

唾液 α -アミラーゼに結合している糖鎖とストレスとの 関連性の検討

吉 田 実 央* 久保田 亮*[§]

I. 研究の概要

【背景・目的】

現代はストレスが顕在化した「ストレス社会」であり、こうした状況を受け平成 27 年から労働安全衛生法により労働者のメンタル不調を未然に防ぐ目的でストレスチェックが義務化された。現在多く用いられているチェックリスト方式の評価は主観的な評価となるため正確にストレス状態を捉えにくいという問題点がある。そこで簡便かつ客観的にストレスを評価する方法として、生体試料中のバイオマーカーを用いた測定が注目されている。その中の 1 つである唾液 α -アミラーゼは、ストレスによって交感神経が刺激されると副腎髄質のノルアドレナリンを介して唾液腺で分泌される。唾液 α -アミラーゼには糖鎖が 2 分子付加されている family C、1 分子付加されている family A、糖鎖が付加されていない family B が存在すると報告されている。唾液 α -アミラーゼは分泌後エンド- β -N-アセチルグルコサミニダーゼという酵素の作用により糖鎖が遊離され family A を経て family B になると考えられている。ストレス緩和後は糖鎖が付加されていない唾液 α -アミラーゼの増加傾向がみられる。そのためストレス緩和により糖鎖に変化が起きていると考えられているが、どのように糖鎖が変化するかについてはいま

だ報告がない。そこで本研究では唾液 α -アミラーゼに結合している糖鎖について解析を行い、さらにストレス緩和前後の糖鎖の変化について検討することを目的とする。なお、本研究は埼玉県立大学倫理委員会の承認を得て行われた。

【対象と方法】

1. 対 象

埼玉県立大学保健医療福祉学部健康開発学科検査技術科学専攻の学生を対象とした。採取した唾液を用いてアミラーゼ活性モニターにおいて活性値を測定し、30 kIU/L 以上と測定された 4 名を集めた。

2. 方 法

1) アミラーゼ活性の測定

ストレス負荷前、負荷後、緩和後の 3 回にわたって唾液を採取した。採取した唾液を試験紙に点着し、唾液アミラーゼ活性モニター（ニプロ社）にセットし活性値を測定した。

2) ストレス負荷策および緩和策の実施

ストレス負荷策として臨床検査技師国家試験過去問題を実施した。その後ストレス緩和策としてラベンダーオイルを用いたアロマセラピーを実施した。

3) 分 析

還元 SDS-PAGE 法では自製の 8.75% のポリアクリルアミドゲルを支持体として泳動した。

* 埼玉県立大学大学院保健医療福祉科学研究科健康福祉科学専修 [§] kubota-ryo@spu.ac.jp

次に SDS-PAGE 後のゲルを PVDF 膜に転写し、 α -アミラーゼを検出した。さらにレクチンを用いたウエスタンブロット法を実施した。

【研究結果】

SDS-PAGE 法およびウエスタンブロット法の結果、分子量 60kDa 付近に 3 本のバンド (family C、family A、family B) が見られた。各バンドの比率を比較したところ全体の 75% でストレス負荷後に比べて緩和後に family A の割合が減少し、family B の割合が増加していた。レクチン (PHA-E4、Con A、LCA) を用いたウエスタンブロット法を実施した結果、上記と同様 60kDa 付近に 3 本のバンドが見られた。各バンドの比率を解析したところ PHA-E4 ではストレス負荷後に比べて family C は増加、family A、family B は減少した。Con A および LCA はストレス負荷後に family C、family B が増加、family A は減少した。

【考 察】

ウエスタンブロット法の結果 3 本のバンドが検出され、そのうち 1 本は family B と同じ分子量であったことから family B にもわずかに糖鎖が付加されていると考える。また、レクチンとの反応性から唾液 α -アミラーゼには 2 本鎖もしくは 3 本鎖コンプレックス型糖鎖、またはフコースを含む 2 本鎖複合型の高マンノース型糖鎖が付加されていると想定される。ストレス緩和後各 family の割合に変化が見られたことから、ストレスにより唾液 α -アミラーゼに結合している糖鎖に変化が

起きていることがわかった。今後はこうした糖鎖の変化を検出することで客観的にストレス状態を評価することが可能になると考える。

II. 受賞の感想

この度は第 19 回臨床検査学教育学会学術大会において「優秀発表賞」という荣誉ある賞をいただくことができ、大変光栄に思っております。このような素晴らしい賞をいただくことができたのも、日々親身にご指導いただいている久保田先生をはじめとする研究室の皆様のおかげと考えております。支えてくださった皆様に、この場をお借りして深く心より感謝申し上げます。今回の受賞を励みにこの先の研究活動により一層努めてまいります。

III. 将来の抱負

本研究は唾液 α -アミラーゼに結合している糖鎖とストレスとの関連について、特にストレス緩和前後の糖鎖変化に着目して解析を行いました。今後はさらに検体数を増やし、より詳細な検討を行っていきたいと考えています。研究を行う中で培った知見を広げるために自ら積極的に学ぶ姿勢や実験結果をもとに省察、改善に向けて行動してきた経験は一生の財産です。これらの学びや経験を大切に、今後もさらなる成長を目指し努力し続けていきたいと思っております。