

研究

就学前幼児の唾液中 α アミラーゼ活性と意欲との関連小花和 Wright 尚子¹⁾, 河合 優年¹⁾, 山本 初実²⁾

〔論文要旨〕

就学前幼児25名の唾液中 α アミラーゼを3か月間継続的に保育園で測定した。携帯型測定装置を用い主に舌下部から採取した α アミラーゼ濃度は、唾液採取用スワブにより採取した α アミラーゼ濃度よりも誤差が小さく、平均活性値とアミラーゼ濃度から低活性群、中活性群、高活性群に分類された。子どもの意欲の調査では高活性群には日常活動を自分の力でやり遂げられるととらえる子ども、低活性群にはやりとげられないととらえる子どもが多く、子どもの意欲と唾液中 α アミラーゼの活性には強い関連が示された。舌下部唾液中 α アミラーゼの測定が就学前幼児の養育と教育に対する支援方法を検討するうえで、1つの診断的なツールとなる可能性が示された。

Key words : 唾液中 α アミラーゼ, 就学前幼児, 子どもの意欲

I. はじめに

一般に、人では味覚・触覚・臭覚などによって延髄・橋接合部の上下唾液核に刺激が入ると、その下流の副交感神経が興奮し耳下腺、顎下腺、舌下腺から唾液が分泌されるが、上頸部神経節に始まる交感神経が刺激されても少量唾液が分泌されることが知られている。近年、この交感神経系の興奮によって産生される唾液中 α アミラーゼがヒトの生理的ストレスの指標として注目を集めている¹⁾。従来、このストレス反応は、視床下部—下垂体—副腎皮質系の活性化指標である唾液中コルチゾールで測定されていたが、唾液中 α アミラーゼもコルチゾールと同様に急性ストレスに反応し²⁾、2歳児³⁾から成人⁴⁾までの幅広い年齢層における急性ストレス反応の測定が可能であることが確認されている。また、唾液中 α アミラーゼは、攻撃性の高い反社会的行動や⁵⁾、家庭での不適切な養育経験⁶⁾、ま

た逆に、社会的な課題を成し遂げ高揚しているときなど⁷⁾、自律神経系が持続的に活性化されると高値をとり易く、平均活性値の個人差を検討するうえでコルチゾールと同様に有用であることが報告されている⁸⁾。この課題に向き合う意欲や自信と、唾液中 α アミラーゼ活性との関連については動物実験でも証明されているが⁹⁾、人におけるこれまでの検討では、青年期以降を対象としたものが多く、しかも何らかの課題によるストレス負荷をかけた前後での測定であった^{10~16)}。

一方、就学前の子どもの健やかな心身の発達を促すためには、子どもの普段の生活環境の中で受けるストレスの程度を把握することも重要な課題である。本研究では、就学前幼児の唾液中 α アミラーゼを普段の生活の中で継続的に測定し、その平均活性値の多寡を子どもの日常活動に対する意欲との関連において検討し若干の知見を得たので報告する。

Relations between Salivary α -Amylase Activity and Motivation in Preschool-age Children

[2349]

Naoko W. OBANAWA, Sugutoshi KAWAI, Hatsumi YAMAMOTO

受付 11. 7. 6

1) 武庫川女子大学文学部心理・社会福祉学科 (研究職)

採用 12. 2. 14

2) 独立行政法人国立病院機構三重中央医療センター (研究職/小児科医)

別刷請求先: 小花和 Wright 尚子 武庫川女子大学文学部心理・社会福祉学科 〒663-8558 兵庫県西宮市池開町6-46

Tel/Fax : 0798-45-9818

II. 対象および方法

1. 対象

京都市内の保育園に通う子ども26名(男児11名, 女児15名)を対象とした。

2. 唾液中 α アミラーゼの採取方法と測定方法

平成18年12月から平成19年2月までの3か月間に、ディスプレイ試験紙を用いて1日4回(登園直後, 昼食前, 昼食後, 降園前)を1週間毎に11日間, 延べ44回舌下部から唾液を採取し, その場で携帯型測定装置(α Amy; ヤマハ発動機)を用いてアミラーゼ濃度を測定した。また, 11日間のうち1日は, α Amyによる測定時にソリベット(唾液採取用スワブ Sorbette; Salimetrics 社)を口腔内に数秒留置し全唾液を採取し, -20°C で冷凍保存後, 京都医科学研究所において基質にG5- β -CNPを用いた測定も行った。測定前には歯磨きや飲食, 運動は行わないようにした。

測定したデータの解析にはSPSS Statistics19を用いた。特定の測定日や測定時間, あるいは対象児による欠損値の偏りは, MCAR検定(Test of missing completely at random)によって確認した。欠損値の推定には, 実際に反復測定された値の数値に最も当てはまりがよい欠損値を尤度によって決定する期待値最大化アルゴリズム(expectation maximization algorithm; EM法)を用いた。このEM法によって推定された欠損値を含め, 各測定日の測定時刻と測定値から, ホルモンなどの時間依存性変化を評価するのに適している曲線下濃度(Area under the curve; AUC)を算出した¹⁷⁾。各測定日のAUCから, Ward法によるクラスター分析を用いて各群間の距離を定義した。さらに, 1日あたりのAUC平均, および11日間の登園直後, 昼食前, 昼食後, 降園前の測定値平均において, 抽出された群によって有意な違いがあるかを, 分散分析によって比較した。登園直後, 昼食前, 昼食後, 降園前の測定値平均の比較では, 各測定時の平均測定時刻を共変量とすることによって, 測定時刻による影響を制御した。分散分析の結果が有意であった場合には, 3群以上の平均を群間で比較するBonferroni法によって多重比較を行い5%水準で判断した。群内のデータの散らばりは標準偏差, 得られたサンプルの平均から推定される母集団との誤差を標準誤差によって示した。また, 母集団の平均が95%の確率であてはま

ると考えられる推定区間の最小値と最大値を95%信頼区間として示した。なお, 唾液中 α アミラーゼの測定値は分散が大きいことから, 分析では常用対数に変換を行った¹⁸⁾。聞き取り調査結果における評定者間の信頼性は, Cohen's kappa係数で検討した。

3. 子どもへの聞き取り調査

a. 調査方法

子どもの日常活動における意欲を測定する方法として, 幼児期の達成動機¹⁹⁾, および目標志向性の測定方法²⁰⁾を参考に, 各対象児に「前はできなかったが今はできるようになったこと(達成場面)」、「もっと上手になりたいこと(挑戦場面)」を尋ね, 達成場面で成功した理由と挑戦場面で成功するために必要なことを個別に質問した。子どもの回答は記述によって記録した。

b. 分析方法

達成場面において, 「自分でがんばったから」、「自分で練習したから」など, 自分の努力や能力を成功の理由として挙げている場合を「自己の努力・能力」カテゴリー, 「先生に教えてもらったから」、「友だちに助けてもらったから」など, 他者による助力を理由として挙げている場合を「他者の応援・援助」カテゴリーに分類した。同様に, 挑戦場面で成功するために必要なこととして, 「がんばれば」、「もっと練習すれば」など, 自分の努力や能力を成功の理由として挙げている場合を「自己の努力・能力」カテゴリー, 「先生に教えてもらったから」、「友だちに応援してもらったから」など, 他者による助力を理由として挙げている場合を「他者の応援・援助」カテゴリーに分類した。このカテゴリー化は3名の評定者で行い, 評定者間で分類が一致しなかった回答については, 協議のうえ, いずれかのカテゴリーに分類した。

4. 倫理的配慮

子どもの保護者(代諾者)には, 研究の目的, 方法, 参加の任意性, 不参加が不利益にならないことを保育園を通じ文書で説明し, 文書による調査協力への同意が得られた場合に, 保育園での唾液採取と子どもへの聞き取り調査を実施した。得られた情報の個人情報保護など倫理面には十分配慮した。また, 人体試料を用いた非侵襲的研究として臨床研究の倫理指針を遵守した。本研究に利益相反はなく, 所属機関の倫理審査委

員会の承認を得た。

Ⅲ. 結 果

1. 対象児の年齢と測定時刻

測定開始時の年齢は5歳8か月～6歳10か月（平均5歳2か月）であった。また、平均測定時刻は、登園直後9：24（範囲9：09～10：30）、昼食前11：49（範囲11：35～12：07）、昼食後14：34（範囲14：23～14：49）、降園前16：09（範囲15：46～16：27）であった。

2. 唾液中αアミラーゼの変化

調査対象児26名のうち、保育園への遅刻・早退によって唾液中αアミラーゼの測定値に欠損が多かった1名は分析から除外した。その他の欠損値は、特定の測定日や測定時間、あるいは対象児によって偏っていないことがMCAR検定によって確認された（ $\chi^2=249.997$, $df=399$, $p=1.000$ ）ので、先行研究に従ってEM法によって欠損値を推定した²¹⁾。

各測定日のαAmyによる唾液中αアミラーゼ濃度のAUCから、クラスター分析によって3群が抽出された。表1には、25名のαAmyと、ソリベット採取日に欠席であった1名を除く24名のソリベット採取による唾液中αアミラーゼ測定値（sAA）について、1日あたりのAUCの平均、および登園直後、昼食前、昼食後、降園前の測定値平均、標準偏差、95%信頼区間

表1 クラスター分析で抽出された3群の唾液中αアミラーゼ（αAmyとsAA）の測定値（U/ml）

測定時期	1群 n = 7	2群 n = 9	3群 n = 9	有意差
αAmy	登園直後 (14.3~21.6)	27.1±3.5 (24.4~29.9)	44.5±11.8 (35.5~ 53.6)	p < .01
	昼食前 (11.6~16.1)	21.5±3.5 (18.8~24.2)	38.4±12.9 (28.5~ 48.4)	p < .01
	昼食後 (12.7~16.3)	23.9±7.7 (18.0~29.8)	43.2±16.0 (30.9~ 55.5)	p < .01
	降園前 (7.9~25.8)	24.0±6.9 (18.7~29.3)	41.3±14.3 (30.3~ 52.3)	p < .01
sAA	登園直後 (8.2~22.7)	28.9±11.5 (19.2~38.5)	48.8±45.7 (13.7~ 83.9)	p < .05
	昼食前 (8.7~14.8)	41.4±54.6 (-4.3~87.0)	63.2±67.4 (11.4~115.1)	n.s.
	昼食後 (11.7~28.9)	40.9±18.4 (25.5~56.3)	79.0±61.6 (31.7~126.3)	p < .05
	降園前 (0.2~53.8)	32.1±11.5 (22.5~41.7)	72.8±47.5 (36.3~109.3)	p < .05

注) 上段は平均±標準偏差, 下段は95%信頼区間の最小~最大。sAAの第2群はn=8。

を示した。クラスター分析から抽出された群によって、αAmyのAUC平均と各測定値平均は有意に異なり（表1）、多重比較（Bonferroni法）によって群間の差を比較した結果では、1群、2群、3群の順にAUC平均、測定値平均ともに有意に高くなっていったことから、1群は低活性群、2群は中活性群、3群は高活性群であると考えられた（図1）。

図2には、ソリベット採取による唾液中αアミラーゼ測定値（sAA）とαAmyの1日の変化を表1からグラフ化して示した。高活性群のsAA値における95%信頼区間はαAmyに比較し大きかったが、低活性群では、sAAとαAmyともに95%信頼区間は小さかった（表1）。

3. 子どもの意欲と唾液中αアミラーゼの関連

聞き取り調査結果には、欠損値はなかった。子どもの回答をもとに、3名の評定者がカテゴリーに分類した結果、評定者間の信頼性係数（Cohen's kappa）は $\kappa = .771 \sim 1.00$ であり、十分な信頼性があると判断された。表2には、唾液中αアミラーゼの活性群別に、子どもの性別と達成場面および挑戦場面カテゴリーの人数を示した。フィッシャーの直接確率計算の結果、各群には性別による偏りは見られなかったが、達成場面での子どもの意欲回答には群による偏りが認められ、高活性群では100%の子どもが「自己の努力・能力」と回答し、低活性群では71.4%の子どもが「他者の応援・援助」と回答した。挑戦場面での子どもの意欲回答には、群による偏りは認められなかった。

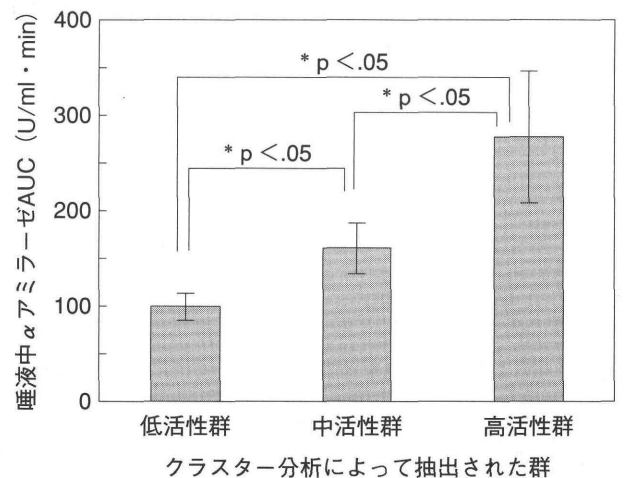


図1 クラスター群別唾液中αアミラーゼ(αAmy)AUCグラフ中のError Barは各群の標準偏差を示す。

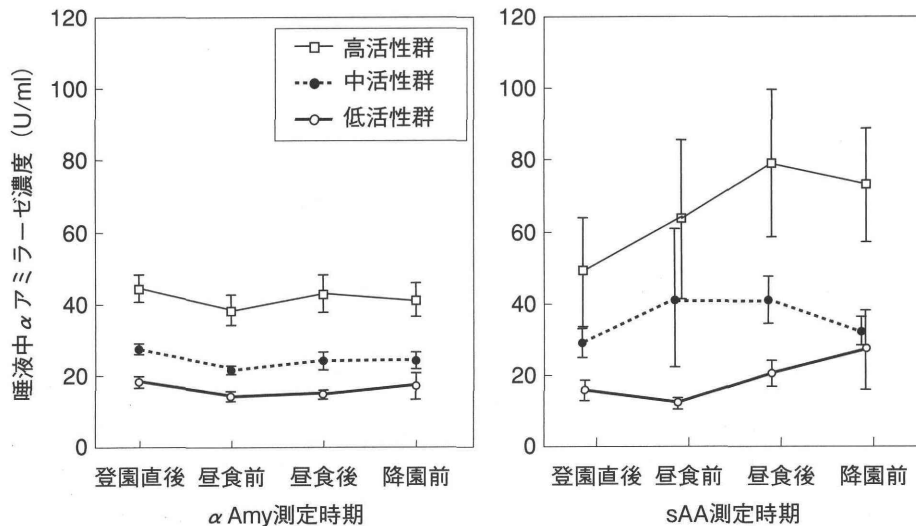


図2 クラスタ分析による活性群別唾液中 α アミラーゼ濃度 (α AmyとsAA) の変化
 グラフ中のError Barは標準誤差を示す。

表2 唾液中 α アミラーゼの活性群別子どもの性別と回答における人数

		低活性群 n = 7	中活性群 n = 9	高活性群 n = 9	有意確率
子どもの性別	男児	3 (42.9)	5 (55.6)	2 (22.2)	0.362
	女児	4 (57.1)	4 (44.4)	7 (77.8)	
達成場面 カテゴリー	自己の 努力・能力	2 (28.6)	7 (77.8)	9 (100.0)	0.002
	他者の 応援・援助	5 (71.4)	1 (11.1)	0 (0.0)	
挑戦場面 カテゴリー	自己の 努力・能力	5 (71.4)	8 (88.9)	7 (77.8)	0.407
	他者の 応援・援助	2 (28.6)	0 (0.0)	2 (22.2)	

注) () 内は各群における%を示す。

IV. 考 察

アミラーゼの酵素測定法には、 α Amy (ヤマハ発動機;測定基質 Gal-G2-CNP), 唾液アミラーゼモニター (ニプロ;測定基質 Gal-G2-CNP), ソリベット採取法 (測定基質 G5- β -CNP) など, 種々の基質が存在し, それぞれのグルコース数や修飾物, 指示物質等の相違による基質反応性の違いから測定値が大きく乖離することが推測されるが, α Amyには温度センサーがあり, 予め設定した温度活性値により自動補正 (37℃活性値) が行えること, また, カセットには十分唾液が採取できたことを示すマーカーが工夫されているため十分量の採取が保障されることから, われわれは今回の測定にドライケミストリー方式による携帯型測定

装置 α Amyを採用した^{22,23)}。この方法は, 採取した唾液を保存せずに即時測定が可能であり, 日内変動が小さい舌下部唾液中 α アミラーゼを測定することによって, 測定時間による変動の影響をできる限り小さくできる利点がある²⁴⁾。われわれの検討結果でも, sAAが1日の測定であったにもかかわらず, 11日間のデータをまとめた α Amyの測定結果の方が, 95%信頼区間が小さくなっていた。成人を対象とした全唾液中 α アミラーゼと α Amyによる測定値においても同様の傾向が確認されているが²⁵⁾, ソリベットによって採取したサンプルには, 耳下腺, 顎下腺, 舌下腺から分泌される全唾液が含まれるため, 食事等生活環境の影響を受けやすいと考えられる (図2)。

一方, 幼児期の心理的特徴を把握する生理的指標として従来はコルチゾールが用いられており, 唾液中 α アミラーゼと心理的特性との関連を検討した研究は国外でも極めて少ない。本研究は, 保育園において日常的に継続測定した就学前幼児の唾液中 α アミラーゼの平均活性値の個人差が, 子どもの意欲に影響する要因として関連付けられた点で独創的である。すなわち, 達成場面カテゴリーの結果から, α アミラーゼの活性値が高い場合には, 日常活動における達成や成功が「自己の努力・能力」によるものにとらえる子どもが多く, 活性値が低い場合には「他者の応援・援助」によって活動を成し遂げているにとらえる子どもが多かった点である (表2)。コルチゾールは, 保育園では午前から午後にかけて増加するのに対して, 家庭では減少するという日内変動を検討した先行研究がある²⁶⁾。しか

し、本研究では、起床から短時間で低下し午後から夕方にかけてピークとなる全唾液中 α アミラーゼの日内変動は高活性群に見られ、同様の日内変動は成人を対象とした研究でも報告されている²⁷⁾。

V. 結 語

今回の検討から、就学前幼児のストレスに対する反応性を評価できる舌下部の唾液中 α アミラーゼの測定は、平時の子どもの養育と教育を支援する方法を検討していくうえで、1つの診断的なツールとして機能する可能性が示される。唾液中 α アミラーゼ測定による交換神経系の活性化と子どもの意欲との関連を今後さらに検討するためには、起床直後の朝食摂取や保育園までの通園にかかる身体運動負荷、あるいは保育活動などを考慮に入れた評価が必要であると考えられる。

謝 辞

調査にご協力いただいたA保育園の皆様へ深謝します。

本研究の一部は平成19年度科学研究費補助金(基盤研究(C)19530605)の助成を受けて実施した。本研究結果の一部は、日本心理学会第72回大会(2008年)において発表した。

文 献

- 1) Nater UM, Rohleder N. Salivary alpha-amylase as a non-invasive biomarker for the sympathetic nervous system : Current state of research. *Psychoneuroendocrinology* 2009 ; 34 : 486-496.
- 2) 荒垣聡亮. 唾液中 α アミラーゼとコルチゾールによる心理的ストレスの評価. *日本口腔診断学会雑誌* 2003 ; 16 (2) : 362-370.
- 3) Fortunato CK, Dribin AE, Granger DA, et al. Salivary Alpha-amylase and cortisol in toddlers : Differential relations to affective behavior. *Dev Psychobiol* 2008 ; 50 : 807-818.
- 4) Rohleder N, Nater UM, Wolf JM, et al. Psychosocial stress-induced activation of salivary alpha-amylase : An indicator of sympathetic activity? *Ann NY Acad Sci* 2004 ; 1032 : 258-263.
- 5) Lorber MF. Psychophysiology of aggression, psychopathy, and conduct problems : A meta-analysis. *Psychol Bull* 2004 ; 130 : 531-552.
- 6) Gordis EB, Granger DA, Susman EJ, et al. Asymmetry between salivary cortisol and α -amylase reactivity to stress : Relation to aggressive behavior in adolescents. *Psychoneuroendocrinology* 2006 ; 31 : 976-987.
- 7) Rohleder N, Chen E, Wolf JM, et al. The psychology of trait shame in young women : extending the social self preservation theory. *Health Psychol* 2008 ; 27 : 523-532.
- 8) 春田幹子. 唾液 α アミラーゼ活性の個人差に関する研究. *日本法医学雑誌* 1988 ; 42 : 282-291.
- 9) Peters ML, Godaert GL, Ballieux RE, et al. Cardiovascular and endocrine responses to experimental stress : Effects of mental effort and controllability. *Psychoneuroendocrinology* 1998 ; 23 : 1-17.
- 10) Strahler J, Mueller A, Rosenloecher F, et al. Salivary alpha-amylase stress reactivity across different age groups. *Psychophysiology* 2010 ; 47 : 587-595.
- 11) Rudolph K D, Troop-gordon W, Granger DA. Peer victimization and aggression : Moderation by individual differences in salivary cortisol and alpha-amylase. *J Abnorm Child Psych* 2010 ; 38 : 843-856.
- 12) Spinrad TL, Eisenberg N, Granger DA, et al. Individual differences in preschoolers' salivary cortisol and alpha-amylase reactivity : Relations to temperament and maladjustment. *Horm Behav* 2009 ; 56 : 133-139.
- 13) Rudolph KD, Troop-Gordon W, Grange, DA. Individual differences in biological stress responses moderate the contribution of early peer victimization to subsequent depressive symptoms. *Psychopharmacology* 2011 ; 214 : 209-219.
- 14) El-Sheikh M, Erath SA, Buckhalt JA, et al. Cortisol and children's adjustment : The moderating role of sympathetic nervous system activity. *J Abnorm Child Psych* 2008 ; 36 : 601-611.
- 15) El-Sheikh M, Erath SA. Family conflict, autonomic nervous system functioning, and child adaptation : State of the science and future directions. *Dev Psychopathol* 2011 ; 23 : 703-721.
- 16) Laurent HK, Ablow JC, Measelle J. Risky shifts : How the timing and course of mothers' depressive symptoms across the perinatal period shape their own and infant's stress response. *Dev Psychopathol*

2011 ; 23 : 521-538.

- 17) Pruessner JC, Kirschbaum C, Meinlschmid G, et al. Two formulas for computation of the area under the curve represent measures of total hormone concentration versus time-dependent change. *Psychoneuroendocrino* 2003 ; 28 : 916-931.
- 18) Rohleder N, Nater UM. Determinants of salivary α -amylase in humans and methodological considerations. *Psychoneuroendocrino* 2009 ; 34 : 469-485.
- 19) 田中幸代. 幼児の課題選択行動の変化に関する実証的研究. 第1版. 東京: 風間書房, 2004.
- 20) 高崎文子. 幼児を対象とした目標志向性の測度の開発. *教育心理学研究* 2003 ; 51 : 401-412.
- 21) Blair C, Peters R, Granger D. Physiological and neuropsychological correlates of approach/withdrawal tendencies in preschool: Further examination of the behavioral inhibition system/behavioral activation system scales for young children. *Dev Psychobiol* 2004 ; 45 : 113-124.
- 22) Yamaguchi M, Kanemori T, Kanemaru M, et al. Performance evaluation of salivary amylase activity monitor. *Biosens Bioelectron* 2004 ; 20 : 491-497.
- 23) 山口昌樹, 花輪尚子, 吉田 博. 唾液アミラーゼ式交感神経モニターの基礎性能. *生体医工学* 2007 ; 45 (2) : 161-168.
- 24) 小花和 Wright 尚子, 河合優年, 山本初実. 唾液中 α アミラーゼの日内変動: 測定方法による比較. *日本心理学会第74回大会発表論文集* 2010 ; 495.
- 25) Harmon AG, Towe-Goodman NR, Fortunato CK, et al. Differences in saliva collection location and disparities in baseline and diurnal rhythms of alpha-amylase: A preliminary note of caution. *Horm Behav* 2008 ; 54 : 592-596.
- 26) Watamura SE, Donzella B, Alwin J, et al. Morning-to-afternoon increase in cortisol concentrations for infants and toddlers at child care: Age differences and behavioral correlates. *Child Dev* 2003 ; 74 :

1006-1020.

- 27) Nater UM, Rohleder N, Schlotz W, et al. Determinants of the diurnal course of salivary alpha-amylase. *Psychoneuroendocrino* 2007 ; 32 : 392-401.

[Summary]

It was examined the individual differences of salivary α -amylase activity of preschool-age children in association with their motivation in daily activities. Salivary α -amylase activity of 25 preschool-age children was measured four times a day at a nursery school for three months using a portable salivary α -amylase monitor (α Amy). Totally salivary α -amylase activity in the sublingual region was measured by α Amy for 11 days in each child, and whole saliva was collected for one day with a cellulose micro-sponge. The activity of salivary α -amylase measured through α Amy indicated smaller standard error than that measured from a saliva sample collected with a cellulose micro-sponge. Children were categorized into three groups by the average activity level of salivary α -amylase of α Amy through cluster analysis: high, middle, and low levels. Children of high activity level significantly more frequently responded in the interview concerning their motivation that they believed they had accomplished challenging tasks by themselves in daily activities, while children of low activity level showed feelings of incompetence with regard to tasks. The results indicated that salivary α -amylase activity measured in the sublingual region could provide useful information to examine support for nurturing mentally and physically healthy development of preschool-age children.

[Key words]

salivary α -amylase, preschool-age children, children's motivation