

## B. 研究方法

**対象：**参加の同意が得られた大学生を対象にした。

**方法：**睡眠の質および精神健康度、バイオリジカルマーカーは以下のものを用いた。

**精神健康度：**精神健康度を評価するために GHQ-28 を用いた。この尺度は、最近 1 週間の精神的健康度を測定する質問紙である。

「身体的症状」、「不安と不眠」、「社会的活動障害」及び「うつ傾向」の 4 つの下位尺度で、28 項目から構成されており、4 段階の自己評定尺度である。各下位尺度とも 7 点満点である。臨床的カットオフポイントは、「身体的症状」と「不安と不眠は」2～3 点が軽度の症状、4 点以上が中等度の症状、「社会的活動障害」と「うつ傾向」は 1～2 点が軽度の症状、3 点以上が中等度の症状である。

**睡眠の質：**主観的な睡眠の質を評価するためにピッツバーグ睡眠質問票 (PSQI) を用いた。PSQI は 18 項目の尺度で、睡眠の質、睡眠時間、入眠時間、睡眠効率、睡眠困難、睡眠導入剤の使用、日中の覚醒困難の 7 つの下位尺度からなる

### 唾液の採取法および精神神経免疫学 (PNI)

**反応の測定：**唾液の採取は、口内を水で洗浄した後、唾液採取専用スピッツ (サリソフト) を用いて採取した。なお、唾液は試料分析まで  $-80^{\circ}\text{C}$  で冷凍保存した。

free-MHPG 含有量の測定はガスクロマトグラフィー質量分析計を用いて測定した。

s-IgA 抗体産生量の測定は MBL 社製 (名古屋) 専用キットを用いて EIA 法で行なった。

(倫理面への配慮)

本研究は、大学内の倫理委員会の承認を受けている。参加者の安全を第一に考える

とともに、研究結果のデータは、本研究の目的以外には利用しないこと、プライバシーを完全に厳守することを対象者に口頭と書面で説明し、同意を得た。

## C. 研究結果

### 「睡眠時間と主観的健康感及び精神神経免疫学的反応との関連性」

睡眠時間と GHQ-28 総得点、ならびに 4 下位尺度得点、PNI 反応との関連についてピアソンの相関係数を求めたところ、睡眠時間は free-MHPG 含有量とのみ有意に相関した

( $r = -.329, p < 0.05$ )。GHQ-28 総得点ならびに 4 下位尺度、s-IgA 抗体産生量には有意な相関は得られなかった。(Fig. 1)。

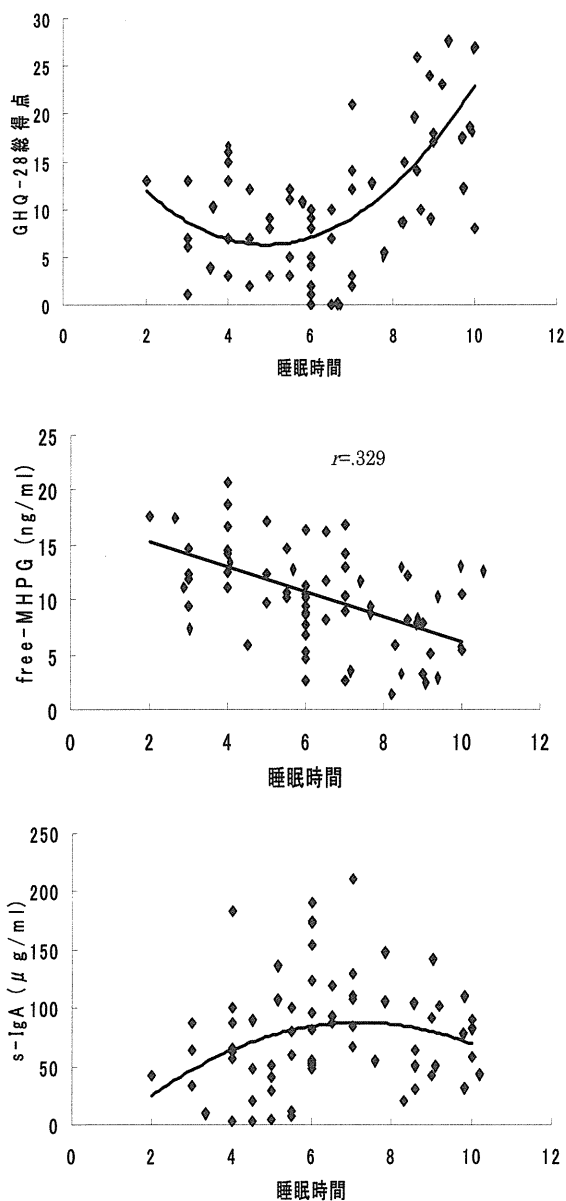


Fig.1 睡眠時間と GHQ-28 総得点及び PNI 反応との関連性

GHQ-28 によって測定された精神健康度について、睡眠時間が長い学生の「社会的活動障害」と「うつ傾向」得点は最適睡眠時間や睡眠時間の短い学生と比較すると高値を示すとともに、臨床的には中等度以上の症状得点を示す人数の割合が多かった。逆に、短時

間睡眠の学生は最適睡眠時間の学生に比較して「身体的症状」得点が有意に高く、中等度以上の症状を示す割合が多かった。最適睡眠時間であった学生では中等度以上の症状に当てはまる人数の割合がもっとも少なかった。

短時間睡眠の学生の free-MHPG 含有量は長時間睡眠の学生に比較して有意に高く、s-IgA 抗体産生量は最適睡眠時間の学生に比較して有意に低かった。一方、長時間睡眠の学生は、心身の不調をもっとも強く自覚しており、有意ではなかったが最適時間の学生に比較して free-MHPG 含有量ならびに s-IgA 抗体産生量が低値であった。

#### 「主観的睡眠時間と急性ストレスを負荷した際の心理生物学的ストレス反応との関連性」

Washio et al. (2004) を参考に睡眠時間が 6~8 時間を最適睡眠 (adequate sleep : AS) 群、5 時間以下を短時間睡眠 (short sleep : SS) 群、9 時間以上を長時間睡眠 (long sleep : LS) 群 と操作的に定義し、実験室場面でメンタルストレス・テストを負荷した際の心理生物学的反応性が被験者の主観的睡眠時間いかんによって異なることを比較検討した。

その結果、主観的ストレス反応に関して、AS 群と SS 群では、メンタルストレス・テスト負荷によって有意にエネルギー覚醒が低下し、緊張覚醒が低下した。一方、LS 群ではエネルギー覚醒、緊張覚醒ともに変化は認められなかった。しかしながら、メンタルストレス・テストに対する負担感については、睡眠時間の長さによる差違は認められなかった。

PNI 反応に関して、AS 群は MHPG と IgA と

もにメンタルストレス・テスト負荷中に有意に上昇し、回復期で順応期の水準に戻った。習慣的に6~8時間睡眠の個人はアロスタシス反応、すなわちストレスに対する適応反応を有していることが明らかとなった。これに対して、SS群のMHPGは、メンタルストレス・テスト負荷による上昇は認められなかったが、課題後に有意に上昇した。さらに、LS群のMHPG及びs-IgAでメンタルストレス・テスト負荷による変化が認められなかった (Fig. 2)。

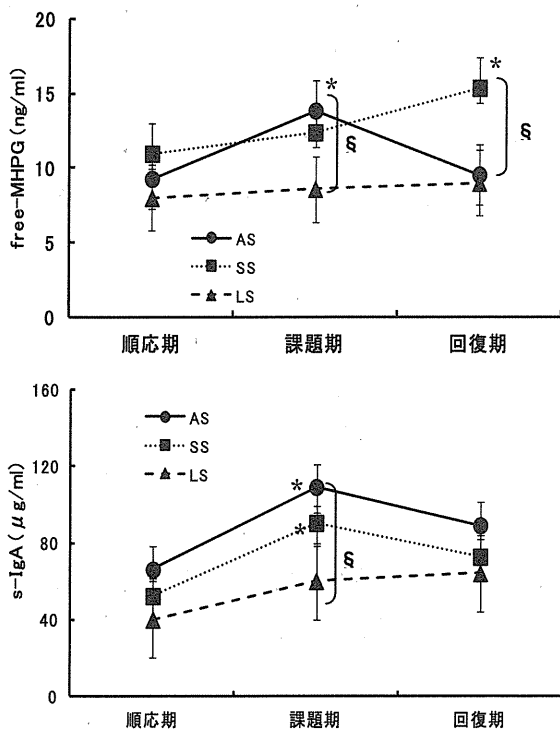


Fig. 2 睡眠時間とPNI反応との関連性  
\* $p < 0.05$  (vs 順応期), § $p < 0.05$

「日中の覚醒困難と睡眠困難が精神的健康度に及ぼす影響」

Table 1、2にPSQIおよびGHQ-28の平均値と標準偏差を示した。本研究の全対象者125名のPSQI総得点の平均値は $7.39 \pm 2.65$ であり、カットオフ値の5.5点より高かつ

た。また、GHQ-28の総得点も $7.59 \pm 5.3$ とカットオフ値である5点より高く、さらに全下位尺度の平均得点が軽度の症状レベルであった。

Table 1 PSQIの平均値および標準偏差

	平均	標準偏差
PSQI総得点	7.39	2.65
睡眠の質	1.57	0.75
睡眠時間	1.67	0.93
入眠時間	1.46	0.98
睡眠効率	0.44	0.82
睡眠困難	1.02	0.49
睡眠導入剤の使用	0.09	0.46
日中の覚醒困難	1.21	0.88

Table 2 GHQ-28の平均点および標準偏差

	平均	標準偏差
GHQ-28総得点	7.59	5.30
身体的症状	2.62	1.75
不安と不眠	2.65	1.89
社会的活動障害	1.13	1.35
うつ症状	1.20	1.82

次に、PSQIの下位尺度得点を説明変数、GHQ-28の総得点と下位尺度得点を目的変数とした重回帰分析を行った。

Fig. 1-5に示す通り、PSQIによって測定された主観的な睡眠の質の7つの要素の内、日中の覚醒困難と睡眠困難はGHQ-28によって測定された全般的な精神的健康度(総得点)と4つの下位症状(身体症状、不安と不眠、社会的活動障害、うつ)のほぼ全ての悪化を有意に予測した。PSQIの下位尺度で評価される睡眠の質(熟眠感)の低下もまた、GHQ-28による精神的健康度の低下を予測した。しかしながら、主観的な睡眠の質を左右すると目されている入眠時間や睡眠導入剤の使用、睡眠効率などの要素は、精神的健康度と有意な関連はなかった。

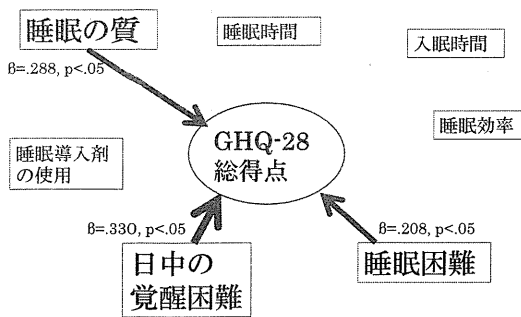


Fig. 1 GHQ-28 総得点と PSQI 下位尺度との関連

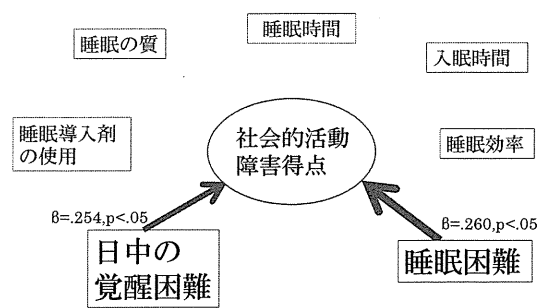


Fig. 4 社会的活動障害得点と PSQI 下位尺度との関連

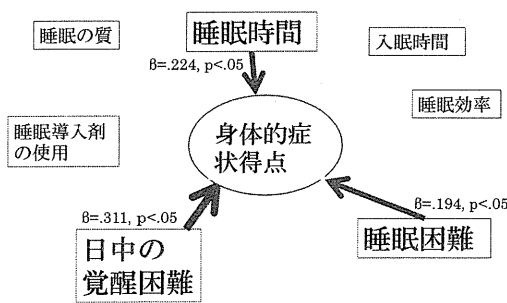


Fig. 2 身体的症状得点と PSQI 下位尺度との関連

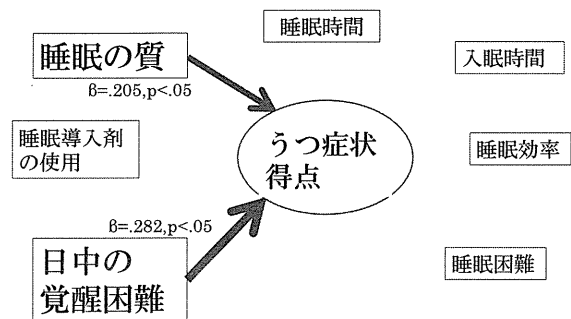


Fig. 5 うつ症状得点と PSQI 下位尺度との関連

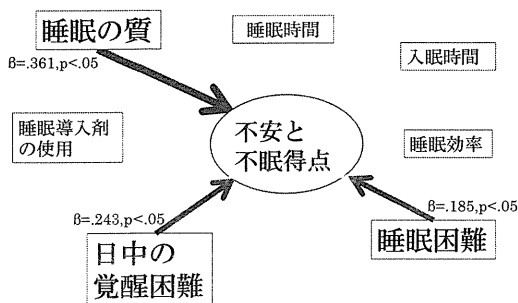


Fig. 3 不安と不眠得点と PSQI 下位尺度との関連

#### D. 考察

「睡眠時間と主観的健康感及び精神神経免疫学的反応との関連性」

睡眠時間と GHQ-28 総得点及び PNI 反応との相関分析の結果より、睡眠時間は free-MHPG 含有量と負の相関関係にあり、睡眠が短くなるにつれて、NA 神経系の活性が顕著であることが明らかとなった。さらに、散布図が示すように、6~8 時間睡眠の個人に比較して、短時間または長時間睡眠の個人ほど GHQ-28 総得点が高く、免疫機能が低下している可能性が示された

QOL の指標として用いられる GHQ-28 によって測定された精神健康度においては、最適睡眠時間であった学生では中等度以上の症状

に当てはまる人数の割合がもっとも少なかった。これらの知見は、睡眠時間が短すぎる、逆に長すぎる学生は身体的不調と疲労の自覚が強いことを示しており、睡眠時間が健康状態やストレスの自覚と深い関連にあることが示唆される。

睡眠時間の長短が PNI 反応に及ぼす影響については、免疫系と神経系間で異なる可能性が示唆された。今後さらに、睡眠時間の長さが、心理生物学的反応（心臓血管系反応、PNI 反応そして主観的ストレス反応など）に及ぼす影響を、認知-行動の変化を含めて包括的に検討する必要があるだろう。

#### 「主観的睡眠時間と急性ストレスを負荷した際の心理生物学的ストレス反応との関連性」

実験的に急性ストレスを負荷した際に生じる心理生物学的ストレス反応性は 6~8 時間睡眠よりも短い個人で著明であること、一方で長時間睡眠の個人では反応性が低いことが明らかとなった。睡眠時間いかによって、急性ストレスに対する反応性が異なることが示唆された。

#### 「日中の覚醒困難と睡眠困難が精神的健康度に及ぼす影響」

青年期後期である大学生は睡眠問題を抱えている者の割合が高く、夜更かしなど睡眠相の後退に起因した朝の起床時間の遅れといったリズム障害が問題となっている（粥ら, 2003）。本研究の PSQI および GHQ-28 得点においても、このような大学生の乱れた睡眠習慣の特徴を表していると考えられる。

GHQ-28 によって評価された精神的健康度に関連する睡眠の要素として、日中の覚醒困難と睡眠困難が関連することが明らかにな

った。日中の覚醒困難は、日中の眠気を反映する。日中の眠気が強い人は、日中の居眠りや仮眠をすることにより就寝時間が遅くなり、生活リズムが乱れるとされている（石原・福田, 2004）。また、睡眠困難は注意・集中力の低下や疲労感を生じさせるなど、昼間の活動性を損ねる（大川, 2007）。これらのことから、精神的健康度に影響を及ぼす睡眠の質として、日中の覚醒困難と睡眠困難が重要であることが示唆された。

#### 1) 達成度について

研究自体は当初の計画どおり進行したと思われる。しかしながら、当初の研究計画では、不眠症患者を対象にする予定であったが、当睡眠研究チームのスタッフや、研究施設の都合上、患者様を対象にするのが非常に困難な状況となり、急遽、大学生を対象にして研究を進めることとなった。

#### 2) 研究成果の学術的意義について

睡眠と QOL との関連性を検討した研究の多くが質問紙調査によるものであり、精神的健康度 (QOL) に影響を及ぼす睡眠の要素を主観的評価と客観的評価を同時に用いて検討した報告が少ない現況のなか、本研究の意義は大きいと思われる。

#### 3) 研究成果の行政的意義について

睡眠の質には入眠時間や睡眠効率など様々な要素が含まれているが、各要素と精神的健康度との関連について詳細に検討し、これらの関連性を主観的睡眠時間も含めて明らかにすることは、睡眠を介した精神の健康維持と増進、生活習慣病や精神疾患の予防に繋がる。

## E. 結論

本研究は、大学生を対象にフィールド-実験的研究のパラダイムを用いて、睡眠時間及び睡眠の質と精神的健康度との関連性の検討を行った。

その結果、大学生においても6~8時間睡眠が最も心身の健康と関連していること、一方、適時間睡眠の学生に比較して短時間または長時間睡眠の学生ほど心身の不定愁訴を強く自覚しているとともに、客観的なNA系神経及び免疫系機能の不調と関連することを明らかにした。さらに、精神的健康に影響を与える要素として日中の覚醒困難と睡眠困難が重要であることが示された。

これらの結果から、大学生における睡眠の問題は、睡眠不足、睡眠習慣の乱れだけでなく、心身のQOLの低下の観点も含め多面的にとらえる必要があることが示唆された。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1. 内村直尚 : インターネット調査にみる現代社会の睡眠の実態と意識の変化. 実験治療 2012 ; (707) : 114-118
2. 新小田春美, 末次美子, 加藤則子, 浅見恵梨子, 神山 潤, 内村直尚, 樗木晶子, 西岡和男, 大久保一郎, 松本一弥, 南部由美子, 加来恒壽 : 幼児の遅寝をもたらす親子の睡眠生活習慣の分析. 福岡医学雑誌 2012 ; 103 (1) : 12-23
3. Yuuki Matsumoto, Kouji Toyomasu, Naohisa Uchimura : Assessment of Physical and Mental Health in Male University Students with Varying Sleep Habits. Kurume Medical Journal 2011 ; 58 (4) : 105-115
4. Naohisa Uchimura, Atsuchi Kamijo, Takao

Takase : Effects of eszopiclone on safety, subjective measures of efficacy, and quality of life in elderly and nonelderly Japanese patients with chronic insomnia, both with and without comorbid psychiatric disorders : a 24-week, randomized, double-blind study. Annals of General Psychiatry 2012;11 (15) :1-15

5. Kosuke Ito, Tomotaka Kawayama, Yoshihisa Shoji, Noriko Fukushima, Kazuko Matsunaga, Nobutaka Edakuni, Naohisa Uchimura, Tomoaki Hoshino : Depression, but not sleep disorder, is an independent factor affecting exacerbations and hospitalization in patients with chronic obstructive pulmonary disease. Respirology 2012 ; 17 : 940-949

### 2. 学会発表

1. 内村直尚 : 【シンポジウム】地域におけるうつ病ネットワークの構築と実践. 第4回福岡県医学会総会, 福岡 2012. 1. 29
2. 内村直尚 : 【シンポジウム】うつ病・不安障害と睡眠障害の関係-メンタルヘルスにおける睡眠の重要性-. 第85回日本産業衛生学会, 名古屋 2012. 5. 31
3. 内村直尚 : 【シンポジウム】不眠症の薬物療法における理想の睡眠薬. 日本睡眠学会第37回定期学術集会, 横浜 2012. 6. 28-30
4. 内村直尚 : 【シンポジウム】睡眠医療認定施設における安全管理の必要性と今後の認定登録機関制度について. 日本睡眠学会第37回定期学術集会, 横浜 2012. 6. 28-30
5. 内村直尚 : 【シンポジウム】在宅における睡

眠の重要性とQOLに対する影響. 第3回日本プライマリ・ケア連合学会学術大会, 福岡  
2012. 9. 1-2

G. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む。)  
なし

## 過眠症患者の QOL について

分担研究者 本多 真<sup>1,2</sup>

研究協力者 土井 由利子<sup>3</sup>、宮川 卓<sup>4</sup>

- 1 公益財団法人東京都医学総合研究所
- 2 公益財団法人神経研究所附属睡眠学センター/睡眠総合ケアクリニック代々木
- 3 国立保健医療科学院疫学調査研究分野
- 4 東京大学大学院医学系研究科国際保健学専攻人類遺伝学教室

研究要旨 中枢性過眠症の眠気に伴う QOL 障害の理解とその対策推進を目的として3つの側面から研究を行った。(1) 国際生活機能分類(ICF)睡眠障害版を用いた過眠症の QOL 評価:評価対象となる心身機能 4 領域、活動と参加 4 領域での日常生活行動を選定し、実地試行した。過眠症では眠気改善後も意識注意持続障害や日課遂行障害、意欲障害など QOL 障害が持続することが示され、過眠症 QOL 評価の新視点となりうると考えられた。(2)長期予後調査:初診後 5-50 年のナルコレプシー患者 306 例から得た有効回答を解析し、慢性不治とされたナルコレプシーでも症状の完全消失が、眠気 4.0%、情動脱力発作 10.7%でみられ、ほぼ改善する割合は、眠気 19.8%、情動脱力発作 38.7%にみられた。ナルコレプシーの予後について認識を改める必要が考えられた。(3)ナルコレプシー患者を対象に、L-カルニチンの有効性をプラセボ対照クロスオーバー二重盲検臨床研究によって検証した。L-カルニチン服用により、中性脂肪の減少と血清アシルカルニチンの増加とともに、一日あたりの居眠時間合計が 58 分から 49 分へ有意に減少した。L-カルニチン補充がナルコレプシーの日中の眠気症状の改善に有用であることが示唆された。

### A. 研究目的

中枢性過眠症の眠気に伴う QOL 障害の理解とその対策推進を目的として、その評価法の開発、経過の解明、治療法探索についての研究を行った。具体的には(1)国際生活機能分類(ICF)睡眠障害版を用いた過眠症の QOL 評価の試行、(2)過眠症の長期予後の検討(慢性不治で予後不良とする従来説への反証)、そして(3)過眠症の新規治療法につながる L-カルニチン補充のナルコレプシーに対する有効性についての臨床研究である。

### B. 研究対象と方法

(1)国際生活機能分類(ICF)睡眠障害版を用いた過眠症の QOL 評価  
診断分類と重症度評価だけでは睡眠障害患者の

QOL を十分とらえることはできない。これは睡眠障害自体の重症度ではなく、随伴する高次脳機能低下により、気分や意欲、集中力、持続力といった様々な精神機能に変化が生じ、様々な面で日々の生活に支障が生じることが QOL に影響するためである。本研究では、国際生活機能分類(ICF)の睡眠障害版を中枢性過眠症患者に適応するために、ICF睡眠障害版に含まれる心身機能 4 項目(意識(b110)、意欲(b130)、睡眠(b134)、注意(b140))、活動と参加の領域の 4 項目(注意集中(d160)、日課の遂行(d230)、ストレス対処(d240)、運転(d475))のそれぞれについて、過眠症症例の QOL が障害されやすい生活行動を選択同定した。さらにこの評価指標を用いて、代々木睡眠クリニック(現睡眠総合ケアクリニック代々木)外来通院



中の過眠症症例 28 例(ナルコレプシー典型例)の生活障害の評価を試み、治療中の過眠症における QOL 障害がどの程度あるか調査を行った。

### (2)過眠症の長期予後調査

1958-2003 年に東大病院あるいは晴和病院の睡眠外来を初診しナルコレプシーと診断された症例 954 人を対象に郵送によるアンケート調査を行った。373 人からアンケートが回収され、そのうち有効回答が得られた 306 名を解析対象として選択し、長期予後の検討を行った。内訳は男性 203 人女性 103 人、年齢が  $61.1 \pm 14.1$  歳(21-89 歳)、初診後経過期間は  $24.6 \pm 11.7$  年(5.0-49.1 年)だった。ナルコレプシーの症状のうち、日中の眠気症状の経過および情動脱力発作の頻度を服薬時と非服薬時にわけて尋ねた。また現在通院中である群 227 人と通院を行っていない群 79 人について症状と経過に差異があるか統計解析を行った。

### (3)ナルコレプシーへの L-カルニチンの有効性

ナルコレプシー患者 30 名に対して、L-カルニチン 510mg 投与の臨床効果の評価するプラセボ対照クロスオーバー法による臨床研究を行った。8 週間のプラセボ期および 8 週間のカルニチン期の最後に主観評価と血液検査を行った。睡眠表記録での居眠り時間、JESS 得点などの主観的評価と血液代謝指標を評価項目とした。

## C. 結果

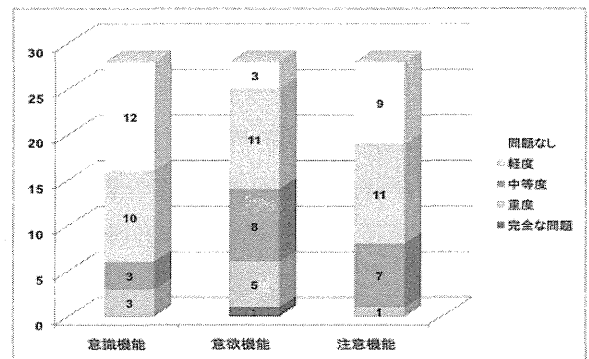
(1)ICF 睡眠障害版の過眠症適応の評価試行  
過眠症における生活機能障害の目安として以下の具体的な生活行動を取り上げた。

心身機能 4 項目：意識機能として自動症の頻度、意欲機能としては活力(SF36 サブスケール)、睡眠機能は入眠機能・睡眠維持機能・睡眠の質・睡眠周期関連機能の下位項目にわけ、特に睡眠周期関連機能障害としてはノンレム・レム構築の異常の頻度を、注意機能としては、注意持続機能に注目し歩行・起立・食事・会話の各状況下での居眠り頻度によって、評価する。

活動と参加の領域 4 項目：注意集中として、JESS 尺度に含まれる「読む」「書く」という行動中の居眠り頻度、日課の遂行として、特に帰宅後の夕食-入浴-就寝準備という一連の行動中の居眠り

頻度や情動脱力発作に伴い TV 継続視聴が制限される頻度、ストレス対処については、過眠症特異な「諦めやすい」性格傾向に着目し、ダイエットや運動等の個人の課題に回避的になる程度、そして運転については、運転中の眠気・居眠り頻度により評価した。

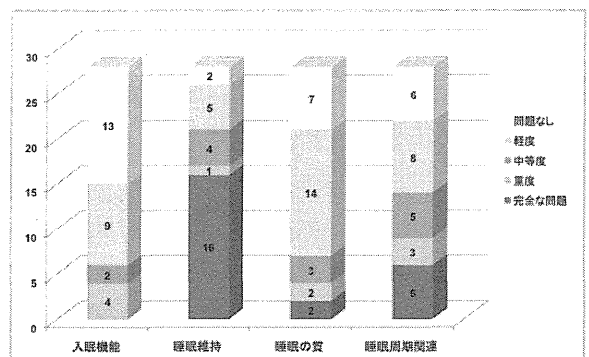
ICF を用いナルコレプシー 28 例の障害の程度を 5 段階評価した結果(0:問題なし-4:完全な問題)は以下の通りである。[図 1-3] ナルコレプシー症例



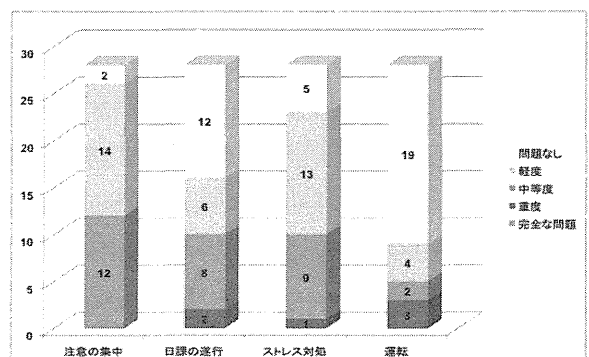
は治療中であり日中の眠気は改善しているにもかかわらず、過半数が中等度以上の意欲機能の低下を示し、また睡眠については特に維持機能が半数以上で高度に障害されることが判明した。

図1:心身機能(睡眠機能以外)

図2:睡眠機能



活動と参加の面についても、1/3 でストレス対処法



に制限があり課題を回避するか諦めやすい傾向があった。症状により運転を控えたり運転時のみ増薬する症例が多いが、運転機能の障害が高度である例が2割近く存在した。

図 3:活動と参加

(2)ナルコレプシーの長期予後

1. 現在の眠気および情動脱力発作の症状頻度(非服薬時)

非服薬時に、日中の眠気(眠くてぼんやりする)頻度および情動脱力発作が生じる頻度は、図 4 に示す通りであった。日中の眠気が完全に消失するのは6.3%に存在、また情動脱力発作は11.2%で完全に消失していた。症状が「稀にある」「たまにある」ものを含めてほぼ改善とすると、ほぼ改善する率は、日中の眠気が 19.8%、情動脱力発作が 38.7%にみられた。

次に通院群と非通院群を分けて解析を行うと、眠気が完全に消失する割合はそれぞれ、4.0%、15.4%であり、情動脱力発作が完全に消失する割合は10.7%、13.2%であって、非通院群の方が有意に高い改善率を示した。

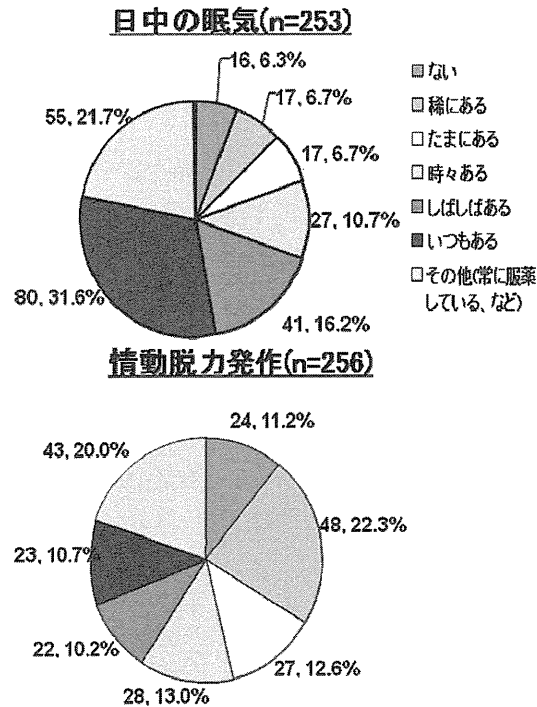
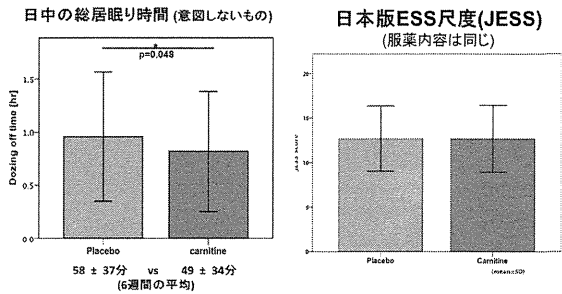
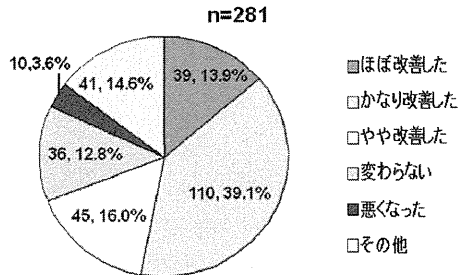


図4

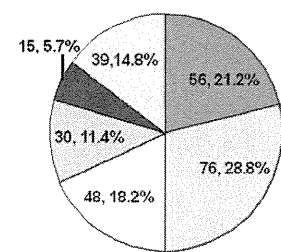
2. 初診時と現在(非服薬時)の症状比較  
初診時と現在の症状の比較を図 5 に示す。



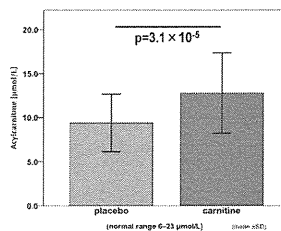
日中眠気の変化



情動脱力発作の変化



血清 アシルカルニチン分画



血清 中性脂肪

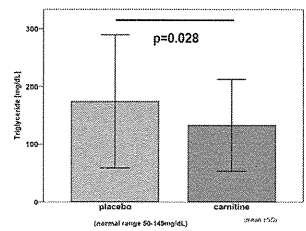


図5

長期経過により日中の眠気は 53.0%、情動脱力発作は 50.0%が、初診時より「かなり」症状の改善がみられることが示された。

通院・非通院の 2 群にわけて解析を行うと、改善率はそれぞれ眠気 65.9%と 78.6%、情動脱力発作 64.0%と 82.0%で、非通院群が有意に高い改善率を示した。

### (3)ナルコレプシーへのL-カルニチンの有効性

L-カルニチンは中性脂肪を低下させ血清アシルカルニチン分画を上昇させた。[図 6]

#### 図6: 血中代謝指標の比較

また睡眠日誌から計算した日中の居眠時間(本人が意図せずにとらえてしまう時間)の平均値は、プラセボ期で0.96時間(58分)、カルニチン期で0.82時間(49分)であり、L-カルニチン補充によって有意な減少を示した( $p=0.048$ )。一方日本版エプワース眠気尺度(JESS)は有意な変化を示さなかった。[図 7]

#### 図7: 眠気指標の比較

## D. 考察

### (1)ICF 睡眠障害版の過眠症適応の評価試行

過眠症のQOLとして日中の過剰な眠気に注意がむきがちであるが、薬物療法や生活習慣の工夫によって日中の眠気が改善して仕事はこなせている状態であっても、心身機能面でも活動と参加面でも様々な生活上の支障が存在することが示された。過眠症のQOL評価には特に活力や日課遂行など生活全般の評価が大切であると考えられた。

### (2)ナルコレプシーの長期予後

ナルコレプシーを特徴づける眠気・情動脱力発作症状の長期経過について、完全消失は眠気6.3%、情動脱力発作11.2%で認められた。ナルコレプシーにおいても、一定の割合で自然寛解が生じることが判明した。また初診時との症状比較では半数が「ほぼ改善」「かなり改善」を示した。中枢性過眠症の著しいQOL障害も、長期経過に伴い改善が見られると推察された。

通院群と非通院群の比較では、非通院群の改善率が有意に高く、軽症例が多いことが想定された。非通院群を検討対象からはずして導かれた「ナルコレプシーは不治の病」という考え方は、必ずしも正しくないことを示し、医療関係者や患者家族の認識を改める必要が考えられた。

### (3)ナルコレプシーへのL-カルニチンの有効性

L-カルニチン服用により中性脂肪低下と、アシルカルニチン分画の上昇をもたらし、脂肪酸酸化

を促進すること、また日中の居眠り合計時間を減少させたことから、L-カルニチン補充によって、脂肪酸代謝指標が改善しうること、さらにそれがナルコレプシーの症状である日中の眠気の改善につながることを示唆された。

JESS 得点では改善が見られなかったが、一日居眠時間と JESS 得点は高い相関を示し、共通した日常生活上の眠気を評価していると考えられた。結果の相違は評価法の違いにより、レトロスペクティブに1時点で評価する JESS よりも、毎日記録する日中の居眠時間がより正確な評価が可能だと考えられた。

現在、過眠症の治療の中心は中枢神経刺激薬による対症療法であるが、依存形成リスクも存在するため全く作用機序が異なる食品(L-カルニチン)の有効性確認は安全な治療法開発にもつながるものである。

## E. 結語

(1)ICF 睡眠障害版を用いた中枢性過眠症の評価について、評価内容の選定と試行を行った。診断分類や重症度評価と異なる視点から、中枢性過眠症のQOL評価が可能であることが示され、臨床場面でも有用と考えられた。

(2)初診後の長期経過の中で、慢性不治とされた中枢性過眠症の眠気症状と情動脱力発作は完全消失する可能性があること、初診時と比較すると半数以上で改善することが判明、過眠症の予後の再考が必要であると考えられた。

(3) L-カルニチンによる脂肪酸代謝促進は、過眠症に対する新規治療法となりうることを示唆された。

以上3つの側面からの研究を通して、過眠症の治療において眠気以外の日常生活機能低下にも注目すべきであること(特に意欲低下および睡眠持続障害に伴う機能障害が大きいこと)が判明した。過眠症が長期経過に伴い改善しうるという知見は、対症療法にとどまらず過眠症からの回復を目指す施策が可能であること、医療従事者の認識を改め患者家族に希望を与える内容である。そしてL-カルニチン臨床研究により、安全な過眠症新

規治療につながる可能性を見出した。今後、高度の QOL 障害をきたす過眠症診療に生かされることを期待する。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### G-1. 論文発表

1. Miyagawa T, Kawamura H, Obuchi M, Ikesaki A, Ozaki A, Tokunaga K, Inoue Y, Honda M. Effects of oral L-carnitine administration in narcolepsy patients: a randomized, double-blind, cross-over and placebo-controlled trial. PLoS ONE 8:e53707, 2013.
2. Scammell TE, Matheson JK, Honda M, Thannickal TC, Siegel JM: Coexistence of narcolepsy and Alzheimer's disease. Neurobiol of Aging 33:1318-1319, 2012 55.
3. Tokunaga K, Honda M. HLA and narcolepsy. In: (Thorpy M, Shaw T, Tafti M eds) The Genetic Basis of Sleep & Sleep Disorders. Cambridge University Press, UK (in press)
4. 本多真: 中枢性過眠症 内科 111:259-263, 2013
5. 本多真: 特発性過眠症(長時間睡眠を伴う) In: 意識と睡眠(千葉茂編) 脳とこころのプライマリ・ケア第5巻 意識と睡眠 シナジー、東京 pp655-660, 2012
6. 本多真: ナルコレプシー In: 睡眠医学アトラス(野沢胤美編) pp55-61 真興交易医書出版部, 東京, 2012
7. 本多真: 特発性過眠症 In: 睡眠医学アトラス(野沢胤美編) pp62-66 真興交易医書出版部, 東京, 2012
8. 本多真: 日中過眠の診断と評価 In: 睡眠医学アトラス(野沢胤美編) pp252-260 真興交易医書出版部, 東京, 2012
9. Ozaki A, Inoue Y, Hayashida K, Nakajima T, Honda M, Usui A, Komada Y, Kobayashi M, Takahashi K. Quality of life in patients with narcolepsy with cataplexy, narcolepsy without cataplexy, and idiopathic hypersomnia without long sleep time: Comparison between patients on psychostimulants, drug-naïve patients and the general Japanese population. Sleep Med 13:200-206, 2012.
10. Miyagawa T, Miyadera H, Tanaka S, Kawashima M, Shimada M, Honda Y, Tokunaga K, Honda M. Abnormally low serum acylcarnitine levels in narcolepsy patients. Sleep 34:349-353, 2011.
11. Kornum BR, Kawashima M, Faraco J et al (Honda M, 60人中21番目): Common variants in P2RY11 are associated with narcolepsy. Nature Genet 43:66-71, 2011.
12. 本多真: ナルコレプシー In: 今日の精神疾患治療指針(樋口輝彦、市川宏伸、神庭重信、朝田隆、中込和幸編) pp533-537 医学書院, 東京, 2012.
13. 本多真: 睡眠外来と心理職への期待 In: 精神医療の最前線と臨床心理士への期待 pp104-132 精神医療(野村俊明、下山晴彦編) 誠心書房、東京, 2011.
14. 本多真: 臨床薬理の豆知識 メチルフェニデ

- ートとペモリンの作用 睡眠医療 5:76-78, 2011.
15. 本多真:書評 眠気の科学 睡眠医療 5:228-229, 2011.
  16. 本多真:ナルコレプシーと特発性過眠症 In: 精神医学キーワード事典 (松下正明総編集) pp307-311. 中山書店, 東京, 2011.
  17. 本多真:ナルコレプシー 眠りと医療 4:37-39, 2011.
  18. Miyagawa T, Miyadera H, Tanaka S, Kawashima M, Shimada M, Honda Y, Tokunaga K, Honda M: Abnormally low serum acylcarnitine levels in narcolepsy patients. Sleep 34:349-353, 2011.
  19. Tanaka S, Kodama T, Nonaka T, Toyoda H, Arai M, Fukazawa M, Honda Y, Honda M, Mignot E: Transcriptional regulation of the hypocretin/orexin gene by NR6A1. BBRC 403:178-183, 2010.
  20. Shimada M, Miyagawa T, Kawashima M, Tanaka S, Honda Y, Honda M, Tokunaga K: An approach based on a genome-wide association study reveals candidate loci for narcolepsy. Hum Genet 128:433-441, 2010.
  21. Toyoda H, Tanaka S, Miyagawa T, Honda Y, Tokunaga K, Honda M: Anti-tribbles homolog 2 autoantibodies in Japanese patients with narcolepsy. Sleep 33:875-878, 2010.
  22. Tanaka S, Honda M: IgG abnormality in narcolepsy and idiopathic hypersomnia. PLoS ONE 5:e955, 2010.
  23. Miyagawa T, Honda M, Kawashima M, Shimada M, Tanaka S, Honda Y, Tokunaga K: Polymorphism located in TCRA locus confers susceptibility to essential hypersomnia with HLA-DRB1\*1501-DQB1\*0602 haplotype. J Hum Genet 55: 63-65, 2010.
  24. 本多真:睡眠・睡眠障害のバイオマーカー 今後の展望. 臨床精神医学 39:729-735, 2010.
- G-2. 学会発表
1. Honda M, Miyagawa T, Inoue Y, Tokunaga K. Fatty acid metabolism in narcolepsy: Efficacy of L-carnitine supplementation. In Asian Narcolepsy Forum 2012, Hong Kong 2012年10月
  2. Miyagawa T, Kawamura H, Obuchi M, Ikesaki A, Ozaki A, Tokunaga K, Inoue Y, Honda M. Effects of oral L-carnitine administration in narcolepsy patients. ASHG2012 meeting, San Francisco USA 2012年11月
  3. Kodama T, Tanaka S, Honda Y, Honda K, Honda M. Orexin changes in experimentally immunized rats by TRIB2. 21st Congress of European Sleep Research Society, Paris, France 2012年9月
  4. Honda M, Miyagawa T, Shigematsu Y, Ozaki A, Inoue Y, Tokunaga K. Clinical efficacy of L-carnitine supplementation for narcolepsy symptoms, Sleep 2012 (26th APSS meeting), Boston, USA 2012年6月
  5. 本多真 ナルコレプシーの病態と免疫系

- 自己免疫仮説と環境因子 In シンポジウム  
過眠症の病態研究の進歩 第37回日本睡眠学会, 横浜 2012年6月
6. 宮川卓、本多真、徳永勝士 ナルコレプシーの疾患感受性遺伝子の探索及び治療への応用 In シンポジウム過眠症の病態研究の進歩 第37回日本睡眠学会, 横浜 2012年6月
  7. Honda M. [Symposium] “Yutaka Honda Memorial” Work of Dr. Yutaka Honda on narcolepsy and its subsequent development. Worldsleee2011, Kyoto, 2011年10月
  8. Honda M. [Symposium] “Hypersomnia” Narcolepsy and Idiopathic hypersomnia. Worldsleee2011, Kyoto, 2011年10月
  9. Kodama T, Tanaka S, Honda Y, Usui S, Mizuno K, Honda M. Orexin changes in experimentally immunized rats by TRIB2. Worldsleee2011, Kyoto, 2011年10月
  10. Tanaka S, Honda M., Kodama T, Mignot E: NR6A1 regulates hypocretin/orexin transcription. Worldsleee2011, Kyoto, 2011年10月
  11. Honda M., Honda Y. Nocturnal aspect of central hypersomnia patients. analysis of self-completed questionnaire. Worldsleee2011, Kyoto, 2011年10月
  12. Miyata R, Honda M., Kohyama J. The effect of steroid therapy for 2 patients with narcolepsy. Worldsleee2011, Kyoto 2011年10月
  13. Ozaki A, Inoue Y, Hyashida K, Nakajima T, Honda M., Usui A, Komada Y, Kobayashi M, Takahashi K. Quality of life in patients with narcolepsy with cataplexy, narcolepsy without cataplexy, and idiopathic hypersomnia without long sleep time. Worldsleee2011, Kyoto, 2011年10月
  14. Miyata R, Honda M., Kanbayashi T, Kohyama J. Favorable effect of steroid therapy for an 11-years-old girl with acute onset narcolepsy. WASM2011 meeting, Quebec city, Canada, 2011年9月
  15. Honda M., Honda Y: Clinical characteristics of nocturnal sleep and concomitant symptoms in hypersomnias; Analysis of self-completed questionnaire. Sleep 2011 (25<sup>th</sup> APSS meeting), Minneapolis, USA, 2011年6月
  16. 本多真, 宮川卓 ナルコレプシーにおけるカルニチン代謝異常 第107回日本精神神経学会学術総会, 東京, 2011年10月
  17. Honda M., Tanaka S, Kodama T: [Symposium] “The past and future of orexin deficit narcolepsy: From the bench to the bedside” Immunological alteration in narcolepsy - possible contribution to the deficit of orexin. 第36回日本睡眠学会, 京都, 2011年10月
  18. Tanaka S, Kodama T, Honda M., Mignot E: NR6A1 regulates hypocretin/orexin transcription. 第36回日本睡眠学会, 京都, 2011年10月
  19. 本多真、宮川卓、田中進 ナルコレプシー患者の QOL 国際生活機能分類による評価 試行 第36回日本睡眠学会, 京都, 2011

- 年 10 月
20. 田中進、本多芳子、本多真、児玉亨 オレキシン発現制御領域結合因子の同定. 第 54 回日本神経化学会大会, 加賀, 2011 年 9 月
  21. 本多真 ナルコレプシー疾患関連遺伝子の探索. 第 1 回睡眠研究会～新しい睡眠研究創出の提案～, 岡崎カンファレンスセンター, 2011 年 7 月
  22. Honda M, Tanaka S, Toyoda H, Miyagawa T, Honda Y, Tokunaga K. Immunological alteration in narcolepsy. 4th Asian narcolepsy forum, Taipei, Taiwan, 2011 年 3 月
  23. Honda M, Miyagawa T, Miyadera H, Tanaka S, Kawashima M, Shimada M, Honda Y, Tokunaga K. Abnormally low serum acylcarnitine in narcolepsy patients. Sleep2010, San Antonio, USA, 2010 年 6 月
  24. Miyagawa T, Honda M, Kawashima M, Shimada M, Tanaka S, Honda Y, Tokunaga K: Genetic variants in CPT1B/CHKB and TCRA are associated with CNS hypersomnias (essential hypersomnia) other than narcolepsy with cataplexy. Sleep2010, San Antonio, USA, 2010 年 6 月
  25. Tanaka S, Kodama T, Nonaka T, Arai M, Honda M, Mignot E: NR6A1 regulates hypocretin/orexin transcription. BMB2010, Kobe, 2010 年 12 月
  26. 本多真 田中進、豊田裕美 宮川卓 本多裕 徳永勝士 ナルコレプシーの自己抗原 Trib2. 第 6 回関東睡眠懇話会, 東京, 2011 年 2 月
  27. 田中進, 本多裕, 本多真 (2010) 過眠症における IgG 異常. 日本睡眠学会第 35 回定期学術集会, 名古屋, 2010 年 7 月
  28. 本多真, 本多裕 (2010) 過眠症における夜間睡眠・合併症の臨床特徴: 自記式質問紙による解析. 第 35 回日本睡眠学会, 名古屋, 2010 年 7 月
- H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

## 睡眠障害患者の QOL を改善するための科学的根拠に基づいた 診断治療技術の開発

分担研究者 肥田昌子

研究協力者 北村真吾, 野崎健太郎, 片寄泰子

国立精神・神経医療研究センター 精神保健研究所

研究要旨 睡眠障害が QOL 低下を惹起する病態生理を解明し、睡眠障害を精密に診断するためには、個人の生物時計機能の障害を正しく評価することが必要である。しかしながら、従来法では深部体温や神経内分泌リズムの測定を数週間にわたって行う必要があり、患者への負担が大きいため、臨床の現場で普及が進まず、より実用的評価法の開発が求められている。生物時計の発振機構には、時計遺伝子群が構成する転写・翻訳制御ネットワークが深く関与しており、末梢組織にも生物時計機構が備わっていることが知られている。本研究では、リズム攪乱因子を最小限に統制した持続覚醒安静条件下において、健常被験者から末梢血および体毛を採取し、各細胞内での時計遺伝子発現量を測定した。その結果、白血球ならびに毛包細胞において *PER1*, *PER3* は有意な転写発現リズムを示すこと、従来の概日リズム位相マーカーであるメラトニン分泌リズムと有意な相関性を示すことを明らかにした。また、強制脱同調条件下、被験者の生理機能リズム位相を測定し、個人の内因性周期を決定した。さらに、同一被験者由来皮膚生検から樹立した初代線維芽培養細胞に概日リポーター遺伝子を導入して顕著な発光リズムを観測した。この末梢細胞における時計遺伝子発現リズム周期は従来法により測定した生理機能リズム周期と有意に相関することが明らかとなった。生体試料を利用した患者個人の生物時計機能評価法は、睡眠障害の診断・治療プログラムや QOL 低下を惹起する病態生理研究を行う際の有用な手法として期待される。

### A. 研究目的

本研究では、原発性及び精神疾患に伴う睡眠障害（不眠、過眠、睡眠覚醒リズム障害）が QOL 低下を惹起する病態生理を解明し、その予防と改善のための科学的根拠に基づいた診断・治療プログラムを構築するため、睡眠障害の精密な診断システムを構築することを目的とする。

睡眠覚醒、メラトニン・コルチゾール分泌量、体温、気分の変動といった行動、内分泌系、代

謝系、精神機能系の活動には約 1 日 24 時間を周期とした日内変動が存在する。このリズムは概日リズムと呼ばれ、哺乳類では脳視床下部・視交叉上核（suprachiasmatic nucleus; SCN）に存在する生物時計（中枢時計）によって駆動し、明暗サイクルや摂食タイミングなどの外因性シグナルにリセットされ、24 時間周期の明暗サイクル（昼夜リズム）へ同調する。最も強力な同調因子である環境光は、その時刻情報（明期、すなわち昼であること）を網膜視床下



部路を經由して SCN へ直接伝え、中枢リズムの位相を同調することで、個体の生体リズムを環境変化に順応させる。このように、生物時計システムは、環境情報の変化を時計本体に伝える入力部、システムの中枢をなし自律的な 24 時間リズムを形成する時計本体、そして時計から発振される概日性シグナルにより生理機能リズムを駆動する出力部から構成されている。生物時計機能は中枢のみならずほとんどの組織・器官の細胞にも備わっており(末梢時計)、中枢時計から発振される概日サイクルが末梢時計リズムを統合している。このことは末梢組織の時計機能(末梢時計機能)を測定することで個人の生物時計機能を評価できる可能性を示唆している。

体内時計システムに関わるほとんどの遺伝子は、中枢時計 SCN において約 24 時間の転写日周リズムを示し、この時計遺伝子群の転写・翻訳制御に関わるフィードバックループが体内時計システムの中核をなす。また、リン酸化やユビキチネーションといったタンパク修飾も概日リズムの形成に重要な役割を担っている。転写因子 CLOCK と BMAL1 はヘテロダイマーを形成し、E-box 配列を介して DNA に結合することで、時計遺伝子群である *Per* (*Period* 1, *Per*2, *Per*3, *Cry* (*Cryptochrome*) 1, *Cry*2 やレチノイン酸関連核内受容体 *Ror* $\alpha$ , *Ror* $\beta$ , *Ror* $\gamma$ , *Rev-Erb* $\alpha$ , *Rev-Erb* $\beta$  などの転写を活性化する。転写翻訳後、時計遺伝子産物 PER は CKI (Casein Kinase I) によりリン酸化修飾を受け、ある定まった量に達したところで CRY と複合体を形成し核内へと移行する。そして、PER:CRY 複合体は、CLOCK:BMAL1 によって活性化された自らの転写を抑制するネガティブフィードバックを形成する。一方、同様に CLOCK:BMAL1 の制御下にある核内受容体である ROR $\alpha$  と REV-ERB $\alpha$  は、*Bmal1* プロモーター上に存在する RORE 配列に結合し、ROR $\alpha$  は *Bmal1* の転写を活性化し REV-ERB $\alpha$  は *Bmal1* の転写を抑制することが知られている。

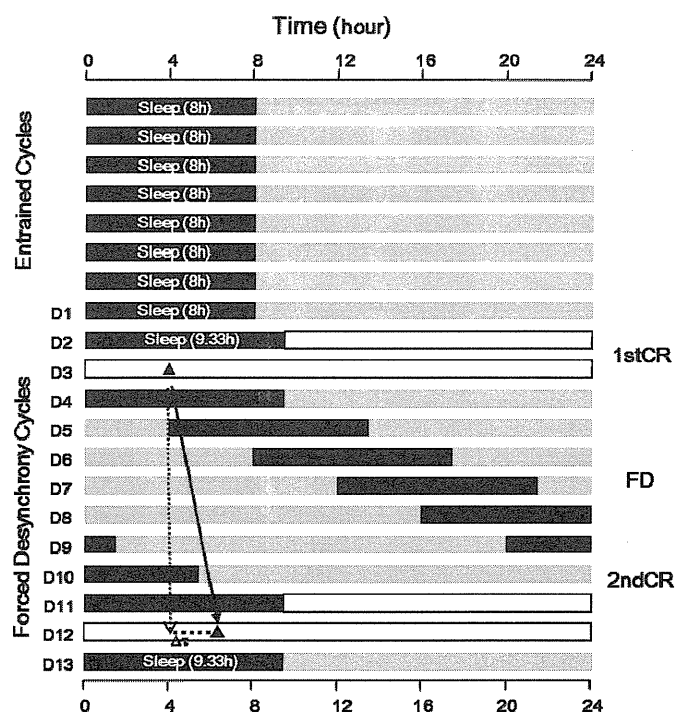
そこで、臨床の現場で入手可能な生体組織由来末梢細胞中の時計遺伝子発現リズムを測定が、個人の生物時計機能特性を評価法として有用であるかどうか検討した。

## B. 研究方法

被験者: 19 歳から 39 歳(平均年齢 22.6  $\pm$  4.3 歳)の健常男性 17 名。Horne-Östberg 朝型夜型質問紙により分類された中間型 9 名と夜型 8 名。睡眠障害、精神疾患もしくは重篤な身体疾患に罹患していない者、交替制勤務に従事していない者、過去半年間に海外旅行などで 6 時間以上の睡眠時間の変更のなかった者。

### 研究 1

7 日間の生活統制後に連続 13 日間(12 泊 13 日)、隔離実験室にて生理実験を行った。1 日目の夜に実験室で睡眠をとり、2 日目の朝からコンスタントルーチン法に従って 38 時間 40 分の連続覚醒実験を行った(1<sup>st</sup> CR)。その後、連続 7 日間にわたり、睡眠時間帯が毎日 4 時間ずつ遅れていく強制脱同調プロトコルを実施した(FD)。再び、38 時間 40 分の連続覚醒実験



を行った(2<sup>nd</sup> CR). 連続覚醒実験(1<sup>st</sup> CRと2<sup>nd</sup> CR)では以下の概日リズム指標を測定し, 脱同調前後のリズム位相から内因性周期を算出した.

- ・ 神経内分泌リズム: 静脈内持続留置カテーテルによる無痛採血を1時間間隔で34回行い, 各ポイントにおける血漿中のメラトニン, コルチゾール分泌レベルを測定し, 位相を評価した.(被験者17名)
- ・ 遺伝子発現リズム: 静脈内持続留置カテーテルによる無痛採血を1時間間隔で行い, 各ポイントにおける血中の時計遺伝子発現リズムを測定した(被験者13名). 毛髪もしくは髭を2時間間隔で採取し, 各ポイントにおける毛包細胞中の時計遺伝子発現リズムを測定し, 位相を評価した(被験者8名).

## 研究2

被験者17名に皮膚生検を行い, 皮膚由来の線維芽培養細胞において時計遺伝子発現リズムを測定した.

- ・ 被験者の背部皮膚採取部位から局所麻酔下で生検トレパン(直径2mmの筒状のメス, Kai Industries)を用いて皮膚切片(直径2mm×深さ5mm)を採取した. 皮膚小切片から初代線維芽培養細胞を樹立し, 概日リポーター遺伝子(概日時計遺伝子プロモーター+ルシフェラーゼ遺伝子)を初代培養細胞に導入後, 微弱発光測定装置LM-300(Hamamatsu)やLumiCycle(Actimetrics)を用いて発光リズムをリアルタイムに測定し, 細胞内での時計遺伝子発現リズム特性(周期)を評価した.

(倫理面への配慮)

被験者の生命, 健康, プライバシー及び尊厳を守ることを最優先として, ヒトを対象

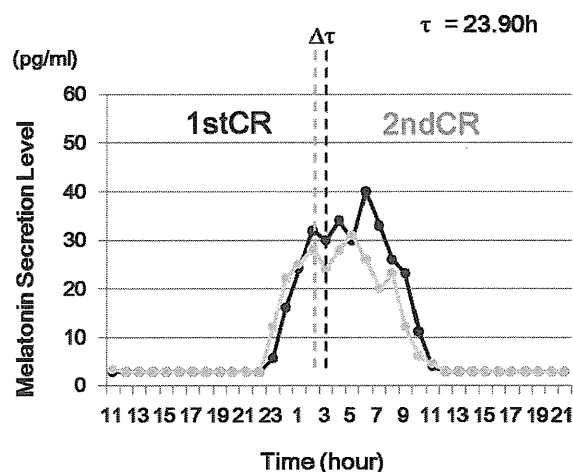
とする医学研究の倫理的原則である「ヘルシンキ宣言」, 「臨床研究に関する倫理指針(平成20年7月31日全部改正)」に従い研究を遂行した. 被験者の氏名など個人情報ならびに血液・体毛・皮膚切片など生体試料について個人情報管理者による連結可能匿名化を行った. 符号と番号によって匿名化された後, 試料の分析, 解析に関連するすべての作業が行われ, 同意書, 試料, 解析データは国立精神・神経医療研究センターにおいて施錠された場所にて厳重に保管されている. 本研究は, 国立精神・神経医療研究センター倫理委員会で審議を受け承認を得た上で実施した.

## C. 結果

### 研究1

#### i. 生理機能リズム

概日リズムに影響を及ぼす攪乱因子を最小限に統制した持続覚醒絶対安静条件下(コンスタントルーチン法)で, 1時間間隔で採取した血漿中のメラトニンおよびコルチゾール分泌量を測定したところ, 顕著な概日リズム性が観測された. 脱同調実験前後の各生理機能リズム位相から算出されたメラトニン分泌リズム周期は23.90~24.67h(mean±SD:24.18±0.20h), コルチゾール分泌リズム周期は23.96~24.87h(mean±SD:24.34±0.33h)であった. メラトニン, コルチゾール分泌リズム周期は個



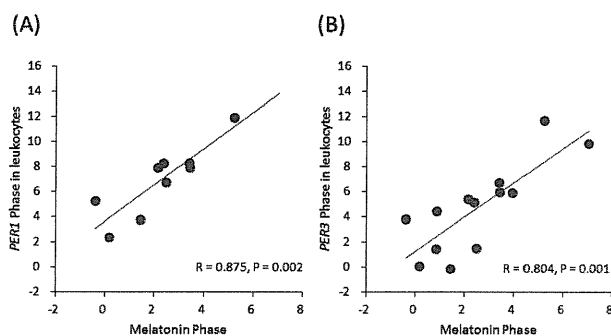
人間で違いが認められたが、両生理機能リズムは個人内において強く相関していることが明らかとなった ( $R=0.786$ ,  $P<0.001$ ).

血漿メラトニン、コルチゾールは顕著な概日リズムを示し、強制脱同調実験により決定されたリズム周期も約 24 時間に近似していた。ゆえに、本研究の実験条件は、攪乱因子の影響や 1 時間間隔のサンプリングの影響を最小限に抑えられていると考える。

### ii. 末梢血中の時計遺伝子発現リズム

1 時間間隔で採取した末梢血中の時計遺伝子 *PER1*, *PER2*, *PER3*, *BMAL1* および内部標準用遺伝子 *GAPDH* の転写発現量を測定した。*PER1* は 13 人中 9 人が、*PER2* は 3 人が、*PER3* については 13 人全員が、*BMAL1* は 8 人が有意な概日リズム性を示した。末梢血中の *PER1*, *PER2*, *PER3*, *BMAL1* 転写発現リズムの頂点位相はそれぞれ  $06:55 \pm 00:5$ ,  $05:41 \pm 02:35$ ,  $04:45 \pm$

$00:59$ ,  $15:42 \pm 01:58$  であった。末梢血中時計遺伝子発現リズム位相と生理機能リズム位相を比較した結果、*PER1* および *PER3* 転写発現リズムはメラトニン分泌リズム (*PER1*:  $R = 0.875$ ,  $P = 0.002$ ; *PER3*:  $R = 0.804$ ,  $P = 0.001$ ) およびコルチゾール分泌リズム (*PER1*:  $R = 0.817$ ,  $P = 0.007$ ; *PER3*:  $R = 0.791$ ,  $P = 0.001$ )



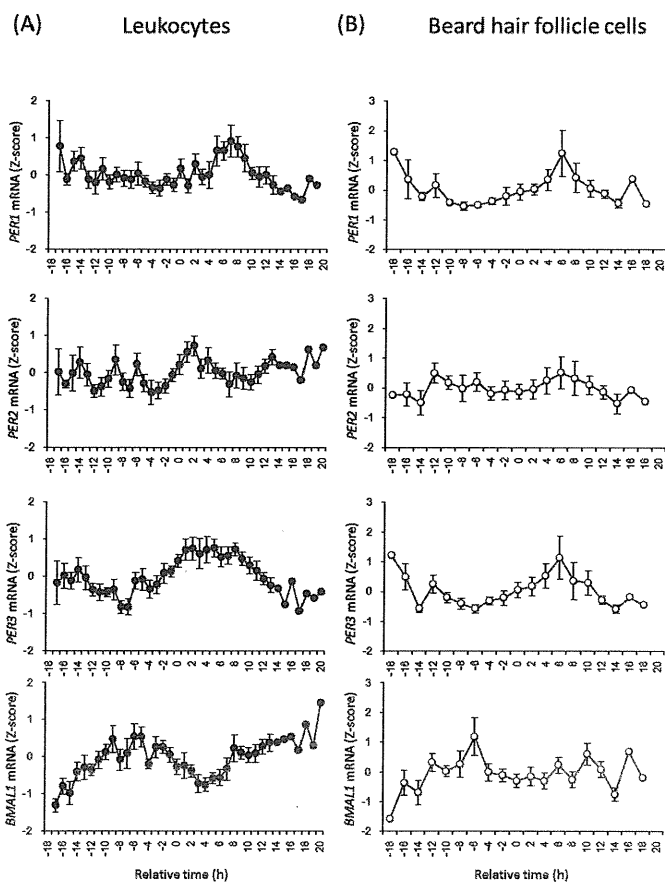
と非常に高い相関性を示すことが明らかとなった。

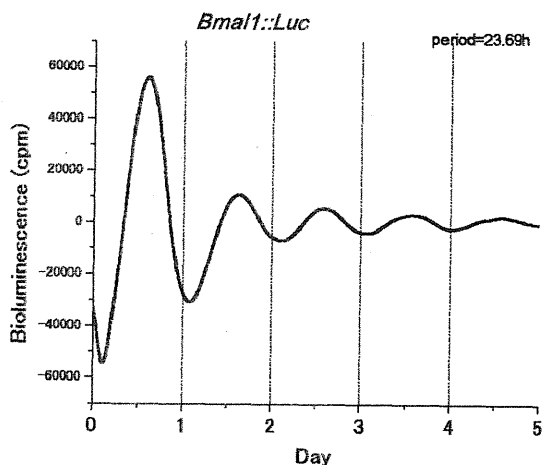
### iii. 毛包細胞中の時計遺伝子発現リズム

時計遺伝子発現リズムを解析した 13 人中 5 人の体毛由来毛包細胞から十分な RNA を抽出することができなかったため 8 人について解析を行った。2 時間間隔で採取した体毛由来の毛包細胞中の時計遺伝子 *PER1*, *PER2*, *PER3*, *BMAL1* および内部標準用遺伝子 *GAPDH* の転写発現量を測定した。*PER1* は 8 人中 5 人が、*PER2* は 2 人が、*PER3* については 6 人が、*BMAL1* は 3 人が有意な概日リズム性を示した。毛包細胞中の *PER1*, *PER2*, *PER3*, *BMAL1* の転写発現リズムの頂点位相はそれぞれ  $05:50 \pm 00:58$ ,  $05:49 \pm 00:13$ ,  $06:14 \pm 00:55$ ,  $18:37 \pm 00:18$  であった。毛包細胞中の時計遺伝子発現リズムはメラトニン分泌リズム位相と有意な相関は認められなかった。

### 研究 2

皮膚生検より樹立した初代線維芽培養細胞に概日リポーター遺伝子 *Bmal1::Luc* (*Bmal1* プロモーター+ルシフェラーゼ遺伝子) を導入し、細胞内におけるルシフェラーゼ発光量変化





を測定したところ、顕著な概日リズムが認められた。

*Bmal1::Luc* 発光リズム周期は中間型 9 名において 22.07~24.14 h (mean ± SD: 23.09 ± 0.55 h), 夜型 8 名において 22.63~24.95 h

(mean ± SD: 23.87 ± 0.77 h) を示した。同一個人内における生理機能リズム周期と末梢時計機能リズム周期に相関性があるか調べたところ、中間型において強い相関性が認められた ( $R = 0.767$ ,  $P = 0.016$ )。一方、夜型ではメラトニン分泌リズム周期と *Bmal1::Luc* 発光リズム周期の間に相関性は存在しなかった ( $R = -0.364$ ,  $P = 0.375$ )。メラトニン分泌リズム周期は中間型と夜型の間で有意な差は認められなかったが ( $P = 0.350$ ), *Bmal1::Luc* 発光リズム

となった ( $P = 0.028$ )。

#### D. 考察

末梢血中の *PER1*, *PER3* 遺伝子発現リズム位相は個人の生物時計特性を評価する有用なマーカーであること、また、体毛由来毛包細胞も内在性の生物時計機能を有すること、生物時計機能評価の生体試料として有用である可能性が示された。

皮膚生検より樹立した初代線維芽培養細胞に導入した概日リポーター遺伝子 *Bmal1::Luc* 発光リズムを測定することで個人の生物時計機能評価が可能であること、また、夜型被験者は内的脱同調を起こしやすいハイリスク群であることが示唆された。

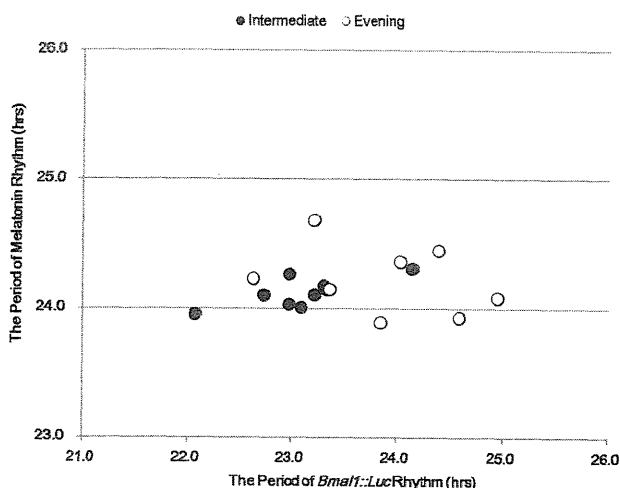
個人の生物時計特性に合致しない睡眠習慣を長期間続けることで、自律神経系や神経内分泌などの生理機能リズムと睡眠・覚醒サイクルが調和しないことにより (内的脱同調), 不眠などの睡眠障害のリスクが高まることが知られている。さらには、気分障害、自律神経症状、免疫機能障害のリスクも高まり、QOL は著しく低下する。生体組織を利用した個人の生物時計機能評価法が確立することで、QOL 低下を惹起する病態生理の解明に大きく貢献することが期待される。

#### E. 結語

末梢時計リズムは生理機能リズムと有意な相関性を示すことから、生体試料を利用した個人の生物時計機能の評価が可能となることが明らかとなった。夜型では、末梢時計リズムと生理機能リズムに相関は認められなかった。この手法は、睡眠障害の診断・治療プログラムや QOL 低下を惹起する病態生理研究を行う際の有用な評価法として期待される。

#### F. 健康危険情報

特になし



ム周期は夜型が中間型より長いことが明らか