

精神的ストレス負荷による 唾液中苦味関連タンパク質の変化

荒木田安弘 山森徹雄¹⁾

Effect of Mental Stress on Human Salivary Proteins Concerning Bitter Taste

Yasuhiro ARAKIDA and Tetsuo YAMAMORI¹⁾

Histatin-5 and the basic Proline-rich peptide P-E (PRP-PE) have been revealed as candidates of bitter binding proteins. However, it has not been confirmed whether these compounds were carriers of or blockers to bitter taste so far. On the other hand, it has been reported that psychical stress reduced the sensitivity of bitterness. The present study was carried out to measure the clinical concentrations of Histatin-5 and PRP-PE in saliva under the mental stress.

Stimulated parotid saliva was obtained from the parotid glands of 10 healthy adult subjects before and after the load of stress of the Kraepelin psycho-diagnostic test with a loud noise (5,000Hz, 100dB) for 30 mins. The salivary cortisol concentration and the LF/HF ratio on ECG were adopted as indices of sympathetic nervous activity to check a liability for the load of stress. The concentrations of Histatin-5 and PRP-PE in saliva were quantified by ELISA test. A significant increase in the salivary cortisol after the stress was recognized in half of the subjects, among which an increase of LF/HF ratio was also observed. Histatin-5 in the parotid saliva was significantly reduced by the stress in this group, but PRP-PE was not. These findings suggest that Histatin-5 in saliva might be a carrier protein of bitter substances, but a function of PRP-PE was not clear in this study.

Key words : mental stress, sympathetic nervous activity, histatin-5, proline-rich peptide PE, bitter taste.

緒 言

味覚の感受性は、環境や精神状態および体調によって変化することがBrich¹⁾ら、Rozin²⁾によって指摘されている。中野³⁾は全身疾患、薬剤服用および局所疾患が認められないにもかかわらず、

味覚異常を訴える患者のうち約9割にうつ状態や神経症がみられることを報告している。一方で、精神的ストレス負荷による疲労状態では苦味の感受性が低下し^{4~7)}、苦味を呈する嗜好品の摂取量が増加することが知られている⁸⁾。苦味の感受性が精神的なストレス負荷により低下する原因は、

受付：平成19年9月27日，受理：平成19年10月17日
奥羽大学大学院歯学研究科口腔機能学講座口腔機能回復学専攻
奥羽大学歯学部歯科補綴学講座¹⁾
(指導：清野和夫教授)

Ohu University Graduate School of Dentistry,
Department of Oral Functional Science. Division of
Oral Rehabilitation
Ohu University School of Dentistry, Department of
Prosthetic Dentistry¹⁾
(Director : Prof. Kazuo SEINO)

唾液中に苦味物質に結合するタンパク質が存在し、それらが摂取した苦味物質と結合して感受性を低下させるものと考えられている⁹⁾。この苦味結合タンパク質が精神的ストレスにより減少すれば、苦味物質を味覚受容器まで運ぶキャリアータンパク質であると考えられ、一方で増加するものであれば、苦味物質がこれらのタンパク質と結合しても味覚受容器に運ばれなくなり、苦味受容のプロッカーとして働いていることになる。これらの考えをもとに、馬場¹⁰⁾は苦味物質であるキニーネ類が、紫外線照射下で蛍光発色する性質を応用し、苦味と関連するヒト唾液中タンパク質の検出を電気泳動法により試みた。その結果、Histatin 3, 5, 6とProline-Rich Peptide P-E (PRP-PE)がキニーネと挙動を共にする苦味関連タンパク質であり、化学結合している可能性があることを報告した。この報告のなかで、キニーネに対する苦味閾値の正常者から採取した唾液からはこれらの2つのペプチドの存在を示す6.5kDa以下の相当部位にバンドが検出されたのに対し、キニーネ高閾値者では検出されなかったことから、苦味の感受性に対しこれらのペプチドが大きく関与していることを示唆している。また、島崎ら¹¹⁾はストレス負荷後に生じる苦味閾値の上昇に伴い、電気泳動法でこれらのバンド部位の検出を行った結果、負荷後に採取した唾液中のヒスタチンでは発色バンドに濃度の減少傾向がみられ、PRP-PEでは差が見られなかったことを報告した。このことは、唾液中のヒスタチンが苦味受容においてキャリアータンパク質として働いていることを示唆している。

本研究では、HistatinとPRP-PEの唾液中濃度がストレス指標になり得るかどうかを明らかにすることを目的に、第1に同一レベルの精神的ストレス負荷に対して被験者間で個体差があるかどうかを、交感神経機能活動を反映するコルチゾール濃度の計測と、実験中にモニター（心電図を記録）を行って解析した交感神経活動から、島崎¹¹⁾らの結果を再検討した。第2に、ストレス負荷前後におけるHistatinとPRP-PEの濃度変化を測定してキニーネに対する作用を解析した。第3に、これらの苦味関連タンパク質の唾液中濃度がストレスの指標になり得るかどうかを検証した。

材料と方法

1. 被験者および唾液採取法

被験者は、味覚器官に異常がなく本研究に同意が得られた健常成人男性10名（平均年齢28.6±2.63歳）とした。対象とする唾液は耳下腺唾液とし、久保木式採唾器YK-I型（三東医科工業、東京）を用いて、酸味（レモンドロップ、味覚糖本舗）刺激下にて採取した。採取した唾液は直ちに遠心分離（4℃で3,000回転）を15分間行い、エッペンドルフチューブに分注後、-35℃にて保存し実験に供した。また唾液採取の条件を一定にするため、被験者には採取2時間前の飲食・喫煙ならびに激しい運動を禁じた。なお実験は、全期間を通して外部刺激の影響を遮断するためにシールドルーム内で行った。

唾液採取は、被験者一人につき以下のように2回行った。入室直後に耳下腺唾液をまず採取し、次いで座位で30分間の安静状態を保った後に30分間精神的ストレスを負荷した。2回目の唾液はその直後に採取した。

2. 精神的ストレスの負荷方法

精神的ストレス負荷の方法として、内田クレペリン精神検査（日本精神技研）による連続加算作業を30分間施行した。またそれと同時にヒトが不快に感じるといわれている5,000Hz（100dB）の音刺激をAudio Signal Generator（AG-207：SANWA社）によりヘッドホンを通じて聞かせた。

3. 自律神経活動のモニター法

a. 唾液中コルチゾールの測定

ストレス負荷前後に採取した唾液中のコルチゾールを定量した。すなわち、精神的ストレス負荷前後でコルチゾールの濃度変化を比較することにより、ストレスの有無を判定した。測定にはSalivary Cortisol Enzyme Immunoassay kit（Salimetrics, PA, USA）を用いた。

b. 心電図の測定

実験中に記録した被験者の心電図（ECG）から自律神経機能を分析し、ストレスの程度を判定した。心電図は、ディスプレイ電極（M-150、日本光電）を胸部に貼り付け、三点胸部誘導法にて導出し、マルチテレメータシステ

ム (WEB-500, 日本光電) を介し, PowerLab (PowerLab/8sp, AD Instruments) の収録システムソフトウェア (Chart Ver.5.0) を用いてPCのハードディスクに記録した。また, 心電図のR-R間隔の解析には心拍動の解析モジュール (HRV, Heart Rate Variability Module; AD Instruments) により心拍の周波数のスペクトル成分を解析し, 交感神経機能を反映する指標とされるLF/HF比を算出して交感神経機能の活動について検討した¹²⁾。なおLF/HFは, LFは低周波 (Low Frequency) の0.04~0.15Hzについて, HF (High Frequency) は0.15~0.40Hzについてのパワー比を求めた。

4. ELISA法による2種タンパク質定量法

唾液中のHistatin 5とPRP-PEを定量するため, 市販のHistatin 5 (BACHEM AG, Switzerland) と, 馬場¹⁰⁾の結果に基づいて合成したPRP-PE (ユニテック, 千葉) を使用して得られた検量線に基づいて2つのタンパク質の唾液中の濃度をELISA法によって計測した。ELISA法は, 96穴のマイクロプレートのウェルにコーティングバッファー (0.1M Na₂CO₃/NaHCO₃, pH9.5) で, Histatinの濃度測定には8倍, PRP-PEの測定には4倍にそれぞれ希釈した原唾液を各100 μ l入れ, 1時間以上静置した。その後, 5%スキムミルク (雪印乳業, 札幌) を用いてブロッキング (4℃, 12時間) を行い, 1次抗体として5%スキムミルクでanti-Histatin5は250倍に, anti-PRP-PEモノクローナル抗体は50倍に希釈して加え, 1時間反応させて, Dulbecco's PBS(-) (日本製薬, 東京) にて洗浄した。2次抗体としてPBS-Tween (Tween 20, 0.1%) で3,000倍に希釈したビオチン標識抗マウスIgG抗体 (ZYMED Lab., San Francisco) と30分間反応させ再びPBSにて洗浄した。次にPBS-Tweenにて3,000倍に希釈したHRP標識ストレプトアビジン溶液 (ZYMED Lab., San Francisco) を加えて30分間反応させ, PBSにて洗浄後TMB (3,3', 5, 5' Tetramethyl Benzidine, ZYMED Lab., San Francisco) 溶液を加えて10~15分間放置した。1N塩酸にて反応を停止させマイクロプレートリーダー (BIO RAD, Model 550, 東京) により吸光度 (450nm)

を測定して唾液中の2種のタンパク質濃度を求めた。なお本実験で使用したanti-Histatin 5モノクローナル抗体は, 久保木芳徳氏より提供を受けた。

5. アガロースゲル電気泳動

苦味物質であるキニーネに対してHistatin 5とPRP-PEが及ぼす影響については, 馬場¹⁰⁾により適正濃度とされた0.08%のキニーネと各種濃度の上記2つのタンパク質を混合して2%アガロースゲル (アガロースLM, nacalai tesque, 京都) 電気泳動を行って検討した。なお, 泳動バッファーには, バルビタールナトリウム (nacalai tesque, 京都) とグリシン (和光純薬工業, 大阪) の緩衝液 (0.4M, pH8.3) を用いた。電気泳動のサンプルとして, Histatin 5とPRP-PEを凍結乾燥し, 泳動バッファーに適正な濃度に調整して, 0.08%の硫酸キニーネと混合した。また泳動にあたっては, この混合液にグリセリン (nacalai tesque, 京都) を20%となるように添加した。電気泳動による硫酸キニーネは正電荷を持っているため, 電流はサンプルウェル側寄りをプラス極側とし, 通常行われるのとは逆に電流を流すこととし, 電気泳動は10℃, 50V, 175分の条件とした。

6. 統計処理

コルチゾールおよびLF/HF, HistatinとPRP-PE濃度における2群間の差の検定にはWilcoxon t-testを, LF/HF比の変化率の比較にはMann-Whitney U-testを用いた。

なお, 本研究は奥羽大学倫理委員会による承認を受けた (承認番号2)。

結 果

1. 自律神経機能の変動について

1) コルチゾールの測定

被験者の唾液中コルチゾール濃度をストレス負荷前後で測定した。その結果, 被験者10名のうち5名においてコントロール (ストレス負荷前) 値の $0.066 \pm 0.038 \mu\text{g/dl}$ に対して, $0.130 \pm 0.089 \mu\text{g/dl}$ と有意な ($P < 0.05$) 増加が認められた (Fig. 1)。一方, 他の5名の被験者のコルチゾールの濃度は, コントロール値で $0.142 \pm 0.112 \mu\text{g/dl}$, ストレス負荷後で $0.096 \pm 0.088 \mu\text{g/dl}$ となり, 両値間に有意な差は認められなかった ($P > 0.05$, Fig. 2)。

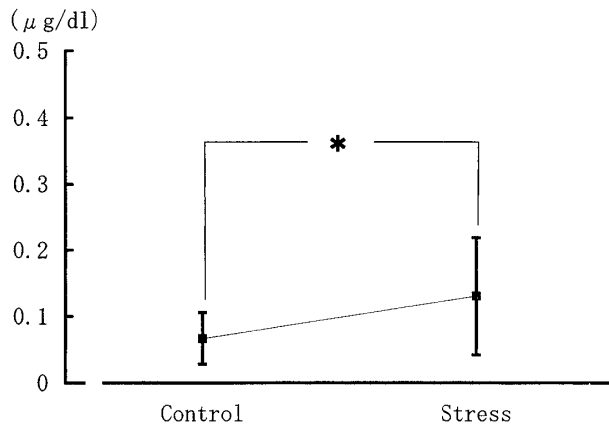


Fig. 1 Increased group of cortisol concentration following mental stress. (* : $P < 0.05$)

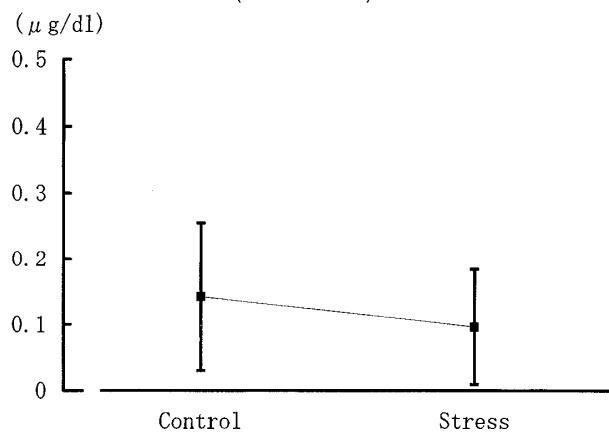


Fig. 2 Not increased group of cortisol concentration following mental stress.

この結果をもとに、増加の認められた5名を「増加群」、変化の認められなかった5名を「非増加群」として分類した。以下の実験ではこの2群に分類して検討を加えた。

2) 心拍周波数解析による交感神経機能の変動
ストレス負荷後におけるLF/HFの変化率(%)を算出した結果、「増加群」では $218.4 \pm 114.2\%$ と交感神経機能が亢進し、「非増加群」では $49.5 \pm 15.3\%$ と交感神経機能の低下がみられた。これら2群間のLF/HFの変化率には有意差($P < 0.05$)が認められた (Fig. 3)。つまり「非増加群」では本実験におけるストレス負荷がストレスに至らなかった可能性が示唆された。

また、「増加群」における心電図R-R間隔の周波数解析のパワー比LF/HFを比較すると、 1.43 ± 0.38 から 2.68 ± 0.56 へと、ストレス負荷後にLF/HFに有意な($P < 0.05$)増加が認められた (Fig. 4)。一方、「非増加群」ではコントロール

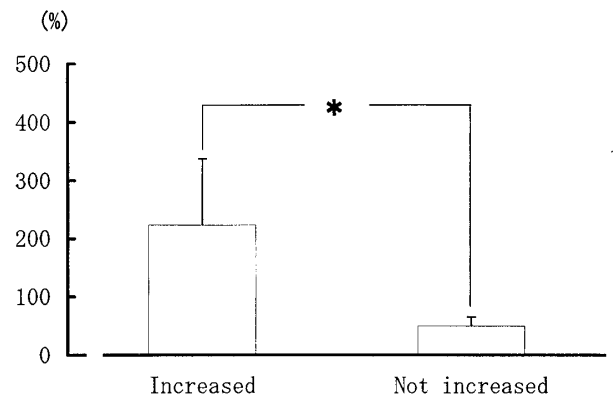


Fig. 3 LF/HF ratio between increased group and not increased group. (* : $P < 0.05$)

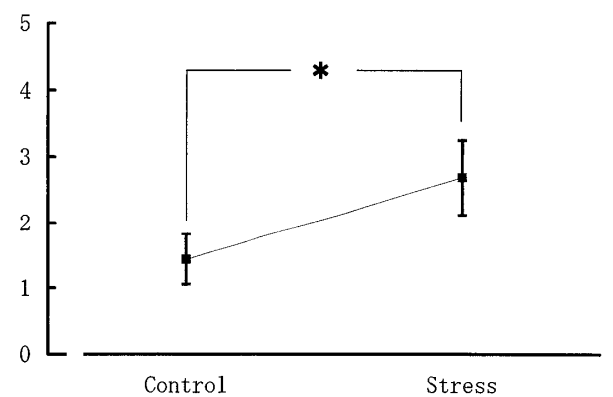


Fig. 4 LF/HF ratio of increased group. (* : $P < 0.05$)

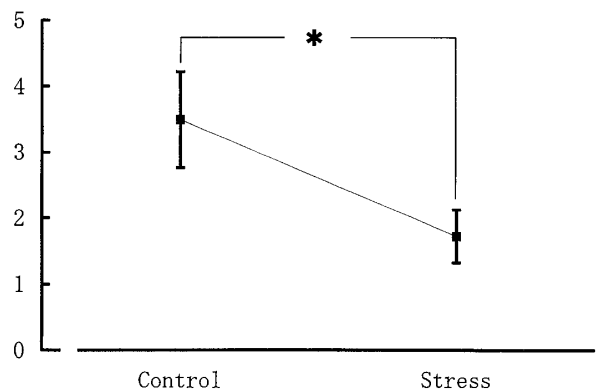


Fig. 5 LF/HF ratio of not increased group. (* : $P < 0.05$)

のパワー比は 3.49 ± 0.72 からストレス負荷後では 1.72 ± 0.39 と有意な($P < 0.05$)低下を示した (Fig. 5)。

2. 唾液中Histatin 5の定量

ELISA法におけるHistatin 5の検量線は、およそ $0.5 \sim 3.0 \mu\text{g/ml}$ の濃度範囲でほぼ直線性が認められたので、この検量線をもって唾液中Histatin

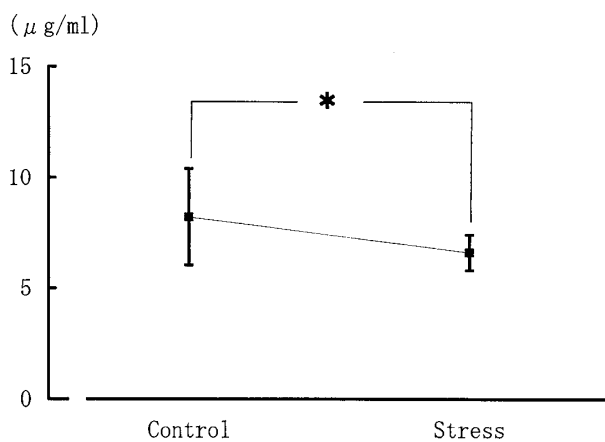


Fig. 6 Histatin 5 concentration of increased group following mental stress. (* : $P < 0.05$)

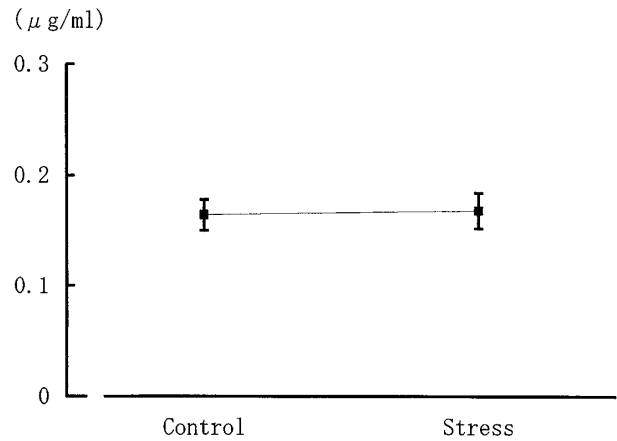


Fig. 8 PRP-PE concentration of increased group following mental stress.

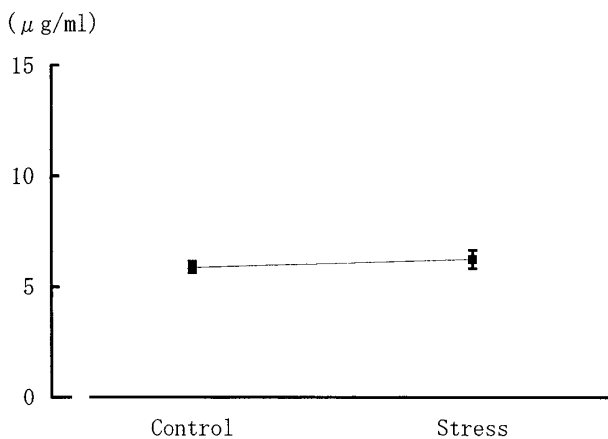


Fig. 7 Histatin 5 concentration of not increased group following mental stress.

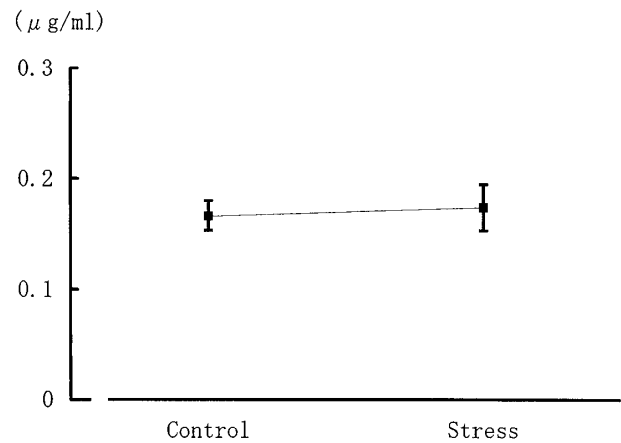


Fig. 9 PRP-PE concentration of not increased group following mental stress.

5濃度の測定に利用した。

ストレス負荷前後での各唾液中のHistatin 5濃度を測定した結果、「増加群」ではコントロール(ストレス負荷前)の唾液中の濃度 $8.22 \pm 2.19 \mu\text{g/ml}$ に対して、ストレス負荷後では $6.61 \pm 0.81 \mu\text{g/ml}$ と有意な ($P < 0.05$) 減少を示した (Fig. 6)。一方、「非増加群」ではコントロール値の $5.88 \pm 0.26 \mu\text{g/ml}$ に対して、ストレス負荷後では $6.24 \pm 0.41 \mu\text{g/ml}$ となり、ストレス負荷前後において有意差は認められなかった (Fig. 7)。

3. 唾液中PRP・PEの定量

ELISA法によるPRP-PEの検量線は、 $0.019 \sim 0.625 \mu\text{g/ml}$ の間でほぼ直線性が認められたことから、この濃度間でPRP-PE濃度の測定を行った。

「増加群」での唾液中PRP-PE濃度は、コントロールの $0.164 \pm 0.014 \mu\text{g/ml}$ に対し、ストレス負

荷後では $0.167 \pm 0.015 \mu\text{g/ml}$ と有意な変化は認められなかった (Fig. 8)。また「非増加群」でも同様に、コントロールの $0.166 \pm 0.013 \mu\text{g/ml}$ と比較して、ストレス負荷後には $0.173 \pm 0.021 \mu\text{g/ml}$ となり有意な変化が認められなかった (Fig. 9)。

4. キニーネとHistatin 5の相互作用

$75 \mu\text{l}$, $150 \mu\text{l}$, $300 \mu\text{l}$ のHistatin 5を凍結乾燥後、 0.08% 硫酸キニーネ/ 20% グリセリン緩衝液 $50 \mu\text{l}$ で溶解しサンプルとした。コントロールには 0.08% 硫酸キニーネグリセリン緩衝液のみを用い、アガロースゲル電気泳動を行った。その結果、コントロールと比較してHistatin 5の容量の増加に伴う濃度勾配に依存して易動度の低下が認められた (Fig. 10)。

5. キニーネとPRP・PEの相互作用

PRP-PEの合成ペプチドをそれぞれ $75 \mu\text{l}$, 375

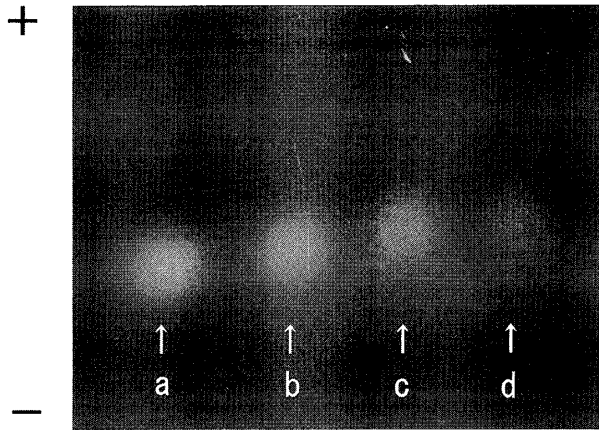


Fig. 10 Comparison of the binding of quinine sulfate and Histatin 5.

- a : Control (quinine sulfate)
- b : Histatin 5 (75 μ l)
- c : Histatin 5 (150 μ l)
- d : Histatin 5 (300 μ l)

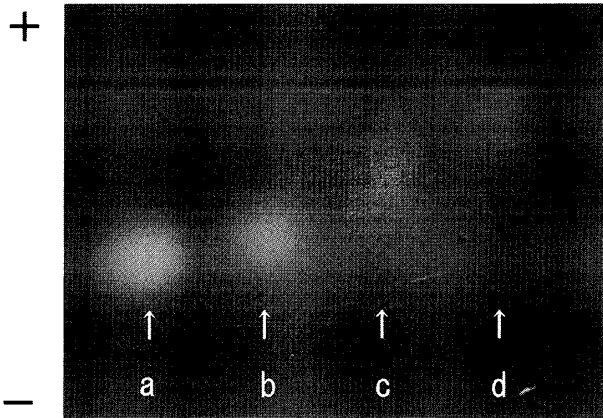


Fig. 11 Comparison of the binding of quinine sulfate and PRP-PE.

- a : Control (quinine sulfate)
- b : PRP-PE (75 μ l)
- c : PRP-PE (375 μ l)
- d : PRP-PE (750 μ l)

μ l, 750 μ l凍結乾燥し, 0.08%硫酸キニーネ/20%グリセリン緩衝液50 μ lで溶解しアガロースゲル電気泳動を行った。その結果, 濃度勾配に依存した易動度の低下が確認されたが, 高濃度の375 μ l, 750 μ lでは蛍光強度が弱くなるとともに, 蛍光範囲の拡大がみられた (Fig. 11)。

考 察

1. ストレスと自律神経機能

ストレスはストレスラーによって身体内部に起こる変化をいう¹³⁾。ストレスで生じる内分泌系の

反応には, 交感神経-副腎髄質系と視床下部-下垂体-副腎皮質系がある¹⁴⁾。副腎皮質から分泌されるコルチゾールは, 情動的なストレスにより血中濃度を増加させる¹⁵⁾ため, ストレス反応の指標となるホルモンである。また, 唾液中のコルチゾール濃度は血中の遊離型コルチゾール濃度を反映したものと報告されている¹⁶⁾。ストレス状態において唾液中のコルチゾール濃度が増加することはStahlら¹⁷⁾により確認され, 非侵襲的に採取が可能であることから, ストレス分析にコルチゾールの定量が試みられてきた。

一方, 自律神経機能を評価する指標として, 心電図のR-R間隔などの心拍変動(ゆらぎ)の時系列解析法やスペクトル解析法が応用されている¹⁸⁾。LF/HFは, 心電図のR-R間隔の周波数解析から求められるパワー比で, 心機能障害がない条件下では相対的な交感神経活動の指標と考えられている^{12, 19)}。

本研究では, 精神的ストレス負荷後に唾液中のコルチゾール濃度が増加した「増加群」においてLF/HFが有意に増加したことから, 交感神経機能の亢進が認められ, 明らかにストレスを受けた被験者がいたことが示された。一方, 精神的ストレス負荷前後に唾液中にコルチゾール濃度の有意な差が認められなかった「非増加群」では, LF/HFが有意に減少した。このことは, 本実験で負荷した精神的ストレスが, これら「非増加群」の被験者に対してストレス状態を誘発する因子にならなかったことを意味している。この理由としては, 被験者の連続加算能力が高く, 不快なノイズを負荷しても交感神経機能が亢進するほどのストレスではなかったことが考えられる。

これらの実験結果は, ストレス負荷の程度によってはストレスラーとなり得ない被験者が存在することを示しているので, 実験内容によってストレス負荷の方法と個人差について考慮しておく必要がある。

2. HistatinとPRP-PEの濃度変化

唾液中Histatin濃度は咀嚼刺激やクエン酸の刺激により増加し, 抗 β 1アドレナリン作動薬によりHistatin濃度は減少することから, 自律神経との関連性が示唆されてきた²⁰⁾。またWang²¹⁾らは

唾液中Histatin濃度の日内変動を測定し、午前中よりも午後の時間帯で濃度の減少が生じることを報告し、その要因の1つとしてストレスを挙げている。本実験における精神的ストレス負荷は、1) 交感神経機能が亢進し、かつ2) 唾液中Histatin濃度を減少させたことから、唾液中のHistatin濃度の減少はストレス反応に起因すると報告した島崎ら¹¹⁾の結論と一致する。

一方、本研究において「増加群」と「非増加群」の唾液中PRP-PE濃度には、ストレス負荷前後でも有意な差が認められなかった。これは、唾液中のPRP-PE濃度がコントロールにおいて微量であり、本実験で用いた精神的ストレス負荷では変化をもたらすに至らなかったのかもしれない。またPRP-PEの検量線が、Histatinと比較して1/10程度の値と極めて勾配が緩いため変化を促えられ難かった可能性も否定できない。またマウスやラットを用いた動物実験では、交感神経作動薬であるイソプロテレノールを慢性投与するとPRP分泌量が増加するという^{9,22)}。このことは精神的ストレス負荷により交感神経機能が亢進し、ヒト唾液中PRP-PE濃度も増加する可能性を示唆している。しかしこのことは、ヒトでストレス負荷を慢性的に与える実験を行って検証しなければ判然とはしない。

3. HistatinとPRP-PEの苦味物質との相互作用

本来、タンパク質などの負電荷をもつ物質は、電気泳動中にプラスの電極方向に移動するはずである。しかし本研究で行ったアガロースゲル電気泳動は、キニーネが正電荷をもつことから、もし苦味物質であるキニーネがHistatin 5やPRP-PEと結合あるいは吸着するのなら、通常とは逆の通電によりこれらのタンパク質がキニーネに引っ張られて移動し、さらにキニーネのもつ蛍光性を利用して移動したタンパク質の検出ができるという事実によったものである。その結果は、Histatin 5およびPRP-PEが共にキニーネに対して吸着あるいは結合能を有するために、これらのタンパク質の濃度に依存して異動度が異なることが確認された。しかし、キニーネ以外の苦味物質についてはあてはめられない。

タンニンを含む飼料をマウスやラットに与

えると唾液中のPRP量の増加が認められ、苦味物質との関連性が示唆されている¹⁴⁾。また、PRPは苦味物質であるタンニンに対する結合能を有し、味覚刺激効果を抑制し、さらに消化器官での栄養物の吸収を阻害していると報告されている^{23~25)}。さらに、Histatinもタンニンに対する強い結合性を持つと報告されている²³⁾。一方で、精神的な疲労感による苦味感受性の低下¹¹⁾が報告されており、本実験でも唾液中Histatin濃度の減少が確認されたことから、Histatinが苦味受容においてマスク効果（ブロッキング）を起こすとは考えにくく、キニーネと結合することで、苦味の受容体まで苦味物質を運搬するキャリアータンパク質として作用している可能性が示唆された。しかしその受容サイトや作用経路については、不明な点も多く、今後の解明が待たれる。

以上のことから、2つの苦味関連唾液中タンパク質のうち、唾液中Histatin濃度の測定はストレス指標として有効であることが示唆された。

結 論

精神的ストレスの負荷が、交感神経機能と苦味に関連するHistatin 5とPRP-PEの唾液中濃度に与える影響を検討した結果、以下の結論が得られた。

1. 精神的ストレスの負荷により、唾液中コルチゾール濃度が有意に増加する被験者が50%認められ、その全ての者でLF/HFのパワー比も有意に増加していた。これらより、ストレス負荷により交感神経機能が亢進するものがあることが確認された。

2. ストレス負荷により交感神経機能の亢進を呈した被験者では、唾液中Histatin 5濃度は負荷後に有意な減少を示した。それゆえ、唾液中Histatin 5濃度の測定はストレス指標として有効であることが示唆された。

3. 唾液中PRP-PE濃度の測定は、本実験で用いたような一時的な精神的ストレス負荷では有意な変化が認められなかった。

4. 唾液中Histatin 5は、苦味物質であるキニーネのキャリアータンパク質である可能性が示唆された。

謝 辞

稿を終えるに臨み、終始ご懇篤なるご指導をいただきました奥羽大学大学院歯学研究科口腔機能学領域口腔機能回復学分野の清野和夫教授に深甚なる感謝の意を表します。また、抗体を供与いただきました北海道大学名誉教授久保木芳徳先生に謝意を表します。さらに、専門的立場から貴重な御助言をいただいた島崎伸子博士と口腔機能学領域口腔生理学分野の丸井隆之教授に心より感謝致します。そして、本研究に御協力いただきました歯科補綴学講座教室員各員と被験者の皆様に深謝いたします。

本論文の要旨は、第42回奥羽大学歯学会（2006年11月3日 郡山市）において発表した。

文 献

- 1) Brich, L. L., Billman, J. and Richards, S. S. : Time of day influences food acceptability. *Appetite* **5** ; 109-116 1984.
- 2) Rozin, P. : Development in the food domain. *Developmental Psychol* **26** ; 555-562 1990.
- 3) 中野良信 : 味覚異常を愁訴とする患者の心理的背景. *日歯心身* **15** ; 121-128 2000.
- 4) Nskagawa, M., Mizuma, K. and Inui, T. : Changes in taste preception following mental or physical stress. *Chem Senses* **21** ; 195-200 1996.
- 5) Yoshida, M. : A microcomputer (PC 9801/MS mouse) system to record and analyze time-intensity curves of sweetness. *Chem Senses* **11** ; 105-118 1986.
- 6) 乾 隆子, 中川 正 : 長時間および短時間連続精神的作業負荷による苦味感受性への影響—その1—. *味と匂誌* **2** ; 455-458 1995.
- 7) 中川 正, 乾 隆子, 尾崎まみこ : 長時間および短時間連続精神的作業負荷による苦味感受性への影響—その2 : 唾液中のタンパク質の変動—. *味と匂誌* **2** ; 487-489 1995.
- 8) 森本和紀, 駒井三千夫, 長田和実, 角田健司ほか : 疲労時における嗜好変化についての行動学的及び神経生理学的研究. *味と匂誌* **2** ; 479-482 1995.
- 9) ニノ宮裕三, 勝川秀夫 : 食性と唾液・味覚 : 食物による唾液タンパク質の誘導. *味と匂誌* **6** ; 157-168 1999.
- 10) 馬場園子 : 苦味に関連する唾液中タンパク質の検出. *奥羽大歯学誌* **30** ; 189-196 2003.
- 11) 島崎伸子, 荒木田安弘, 馬場園子, 山森徹雄ほか : 苦味感受性と苦味関連タンパク質について—実験的ストレス負荷の影響—. *補綴誌* **48** ; 888 2004.
- 12) 増淵正彦, 富田祐介, 丸井隆之 : 情動ストレス負荷時における圧受容体反射の感受性. *奥羽大歯学誌* **33** ; 141-148 2006.
- 13) 上羽孝夫, 猪股孝四郎, 倉橋昌司, 菅谷英一ほか : *スタンダード口腔生理学* ; 124-155 学研書院 東京 1994.
- 14) 青木矩彦 : ストレスとホルモン. *治療* **79** ; 60-64 1997.
- 15) Hodges, J. R., Jones, M. T. and Stockman, M. A. : Effects of emotion on blood corticotrophin and cortisol concentration in man. *Nature* **193** ; 1187-1188 1962.
- 16) Umeda, T., Hiramatsu, R., Iwaoka, T. and Shmida, T. : Use of saliva for monitoring unbound free cortisol levels in serum. *Clin Chim Acta* **110** ; 245-253 1981.
- 17) Stahl, F. and Dorner, G. : Responses of salivary cortisol levels to stress-Situations. *Endokrinologie* **80** ; 158-162 1982.
- 18) 鈴木康子 : 心拍変動と不整脈—急死, 心房細動の発症をどこまで予知できるか—. *Medical Practice* **9** ; 1587-1591 1994.
- 19) Montano, N., Ruscone, TG., Porta, A. and Lombardi, F. : Power spectral analysis of heart rate variability to assess the changes in sympathovagal balance during graded orthostatic tilt. *Circulation* **90** ; 1826-1831 1994.
- 20) Jensen, J. L., Xu, T., Lamkin, M. S. and Brodin, P. : Physiological regulation of the secretion of histatins and statherins in human parotid saliva. *J Dent Res* **73** ; 1811-1817 1994.
- 21) Wang, P. L., Kanehira, T., Ohura, K. and Kuboki, Y. : Measurement of histatins in the saliva of healthy humans. *Jpn J Oral Biol* **41** ; 591-595 1999.
- 22) Mehansho, H., Clements, S., Sheares, B. T. and Smith, S. : Induction of proline-rich glycoprotein synthesis in mouse salivary glands by isoproterenol and by tannins. *J Biol Chem* **260** ; 4418-4423 1985.
- 23) Yan, Q. and Bennick, A. : Identification of histatins as tannin-binding proteins in human saliva. *Biochem J* **311** ; 341-347 1995.
- 24) Mitjavila, S., Lacombe, C., Carrera, G. and Derache, R. : Tannic acid and oxidized tannic acid on the functional state of rat intestinal epithelium. *J Nutr* **107** ; 2113-2121 1977.
- 25) Warner, T. F. and Azen, E. A. : Tannins, salivary proline-rich proteins and oesophageal cancer. *Med Hypotheses* **26** ; 99-102 1988.

著者への連絡先 : 荒木田安弘, (〒963-8611) 郡山市富田町字三角堂31-1 奥羽大学歯学部歯科補綴学講座
 Reprint requests : Yasuhiro ARAKIDA, Department of Removable Prothodontics, Ohu University School of Dentistry
 31-1 Misumido, Tomita, Koriyama, 963-8611, Japan