

平成 30 年 5 月 30 日現在

機関番号：32651

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08216

研究課題名(和文) 精神疲労と身体疲労の鑑別が可能なヘルペスウイルスを利用した疲労測定法の開発

研究課題名(英文) Development of fatigue measurement method using herpes virus which can distinguish between mental fatigue and physical fatigue

研究代表者

近藤 一博 (Kondo, Kazuhiro)

東京慈恵会医科大学・医学部・教授

研究者番号：70234929

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：生理的疲労は容易に回復するが、病的な精神疲労は、生活の質を大きく低下させ、治療的介入を必要とする。このため、これら2つを区別することは重要であるが、有用な鑑別法はなかった。我々は、ヒトヘルペスウイルス(HHV-)6およびHHV-7が、生理的疲労を定量化するためのバイオマーカーとして有用であり、生理的疲労と、病的な精神疲労を引き起こすと考えられる閉塞性睡眠時無呼吸症候群、慢性疲労症候群、および大うつ病を区別できることを見出した。この方法は、疲労を評価し、疲労関連疾患を予防するための根本的に新しいアプローチを示唆している。

研究成果の概要(英文)：People recover from physiological fatigue with rest. Pathological mental fatigue, however, greatly reduces quality of life and requires therapeutic interventions. It is therefore necessary to distinguish between the two but there has been no biomarker for this. We report on the measurement of salivary human herpesvirus (HHV-) 6 and HHV-7 as biomarkers for quantifying physiological fatigue. They increased with training and work and rapidly decreased with rest. However, HHV-6 and HHV-7 did not increase in obstructive sleep apnea syndrome, chronic fatigue syndrome and major depressive disorder, which are thought to cause pathological mental fatigue. Thus, HHV-6 and HHV-7 would be useful biomarkers for distinguishing between physiological and pathological mental fatigue. Our findings suggest a fundamentally new approach to evaluating fatigue and preventing fatigue-related diseases.

研究分野：疲労科学

キーワード：身体疲労 精神疲労 生理的疲労 病的疲労 運動負荷 HHV-6 HHV-7 バイオマーカー

1. 研究開始当初の背景

疲労は労働、運動、精神的負荷などの様々なストレス刺激によって、体力や心身機能の低下をきたす状態で、様々な疾患や労働力低下の原因となるため大きな社会問題となっている。疲労は、生理的疲労と病的疲労、急性疲労と慢性疲労など、様々な切り口で分類される。社会生活に密着した一般的な分類として、精神疲労と身体疲労に区別することが行われる。前者は精神的な負荷によって生じ、後者は運動などの身体的な負荷によって生じることが多いが、両者は複雑に絡みあって発生する。例えば、オーバートレーニングによって強い精神疲労が生じる例や、逆に精神疲労が運動療法などの身体疲労負荷で改善する例が良く知られている。疲労は非常に一般的な生理現象であるにも関わらず不明な点が多く、疲労の原因や客観的測定法など解決すべき問題は多い。精神疲労と身体疲労に関しても、問診表による自覚的な疲労感の測定を、疲労測定のための代りに用いることが多く、疲労そのものに対する客観的測定法やバイオマーカーは確立されていなかった。

2. 研究の目的

疲労は労働、運動、精神負荷などの様々な原因によって生じ、体力や心身機能の低下をもたらす。疲労は精神的なものと身体的なものに大別できる。両者は相乗的に作用して健康障害を生じる一方で、精神疲労が身体疲労の負荷によって改善するといった現象も見られる。精神疲労と身体疲労を正しく把握することは、疲労に関係する現象の解明に必要なものであるが、両者を客観的検査で区別する方法は確立されていない。我々は、体内に潜伏感染しているヒトヘルペスウイルス 6(HHV-6)を疲労のバイオマーカーとする研究を行ってきた。本申請では、これらの研究をもとに精神疲労と身体疲労を鑑別して客観的に測定できる方法を開発し、それぞれの疲労の心身への影響や相互作用を明らかにすることで、疲労の予防・治療法を得ることを目的とする。

3. 研究の方法

精神疲労測定法の開発では、我々が既にバイオマーカーとしての有用性を示唆した、脳特異的 HHV-6 潜伏感染タンパクの発現を速やかに検出するため、抗 SITH-1 IgM 抗体を高感度で検出する ELISA 法を開発する。発光 ELISA 法と最新のマイクロビーズ法である Luminex 法の検討を行う。

身体疲労測定法の開発では、これまでに我々が同定した、全身のマクロファージで特異的に発現する HHV-6 潜伏感染遺伝子タンパクを標的とした、高感度 ELISA 法を開発を行う。また、これらの潜伏感染遺伝子発現を Real-time PCR 法で測定する方法も検討する。

測定法の有用性の検証と精神疲労と身体疲労の心身への影響の解析は、精神疲労や

運動疲労を訴える対象者の検体を同時測定し、労働時間、睡眠時間、精神的なアンケート調査、身体的な症状などを、多変量解析などの統計処理によって行う。

4. 研究成果

a) 本研究計画の当初、研究の方法の)と)に示した、脳疲労と身体疲労に特異的なタンパク発現を血中抗体の測定によって検出することで、身体疲労と精神疲労を鑑別するという試みを行った。

我々は、別の研究計画において、疲労を発生させるシグナル伝達の本態は真核生物翻訳開始因子 2 (eIF2) のリン酸化によるシグナルであることを見出していた。また、疲労負荷による eIF2 リン酸化は、このシグナルの下流にある Activating Transcription Factor 3 (ATF3) の発現によって測定できることも見出していた。そこで、マウスに強制水泳負荷を与えて発生させた身体疲労と、睡眠不足によって発生させた精神疲労における各種臓器での ATF3 発現を見当した結果、両者において ATF3 発現の促進が観察され(図 1、2)、生理的な条件下における身体疲労と精神疲労には本質的な差異がないことが示唆された。

このため、当初の研究計画であった、身体疲労と精神疲労を鑑別する方法の開発は、生理的条件下における疲労では非常に困難であると考えられた。

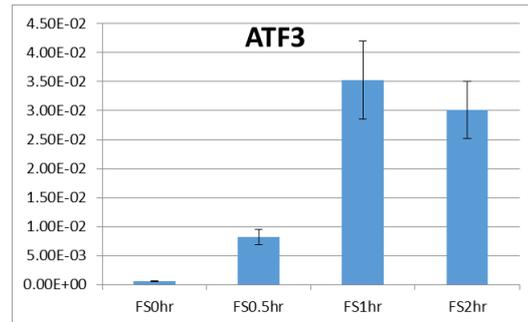


図 1: 強制水泳における ATF3 発現(肝臓)

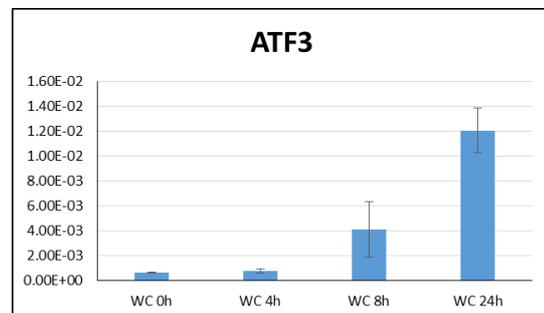


図 2: 睡眠不足における ATF3 発現(肝臓)

b) 疲労は、身体的疲労と精神的疲労に分類される他、生理的疲労と病的疲労に分類される。生理的疲労は、健康な人に労働や運動によって発生するもので、休息することによって比較的簡単に回復させることができることを特徴とする。これに対して、病的疲労は、

労働や運動などの負荷があまりなくても強い「疲労感」を感じてしまうもので、長期間続き休息による回復効果があまり期待できないことを特徴とする。また、病的疲労は、うつ病や慢性疲労症候群、睡眠時無呼吸症候群などで見られ、精神的ストレスによって発症または悪化することが多く、強い精神疲労とも言える病態である。

そこで、本研究では、上記)の研究手法を主として用い、生理的疲労と病的疲労との鑑別を行うことに研究目標を修正した。病的疲労も、労働力低下や健康障害を招き、社会的に大きな問題であるので、この目的の修正が本研究の価値を損なうことはないと考えられた。

まず、生理的疲労が唾液中の HHV-6、HHV-7 の量に反映されるかどうかを検討した。この結果、HHV-6、HHV-7 ともに残業の有る群では有意に増加しており(図 3)、唾液中 HHV-6、HHV-7 がともに一般的な労働者の生理的疲労に反応して増加する性質をもち、このような生理的疲労を判定するのに有用であることが示唆された。

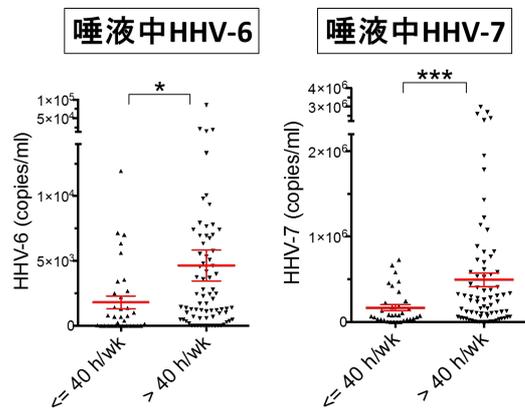


図 3: 唾液中 HHV-6、HHV-7 と生理的疲労との関係

次に、病的疲労が疑われる患者の唾液中 HHV-6、HHV-7 を測定した。病的疲労としては、睡眠時無呼吸症候群(OSAS)、慢性疲労症候群(CFS)、うつ病(DEP)の患者を対象とした。対照群としては健常人(NC)を用いた。この結果、これらの患者は強い疲労感を感じているにも関わらず、唾液中の HHV-6 と HHV-7 は何れも増加しないことが判った。HHV-7 においては、OSAS と CFS で有意に低下していることも観察された(図 4)。

唾液中の HHV-6 と HHV-7 の増加は、体内に潜伏感染しているウイルスが再活性化することによって生じる。我々は過去の研究において、HHV-6 の再活性化が eIF2 リン酸化によって生じることを示しており、今回、別の研究課題において生理的疲労の原因が eIF2 リン酸化であることを示したことで、生理的疲労と唾液中 HHV-6、HHV-7 の増加との関係がより明確になった。これらのことにより、病的疲労は生理的疲労を全く伴わない

疲労感であることが明らかとなった。また、この鑑別は、自覚的な疲労感と唾液中 HHV-6、HHV-7 とを総合的に評価することで可能であることも判った。

病的精神疲労は単なる休息では改善し難く、何らかの治療が必要である可能性が高いので、強い「疲労感」を感じている人の唾液中 HHV-6、HHV-7 が高値を示さない場合は、病的精神疲労を疑う必要があると考えられる。この様なことから、本研究の目的である「精神疲労と身体疲労の鑑別が可能ヘルペスウイルスを利用した疲労測定法の開発」は、途中、目的や方法の修正はあったが、実質的には成功したと考えられる。

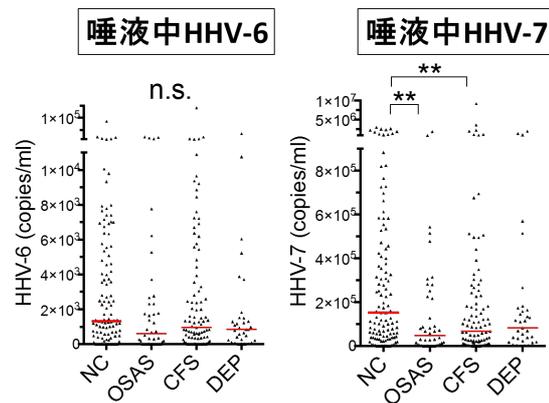


図 4: 唾液中 HHV-6、HHV-7 と病的疲労との関係

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 8 件)

1. Tamai M, Kobayashi N, Shimada K, Oka N, Takahashi M, Tanuma A, Tanemoto T, Namba H, Saito Y, Wada Y, Okamoto A, Ida H, Kondo K.

Increased interleukin-1beta and basic fibroblast growth factor levels in the cerebrospinal fluid during human herpesvirus-6B (HHV-6B) encephalitis. *Biochemical and biophysical research communications* 2017;486(3): 706-11. DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.03.102.

2. Osaki T, Morikawa T, Kajita H, Kobayashi N, Kondo K, Maeda K. Caregiver burden and fatigue in caregivers of people with dementia: Measuring human herpesvirus (HHV)-6 and -7 DNA levels in saliva. *Arch Gerontol Geriatr* 2016;66: 42-48.

3. Shinagawa S, Kobayashi N, Nagata T, Kusaka A, Yamada H, Kondo K, Nakayama K. DNA methylation in the

NCAPH2/LMF2 promoter region is associated with hippocampal atrophy in Alzheimer's disease and amnesic mild cognitive impairment patients. *Neurosci Lett* 2016;629: 33-37.
DOI: 10.1016/j.neulet.2016.06.055.

4. Aoki R, Kobayashi N, Suzuki G, Kuratsune H, Shimada K, Oka N, Takahashi M, Yamadera W, Iwashita M, Tokuno S, Nibuya M, Tanichi M, Mukai Y, Mitani K, Kondo K, Ito H, Nakayama K. Human herpesvirus 6 and 7 are biomarkers for fatigue, which distinguish between physiological fatigue and pathological fatigue. *Biochemical and biophysical research communications* 2016;478(1): 424-30.
DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.07.010.

5. Kobayashi N, Shinagawa S, Nagata T, Shimada K, Shibata N, Ohnuma T, Kasanuki K, Arai H, Yamada H, Nakayama K, Kondo K. Usefulness of DNA Methylation Levels in COASY and SPINT1 Gene Promoter Regions as Biomarkers in Diagnosis of Alzheimer's Disease and Amnesic Mild Cognitive Impairment. *PloS one* 2016;11(12): e0168816.
DOI: 10.1371/journal.pone.0168816.

6. Nobuyuki Kobayashi, Shunichiro Shinagawa, Tomoyuki Nagata, Kazuya Shimada, Nobuto Shibata, Tohru Ohnuma, Koji Kasanuki, Heii Arai, Hisashi Yamada, Kazuhiko Nakayama, Kazuhiro Kondo. Development of Biomarkers Based on DNA Methylation in the NCAPH2/LMF2 Promoter Region for Diagnosis of Alzheimer ' s Disease and Amnesic Mild Cognitive Impairment . *PLoS ONE* 2016 ; e0146449 .
DOI: 10.1371/journal.pone.0146449.

7. Fukuda S, Koyama H, Kondo K, Fujii H, Hirayama Y, Tabata T, Okamura M, Yamakawa T, Okada S, Hirata S, Kiyama H, Kajimoto O, Watanabe Y, Inaba M, Nishizawa Y. Effects of nutritional supplementation on fatigue, and autonomic and immune dysfunction in patients with end-stage renal disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter trial. *PLoS One*. 2015 Mar 6;10(3):e0119578
DOI: 10.1371/journal.pone.0119578.

8. Nagata T, Kobayashi N, Ishii J, Shinagawa S, Nakayama R, Shibata N,

Kuerban B, Ohnuma T, Kondo K, Arai H, Yamada H, Nakayama K. Association between DNA Methylation of the BDNF Promoter Region and Clinical Presentation in Alzheimer's Disease. *Dementia and geriatric cognitive disorders extra* 2015;5(1): 64-73.
〔学会発表〕(計 7 件)

1. 小林伸行, 岡直美, 高橋麻弓, 玉井将人, 嶋田和也, 近藤一博.
分子機構から明らかにする疲労とストレスとの相違に関する検討.
第 13 回日本疲労学会. 名古屋. 2017 年 5 月
第 13 回日本疲労学会研究奨励賞

2. 岡直美, 小林伸行, 高橋麻弓, 嶋田和也, 近藤一博
唾液中に分泌された HHV-6 がうつ病を発症させるメカニズムの解明
第 13 回日本疲労学会. 名古屋. 2017 年 5 月

3. 岡直美, 小林伸行, 嶋田和也, 高橋麻弓, 近藤一博
疲労によって誘導されるウイルス因子が関与するうつ病発症メカニズムの解明
第 39 回生物学的精神医学会(札幌) 2017 年 9 月

4. 疲労によって誘導されるウイルス因子が関与するうつ病発症メカニズムの解明
岡直美, 小林伸行, 嶋田和也, 高橋麻弓, 近藤一博
第 38 回生物学的精神医学会(福岡) 2016 年 9 月

5. 唾液中に分泌された HHV-6 がうつ病を発症させるメカニズムの解明
岡直美, 小林伸行, 嶋田和也, 高橋麻弓, 近藤一博
第 12 回日本疲労学会(横浜) 2016 年 5 月
最優秀発表賞・受賞

6. 唾液中ヒトヘルペスウイルス(HHV)-6 及び HHV-7 量による病的疲労と生理的疲労との鑑別に関する検討
小林伸行, 青木亮, 岡直美, 高橋麻弓, 嶋田和也, 玉井将人, 山寺亘, 岩下正幸, 倉恒弘彦, 伊藤洋, 中山和彦, 近藤一博.
第 12 回日本疲労学会(横浜) 2016 年 5 月

7. 小林伸行, 青木亮, 嶋田和也, 玉井将人, 山寺亘, 岩下正幸, 伊藤洋, 中山和彦, 近藤一博
睡眠時無呼吸症候群を対象とした、HHV-6、HHV-7 の再活性化メカニズムの検討 . 第 63 回日本ウイルス学会(福岡) 2015 年 11 月

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等：なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

近藤 一博 (KONDO, Kazuhiro)
東京慈恵会医科大学・医学部・教授
研究者番号：70234929

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

なし