

過重労働による生体影響のバイオリジカルモニタリング指標の開発  
(170701-01)

研究代表者 堀江 正知

平成 29 年度 - 令和元年度 総合研究報告書

#### 研究目的

本研究は、ストレス負荷による変動が報告されている自律神経反応、内分泌・外分泌反応、免疫反応、酸化ストレス、遺伝子発現に関する指標の中から、長時間労働や短時間睡眠に伴って増減するものを探索して、長時間労働による生体影響のバイオリジカルモニタリング指標を開発することを目的とした。

#### 研究方法

本研究は、医療業、教育研究業、情報処理業、製造業、社会福祉業の 10 事業場の労働者のうち生体試料の採取等の同意が得られた 161 名を対象とした。各事業場における業務の繁忙期と非繁忙期を尋ねて、両方の時期にまたがる複数の日に、労働時間、睡眠時間、生活習慣、自覚症状を調べ、血液、尿、唾液を採取した。生体試料を分析して、血漿 IL-6、血漿 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、血漿 cortisol、血清 serum amyloid A (SAA)、血清 Reactive Oxygen Metabolites-derived compounds (dROM)、血清 Biological Antioxidant Potential (BAP) を測定し、血清中の extracellular vesicle (細胞外小胞) に含まれる microRNA (EV-miRNA) を同定して、尿中 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG)、尿中 7-methylguanine (7-mG)、尿中 adrenaline、尿中 dopamine を測定し、唾液中 8-hydroxydeoxyguanine (8-OHGua)、唾液中 human herpes virus-6 型 (HHV-6) 及び human herpes virus-7 型 (HHV-7) を測定して、バイオリジカルモニタリングの候補指標を探索した。医事業務に従事する 23 名には心拍連続測定センサを装着させ、5 秒間隔で心拍変動 (HRV) を繰り返し測定して LF/HF を解析した。また、被験者 9 名に、長時間労働とそれ以外の日の翌日に脳波事象関連電位 P300 の潜時を測定した。さらに、スマートフォンから入力する労働時間記録システムを使用して労働時間調査を実施した。なお、研究実施にあたって産業医科大学倫理委員会の承認を得た (H29-203 号)。

#### 研究結果

職業性ストレス簡易調査票の結果から、繁忙期に不安が有意に高く、上司の支援も繁忙期で高い傾向を認めた。健康リスクは、繁閑による差を認めなかったが、職務従事期間が 5 年以下の者で高くなるなど事業場や労働者によって異なる特徴を認めた。

労働時間と睡眠時間の調査結果からは、繁忙期に長時間労働が発生しており、特に、医療事務の職場で診療報酬明細書を点検する時期には労働時間が平均 15 時間 8 分まで延長し、

睡眠時間が平均 3 時間 31 分まで短縮していた。この職場で LF/HF が午後に高くなり、緊張状態と考えられる時間帯は、休憩時間、残業時間帯よりも高くなった。

生体試料は、3 年間で、血液 563 検体、尿 443 検体、唾液 443 検体を採取して分析した。尿中 8-OHdG や尿中 7-mG は、医療事務の職場で繁忙期に上昇する傾向を認めた。残業 2 時間以上の日とそれ未満の日に尿を比較できる 237 人の尿中 8-OHdG は、睡眠時間が減ると有意に上昇し ( $P=0.040$ )、尿中 7-mG も同様であった ( $P=0.001$ )。血漿 IL-6、血漿 cortisol、血清 SAA、血清 dROM、血清 BAP、唾液 HHV6、唾液 HHV7 の測定値は、繁忙や残業による有意差はなかったが、睡眠が 6 時間未満になると血清 dROM が正常範囲を超えて有意に上昇し、血漿 cortisol も正常範囲内ながら有意に上昇した。睡眠 4 時間以下の日と 5 時間以上の日に血漿を比較できる 137 人の血漿 cortisol は、睡眠時間が減ると有意に上昇した ( $P=0.034$ )。残業ありの日と残業なしの日に血清を比較できる 292 人の血清 SAA は、残業時間と有意に相関していた ( $P=0.019$ )。睡眠時間が 5 時間以下の日と 6 時間以上の日に血清を比較できる 252 人の血清 dROM は、睡眠時間が減ると有意に上昇する傾向を認め ( $P=0.031$ )、尿中 adrenaline ( $P=0.009$ ) と尿中 dopamine は、睡眠時間が減ると有意に低下する傾向を認めた ( $P=0.005$ )。医療事務の職場では繁忙期の BAP は正常範囲内であるものの非繁忙期よりも有意に高値であった。血清の解析で 787 種類の EV-miRNA を確認し、繁忙期で残業ありの条件で 6 種類の EV-miRNA が有意に減少し、前日の労働時間を睡眠時間で除した値が 2 以上で 8 種類の microRNA が有意に増加した。また、hsa-miR-8059 は繁忙期を判別する ROC 曲線の AUC が 0.648 となり、hsa-miR-204-3p は睡眠 6 時間未満を判別する AUC が 0.561、hsa-miR-204-3p は残業を判別する AUC が 0.617 であった。個人差を検討した結果では、炎症関連の血漿 IL-6、血清 SAA、血清 dROM が異常値の群で、有意な上昇を認めた 10 種類の microRNA のうち hsa-miR-4674 と hsa-miR-451a がそれぞれ血漿 cortisol と唾液 HHV6 で有意差を認めた。異常値が多い群のほうが血漿 cortisol、血清 BAP、唾液 HHV6、唾液 HHV7 の値が有意に高かったが、すべて正常範囲内であった。

脳波は、タイピングや落語視聴で  $\beta$  波が活発であった。また、22 時以降まで勤務した翌日は P300 の潜時が午後に午前よりも有意に延長していた。

勤務中の行動や出来事をスマートフォンから入力できる労働時間記録システムは、外出先でも入力可能で、調査作業が効率化され、匿名性の確保などの利点があった。

## 研究成果

5 業種 10 事業場で 161 名の血液 563 検体、尿 443 検体、唾液 443 検体を用いて、血漿 IL-6、血漿  $H_2O_2$ 、血漿 cortisol、血清 SAA、血清 dROM、血清 BAP、尿中 8-OHdG、尿中 7-mG、尿中 adrenaline、尿中 dopamine、唾液中 8-OHGua、唾液中 HHV-6、唾液中 HHV-7 を測定し、血清 EV-miRNA を測定し、医事業務労働者 23 名の LF/HF を解析し、被験者 9 名を対象に脳波の事象関連電位 P300 の潜時を実験的に測定した結果、①睡眠時間が 6 時間未満になると血清 dROM が有意に上昇し、血漿 cortisol も正常範囲内で有意に上昇する

こと、②残業時間と血清 SAA が有意に相関すること、③繁忙期や短時間睡眠の際に尿中 8-OHdG と尿中 7-mG が高い傾向があること、④短時間睡眠で、尿中 adrenaline や尿中 dopamine が低下する傾向があること、⑤医療事務職場では対面業務で LF/HF 値が有意に上昇し、BAP が繁忙期に有意に高値であること、⑥長時間労働によって EV-miRNA のうち hsa-miR-3162-3p、hsa-miR-6891-3p、hsa-miR-583 が低下する傾向があることを認めた。また、P300 は長時間労働に従事した翌日の午後に潜時が延長する傾向を認めた。

#### 今後の展望

生体指標のうち、内分泌、免疫、酸化ストレスの指標については、個人の食事、運動、喫煙、飲酒等の生活習慣を制御して、より多くの対象者で測定することができれば、より多くの指標について長時間労働や短時間睡眠による変化を検出できて、長時間労働によるバイオマーカーとしての有用性を検討することが可能と考える。また、自律神経の指標については、労働時間や就業中のイベントを記録するシステムに、位置情報、加速度センサによる身体活動量、音声記録などを同期させることなどの改良を行うことができれば、より正確な評価が可能となると推察される。核酸の指標として測定した EV-miRNA は、その科学的知見が集積することで生体内での意義や挙動が理解されることが期待される。携帯型電気生理計測装置による作業中の脳波を解析して、疲労を検出できる可能性があると考えられる。