

平成 21 年 5 月 15 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19590706
 研究課題名（和文） 職業性ストレス負荷とリラクセーションによる酸化ストレスの動態
 研究課題名（英文） Oxidative stress on occupational stress and relaxation

研究代表者
 永田 頌史（NAGATA SHOJI）
 産業医科大学・産業生態科学研究所・教授
 研究者番号 10108722

研究成果の概要：

ストレスにより体内の活性酸素が活性化され、酸化による遺伝子損傷が起こることが、報告されている。今回の研究では、職業性ストレスによる遺伝子損傷は認められなかったが、動脈硬化危険因子（喫煙、血圧、血糖値、脂質など）との関連が認められた。睡眠制限やアルコール負荷試験でも遺伝子損傷は認められなかった。自律訓練法（リラクセーションの技法）で不安感減少、皮膚温上昇、血中一酸化窒素（血流増加と関係）の増加がみられ、2ヶ月間の長期効果として、脂質などの酸化が抑制される傾向が見られた。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・内科学一般（含心身医学）

キーワード：職業性ストレス、リラクセーション、酸化的DNA、断眠、アルコール付加

1. 研究開始当初の背景

活性酸素による酸化的DNA損傷、過酸化脂質などの生成は発癌、組織障害、生活習慣病の発症、老化に関与していることから、その機序に関する基礎的な研究が広く行われている。

8-hydroxydeoxyguanosine (8-OH-dG) は分担研究者の葛西等が発見した酸化的DNA損傷時に生成される代謝産物であり、尿中に排泄さ

れることから、DNA損傷の指標として広く用いられている。分担研究者の太田らは、活性酸素とNitric Oxide (NO) のクロストークの研究から、運動や栄養指導からなる生活習慣修正指導がNO Bioavailabilityを高めることによって血圧降下、thiobarbituric acid-reactive substance (TBARS：脂質酸化の指標)の減少、血漿extracellular superoxide dismutase (EC

-SOD)の増加、尿中Nitrite/Nitrate (NO_x)の増加が認められることを報告(Ohta M. et al: Blood pressure-lowering effects of lifestyle modification: possible involvement NO bioavailability. Hypertens Res 28:779-786, 2005)した。

このように従来の発癌や組織障害の基礎的あるいは分子生物学研究に加えて、近年、臨床や健康増進と関連した研究も行われるようになった。われわれは、横断的調査で白血球や尿中の8-OH-dG/Cr (Creatinine補正した8-OHdG)がライフスタイルや職業性ストレス(交代制勤務、長時間労働)、喫煙、食事、Body Mass Index (BMI)と関連していることやうつ病で高くなることを報告した(Irie M. et al: Depression and possible cancer risk due to oxidative DNA damage. J Psychiatr Res 39:553-560, 2005)。その後、さらに8-OH-dG/Crの個人差は11倍と大きい、同一個人の経年年変化では相関係数が0.85と高いこと、試験ストレスで軽度上昇すること、3交代制勤務者に対する調査では予想に反して、交代制勤務直後の7時、15時、23時の尿中8-OH-dG/Crは、休日の同時間帯のそれより低値を示すことなどを報告した(平成16-17年度科学研究費報告書「心理的ストレス・ライフスタイルと酸化的DNA損傷 2006. 3月、以下平成16-17年度科研報告書と略す)。

このような経緯から、今回は職業性ストレスやライフスタイルと酸化的DNA損傷の関係をさらに深く分析するために、市町村合併を行った自治体職員(約350人)を対象にした調査研究を行うとともに、リラクゼーションの技法として用いられる自律訓練法(AT)実施時には交感神経系の抑制と副交感神経系の亢進が起こることを報告(Mishima N. et al: Psychophysiological correlates of relaxation induce by standard autogenic training.

Psychotherapy and Psychosomatics 68:207-213,2001)したが、今回、酸化ストレス指標、血中・尿中NO_xの測定を行うことによって、これまでに報告のないATによってもたらされたリラックス状態における酸化ストレスと皮膚温上昇(血流増加)の機序と血管拡張作用のあるNOの役割が検討できる。

また、アルコール負荷時の酸化的DNA損傷については、ALDH2遺伝子との関連はまだ検討されていない。

睡眠が酸化的DNA損傷に与える影響に関しては、長時間睡眠も短時間睡眠ともに尿中8-OHdG値が高値を示すことが報告されているが、断眠の影響に関しては検討されていない。

2. 研究の目的

(1)某自治体職員を対象に、尿中8-OH-dG/Crと職業性ストレス調査、ライフスタイル調査、健診データを用い、ストレスやライフスタイルの変化と酸化的DNA損傷との関連、血清生化学検査値、特に動脈硬化因子との関連を明らかにする。

(2)睡眠時間と尿中8-OH-dG/Cr、ストレスホルモンとの関係を明らかにする目的で、夜間断眠を行い、断眠前後の5日間、尿中の8-OH-dGや血中ストレスホルモンの変化を調べる。さらに、断眠が眠気や気分、単純作業、高次認知機能検査に及ぼす影響などを明らかにする。

(3)飲酒習慣のある労働者は、ない労働者と比較して尿中8-OH-dG/Crが高いとの報告があるが、ALDH2遺伝子保有者と非保有者に実際にアルコール負荷試験を行って、アルコール、アセトアルデヒド、MHPG濃度と気分変化の関係、血中コルチゾールや酸化的DNA損傷に及ぼす影響などを明らかにする。

(4)自律訓練法(AT)習熟者に対してAT実施前後で、上記の酸化ストレス指標、EC-SOD、

血液・尿中NO_xを調べることによって、ATが酸化ストレスに及ぼす短期効果を調べ、AT中に見られる皮膚血流や皮膚温の上昇へのNO系の関与を調べる。

また、初心者にATを指導して、2ヵ月後に上記指標や心理指標の変化を調べ、長期効果について検討する。

3．研究の方法

(1)平成18年3月に合併した自治体(A町)の職員361名に対して、7月の健診時に尿中8-OH-dG/Crと血清生化学的検査、職業性ストレス調査、ライフスタイル調査を行い、ストレスやライフスタイル、動脈硬化因子と酸化的DNA損傷との関連を明らかにする。

(2)平成19年度は被験者10人を対象に、断眠負荷試験を行い、断眠前後での眠気(SSTなど)、気分変化、血中コルチゾール、ACTH、SOD、尿中8-OH-dGを測定し、断眠とストレスホルモン、酸化的DNA損傷の関係を調べる。

平成20年度は、1日の夜間断眠(42時間覚醒)とその後、4日間7時間睡眠をとってもらい、作業負荷として、午前9時と午後の9時から2時間単純作業、高次認知機能(PASAT、WCSTなど)を負荷し、これらの断眠による影響と回復状況、同時に調べた眠気(SSTなど)、気分(POMS)の回復状況を調べる。また、尿中の8-OH-dGを調べることによって、睡眠時間と酸化ストレスとの関係、断眠後のストレスホルモンの変化を再度検討する。

(3)平成19年度は実際にアルコール負荷試験を行って、酸化ストレス指標やEC-SOD活性の変動を検討した。

平成20年度はALDH2遺伝子ヘテロ保有者へアルコール負荷後の気分、ストレス指標の変動を調べるために、ALDH2遺伝子(活性型/非活性型)と不安特性(STAI)により、男子学生21名を4群に分けて、アルコール摂取(0.

8/Kg)後の血中エタノール濃度、アセトアルデヒド、MHPG濃度の変化と不安を含む気分の変動、尿中8-OH-dG、やコルチゾールの変動との関連を検討した。

(4)平成19年度は自律訓練法(AT)習熟者に対してAT実施前後で、酸化ストレス指標、EC-SOD、血液・尿中NO_xを調べた。

平成20年度は、AT初心者に対して、2ヶ月に渡ってAT指導し、経時的に心理面の評価と上記酸化ストレス指標、EC-SOD活性、血液、尿中NO_xの測定し、ATによる長期効果を検討した。

4．研究成果

(1)職業性ストレスとライフスタイル、DNA損傷との関連について、自治体職員361人を対象とした横断的調査(全てのデータがそろっていた292人を分析の対象とした)で、次のことが明らかになった。喫煙習慣のある職員の方が尿中8-OH-dG値が高い。尿中8-OH-dGと動脈硬化危険因子(年齢、性別、喫煙、BMI、血圧、脂質値、空腹時血糖など)との関連では、喫煙者と境界型並びに糖尿病型血糖値を示す者においてのみ有意に高値を示した。30歳台と比較して、50歳以上の群において、尿中8-OH-dGが有意に高かった。尿酸値異常値群において、尿中8-OH-dGが有意に高かった。職業性ストレスと尿中8-OH-dGの間には直接的関連は認められなかった。

(2)平成19年度に行った断眠による酸化ストレス指標やストレスホルモン、眠気や気分の変化などに関する実験では、疲労感や活力の低下は断眠後2、3日間続くこと、尿中8-OH-dGは断眠中や翌日の上昇は観察されず、2日目に高値を示すものがみられ、平均値はピークになったが全体としては有意差は見られなかった。血中コルチゾールは断眠後の午前7時には前日より有意に低下したも

の概日リズムは保たれていた。SOD 活性は変化は認められなかった。

平成 20 年度には、夜間断眠が作業能力に及ぼす影響を調べるために、夜間断眠施行前後の計 5 日間、9 時 00 分と 21 時 00 分 (計 10 回) に、高次認知機能の評価に用いられる 4 種類のテスト (PASAT、RST、CPT、WCST) を行った。また、単純作業として、足し算や、単語の記憶力の検査を実施した。単純作業は断眠の影響を受けなかったが、高次認知機能は断眠後、著明に低下し回復に 2 日間の睡眠 (7 時間) が必要であった。眠気は断眠後 1 日の睡眠で回復したが、疲労感の回復には 2 日間の睡眠が必要であった。尿中 8-OHdG は断眠前後で有意な変化はみられなかった。

(3)平成 19 年度に行った、アルコール摂取による心理的指標の変化と 8-OH-dG の生成、排泄に関する実験では、アルコール摂取前に不安緊張感の上昇が認められたが、摂取後の心理指標の変化には個人差が大きく、一定の傾向は見られなかった。アルコール摂取による血中コルチゾール、SOD 活性、尿中 8-OHdG の有意な変化は見られなかった。

平成 20 年度に行った実験では、アセトアルデヒド濃度は、ALDH2 遺伝子非活性型が活性型と比較し 0.5, 1, 2, 3, 4 時間後で有意に高かった。社会不安 (LSAS-J) 得点は、高特性不安×非活性型グループで、アルコール負荷 0.5 時間後に有意に低下した。アセトアルデヒド濃度は、状態不安やストレス反応との関連は見られず、尿中 8-OH-dG 濃度も、4 群とも有意の変化は見られなかった。

(4)ストレスリダクション法としての自律訓練法 (AT) の短期効果に関する実験では、AT 後に不安感の減少、活力の上昇が見られ、皮膚温の上昇が観察された。血中 NO_x (一酸化窒素) の上昇が観察され、AT 中の末梢血管の拡張 (皮膚温上昇) に NO_x が関与して

いる可能性が示唆された。AT 前後で尿中 8-OHdG、TBARS 等の酸化ストレス指標の変動は認められなかった。

平成 20 年度は、自律訓練法 (AT) が酸化ストレス指標に及ぼす長期効果を検討するために、AT 未習熟者 10 名を対象に AT を指導し、2 ヶ月間毎日続けた場合の長期的効果を検討した。血中 EC-SOD 活性、ニトロタイロシン、TBARS、8-isoPGF₂α (脂質酸化の指標) の軽度改善が見られた。尿中 8-OHdG は習得前と後で差は見られなかった。

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 10 件)

Miyata M, Kasai H, 他 15 名 :
Changes of urinary
8-hydroxydeoxyguanosine levels during a
two-day ultramarathon race period in
Japanese non-professional runners. *Int J
Sports Med.* 2008,29:27-30 査読有

尾久征三, 永田頌史: メンタルヘルス新時代 心身のケア 職場. 臨床と研究. 2008, 85(6):835-840 査読有

尾久征三, 永田頌史: わが国の中小企業におけるメンタルヘルス対策の現状と将来. 産業医学レビュー. 2008, 21(2): 105-135. 査読有

Svodoba P, Ko SH, Cho B, Yoo SH, Choi SW, Ye SK, Kasai H 他 1 名 :
Neopterin, a marker of immune response, and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, a marker of oxidative stress, correlate at high age as determined by automated simultaneous high-performance liquid chromatography analysis of human urine. *Anal Biochem.* 2008, 383: 236-242. 査読有

Ishihara I, Nakano M, Ikushima M, Hara Y, Yoshimine T, Haraga M, Nakatani J, Kawamoto R, Kasai H: Effect of work conditions and work environments on the formation of 8-OH-dG in nurses and non-nurse female workers. *J UOEH.* 2008, 30: 293-308. 査読有

Negishi T, Kawai K, Arakawa R, Higashi S, Nakamura T, Watanabe M, Kasai H, Fujikawa K: Increased levels of

8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in Drosophila larval DNA after irradiation with 364-nm laser light but not with X-rays.

Photochemistry and Photobiology. 2007, 83: 658-663. 査読有

⑦ Mizoue T, Tokunaga S, Kasai H, Kawai K, Sato M, Kubo T.: Body mass index and oxidative DNA damage: A longitudinal study. Cancer Sci. 2007, 98: 1254-1258. 査読有

Harri M, Kasai H, 他 4 名: Analysis of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in urine using high-performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2007, 853:242-246. 査読有

⑨ Kawai K, Li YS, Kasai H: Accurate measurement of 8-OH-dG and 8-OH-Gua in mouse DNA, urine and serum; Effect of X-irradiation. Genes and Environment. 2007, 29: 107-114. 査読有

⑩ Li YS, Kawai K and Kasai H: Increase of Urinary 8-OH-dG Levels after Administration of a Vitamin-deficient Diet and a Sweet Beverage. Genes and Environment. 2007, 29: 128-132. 査読有

[学会発表](計 12 件)

Hiro H: Strategies for Mental Health Measures at Small-scale Enterprises in Japan(2). The 19th China-Korea-Japan Joint Conference on Occupational Health. 2008.5.19, Suzhou China,

兒玉直樹: 自律訓練法における脳血流変化の検討. 第 49 回日本心身医学会総会. 2008.6.13, 札幌

鈴木貴代美: 酸化ストレスと肝機能、尿酸との関連について. 第 81 回日本産業衛生学会. 2008.6.27, 札幌

荒 薦 優 子 : 生 活 習 慣 と 尿 中 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine との関係, 第 81 回日本産業衛生学会, 2008.6.27, 札幌

葛西宏: バイオマーカーとしての 8-OH-dG 及び遊離塩基 8-OH-Gua の分析. がん予防大会 2008, 2008.5.22-23, 福岡

安達修一: アスベスト発がんにおける活性酸素の関与とボイセンベリーによる中皮腫の抑制, 第66回日本癌学会学術総会, 2007.10.3-5, 横浜

鈴木貴代美: 自律訓練法と酸化ストレスについて - 長期効果について -, 第 30 回日本自律訓練学会, 2007.9.22, 東京

池上和範: 夜間断眠による気分および生体指標の変動について, 第 14 回産業精神保健学会, 2007.6.29, 名古屋

河井一明: 酸化ストレスマーカーとしての

8 - OH - dG 及び遊離塩基 8 - OH - Gua の有用性, 第 29 回日本フリーラジカル学会, 2007.6.10, 名古屋

葛西宏: ビタミン欠乏食、甘味飲料摂取による尿中 8 - OH - dG の上昇, 第 29 回日本フリーラジカル学会, 2007.6.9, 名古屋

鈴木貴代美: 自律訓練法と NO (一酸化窒素) の関係について, 第 48 回日本心身医学会総会・学術集会, 2007.5.24, 福岡

鈴木貴代美: 自律訓練法と酸化ストレスの関係について, 第 80 回日本産業衛生学, 2007.4.24, 大阪

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

永田 頌史 (NAGATA SHOJI)

産業医科大学・産業生態科学研究所・教授
研究者番号: 10108722

(2) 研究分担者

葛西 宏 (KASAI HIROSHI)

産業医科大学・産業生態科学研究所・教授
研究者番号: 40152615
2007 年度 ~ 2008 年度

真船 浩介 (MAFUNE KOSUKE)

産業医科大学・産業生態科学研究所・助教
研究者番号: 50441829
2007 年度

太田 雅規 (OHTA MASANORI)

産業医科大学・産業生態科学研究所・講師
研究者番号: 70341526
2007 年度

(3) 連携研究者

真船 浩介 (MAFUNE KOSUKE)

産業医科大学・産業生態科学研究所・助教
研究者番号: 50441829
2008 年度