone. *Clin Chim Acta*, 165:379-385(1987).
 - 100) 新開省二, 藤原志郎, 渡辺修一郎, 渡辺猛: 交替制勤務が生体の概日リズムに及ぼす影響(1) 体温, 血液・唾液・唾液中コルチゾールおよび血液・尿中カテコールアミン. *産業医学* 32. *Jpn J Ind Health*,: 401(1990).

- 101) 沖隆: コルチゾールの微量測定の問題点-副腎皮質疾患とメタボリック症候群-, 医学のあゆみ, 232(9):892-896(2010).
- 102) Dawes C: Rhythmus in salivary flow rate and composition. *Internat J Chronobiol*, 2: 253-279(1972).
- 103) 岡部 鉦明: 高齢化社会の臨床検査. *Lab. Clin. Pract*, 20(2): 102-109(2002).
- 104) Michael Edgar, Colin Dawes, Denis O' Mullane: *Saliva and oral health*. London (2004).
- 105) Hector M P, Linden R W A: Reflexes of salivary secretion. In: *Neural Mechanisms of Salivary Gland Secretion* (Garrett J R, Ekstrom J, Anderson L C eds), Karger, Basel, 196-217(1999).
- 106) Turner R J, Sugiya H: Understanding salivary fluid and protein secretion. *Oral Dis*, 8: 3-11(2002).
- 107) Watanabe S, Dawes C: The effects of different foods and concentrations of citric acid on the flow rate of whole saliva in man. *Arch Oral Biol*, 33: 1-5(1988).
- 108) Peter M S: *Saliva and oral health-Mechanisms of salivary secretion-*. *British Dental Journal*, 2: 11-26(2004).
- 109) Ship JA, Nolan N, Puckett S: Longitudinal analysis of parotid and submandibular salivary flow rates in healthy, different-aged adults. *J Gerontol Med Sci*, 50A: M285-289(1995).
- 110) Thomson WM, Chalmers JM, Spencer AJ, Ketabi M: The occurrence of xerostomia and salivary gland hypofunction in a population-based sample of older South Australians. *Spec Care Dent*, 19: 20-23(1999).
- 111) 柳瀬敏彦: 内分泌学的検査, C.副腎皮質関係, コルチゾール, コルチゾン, 尿中遊離コルチゾール, *日本臨床* (63)8: 303-306(2005).
- 112) 野村収作, 水野統太, 野澤昭雄, 浅野裕俊, 井出英人: 唾液コルチゾールによる軽度な精神作業負荷の生理評価. *日本社会バイオフィードバック研究*, 36(1): 23-32(2009).
- 113) 本間研一, 本間さと, 香坂雅子, 福田紀子: ヒト生体リズムの季節変動. *日本内分泌学会*. 65(9): 882(1989).
- 114) 織田弥生, 中村実, 龍田周, 小泉祐貴子, 阿部恒之: 就労者の唾液中・尿中コルチゾール標準値作成の試みとその有用性の検討, 高速液体クロマトグラフィーを用いて. *人間工学*, 36(6):287-298(2000).
- 115) Leproult R, Colecchia EF, L'Hermette-Baleriaux M, Van CE: Transition from dim to bright light in the morning induces an immediate elevation of cortisol levels. *J Clin Endocrinol Metab*, 86(1):151-157(2001).
- 116) Chida Y, Steptoe A: Cortisol awakening response and psychosocial factors, A systematic review and meta-analysis. *Biological Psychology*, 80: 265-278(2009).
- 117) King AC, Oman RE, Brassington GS, et al: Moderate-intensity exercise and self-rated quality of sleep in older adult: A randomized controlled trial. *J Am Med Assoc*, 277:

- 32-37(1997).
- 118) 井澤修平, 松浦桂, 原谷隆史: 職場環境における心理社会的ストレスとコルチゾールの関連-系統的レビューによる検討-, 産業ストレス研究 (Job Stress Res.), 18: 161-172(2011).
 - 119) Kunz-Ebrecht, S.R., Kirschbaum, C., Steptoe, A.: Work stress, socioeconomic status and neuroendocrine activation over the working day, Soc. Sci. Med., 58:1523-1530(2004).
 - 120) Maina G, Bovenzi M, Palma A, Larese Filon F: Associations between two job stress models and measures of salivary cortisol, Int. Arch. Occup. Environ. Health, 82: 1141-1150(2009).
 - 121) Heuser IJ, Gotthardt U, Schweiger U, et al: Age-associated changes of pituitary-adreno-cortical hormone regulation in humans: importance of gender, Neurobiol Aging, 15: 227-231 (1994).
 - 122) Eva Friesa, Lucia Dettenboma, Clemens Kirschbaum: The cortisol awakening response (CAR) Facts and future directions. International Journal of Psychophysiology, 72: 67-73(2009).
 - 123) Lehnert H, Beyer J, Walger P, et al: Salivary cortisol in normal men. Effects of corticotropin releasing factor and different psychological stimuli; in Weiner H, Florin L, Hellhammer DH(eds); Frontiers in Stress Research. Toronto, Huber : 392-394(1989).
 - 124) Vining RF, Maksyitis JJ, Ho KY: Salivary cortisol. A better measure of adrenal cortical function than serum cortisol. Ann Clin Biochem 20: 329-335 (1983).
 - 125) 小山泰弘, 高山範理, 朴範鎮ら: 森林浴における唾液中コルチゾール濃度と主観評価の関係, 日本生理人類学会誌, 14(1): 21-24(2009).
 - 126) 高柳和江: 都市空間における緑陰の効果-生理的, 心理的, 身体的分析-. 日本補完代替医療学会誌, 5(2):145-152(2008).
 - 127) 林透子, 岩崎寛, 三島孔明, 藤井英二郎: 森林内の園路における光環境の違いが人の生理及び心理に与える影響. 日本緑工学会誌, 34(1): 307-310(2008).
 - 128) Laumann K, Garling T, Stormark KM: Selective attention and heart rate responses to natural and urban environments. J Environ Psychol, 23: 125-134(2003).
 - 129) Korpela KM, Hartig T, Kaiser FG, Fuhrer U: Restorative experience and self-regulation in favorite places. Environ Behav, 33: 572-589(2001).
 - 130) Mitchell R, Popham F: Effect of exposure to natural environment on health inequalities: an observational population study. The Lancet, 372:1655-1660(2008).
 - 131) Harting T, Mang M, Evans GW: Restorative effects of natural environments experience. Environ Behav, 24:3-26(1991)

- 132) Ulrich RS, Simons RF, Losito BD, Fiorito E, Miles MA, Zelson M: Stress recovery during exposure to natural and urban environments. *J Environ Psychol*, 11: 201-230(1991).
- 133) Ulrich RS: View through a window may influence recovery from surgery. *Science*, 224: 420-421(1984).
- 134) 新井弘和, 岡浩一郎, 竹中晃二: 一過性の有酸素運動が唾液中コルチゾールの分泌に与える影響に関する予備的検討. *行動医学研究*, 14(1):30-35(2008).
- 135) 井川原弘一, 香川隆英, 高山範理, 朴範鎮: 森林散歩における案内人がもたらす効果に関する研究. *ランドスケープ研究*, 70(5): 597-600(2007).
- 136) 朴範鎮, 恒次祐子, 認谷珠美, 高山範理他: 森林浴の生理的効果-唾液中コルチゾールならびに脳活動(TRS)を目指して-. *日本生理人類学会誌*, 9(2):44(2004).
- 137) Bandura, A : Self-efficacy. -Toward a unifying theory of behavior change-. *Psychological Review*, 84: 191-215(1977).
- 138) 赤津嘉樹, 田島文博, 美津島隆, 緒方甫, 山内克哉: 車いすマラソンが唾液中コルチゾール濃度および唾液中IgA濃度に及ぼす影響. *リハビリテーション医学*. 42: 272(2005).
- 139) Rudolph DL, McAuley E : Self-efficacy and salivary cortisol responses to acute exercise in physically active and less active adults. *J Sport Exerc Psychol*, 17: 206-213(1995).
- 140) Sothmann MS: Catecholamines, behavioral stress, and exercise. Introduction to the symposium. *Med Sci Sports Exerc*, 23: 836-838(1991).
- 141) Khatri P, Blumenthal JA: Exercise. 98-102, (Fing G(Ed. :Encyclopedia of stress Vol.2. London, Academic Press) (2000).
- 142) 相澤勝治: 唾液中ストレスマーカーを用いた新たな高齢者の運動効果指導の探索, 筑波大学体育科学系紀要, 32, 197-199 (2009).
- 143) 宇野秀夫: 霊長類海馬とストレス応答, *神経進歩*, 42, 666-667 (1998).
- 144) Sapolsky RM, Zola-Morgan S, Squire LR: Inhibition of glucocorticoid secretion by the hippocampal formation in the primate. *J Neurosci* 11: 3695- 3704 (1991).
- 145) Morgan WP, Brown DR, Raglin JS: Psychological monitoring of overtraining and staleness. *BrJ Sports Med*, 21: 107-114 (1987).
- 146) Odagiri Y, Shimomitsu T, Iwane H: Relationship between exhaustive mood state and changes in stress hormones during ultraendurance race. *Int J Sports Med*, 17: 325-331(1996).