

原著

臨床検査技師を目指す大学4年次生における唾液ストレスマーカーを指標とした長期的なストレス評価

福田 実^{1,2)}・石本 佳子²⁾・松田 洋和²⁾

- 1) 産業医科大学若松病院臨床検査・輸血部
- 2) 純真学園大学大学院保健医療学研究科保健衛生学専攻臨床検査学分野病態機能検査学領域

Long-Term Evaluation of Stress in College Seniors Studying to Become Clinical Laboratory Technologists Using Salivary Stress Markers as Indicators

Minori FUKUDA, Keiko ISHIMOTO, Hirokazu MATSUDA

- 1) Blood Transfusion Department, Clinical Laboratory, Wakamatsu Hospital of the university of Occupational and Environmental Health, Japan
- 2) Division of Medical Science and Technology, Course of Health Sciences, Graduate School of Health Sciences, JUNSHIN GAKUEN University

要旨： 臨床検査技師を目指す大学4年次生の潜在的なストレス状態の把握と心身の状態の変化を知る手がかりの一助とするために、唾液中の α -アミラーゼ、コルチゾール、クロモグラニンAの各ストレスマーカーを用いて、長期的なスパンで現れるストレス反応の種類やその程度について検討した。その結果、4年次生は持続的に精神的ストレスを強く感じていることが明らかとなり、さらに男女でストレスに対する感受性が異なる可能性が示唆された。一方、主観的な心理検査とストレスマーカーの変動には相関を認めなかったことから、アンケート用紙でのストレスチェックはあくまで参考値とすべきと考えられた。さらに、模擬試験の点数やクラス成績順位とストレスマーカーの変動は必ずしも一致しなかったことから、成績や順位のみでストレス状態を判断せずに、学生の状態を把握するためには個別の対応が重要であると考えられた。

キーワード： 大学生、ストレス、唾液 α -アミラーゼ、唾液コルチゾール、唾液クロモグラニンA

Abstract : This study aimed to investigate the types and intensities of stress responses manifesting over long-time periods using salivary stress markers, i.e., α -amylase, cortisol, and chromogranin A, in order to identify markers and clarify potentially stressful situations and changes in the physical and mental states of college seniors studying to become clinical laboratory technologists. The results revealed that these college seniors were under prolonged and intense psychological stress. Moreover, it was suggested that the stress susceptibility may differ between male and female students. Meanwhile, there was no correlation between examination results of subjective psychological states and changes in the stress markers, thus, it was deemed appropriate to use the results of a stress survey by questionnaire solely as a reference tool. Furthermore, the changes in stress markers were not always correlated with the scores of the mock exams and the class rankings of the students. Therefore, it was deemed crucial to provide students with individual attention in order to fully understand their situations, instead of estimating their stress levels based on their academic performance and class grade.

Keyword : university student, stress, salivary α -amylase, salivary cortisol, salivary chromogranin A

1. 緒言

今日、ストレスに起因する疾病の増加が社会問題となっており、身近なところでは大学生が抑うつ状態になる危険率の高さが指摘されている¹⁾。大学生はしばしば学業や課外活動、アルバイトと

いった生活・労働環境、或いは友人・異性関係などの対人関係からくる様々なストレスを抱えながら日々を過ごしている²⁾。さらに、医療系大学の学部4年次生は、大学によって多少のカリキュラムの違いはあるものの、多くは通常の授業に加え、

卒業研究，就職試験，模擬試験，そして一年間をかけて取り組む国家試験対策など，その時の学生の精神的・身体的ストレスは非常に大きいと推察される．しかしながら，先行研究において，最も精神的・肉体的ストレスを受けるであろう4年次生の1年間にわたるストレス状態を検証した報告は見当たらず，抑うつ状態や身体的な不調に苦しみ，休学や中途退学する学生も少なからず発生している現状³⁾を鑑みれば，それら学生へのメンタルヘルスに関する対応が大学教育での重要な課題であることは自明である．

近年，ストレスに対する生体応答の客観的な評価法として，ストレス下で唾液中に現れる各種ストレスマーカーの動態解析が試みられている^{4,6)}．唾液は簡便かつ非侵襲的に採取可能であるため，ストレス研究に多く利用されているが，ストレスマーカーの変動については未だ不明な点も多い．その最大の要因はストレス反応が非常に複雑なメカニズムに起因して現れ，かつ，個体によって刺激に対する感受性が異なるためであり^{2,7)}，このことが個々人におけるストレス状態の客観評価を困難としている．

本研究では，医療系大学生が実際に受けるストレスの種類，程度，時期などを客観的なデータとして明らかとし，これまで不明確であった潜在的なストレス状態の把握とともに心身の状態の変化を知る手がかりの一助としたいと考えた．そこで，臨床検査技師を目指す4年次生を対象に，春から国家試験直前までの9か月間における持続的なストレス状態について，3種類の唾液ストレスマーカーを指標として評価を行った．また，男女間での比較のほか，主観的な心理評価との関係性に加え，模擬試験の点数やクラス順位との関係性を検証した．

2. 材料および方法

2.1 対象者

本学検査科学科に在籍する身体的に健常な4年次生20名（21–23歳，男性10名，女性10名）を対象に，5月から翌年の3月までの9か月間を通したストレスマーカーの変動を検証した．

被験者に対しては，予め紙面および口頭で本研究の目的，方法，プライバシーの保護，実験協力

中止，利益相反への配慮などについて説明し，同意書へのサインで研究協力への了承を得た．また，本研究のプロトコールは純真学園大学倫理審査委員会から承認を得ている．

2.2 唾液採取

【採取時期】

唾液の採取については，4年次生のストレスが国家試験当日に向かって日々増大していくものと仮定し，5月を開始月として9か月間，各月初めに1回採取した．なお，本研究に用いたストレスマーカーは日内変動のあることが知られており^{8,9)}，その影響を最も受けにくい16時に，座位にて10分間の安静を保った後に採取した．

なお，唾液採取にあたっては，採取の12時間前からのアルコール類，60分前からの食事，採取直前の糖分・酸度の高い飲み物やカフェイン飲料の摂取をそれぞれ禁止した¹⁰⁾．

【採取方法】

唾液は Salivette[®]（SARSTEDT 社製）を用いて採取した．まず，採取前に口腔内を水で洗浄し，10分経過後に唾液採取用スポンジを舌下に入れ，耳下腺由来の唾液が混入しないように細心の注意を払いながら1分間保定させた．その際，唾液が出ていないと被検者が自覚した場合は，保定時間をさらに1分間延長した．次に，唾液を含んだスポンジを Salivette[®]専用チューブに戻し，3,000 rpm で5分間遠心分離して上澄みを得た．唾液はマイクロチューブに分注後，-80℃で凍結保存し，測定時に解凍して使用した．

2.3 ストレスマーカー

生体はストレスに曝された際，交感神経－副腎髄質系（Sympathetic-Adrenal-Medullary axis: SAM 系），および視床下部－脳下垂体－副腎皮質系（Hypothalamus-Pituitary-Adrenal system: HPA 系）の2種類のストレス反応経路が賦活されることが知られている^{4,11,12)}．SAM 系が活性化されると血液中にカテコールアミンが放出され，血圧上昇，発汗，血糖上昇，覚醒などの反応が導かれる．また，HPA 系が活性化されると血液中に糖質コルチコイド（コルチゾールなど）が放出され，血圧上昇，血糖上昇，心拍出量の上昇，免疫系などの生体機能に様々な影響を与える．

本研究では，SAM 系の α -アミラーゼとクロモ

グラニン A, および HPA 系のコルチゾールにそれぞれ着目し, 唾液中の濃度変化を指標として生体へのストレス曝露を客観的に評価するマーカーとして用いた.

2.4 唾液中の生理活性物質の測定

唾液 α -アミラーゼの測定は唾液アミラーゼモニター (ニプロ社製) および唾液アミラーゼモニター用チップを, 唾液コルチゾールは Cortisol (Saliva) EIA キット (矢内原研究所 YK241) を, 唾液クロモグラニン A は Human chromogranin A EIA (矢内原研究所 YKO70) をそれぞれ用いて測定した. なお, 唾液の総蛋白質濃度は Pierce[®] BCA Protein Assay Kit を用いて測定した.

2.5 心理評価

日本版 POMS (Profile of Mood States: 気分プロフィール検査)¹³⁾ を安静時およびストレス負荷直後に自己記入方式で実施し, 唾液採取時の心理状態を評価した. 測定に際しては, 項目ごとに「過去1週間」の状態を選択して評価するのが一般的であるが, 本研究においては, 短時間での気分の評価を行うため, 「現在」の状態について回答させた.

2.6 統計解析

各ストレスマーカーについては Wilcoxon の符号順位検定を行い, 相関関係は Spearman の順位相関係数を用いて検証した. また, 統計ソフトは SPSS Statistics 26.0を用い, 有意水準化は5%以下とした.

3. 結果

3.1 各ストレスマーカーの変動

4年次生20名を対象に, 5月から翌年3月までの9か月間における唾液中の α -アミラーゼ, コルチゾール, クロモグラニン A の分泌動態について検討した.

(1) 唾液 α -アミラーゼ

表1にボランティア3名における唾液採取部位別の唾液 α -アミラーゼの値を示す. ① は, 唾液採取用スポンジを舌下に入れ, 耳下腺由来の唾液が混入しないように細心の注意を払いながら1分間保定させ測定した. ② は, スポンジを上顎口腔前庭に1分間保定させ測定した. ③ は, スポンジを口腔内に入れ, 舌上で1分間転がした後に測定

した. また, 舌下に唾液採取用スポンジを入れ1分間保定した時の再現性を確認するため, 5回連続で測定した結果を表2に示す. A, B, C の最高値と最低値の差は, 5倍, 2.8倍, 6.2倍であった.

表1 唾液採取部位別による α -アミラーゼの値

	①	②	③
A	18kU/l	236 kU/l	15 kU/l
B	22 kU/l	258 kU/l	28 kU/l
C	37 kU/l	231 kU/l	54 kU/l

表2 舌下での唾液採取における α -アミラーゼの値

	1 回	2 回	3 回	4 回	5 回
A	4kU/l	5kU/l	7kU/l	21kU/l	14kU/l
B	31kU/l	34kU/l	37kU/l	13kU/l	30kU/l
C	45kU/l	13kU/l	12kU/l	56kU/l	9kU/l

(2) 唾液コルチゾール

図1に9か月間 (以下, 「年間」という.) における唾液コルチゾールの経時変化 (測定値, 平均値) を示す. 測定開始月の5月を基準として, 各月の変動を t 検定にて比較したところ, 有意な差を認めなかった. 月別の平均値で比較すると, 年間を通して上昇と下降を示しており, 最も高い値は7月の0.30, 最も低い値は11月の0.16で, その差は約1.9倍で, 年間平均値は0.21であった. また, 年間平均値より月別平均値が高値を示した月は6月, 7月, 10月, 1月, 2月であった. 一方, 測定開始月の5月と測定終了月である国家試験直前の2月とを比較すると5月が0.17, 2月が0.27で約1.6倍上昇していた. なお, 被験者15名中3名は5月よりも2月の方が低い値を示した. 月別で比較すると, 5月の時点よりも高い値を示した月は6月の0.26, 7月の0.30, 9月の0.20, 10月の0.22, 1月の0.25, 3月の0.17であった. 月別における個人間の値を比較すると, 7月が最もばらつきが大きく, 最高値と最低値で約18倍の違いを認めた. また, 11月が最もばらつきが小さく, 最高値と最低値で約6倍の違いであった.

図2に男女別の年間経時変化を示す. 男女別に月別の平均値で比較したところ, 年間を通して上昇と下降を示しており, 最も高い値は男性が2月の0.28, 女性が7月の0.38で, 最も低い値は男性が

8月の0.12, 女性が3月の0.15で, 男性では最高月と最低月に約1.46倍差があり, 女性は約1.64倍差があった. 年間平均値は男性が0.19, 女性が0.23であった. また, 男女別の年間平均値より月別平均値が高値を示した月は男性が7月, 10月, 1月, 2月, 3月であり, 女性が6月, 7月, 1月, 2月であった. 一方, 男女の平均値の差が1.5倍以上であった月は, 女性が男性と比べ6月は1.90倍, 7月は1.71倍高く値を示した.

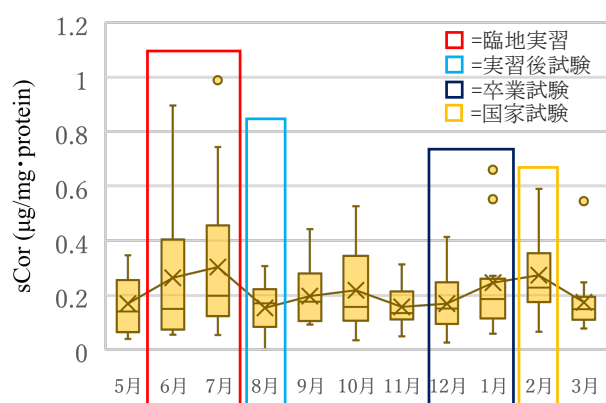


図1 コルチゾールの年間経時変化
sCor: 唾液コルチゾール

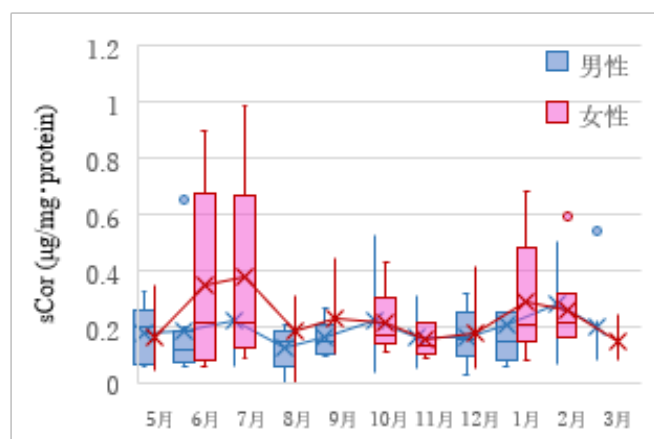


図2 男女別におけるコルチゾールの年間経時変化
sCor: 唾液コルチゾール

(3) 唾液クロモグラニン A

図3に唾液クロモグラニン A の年間経時変化(測定値, 平均値)を示す. 測定開始月の5月を基準として, 各月の変動をt検定にて比較したところ, 有意な差を認めなかった. 月別の平均値で比較すると, 年間を通して変動は緩やかで, 最も高い値は1月の18.63, 最も低い値は11月の11.64で, その差は1.5倍であり, 年間平均値は15.63であっ

た. また, 年間平均値より月別平均値が高値を示した月は5月, 7月, 9月, 1月, 2月であった. 一方, 測定開始月の5月と測定終了月である国家試験直前の2月とを比較すると, 5月が15.75, 2月が18.60で約1.2倍上昇していた. 月別で比較すると, 5月の時点よりも高い値を示した月は9月の16.31, 1月の18.63であった. なお, 15名中9名は5月よりも2月の方が低い値を示した. 月別における個人間の値を比較すると, 8月が最もばらつきが大きく, 最高値と最低値で約273.5倍の違いを認めた. また, 6月が最もばらつきが小さく, 最高値と最低値で約51.2倍の違いを認めた.

図4に男女別の年間経時変化を示す. 男女別に月別の平均値で比較すると, 男性は8月を除けば年間を通して大きな変化を示さず, 一方の女性は年間を通して上昇と下降を示しており, 最も高い値を示した月は男性が6月の19.05, 女性が3月の20.94であり, 最も低い値は男性が8月の7.98, 女性が11月の8.73で, 男性では最高月と最低月に約2.38倍差があり, 女性は約2.39倍差があった. 年間平均値をみると, 男性が15.83, 女性が15.43で, 年間平均値より月別平均値が高値を示した月は男性が5月, 6月, 12月, 1月, 2月, 3月であり, 女性が7月, 8月, 9月, 10月, 1月, 2月であった. 一方, 男女の平均値の差が1.5倍以上であった月は, 男性の方が6月は1.73倍, 11月は1.63倍高く, 8月は女性の方が2.62倍高い結果を示した.

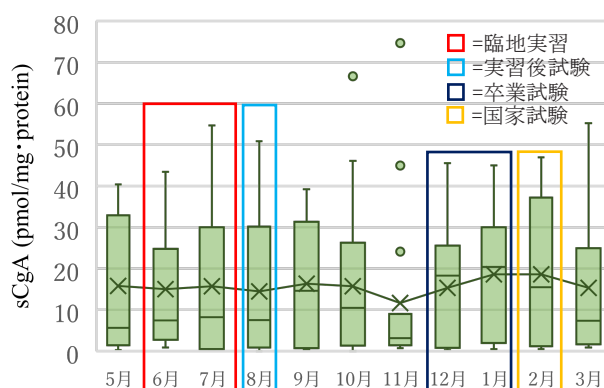


図3 クロモグラニン A の年間経時変化
sCgA: 唾液クロモグラニン A

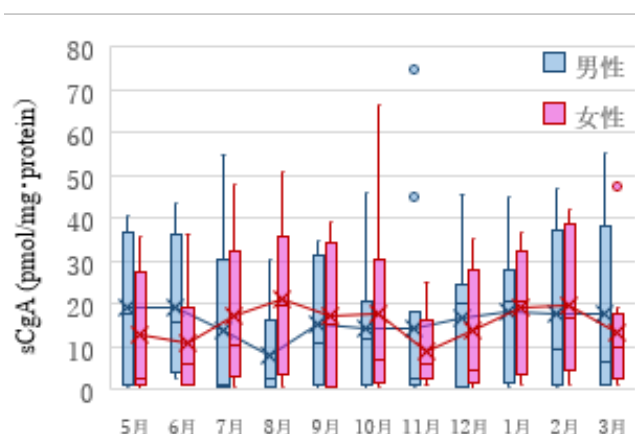


図4 男女別におけるクロモグラニン A の年間経時変化
sCgA: 唾液クロモグラニン A

3.2 コルチゾールとクロモグラニン A との相関関係

コルチゾールとクロモグラニン A の年間における全データの濃度について相関関係を求めたところ、 $r=0.50$ の正の相関を認めた (図5)。一方、月別に相関関係を求めたところ、有意差は認められなかったものの、5月、7月、8月、9月、2月に弱い正の相関を認め、10月、11月、12月、1月、3月に正の相関が認められた (表3)。また、男女別にみると、男性 $r=0.62$ (図6)、女性 $r=0.37$ (図7) で、それぞれ正の相関を認めた。

3.3 心理状態とコルチゾールおよびクロモグラニン A の相関関係

年間を通したコルチゾールの全データと POMS の各尺度の点数との相関関係を求めたところ、表4に示すように有意な相関は認められなかった。一方、月別でみると6月の「友好」に $r=-0.41$ 、11月の「総合的気分」に $r=-0.42$ 、「怒り－敵意」に $r=-0.43$ 、「混乱－当惑」に $r=-0.45$ 、「疲労－無気力」に $r=-0.44$ 、「抑うつ－落ち込み」に $r=-0.52$ の負の相関がそれぞれ認められ、1月の「活気－活力」に $r=0.45$ の正の相関が認められた (表5)。同様に、クロモグラニン A との相関を求めたところ、表4に示すように相関を認めなかったが、月別では10月の「ストレス」に $r=0.43$ の正の相関が認められ、11月の「総合的気分」に $r=-0.49$ 、「怒り－敵意」に $r=-0.40$ 、「混乱－当惑」に $r=-0.50$ 、「疲労－無気力」に $r=-0.55$ 、「抑うつ－落ち込み」に $r=-0.56$ 、「緊張－不安」に $r=-0.43$ の負の相関がそれぞれ認められた (表6)。

なお、POMS による心理検査の結果と各ストレスマーカーの変動について、模擬試験の成績や模擬試験の結果に基づいたクラスでの成績順位との関係性について検討したところ、それぞれに有意な相関を認めなかった (データ未記載)。すなわち、ストレスマーカーの値が高い者や POMS のネガティブな点数の高い者が、模擬試験の得点が低い、或いはクラスでの成績順位が低いといった一定の傾向は認められなかった。

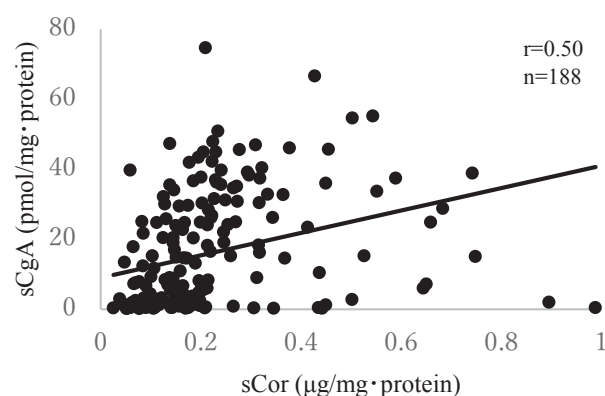


図5 コルチゾールとクロモグラニン A の相関関係
sCor: 唾液コルチゾール sCgA: 唾液クロモグラニン A

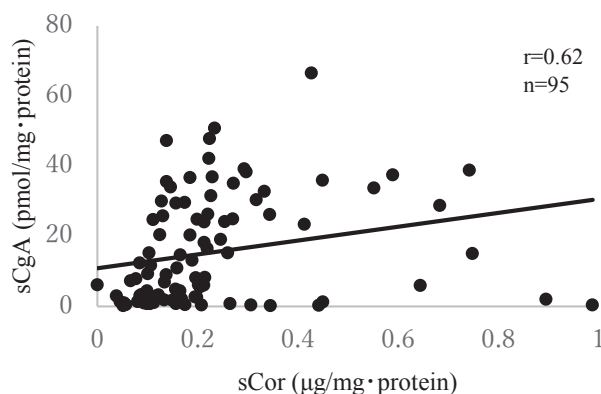


図6 男性のコルチゾールとクロモグラニン A の相関関係
sCor: 唾液コルチゾール sCgA: 唾液クロモグラニン A

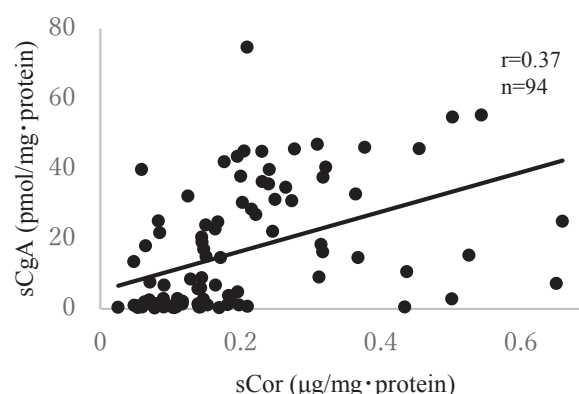


図7 女性のコルチゾールとクロモグラニン A の相関関係
sCor: 唾液コルチゾール sCgA: 唾液クロモグラニン A

表3 コルチゾールとクロモグラニン A の月別相関関係

	5 月	6 月	7 月	8 月	9 月	10 月	11 月	12 月	1 月	2 月	3 月
相関係数	0.33	-0.05	0.30	0.44	0.34	0.59	0.54	0.54	0.53	0.3	0.67

表4 POMS の各尺度の点数とストレスマーカーの相関関係

	コルチゾール	クロモグラニン A
総合的気分	-0.07	-0.07
怒り - 敵意	-0.05	-0.02
混乱 - 当惑	-0.03	0.001
抑うつ - 落ち込み	-0.05	-0.07
疲労 - 無気力	-0.07	-0.11
緊張 - 不安	-0.05	0.01
活気 - 活力	0.02	0.18
友好	-0.01	0.11
ストレス	-0.02	0.02

表5 POMS の各尺度の点数とコルチゾールの月別の相関関係

	5 月	6 月	7 月	8 月	9 月	10 月	11 月	12 月	1 月	2 月	3 月
総合的気分	0.01	-0.35	-0.08	-0.09	-0.06	-0.06	-0.42	-0.18	-0.14	0.21	0.19
怒り - 敵意	-0.02	-0.24	-0.12	0.16	-0.09	-0.10	-0.43	-0.05	-0.14	0.35	0.12
混乱 - 当惑	0.15	-0.33	-0.06	-0.11	-0.16	-0.06	-0.49	0.09	0.07	0.16	0.15
抑うつ - 落ち込み	0.07	-0.22	-0.15	0.09	0.01	-0.08	-0.52	-0.10	0.06	0.17	0.07
疲労 - 無気力	0.06	-0.36	-0.01	-0.04	-0.27	-0.08	-0.44	-0.15	-0.16	0.17	0.17
緊張 - 不安	0.02	-0.38	-0.09	-0.16	-0.13	-0.001	-0.38	0.09	0.09	0.18	0.21
活気 - 活力	0.02	-0.13	-0.01	-0.24	-0.27	-0.06	-0.08	0.34	0.45	0.08	0.19
友好	0.18	-0.41	0.10	-0.31	-0.19	-0.07	-0.13	0.28	0.26	0.16	0.13
ストレス	-0.15	-0.29	-0.39	0.15	-0.08	0.16	-0.32	-0.24	-0.34	0.04	0.39

表6 POMS の各尺度の点数とクロモグラニン A の月別の相関関係

	5 月	6 月	7 月	8 月	9 月	10 月	11 月	12 月	1 月	2 月	3 月
総合的気分	-0.04	-0.04	-0.11	0.18	-0.24	0.06	-0.49	-0.12	-0.29	0.01	-0.11
怒り - 敵意	0.11	-0.17	-0.09	0.11	-0.04	-0.01	-0.41	-0.06	-0.25	0.26	-0.03
混乱 - 当惑	-0.02	-0.12	0.12	0.10	-0.08	0.07	-0.50	0.09	-0.16	0.04	0.03
抑うつ - 落ち込み	-0.07	-0.12	-0.13	0.22	-0.16	0.03	-0.56	-0.13	-0.17	0.01	0.04
疲労 - 無気力	-0.10	-0.10	-0.16	-0.01	-0.32	-0.01	-0.55	-0.02	-0.31	0.06	-0.04
緊張 - 不安	0.12	0.002	0.07	0.32	-0.05	0.05	-0.43	0.01	-0.08	0.02	0.03
活気 - 活力	0.16	-0.06	0.11	-0.01	0.05	0.01	-0.11	0.39	0.30	0.03	0.39
友好	0.29	-0.02	0.35	-0.06	0.02	0.21	-0.13	0.33	0.26	0.13	0.35
ストレス	-0.03	0.01	0.08	0.32	0.01	0.43	-0.30	-0.42	-0.48	-0.06	-0.02

4. 考察

本研究においては、ストレスに対して反応性の異なる α -アミラーゼ、コルチゾール、クロモグラニン A の3種の唾液ストレスマーカーを指標として、臨床検査技師を目指す4年次生を対象に、9か月にわたるストレス状態の変化について検討した。また、これら唾液ストレスマーカーの変化については、男女間での比較のほか、主観的な心理評価との関係性に加え、模擬試験の点数やクラス順位との関係性について、以下、考察してみたい。

まず、今回指標とした唾液 α -アミラーゼは、以前よりストレスとの関連性を検討した多くの先行研究によって、ストレス負荷の度合いをある程

度反映するマーカーとして広く理解されている。また、ドライケミストリー式の安価な専用測定器まで実用化され、リアルタイムに測定できる環境が整っていることから、有用なストレスマーカーの一つであるといえるであろう。一方で、唾液中の α -アミラーゼ活性は個人間でばらつきが大きく、そのために多くの研究において log 変換処理値での検討を余儀なくされ、被験者の個人内変動の検討のみを対象とするなど、研究間での比較が困難であることが問題となっている⁵⁾。このばらつきの生じる要因の一つとして、個人間で異なる唾液分泌流量の差と、舌下腺・顎下腺由来の唾液 α -アミラーゼよりも高活性を示す耳下腺由

来唾液 α -アミラーゼの混入による測定誤差が指摘されている¹⁴⁾。つまり、唾液中に含まれる生理活性物質の濃度は唾液の分泌流量が増えるほどに高まり、しかも交感神経刺激によって唾液の分泌刺激を受けた場合には、全唾液量に対する耳下腺由来比が急速に増大することが確かめられている。従って、唾液 α -アミラーゼ活性が高い値を示した場合には、常に耳下腺由来 α -アミラーゼの混入の可能性を考慮する必要があると生じ、この現象と全く同じことが本研究においても確認されている。すなわち、唾液 α -アミラーゼは生体に生じた精神的ストレス・身体的ストレスを評価するための優れた指標である一方で、唾液を採取する際には細心の注意を払う必要があり、特に測定値が高値を示した場合には、耳下腺由来の唾液が混入している可能性を考慮して評価する必要があると考えられた。ところで、先行研究の多くが舌下小丘から分泌される舌下腺・顎下腺由来の唾液を舌下部で採取しており、本研究においても舌下にて唾液を採取した。ところが、舌下部で唾液を採取する際に、これら舌下腺・顎下腺由来の α -アミラーゼ活性よりも高い活性を有する上顎口腔前庭から分泌される耳下腺由来の唾液¹⁵⁾が混入したと想定されるような5倍～9倍ほど活性の高い唾液が同じ被験者から複数回採取された。そこで、3名のボランティアから舌下部と上顎口腔前庭部とに分けて唾液を複数回採取して α -アミラーゼ活性を測定したところ、5回の唾液採取に対して1回程度の割合で舌下部由来の唾液 α -アミラーゼが高値を示した。また、高値を示した舌下部 α -アミラーゼ活性と上顎口腔前庭 α -アミラーゼ活性はほぼ同じ値を示したことから、舌下部から唾液を採取する際に耳下腺由来の唾液が混入したものと判断した。すなわち、被験者の唾液採取の仕方によって α -アミラーゼ活性値にばらつきの生じる可能性を否定できず、正確に測定することが困難と判断し、今回の実験ではストレスを評価するマーカーから除外することとした。

本研究でストレスマーカーとして用いた2つの生理活性物質のうち、副腎皮質から分泌されるHPA系のコルチゾールは長時間のストレスや身体的ストレスを反映し、一方の副腎髄質と顎下腺から分泌されるSAM系のクロモグラニンAは精

神的ストレスのみを反映していると一般的には考えられているが、未だ不明な点も多い。特にコルチゾールは、運動負荷に対して一定の傾向は認められないとする報告^{16, 17)}がある一方で、安静時と比較して運動負荷後に有意な上昇を認めた報告¹⁸⁾、或いは臨床検査技師国家試験模擬試験の受験前後の比較で有意な変化を認めない¹⁹⁾など、一定の見解がなされていない。このように、報告者によって異なった結果の生じる要因として、食事の有無や前日の睡眠状態による影響の可能性が指摘されている¹⁷⁾。また、運動負荷に対しても物理的な刺激の大小にかかわらず、身体的ストレス負荷時には精神的ストレスも同時に伴うことで、それらによって引き起こされる感情の状態（快・不快）がコルチゾールの分泌に影響している可能性も同様に指摘されている¹⁷⁾。

本研究を実施するにあたっては、当初、2月の国家試験当日には多大なストレスがかかることを予想し、国家試験当日を迎えるまでに両マーカーともに段々と上昇するのではないかと想定していたが、そのような傾向は認められなかった。まず、コルチゾールについてであるが、年間を通して上昇と下降を示していた。高辻ら²⁰⁾の行った看護学生の臨地実習中における唾液コルチゾール濃度の測定では、実習期間の午前中に示す値が日常生活時にみられる値よりも有意に上昇し、16時以降には日常レベルにまで低下することを報告している。このことは、持続的なストレスに起因するコルチゾールの分泌は午前中の値に反映され、その後は午前中の値に左右されずに、16時前後には日内変動に従って日常レベルにまで減少することを意味している。本研究では、コルチゾールが起床直後に最高値を示し、夜間に最低値になるという日内変動と、ボランティア学生の通学や授業を考慮して、値が最も安定するとされる16時時点の値を測定していることから、本来の値よりも日内変動に従って低下した可能性を否定できない。もしそうであると仮定しても、月別の平均値は上昇と下降を示しており、今回のコルチゾールの値はストレスが生じていたことを示していると判断して良いのではなかろうかと考えられる。実際に、高値を示した7月は第1回目の卒業試験を控えた時期であること、同じく高値を示した2月は国家試験

直前であり、学生にとってストレスが強かったであろうことは容易に推察できる。また牛木ら²¹⁾や田川ら²²⁾の調査でも、国家試験を控えている医療系大学の学生の心理的ストレスは非常に大きく、睡眠不足や不規則な食事なども相まって、明らかにストレスが強くなっていることをそれぞれ明らかとしており、これらの報告は本研究の結果を支持していると考えられた。

続いてクロモグラニン A についてであるが、平均値でみた場合、年間を通して緩やかな変動を示した。野村ら²³⁾による男子学生を対象とした精神作業負荷実験によれば、クロモグラニン A のストレス応答特性には特徴が2つあり、その一つは精神的ストレス負荷に対して短時間に反応する特性とともに、ストレスからの解放の僅か3分後には数値が元に戻るというストレス反応の時間特性である。この観点から今回の結果についてみると、年間を通して高い値を持続的に示したクロモグラニン A は、学生が持続的なストレス状態にあったことを示唆している。また、クロモグラニン A におけるもう一つの特徴として、ストレス応答に対する頑健性が挙げられている。つまり、ある程度の時間間隔にわたってストレス負荷が持続した場合、その繰り返し負荷に対しても順化が生じにくく、その度に反応するという頑健なストレス応答性である。この頑健性の点からも、年間を通して高い値を示しているクロモグラニン A は、学生が持続的なストレス状態にあったことを示唆している。なお、11月に非常に高い値を示すいくつかの外れ値が認められたが、コルチゾールにはこれらに対応する外れ値を認めなかった。このことは、精神的ストレスのみに反応するクロモグラニン A が感知したストレスをコルチゾールでは感知できないことを示唆している。ラットモデルを用いた急性痛と慢性痛に対するストレスマーカーの分泌動態に関する実験²⁴⁾によれば、いわゆる疼痛は精神的にも身体的にもストレスをもたらすものであるが、クロモグラニン A は急性痛には反応を示さず、慢性痛で有意に上昇するという。慢性痛と比較すると急性痛は危険信号としての意味合いが大きく、精神的ストレスよりも身体的ストレスの要素が大きいため、急性痛ではクロモグラニン A が反応しなかったと結

論づけている。本研究において、非常に高い値を示した11月の外れ値はそれら学生の精神的ストレスがそれだけ高かったことを表していると思われるが、コルチゾールが全く反応していないことから推して、コルチゾールでは捉えることのできない特異的な精神的ストレスをクロモグラニン A は捉えることができることに加えて、単独のストレスマーカーのみでは正確なストレス判断が難しいことを示唆している。

次に、4年次生における男女の違いについてみると、コルチゾールおよびクロモグラニン A ともに統計学的な有意な男女差を認めなかったが、逆相関を示す傾向が見られた。男女におけるストレスに対する反応性の違いについてはいくつかの先行研究がある。下村ら²⁵⁾は、定期試験に対するストレスの変化をみるために、81名の学生を対象に試験1週間前、試験前日、試験終了直後まで3回唾液を採取してコルチゾールを測定している。その結果、唾液採取時刻は不明であるが、男女ともに試験経過に伴う平均値の変化はみられなかったものの、全ての測定日において女子学生よりも男子学生の方が約2倍高値を示したという。また、山田ら²⁶⁾は、男性は急性の心理ストレス負荷や学力テストでコルチゾールが上昇し、女性に対して反応が弱く、仲間はずれや社会的拒絶で上昇すると述べている。身体的な観点では、肩こりの原因として男性は身体的要因が強く、女性は心理的要因が強いこと²⁷⁾や、長時間運動したときの感情の変化を男女で比較した研究では、男性は運動中にリラックス感や不安感の感情の回復傾向を示すのに対して、女性は運動終了後でもこれら感情の回復がみられない²⁸⁾など、運動1つにしても男女で感じ方や感情の変化に違いのあることが分かる。そこで今回の測定で男女の平均値の差が1.5倍以上あった月をみると、コルチゾールでは6月と7月に女性が高くなる傾向がみられた。コルチゾールの測定値に関しては、日内変動に従って低下している可能性について先に述べたが、この時期はまさに臨地実習期間と重なっていたことから、臨地実習に対して女子学生が強いストレスを感じていた可能性があると考えられた。一方、クロモグラニン A については5-6月と11月に男性が、8月に女性が高い傾向にあり、精神的ストレ

スを強く感じていたことを示していると思われるが、5-6月の男子学生および8月の女子学生がそれぞれ高値を示した原因については、現状、不明と言わざるを得ない。一方、11月に注目すると、測定日は卒業試験の4日前にあたり、男子学生の平均値は特段高いというわけではないが、非常に高い値を示す男子学生の外れ値の存在に加えて、女子学生よりも1.5倍以上の値を示していることは、試験に対する男子学生のストレスを或いは示しているのかもしれない。このように、ストレスの種類によって男女の反応が異なる可能性があることから、男性女性それぞれに精神的なケアの仕方を変える必要があると思われる。

これまでコルチゾールとクロモグラニン A について、それぞれの反応特性から4年次生のストレス状態について述べてきたが、両者の相関関係について検討したところ、両者の変動に $r=0.50$ の正の相関、男女別では男性 $r=0.62$ 、女性 $r=0.37$ で、男性の方が高い正の相関を示した。今回用いた2つのストレスマーカーは、コルチゾールが HPA 系の活性化により放出されるのに対し、クロモグラニン A は SAM 系が活性化することで放出されるというそもそもの反応経路の違いがある。また、ストレス曝露から放出されるまでに時間的な差があることなどから、両マーカーの反応性に相関を認めなくても問題はないと思われるが、今回の結果では相関を認めており、今後詳細な検討によって反応経路の異なるマーカーの関係性が明らかになるとと思われる。

中根²⁹⁾ は、主観的ストレスと客観的ストレスの関連性を検討するために、プロドライバーに対して自動車運転負荷を課した時の唾液コルチゾールとクロモグラニン A を測定し、独自のアンケート項目による主観的な心理スコアと比較している。その結果、コルチゾールは疲労感に、クロモグラニン A は緊張感に関連した変動が認められたという。また、国家試験直前の医療系学生51名を対象に、クロモグラニン A の変動と POMS による心理評価との関連性について検討した研究²¹⁾ では、POMS の結果から精神的負担度を3群（小さい、大きい、非常に大きい）に分けてみた結果、非常に大きな精神的負担を抱えている学生のみ、クロモグラニン A が有意に上昇したという。一方で

西村ら³⁰⁾ は、音楽経験の有無が音楽聴取によるストレス軽減に影響するかを検討するために、18-76歳の男女43名を対象に、唾液コルチゾールとクロモグラニン A を測定したところ、コルチゾールは聴取後に減少傾向を示したが有意差は認められず、クロモグラニン A は有意に減少したことを確認している。コルチゾールが減少しなかった理由として、ストレスに対する反応が遅いことが数値の減少に繋がらなかったことを挙げている。一方、クロモグラニン A の減少については、アンケート調査による心理状態との関連性を検討しているが、音楽の聴取前後に有意差がなく、いわゆる心理検査上での緊張感の高さとクロモグラニン A の濃度には関連性がなかったとされている。本研究においても、POMS による心理検査の結果とストレスマーカーの変動との相関関係を検討したところ、年間の全データとの比較では有意な相関を認めなかったが、月別では POMS の点数が高いにもかかわらずストレスマーカー値が低いという月が認められた。すなわち、ストレスを感じているという POMS 上の点数が高くてもストレスマーカーの上昇を認めない例や、反対に点数上はストレスを感じていないと判断される場合でもストレスマーカーが高値を示すなど、一定の傾向は認められなかった。つまり、アンケート調査のみでストレス状態を判断することは困難であり、アンケートによるストレスチェックはあくまで参考値とすべきであると考えられた。

さらに本研究では、心理状態と各ストレスマーカーの変動について、模擬試験の成績やクラスでの順位との関係性について検討した。伊藤ら³¹⁾ は、臨床検査技師国家試験を受験する学生に対し、4月・受験2日前・受験日当日の唾液コルチゾールとクロモグラニン A の濃度、および心理検査を実施して、それらの関係性について検討している。その結果、コルチゾールには有意な変化がみられず、試験成績や心理検査とも相関を示さなかったといい、コルチゾールが変動しなかったのは体動の少なさが原因と結論づけている。一方、クロモグラニン A は4月の時点に比べ、国家試験2日前および試験後ともに有意な上昇を認め、国家試験直前に心理検査上でストレス度の強い人ほど得点が低い傾向が見られたという。本研究では、模擬

試験の得点が低い、或いはクラスでの成績順位が低い者がストレスマーカーの値が高い、ないし POMS のネガティブな点数が高いといった一定の傾向は認められなかった。反対に、模擬試験も高得点で成績上位のクロモグラニン A 値が高い者も一部存在するなど、伊藤らの報告とは一致しなかった。しかしながら、クロモグラニン A が精神的ストレス状態を反映するマーカーであることを鑑みれば、少なくともクロモグラニン A が高値を示す者については、高ストレス状態にあると見なして十分に注意すべきであろう。但し、成績や順位のみでストレス状態を判断せず、学生それぞれの状態を把握するために面談を実施するなど、個別に対応することが重要であると考えられる。

5. 結語

本研究では、臨床検査技師を目指す4年次生を対象に、約1年間にわたるストレス状態の変化について唾液中の α -アミラーゼ、コルチゾール、クロモグラニン A を測定することによって検証を行った。その結果、4年次生は持続的に精神的ストレスを強く感じていることが明らかとなり、男女でストレスに対する感受性や反応の仕方が異なることが分かった。また、コルチゾールでは捉えることのできない特異的な精神的ストレスをクロモグラニン A は捉えることのできる可能性が示唆されたが、単独のストレスマーカーのみでは正確なストレス評価は困難であることを示していると考えられた。さらに、心理検査による主観的評価とストレスマーカーによる客観評価は乖離する場合があり、アンケートによるストレスチェックはあくまで参考値とすべきであると考えられた。同様に、模擬試験の成績やクラス成績順位とストレスマーカーの変化は必ずしも一致しないことが確認されたことから、成績や順位のみで学生のストレス状態を判断せず、学生それぞれの状態を把握するために面談を実施するなど、個別の対応が重要であると考えられた。

謝辞

稿を終えるにあたり、実験を行う際にいつもお力添えを頂きました一原直人准教授、データの解析にご助言を賜りました中野正博特任教授、川崎

勝也講師、小林龍徳講師の各先生、試料の提供に快く協力して下さった純真学園大学保健医療学部検査科学科の学生の皆様、その他協力して下さった全ての方々に深謝致します。

6. 参考文献

- 1) 高倉実, 崎原盛造, 古田孝夫. 大学生の抑うつ症状に関連する要因についての短期的縦断研究. 民族衛生, 66 (3), 109-121, 2000.
- 2) 梅田怜奈. 大学生の心理的ストレスと性格特性との関係. 早稲田大学卒業論文, 77, 2012.
- 3) 内田千代子. 大学における休・退学, 留年学生に関する調査. 学生の心の悩みに関する教職員研修会, 31, 80-94, 2010.
- 4) 山口昌樹. 唾液マーカーでストレスを測る. 日薬理誌, 129, 80-4, 2007.
- 5) 長野祐一郎. スピーチ課題が唾液アミラーゼ活性に与える効果. 文京学院大学人間学部研究紀要, 10 (1), 221-8, 2008.
- 6) 児玉高有, 阿部貴恵, 兼平孝, 森田学, 他. 唾液中ストレスマーカーの動態分析. 北海道歯誌, 31, 52-61, 2010.
- 7) 長谷川文香. 対人関係におけるストレスに影響を及ぼす要因の検討. 跡見学園女子大学文学部臨床心理学科紀要, 1, 31-42, 2013.
- 8) Kirschbaum C, Hellhammer DH. Salivary cortisol in psychobiological research: an overview. *Neuropsychobiology*, 22, 150-69, 1989.
- 9) Takatsuji K, Sugimoto Y, Ishizaki S, Ozaki Y, et al. The effects of examination stress on salivary cortisol, immunoglobulin A, and chromogranin A in nursing students. *Biomed Res*, 29, 221-4, 2008.
- 10) 井澤修平, 城月健太郎, 菅谷渚, 小川奈美子, 他. 唾液を用いたストレス評価 - 採取及び測定手順と書く唾液中物質の特徴 -. 日本補完代替医療学会誌, 4 (3), 91-101, 2007.
- 11) 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, 185-8, 2011.
- 12) 岡村尚昌. 新生児における非侵襲的な血中コルチゾールの代替マーカー: 唾液サンプルの有用性. ストレス科学, 33 (1), 10-7, 2008.
- 13) Juvia P. Heuchert, Ph. D. & Douglas M. McNair, Ph. D. POMS2® 日本語版 マニュアル初版 金子紀子, 株式会社 金子書房, 2017.
- 14) 田中弘之, 藤森貴大, 北原嘉之. 持久的運動時の唾液中 α -アミラーゼ活性値の変動要因. 鳴門教育大学研究紀要, 30, 485-93, 2015.
- 15) 山口昌樹, 金森貴裕, 金丸正史. 唾液アミラーゼ活

- 性はストレスの推定の指標になり得るか. 医用電子と生体工学, 39 (3), 46-51, 2001.
- 16) 川島聡子, 荻原久美子, 下永田修二, 野村純, 他. 運動前後の精神的変化とストレス応答物質の関連. 千葉大学教育学部研究紀要, 54, 263-70, 2006.
- 17) 越智淳子, 田丸政男. 低強度運動と唾液中コルチゾール濃度の関連性について. 佛教大学保健医療技術学部論集, 13-18, 2007.
- 18) Powell J, DiLeo T, Roberge R, Coca A, Kim J-H. Salivary and serum cortisol levels during recovery from intense exercise and prolonged, moderate exercise. *Biol Sport*, 32 (2), 91-5.
- 19) 新見道夫, 山田恭二, 栗波篤史, 三好真琴. 大学生の試験ストレスが唾液中コルチゾール, アミラーゼ, クロモグラニン A に及ぼす影響. 香川県立保健医療大学雑誌, 1, 49-53, 2010.
- 20) 高辻功一, 杉本吉恵. 看護学実習が唾液コルチゾール分泌に及ぼす影響. 日本看護研究学会雑誌, 31 (5), 89-92, 2008.
- 21) 牛木和美, 佐藤友香, 新井勝哉, 井出規文, 他. 唾液分泌物によるストレス評価の検証－国家試験直前の学生を対象として－. 臨床病理, 59 (2), 138-43, 2011.
- 22) 田川泰, 井口茂, 東登志夫, 中野裕之, 他. 試験前後における学生の試験ストレス評価とリンパ球サブセットの変化. 長崎大学医学部保健学科紀要, 16 (2), 49-53, 2003.
- 23) 野村収作, 水野統太, 野澤昭雄, 浅野裕俊, 他. 短期精神ストレスマーカーとしての唾液中クロモグラニン A の特性評価. 生体医工学, 48 (2), 207-12, 2010.
- 24) 米山早苗, 砂川正隆, 本田豊, 池本英志, 他. 急性および慢性痛発現時のストレスマーカーとしての唾液クロモグラニン A の分泌動態. 昭和学会誌, 73 (2), 85-90, 2013.
- 25) 下村弘治, 金森きよ子. 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 (3), 247-54, 2010.
- 26) 山田茂人. ストレス反応の男女差. 精神経誌, 112 (5), 516-20, 2010.
- 27) 大谷晃司, 矢吹省司. 肩こりの疫学と QOL への影響. 整形・災害外科, 58 (7), 851-8, 2016.
- 28) Kimura T, Tsuda Y. Association of perceived stress and stiff neck/shoulder with health status: multiple regression models by gender. *Hiroshima J Med Sci*, 55 (4), 101-7, 2006.
- 29) 中根英雄: 新規精神的ストレス指標としての唾液中クロモグラニン A. 豊田中央研究 R & D レビュー, 34 (3), 17-22, 1999.
- 30) 西村亜希子, 大平哲也. 音楽聴取と唾液中コルチゾール, クロモグラニン A との関連. 日本音楽療法学会誌, 3 (2), 150-6, 2003.
- 31) 伊藤康宏, 伊藤彩, 寺平良治, 川本保子. 臨床検査技師国家試験が受験学生に及ぼすストレスの影響. 生物試料分析, 29 (4), 375-8, 2006.