

神経機能その評価は、負荷前、負荷120分後（負荷終了後）、20分間休憩後、20分間+35分間（計55分間）休憩後の4回実施した（図2）。

また、足し算の反応時間、変動係数、精度については、120分間の負荷時間の中で、開始後6-10分間、61-65分間、116-120分間について算出するとともに、20分間休憩後と20分+35分（計55分）休憩後にも4分間のコンピューター化された一桁の足し算を4分間行い、精神作業疲労に伴う変化を解析した（図2）。

また、今回の評価実験は2日間連続で実施し、1日目と2日目の結果をとともに解析した。

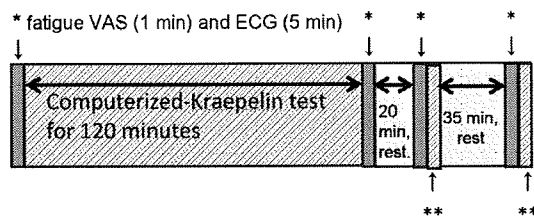


図2. コンピューター化された単純足し算による疲労誘発と疲労評価の時期と方法

* : VASによる主観的な疲労感、ECGによる自律神経機能その評価

** : 休憩後に4分間実施した一桁の足し算の反応時間、変動係数、精度の評価

（倫理面への配慮）

インフォームドコンセントを取るに当たり、厚生労働省のガイドラインに準拠した同意書を

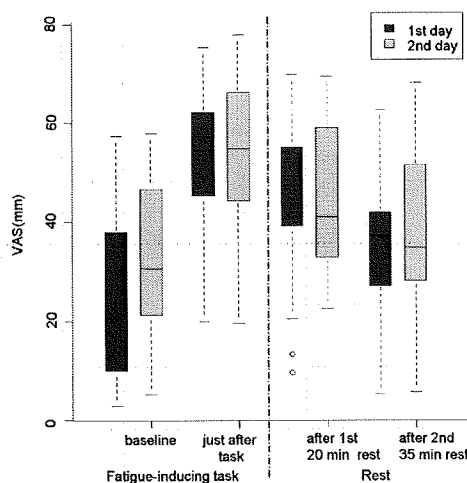


図3. 精神作業負荷とその後の休憩に伴う主観的な疲労感の変化

作成し、これに被験者の同意（未成年者は保護者の同意も取得）を得た。全ての研究の過程は関西福祉科学大学・倫理委員会の承認を得たプロトコールにしたがって行われた。

C. 研究結果

1. 精神作業負荷疲労時とその後の休息に伴う主観的な疲労感の変化

120分の精神作業負荷後にはVASで表した主観的な疲労感は統計学的に有意に上昇し、休憩後は減少した（type II MANOVA, $p < 0.001$ ）（図3）。

尚、2日間連続で実験を行なったため、2日目の試験開始前の主観的な疲労感は1日目と結果と比較して高まっている傾向がみられた（type II MANOVA, $p = 0.0547$ ）（図3）。

2. 精神作業負荷疲労時とその後の休息に伴う客観的な心身機能の低下状態の評価

i. 簡単な足し算の反応時間、変動係数、精度の変化

反応時間については、精神作業負荷に伴い統計学的に有意に上昇し、休憩後は減少した（type II MANOVA, $p < 0.005$ ）（図4）。

また、2日目の反応時間は1日目の結果と比較するとすべて上昇している傾向がみられた（type II MANOVA, $p = 0.093$ ）（図4）。

次に、変動係数については、1日目、2日目

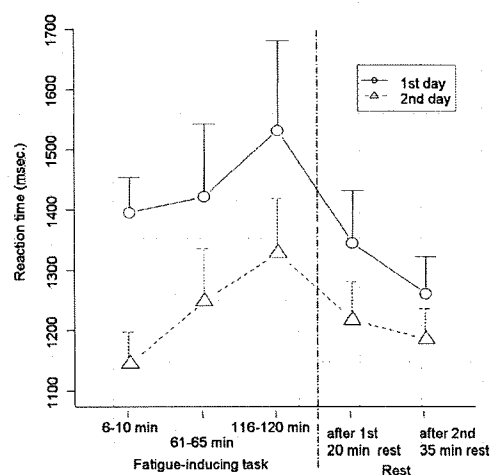


図4. 精神作業負荷とその後の休憩に伴う反応時間の変化

の結果はともに精神作業負荷に伴い統計学的に有意に上昇し、休憩後は減少した (type II MANOVA, $p < 0.001$) (図5)。しかし、2日間の相違については有意な差はみられなかった (type II MANOVA, $p = 0.549$) (図5)。

尚、回答の精度については、すべての回答の正答率が98-100%であり、精神作業負荷に伴う変化はみられなかった (図は省略)。

ii. 自律神経機能の変化について

心電図のR-R間隔の心拍変動解析を行ってLF (低周波成分: 0.04-0.15Hz) /HF (高周波成分 0.15-0.40Hz) の比を算出すると、交感神経系の活動/副交感神経系の活動の比率を把握することができ、自律神経機能解の1つの指標として汎用されている。

そこで、健常者の精神作業負荷疲労時におけるLF/HF比を検討したところ、図6に示すように精神作業負荷後に統計学的に有意に上昇し、休憩後は減少した (type II MANOVA, $p < 0.05$)。2日間の相違については有意な差はみられなかった (type II MANOVA, $p = 0.411$)。

D. 考察

内田クレッペリン試験は、ドイツの精神医学者クレッペリンの研究を参考に、1920年代に内田勇三郎によって開発された質問紙による検査であり、現在では一桁の数字が横に行列状に並

んでおり、縦にはその行列が30行記載されている試験紙を用いて検査が行われている。

被験者は、1行目の左端から順番に並んでいる数字の足し算を行い、その下1桁の回答を数字と数字の間に記載することを繰り返し、1分経ったところで次の行に移り2行目の左端から同じように足し算を行う。通常、15分間の計算を5分間の休憩を挟んで2回行い、一定の時間にどれだけの回数、どれだけの精度で行うことが出来るかを調べることにより、個人の能力や性格の特徴を明らかにする適性検査として汎用されている。

我々は、この検査を長時間被験者に行わせた場合には、精神的な負荷に伴う疲労感が増悪し、一定の時間に回答できる回数や精度が低下することに気付き、以前より紙ベースのクレッペリン試験を精神作業負荷の課題として行ってきた。しかし、この評価には試験後に解答用紙を1つ1つ丹念に判定する作業が必要であり、時間と量力を要することより、大きな作業負担となっていた。

そこで、山口、笹部らは判定を自動で行えるコンピューター化されたクレッペリン試験 (脳機能判定ソフト) を考案した。これは、前述のごとくコンピューターの画面上部に一桁の数字を2つ表示するとともに、その2つの数字を足し算することを示す数式 (+) を数字と数字の間に表示し、回答を画面下部に示した0から9までの10個の数字を選ぶものである (図1)。

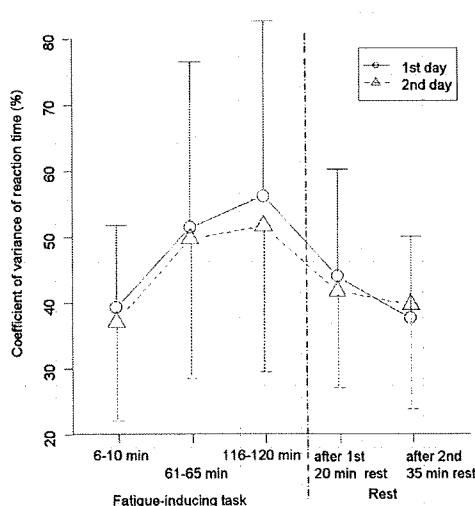


図5. 精神作業負荷とその後の休憩に伴う変動係数の変化

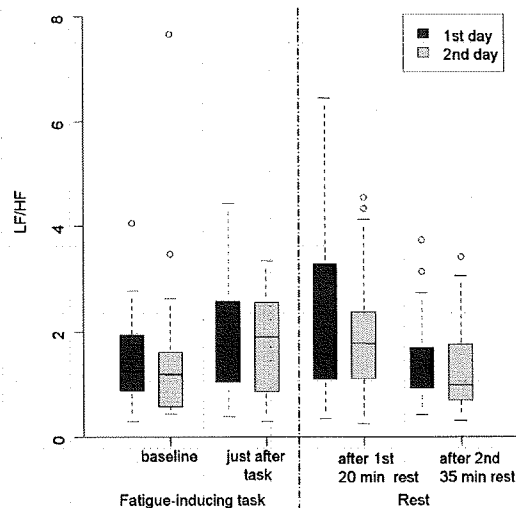


図6. 精神作業負荷とその後の休憩に伴うLF/HF比の変化

このソフトを用いることにより、試験中に行われたすべての回答の所要時間が自動的に計算されるとともに、その回答が正解か否かもすべてコンピューターに記録されており、判定作業を極めて簡素化することが可能となっている。

本研究では、このコンピューター化された単純な足し算を120分間連続で行うことを精神作業負荷課題として検討したことにより、精神作業疲労では主観的な感覚である疲労感の増強とともに、客観的な指標として解答に必要な所要時間（反応時間）、解答に必要な所要時間のばらつき（変動係数）、心電図R-R間隔の心拍変動解析により算出したLF（低周波成分：0.04-0.15Hz）/HF（高周波成分0.15-0.40Hz）比が増加し、休息にて回復することが判明した。

自律神経系は交感神経系と副交感神経系より成り立っており、交感神経系は活動時や緊張している時に高まる自律神経であるのに対して、一方副交感神経系は休息時や睡眠時に活動が高まる癒し系の神経として知られている。

自律神経系のバランスについては、安静閉眼時に計測を行うと、健常者は通常2以下となり、比較的安定している。しかし、半年以上激しい疲労が持続する慢性疲労症候群の患者では健常者と比較するとLF/HF比が高く、相対的な交感神経系有意な状態であることを見出してきた。これは、いくら安静にしても相対的な交感神経系の優位な状態が持続していることを意味しており、「夜なかなか寝付けない」、「夜中に何度も目が覚める」などの睡眠障害と結びついている。

本研究の結果、健常者の精神作業負荷に伴う疲労においても相対的な交感神経系の優位な状態が誘発され、自律神経系が疲労と深く結びついていることが明らかになった。しかし、健常者の精神作業疲労では、比較的短時間の休息にて自律神経系のバランスは回復することも確認され、疲労回復には相対的な交感神経系の優位な状態をリセットすることも重要である可能性を示唆している。

現在、疲労の回復に対して様々なサプリメントやドリンク剤などが発売されており、その市場は年間1000億円を越えると言われている。しかし、そのほとんどが「肉体疲労時の栄養補給」を目的として記載されており、実際に疲労

に伴う心身機能の低下状態を評価して効果を検討したものはみられない。その理由の1つは、これまで疲労に伴う心身機能の低下状態を客観的に評価するための指標が確立していなかったためであり、また介入試験を行う場合の疲労回復を客観的に評価できる良い評価モデルが確立されていなかったことによる。

本研究にて作成した精神作業疲労モデルは、このようなサプリメントやドリンク剤など客観的な効果の検証にも応用が可能なものであり、アロマセラピーや森林浴、鍼灸療法などさまざまな疲労回復に有効と思われる伝承療法の疲労回復効果の科学的な検証においても広く応用されることを願っている。

E. 結論

本研究では、コンピューター化された単純な足し算を120分間連続で行うことを精神作業負荷課題として検討することにより、精神作業疲労では以下のことが明らかになった。

1. 自覚的な疲労感は、精神作業に伴い増加し、休息により回復した。
2. 足し算の解答に必要な所要時間（反応時間）は、精神作業に伴い増加し、休息により回復した。
3. 足し算の解答に必要な所要時間のばらつき（変動係数）も、精神作業に伴い増加し、休息により回復した。
4. 相対的な交感神経系の緊張状態（心電図R-R間隔の心拍変動解析により算出したLF（低周波成分：0.04-0.15Hz）/HF（高周波成分0.15-0.40Hz）比）は、精神作業に伴い自覚的な疲労感、反応時間、変動係数と同様に増加し、休息により回復した。

以上より、精神作業疲労では主観的な感覚である疲労感が増強するとともに、客観的な指標として反応時間、変動係数、LF/HF比が増加し、休息にて回復することが明らかになり、精神作業疲労の客観的な指標として有用であることが示された。本研究にて作成した精神作業疲労モデルはサプリメントやドリンク剤など客観的な効果の検証にも応用が可能なものであり、疲労の臨床研究の中で広く応用されることを願っている。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

英文

1. Sakudo A., Kuratsune H., Katou Y.H., Ikuta K. Secondary structural changes of proteins in fingernails of chronic fatigue syndrome patients from Fourier-transform infrared spectra. *Clinica Chimica Acta* 402 (1-2) :75-8, 2009 4月
2. Sakudo A., Kato Y.H., Tajima S., Kuratsune H., Ikuta K. Visible and near-infrared spectral changes in the thumb of patients with chronic fatigue syndrome. *Clinica Chimica Acta* 403 (1-2) :163-6, 2009 5月
3. Mizuma H., Tanaka M., Nozaki S., Mizuno K., Tahara T., Ataka S., Sugino T., Shirai T., Kajimoto Y., Kuratsune H., Kajimoto O., Watanabe Y. Daily oral administration of crocetin attenuates physical fatigue in human subjects. *Nutr Res.* 29 (3) :145-50, 2009 6月
4. Matsuda Y., Matsui T., Kataoka K., Fukuda R., Fukuda S., Kuratsune H., Tajima S., Yamaguti K., Kato Y.H., Kiriike N. A two-year follow-up study of chronic fatigue syndrome comorbid with psychiatric disorders. *Psychiatry Clin Neurosci* 63 (3) :365-73, 2009 6月
5. Tanaka M., Fukuda S., Mizuno K., Yoshida K., Kuratsune H., Watanabe Y. Stress and coping style are associated with severe fatigue in medical students. *Behavioral Medicine* 35 (3) :87-92, 2009 9月
6. Sakudo A., Kato Y.H., Kuratsune H., Ikuta K. Non-invasive prediction of hematocrit levels by portable visible and near-infrared spectrophotometer. *Clinica Chimica Acta* 408 (1-2) :123-27, 2009 10月
7. Fukuda S., Kuratsune H., Tajima S., Takashima S., Yamaguchi K., Nishizawa Y., Watanabe Y. Premorbid personality in chronic fatigue syndrome as determined

by the Temperament and Character Inventory. *Compr Psychiatry* 2010 Jan-Feb; 51 (1) :78-85. 1月

8. Koyama H., Fukuda S., Shoji T., Inaba M., Tsujimoto Y., Tabata T., Okuno S., Yamakawa T., Okada S., Okamura M., Kuratsune H., Fujii H., Hirayama Y., Watanabe Y., Nishizawa Y. Fatigue is a predictor for cardiovascular outcomes in patients undergoing hemodialysis. *Clin J Am Soc Nephrology* (in press, 2010)
9. Fukuda S., Hashimoto R., Ohi K., Yamaguti K., Nakatomi Y., Yasuda Y., Kamino K., Takeda M., Tajima S., Kuratsune H., Nishizawa Y., Watanabe Y. A functional polymorphism in the Disrupted-in-schizophrenia 1 gene is associated with chronic fatigue syndrome. *Life Sciences* (in press, 2010)

和文

1. 倉恒弘彦、田島世貴、小川 正. 女子大学生における疲労・抑うつと食生活、栄養摂取との関連について *Functional Food* 第10号 特集号 疲労と機能性食品 (印刷中、2010年)
2. 倉恒弘彦、中富康仁、神楽美香、田島世貴、山口浩二、松井徳造、西沢良記. 慢性疲労症候群患者に対する1日2回服用タイプの補中益気湯の治療効果 *Progress in Medicine* (印刷中、2010年)

2. 学会発表

1. Kuratsune H. Brain and Autonomic dysfunction under the Fatigue and Stressful Condition. シンポジウム 第83回日本薬理学会年会 (大阪) 平成22年3月16日
2. 倉恒弘彦. 馬介在療法の科学的効果 - 内科医の視点から - 動物とヒトが共存する健康な社会 第7回北里大学農医連携シンポジウム (東京) 平成22年3月4日
3. Kuratsune H. Changes in autonomic nerve function in the mental fatigue state caused by long-term computerized

Kraepelin test workload. Symposium
Molecular/neural mechanisms of fatigue
and fatigue sensation The 36th Congress
of the International Union of Physiological
Sciences (Kyoto) 2009年8月1日

3. 書籍等 なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 倉恒弘彦、渡辺恭良

DNAチップ解析による慢性疲労の評価、診
断法（特許出願準備中）

自律神経機能異常を伴い慢性的な疲労を訴える患者に対する客観的な
疲労診断法の確立と慢性疲労診断指針の作成研究事業

慢性疾患における疲労 – 透析患者の疲労に関する研究 –

研究分担者 西澤 良記（大阪市立大学大学院医学研究科）

研究要旨

788人の透析患者に対し、独自に開発した問診票を用いて疲労度を評価し、これらの患者を26ヵ月間追跡した結果、高い疲労得点を有する患者において、心臓発作（心筋梗塞等）や脳卒中などの心血管イベントのリスクが2倍以上増加していることが確認された。

A. 研究目的

過労死の問題などから、心血管系疾患の発症に疲労が関与する可能性は推測されているが、その関連を直接照明した疫学データはほとんどない。本研究では、疲労度が心血管系疾患発症の予知因子になるかを透析患者のコホートにおいて検討した。

B. 研究方法

788名（男性506名、女性282名）の血液透析患者が64項目疲労質問票を用いた疲労度の調査を完了した。因子分析により疲労関連8因子（疲労度、不安とうつ、注意力・記憶力低下、痛み、過労、自律神経症状、睡眠障害、感染）の得点を求めた。コホートは26ヶ月の追跡し、致死性及び非致死性心血管疾患の発症をモニターした。（倫理面への配慮）本研究は大阪市立大学倫理委員会で承認され、患者から同意を得た。

C. 研究結果

患者の15.7%が疲労度高値を示した。この高疲労群はその他の患者に比べて2.17倍心血管疾患発症のリスクが高値であり（ $p<0.01$ ）、この関連は既知の危険因子である年齢、糖尿病、心血管疾患の罹病歴、炎症、低栄養で調節しても有意であった。層別解析によると、高疲労得点は、栄養状態が良好で健康的な患者において特に心血管イベントの強い予知因子であった。心血管

疾患罹病歴のない患者においては、過労と自律神経症状高値も心血管イベントの発症の有意なリスク因子であった。

D. 考察

従来関連が推測されていた疲労と心血管イベントの関連が、高度リスク群である透析患者において認められた。特に健康的な患者において、疲労がより強いリスク因子となり、過労などによる自律神経失調が背後の原因かもしれない。

E. 結論

透析患者において、疲労は低栄養や炎症と独立した心血管系イベントの予知因子である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Koyama H, Fukuda S, Shoji T, Inaba M, Tsujimoto Y, Tabata T, Okuno S, Yamakawa T, Okada S, Okamura M, Kuratsune H, Fujii H, Hirayama Y, Watanabe Y, Nishizawa Y: Fatigue is a predictor for cardiovascular outcomes in patients undergoing hemodialysis. Clin J Am Soc Nephrol, 2010 in press

2. 学会発表

Koyama H, Fukuda S, Tsujimoto Y, Tabata T, Okuno S, Yamakawa T, Okada S, Okamura M, Shoji T, Kuratsune H, Watanabe Y, Nishizawa Y. Fatigue is associated with cardiovascular outcomes in patients with end-stage renal disease. Am Society of Nephrology (Renal week 2009) , Oct 2009, San Diego

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

該当なし

自律神経機能異常を伴い慢性的な疲労を訴える患者に対する客観的な
疲労診断法の確立と慢性疲労診断指針の作成

慢性疲労患者における唾液の生物学的評価

分担研究者 近藤 一博（東京慈恵会医科大学ウイルス学講座教授）

研究協力者 小林 伸行（東京慈恵会医科大学ウイルス学講座）

研究要旨

唾液検査は採取が簡単で、日々の生活の上で疲労をチェックする方法として有用な検査手段を提供してくれる可能性がある。しかし、現在行なわれている検査では、短期的なストレスを測定することは可能であるが、ストレスの蓄積の結果生じる疲労を測定することはできない。我々は、疲れるとヘルペスがでるという良く知られた現象をヒントに、唾液中に再活性化するヒトヘルペスウイルス6（HHV-6）を定量することによる疲労測定法を開発した。今回の研究では、HHV-6の潜伏感染・再活性化機構を突き詰めることによって、疲労因子（FF）の候補を選択肢、さらに、マウスの疲労モデルを検証することにより、疲労因子（FF）を同定することに成功した。また、FFは、ヒトの末梢血を検体とした検査においても、客観的に疲労を検査できることが判明した。さらに、FFの測定は、精神疲労と肉体疲労の両者において有効であることが判明した。

これにより、唾液中HHV-6測定と血液中の疲労因子（FF）の測定という、2つの客観的疲労測定法を得ることができた。

A. 研究目的

「疲労」は休みなく心身を使うことによって生体機能に障害が生じた状態を、「疲労感」は疲労を脳が主観的に定量する感覚を指す。「疲労感」は、報酬や、やり甲斐などでマスクされ易いため、「疲労感」のみで「疲労」を定量しようとすると、様々な問題が生じる。そこで、「疲労」を客観的に測定するために、疲労によって変化する生体のバイオマーカーを発見し、これを利用して疲労を測定する様々な方法が検討されている。

我々は、疲労を客観的に測定するために、「疲れるとヘルペスという水泡が唇にできる」という現象に着目した。この現象は、通常は宿主の体内に潜伏感染しているヘルペスウイルスが、疲労によって宿主の危機が生じると再活性化し、他の宿主を求めて体外に放出されるという現象である。ヒトのヘルペスウイルスは8種類知

られているが、この中でも労働による疲労にはヒトヘルペスウイルス6（HHV-6）が良く反応することが判った。これは、疲労の客観的測定法の開発原理として利用可能であるので、唾液中HHV-6測定による疲労の客観的測定法の開発に着手した。

一方、HHV-6が疲労に反応して再活性化するということは逆に、疲労によるヘルペスウイルス再活性化のメカニズムを解析すれば、疲労の分子メカニズムを解明することが可能となることを示している。

数年前に乳酸が疲労物質でないことが明らかになってから、疲労の分子メカニズムは、返って謎となった。我々は、HHV-6の再活性化機構を詳細に検討することで、疲労因子を同定している。この因子は、マウスに不眠や水泳などによる疲労を与えると様々な臓器で発現が亢進することと、この因子を遺伝子導入によって発現

を誘導すると、マウスの自発運動量が低下することから、疲労という現象の中心的な働きをする因子であると考えられた。また、この因子の働きを抑制する因子も疲労負荷によって発現が亢進することが判り、この研究が、疲労のメカニズムの解明や疲労回復法の開発を可能にするものと考え、今回の研究課題とした。

B. 研究方法

1. 疲労のシグナル伝達経路および疲労因子 (FF) の同定

i. 疲労と疲労感におけるシグナル伝達経路の解明のための作業仮説

疲労のシグナル伝達経路に関する作業仮説を示す。疲労の最初の原因として、まず、末梢の臓器や筋肉における、基礎代謝を含む生命活動によって、一種の老廃物である疲労物質が作られる。これは、従来の乳酸に相当するものである。疲労物質は、疲労因子 (シグナル伝達物質) を誘導する。疲労因子は、さらに、脳へ疲労を伝える疲労メディエーターであるサイトカイン産生を促し、脳へ疲労感を伝える。

今回の研究では、この作業仮説に従って、疲労物質や疲労因子を同定することによって、疲労の分子メカニズムを解明使用としている。なお、疲労メディエーターとなるサイトカインは、TGF- β 、インターフェロン、IL-1 β 、IL-6 など、多くの候補があげられているが、おそらく、これらは重複性が強く、何れもが疲労メディエーターとなりうるものであると考えられる (図1)。

疲労因子および疲労物質の必要条件は、以下の様になる。

①疲労因子/疲労物質は、疲労に伴って増加する。

②疲労因子/疲労物質は、これを生体に導入することによって疲労を誘導できる。

我々は、この様な条件を満たす、真の疲労因子 (疲労伝達物質) と、生命現象の老廃物として生じる真の疲労物質を検索している。

ii. 疲労のシグナル伝達経路の同定

疲労とストレス応答は、しばしば混同される概念である。その理由は、ストレス研究に対し

て疲労研究が遅れていることと、ストレスによっても疲労が誘導されることによると思われる。しかし、ストレス研究をそのまま持ち込むだけでは、疲労のシグナル伝達経路を明らかにすることは出来なかった。このことは、ストレス応答とは異なる「疲労シグナル伝達経路」が存在することを示している。

我々は、強いストレスによらず、持続的な疲労負荷による疲労を感知する疲労シグナルを同定するために、最も外的刺激が弱いと思われる疲労マウスモデルを使用した。このモデルは、ケージに1cmの常温の水を入れたために、マウスは横になって寝ることが出来ないというモデルである。通常のストレスの実験では、5日~1週間程度この状態を保つことが多いが、我々は、1晩だけマウスの睡眠を妨げるという緩やかな条件で疲労を誘導した。これは、いわゆるストレス応答によるシグナルの混入を避け、純粋な疲労シグナルを検索するためである (図2)。

iii. 疲労マウスに対するDNAマイクロアレイ解析

この非常にマイルドな疲労条件に対して、発現は変化する遺伝子を、DNAマイクロアレイ解析で検討した。

DNAチップには約20,000種類の遺伝子が載せてあり、疲労動物とコントロール動物の肝臓のmRNAを測定した。

iv. 疲労因子 (FF) の同定

疲労によって宿主の体内に潜伏感染しているヘルペスウイルスが、再活性化することは良く知られている。我々はその中でも労働による疲労にはヒトヘルペスウイルス6 (HHV-6) が良く反応することを見出した (図4)。さらに、ウイルス学的な研究により、我々は、HHV-6の潜伏感染・再活性化機構の多くを明らかにしてきた。

この様なHHV-6の再活性化のメカニズムの研究と、マイクロアレイの結果などを総合して、疲労の際にHHV-6の再活性化を誘導する因子として、疲労因子 (FF) の検索を行なった。

2. 疲労因子 (FF) の発現と機能解析

i. 疲労因子 (FF) のマウスモデルにおける発現

疲労による疲労因子 (FF) の発現を検討するために、短時間不眠疲労モデルにおける疲労因子のmRNA発現を、Real-time PCR法で測定した。また、運動負荷による疲労因子 (FF) の増加も、2時間の自由水泳による疲労モデルで検討した。

過労によって障害されることが知られている臓器からRNA精製を行い、内部標準のGAPDH遺伝子の量で割り算した値を、疲労の有無で比較した。

まず、マウス疲労モデルにおける疲労因子 (FF) の発現を12時間の不眠疲労モデルで検討した。続いて、疲労因子 (FF) が他の疲労によっても増加するかどうかを検討した。

ii. 疲労因子 (FF) の機能解析

疲労因子 (FF) の性質の機能を検討するために、生体内でのFFによる疲労のメディエーターである炎症性サイトカインの誘導を検討した。方法としては、疲労因子のin vivoトランスフェクションの8時間後に、IL-1betaとIL-6のmRNAを、Real-time PCR法で定量した。

疲労に関する問題として、過労による臓器機能の障害と過労死の問題が挙げられる。疲労因子 (FF) による臓器障害の可能性を検討するために、FFによってapoptosisの誘導の増強が生じるかどうかを検討した。バックグラウンドのapoptosis刺激としては、Camptothecin (CPT) およびetoposide (VP-16) を使用した。

iii. ヒトにおける疲労と疲労因子 (FF) の関係

マウス実験系で見出したFFと疲労との関係が、ヒトにおいても成立するかどうかを検討した。方法としては、肉体疲労として、非常に軽度の肉体労働 (短時間の栗拾い) の前後におけるFFの変化を検討した。FFの測定はmRNA発現量をReal-time PCR法で測定し、値は、FFの値をハウスキーピング遺伝子であるGAPDHのmRNAの値で割ったものの変化を検討した。精神疲労としては、睡眠不足を利用した。測定前3日間の平均睡眠時間とFFとの関係を検討した。FFの測定は、肉体疲労と同様にmRNA発現量をReal-time PCR法で測定した。検体としては、末

梢血 (全血) からRNAを精製して用いた。

(倫理面への配慮)

インフォームドコンセントを取るに当たり、厚生労働省のガイドラインに準拠した同意書を作成し、これに患者またはこれに代わる親権者の同意を得た。全ての研究の過程は東京慈恵会医科大学・倫理委員会の承認を得たプロトコールにしたがって行われた。遺伝子組換え実験は東京慈恵会医科大学・遺伝子組み換え委員会の承認の後、遺伝子組換え実験ガイドラインに沿って行われた。動物実験は、東京慈恵会医科大学・実験動物委員会の承認を得て行なった。

C. 研究結果

1. 疲労のシグナル伝達経路および疲労因子 (FF) の同定

ii. 疲労のシグナル伝達経路の同定

ストレス応答とは異なる「疲労シグナル伝達経路」を同定するために、強いストレスによらず、持続的な疲労負荷を用いた。実際には、最も外的刺激が弱いと思われる疲労マウスモデルを使用した。このモデルは、ケージに1cmの常温の水を入れたために、マウスは横になって寝ることが出来ないというモデルである (図2)。

iii. 疲労マウスに対するDNAマイクロアレイ解析

最初に、この疲労マウスに対するDNAマイクロアレイ解析を行なった。DNAチップには約20,000種類の遺伝子が載せてあり、疲労動物とコントロール動物の肝臓のmRNAを測定した。図3に示す様に、極めて多数の遺伝子が、この様なマイルドな条件でも、上昇または下降することが判明した。他の研究者の報告でも、疲労による遺伝子変化は、数千種類の遺伝子に及ぶとされており、我々の条件でも同様の結果となり、疲労に関する遺伝子の同定をDNAマイクロアレイによって行なうことには、無理があるとの結論に達した。

iv. 疲労因子 (FF) の同定

HHV-6の潜伏感染・再活性化のメカニズムの研究から得た情報と、マイクロアレイの結果な

などを総合して、疲労の際にHHV-6の再活性化を誘導する因子として、疲労因子（FF）を同定した。

2. 疲労因子（FF）の発現と機能解析

i. 疲労因子（FF）のマウスモデルにおける発現

疲労による疲労因子（FF）の発現を検討するために、疲労因子（FF）のmRNA発現を、Real-time PCR法で測定した。また、運動負荷による疲労因子（FF）の増加も、2時間の自由水泳による疲労モデルで検討した。過労によって障害されることが知られている臓器からRNA精製を行い、内部標準のGAPDH遺伝子の量で割り算した値を、疲労の有無で比較した。

FFの発現を12時間の不眠疲労モデルで検討した結果、脳、心臓、脾臓、肝臓、筋肉と血液を含む多くの臓器において、疲労因子は、有意に増加した。

疲労因子（FF）が他の疲労によっても増加するかどうかを検討した。図5のグラフに示される様に、疲労因子（FF）は、不眠と同じく、水泳によっても増加することが判明した。

なお、この水泳は、重りなどを用いない自由な水泳で、マウスは、2時間の自由水泳時間の間、実際には10～15分程度しか泳いでおらず、後の時間は浮いているだけであった。このことは、FFが従来のストレス負荷モデルに比して、極めて弱い刺激で反応していることを示すものであった。

ii. 疲労因子（FF）の機能解析

疲労因子（FF）の性質の機能を検討するために、生体内でのFFによる疲労のメディエーターである炎症性サイトカインの誘導を検討した。この結果、疲労因子（FF）は、これらの炎症性のサイトカインを誘導することが判った。

これらのサイトカインは、脳に疲労を伝達する疲労メディエーターであると考えられている分子であることから、図1に示す作業仮説通り、疲労因子（FF）と「疲労」という現象との関係に、疲労因子（FF）のサイトカイン誘導能が関係することが示唆された。

疲労に関する問題として、過労による臓器機

能の障害と過労死の問題が挙げられる。疲労因子（FF）による臓器障害の可能性を検討するために、FFによってapoptosisの誘導の促進が生じるかどうかを検討した。バックグラウンドのapoptosis刺激としては、Camptothecin（CPT）およびetoposide（VP-16）を使用した。この結果、apoptosisは疲労因子（FF）によって促進されることが判り、疲労による過労死の一因であると考えられた。

iii. ヒトにおける疲労と疲労因子（FF）の関係

マウス実験系で見出したFFと疲労との関係が、ヒトにおいても成立するかどうかを検討した。非常に軽度の肉体労働（短時間の栗拾いと、精神疲労として睡眠不足による疲労を測定した。この結果、両者において、疲労とFFが相関することが示された。この測定は、末梢血（全血）を用いて測定を行っており、疲労因子（FF）の測定は、通常健康診断レベルの採血検査に応用できることを示すものであった。

(図1)

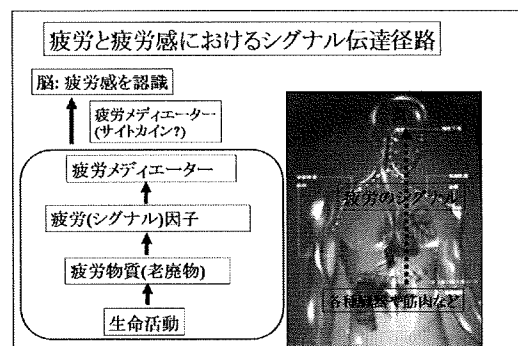


図1：疲労と疲労感におけるシグナル伝達経路

疲労のシグナル伝達経路に関する作業仮説を示す。疲労の最初の原因として、まず、末梢の臓器や筋肉における、基礎代謝を含む生命活動によって、一種の老廃物である疲労物質が作られる。これは、従来の乳酸に相当するものである。疲労物質は、疲労因子（シグナル伝達物質）を誘導する。疲労因子は、さらに、脳へ疲労を伝える疲労メディエーターであるサイトカイン産生を促し、脳へ疲労感を伝える。

(図2)

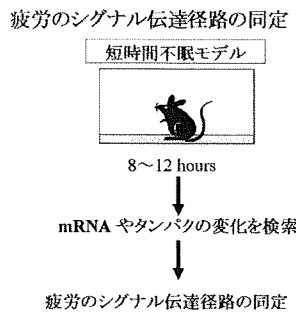


図2：疲労のシグナル伝達経路の同定

強いストレスによらず、持続的な疲労負荷による疲労を感知する疲労シグナルを同定するために、最も外的刺激が弱いと思われる疲労マウスモデルを使用した。このモデルは、ケージに1cmの常温の水を入れたために、マウスは横になって寝ることが出来ないというモデルである。通常の実験では、5日~1週間程度この状態を保つことが多いが、我々は、1晩だけマウスの睡眠を妨げるという緩やかな条件で疲労を誘導した。

(図3)

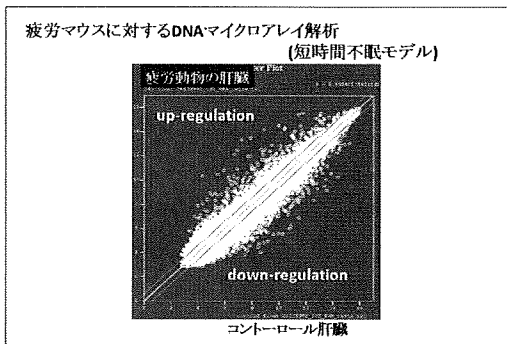


図3：疲労マウスに対するDNAマイクロアレイ解析

この非常にマイルドな疲労条件に対して、発現は変化する遺伝子を、DNAマイクロアレイ解析で検討した。

(図4)

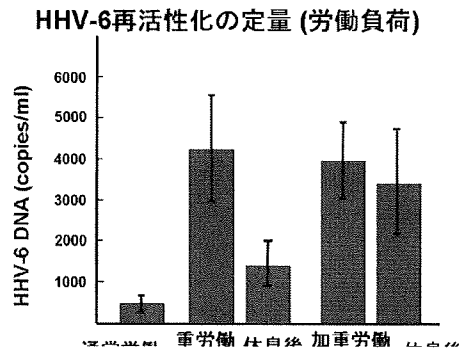


図4：唾液中HHV-6と疲労との関係

全ての人の体内に潜伏感染しているヒトヘルペスウイルス6 (HHV-6) が再活性化して唾液中に排出することを示す。

(図5)

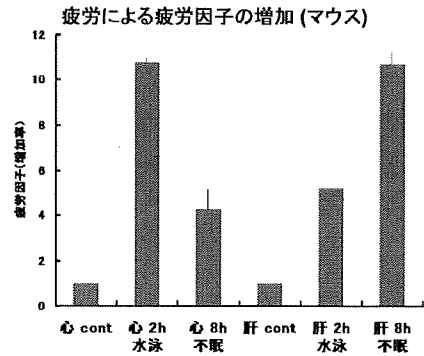


図5：運動負荷による疲労因子 (FF) の増加

疲労因子 (FF) が他の疲労によっても増加するかどうかを検討した。グラフに示される様に、疲労因子 (FF) は、不眠と同じく、水泳によっても増加することが判明した。

なお、この水泳は、重りなどを用いない自由な水泳で、マウスは、2時間の自由水泳時間の間、実際には10~15分程度しか泳いでおらず、後の時間は浮いているだけであった。

(図6)

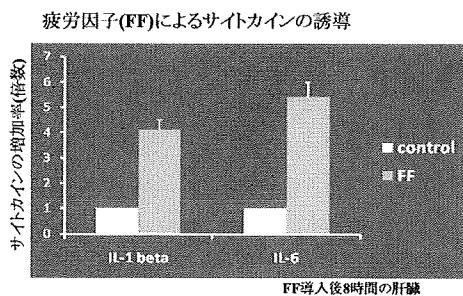


図6：疲労因子（FF）によるサイトカインの誘導

生体内でのFFによる疲労のメディエーターである炎症性サイトカインの誘導を検討した。方法としては、疲労因子のin vivoトランスフェクションの8時間後に、IL-1betaとIL-6のmRNAを、Real-time PCR法で定量した。

(図7)

疲労因子(FF)によるアポトーシスの誘導

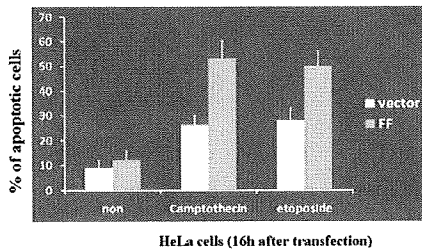


図7：FFによるApoptosisの誘導の増強

Apoptosis誘導のバックグラウンドとしてCamptothecin (CPT) とetoposide (VP-16) を使用し、疲労因子（FF）がapoptosisの誘導を増強するかどうかを検討した。

(図8)

肉体労働前後FF平均変化率

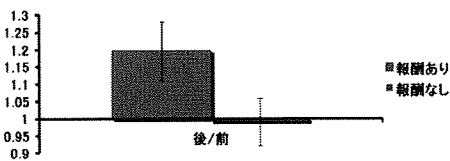


図8：ヒトにおける肉体労働前後のFFの増加

ヒトの非常に軽度の肉体労働（短時間の栗拾い）の前後におけるFFの増加を示す。FFの測定はmRNA発現量をReal-time PCR法で測定し、値は、FFの値をハウスキーピング遺伝子であるGAPDHのmRNAの値で割ったもので示した。

(図9)

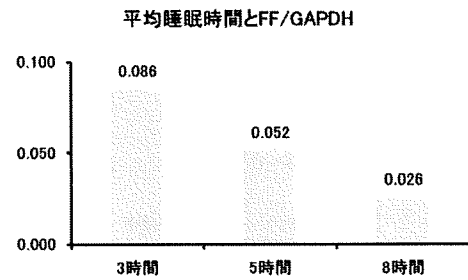


図9：ヒトの睡眠時間とFFとの関係

ヒトの睡眠時間とFFの関係を示す。睡眠時間は、測定前3日間の平均睡眠時間である。FFの測定はmRNA発現量をReal-time PCR法で測定し、値は、FFの値をハウスキーピング遺伝子であるGAPDHのmRNAの値で割ったもので示した。

D. 考察

唾液検査は採取が簡単で、日々の生活の上で疲労をチェックする方法として有用な検査手段を提供してくれる可能性がある。しかし、現在行なわれている検査では、短期的なストレスを測定することは可能であるが、ストレスの蓄積の結果生じる疲労を測定することはできない。我々は、疲れるとヘルペスがでるという良く知られた現象をヒントに、唾液中に再活性化するヒトヘルペスウイルス6（HHV-6）を定量することによる疲労測定法を開発した。この方法は、労働による疲労を客観的に疲労を測定出来るだけでなく、抗癌剤の副作用による疲労を測定することも可能である。

しかし、この方法による疲労測定法を信頼できるものとするためには、この測定法の原理、すなわち、「なぜ疲労によってHHV-6が再活性化するか」を明らかにする必要がある。ところが、これを明らかにするためには、疲労の分子メカニズムそのものを明らかにしなければならない。今回の研究では、HHV-6の潜伏感染・再活性化機構を突き詰めることによって、疲労因子（FF）の候補を選択肢、さらに、マウスの疲労モデルを検証することにより、疲労因子（FF）を同定することに成功した。

また、FFは、ヒトの末梢血を検体とした検査においても、客観的に疲労を検査できることが判明した。さらに、FFの測定は、精神疲労と肉

体疲労の両者において有効であることが判明した。

今後は、唾液中HHV-6測定と血液中の疲労因子（FF）の測定という、2つの方法で疲労を客観的に測定し、この方法の有効性と利用法を検証して行く予定である。

E. 結論

我々は、疲労によって全ての人の体内に潜伏感染しているヒトヘルペスウイルス6（HHV-6）が再活性化して唾液中に排出することを利用した疲労測定法を開発した。今回の研究では、唾液中HHV-6測定の信頼性を高める目的で、HHV-6の潜伏感染・再活性化機構を突き詰め、疲労因子（FF）を同定することに成功した。

FFは、ヒトの末梢血を検体とした検査においても、客観的に疲労を検査できることが判明し、FFの測定は、精神疲労と肉体疲労の両者において有効であることが判明した。

これにより、唾液中HHV-6測定と血液中の疲労因子（FF）の測定という、2つの客観的疲労測定法を得ることができた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし

2. 学会発表

1. 招待講演 K. Kondo

Identification of a novel molecular mechanism and a major cause of fatigue.
36th International Congress of Physiological Sciences. Late-breaking symposium
(Aug.1 Kyoto 2009)

2. A. Shimizu and K. Kondo

Application of human herpesvirus 6 (HHV-6) for the gene therapy vector
14th International Conference on Immunology and Prophylaxis of Human Herpesvirus Infection
(Oct. 6 Kobe 2009)

3. M. Kamada and K. Kondo

Establishment of SCID-hu mouse model for

human herpesvirus 6 (HHV-6) latent infection and identification of HHV-6 latent cells
14th International Conference on Immunology and Prophylaxis of Human Herpesvirus Infection
(Oct. 6 Kobe 2009)

4. N. Kobayashi and K. Kondo

Identification of novel HHV-6 latent protein associated with CFS and mood disorders
14th International Conference on Immunology and Prophylaxis of Human Herpesvirus Infection
(Oct. 6 Kobe 2009)

5. K. Shimada and K. Kondo

Alternative splicing regulation of human herpesvirus 6 (HHV-6) iel1/ie2 genes by immediate-early 2 and splicing factor SART3
14th International Conference on Immunology and Prophylaxis of Human Herpesvirus Infection
(Oct. 6 Kobe 2009)

6. 小林伸行、嶋田和也、清水昭宏、近藤一博
ヒトヘルペスウイルス（HHV）-6 関連疾患における、多彩な精神症状の出現機構に関する検討（第57回日本ウイルス学会、2009年10月 東京）

7. 鎌田美乃里、近藤一博

HHV-6感染SCID-huマウス末梢血中のHHV-6 genome出現の検討（第57回日本ウイルス学会、2009年10月 東京）

8. 清水昭宏、小林伸行、近藤一博

組み換えヒトヘルペスウイルス6へのbacterial artificial chromosome (BAC) システムの導入と、産生条件の検討（第57回日本ウイルス学会、2009年10月 東京）

9. 嶋田和也、近藤一博

ヒトヘルペスウイルス6（HHV-6）前初期遺伝子産物IE2とスプライシング関連因子SART3の相互作用によるiel1/ie2の選択的スプライシング調節
(第57回日本ウイルス学会、2009年10月 東京)

3. 書籍等

1. 近藤一博

疲労のバイオマーカー：唾液中ヒトヘルペスウイルス6（HHV-6）

「最新・疲労の科学」p76-80別冊・医学のあゆみ（医歯薬出版2010年1月）.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 近藤一博

疲労因子（FF）と疲労回復因子（FR）の同定

とその利用法

（特許出願準備中）

自律神経機能異常を伴い慢性的な疲労を訴える患者に対する客観的な
疲労診断法の確立と慢性疲労診断指針の作成

名古屋大学医学部附属病院総合診療科における 慢性疲労を主訴とする患者診療の体制整備

分担研究者 伴 信太郎 名古屋大学医学部附属病院総合診療科教授

研究協力者 西城 卓也 名古屋大学医学部附属病院総合診療科

研究要旨

本研究では、全国レベルでの研究を実施するため、慢性疲労を主訴として来院する患者の診療手順を整備した。

研究方法：診療に関与する医師、漢方医学専門医、臨床心理士、研究補助員のコンセンサス形成。

結果：名古屋大学医学部附属病院総合診療科では、「慢性疲労」を主訴とする患者の診療を2段階で行う体制を整備した。

第一段階：慢性疲労症候群患者を1) 器質的疾患（疑）、2) 精神的疾患（疑）、3) 慢性疲労症候群（CFS）（疑）、4) 分類不能に群別する。

第二段階：CFS（疑）群を対象に、研究班で統一して実施する予定の各種指標を患者さんの同意の上実施する。

A. 研究目的

慢性的に疲労を訴える患者の中に慢性疲労症候群（Chronic Fatigue Syndrome:以下CFS）の患者が含まれている。CFSは、慢性的に（定義としては6ヶ月以上）疲労を訴える一群の人々の中に存在する原因不明の症候群で、病脳期間は年余に渡り、未だ客観的な診断法、確実な治療法は確立されていない。

CFS専門外来ではない我々の外来を受診する患者を対象にしてこれまでの研究で、'慢性的な疲労を訴える患者'の中の約40%がCFSで、約40%が精神疾患、約5%が器質的疾患で、残りは病態が特定困難で経過観察が必要な疾患と分類される。

われわれは既にCFS患者について、9つの遺伝子の特徴的な発現パターンによる客観的診断法を開発した（Saiki T, Ban N et al. *Mol Med* 14, 599–607, 2008）が、この遺伝子発現パターンに関しては、他施設からの報告とは未だ一貫した結果が得られていない。

一方、治療に関しては、我々は漢方薬を用いた治療法で、ある程度満足すべき結果を得ている（5段階評価で上位2区分の改善度68%、上位3区分の改善度86%）（胡ら、第57回日本東洋医学会総会（大阪）、2006.6.25）。

しかし一方で、漢方治療が奏効し一定の治療効果を見せても、患者が何らかの器質的な異常を疑い続け活動を回避することで、廃用症候群をきたすケースや、逆に周囲の意見や環境に配慮しすぎて過活動になって疲労困憊するケースが存在することを経験してきた。そこで、認知行動療法（Cognitive-Behavior Therapy: CBT）に関する予備的な調査を実施し、「活動の回避」、「症状への固執」、「症状へのコントロール感の欠如」といった認知が治療を妨げる重大な要因であるとの結果を得て、漢方療法で改善不十分な場合には、CBTを導入を試験的に開始している。

本研究は、我々の施設で'慢性的な疲労を訴える患者'の診療をより体系的に、客観的指標を持って

評価できるような診療体制の確立を目指したものである。

B. 研究方法

本研究では、下記の関係者による合議によって診療体制の整備を行った。

●診療医師：伴信太郎、西城卓也

●漢方診療専門医：胡 暁晨

●臨床心理士：

・田中愛(名古屋大学大学院 医学系研究科 健康社会医学専攻・総合管理医学講座 総合診療医学 大学院生)、

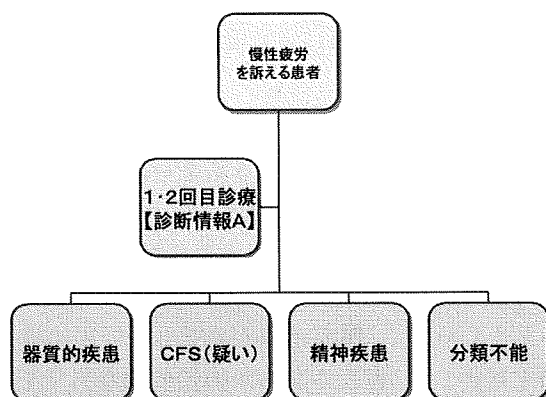
・藤江里衣子(名古屋大学大学院 教育発達科学研究科 心理発達科学専攻 精神発達臨床科学講座 大学院生)

●コンサルタント精神科医：近藤三男(こんどうメンタルクリニック)

C. 研究結果

第一段階：

‘6ヶ月以上の慢性的な疲労を訴える患者’の診療は、下記のように群別する。その為の診断手順は下記の通りとする。



図に示した診断情報Aとは、

- 1) 病歴と身体所見の収集
- 2) CFSの診断基準との照合
- 3) QOL-26
- 4) SDS
- 5) PS (Performance status:厚生省研究班作成の活動度測定尺度)の評価(表2)
- 6) 自己評価採点(100点満点で何点か答えてもらう)
- 7) 下記の諸検査を実施
・血液検査(表1参照)

・検尿

・便潜血検査

・胸部X線

・腹部超音波検査

・遺伝子発現パターンおよびRNAマーカーの探索のための採血

8) CFS診療に経験の長い精神科医へのコンサルテーション

第二段階：

CFS(疑)群を対象に、研究班で統一して実施する予定の各種指標を患者さんの同意の上実施する。

D. 考察

名古屋大学医学部附属病院総合診療科には、‘6ヶ月以上の慢性的な疲労を訴える患者’が訪れるが、その病態は概ね約40%がCFSで、約40%が精神疾患、約5%が器質的疾患で、残りは病態が特定困難で経過観察が必要な疾患と分類される。

患者の負担を最小限にし、将来のCFSをできるだけ客観的に診断できるようになるための研究に資するためには、‘6ヶ月以上の慢性的な疲労を訴える患者’をまず1)器質的疾患(疑)、2)精神的疾患(疑)、3)慢性疲労症候群(CFS)(疑)、4)分類不能に群別し、次いでCFS(疑)群を対象に、研究班で統一して実施する予定の各種指標を患者さんの同意の上実施することが最善と考え、診療体制の整備を行った。

E. 結論

名古屋大学医学部附属病院総合診療科では、「慢性疲労」を主訴とする患者の診療を2段階で行う体制を整備した。

G. 研究発表

該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定も含む)

該当なし

自律神経機能異常を伴い慢性的な疲労を訴える患者に対する客観的な
疲労診断法の確立と慢性疲労診断指針の作成に関する研究

慢性疲労症候群（CFS）における自律神経異常および深部反射亢進の検討 —治療効果判定への応用の可能性—

研究分担者 下村登規夫（国立病院機構 さいがた病院長）

研究要旨

慢性疲労症候群においては、交感・副交感神経の不均衡が存在しており、深部反射が亢進している症例が多く、中枢神経系が強く発症に関与している可能性が示唆された。

A. 研究目的

慢性疲労症候群（CFS）では、交感・副交感神経機能異常について、客観的に評価を行う。頭痛・睡眠障害などの中枢神経障害を伴っており、中枢神経障害を示唆する客観的神経所見の把握を目的とした。

B. 研究方法

CFS患者76例、健常対照者37例を対象に検討した。きりつ名人にて、交感・副交感神経機能とバランスを検討し、深部反射についても検討した。

（倫理面への配慮）

連結不可能匿名化とし、倫理審査指針に従って行った。

C. 研究結果

CFS患者では、健常対照者に比較して心拍数が有意に多く、血漿BNP（脳性ナトリウム利尿ペプチド）値（CFS：13.9pg/mL、対照者：99.3pg/mL）の有意な上昇を認め軽度の心不全状態が存在すると考えられた。深部反射の亢進が80%以上の症例で認められ、改善例では40%に減少していた。

D. 考察

CFS患者では、易疲労性・心悸亢進・睡眠異常・集中力低下などの中枢神経障害の症状に加えて自律神経症状も認められることが知られて

いる。今回の検討で、交感・副交感神経のバランスに異常をきたしている可能性がみとめられた。このことが、軽度の心不全をCFS患者に起こさせたために血漿BNP値の上昇としてとらえられたものと考えられた。深部反射の亢進はCFS患者の80%で認められ、改善とともに深部反射も正常化していることから、中枢神経症状を反映していると考えられた。

E. 結論

CFS患者に自律神経異常ならびに中枢神経異常が存在する可能性は強く示唆されたが、日内変動との関連、重症度や治療による変化などについても検討を要すると考えられた。

F. 健康危険情報

これまでの研究で、特に問題となるものはない。

（分担研究報告書には記入せずに、総括研究報告書にまとめて記入）

G. 研究発表

1. 論文発表

特になし

2. 学会発表

特になし（発表誌名巻号・頁・発行年等も記入）

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得
特になし
2. 実用新案登録
特になし
3. その他
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）
（分担）研究報告書

自律神経機能異常を伴い慢性的な疲労を訴える患者に対する客観的な
疲労診断法の確立と慢性疲労診断指針の作成に関する研究

心療内科を受診する慢性疲労を訴える患者の診療、客観的なバイオマーカーを用いた疲労の解析、うつ状態、種々の神経症状に関する研究

研究分担者 久保 千春 九州大学病院 病院長
研究協力者 吉原 一文 九州大学病院心療内科助教

研究要旨

慢性的に疲労を訴える患者の中で、うつ状態や種々の神経症状を伴う精神疾患による慢性疲労との鑑別には、症状や病歴についての問診によるものが大部分であり、客観的なデータに基づいた検査方法はない。精神疾患との鑑別が可能となるような客観的なデータが明らかになれば、診断に応じた適切な治療が可能となり、症状の改善や医療費縮小につながる可能性がある。また、過去の報告より慢性疲労症候群の自律神経機能異常とうつ病や疼痛性障害の自律神経機能異常との間には、そのパターンに差異が認められている。そこで、本研究では、まず健常人における疲労感と自律神経機能との関連および疲労感とその他の身体・精神症状との関連を調査した。

A大学病院の医師、心理士、学生より集めた健常人男性20名、平均年齢 29.1 ± 6.5 歳を対象とした。被験者は、座位にて3分間安静後、加速度脈波計を用いて3分間測定し、心拍変動（heart rate variability）の周波数解析にて低周波成分（low frequency：LF）や高周波成分（high frequency：HF）、LF/HFを算出した。また、疲労感、肩こり、頭重感もしくは頭痛、不安な気持ち、憂うつな気持ち、いらいら感の自覚症状をVisual Analogue Scaleを用いて測定した。その結果、疲労感は交感神経機能（LF/HF）と正の相関（ $P = 0.0037$, $rs = 0.618$, $y = 0.05x + 1.04$, $R_2 = 0.41$ ）があり、副交感神経（lnHF）と負の相関（ $P = 0.011$, $rs = 0.554$, $y = -0.03x + 6.41$, $R_2 = 0.42$ ）があることがわかった。また、疲労感は肩こりと正の相関（ $P = 0.0046$, $rs = 0.607$, $y = 0.71x + 1.66$, $R_2 = 0.51$ ）が認められた。しかし、疲労感は憂うつや不安との間に有意な相関は認められなかった。

今回の研究によって、健常人では慢性疲労症候群患者と同様に疲労の程度が大きい程、副交感神経機能が低下し、交感神経が優位な状態となることおよび精神疾患と異なり疲労の程度が大きい程、憂うつや不安が増大する傾向はないことが明らかとなった。

A. 研究目的

慢性的に疲労を訴える患者の中で、うつ状態や種々の神経症状を伴う精神疾患による慢性疲労との鑑別には、症状や病歴についての問診によるものが大部分であり、客観的なデータに基づいた検査方法はない。精神疾患との鑑別が可能となるような客観的なデータが明らかになれば、診断に応じた適切な治療が可能となり、症

状の改善や医療費縮小につながる可能性がある。

以前より、疲労の客観的指標のひとつとして自律神経機能検査がある。心拍変動（heart rate variability）は、自律神経機能を反映する検査として臨床的に広く用いられている。心拍変動の周波数解析にて低周波成分（low frequency：LF）や高周波成分（high frequency：HF）を算