

日本財団補助金による
2000年度日中医学学术交流促進事業

③. 中国人研究者・医療技術者招聘助成事業

(5) 環境中のフッ素化合物の生体影響

日本財団助成金による

2000年度日中医学学術交流促進事業報告書

— 中国人研究者・医療技術者招聘助成 —

財団法人 日中医学協会

理事長 中島章 殿

2001年3月14日

研究発表中または研究中の本人のスナップ写真、及び発表論文等のコピーを添付

1. 招へい責任者 角田 正史 
- 所属機関 福島県立医科大学 公衆衛生学講座 職名 助教授
- 所在地 〒960-1295 福島市光が丘1番地 電話 024-548-2111
- 招へい研究者氏名 劉 揚
- 所属機関 中国医科大学 公共衛生学院 職名 助教授
- 研究テーマ 環境中のフッ素化合物の生体影響

2. 日本滞在日程

- 2000年7月25日 来日。
2000年8月～9月 有機スズの生体影響の実験に従事。
2000年10月 マクロファージ系細胞を使ったフッ素の免疫毒性実験に従事。
2000年10月18日～20日 日本公衆衛生学会参加。
2000年11月～12月 在日中国人労働者の健康・栄養調査。
2001年1月～2月 フッ素の亜急性経口投与による生体影響に関する実験に従事。
2001年3月 リンパ系細胞を使ったフッ素の免疫毒性実験、高感度フッ素測定装置による試験に従事。
2001年3月13日 帰国。

3. 研究報告

- 別紙書式により、報告本文4000字以上(英文は2600語以上)で報告して下さい(枚数自由・ワープロ使用)
- タイトル・要旨等は日本語で、KEY WORDS以下は日本語或いは英語で記入、使用文字はタイトル13ポイント、その他は10ポイント、日本語は明朝体を使用して下さい。
- 研究成果の発表予定がある場合は発表原稿・抄録集等を添付して下さい。
- 論文発表に当たっては、日中医学協会助成事業—日本財団助成金による旨を明記して下さい。

研究テーマ：環境中のフッ素化合物の生体影響

来日研究者 劉 揚

中国での所属・役職 中国医科大学公共衛生学院 助教授

招聘者氏名 角田正史 福島県立医科大学医学部公衆衛生学講座 助教授

要旨

フッ素は自然界に広く存在し、人体に摂取される。毒性の面では慢性中毒による骨硬化症の病因として指摘されて、中国においては原因の確定しえない4000万人の慢性フッ素中毒患者がいる。しかし、フッ素の影響の機構は明確でない。骨代謝にはインターロイキン-1 (IL-1) 及び tumor necrosis factor- α (TNF α) 等のサイトカインの作用が考えられている。そこで、フッ素のサイトカイン遺伝子発現に対する影響を検討し、免疫毒性から見たフッ素の生体への影響の機構を研究した。マウス由来のマクロファージ系細胞であるJ-774細胞を用いたin vitroのフッ化ナトリウムの暴露実験を行ない、IL-1 β 及びTNF α の遺伝子発現に対する影響をRT-PCR(reverse transcription polymerase chain reaction)法で検討した。J-774細胞のサイトカイン遺伝子発現の検討では、IL-1 β , TNF α 共に1 μ M暴露で発現が0となり、TNF α については100nM暴露でも相対的発現の平均値の低下が見られた。骨吸収性のサイトカインであるIL-1 β , TNF α の遺伝子発現の抑制が示された。これらが、フッ素の骨に対する影響の機構に関連する可能性がある。また、フッ化ナトリウムのマウスに対する亜急性経口投与による免疫毒性の評価も試みた。この他、滞在中に以下の実験、研究への参加を行った。1) 有機スズ化合物の亜急性経口投与による免疫毒性の検討、2) 中国人労働者における食生活とストレスの関係。

KEY WORDS; フッ素、IL-1 β 、TNF α 、J-774細胞、RT-PCR

研究報告

【目的】 フッ素はフッ化物の形で自然界に広く存在し、水、空気、食物などを介し人体に摂取される。毒性の面では慢性中毒による骨硬化症の病因として指摘されて、中国においては原因の確定しえない4000万人の慢性フッ素中毒がいる。一方、近年、フッ素化合物は、現代の高齢化社会においての大きな問題である骨粗鬆症に関する治療薬としても注目されている。またう蝕予防を目的として水道水へのフッ素添加も世界各地で行われている。しかしながら、フッ素の薬理作用、毒性発現の機構は明確でない。

骨代謝にはインターロイキン-1 (IL-1) 及び tumor necrosis factor- α (TNF α) 等のサイトカインの作用が考えられている。そこで、フッ素のサイトカイン発現に対する影響を検討することにより、免疫毒性から見たフッ素の生体への影響の機構を研究が可能となる。

今回の研究ではマクロファージ系細胞であるJ-774細胞を用いたin vitroのフッ化ナトリウムへの暴露実験を行ない、IL-1 β 及びTNF α の遺伝子発現に対する影響を検討した。またフッ化ナトリウムの亜急性経口投与により、脾細胞におけるサイトカインの遺伝子発現に対する影響を検討した。

【方法】

1) 培養細胞による実験

培養細胞の暴露実験においては、マクロファージ系細胞とリンパ球系細胞のそれぞれについてサイトカインの遺伝子発現に関する影響を検討した。培養細胞としてマクロファージ系細胞としてマウス由来のJ-774細胞、リンパ系細胞として同じくマウス由来のEL4-TK細胞を用いた。これらにフッ化ナトリウムを暴露して、サイトカインの発現に対するフッ素の影響を検討した。暴露濃度はフッ素濃度100 nM及び1 μ Mとして、各濃度5ウェルずつ細胞を培養した。各ウェルからRNAをそれぞれ抽出しmRNAの発現についてRT-PCR(reverse transcription polymerase chain reaction)法で検討した。検討するサイトカインはマクロファージ系はIL-1 β , TNF α 、リンパ球系はIL-2について行った。標準物質として β -actinを用い補正した。

PCR 終了後、エチジウムブロマイド入り 2% アガロースゲルで電気泳動し、ATTO 社の Printgraph、Imagesaver 及び解析ソフト Lane & Spot Analyzer Ver. 5.0 を用いてバンドを定量化した。統計解析は一元配置分散分析にて行い、post hoc test には Fisher の PLSD 法を用いた。

2) フッ素化合物の亜急性毒性試験

フッ素化合物の塩化フッ素の毒性をマウスへの亜急性経口投与で検討した。この実験では、脾細胞をマクロファージとリンパ球に分け、それぞれについて、特に骨代謝に関連するサイトカインについて、mRNA の発現及び産生を検討する。

マウス 5 群 (1 群 6 匹、対照群 1 群、実験群 4 群) に対し、飲料水を介し、フッ化ナトリウムを 4 週間、投与した。投与濃度は 1~125 ppm とした。投与期間終了後、マウス脾臓を摘出し、リンパ球、マクロファージを分離し、それぞれについて、リンパ球の IFN- γ 及び IL-2、マクロファージの IL-1 β 、IL-6、TNF α の mRNA の発現を検討を行った。

また血液など試料中のフッ素イオン濃度を、極めて高感度である測定法、フッ素イオン電極を検出器とするフローインジェクション分析装置で測定し、暴露の指標とした。

【結果】 J-774 細胞のサイトカイン mRNA の発現の検討では、IL-1 β 、TNF α 共に 1 μ M 暴露で発現が 0 となり、TNF α については 100nM 暴露でも相対的発現の平均値の低下が見られた。EL4-TK 細胞については結論に至らなかった。

亜急性投与実験については脾臓の相対重量が低濃度暴露群で、有意に低下していた。免疫機能の検討、フッ素暴露の程度については結論に至らなかった。

【考察】

骨吸収に関連するサイトカインとして IL-1 や TNF α があげられている。フッ素は骨硬化症の病因として指摘され、また、骨粗鬆症に対しては治療薬としての効果が指摘されてきた。フッ素のサイトカインに対する影響として、Aussel et al. (1988) はフッ化ナトリウムによる活性化 Jurkat 細胞の IL-2 産生の増大を報告した。Loftenius et al. (1999) は、ヒト全血中の細胞のサイトカイン産生へのフッ化ナトリウムの影響を検討し、PHA によって活性化された細胞からの IFN- γ の産生が、フッ化ナトリウムによって増大する事を示した。これら、従来のフッ素とサイトカインとの関連を検討した研究では ELISA を用いて細胞上清のサイトカイン量を検討したが、本研究では今まで検討されてこなかった、フッ化ナトリウムのサイトカインの遺伝子発現レベルでの影響を検討した。特にフッ素と骨代謝に関連するサイトカイン、つまり骨吸収性のサイトカインである IL-1 β 、TNF α の遺伝子発現の抑制が示された。これらが、フッ素の骨に対する作用に関連している可能性がある。

マウスに飲料水を介し 4 週間、フッ化ナトリウムを投与する事により、実際の環境による暴露のモデルとする事が出来る。環境中からの暴露に近い濃度から、中毒レベルまでを投与濃度として比較するため、フッ素摂取の安全性の検討も可能である。今後のより一層の検討が必要である。

【参考文献】

- Aussel, C., Mary, D., Peyron, J.F., Pelassy, C., Ferrua, B. and Fehlmann, M. (1988) Inhibition and activation of interleukin 2 synthesis by direct modification of guanosine triphosphate-binding proteins. *Journal of Immunology*, 140, 215-220.
- Loftenius, A., Andersson, B., Butler, J. and Ekstrand, J. (1999) Fluoride augments the mitogenic and antigenic response of human blood lymphocytes in vitro. *Caries Research*, 33, 148-155.

この他、滞在中に以下の実験、研究への参加を行った。

- 1) 有機スズ化合物の亜急性経口投与による免疫毒性の検討
- 2) 中国人労働者における食生活とストレスの関係

1) 有機スズ化合物の亜急性経口投与による免疫毒性の検討

【目的】船舶等の防汚剤として使用されるトリブチルスズ (TBT) 化合物の海洋汚染が問題になっており、魚介類の摂取を通じた健康影響が懸念されている。今回、TBT の毒性の内、免疫毒性について、脾臓マクロファージの $\text{TNF}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, IL-6 産生に対する影響、脾リンパ球の $\text{IFN-}\gamma$ 産生に対する影響を指標に、亜急性経口投与の評価を試みた。また、この実験に参加することでフッ素化合物の免疫毒性の実験に必要な手技を取得することも目標とした。

【方法】BALB/c マウス 30 匹 (♂、平均体重 23.8g) に対し 1 群 6 匹とし塩化 TBT をそれぞれ 0、1、5、25、125ppm 含む固形試料を自由に 4 週間摂取させた。投与終了後、屠殺し、肝臓、脾臓を摘出し、脾臓についてはストマッカー (Colworth 社製) にて処理し、分離された細胞を 24 穴の細胞培養プレートで 37℃、5% CO_2 の条件下で 1 時間培養した。培養後、上清を取り、プレートに付着した細胞をマクロファージとして再度 2ml の培養液で懸濁し細胞数を測定し、1ml を別の細胞プレートに移した。上清中の浮遊細胞はリンパ球とした。マクロファージを LPS で活性化し培養し、6 時間後、一つのプレートについては上清を除去して TRIzol を用い RNA を抽出した。12 時間後、もう一つのプレートの上清を取り、-80℃で保存した。リンパ球については PHA にて活性化し、12 時間培養後、RNA を抽出し上清を保存した。マクロファージ上清については ELISA キット (Biosource International 社) にて $\text{TNF}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, IL-6 量を定量した。抽出した RNA から First strand cDNA 合成キット (Amersham 社) を用いて cDNA を合成し、RT-PCR 法を用いて、マクロファージについては $\text{TNF}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, IL-6 の mRNA 発現を検討し、リンパ球については $\text{IFN-}\gamma$ について検討した (35 サイクル)。標準物質として β -actin を用い補正した。PCR 終了後、エチジウムブロマイド入り 2% アガロースゲルで電気泳動し、ATTO 社の Printgraph、Imagesaver 及び解析ソフト Lane & Spot Analyzer Ver. 5.0 を用いてバンドを定量化した。統計解析は一元配置分散分析にて行い、post hoc test には Fisher の PLSD 法を用いた。

【結果】体重は 125ppm 投与群に一時的減少は見られたが最終的には有意な変化は見られなかった。肝臓の体重当たり重量は 125ppm 投与群の平均値が、対照群、1ppm、5ppm 投与群に比べ有意に高かった。脾臓重量については有意差は見られなかったが用量依存性の低下が見られた。mRNA の発現については全てのサイトカインについて有意差はなかった。マクロファージ細胞上清中の $\text{IL-1}\beta$ 濃度については (細胞数で補正)、有機スズ暴露群全てで対照群に比べ低下していた。 $\text{TNF}\alpha$ については 1ppm 及び 25ppm 投与群の平均値が対照群に比べ有意に低く、1ppm 群は 125ppm 群に対しても有意な低値を示した。 IL-6 濃度については 1ppm 及び 5ppm 投与群の平均値が対照群、125ppm 群に比べ有意に低かった。25ppm 群の平均値も 125ppm 群に比べ有意な低値を示した。 $\text{IFN}\gamma$ については対照群で高値を示したが、有意差はなかった。

【考察】 $\text{TNF}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, IL-6 の上清中の蛋白量は低濃度暴露群で低下していたが、mRNA の発現については有意な変化が見られなかった。これらの結果から TBT 化合物の脾マクロファージのサイトカイン産生に対する影響が比較的低濃度で起こるが、用量依存性の反応ではない場合がある事が示唆される。また、抑制のメカニズムは転写より後の段階で起こる可能性がある。

2) 中国人労働者における食生活とストレスの関係

【目的】近年、国際化の進展に伴い、多くの外国人労働者が来日し、そのメンタルヘルスが問題になっている。来日後 1 年経った中国人女性労働者を対象に、NIOSH 職業性ストレス調査票の抑鬱尺度を用いストレスに影響を与える因子を検討し、今後の有効な健康教育について探った。

【方法】対象は福島県北部にて縫製業に従事している 20~30 歳代の中国人女性労働者 36 名。来日 7 日目に食生活について通訳を介し健康教育を行った。来日後 1 年経った時点で、身体状況、健康状況、食生活一般を含む質問紙票に NIOSH 職業性ストレス調査票の抑鬱尺度を加えたものを中国語に翻訳し調査を行った。調査は職場を通じて依頼し自記式で記入されたものを職場毎に郵送で回収した。年齢、BMI について抑鬱尺度との相関を検討した。t 検定または一元配置分散分析にて項目間の抑鬱尺度の平均値の差を検討し post hoc test には Scheffe の方法を用いた。更に関連が見られた項目についてステップワイズ回帰分析を行い、抑鬱尺度の説明因子を検討した。

【結果】アンケートについては 36 名中 30 名の回答を得たが、抑鬱尺度の記入に不備のあった 7 名を除き計 23 名で分析した (有効回答率 63.9%)。抑鬱尺度との相関では、年齢 ($r=-0.436$, $p=0.036$)、BMI

($r=-0.517, p=0.011$) とも有意な負の相関が見られた。質問紙票項目間の平均値の差の検定で「栄養のバランスを食べる時に考えているか」「緑黄色野菜の摂取頻度」「疲れやすさ」「夏場の体調保持」に関して有意差が見られ、バランスを考えない群、緑黄色野菜の摂取頻度が低い群、疲れやすい群、体調を崩した群の平均値が高かった。便秘についても、「よく便秘する」群が「殆ど便秘しない」群に比べて有意に抑鬱尺度の平均値が高かった。その他、「健康講座や料理講習会に出たことがない」群は「ある」群に比べて有意に抑鬱尺度の平均値が高く、「中国での健康教育を受けたことがない」群は「ある」群より抑鬱尺度の平均値が高い傾向にあった。以上の項目を利用しステップワイズ回帰分析によって説明因子を検討した結果では”抑鬱尺度 = $39.97 - 0.824(\text{BMI}) - 2.329(\text{便秘})$ ” ($R^2=0.427, p=0.038$) の回帰式が得られた。

【考察】在日中国人女性のストレスには疲労や体調、便秘に加え、栄養のバランスや緑黄色野菜の摂取頻度など食生活が関連していた。便秘は有意な抑鬱尺度の説明因子であることから、便秘の予防やバランスのとれた食生活に焦点を当てた健康教育がストレスの対策に有効と考えられた。

学会発表予定 (発表原稿添付)

Tsunoda, M., Konno, N., Nakano, K. Nakano, K., Liu, Y. and Suzuki, Y. (2001) The inhibitory effects of tributyltin chloride on cytokine production in murine splenocytes after subacute oral exposure. *Toxicologist* 54 (Supplement) (March, 2001).

Konno, N., Tsunoda, M., Nakano, K. Nakano, K., Liu, Y. and Suzuki, Y. (2001) In vivo and in vitro effects of tributyltin on the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors in the brain of mice. *Toxicologist* 54 (Supplement) (March, 2001).

角田正史、劉揚、中野匡子、鈴木礼子、陳霞芬 (2001) 在日中国人労働者における職業性ストレス (抑鬱尺度) に対する食生活及び身体状況の影響. 産業衛生学雑誌、43、第71回日本産業衛生学会講演集、332.

角田正史、中野憲、劉揚、中野匡子、紺野信弘 (2001) 塩化トリブチルスズ亜急性経口投与によるマウス脾臓マクロファージにおけるインターロイキン-6 (IL-6) 産生に対する影響. 第71回日本衛生学会総会抄録集 (2001年4月)

紺野信弘、角田正史、中野憲、劉揚、中野匡子 (2001) トリブチルスズ化合物のマウス脳内NMDAレセプターに及ぼす影響. 第71回日本衛生学会総会抄録集 (2001年4月)

中野匡子、角田正史、紺野信弘、劉揚、中野憲 (2001) 女子学生の生活習慣と疲労の関連についての検討. 第71回日本衛生学会総会抄録集 (2001年4月)

鈴木礼子、劉揚、中野匡子、角田正史、陳霞芬 (2001) 在日中国人労働者に対する健康教育実施一年後の状況. 第55回日本栄養・食糧学会大会抄録集 (2001年5月)

フッ素については今後発表予定。

THE INHIBITORY EFFECTS OF TRIBUTYL TIN CHLORIDE ON CYTOKINE PRODUCTION IN MURINE SPLENOCYTES AFTER SUBACUTE ORAL EXPOSURE. M. Tsunoda, N. Konno, K. Nakano, K. Nakano, Y. Liu and Y. Suzuki. Department of Public Health, Fukushima Medical University, Fukushima, Japan.

The pollution of the waters, fish and shellfish by tributyltin (TBT) compounds as antifouling agents have been reported worldwide. The immune system is a target of TBT intoxication. We evaluated immunotoxicity of TBT on splenocytes following subacute oral exposure. Male BALB/c mice were exposed to 0, 1, 5, 25, 125 ppm of TBT chloride in the feed for 4 weeks. Following the treatment period, mice were euthasized, liver and spleen were removed and weighed. Splenocytes were divided into adherent cells (macrophages) and non-adherent cells (lymphocytes). Adherent cells were activated by lipopolysaccharide (LPS) and cultured. Non-adherent cells were activated by phytohemagglutinin (PHA). The mRNA expressions of tumor necrosis factor α (TNF α) or interleukin-1 β (IL-1 β) in adherent cells and interferon γ (IFN γ) in non-adherent cells were examined by RT-PCR. The concentrations of cytokines in the supernatant were also determined by ELISA. The mean value of relative liver weights in the group exposed to 125 ppm of TBT was significantly increased compared to those in control and low-dose groups. The relative spleen weights were also decreased dose-dependently. The mean concentration of IL-1 β in the supernatant of adherent cell adjusted by cell counts was significantly lower among exposed groups compared to the control. The relative LPS-stimulated TNF α expression or IL-1 β expression in adherent cells, and the relative PHA-induced IFN γ expression in non-adherent cells were lower in the higher dose groups. The splenocytes and its cytokine production may be affected by TBT at the levels similar to environmental pollution.

トリブチルスズ化合物のマウス脳内 NMDAレセプターに及ぼす影響

○紺野信弘、角田正史、中野憲、劉揚、中野匡子
(福島県立医科大学・医・公衆衛生)

【目的】 船舶や漁網の防汚剤として、塗料に含まれる有機スズ化合物 (特にトリブチルスズ) の使用はわが国では規制されているが外国の船舶等による海洋汚染は依然として続いている。また最近外因性の内分泌攪乱化学物質としてその環境毒性が再び注目されている。今回はトリブチルスズの神経毒性 (行動毒性) の有無を、マウス脳内の興奮性アミノ酸受容体の一つであるNMDAレセプターに対する影響を調べることにより検討した。NMDAレセプターは学習や記憶に関与している生理的に重要なレセプターの一つである。

【材料と方法】 塩化トリブチルスズ (TBTCIと略記)、塩化トリメチルスズ (TMTCI) は市販の特級試薬を使用した。レセプターアッセイは常法に従ったが、ラジオリガンドとしては $[^3\text{H}]\text{CGP}39653$ (比活性44.0 Ci/mmol)を用いた。*In vitro*実験ではBALB/cマウス (オス、体重20-22 g)を用いたが、TBTCIの投与実験では1週間の馴らし飼育の後 (1群5匹) 1, 5, 25及び125ppmを含む固形飼料を4週間自由に摂取させた。尚、大脳皮質からの膜画分の調製はMugnaini et al (1993)の方法に従い、結合実験のデータ解析にはグラフパッド社のソフト"プリズム"を用いた。

【結果と考察】 飽和曲線とScatchard解析の結果をFig.1と2に示した。最大結合量 B_{max} は 2.20 ± 0.22 pmol/mg protein、解離定数 K_d は 37.8 ± 9.07 nMであった ($n=3$, 平均値 \pm SD)。 $[^3\text{H}]\text{CGP}39653$ の膜画分に対する結合に及ぼすTBTCIとTMTCIの影響を*in vitro*で検討した (Fig. 3)。3回実験の平均値 \pm SDで示したが、0.1 μM -1mMの濃度範囲ではTBTCIはレセプター・リガンド結合には殆ど影響しなかった。一方、TMTCIは濃度が高くなるとむしろ結合を増加させる傾向があったが、測定ごとのバラつきもやや大きかった。次に、1-125ppmのTBTCIを含む食餌を4週間与えたマウスの大脳皮質から調製した膜画分に対する $[^3\text{H}]\text{CGP}39653$ の結合をみると、1ppm群と125ppm群で有意 ($p < 0.05$) に低下した (Fig. 4)。5ppm群と25ppm群では低下の傾向を認めたが有意差はなかった。これらの成績は比較的低濃度のTBTCIの経口暴露によってもNMDAレセプターに対する影響が発現することを示唆している。

【まとめ】 *In vitro*では著明な影響は認められなかったが、マウスの餌に1-125ppm濃度のTBTCIを混ぜ4週間摂取させたところ、弱いながらもNMDAレセプターに対するリガンドの結合低下があり、低濃度長期間のTBTCI暴露による神経毒性の発現が懸念される。

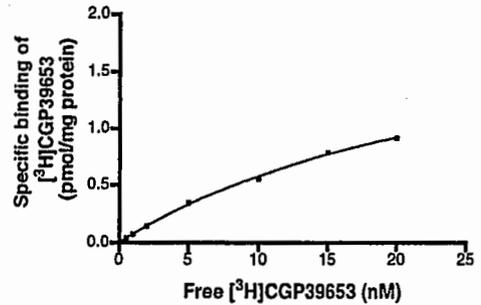


Fig1. Saturation curve

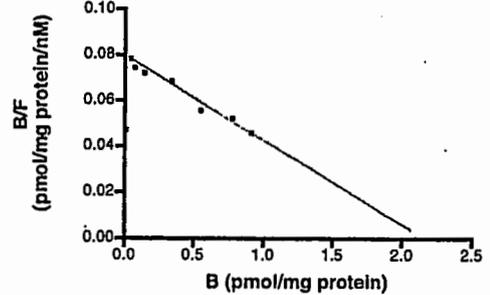


Fig2. Scatchard plot

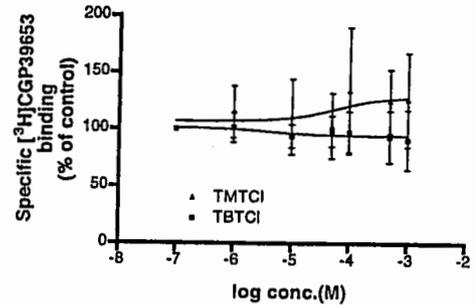


Fig3. Effects of TMTCI and TBTCI on the binding of $[^3\text{H}]\text{CGP}39653$ *In vitro*

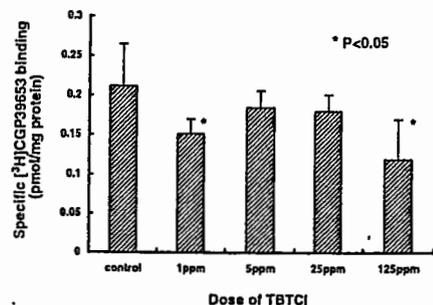


Fig4. Effect of 28-day TBTCI administration on $[^3\text{H}]\text{CGP}39653$ binding to mouse brain membranes

女子学生の生活習慣と疲労の関連についての検討

福島県立医科大学 医学部 公衆衛生学講座

○中野匡子, 角田正史, 紺野信弘, 劉楊, 中野憲

目的：近年、疲労は青年期の健康の指標としての有効性が指摘され、食生活等生活習慣との関連が注目されている。産業職場では質問紙法による疲労の評価が行われ、勤務時間の生活習慣への影響と疲労の関連が示唆されている。今回我々は、産業職場での“自覚症状調べ”を使用し、女子学生を対象として、生活習慣と疲労の関連を検討した。

対象及び方法：平成12年9月、福島市の女子大学生242名(四年制大学看護学部1年生80名、看護専門学校1年生33名、短期大学1年生129名；平均年齢19.0±0.1歳)を対象とし、無記名・自記式アンケートを留置法で実施した。調査項目は、年齢、身長、体重、睡眠の深さ、睡眠時間、運動習慣の有無と頻度、食生活(朝食、昼食、夕食の摂取頻度)、喫煙・飲酒習慣の有無と頻度、自覚的疲労感、現在の疾病罹患の有無と、疲労度調査(日本産業衛生学会“自覚症状調べ”1970)とした。疲労度調査は、①眠気とだるさ②注意集中の困難③身体違和感を示す項目群(以下、疲労度①、②、③とする)で構成され、得点が高いほど疲労度が高いと評価される(疲労度①～③の各々に対して、得点は0～10点)。解析は、それぞれの疲労度得点の平均値を、3群以上で一元配置分散分析(post hoc testはScheffeの方法)、2群間ではt検定を用いて比較した。

結果：調査票の回収率は92.6%(224名)で、疾病者2名を除いた222名について分析した。大学別に回答に有意な差が見られなかったため、全体をまとめて分析した。眠りの深さについては、“よく眠れる”群が“あまり眠れない”群に比べ有意に疲労度①、②及び①②③の合計の得点が低かった(表1)。睡眠時間、運動習慣と喫煙、アルコールの習慣の有無により、疲労度に有意な差は見られなかった。BMIと疲労度との相関は見られなかった。朝食をとる頻度によって区分した4群の疲労度得点の平均値は、いずれの項目でも有意差は見られなかったが、“とることは少ない”群と“とらない”群の平均値は高値を示した。昼食・夕食について、“毎日とる”群と“欠食”(とることが多い十とることが少ない十とらない)群の2群で比較したところ、疲労度①、②、③、①②③の合計の得点で有意な差はないが、欠食群の得点はいずれも高かった。自覚的疲労感については、疲労度①、③、①②③の合計の得点が、“疲れを感じる”群は“時々感じる”または“感じない”群に対し、有意に高かった(表2)。

考察：今回我々は、疲労度の評価法として産業職場における“自覚症状調べ”を用いたが、この方法を学生に適用することの妥当性について自覚的疲労感との関連をみたところ、自覚的に“疲れを感じる”と答えた群は“時々感じる”または“感じない”群に比べ疲労度①、③の得点が高く、自覚的疲労感は、眠気やだるさ、身体的な違和感の自覚であると考えられた。今回の調査から、眠りの深さが眠気とだるさ、注意集中の困難へ影響すること、食事の欠食が疲労度を増す傾向にあるという結果が得られた。疲労の蓄積は学業へ支障をきたし、ひいては様々な疾病を引き起こす可能性が指摘されており、特に睡眠の深さ、規則正しい食生活に留意した生活習慣の改善が望まれる。

表1 眠りの深さと疲労度得点

眠りの深さ	回答数	①眠気とだるさ	②注意集中の困難	③身体違和感	合計
よく眠れる	84	3.774±0.237	1.786±0.228	1.679±0.172	7.262±0.526
ふつう	108	3.657±0.2	2.019±0.208	1.62±0.149	7.306±0.445
あまり眠れない	30	5.367±0.4	3.033±0.448	2.033±0.273	10.433±0.857

*: p<0.05 **: p<0.01 得点は平均値±標準偏差で表わす

表2 自覚的疲労感と疲労度得点

自覚的疲労感	回答数	①眠気とだるさ	②注意集中の困難	③身体違和感	合計
いつも疲れを感じる	102	4.853±0.216	2.441±0.236	2.225±0.162	9.529±0.495
時々疲れを感じる	107	3.290±0.181	1.869±0.195	1.355±0.130	6.533±0.387
疲れは感じない	8	1.625±0.625	0.875±0.611	0.125±0.125	2.625±1.267

*: p<0.01 得点は平均値±標準偏差で表わす