

唾液クロモグラニンA濃度の変化とPOMS検査による感情・気分との関係

A study of salivary chromogranin A as psychosomatic stress marker

内藤祐子*, 松本高明**, 井出亘**, 西山一行**

Yuko NAITO *, Takaaki MATSUMOTO **,
Wataru IDE ** and Kazuyuki NISHIYAMA **

ABSTRACT

The purpose of this study is to measure changes in the concentrations of chromogranin A in saliva by exposure to stress in male volunteers, and to examine the relation between mood states and salivary chromogranin A. Chromogranin A is an acidic glycoprotein, which is localized in secretory granules of a wide variety of endocrine cells and neurons including chromaffin cells and sympathetic neurons.

A total of 12 males (19.1 ± 1.1 years old), who completed the continuous high-intensity running between 6 days as physical stress and the Hakone ekiden pre-trial race as psychosomatic stress, were studied. Saliva samples were collected one day before and after the hard training, also were done 2 days before and one day after the race, to measure the levels of salivary chromogranin A. At the same time, each subject filled in a profile of mood state questionnaire (POMS), designed to measure six mood factors; tension, depression, anger, vigor, fatigue, and confusion.

The results are summarized as follows. 1) The concentration of salivary chromogranin A indicated a low level two days before the race and increased one day after the race. 2) Before the race, among 6 mood factors, the mean vigor score level was the highest (16.4 points), and the fatigue score showed a low level (8.7 points). One day after the race, the fatigue score ranked top (11.7 points), and vigor score showed a low level (8.7 points). 3) A strong negative correlation was observed between the change in concentration of salivary chromogranin A and the vigor score one day after the race ($y = -0.0816x + 3.5416$, $r = -0.618$, $r^2 = 0.3706$, $p < 0.05$). 4) The level of salivary chromogranin A showed no change before and after hard training as physical stress. These results suggest that salivary chromogranin A elevated distinctively in response to not physical stressor but psychosomatic stressor and thus the level is considered to be a sensitive index for psychosomatic stressor.

Key words;

Profile of mood states (POMS), Psychosomatic stress, Salivary chromogranin A, Vigor

* 国士館大学体育学部スポーツ医科学科 (Dept. of Sport and Medical Science, Faculty of Physical Education, Kokushikan University)

** 国士館大学体育学部体育学科 (Dept. of Physical Education, Faculty of Physical Education, Kokushikan University)

は じ め に

唾液は血液を原材料としているので血清成分を反映している上に、外来物質の侵入を防御する役割を担うなどの口腔内の恒常性維持に深く関わっている。しかも、日常において得やすい生体試料であり、被検者に苦痛や侵襲を与えずに試料を採取できる利点がある。したがって、唾液を試料として各種疾患のスクリーニングや診断の指標として用いることは有用なことと考えられる。ここでは唾液中のクロモグラニンAに着目した。本来、クロモグラニンAは内分泌・神経系に広く分布する酸性糖タンパク質で、439のアミノ酸残基から構成されている¹⁾。クロモグラニンAは血中のカテコールアミンの分泌を反映することから、交感神経-副腎系の活動の指標とする事ができる³⁾。実際に、褐色脂肪腫瘍や下垂体腫瘍患者では血中クロモグラニンA濃度が高値を示すことが知られている。また、顎下腺導管部に存在するクロモグラニンAは自律神経刺激によって唾液中に放出される²⁾ことから精神的ストレスマーカーとして利用できると考えられている。

運動の際の心理や気分に関する研究は従来から多く報告されている^{1) 4-6)}。しかし、その多くは心理検査の結果のみを指標としている。さらに、トライアスロンにおけるβ-エンドルフィンなどの血中ホルモン濃度と心理検査との関連を検討した報告¹²⁾もあるが、血中ホルモン濃度の違いは競技直後のみであった。したがって、血中β-エンドルフィン濃度の変化が果たして心理的ストレスによるものなのかあるいは肉体的ストレスによるもののかの判断は難しい。そこで、駅伝選手を対象に合宿におけるハードトレーニングを肉体的ストレスとして、競技を心理的ストレスとしてそれぞれ捉え、両状況下での唾液クロモグラニンA濃度の変動ならびにPOMS検査による感情尺度との関連について調べ、唾液クロモグラニンAの心理的ストレスマーカーとしての有用性について検討したので報告する。

方 法

I 対象者と調査時期

本大学駅伝部に所属する男子選手12名（19.9±1.1歳）を対象とし、安静混合唾液採取とPOMS検査は合宿（1999年9月～10月：6日）の前日ならびに合宿終了の翌日と箱根駅伝予選会（1999年10月）の2日前と競技翌日の計4回行った。合宿は競技を想定して1日おきに24～30kmのタイムトライアルを実施し、1日に40km以上を走行するハードトレーニングであった。競技は1999年10月24日に東京で行われた箱根駅伝予選会（20km）とした。試合における選手12名の平均所要時間は1時間3分54秒で出場校のなかでは第14位であった。各被験者の身体的特徴は表1に示した。体脂肪率はインピダンス法で測定した。なお、実験に先立ち選手に対して研究の目的、内容等について十分説明し、本研究への参加を承諾したものだけを被験者として選抜した。

唾液は安静時の混合唾液とし、いずれも早朝空腹時に採取した。採取した唾液は遠心（3000rpm）したのち、エッペンドルフポリプロピレンチューブに移し、測定時まで-80°Cで冷凍保存した。

II 唾液クロモグラニンAの測定法

唾液中クロモグラニンAの測定はHuman Chromogranin A キット（矢内原研究所）を用いてELISA法で測定した¹⁰⁾。すなわち、抗human chromogranin Aをコーティングした96wellプレートに希釈した唾液、さらにペルオキシダーゼで標識した抗human chromograninAを加え、発色させた。スタンダードはヒトクロモグラニン合成ペプチドを用いた。クロモグラニンAは439のアミノ

表1 被験者の身体特性

人数(名)	12
年齢(歳)	19.9±1.1
身長(cm)	170.6±5.6
体重(kg)	53.6±4.6
BMI	18.4±0.6
体脂肪率(%)	11.8±1.8

酸残基からなる⁷⁾が、合成ペプチドはその配列の344-374の部分を合成した30アミノ酸残基を標準抗原とした。さらに、唾液の総タンパク量をBradford法で測定し、クロモグラニンA量をタンパク補正した。

III POMS(感情プロフィール)検査

強化合宿の前日ならびに合宿終了の翌日と競技2日前と競技翌日の各唾液および採血検査に引き続いて、POMS自記式質問紙法日本語版¹⁴⁾を用いて感情・気分の状態を調べた。感情・気分を表す65項目中のダミー項目を除いた58項目を6種の感情尺度(緊張度、抑鬱度、怒り度、活気度、疲労度、混乱度)に分類し、各尺度ごとに合計得点を算出した。感情尺度の変化は合計得点そのもので比較したが、唾液クロモグラニン濃度との相関性を検討する場合のみ得点をT-scoreに換算して用いた。

IV 統計処理

測定値は平均値および標準偏差(あるいは標準誤差)で示した。唾液クロモグラニンA濃度と各感情尺度との関係については、単純相関分析を行った。さらに、唾液クロモグラニンA濃度ならびにPOMS各感情尺度得点間の差については、1要因分散分析を実施し、有意な差が見られた場合はFisher's PLSD法を用いて多重比較を行った。

結果

I POMS感情尺度得点の変化

表2と図1-a, bにPOMS各感情尺度得点の平均値を示した。合宿前日に比較して合宿翌日では

「緊張度」、「抑鬱度」、「疲労度」、「混乱度」のネガティブ感情尺度の得点が低下したが、いずれも目立った変化ではなかった(図1-a)。一方、競技2日前の感情尺度では「活気度」が16.4点と最も

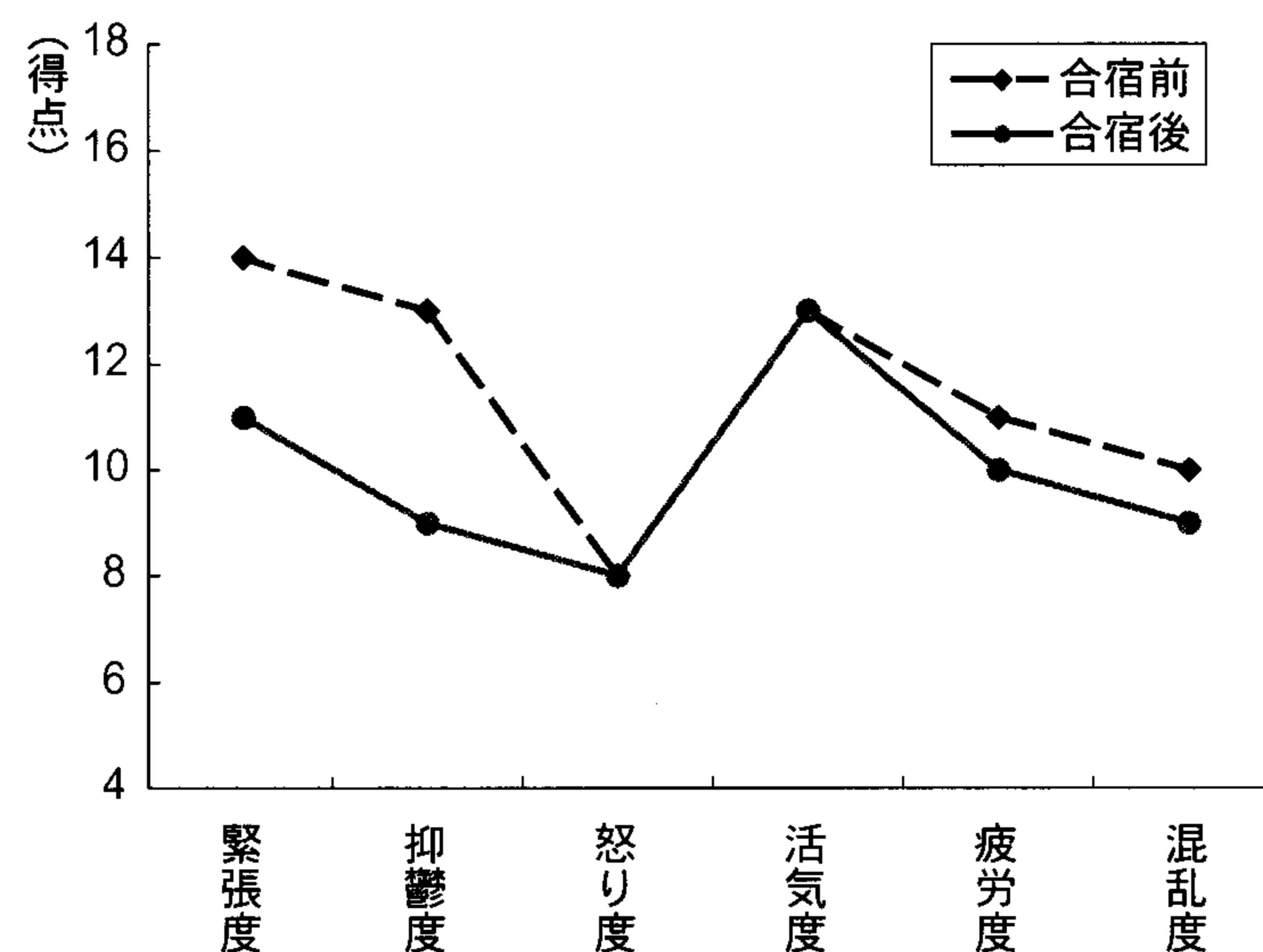


図1-a 合宿前後のPOMS各感情尺度得点の変化

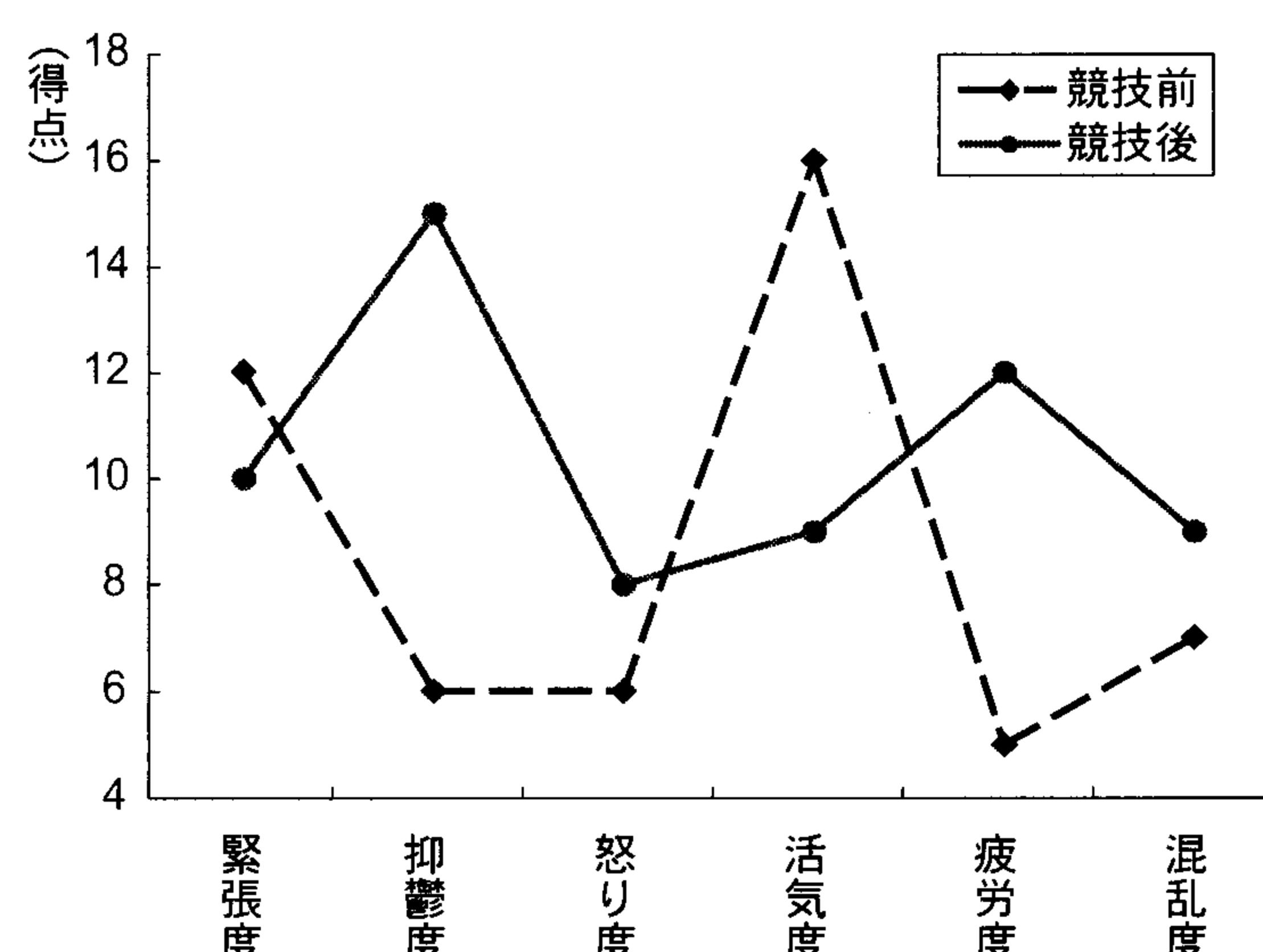


図1-b 競技前後のPOMS各感情尺度得点の変化

表2 合宿および競技前後のPOMS各感情尺度得点の変化

	合宿前	合宿後	競技前	競技後
人数(名)	12	12	12	11
緊張度(Tension)	14.1 ± 1.9	11.0 ± 1.7	12.4 ± 2.1	10.3 ± 1.9
抑鬱度(Depression)	12.9 ± 2.4	8.9 ± 1.8	5.8 ± 1.6	14.8 ± 2.6*
怒り度(Anger)	7.9 ± 1.7	8.3 ± 2.0	5.7 ± 1.9	8.4 ± 2.2
活気度(Vigor)	12.8 ± 1.7	12.7 ± 1.5	16.4 ± 1.5	8.7 ± 4.4*
疲労度(Fatigue)	11.3 ± 1.9	9.5 ± 1.8	5.3 ± 1.7	11.7 ± 1.9*
混乱度(confusion)	10.0 ± 1.5	9.3 ± 1.0	6.5 ± 1.2	9.0 ± 0.9

値は平均値±標準誤差

* : p<0.05 (競技前と比較)

高い値を示す一方で「疲労度」と「抑鬱度」が低く、全体のパターンは「氷山型」を示した。競技翌日には「活気度」が8.7点まで低下し、「疲労度」と「抑鬱度」はそれぞれ11.7点、14.8点と有意に高くなつた ($p < 0.05$) (表2, 図1-b)。「緊張度」、「怒り度」、「混乱度」に関しては個々の増減が見られたが、各状況間には有意な差はなかつた。以上、「活気度」、「疲労度」、「抑鬱度」は競技前後で変化したが、「活気度」は低下を示し、「疲労度」と「抑鬱度」は上昇を示した。

II 合宿ならびに競技前後における唾液クロモグラニンAの変化

図2に被験者の平均唾液クロモグラニンAの濃度変化を示した。唾液クロモグラニンA量は合宿前後においてはほとんど変化がなかつた。また、競技前では0.41 pmol/mgproteinと最も少ない値を示し、競技翌日には0.54 pmol/mgproteinと増加していたが、統計学上わずかながら有意な差ではなかつた。

III 合宿ならびに競技前後の唾液クロモグラニンA濃度変化値と各感情尺度得点との関係

次に、合宿前後および競技前後での唾液クロモグラニンAの変化量に着目し、POMS感情尺度のT-score得点との単相関分析を行つた(表3)。その結果、合宿前後の変化量と合宿後の各感情得

点との間では有意な違いは観察されなかつた。しかし、競技前後の唾液クロモグラニンA変化量と競技後の「活気度」得点との間には有意な負の相関関係 ($y = -0.0816x + 3.5416$, $r = -0.618$, $r^2 = 0.3706$, $p = 0.0468$) が認められた(図3)。「怒り度」や「緊張度」と唾液クロモグラニンA濃度との間にも負の相関関係が認められたが、統計学的に有意な差ではなかつた。ほかの感情尺度との間には有意な相関関係は観察されなかつた。

考 察

I 合宿前後と競技前後の感情・気分の変化

POMS検査は感情・気分を評価する検査法¹⁴⁾としてスポーツの分野でも広く用いられている。特に、オーバートレーニング状態を診断する指標としての利用度も高い。通常、スポーツ選手は「活気度」得点が高く、ネガティブ感情得点が低い氷山型を示す。

表3 唾液クロモグラニンA濃度の変化量と各感情尺度得点との関係

	合宿前後の変化量	競技前後の変化量
緊張度(Tension)	-0.039	-0.385
抑鬱度(Depression)	-0.098	-0.078
怒り度(Anger)	0.175	-0.518
活気度(Vigor)	0.106	-0.618*
疲労度(Fatigue)	-0.120	0.290
混乱度(confusion)	0.407	-0.032

値は相関係数

* : $p < 0.05$

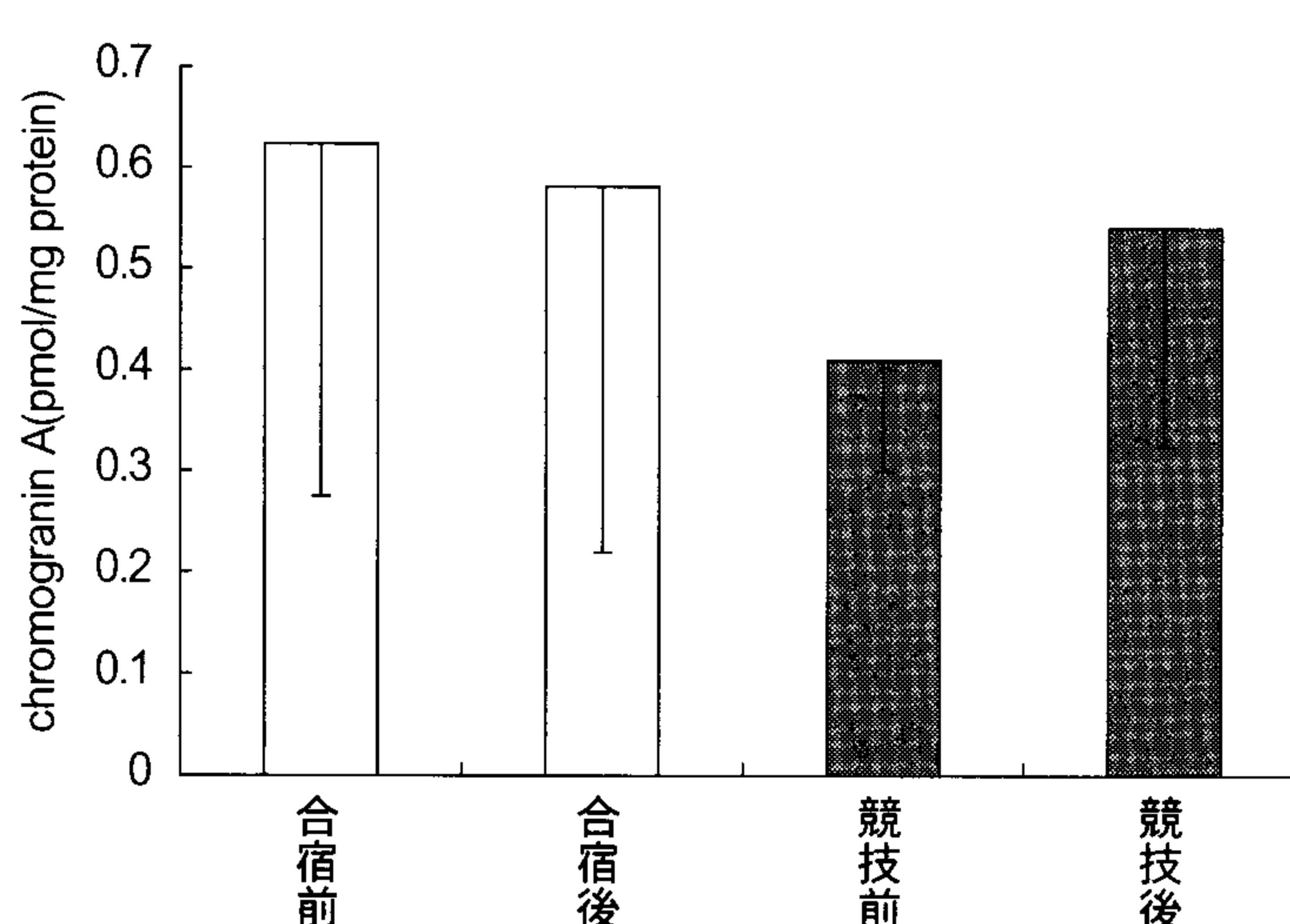


図2 合宿および競技前後の唾液クロモグラニンA濃度の変化

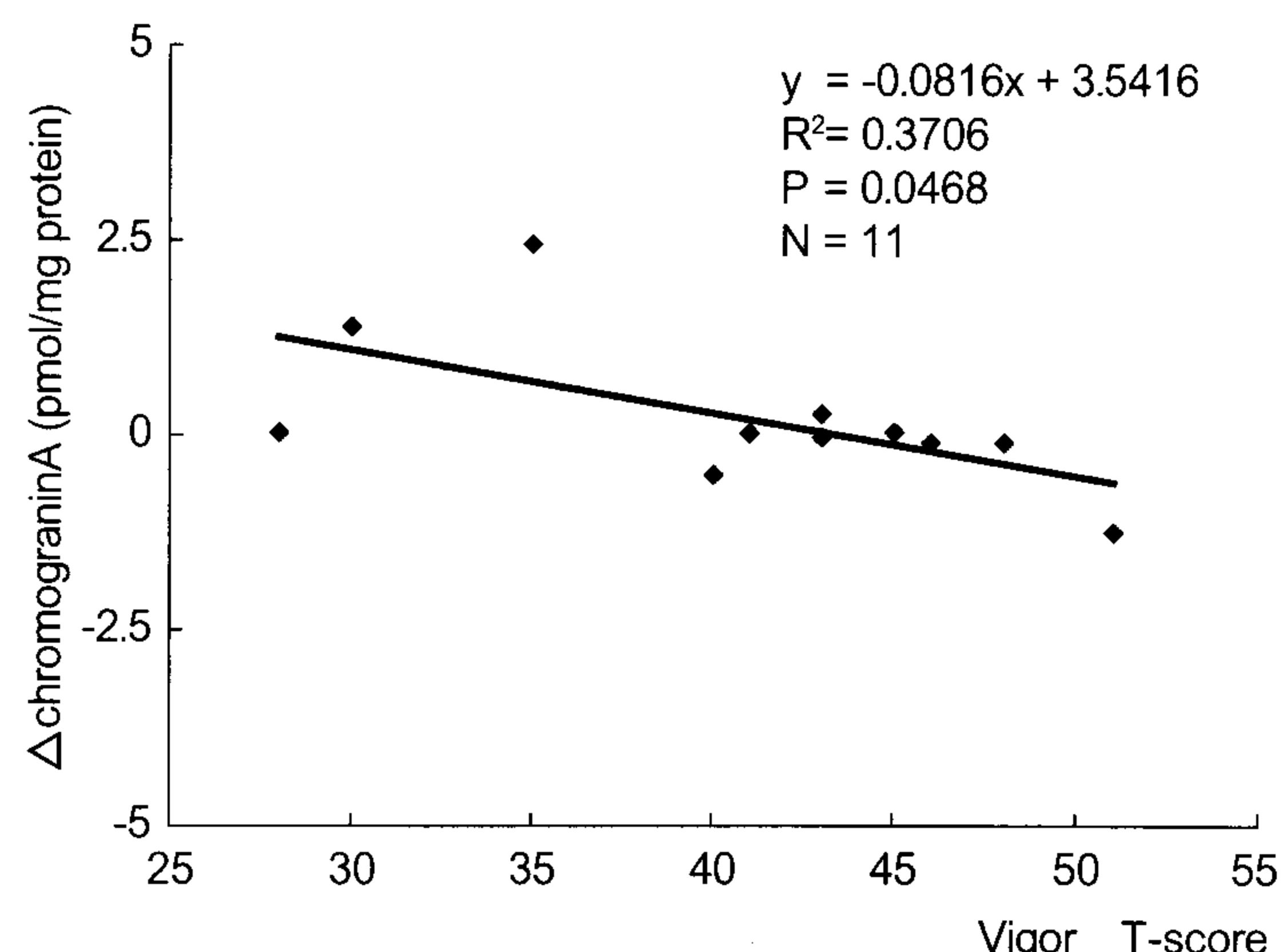


図3 競技後の活気度得点と唾液クロモグラニンA濃度の変化値の関係

山型を示すが、オーバートレーニング状態になると、「活気度」得点が低下し、ネガティブ感情尺度が高くなる凹型（逆氷山型）を示すことが多くなる¹³⁾。したがって、スランプ状態をみつけだすのにPOMS検査は有効な方法だと考えられている。図1-aに示されたようにハードトレーニング実施後のPOMS検査では「緊張度」や「抑鬱度」などのネガティブ感情の得点がいずれも低下する傾向が見られ、典型的な逆氷山型は観察されていない。オーバートレーニング状態は高強度、高頻度の練習の継続により出現するので、肉体的ストレスの大きい合宿期間において出現率は高いと思われたが、合宿後のネガティブ感情尺度の得点はむしろ低下する傾向が認められた。Kraemerら⁴⁾は最大酸素摂取量の80%運動強度の運動負荷運動を30分継続すると、「緊張度」、「抑鬱度」、「怒り度」、「混乱度」などのネガティブ感情尺度が低下すると報告している。また、長距離走後には「緊張度」と「怒り度」得点が減少するというMarkoffの報告⁵⁾がある。合宿後の感情尺度もこうした先行研究に類似したパターンを示していた。

一方、競技前後においては典型的な氷山型からオーバートレーニング状態の逆氷山型への極端な変化が見られた。下光ら¹²⁾はトライアスロン競技前後の感情についてPOMS検査をおこなっている。彼らは完走者では競技後に「活気度」を維持したまま「疲労度」得点が著明に上昇したが、試合途中でリタイヤした選手はいずれも「疲労度」の上昇や「抑鬱度」や「怒り度」といったネガティブ感情尺度得点の上昇が見られる一方で「活気度」得点の著しい低下が見られることを指摘している。本研究での被検者は全員レースを完走しているが、競技後の逆氷山型はトライアスロンをリタイヤした選手と類似のパターンを示している。

箱根駅伝予選会2日前にはもっとも「活気度」が高く、典型的な氷山型を示し、競技を前に「やる気」が選手にみなぎっていたことが伺える。しかし、完走したとはいえレース結果（14位、予選

落ち）が不本意な場合は競技翌日になっても心理的に負のストレスが継続し、急性のオーバートレーニング状態（逆氷山型）を示すことが判明した。こうした結果は競技出場選手12名のうち1年生が6名、2年生が3名と未経験者の多い若いチームだったことも要因のひとつと考えられる。若い選手は「怖いもの知らず」でよい結果を生む場合もある。その反面、経験不足からくる心理的な未熟さが負のストレスを大きくしている可能性もある。われわれは以前、本大学サッカー選手の心理状態を調査したところ、国際大会等の大きな試合経験のある選手ほど心理的にポジティブ思考が高く、精神的にタフである一方、県大会出場までの経験しかない選手は失敗への恐れや後悔する気分が強いことを観察している⁸⁾。本研究のように競技結果による心理的ストレスが急性のオーバートレーニング状態をもたらす危険があるので、特に若い選手においては競技後も心身のケアを十分行うことが必要であると考えられる。

II 唾液クロモグラニンAと活気得点との関係

競技翌日の「活気度」得点と唾液クロモグラニンAの競技前後の変化値との間には負の相関関係があることが示された。しかも、この関係は競技前後の場合のみに限定されていて、ハードトレーニングを課した合宿前後では認められなかった（表3、図3）。この結果から唾液中のクロモグラニンAは心理的ダメージに関連して「活気度」に影響を与えること、さらに肉体的ストレスと心理的ストレスでは内分泌活動に違いを与えている可能性が考えられる。

Nakaneら⁹⁾は口頭発表という心理的ストレスを付加した時の唾液クロモグラニンA濃度を測定したところ、発表直前にもっとも濃度が高まり、終了後は低下したことを観察している。この傾向はTension-sensation score の動静と類似であったとし、心理的ストレスによる感情の変化に唾液クロモグラニンAが関与していることを示唆している。

運動やストレスにおける感情変化と血液中のホ

ルモンや生理活性物質との関係について検討した研究は従来から報告されている^{1) 5) 11-13)}。しかし、その研究の多くは運動実施直後の変化の追究のみに止まっていたり、ストレッサーが肉体的か精神的かどちらに由来するかが判断しにくかったりするものである。例えば、下光ら¹³⁾はトライアスロン競技前後の血中ノルアドレナリン変化量と競技直後の「抑鬱度」との間には負の相関関係があり、肉体的ストレスに対して高いカテコラミン反応性があるほど精神的に強靭であると結論づけている。したがって、この分泌系に乱れが生じて、なかなか回復しない選手は疲労困憊してしまうと考えている。けれども、本実験では感情尺度得点や唾液クロモグラニンA濃度と競技成績との間には何ら関連は得られなかった。選手自身の記録に対する自己評価を調査していないため個々の満足度は不明であるが、競技所要時間が早く疲労困憊しているなくとも「活気度」得点が低く、唾液クロモグラニンA濃度の分泌量が増加した選手がいた。その一方で、疲労困憊していても「活気度」得点に変化がなく、唾液クロモグラニンAの分泌量が低下している選手もいた。したがって、本実験の場合は運動自体がストレッサーとして働いたのではなく、あくまでも思うような走りができなかつたなどの心理面でのストレスが唾液クロモグラニンA濃度に影響を与えたと推察される。今後は記録に対する満足度などを調査するなどの詳細な検討が必要だと考えている。

本来、クロモグラニンAは内分泌・神経系に広く分布する酸性糖タンパク質で、439のアミノ酸残基から構成されている。唾液中のクロモグラニンAは顎下腺導管部に存在し、自律神経刺激によって唾液中に放出される²⁾。しかし、激しい運動(95% $V_{O_{2\max}}$)をストレッサーとして与えた場合、運動終了直後から2分の間では血中ノルアドレナリン濃度と唾液クロモグラニンA量には正の相関関係が観察されたが、2分間を過ぎると双方の分泌量の変動にはなんら関連はなかったとする報告⁹⁾もある。したがって、交感神経系によるコント

ロールだけで唾液中にクロモグラニンAが分泌するとは考えにくく、他のメカニズムの関与も考えられ、今後、この分泌メカニズムに関してのさらなる解明が待たれる。

以上、本実験から唾液クロモグラニンAは肉体的ストレスではなくて心理的ストレスによって分泌量が変動することが明らかとなった。このことから心理的ストレスを定量的に評価するのに唾液クロモグラニンAは有用であり、実践面に応用して個人のコンディショニングづくりに役立つと考えている。

ま　と　め

肉体的および心理的ストレスにおける感情・気分に与える変化と唾液クロモグラニンA濃度との関係を調べるために12名の男子駅伝選手の合宿ならびに競技前後の感情・気分変化をPOMS検査で評価すると同時に、混合唾液中のクロモグラニンA濃度を測定してその関係について検討した。

1. POMS検査では競技前に「活気度」得点が高くなる氷山型を示したが、競技翌日には「活気度」得点は著明に低下した反面、ネガティブ感情関連得点が上昇する逆氷山型を示した。合宿前後の感情尺度得点には顕著な変化はみられなかった。
2. 唾液クロモグラニンA濃度は競技前に比べて、競技翌日の方が高値を示したが、有意な違いではなかった。合宿前後では濃度における著しい変化はなかった。
3. 唾液クロモグラニンA濃度の競技前後の変化値と競技翌日の「活気度」得点との間には負の相関関係が認められた ($y = -0.0816x + 3.5416$, $r = -0.618$, $r^2 = 0.3706$, $p = 0.0468$)。
4. 肉体的な疲労による唾液クロモグラニンA濃度の変化は認められないが、心理的ストレスによる「活気度」の低下に唾液クロモグラニンAが関与している可能性が示唆された。

本研究は平成11-12年度文部省科学研究費補助基盤研究（C）および国士館大学体育学部付属体育研究所の2000年度研究助成によった。

引用・参考文献

- 1) Janal MN, Colt EW, Clark WC, Glusman M : Pain sensitivity, mood and plasma endocrine levels in man following long-distance running, *Pain*, **19** : 13-25, 1984.
- 2) Kanno T, Asada N, Yanase, H, et al: Salivary secretion of highly concentrated chromogranin A in response to noradrenaline and acetylcholine in isolated and perfused rat submandibular glands. *Experimental Physiology*, **84** : 1073-1083, 1999.
- 3) Konnecki DS, Benedum UM, Gerdesh H-H, Huttner WB: The primary structure of human chromogranin A and pancreastatin. *J. Biol. Chem.* **262**: 17025-17030, 1987
- 4) Kraemer RR, Dzewaltowski DA, Blair MS, et al.: Mood alteration from treadmill running and its relationship to beta-endorphin, corticotropin, and growth hormone. *J Sports Med Phys Fitness*, **30** : 241-246, 1990.
- 5) Markoff RA, Ryan P, Young T: Endorphins and mood changes in long-distance running. *Med. Sci. Sports Exerc.*, **14** : 11-15, 1982.
- 6) Morgan WP: Affective beneficence of vigorous physical activity. *Med. Sci. Sports Exerc.* **17** : 94-100, 1985.
- 7) Mouland AJ, Bevan S, White JH and Hendy GN: Human chromogranin A gene. Molecular cloning, structural analysis, and neuroendocrine cell-specific expression. *J. Biol. Chem.* **269** : 6918-6926, 1994.
- 8) 村上志穂, 平工志穂, 内藤祐子, 前山 定, 細田三二: 国士館大学サッカー部員の心理的競技能力の諸特徴、国士館大学体育研究所所報, **18** : 43-52, 2000.
- 9) Nakane, H, Asami O, Yamada Y, et al.: Salivary chromogranin A as an index of psychosomatic stress response, *Biomedical Research*, **19** : 401-406, 1998.
- 10) Nishikawa Y, Li J, Futai Y, Yanaihara N, Iguchi K, Mochizuki T, Hoshino M and Yanaihara C: Region-specific radioimmunoassay for human chromogranin A. *Biomed. Res.* **19** : 245-251, 1998.
- 11) 酒井秀嗣, 佐藤 恵, 小池一喜, 篠崎貴弘: 唾液でストレスを測る試み, 日本大学歯学部研究紀要, **26** : 57-61, 1998.
- 12) 下光輝一: 超持久運動後における血漿 β エンドルフィン濃度の変化と感情・気分との関係, 東医大誌, **51** : 116-124, 1993.
- 13) 下光輝一、小田切優子、坂本歩: 長時間持久運動選手における心身医学的研究、心身医療, **9** : 304-311, 1997.
- 14) 横山和仁: POMS (感情プロフィール検査) 日本語版の作成と信頼性および妥当性の検討, 公衆衛生 **37** : 913-918, 1990.