

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3883291号
(P3883291)

(45) 発行日 平成19年2月21日(2007.2.21)

(24) 登録日 平成18年11月24日(2006.11.24)

(51) Int. Cl.

G 0 1 N 33/50 (2006.01)

F I

G 0 1 N 33/50

G

請求項の数 2 (全 5 頁)

(21) 出願番号	特願平10-153874	(73) 特許権者	000113470
(22) 出願日	平成10年5月19日(1998.5.19)		ポーラ化成工業株式会社
(65) 公開番号	特開平11-326318		静岡県静岡市駿河区弥生町6番48号
(43) 公開日	平成11年11月26日(1999.11.26)	(72) 発明者	谷沢 茂治
審査請求日	平成17年3月2日(2005.3.2)		神奈川県横浜市神奈川区高島台27番地1
			ポーラ化成工業株式会社 横浜研究所内
		(72) 発明者	菅 千帆子
			神奈川県横浜市神奈川区高島台27番地1
			ポーラ化成工業株式会社 横浜研究所内
		(72) 発明者	後藤 正弘
			神奈川県横浜市神奈川区高島台27番地1
			ポーラ化成工業株式会社 横浜研究所内
		(72) 発明者	平山 賢哉
			神奈川県横浜市神奈川区高島台27番地1
			ポーラ化成工業株式会社 横浜研究所内
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ストレスの鑑別法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

唾液中のコルチゾール類の濃度に対する、唾液中のデヒドロエピアンドロステロンの濃度との比率を求め、該比率が低いほど負荷ストレスが大きいと鑑別することを特徴とする、生体に負荷されたストレスの鑑別法（医療目的によるものを除く）。

【請求項2】

唾液中のデヒドロエピアンドロステロン濃度との相関関係に基づいて、尿中のプラスチック濃度及び血中のデヒドロエピアンドロステロン濃度を推定することを特徴とする、生体に負荷されたストレスの鑑別法（医療目的によるものを除く）。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、ストレスの負荷量、即ち、負荷ストレスの鑑別法に関する。

【0002】

【従来の技術】

近年は、ストレスフルな時代であり、ともすれば現代人は過多のストレスを負荷してしまうことになりかねない。都合が悪いことに、ストレスの負荷量を己自身が知ることは非常に困難なことである。この為、客観的なストレスの負荷量の鑑別法が求められ、研究が重ねられてきた。この結果、血液中のデヒドロエピアンドロステロン類の濃度がストレスの負荷量（以下、負荷ストレスと言う。）と関係していることが判明した。更に、コルチゾ

ール類に対する相対濃度にすると更なる相関性の向上が見られることも判明している。特に、この中で尿中におけるプラステロン硫酸（デヒドロエピアンドロステロン類、デヒドロエピアンドロステロン硫酸エステル）と17-ヒドロキシコルチコイド（コルチゾール類）の比が好適にかかる指標として使用されている。しかしながら、血中濃度を指標にすると、初回の鑑別には適しているが、経時的に採血動作を繰り返す場合には、この採血動作が大きなストレスとなるため、デヒドロエピアンドロステロンの血中相対濃度が低下してしまうという問題が生じた。又、比較的ストレス無く尿などは採取が可能であるが、経時的な採取や採取したサンプルの実際の代謝時が何時であったか等の欠点があり、血中濃度の欠点を補うことは出来なかった。更に、同様にストレス無く採取しうる唾液については、唾液中のこれらの物質の濃度が低いため、有効に測定することは難しかった。これは、デヒドロエピアンドロステロンのRIAによる測定キットの検出限界が0.5 ng/mlであることからわかる。即ち、ストレスをかけずに体液を採取し、この中のデヒドロエピアンドロステロンとコルチゾールの濃度を測定する技術が開発できれば、経時的に負荷ストレスを鑑別しうることができるので、このような技術の開発が望まれていた。

10

【0003】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、このような状況下で行われたものであり、ストレスをかけずに体液を採取し、この中のデヒドロエピアンドロステロンとコルチゾールの濃度を測定する技術を提供し、測定時にストレスをかけずに、経時的に負荷ストレスを鑑別する技術確立することを課題とする。

20

【0004】

【課題の解決手段】

かかる状況に鑑みて、本発明者らはストレスをかけずに体液を採取し、この中のデヒドロエピアンドロステロン類とコルチゾール類の濃度を測定する技術を求め、鋭意研究を重ねた結果、唾液を採取し、唾液より溶媒抽出を7回以上繰り返し、濃縮した後抽出物中のデヒドロエピアンドロステロン及び/又はコルチゾール濃度を測定することによりこのような測定が可能となり、測定時にストレスをかけずに、経時的に負荷ストレスを鑑別出来ることを見だし発明を完成させるに至った。以下、本発明について実施の形態を中心に詳細に説明を加える。

【0005】

30

【発明の実施の形態】

（1）本発明の負荷ストレスの鑑別法

本発明の負荷ストレスの鑑別法は、唾液中のデヒドロエピアンドロステロンの濃度を指標とすることを特徴とする。デヒドロエピアンドロステロンは負荷ストレスの指標であることは既に知られており、負荷ストレスが大きくなると、血中のこの濃度が低下するが知られている。しかしながら、血中濃度を測定するために採血することは、被験者にストレスをかけることになり、回数を重ねると本来のあるべき血中値より大きくなってしまふことに、本発明者らは気がついた。このことは、とりもなおさず、経時的に採血を繰り返し負荷ストレスを測定するような実験系では、デヒドロエピアンドロステロンを負荷ストレスの指標とすることには問題があることを見いだした。これについての実験を示す。

40

【0006】

<経時実験>

パネラー2名を用い、20℃、湿度50%の部屋に3時間滞在してもらい、1時間後より1時間毎に計3回採血し、デヒドロエピアンドロステロンの血中濃度を、測定業者に委託して測定してもらった。次の日には、3時間同室に滞在してもらった後、採血し同様にデヒドロエピアンドロステロンの血中濃度を測定した。結果を、表1に示す。この表より、採血行為がストレスとなり、経時的な採血ではデヒドロエピアンドロステロン濃度が低くなっていることがわかる。尚、デヒドロエピアンドロステロンの濃度測定は、DPC社のRIAキットを用いて行った。

【0007】

50

【表 1】

	1 時間	2 時間	3 時間
1 日目	4. 2	3. 9	3. 5
2 日目	—	—	4. 3

【0008】

この様な、血中のデヒドロエピアンドロステロン濃度の変化に対して、唾液中のデヒドロエピアンドロステロン濃度は後記の如く、検体採取を繰り返しても変化は少ない。従って、後記の方法によって、唾液中のデヒドロエピアンドロステロンの測定が可能になったことにより、優れたストレスの指標としてデヒドロエピアンドロステロンの濃度が使用できることがわかる。更に、唾液中のデヒドロエピアンドロステロン濃度と血中のデヒドロエピアンドロステロン濃度、尿中のプラステロン硫酸の濃度の相関性も良く、唾液中のデヒドロエピアンドロステロン濃度 / 唾液中のコルチゾール濃度と尿中のプラステロン硫酸の濃度 / 尿中の 17 - ヒドロキシコルチコイドの濃度の相関性も良いため、これらの値をストレスの指標としうることがわかる。この様な値の内、本発明の鑑別法の指標として最も好適なものは、ストレスの最も好適な指標である、尿中のプラステロン硫酸の濃度 / 17 - ヒドロキシコルチコイドの濃度の値と最も相関性の良い、唾液中のコルチゾールの濃度に対するデヒドロエピアンドロステロンの相対濃度を示す、唾液中のデヒドロエピアンドロステロン濃度 / 唾液中のコルチゾール濃度の値を用いることである。

【0009】

(2) 本発明の鑑別法に於ける唾液中のデヒドロエピアンドロステロンの濃度の測定法
本発明の鑑別法に於ける唾液中のデヒドロエピアンドロステロンの濃度の測定法は、唾液を採取し、唾液より溶媒抽出を 7 回以上繰り返し、濃縮した後抽出物中のデヒドロエピアンドロステロン及び / 又はコルチゾール濃度を測定することを特徴とする。この様に抽出工程を繰り返すことにより、検出限界以下である唾液中のデヒドロエピアンドロステロンの濃度を測定することが可能となる。以下に、溶媒として塩化メチレンを用いた場合の抽出回数と、唾液中のデヒドロエピアンドロステロンの測定値とを表 2 に示す。この表より、7 回以上抽出を繰り返すことにより、唾液中のデヒドロエピアンドロステロンが正確に測定できることがわかる。この様に抽出回数を重ねることにより、正確なデヒドロエピアンドロステロンの濃度が測定できるのは、唾液中に抽出妨害物質が存在するからである。

【0010】

【表 2】

抽出回数	1 回	5 回	6 回	7 回	8 回	9 回
デヒドロエピアンドロステロン濃度	0	0	0.1 1	0.2 3	0.2 3	0.2 3

【0011】

本発明で、使用できる抽出溶媒としては、水とは任意に混合せず、デヒドロエピアンドロステロンを溶解しうるものが好ましく、例えば、酢酸エチルや蟻酸メチル等のエステル類、ジエチルエーテルやジイソプロピルエーテルのようなエーテル類、塩化メチレンやクロロホルムの様なハロゲン化炭化水素類等が好ましく例示できる。これら溶媒の使用量は、唾液に対して 0.5 ~ 10 倍量が好ましい。抽出に際しては、唾液と溶媒とを良く混和することが必要で、混和後分液し、溶媒層を濃縮し、例えば、RIA 法等の常法に従って、デヒドロエピアンドロステロンやコルチゾールの濃度を測定すればよい。

【0012】

【実施例】

以下に実施例を挙げて、本発明について更に詳細に説明を加えるが、本発明がかかる実施

例にのみ限定を受けないことは言うまでもない。

【0013】

<実施例1>

任意に選出した7名のパネラーを用いて、唾液、血液、尿を採取し、唾液については、塩化メチレン2倍量添加の抽出・分液作業を7回繰り返し、溶媒層を集め、濃縮し、DPC社のRIAキットを用いて、デヒドロエピアンドロステロンとコルチゾールの濃度を測定した。血液は、2倍量の塩化メチレンを添加し、抽出・分液し同様にデヒドロエピアンドロステロンとコルチゾールの濃度を測定した。尿はそのまま、RIAキットを用いて、プラステロン硫酸と17-ヒドロキシコルチコイドの量を測定した。結果を表3に示す。この結果を基に、これらの数値間の相関係数を求めた。この結果を表4に示す。これより、
10
本発明の測定法で求めた唾液中のデヒドロエピアンドロステロンの濃度は、血中のデヒドロエピアンドロステロンの濃度、尿中のプラステロン硫酸の濃度と良く相関していることがわかる。尚、表中DHEAは、デヒドロエピアンドロステロンを、Fがコルチゾールを、DHEA-Sがプラステロン硫酸を、尿中Sが尿中のプラステロン硫酸を、尿中OHが17-ヒドロキシコルチコイドを表す。

【0014】

【表3】

	唾液DHEA	唾液F	唾液中(DHEA/F)	血中DHEA	血中DHEA-S	尿中S	尿中OH	尿中(S/OH)
A	0.23	2.22	0.10	4.1	2050	0.78	3.44	0.23
B	0.22	2.59	0.08	4.4	2910	1.33	4.40	0.30
C	0.32	3.20	0.10	6.8	3930	1.67	3.98	0.42
D	0.47	3.05	0.15	8.3	4220	1.77	3.55	0.50
E	0.11	2.55	0.04	3.2	1380	0.66	3.24	0.20
F	0.14	2.16	0.06	4.2	2480	0.53	2.24	0.24
G	0.25	1.54	0.16	4.7	2610	1.23	2.55	0.48
mean	0.25	2.47	0.10	5.1	2797	1.14	3.34	0.34
単位	ng/ml	ng/ml	(比率)	ng/ml	ng/ml	mg/g Cr	mg/g Cr	(比率)

【0015】

【表4】

	唾液DHEA	唾液F	唾液中(DHEA/F)	血中DHEA	血中DHEA-S	尿中S	尿中OH	尿中(S/OH)
唾液DHEA	1.000							
唾液F	0.500	1.000						
唾液中(DHEA/F)	0.766	-0.155	1.000					
血中DHEA	0.955	0.621	0.627	1.000				
血中DHEA-S	0.884	0.593	0.580	0.949	1.000			
尿中S	0.879	0.559	0.652	0.865	0.893	1.000		
尿中OH	0.353	0.686	-0.046	0.297	0.376	0.575	1.000	
尿中(S/OH)	0.820	0.147	0.877	0.797	0.786	0.852	0.084	1.000

【0016】

【発明の効果】

本発明によれば、ストレスをかけずに体液を採取し、この中のデヒドロエピアンドロステロンとコルチゾールの濃度を測定する技術を提供し、測定時にストレスをかけずに、経時的に負荷ストレスを鑑別する技術を確立することができる。

10

20

30

40

50

フロントページの続き

審査官 白形 由美子

(56)参考文献 特開平07-280811(JP,A)

特開平11-038004(JP,A)

Kurihara, H., et al., Behavioral and adrenocortical responses to stress in neonates and the stabilizing effects of maternal heartbeat on them, Early Hum. Dev., 1996年, Vol. 46(1-2), p.117-127

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 33/50

PubMed