研究概要報告書

研究題目	唾液中の増殖因子濃度測定による音楽聴取の効果に関する解析	報告書作成者	石川哲也
研究従事者	石川哲也		
研究目的	音楽療法はそれに関する CD などの売れ行きなどから，一般人にも広く知られているようである。しかし，知られている割にその効果に関する研究はそれほど進んでおらず，理論が先行している。特に音楽を聴くことにより，現在言われている種々の効果があるのかどうかについては，科学的根拠があまりないような状態である。そこで申請者は，これまでの方法とは別のアプローチで音楽刺激により効果があるのかどうかを明らかにしようと考える。もし，音楽に種々の効果があるならば，生体の種々のタンパク質が変化しているはずである。それはおそらく，タンパク質の濃度変化として現れるはずである。そして，それらが持つ機能によって，種々の効果が現れるのではないかと考える。 申請者は本研究で，音楽刺激が脳に与える効果をタンパク質の濃度変化としてとらえられるかどうかを明らかにする。特に，増殖因子の濃度変化として測定できないか明らかにすることを目的とする。音楽（音）はまず脳によって処理され，続いて脳から種々の指令が出されると考えられる。その一つに増殖因子があり，それらによって生体分子の分泌，免疫細胞の活性化などが起きていると考えられる。従って，脳で分泌されるそのような増殖因子を血液中あるいは唾液中で検出できれば，音楽応答における脳と機能発現細胞とを結びつけることが可能になるかも知れない。すなわち，音楽刺激とその効果の関係がよりはっきりする。本来ならば，血液中の成分を測定すべきであるが，血液には種々の成分が大量に存在しており，血液の成分から変化するタンパク質を直接検出することは現在では難しい。また，採血は連続しては行いにくく，さらにストレスがかかり，採血自体がタンパク質の濃度に変化を及ぼす可能性がある。従って，採取の際にストレスがかかりにくく，血液ほどタンパク質が多くない唾液を用いて，まず濃度が変化する唾液タンパク質を明らかにする。唾液成分の中には血漿由来の成分も存在ことが知られている。そこで，音楽刺激により濃度が変化する唾液タンパク質を明らかにし，それらの中から，増殖因子に分類されるものを探す。そして，そのタンパク質について音楽刺激によって実際に濃度が変化するのかどうかを明らかにする。		

研究概要報告書

研究内容	音楽刺激により増加するタンパク質には，唾液免疫グロブリンAがある。そこで唾液免疫グロブリンAをマーカーにして，これ以外の増加するタンパク質を明らかにしようとした。まず，唾液免疫グロブリンAは日内変動があり，音楽以外の因子によっても変化するといわれているので，音楽刺激に対する効果だけを調べるために，朝の活動をはじめる前に唾液採取を行うことにした。すなわち，朝起きてから歯を磨き，実験までの間，歯を磨くこと以外には何もせず（新聞を読まない，テレビを見ないなど），安静状態を保った。歯を磨いてから約30分後に実験を開始した。コントロールでは安静のまま，音楽刺激の場合は種々の音楽を聴き，10分ごとに唾液を採取した。採取した唾液は-80℃の冷凍庫で保存した。なお，被験者は申請者であるため倫理的な問題は発生しない。 得られたサンプルについて，唾液免疫グロブリンAの濃度をEIA s-IgAテストを用いて測定した。図1にコントロールの結果を示した。安静にすると唾液免疫グロブリンAの濃度はほとんど変化しない。種々の音楽刺激を行ったサンプルの中から，特に有意に変化があったモーツアルトピアノ協奏曲第20番（OVCL-00170）を聴いた結果を図2に示す。申請者が考えていたように，音楽刺激により唾液免疫グロブリンAはピークを描くような変化を示すことがわかった。このような急激な変化を示すサンプルが最適であると考え，このサンプルを用いてタンパク質の同定を行った。 タンパク質の同定は，電気泳動後，増えたタンパク質について質量分析にかけて行うことにした。図2のサンプルの0分と10分の唾液をSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動にかけた。そして銀染色を行い，音楽刺激前後で量に差があるタンパク質があるのかどうか比較した。その結果，10分後には多数のタンパク質の量が増えていた（未発表データであるため掲載は控えさせていただきたい）。それらのバンドを切り出し，in gel digestion kitを用いて質量分析に必要な処理を行った。そして，低分子のタンパク質から順に質量分析を行い，どのようなタンパク質が含まれているのか解析した。4つまでの解析が終わったが，それらの中に増殖因子は存在しなかった。電気泳動を行い染色する方法では，微量なタンパク質は検出限界以下となり検出ができない可能性がある。 そこで，ある増殖因子XとY（特許取得の可能性があるため，ここでは伏せさせていただきたい）について音楽刺激後の変化を調べた。これらは申請者が音楽刺激後の応答に関与しているのではないかと考えていたものである。まず，音楽刺激により唾液免疫グロブリンA濃度が徐々に上昇するサンプルについて予備実験を行った。このときの音楽にはチャイコフスキーの弦楽セレナードハ長調作品48（NF60106）を用いている。XとYの定量試薬を用いて，二つの濃度が音楽刺激とともに増えるのかどうかを調べた。その結果，Xでは唾液免疫グロブリンAと同様に濃度が上昇した（図3）。これに対してYでは検出限界以下であり，変化は確認できなかった。

研究概要報告書

研究のポイント	これまで，音楽療法には種々の効果があるといわれてきたが，客観的な根拠は少ない。本研究では，まず音楽刺激により増加する唾液タンパク質を網羅的に同定するところが特徴である。これにより，種々の効果を現すタンパク質が明らかになり，これらのタンパク質とこれまでいわれてきた効果を結びつけることができるようになる。従って，実際に効果があるのかどうかを判断する一つの材料となる。 また，音楽刺激によって増えるタンパク質の中に増殖因子があるのではないかと考えている。増殖因子は，標的細胞に作用して効果を現すため，脳と機能発現細胞とを結びつける因子の一つである。従って，音楽刺激による効果を測定するのによい指標となる。
研究結果	種々の音楽刺激を被験者に与えて唾液を採取し，唾液免疫グロブリン A の濃度を測定した。その結果，唾液免疫グロブリン A の濃度は時間と共に増加し，その後減少した。そこで，各サンプルの音楽刺激前と最高濃度を与える時点の濃度を比較し，その差が最も大きいサンプルについて電気泳動を行った。すると，複数のタンパク質について量が増えていた。この結果から，音楽刺激により量が変化するタンパク質が複数個存在することが明らかになった。 それらの内の4つについて質量分析を行ったところ，いずれも増殖因子ではなかった。電気泳動法では，微量なタンパク質は検出限界以下になる可能性がある。従って，増殖因子Xについて音楽刺激の効果を調べるため，予備実験を行った。その結果，唾液免疫グロブリン A の増加と同様にXの濃度も上昇することがわかった。
今後の課題	まず，音楽刺激により増えたタンパク質をすべて明らかにする必要がある。そして，それらが音楽刺激と共に増えているのかを実際に定量する必要がある。さらに，増えた量（変化量）でそのタンパク質の機能が実際に生体に効果を及ぼすことができるのかについても明らかにする必要がある。以上のようにすれば，音楽刺激と明らかになったタンパク質の機能との関係が明らかになる。また，増殖因子Xの解析についてはまだ予備実験の段階であるため，本当に音楽刺激により濃度が増加するのか明らかにする必要がある。そのためには複数のサンプルについて解析し，その結果，コントロールと比べて有意に増えていなければならない。本研究のようなアプローチは誰も行っておらず，まだ始まったばかりである。ここにあげたような課題を解決することにより，音楽刺激による効果が明らかになると考える。

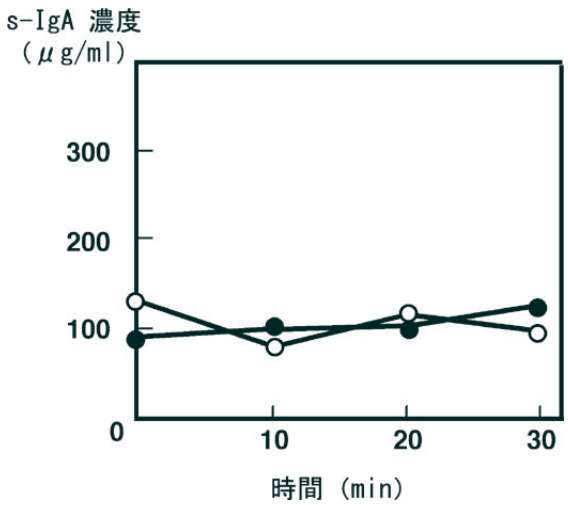

図１ 安静時の唾液免疫グロブリンＡの濃度変化
一回目 ●）と二回目 ○）の結果を示した。

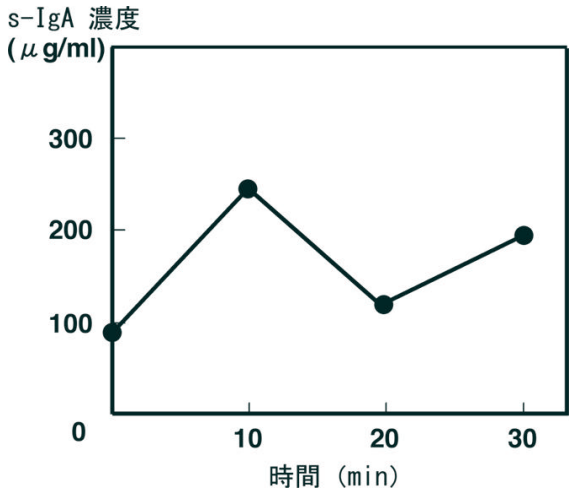

図２ 音楽刺激を与えたときの唾液免疫グロブリンＡの濃度変化
音楽はモーツアルトピアノ協奏曲第20番を使用した。

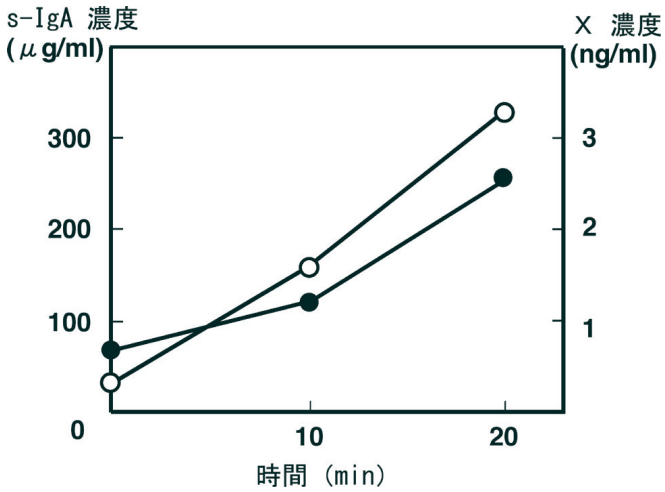

図３ 音楽刺激を与えたときの唾液免疫グロブリンＡと増殖因子Xの濃度変化
唾液免疫グロブリンＡ ●）と増殖因子Ｘ ○）について測定した。