

令和 3 年 6 月 15 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K10324

研究課題名(和文) 児童精神科領域における臨床応用可能な唾液ストレスマーカーの開発

研究課題名(英文) Development of salivary stress biomarkers in child psychiatry

研究代表者

篠山 大明 (Sasayama, Daimei)

信州大学・学術研究院医学系・准教授

研究者番号：90447764

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：注意欠如・多動症(ADHD)がある子どもを対象とした研究では、ADHDの症状が強い子ども19名とADHD症状が明らかではない17名の子どもの唾液検体を比較した。その結果、唾液中のサイトカイン群(27項目)のうちの一部では、両群で濃度が異なることが明らかになった。青年期のストレス指標となるバイオマーカーの開発研究では、健常者31名(平均[標準偏差]21.5 [0.8]歳)の唾液中サイトカイン群(27項目)を測定し、サイトカイン濃度と睡眠、ストレス、注意力との関連を調べた。その結果、Th1/Th2の指標となる唾液サイトカイン比がストレスと関連することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

児童青年期のストレスバイオマーカーとして唾液サンプルを用いることができる可能性を示唆する結果が得られた。とくに児童精神科領域では患者が言葉で自身の心理的ストレスについて表現することが難しいため、正確なストレスの評価を行うことが難しい。児童からも容易に採取できる唾液によるバイオマーカーが開発できれば、臨床的な意義は大きい。また、ストレスが血液中のサイトカインのTh1/Th2のバランスと関連することは過去に報告されていたが、唾液中サイトカインのTh1/Th2バランスがストレスに関連することを報告したのは本研究が初めてである。今後、ストレスと免疫の関係を解明する一助となることが期待される。

研究成果の概要(英文)：The first study aimed to develop a salivary biomarker for attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) in children. Saliva levels of 27 cytokines were measured in samples collected from 19 children with significant ADHD symptoms and 17 without. A significant difference between groups was observed in the levels of several of the cytokines measured. The second study aimed to develop a salivary biomarker to monitor stress in adolescents. Saliva levels of 27 cytokines were measured in samples collected from 31 health participants (mean age [SD] = 21.5 [0.8] years). The associations of cytokine levels with sleep, stress, and attention were examined. Stress was significantly associated with alterations of the Th1/Th2 balance in salivary cytokines.

研究分野：児童精神科

キーワード：サイトカイン ストレス 睡眠 注意力

1. 研究開始当初の背景

現代の複雑化した情報化社会においては、大人のみならず子どもも日常生活の中で日々心理的ストレスを受けている。ストレス反応は環境に適応するための基本的な身体反応であるが、幼少期の過度の心理的ストレスが各種の身体的・精神的な疾患の発症や行動の障害に関連していることが知られている。児童精神科の臨床において子どものストレスを正確に評価し対策を講じることは極めて重要であるが、ストレスに対する反応は個人差が大きく、程度を判定することは自覚的にも他覚的にも困難である。とくに子どもは言語的な表出が困難であり、子どものストレスが周囲に把握されていないことも多いため、客観的なストレスの評価方法の開発が求められている。

免疫系と神経系はサイトカインを介して双方向性の密接なネットワークを形成している。心理的ストレスにより交感神経系が活性化されると、炎症性サイトカインの産生が促進される。一方で、サイトカインの働きによりコルチコトロピン遊離促進ホルモン(CRH)放出が増加してコルチゾールの放出が増加すると、免疫反応は抑制する方向に働く。近年、心理的ストレスが炎症性サイトカインの産生に関連していることが明らかになり、サイトカインが有用な心理的ストレスマーカーとなる可能性が指摘されている。

2. 研究の目的

非侵襲的な唾液検査は児童精神科医療での使用に適しているため、本研究では唾液中のサイトカイン測定により心理的ストレスを評価し、臨床応用可能なストレスマーカーを開発することを目指した。最初の研究では、日常生活で強いストレスを抱えやすい注意欠如・多動症(ADHD)がある児童を対象とし、ADHDの指標となる唾液バイオマーカーの開発を目的とした。次の研究では、青年期を対象とし、ストレスの指標となる唾液バイオマーカーの開発を目的とした。

3. 研究の方法

(1) 注意欠如・多動症がある児童のストレスマーカーの開発

注意欠如・多動症(ADHD)の診断で通院している児童および一般からリクルートした児童を対象とし、唾液採取とADHD評価スケール(ADHD-RS-IV)を実施した。唾液中に含まれるサイトカイン群(27項目)を測定し、ADHD群(19名[男12名、女7名]：平均年齢[標準偏差]10.6[2.6]歳)とコントロール群(17名[男11名、女6名]：平均年齢[標準偏差]11.5[3.1]歳)を比較した。

(2) 青年期のストレスマーカーの開発

健全な青年(31名[男11名、女20名]：平均年齢[標準偏差]21.5[0.8]歳)を対象に唾液を採取し、自閉症スペクトラム指数(AQ)、アテネ不眠尺度(AIS)、心理的ストレスの評価尺度である日本語版K10を実施した。さらにIntegrated Visual and Auditory Continuous Performance Test (IVA-CPT)による注意力の評価と、3日間のアクチグラフ着用による睡眠の評価を行った。

上記(1),(2)とも、サイトカイン分析装置：Bio-Plex(バイオ・ラッドラボラトリーズ株)を用い、サイトカイン分析試薬：Bio-Plex Pro ヒトサイトカイン 27plex Kit(バイオ・ラッドラボラトリーズ株)を用いた。測定したサイトカインはIL-1ra, IL-1β, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL12p70, IL-13, IL-15, IL-17A, Eotaxin, FGF, G-CSF, GM-CSF, IFN-γ, TNF-α, IP-10, MCP-1, MIP-1a, MIP-1β, PDGF-BB, RANTES, VEGFであった。

表1 検出率80%以上の唾液サイトカイン濃度

	検出率	平均(SD)[pg/ml]	範囲[pg/ml]
IL-1β	100%	6.3 (9.1)	0.3-40.7
IL-1RA	96.8%	1614.7 (1295.2)	199.4-4910.0
IL-4	96.8%	1.0 (1.2)	0.3-6.1
L-6	93.5%	3.6 (10.1)	0.4-55.7
IL-8	100%	180.1 (170.7)	17.6-604.5
Eotaxin	87.1%	1.9 (2.6)	0.4-12.7
FGF basic	100%	8.2 (4.7)	3.7-28.0
IFN-γ	100%	175.6 (67.2)	68.8-327.3
IP-10	100%	913.1 (879.2)	82.4-3631.1
MCP-1	93.5%	52.1 (35.3)	5.6-132.5
MIP-1a	100%	0.8 (0.8)	0.1-3.4
MIP-1b	96.8%	4.1 (3.3)	0.4-10.7
TNF-α	96.8%	22.8 (57.4)	2.0-136.1
IFN-γ/IL-4	96.8%	269.6 (115.4)	35.7-465.3

いずれも、信州大学医学部医倫理委員会の承認を得た上で実施した。

4. 研究成果

(1) 注意欠如・多動症がある児童のストレスマーカーの開発

測定した27のサイトカインのうち、16は各群での検出率が50%を超えた。そのうちIL-1β, IL-8, IL12p70, G-CSF, IFN-γ, and VEGFはADHD群で有意に濃度が高った(P<0.05)。

(2) 青年期のストレスマーカーの開発

測定したサイトカイン27のうち13が検出率80%を超えた。検出されたサイトカインを表1に示す。サイトカイン同士の濃度の相関関係を図1に示した。Th1/Th2比の指標として用いられるIFN-γ/IL-4の比が、K10およびAISのスコアと有意に負

の相関を示した。図2にK10のカットオフを超えた群と超えていない群におけるIFN- γ /IL-4を示す。カットオフを超えた群は有意にIFN- γ /IL-4が低かった ($p = 0.007$; Mann-Whitney 検定)。

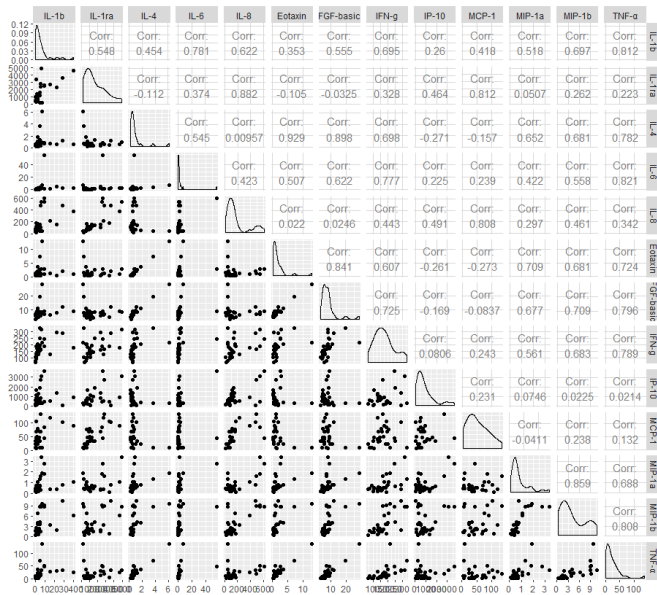


図1 各種唾液サイトカイン同士のスピアマン相関

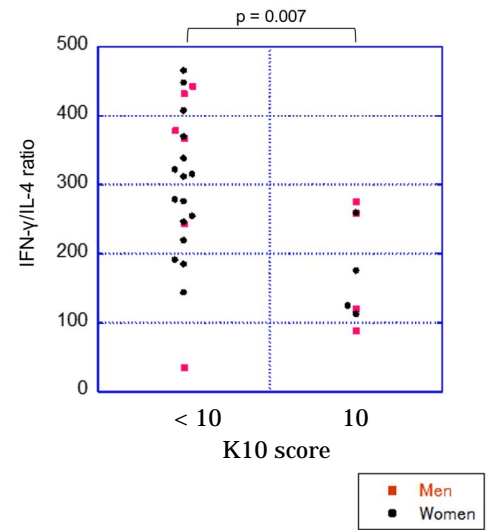


図2 唾液 IFN- γ /IL-4 と K10 の関係

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Masaki Yamaguchi, Daimei Sasayama, Shinsuke Washizuka	4. 巻 13
2. 論文標題 Clinical Utility of Salivary Cytokines for Children with Attention Deficit Hyperactivity Disorder.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Medical, Medicine and Health Sciences	6. 最初と最後の頁 379,382
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5281/zenodo.3455667	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Takemori Yuika, Sasayama Daimei, Toida Yukiyo, Kotagiri Minori, Sugiyama Nobuhiro, Yamaguchi Masaki, Washizuka Shinsuke, Honda Hideo	4. 巻 41
2. 論文標題 Possible utilization of salivary IFN /IL 4 ratio as a marker of chronic stress in healthy individuals	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neuropsychopharmacology Reports	6. 最初と最後の頁 65～72
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/npr2.12157	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Masaki Yamaguchi, Shinsuke Washizuka, Daimei Sasayama
2. 発表標題 Clinical Utility of Salivary Cytokines for Children with Attention Deficit Hyperactivity Disorder
3. 学会等名 International Conference on BioSensing Technology 2019（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 篠山大明
2. 発表標題 脳と心は利己的免疫システムに支配されるのか？
3. 学会等名 第60回日本神経学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Daimei Sasayama, Masaki Yamaguchi, Shinsuke Washizuka, Hideo Honda
2. 発表標題 Cortisol and cytokine/chemokine profiles associated with behavioral difficulties in children
3. 学会等名 CINP 2018 Vienna World Congress (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	山口 昌樹 (Yamaguchi Masaki) (50272638)	信州大学・学術研究院繊維学系・教授 (13601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------