

# Cube Readerによる唾液中コルチゾール分析の妥当性

○満石 寿<sup>1</sup>・岡村 尚昌<sup>2</sup>・森口 佑介<sup>3</sup>・青木 好子<sup>1#</sup>

(京都先端科学大学<sup>1</sup>・久留米大学<sup>2</sup>・京都大学<sup>3</sup>)

キーワード：日内変動，コルチゾール，Cube Reader

The Validity of Salivary Cortisol Analysis using Cube Reader

Hisashi Mitsuishi<sup>1</sup>, Hisayoshi Okamura<sup>2</sup>, Yusuke Moriguchi<sup>3</sup> and Yoshiko Aoki<sup>1</sup>

(Kyoto University of Advanced Science<sup>1</sup>, Kurume University<sup>2</sup>, Kyoto University<sup>3</sup>)

Key Words: Circadian rhythm, Cortisol, Cube Reader

## 緒言

唾液中のコルチゾールは、ストレス評価を行うための非侵襲的な手法の一つとして多くの研究で用いられている。しかしながら、ELISA法は、口に含むswabの大きさが大きく精神的負担が大きい場合があること（長さ約3 cm，直径約1 cm）、遠心分離機、ピペット、といった生化学的検体を分析するための環境が整備されていることが求め、分析機器も高価なものが多い。さらに、分析の正確性や整合性を高めるためにはその分析作業にある程度精通した分析者が必要である。一方、Cube Reader法は高価で特殊な分析環境や機器を使用することないことから、誰でも簡便に分析を行うことが可能である。また、swabの大きさも長さ約1.5 cm，直径約0.7 cmと非常に小さいことから、幼児の研究においても唾液採取に対する精神的負担を可能な限りなく少なくすることが可能になる。本研究では、一般の日本人大学生を対象にし、唾液中のコルチゾールの日内変動（起床直後、起床30分後、11時、14時、17時）をELISA法およびCube Reader法を用いて分析し、妥当性の検証を行った。

## 方法

【実験協力者：実験協力者は、19歳から22歳まで（平均年齢21.0±1.5歳）の健常男子および女子大学生15名であった。

【唾液採取および唾液中コルチゾールの定量】唾液は、安静時にアシスト社製およびSOMA社製のOral Swab®を同時に口に含み採取した。採取の手続きは次の通りである。なお、両社製のOral Swab®を同時に口に含む前に水で口腔内をゆすぐよう指示した。実験協力者は、起床後、起床30分後、11時、14時、17時に唾液を各自で採取した。

1) ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) 法：はじめに、Oral Swab®の綿（無味・無臭）を1分間に含み、分泌された唾液を綿に吸収させて採取した。次に、Oral Swab®の採取サンプルを、採取後直ちに2,000 rpmで2分間遠心して唾液を回収した。回収した唾液はDRG社製(Germany)唾液中コルチゾールキットおよび分光光度計(450nm)を用いてコルチゾールの測定を行なった。なお、回収した唾液は、分析を実施するまで-20℃で凍結保存する。

2) SOMA社Cube Reader法：棒付きのOral Swab®の綿（無味・無臭）を棒の下部が紫色に変色するまで口の中を含むよう求めた。その後、Cube Reader用のバッファー液と反応させ、Cube Readerを用いて測定を行なった。

## 結果

【日内変動】図1に唾液中コルチゾールのELISA法およびCube Reader法それぞれの平均値と標準偏差を測定時間ごとに示した。ELISA法およびCube Reader法をもちいて分析した唾液中コルチゾールレベルの平均値それぞれを従属変数として対応のある1要因の分散分析を行った。その結果、ELISA法[F(4, 56) = 19.236, p<.01]およびCube Reader法[F(4,

56) = 10.137, p<.01]において測定時間の主効果が有意であった。多重比較を行った結果、ELISA法、Cube Reader法ともに起床30分後が起床直後、11時、14時、17時と比較して有意に高い値を示した。

【ELISA法およびCube Reader法との相関関係】起床直後、起床30分後、11時、14時、17時に唾液中のコルチゾールレベルに対してELISA法とCube Reader法との間でピアソンの積率相関係数および単回帰係数を算出した。その結果、全ての測定時間においてELISAとCube Readerとの間に正の相関関係および回帰係数が認められた（図2）。

## 考察

本研究では、従来から唾液中コルチゾールの分析に用いられているELISA法と新たな手法であるCube Reader法の妥当性について日内変動を分析することで示した。具体的には、それぞれの手法において起床30分後の値が起床直後、11時、14時、17時の値と比較して有意に高く、17時に向かうにつれて値が小さくなることが示された。これは、従来の唾液中コルチゾールの研究結果を支持するものであった。また、全ての測定時間において両手法との間に有意な相関係数および回帰係数が得られたことは、Cube Reader法が従来のELISA法と同様に唾液中コルチゾールを評価する一つの手法として用いることができることを意味している。

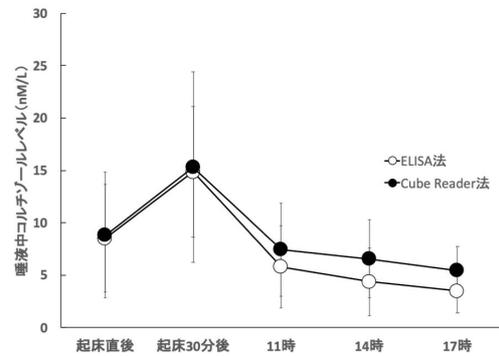


図1 ELISA法およびCube Reader法を用いた日内変動の変化

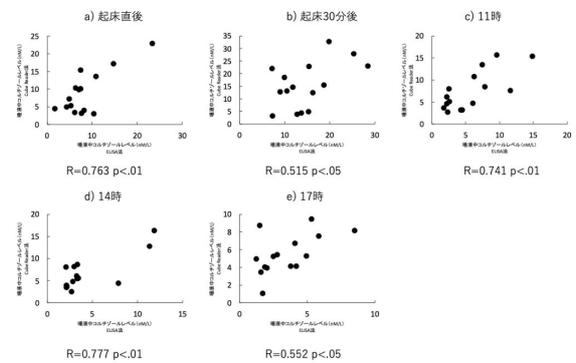


図2 各測定時間におけるELISA法およびCube Reader法の相関関係