

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：21601

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K19412

研究課題名（和文）眠りを見守る睡眠負債評価法の開発

研究課題名（英文）Development of Sleep Debt Assessment Method

研究代表者

増石 有佑（Masuishi, Yusuke）

福島県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：20626767

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,900,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は閉塞性睡眠時無呼吸症候群（OSA）患者の毛髪を用いて、睡眠負債を定量するマーカー分子の同定を行い、睡眠負債評価法の開発を目的とする。OSA患者毛髪に含まれるホルモン分子の化合物を定量比較することで、これら化合物が睡眠負債を定量評価することが可能なのか検討を行った。福島県福島市内のスリープクリニックにて15名の研究対象者の毛髪の採取を約半年ごとに行った。採取したOSA患者毛髪を解析することで、濃度が増加している化合物の存在を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

睡眠負債を抱えている人に注意喚起を行うことは、社会全体の健康増進に繋がると思われるが、一般人に対する睡眠に関しては調査票を用いた評価が中心であり、簡便に睡眠負債を定量評価する生化学的な指標は現在のところ存在しない。そのため潜在的に睡眠負債を抱えている人をスクリーニングするのに適した簡便な睡眠負債診断法の開発が望まれている。OSA患者毛髪において、ある化合物の濃度が上昇しているという研究結果は、睡眠負債診断法の開発に繋がると思われる。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to develop a method for assessing sleep debt by identifying marker molecules that quantify sleep debt using hair from patients with obstructive sleep apnea (OSA). Hair samples were collected approximately every six months at a sleep clinic in Fukushima City. By analyzing the collected hair samples of OSA patients, a few of increased compounds were found.

研究分野：衛生学

キーワード：睡眠負債 毛髪 睡眠時無呼吸症候群

## 1. 研究開始当初の背景

睡眠負債を抱えている人に注意喚起を行うことは、社会全体の健康増進に繋がると思われるが、一般人に対する睡眠に関しては調査票を用いた評価が中心であり、簡便に睡眠負債を定量評価する生化学的な指標は現在のところ存在しない。現在のところ、睡眠障害を診断するために睡眠ポリグラフ検査 (PSG) が用いられており、睡眠の質と量を測定することは可能である。しかし PSG は一回の睡眠を測定するため、重度な睡眠障害患者を診断するには有用であるが潜在的な睡眠負債を評価するには不向きであると思われる。また多くの人に何度も PSG を受けさせる事は、費用面においても現実的ではない。睡眠の分子生物学的な機構は完全には明らかになっていないが睡眠と関連があるホルモン分子が明らかになっている。不眠により視床下部—下垂体—副腎系 (HPA 系) が亢進され、ストレスホルモンとして知られているコルチゾールが不眠症患者の唾液で上昇している報告がある (Backhaus J et al. *Psychoneuroendocrinology*. 2004)。コルチゾールの他には、デヒドロエピアンドロステロンサルフェート (DHEA-S) が減少し (Abraham PA et al. *Ethn Dis*. 2013)、脳由来神経栄養因子 (BDNF)、インスリン様成長因子-1 (IGF-1)、メラトニンも不眠により減少することが知られている (Everson CA et al. *Am J Physiol*. 2004) (Guzman-Marín R et al. *J Physiol*. 2006)。甲状腺刺激ホルモン (TSH) に関しては断眠により増強されるという報告がある (Jauch-Chara K et al. *PLoS One*. 2013)。睡眠障害によりインスリン抵抗性の上昇、食欲を調節するホルモンであるレプチンの減少およびグレリンの増加などが報告されている (Grandner MA et al. *Curr Diab Rep*. 2016)。これらホルモン分子を用いた睡眠負債の評価法の開発が望まれているが、健康教育といった予防医学分野や臨床現場で通用する生化学的指標を用いた睡眠負債マーカーは明らかになっていない。血中や唾液中の化合物濃度は日内変動や個人差が大きく、睡眠不足などの慢性的な曝露による結果を測定することは非常に困難であると思われる。そのため潜在的に睡眠負債を抱えている人をスクリーニングするのに適した新たな睡眠負債診断法の開発が望まれている。

毛髪を用いた内因性の疾患マーカーを探索する研究は遅れており、毛髪中のホルモン分子と睡眠との関連を調べた研究は少ない。毛髪を網羅的に解析した研究も非常に少なく、毛髪のメタボロームおよびプロテオームを測定した例も少ないため、未だに明らかにされていないマーカー分子が毛髪内に存在する可能性は高いと思われる。2017 年度に理化学研究所と民間企業 18 社が共同で毛髪診断コンソーシアムを設立した。本コンソーシアムでは毛髪に蓄積される健康指標や疾患指標による新たな非侵襲型診断システムの確立を目的としている。多くの民間企業が参加していることから毛髪を対象としたマーカー探索研究の高い期待が伺える。

## 2. 研究の目的

重度の OSA 患者は睡眠障害の曝露を長期間受けているため、大きな睡眠負債を抱えている。本患者では睡眠負債の影響による何らかの分子発現変化が起きていると思われる。申請者は OSA 患者の治療前後の毛髪を測定対象とすることで、睡眠負債を定量評価するための新規マーカー分子を同定することが可能になると考えた。非侵襲的な睡眠負債評価法の開発は、潜在的な睡眠不足を見つけ、ライフスタイルの改善あるいは早期治療に繋がるため、予防医学・衛生学分野における本研究の意義は大きいと思われる。

## 3. 研究の方法

(1) 福島県福島市内のスリープクリニックにて研究参加者の毛髪の採取を行った。クリニックにて簡易 PSG 検査を受けた OSA 患者の中から本研究の参加者を募り、検査結果から無呼吸低呼吸指数 (AHI) が 40 以上の患者を 15 名選定した。研究参加者の毛髪採取は毛髪の成長速度の個体差が少ないとされる後頭部から行い、染髪および白髪の毛髪は除外した。採取する量は 50 mg を目安とした。毛髪は 1 ヶ月に約 1cm 伸びる事を想定して根本近くを切断した。測定結果に影響を与える可能性があるため、参加者の性別および年齢、BMI、既往歴を記録した。1 回目の毛髪採取の前後 (一週間程度) において研究参加者は CPAP 治療を開始する。治療開始から半年後、1 年後、1 年半後および 2 年後の時点で再度、毛髪採取を行った。

(2) コルチゾール測定用 ELISA キットを用いて、採取した毛髪中のホルモン分子の量的質的变化の測定を行った。測定手法に関しては Jerrold Meyer らの論文を参考にして行った (Jerrold Meyer et al. *J Vis Exp*. 2014)。

(3) 毛髪からタンパク質を抽出し、質量分析計を用いたプロテオーム解析を行った。

(4) 過眠症等の患者の毛髪も同様に採取した。採取した毛髪中のホルモン分子の濃度測定を行った。

## 4. 研究成果

(1) 福島県福島市内のスリープクリニックにて CPAP 治療開始直後の 15 名の研究対象者の毛髪の採取を行った。そのうち 14 名については治療開始から半年後の毛髪の採取も行い、さらに 8 名については 1 年後の毛髪を採取した。採取した毛髪を対象に、毛髪内ホルモン分子を ELISA

で定量解析した。その結果、**CPAP** 治療開始後に濃度が低下した毛髪内ホルモン分子の存在が明らかになった。

**(2)** 毛髪からタンパク質を抽出し、質量分析計を用いたプロテオーム解析を行った結果、**200** 種類を超えるタンパク質の同定に成功した。毛髪内タンパク質はほぼケラチンタンパク質で占められていると考えられており、今回の測定でも毛髪内に存在すると思われるほぼ全てのケラチンタンパク質ファミリーの同定に成功した。しかし、これらのアバンダントなタンパク質が微量なタンパク質の同定を妨げているため、今後、毛髪内プロテオーム解析を進めるための新たな手法の開発が必要だと思われる。

**(3)** 過眠症などの睡眠障害患者の毛髪も同様に採取し、毛髪内ホルモン分子の測定を行った。サンプル数が少ないためマーカー分子の同定には至らなかったが、毛髪サンプルは今後も採取していく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------