

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

採取データについての統計解析と診断決定木

研究分担者 小泉 淳一（横浜国立大学大学院工学研究院 教授）

研究要旨

自律神経機能測定とその機能指標計算において、臨床において最も合理的な測定方法と計算方法を、周波数解析時系列単位の整合、起立試験区域での変動特性値定義について標準化した。また異常判定の基準値を健常人マスデータの解析から、二つの指標、LF/HFとTPから設定した。TPについては、ポピュレーションバランスを用い、加齢効果を数理モデルにより再現した。次いで、研究期間において研究班データセンターに集約された慢性疲労症候群患者167名と健常人95名のデータについて、群間比較をし、有意差のあったデータ項目について、感度と特異度を計算した。また、これらの結果を基に、産業医等を対象としたPrimary診断決定木と、専門医等を対象とするSecondary診断決定木を構築した。

A. 研究目的

本事業全体の目標達成のため、自律神経機能測定とその機能指標計算において、臨床において最も合理的な測定方法と計算方法を標準化する。その標準化した検査結果を基に、疲労の指標を統計学的手法により探索・検証し、慢性疲労の診断に関して十分な尤度比を与える診断決定木を求めることを目的とした。

B. 研究方法

研究班のデータセンター（大阪市立大学医学部附属病院 医薬品・食品効能評価センター）に集約された慢性疲労症候群患者と健常人の匿名化データを用いて解析した。

データセンターに集約されたデータから、精神疾患のみの患者等データを除外し、慢性疲労症候群（CFS）患者167名とその比較対照となる健常人95名を、基本データベースとした。ここには、35項目の背景データ（身長、体重、年齢等）と5つの検査（問診、血液検査、唾液検査、認知課題検査、起立試験検査）から得られるすべての検査数値を含めた。起立試験については、起

立試験全体（[安静・閉眼・座位（以下、I位）] → [安静・開眼・座位（II位）] → [起立動作・開眼（III位）] → [立位維持・開眼（IV位）]）で計測した心電のR波間隔データ（分解能、1,000Hz）を、European Society of CardiologyとNorth American Society of Pacing Electro-physiologyのCirculation（1996）に準拠し、最大エントロピー法によりさらに周波数解析し、0.04–0.15Hz範囲の周波数成分パワー積分値（LF）並びに0.15–0.4Hz周波数成分パワー積分値（HF）等を求め、自律神経機能を解析した。これら解析結果は、研究班データセンターにフィードバックした。また別途、5分間の安静閉眼時心拍変動を、1928名の健常人を対象に採取し、対照とした。

数値化したそれぞれのデータ（データ項目総数279）の特性を把握するため、基礎的統計量を計算するとともに、健常人データについて年齢との相関を求めた。年齢との相関係数の絶対値が0.2を越えるデータ項目については、基準年齢を40歳として、全データに年齢補正を施した、以降、補正值を使用した。性についての補正は、健常人データの規模から、それを避けた。

各データ項目に対しt検定等で群間比較した。統計的に有意な水準 ($p < 0.05$) を示したデータ項目に対しては、ROC曲線等を作成し、感度と特異度を算出した。

感度・特異度の値によりスクリーニングされたデータ項目を用い、全てのCFS患者と健常人を正しく分類できる最大の分類決定木を作成し、その原型木から漸次、交差確認法により最適なサイズに剪定した。交差確認法を含む全統計処理は統計計算アプリケーション、S-PLUS (Mathematical Systems, Inc., US) を用いた。

(倫理面への配慮)

大阪市立大学医学研究科倫理委員会において研究承認された、臨床研究 (介入研究) 「慢性疲労の診断技術の開発に関する研究」 (承認番号1497)、臨床研究 (介入研究) 「アンケート調査および唾液・液体・生体検体による慢性疲労の病因・病態の解明に関する研究」 (承認番号1498)、臨床研究 (介入研究) 「慢性疲労の罹患リスクの同定、並びに診断・治療技術の開発」 (承認番号1499) に準拠した研究計画「慢性疲労の診断技術の開発に関する研究」を、横浜国立大学ライフサイエンス研究倫理委員会に倫理審査申請し、同臨床研究倫理審査専門委員会において承認 (承認番号2) された研究方法に従い、研究対象者に対しての人権擁護上に派生する事象に対し配慮し、また研究対象者に対する不利益、危険性が排除されていること、研究参加を取りやめることの自由等を、十分に説明し、同意を得た上で実施した。

また、他機関で同様に取得された測定結果に関しては、匿名化された形態でのみデータを受領し、個人情報特定されない様式のデータのみを、解析にあたっては使用した。

C. 研究結果と考察

測定と計算方法の適正化と標準化

データ解析を目的とした実験系と異なり、臨床においては、計測・計算システムから結果として示される数値が大きく揺動することは好ましくない。比較的長時間の計算対象時系列を選択することで、見かけ上、揺動は抑えられる。しかしながら、あまりに長時間の計算対象時系列を選択すると、意味ある結果を得るに、いた

ずらに長時間を要することとなる。CFS患者に対しての起立試験は、それだけで患者に対して大きな負荷を与えるため、分単位での試験時間に限定することが望ましいと考えられる。また、上記の揺動を避けることの逆に、起立直後の応答を鋭敏に反映できる計算結果を与えなくてはならない。

これら相反する要求に応える時系列選択の結論として、30秒時系列の周波数解析を統一的手法と提案することとなった。

30秒時系列と60秒時系列との計算例を図1に示す。図より明らかなように、60秒時系列計算値では、揺動が少なく、区間平均値に近い値を経時的に示している。逆に、起立後の応答については、それを観測するに十分ではなかった。

この結果を受け、以降の中央データセンターに蓄積するデータに関しては、30秒時系列計算から得られる代表特性値、閉眼安静座位区間平均値、開眼安静座位区間平均値、起立後変動最大値、起立後変動最大値の半値を与える最大値前の時間 (倍加時間)、起立後変動最大値の半値を与える最大値後の時間 (半減期)、起立後30秒平均値、起立後30-60秒平均値、立位保持区間平均値の8点と、起立後変動のパターン指標を保存することとなった。

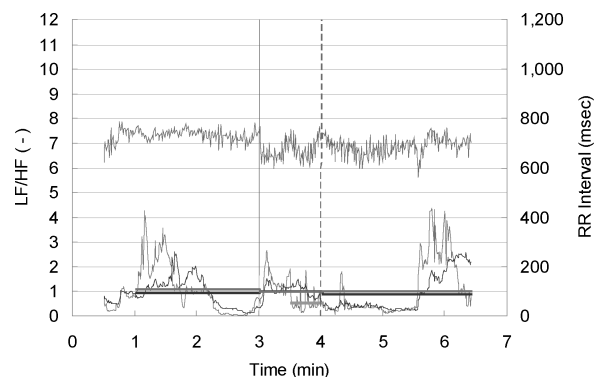


図1 30秒時系列と60秒時系列からの心拍変動の周波数解析

健常人マスデータに基づく基準値

健常人1928名のLF/HF値ヒストグラムを図2に示す。この分布を正規確率プロットでパラメトリック性を確認したところ、全体で一つの正規分布ではなく、少なくとも2つ以上、そして3つの正規分布合成と考えるのが最も合理的であるとの結論を得た。

健常人マスメータの分布を、低位群 (L)、中位群 (M)、高位群 (H) に分けた場合、低位群と中位群の境界として適当な値は、 $mL+2sL$ ($=1.05+2 \times 0.51$) または $(LF/HF)p(L)=p(M)$ となる ca. 2。中位群と高位群の境界として適当な値は、 $(LF/HF)p(M)=p(H)$ となる ca. 5 であった。

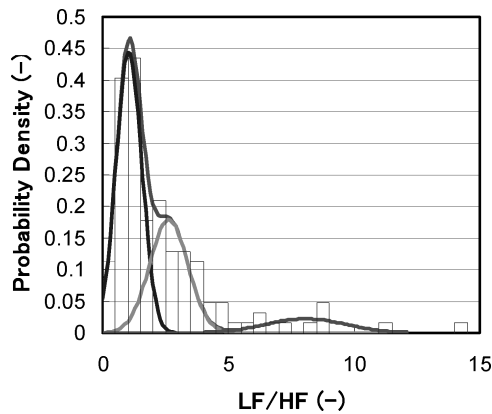


図2 健常人のLF/HF値分布

ポピュレーションバランスによる加齢効果モデル

健常人428名のTP値について、20、30、40、50、60、70代の年齢群ごとのヒストグラムを図3 (図はTPの自然対数をとっている) に示す。得られた分布は、加齢に伴いTPが低減していることを示している。この低減は下のポピュレーションバランスモデルで表すことができた。

$$F_i(t+\Delta t) = \sum_j \mathbf{J}_{ij} F_j(t) - \omega(t)$$

\mathbf{J}_{ij} = asymmetric transfer matrix
 $\omega(t)$ = noise and/or bias

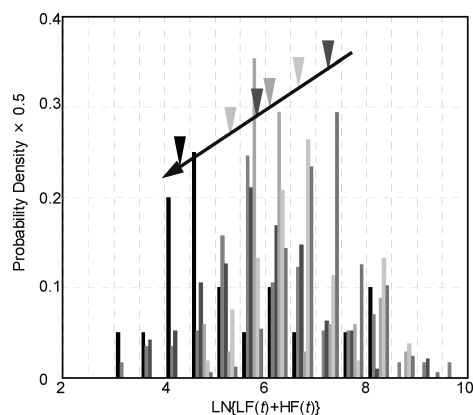


図3 健常人年齢別 ln(TP) 分布

非対称推移行列Jを下記の構造で、各成分を求めた。求めた成分値でのシミュレーション結果を図4に示す。

$$F_i(t+\Delta t) = \sum_j \mathbf{J}_{ij} F_j(t) - \omega(t)$$

\mathbf{J}_{ij} = asymmetric transfer matrix

$$= \begin{pmatrix} 1-\lambda_1 & \kappa_{12} & 0 & 0 & \dots & 0 & 0 & 0 & 0 \\ \mu_{21} & 1-\lambda_2 & \kappa_{23} & 0 & \dots & 0 & 0 & 0 & 0 \\ \nu_{31} & \mu_{32} & 1-\lambda_3 & \kappa_{34} & \dots & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \nu_{42} & \mu_{43} & 1-\lambda_4 & \dots & 0 & 0 & 0 & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & 1-\lambda_{n-3} & \kappa_{n-3,n-2} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & \mu_{n-2,n-3} & 1-\lambda_{n-2} & \kappa_{n-2,n-1} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & \nu_{n-1,n-3} & \mu_{n-1,n-2} & 1-\lambda_{n-1} & \kappa_{n-1,n} \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \dots & 0 & \nu_{n,n-2} & \mu_{n,n-1} & 1-\lambda_n \end{pmatrix}$$

$\lambda_i = \kappa_{i-1,j} + \mu_{ij} + \nu_{i+1,j}$
 $\omega(t)$ = noise and/or bias

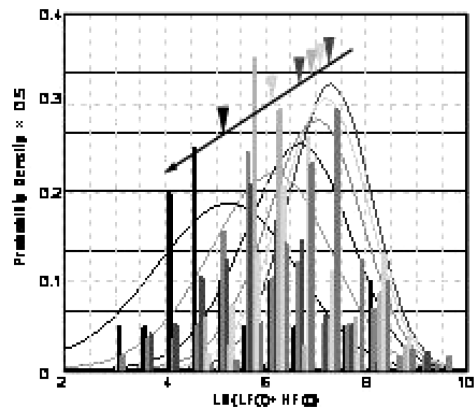


図4 ポピュレーションバランスモデルによる健常人年齢別 ln(TP) 分布シミュレーション

健常人の加齢によるTPの減少は、ポピュレーションバランスモデルにより説明することができた。またこの数理モデルから、次式により自律神経機能年齢を定義することができる。

$P(\text{age})$ = Putative age in autonomic nerve system

$$= \frac{\sum_i R(\text{age}) \cdot F_i}{\sum_i F_i}$$

$R(\text{age})$ = Representative age of i

起立試験における自律神経応答

CFS患者と健常人のTP(=LF+HF) の起立試験応答の時系列を図5に示す。起立試験全体を ([安静・閉眼・座位 (以下、I位)] → [安静・開眼・座位 (II位)] → [起立動作・開眼 (III位)] → [立位維持・開眼 (IV位)]) の区分に分割し、検討した。ほとんどの健常人は起立 (II位からIII位) によりTPが上昇しその後もとの値

Primary診断における決定木

日本におけるprimary careを担っている開業医が実施可能な検査をPrimary診断決定木の作成から着手した。決定木構成において、生理的意味が取りやすい変数構成（合成変数を用いず）で、On siteで迅速に検査結果が得られるデータ項目で構成されるように設定し、交差確認法により、図6に示す決定木を候補として得た。

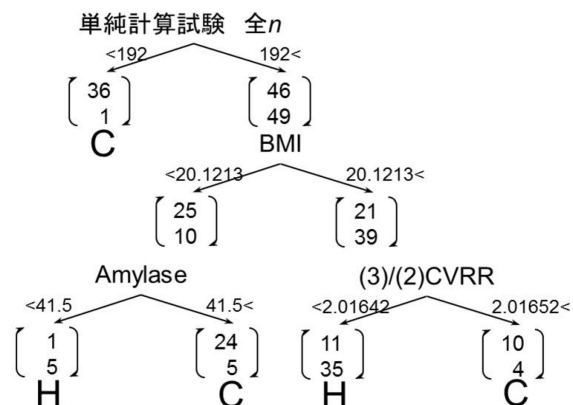


図6 Primary診断決定木の候補例

この決定木について、研究班において臨床の立場からさらに検討が加えられ、構造と検査項目の初期値選択を改めて、Primary決定木を改良した。改良したPrimary決定木を図7に示す。

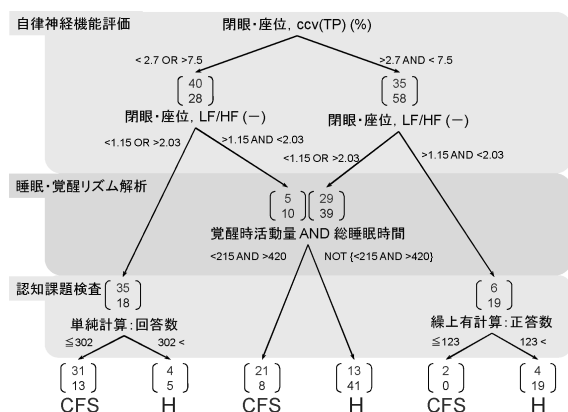


図7 Primary 決定木 version2

このPrimary決定木version2の感度、特異度を表3にまとめた。認知課題検査、安静閉眼時の自律神経機能評価、睡眠・覚醒リズム解析の3つを組み合わせることにより、感度0.720、特異度0.756程度であった。尤度比は2.95であり、Primarilyな検査としては妥当な数値である。

表3 Primary決定木 version2全体の感度、特異度、尤度比

	CFS	Healthy V
Positive (CFS)	54	21
Negative (H)	21	65
Sensitivity	0.720	
Specificity	0.756	
Positive Likelihood Ratio	2.95	

Secondary診断決定木

次いで、CFS診断を確定するために有用であるが分析がOff siteとなる検査項目を加えてSecondary診断決定木を作成した。交差確認法で得られた決定木を図8に示す。

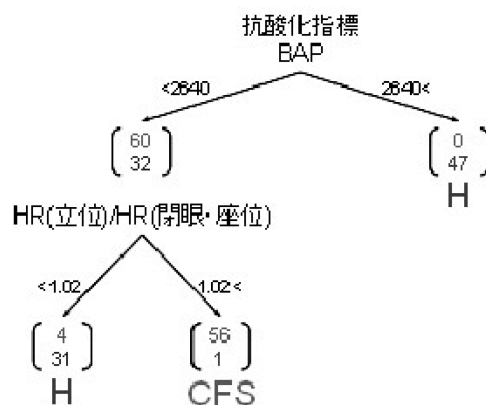


図8 分析がOff siteとなる検査項目を加えて作成し、交差確認法で剪定したSecondary決定木

CFSが疑われて受診した専門病院で実施するSecondary診断決定木としては、血液中の酸化ストレス評価（抗酸化能BAP評価）、起立付加試験における自律神経機能評価の組み合わせで感度0.933、特異度0.987、陽性尤度比73.7と、極めて正確にCFSを診断できることが判明した（表4）。

表4 Secondary決定木全体の感度、特異度、尤度比

	CFS	Healthy V
Positive (CFS)	56	1
Negative (H)	4	78
Sensitivity	0.933	
Specificity	0.987	
Positive Likelihood Ratio	73.7	

D. 健康危険情報

(総括研究報告書にまとめて記入)

E. 研究発表

1. 論文発表

- (1) D. M. Sahabi, M. Takeda, I. Suzuki, J. Koizumi. "Adsorption and abiotic oxidation of arsenic by aged biofilter media: equilibrium and kinetics." *J. Hazard Mater.*, 168 (2-3), 1310-1318, (2009).
- (2) M. Takeda, K. Kondo, M. Yamada, J. Koizumi, T. Mashima, A. Matsugami, M. Katahira, "Solubilization and structural determination of a glycoconjugate which is assembled into the sheath of *Leptothrix cholodnii*." *Int. J. Biol. Macromol.*, 46 (2), 206-211 (2010).
- (3) 倉恒弘彦, 田島世貴, 大川尚子, 藤原和美, 池上 徹, 廣澤巖夫, 三戸秀樹, 宗清芳美, 局 博一, 倉恒大輔, 笹部哲也, 山口浩二, 大平辰朗, 塩見格一, 小泉淳一: 精神作業疲労に対する森林浴の疲労回復効果, *日本疲労学会誌*, 5 (2) 35-41 (2010).
- (4) D. M. Sahabi, M. Takeda, I. Suzuki, J. Koizumi, "Comparison of arsenate, lead, and cadmium adsorption onto aged biofilter media," *J. Environ. Eng.*, 136 (5), 493-500, (2010).
- (5) 小泉淳一: 慢性的な疲労に対する心拍変動解析手順と診断決定木, *日本疲労学会誌*, 6 (2) 43-48 (2011).
- (6) Kondo K, Takeda M, Ejima W, Kawasaki Y, Umezu T, Yamada M, Koizumi J, Mashima T, Katahira M.: Study of a novel glycoconjugate, thiopeptidoglycan, and a novel polysaccharide lyase, thiopeptidoglycan lyase. *Int J Biol Macromol.* 2011 Mar 1; 48 (2): 256-62.
- (7) Takeda M, Kondo K, Yamada M, Koizumi J, Mashima T, Matsugami A, Katahira M: Solubilization and structural determination of a glycoconjugate which is assembled into the sheath of *Leptothrix cholodnii*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2010, 46, 206-211.

- (8) Takeda M, Kawasaki Y, Umezu T, Shimura S, Hasegawa M, Koizumi J.: Patterns of sheath elongation, cell proliferation, and manganese (II) oxidation in *Leptothrix cholodnii*. *Arch Microbiol.* 2012 Mar 4. [Epub ahead of print]
- (9) Takeda M, Muranushi T, Inagaki S, Nakao T, Motomatsu S, Suzuki I, Koizumi J.: Identification and Characterization of a Mycobacterial (2R, 3R) -2, 3-Butanediol Dehydrogenase. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2011, Vol. 75, No. 12 pp. 2384-2389.
- (10) Takeda M, Kondo K, Yamada M, Sumikawa M, Koizumi JI, Mashima T, Katahira M.: Presence of alternating glucosaminoglycan in the sheath of *Thiothrix nivea*. *Int J Biol Macromol.* 2012 Jan 1; 50 (1): 236-44.

2. 学会発表

- (1) 小泉淳一, 小菅元気, 前田準平, 増田久美子, 倉恒邦比古, 倉恒大輔, 田島世貴, 倉恒弘彦: 心拍変動周波数解析から得られる加齢指標, 第5回日本疲労学会学術集会 (2009) (*日本疲労学会誌*, 5 (1), 66 (2009)).
- (2) 倉恒弘彦, 川瀬裕美, 田島世貴, 倉恒大輔, 大平辰朗, 塩見格一, 小泉淳一: 森林浴の抗疲労効果の検証, 第5回日本疲労学会学術集会 (2009) (*日本疲労学会誌*, 5 (1), 78 (2009)).
- (3) 小泉淳一, 増田久美子, 瀬古裕也, 西田 優, 田島世貴, 倉恒弘彦: 予防医療を目的とした自律神経機能検査, 第6回日本疲労学会学術集会 (2010) (*日本疲労学会誌*, 6 (1), 40 (2010)).
- (4) 大川尚子, 田島世貴, 藤原和美, 池上徹, 廣澤巖夫, 三戸秀樹, 倉恒大輔, 大平辰朗, 塩見格一, 小泉淳一, 笹部哲也, 山口浩二, 倉恒弘彦: 精神作業疲労に対する森林浴の疲労回復効果, 第6回日本疲労学会学術集会 (2010) (*日本疲労学会誌*, 6 (1), 105 (2010)).
- (5) 石原世里奈, 芳住邦雄, 倉恒邦比古, 小泉淳一, 倉恒弘彦: 高機能性繊維インナー着用における快適感の心拍変動解析評価, 第

7回日本疲労学会学術集会（2011）（日本疲労学会誌, 7（1）, 81（2011））.

(6) 児玉哲郎, 渋谷文那, 西田 優, 福田謙一, 齋田菜緒子, 藤井智恵子, 永谷 基, 小泉淳一：歯科治療が自律神経機能に与える影響, 第7回日本疲労学会学術集会（2011）（日本疲労学会誌, 7（1）, 87（2011））.

(7) 西田 優, 増田久美子, 瀬古裕也, 貞苅 圭, 児玉哲郎, 渋谷文那, 安藤弘輝, 倉恒大輔, 福田早苗, 藤井比佐子, 田島世貴, 倉恒弘彦, 小泉淳一：決定木モデルによる慢性疲労症候群の診断法設計, 第7回日本疲労学会学術集会（2011）（日本疲労学会誌, 7（1）, 89（2011））.

F. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

- (1) 小泉淳一 外1名：「自律神経機能診断装置、生体モニタリングシステムおよびプログラム」、特願2010-278979（平成22年12月15日）
- (2) 小泉淳一 外5名：「自律神経機能年齢の判定システム及び判定方法」、特願2011-007680（平成23年1月18日）

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし