

令和 2 年 6 月 11 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17H02172

研究課題名（和文）疲労の慢性化機序の解明およびその臨界期の同定と抗疲労・健康戦略の創出

研究課題名（英文）Elucidation of chronification mechanism and critical period of chronic fatigue and development anti-fatigue health promoting strategy

研究代表者

崔 翼龍 (CUI, Yilong)

国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・チームリーダー

研究者番号：60312229

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、生体内の恒常性維持機構の機能異常を誘導し、日常の疲労蓄積から徐々に慢性化していくユニークな慢性疲労モデルを用いて、疲労の慢性化機序や抗疲労介入法の創出を試みた。疲労の慢性化を伴う睡眠・体温調節機能の変化を検討した研究では、負荷初期にはこれらの恒常性維持機能が適応反応を示すが、負荷後期において機能異常に陥ることを明らかにした。また、疲労負荷によって血中の酸化ストレス度や炎症性サイトカインが上昇すること、自己免疫疾患に関わる遺伝子群の発現が活発になることも明らかにした。一方、漢方製剤の投与によって体温上昇や自発行動量の低下が改善されることも明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

疲労は日常的に誰もが経験する主観的な感覚で、通常は生体内の恒常性維持機構の活性化によって適切な休息や睡眠をとることで解消される。一方では、恒常性維持機構の機能異常は疲労の慢性化を引き起こすと考えられ、その慢性化の持続または更なる悪化は慢性疲労症候群などの疾患に進行していくと考えられる。本研究による、疲労の慢性化を伴う睡眠・体温調節などの恒常性維持機能の動態変化は不可逆的な病的な疲労困憊を事前に予測し、疾患の発症を事前に防ぐ先制医療戦略に繋がる。また慢性疲労によって引き起こされる炎症性サイトカインや自己免疫関連遺伝子群の上昇は慢性疲労を克服する介入法の確立につながる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Deviation from internal optimum state is known to suppress functional performance and repeated or prolonged disruption of homeostatic functions could sustain such individual fatigue state. In the present study, we developed a unique fatigue animal model in which repeated short-term rest periods during the long-lasting fatigue loading were utilized for gradual disruption of homeostatic function and accumulation of fatigue. Using this animal model, we demonstrated that the sleep- and thermoregulatory functions adaptively changed in the early phase, but disrupted by long-lasting fatigue loading. Especially, we found that the autonomic heat dissipation appeared at a lower body temperature rather than a higher body temperature in the late phase, indicating thermoregulatory dysfunction. Furthermore, we also demonstrated that plasma level of some inflammatory cytokine, such as IL-1, and autoimmune disease related gene expression increased in the late phase of fatigue loading.

研究分野：脳科学、健康科学

キーワード：恒常性 慢性疲労 ストレス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

疲労は日常的に誰もが経験する主観的な感覚で、我々に休息の必要性を知らしめ、過剰活動により疲弊を防御するための重要な生体アラームの一つである。痛み、発熱、疲労といった三大生体アラーム機構の中では、痛み、および発熱の分子神経メカニズムがかなり解明されているのに対し、疲労の分子神経メカニズムは未だに不明なところが多い。特に、国民の実に約4割が有している原因不明の疲労や倦怠感が6ヶ月以上続く慢性疲労は、著しく日常生活に支障を来たすにも関わらず、その分子・神経メカニズムは解明されておらず、未だに有効な予防・治療法は確立されていない。

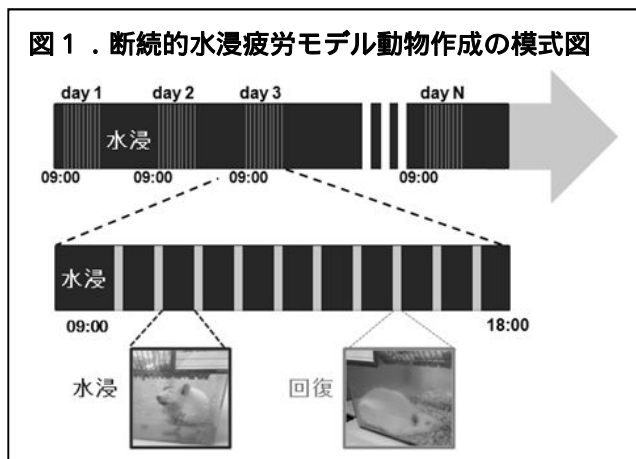
通常、疲労は生体恒常性維持機構の働きによって、適切な休息や睡眠を取ることで回復に向かうが、現代社会の中で我々は常にオーバーワークを強いられ、疲れは十分に回復し切れず、時間と共に徐々に蓄積して行くことが多々ある。疲労の蓄積が長期間にわたると生体の恒常性維持機構の機能異常を来し、最終的には神経・内分泌・免疫系の機能異常を特徴とする病的な慢性疲労へと進行して行くと考えられる。しかし、日常の疲労蓄積から病的な慢性疲労に陥る過程を再現した動物モデルは確立されておらず、疲労の慢性化に関わる分子プロセスは未だに明らかになっていない。

2. 研究の目的

本研究はわれわれが独自に開発した日常の疲労蓄積から慢性疲労に陥る過程を再現した動物モデルを用いて、疲労負荷を伴う神経・内分泌・免疫機能の変化を追跡し、慢性化に関わる分子プロセスやバイオマーカーを探索する。また、関連プロセスの制御による抗疲労・健康戦略の創出を試みる。

3. 研究の方法

慢性疲労モデルの確立：生体恒常性からの逸脱は個体の“疲労”として現れ、恒常性機能の紊乱は疲労の慢性化をきたすという仮説の元に、短い間隔で“疲労負荷－疲労回復”のサイクルを繰り返す、神経・内分泌・免疫などの生体内の恒常性維持機構の機能異常を誘発することで疲労の慢性化を引き起こす。疲労負荷としては、既にさまざまな神経・内分泌・免疫機能の異常が報告されている水浸疲労負荷(水を1.5cm入れたケージ内でラットを飼育し、断眠、精神的なストレスおよび筋性疲労を複合的に負荷するモデル、Tanaka M, *et al*, *Neurosci Lett*, 2003)を用いる。水浸疲労負荷期間中に5~10分間だけ普通のケージに戻して疲労回復させる断続的な水浸疲労負荷を14日間行う(図1)。



行動学指標を用いた疲労の客観的な評価：慢性疲労モデル動物の疲労度は行動学指標を用いて定量評価する。

- 運動性疲労：体重の8%の重りをつけた時の泳ぎ続ける時間を指標に運動性疲労度を定量評価する。
- 精神生疲労：夜間の自発行動量の変化を解析し、意欲の低下を特徴とする精神疲労度を評価する。自発行動量は赤外線センサー(NS-AS01、ニューロサイエンス社)あるいは背中に埋め込んだNano Tag(VSMN 200、キッセイコムテック社)を用いて、疲労負荷1週間前から連続測定し、負荷前の平均レベルまで回復する日数で疲労の回復度合いを評価する。

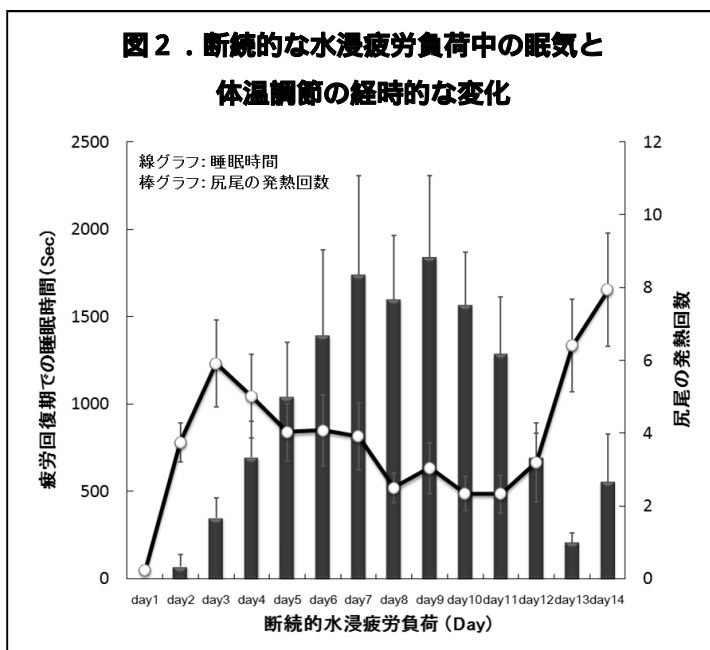
疲労負荷を伴う生体機能変化の解析：テレメトリー記録装置を用いて、自由行動下の動物にて測定し、14日間の疲労負荷を伴う睡眠や体温調節機構の機能変化を評価する。

疲労負荷を伴う組織や血中バイオマーカーの解析：疲労負荷を伴う睡眠・体温調節機能の動態変化を解析した結果では、図2で示しているように疲労負荷後の3日目を前後に生体の適応反応を示し、その後9日ごろを境に機能異常を示唆する所見を得ている。そこで本研究では疲労負荷前、負荷後3日、9日、14日後のタイムポイントで関連の臓器と血液サンプルを採取し、血中のACTH、コルチコステロン、レプチン、グレリンなどのホルモンや酸化ストレス度、炎症性サイトカインなどの動態変化を評価した。また、血中および関連臓器を用いて次世代シーケンサーを用いて遺伝子発現プロファイルを解析した。

4. 研究成果

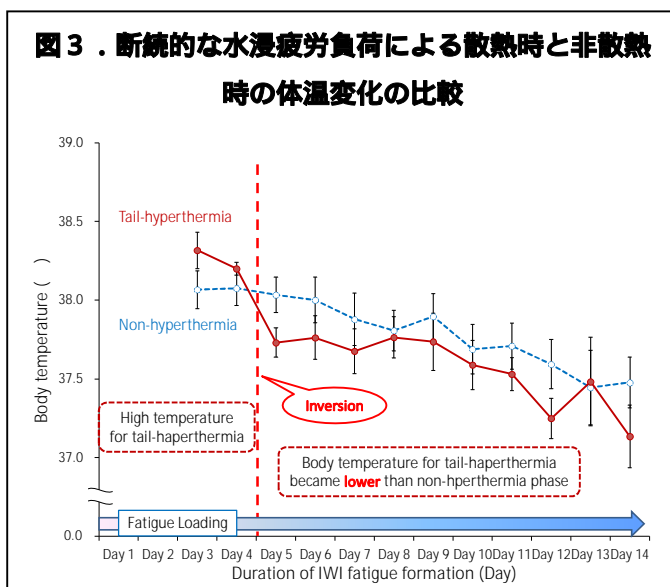
慢性疲労モデル動物の行動学変化：14日間の断続的な水浸疲労負荷によって、運動性疲労を表す強制水泳時間が有意に低下すること、精神性疲労度表す夜間の自発行動量が疲労負荷前と比べて約4割低下し、その後1週かけてゆっくり回復していくことを明らかにした。

疲労の慢性化を伴う生体機能機能の変化：疲労負荷を伴う睡眠・体温調節機能の動態変化を解析した結果では、疲労負荷初期には疲労回復期での睡眠時間が徐々に増加するが(図2、線グラフ)、3日目を前後に生体の適応能力に由来すると考えられる睡眠時間の低下が現れ、その11日目頃からはその適応能力が追いつけなくなり再び上昇し始めることを突き止めた。また興味深いことに、ラットの体温調節に重要な役割を果たしている尻尾の発熱回



数は負荷開始8-10日目まで徐々に上昇し(図2、棒グラフ)、その後下降に転じるなど睡眠時間の変化とはほぼ同じタイムポイントで逆の変化を示している。これらの結果は断続的な疲労負荷の初期には生体恒常性機能が機能し、適応反応を示しているが、疲労負荷の持続によって、すこしずつ対応し切れなくなっていることを示唆している。

14日間の断続的な水浸疲労負荷による体温の変化を詳細に検討した結果、疲労負荷により、平均体温が約2度上昇し、負荷後9日目頃までは高い体温を維持するが、そのご徐々に低下していくこと、負荷初期には体温



の上昇を伴って適応的に尻尾の血管拡張を介した散熱現象が現れるが、疲労負荷後半では、尻尾の散熱回数が低下するだけでなく、散熱時の体温が非散熱時の体温より低いなど体温調節機序の異常が観察され、学術論文に発表した(図3)。尻尾の発熱が負荷7-9日では低下し始めると、睡眠時間が負荷ご9-11日ごろから再び上昇し始めることなどを考え合わせると負荷9日ごろを境に非可逆的な慢性疲労に進行していく可能性を示唆している。

疲労の慢性化を伴う血中バイオマーカーの変化: 血中コルチコステロンは疲労負荷を伴って徐々に上昇し、負荷期間中ずっと高値を維持しているのに対して、ACTH は疲労負荷初期に上昇しその後一旦低下するが、疲労負荷後半にはコルチコステロンのネガティブフィードバック機能の低下を示唆する有意な上昇が認められた。また、疲労負荷による生体酸化ストレスを評価した検討では疲労負荷後半には血中の酸化ストレスマーカーであるdROM 値が有意に上昇することを明らかにし、コルチコステロンのネガティブフィードバック調整が酸化ストレスによって低下する報告と考え合わせると、疲労負荷の慢性化によって生体内の酸化ストレスが上昇し、ストレス応答に関わるホルモン調整メカニズムの異常を引き起こす可能性が示唆された。また、血中のサイトカインの動態変化を網羅的に探索した結果では、疲労負荷初期にはIL-4、IL-10、IL-13などの抗炎症性サイトカインの上昇傾向が表れ、疲労負荷の後期にはIL-1 やINF が上昇することも明らかにした。

疲労の慢性化を伴う遺伝子発現プロファイルの変化: 疲労の慢性化に関わる詳細な分子プロセスを検討する目的で、疲労負荷3日後、9日後、14日後の血中および関連臓器での遺伝子発現プロファイルについて次世代シーケンサーを用いて網羅的な探索を行った。結果、疲労負荷初期にはクエン酸代謝回路などに関わる遺伝子群の発現が顕著であるが、疲労負荷の慢性化を伴ってこれらの代謝関連の遺伝子群の発現は低下し、疲労負荷後期にはヒトT細胞白血病ウイルス1型や関節リュウマチなどの感染や自己免疫疾患に関わる遺伝子群の発現が活発になることを明らかにした。これまでの疲労の慢性化を伴う睡眠・体温調節機能の異常、血中の酸化ストレスや炎症性サイトカインの上昇が疲労負荷後期に現れることと考え合わせると、疲労の慢性化には神経・内分泌・免疫の多角的・多階層の恒常性維持機構の機能異常が関わっていることを示唆している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Huang T, Okauchi, T, Hu D, Shigeta M, Wu Y, Wada Y, Hayashinaka E, Wang S, Kogure Y, Noguchi K, Watanabe Y, Dai Y, Cui YL	4. 巻 15
2. 論文標題 Pain matrix shift in the rat brain following persistent colonic inflammation revealed by voxel-based statistical analysis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecular Pain	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/1744806919891327	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nakaoka T, Uetake Y, Kaneko K, Niwa T, Ochiai H, Irie S, Suezaki Y, Otsuka N, Hayashinaka E, Wada Y, Cui YL, Maeda K, Kusahara H, Sugiyama Y, Hosoya T, and Watanabe Y	4. 巻 in press
2. 論文標題 Practical Synthesis of [18F]Pitavastatin and Evaluation of Hepatobiliary Transport Activity in Rats by Positron Emission Tomography	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mol. Pharmaceutics	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.molpharmaceut.9b01284	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Li D, Hu D, Shigeta M, Ochi Y, Watanabe Y, Li F, Cui YL	4. 巻 in press
2. 論文標題 Homeostatic disturbance of thermoregulatory functions in rats with chronic fatigue	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuroscience Research	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neures.2020.04.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Zeng Y., Hu D., Yang W., Hayashinaka E., Wada Y., Watanabe Y., Zeng Q. Cui, Y.L	4. 巻 178
2. 論文標題 A voxel-based analysis of neurobiological mechanisms in placebo analgesia in rats	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 NeuroImage	6. 最初と最後の頁 602-612
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.neuroimage.2018.06.009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Kaneko, K., Tanaka, M., Ishii, A., Katayama, Y., Nakaoka, T., Irie, S., Kawahata, H., Yamana, T., Wada, Y., Miyake, T., Toshimoto, K., Maeda, K., Cui, Y.L., Enomoto, M., Kawamura, E., Kawada, N., Kawabe, J., Shiomi, S., Kusahara, H., Sugiyama Y. and Watanabe Y.	4. 巻 46
2. 論文標題 A clinical quantitative evaluation of hepatobiliary transport of [11C]Dehydropravastatin in humans using positron emission tomography	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Drug Metabolism and Disposition	6. 最初と最後の頁 719-728
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1124/dmd.118.080408	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 崔翼龍	4. 巻 12(2)
2. 論文標題 疲労の慢性化と恒常性の破綻	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 日本疲労学会誌	6. 最初と最後の頁 26-31
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 胡迪、李丹溪、重田美香、岡内隆、橘孝士、樺山繁、大崎雄介、渡辺恭良、崔翼龍
2. 発表標題 疲労動物モデルに対する電解水素水の疲労軽減効果研究
3. 学会等名 第15回日本疲労学会総会・学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 胡迪、李丹溪、重田美香、岡内隆、渡辺恭良、崔翼龍
2. 発表標題 慢性疲労動物を用いた疲労の慢性化機序の解析
3. 学会等名 第14回日本疲労学会総会・学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 李丹溪、胡迪、重田美香、岡内隆、渡辺恭良、崔翼龍
2. 発表標題 Functional change of the thermoregulatory system during chronic fatigue formation in rats
3. 学会等名 第14回日本疲労学会総会・学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 胡迪、李丹溪、重田美香、岡内隆、渡辺恭良、崔翼龍
2. 発表標題 新しい慢性疲労モデルの確立および慢性化形成に関わる血中ホルモンの動態変化の解析
3. 学会等名 第13回日本疲労学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 李丹溪、胡迪、重田美香、岡内隆、李峰、渡辺恭良、崔翼龍
2. 発表標題 Functional change of the thermoregulatory system during chronic fatigue formation in rats
3. 学会等名 第13回日本疲労学会総会
4. 発表年 2017年

〔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
研究 分担者	鈴木 治和 (Suzuki Harukazu) (80333293)	国立研究開発法人理化学研究所・生命医科学研究センター・ チームリーダー (82401)	