

レス度の亢進が長期間続くことにより病的疲労状態に陥ると推測される (図 4)。

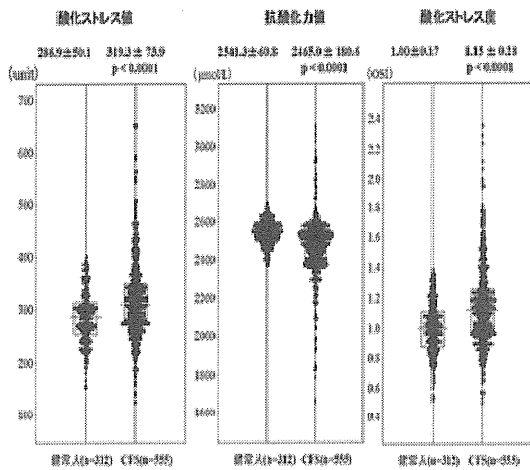


図4 慢性疲労モデルにおける酸化ストレス度の変動

### 3. 東日本大震災被災者の酸化ストレス度評価

東日本大震災被災者 369 名の震災被災半年後 (2011 年 10 月) の相対的酸化ストレス度 (酸化ストレス値/抗酸化力値) を山口県一般住人 339 名と比較検討した結果、震災被災者で酸化ストレス値が明らかに増加していたが (図 5-A)、抗酸化力値の有意な低下は見られなかった (図 5-B)。これらの結果から、震災被災者の多くが亜急性 (産業) 疲労状態にあると推測される。さらに、個々の症例について詳細に検討した結果、震災被災者の 12.2% (45/369 名) で抗酸化力値が明らかな低下を示す慢性 (病的) 疲労状態が確認された。

これらのデータを基に、病的疲労状態にある震災被災者に対して注意喚起を行ったところ、翌年 (2012 年 10 月) の酸化ストレス値/抗酸化力値評価では、酸化ストレス値の低下と抗酸化力値の増加など明らかな改善が見られた。特に抗酸化力値の異常低値を認めたものは 5 名に減少しており改善が認められた (図 6)。

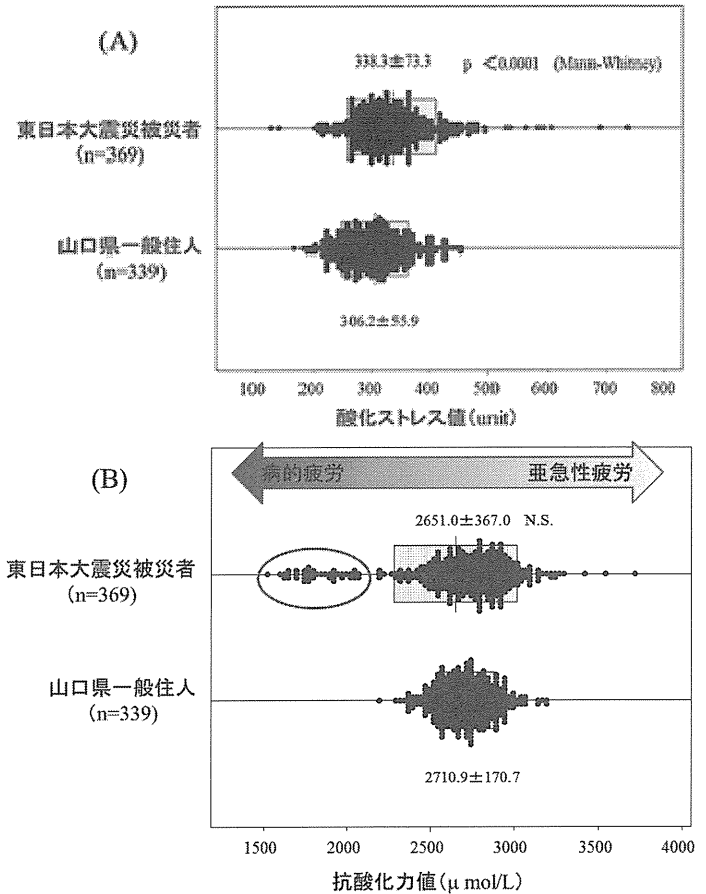


図5 東日本大震災被災者と一般住人との比較

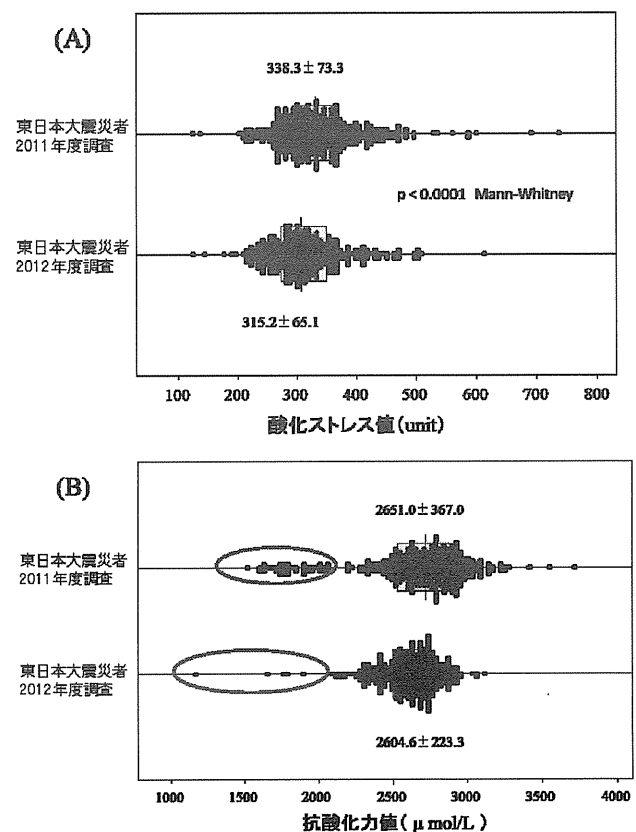


図6 東日本大震災被災者における酸化ストレス値および抗酸化力値の変化

## D. 考察

本研究では、これまで検査診断による分類が不可能であった急性疲労・亜急性疲労・慢性疲労状態を酸化ストレス値／抗酸化力値を同時測定することにより客観的に鑑別分類できることを明らかにした。それらのデータを基に、東日本大震災被災者の疲労状態評価を実施した結果、震災被災者の多くは亜急性疲労状態であり、勤務時間の制限による休息や、精神面のケアで不安を解消することにより疲労状態が改善されることを実証した。さらに、被災者の一部には病的疲労状態にある患者が存在していることを確認し、注意喚起を実施した結果、多くの患者で酸化ストレス度の改善が認められた。このように酸化ストレス値と抗酸化力値の評価は、病的疲労状態を客観的に定量できるとともに、治療効果の判定や予後の推測にも有用であることが示唆された。

## E. 研究発表

### 論文発表

1. Nojima J, Motoki Y, Aoki N, Tsuneoka H, Ichihara K. A novel ELISA system for simultaneous detection of six subclasses of anti-phospholipid antibodies for prediction of thrombotic complications among SLE patients. *Thromb Res*. 2014 (in press)
2. 本木由香里, 青木なつみ, 常岡英弘, 市原清志, 野島順三. Multiple aPL-ELISAs を用いた抗リン脂質抗体症候群検査診断の有用性. *日本検査血液学会雑誌*. 2014. 印刷中
3. Yamamoto S, Kishishita Y, Yoshida M, Miura D, Suzuki H, Ishikawa K, Miyazaki H, Nojima J, Yamamoto M, Ishikawa T. Activation of different signals identified with glia cells contribute to the progression of hyperalgesia. *Cell Mol Neurobiol*. 33(2): 167-174, 2013.

### 学会発表

1. 野島順三. 血管内皮細胞が掌る血栓制御機構 - 血小板・凝固・線溶機構のバランスと破綻 - 高知県臨床検査技師会学術部血液研究班講演会 2014年3月1日 高知(招待講演)

2. 本木由香里, 野島順三. 抗ホスファチジルセリン/プロトロンビン抗体 (aPS/PT) ELISA キットの健常人参考値の設定と血栓性合併症との関連. 第8回日本血栓止血学会学術標準化委員会シンポジウム 2014年2月22日 東京
3. 野島順三. 抗リン脂質抗体症候群の疾患概念と診断プロセス. 第34回山口臨床血液例会 特別講演 2014年1月24日 山口(招待講演)
4. 野島順三. 血小板・凝固・線溶機構のバランスと破綻 - 後天性凝固異常症を中心に - 岡山県臨床検査技師会講演会 特別講演 2013年11月30日 岡山(招待講演)
5. 野島順三. スキルアップにおけるモチベーションの維持 キャリア形成セミナー「大学教員・技師」. 第8回日本臨床検査学教育学会学術大会 2013年8月27日 大阪(招待講演)
6. 本木由香里, 青木なつみ, 野島順三. Multiplex-ELISA 開発による抗リン脂質抗体症候群の検査診断の向上. 第8回日本臨床検査学教育学会学術大会 2013年8月28日 大阪
7. 青木なつみ, 本木由香里, 山本美佐, 野島順三. 全身性エリテマトーデス患者における単球走化性活性化因子 (MCP-1) 濃度と抗リン脂質抗体および血栓性合併症発症との関連. 第14回日本検査血液学会学術集会 2013年7月28日 東京
8. 本木由香里, 青木なつみ, 山本美佐, 河野裕夫, 常岡英弘, 野島順三. 抗リン脂質抗体症候群患者における動脈硬化性病変発症機序の解明. 第102回日本病理学会総会 2013年6月7日 札幌
9. 野島順三, 本木由香里, 青木なつみ. 各種抗リン脂質抗体 ELISA の標準化に向けて - aPLs-ELISA の臨床的意義と健常人基準範囲の設定 - . 第7回日本血栓止血学会学術標準化委員会 (SSC) シンポジウム. 2013年1月12日 東京

## F. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得
  2. 実用新案登録
  3. その他
- いずれも該当なし

厚生労働科学研究費補助金（障害者対策総合研究事業）（神経・筋疾患分野）  
（分担）研究年度終了報告書

慢性疲労症候群の病因病態の解明と画期的診断・治療法の開発

## 38項目疲労質問表による主観的疲労評価と心拍変動解析による自律神経機能に関する研究

研究分担者 田島 世貴

（兵庫県立リハビリテーション中央病院子どもの睡眠と発達医療センター 医長）

### 研究要旨

本研究では、疲労関連症状質問表による主観的疲労評価と、すでに慢性疲労症候群における客観的バイオマーカーとしての有用性が示されている心拍変動解析による自律神経指標との関連について検討する。対象は十分な説明の後インフォームドコンセントを得た、参加時点で継続的な治療を要する病歴がなく実際に加療を受けていない20歳から59歳の2390名の健常人である。主観的疲労評価には倉恒による38項目疲労関連症状質問表を用いた。心拍変動解析では、心電図Ⅱ誘導からR-R間隔を検出し、MemCalc法による周波数パワースペクトル解析により主に交感神経活動を反映するLow frequency component power (LF)、主に副交感神経活動を反映するHigh frequency component power (HF)、全体のゆらぎ、すなわち系の環境変化対応予備能に関連するTotal power、交感神経緊張の指標とされるLF/HF ratioを得た。主観的疲労評価と自律神経機能指標には有意な線形相関は認めなかった。この結果から考えられることは、想定条件の多くが1分程度と短時間からのデータであったことと、主観的疲労指標と自律神経機能からの疲労状態評価は独立している可能性があるということである。今回は健常者に関する検討のみを報告し、引き続き慢性疲労症候群患者群、慢性疲労症候群の診断基準は満たさないものの疲労状態にある群での検討を行っているので次年度以降に多群間の比較を行う予定である。

### A. 研究目的

慢性疲労症候群は中枢神経機能、内分泌機能、免疫能の変調から6ヶ月以上継続・あるいは断続的に遷延する強い疲労感を主徴とし、前頭葉機能障害、自律神経失調症状、消化器症状などにより日常生活に強い障害をもたらす疾患である<sup>1)</sup>。本邦における慢性疲労症候群病態の解明、バイオマーカー検索に関する研究は世界をリードしており、その成果を受けて他国に先駆け、臨床症状のみならず、以下の項目を客観的な診断のための補助検査として用いることを提案した<sup>2)</sup>。

- 活動量計から睡眠判定を行い求めた睡眠時間が448.5分以上であること。
- 活動量計から得られる日中の活動量が一定基準を下回っていること（AMI社MicroMiniであればZC値189.7以下）。

- 心拍変動から周波数パワースペクトル解析を行い、主に副交感神経活動を反映すると考えられるHF power値が、各年齢基準値を下回っていること（20歳代365.9以下、30歳代349.3以下、40歳代250.0以下、50歳代122.7以下）。
- 単純計算課題における反応時間が1.217秒以上であること。
- 酸化ストレス評価のうち抗酸化力値（BAP）が2532.2 $\mu$ mol/L以下であること。

これらの補助診断項目の選定は、慢性疲労症候群について十分な臨床経験をもつ医師の診断を最善に判別できる感度・特異度をもつものであり、かつ多くの医療機関で実施可能な項目を基準としている。このように診断に関する感度・特異度の観点では多くの検討がなされてい

るが、慢性疲労症候群患者の主観的な疲労状態との関連については課題として残されている。

主観的な疲労状態の評価は質問表に頼らざるを得ないが、慢性疲労症候群だけではなく他の強い疲労感を伴う疾患に特化したものを含めこれまでに多くの質問表が提案されてきた<sup>3-14)</sup>。我々も倉恒による38項目からなる疲労関連症状質問表について検討を行い、構成概念の妥当性、内の一貫性、因子分析の結果得られた因子のうち、前頭葉機能や睡眠関連症状得点については、実際の精神作業負荷や睡眠計測による睡眠指標との関連がみられることから、慢性疲労病態の把握に有用であることを報告している<sup>15)</sup>。

本研究では、38項目疲労関連質問表による主観的疲労状態の評価と心拍変動による自律神経機能指標との関連があるか否かについて検討を行いたい。

## B. 研究方法

対象： 研究参加時点で継続的治療の必要がないことが確認されており、実際に投薬などを受けていない20歳から59歳までの健常人2390名を対象とした。健常人は医師の面談の結果、生活リズムが整っており、現在病的疲労感がなく日常生活に支障がない上に、疲労に関わる疾患の既往歴および現病歴がないことを確認し、特にCFS診断基準におけるパフォーマンスステータスが0ないし1のものに限定した。

倫理面への配慮： 対象者から本研究を分担する各医療機関の倫理委員会で承認された研究計画に基づき、インフォームドコンセントを得た。

方法： 38項目疲労関連症状質問表は印刷物に自記で回答を求め、回収の際に未回答のものがあつた場合、本人に確認し記入漏れがないようにした。38項目の内容は最後に参考資料1で示す。回答は症状の程度について「全くない」から「非常にある」までの5件法で回答を求めた。

心拍変動は両手首もしくは指尖からII誘導の心電図を1分もしくは2.5分計測し、MemCalc法で周波数パワースペクトル解析を行った。心拍変動からパワースペクトル解析を行う場合、5分間の計測が推奨されているが、我々が採用した方法でも5分間の計測と比較しても差し支えない精度が得られることを確認した<sup>16)</sup>。

解析： 38項目疲労関連症状質問表は既報論文の因子分析結果に従い、膠原病・自律神経失

調、不安・抑うつ、過労、不眠、前頭葉機能抑制、過眠、皮膚症状、慢性疲労の8因子に含まれる項目の素点合計得点をそれぞれの因子について算出した。これらの解析には解析環境R<sup>17)</sup>を用いた。

心拍変動による周波数パワースペクトル解析はMemCalc (GMS, 東京)を用いて行った。0.04-0.15HzをLow frequency component (LF)、0.15-0.5HzをHigh frequency component (HF)として各帯域におけるパワースペクトル積算値(msec<sup>2</sup>)を指標とした。また、LF+HFを全体のゆらぎの指標に相当するTotal powerとして用い、交感神経緊張が有意であるか否かを示すLF/HF ratioも併せて自律神経機能指標として算出した。

## C. 研究結果

結果： 図1に、各自律神経指標の年齢変化を散布図で示す。LF power、HF power、Total powerはいずれも加齢に伴い低下を示した。LF/HF ratioについては加齢による明らかな変化は認めなかった。すべての指標について男性が女性と比較して高い数値を示しているが、これらのことはこれまで多くの研究で報告されていることを確認したといえる。

図2-図9に、疲労関連質問表による8因子得点と各自律神経機能指標の関連を散布図で示す。因子得点と自律神経機能指標間には有意な相関を認めなかった。

## D. 考察

今回の結果からは自覚的な疲労症状得点と自律神経機能指標に有意な相関を見いだすことが出来なかった。急性疲労においては疲労症状得点と自律神経機能指標には関連を見いだしていたが、今回は作業による疲労負荷をかけない状態での検討であつたこと、対象が健常者であつたこと、計測前に十分な安静が確保されていない例が含まれていること、心拍変動計測が1分とかなり短い例が多く含まれていることが関連しているかもしれない。

今後は慢性疲労症候群患者群、その他の慢性疲労病態群との比較を行う必要がある。

## E. 結論

まとめ： 1分程度の短時間心拍変動計測を用いた検討では、健常人においては自覚的疲労関連症状質問表による疲労重症度と自律神経機能からみた疲労関連変化に明確な相関はなかった。このことは、十分な安静の後に2~5分

程度の十分な時間継続した心拍変動計測ではなかったという、計測条件の違いから生じていることが考えられた。今後、疲労病態を評価するためには短時間計測には短時間計測で評価できるポイント、2.5分以上の比較的長い時間検査を行った場合に得られる指標から評価できるポイントを明らかにしていく必要がある。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Yamaguti, K., Tajima, S., & Kuratsune, H. (2013). Autonomic Dysfunction in Chronic Fatigue Syndrome. *Advances in Neuroimmune Biology*, 4(4), 281-289.
- 2) Shigihara, Y., Tanaka, M., Ishii, A., Tajima, S., Kanai, E., Funakura, M., & Watanabe, Y. (2013). Two different types of mental fatigue produce different styles of task performance. *Neurology, Psychiatry and Brain Research*, 19(1), 5-11.
- 3) Fujii H, Koyama H, Fukuda S, Tokai H, Tajima S, Koizumi J, Yamaguti K, Kuratsune H, Watanabe Y, Hirayama Y, Shoji T, Inaba M, Nishizawa Y. (2013). Autonomic Function is Associated With Health-Related Quality of Life in Patients With End-Stage Renal Disease: A Case-Control Study. *Journal of Renal Nutrition*. 23(5), 340-347.
- 4) Kawamoto, K., Kuriyama, H., & Tajima, S. (2013). Actigraphic Detection of REM Sleep Based on Respiratory Rate Estimation. *Journal of Medical and Bioengineering Vol*, 2(1), 20-25.

### 2. 学会発表

#### 国際学会発表

- 1) Seiki Tajima, Teruhisa Miike, Tsutomu Maeda: Sleep education during elementary school prevents school non-attendance in junior high school years. Oral presentation. IACFS/ME 11th Biennial International Research and Clinical Conference in San Francisco, California, USA, March 20-23, 2014.
- 2) Seiki Tajima, Teruhisa Miike, Ikuo Konishi: Patients with pediatric chronic fatigue syndrome comorbid with autistic spectrum disorder show less sympathetic tone. Poster presentation. IACFS/ME 11th Biennial International

Research and Clinical Conference in San Francisco, California, USA, March 20-23, 2014.

### 2. 国内学会発表

三池 輝久、田島 世貴、前田 勉：小児慢性疲労症候群（不登校）予防対策．第9回日本疲労学会総会・学術集会、秋田市、2013年6月．

### 引用文献

- 1) 田島世貴、倉恒弘彦．慢性疲労症候群．*総合臨牀*．2006； 55(1):35-41.
- 2) 倉恒弘彦、他：厚生労働科学研究費補助金（障害者対策総合事業）（神経・筋疾患分野）（分担）研究年度終了報告書 慢性疲労症候群（CFS）診断基準（平成25年3月改訂）．  
<http://www.fuksi-kagk-u.ac.jp/guide/efforts/research/kuratsune/h24/pdf/h24butan.pdf>
- 3) Norcross JC, Guadagnoli E, Prochaska JO. Factor structure of the Profile of Mood States (POMS): two partial replications. *J Clin Psychol* 1984;40:1270-1277.
- 4) Ware JE Jr., Sherbourne CD. The MOS 36-item short-form health survey (SF-36). I. Conceptual framework and item selection. *Med Care* 1992;30:473-483.
- 5) Krupp LB, LaRocca NG, Muir-Nash J. et al. The fatigue severity scale. Application to patients with multiple sclerosis and systemic lupus erythematosus. *Arch Neurol* 1989;46:1121-1123.
- 6) Chalder T, Berelowitz G, Pawlikowska T. et al. Development of a fatigue scale. *J Psychosom Res* 1993;37:147-153.
- 7) Belza BL, Henke CJ, Yelin EH. et al. Correlates of fatigue in older adults with rheumatoid arthritis. *Nurs Res* 1993;42:93-99.
- 8) Vercoulen JH, Swanink CM, Fennis JF. et al. Dimensional assessment of chronic fatigue syndrome. *J Psychosom Res* 1994;38:383-392.
- 9) Fisk JD, Ritvo PG, Ross L. et al. Measuring the functional impact of fatigue: initial validation of the fatigue impact scale. *Clin Infect Dis* 1994;18 Suppl 1:S79-S83.
- 10) Smets EM, Garssen B, Bonke B. et al.

- The Multidimensional Fatigue Inventory (MFI) psychometric qualities of an instrument to assess fatigue. *J Psychosom Res* 1995;39:315-325.
- 11) Hann DM, Jacobsen PB, Azzarello LM. et al. Measurement of fatigue in cancer patients: development and validation of the Fatigue Symptom Inventory. *Qual Life Res* 1998;7:301-310.
  - 12) Mendoza TR, Wang XS, Cleeland CS. et al. The rapid assessment of fatigue severity in cancer patients: use of the Brief Fatigue Inventory. *Cancer* 1999;85:1186-1196.
  - 13) 厚生労働省 <http://www.mhlw.go.jp/topics/2004/06/tp0630-1.html>
  - 14) 倉恒弘彦, 倉恒邦比古. 産業疲労特定検診 医学のあゆみ. 2009;228(6):737-742.
  - 15) 田島世貴、中富康仁、山口浩二、福田早苗、小泉淳一、稲葉雅章、渡辺恭良、倉恒弘彦. 健常人における慢性疲労症候群関連症状 38 項目による疲労質問票の因子構造と妥当性の検討. *日本疲労学会誌*. 2012;7(2):88-96.
  - 16) Fujii H, Koyama H, Fukuda S, Tokai H, Tajima S, Koizumi J, Yamaguti K, Kuratsune H, Watanabe Y, Hirayama Y, Shoji T, Inaba M, Nishizawa Y. Autonomic Function is Associated With Health-Related Quality of Life in Patients With End-Stage Renal Disease: A Case-Control Study. *Journal of Renal Nutrition*. 2013;23(5):340-347.
  - 17) R Development Core Team (2005). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.

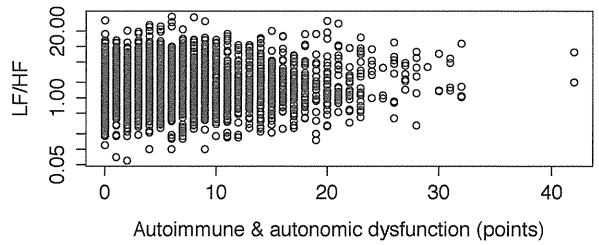
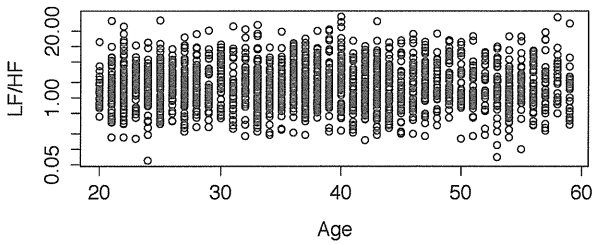
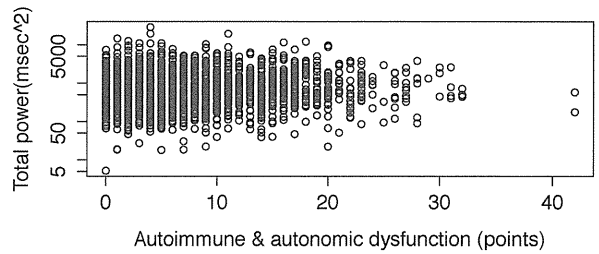
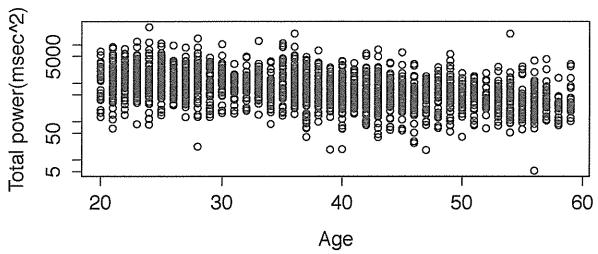
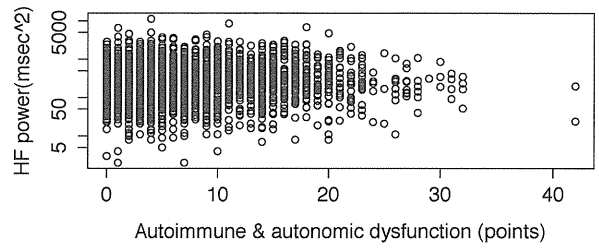
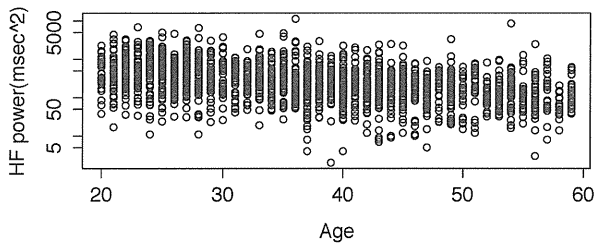
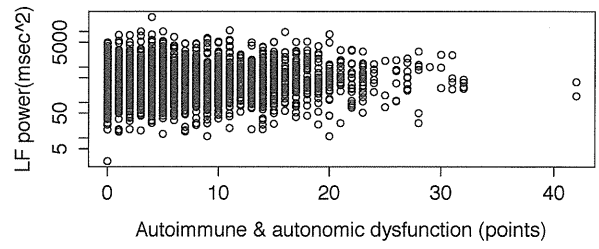
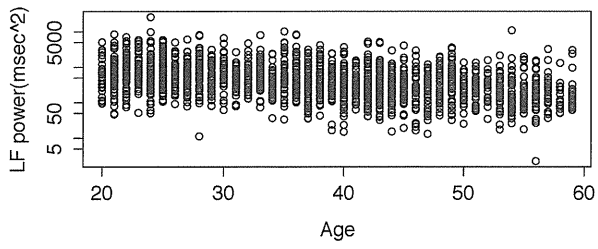


図 1. LF power、HF power、Total power、LF/HF ratio の年齢分布。(縦軸は log

図 2. LF power、HF power、Total power、LF/HF ratio と膠原病・自律神経失調症状との関係。(縦軸は log 変換して

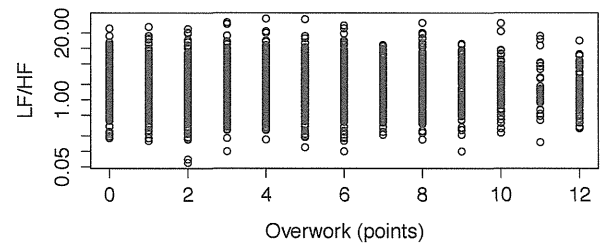
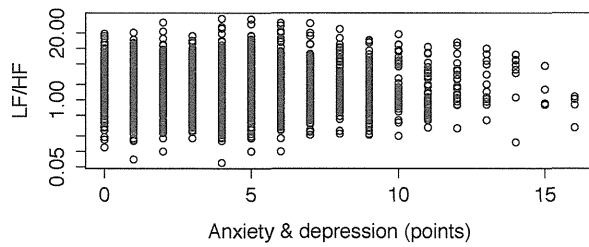
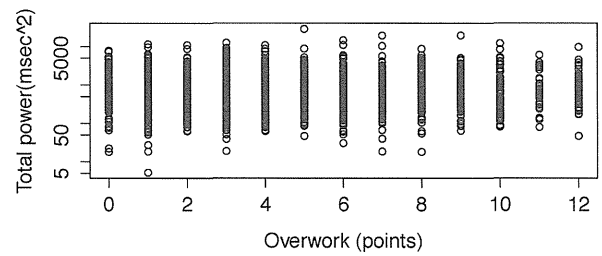
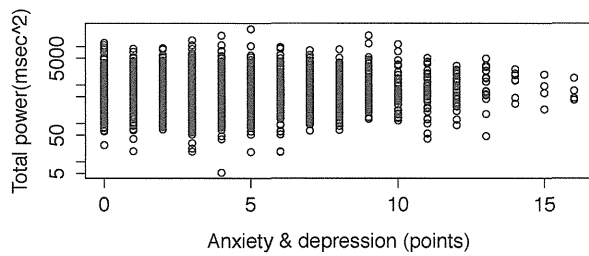
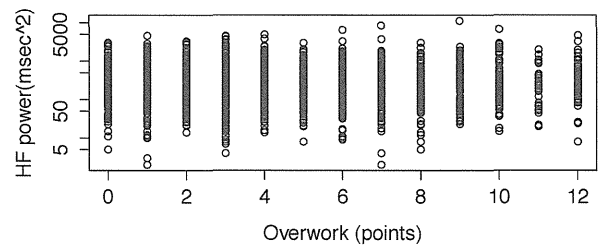
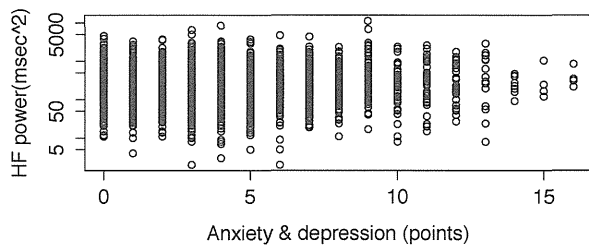
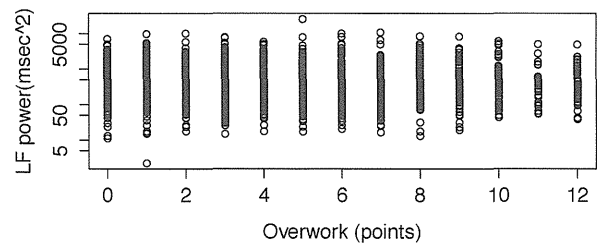
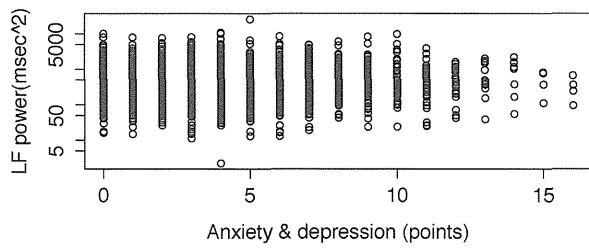


図 3. LF power、HF power、Total power、LF/HF ratio と不安・抑うつ症状との関係。(縦軸は log 変換している)

図 4. LF power、HF power、Total power、LF/HF ratio と過労症状との関係。(縦軸は log 変換している)



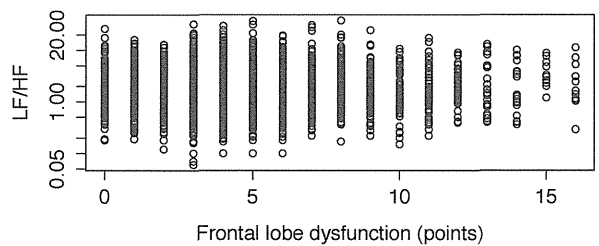
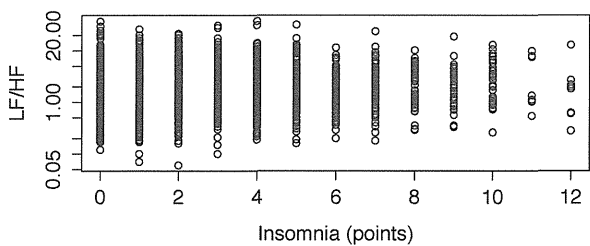
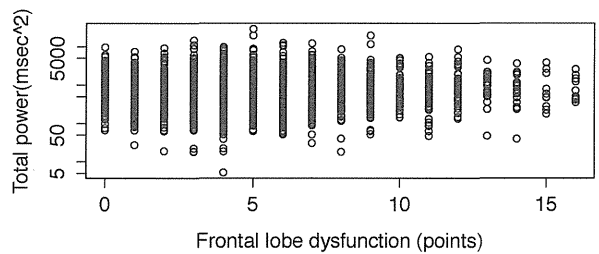
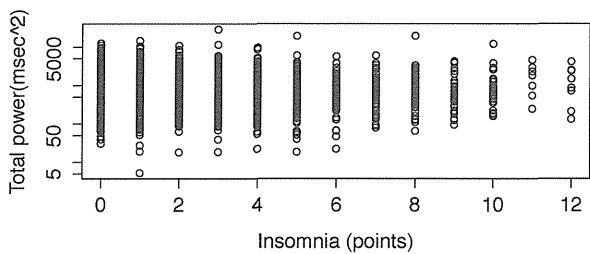
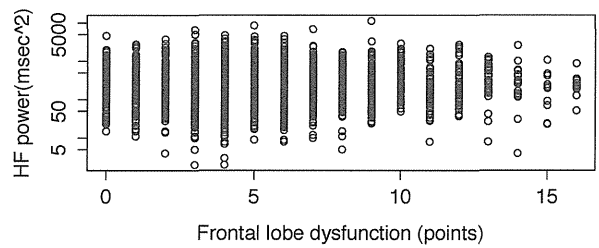
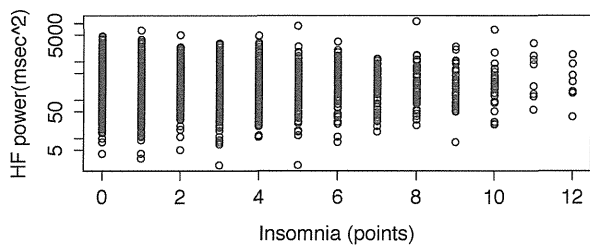
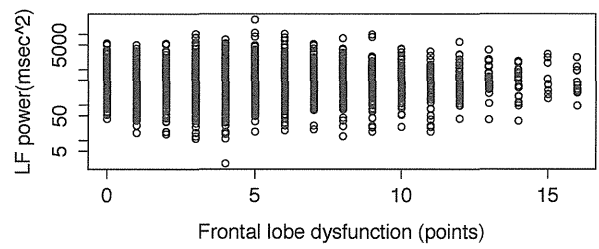
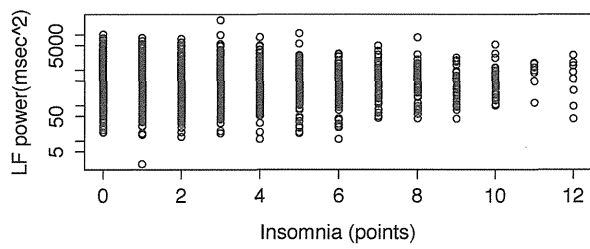


図 5. LF power、HF power、Total power、LF/HF ratio と不眠との関係。(縦軸は log 変換している)

図 6. LF power、HF power、Total power、LF/HF ratio と前頭葉機能障害との関係。(縦軸は log 変換している)

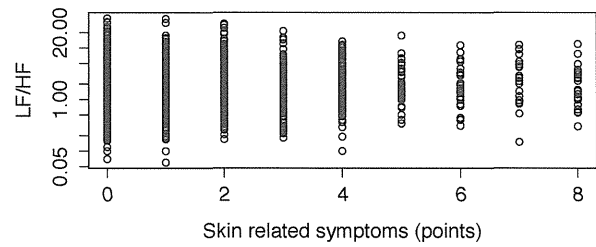
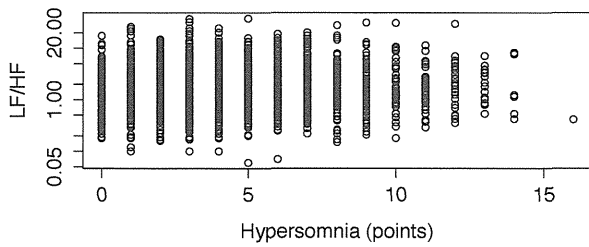
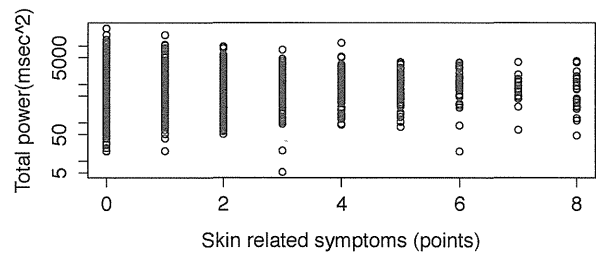
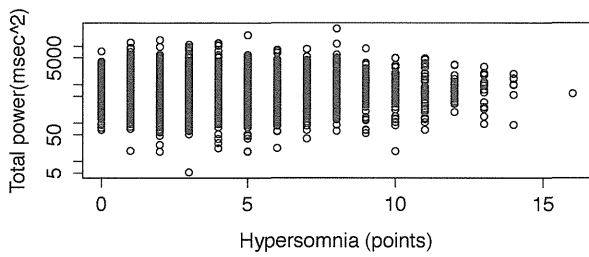
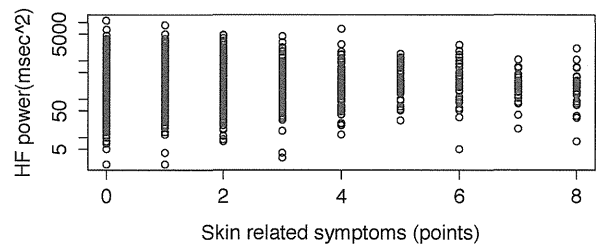
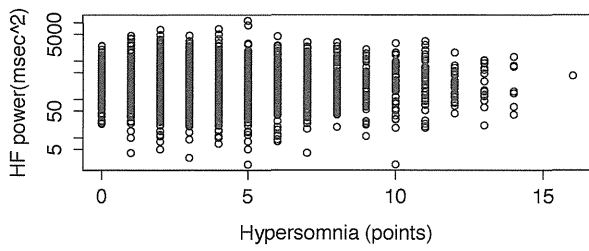
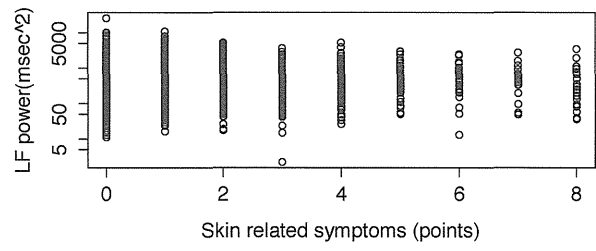
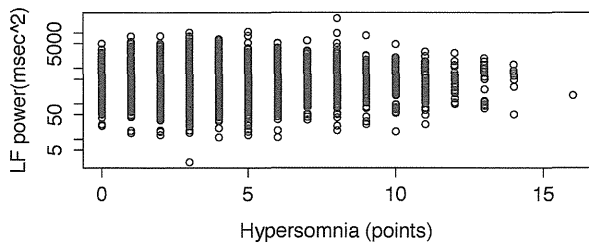


図 7. LF power、HF power、Total power、LF/HF ratio と過眠との関係。(縦軸は log 変換している)

図 8. LF power、HF power、Total power、LF/HF ratio と皮膚症状との関係。(縦軸は log 変換している)

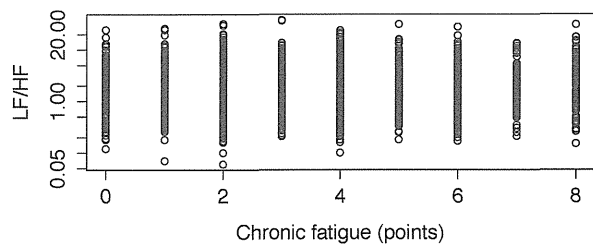
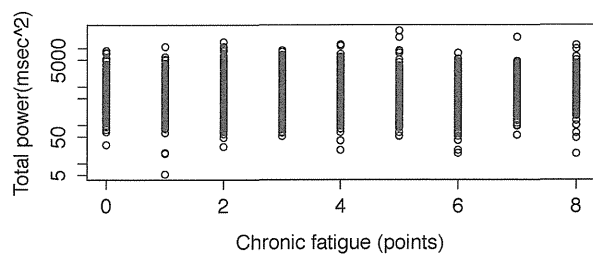
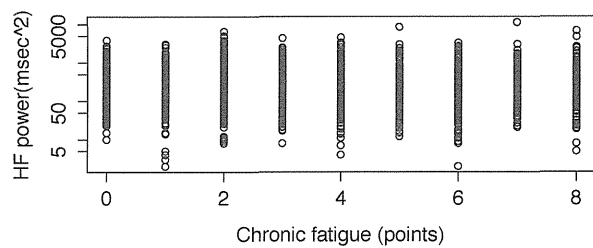
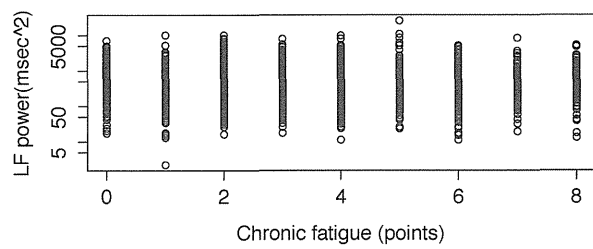


図 9. LF power、HF power、Total power、  
LF/HF ratio と慢性疲労症状との関  
係。(縦軸は log 変換している)

厚生労働科学研究費補助金（障害者対策総合研究事業）（神経・筋疾患分野）  
（分担）研究年度終了報告書

慢性疲労症候群の病因病態の解明と画期的診断・治療法の開発

## 慢性疲労症候群の病因病態の解明と画期的診断・治療法の開発

研究代表者 倉恒 弘彦 関西福祉科学大学健康福祉学部教授  
研究分担者 渡邊 恭良 理化学研究所ライフサイエンス技術基盤研究センター、センター長  
稲葉 雅章 大阪市立大学大学院医学研究科代謝内分泌病態内科学教授

### 研究要旨

分子イメージングの方法論を活用した脳分子動態解析と血液中のトランスクリプトーム解析から慢性疲労症候群の病因病態の解明を目指す研究を行う。本年度は、脳内炎症に焦点を当て、PET を用いた分子イメージング研究を行ったところ慢性疲労症候群患者の広範囲の脳領域で炎症が認められ、炎症の程度と重症度が密接に関連していることを明らかにした。

#### A. 研究目的

脳分子動態解析と体液中バイオマーカー解析により得られた客観的指標に基づき、慢性疲労症候群の病因病態を解明することが目的である。

が相関し、そして海馬での炎症が強いほど抑うつ症状が強いことが明らかとなった。末梢血中のトランスクリプトーム解析は現在進めている。

#### B. 研究方法

PET において、脳内炎症マーカーである活性型ミクログリアに発現する Translocator protein（以前は、末梢型ベンゾジアゼピン受容体と呼称）のリガンド、 $[^{11}\text{C}]$ PK-11195 を用いて、慢性疲労症候群の脳内炎症像を探る。末梢血中の RNA を基にした cDNA 技術を用いて網羅的に遺伝子発現解析を行う。

（倫理面への配慮）

ヒト試験・臨床研究を行っている大阪市立大学の倫理委員会に申請し承認を得、倫理に対して十分な配慮のもとに研究を行った。

#### D. 考察

診断により病態理解がさらに進展し、客観的な指標に基づく診断法の確立や、新規治療法の開発につながることを期待できる。

#### E. 結論

慢性疲労症候群患者において脳内炎症が認められ、重症度と密接に関連することが明らかとなった。

#### F. 健康危険情報

（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）

#### C. 研究結果

PET 研究において、慢性疲労症候群患者の  $[^{11}\text{C}]$ PK-11195 結合度は健常者に比し、視床、中脳、橋、海馬、扁桃体や帯状回での炎症が増加していた。また、 $[^{11}\text{C}]$ PK-11195 結合度と慢性疲労症候群患者の各症状の程度には相関がみられた。視床、中脳、扁桃体での炎症が強い場合は認知機能の障害が強く、帯状回や視床の炎症の強さと頭痛や筋肉痛などの痛みの程度

#### G. 研究発表

- 論文発表  
1-1. Nakatomi, Y. et al. J. Nucl. Med., in press.  
2. 学会発表  
2-1. 中富康仁ら. 第9回日本疲労学会総会・学術集会, 秋田, 2013年6月7日  
（口頭発表）  
2-2. Kuratsune, H. et al. 11th IACFS/ME Biennial International Research and

Clinical Conference, San Francisco, Mar.  
21-22th, 2011. (ポスター発表)

**H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）**

1. 特許取得
  2. 実用新案登録
  3. その他
- いずれも該当なし

厚生労働科学研究費補助金（障害者対策総合研究事業）（神経・筋疾患分野）  
（分担）研究年度終了報告書

慢性疲労症候群の病因病態の解明と画期的診断・治療法の開発

## 唾液中 HHV-6、HHV-7 による慢性疲労症候群と労働による疲労の鑑別

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助教）

### 研究要旨

慢性疲労症候群(CFS)は、異常な疲労感を特色とする慢性疾患で、ウイルス感染などによって引き起こされた中枢神経系の機能異常が原因と考えられている。CFS を診断治療する上で、患者の訴える「疲労感」が CFS による病的なものであるか、それとも労働などによる生理的な疲労の結果として生じているものかを鑑別することは重要である。これまでに我々は、唾液中に再活性化するヒトヘルペスウイルス(HHV)-6 と HHV-7 が疲労の客観的測定に有用であることを報告してきた。この方法を用いて検討したところ、CFS 患者における唾液中の HHV-6 と HHV-7 の量は、健常人コントロールと差がなく、疲労負荷が生じている人に比べて有意に少ないことが判った。この結果は、唾液中 HHV-6、HHV-7 による疲労測定法が CFS と過労などによる生理的疲労との鑑別に有用であることを示しているだけでなく、CFS の疲労と過労などによる疲労が本質的に異なっていることを示唆していると考えられる。

唾液中への HHV-6 の再活性化は、CFS と生理的疲労の鑑別に有用であるだけでなく、生理的疲労の本質に関係する生命現象を反映している可能性がある。これまでに我々は、HHV-6 の潜伏感染部位がマクロファージであることを明らかにし、潜伏感染マクロファージの分化や活性化が再活性化と関係することを示してきた。今回は、このような研究成果を背景として、疲労負荷がマクロファージの分化や活性化といった HHV-6 の再活性化に関わる現象に関するかどうかを検討し、疲労が単に炎症性サイトカインだけに留まらず細胞分化にも関係する現象であることを示唆した。

### A. 研究目的

慢性疲労症候群(CFS)は、異常な疲労感を特色とする慢性疾患で、ウイルス感染などによって引き起こされた中枢神経系の機能異常が原因と考えられている。CFS を診断治療する上で、患者の訴える「疲労感」が CFS による病的なものであるか、それとも労働などによる生理的な疲労の結果として生じているものかを鑑別することは重要である。しかし、これまでは疲労の測定は自覚的な疲労感によることが多く、客観的な疲労測定方法が確立していなかったため、CFS の疲労感と生理的な疲労感を判別することができなかった。「疲労」は休みなく心身を使うことによって生体機能の低下が

生じた状態を、「疲労感」は疲労を脳が主観的に感じる感覚を指す。CFS 患者では、過労などの疲労の原因がないにも関わらず強い疲労感を訴えることが高頻度で生じ、その原因は明らかにされていない。このため、疲労感が疲労負荷によって生じているのか、疲労感だけが発生しているのかを判別することは、CFS の診断や治療にとって有用であるだけでなく、CFS の原因究明にとっても重要な課題である。そこで、本研究では CFS と労働による疲労を判別することが可能なバイオマーカーを発見し、これを CFS の診断に利用することを目的とした。

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。

これまでに我々は、唾液中に再活性化するヒトヘルペスウイルス(HHV-)6とHHV-7が疲労の客観的測定に有用であることを報告してきた。また、HHV-6およびHHV-7はCFS患者において健常人よりも高頻度で再活性化が生じることが報告されて来たが、これには異論も多かった。また、従来の再活性化の検出は、血液中でのウイルスDNAの測定によって行われていたため、再活性化ウイルス量と免疫低下によるウイルスの増殖量との区別がついていなかった。本研究における唾液中HHV-6、HHV-7の定量は、免疫の影響を比較的受けることなくウイルスの再活性化頻度および量を観察できるものなので、CFSとHHV-6の再活性化が関係するかを直接的に検討することが可能である。これまでに我々は、CFS患者では、その非常に強い疲労感に比して、HHV-6、HHV-7の再活性化が強く生じていない可能性も示唆してきた。今年度は、HHV-6、HHV-7による疲労測定法がCFSの診断に有用であるかどうかの検討を行うとともに、疲労によるHHV-6再活性化という現象の基盤となる生命現象を明らかにしCFSと労働による疲労の異動を細胞生物学的に検討することを試みた。

## B. 研究方法

### 1. CFS患者におけるHHV-6、HHV-7再活性化量の唾液中ウイルスDNA量による検討

CFSは、強い疲労感を特徴とする原因不明の慢性疾患で、何らかの感染因子が原因であると考えられている。これまでの研究によって、HHV-6およびHHV-7の再活性化が労働や運動の疲労によって生じることが明らかになったので、CFS患者におけるHHV-6、HHV-7の再活性化の検討を行った。また、CFS患者の結果と比較することで、労働などによる生理的な疲労とCFS患者における疲労を判別可能であるかを検討することとした。方法としては、唾液中に再活性化するHHV-6とHHV-7の全DNAを、Real-time PCR法を用いてDNA量の定量を行った。

### 2. HHV-6再活性化の原因となる生命現象の検討

疲労によるHHV-6再活性化の原因となる生命現象を明らかにすることで、生理的疲労とCFSの判別に関係するバイオマーカーを検索することを目的とした。HHV-6はマクロファージに潜伏感染し、マクロファージの分化や活性化によって再活性化が生じると考えられている。そこで、マウスに疲労刺激を与え、マクロファージの分化や活性化に関係する分子のmRNA発現促進が生じるかどうかを、Real-time PCR法を用いてRNAの定量を行った。

## C. 研究結果

### 1. CFS患者におけるHHV-6、HHV-7再活性化量の唾液中ウイルスDNA量による検討

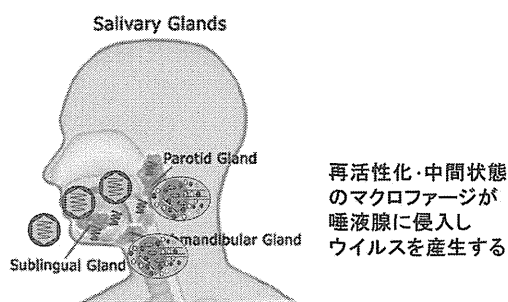
従来、ヘルペスウイルスの再活性化は血液中で検討されることが多かったが、この方法では免疫の低下が結果を大きく変化させる可能性が高い。また、過労は免疫を低下させる要因になる上に、CFS患者ではNK細胞機能などの免疫機能が低下する場合もあることが報告されている。このため、唾液中のHHV-6、HHV-7による生理的疲労の測定方を用いて、CFSとの判別を行うためには、免疫機能の影響を避けることができる唾液腺からのウイルス再活性化を検討する必要がある(図1)。

CFS患者と健常人の唾液中HHV-6量の比較CFS患者、運動疲労負荷、複合疲労負荷、健常人コントロールから採取した唾液中のウイルスDNA量をReal-time PCRで定量した結果を図2に示す。この結果、唾液中のHHV-6DNA量とHHV-7DNA量は、CFS患者唾液と健常人コントロールで統計上有意な差が見られなかった。一方、運動疲労負荷、複合疲労負荷においては、CFS患者に比して有意にHHV-6とHHV-7の増加が見られた。

CFS患者における疲労感は非常に強く、通常の場合、運動疲労負荷や複合疲労負荷を受けた者の疲労感と同等以上の疲労感を訴えることが多い。プライマリーケアの臨床現場では、異常に強い疲労感を訴えて来院する患者に含まれる。これらの患者において感染症、臓器不全、癌などの原因が見

つからない場合、これらの患者が、過労が原因で疲労感を訴えているのか、CFSが原因で疲労感を訴えているのかの鑑別が重要となる。今回の検討により、CFS患者における唾液中のHHV-6とHHV-7の量は、健康人コントロールと差がなく、疲労負荷が生じている人に比べて有意に少ないことが判った。これらの結果は、唾液中HHV-6、HHV-7による疲労測定法がCFSと過労などによる生理的疲労との鑑別に有用であることを示しているだけでなく、CFSの疲労と過労などによる疲労が本質的に異なっていることを示唆していると考えられる。

### HHV-6、7の潜伏感染からの再活性化



免疫の影響をあまり受けずにウイルスが放出

図1: HHV-6、HHV-7の再活性化と唾液中への放出

唾液中HHV-6、HHV-7の定量は、免疫の影響を比較的受けることなくウイルスの再活性化頻度および量を観察できるものなので、CFSとHHV-6の再活性化が関係するかを直接的に検討することが可能である。

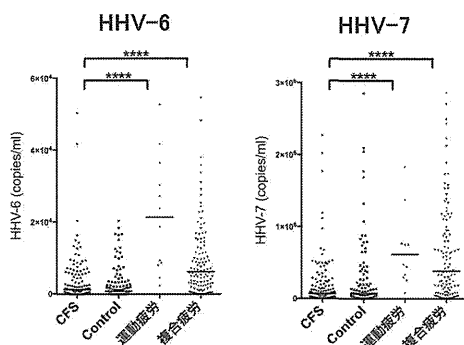


図2:唾液中HHV-6、HHV-7によるCFS、運動疲労、複合疲労の判別

CFS患者、運動疲労負荷、複合疲労負荷、健康人コントロールから採取した唾液中の

ウイルスDNA量をReal-time PCRで定量した。グラフ上のスポットは、同一人物から採取した検体でも採取時期の異なるものは、異なるスポットとして表示した。

### 2. 疲労負荷によるHHV-6再活性化の原因となる生命現象の解明

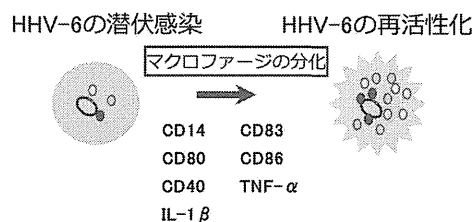
上記の様に、唾液中へのHHV-6の再活性化は、CFSと生理的疲労の鑑別に有用であるだけでなく、生理的疲労の本質に関する生命現象を反映している可能性がある。

これまでに我々は、HHV-6の潜伏感染部位がマクロファージであることを明らかにし、潜伏感染マクロファージの分化や活性化が再活性化と関係することを示してきた。今回は、この様な研究成果を背景として、疲労負荷がマクロファージの分化や活性化といったHHV-6の再活性化に関わる現象に関係するかどうかを検討した。

マクロファージの分化・活性化マーカーとしては、CD14、CD83、CD80、CD86、CD40、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、CCR7のmRNAを利用した。測定は、mRNAのReal-time PCR定量によった(図3)。疲労刺激は、C57BL/6マウスを2時間強制水泳、8時間不眠、24時間不眠を用いた。

その結果、これらのマーカーのほとんどが疲労刺激によった増加することが判り、疲労刺激に対する生体反応としてマクロファージの分化・活性化が関係することが示唆された(図4)。さらに、疲労刺激と分化・活性化マーカーの増加は、それぞれ反応しやすいものがあることが示唆され、疲労刺激の種類によって、やや異なった疲労シグナルが利用されている可能性も示唆された(図4、5)。

### マクロファージでのHHV-6再活性化



HHV-6の完全な再活性化にはマクロファージの分化が必要

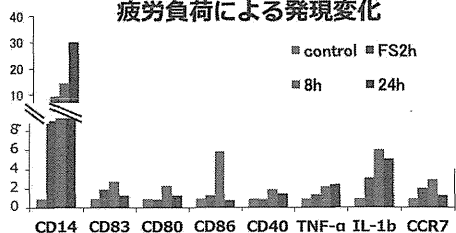
図3: マクロファージの分化や活性化に伴う



## HHV-6の潜伏感染からの再活性化

HHV-6が潜伏感染するマクロファージの分化・活性化のマーカーを示す。

### HHV-6再活性化に関与する遺伝子の疲労負荷による発現変化



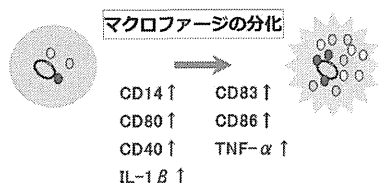
マクロファージの分化を誘導する遺伝子発現 ↑  
唾液腺への移動に関わる遺伝子発現 ↑

図4: 疲労によるマクロファージの分化・活性化マーカーの変化

疲労負荷によるマクロファージの分化・活性化のマーカー遺伝子 mRNA の変化を Real-time PCR で測定した。疲労刺激は、2 時間強制水泳、8 時間不眠、24 時間不眠を用いた。

## マクロファージでのHHV-6再活性化

HHV-6の潜伏感染      HHV-6の再活性化



マクロファージの分化に伴い、HHV-6は再活性化する  
唾液腺へのマクロファージの移動も促進される

再活性化には1週間程度必要

図5: 疲労によるマクロファージの分化・活性化マーカーの変化

2 時間強制水泳、8 時間不眠、24 時間不眠といった疲労刺激によって増加したマクロファージの分化・活性化マーカーを示す。

## D. 考察

今回我々は、CFS 患者、運動疲労負荷、複合疲労負荷、健常人コントロールにおける HHV-6、HHV-7 再活性化量の唾液中ウイルス DNA 量による検討を行った。この結果、唾液中の HHV-6 DNA 量と HHV-7 DNA 量は、CFS 患者唾液と健常人コントロールで統計上有意な差が見られなかった。

一方、運動疲労負荷、複合疲労負荷においては、CFS 患者に比して有意に HHV-6 と HHV-7 の増加が見られた。これまで、CFS 患者における HHV-6、HHV-7 の再活性化に関しては、健常人に比して多いとする説と変化がないとする説が交錯しており、結論を得るに至っていなかった。この理由として、従来、ヘルペスウイルスの再活性化は血液中で検討されることが多く、この方法では免疫の低下が結果を大きく変化させる可能性が高かったことが挙げられる。

我々は、唾液中の HHV-6、HHV-7 による生理的疲労の測定方を用いて、CFS との判別を行うためには、免疫機能の影響を避けることができる唾液腺からのウイルス再活性化を検討することでこれを克服した。

CFS 患者と健常人の唾液中 HHV-6 量の比較 CFS 患者、運動疲労負荷、複合疲労負荷、健常人コントロールから採取した唾液中のウイルス DNA 量を Real-time PCR で定量した結果、唾液中の HHV-6 DNA 量と HHV-7 DNA 量は、CFS 患者唾液と健常人コントロールで統計上有意な差が見られなかったが、運動疲労負荷、複合疲労負荷においては、CFS 患者に比して有意に HHV-6 と HHV-7 の増加が見られた。この方法は、異常に強い疲労感を訴えて来院する患者において感染症、臓器不全、癌などの原因がない場合、これらの患者が、過労が原因で疲労感を訴えているのか、CFS が原因で疲労感を訴えているのかを鑑別する有用な指標になると考えられた。

これらの結果は、CFS の疲労と過労などによる疲労が本質的に異なっていることを示唆しているだけでなく、唾液中への HHV-6 や HHV-7 の再活性化が疲労の本質に関係する可能性を示すものと考えられた。そこで我々は、HHV-6 の再活性化に関わる生命現象と疲労負荷との関係をマウスモデルを利用して検索した。

これまでに我々は、HHV-6 の潜伏感染部位がマクロファージであることを明らかにし、潜伏感染マクロファージの分化や活性化が再活性化と関係することを示してきた。今回の検討によって、マクロファージの分化・活性化マーカーである、CD14、CD83、CD80、CD86、CD40、TNF-α、IL-1β、CCR7 の上昇が、2 時間強制水泳、8 時間不

眠、24時間不眠といった疲労刺激によって観察された。この結果は、疲労刺激に対する生体反応としてマクロファージの分化・活性化が関係することを示すと考えられた。疲労は、炎症性サイトカインと関係することがすでに知られている。炎症性サイトカインはマクロファージの活性化に関係するが、今回観察された分化・再活性化のマーカーの上昇を説明するには、炎症性サイトカインだけでは十分ではない。このことは、疲労が単に炎症性サイトカインだけに留まらず細胞分化にも関係する現象であることを示すものと考えられた。

## E. 結論

唾液中 HHV-6、HHV-7 による疲労測定法は、CFS と生理的疲労を判別することが可能であった。また、疲労は単に炎症性サイトカインに留まらず、マクロファージの分化・活性化に関わる現象であることが示唆された。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Ito T, Urushima H, Sakaue M, Yukawa S, Honda H, Hirai K, Igura T, Hayashi N, Maeda K, Kitagawa T, Kondo K. Reduction of Adverse Effects by a Mushroom Product, Active Hexose Correlated Compound (AHCC) in Patients With Advanced Cancer During Chemotherapy. The Significance of the Levels of HHV-6 DNA in Saliva as a Surrogate Biomarker During Chemotherapy. *Nutr Cancer*. 2014 Apr;66(3):377-82
- 2) Nagata T, Kobayashi N, Shinagawa S, Yamada H, Kondo K, Nakayama K: Plasma BDNF levels are correlated with aggressiveness in patients with amnesic mild cognitive impairment or Alzheimer disease. *Journal of neural transmission*. Epub 2013 Nov 20
- 3) 玉井将人, 南波広行, 大坪主税, 和田靖之, 久保政勝, 井田博幸, 小林伸行, 近藤一博. HHV-6 再活性化を伴ったけいれん重積型急性脳症の 1 例. *日本小児科学会雑誌*

(2013) 117 巻 9 号, 1459-1463.

### 2. 学会発表

- 1) 近藤一博. 特別講演「過重労働の予防対策疲労予知のための新しいバイオマーカー」(第 61 回日本職業・災害医学会学術大会・2013 年 12 月 1 日 東京)
- 2) 近藤一博. 特別講演「新しい疲労のみかた」(第 68 回日本体力医学会 2013 年 9 月 23 日 東京)
- 3) 近藤一博, 小林伸行, 岡直美. シンポジウム「疲労の分子バイオマーカーによる疲労関連病態の鑑別」(第 9 回日本疲労学会 2013 年 6 月 7 日 秋田)
- 4) 小林伸行, 岡直美, 嶋田和也, 近藤一博. アルツハイマー型認知症の前駆段階において単純ヘルペスウイルス 1 型再活性化が発症に与える影響 第 61 回日本ウイルス学会 (神戸)
- 5) 嶋田和也, 小林伸行, 岡直美, 清水昭宏, 近藤一博. ヒトサイトメガロウイルス潜伏感染遺伝子 ORF152 が免疫機能と細胞分化に与える影響 (第 28 回ヘルペスウイルス研究会 2013 年 5 月 30 日 淡路島)
- 6) 嶋田和也, 小林伸行, 岡直美, 近藤一博. ヒトサイトメガロウイルスの潜伏感染遺伝子産物 ORF152 が免疫機能と細胞分化に与える影響 (第 61 回日本ウイルス学会学術集会, 2013 年 11 月 10 日 神戸)

## H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

なし

慢性疲労症候群の病因病態の解明と画期的診断・治療法の開発

## ME/CFS 患者血清における CXCL10 濃度に関する研究

研究分担者 山野 嘉久（聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター）

### 研究要旨

筋痛性脳脊髄炎/慢性疲労症候群（ME/CFS）は、重度の身体的・精神的疲労を引き起こし、患者の日常生活や社会生活を長期にわたり破壊する深刻な疾患である。ME/CFS はこれまで有効な治療法がなく患者の生活の質は大きく損なわれており、病態解明に基づいた新たな治療法の開発が強く求められている。近年、本研究班では ME/CFS 患者の中枢神経組織における慢性炎症像の存在を明らかとしていることから、本研究では、中枢での炎症を末梢血液レベルで把握できるバイオマーカーの可能性を検討するために、患者血清を用いて、慢性ウイルス性疾患で上昇するケモカイン CXCL10 の濃度測定を実施した。ME/CFS 患者血清における CXCL10 濃度は健常者と比較して有意な上昇は認められなかったが、性別における濃度差や年齢における濃度差において健常者と異なる傾向が認められた。今後は、髄液等を用いて炎症マーカーに関する網羅的な解析を実施し、ME/CFS の病態を反映するマーカーの同定とその病態との関連性に関する研究が重要と考えられる。

### A. 研究目的

筋痛性脳脊髄炎 / 慢性疲労症候群（ME/CFS）は、重度の身体的・精神的疲労を引き起こし、患者の日常生活や社会生活を長期にわたり破壊する深刻な疾患である。ME/CFS はこれまで有効な治療法がなく患者の生活の質は大きく損なわれており、病態解明に基づいた新たな治療法の開発が強く求められている。

近年、本研究班では ME/CFS 患者の中枢神経組織における慢性炎症像の存在を明らかとしていることから、本研究では、中枢での炎症を末梢血液レベルで把握できるバイオマーカーの可能性を検討するために、患者血清を用いて、慢性ウイルス性疾患で上昇するケモカイン CXCL10 の濃度測定を実施した。

### B. 研究方法

30 例の ME/CFS 患者（男性 7 例、女性 23 例）と 13 例の健常者（男性 3 例、女性

10 例）の、血清中における CXCL10/IP-10 濃度を cytometric bead array 法を用いて定量測定した。

（倫理面への配慮）

本研究では、ヘルシンキ宣言に基づき、個人情報個人の人格尊重の理念の下、厳重に保護され慎重に取り扱われるべきものと認識し、万全な管理対策を講じ、プライバシーの保護に努めた。

### C. 研究結果

血清中の CXCL10 濃度は、ME/CFS 患者の男性：246.7±85.8 pg/ml、女性：297.2±142.9 pg/ml、健常者の男性：163.5±53.8 pg/ml、女性：452.0±348.9 pg/ml であった（表 1）。

すなわち、ME/CFS 患者は健常者と比較して、血清 CXCL10 濃度の有意な上昇は認められなかった。興味深いことに、健常者では女性で高い傾向が認められたが、

ME/CFS 患者では認められなかった (表 1)。

#### D. 考察

これまで、ME/CFS はその病態研究で、神経、免疫、及び内分泌系の病的調節障害の存在が証明されているが、それを日常診療レベルで間便に示すバイオマーカーの同定は達成されていない。本研究では、ME/CFS 患者における慢性炎症病態の存在を仮説とし、近年、我々が慢性ウイルス感染に伴う疾患でのバイオマーカーとして同定したケモカインである CXCL10 の (Brain 2013, PLoS Negl Trop Dis 2013)、ME/CFS 患者における有用性について、まずは血清を用いて探索的な研究を実施した。

今回の解析では、ME/CFS 患者血清における CXCL10 濃度の上昇は認められなかった。今後は、画像検査において炎症の存在が認められる患者に集中して、髄液等を用いて炎症マーカーの網羅的な解析を実施し、ME/CFS の病態を反映するマーカーの同定とその病態との関連性に関する研究が重要と考えられる。

#### E. 結論

ME/CFS 患者の慢性炎症を反映するバイオマーカーを探索するために、血清中における慢性ウイルス性疾患で上昇するケモカインである CXCL10 濃度を測定した。今回の対象では ME/CFS 患者における有意な上昇は認められなかったが、今後、画像検査において炎症の存在が認められる患者に集中して、髄液等を用いて炎症マーカーの網羅的な解析を実施し、ME/CFS の病態を反映するマーカーの同定とその病態との関連性に関する研究が重要と考える。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Ando H., Sato T., Tomaru U., Yoshida

M., Utsunomiya A., Yamauchi J., Araya N., Yagishita N., Coler-Reilly A., Shimizu Y., Yudoh K., Hasegawa Y., Nishioka K., Nakajima T., Jacobson S., Yamano Y. Positive feedback loop via astrocytes causes chronic inflammation in virus-associated myelopathy. *Brain*, 136 (9) : 2876-2887, 2013.

- 2) Sato T., Coler-Reilly A., Utsunomiya A., Araya N., Yagishita N., Ando H., Yamauchi J., Inoue E., Ueno T., Hasegawa Y., Nishioka K., Nakajima T., Jacobson S., Izumo S., Yamano Y. CSF CXCL10, CXCL9, and Neopterin as Candidate Prognostic Biomarkers for HTLV-1-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis. *PLoS Negl Trop Dis.*, 7(10): e2479, 2013.
- 3) Ishihara M., Araya N., Sato T., Tatsuguchi A., Saichi N., Utsunomiya A., Nakamura Y., Nakagawa H., Yamano Y., Ueda K. Preapoptotic protease calpain-2 is frequently suppressed in adult T-cell leukemia. *Blood*, 121(21): 4340-4347, 2013.
- 4) Grassi MF, Olavarria VN, Kruschewsky Rde A, Silva MT, Yamano Y, Jacobson S, Taylor GP, Martin F, Galvão-Castro B. Utility of HTLV proviral load quantification in diagnosis of HTLV-1-associated myelopathy requires international standardization. *J Clin Virol.* 58(3): 584-6, 2013.
- 5) Usui C, Hatta K, Aratani S, Yagishita N, Nishioka K, Okamura S, Itoh K, Yamano Y, Nakamura H, Asukai N, Nakajima T, Nishioka K. Vulnerability to traumatic stress in fibromyalgia patients: 19 month