

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

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

疲労病態における酸化ストレス、抗酸化力の評価

研究分担者 野島 順三（山口大学大学院医学系研究科 教授）

研究要旨

種々の疲労状態における酸化ストレス値・抗酸化力値・酸化ストレス度の評価
活性酸素種の過剰発生あるいは抗酸化能力の低下による酸化ストレス度の亢進は、老化を促進するのみならず各種生活習慣病など多くの疾患形成に関連しており、精神的および肉体的疲労状態を客観的に評価できる可能性が示唆される。本研究では、①健常人、②慢性疲労症候群患者（CFS）、③産業疲労者、④健常人精神作業負荷モデル、⑤東日本大震災被災者を対象に、酸化ストレス値（Reactive Oxygen Metabolites-derived compounds: d-ROMs）・抗酸化力値（Biological Antioxidant Potential: BAP）・酸化ストレス度（Oxidation Stress Index: OSI）による種々の疲労状態における客観的評価法の有用性を検討した。慢性疲労（病的疲労）モデルとして、現在の診断基準にて診断が確定しているCFS患者303名および臨床症候によりCFSと診断された新規患者226名を対象に酸化ストレス値・抗酸化力値・酸化ストレス度の評価を実施した結果、酸化ストレス値の増加とともに、それを制御するための抗酸化力値が低下しており、酸化ストレス度の亢進が長期間続くことが慢性疲労の病態形成に強く関連している可能性が示唆された。一方、亜急性疲労モデルとしてNEC関連会社に勤務するコンピュータープログラマー24名を対象に激勤務時（産業疲労）における酸化ストレス値・抗酸化力値・酸化ストレス度の評価を行った結果、亜急性疲労モデルでは、激勤務により酸化ストレス値が急激に増加するが抗酸化力値が基準値を保持していた。さらに、急性疲労モデルとして、健常人ボランティア延べ24名にコンピューター化したクレッペリン試験を3時間実施し、精神作業負荷前後における酸化ストレス度の評価を行った結果、一過性に酸化ストレス値が増加するが抗酸化力値も同時に増加しており、酸化ストレス度の亢進を制御していた。これらの結果をもとに、東日本大震災発生で被災した被災地職員369名を対象に震災1年後の酸化ストレス度の評価を行った結果、震災被災者群は二つのタイプの疲労状態に分類されることわかった。一つは、酸化ストレス値の増加とともに抗酸化力値も上昇している急性疲労状態であり、震災被災者の約40%がこの状態にあった。二つ目は、酸化ストレス値の増加と抗酸化力値の明らかな低下が認められる病的疲労状態である。今回の調査で、震災被災者の約12%が医療の介入が必要な病的疲労状態にある可能性が示唆された。このように酸化ストレス値・抗酸化力値・酸化ストレス度による総合的な評価は、種々の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と思われる。

A. 研究目的

酸化ストレスとは、活性酸素種の過剰発生あるいは抗酸化能力の低下により、生体が酸化に傾いた状態である。酸化ストレス度の亢進は、脂質、タンパク質、酵素、DNAを酸化変性させ、細胞や組織を障害することにより、老化を促進するのみならず各種生活習慣病など多くの疾患形成に関連しており、精神的および肉体的疲労状態を客観的に評価できる可能性が示唆される。

本研究では、①健常人、②慢性疲労症候群患者 (CFS)、③産業疲労者、④健常人精神作業負荷モデル、⑤東日本大震災被災者を対象に、酸化ストレス値 (Reactive Oxygen Metabolites-derived compounds: d-ROMs) ・ 抗酸化力値 (Biological Antioxidant Potential: BAP) ・ 酸化ストレス度 (Oxidation Stress Index: OSI) による種々の疲労状態における客観的評価法の有用性を検討した。

B. 研究方法

①一般臨床検査値に異常を認めなかった健常人 312 名、②現在の診断基準にて確定している CFS 患者 303 名、臨床症候により CFS と診断された新規患者 226 名、慢性的な疲労症状が認められない一般住人 346 名、③産業疲労者 24 名、④健常人精神作業負荷モデル延べ 24 名、⑤東日本大震災被災者 (震災 1 年後の被災地職員) 369 名および一般住人 327 名を対象に、d-ROMs test / BAP test を用いた酸化ストレス値 (d-ROMs) ・ 抗酸化力値 (BAP) ・ 酸化ストレス度 (OSI) の評価を行った。

(倫理面への配慮)

すべての被験者には倫理委員会で承認された説明文を用いて説明し同意書を取得して測定を実施した。被験者のプライバシー確保に関する対策としては、血清検体は連結可能な匿名化 (通し番号) にて取り扱い、山口大学研究棟のフリーザーに施錠して保管している。被験者情報および研究結果は外部と接続しないコンピューターに Excel ファイル形式で入力し、研究実施責任者が外部に漏洩しないように厳重に管理している。

C. 研究結果

1. 健常人における基準範囲の設定

生活習慣問診調査による一次除外基準 (喫煙習慣・大量の飲酒習慣・メタボリックシンドローム・妊娠中および分娩後 1 年以内・慢性疾患で服薬中・過多の残業習慣) をクリアーし、一般臨床検査値に異常を認めなかった健常人 312 名 (女性 164 名、男性 148 名、平均年齢 36.7 ± 8.8 歳) を対象に酸化ストレス値と抗酸化力値の基準範囲を設定した。酸化ストレス値の基準範囲 (mean \pm 2SD) は 286.9 ± 100.2 unit (図 1-A) であり、女性は男性に比較して有意に高いこと、さらに加齢により酸化ストレス値が上昇することを明らかにした。一方、抗酸化力値の基準範囲は 2541 ± 122 $\mu\text{mol/L}$ (図 1-B) で、性差および年齢差は認められなかった。さらに、酸化ストレス度の指標となる Oxidative stress index (酸化ストレス値 \div 抗酸化力値 $\times 8.85$) の健常基準範囲は、 1.00 ± 0.344 (mean \pm 2SD) であった。(図 1-C)

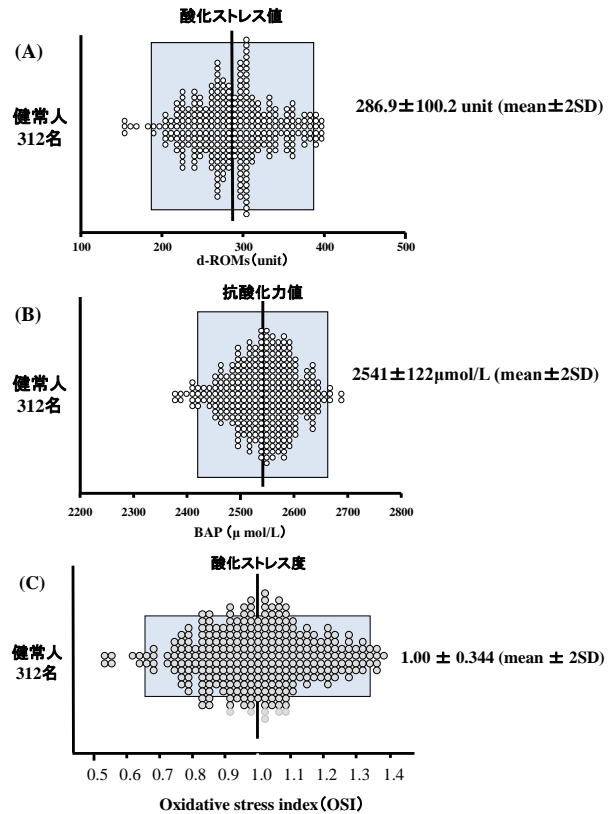


図 1. 健常人における基準範囲

2. CFS 患者における酸化ストレス度

現在の診断基準にて診断が確定している CFS 患者 303 名を対象に酸化ストレス値 (d-ROMs)・抗酸化力値 (BAP)・酸化ストレス度 (OSI) の評価を実施した結果、CFS 群の酸化ストレス値は 328.8 ± 81.3 unit (mean \pm SD) と健常基準範囲に比較して明らかな高値を示した (図 2-A)。一方、CFS 群の抗酸化力値は、 $2508 \pm 102.6 \mu\text{mol/L}$ と健常基準範囲より有意に低下していた (図 2-B)。酸化ストレス値の増加と抗酸化力値の低下を反映して、OSI 値は 1.16 ± 0.28 と有意に上昇していた。(図 2-C)

さらに、CFS 患者の重症度を示す Performance Status (PS) レベルと酸化ストレス度を示す OSI 値との関係を統計的に解析した結果、疲労状態の重症度に相関して OSI 値は上昇する傾向にあった。(図 3)

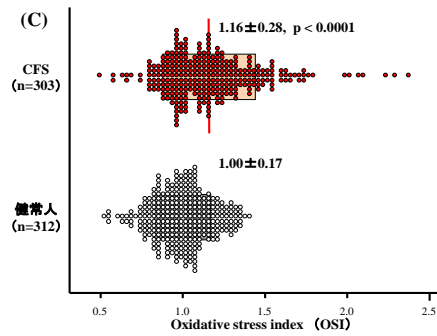
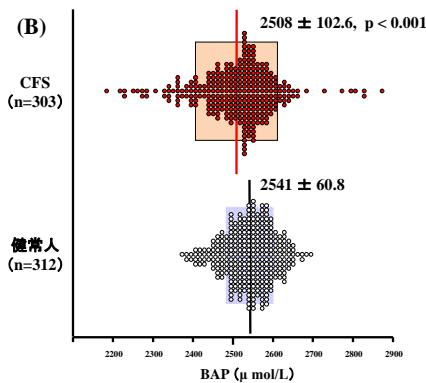
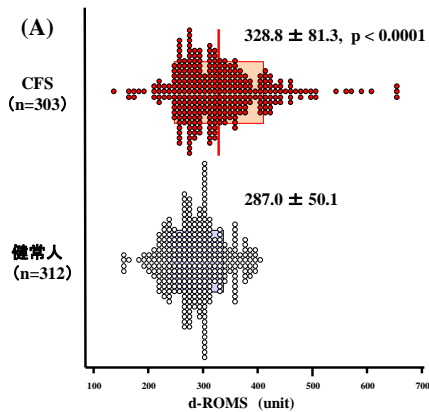


図 2. CFS 患者と健常人における酸化ストレス度の比較

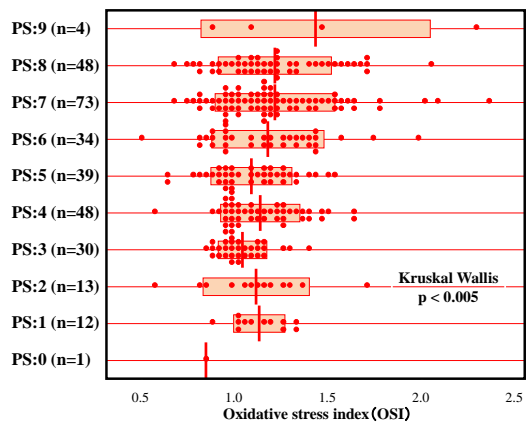
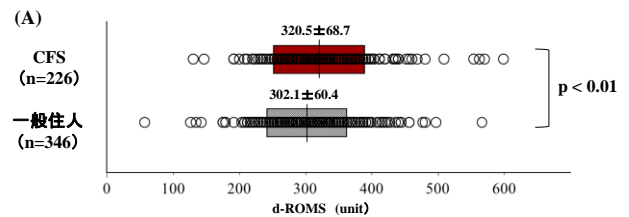


図 3. CFS 患者における PS レベルと OSI の関係

さらに、臨床症候により CFS と診断された新規患者 226 名と慢性的な疲労症状が認められない一般住人 346 名とで酸化ストレス値 (d-ROMs)・抗酸化力値 (BAP)・酸化ストレス度 (OSI) 測定の有用性を検証した。その結果、CFS 群では一般住人に比較して、酸化ストレス値の増加 (CFS vs. Normal; 320.5 ± 68.7 vs. 302.1 ± 60.4 unit; 図 4-A)、抗酸化力値の顕著な低下 (2418 ± 245 vs. $2655 \pm 295 \mu\text{mol/L}$; 図 4-B)、酸化ストレス度の有意な上昇 (1.18 ± 0.28 vs. 1.01 ± 0.22 ; 図 4-C) を確認した。



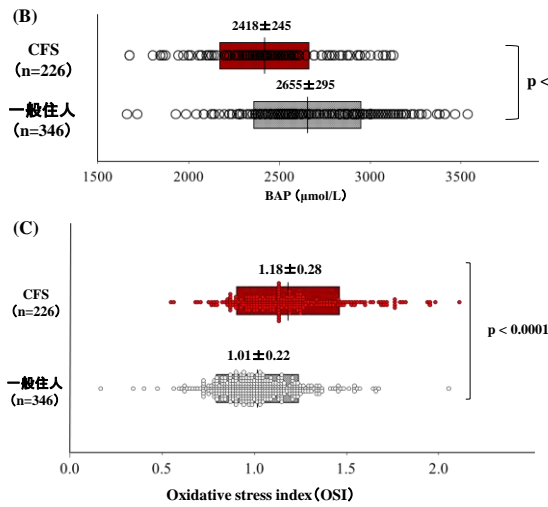


図 4. CFS 患者と一般住人における酸化ストレス度の比較

3. 産業疲労者における酸化ストレス度

NEC 関連会社に勤務するコンピュータープログラマー (24 名) を対象に、激勤務時における酸化ストレス値 (d-ROMs)・抗酸化力値 (BAP)・酸化ストレス度 (OSI) の評価を実施した結果、酸化ストレス値は 410.0 ± 67.0 unit と基準範囲に比較して明らかな高値を示した (図 5-A)。一方、抗酸化力値は、 $2527 \pm 115.5 \mu\text{mol/L}$ と健常基準値と有意な差を認めなかった (図 5-B)。また、OSI は酸化ストレス値の急激な増加を反映して 1.44 ± 0.46 と顕著に増加していた (図 5-C)。

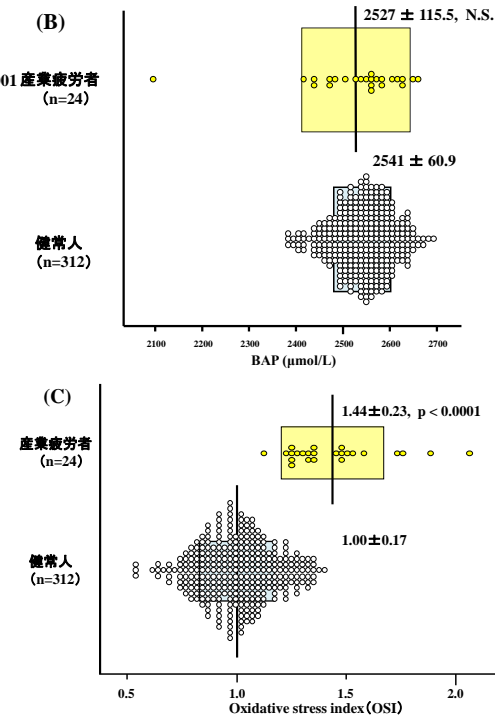
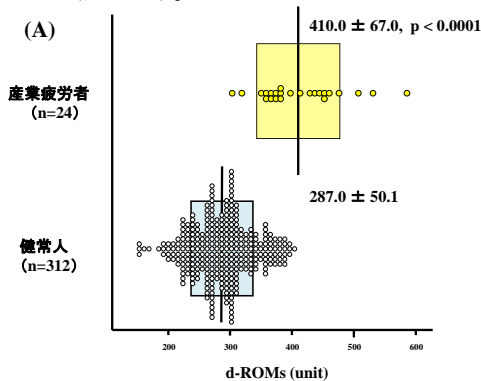


図 5. 産業疲労者における酸化ストレス度の評価

4. 健常人精神負作業荷前後における酸化ストレス度

健常人ボランティア (延べ 24 名) にコンピューター化したクレッペリン試験を 3 時間実施し、精神作業負荷前後における酸化ストレス値 (d-ROMs)・抗酸化力値 (BAP)・酸化ストレス度 (OSI) の評価を行った結果、酸化ストレス値は精神負作業荷前の 301.3 ± 47.2 unit 比較して精神負作業荷後では 321.2 ± 66 unit と有意に増加していた (図 6-A)。一方、抗酸化力値も精神負作業荷前の $2389.6 \pm 162.4 \mu\text{mol/L}$ に比較して精神負作業荷後では $2438.8 \pm 185.8 \mu\text{mol/L}$ と有意に増加していた (図 6-B)。その結果、酸化ストレス度を表す OSI は精神負作業荷前の 0.999 ± 0.07 に比較して精神負作業荷後では、 1.045 ± 0.11 と僅かな上昇にとどまった (図 6-C)。

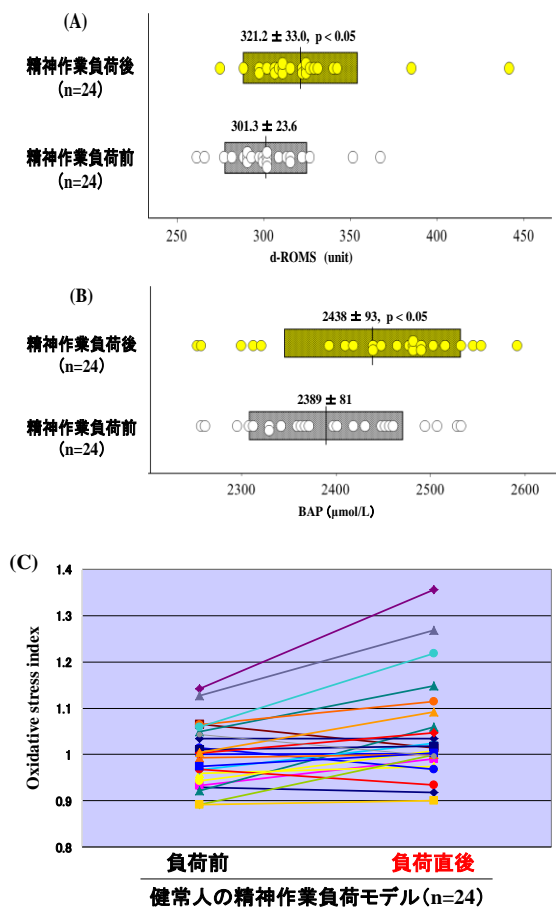


図 6. 健常人精神作業負荷モデルにおける酸化ストレス度の評価

5. 東日本大震災被災者と一般住人における酸化ストレス度の比較

東日本大震災発生で被災した被災地職員 369 名を対象に震災 1 年後の酸化ストレス値 (d-ROMs)・抗酸化力値 (BAP)・酸化ストレス度 (OSI) を被災地以外の一般住人 327 名と比較検討した。その結果、被災地職員の酸化ストレス値は 338.3 ± 73.4 unit (mean \pm SD) と一般住人の 309.3 ± 66.9 unit に比較して有意に高値を示した (図 7-A)。一方、被災地職員の抗酸化力値は $2651 \pm 367 \mu\text{mol/L}$ と一般住人の $2663 \pm 301 \mu\text{mol/L}$ と比較して平均値としては有意な差は認められなかったが (図 7-B)、被災地職員の抗酸化力値は被災地以外の一般住人に比べてやや増加している群と明らかに低下している群とに二分された (図 7-C)。また、OSI は酸化ストレス値の増加を反映して 1.16 ± 0.46 と有意に増加していた (図 7-D)。

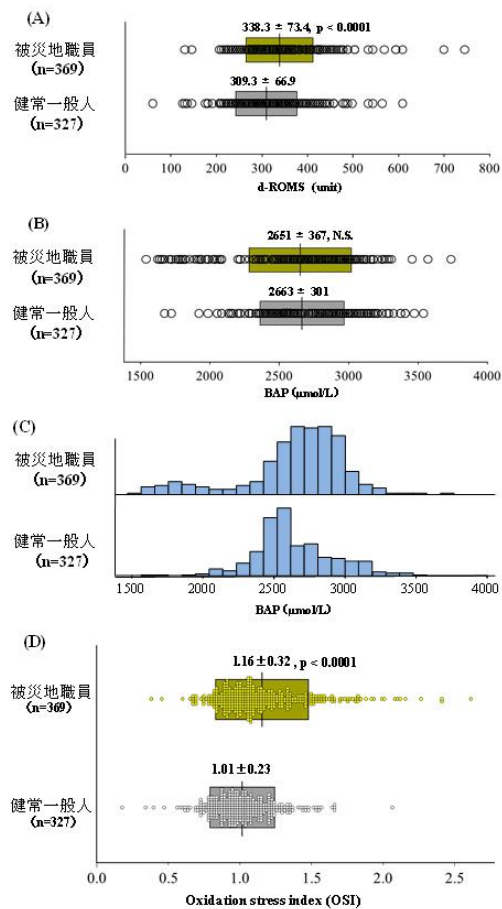


図 7. 東日本大震災被災者と一般住人における酸化ストレス度の比較

D. 考察

本研究では、慢性疲労症候群患者 (CFS)、産業疲労者、健常人精神作業負荷モデルなど、種々の疲労状態における酸化ストレス値 (d-ROMs)・抗酸化力値 (BAP)・酸化ストレス度 (OSI) 測定の有用性を検討した。その結果、CFS 患者 (病的疲労状態) では、酸化ストレス値の増加とともに、それを制御するための抗酸化力値が低下しており、酸化スト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される。一方、産業疲労者 (亜急性疲労状態) では、激勤務により酸化ストレス値が急激に増加するが抗酸化力値が基準値を保持しており、休息することにより酸化ストレス度が改善されると推測される。さらに、健常人では、精神作業負荷 (急性疲労状態) により一過性に酸化ストレス値が増加するが抗酸化力値も同時に増加しており、酸化ストレス度の亢進を制御していることがわかった。

今回、東日本大震災被災者と被災地以外の一般住人における酸化ストレス度を比較した結果、震災被災者群は二つのタイプの疲労状態に分類されることわかった。一つは、酸化ストレス値の増加とともに抗酸化力値も上昇している急性疲労状態であり、震災被災者の約40%がこの状態にあった。二つ目は、酸化ストレス値の増加と抗酸化力値の明らかな低下が認められる病的疲労状態である。今回の調査で、震災被災者の約12%が医療の介入が必要な病的疲労状態にある可能性が示唆された。このように酸化ストレス値と抗酸化力値の評価は、種々の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と思われる。

E. 研究発表

1. 論文発表

Motoki Y, Nojima J, Yanagihara M, Tsuneoka H, Matsui T, Yamamoto M, Ichihara K. Anti-phospholipid antibodies contribute to arteriosclerosis in patients with systemic lupus erythematosus through induction of tissue factor expression and cytokine production from peripheral blood mononuclear cells. *Thromb Res.* 2012 (in press)

Matsui T, Motoki Y, Inomoto T, Miura D, Kato Y, Hino K, Nojima J. Temperature-related effects of adenosine triphosphate-activated microglia on pro-inflammatory factors. *Neurocrit Care.* 2011 (in press)

Nojima J, Motoki Y, Tsuneoka H, Kuratsune H, Matsui T, Yamamoto M, Yanagihara M, Hinoda Y, Ichihara K. 'Oxidation stress index' as a possible clinical marker for the evaluation of non-Hodgkin lymphoma. *Br J Haematol.* 155: 528-530, 2011.

野島順三 宮川真由美 児玉麻衣 本木由香里 常岡英弘 市原清志 日野田裕治. 自動分析装置 BM-1650 による酸化ストレス度の測定. *医学検査* 59(3):199-207, 2010

2. 学会発表

野島順三、常岡英弘. 疲労と酸化ストレス. 第6回日本疲労学会学術集会シンポジウム III「疲労の客観的な評価」2010年6月25-26日 (大阪)

常岡英弘、野島順三. 健常人および慢性疲労症候群患者における酸化ストレス度. 第6回日本疲労学会学術集会 2010年6月25-26日 (大阪)

本木由香里、野島順三、常岡英弘、児玉麻衣、宮川真由美. 自動分析装置 BM-1650 による酸化ストレス度の測定. 第43回中国四国医学検査学会 2010年11月6日 (松江)