

〈原著〉

睡眠ストレスによる身体情報の変化

石井 海鈴¹⁾、川上 保子²⁾、大久保 滋夫^{1),2)}

Fluctuation of physical information due to sleep deprivation

Misuzu Ishii¹⁾, Yasuko Kawakami²⁾ and Shigeo Okubo^{1),2)}

Summary Modern society has various stressors, and the health hazard from the accumulation of sleep deprivation is finally beginning to be recognized as a social problem. Exposure to various stresses causes stress-related diseases. Chronic stress triggers apoplexy, high blood pressure, and severe illnesses such as lifestyle-related heart diseases in addition to functionality somatic syndrome. However, only few studies on stress, especially chronic stress, have been conducted thus far. In addition, no method for chemically quantifying chronic stress has been established. In this study, changes were analyzed, focusing on the amount of saliva secretion, autonomic nervous activity, heart rate, saliva cortisol concentration, and saliva α -amylase activity, under sleep deprivation. As a result, knowledge different from that for acute stress was obtained. Accurate understanding of these changes will help develop methods for quantifying chronic stress.

Key words: sleep deprivation, autonomic nervous activity, saliva cortisol / α -amylase

I. 緒言

現代社会には様々なストレスが存在している。昼夜なく稼働している社会構造は労働時間帯のシフトによる睡眠不足を招いており、日本人の睡眠不足の蓄積と健康被害は、ようやく社会的な問題として認識され始めている。そして、様々なストレスに晒されることはストレス

関連疾患を誘発し、更にストレスの慢性化は、機能的な身体症候群（慢性疲労症候群、繊維筋痛症、過敏性腸症候群、心的外傷後ストレス障害など）の他、脳卒中、高血圧、心臓病などの生活習慣病を始めとする多くの病気を引き起こすきっかけになっている¹⁾⁻³⁾。ストレスを客観的に知る方法としては、血中や唾液中のコルチゾール濃度やアマラーゼ活性がストレスマーカー

¹⁾文京学院大学大学院 保健医療科学研究科
保健医療科学専攻 検査情報解析分野
〒113-8668 東京都文京区向丘1-19-1
電話: 03-3811-0441 FAX: 03-3811-0439
E-mail address: 17ms202@s.bgu.ac.jp

²⁾文京学院大学 保健医療技術学部 臨床検査学科
〒113-0023 東京都文京区向丘2-4-1

¹⁾Graduate School of Health and Medical Science, Bunkyo Gakuin University, 1-19-1 Mukogaoka, Bunkyo-ku, Tokyo, 113-8668, Japan
TEL: 03-3811-0441 FAX: 03-3811-0439
E-mail address: 17ms202@s.bgu.ac.jp

²⁾Department of Clinical Laboratory, Faculty of Health and Medical Technology, Bunkyo Gakuin University, 2-4-1 Mukogaoka, Bunkyo-ku, Tokyo, 113-0023, Japan
受付日: 2018年12月25日
採択日: 2019年1月20日

として測定されている³⁾が、これらはいずれも急性期ストレスの評価として利用されている。我々の研究室では、非侵襲的に採取できる唾液に注目し、これまでに学生の定期試験などのストレス負荷によって唾液中アミラーゼ活性および、コルチゾール濃度が上昇することを見出している⁴⁾。同様にこれまでに報告されているストレスに関する研究は、クレペリンテストによる急性期ストレスがおよぼす変化を対象としたものが中心であり、慢性ストレスをターゲットにした報告は少なく⁵⁾⁻⁶⁾、また、慢性ストレスを科学的に定量する方法は確立されていない。

本研究では、慢性ストレスを定量的に評価可能な方法を見出すことを目的に、睡眠不足状態下での唾液分泌量、副交感神経活動、交感神経活動、心拍数などの身体情報および、急性期ストレスマーカーとして利用されている唾液中コルチゾール濃度、 α -アミラーゼ活性に着目してその変化を解析することとした。

II. 方法と材料

1. 方法

1) 睡眠ストレス負荷方法

実験前日までは普段の睡眠時間とし、実験前日の夜にとる睡眠時間について指定をした。指定した睡眠時間は、約8時間と約5時間の2条件とし、約8時間睡眠は睡眠充足状態(充足下)、約5時間は睡眠時間を制限した睡眠不足状態(ストレス下)とした。

2) 身体情報の測定方法

実験のプロトコルをFig. 1に示す。測定は、午前(9~12時)または午後(14~17時)に行い、測定1時間前は食事を禁止し、水のみ摂取可能とした。また、20~26℃の室温を保ち照明を落とした静かな部屋で、開眼状態にて実施した。測定開始前には20分間の安静時間を設け、当日の睡眠時間、普段の睡眠時間、服薬状況、直前の食事内容の聞き取りをした。その後、自律神経活動、心拍数の測定を開始し5分間連続的に計測した。各被験者について同一時間帯に、2睡眠条件下で実施した。

①唾液分泌量

測定前に蒸留水にて洗口し、口腔内の唾液を吐きだした後5分間貯留した分泌唾液を吐唾法

によりトレーに採取し、重量(g)を計測した。採取のタイミングは、Fig. 1のP(▲)にて行った。

②自律神経活動・心拍数

Reflex名人(クロスウェル社製)を用いた。尚、高周波数成分(HF: High Frequency: 0.15~0.4Hz)は副交感神経を反映し、低周波数成分(LF: Low Frequency: 0.04~0.15Hz)は交感神経と副交感神経を反映しており、LF/HFを交感神経の指標とした⁷⁾。

③急性期ストレスマーカーの測定法

唾液は1.5 mLチューブに採取後、氷冷し、測定まで-80℃で保存し、自然解凍後1500 gで15分間遠心し、ムチンおよび他の粒子状物質を沈殿させ上清を用いた。コルチゾール濃度はSalivary Cortisol Enzyme Immunoassay Kit (SALIMETRICS, Inc.)を、 α -アミラーゼ活性はSalivary α -Amylase Kinetic Enzyme Assay Kit (SALIMETRICS, Inc.)を用いて測定した。

3) 質問紙調査

実験終了後に2条件の睡眠条件下での自覚症について、「自覚症しらべ」(日本産業衛生学会産業疲労研究会, 2002年)を改変したものを用いて調査した(Table 1)。回答結果は5つの群(I群: ねむけ感、II群: 不安感、III群: 不快感、IV群: だるさ感、V群: ぼやけ感)別に合計スコアを求め評価した。

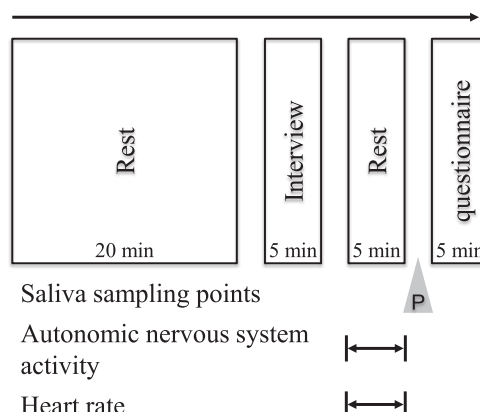


Fig. 1 Experimental protocol.

Table1 The questionnaire of subjective symptoms ("Jikaku-sho shirabe" used in this study).

	intensity	Disagree completely	Agree scarcely	Agree slightly	Agree considerably	Agree strongly
III 1	I feel heavy in the head	1	2	3	4	5
II 2	I feel nervous	1	2	3	4	5
V 3	I feel dry eyes	1	2	3	4	5
III 4	I feel ill	1	2	3	4	5
II 5	I feel restless	1	2	3	4	5
III 6	I feel headache	1	2	3	4	5
V 7	I feel a pain in the eyes	1	2	3	4	5
IV 8	I feel stiff in the neck and shoulders	1	2	3	4	5
III 9	I feel the brain hot or muddled	1	2	3	4	5
I 10	I feel giving a yawn	1	2	3	4	5
IV 11	I feel a pain in the hands or fingers	1	2	3	4	5
III 12	I feel dizziness	1	2	3	4	5
I 13	I feel drowsy	1	2	3	4	5
I 14	I feel lack of a desire to do something	1	2	3	4	5
II 15	I feel anxiety	1	2	3	4	5
V 16	I feel eyes blurred	1	2	3	4	5
I 17	I feel tired in the whole body	1	2	3	4	5
II 18	I feel depressed	1	2	3	4	5
IV 19	I feel dullness in the arms	1	2	3	4	5
II 20	I feel difficulty in thiking	1	2	3	4	5
I 21	I feel a desire to lie down	1	2	3	4	5
V 22	I feel eyestrain	1	2	3	4	5
IV 23	I feel a lower back pain	1	2	3	4	5
V 24	I feel eyes blinking	1	2	3	4	5
IV 25	I feel tired in the legs	1	2	3	4	5

* I ; Feeling of drowsiness, II ; Feeling of instability, III; Feeling of uneasiness, IV; Feeling of local pain or dullness, V; Feeling of eyestrains.

n = 8

4) 統計解析

統計解析ソフトIBM SPSS Ver. 25 (IBM Japan, Ltd.) を使用し、2群間の比較にはwilcoxonの符号付順位検定を行なった。p<0.05を有意差あり、p<0.1を傾向ありとした。

2. 材料

本研究実施にあたり、文書で同意を得た本学女子学生8名(年齢21.9±0.93歳)を対象とした。また、本研究は文京学院大学保健医療技術学部・大学院保健医療科学研究科倫理委員会において承認を得ており(承認番号: 2017-0006)、実験は予め承諾書を作成の上、インフォームドコンセントを得て実施した。

Ⅲ. 結果

1. 睡眠ストレスによる身体情報の変化

唾液分泌量、副交感神経活動、交感神経活動、心拍数および唾液中のコルチゾール濃度とα-アマラーゼ活性について、ストレス下と充足下を比較した (Table 2)。唾液分泌量は、ストレス下において0.13±0.02 g/min、充足下において0.10±0.02 g/minであり、ストレス下で有意(p<0.05)な増加がみられた。副交感神経活動においては、ストレス下で193.8±30.6、充足下で224.2±36.0であり、ストレス下で減少傾向(p<0.1)がみられた。また、交感神経活動においては、ストレス下で3.12±0.60、充足下では3.17±1.04、心拍数においては、ストレス下で76.7±1.89、充足下では74.7±1.69と、いずれも

Table2 Effect of sleep load on physical parameters.

		Inadequate sleep (approximately 5 hours)	Adequate sleep (approximately 8 hours)
Amount of salivary secretion (g/min)		0.13±0.02	* 0.10±0.02
Parasympathetic nervous activity (HF)		193.8±30.6	† 224.2±36.0
Sympathetic nervous activity (LH/HF)		3.12±0.60	3.17±1.04
Heart rate (/min)		76.7±1.89	74.7±1.69
Cortisol (μg/dL)	A.M.	0.268±0.033	0.264±0.019
	P.M.	0.158±0.023	0.162±0.035
α-Amylase (U/mL)		94.3±24.2	86.5±12.2

n = 8 $\bar{x} \pm 2SE$ * : p<0.05
† : p<0.1

有意な変化はみられなかった。

急性期ストレスマーカーの変化について、コルチゾール濃度（基準範囲 午前：0.272～1.348 μg/dL、午後：ND～0.359 μg/dL）は早朝に高値、午後から低値と日内変動がみられる⁸⁾ため、測定時間ごとに2群に分けて解析したところ、午前の群はストレス下で0.268±0.033 μg/dL、充足下で0.264±0.019 μg/dL、午後の群はストレス下で0.158±0.023 μg/dL、充足下で0.162±0.035 μg/dLといずれも有意な変化はみられなかった。α-アミラーゼ活性（基準範囲3.1～423.1 U/mL）においては、日内変動、日差変動は統計学的な有意差が認められていない⁹⁾ことから、群を分けずに比較したところストレス下で94.3±24.2 U/mL、充足下で86.5±12.2 U/mLとストレス下が充足下に比べて高値であったものの、有意な差はみられなかった。

2. 睡眠ストレスと自覚症状

2条件の睡眠下において、自覚症調査の回答をIからV群（I群：ねむけ感、II群：不安感、III群：不快感、IV群：だるさ感、V群：ぼやけ感）に分けて合計スコアを比較しFig. 2に示した。I群：ねむけ感は、ストレス下において11.6、充足下において8.6のスコアであった。また、III群：不快感は、ストレス下において7.9、充足下において6.4、また、V群：ぼやけ感は、

ストレス下において10.1、充足下において8.6と、I群：ねむけ感、III群：不快感、V群：ぼやけ感のスコアはいずれもストレス下で有意(p<0.05)に高値であった。II群：不安感、IV群：だるさ感においては両者に差はみられなかった。

IV. 考察

交感神経活動は0.2以下のときは副交感神経活動が亢進、5.0から10.0のときは交感神経活動がやや亢進、10.0以上のときは交感神経活動が亢進の状態と評価できるが¹⁰⁾、本研究での交感神経活動は、ストレス下で3.12±0.60、充足下では3.17±1.04といずれも3.0程度であった。一方、副交感神経活動は、ストレス下は充足下と比べ低下傾向であったことから、ストレス下では交感神経活動が優位である可能性が考えられた。自律神経活動には日内変動があり、交感神経の活動性は身体の活動が高まる日中に上昇し、身体の活動性が低くなる夜間に低下、それに応じて心拍数も変動することは周知のことであるが、本研究における身体情報測定時間帯は日中に設定しており、日内変動は大きく影響しないものと考えた。また、結果には示さなかったが、交感神経活動、副交感神経活動、心拍数、唾液分泌量、α-アミラーゼ活性、睡眠ストレ

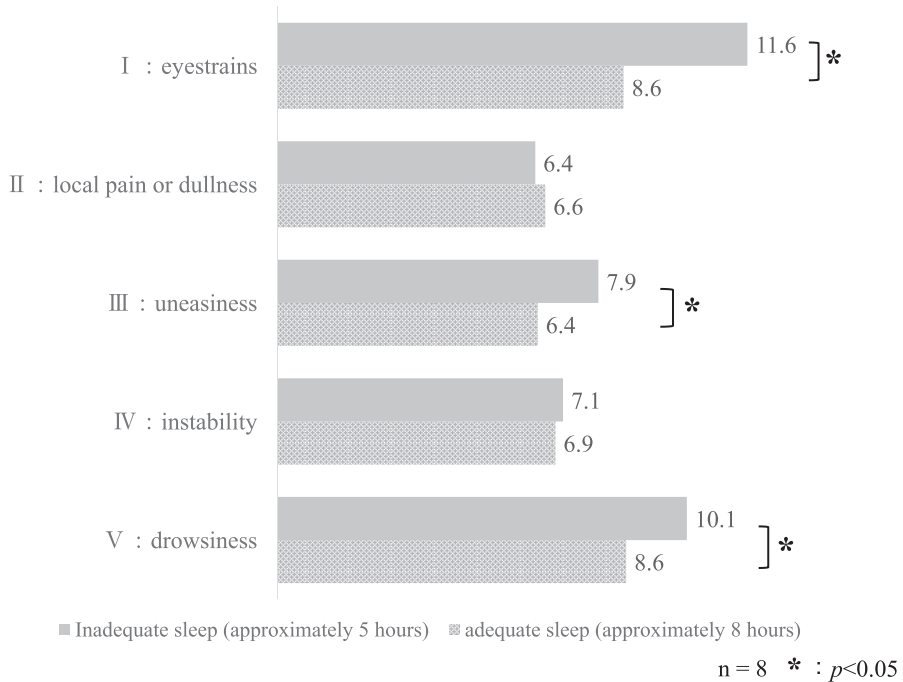


Fig. 2 Sleep deprivation and subjective symptoms.

スと自覚症状についてもコルチゾール濃度の解析と同様に測定時間ごとに2群に分けて比較解析したが、いずれの項目においても有意差はなかったこと、睡眠ストレスと自覚症状については午後の群で「Ⅲ群：不快感」のみストレス下で有意に高値であったことから、コルチゾール以外は群を分けずに比較した。睡眠ストレスと自覚症との関連においては、「Ⅰ群：ねむけ感」「Ⅲ群：不快感」、そして「Ⅴ群：ぼやけ感」のスコアが、ストレス下で有意に高値を示したことから、日頃は十分に睡眠時間が確保できている者が、5時間の睡眠不足状態におかれたことによりこれらの自覚症を誘発したものと推測された。本研究では1日のみの睡眠ストレス負荷を与えるに留まったが、睡眠不足の蓄積と慢性ストレスとの関連が問題視されていることから、睡眠不足が蓄積することでこれらの影響が増大する可能性が考えられ、これらの事実は睡眠不足によるストレスが身体におよぼした影響であることが示唆された。

唾液分泌量は、ストレス下で有意 ($p<0.05$) に増加した。これは、自律神経系 (視床下部 - 交感神経 - 副腎髄質系 sympathetic-adrenal-

medullary axis: SAM系) のストレス伝達経路において、ストレスによる交感神経の刺激によって分泌されたアドレナリンが、唾液腺に存在する α 、 β_1 -アドレナリン受容体に作用し、 β_1 -アドレナリン受容体刺激により顎下腺、舌下腺ではムチンが、耳下腺ではアミラーゼ分泌を促進するためと考えられた¹¹⁾。また α -アドレナリン受容体刺激により水分の分泌も増加¹¹⁾ したものと考えられる。

睡眠ストレス下での急性期ストレスマーカーであるコルチゾール濃度と α -アミラーゼ活性の変動に着目したが、いずれもほぼ基準範囲内であり有意な変化はみられなかった。慢性ストレスの研究において、コルチゾール濃度は全般的な生活上のストレスにおいては増加し、疲労、バーンアウト、心的外傷後ストレス障害を示すものでは、低下するといった報告があり¹²⁾⁻¹³⁾、内分泌系 (視床下部 - 下垂体 - 副腎皮質系 hypothalamic-pituitary-adrenal axis: HPA 系) のストレス伝達経路においては、短期のストレス状況下では活動が増し、ストレスが長期にわたると低下することが予測される。また、Booijらはコルチゾール濃度 (HPA系) に対するストレ

ス誘発性の唾液 α -アミラーゼ活性(SAM系)との比率は、それぞれのどちらか単独の変化を捉えるより有効で、比較的低いコルチゾール濃度と比較的高値の α -アミラーゼ活性の比率は、いくつかの慢性ストレス指数と強く関連すると報告¹⁴⁾している。本研究結果では、コルチゾール濃度は睡眠ストレスによる明確な低下を示さなかったものの増加は見られず、 α -アミラーゼ活性は有意ではなかったが高値を示したことからBooijらが報告した「比較的低いコルチゾール濃度と比較的高値の α -アミラーゼ活性」の結果に類似するものであった。

本研究では、慢性ストレスを定量的に評価可能な方法を見出すことを目的とし、睡眠不足状態を慢性ストレス下と設定して実験を実施した。睡眠不足下では交感神経活動が優位となり、質問紙調査でも「ねむけ感」「不快感」、そして「ぼやけ感」のスコアが高値となったことから、本研究における睡眠負荷は、慢性ストレス状態を反映している可能性を示唆するものである。結果として、慢性ストレス下での唾液分泌量の有意な増加を見出し、また、唾液中の急性期ストレスマーカーにおいては、急性期ストレス下で見られるコルチゾール濃度の増加や α -アミラーゼ活性の増加とは異なり、基準値内での比較的低いコルチゾール濃度と比較的高値の α -アミラーゼ活性といった知見を得た。これらの知見は慢性ストレスを定量的に評価する方法を見出す一助になるものと考えた。

文献

- 1) 山口昌樹: 唾液マーカーでストレスを測る. 日薬理誌, 129: 80-84, 2007.
- 2) 桜井志保美、河野由美子、平井真理: 要介護高齢者の家族介護者における慢性ストレスと睡眠の実態. 日在宅ケア会誌, 17: 53-59, 2014.
- 3) Yamaguchi M, Kanemori T, Kanemaru M, Takai N, Mizuno Y and Yoshida H: Performance evaluation of salivary amylase activity monitor. *Biosensors and Bioelectronics*, 20: 491-497, 2004.
- 4) 下村弘治、金森きよ子、西牧淳一、芝紀代子: 教育現場でのストレスマーカーとしての唾液アミラーゼと唾液コルチゾール測定の有用性. *生物試料分析*, 33: 247-254, 2010.
- 5) 田中喜秀、脇田慎一: ストレスと疲労のバイオマーカー. *日薬理誌*, 137: 185-188, 2011.
- 6) 山口昌樹: 唾液マーカーでストレスを測る. *日薬理誌*, 129: 80-84, 2007.
- 7) 小田川拓矢、山本健、門松信一、奥野典子、中川洋一、森戸光彦: HRVを応用した自律神経と唾液分泌量との関連性の評価. *老年歯医*, 26: 319-326, 2011.
- 8) Lac G.: Saliva assays in clinical and research biology. *Pathol Bio*, 149: 660-667, 2001.
- 9) Karibe H, Aoyagi K, Kawakami T: Characteristics of the salivary alpha-amylase level in resting sublingual saliva as an index of psychological stress. *Stress Health*, 27: 282-288, 2011.
- 10) 株式会社クロスウェル “製品紹介: きりつ試験モニタ きりつ名人ホームページ”. (株)クロスウェル. <http://www.crosswell.jp/products/kiritsu-meijin/index.html>. (最終検索日: 2018年12月9日).
- 11) 吉原俊雄、芝紀代子、長尾俊孝、村上政隆、横山繁生: 唾液・唾液腺, 金原出版, 東京(2016)
- 12) Fries E, Dettenborn L, Kirschbaum C: The cortisol awakening response (CAR): facts and future directions. *Int J Psychophysiology*, 72: 67-73, 2009.
- 13) Chida Y, Steptoe A: Cortisol awakening response and psychosocial factors: A systematic review and meta-analysis. *Biol Psycho*, 80: 265-278, 2009.
- 14) Booij SH, Bos EH, Bouwmans ME, van Faassen M, Kema IP, Oldehinkel AJ and Jonge PD: Cortisol and α -amylase secretion patterns between and within depressed and non-depressed individuals. *Plos one*, 10: e0131002, 2015.