

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 9 月 18 日現在

機関番号：34431

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K12689

研究課題名(和文) 血中の循環粒子を標的とした慢性疲労の画期的診断マーカーの開発

研究課題名(英文) Development of the novel diagnostic marker for chronic fatigue targeting circulating particles

研究代表者

福田 早苗 (SANAE, FUKUDA)

関西福祉科学大学・健康福祉学部・教授

研究者番号：50423885

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：慢性疲労は、ウイルスを含む何らかの外的なストレスを原因として神経内分泌-免疫系の異常が生じその結果として「疲労」という言葉に代表される諸症状により、パフォーマンスの低下が起こっている。疲労を主訴とする代表的な疾患である慢性疲労症候群では脳内グリア細胞の発現異常があり、またその原因に何らかの炎症がかかわっていることは様々な先行研究より明らかとなっている。しかしながら、血中で測定可能なバイオマーカーは同定されていない。本研究では、疲労に特異的なバイオマーカー探索を実施したので報告する。

研究成果の概要(英文)：Chronic fatigue is caused by abnormalities in the neuroendocrine-immune system induced by some stress including viruses. In chronic fatigue syndrome, which is a representative disease primarily complaining of fatigue, there have been shown abnormal expression of glial cells in the brain, and various previous studies revealed one of the causes of fatigue was some inflammation. However, blood fatigue-specific-biomarkers have not been identified. In this study, we carried out it and found new biomarker.

研究分野：健康科学・予防医学

キーワード：疲労 バイオマーカー

1. 研究開始当初の背景

慢性疲労は、ウイルスを含む何らかの外的なストレスを原因として神経内分泌-免疫系の異常が生じその結果として「疲労」という言葉に代表される諸症状により、パフォーマンスの低下が起こっている。疲労を主訴とする代表的な疾患である慢性疲労症候群では脳内グリア細胞の発現異常があることが明らかとなり (Nakatomi, et al. 2014, J Nucl. Med.) またその原因に何らかの炎症がかかわっていることは様々な先行研究より明らかとなっている。しかしながら、血中で測定可能なバイオマーカーは同定されておらず、特に健常人が訴える慢性疲労に関してはそのバイオマーカーは皆無といっても過言ではない。申請者は、共同研究者(研究協力者: 江口暁子)らと共に、血中の循環微小粒子(活性化した細胞や障害を受けた細胞から放出される粒子)の増加が慢性疲労症候群の病態、特に脳内グリア細胞の発現異常や CRP (C-reactive protein) と相関があることを見出している。すでに江口らは、肝臓疾患において循環微小粒子を用いて肝臓疾患を特異的に診断するバイオマーカーの開発に成功している (Povero, et al. 2013, Science Signaling)。さらに、肝細胞由来の微小粒子が、肝細胞以外の標的細胞に融合し循環微小粒子を導入することで標的細胞の活性化を引き起こし、肝臓疾患の進行に寄与していることを明らかにした (Povero, et al. 2013, Eguchi, et al. 2016)。そこで慢性疲労においても、微小粒子の成分(タンパク質や microRNA 等)を同定することで、疾患特異的な新規バイオマーカーを開発できる可能性が高い。さらに、循環微小粒子の成分同定を通じて、微小粒子の機能を明らかにすることで、現在不明である慢性疲労のメカニズム・病態の解明につながることを期待される。

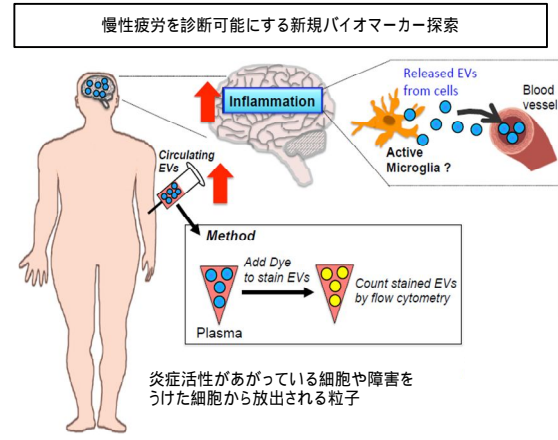
2. 研究の目的

申請時には、1. 循環微小粒子(タンパク質や microRNA 等)の同定を行いバイオマーカーとしての特異性を探索、2. 様々な疾患における慢性疲労の類似性・差異を診断できる新規バイオマーカーの開発、3. 循環微小粒子からみた慢性疲労のメカニズム・病態の探求を通し、慢性疲労の新規バイオマーカーの開発と新規病態メカニズムの解明を行うことを目的としていた。具体的には次の2の方法で研究を実施した。

3. 研究の方法

1) 現在までに慢性疲労症候群においてバイオマーカーとなりえることが明らかとなっているバイオマーカーの1つに酸化ストレス等がある。これらのバイオマーカーと比べ循環微小粒子の感度・特異度を比較する。慢性疲労症候群患者 121 名(女性 76 名、男性 45 名、 37.3 ± 8.36 歳)(1994 年の診断基準を満たすもの)と健常人 656 名(女性 382

名、男性 274 名、平均年齢 40.8 ± 12.4 歳)との酸化ストレスのうち d-Roms (Diacron



International, Grosseto, Italy) 及び抗酸化力として Biological Antioxidant Potential (BAP; Diacron International)を測定した明らかにした酸化ストレスの値と循環微小粒子について比較を行った。循環微小粒子を測定した対象は以下である。

1 回目の調査としては 39 名の慢性疲労症候群患者 (CDC1994 基準を満たす者) と健常人 35 名の比較を実施した。双方のサンプルの平均年齢はそれぞれ 40.1 ± 6.02 歳、 40.2 ± 5.7 歳であり、また男女比はそれぞれ 1:2.5、1:2.5 と同じ比率だった。1 回目の調査で健常人との間に差異が認められたため、2 回目の調査を実施した。2 回目の調査では、特に冷凍保存等の影響をできるだけ除去したバイオマーカーあその値を確認し真にバイオマーカーとして使用できるかを検討し、喫煙等バイオマーカーに影響を与える因子をできるだけ調査委託した対象を選択し実施した。その結果、対象患者は 30 名で診断基準は 1 回目と同様であった。平均年齢は 39.8 ± 6.05 歳ですべて女性の非喫煙者で BMI は 30 を超えなかった。

2) 慢性疲労症候群・慢性疲労・うつ病を対象にし、循環微小粒子を測定しその差異を同定する。

対象者は、A クリニックを受診した患者のうちうつ病と診断された 8 名(男性 2 名、女性 6 名) 突発性慢性疲労と診断された 6 名(男性 4 名、女性 2 名)及び上記 1) で実施した慢性疲労症候群の循環微小粒子の比較を行った。突発性慢性疲労は、CFS の 1994 年の基準の一部を満たすがすべてを満たさない対象である。

4. 研究成果

1) 酸化ストレスマーカーについては慢性疲労(急性・亜急性) 慢性疲労症候群において共通で使用できるバイオマーカーである。特に抗酸化力と酸化ストレスの組み合わせで、これらの異なった疲労の病態を層別化してみること適している。(Fukuda, et al.

Biol Psychology, 2016.)

結果、循環微小粒子は、1回目も2回目も健常の値より高く、感度・特異度は酸化ストレスマーカーよりも循環微小粒子マーカーの方が高いことを明らかとした(江口・福田ら投稿準備中)。具体的には、循環微小粒子のROCは0.802(95%CI:0.70-0.90)、酸化ストレスのd-RomsのROCは0.550(95%CI:0.41-0.69)、抗酸化力であるBAPのROCは0.695(95%CI:0.57-0.82)であり、炎症反応と関連があるCRPはROC0.620(95%CI:0.46-0.78)であり、循環微小粒子のROCが有意に高かった。また、1回目のカットオフ値を感度特異度が高くなる3.5(log値)で設定した場合2回目の調査の結果の適合率は93.3%と非常に高かった。バイオマーカー同士の関連としては、抗酸化力との間に相関が認められ、他に関連のあるマーカーはCRPなどであったが、抗酸化力との関連性は高くなかった。2回目の調査ではアシルカルニチン値との関連も検討したがこちらは有意に負の相関を示した。

2) 健常と慢性疲労症候群では上記1)で述べたように循環微小粒子の数が異なることが明らかになっているが、慢性疲労者、うつ病についても解析し、慢性疲労者と慢性疲労症候群には差があることを見出した。循環微小粒子の数としては、突発性疲労、慢性疲労症候群、うつ病の順に高かった。さらなるメカニズムについては今後プロテオミクス等を測定し明らかにしていく。

本研究において、循環微小粒子の量が慢性疲労で差がある可能性が示唆されたが、これだけでは、単にどちらが高いかという結論にしかない。上記にも記載したように今後は循環微小粒子の中のプロテオミクスやmicroRNAを含めた解析を行う必要がある。また、2回目の調査でバイオマーカーに与える影響因子をできるだけ取り除いた検討を実施はしたが、最も影響があると考えられる薬剤が投与されていない群の検討は行っていない。しかしながら、患者の状況から鑑み、薬剤投与を控えることは倫理的に許されないことであり、その検討を行うことは極めて難しいと言わざるを得ない。慢性疲労症候群も突発性慢性疲労も精神疾患の合併や類縁疾患である線維筋痛症との合併が知られており、その検討も今回は行うことができていない。今後は、大規模集団の中で、新規の患者を発見し検討を行うか、対象患者規模を拡大し、層別化解析もしくは多変量解析を進める等の対応が考えられる。また、今回うつ病や突発性慢性疲労との関連も検討したが、いずれもサンプル数が少なく精度の高い研究が行えたとはいいがたく予備的研究にとどまっている。また、国民の多くが悩んでいる「慢性疲労」のマーカーの発見には本研究で至っておらず、その研究を行うためには大規

模の集団コホートの実施が望ましい。

現在までに慢性疲労と関連すると言われている指標は、酸化ストレス、自律神経機能、ウイルス等多数報告されているが、いずれも「特異的なバイオマーカー」とは言い難い。そこで、「慢性疲労」を診断できる新規バイオマーカーの開発が求められていた。本研究の結果から、循環微小粒子がその一翼を担う可能性が示唆された。慢性疲労は、問診のみでの診断は困難であるが、本研究の解析結果から、循環微小粒子が慢性疲労者、うつ病と慢性疲労症候群、健常人で異なることが明らかとなれば、新規の診断方法につなげることが可能になるかもしれない。また、これらの対象の循環微小粒子中の成分の差異が特定されれば、治療法につながると可能性がある。その結果、治療効果のバイオマーカーとしても使用可能であり、現在疲労に効果があるとされているOTC医薬品や産婦裏面と、医療機器などの慢性疲労緩和効果の判定に利用も可能である。疲労の緩和は国全体の経済効果に波及するだけでなく、過労やうつなどの社会問題、モチベーション低下の問題など様々な問題を解決できる可能性がある。しかしながら、本研究ではまだその一端を明らかにしたとしか言えずさらなる検討が必要と考えられる。

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 3 件)

1. Fukuda S, 他 6 名. A potential biomarker for fatigue: Oxidative stress and anti-oxidative activity. *Biol Psychology*, 118, 88-93, 2016 (査読有)

2. Fukuda S, 他 8 名. Ubiquinol supplementation improves fatigue, autonomic nervous function, and cognitive function in patients with chronic fatigue syndrome: An open-label study and a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *BioFactors* 2016 Apr 29, doi:10.1002/biof.1293.[epub ahead of print] (査読有)

3. Yamano E, 中 8 名, Fukuda S, Yamaguti K, 他 5 名. Index markers of chronic fatigue syndrome with dysfunction of TCA and urea cycles. *Scientific Rep* Oct 11, 6:34990 | DOI: 10.1038/srep34990 (査読有)

[学会発表](計 4 件)

1. 福田早苗. 客観的疲労評価とストレス評価-活用の可能性. 第 11 回日本疲労学会総会・学術集会シンポジウム(山口県), 2015 年 5 月

2. 福田早苗. コルチゾール研究 Up to date ストレス-健康の研究に向けて、ミニレクチャー. 第 33 回日本生理心理学会(大阪府),

2015年5月.

3. 福田早苗. ストレス・疲労・睡眠の評価方法について. 第88回日本産業衛生学会分科会産業心理技術研究会(招待講演)(大阪府), 2015年5月.

4. 福田早苗. ME/CFSの実態及び疫学調査. 第12回日本疲労学会総会・学術集会シンポジウム(神奈川県), 2016年5月.

〔図書〕(計 1 件)

1. 福田早苗, 渡辺映理. 抗疲労と香り. フレグランスジャーナル社. 2016年.

P.1-71(担当ページ)

6. 研究組織

(1)研究代表者

福田 早苗 (FUKUDA, Sanae)

関西福祉科学大学・健康福祉学部・教授

研究者番号: 5 0 4 2 3 8 8 5

(4)研究協力者

江口 暁子 (EGUCHI, Akiko)

現所属、三重大学・医学研究科・助教

研究者番号: 0 0 5 9 8 9 8 0