

# 匂い刺激はストレスを緩和するか ——ニホンザルとヒトの比較を通して——

川上 清文<sup>(1)</sup> (kawakami @u-sacred-heart.ac.jp)

友永 雅己<sup>(2)</sup>・鈴木 樹理<sup>(2)</sup>

[<sup>(1)</sup> 聖心女子大学・<sup>(2)</sup> 京都大学霊長類研究所]

Do odor stimuli have a calming effect under stress situation?: Comparisons of Japanese infant monkeys and human infants  
Kiyobumi Kawakami<sup>(1)</sup>, Masaki Tomonaga<sup>(2)</sup>, Juri Suzuki<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> Department of Psychology, University of the Sacred Heart, Japan

<sup>(2)</sup> Primate Research Institute, Kyoto University, Japan

## Abstract

In human newborns, presentation of sounds and odors under stress situations had a calming effect on behavioral and cortisol responses (Kawakami et al., 1996, 1997). In newborns of Japanese macaques, white noise presentation had a calming effect on coded behavioral responses, and lavender odor presentation had a calming effect on cortisol responses (Kawakami et al., 2002). We presented artificial apple odor/artificial milk odor to newborn Japanese macaques in a stress situation. Both odors had no calming effects on behavioral and cortisol responses. The different effects of stimuli presentation under stress situation between human and macaques were discussed.

## Key words

odor stimuli, calming effect, stress situation, newborn Japanese macaques, human newborns

## 1. はじめに

ヒトの新生児がストレス条件下にある時、刺激呈示をすると、ストレスが緩和される (Kawakami, Takai-Kawakami, Kurihara, Shimizu, & Yanaihara, 1996; Kawakami, Takai-Kawakami, Okazaki, Kurihara, Shimizu, & Yanaihara, 1997)。Kawakami et al. (1996) は、新生児の採血場面でホワイトノイズや心音を呈示すると、泣きが減り、ストレス・ホルモンのコルチゾルも減少することを示した。また Kawakami et al. (1997) は、同じ場面で人工的なミルクの匂いと人工的なラベンダーの匂いを呈示する実験も行った。匂いの呈示は、コルチゾルの上昇は押さえるが、泣きは減らないことがわかった。Kawakami et al. (1996) は、以上の結果を「対象児たちの注意が刺激に向き、痛さを忘れたためではないか」と考察している。

おとな・若者・乳児のマカクを対象にしたストレスの研究は、これまでもなされてきている (Coe & Hall, 1996; Maestripieri, Hoffman, Fulks, & Gerald, 2008; Meyer & Bowman, 1972; Rowell & Hinde, 1963; Sackett, Bowman, Meyer, Tripp, & Grady, 1973; Shannon, Champoux, & Suomi, 1998; Smith & French, 1997; Young, Suomi, Harlow, & McKinney, 1973)。しかし、私たちはまだ、ヒト以外の霊長類の新生児期ストレスに関するデータをほとんど持っていない。Kawakami, Tomonaga, & Suzuki (2002) は、ニホンザルの新生児を対象として、上記のヒト新生児で行ったような

研究をした。すなわち、採血場面でホワイトノイズや人工的なラベンダーの匂いを呈示してみたのである。ホワイトノイズは泣きを減少させたが、コルチゾルには影響しなかった。ラベンダーは泣きには影響しなかったが、コルチゾルには多少影響を与えた。本研究の目的のひとつは、ラベンダー以外の匂いの影響を検討することである。ラベンダーよりもストレス緩和に効果的な匂いがあれば、動物福祉につながる可能性がある。

採血は研究に用いられる霊長類にとっても、年齢に関係なくストレスフルな処置である (Reinhardt & Reinhardt, 2000)。採血のストレスを緩和することは、極めて重要な意味を持つ。多くの研究者は、採血時間を短縮することでストレスの減少を目指したり、学習の強化を使うことでサルたちを採血に協力させたりしている (Reinhardt, 1991, 1996, 1997)。匂いの呈示が採血のストレスを緩和するのであれば、霊長類にとっても、また研究者にとっても有用であろう。

唾液中コルチゾルは、ヒトのストレスを計測する時、新生児でも (Francis, Walker, Raid-Fahmy, Hughes, Murphy, & Gray, 1987; Gunnar, Connors, & Isensee, 1989, Gunnar, Hertsgaard, Larson, & Rigatuso, 1992; Spangler, 1991; Spangler & Scheubeck, 1993; Takai-Kawakami, Kawakami, Shimizu, & Yanaihara, 1995)、また乳幼児でも使われている (Lewis & Ramsay, 1995; Lewis, Ramsay, & Kawakami, 1993)。これらの研究の結果は、唾液中コルチゾルが安定した、また信頼性の高い、ストレス指標であることを示している。霊長類でも、唾液中コルチゾルを使った研究がなされてきた。Boyce, Champoux, Suomi, & Gunnar (1995) は、ア

カゲザルのホルモンの日内変動を唾液中コルチゾルで示せることを明らかにした。Fuchs, Kirschbaum, Benisch, & Bieser (1997) は、リスザルの視床下部・下垂体・副腎皮質活動を調べる非侵襲的な指標となるとしている。Kutsukake, Ikeda, Honma, Teramoto, Mori, Hayasaka, Yamamoto, Ishida, & Yoshikawa (2009) は、チンパンジーの唾液中コルチゾルがステロイド・ホルモンの指標になることを示している。しかし、新生児のストレスと唾液中コルチゾルの関連を示したデータは見当たらない。Kawakami et al. (2002) は、ニホンザル新生児を対象として、唾液中コルチゾルと血中コルチゾルが相関することを示した。さらなるデータを得たい。

すなわち本研究の目的は、ラベンダーよりもストレス緩和に効果のある匂いがあるかどうか検討すること、ニホンザル新生児の唾液中コルチゾルのデータを追加することである。最終的には、ニホンザルとヒトにおける刺激呈示のストレス緩和と効果の比較について考察したい。

## 2. 方法

### 2.1 対象個体

京都大学霊長類研究所で生まれた、14頭のニホンザルの新生児（メス9、オス5）を対象にした。これまでの研究結果（Kawakami et al., 2002）から、性差はないと考え、変数とはしない。1回目の実験時の平均日齢は8.21日（ $SD = 3.58$ ）で、2回目は15.07日（ $SD = 3.91$ ）であった。1回目の実験時の平均体重は511.0g（ $SD = 62.82$ ）、2回目は556.93g（ $SD = 80.53$ ）であった。対象個体の飼育・管理、実験利用に関しては京都大学霊長類研究所のサル類の飼育管理および使用に関する指針（第2版）に準拠し、実験の計画は同研究所「霊長類を主とする実験動物の飼育と使用に関する委員会（通称「サル委員会」）」および京都大学動物実験委員会の了承を得た。

### 2.2 手続き

すべての実験は、京大霊長類研究所で行われた。この研究所では、原則として新生児は個別ケージ（幅0.9m、奥行き0.76m、高さ0.85m）で母親に育てられている。室温は20度から25度に保たれ、6時から18時まで人工照明が点灯されている。

Kawakami et al. (1996) の方法とは異なり、対象内計画を用いた。すなわち各対象は実験条件と統制条件で計2回実験を受けた。また唾液量の少なさを予想し、各条件で2回採血をした（最初の採血をストレスと考える）。

すべての手続きは、午前10時から正午までの間に行われた。実験時には各対象は実験室に運ばれたので他のサ

ルの影響はなく、ほぼ同一条件が保たれた。実験のプロトコルをFigure 1に示す。第1回の唾液サンプル（唾液A）が第1回の採血（採血A）の前に採取された。すべての採血は、1人の獣医によってなされた。対象は採血の後、実験台の上に実験者により保定された。第1回目の採血から20分後、第2回目の唾液サンプル採取（唾液B）と採血（採血B）が行われた。20分後としたのは、Lewis & Thomas (1990) や Lewis et al. (2003) のヒト乳児を対象にしたデータに基づく。実験時間中の様子は録画され、後の行動評定に用いられた。実験条件と統制条件は別の日に行われた。実験条件では、リンゴの匂いかミルクの匂いが呈示され、統制条件では何も呈示されなかった。リンゴの匂いを選んだのは、他の果物とは異なり、ほとんどのニホンザルがリンゴを好むからである。リンゴの匂いを呈示された群（メス2、オス5）を“リンゴ群”、ミルクの匂いを呈示された群（メス7）を“ミルク群”とよぶ。実験条件と統制条件の順番は、カウンターバランスされた。リンゴの匂い（C-64249）とヒトのミルクの匂い（LactoneC-12-D）は、どちらの匂いも（株）高砂香料で合成された。匂い溶液の入った瓶に吸い取り紙を浸し、鼻の前2-3cmの所に第1回目の採血の間、呈示した。

第1回採血時のビデオテープは、5秒毎に、対象の“表情”と“声”の2点から評定された。Lewis et al. (1993) ではヒトの乳児を対象として、“表情”は「大きくくずれている」から「まったく変化していない」までの4段階、“声”も「大声で泣いている」から「まったく泣いていない」の4段階で評定した。しかし、それはニホンザルでは不可能であった。そこで“表情”は変化したか（1）しなかったか（0）の2段階、“声”も出た（1）か出なかった（0）の2段階で評定した。

“表情”と“声”は、ほとんど連動するので、合計して5秒間の評定値とする。すべてのデータは、ヒトの新生児の行動評定を続けている2名の評定者が独立に評定した。最後の4回分の一致率は、92.2%であったので、第1筆者のデータを分析の対象とする。

すべての唾液サンプルは、脱脂綿を口に入れて採取した。脱脂綿は、15mlのポリプロピレン製遠心チューブ（グライナー [東京]）に入れられた。血液は1%（体積パーセント）の割合でヘパリンナトリウムが入った注射器によって採集された。唾液と血液はすぐに1000g、20分、4度Cで遠心分離された。その後、分離された唾液と血漿は-30度Cで保存された。唾液と血液のコルチゾル量はEIA（Enzyme Immunoassay：酵素免疫分析）で決定された。すべてのコルチゾルは、同時に分析された。分析間、および分析内の変動係数は、それぞれ低濃度で15.2～17.8%、高濃度で7.4～8.7%であった。基準用コルチゾルの試薬、過酸化コルチゾル、O-phenylenediamineはシグマ（東京）から購入された。コルチゾルの抗体はコスモバイオ（東京）から、マイクロプレートはグライナー（東京）から購入された。

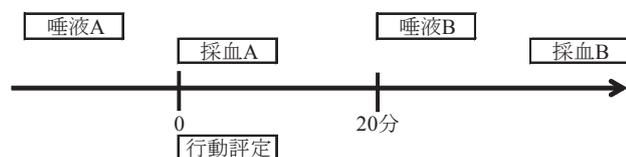


Figure 1: Protocol of the experiment

### 3. 結果

#### 3.1 行動評定

第1回血液採取の時間は対象により異なった [平均 8.68 (5 秒間隔数)、最小 2 ~ 最大 63] ので、5 秒間の平均値で比較する。リンゴ群とミルク群の平均値の比較をしたところ差がなかった [ $F(1, 26) = 1.66$ ] ので、両群を合同することにした。統制条件での行動評定値の平均は 0.96 ( $SD = 0.74$ )、実験条件では 1.06 ( $SD = 0.61$ ) であった。匂いを呈示した時の方が、むしろ少し評定値が高かった。しかし、繰り返しのある 1 元配置分散分析の結果、主効果は有意ではなかった [ $F(1, 13) = 0.35$ ]。

行動評定の結果をさらに分析するために、Kawakami et al. (2002) で用いた、行動評定がゼロ (すなわち、まったく泣いていない) の割合を算出してみた。統制条件では 62.1%、実験条件では 30.5% で、やはり匂い呈示の効果はなかった。というよりも匂い呈示条件の方が泣いていたといえる。

#### 3.2 コルチゾル反応

唾液中コルチゾルは、唾液量が少なく分析できなかった。またリンゴ群の 3 頭の血中コルチゾルも分析できなかった。統制条件と実験条件の第 1 回目の血中コルチゾルをひとまとめにし、リンゴ群とミルク群で比較してみると、両群には差がなかった [ $F(1, 20) = 2.36$ ]。そのため両群を合同して分析することにした。

Table 1 は、第 1 回目と 2 回目の血中コルチゾルの結果を示している (単位  $\mu\text{g}/\text{dl}$ 、カッコ内は  $SD$ )。条件 (統制と実験)、回数 (第 1 回と 2 回) とともに繰り返しのある 2 元配置分散分析の結果、条件の主効果は有意ではなかった [ $F(1, 10) = 0.70$ ]。回数の主効果は有意であった [ $F(1, 10) = 69.86, p < 0.001$ ]。すなわち、採血がコルチゾルを上昇させることは明らかであった。交互作用は有意でなかった [ $F(1, 10) = 1.37$ ]。

Table 1: The first and the second blood sampling cortisol levels in micrograms/deciliter in the two conditions

	Control	Experimental
First	4.99 (1.41)	4.81 (1.41)
Second	7.85 (2.47)	7.18 (1.69)

#### 3.3 行動評定とコルチゾルの相関

“泣き”の大きさとコルチゾルの増加に関連があるのか分析するために、相関係数を算出した。コルチゾル値は 2 つあるので、ストレス後からストレス前の値を引いた (いわゆるデルタ・コルチゾル値である)。正の有意傾向が認められた [ $r(22) = 0.36, p < 0.10$ ]。Figure 2 は、縦軸に行動評定値、横軸にデルタ・コルチゾル値をとったものである。外れ値を示したものを検討したが、理由はわからなかった。Lewis et al. (1993) が考察しているように、泣くことによりコルチゾルの上昇が抑えられる可能性もあり、

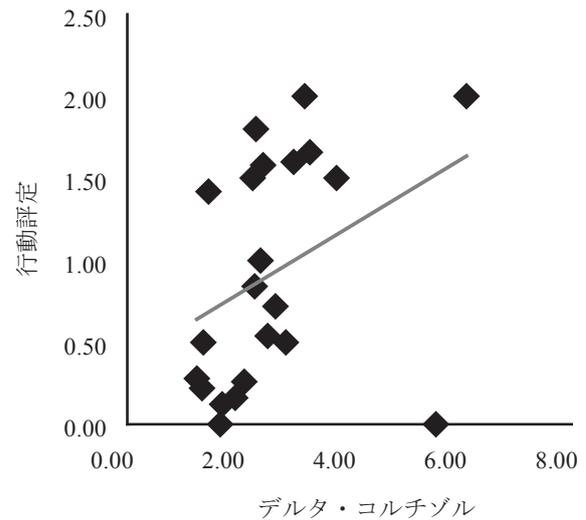


Figure 2: Relations between delta cortisol and behavioral coding

単純な関係ではない。

### 4. 考察

採血というストレス場面に“リンゴ”か“ミルク”の匂いを呈示するとストレスが緩和されるかどうか、実験した。私たちの先行研究で、“ラベンダー”の匂いを呈示するとコルチゾルの上昇が抑えられることを示した (Kawakami et al., 2002)。ほとんど同じ条件で実験したにもかかわらず、今回は呈示効果が見られなかった。なぜであろうか。

第 1 筆者は、ヒト新生児を対象にして、採血場面に“ラベンダー”と“ミルク”の匂いを呈示したことがある (Kawakami et al., 1997)。その時は、“ラベンダー”も“ミルク”もコルチゾルの上昇を抑えた。

サル新生児にとって嗅覚刺激は重要である (リスザル: Kaplan & Russell, 1974; Kapan, Cubicciotti, Redican, 1979; カニクイザル: Negayama & Honjo, 1986)。今回は、ヒトのミルクの匂いで、ニホンザルのミルクではなかったため効果が出なかったのかもしれない。また、リンゴも効果がなかった。方法の所で述べたように、ニホンザルはヒトのような細かい情動表出をしない。この点も、明確な結果が得られなかった一因であろう。Table 2 は、今回の結果を含め、これまでの私たちの研究結果をまとめたものである。ヒトに比べて、ニホンザルでは、顕著な傾向が出ないことがわかる。対象数の違いもあり、単純な比較は避けるべきであるが、興味ある点だと思われる。

第 1 筆者は、ヒトの新生児を対象として、採血時にホワイトノイズや心音を呈示すると、泣きもコルチゾルの上昇も抑えられることを示した (Kawakami et al., 1996)。そして、それは音の呈示が新生児たちの注意を惹きつけたからではないかと考えた。それを“アテンション仮説”と呼んでいる (川上・高井一川上, 2003)。匂いの中でラベンダーは、注意を惹きつけるのであろうか。

Figure 2 が示すように、泣きと血中コルチゾルは関連していた。コルチゾルは、やはりストレスの指標として、

Table 2: The summary of all results: comparisons between infant Japanese macaques and human infants

		Infant Japanese macaques	Human infants
White noise	Cortisol	-	***
	Behavior	**	***
Lavender	Cortisol	*	***
	Behavior	-	-
Milk	Cortisol	-	***
	Behavior	-	-
Apple	Cortisol	-	no data
	Behavior	-	no data

\*\*\* Significant effect, \*\* Significant effect partially, \* Conventional effect, - no effect

有用だといえる。ただし、今回、唾液中コルチゾルは、唾液量不足で分析できなかった。Kawakami et al. (2002) のデータでは、すべてではないが分析できた。Kawakami et al. (2002) の実験では、脱脂綿にレモネードの粉を含ませたが、今回はレモネードを使用しなかった。Schwartz, Granger, Susman, Gunnar, & Laird (1998) の研究でレモネードの粉の量がコルチゾルに影響する可能性が示されたからである。しかし、サル新生児を対象として唾液を分析するためには、レモネードを使用しなければ分析に必要な量の唾液を収集できず、コルチゾルへの影響の可能性を検討しつつ、レモネードを使用した方がよさそうである。

#### 付記

本研究は、2003～2008年度、京都大学霊長類研究所の共同利用研究として実施された。関係者の皆さんに感謝申し上げたい。また匂い刺激を提供して下さった（株）高砂香料と岡崎義郎氏にも。

本論文を作成している過程で、私たちの前の論文 (Kawakami et al., 2002) のデータの1部に誤りを見つけた。Fig. 1 と Fig. 3 の縦軸が2分の1になっていたのである。幸い結果に影響がなかったが、ここで訂正とお詫びを申し上げる。

#### 引用文献

- Boyce, W. T., Champoux, M., Suomi, S. J., & Gunnar, M. R. (1995). Salivary cortisol in nursery-reared rhesus monkeys: Reactivity to peer interactions and altered circadian activity. *Developmental Psychobiology*, 28, 257-267.
- Coe, C. L. & Hall, N. R. (1996). Psychological disturbance alters thymic and adrenal hormone secretion in a parallel but independent manner. *Psychoneuroendocrinology*, 21, 237-247.
- Francis, S. J., Walker, R. F., Riad-Fahmy, D., Hughes, D., Murphy, J. F., & Gray, O. P. (1987). Assessment of adrenocortical activity in term newborn infants using salivary cortisol determinations. *Journal of Pediatrics*, 111, 129-133.

- Fuchs, E., Kirschbaum, C., Benisch, D., & Bieser, A. (1997). Salivary cortisol: A non-invasive measure of hypothalamo-pituitary-adrenocortical activity in the squirrel monkey, *Saimiri sciureus*. *Laboratory Animals*, 31, 306-311.
- Gunnar, M. R., Connors, J., & Isensee, J. (1989). Lack of stability in neonatal adrenocortical reactivity because of rapid habituation of the adrenocortical response. *Developmental Psychobiology*, 22, 221-233.
- Gunnar, M. R., Hertsgaard, L., Larson, M., & Rigatuso, J. (1992). Cortisol and behavioral responses to repeated stressors in human newborn. *Developmental Psychobiology*, 24, 487-505.
- Kaplan, J. N., Cubicciotti, D., & Redican, W. K. (1979). Olfactory discrimination of squirrel monkey mothers by their infants. *Developmental Psychobiology*, 10, 447-453.
- Kaplan, J. N. & Russell, M. (1974). Olfactory recognition in the infant squirrel monkey. *Developmental Psychobiology*, 7, 15-19.
- 川上清文・高井一川上清子 (2003) 乳児のストレス緩和仮説—オリジナルティのある研究をめざして— 川島書店.
- Kawakami, K., Takai-Kawakami, K., Kurihara, H., Shimizu, Y., & Yanaihara, T. (1996). The effect of sounds on newborn infants under stress. *Infant Behavior & Development*, 19, 377-381.
- Kawakami, K., Takai-Kawakami, K., Okazaki, Y., Kurihara, H., Shimizu, Y., & Yanaihara, T. (1997). The effect of odors on human newborn infants under stress. *Infant Behavior & Development*, 20, 531-535.
- Kawakami, K., Tomonaga, M., & Suzuki, J. (2002). The calming effect of stimuli presentation on infant Japanese macaques (*Macaca fuscata*) under stress situation: A preliminary study. *Primates*, 43, 73-85.
- Kutsukake, K., Ikeda, K., Honma, S., Teramoto, M., Mori, Y., Hayasaka, I., Yamamoto, R., Ishida, T., & Yoshikawa, Y. (2009). Validation of salivary cortisol and testosterone assays in chimpanzees by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *American Journal of Primatology*, 71, 696-

- 706.
- Lewis, M. & Ramsay, D. S. (1995). Developmental change in infants' response to stress. *Child Development*, 66, 657-670.
- Lewis, M., Ramsay, D. S., & Kawakami, K. (1993). Differences between Japanese and Caucasian American infants in behavioral and cortisol response to inoculation. *Child Development*, 64, 1722-1731.
- Lewis, M. & Thomas, D. (1990). Cortisol release in infants in response to inoculation. *Child Development*, 61, 50-59.
- Maestripieri, D., Hoffman, C. L., Fulks, R. & Gerald, M. S. (2008). Plasma cortisol responses to stress in lactating and nonlactating female rhesus macaques. *Hormones and Behavior*, 53, 170-176.
- Meyer, J. S. & Bowman, R. E. (1972). Rearing experience, stress and adrenocorticosteroids in the rhesus monkey. *Physiology & Behavior*, 8, 339-343.
- Negayama, K. & Honjo, S. (1986) An experimental study on developmental changes of maternal discrimination of infants in crab-eating monkeys (*Macaca fascicularis*). *Developmental Psychobiology*, 19, 49-56.
- Reinhardt, V. (1991). Training adult male rhesus monkeys to activity cooperate during in-homecage venipuncture. *Animal Technology*, 42, 11-17.
- Reinhardt, V. (1996). Refining the blood collection procedure for macaques. *Laboratory Animals*, 25, 32-35.
- Reinhardt, V. (1997). Training nonhuman primates to cooperate during blood collection: A review. *Laboratory Primate Newsletter*, 36, 1-4.
- Reinhardt, V., & Reinhardt, A. (2000). Environmental enhancement for caged rhesus macaques: A photographic documentation and literature review. Animal Welfare Institute, Washington, D. C. ([http://www.awionline.org/Lab\\_animals/rhesus/photo.htm](http://www.awionline.org/Lab_animals/rhesus/photo.htm)).
- Rowell, T. E. & Hinde, R. A. (1963). Responses of rhesus monkeys to mildly stressful situation. *Animal Behavior*, 11, 235-243.
- Sackett, G. P., Bowman, R. E., Meyer, J. S., Tripp, R. L. & Grady, S. S. (1973). Adrenocortical and behavioral reactions by differentially raised rhesus monkeys. *Physiology & Psychology*, 1, 209-212.
- Schwartz, B., Granger, D. A., Susman, E. J., Gunnar, M. R., & Laird, B. (1998). Assessing salivary cortisol in studies of child development. *Child Development*, 69, 1503-1513.
- Shannon, C., Champoux, M. & Suomi, S. J. (1998). Rearing condition and plasma cortisol in rhesus monkey infants. *American Journal of Primatology*, 46, 311-321.
- Smith, T. E., & French, J. A. (1997). Psychosocial stress and urinary cortisol excretion in moamose monkeys (*Callithrix kuhli*). *Physiology & Behavior*, 62, 225-232.
- Spangler, G. (1991). The emergence of adrenocortical circadian function in newborns and infants and its relationship to sleep, feeding, and maternal adrenocortical activity. *Early Human Development*, 25, 197-208.
- Spangler, G. & Scheubeck, R. (1993). Behavioral organization in newborns and its relation to adrenocortical and cardiac activity. *Child Development*, 64, 622-633.
- Takai-Kawakami, K., Kawakami, K., Shimizu, Y. & Yanaihara, T. (1995). Cortisol and behavioral responses to stress in newborn infants. *Psychologia*, 38, 44-49.
- Young, L. D., Suomi, S. J., Harlow, H. F. & McKinney, W. T. (1973). Early stress and later response to separation in rhesus monkeys. *American Journal of Psychiatry*, 130, 400-405.

(受稿：2009年9月7日 受理：2009年9月19日)