

論 文 要 旨

The diagnostic value of endothelial function as a potential sensor of fatigue in health.

〔 血管内皮細胞機能検査は健常人における
疲労の客観的な評価法となり得る 〕

大 野 佳 子

【序論および目的】 (適宜、項目をたてて、必ず2頁で記載する)

これまで長期のコホート調査等の疫学研究により、身体的過労や抑うつなどの心理社会的因子と cerebro-cardio vascular disease (CCVD)発症との関連は明らかにされてきた。これらの研究から vital exhaustion や社会心理的因子が血管機能に影響を与えることが予想され、特に“疲労”の血管機能への影響を評価することは過労死や突然死を予防する上で重要であると考えられる。しかし、“疲労”の本態やそのメカニズムについては不明の点も多く、その定量化や客観的測定は難しいのが現状である。

一方、血管内皮細胞の機能評価としてずり応力による内皮依存性の血管拡張反応を応用した測定法が考案されており、flow mediated dilatation (FMD)や peripheral arterial tonometry (PAT)が臨床応用されている。特に PAT は検査者の測定技術による誤差がなく、再現性が高いことから、近年注目されている検査法である。

我々は、今回、CCVD のリスクファクターを有しない研究対象者を選定し、疲労と血管内皮細胞機能の関連について、PAT を用いて解析した。

【対象および方法】

血管内皮細胞機能は末梢動脈圧力測定法 (peripheral arterial tonometry : PAT) を用いて測定した。血管内皮細胞機能への影響因子を同定するために職場健診の結果、CCVD リスクのない74名の健康な労働者に対して分析を行った。

血管内皮細胞機能に影響を与える因子として、上腕動脈脈波速度 (brachial arterial pulse wave velocity : ba-PWV)、労働前後の主観的疲労感 (自己認知による相対的な比較判断)、客観的疲労尺度の測定 (Labor and Welfare's accumulated fatigue checklist : AFC)、その他の心理社会的測定指標 (抑うつ尺度 Self-rated Depression scale : SDS、特定不安尺度 State-Trait Anxiety Inventory : STAI、ソーシャルサポート the Emotional Social Support Scale 等)、ライフスタイル (Breslow's seven health habits questionnaire)、血液検査結果等を挙げ、測定した。研究の手順については、First Step として労働後に PAT および ba-PWV を測定した。その後、Second Step として血管内皮細胞機能検査結果が低値であった対象者に対してフォローアップとして、早朝の労働前と同日の労働後に再検査を行うものとした。

【結 果】

対象者は職場健診で異常なしと判定されたにもかかわらず、25名 (33.8%) において血管内皮細胞機能が低い結果であった (駆血後再灌流-末梢動脈圧力測定法による測定比 reactive hyperemia peripheral arterial tonometry : RH-PAT < 1.67)。これを Normal Response 群と Low Response 群に分けてこれまで CCVD

のリスクファクターであると論じられてきた性別、閉経、BMI、家族歴、ライフスタイル、心理社会的因子、中性脂肪等の血液検査結果、血圧等を比較した結果、どの項目においても有意な差異は認められなかった。

血管細胞機能検査結果である RH-PAT に性別、年齢別による差異はみられなかった。また、労働の負荷後に血管内皮機能が低下すると予測していたが、労働前の方が RH-PAT 低値である対象者もあり、その変化の方向性に有意な変動はなかった。特筆すべきは、主観的な疲労感の相対的变化によって血管内皮細胞機能が有意に日内変動をしていたことである($t=2.98, P=0.008$)。

【考 察】

1. 血管内皮細胞機能障害の nontraditional リスクファクターについて

血管内皮細胞機能障害は、アテローム性動脈硬化症や虚血性疾患の進展によると考えられている。血管内皮細胞機能障害は加齢、喫煙、身体的不活動、糖尿病、脂質異常や高血圧などの虚血性心疾患のリスクファクターの増加に伴って進展する。これらのリスクファクターが脳・血管疾患や突然死などの全身性疾患の発症を起し得る。その一方で、これらのリスクファクターではない心理社会的因子も脳・心血管疾患に影響するという研究報告もある。

Vascular function は心機能だけでなく、自律神経系、内分泌系の影響を強く受けているので、動脈硬化のリスクファクターに代表される traditional risk factors 以外の risk factors (non-traditional risk factors) が存在すると予測される。我々はその一つとして疲労にフォーカスした。

2. 疲労と血管内皮細胞機能障害

これまでの研究により身体的過労や抑うつなどの心理社会的因子と脳・心血管疾患の発生との関連は明らかにされてきたことから、疲労が血管機能に影響を与え得ることは考えられる。我々は労働による疲労が、日常的に誰もが感じる疲労の代表的な負荷として捕らえ、労働の前後で RH-PAT による血管内皮細胞機能の変化を評価した。ところが、マスとしての労働の前後では RH-PAT 値に有意な方向性の変化はなく、同一個人内の相対的疲労度が RH-PAT 値に影響することが明らかになった。このことは、個人のソーシャルサポートやストレッサーなどの環境に対する受け止め方は多様であり、これが血管内皮細胞機能に影響したこともと考えられる。これらのことから、RH-PAT に反映される血管内皮細胞が、主観的疲労のセンサーとして働くものと考えられた。

3. 疲労の評価について

疲労に関する一定の定義はなされており、その測定法についても質問紙法をはじめ、positron emission tomography (PET)や α -MSH (melanocyte stimulating hormone)の血中濃度測定等が検討されてきたが、疲労の受け止め方は個人によって異なり、客観的定量化は今もって困難である。本研究では、同一人における相対的疲労評価の変化が血管内皮細胞機能に影響することが明らかになった。

労働負荷後の 1st examination において異常を示した対象者を、更に詳しく検査(2nd and 3rd examination)することによって fatigue と endothelial function の関連に気づくことができた。今後は、疲労と endothelial function との関係を一般化するために、全対象者に対して更に confirm する必要がある。

【結 論】

健康な対象者において、血管内皮細胞機能は個人の認知的疲労と環境との相互作用の中で日内変動があり、時には病的な状態に至ることが明らかになった。この発見により、血管内皮細胞機能は健康人において客観的な疲労のセンサーになり得、その評価に基づく健康管理が重要であることが示唆された。

論文審査の要旨

報告番号	総研第 97 号	学位申請者	大野 佳子
審査委員	主査	上村 裕一	学位
	副査	竹内 亨	副査
	副査	濱崎 秀一	副査
			堀内 正久

The diagnostic value of endothelial function as a potential sensor of fatigue in health

(血管内皮細胞機能検査は健常人における疲労の客観的な評価法となり得る)

血管内皮細胞は血管の内腔を覆う一層の細胞であり、血管の恒常性を維持する細胞である。血管内皮細胞が生成する一酸化窒素(NO)は様々な生理活性を示し、血管弛緩・収縮による循環制御、凝固系、炎症・免疫、血管新生制御の作用があり、NO活性は動脈硬化や高血圧の病態に深く関与する。一方、血管内皮細胞機能への影響因子として加齢、糖尿病、感染・炎症等の古典的危険因子があり、長期的な器質的変化を伴う影響以外に、自律神経系、内分泌系に影響を及ぼす因子もある。心理社会的因子ではメンタルストレスが短期反応として末梢循環および中枢神経系に作用し、心筋の虚血や急性冠動脈イベントを惹起する報告がある。同様に疲労関連(バーンアウト、疲労困憊状態、抑うつ等)と脳・血管疾患 cerebro-cardiovascular disease: CCVD との関係についてもコホート調査による報告がある。ところが、疲労は定義が多様であることに加え、疲労の原因は、身体的、精神的な原因から感染症や自律神経系、免疫系の疾患によるものなど複合的であり、さらに、疲労の客観的評価・測定が困難であるという特徴がある。そこで学位申請者らは、未だ不明な点の多い疲労と血管機能との関係に着目し、CCVDの危険因子を有しない対象者を可能な限り選定し、疲労と血管内皮細胞機能の関連について peripheral arterial tonometry (PAT) を用いて解析した。

その結果、本研究より以下の知見が明らかにされた。

- 1) 性別による reactive hyperemia peripheral arterial tonometry (RH-PAT) index の分布において男女差は認められず、年齢差も認められなかった。
- 2) 対象者は職場健診で異常なしと判定されたにもかかわらず、33.8%の対象者が、RH-PAT index: 1.67未満であり、血管内皮機能が低下していた。
- 3) RH-PAT index を Normal Response 群と Low Response 群に分けてこれまで CCVD のリスクファクターであると論じられてきた性別、閉経、BMI、家族歴、ライフスタイル、心理社会的因子の項目において解析したが、差異は認められなかった。中性脂肪や血小板数等の血液検査結果、ba-PWV (brachial arterial pulse wave velocity) や ABI (ankle brachial index) 等の血液力学的項目においても有意な差異は認められなかった。
- 4) 労働の負荷後に RH-PAT index が低下すると予測して測定したが、労働前の方が RH-PAT index は低値である対象者もあり、その変化の方向性に有意な変動は認めなかった。ところが、同一個人における主観的な疲労感の相対的変化によって RH-PAT index が有意に日内変動をしていた。

本研究は、同一個人における相対的疲労評価の変化が血管内皮細胞機能に影響することを明らかにした。たとえ CCVD のリスクファクターのない健常人の血管であっても、時に血管内皮細胞機能は病的な異常域まで低下し、これを PAT により客観的に評価することが可能であることも明らかになった。さらに、PAT の検査は疲労をとらえる検査としての可能性があり、予防医療の観点から自己の健康管理に応用できる検査の一つとなり得ることも示唆している。よって本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。

最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 97 号		学位申請者	大野 佳子
審査委員	主査	上村 裕一	学位	博士 (医学)
	副査	竹内 亨	副査	宮田 篤郎
	副査	濱崎 秀一	副査	堀内 正久

主査および副査の5名は、平成22年2月10日、学位申請者大野佳子君に面接し、学位申請論文の内容について説明を求めると共に、関連事項について試問を行った。具体的には、以下のような質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。

質問1) RH-PAT index は作業の前後で差異がなかったが、作業の質の分類や分析結果はどうだったのか。

(回答) 作業の質について、初期段階で作業別に分けて分析したが、血管内皮細胞機能に差異は認めなかった。

質問2) RH-PAT に影響を与える因子として、どのようなものを考えているか。

(回答) これまではいわゆる古典的危険因子である加齢、性別、喫煙、高血圧、糖尿病、身体活動量の低下等により血管内皮細胞機能に影響すると報告されてきた。

質問3) 今回の健康な対象者は RH-PAT index が低いという評価だが、RH-PAT index が低くなる positive control をおいたのか。

(回答) これまで自検例の対象者において、古典的危険因子と RH-PAT index は逆相関することを確認している。

質問4) 今回の研究における「疲労感」は、身体的、精神的のいずれに起因すると考えるか。

(回答) 今回の疲労感は、個人による身体・精神機能の減退状態の相対的判断であり、両者に起因すると考える。

質問5) 「疲労感」と「ストレスを感じる」との違いについてどのように考えているか。

(回答) 「疲労感」は結果としての“身体・精神機能の減退状態”であり、「ストレスを感じる」は、ストレスの原因となる環境要因に対する反応の一つであると考ええる。

質問6) ストレス反応の評価として、心電図の R-R 間隔変動等の解析は行ったか。

(回答) 今回は R-R 間隔の変動は評価していない。しかしながら PAT 測定では非駆血側を対照コントロールとして評価することにより交感神経の影響が相殺され、データを標準化していると考ええる。

質問7) RH-PAT index の 1.67 未満の対象者は疾患を有さないと考えなのか。

(回答) 少なくとも今回の健康診断における精度では、RH-PAT index が低値であった対象者に疾患は認められなかった。しかし、更なる精査によって疾患を有している可能性について完全には否定できない。

質問8) 図1の研究プロトコールに示した対象者411名のうち、98名がリクルートされているが、これは本人の意思によるものか。

(回答) 無作為抽出によるものではなく、本人の意思によるものである。

質問9) 指尖・上腕において測定する RH-PAT の検査が、冠動脈疾患の有無を予測できるということか。

(回答) RH-PAT の測定値が、冠動脈の血管内皮機能を反映することについては、血管造影による心臓カテーテル検査のアセチルコリン負荷試験の結果と比較して、80%の感度と 85%の特異度を有することが報告されている。

(Bonetti PO, et al. J Am Coll Cardiol. 2004)

質問10) 左右の手を反対にして測定しても同等の結果が得られるのか。

(回答) 非駆血側を対照コントロールとして評価することにより標準化しているため、左右反対でも同様の結果と考えるが、実施したことはない。

質問11) 測定が $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ の環境で血管内皮細胞機能を測定したと論文にあるが、これは特別に準備した部屋か。

(回答) 空調設備により温度・湿度管理可能な一般の部屋を準備した。

最終試験の結果の要旨

質問12) 「疲労」と「疲労感」は分けるべきではないか。

(回答) 両者は区別すべきである。「疲労」は細胞内の物質や脳内の活性状態・循環機能等の物質レベルの変化として表現し得る指標であるのに対し、「疲労感」は個人が内部環境・外部環境に対して反応する主観的で感覚的な判断であると考ええる。

質問13) 図3bの相対的疲労感によってRH-PAT indexに変化があったが、変化の大きい対象者と小さい対象者で差異のある因子があったか。

(回答) 変化の大きい対象者と小さい対象者での差異については分析しなかったが、今後はeNOSの遺伝子多型性との関連性を考えている。

質問14) 主観的疲労感をless fatigueとmore fatigueに分けているが、質問様式は具体的にはどのようにしていたか。

(回答) 3回目のPAT測定後、2回目の測定時と比較して疲労感(自己認知による相対的な比較判断)に対する質問を行った。具体的には「前回の検査時と今回の検査時とを比べ、どちらがより疲れていると感じますか」という質問および10段階のリッカート尺度で質問し確認した。

質問15) 単純な相対的疲労感では相関を認めたが、AFC(職業性蓄積疲労度チェックリスト)では相関を認めていない。これはAFCに含まれる内容の複雑性・多様性に起因するのか。

(回答) 相対的な疲労感およびAFCの双方において、多様な要素が含まれることについては同様であると考ええる。相違点として、AFCは横断的に一時点における他者と疲労感を評価するものであり尺度により比較した点であり、相対的疲労感は同一個人内における疲労感の変化を評価するものでありRH-PAT indexの変化をみた点である。換言すれば、相対的疲労感は同一個人内での変化を観察したために相関を認めたと考ええる。

質問16) 内皮は疲労を何によって感知しているのか。また感知した後、シグナルをどこに伝達し、どのような反応を示すのか。

(回答) ストレス源やソーシャルサポート等の環境要因を、ヒトが総合的に疲労感として感知していると考ええる。ヒトは様々な日常の環境刺激に対して、身体的・精神的な個人要因との相互作用のなかで、中枢性および末梢性に影響され、反応している。今回の研究結果では、血管内皮細胞がそれらを統合したセンサーであると考ええる。

質問17) 5分間駆血した後の血管拡張反応を観察しているが、組織での嫌気性代謝の影響等はないのか。また、そのような研究の報告はあるのか。

(回答) 5分以上駆血すると血管内皮非依存性の血管拡張の要素が多くなるとの報告がある。

質問18) 上下肢の皮膚温の低い対象者はRH-PAT indexに違いがあるのか。個人差があるのか。

(回答) 理論的には非駆血側を対照にして測定をするため影響はないと考えるが、個人差を含め、まだ明らかにされていない。今後検証が必要である。

質問19) 表3のRH-PAT indexと心理社会的要因との関連において、AFCとソーシャルサポートに相関があるというのはどういう意味か。

(回答) 今回AFCとソーシャルサポート、抑うつ、不安などの心理社会的要因との関連をみることにより、同一個人内で主観的疲労感と心理社会的因子は矛盾しないかを確認した。さらに、RH-PAT indexとの関連は、AFCだけでなく他の心理社会的因子との関連についても把握するため、全ての項目について相関分析を行った。

質問20) 図3Aの労働前後のRH-PAT indexに有意差がなかったのは、対象の職種が複数であったことが問題なのではないか。

(回答) 分析初期の段階で職種を分けて分析したが、労働前後の変化に差異を見出せず、「本人が労働をどのように受けとめているか」によって差があった。

質問21) 対象者を血管内皮機能正常群と低下群に分けたが、その後、疾患の罹患率の解析等、長期に追跡した報告があるのか。

(回答) これまでのコホート調査では、疾患のないコントロール群に対して血管内皮機能の低下者を長期的に追跡した研究は見当たらない。

以上の結果から、5名の審査委員は申請者が大学院博士課程修了者としての学力・識見を有しているものと認め、博士(医学)の学位を与えるに足る資格を有するものと認定した。