

学生活動における心拍変動を用いたバイオマーカーによる自律神経活動の評価 Evaluation of the physiological biomarkers in students with stress by heart rate variability

印藤 智一* 柳瀬 蒼空* 澁谷 優斗*
池田 果恋* 野宮 永琉舞* 中村 実*

Tomokazu INDO*, Sora YANASE*, Yuto SHIBUYA*,
Karen IKEDA*, Eruma NOMIYA*, Minoru NAKAMURA*,

Abstract

The autonomic nervous system (ANS) and hormones play important roles in the body by regulating systemic metabolism, thereby maintaining homeostasis. The sympathetic and parasympathetic of ANS regulate functions of the human body. The sympathetic system controls active responses, and the parasympathetic system regulates “rest and digest” functions. Psychological stress is a normal reaction to everyday pressures, and it leads to an unpleasant state of arousal and tension. Excessive stress may surpass the regulatory capacity and produce unexpected responses associated with mental and physical activity. Since it is important to evaluate the reaction in the body due to stress, we have reported stress biomarkers by analyzing Heart Rate Variability (HRV) to assess the autonomic nervous activity.

HRV is assessed based on frequency-domain or time-domain analysis. High frequency (HF) and low frequency (LF) components of HRV, LF/HF ratio (reflecting interactions of both types of autonomic modulation) as the parameters of frequency-domain analysis, the ratios of the difference between RR intervals (pNN) as the parameters of frequency-domain analysis were analyzed. The healthy volunteers on Objective Structured Clinical Examination (OSCE) as mental stress load were studied using electrocardiography, heart rate (HR), coefficient of variation of R-R interval (CVRR), blood pressure (BP) was measured. We also attempted to evaluate relaxation methods to suppression of tension using stress biomarkers.

I. 緒 言

生体は外部環境の変化に影響されないように、内部環境を一定の状態に保つ作用を持ち、これをホメオスタシスという。ホメオスタシスは内分泌系と自律神経系により維持されており、その作用によって体温や代謝などの生体機能全般が調整されている。自律神経には身体活動を活性化させる交感神経系と、身体の安静化や消化に関係する副交感神経系があり、協調しながら各臓器に作用をしている。心臓・血管系に対しては自律神経の関与は顕著であり、交感神経は血管収縮、心臓活動などで亢進的に作用し、

心拍数増加、心拍出量増加を促進することで骨格筋への血液供給量を増加させて身体活動を活発化する。一方で副交感神経は交感神経とは拮抗的に作用し、心拍数低下や心拍出量を減少させて心機能を抑制する。結果として骨格筋への血液供給量は減少するが、副交感神経の作用により消化管への血流は増加し、消化吸收を促す作用も有している。自律神経系の活動では、一般的には交感神経と副交感神経は拮抗的に働き、交感神経活動が亢進すると副交感神経活動は抑制され、逆に副交感神経活動が亢進すると、交感神経活動が抑制されると考えられていた¹⁾。

しかし、実際には交感神経と副交感神経は独立して作用することがあり、同時亢進や同時抑制もあることが報告されている²⁾。

ストレッサーとして定義される、精神的緊張、身体的外傷、化学物質、寒さ、熱などの内因的または外因的な刺激を受けて、ヒトはホメオスタシスに基づき、恒常性を維持するために様々な生理学的反応を引き起こす。特に心理的ストレスは過度の興奮や緊張などを引き起こし、目的とする身体活動に不適切な影響をもたらす、本人が希望するパフォーマンスが実行できないなどの弊害を生じる。ストレスは心臓への交感神経刺激を活性化させ、心拍数や心拍出量を増加させるとともに、末梢血管を収縮させて血圧を上昇させる。これらのことから心拍数変動や血圧などの生理学的指標（バイオマーカー）を測定することにより自律神経活動を客観的に把握することができる³⁾。

社会的な経験が浅い大学生においては、心理的ストレスによってパフォーマンス低下が起こることが多い。特に医療従事者の養成課程では、臨床実習で学外の指導者や実際の患者対応の際に適切な行動ができず問題になることがある。この対策として本学科では臨床実習前に客観的臨床能力試験（Objective Structured Clinical Examination；OSCE）を実施し、一定の基準を満たした学生を臨床実習に参加させている。このため学生にとって OSCE 受験は精神的なストレスとなり、試験時に過度の緊張をする学生では事前のトレーニングの成果を発揮できない場合もある。我々はこれまでの研究で安静時と OSCE 前後のバイオマーカーの変化から学生の緊張度合いを推測できることを報告してきた⁴⁾。緊張度合いを他覚的、客観的に捉えることができれば、緊張をしやすい学生に対しては事前に緊張緩和法を施行することで、トレーニングにて修得した技術や対応方法を十分に発揮できるようになり、就職活動での面接対応などにも応用することができ、有効であると考え。現在、様々な緊張緩和法が提唱されているが、その効果には個人差があると考えられる。しかし、効果検証をする方法は確立していない。緊張に関係する生理学的指標（ストレスバイオマーカー）を確立し、それを解析することで、個別に適切な緊張緩和法を選択することも可能となる。

本稿では、これまで本学科で同一の課題で実施してきた OSCE の受験学生から収集したストレスバイオマーカーの分析で得られた知見をもとに、

OSCE の課題を変更した条件下でも各指標の変動が同様に認められ、さらに緊張の強度や時間的推移が他覚的に推測できる可能性を報告する。また、ストレスバイオマーカーを用いた緊張緩和法の効果検証法についても考察したので報告する。

Ⅱ. 対象と方法

1. 対 象

本研究では、精神的ストレス負荷下での測定を行う必要があり、本学臨床工学科の学生活動の中では臨床実習の条件となる OSCE 受験時が緊張する機会と考えられ、また対象者に統一された条件で精神的ストレスが負荷されることから、この受験学生を対象とした。被験者は 2023 年度の OSCE 受験者にフライヤーを用いて案内をして、本研究の目的および内容を同意説明書に基づき書面と口頭で説明して同意が得られた 7 名（男性 5 名、女性 2 名）で、年齢は 20～21 歳であった。被験者は以下 A～G で示す。なお、本研究は北海道科学大学保健医療学部倫理審査委員会の承認（承認番号 第 622 号）を得て実施した。

2. 方 法

(1) 使用機器

心電図（ECC）測定は、ECG Explorer 500X（三栄メディシス製）を使用し、安静閉眼仰臥位で双極四肢誘導にて、1 回あたりの測定時間は 2 分間として記録した。この心電図測定システムを採用することで、心電図測定と同時に心拍変動から各種自律神経系指標を自動的に分析し、周波数領域パラメータや時間領域パラメータなどのデータ取得ができる。期外収縮は心拍変動に影響を与えるため、正常洞調律の心電図のみを測定データとして記録した。血圧は上腕式血圧計 HEM-7130-HP（オムロン社製）で測定した。

また、客観的項目として唾液アミラーゼを検討している文献²⁾もあることから、NIPRO 社製唾液アミラーゼモニタと専用チップを用いて測定した。

(2) 測定条件

心電図(ECC)の測定プロトコールについて図 1 に示す。被験者をベッドに仰臥位にさせ四肢に電極を装着した直後に 2 分間の測定を行い、その後 2 分間のインターバルを置いたのちに 2 回目の測定を 2 分間、また 2 分間のインターバル後に 3 回目の測定を

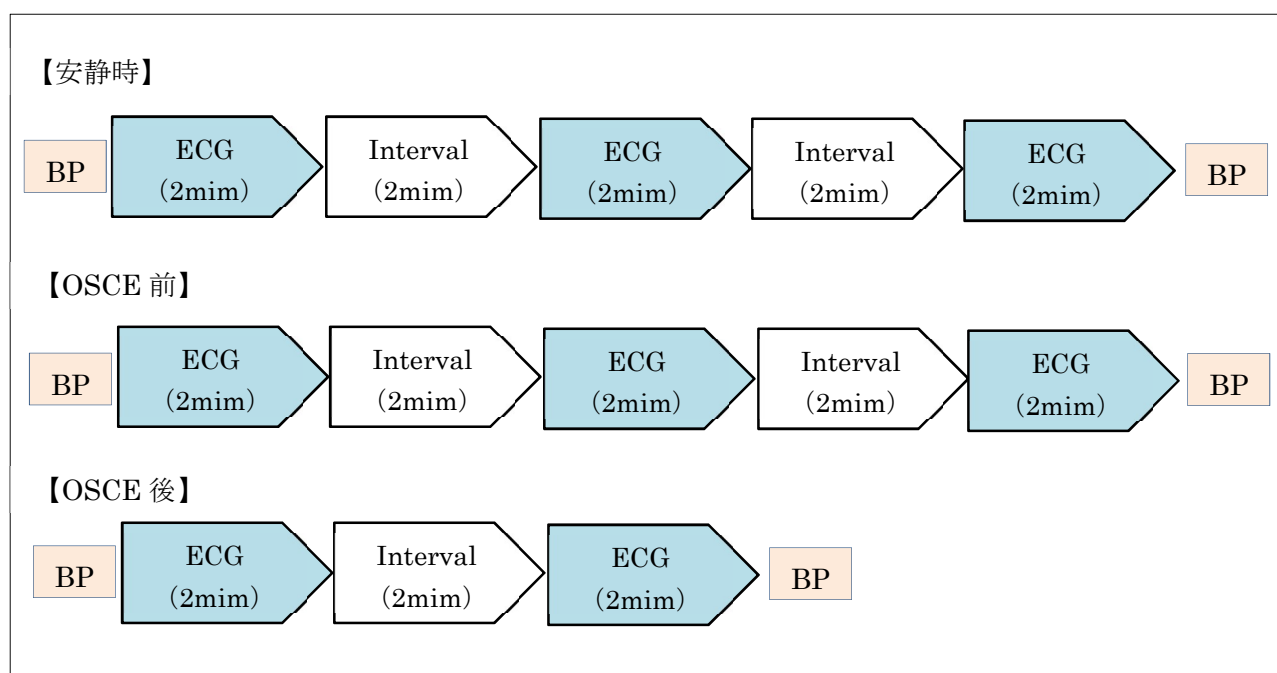


図 1 心電図の測定プロトコール

2 分間行った。被験者には自律神経に影響を与える可能性がある過度な運動は避け、測定 1 時間以内の飲食も控えることを指示した。OSCE 後の測定については、試験進行上、十分な測定時間が確保できないため 2 回目の心電図測定で終了とした。検討には安静時の 3 回目、OSCE 前後は 1 回目の測定データを使用した。検査中は閉眼、自然呼吸とし、測定担当者の被験者への会話も必要最小限とした。測定開始前とすべての測定の終了後に血圧測定(BP)を実施した。また、1 回目の心電図測定直後に唾液アミラーゼ測定も行った。

(3) OSCE の内容

本学科では患者接遇に関する内容の OSCE を実施している。学生には試験直前に課題が提示され、試験会場に入室すると指導者からの指示に従い、模擬患者（教員）に対してインフォームドコンセントと体調などの患者情報収集を 3 分 30 秒間で行うものである。その際に患者との良好なコミュニケーションをとることが求められる。

(4) 自律神経系指標

自律神経系指標として様々な指標が検討されているが、本研究では測定データとして得られる血圧と心拍数、および心拍変動の分析から得られる心電図の R-R 間隔の変動係数 (coefficient of variation of

R-R interval ; CVRR) を基礎的な項目とした。さらに心拍変動の周期性をスペクトル解析して得られる周波数領域パラメータとして、低周波数成分 (low frequency : LF) , 高周波数成分 (high frequency : HF) , LF/HF, 時間領域パラメータとして pNN(ratios of the difference between RR intervals) を対象として検討した⁵⁾。周波数領域パラメータの解析は簡便で一般によく用いられているものであるが、データ欠損やアーチファクトによる変動に影響を受け、周期的変動以外の要因については分析をすることはできない。一方、時間領域パラメータの解析ではさまざまな要因による心拍変動のゆらぎをトータルに捉えることはできるが、それぞれの変動成分を分類することはできない。以上のことから、周波数領域解析と時間領域解析を併せて行うことが必要と考えた。

以下に各項目の詳細を示す。

- ・ 血圧 (blood pressure ; BP) : 上腕にて収縮期血圧と拡張期血圧を測定した。血圧は最も重要な生体変数とされており、ストレス負荷により上昇する。
- ・ 心拍数 (heart rate ; HR) : 心臓迷走神経 (副交感神経) と交感神経の作用により変動する。交感神経活性化により増加し、心臓迷走神経活性化により減少する。

表 1 被験者の各パラメータ

	sex	安静時				OSCE 前				OSCE 後			
		HF	LF/HF	pNN10	HR	HF	LF/HF	pNN10	HR	HF	LF/HF	pNN10	HR
A	M	688	1.44	70.2	65	162	2.40	76.0	76	142	1.50	36.3	89
B	M	5175	0.12	89.4	71	217	1.20	42.2	99	195	0.70	57.1	104
C	M	6849	0.33	90.3	61	134	1.29	51.7	86	89	1.13	47.9	94
D	F	2170	0.14	70.4	70	1020	0.41	71.1	79	450	0.45	59.3	90
E	M	922	0.33	89.6	70	272	1.16	59.3	88	130	0.76	37.7	91
F	M	1472	0.26	90.2	56	2465	0.87	90.4	74	3350	0.35	89.8	74
G	F	2143	0.46	91.9	74	153	1.11	42.9	90	334	0.60	73.5	82
average		2774	0.40	84.6	67	632	1.20	61.9	85	670	0.80	57.4	89

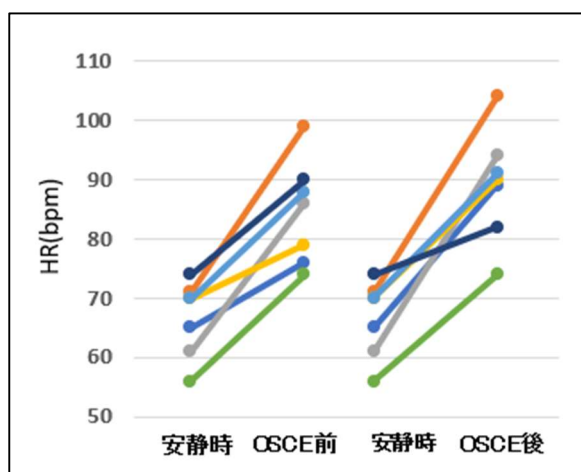


図 2 OSCE による心拍数の変化

- 心拍変動 (CVRR) : 心拍ごとの RR 間隔の変化をとらえたもので, CVRR は心拍変動の時間領域の指標として, 2 分間の心拍変動の変動係数 (CV) を表したものである。
- LF : 心拍変動の周波数領域の指標で低周波 (0.04~0.15 Hz) 成分である。血圧に対する圧受容体反射による心拍制御で, 心臓迷走神経と交感神経の両者が関与している。
- HF : 心拍変動の周波数領域の指標で高周波 (0.15~0.40 Hz) 成分である。呼吸による胸腔内圧の変化と呼吸中枢からの刺激による心拍変動で, 副交感神経のみが関与しているが, 副交感神経活動の指標として用いる場合は, 呼吸の周期性や深さが一定であることが前提となる。
- LF/HF : LF は交感神経と副交感神経の両者が関与しているため, それを副交感神経のみが関与している HF で除することにより, 相対的な

交感神経の活動を反映すると考えられている。ただし, 副交感神経活動が抑制された状況下では LF と HF の両者ともに低下するため, その比である LF/HF は不安定となり, 交感神経の指標として客観性は低下する。

- pNN (%) : 隣接する R-R 間隔の差の比率を表したものである。R-R 間隔の差が 10 msec 以上の心拍の比率であれば pNN 10 と表示する。

(5) アンケート

被験者の主観的データとして, OSCE 前の心電図測定直前と OSCE 後の測定直後にアンケートも実施した。測定前のアンケート内容は前夜と当日朝の【緊張度合い】, 測定後のアンケート内容は【OSCE 中の緊張度合い】, 【実技の自己評価】として, それぞれ 4 段階の選択肢を設定した。

III. 結 果

被験者の主なパラメータの結果を表 1 に示す。

心拍数はストレス負荷により, 交感神経活動が亢進し, 速やかに上昇することが明らかとなっているパラメータである。図 2 に示す通り, 各被験者の心拍数は安静時に比べ OSCE 前および OSCE 後に上昇しており, Wilcoxon の順位和検定にていずれも有意差が認められた ($p < 0.05$)。この OSCE は学生にとっては臨床実習に参加するために合格しなければならない試験と設定しているので, 試験日当日の朝から緊張し, 試験後もその緊張が継続していると考えられる。しかし, 心拍数の増加率や OSCE 前と OSCE 後の心拍数変化には個人差があり, 個々の学生の緊張度については心拍数のみでは判断できない。

心拍変動に関するパラメータでは一般的には LF/HF が交感神経活動と関係をするといわれているが、心拍数との相関関係は認められなかった。前述の通り、LF/HF は副交感神経活動が抑制されている場合は交感神経の指標としては安定性が低下することから、副交感神経が抑制されて心拍数が上昇した場合で LF/HF との相関性が低下した影響であると考えられる。一方で副交感神経活動を反映する HF を検討する場合では、得られた HF 測定値はパワーの絶対値を示すので、統計検定をするためには対数化が必要がある³⁾。対数化した HF と心拍数の関係について Spearman の順位相関係数を求めると負の相関関係が認められた ($r=0.78$, $P<0.05$)。以上の結果から、交感神経の活性化については心拍数増加で、副交感神経活動の抑制については HF の対数値を確認することで緊張を把握できることが示唆された。

これまでの研究結果から、副交感神経活動を示す pNN パターンは副交感神経活動の抑制を鋭敏に反映していると考えているが、本研究でも同様に被験者ごとに pNN パターンの変化を検討した。pNN では隣接する R-R 間隔の差によってパターンが決定されるが、pNN50 や pNN60 の割合(%)が高いということは副交感神経活動が活性化され、心拍変動が大きいことを示している。一方で pNN50 や pNN60 のパターンが消失することは副交感神経活動が抑制され、心拍変動も抑制されていることを示す。また、pNN10 のデータは隣接する R-R 間隔が 10 msec 以上ある心拍変動の割合を示しており、副交感神経活動が抑制された場合では R-R 間隔の変動は少なくなり、心拍は規則通りとなり pNN10 は低下する。以上のことから、pNN パターンの消失は副交感神経活動の抑制を示す。本研究で得られた pNN データでは 3 種類のパターンが確認できた。

各被験者の pNN パターンを確認すると被験者 D では OSCE 前・後でも安静時とほぼ同様のパターンであり、OSCE 受験によっても副交感神経活動は変化なかったことを示している(図 3)。被験者 B では安静時に比べ、OSCE 前のパターンは抑制され、pNN10 は 50%ほど低下し、pNN40 から pNN60 ではほぼ完全に消失しており、この傾向は OSCE 後まで継続していた。この被験者では OSCE 前から副交感神経活動が抑制されており、OSCE 後まで継続していたことを示している(図 4)。

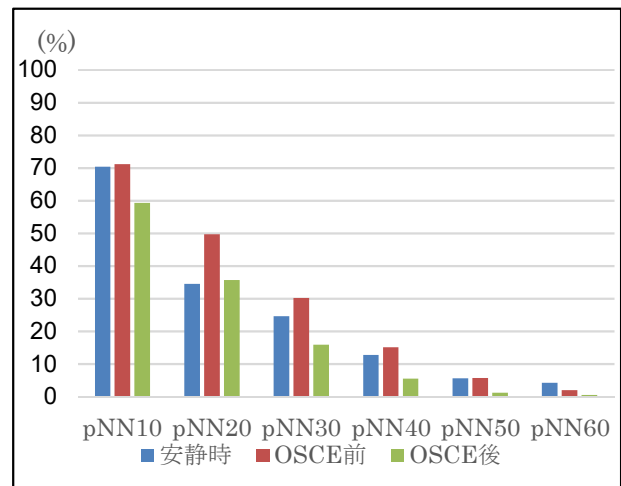


図 3 被験者 D の pNN パターン

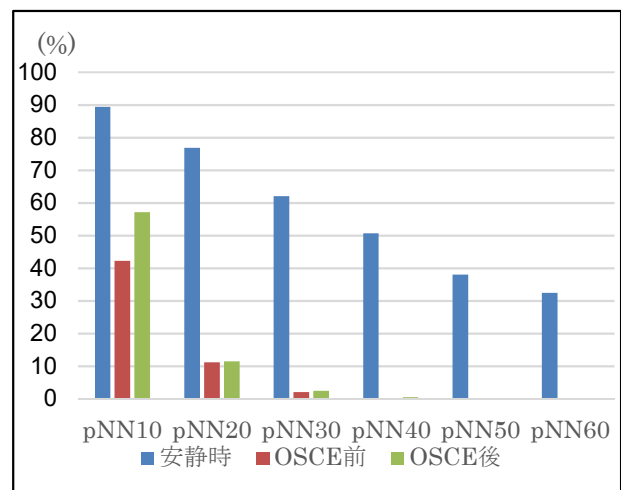


図 4 被験者 B の pNN パターン

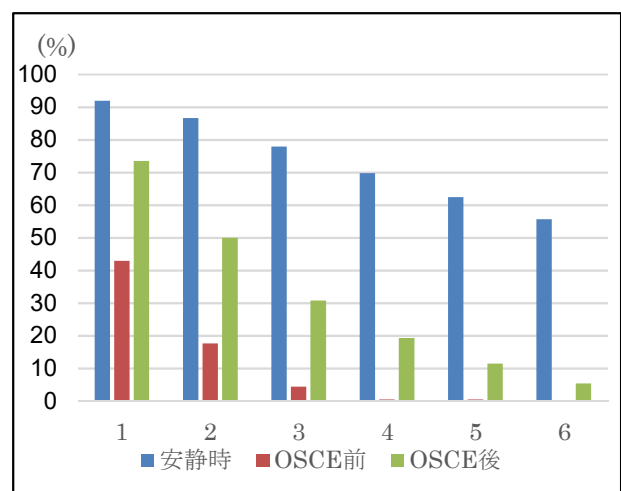


図 5 被験者 G の pNN パターン

被験者 G では OSCE 前のパターンは被験者 B と同様に抑制をされているが、OSCE 後では安静時までのレベルまでではないがパターンが回復しており、OSCE 前までは副交感神経活動が抑制されていたが、OSCE 後では抑制が緩和されていることを示している（図 5）。これらの pNN パターンの変化を心拍数変動と比較してみると、被験者 D では OSCE 前後で心拍数は増加しているもののその変動は大きなものではない。一方で被験者 B では OSCE 前後で心拍数は著明な増加が認められ、また被験者 G でも OSCE 前で心拍数は増加したものの、OSCE 後には減少し、いずれの被験者も pNN での結果と矛盾はなかった。

以上のデータから、ストレス負荷により、交感神経活動の亢進と副交感神経活動の抑制が起こるが、心拍数と pNN パターンの確認により、被験者に起こる緊張を把握できることを示唆している。また、pNN パターンを判断することで緊張しているタイミングも推測できると考えている。

また、本研究で測定した唾液アミラーゼ測定の結果についてはストレスとの関係を見出すことはできなかった。唾液アミラーゼは職業性ストレスや過重労働、疲労蓄積のバイオマーカーとして活用されているが、ホルモンを介するアミラーゼ上昇の作用機序から、短期のストレス負荷を反映できない可能性がある⁴⁾。しかし、研究プロトコルによっては有用である可能性があるため、今後も継続して検討していきたい。

IV. 考 察

ホメオスタシスは様々な機能により成立しているので、生体の状態を単一の項目または少数の指標で推測することは困難である。個人がストレス負荷により感じる緊張も同様で、由来の異なる複数の指標を同時に測定して総合的に判断することが重要であると考えている。本研究で検討した心拍数や pNN は、それぞれ交感神経と副交感神経の活動を反映するバイオマーカーとして活用できることを確認できた。また、対数変換をした HF も副交感神経活動の指標として活用できる可能性があるが、胸腔内圧からのフィードバックで呼吸中枢が反応する心拍変動に由来するので、呼吸の周期性や深さがバイオマーカーとしての信頼性に関与することに注意しなければならない。一方で、これまで交感神経の指標として用いられていることが多い LF/HF については、LF の成分構成で 25%は交感神経

が関与し、50%は副交感神経が関与すること、HF 成分の 90%が副交感神経活動を反映していることから、LF/HF を算出するときに副交感神経の活動性が低下してしまうと交感神経活動の指標としての信頼性が低下すると報告されている⁶⁾。また、LF は交感神経活動の関与より圧反射機能の指標としてとらえるべきとの報告もある⁷⁾。OSCE 時の pNN データから考えると、ストレス負荷により副交感神経活動が抑制されている被験者がいるので、LF/HF を交感神経活動の指標として直接的に判断せず、参考値として取り扱うことも必要であると考ええる。

本研究の最終的な目標は緊張を他覚的に把握し、ストレスバイオマーカーを用いて緊張緩和法の効果判定をすることであるので、心拍数と時間領域パラメータの pNN を主たるストレスバイオマーカー項目とし、周波数領域パラメータの HF と LF/HF を補助的判定項目として判断し、実際に効果判定の手法を検討していきたい。すでに緊張緩和法の基礎的研究として規則的な呼吸法の導入を検討したが、これは就職面接などのストレス負荷時では自発的に呼吸を意識できる余裕はないので実用的ではない。また、OSCE によるストレス負荷においても試験実施前から緊張をしている学生がいることから、試験前に処置をすることにより緊張を緩和する方法が必要と考えた。先行研究で、出汁を摂取することで心拍数と交感神経指標が低下し、副交感神経指標は増加をするとの報告がある⁸⁾。出汁の自律神経に対する効果が確認できれば、緊張をしやすい学生が試験や面接などの直前に出汁を摂取することで、緊張を緩和するできる可能性がある。今後は、実用化を目指し、就職面接を想定して教員による模擬面接などで精神的ストレス負荷が生じる環境を設定し、緊張緩和法を実施した群と実施しない対照群にてストレスバイオマーカーの変動を確認していきたい。また、予備実験では模擬面接を繰り返すことで慣れにより緊張が緩和されることも確認しているので、この点についても研究内容に反映しプロトコルを検討していきたい。

V. 結 語

心拍数と心拍変動の分析により得られるバイオマーカーにより、ストレス負荷による緊張を他覚的、客観的に把握できる可能性がある。ストレスバイオマーカーは、就職面接などで緊張をする場面で個人に適した緊張緩和法を提供する研究に活用することができる。

著者の COI (conflict of interest)

本論文発表の内容に関連し、開示すべき COI は
ない。

- 参考文献
- Laurence Brunton (ed.): The Pharmacological Basis of Therapeutics. 12th Edition. McGraw Hill, pp. 178-179, (2011)
- 2) Berntson, G. G., Cacioppo, J. T., & Quigley, K. S. : Cardiac psychophysiology and autonomic space in humans: Empirical perspectives and conceptual implications , Psychological Bulletin, 114(2), pp. 296–322, (1993)
- 3) 三宅晋司, 他 : 商品開発・評価のための生理計測とデータ解析ノウハウ ～生理指標の特徴, 測り方, 実験計画, データの解釈・評価方法, 日本人間工学会 PIE 研究部会, pp. 51-78, (2017)
- 4) 印藤智一, 古谷大輔, 他 : 心拍変動を用いたバイオマーカーによる自律神経活動の評価について, 北海道科学大学研究紀要 (50), pp. 9-16, (2022)
- 5) Agnieszka Zygmunt , Jerzy Stanczyk : Methods of evaluation of autonomic nervous system function, Arch Med Sci, 6(1): 11–18, 2010.
- 6) George E Billman : The LF/HF ratio does not accurately measure cardiac sympatho-vagal balance, Frontiers in Physiology, 20 Feb (2013)
- 7) David S. Goldstein, et al. : Low-frequency power of heart rate variability is not a measure of cardiac sympathetic tone but may be a measure of modulation of cardiac autonomic outflows by baroreflexes , Experimental Physiology, 96(12), pp. 1255-1261(2011)
- 8) 山崎英恵 : 食品摂取と自律神経活動変化—気分状態の変化を捉える—, 日本調理科学会誌, 53 (5), pp. 301-309(2020)