

*Original article***Effect of mats with “A Distinctive 4-Layer 3-Dimensional Structure” on sleep quality, anti-oxidative and immunological function.**

Mari Ogura^{1,2)}, Wakako Takabe¹⁾, Masayuki Yagi¹⁾, Masashi Furukawa³⁾,
Yoji Shimura³⁾, Midori Ando³⁾, Yoshikazu Yonei¹⁾

- 1) Anti-Aging Medical Research Center and Glycative Stress Research Center, Faculty of Life and Medical Sciences, Doshisha University, Kyoto, Japan
- 2) Kyoto Bunkyo Junior College, Kyoto, Japan
- 3) Japan Research Laboratory of Sleep Science, Nishikawa Sangyo Co. Ltd., Tokyo, Japan

Glycative Stress Research 2017; 4 (3): 172-183

(c) Society for Glycative Stress Research

(原著論文 – 日本語翻訳版)

「4層特殊立体構造」寝具使用による睡眠の質ならびに抗酸化能・免疫能に及ぼす影響の検証：無対照オープンラベル試験

小椋真理^{1,2)}、高部稚子¹⁾、八木雅之¹⁾、古川雅嗣³⁾、志村洋二³⁾、安藤翠³⁾、米井嘉一¹⁾

- 1) 同志社大学大学院生命医科学研究科アンチエイジングリサーチセンター・糖化ストレス研究センター、京都
- 2) 京都文教短期大学食物栄養学科、京都
- 3) 西川産業株式会社日本睡眠科学研究所、東京

抄録

【目的】 近年、睡眠の質の低下と様々な疾病との因果関係が報告されている。本試験では、「4層特殊立体構造」寝具を試験品として睡眠の質の改善の有無および糖脂質代謝、免疫機能に与える影響について検証を行った。

【方法】 睡眠に不満を有する男女 11名 (男性 4名、女性 7名、年齢 49.8 ± 6.5 歳) を対象に、試験品寝具を 4週間使用した際の身体情報変化について、無対照オープンラベル試験を行った。試験品は西川産業 (東京都中央区) より提供を受けた。試験開始前、試験開始 4週間後に自覚症状の確認、身体計測、血液生化学検査、尿検査を施行した。本試験は倫理委員会の承認を得て行った。

【結果】 ピッツバーグ睡眠質問票 (PSQI-J) による評価において、試験開始 4週間後に睡眠の質、入眠時間、睡眠困難、日中覚醒困難の有意な改善が見られた。PSQI 総合得点 (PSQIG) は 9.0 ± 1.7 から 3.9 ± 2.1 へ改善した。糖脂質代謝検査では、HbA1c が $5.31 \pm 0.23\%$ から $5.19 \pm 0.17\%$ へ有意に低下したが、空腹時血糖、LDL コレステロール、HDL コレステロール、中性脂肪には変化はなかった。内分泌検査では dehydroepiandrosterone-

sulfate (DHEA-s; -13.8% , $p = 0.016$)、cortisol (-15.7% , $p = 0.025$) が低下したが、cortisol/DHEA-s 比には変化がなかった。免疫学的検査ではNK細胞の分画のうちCD56-CD16+細胞数が著明に増加した ($+61.1\%$, $p = 0.020$)。

【結論】 試験品寝具の使用により、睡眠関連の自覚症状の改善、HbA1cの減少、cortisol低下とDHEA-s低下を認めた。睡眠の質の改善に伴うCD56-CD16+NK細胞増加の意義については今後のさらなる解析が待たれる。

KEY WORDS: 睡眠の質、HbA1c、cortisol、NK細胞、CD56-16+細胞

はじめに

2型糖尿病は糖化ストレスが強い疾病の代表である。睡眠時無呼吸症候群などの睡眠障害は睡眠の質の低下を惹起し、2型糖尿病¹⁻⁷⁾、糖尿病性網膜症^{8,9)}、糖尿病性腎症^{10,11)}の発症と進展に深く関与することが知られている。我々の研究室では睡眠不足のある者は糖化ストレス指標の皮膚終末糖化産物 (advanced glycation end products: AGEs) 蛍光が強いことを報告している¹²⁾。さらに睡眠の質と糖化ストレスの関連を調べる目的で睡眠関連ホルモンであるメラトニンに注目し実験を行った結果、メラトニンはAGEs生成抑制¹³⁾やAGEs/RAGE (receptor for AGEs) シグナル¹⁴⁾に対して影響しなかったが、 α ジケトン構造を有するAGEsの分解を促進すること¹⁵⁾を示している。

睡眠の質を高く保つことは予防医学の観点からも重要である。睡眠の質を高く保つためには、個々の状態に適した寝具の使用が望ましい。これまで我々は、販売後アンケート調査で使用者からの評判が高かった「4層特殊立体構造」寝具を試験品とし、それまで使用した寝具と交換して4週間使用した際の睡眠の質を含む身体情報への影響について検証するために無対照オープンラベル試験を施行した¹⁶⁾。その結果、睡眠の質に関する自覚症状の改善、成長ホルモン (growth hormone: GH) /insulin-like growth factor-I (IGF-I) 分泌の促進、酸化ストレスの緩和することが示された。

今回は、同寝具の4週間使用による睡眠の質ならびに抗酸化力への影響を再確認するとともに、新たに免疫能に及ぼす影響を検証することを目的として、睡眠に不満を有する男女11名を対象に無対照オープンラベル試験を行った。主要評価項目には、睡眠関連指標に加え、免疫能の評価指標について重点的に検討した。

方法

対象

対象は、40歳以上～65歳未満の健康な男女とし、①やせ・肥満のない者、②入眠困難、中途覚醒、早朝覚醒、熟眠困難など睡眠について不満のある者32名を募集した。

募集者に対し聞き取り調査を行い、被験者選択基準・除外基準に則り12名を選抜し、本試験の被験者とした。男女比は1:1を目標とした。自己都合による脱落が1名生じたため、解析対象者は男性4名 (48.3 ± 8.1 歳)、女性7名 (50.7 ± 5.9 歳)、計11名 (49.8 ± 6.5 歳)であった。

選択基準を以下に示す。

- 1) 試験参加の同意取得時点での年齢が40歳以上65歳未満の健康な男性および女性
- 2) 健康な者で、現在何らかの疾患で治療をしていない者
- 3) 体格指数 (body mass index: BMI) が 18.5 kg/m^2 以上、 25.0 kg/m^2 未満の者
- 4) 入眠困難、中途覚醒、早朝覚醒、熟眠困難など睡眠について不満のある者
- 5) 就寝 (消灯) から起床までの時間が4時間以上の者
- 6) 就寝 (消灯) 時間ならびに起床時間が規則的であり、就寝 (消灯) 時間が24時前の者
- 7) 日常、布団にて就寝している者
- 8) 試験期間中、試験マットレスを使用して就寝可能な者
- 9) 睡眠時評価期間において単身での就寝が可能な者

除外基準を以下に示す。

- 1) 現在、何らかの慢性疾患を患い薬物治療を受けている者
- 2) 睡眠時無呼吸症候群 (sleep apnea syndrome: SAS) の疑い、治療中、治療歴のある者
- 3) 夜間頻尿、前立腺肥大症、過活動膀胱を有する者、また、その疑いのある者
- 4) 重篤な肝障害、腎・心疾患、肺、消化器 (胃切除を含む)、臓器障害、糖尿病、甲状腺疾患、その他重篤な疾患に既往、罹患している者
- 5) アトピー性皮膚炎、皮膚過敏症など皮膚疾患を有する者

試験デザイン

本試験は対照の無いオープンラベル試験とした。

試験品は既報と同じく「4層特殊立体構造」寝具 (&Free マットレス SATM; Regular HF2521R; 西川産業、東京都中央区) とした¹⁶⁾。試験品の大きさはシングルサイズ (9 ×

97 × 200 cm) で、専用シーツとともに、西川産業より提供を受けた。試験開始時に、現在使用している敷き布団を試験品に切り替えて使用した。試験品の安全性については、2015年2月の販売開始以降、2017年3月まで本製品について重篤な有害事象の報告はない。

試験開始前、試験開始4週間後に自覚症状の確認、身体計測、血液生化学検査、酸化ストレス試験、糖化ストレス、心身ストレス、免疫関連検査を施行した。試験参加者は生活日誌に試験期間中の有害事象の有無・程度、生活習慣、食事・運動習慣について記録した。試験期間は2016年11月～2017年3月とした。

評価項目

自覚症状

睡眠の質の評価にはピッツバーグ睡眠質問票 (PSQI-J)¹⁷⁾ を使用した。PSQI 質問表 採点方法集計表に準じ、睡眠の質、入眠時間、睡眠時間、睡眠効率、睡眠困難、眠剤の使用、日中覚醒困難についてスコア化、PSQI 総合得点 (PSQI global score; PSQIG) を計算した。

自覚症状の評価は、抗加齢QOL 共通問診票 (Anti-Aging QOL Common Questionnaire: AAQOL)¹⁸⁾ を使用した。「身体の症状」と「心の症状」に分け、ポイント1～5の5段階に分けてスコアを評価した。

身体計測

身体計測としては、身長、体重、体脂肪率、BMI、収縮期および拡張期血圧、脈拍数を計測した。身体組成検査は体成分分析器 (DC-320; タニタ、東京都板橋区) を用いた。

血液検査

血液試料を用いて末梢血液検査、生化学検査を行い、結果は血液生化学検査、酸化ストレス指標、糖化ストレス指標、内分泌指標、免疫学的指標に分けて示した。血清を用いた一般的血液生化学的検査および血中 (血清または血漿) ホルモンの IGF-I、ジヒドロエピアンドロステロンサルフェート (dehydroepiandrosterone-sulfate: DHEA-s)、cortisol は保健科学研究所 (横浜市保土ヶ谷区) にて測定した。血漿を用いた酸化ストレス度 (oxidative stress: OS) および抗酸化力 (antioxidant power: AP) は我々の研究室にて測定した¹⁹⁾。全血を用いた免疫学的検査は株式会社健康ライフサイエンス (東京都千代田区) で施行した²⁰⁻²³⁾。

尿検査

試料として起床後第一尿検体を用いた。検査日に、起床後第一尿を各自で回収、「尿量」、「朝の排尿時間」、「昨夜の排尿時間」を記録し、各指標の尿中濃度から生成速度を計算した。酸化ストレス関連検査として 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG)²⁴⁾、イソプラスタン

(15-isoprostane F2t)²⁵⁾ は日研ザイル株式会社日本老化学制御研究所 (静岡県袋井市) にて測定した。メラトニン代謝産物 6-hydroxymelatonin sulfate (SaMT)²⁶⁾ は LSI メディエンス (東京都千代田区) にて測定した。

統計解析

統計解析には、統計解析ソフト SAS (SAS 9.4; SAS Institute Japan、東京都港区) または SPSS (Statistics19; 日本アイ・ビー・エム、東京都中央区) を用い、paired-t test を施行した。危険率 5% 未満を有意差あり、10% 未満を有意傾向ありとした。外れ値および欠損値については、特に外れ値は設定しなかった。ただし、検査上のトラブルなどでデータが取得できない、またはデータの信頼性に大きな問題が生じた場合は欠損値として取扱い、代替値は用いなかった。

倫理審査

本試験は、ヘルシンキ宣言 (2013年 WMA フォルタレザ総会で修正) および人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (文部科学省、厚生労働省告示) を遵守した。本試験は「一般社団法人糖化ストレス研究会」(東京都中野区) にてヒト試験倫理委員会を開催し、試験の倫理性および妥当性について審議を行い、承認された (GSE #2016-006)。本試験については臨床試験事前登録を行った (UMIN #000025755)。

結果

自覚症状

4週間の試験品の使用により以下の如く自覚症状の改善がみられた。

PSQI-J においては、睡眠の質 ($p = 0.006$)、入眠時間 ($p = 0.016$)、睡眠時間 ($p = 0.011$)、睡眠困難 ($p = 0.034$)、日中覚醒困難 ($p = 0.026$) のスコアが有意に改善した (Table 1)。PSQIG は高度障害 (9.0 ± 1.7) から軽度障害 (3.9 ± 2.1) に有意に改善した ($p = 0.005$)。

AAQOL では身体症状 33 項目のうち「肩がこる」($p = 0.014$) 「だるい」($p = 0.020$) の 2 項目、心の症状 21 項目のうち「眠りが浅い」($p = 0.014$) の 1 項目のスコアが有意に改善したが、「くよくよする」($p = 0.046$) は有意に増加した (Table 2)。その他の項目には有意な変化はなかった。

身体指標

体重、BMI、体脂肪、血圧、脈拍数については観察期間中に有意な変化は認められなかった (Table 3)。

血液生化学検査

生化学検査ではアルカリフォスファターゼ (ALP: -6.5% 、

Table 1. Sleep quality evaluation.

	Before	4 weeks	p value	
PSQI-J	Sleep quality	2.0 ± 0.4	0.8 ± 0.6 **	0.006
	Time to fall asleep	2.0 ± 0.9	0.8 ± 1.0 *	0.016
	Sleeping time	1.7 ± 0.5	1.0 ± 0.8 *	0.011
	Sleep efficiency	0.5 ± 0.7	0.1 ± 0.3 †	0.059
	Difficulty sleeping	1.3 ± 0.5	0.7 ± 0.5 *	0.034
	Use of sleep inducers	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	1.000
	Daytime difficulty waking	1.5 ± 0.8	0.5 ± 0.7 *	0.026
	PSQIG	9.0 ± 1.7	3.9 ± 2.1 **	0.005

Results are expressed as mean ± SEM, paired t test, n = 11. PSQI-J, Pittsburgh Sleep Quality Index (Japan version) questionnaire; PSQIG, PSQI global score; SEM, standard error mean.

Table 2. AntiAging QOL Common questionnaire.

	Before	4 weeks	p value
Physical symptoms			
Tired eyes	3.3 ± 0.9	2.6 ± 1.3 †	0.052
Eye pain	1.8 ± 0.6	1.4 ± 0.5 †	0.059
Stiff shoulders	3.5 ± 1.2	2.6 ± 1.2 *	0.014
Muscular pain/stiffness	2.9 ± 1.3	2.3 ± 1.1 †	0.085
Lethargy	3.0 ± 1.0	2.1 ± 0.3 *	0.020
No feeling of good health	2.8 ± 1.0	2.3 ± 1.0 †	0.084
Easily breaking into a sweat	1.8 ± 0.9	2.3 ± 0.9 †	0.096
Mental symptoms			
Shallow sleep	4.0 ± 0.6	2.9 ± 0.8 *	0.014
Difficulty in falling asleep	3.5 ± 1.1	2.8 ± 0.9 †	0.071
Pessimism	2.3 ± 0.5	2.6 ± 0.7 *	0.046
Inability to solve problems	2.2 ± 0.8	2.1 ± 0.7	0.655
Inability to sleep because of worries	2.9 ± 0.9	2.4 ± 0.7 †	0.063
A sense of tension	2.5 ± 1.0	2.5 ± 0.5	0.763

Data are expressed as mean ± SEM, paired t test, n = 11. SEM, standard error mean.

Table 3. Anthropometry.

	Before	4 weeks	p value	
Height	cm	164.23 9.65	–	
Weight	kg	57.71 ± 7.10	57.69 ± 6.97	0.898
Body fat	%	26.87 ± 7.03	27.11 ± 7.16	0.396
BMI	–	21.35 ± 1.22	21.35 ± 1.21	0.882
Blood pressure (systolic)	mmHg	110.4 ± 11.6	105.3 ± 13.2	0.170
(diastolic)	mmHg	70.4 ± 10.6	69.3 ± 14.6	0.623
Pulse	/min	63.5 ± 9.2	68.3 ± 11.3 †	0.060

Data are expressed as mean ± SEM, paired t test, n = 11. BMI, body mass index; SEM, standard error mean.

$p = 0.017$) が有意に低下、Na (-0.7% , $p = 0.019$) が有意に低下したが、いずれも基準値範囲内の変化であった (Table 4)。肝機能、腎機能、血清蛋白には有意な変化は認められなかった。

酸化ストレス指標

酸化ストレス指標 OS, AP, 8-OHdG, イソプラスタンには有意な変化は認められなかった (Table 4)。

糖化ストレス指標

糖化ストレス指標については、HbA1c が $5.31 \pm 0.23\%$ から $5.19 \pm 0.17\%$ へ有意に低下した (-2.3% , $p = 0.003$, Table 4)。FPG, TC, LDL-C, HDL-C, TG には有意な変化はなかった。

内分泌指標

内分泌検査として、ホルモン年齢関連の IGF-I、DHEA-s、睡眠関連ホルモンとして尿中メラトニン代謝産物 (SaMT)、心身ストレスに関与する cortisol を測定した (Table 4)。血清 IGF-I は使用前 136.5 ± 48.5 ng/mL から 4 週後 145.8 ± 54.2 ng/mL に増加傾向を認めた ($+6.8\%$, $p = 0.083$)。血清 DHEA-s (-13.8% , $p = 0.017$)、cortisol (-15.7% , $p = 0.025$) とともに有意に低下したが、Cortisol/DHEA-s 比には変化がなかった。尿中 SaMT には有意な変化はなかった。

免疫学的指標

末梢血検査で白血球数 (WBC) が有意に低下 (-11.9% , $p = 0.033$) したが、白血球分画には有意な変化は認められなかった (Table 5)。炎症反応指標の血清 CRP には有意な変化はみられなかった。

免疫力判定検査では免疫スコアに有意な変化はみられず、サブ項目 (T 細胞数、CD8+CD28+T 細胞数、CD4/CD8 細胞比、ナイーブ T 細胞数、ナイーブ メモリ T 細胞数、B 細胞数、NK 細胞数) にも差はなかった。B cell 数は 341.8 ± 144.0 / μ L から 310.5 ± 123.9 / μ L へ有意に低下した (-9.2% , $p = 0.044$)。NK 細胞の分画のうち CD56+CD16- 細胞、CD56+CD16+ 細胞に有意な変化はみられなかったが、CD56-CD16+ 細胞は $0.18 \pm 0.09\%$ から $0.29 \pm 0.15\%$ に著明に増加した ($+61.1\%$, $p = 0.020$)。

安全性

観察期間中に有害事象は認められなかった。

考察

応前期生成物であるアマドリ転位生成物が、酸化・脱水・縮今回の試験では、試験寝具の 4 週間の使用により睡

眠関連の自覚症状の改善、血液生化学検査で WBC の減少 (-11.9% , $p < 0.05$)、糖脂質代謝検査では FPG, LDL-C, HDL-C, TG には変化がなかったが、HbA1c の減少 (-2.3% , $p < 0.01$) を認めた。内分泌検査では IGF-I 上昇傾向 ($+6.8\%$, $p < 0.1$)、cortisol (-15.7% , $p < 0.05$) と DHEA-s (-13.8% , $p < 0.05$) の低下を認めたが cortisol/DHEA-s 比には変化がなかった。酸化ストレス指標の尿中 8-OHdG (前値 8.3 ± 2.7 ng/mg crea)、イソプラスタンには変化なかった。免疫能評価では B 細胞数の減少、NK 細胞分画における CD56-16+ 細胞の著増 ($+64.4\%$, $p < 0.05$) を認めた。

同じ試験寝具を用いた前回の試験¹⁶⁾では、試験寝具の 4 週間の使用により睡眠関連の自覚症状の改善、糖脂質代謝検査では FPG, HbA1c, LDL-C, TG には変化なかったが、HDL-C の上昇 ($+7.5\%$, $p < 0.01$) を認めた。内分泌検査では IGF-I 上昇 ($+10.2\%$, $p < 0.01$)、cortisol, DHEA-s、cortisol/DHEA-s 比には変化がなかった。酸化ストレス指標の尿中 8-OHdG の減少を認めたが (前値 9.9 ± 0.8 ng/mg crea, -28.3% , $p < 0.01$)、イソプラスタンには変化なかった。

次に今回の結果を前回¹⁶⁾と比較すると、睡眠関連の自覚症状の改善、IGF-I の上昇傾向、糖脂質代謝の指標 1 項目の改善 (前は HDL-C 上昇、今回は HbA1c 低下) が共通して観察された点といえる。酸化ストレス指標の違いについては、今回の 8-OHdG 前値が前回に比べ低かったために、これ以上改善する余地がなかったことが理由と推測される。

• 抗加齢医学とは

抗加齢医学とは、加齢に焦点を当てた予防医学である。自然な老化に逆らうのではなく、病的な加齢や老化を予防・治療することが目的とされている。

抗加齢医学の分野において、百寿者 (百歳以上で認知症やガン、その他大きな病気がなく、寝たきりではない自立した生活を送る方) の特徴を調査した結果、長寿を決定する遺伝的、器質的要因以外にも寿命を左右する要因として、「運動」、「栄養」、「休養 (睡眠)」の 3 つのバランスを保つことが非常に重要であることがわかっている。

• 抗加齢医学と睡眠の関係

睡眠時間と寿命の関係を調査した試験では、睡眠時間が 7 時間の人が最も長生きし、8 時間以上若しくは 6 時間以下であると死亡の危険が高まるという結果が報告されている²⁷⁾。

また、睡眠時間と 2 型糖尿病の発症リスクについては、睡眠状態のアンケート調査、終夜睡眠呼吸モニタ検査 (ポリソムノグラフィ) を実施し、その後 1 年間の 2 型糖尿病発症の有無を評価したところ、睡眠時間が 7~8 時間の被験者が最も発症リスクが低いという報告がある²⁸⁾。さらに、睡眠時間と肥満の関係については、睡眠時間が短い児童に肥満が多いという報告もなされている²⁹⁾。

Table 4. Blood, urine, salivary examination.

Blood chemistry		Before	4 weeks	p value
AST	U/L	21.1 ± 6.5	19.5 ± 3.6	0.295
ALT	U/L	16.8 ± 8.2	18.1 ± 6.1	0.411
γ-GTP	U/L	17.3 ± 11.8	17.9 ± 10.0	0.490
ALP	U/L	207.1 ± 31.3	193.6 ± 27.7 *	0.017
LDH	U/L	171.5 ± 41.5	161.3 ± 30.8 †	0.074
CPK	U/L	135.2 ± 112.0	84.9 ± 20.9	0.142
Uric acid	mg/dL	4.68 ± 1.49	4.65 ± 1.20	0.871
BUN	mg/dL	13.5 ± 5.0	14.1 ± 4.6	0.630
Creatinin	mg/dL	0.70 ± 0.11	0.71 ± 0.08	0.620
Na	mEq/L	141.5 ± 1.9	140.5 ± 1.4 *	0.019
K	mEq/L	3.97 ± 0.29	4.17 ± 0.30	0.153
Cl	mEq/L	104.1 ± 3.0	105.1 ± 2.0	0.128
Ca	mg/dL	9.47 ± 0.44	9.33 ± 0.26	0.152
Fe	μg/dL	111.5 ± 30.9	116.3 ± 48.0	0.706
Total protein	g/dL	7.41 ± 0.52	7.31 ± 0.24	0.386
Albumin	g/dL	4.45 ± 0.34	4.37 ± 0.24	0.377
Oxydative stress markers				
OS	mg/mL	34.8 ± 7.0	32.3 ± 5.7	0.107
AP	umol/L	2681 ± 327	2616 ± 255	0.481
AP/OS ratio	—	79.1 ± 14.6	83.1 ± 15.0	0.137
8-OHdG [creatinine-adjusted, urine]	ng/mg crea	8.30 ± 2.66	7.79 ± 1.68	0.405
Isoprostane [creatinine-adjusted, urine]	ng/mg crea	2.40 ± 0.72	2.46 ± 0.75	0.848
Glycative stress relate d markers				
FPG	mg/dL	88.5 ± 8.4	87.8 ± 5.4	0.817
HbA1c [NGSP]	%	5.31 ± 0.23	5.19 ± 0.17 **	0.003
Total cholesterol	mg/dL	225.4 ± 37.1	231.4 ± 36.4	0.496
LDL-C	mg/dL	133.6 ± 31.3	139.2 ± 28.7	0.391
HDL-C	mg/dL	72.5 ± 12.8	74.5 ± 14.7	0.465
TG	mg/dL	75.7 ± 31.8	76.6 ± 30.4	0.880
Hormonal examination				
(Serum)				
IGF-I	ng/mL	136.5 ± 48.5	145.8 ± 54.2 †	0.083
DHEA-s	μg/dL	166.5 ± 85.9	143.6 ± 79.1 *	0.017
Cortisol	μg/dL	9.75 ± 2.04	8.22 ± 1.85 *	0.025
Cortisol/DHEA-s ratio	—	0.076 ± 0.055	0.073 ± 0.046	0.563
(Urine)				
SaMT	ng/mL	29.0 ± 19.4	27.1 ± 15.7	0.484
	ng/h/kg	19.4 ± 7.6	18.2 ± 9.2	0.513

Data are expressed as mean ± SEM, paired t test, n = 11. OS, oxidative stress; AP, antioxidant power; 8-OHdG, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine; FPG, fasting plasma glucose; IGF-I, insulin-like growth factor-I; DHEA-s, dehydroepiandrosterone-sufate; SaMT, 6-hydroxy-melatonin sulfate; SEM, standard error mean.

Table 5. Immunological assessment.

Peripheral blood		Before	4 weeks	p value
WBC	/ μ L	4972.7 \pm 1496.7	4381.8 \pm 1340.0 *	0.033
Neutrophil	%	58.40 \pm 8.64	59.52 \pm 5.41	0.520
Lymphocyte	%	33.28 \pm 7.81	32.23 \pm 5.42	0.425
Monocyte	%	5.78 \pm 2.37	5.42 \pm 1.22	0.443
Eosinophil	%	2.01 \pm 1.06	2.31 \pm 1.27	0.280
Basophil	%	0.53 \pm 0.30	0.53 \pm 0.31	1.000
Inflammatory reaction				
CRP	mg/dL	0.0457 \pm 0.0660	0.0318 \pm 0.0425	0.228
Immunity evaluation				
Immunity Function Score	–	16.1 \pm 0.8	15.6 \pm 1.1	0.257
T cell score	–	2.2 \pm 0.4	2.0 \pm 0.4	0.157
CD8+CD28+ T cell score	–	2.1 \pm 0.3	2.1 \pm 0.3	1.000
CD4/D8 ratio score	–	1.6 \pm 0.7	1.5 \pm 0.7	0.317
Naïve T cell score	–	2.8 \pm 0.4	2.7 \pm 0.5	0.317
Memory T cell score	–	2.3 \pm 0.6	2.3 \pm 0.5	1.000
B cell score	–	3.0 \pm 0.0	3.0 \pm 0.0	1.000
NK cell score	–	2.1 \pm 0.3	2.1 \pm 0.3	1.000
T cell CD3+	%	69.65 \pm 4.97	70.73 \pm 6.31	0.395
B cell CD20+	%	19.44 \pm 5.97	18.36 \pm 4.04	0.201
CD4T CD4+	%	50.62 \pm 7.34	51.91 \pm 6.65	0.378
CD8T CD8+	%	13.49 \pm 3.71	12.66 \pm 3.31	0.162
CD4 subsets Naïve T	%	44.12 \pm 11.36	44.28 \pm 9.02	0.884
CD4 subsets Memory T	%	55.88 \pm 11.36	55.72 \pm 9.02	0.884
CD8 T cell subset CD28+	%	71.78 \pm 15.41	70.39 \pm 12.12	0.541
NK subsets CD56+CD16–	%	2.99 \pm 2.25	2.75 \pm 1.30	0.526
NK subsets CD56+CD16+	%	10.82 \pm 6.24	10.55 \pm 3.87	0.870
NK subsets CD56–CD16+	%	0.18 \pm 0.09	0.29 \pm 0.15 *	0.020
Neutrophil	/ μ L	2780.7 \pm 1288.2	2554.9 \pm 931.1	0.354
Lymphocyte	/ μ L	1732.3 \pm 370.6	1646.3 \pm 402.0	0.137
T cell	/ μ L	1208.1 \pm 285.1	1158.3 \pm 275.6	0.122
B cell	/ μ L	341.8 \pm 144.0	310.5 \pm 123.9 *	0.044
CD4+ T cell	/ μ L	885.5 \pm 275.1	856.8 \pm 239.0	0.274
CD8+ T cell	/ μ L	236.4 \pm 92.5	210.6 \pm 88.9 †	0.093
CD4/CD8 ratio	–	4.212 \pm 1.894	4.451 \pm 1.585	0.297
Naïve T cell	/ μ L	373.0 \pm 83.1	373.5 \pm 102.0	0.972
Memory T cell	/ μ L	512.5 \pm 258.6	483.4 \pm 184.2	0.296
Naïve / Memory ratio	–	0.865 \pm 0.438	0.842 \pm 0.342	0.533
NK cell	/ μ L	181.0 \pm 96.0	171.5 \pm 68.9	0.775
CD8+CD28+ cell	/ μ L	164.0 \pm 65.9	146.6 \pm 66.3 †	0.074

Data are expressed as mean \pm SEM, paired t test, n = 11. WBC, white blood cell; CRP, C-reactive protein; NK, natural killer; SEM, standard error mean.

睡眠関連因子である「メラトニン」や「成長ホルモン」**「cortisol」**は、其々が抗加齢医学と密接に関係している。メラトニンには抗酸化作用、免疫機能促進作用が認められており、成長ホルモンは骨や筋肉、皮膚等を健康な状態に保つ作用が認められ、これらのホルモンは抗加齢作用を持つと考えられる。また、**cortisol**は分泌リズムに日内変動を伴い、作用としては血圧や血糖の上昇、成長ホルモンの分泌抑制等が挙げられる。夜間の分泌量を抑制し日中の分泌量を向上させることで、抗加齢作用に繋がると考えられる。

質の良い睡眠をとることでメラトニン及び成長ホルモンの分泌量が増加し、また **cortisol**の分泌リズムが整うことで、抗加齢作用が得られると考えられる。

質の良い睡眠をとることが、健康寿命を延ばす秘訣の一つであると捉えられる。

睡眠時間および SAS と糖尿病の関係についてはエビデンスの蓄積が目覚ましく、これらの睡眠障害が糖尿病発症との関連が示唆されているが、そのメカニズムについては不明な点が多い。今回の成績では、睡眠の質の改善に伴い、糖代謝指標の **HbA1c** の有意な低下（前値 5.31%, -2.3%, $p < 0.01$ ）が認められた。**HbA1c** は 3～4 週間の平均血糖値を反映する。寝具の場合 5 年以上の長期にわたり使用するのが一般的であり、このような血糖管理が改善された状態が長く続けば **AGEs** 蓄積を減少させることが期待できるだろう。

ここでは睡眠と糖代謝の関連についてメラトニン、**GH/IGF-I**、ストレスホルモンの **cortisol** との関連から考察する。これらは抗加齢医学の観点から睡眠や心身ストレスに関連が深いホルモンとして注目されている。

• メラトニン

メラトニンの糖脂質代謝への影響についてはいくつか報告がある。膜結合型メラトニン受容体 **MT1/MT2** は **G-protein** を介して細胞内 **cAMP** を減少させ、これ自体はインスリン分泌を抑制する方向に作用する。一方でメラトニン受容体シグナルは、**cAMP** 感受性 **phosphotyrosine phosphatase** 活性を制御することでインスリン受容体のリン酸化を促進し³⁰⁾、さらには **phospholipase C/IP3** パスウェイを活性化して **Ca** イオンを細胞質内へ動員することで、最終的にはインスリン分泌は増加する³¹⁾。実験的に糖尿病ラットにメラトニンを投与すると血中の **TG**、遊離脂肪酸、**TC** 値が改善、さらに腫瘍壊死因子 **-α (TNF-α)** 値が 50% 低下していた³²⁾。反対に松果体切除するとインスリン抵抗性が増大、高インスリン血症を呈し、2 型糖尿病が進展する³³⁾。ヒトでは閉経期から閉経後女性にメラトニンを投与した試験で **HDL-C** の上昇が報告されている³⁴⁾。メラトニンは **AGEs** 分解を促進することで糖化ストレスを軽減する役割を果たしている¹⁵⁾。

今回の試験では尿中 **SaMT** には有意な変化は認められなかった。**HbA1c** の改善にメラトニンの関与は小さいと考えられる。今回の被検者の平均年齢 49.8 ± 6.5 歳であり、

この年齢の者がどの程度松果体機能が低下しているのか、メラトニン分泌能力に回復する余地があるのかについては不明である。

• **GH/IGF-I**

GH/IGF-I 系ホルモンは糖代謝にも影響を及ぼす。**GH** には血糖上昇作用があり、特に低血糖時の血糖維持のために動員される。**GH** はインスリン感受性を低下させるが、**IGF-I** はインスリン感受性を上昇させる³⁵⁾。成人型 **GH** 欠乏症患者に長期間の **GH** 投与を行っても血糖、**HbA1c**、インスリン抵抗性は変化しないと考えられる^{35,36)}。

前回の寝具の試験では睡眠の質の改善に伴い **IGF-I** が有意に上昇¹⁶⁾、今回の試験においても上昇傾向が認められた。**IGF-I** 系の分泌亢進はインスリン感受性を増す可能性があるが、今回の糖代謝の改善にどの程度寄与したかについては不明である。

• **DHEA-s**

睡眠の質はステロイド系ホルモンにも影響を及ぼす。一般的には睡眠の質の低下に伴い血清 **DHEA-s** は低下する³⁷⁻⁴⁰⁾。50 歳以上の者 6465 人の調査では睡眠の質低下者では **DHEA-s** は低いが、睡眠時間との関連はなかった⁴¹⁾。女性では中途覚醒と **DHEA-s** に相関性があり⁴⁰⁾、**DHEA-s** は一晩の断眠刺激により増加する⁴²⁾。睡眠の質は **HbA1c**, **TG**, **TC** と正の相関性を認め、**DHEA-s** とは負の相関性が認められるという報告がある³⁹⁾。

DHEA 補充については、睡眠の質が改善するとの報告⁴³⁾ もあれば、結果はばらつくという報告もある⁴⁴⁾。**DHEA** は生体内で **intracrine** 作用によりエストラジオールやテストステロンに一部変換されるが、変換される割合には個体差があり、その違いによって睡眠の質にも違いが生じる⁴⁴⁾。これらのことを考慮すると、**DHEA-s** は加齢に伴う睡眠の質の低下により減少するが、心身ストレスに響いて増加することで、抗ストレスホルモンとして役割を果たしているように見える。

今回の成績では、試験品の使用により **DHEA-s** の有意な低下 (-13.8% , $p < 0.05$) が認められたが、これは睡眠の質が改善し、心身ストレスという刺激が減った結果 **DHEA-s** 減少につながった可能性が考えられる。**DHEA-s** はインスリン抵抗性を改善させる作用があるが、今回の試験では **DHEA-s** が減少しているので **HbA1c** 低下には貢献していない。

• **Cortisol**

Cortisol は脳下垂体から分泌される副腎皮質刺激ホルモン (**adrenocorticotrophic hormone: ACTH**) の刺激を受けて、副腎皮質から分泌される。**ACTH/cortisol** 系には体内時計による日内変動があり、**ACTH** と **cortisol** は早朝から午前中にかけて高値を示し、夕方～夜間は低値となる。クッシング症候群は **cortisol** 分泌亢進を伴う疾患であるが、その診断にはデキサメタゾン抑制試験 (**DST**) が行われる。

本検査でデキサメタゾン（デカドロン）を内服すると、健常者では翌朝の血中 ACTH 濃度は正常の場合にはほぼ完全に低下し、cortisol 濃度も低値となる。一方、クッシング症候群では、デキサメタゾンにより ACTH を低下させても、副腎腫瘍からは cortisol が作られるために、翌朝の血中 cortisol 濃度が高値を示す。SAS を有する肥満型 2 型糖尿病患者 20 名に DST を施行した結果、5 名（25%）が DST 陽性で、経鼻的持続陽圧呼吸療法（continuous positive airway pressure: CPAP）による加療による DST は陰性化した⁴⁵⁾。

看護師のシフト勤務と血中 cortisol を解析した結果、深夜勤務 2 日目の血中 cortisol は、勤務前値で日内リズムの濃度より有意に高値を示した⁴⁶⁾。cortisol 分泌は内因性の体内時計と睡眠によって調節されており、睡眠は cortisol 分泌に抑制的に作用することから、深夜勤務における cortisol 上昇は睡眠が障害されたことによって生じたと考えられる。

軍人 223 例（年齢 20.8 ± 2.1 歳）を対象として、断眠前および 24 時間の断眠後の血清 cortisol を比較した結果、cortisol は 486.6 ± 102.1 nmol/L から 508.8 ± 89.5 nmol/L への有意な上昇を認めた⁴⁷⁾。すなわち断眠は内因性ストレスとして作用する。睡眠の質の低下は複雑な経路を介し、内因性ストレスとして作用するものと推測される。

睡眠障害を伴う重症アトピー性皮膚炎患者における検討では、治療前（入院時）は cortisol 低値で退院時（治療後）は上昇していた⁴⁸⁾。心身ストレスが強度の場合には、睡眠障害による日周リズムの乱れが原因で cortisol 分泌の変動が生じるのではなく、内分泌系の真の抑制が生じるため cortisol 分泌が抑制され、治療により cortisol 分泌が回復したものと考えられる。

心身ストレスの評価方法に cortisol、DHEA-s の血中濃度を用いる方法がある。cortisol は心身ストレスの大きさを反映し、DHEA-s はストレスに対する抵抗力を反映することから、ストレスバランスを cortisol/DHEA-s 比（あるいはその逆比）で評価する⁴⁹⁾。今回の試験では cortisol の有意な低下（ -15.7% , $p < 0.05$ ）を認めた。これは睡眠の質の改善に伴い心身ストレスが緩和され、cortisol 分泌が抑制されたことが理由と推測される。

DHEA-s が有意に減ったこと（ -13.8% , $p < 0.05$ ）はストレスに対する抵抗力が弱まったことを反映するが、これまでストレス負荷により代償性に上昇していた DHEA-s 値が、ストレス負荷が軽減されて元に値に戻ったと解釈できる。cortisol、DHEA-s の両者が同程度減っているため、ストレスホルモンバランスの cortisol/DHEA-s 比には有意な変化はみられなかった。同様の変化はアスタキサンチンを投与時のオープン試験でも観察され、DHEA-s 減少（ -15.1% , $p < 0.001$ ）、cortisol 減少（ -22.8% , $p = 0.002$ ）を認めたが cortisol/DHEA-s 比は減少傾向（ $p < 0.1$ ）を認めている⁵⁰⁾。

Cortisol には血糖上昇作用、インスリン抵抗性亢進作用

がある。今回 cortisol が 15.7% 低下したことで、インスリン抵抗性が改善された結果、食後高血糖も緩和、HbA1c の低下に貢献している可能性がある。

免疫学的指標

今回の免疫力の評価は廣川の方法^{22, 23)}に従って評価した。

T 細胞数、CD8+CD28+ T 細胞数、CD4/CD8 細胞比、ナイーブ T 細胞数、ナイーブ/メモリ T 細胞数比、B 細胞数、NK 細胞数の各スコアには試験前後で有意な変化はなかった。免疫力の総合判定である免疫力スコアは試験前 16.1 ± 0.8 、4 週後 15.6 ± 1.1 で、試験前後で有意な変化はなかった。いずれも 5 段階の免疫力グレードは III 要観察圏で「免疫力の改善対策が必要」とされる段階であった。

各測定項目を見ると、試験前後で有意な変化を認めたのは NK 細胞分画 CD56-CD16+ ($0.177 \pm 0.093\% \rightarrow 0.291 \pm 0.154\%$) と B 細胞数 ($341.8 \pm 144.0 / \mu\text{L} \rightarrow 310.5 \pm 123.9 / \mu\text{L}$)、有意傾向を認めたのは CD8+T 細胞 ($236.4 \pm 92.5 / \mu\text{L} \rightarrow 210.6 \pm 88.9 / \mu\text{L}$) と CD8+CD28+T 細胞 ($164.0 \pm 65.9 / \mu\text{L} \rightarrow 146.6 \pm 66.3 / \mu\text{L}$) であった。B 細胞数は有意に低下、CD8+T 細胞も低下傾向を示した。

NK 細胞はウイルス感染細胞や腫瘍細胞と遭遇すると、それらを殺傷する働きを示す。NK 細胞には CD56+CD16+、CD56+CD16-、CD56-CD16+ の 3 種のサブグループがある^{51, 52)}。CD56+CD16+ 細胞は通常の NK 細胞、CD56+CD16- 細胞はパーフォリン等の細胞を殺傷するサイトカイン量が少なく殺傷能力は低い細胞、CD56-CD16+ 細胞は少数であり増減がないと言われている。今回の結果では CD56-CD16+ 細胞が試験前 $0.177 \pm 0.093\%$ から 4 週後 $0.291 \pm 0.154\%$ へ有意に増加した ($p < 0.05$)。これは極めて珍しい現象であり、これまでに報告がない。睡眠の質が改善した結果、CD56-CD16+ 細胞が増加した可能性がある。

CD56-CD16+ NK 細胞の役割についてはいくつか報告がある^{53, 55)}。ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus: HIV) の感染によって惹起される後天性免疫不全症候群 (acquired immunodeficiency syndrome: AIDS) 患者では、CD56-CD16+ NK 細胞が増加し、病勢も反映することから、かつては本細胞が免疫機能の低下に関与するのではないかと考えられてきた⁵³⁾。しかし AIDS における NK 細胞活性化障害は活性化した CD56-16+ NK 細胞が欠如するからではないかとの概念も登場している⁵⁴⁾。つまり AIDS 患者では非活性化型 CD56-CD16+ NK 細胞は増えているが、活性化型 CD56-CD16+ NK 細胞は欠如しており、これが NK 細胞機能不全の原因であるという考えである。

眼筋型重症筋無力症の症例報告中で、CD56-CD16+ NK 細胞が増加していたとの報告がある⁵⁵⁾。本症例では免疫抑制剤による治療の結果、症状の緩解とともに CD56-CD16+ NK 細胞数が減ったとしている。自己免疫性疾患の一つである重症筋無力症においては、免疫機能が亢進状態

にあり、そこには CD56-CD16+NK 細胞の過剰が関与している。免疫抑制剤の投与により CD56-CD16+NK 細胞数が減少したものと推測される。

NKp46 及び NKp30 受容体刺激による IFN- γ 産生の経時変化を観察した結果、CD56-CD16+NK 細胞は刺激後 2、4 時間で IFN- γ を産生するが、CD56+CD16+NK 細胞の IFN- γ 産生は 16 時間以降であることが示されている⁵⁶⁾。CD56-CD16+NK 細胞が自然免疫の早期反応に重要であるとしている。

今回の試験では免疫抑制機能のある cortisol が有意に減少しており、抑制がはずれた結果、CD56-CD16+NK 細胞数が増加したと考えると理解しやすい。これにより抑制されていた自然免疫力を回復させる方向に作用したと思われるが、CD56-CD16+NK 細胞の増加の意義については今後の課題である。

次に CD4 と CD8 について考察する。CD4+T 細胞はヒトの免疫系において重要な役割を果たし、CD4 細胞、Th 細胞、T4 細胞、ヘルパー T 細胞と呼ばれる。この細胞の主要な役割は CD8+T 細胞（いわゆるキラー T 細胞、もしくは細胞傷害性 T 細胞）などの他の免疫系細胞にシグナルを送ることであり、それにより活性化した CD8+T 細胞は感染細胞を破壊する。無治療の HIV-1 感染患者や免疫抑制剤使用者では CD4+T 細胞が枯渇、あるいはそれに近い状態に陥り、免疫力が低下し日和見感染を起こしやすくなる。

B 細胞に対しては、CD4+T 細胞は B 細胞の免疫グロブリン産生を補助し、CD8+T 細胞は免疫グロブリン産生を抑制する。

標準値は CD4+T 細胞数：500～1,600 / μ L、CD8+T 細胞数：300～900 / μ L、CD4/CD8 比：0.6～2.9 である⁵⁷⁾。

CD4+T 細胞数は AIDS 治療の指標として用いられる。CD4+T 細胞数が 350 / μ L を切ると治療を受け、200 / μ L を切った HIV 陽性患者は AIDS と診断される。CD4+T 細胞数の検査は治療の有効性評価にも用いられる。

CD4/CD8 比は CD4+T 細胞と CD8+T 細胞のバランスを示す指標である。免疫機能は CD4+T 細胞と CD8+T 細胞が適切なバランスが取れている時がもっとも効率よく機能する。CD4/CD8 比は心身ストレスがかかると減少し、加齢とともに増加する。

今回の結果は、試験前の CD4+T 細胞数が 885.5 ± 275.1 / μ L で正常範囲内、CD8+T 細胞数が 36.4 ± 92.5 / μ L でやや低め、CD4/CD8 比が 4.212 ± 1.894 でやや高い傾向を認めた。CD4/CD8 比は、有意差はないものの、 4.212 ± 1.894 から 4.451 ± 1.585 と増加する方向に推移しており、心身ストレスがかかった状態から解放されたため増加に転じたと考えても矛盾しない。

B 細胞数が試験前 341.8 ± 144.0 / μ L から 4 週後 310.5 ± 123.9 / μ L に低下した理由はよくわからない。今回は全体的に WBC 数が有意に減っており、好中球数・リンパ球数も有意ではないもののその数は減じている。今回は NK 細胞分画の変化からみて自然免疫能が上昇したと予想さ

れ、その結果好中球や B 細胞の出番が減ったのではないかと推測している。

結論

軽度の睡眠障害を自覚する男女 11 名 (51.0 ± 6.3 歳) を対象に試験寝具の 4 週間に使用するパイロット試験を行った結果、睡眠関連の自覚症状の改善、血液生化学検査で WBC の減少、HbA1c の減少、ホルモン系では IGF-I 上昇傾向、cortisol 低下と DHEA-s 低下を認めた。Cortisol 低下は、睡眠の質の改善に伴い心身ストレスが軽減したこと反映している。また cortisol はインスリン抵抗性を亢進させることから、cortisol 減少は血糖変化にも好影響をもたらす HbA1c の低下に貢献した可能性がある。

免疫指標では B 細胞数の減少、NK 細胞分画における CD56-CD16+ 細胞の著増を認めた。今回は酸化ストレス指標の改善は認められなかったが、睡眠の質の改善に伴う GH/IGF-I 系ホルモン分泌の改善、ストレスホルモンのバランス改善は示された。免疫機能評価では NK 細胞分画 CD56-CD16+ 細胞の著増を認め、自然免疫の観点から大変興味深い結果が得られた。睡眠の質の改善に伴う CD56-CD16+ 細胞増加の意義については今後のさらなる解析が待たれる。

謝辞

本研究は文部科学省科学研究助成 (#26350917) を受けた。

利益相反申告

本研究の一部は西川産業より支援を受けた。

参考文献

- 1) Kashine S, Kishida K, Funahashi T, et al. Selective contribution of waist circumference reduction on the improvement of sleep-disordered breathing in patients hospitalized with type 2 diabetes mellitus. *Intern Med.* 2011; 50: 1895-1903.
- 2) Tamura A, Kawano Y, Watanabe T, et al. Obstructive sleep apnea increases hemoglobin A1c levels regardless of glucose tolerance status. *Sleep Med.* 2012; 13: 1050-1055.
- 3) Yamada K, Nakayama H, Kato T, et al. Prevalence and clinical characteristics of unremembered nocturnal eating in diabetic subjects: Kurume sleep trouble in obesity and metabolic disorders (KUSTOMED) study. *Endocr J.* 2013; 60: 1059-1063.
- 4) Tamada D, Otsuki M, Kashine S, et al. Obstructive sleep apnea syndrome causes a pseudo-Cushing's state in Japanese obese patients with type 2 diabetes mellitus. *Endocr J.* 2013; 60: 1289-1294.
- 5) Shimizu K, Yamamoto T, Shirai K. Arterial stiffness, as monitored by cardio-ankle vascular index, is affected by obstructive sleep apnea, blood glucose control, and body weight: A case with 8 years follow up. *Int Med Case Rep J.* 2016; 9: 231-235.
- 6) Nagayoshi M, Punjabi NM, Selvin E, et al. Obstructive sleep apnea and incident type 2 diabetes. *Sleep Med.* 2016; 25: 156-161.
- 7) Kawada T. Untreated sleep apnea syndrome and glycemic control in patients with type 2 diabetes. *J Diabetes.* 2017; 9: 717.
- 8) Shiba T, Takahashi M, Hori Y, et al. Evaluation of the relationship between background factors and sleep-disordered breathing in patients with proliferative diabetic retinopathy. *Jpn J Ophthalmol.* 2011; 55: 638-642.
- 9) Nishimura A, Kasai T, Tamura H, et al. Relationship between sleep disordered breathing and diabetic retinopathy: Analysis of 136 patients with diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2015; 109: 306-311.
- 10) Fujihara K, Kodama S, Horikawa C, Y et al. The Relationship between diabetic neuropathy and sleep apnea syndrome: A meta-analysis. *Sleep Disord.* 2013; 2013: 150371.
- 11) Furukawa S, Saito I, Yamamoto S, et al. Nocturnal intermittent hypoxia as an associated risk factor for microalbuminuria in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol.* 2013; 169: 239-246.
- 12) Nomoto K, Yagi M, Arita S, et al. Skin accumulation of advanced glycation end products and lifestyle behaviors in Japanese. *Anti-Aging Med.* 2012; 9: 165-173.
- 13) Moniruzzaman M, Takabe W, Yonei Y. Melatonin is not a carbonyl scavenger. *Glycative Stress Res.* 2016; 3: 1-4.
- 14) Mamun-Or-Rashid ANM, Takabe W, Yonei Y. Melatonin has no direct effect on inflammatory gene expression in CML-HSA stimulated RAW264.7 cells. *Glycative Stress Res.* 2016; 3: 141-151.
- 15) Takabe W, Mitsunashi R, Parengkuan L, et al. Cleaving effect of melatonin on crosslinks in advanced glycation end products. *Glycative Stress Res.* 2016; 3: 38-43.
- 16) Takabe W, Ogura M, Yagi M, et al. Effect on sleep quality of bedding with a high user rating in a post-marketing survey: A non-controlled open-label study. *Glycative Stress Res.* 2016; 3: 110-123.
- 17) Doi Y, Minowa M, Uchiyama M, et al. Psychometric assessment of subjective sleep quality using the Japanese version of the Pittsburgh Sleep Quality Index (PSQI-J) in psychiatric disordered and control subjects. *Psychiatry Res.* 2000; 97: 165-172.
- 18) Oguma Y, Iida K, Yonei Y, et al. Significance evaluation of Anti-Aging QOL Common Questionnaire. *Glycative Stress Res.* 2016; 3: 177-185.
- 19) Sato K, Yagi M, Yonei Y. A new method for measuring oxidative stress using blood samples. *Glycative Stress Res.* 2015; 2: 15-21.
- 20) Hirokawa K, Utsuyama M, Makinodan T. Immunity and aging. In; *Principles and Practice of Geriatric Medicine*, eds. Pathy MSJ, Sinclair AJ, Morley JE, pp.19-36. John Wiley & Son, Van Hoboken, NJ, 2006.
- 21) Hirokawa K, Utsuyama M, Kikuchi Y, et al. Scoring of immunological vigor: Trial assessment of immunological status as a whole for elderly people and cancer patients. In; *Immunosenescence*, ed. Pawelec G, Landes Bioscience, Abingdon, UK, 2007.
- 22) 廣川勝彦. 免疫機能の客観的評価判定とその機能回復について. *International Life Sciences Institute (ILSI).* 2012; 129: 5-17.
- 23) 廣川勝彦. 加齢と免疫: メカニズム, 評価と回復. *お茶の水会医学雑誌.* 2013; 61: 17-36.
- 24) Toyokuni S, Hirao A, Wada T, et al. Age- and sun exposure-dependent differences in 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine and N-(carboxymethyl)lysine in human epidermis. *J Clin Biochem Nutr.* 2011; 49: 121-124.
- 25) Hozawa A, Ebihara S, Ohmori K, et al. Increased plasma 8-isoprostane levels in hypertensive subjects: The Tsurugaya Project. *Hypertens Res.* 2004; 27: 557-561.
- 26) Kawamoto T, Takabe W, Maruyama Y, et al. Relationships between urinary melatonin metabolites and glycolytic stress and body functional age. *Glycative Stress Res.* 2016; 3: 15-22.
- 27) Kripke DF, Garfinkel L, Wingard DL, et al. Mortality associated with sleep duration and insomnia. *Arch Gen Psychiatry.* 2002; 59: 131-136.
- 28) Gottlieb DJ, Punjabi NM, Newman AB, et al. Association of sleep time with diabetes mellitus and impaired glucose tolerance. *Arch Intern Med.* 2005; 165: 863-867.
- 29) Sekine M, Yamagami T, Hamanishi S, et al. Parental obesity, lifestyle factors and obesity in preschool children: Results of the Toyama Birth Cohort study. *J Epidemiol.* 2002; 12: 33-39.
- 30) Nishida S. Metabolic effects of melatonin on oxidative stress and diabetes mellitus. *Endocrine.* 2005; 27: 131-136.
- 31) Sharma S, Singh H, Ahmad N, et al. The role of melatonin in diabetes: Therapeutic implications. *Arch Endocrinol Metab.* 2015; 59: 391-399.

- 32) Nishida S, Segawa T, Murai I, et al. Long-term melatonin administration reduces hyperinsulinemia and improves the altered fatty-acid compositions in type 2 diabetic rats via the restoration of Delta-5 desaturase activity. *J Pineal Res.* 2002; 32: 26-33.
- 33) Nishida S, Sato R, Murai I, et al. Effect of pinealectomy on plasma levels of insulin and leptin and on hepatic lipids in type 2 diabetic rats. *J Pineal Res.* 2003; 35: 251-256.
- 34) Tamura H, Nakamura Y, Narimatsu A, et al. Melatonin treatment in peri- and postmenopausal women elevates serum high-density lipoprotein cholesterol levels without influencing total cholesterol levels. *J Pineal Res.* 2008; 45: 101-105.
- 35) Oliveira CR, Salvatori R, Barreto-Filho JA, et al. Insulin sensitivity and β -cell function in adults with lifetime, untreated isolated growth hormone deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012; 97: 1013-1019.
- 36) Ikeda H, Kudo M. Long-term follow-up results of growth hormone therapy for patients with adult growth hormone deficiency. *Hormones (Athens).* 2016; 15: 45-53.
- 37) Makino S, Fujiwara M, Handa H, et al. Plasma dehydroepiandrosterone sulphate and insulin-like growth factor I levels in obstructive sleep apnoea syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2012; 76: 593-601.
- 38) Maggio M, Colizzi E, Fisichella A, et al. Stress hormones, sleep deprivation and cognition in older adults. *Maturitas.* 2013; 76: 22-44.
- 39) Ko SB. Night shift work, sleep quality, and obesity. *J Lifestyle Med.* 2013; 3: 110-106.
- 40) Kische H, Ewert R, Fietze I, et al. Sex hormones and sleep in men and women from the general population: A cross-sectional observational study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016; 101: 3968-3977.
- 41) Jackowska M, Kumari M, Steptoe A. Sleep and biomarkers in the English Longitudinal Study of Ageing: associations with C-reactive protein, fibrinogen, dehydroepiandrosterone sulfate and hemoglobin. *Psychoneuroendocrinology.* 2013; 38: 1484-1493.
- 42) Selvi Y, Kiliç S, Aydin A, et al. The effects of sleep deprivation on dissociation and profiles of mood, and its association with biochemical changes. *Noro Psikiyatr Ars.* 2015; 52: 83-88.
- 43) Sorwell KG, Urbanski HF. Causes and consequences of age-related steroid hormone changes: Insights gained from nonhuman primates. *J Neuroendocrinol.* 2013; 25: 1062-1069.
- 44) Caufriez A, Leproult R, L'Hermite-Balériaux M, et al. Effects of a 3-week dehydroepiandrosterone administration on sleep, sex steroids and multiple 24-h hormonal profiles in postmenopausal women: A pilot study. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2013; 79: 716-724.
- 45) Tamada D, Otsuki M, Kashine S, et al. Obstructive sleep apnea syndrome causes a pseudo-Cushing's state in Japanese obese patients with type 2 diabetes mellitus. *Endocr J.* 2013; 60: 1289-1294.
- 46) 宮内文久, 木村慶子, 平野真理, 他. 女性看護師の夜間労働時の血液中コルチゾール濃度の変化と BMI の変化. *日本職業・災害医学会誌.* 2012; 60: 348-352.
- 47) Sun X-Y, Song H-T, Yang T-S, et al. Effects of sleep deprivation on neuroendocrine hormones in servicemen. *Sleep and Biological Rhythms.* 11: 274-277.
- 48) Fukuda H, Suzuki T, Saotome A, et al. Efficacy of inpatient treatment for atopic dermatitis evaluated by changes in serum cortisol levels. *J Dermatol.* 2013; 40: 43-47.
- 49) Yonei Y, Takabe W. Aging assessment by Anti-Aging Medical Checkup. *Health Evaluation and Promotion.* 2015; 42: 459-464.
- 50) Iwabayashi M, Fujioka N, Nomoto K, et al. Efficacy and safety of eight-week treatment with astaxanthin in individuals screened for increased oxidative stress burden. *Anti-Aging Med.* 2009; 6: 15-21.
- 51) Deniz G, Akdis M, Aktas E, et al. Human NK1 and NK2 subsets determined by purification of IFN-gamma-secreting and IFN-gamma-nonsecreting NK cells. *Eur J Immunol.* 2002; 32: 879-884.
- 52) Hagberg N, Berggren O, Leonard D, et al. IFN- α production by plasmacytoid dendritic cells stimulated with RNA-containing immune complexes is promoted by NK cells via MIP-1 β and LFA-1. *J Immunol.* 2011; 186: 5085-5094.
- 53) Mavilio D, Lombardo G, Benjamin J, et al. Characterization of CD56-/CD16+ natural killer (NK) cells: A highly dysfunctional NK subset expanded in HIV-infected viremic individuals. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005; 102: 2886-2891.
- 54) Naluyima P, Eller MA, Laeyendecker O, et al. Impaired natural killer cell responses are associated with loss of the highly activated NKG2A(+)/CD57(+)/CD56(dim) subset in HIV-1 subtype D infection in Uganda. *AIDS.* 2014; 28: 1273-1278.
- 55) Nguyen S, Morel V, Le Garff-Tavernier M, et al. Persistence of CD16+/CD56-/2B4+ natural killer cells: A highly dysfunctional NK subset expanded in ocular myasthenia gravis. *J Neuroimmunol.* 2006; 179: 117-125.
- 56) De Maria A, Bozzano F, Cantoni C, et al. Revisiting human natural killer cell subset function revealed cytolytic CD56 (dim) CD16+ NK cells as rapid producers of abundant IFN-gamma on activation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011; 108: 728-732.
- 57) Boffill M, Janossy G, Lee CA, et al. Laboratory control values for CD4 and CD8 T lymphocytes. Implications for HIV-1 diagnosis. *Clin Exp Immunol.* 1992; 88: 243-252.