

令和 5 年 5 月 7 日現在

機関番号：12601
研究種目：基盤研究(C)（一般）
研究期間：2017～2022
課題番号：17K09227
研究課題名（和文）血小板機能に対する交代勤務の影響～交代勤務者の心脳血管障害リスク低減をめざして

研究課題名（英文）Effect of shift work on platelet function - Aiming to reduce the risk of cardiovascular disease in shift workers

研究代表者
中尾 倫子（Nakao, Tomoko）

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：30597216
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）：日中勤務と夜間勤務を繰り返す交代勤務は、心・脳血管障害発症リスクの増加と関連している。血管内血栓形成に関わる血小板機能の活性化が夜間勤務で影響を受けるか検討した。健康医療従事者11名を対象に、日中勤務翌朝と夜間勤務翌朝の2回のタイミングで、血小板機能を測定した。血小板機能の指標として、血小板凝集能と血清アラキドン酸代謝産物濃度（強い血小板凝集を引き起こすトロンボキサンA2代謝産物であるトロンボキサンB2等）を測定した。夜間勤務後は、ベースラインと比較して、血小板凝集能に有意差はみられなかったが、トロンボキサンB2を始めとするアラキドン酸代謝産物の血清中の有意な増加を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

夜間勤務直後に血管内皮機能が低下することは過去に報告されていたが、血小板機能に対する夜間勤務の影響を検討した研究は、我々が知るところでは、本研究が初めてであった。本研究により、夜間勤務によって、血小板感受性が亢進する可能性が示された。本研究は、交代勤務者の勤務体系の適正化に向け、適正な夜間勤務の頻度などのついで知見を得るための基盤の研究となると考える。

研究成果の概要（英文）：Shift work is associated with an increased risk of developing cardiovascular and cerebrovascular disorders. We investigated whether the activation of platelet function related to intravascular thrombus formation is affected by night shift work. We measured platelet function in 11 healthy medical workers twice, on the morning after the daytime shift and the morning after the nighttime shift. As indices of platelet function, platelet aggregation and serum arachidonic acid metabolite concentration (thromboxane B2, which is a metabolite of thromboxane A2 that causes strong platelet aggregation) were measured. After the night shift, there was a significant increase in serum arachidonic acid metabolites. This study indicates that night shifts may increase platelet sensitivity. We believe that this research will serve as a basis for obtaining knowledge about the appropriate frequency of night shifts, in order to optimize the working system of shift workers.

研究分野：血小板機能

キーワード：shift work platelete function Thromboxane B2

1. 研究開始当初の背景

(1) 日中勤務と夜間勤務とを繰り返す交代勤務は、心・脳血管障害発症リスクの増加と関連していることが報告されている。心・脳血管障害での血管内血栓形成には、血管内皮機能障害や血小板機能の活性化が大きく関わっている。夜間勤務直後に血管内皮機能が低下することが報告されているが、血小板機能に対する夜間勤務の影響はわかっていない。また、過去の文献から、夜間勤務によって、血中の炎症性サイトカイン(IL-1等)の上昇が起こることが報告されている。一方でこれら炎症性サイトカインは、血管内皮細胞に可溶性 VCAM-1 や可溶性 ICAM-1 を発現させ、血管内皮への白血球の接着に関与していることが報告されている。以上のことから、夜間勤務は血管内皮への白血球の接着亢進を起こすのではないかと仮定した。

(2) 夜間勤務者の中には、健常者のみでなく、基礎疾患(弁膜症や虚血性心疾患など)をもった勤務者も存在する。基礎疾患が夜間勤務に与える影響を調べる前段階として、まず基礎疾患が血小板機能に与える影響についての検討が必要と考えた。

2. 研究の目的

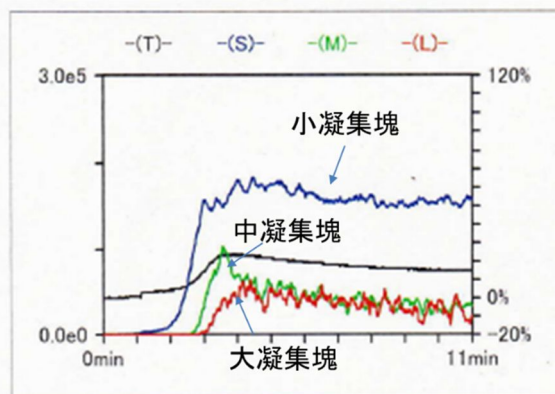
(1) 健常者において夜間勤務後に血小板機能が亢進しているかを調べる。また、血管内皮への白血球の接着亢進を引き起こす炎症性サイトカインが上昇しているか調べる。

(2) 基礎疾患や動脈硬化危険因子が血小板機能に与える影響を調べる。

3. 研究の方法

(1) 当院で交代勤務に従事する健常医療従事者 11 名を対象に、日中勤務翌朝(ベースライン)と夜間勤務翌朝の 2 回のタイミングで、血小板機能を測定・比較した。血小板機能の指標として、血小板凝集能(自然凝集能および低濃度アゴニスト刺激による血小板凝集能) 血清アラキドン酸代謝産物濃度(強い血小板凝集を引き起こすトロンボキサン A2(TxA2)代謝産物である TxB2 など)を測定した。ベースラインと夜間勤務翌朝の間で比較した。また、炎症性サイトカインについても測定し、ベースラインと夜間勤務翌朝との間で差があるか比較した。

コーワ PA-200C によるレーザー光散乱粒子測定法を用い、多血小板血漿を用いて血小板凝集能を測定した。試験管内での攪拌刺激のみの血小板凝集能(自然凝集能)と低濃度血小板凝集惹起剤(Adenosine diphosphate (ADP) 0.5 μM, collagen 0.1 μg/ml, epinephrine 0.10 μM, epinephrine 0.25 μM)添加による血小板凝集能を測定した。血小板凝集には大きさにより小、中、大凝集があり、レーザー光散乱粒子測定法によりすべて検出できる(下図)。血管内血栓形成は、小凝集塊の形成から始まり、TxA2 などの血小板活性化因子によってさらに促進し、中、大凝集塊が形成される。また、血小板が活性化されていない場合、自然凝集(試験管内での攪拌刺激のみ)や低濃度血小板凝集惹起剤(Adenosine diphosphate (ADP) 0.5 μM, collagen 0.1 μg/ml, epinephrine 0.10 μM, epinephrine 0.25 μM)添加では、血小板の二次凝集(大凝集塊の形成)は起こらないことが多い。前部虚血性視神経症、網膜静脈閉塞症(Platelets 2017; 28(7): 720-723)や急性冠症候群(Jpn Circ J 2000; 64(9): 647-652)などの、動脈・静脈血栓症患者では、これらの刺激により血小板凝集が亢進していることが報告されている。このことから、自然凝集および低濃度の血小板凝集惹起剤での凝集塊の形成は、生体内での血小板活性化指標と考えられる。



LC-MS/MS 質量分析装置法を用いて、血清中のアラキドン酸代謝産物濃度を測定した。活性化血小板では、ホスホリパーゼ A2 により、細胞膜リン脂質からアラキドン酸が遊離される。遊離されたアラキドン酸は、シクロオキシゲナーゼ 1 および TxA2 合成酵素により、強力な血小板刺激因子である TxA2 が産生される。TxA2 はすぐに代謝されて TxB2 となる。TxB2 以外にも、他のアラキドン酸代謝産物を測定することで、アラキドン酸代謝のどの段階が夜間勤務によって亢進するのか検討することができる。血清の採血管には、凝固促進剤として、強い血小板刺激物質であるトロンビンが入っている。このため、血清 TxB2 濃度は、トロンビンにより刺激された際に血小板が TxA2 を産生する能力を表しており、強い血小板刺激物質に対する血小板の活性化しやすさ(易刺激性)を見る指標とされている。

血清中可溶性 ICAM-1(sICAM-1)および可溶性 VCAM-1(sVCAM-1)を測定した。

(2) 虚血性心疾患患者を対象とした睡眠と血小板機能との関連についての後ろ向き検討
アスピリン内服中の虚血性心疾患患者 60 名を対象として、尿中 11-デヒドロトロンボキサン B2

濃度と不眠症の有無に関連があるか調べた。

4. 研究成果

(1) 健常医療従事者において、夜間勤務後に血小板機能が亢進しているか

自然凝集能および低濃度アゴニスト刺激による血小板凝集能は、ベースラインと夜間勤務翌朝との間で有意差は認められなかった。本結果は当初の予想に反するものであったが、本研究の被験者は健常者であったためと思われた。糖尿病や高血圧症など、血管内皮機能が損なわれベースラインの血小板凝集率が上昇する病態を有する患者において、夜間勤務後に血小板凝集率がさらに上昇するかどうか検討が必要と思われた。

TxB₂ およびその他のアラキドン酸代謝産物の血清濃度は、ベースライン時よりも夜勤後の方が有意に高かった。このことから、血液凝固中のトロンピンによって活性化された血小板による TxB₂ を始めとしたアラキドン酸代謝産物の合成能を指標とした場合、夜間勤務後には血小板感受性が亢進することを示した(下表および下図, Nakao T, et al. J Occup Health 2018; 60: 324-332 より引用)。

Table 4. Comparison of serum concentrations of major eicosanoid mediators between baseline and after night-shift work (n = 11)

Parameter	Baseline median (IQR)	After the shift median (IQR)	Post-shift—baseline mean (95% CI)	p-value
TxB ₂ , ng/ml	65.3 (23.1-169.4)	180.4 (93.5-258.9)	99.7 (14.4 to 184.9)	.026
12-HHT, ng/ml	44.4 (17.2-107.7)	116.7 (67.1-156.9)	57.3 (1.2 to 113.5)	.046
12-HETE, ng/ml	24.0 (11.9-46.5)	32.3 (20.9-80.5)	28.2 (-3.5 to 60.1)	.075
15-HETE, ng/ml	1.8 (1.0-5.3)	4.9 (3.5-8.4)	2.8 (0.1 to 5.4)	.043
11-HETE, ng/ml	2.6 (0.9-5.9)	6.9 (3.8-9.6)	3.6 (0.6 to 6.6)	.025

TxB₂, thromboxane B₂; 12-HHT, 12-hydroxyheptadecatrienoic acid; HETE, hydroxyeicosatetraenoic acid; IQR, interquartile range; post-shift—baseline, difference in parameter values between baseline and after night-shift work; CI, confidence interval. Baseline and after shift median values were compared using a paired *t*-test.

血小板凝集能を指標とした場合と、TxB₂ を始めとしたアラキドン酸代謝産物合成能を指標とした場合とで、夜間勤務後の血小板感受性の結果に違いがあったことに関して考察した。血小板凝集とアラキドン酸代謝産物合成能とは、異なる実験条件下で観察されたことに要因があると考えられた。血小板凝集能は、単離された血小板を用いて、低用量のADP、コラーゲン、またはエピネフリンの存在下で調べたものである。一方で、アラキドン酸代謝産物は、血小板に加えて白血球と赤血球を含む全血で測定されており、かつ、凝固プロセス中に生成されるトロンピンによって生合成されたものである。後者の経路の血小板活性化閾値の方が、前者の経路よりも低い可能性があると考えられた。

sICAM-1 および sVCAM-1 とともに Baseline と比較して夜間勤務後の有意な上昇は認めなかった。結果は予想に反するものであった。今回は夜間勤務翌朝のみしか測定していないが、やや遅れて上昇する可能性もあると思われる。今後、夜間勤務後の経過を観察する必要があると考えた。

(2) 虚血性心疾患患者を対象とした睡眠と血小板機能との関連についての後ろ向き検討
アスピリン内服下でも虚血性心疾患を再発してしまう患者が一定数存在することが知られている。その一つの原因としてアスピリン不応性の可能性が考えられる。このアスピリン不応性を判定する検査として、トロンボキサン A₂ の安定な代謝産物である 11-デヒドロトロンボキサン B₂ の尿中濃度が有用であると言われている。不眠症あり群 (33 名) と不眠症なし群 (27 名) との間で、尿中 11-デヒドロトロンボキサン B₂ 濃度に有意な差は認められなかった。高血圧、糖尿病などの動脈硬化危険因子で補正しても両群に有意差は認められなかった。今後も引き続き、基礎疾患が血小板機能に与える影響についての検討が必要と考えた。

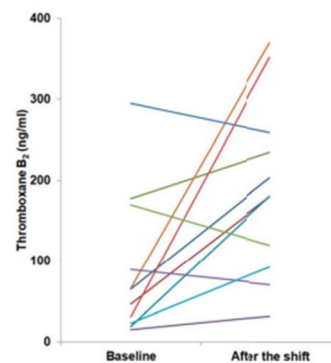


Fig. 1. Serum thromboxane B₂ concentrations for each subject at baseline and after night-shift work (n = 11)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Tomoko Nakao, Hiroyuki Morita	4. 巻 60
2. 論文標題 Thrombospondin-2.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Heart Journal	6. 最初と最後の頁 235-237
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1536/ihj.19-042	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Tomoko Nakao, Atsushi Yasumoto, Suzumi Tokuoka, Yoshihiro Kita, Takuya Kawahara, Masao Daimon, Yutaka Yatomi	4. 巻 60
2. 論文標題 The impact of night-shift work on platelet function in healthy medical staff.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Occupational Health	6. 最初と最後の頁 324-332
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1539/joh.2018-0027-FS	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中尾倫子, 大門雅夫, 中西弘毅, 木村公一, 赤澤宏, 瀧本英樹, 武田恵文, 小室一成
2. 発表標題 加齢によるTxA2非依存性の血小板機能の低下：アスピリン投与中の虚血性心疾患患者における検討
3. 学会等名 第262回日本循環器学会関東甲信越地方会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中尾倫子, 安本篤史, 大門雅夫, 小室一成, 川手康徳, 矢富裕
2. 発表標題 全自動血液凝固測定装置CS-2400を用いた, 抗血小板療法後の出血合併症予測の可能性
3. 学会等名 第42回日本血栓止血学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中尾 倫子、安本 篤史、大門 雅夫、井上 翔太、久保田 ともよ、千明 真弓、菅原 将代、鈴木 博英、西川 真子、矢富 裕
2. 発表標題 アスピリン投与中の虚血性心疾患患者における血小板凝集能に対する年齢の影響
3. 学会等名 第67回日本臨床検査医学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 谷口 寛、中尾 倫子、大門 雅夫、山内 治雄、小室 一成
2. 発表標題 頭蓋内髄膜腫瘍後に大動脈弁輪部に血栓を形成した一例
3. 学会等名 第67回 日本心臓病学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 中尾 倫子、安本 篤史、大門 雅夫、矢富 裕
2. 発表標題 Nightshift work may lead to platelet hypersensitivity in healthy medical staffs.
3. 学会等名 第39回日本血栓止血学会学術集会
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	大門 雅夫 (Daimon Masao) (80343094)	東京大学・医学部附属病院・講師 (12601)	

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
---------	---------