

較したところ  $P=0.0067$ , オッズ比 $=0.42$ と高い有意差が示され、N408 アリルの存在と概日リズム障害の発症とは逆相関の関係にあると考えられた。

次に、S408N 多型と酵素活性との関係を調べた。野生型および S408N 多型を導入した CK1 $\epsilon$ を GST と融合させて大腸菌で発現させて精製し、 $\alpha$ -casein を基質にしてその酵素活性を *in vitro* で測定した。予測通り、S408N 多型を導入した CK1 $\epsilon$  は野生型に比べ、約 1.8 倍の高い酵素活性を示した (図 2)。また、時計蛋白 PER1, PER2, PER3 に対する酵素活性を調べたところ、やはり S408N 多型を導入した CK1 $\epsilon$  の方が高い酵素活性を示した (図 3)。

## 2. 培養細胞を用いた体内時計機能の測定システム

生体時計は視床下部の視交叉上核などの中枢のみならず、末梢組織や培養細胞にも存在することが判明してきた。末梢組織や培養細胞では持続的に自律性リズムを生み出すことはできないが、刺激を加えると時計遺伝子の発現量が数日間ほぼ24時間周期で増減を繰り返すなど、一過性に概日リズムを生み出す。また、時計遺伝子の変異マウスでは、行動リズムに異常を生じると同時に、そのマウスから得られた繊維芽細胞を培養して刺激を加えた場合、その細胞内での時計遺伝子の発現リズム周期も、行動リズムの異常と平行して変化を生じる。従って、培養細胞 (末梢時計) を用いて中枢にある体内時計 (中枢時計) の異常を調べることが可

能である。そこで我々は、既に Dexamethasone 刺激により概日リズム周期を観察できることが知られている Rat-1細胞を用いて体内時計の異常を調べる系を樹立した。

Rat-1 細胞の体内時計機能を観察するため、1,000,000 個の Rat-1 細胞を 35 mm ディッシュにまいた 24 時間後、レポータープラスミド pGL3-Bmal1P-PEST を導入し、48 時間後に 0.1  $\mu$ M の Dexamethasone で 2 時間刺激し、発光量の変化を測定した。

その結果、ほぼ一定の24時間周期で発光量が増減するのが観察された (図 4)。従って、このシステムにより体内時計機能を調べることができることが示された。

## D. 考察

### 1. CK1 $\epsilon$ の S408N 多型

CK1 $\epsilon$ は、最も近い構造を持つ CK1 $\epsilon$ と共に、自己リン酸化を受けると酵素活性が変化する。

*In vitro* では CK1 $\epsilon$ は高度に自己リン酸化されており、酵素活性の発現が阻害されている。Phosphatase による脱リン酸化や、自己リン酸化を受ける C 末端近くの配列の除去により、酵素活性は上昇する。S408 を含む C 末端近くの 8 個のアミノ酸が自己リン酸化を受ける標的部位ではないかと推測されている。従って 408 番目の serine が asparagine に変わる S408N 多型は自己リン酸化部位の一つを消失させ、酵素活性の一部を再活性化す

ると予測された。実際、自己リン酸化部位と推測される全 8 個のアミノ酸すべてを置換した CK1ε では、野生型 CK1ε と比較して酵素活性が約 8 倍と大きく増加することが報告されているが、S408N 多型のみを導入した GST-CK1ε を使った我々の実験では、約 1.8 倍と中等度の酵素活性の増加が認められた。

また、CK1ε の S408N 多型は、時計蛋白である PER1, PER2, PER3 蛋白のいずれにたいしても野生型 CK1ε と比較して高い酵素活性を示した。その中で、特に PER3 蛋白に対する酵素活性が最も大きく変化していた (図 3)。PER3 蛋白のリン酸化に変化を生じると予測される多型が DSPS 発症の危険因子であることを考えると大変興味深い。PER3 蛋白が十分リン酸化されるには PER1 蛋白の並存が必要との報告もあり、その解釈には注意が必要である。

ハムスターの CK1ε 遺伝子に *tau* 変異があると酵素活性は約 8 分の一へと大きく減少し、半優性遺伝する概日リズム周期の短縮を招く。一方で今回我々が見出した S408N 多型による酵素活性の増加は約 1.8 倍に過ぎず、そのため、概日リズム障害の発症率が約半分になるという、有意ではあるがより軽度の表現型の変化をもたらすのではないかと思われる。

## 2. 培養細胞を用いた体内時計機能の測定

Rat-1 細胞は既に Dexamethasone 刺激等により数日間、概日リズム周期を示すことが報告されているが、今回の結果も

それを確認するものとなった。このことは、Rat-1 細胞を使って、簡便に体内時計機能を調べることができることを示している。今後は、ヒト由来の培養細胞で同様の現象を示すものがないか調べ、ヒトの体内時計機能を簡便に調べられるシステムの開発へと結びつける予定である。

この研究は以下の研究者との共同研究である。

埼玉医科大学精神医学教室；豊嶋良一、山内俊雄  
国立精神神経センター；高橋清久  
同・精神保健研究所；内山真、渋井佳代  
同・国府台病院；亀井雄一  
同・武蔵病院；梶村尚史、加藤昌明、渡辺剛、堀達  
滋賀医科大学精神医学教室；尾関祐二、山田尚登、大川匡子  
名古屋大学医学部精神医学教室；尾崎紀夫  
藤田保健衛生大学精神医学教室；北島剛司  
財団法人神経研究所；井上雄一  
秋田大学精神医学教室；三島和夫  
杏林大学医学部精神科；中島亨  
大阪大学蛋白質研究所；高野敦子、橋本谷祐輝、磯島康史、永井克也  
(順不同)

## E. 結論

我々は、CK1ε から、概日リズム障害発症の防御因子と考えられる新たな多型 S408N を見出した。S408N 多型は CK1ε の

自己リン酸化の低下を通じて酵素活性の上昇をもたらし、これが概日リズムの発症を抑えるのではないかと考えられた。また、体内時計の異常を簡便に詳しく調べる系を Rat-1 細胞を用いて確立した。今後、ヒトの体内時計異常を調べること

のできるシステムへと発展させる予定である。

#### F. 健康危険情報

なし

	* . **																												
											N ↑																		
Human CK I $\epsilon$	T	G	R	Q	E	V	S	R	I	P	A	S	Q	T	S	-	-	-	-	-	-	V	P	F	D	H	L	G	K
Hamster CK I $\epsilon$	T	G	R	Q	E	V	S	R	I	E	A	S	Q	T	S	-	-	-	-	-	-	V	P	F	D	H	L	G	K
Mouse CK I $\epsilon$	T	G	R	Q	E	V	S	R	L	A	A	S	Q	T	S	-	-	-	-	-	-	V	P	F	D	H	L	G	K
Rat CK I $\epsilon$	T	G	R	Q	E	V	S	R	I	A	A	S	Q	T	S	-	-	-	-	-	-	V	P	F	D	H	L	G	K
Xenopus CK I $\epsilon$	T	G	R	Q	E	V	S	R	I	E	A	S	Q	T	S	-	-	-	-	-	-	V	P	F	D	H	L	G	K
Human CK I $\delta$	T	G	R	Q	D	T	S	R	M	S	T	S	Q	H	S	-	-	-	-	-	-	I	P	F	E	H	H	G	K
Rat CK I $\delta$	T	G	R	Q	D	T	S	R	M	S	T	S	Q	R	S	R	D	M	A	S	L	L	H	A	A	R	Q	G	A

図1. 各種脊椎動物 CK I $\epsilon$  のアミノ酸配列の比較

\*は自己リン酸化部位と推測されているアミノ酸

矢印は S408N 多型の位置

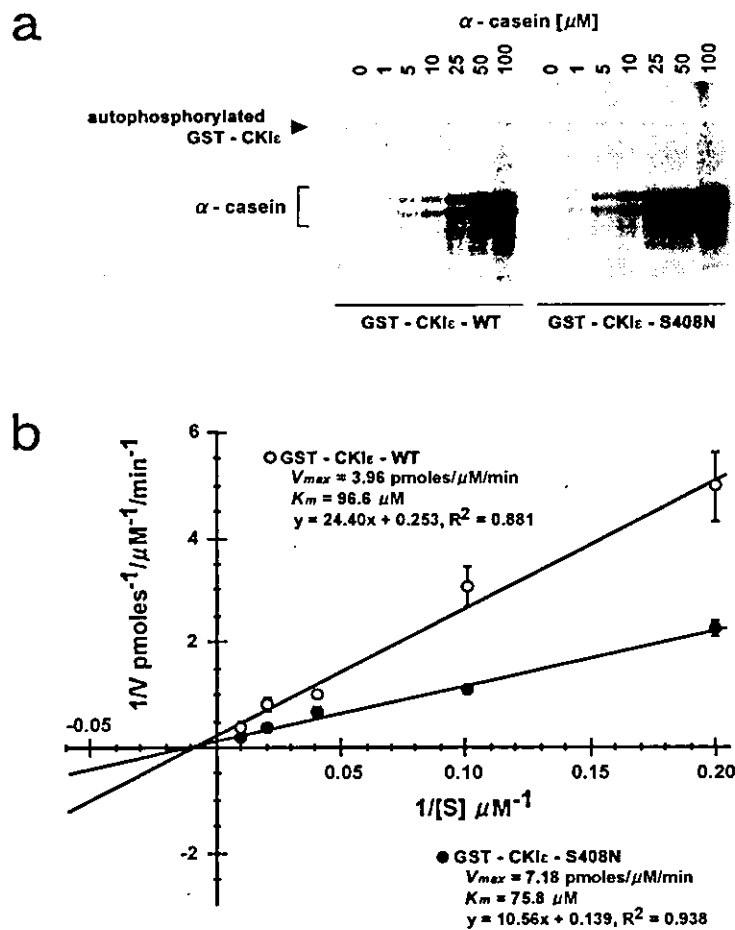


図2.  $\alpha$ -casein を基質にした CK I $\epsilon$  蛋白の酵素反応速度の比較

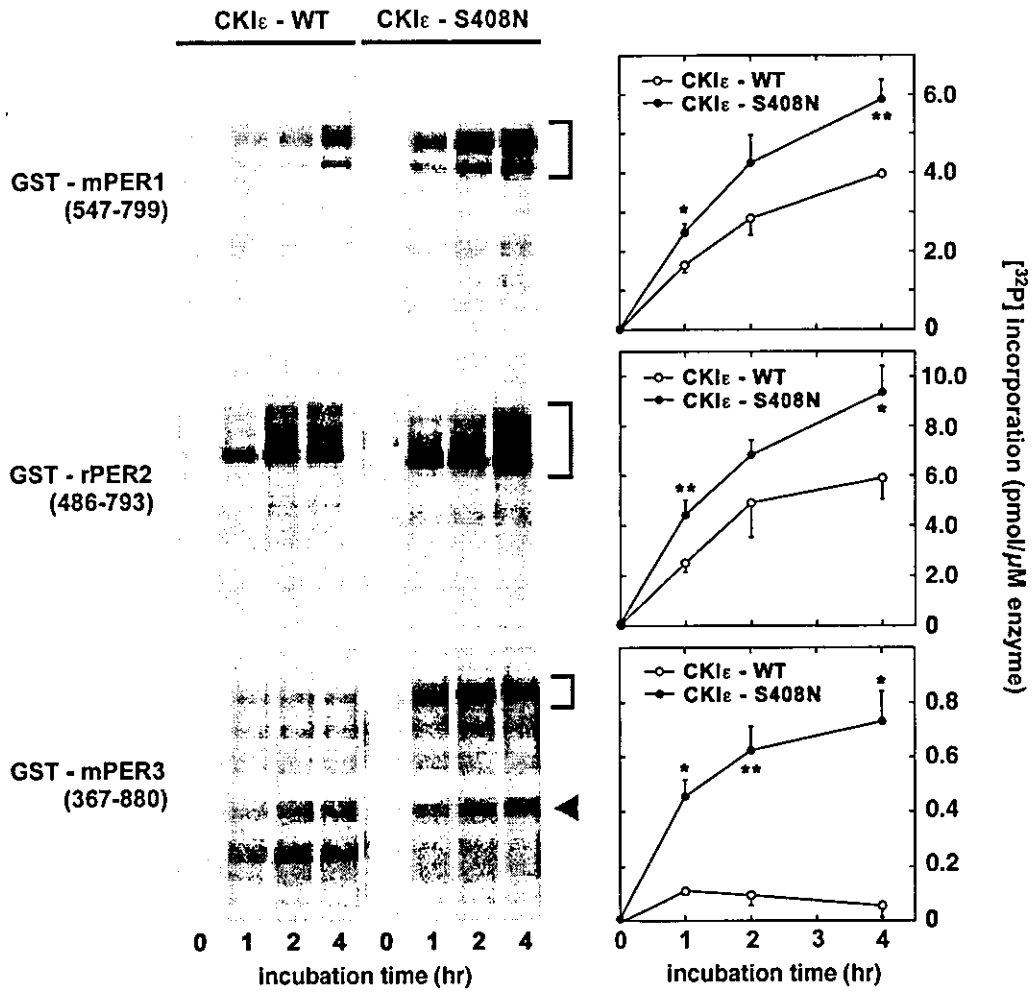


図3. PER 蛋白を基質にした、CK1 $\epsilon$ 蛋白の酵素活性の *in vitro* 測定

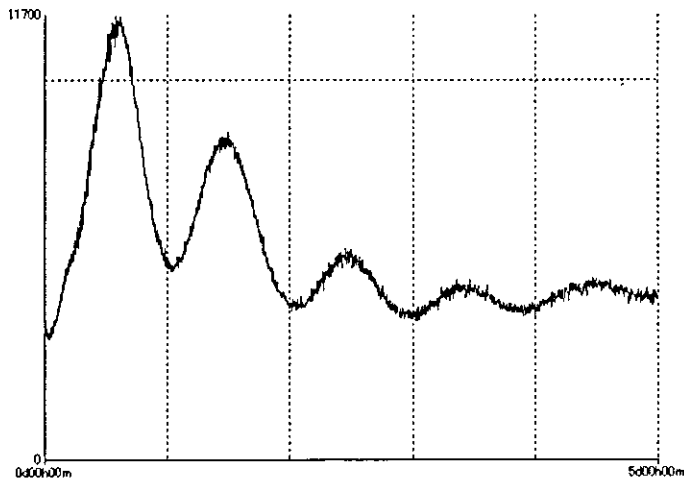


図 4. ヒト Bmal1 プロモーターを連結させた luciferase による、Rat-1 細胞での生物発光量の変化

## G. 研究発表

### 論文発表

- a) Takano A, Uchiyama U, Kajimura N, Mishima K, Inoue Y, Kamei Y, Kitajima T, Shibui K, Katoh M, Watanabe T, Hashimotodani Y, Nakajima T, Ozeki Y, Hori T, Yamada N, Toyoshima R, Ozaki N, Okawa M, Nagai K, Takahashi K, Isojima Y, Yamauchi T, and Ebisawa T. A missense variation in human casein kinase I epsilon gene that induces functional alteration and shows an inverse association with circadian rhythm sleep disorders. *Neuropsychopharmacology* 29, 1901-1909, 2004.
- b) 海老澤尚、睡眠障害と遺伝子、*Modern Physician*, 25(1)、41-46、2005.
- c) 海老澤尚、ヒト体内時計の分子機構、*Current Therapy*, 22(7)、84-85、2004. 26)  
海老澤尚、睡眠覚醒リズム障害関連遺伝子と時間医学、*分子精神医学*、4(2)、14-20(126-132)、2004.
- d) 海老澤尚、バイオインフォマティクスによる概日時計の分子機構の解明、*現代医療*、36(5)、135-140(1129-1134)、2004.
- e) 海老澤尚、遺伝子からみた睡眠障害(「睡眠障害」樋口輝彦、不安・抑うつ臨床研究会 編著)、117-130、日本評論社、東京、2004.

- a) 高野敦子、内山真、梶村尚史、三島和夫、井上雄一、豊嶋良一、尾崎紀夫、大川匡子、高橋清久、磯島康文、海老澤尚(2004年11月11-12日) ヒト Casein Kinase I epsilon 遺伝子の機能的多型と概日リズム睡眠障害との相関、第11回日本時間生物学会、滋賀
- b) Takano A, Uchiyama U, Kajimura N, Mishima K, Inoue Y, Kamei Y, Kitajima T, Shibui K, Katoh M, Watanabe T, Hashimotodani Y, Nakajima T, Ozeki Y, Hori T, Yamada N, Toyoshima R, Ozaki N, Okawa M, Nagai K, Takahashi K, Isojima Y, Yamauchi T, Ebisawa T. Sequence variations in human casein kinase I epsilon gene and circadian rhythm sleep disorders. XIIth World Congress on Psychiatric Genetics, Dublin, Ireland, 2004. 10.9-10.13.
- c) 海老澤尚、概日リズム睡眠障害と時計遺伝子、第29回日本睡眠学会学術集会シンポジウム「概日リズムと疾患」、東京、2004年7月1日.
- d) 海老澤尚、リチウムと体内時計、第24回リチウム研究会、東京、2004年4月24日(教育講演).

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)  
なし

## 2. 学会発表

## ヒトの朝型夜型指向性を規定する要因に関する分子遺伝学的研究

分担研究者 三島 和夫

秋田大学医学部 神経運動器学講座 精神医学分野助教授

研究要旨 健常成人（第一次調査対象者）及びその血縁および非血縁同居家族を対象として、朝型夜型指向性に及ぼす遺伝的要因および環境的要因に関する分子遺伝学調査を進めた。本年度は第一次調査対象である健常成人 1030 人（平均年齢 36.0 歳, 18 - 77 歳）及びその同居家族 848 名（平均年齢 42.3 歳, 5 - 97 歳）について Horne-Ostoberg スコア表, Pittsburg Sleep Quality Index, CES-D スケール(Center for Epidemiological Studies Depression Scale)による朝型夜型指向性, 睡眠状態, 気分に関する質問紙調査を行い, 第一次調査対象者からゲノム検索用の血液検体を採取した。

### A. 研究目的

ヒト概日リズム制御機能に影響を及ぼす可能性のある遺伝子多型／遺伝子変異についての知見が蓄積されつつある。ヒトの朝型夜型指向性を部分的にせよ規定する可能性のある遺伝子多型についても報告されている。我々も昨年度に、集団の階層化のリスクが相対的に低い日本人の健常成人 421 名を対象として、時計遺伝子システムの中核コンポーネント分子である *hClock* (*Homo sapiens clock homolog*) の 3'-flanking region に存在する 3111T/C 多型とヒト朝型夜型指向性との関連について検討した結果、3111C homozygotes がその他の遺伝子型保有者に比較して Horne-Ostoberg の朝型夜型スコアが有意に低値であり、夜型指向性の感受性を増大させている可能性について

報告した。当然ながら、朝型夜型指向性は単一の遺伝子により規定されるものではない。明暗環境下での同調位相に影響する  $\tau$  を規定する複数の時計遺伝子、光感受性を規定する遺伝子群、睡眠の開始と維持に関連する数多くの遺伝子群など、多様な遺伝子群がそれぞれに朝型夜型指向性に影響を及ぼしているものと推測される。これらの朝型夜型指向性に影響を及ぼす可能性のある候補遺伝子群の多型解析および組み合わせ解析を進める必要がある。さらに、朝型夜型指向性は加齢・性差のほか、職業や同居家族などの環境要因の影響を受けることが示唆されている。そこで本研究では、ヒトの朝型夜型指向性の形成における遺伝および環境要因の寄与を明らかにするため、健常一般成人（第一次調査対象者）及びその血縁



および非血縁同居家族を対象として、朝型夜型指向性、睡眠状態、気分水準、生活同調因子の共有度に関する調査を行うとともに、第一次調査対象からゲノム検索用の血液検体を採取した。なお、本研究は秋田大学医学部倫理委員会の審査を通過している。

## B. 研究対象と方法

研究への同意が得られた第一次調査対象者 1030 人（平均年齢 36.0 歳，18 - 77 歳，M/F = 309/721）及びその同居家族 848 名（平均年齢 42.3 歳，5 - 97 歳，M/F = 458/390）を対象とした。朝型夜型指向性の指標として Horne 及び Ostoberg による Morningness- Eveningness Questionnaire (MEQ) を、睡眠状態評価の指標として Pittsburg Sleep Quality Index (PSQI) を、気分状態評価の指標として CES-D (Center for Epidemiological Studies Depression) スコアを用いた。同時に、第一次調査対象者の同居家族に対して、第一次調査対象者との生活同調因子の共有度に関する質問紙調査を施行した。

## C. 研究結果と考察

1) 本研究での対象者における MEQ スコアのヒストグラムを図 1 に示す。1878 名全体での ME スコアは平均  $53.5 \pm 0.22$  (SEM) 点、範囲 21 - 82 点の正規分布を示した。

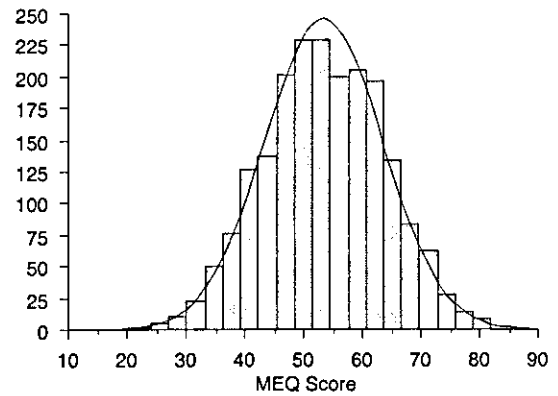


図 1：MEQ スコアの正規分布（横軸がスコアを、縦軸が度数を示す）

2) 本研究での対象者においても MEQ の一般的な特徴である加齢に伴うスコアの増加が認められた ( $r = 0.561$ ,  $p < 0.0001$ ) (図 2)。

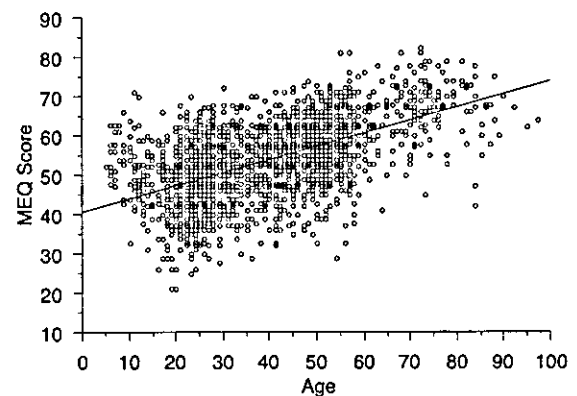


図 2：MEQ スコアと年齢との相関（横軸が年齢を、縦軸がスコアを示す）

3) MEQ スコアと PSQI から算出した就床時刻 ( $r = 0.634$ ,  $p < 0.0001$ ; 図 3)、起床時刻 ( $r = 0.542$ ,  $p < 0.0001$ ; 図 4) との間にはそれぞれ有意な相関が認められた。このことは、今回の研究対象となった被験者

の同調条件下での睡眠相を規定している概日リズム特性を予測するマーカーとして MEQ スコアが有用であることを示している。ただし、MEQ スコアと起床時刻との相関は就床時刻とのそれに比較して弱かった。これは MEQ スコアが低得点の（すなわち夜型指向性の強い）被験者の一部に極めて遅い起床時刻がみられたためである（図4）。

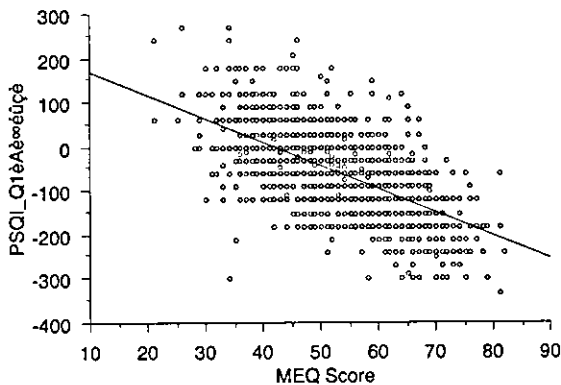


図3：MEQ スコアと就床時刻との相関（横軸がスコアを、縦軸が入眠時刻を示す。入眠時刻は午前0時を起点0分として算出した）

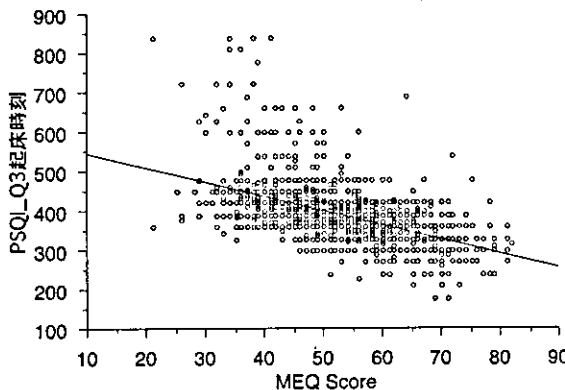


図4：MEQ スコアと起床時刻との相関（横軸がス

コアを、縦軸が入眠時刻を示す。起床時刻は午前0時を起点0分として算出した）

3) 対象者を ME スコアをもとに以下の5グループに分類した。

- Excessive Eveningness (EE) グループ：16 点以上 30 点以下
- Eveningness (E) グループ：31 点以上 41 点以下
- Neutral (N) グループ：42 点以上 58 点以下
- Morningness (M) グループ：59 点以上 69 点以下
- Excessive Morningness (MM) グループ：70 点以上 86 点以下

これら朝型夜型指向性を有する各群における就床時刻、起床時刻、総睡眠時間、睡眠効率、日中の眠気度を PSQI から算出し図5にまとめた。先に示したように、MM, M, N, E, EE 群と夜型指向性が強まるにつれて就床、起床時刻が遅れてゆくことが明瞭に示されている。ただし、就床時刻が朝型夜型指向性に準じて恣意的に決定できる一方で、起床時刻は出勤、登校などの社会活動による制約を受けている。その結果、夜型指向性が強まるにつれて総睡眠時間の短縮、睡眠効率の低下、さらには日中の眠気の増大や意欲低下指標が増大した。

4) 今回調査対象となった同居家族を第一次調査対象者との近縁度 Degree of Relative で分類すると以下のような

- ・ 遺伝子共有確率 1 (一卵性双生児): N = 0
- ・ 遺伝子共有確率 1/2 (実父母, 実子, 兄弟, 二卵性双生児): N = 455
- ・ 遺伝子共有確率 1/4 (祖父母, 叔父叔母, 甥姪, 孫): N = 45
- ・ 遺伝子共有確率 0 (夫妻, 義父母, 義兄弟, その他): N = 348

今後, 朝型夜型指向性の家族集積性, 遺伝的近縁度との関連性について検討を行う予定である.

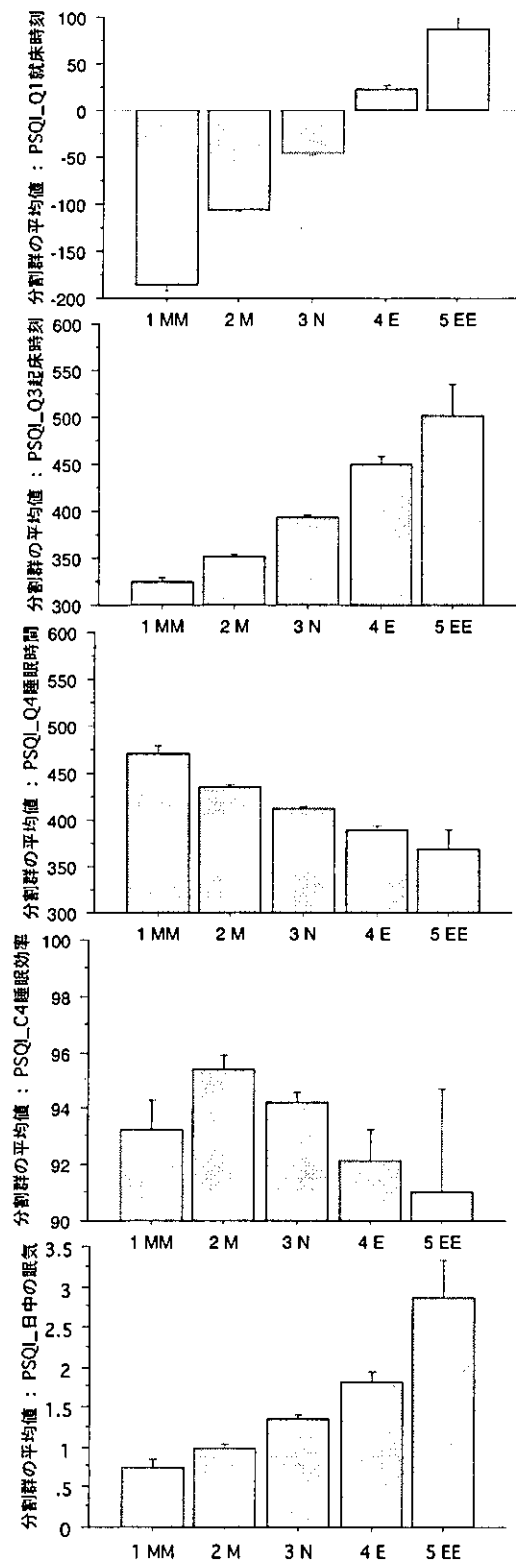


図 5: 上段から順に朝型夜型指向性 5 群における就床時刻, 起床時刻, 総睡眠時間, 睡眠効率, 日中の眠気度

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Mishima K, Tozawa T, Satoh K, et al. The 3111T/C polymorphism of hClock is associated with evening preference and delayed sleep timing in a Japanese population sample. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2005;133B:101-4.
- 2) Echizenya M, Mishima K, Satoh K, et al. Enhanced heat loss and age-related hypersensitivity to diazepam. *J Clin Psychopharmacol* 2004;24:639-46.
- 3) Arii J, Kanbayashi T, Tanabe Y, Mishima K, et al. CSF hypocretin-1 (orexin-A) levels in childhood narcolepsy and neurologic disorders. *Neurology* 2004;63:2440-2.
- 4) Kusanagi H, Mishima K, Satoh K, et al. Similar profiles in human period1 gene expression in peripheral mononuclear and polymorphonuclear cells. *Neurosci Lett* 2004;365:124-7.
- 5) Katoh T, Echizenya M, Maruyama F, Mishima K, et al. Diazepam-induced sedative effects follow the pattern of enhanced heat loss in humans. *Sleep and Biological Rhythms* 2004;2:220-5.
- 6) Takano A, Uchiyama M, Kajimura N, Mishima K, et al. A missense variation in human casein kinase I epsilon gene that induces functional alteration and shows an inverse association with circadian rhythm sleep disorders. *Neuropsychopharmacology* 2004;29:1901-

9.

- 7) 三島和夫. 高齢者で問題となりやすい睡眠障害. *最新医学* 2004;59:90-97.
- 8) 三島和夫. 痴呆に合併した睡眠障害に対する薬物療法を行う際の留意点. *脳* 21 2004;7:73-79.
- 9) 三島和夫. メラトニンと睡眠調節. *カレントセラピー* 2004;22:85-6.
- 10) 三島和夫. 睡眠覚醒の制御と加齢. *日本医事新報* 2004;No. 4190:6-14.
- 11) 三島和夫. 加齢に伴う睡眠障害と精神医学 —アルツハイマー病の睡眠・行動障害に薬物療法が有効であるというエビデンスはあるのか?—. *精神神経学雑誌* 2004;106:950-956.
- 12) 三島和夫, 高齢者の睡眠障害. In 樋口輝彦・不安抑うつ臨床研究会編, *睡眠障害*, 日本評論社, 東京, 2004, pp. 98-116.
- 13) Nishino S, Mishima K, Mignot E, et al., Sedative-Hypnotics. In A.F. Schatzberg and C.B. Nemeroff (Eds.), *Textbook of Psychopharmacology -3<sup>rd</sup> edition-*, American Psychiatric Publishing Inc., Washington, DC, 2004, pp. 651-670.

### 2. 学会発表

- 1) 三島和夫, シンポジウム：痴呆・せん妄に伴う睡眠障害のマネジメント —薬物療法と非薬物療法の現状と問題点—, 平成16年度厚生労働省精神・神経疾患研究委託費 第14回合同シンポジウム, 東京, 2004年12月.

- 2) 三島和夫, シンポジウム：光療法の臨床応用が始まって20年－現状と今後の課題－：高齢者の概日リズム障害に対する光照射療法と問題点, 第11回日本時間生物学会, 滋賀, 2004年11月.
- 3) Takano A, Uchiyama M, Kajimura N, Mishima K, et al., Sequence variations in human casein kinase I epsilon gene and circadian rhythm sleep disorders, XIIth World Congress on Psychiatric Genetics, Dublin, Ireland, 2004年10月.
- 4) Mishima K, The 311T/C polymorphism of hClock Is associated with evening preference and delayed sleep timing in a Japanese population sample, XIIth World Congress on Psychiatric Genetics, Dublin, Ireland, 2004年10月.
- 5) Mishima K, Similar profiles in human Period1 gene expression in peripheral mononuclear and polymorphonuclear cells, XIIth World Congress on Psychiatric Genetics, Dublin, Ireland, 2004年10月.
- 6) Mishima K, Symposium: Sleep deterioration with aging as a life-style disease: Potential of chronotherapy for better sleep-waking in the elderly, 17th European Sleep Research Society, Prague, Czech, 2004年10月.
- 7) 草薙宏明, 三島和夫, 佐藤浩徳, et al., ヒト末梢単核球および多核球でのhPer1転写リズム, 日本睡眠学会第29回定期学術集会, 東京, 2004年7月.
- 8) 三島和夫, シンポジウム：睡眠の加齢変化と生物時計機能 - 従来型モデルの問題点 -, 日本睡眠学会第29回定期学術集会, 東京, 2004年7月.
- 9) 佐藤浩徳, 三島和夫, 銀谷 翠, et al., イミプラミンが全身痛及び睡眠障害に対して用量依存的に効果的であった繊維筋痛症の一例, 日本睡眠学会第29回定期学術集会, 東京, 2004年7月.
- 10) 戸澤琢磨, 三島和夫, 佐藤浩徳, et al., 生物時計位相に対する睡眠のタイミングには加齢変化が生じない - その臨床的意義 -, 日本睡眠学会第29回定期学術集会, 東京, 2004年7月.
- 11) 加藤倫紀, 三島和夫, 越前屋勝, et al., Diazepamによる高次脳機能の抑制効果は放熱過程と近似した推移を辿る, 日本睡眠学会第29回定期学術集会, 東京, 2004年7月.
- 12) 越前屋勝, 三島和夫, 佐藤浩徳, et al., ベンゾジアゼピン感受性の加齢変化, 日本睡眠学会第29回定期学術集会, 東京, 2004年7月.

H. 知的財産権の出願・登録状況  
特になし。

厚生労働科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）

平成16年度 研究報告書

ヒト睡眠・覚醒リズム障害の疫学的研究

分担研究者： 角谷 寛 京都大学大学院医学研究科 先端領域融合医学研究機構 特任助教授、科学技術振興機構 さきがけ研究員、Kyoto Sleep and Health Cohort Study Group

（共同研究者 中山幸代，南一成，竹上未紗，森田智史，岡靖哲，角謙介，高橋憲一，中村敬哉，陳和夫，谷口充孝，堀田佐知子，新井香奈子，若村智子，福原俊一、土谷佳樹、西田栄介）

研究要旨

職域を対象として、睡眠障害及び睡眠に影響を与えると考えられる疾患の有病割合を調査したところ、睡眠障害の頻度が従来考えられていたよりも高く、特に睡眠呼吸障害は休業のリスクを増している可能性があることが明らかになった。

A. 研究目的

睡眠に関連した健康問題が、近年重要視されつつある。しかし、日本では多くの睡眠障害において、有病割合は明らかにされていない。また、健康関連 QOL の低下を含め、睡眠障害がもたらす影響はほとんど報告されていないのが現状である。

そこで、睡眠時無呼吸症候群とともに、頻度の高い睡眠異常であるむずむず脚症候群(RLS: Restless Legs Syndrome)・周期性四肢運動障害・季節性感情障害・概日リズム睡眠障害等の睡眠障害および睡眠に影響を与うる疾患として精神疾患・慢性閉塞性肺疾患 (COPD) などについて調査し、睡眠障害が健康関連 QOL・睡眠の質・健康を理由とした休業などにもたらす影響を明らかにする。そして、アウトカムとして、睡眠障害がもたらす影響を個人レベル及び社会レベルにおいて明らかにすることが本研究 (KSHS: Kyoto Sleep and Health Cohort Study) の目的で

ある。

また、概日リズムの末梢における同調機構を解明するために、マウスを用いた研究も実施している。

B. 研究方法

大阪府下に散在する某企業の支店・営業部に勤務している、主に 20~60 歳の男性 210 人を対象として、睡眠と健康の縦断的調査を実施した。その際に、質問票だけでなく、呼吸器内科・神経内科・睡眠の専門医による診察、ならびに、簡易睡眠 PSG (睡眠呼吸障害モニター)・行動量モニター装置などによる睡眠検査も施行した。精神神経科的疾患に関しては DMS-IV に基づいた構造面接(SCID: Structured Clinical Interview for DMS-IV axis I Disorders)により診断した。スパイロメトリーによる一秒率 (FEV<sub>1</sub>/FVC) が 70%未満を慢性閉塞性肺疾患(COPD)と診断した。

同時に包括的健康関連 QOL(SF-36)お

よび睡眠の質 (PSQI) に関する質問紙、また、3 年間の交通事故の頻度と回数・過去 1 年の健康を理由とした休業の有無および回数を調査した。

#### (倫理面への配慮)

京都大学大学院医学研究科・医学部 医の倫理委員会に申請し、承認された内容に従って、対象者より書面によるインフォームドコンセントを得て調査研究を実施している。プライバシーの保護のために個人を特定可能なデータは、NPO 法人 (iHOPE) に管理を委託し、データ解析担当者に渡していない。動物実験に関しては、京都大学大学院医学研究科・医学部動物実験委員会に申請し承認された内容にしたがって研究を実施している。

#### C. 研究結果

対象者の背景を表 1 に示す。平均年齢は  $43.8 \pm 8.44$  歳、全て男性を対象としている。閉塞性睡眠時無呼吸症候群は睡眠呼吸障害の中核をなし、また、最も頻度の高い睡眠障害である。睡眠呼吸障害に眠気などの症状を伴えば睡眠時無呼吸症候群と診断できる。この集団において中程度以上の睡眠呼吸障害の頻度は 30%であった (表 2)。この頻度は昨年 の米国及び豪州の疫学調査のデータに近く (図 1)、人種間で大きな頻度の差がない可能性を示唆している。また、むずむず脚症候群は 7.6%、概日リズム睡眠障害及び季節性感情障害は各 3.8% および 1.4% に認められた。また、大うつ病性障害の有病割合は 0% で生涯有病率 (調査時点までの経験率) は 6.7% であった。有病割合は精神病性障害 0%、摂食障害 0%、不安障害 3.3%、COPD は 7.2% であった。

睡眠呼吸障害と休業の関係を解析するために、説明変数を睡眠呼吸障害の重症度、アウトカム変数を病気による休業の有無とし、調整因子を年齢・BMI・慢性疾患の有無とした、ロジスティック回帰分析を行った。その結果、重症の睡眠呼吸障害は、睡眠呼吸障害のないものと比べて、休業のオッズ比が  $8.04(95\%CI: 1.19-54.5)$  と有意に上昇していることが明らかとなった (図 2)。一方、現在眠気の質問紙として頻用されている ESS (エプワース眠気尺度) と睡眠呼吸障害の重症度は相関が認められなかった (図 3)。なお、QOL や交通事故の頻度などに対してどのような影響を与えるかを今後解析予定である。

また、末梢における時計遺伝子発現の同調機構を解析するために、培養細胞及びマウスを用いた研究も行った。その結果、プロスタグランジン E2 (PGE2) が末梢の概日リズムを同調できることを、マウス由来の培養細胞およびマウス個体における時計遺伝子発現の解析によって明らかにした。

#### D. 考察

睡眠呼吸障害やむずむず脚症候群の頻度は従来考えられていたよりも高頻度に認められた。一方、「日本の COPD に関する疫学研究 (NICE スタディ)」の 2001 年の結果、40 歳以上の COPD の罹患率は 8.5% と報告されており、COPD 罹患率は我々の結果に相当すると考えられる。したがって、この職域は無作為抽出された集団と著しく異なっていないと思われる。また、大うつ病性障害の生涯有病率 (調査時点までの経験率) も平成 14 年度厚生労働省科学研究補助金「ここ

ろの健康問題と対策基盤の実体に関する研究」の報告の値(6.5%)に近い。ただし、その報告は中国・九州地方における調査結果であり、今回の結果は本邦の大都市圏で構造面接を用いた調査による、大うつ病性障害の生涯有病率に関する初めての報告である。

睡眠時無呼吸症候群と肥満との関係が指摘されているが、今回の結果において、重症の睡眠呼吸障害はBMIが25以上の肥満者がほとんどであったが、肥満のないものにも中程度の睡眠呼吸障害が認められるものがあり(図4)、今後、精度の高い睡眠時無呼吸症候群のスクリーニング法の開発が待たれる。

睡眠に関連する複数の診療科・講座が有機的に連携することにより、多角的かつ総合的に日本人の職域における睡眠の詳細な調査を行っている(図5)。今後は対象者数を増やすとともに、それがどのようにアウトカムに繋がるのかを解析する必要がある。さらに、前向き追跡調査を行うことにより、合併症の発症や予後に関しても明らかに出来ると考えている。

## E. 結論

職域において睡眠時無呼吸症候群やむずむず脚症候群などを含む睡眠障害は高率に認められた。特に睡眠呼吸障害は休業のリスクとなっている可能性がある。今後のさらなる調査解析が必要である。

## F. 研究発表

### 1. 論文・総説

角谷寛: 先天異常における睡眠時無呼吸症候群の診断・治療. 上原記念生命科学財団研究報告集 17: 279-281, 2004.

H Kadotani, M Taniguchi, Y Takahashi, Y Inoue, Genetic approach to sleep-disordered breathing. *Sleep and Biological Rhythms* 2(Supple.1):S49, 2004.

Harada M, Taniguchi M, Ohi M, Nakai N, Okura M, Wakamura T, Tamura M, Kadotani H, Chin K: Acceptance and short-term tolerance of nasal continuous positive airway pressure therapy in elderly patients with obstructive sleep apnea. *Sleep and Biological Rhythms*. 2(1):53-56, 2004.

角谷寛: 高二酸化炭素・低酸素の自動制御によるマウス睡眠障害システム. 三共生命科学研究振興財団研究報告集 20:66-71, 2004.

角谷寛: オレキシンと睡眠. カレントセラピー 22(7):84, 2004.

Y Tsuchiya, I Minami, H Kadotani, E Nishida: Resetting of peripheral circadian clock by prostaglandin E2. *EMBO Report* 6(3):256-61, 2005.

角谷寛: 在宅での睡眠時呼吸障害に対する診断・治療システムの開発およびその応用. 医科学応用研究財団報告 22:39-41, 2005.

## 2. 学会発表

南一成, 竹川高志, 角谷寛: 高二酸化炭素・低酸素の自動制御によるマウス睡眠障害システム(睡眠時無呼吸症候群モデルマウス). 日本睡眠学会定期学術集会(第29回; 東京) 2004.

岡靖哲, 小池茂文, 山本勝徳, 角谷寛, 井上雄一. 腎不全患者における Restless Legs 症候群の背景因子の検討. 日本睡眠学会定期学術集会(第29回; 東京) 2004.

原田優人, 谷口充孝, 大井元晴, 中井直治, 大倉睦美, 若村智子, 堀田佐知子, 田



村仁孝, 角谷寛, 陳和夫, 竹上未紗, 福原俊一. 重症 OSAHS 患者に対するオート CPAP を用いた在宅導入法についての検討. 日本睡眠学会定期学術集会 (第 29 回; 東京) 2004.

堀田佐知子, 原田優人, 谷口充孝, 若村智子, 大倉睦美, 中井直治, 角谷寛, 陳和夫, 大井元晴. 高齢者群と若年・中年群の睡眠時無呼吸患者の nCPAP 治療前後の QOL の違い. 日本睡眠学会定期学術集会 (第 29 回; 東京) 2004.

南一成, 中山幸代, 角谷寛, 竹川高志. 高二酸化炭素・低酸素の自動制御システムを用いた睡眠時無呼吸症候群モデルマウス. 睡眠呼吸障害研究会 (第 33 回; 東京) 2004

Oka Y, Koike S, Inoue Y, Yamamoto K, Shibata M, Matsuda S, Miki R, Kadotani H. Restless Legs Syndrome and Periodic Limb Movements during Sleep among Hemodialysis Patients. アメリカ睡眠学会 ( APSS 18th Annual Meeting ; Philadelphia) 2004.

Koike S, Inoue Y, Kadotani H, Oka Y, Yamamoto K, Matsuda S, Shibata M, Miki R. Prevalence And Clinical Significance Of Sleep-Related Breathing Disorder In End Stage Renal Disease. アメリカ睡眠学会 ( APSS 18th Annual Meeting ; Philadelphia) 2004.

Minami I, Kadotani H. Regulation Of Sleep-Wake States In Response To Intermittent Hypercapnic Stimuli To Mouse Applied Only In Sleep. アメリカ睡眠学会 ( APSS 18th Annual Meeting ; Philadelphia) 2004.

Koike S, Inoue Y, Kadotani H, Oka Y, Yamamoto K, Matsuda S, Shibata M, Miki.

Are Sleep-Related Breathing Disorder In Hemodialysis Patients Mildest On The Dialysis Day? アメリカ睡眠学会 (APSS 18th Annual Meeting ; Philadelphia) 2004.

齊藤俊秀, 馬渡英夫, 澤野邦彦, 角谷寛. 重症心身障害児の睡眠時無呼吸の検討. 第 143 回日本小児科学会広島地方会. 2004

角谷寛, 中山幸代, 南一成, 竹上未紗, 森田智史, 福原俊一, 岡靖哲, 角謙介, 高橋憲一, 中村敬哉, 陳和夫, 堀田佐知子, 新井香奈子, 若村智子. 睡眠医療の諸専門領域の参加による睡眠健康コホート研究 \_京都睡眠と健康のコホート研究 (KSHC Study)\_. 不眠研究会 (第 20 回; 東京) 2004.

岡靖哲, 角谷登美子, 角谷寛. 乳幼児における Restless legs 症候群の臨床所見. 不眠研究会 (第 20 回; 東京) 2004.

角谷寛, 若村智子, 堀田佐知子, 中山幸代, 南一成, 岡靖哲, 陳和夫, 谷口充孝, 福原俊一, KSHC Study Group. 睡眠医療の諸専門領域の参加による睡眠健康コホート研究 (京都睡眠と健康のコホート研究) \_睡眠を中心とした生活時間について\_. 日本時間生物学会 (第 11 回: 滋賀) 2004.

土谷佳樹, 南一成, 角谷寛, 西田栄介. プロスタグランジン E2 による哺乳類概日リズムの同調. 日本分子生物学会 (第 27 回: 神戸) 2004.

角谷寛, 竹上未紗, 森田智史, 中山幸代, 南一成, 岡靖哲, 角謙介, 高橋憲一, 中村敬哉, 陳和夫, 若村智子, 堀田佐知子, 新井香奈子, 谷口充孝, 福原俊一 for the Kyoto Sleep and Health Cohort Study (KSHS) Group. 睡眠障害の有病割合と睡眠障害がもたらす影響: -京都睡眠と健

康のコホート研究 Kyoto Sleep and Health Cohort Study(KSHS). 日本疫学会 (第15回: 滋賀) 2005.

H Kadotani. Kyoto Sleep and Health Cohort Study (KSHS) -Ongoing Multidisciplinary Sleep Epidemiological Study-. 3rd East Asia Sleep Respiration Forum (台北、台湾) 2005.

Y Oka, T Kadotani, H Kadotani. Usefulness of video behavior recording in the diagnosis of restless legs syndrome in small children. 9th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders (New Orleans) 2005.

### 3. その他

角谷寛: 光の照度不足は季節性感情障害を引き起こす. 月刊健 33(1):10-11,2004

角谷寛: 睡眠障害とは～その診断と治療～. 快適な睡眠のための健康講座(日本看護協会委託事業: 長岡京). 2004

角谷寛: 睡眠時無呼吸症候群マウスモデル実験系について. 文教ニュース 1811:11-12,2005

## G. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得 (出願)

睡眠障害実験システム. 特願 2004-162469

レストレスレッグス症候群・周期性四肢運動障害モデル動物. 特願 2004-162468

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

表 1. 対象者 (n=210) の背景

年齢	43.8±8.43 yrs	(23-59)
Male	100%	
身長	171±5.83cm	(155-185)
体重	70.7±10.6kg	(47.5-109)
BMI	24.3±3.13kg/m <sup>2</sup>	(17.2-32.9)

表 2. 睡眠呼吸障害 (n=150)

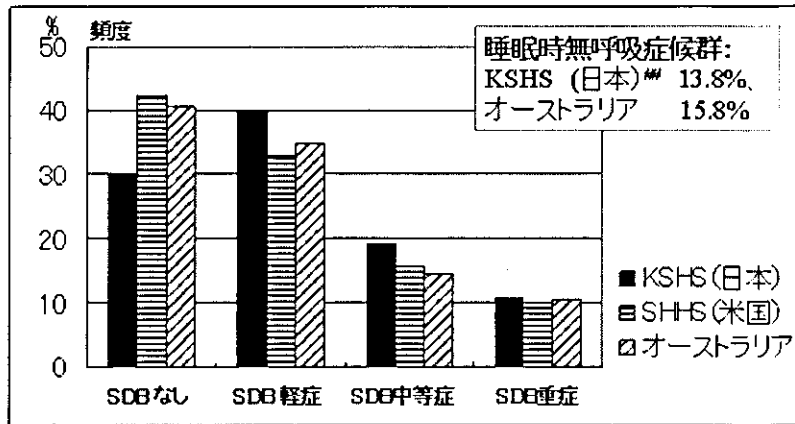
正常 (AHI<5)	45 人	(30.0%)
軽症(5_AHI<15)	60 人	(40.0%)
中等症(15_AHI<30)	29 人	(19.3%)
重症(30_AHI)	16 人	(10.7%)

AHI: Apnea Hypopnea Index (無呼吸低呼吸指数: 睡眠 1 時間あたりの無呼吸・低呼吸の回数)

表 3. 睡眠・リズム障害などの頻度 (n=209-210)

むずむず脚症候群	確定:16 人(7.6%)	疑い:17 人(8.1%)
ナルコレプシー	確定:0 人(0%)	疑い:3 人 (1.4%)
概日リズム睡眠障害	確定:8 人(3.8%)	
季節性感情障害	確定:3 人(1.4%)	軽症:10 人(4.8%)
大うつ病性障害	現病:0 人(0%)	既往:14 人(6.7%)
不安障害	現病:7 人(3.3%)	
精神病性障害	現病:0 人(0%)	
摂食障害	現病:0 人(0%)	
COPD	確定:15 人(7.2%)	

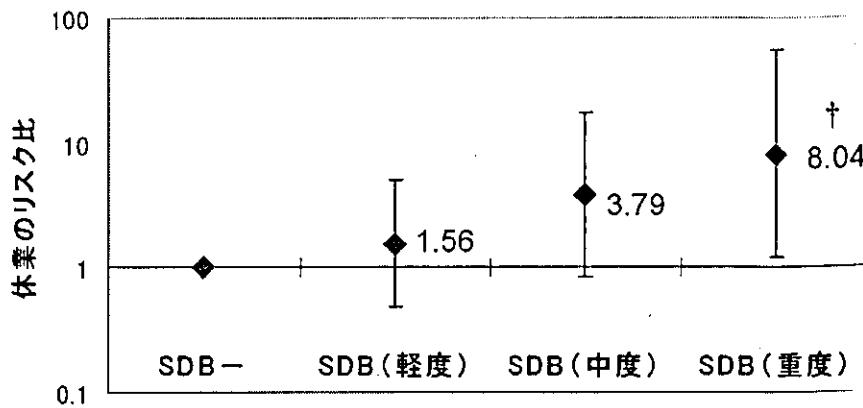
図 1. 睡眠呼吸障害頻度の国際比較



- ・KSHS(日本): 年齢43.7±8.5歳、n=150、male 100% (\*\*: n=102)
- ・SHHS(米国): 年齢62.9±10.8歳、n=3042、male 100%
- ・オーストラリア: 年齢47.8±9.3歳、n=161、male 99.4%

USA: Sleep. 2004, 27(2):305-11; Australia: Am J Respir Crit Care Med. 2004 1;170(9):1014-21.

図 2. 睡眠呼吸障害と病気による休業との関連 (n=102)



ロジスティック回帰分析:年齢、BMI、慢性疾患の有無で調整

† P=0.032