

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2012-19784

(P2012-19784A)

(43) 公開日 平成24年2月2日(2012.2.2)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68 Z N A A	2 G O 4 5
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)	C 1 2 Q 1/02	4 B O 2 4
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 A	4 B O 6 3
G O 1 N 33/50 (2006.01)	G O 1 N 33/50 P	
G O 1 N 33/53 (2006.01)	G O 1 N 33/53 M	
審査請求 未請求 請求項の数 26 O L (全 81 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2011-133825 (P2011-133825)	(71) 出願人	000002819
(22) 出願日	平成23年6月16日 (2011.6.16)		大正製薬株式会社
(31) 優先権主張番号	特願2010-138894 (P2010-138894)		東京都豊島区高田 3 丁目 2 4 番 1 号
(32) 優先日	平成22年6月18日 (2010.6.18)	(74) 代理人	110000109
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)		特許業務法人特許事務所サイクス
		(72) 発明者	小川 伸一
			東京都豊島区高田 3 丁目 2 4 番 1 号 大正製薬株式会社内
		(72) 発明者	森戸 暁久
			東京都豊島区高田 3 丁目 2 4 番 1 号 大正製薬株式会社内
		(72) 発明者	徳田 泰士
			東京都豊島区高田 3 丁目 2 4 番 1 号 大正製薬株式会社内
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 疲労の判定方法

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】被験体より容易に入手し得る生体試料を用いた被験体の疲労の程度を判定する方法、被験物質の疲労に対する有効性を判定する方法、疲労を回復、改善又は予防し得る物質を探索する方法、及び疲労判定試薬又はキットを提供すること。

【解決手段】被験体由来の生体試料における遺伝子又はそのホモログ遺伝子より選ばれる1個以上の遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較することを含む、疲労の程度を判定する方法。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

被験体由来の生体試料における、表 1、表 4、表 5 又は表 6 に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる 1 個以上の遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較することを含む、疲労の程度を判定する方法。

【請求項 2】

被験体に被験物質を投与し、被験体由来の生体試料における表 1、表 4、表 5 又は表 6 に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる 1 個以上の遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較することを含む、被験物質の疲労に対する有効性を判定する方法。

【請求項 3】

被験体に被験物質を投与し、被験体由来の生体試料における表 1、表 4、表 5 又は表 6 に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる 1 個以上の遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較し、当該遺伝子の発現を変動させる物質を、疲労を回復、改善又は予防し得る候補物質として選択することを含む、疲労を回復、改善又は予防し得る物質を探索する方法。

【請求項 4】

表 1、表 4、表 5 又は表 6 に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる 1 個以上の遺伝子の発現量の変動を分析及び／又は比較する、請求項 1 から 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5】

表 1、表 4、表 5 又は表 6 に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる 2 個以上の遺伝子について、発現変動が異なる遺伝子の数を分析及び／又は比較する、請求項 1 から 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6】

被験体がヒト又は非ヒト哺乳動物である、請求項 1 から 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7】

生体試料が血液、肝臓、心筋、骨格筋又は細胞である、請求項 1 から 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 8】

生体試料が血液である、請求項 1 から 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 9】

疲労が生理的疲労である、請求項 1 から 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 10】

疲労が末梢性疲労である、請求項 1 から 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 11】

疲労が身体作業による肉体疲労である、請求項 1 から 10 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 12】

表 1 に記載の No. 001～No. 225 の遺伝子、表 4 に記載の No. 001～No. 280 の遺伝子、表 5 に記載の No. 001～No. 033 の遺伝子又は表 6 に記載の No. 001～No. 033 の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる 1 個以上の遺伝子の発現量を分析及び／又は比較し、及び／又は表 1 に記載の No. 226～No. 466 の遺伝子、表 4 に記載の No. 281～No. 585、表 5 に記載の No. 034～No. 035 の遺伝子又は表 6 に記載の No. 034～No. 035 の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる 1 個以上の遺伝子の発現量を分析及び／又は比較する、請求項 1 から 11 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 13】

表 1、表 4、表 5 又は表 6 に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる 1 個以上の遺伝子が、ADAMTS1 遺伝子、ADAMTS20 遺伝子、ADAMTS9 遺伝子、AGT 遺伝子、ATF3 遺伝子、ATF4 遺伝子、ATP2A2 遺伝子、ATP6V0D1 遺伝子、BCL2L11 遺伝子、CARHSP1 遺伝子、CASP9 遺伝子、CC

10

20

30

40

50

R N 4 L 遺伝子、C D 3 8 遺伝子、C H R D 遺伝子、C H S T 1 5 遺伝子、C L I C 4 遺伝子、C T G F 遺伝子、D D I T 3 遺伝子、E I F 2 B 2 遺伝子、E R N 1 遺伝子、F K B P 5 遺伝子、F O S B 遺伝子、F O S 遺伝子、F O X O 1 遺伝子、G L U L 遺伝子、H M O X 1 遺伝子、H S P 9 0 A A 1 遺伝子、H S P A 1 A 遺伝子、H S P A 1 B 遺伝子、I D 1 遺伝子、I N H B B 遺伝子、J U N 遺伝子、L C N 2 遺伝子、L G A L S 3 遺伝子、M T 1 E 遺伝子、N F A T C 1 遺伝子、N F I L 3 遺伝子、N R 4 A 1 遺伝子、N R 4 A 3 遺伝子、O P T N 遺伝子、P L A U 遺伝子、P L K 3 遺伝子、P P P 1 R 1 5 A 遺伝子、S D C 4 遺伝子、S M A D 3 遺伝子、T H B S 1 遺伝子、T I N A G L 1 遺伝子、T L R 4 遺伝子、T L R 8 遺伝子、T P 5 3 遺伝子、Z B T B 1 6 遺伝子、又はそれらのホモログ遺伝子である、請求項 1 から 1 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

【請求項 1 4】

表 1、表 4、表 5 又は表 6 に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる 1 個以上の遺伝子が、A T P 6 V 0 D 1 遺伝子、C A R H S P 1 遺伝子、C C R N 4 L 遺伝子、C D 3 8 遺伝子、C H S T 1 5 遺伝子、F K B P 5 遺伝子、F O S 遺伝子、G L U L 遺伝子、H M O X 1 遺伝子、H S P 9 0 A A 1 遺伝子、H S P A 1 A 遺伝子、H S P A 1 B 遺伝子、L C N 2 遺伝子、N F I L 3 遺伝子、O P T N 遺伝子、P P P 1 R 1 5 A 遺伝子、T I N A G L 1 遺伝子、T L R 4 遺伝子、T L R 8 遺伝子、又はそれらのホモログ遺伝子である、請求項 1 から 1 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 5】

表 1、表 4、表 5 又は表 6 に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる 1 個以上の遺伝子が、A T P 6 V 0 D 1 遺伝子、F K B P 5 遺伝子、H M O X 1 遺伝子、L C N 2 遺伝子、N F I L 3 遺伝子、O P T N 遺伝子、P P P 1 R 1 5 A 遺伝子、T I N A G L 1 遺伝子、T L R 4 遺伝子、T L R 8 遺伝子、又はそれらのホモログ遺伝子である、請求項 1 から 1 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 1 6】

遺伝子の発現変動の分析を、生体試料における遺伝子の R N A を測定することによって行う、請求項 1 から 1 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 7】

遺伝子の発現変動の分析を、生体試料における遺伝子の R N A をプライマーを用いた遺伝子の増幅手法で測定することによって行う、請求項 1 から 1 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

30

【請求項 1 8】

遺伝子の発現変動の分析を、生体試料における遺伝子の R N A を疲労のバイオマーカーとして測定することによって行う、請求項 1 から 1 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 9】

被験体由来の生体試料における遺伝子の発現変動量又は発現変動率が増加している場合に、被験体は疲労の状態であると判定することの特徴とする、請求項 1 から 1 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 0】

被験体由来の生体試料における遺伝子の発現量が、疲労の状態の対照体及び／又は非疲労の状態の健常対照体における当該遺伝子の発現量のどちらに近いかに基づいて行われ、疲労の状態の対照体に近い発現量の場合に、被験体は疲労の状態であると判定することの特徴とする、請求項 1 から 1 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

【請求項 2 1】

被験体由来の生体試料における遺伝子の発現変動量又は発現変動率が、疲労の状態の対照体における当該遺伝子の発現変動量又は発現変動率に近い場合に、被験体は疲労の状態であると判定することの特徴とする、請求項 1 から 2 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 2】

被験体由来の生体試料における 2 個以上の遺伝子の発現変動量又は発現変動率の平均値及び／又は中央値が、疲労の状態の対照体における 2 個以上の当該遺伝子の発現変動量又は

50

発現変動率の平均値及び／又は中央値に近い場合に、被験体は疲労の状態であると判定することを特徴とする、請求項 1 から 2 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 3】

被験物質の疲労に対する有効性を判定するにおいて、被験物質の投与に伴って被験体由来の生体試料における遺伝子の発現変動量又は発現変動率が減少している場合に、被験物質は疲労に対して有効であると判定することを特徴とする、請求項 1 から 2 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 4】

被験物質の疲労に対する有効性を判定するにおいて、(i) 被験物質を投与した被験体と、被験物質を投与しなかった被験体からそれぞれ生体試料を採取し、それぞれの生体試料における遺伝子の発現量を測定する工程と、(ii) (i) の工程によって得られた、当該被験物質の投与有無による生体試料における遺伝子の発現量の測定結果に基づき、当該被験物質の投与有無による生体試料における遺伝子の発現変動量を算出する工程と、(iii) (ii) の工程によって得られた当該被験物質の投与有無による生体試料における遺伝子の発現変動量に基づき、当該被験物質の疲労に対する有効性を判定する工程とを含む、請求項 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 5】

被験物質の疲労に対する有効性を判定するにおいて、(i) 被験体に被験物質を投与する前に当該被験体の生体試料を採取し、生体試料における遺伝子の発現量を測定する工程と、(ii) 被験体に被験物質を投与した後に当該被験体の生体試料を採取し、生体試料における遺伝子の発現量を測定する工程と、(iii) (i) 及び(ii) の工程によって得られた、当該被験物質の投与前後における遺伝子の発現量に基づき、当該被験物質の投与前後における生体試料における遺伝子の発現変動量を算出する工程と、(iv) (iii) の工程によって得られた当該被験物質の投与前後における生体試料における遺伝子の発現変動量に基づき、当該被験物質の被験体における疲労に対する有効量を判定する工程とを含む、請求項 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 6】

表 1、表 4、表 5 又は表 6 に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる 1 個以上の遺伝子の転写産物に特異的なプローブ又はプライマー、又は上記遺伝子の翻訳産物に特異的な抗体を含む、請求項 1 から 2 5 のいずれか 1 項に記載の方法において上記遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較するための疲労判定試薬又は疲労判定キット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、特定の遺伝子の発現を解析することによる(1)被験体の疲労の程度を判定する方法、(2)被験物質の疲労に対する有効性を判定する方法、(3)疲労を回復、改善又は予防し得る物質を探索する方法、及び(4)疲労判定試薬又はキットに関する。

【背景技術】

【0002】

生活者の 6 割以上の人は、日常的に疲労を感じており、以前と比較して十分な作業活動を維持できないと感じている(非特許文献 1)。疲労に悩む生活者は、企業間競争の激化や成果主義の導入による労働環境変化、生活習慣の乱れによる睡眠不足や栄養不足などによる心身負担の増大などに伴って、年々増加している。

【0003】

生活者は、日々の疲労を回復するために、入浴、コーヒーの飲用、一般用医薬品及び食品・サプリメントの摂取、アロマグッズの使用など、さまざまな方法を試行しているが(非特許文献 2)、日々の疲労に対して適切に対処できなかった際には、疲労は蓄積していく。今や、疲労の蓄積に関連する健康障害及び経済損失は大きく、社会的問題になっている。これらの社会的問題を解決するためには、生活者の疲労の程度を判定し、疲労の程度に応じた適切な対処方法を選択し、早期に疲労を改善又は回復することが必要であ

る。

【0004】

疲労の程度を判定する方法については公的な対策も推進されており、広く知られている公的対策の一つとしては、睡眠の時間や質、労働時間、疲労感や抑うつ感などの項目からなる簡易な自己判断方法（労働者の疲労蓄積度チェックリストなど）が挙げられる（非特許文献3）。しかし、国内外における多数の研究にもかかわらず、疲労感などの自覚症状によることなく、疲労の程度を客観的に判定することが可能な方法として、広く認められた方法は未だにない。

【0005】

これまでに、栄養素、サイトカインやその受容体、さらにはシグナルを受け取ってからの細胞内シグナル伝達機構などの研究から、疲労の程度を客観的に判定するための方法の開発が試みられている（非特許文献4）。例えば、血液中の複数のアミノ酸（特許文献1）、TGF- β （特許文献2）など、唾液中のヒトヘルペスウイルス6型（HHV-6）の遺伝子の発現量（特許文献3）、コルチゾール、副腎性ホルモン又はそれらの代謝物、クロモグラニンA、モノアミン類など、尿中のイソプラスタン、8-ヒドロキシ-2'-デオキシグアノシン（8-OHdG）などの分析や測定などが挙げられる。

【0006】

上記の疲労の判定方法の多くは、免疫機能の乱れを背景とする中期的・長期的な疲労と関係するが、短期的な疲労によっては引き起こされ難いという課題がある。また、病的疲労の一つである慢性疲労症候群と深く関係しており、カルバマゼピン、フェニトイン、フェノバルビタール、ゾニサミド、サラゾスルファピリジン、メキシレチン、アロプリノールなどによる薬剤性過敏症候群とも密接に関係していることが知られている（非特許文献5）。また、イソプラスタンや8-OHdGは、糖尿病や動脈硬化などの生活習慣病と密接に関係しており、疲労の判定方法としての使用において課題が残されている。さらに、これら多くの疲労の判定方法は精神機能に大きく影響され、単にエネルギー代謝を反映している場合もあり、疲労の程度を客観的に判定していないと考えられる。

従って、生活習慣病やリンパ腺の腫れなどを伴う病的疲労や薬剤由来の疲労の判定方法として活用することは可能であるが、日常生活における疲労の判定方法としては、使用において課題が残されている。

【0007】

一方、末梢白血球における複数の遺伝子の発現量を一度に比較する方法によって、ストレスの程度を客観的に評価する方法が報告されている（特許文献4及び5）。これまでも、注目する疾患を発症している患者と疾患を発症していない患者との比較によって発現量が変動している遺伝子を探索し、得られた複数の遺伝子を疾患の診断や治療薬の探索の標的として用いる方法が広く知られている（特許文献6）。

【0008】

運動を起因とするストレス状態を客観的に評価できるとする報告においては、ヒトに運動を負荷し、その前後における複数の遺伝子の発現量を解析することにより、外から生体に加わった外力である運動（ストレス刺激ストレッサー）に対して、そのゆがみを元に戻そうとする反応を“運動を起因とするストレス状態”としている。

この報告においては、“運動による生体のゆがみを元に戻そうとする反応”を評価しており、“生体のゆがみ”は客観的に評価していない。ましてや、この報告において、ストレス刺激ストレッサーとする肉体疲労、精神疲労、過労などの程度は評価の対象にしていない。さらには、運動負荷に伴う精神的なストレスや疲労感など、精神機能の変化による二次的な影響を大きく受けており、疲労を客観的に評価していることに成りえない。

【0009】

疲労の蓄積などによる社会的問題を解決するため、生理学的な特徴に立脚した客観的な疲労の程度の判定方法が望まれている。また、疲労の状態を確実に改善できる物質や医薬品も依然開発途上にあり、疲労の程度の判定に有用な方法は、そのような医薬品などの疲労に対する有効性の判定のためにも必要である。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0010】

【特許文献1】WO2005/078448号公報

【特許文献2】WO2007/094472号公報

【特許文献3】特開2007-330263号公報

【特許文献4】特開2002-340917号公報

【特許文献5】特開2008-54590号公報

【特許文献6】特開2004-33082号公報

【非特許文献】

10

【0011】

【非特許文献1】疲労の実態調査と予防策、P222-228、疲労の科学 株式会社講談社、2001年

【非特許文献2】疲労回復ホームページ、P229-233、疲労の科学 株式会社講談社、2001年

【非特許文献3】厚生労働省 労働者の疲労蓄積度チェックリスト

【非特許文献4】疲労の生化学バイオマーカー（血液、尿）、P71-75、最新・疲労の科学、別冊・医学のあゆみ、医歯薬出版株式会社、2010年

【非特許文献5】薬剤性過敏症症候群とヒトヘルペスウイルス、臨床免疫・アレルギー科、50巻3号、P302-306、2008年

20

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0012】

疲労感に頼ることなく、日常生活における疲労の程度を客観的に判定することは、睡眠や休息の確保、栄養補給や摂取、さらには、医薬品投与を適切に行うことを可能とし、疲労の回復、改善及び予防が容易に可能となり、国民の健康維持・増進に大きく寄与することとなる。

従って、疲労の程度の判定などに有用な方法は、国民の健康維持・増進のためにも重要なものであり、医薬品などの疲労に対する有効性を判定するためにも必要である。

しかしながら、上述のように、疲労の程度の判定方法は提案されているが、客観的な判定方法としては極めて不十分であり、真に疲労の程度の判定に用いることが可能な判定方法は開発されていない。また、疲労状態を確実に治療できる医薬品も依然として開発途上にあり、学問上も大きな問題である。

30

【0013】

本発明は、被験体より容易に入手し得る生体試料を用いた被験体の疲労の程度を判定する方法、疲労を回復、改善又は予防し得る物質（被験物質）の疲労に対する有効性を判定する方法、疲労を回復、改善又は予防し得る物質を探索する方法、及び疲労判定試薬又はキットを提供することを解決すべき課題とした。

【課題を解決するための手段】

【0014】

40

本発明者らは、上記課題を解決するために鋭意検討した結果、生理学的な特徴に立脚した手法によって、日常生活における疲労、特に生理的疲労により発現が変動する特定の遺伝子よりなる遺伝子リストを作成することに成功し、本発明を完成するに至った。

即ち、本発明に係る疲労の程度の判定方法は、上記の課題を解決するために、被験体より容易に入手し得る生体試料を用い、少なくとも1個以上の特定の遺伝子の発現の変動（発現変動）を指標として疲労の程度を判定することの特徴とする。

【0015】

上記の方法では、簡便かつ客観的に疲労の程度を判定でき、疲労を回復、改善又は予防し得る物質の疲労に対する有効性を判定でき、これらの物質を探索することも可能である。さらに、疲労の程度が未知である被験体の疲労の程度を客観的に判定することにより、

50

疲労の状態と判定された被験体は睡眠や休息の確保、栄養補給や摂取、さらには、医薬品投与を適切に行うことが可能となり、疲労の回復、改善及び予防が容易に可能となり、国民の健康維持・増進に大きく寄与することとなる。即ち、本発明によれば、以下の発明が提供される。

【0016】

(1) 被験体由来の生体試料における、表1、表4、表5又は表6に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる1個以上の遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較することを含む、疲労の程度を判定する方法。

(2) 被験体に被験物質を投与し、被験体由来の生体試料における表1、表4、表5又は表6に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる1個以上の遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較することを含む、被験物質の疲労に対する有効性を判定する方法。

(3) 被験体に被験物質を投与し、被験体由来の生体試料における表1、表4、表5又は表6に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる1個以上の遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較し、当該遺伝子の発現を変動させる物質を、疲労を回復、改善又は予防し得る候補物質として選択することを含む、疲労を回復、改善又は予防し得る物質を探索する方法。

【0017】

(4) 表1、表4、表5又は表6に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる1個以上の遺伝子の発現量の変動を分析及び／又は比較する、(1)から(3)のいずれか1項に記載の方法。

(5) 表1、表4、表5又は表6に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる2個以上の遺伝子について、発現変動が異なる遺伝子の数を分析及び／又は比較する、(1)から(4)のいずれか1項に記載の方法。

【0018】

(6) 被験体がヒト又は非ヒト哺乳動物である、(1)から(5)のいずれか1項に記載の方法。

(7) 生体試料が血液、肝臓、心筋、骨格筋又は細胞である、(1)から(6)のいずれか1項に記載の方法。

(8) 生体試料が血液である、(1)から(6)のいずれか1項に記載の方法。

(9) 疲労が生理的疲労である、(1)から(8)のいずれか1項に記載の方法。

(10) 疲労が末梢性疲労である、(1)から(9)のいずれか1項に記載の方法。

(11) 疲労が身体作業による肉体疲労である、(1)から(10)のいずれか1項に記載の方法。

【0019】

(12) 表1に記載のNo. 001～No. 225の遺伝子、表4に記載のNo. 001～No. 280の遺伝子、表5に記載のNo. 001～No. 033の遺伝子又は表6に記載のNo. 001～No. 033の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる1個以上の遺伝子の発現量を分析及び／又は比較し、及び／又は表1に記載のNo. 226～No. 466の遺伝子、表4に記載のNo. 281～No. 585、表5に記載のNo. 034～No. 035の遺伝子又は表6に記載のNo. 034～No. 035の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる1個以上の遺伝子の発現量を分析及び／又は比較する、(1)から(11)のいずれか1項に記載の方法。

【0020】

(13) 表1、表4、表5又は表6に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる1個以上の遺伝子が、ADAMTS1遺伝子、ADAMTS20遺伝子、ADAMTS9遺伝子、AGT遺伝子、ATF3遺伝子、ATF4遺伝子、ATP2A2遺伝子、ATP6V0D1遺伝子、BCL2L11遺伝子、CARHSP1遺伝子、CASP9遺伝子、CCRN4L遺伝子、CD38遺伝子、CHRD遺伝子、CHST15遺伝子、CLIC4遺伝子、CTGF遺伝子、DDIT3遺伝子、EIF2B2遺伝子、ERN1遺

10

20

30

40

50

伝子、FKBP5 遺伝子、FOSB 遺伝子、FOS 遺伝子、FOXO1 遺伝子、GLUL 遺伝子、HMOX1 遺伝子、HSP90AA1 遺伝子、HSPA1A 遺伝子、HSPA1B 遺伝子、ID1 遺伝子、INHBB 遺伝子、JUN 遺伝子、LCN2 遺伝子、LGALS3 遺伝子、MT1E 遺伝子、NFATC1 遺伝子、NFIL3 遺伝子、NR4A1 遺伝子、NR4A3 遺伝子、OPTN 遺伝子、PLAU 遺伝子、PLK3 遺伝子、PPP1R15A 遺伝子、SDC4 遺伝子、SMAD3 遺伝子、THBS1 遺伝子、TINAGL1 遺伝子、TLR4 遺伝子、TLR8 遺伝子、TP53 遺伝子、ZBTB16 遺伝子、又はそれらのホモログ遺伝子である、(1) から (12) のいずれか 1 項に記載の方法。

【0021】

(14) 表 1、表 4、表 5 又は表 6 に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる 1 個以上の遺伝子が、ATP6VOD1 遺伝子、CARHSP1 遺伝子、CCRN4L 遺伝子、CD38 遺伝子、CHST15 遺伝子、FKBP5 遺伝子、FOS 遺伝子、GLUL 遺伝子、HMOX1 遺伝子、HSP90AA1 遺伝子、HSPA1A 遺伝子、HSPA1B 遺伝子、LCN2 遺伝子、NFIL3 遺伝子、OPTN 遺伝子、PPP1R15A 遺伝子、TINAGL1 遺伝子、TLR4 遺伝子、TLR8 遺伝子、又はそれらのホモログ遺伝子である、(1) から (12) のいずれか 1 項に記載の方法。

10

【0022】

(15) 表 1、表 4、表 5 又は表 6 に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる 1 個以上の遺伝子が、ATP6VOD1 遺伝子、FKBP5 遺伝子、HMOX1 遺伝子、LCN2 遺伝子、NFIL3 遺伝子、OPTN 遺伝子、PPP1R15A 遺伝子、TINAGL1 遺伝子、TLR4 遺伝子、TLR8 遺伝子、又はそれらのホモログ遺伝子である、(1) から (12) のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【0023】

(16) 遺伝子の発現変動の分析を、生体試料における遺伝子の RNA を測定することによって行う、(1) から (15) のいずれか 1 項に記載の方法。

(17) 遺伝子の発現変動の分析を、生体試料における遺伝子の RNA をプライマーを用いた遺伝子の増幅手法で測定することによって行う、(1) から (16) のいずれか 1 項に記載の方法。

(18) 遺伝子の発現変動の分析を、生体試料における遺伝子の RNA を疲労のバイオマーカーとして測定することによって行う、(1) から (17) のいずれか 1 項に記載の方法。

30

【0024】

(19) 被験体由来の生体試料における遺伝子の発現変動量又は発現変動率が増加している場合に、被験体は疲労の状態であると判定することを特徴とする、(1) から (18) のいずれか 1 項に記載の方法。

(20) 被験体由来の生体試料における遺伝子の発現量が、疲労の状態の対照体及び／又は非疲労の状態の健常対照体における当該遺伝子の発現量のどちらに近いかに基づいて行われ、疲労の状態の対照体に近い発現量の場合に、被験体は疲労の状態であると判定することを特徴とする、(1) から (19) のいずれか 1 項に記載の方法。

(21) 被験体由来の生体試料における遺伝子の発現変動量又は発現変動率が、疲労の状態の対照体における当該遺伝子の発現変動量又は発現変動率に近い場合に、被験体は疲労の状態であると判定することを特徴とする、(1) から (20) のいずれか 1 項に記載の方法。

40

(22) 被験体由来の生体試料における 2 個以上の遺伝子の発現変動量又は発現変動率の平均値及び／又は中央値が、疲労の状態の対照体における 2 個以上の当該遺伝子の発現変動量又は発現変動率の平均値及び／又は中央値に近い場合に、被験体は疲労の状態であると判定することを特徴とする、(1) から (21) のいずれか 1 項に記載の方法。

【0025】

(23) 被験物質の疲労に対する有効性を判定するにおいて、被験物質の投与に伴って被験体由来の生体試料における遺伝子の発現変動量又は発現変動率が減少している場合に、

50

被験物質は疲労に対して有効であると判定することを特徴とする、(1)から(22)のいずれか1項に記載の方法。

(24) 被験物質の疲労に対する有効性を判定するにおいて、(i)被験物質を投与した被験体と、被験物質を投与しなかった被験体からそれぞれ生体試料を採取し、それぞれの生体試料における遺伝子の発現量を測定する工程と、(ii)(i)の工程によって得られた、当該被験物質の投与有無による生体試料における遺伝子の発現量の測定結果に基づき、当該被験物質の投与有無による生体試料における遺伝子の発現変動量を算出する工程と、(iii)(ii)の工程によって得られた当該被験物質の投与有無による生体試料における遺伝子の発現変動量に基づき、当該被験物質の疲労に対する有効性を判定する工程とを含む、(23)に記載の方法。

10

(25) 被験物質の疲労に対する有効性を判定するにおいて、(i)被験体に被験物質を投与する前に当該被験体の生体試料を採取し、生体試料における遺伝子の発現量を測定する工程と、(ii)被験体に被験物質を投与した後に当該被験体の生体試料を採取し、生体試料における遺伝子の発現量を測定する工程と、(iii)(i)及び(ii)の工程によって得られた、当該被験物質の投与前後における遺伝子の発現量に基づき、当該被験物質の投与前後における生体試料における遺伝子の発現変動量を算出する工程と、(iv)(iii)の工程によって得られた当該被験物質の投与前後における生体試料における遺伝子の発現変動量に基づき、当該被験物質の被験体における疲労に対する有効性を判定する工程とを含む、(23)に記載の方法。

20

【0026】

(26) 表1、表4、表5又は表6に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる1個以上の遺伝子の転写産物に特異的なプローブ又はプライマー、又は上記遺伝子の翻訳産物に特異的な抗体を含む、(1)から(25)のいずれか1項に記載の方法において上記遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較するための疲労判定試薬又は疲労判定キット。

【発明の効果】

【0027】

本発明によれば、本明細書に記載した表1、表4、表5又は表6に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より作成される遺伝子リストより選ばれる特定の遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較することによる、被験体の疲労の程度を判定する方法、被験物質の疲労に対する有効性を判定する方法、及び疲労を回復、改善又は予防し得る物質を探索する方法が提供される。更に本発明によれば、上記の方法に用いるための疲労判定試薬又はキットが提供される。さらに、疲労感に頼ることなく、日常生活における疲労、特に生理的疲労及び末梢性疲労の程度を客観的に判定することにより、疲労の状態と判定された生活者は睡眠や休息の確保、栄養補給や摂取、さらには、医薬品投与を適切に行うことが可能となり、疲労の回復、改善及び予防が容易に可能となり、国民の健康維持・増進に大きく寄与することとなる。

30

【発明を実施するための形態】

【0028】

本発明の実施の形態について以下に説明するが、本発明はこれに限定されるものではない。

40

<疲労>

本発明における「疲労」とは、一般的な意味としては、例えば、身体作業あるいは精神作業などにより、身体あるいは精神に負荷を与えた際に生じる作業効率（パフォーマンス）が低下した状態を示す。この場合、「疲労の程度（疲労度）」とは作業効率の低下の程度（度合い）を意味する。

【0029】

本発明において、判定の対象となる疲労は、好ましくは生理的疲労であり、より好ましくは末梢性の疲労（末梢性疲労）であり、肉体疲労、身体疲労、筋肉疲労、運動疲労などがさらに好ましく、身体に負荷を与える作業（身体作業）により末梢組織（肝臓、心筋、

50

骨格筋など)が疲労することに起因する肉体疲労(身体作業による肉体疲労)などが特に好ましい。ここで言う「身体作業」には、産業活動における労働作業のみでなく、日常生活における作業や運動、走行、自転車こぎ、階段の昇降などの動作も含む。

「生理的疲労」とは、睡眠や休息の確保、栄養の摂取などを適切に得ることにより、自然の状態での回復が可能な範囲での疲労であり、病的疲労や薬剤由来の疲労を含まない疲労を示す。

「末梢性疲労」とは、脳が主体となって疲労を感じている中枢性疲労の状態ではなく、脳以外の末梢組織に起因する疲労を示す。

「病的疲労」とは、慢性疲労症候群、悪性腫瘍、細菌又はウイルス感染、糖尿病、うつ病などの疾病に伴う疲労を示す。

「薬剤由来の疲労」とは、抗ガン剤、免疫抑制剤、向精神剤などの薬剤の使用によって引き起こされる疲労を示す。

「肉体疲労」、「身体疲労」、「筋肉疲労」、「運動疲労」などは、日常生活における生理的疲労及び末梢性疲労に含まれる疲労を示す。

従って、「非疲労の状態」とは、十分な睡眠や休息が確保されており、栄養摂取量を満たしており、精神あるいは身体などへの負荷が少なく、日常的に適度な運動を行い、さらに、生理的疲労、中枢性疲労、末梢性疲労、病的疲労又は薬剤由来の疲労を呈していない状態を意味する。

【0030】

＜被験体、及び生体試料＞

本発明による、被験体の疲労の程度を判定する方法、被験物質の疲労に対する有効性を判定する方法、疲労を回復、改善又は予防し得る物質を探索する方法においては、被験体由来の生体試料における、特定の遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較する。

【0031】

本発明における「被験体」とは、好ましくは、生体試料を採取することが可能なヒト又は非ヒト哺乳動物であり、ヒトであることが特に好ましい。

「非ヒト哺乳動物」とは、げっ歯類(例えば、マウス、ラット、ハムスター、モルモットなど)、霊長類(例えば、サルなど)、並びにイヌなど、医薬品、食品又は被験物質などの薬理試験や毒性試験などに汎用される動物が好ましく、上記の中でもマウス及びラットが特に好ましい。

【0032】

本発明における「生体試料」とは、表1、表4、表5又は表6に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる1個以上の特定の遺伝子を発現しており、その遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較できる試料であれば、その種類は特に限定されない。

生体試料としては、血液、唾液、精液などの体液、肝臓、心筋、骨格筋などの組織や細胞が挙げられる。これらの試料は、倫理的な問題が生じないように採血、採取又はバイオプシーなどにより、被験体から分離されることが望ましい。好ましくは、生体試料は、血液又は骨格筋であり、さらに好ましくは血液であり、特に好ましくは血球である。

【0033】

尚、身体作業による生体への刺激は、骨格筋などの末梢組織のみでなく、同組織内に循環する血液(血球)にも同種の影響を与えている。

従って、骨格筋などの末梢組織と血液においては、同種の遺伝子の発現が変動すると考えられるため、疲労を引き起こす身体作業による生体への刺激に応じて発現が変動する遺伝子は、生体試料が異なっても発現変動の特徴やパターンは同様となる可能性が高い。

【0034】

また、本発明における「細胞」とは、表1、表4、表5又は表6に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる1個以上の特定の遺伝子を発現しており、その遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較できる細胞である。

細胞としては、例えば、血液細胞、肝細胞、筋細胞、神経細胞、グリア細胞、骨髄細胞

10

20

30

40

50

、繊維芽細胞、繊維細胞、間質細胞、又はこれら細胞の前駆細胞、幹細胞もしくはガン細胞などが挙げられるが、これらに限定されるものではない。細胞は、好ましくは、筋細胞、肝細胞、血液細胞、又はそれらの前駆細胞もしくは幹細胞であり、ヒト由来の細胞であることがより好ましい。

【0035】

<遺伝子>

本発明の方法においては、被験体由来の生体試料における、表1、表4、表5又は表6に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる1個以上の特定の遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較する。

【0036】

本発明における「遺伝子」とは、DNA又はRNAのいずれでもよく、ゲノムDNAのみならず、mRNA、aRNA、cRNA及びcDNAなども含むものであり、全長遺伝子のみでなく、その一部を含む遺伝子(EST)でもよい。

ここで言う「その一部を含む遺伝子」とは、ハイブリダイズする際に十分な配列長を有するものであれば、その長さは特に限定されないが、好ましくは少なくとも10塩基以上である。また、遺伝子には、塩基配列又はポリペプチド配列などによって特定される遺伝子、例えば、塩基配列と相補的な塩基配列からなる遺伝子とハイブリダイズする遺伝子が含まれる。

【0037】

本発明における「ホモログ遺伝子」とは、表1、表4、表5又は表6に記載の遺伝子と機能的に同等な遺伝子のことを言う。「機能的に同等な遺伝子」とは、ホモログ遺伝子によってコードされるポリペプチドが、表1、表4、表5又は表6に記載の遺伝子によってコードされるポリペプチドと、同等の生物学的機能、生理学的機能又は生化学的機能を有することを示す。

通常、機能的に同等な遺伝子は、塩基配列又はポリペプチド配列において、高い相同性や同一性を有しており、少なくとも50%以上、好ましくは60%以上、より好ましくは70%以上、より好ましくは80%以上、さらに好ましくは90%以上、特に好ましくは95%以上の相同性又は同一性を示す。機能的に同等な遺伝子は、塩基配列を基にした遺伝子の増幅手法などを利用して単離及び特定することも可能である。

【0038】

表1、表4、表5又は表6に記載の遺伝子は、少なくともヒト又はマウスにて公知の遺伝子であり、その塩基配列又はポリペプチド配列は公知であり、当業者に利用可能な遺伝子である。表1、表4、表5又は表6に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子は、The HUGO Gene Nomenclature Committee (HGNC)、米国立生物工学情報センター(NCBI)、欧州分子生物学研究所(EMBL)、日本DNAデータバンク(DDBJ)などの遺伝子データベースに登録されている遺伝子であり、これらのデータベースにおいて遺伝子シンボル、Entrez Gene ID (EGID)、HGNC ID、Mouse Genome Informatics (MGI)又はアクセッション番号(Accession number)などによって容易に塩基配列又はポリペプチド配列などの遺伝子情報を入手することができる。これらの遺伝子のいくつかは、KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)、BioCarta、GenMAPPなどのパスウェイデータベースや遺伝子オントロジー(GO)データベースにも登録されており、機能的情報を容易に得ることもできる。

【0039】

<遺伝子リスト>

本発明の方法においては、表1、表4、表5又は表6に記載の遺伝子より遺伝子リストを作成し、遺伝子リストに含まれる遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる1個以上の特定の遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較する。

【0040】

表 1、表 4、表 5 又は表 6 に記載の遺伝子より作成される「遺伝子リスト」に含まれる遺伝子としては、疲労の状態の対照体由来の生体試料における遺伝子の発現が非疲労の状態の健常対照体由来の生体試料における遺伝子の発現と比較して著しく変動（増加又は減少）している遺伝子である。例えば、身体作業の程度に応じて発現変動する遺伝子や、肉体疲労を呈している複数の被験体において疲労感又は身体作業における作業効率の低下の程度に応じて発現変動する遺伝子である。また、疲労の状態である被験体において、十分な休息や睡眠の確保、栄養の摂取による疲労回復前後とを比較して、発現変動する遺伝子でもよい。

身体作業としては、身体的な負担により作業効率が低下する動作であり、例えば、水泳、走行、自転車こぎ、階段昇降などの動作であり、最大筋力や筋持久力を低下させる動作が好ましく、トレッドミル走行あるいは自転車エルゴメータ運動がより好ましい。

【0041】

疲労の状態の対照体由来及び／又は非疲労の状態の健常対照体由来の生体試料における遺伝子の発現は、前もって測定して得られた発現でもよいし、被験体における特定の遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較する際に同時に得た発現でもよい。

【0042】

上記の疲労の状態である被験体がヒトである場合、病的疲労や薬剤由来の疲労でないことを医師などによって診断されていることが好ましく、疲労が生理的疲労であり、末梢性疲労であり、身体作業による肉体疲労であることがより好ましい。

【0043】

遺伝子リストを生理学的な特徴に立脚した手法によって簡易に作成するための方法としては、精神機能による影響などを極めて受けにくい骨格筋などの末梢組織において、疲労時に発現変動する遺伝子より作成する方法が挙げられる。

例えば、マウスに運動を負荷し、運動負荷前後の骨格筋における遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較し、著しい発現変動を示す遺伝子を選定し、それらを含む遺伝子リストを作成する方法がある。選定する遺伝子としては、好ましくはヒト遺伝子と比較して相同性又は同一性が高い遺伝子であり、より好ましくは血液においても運動負荷前後において著しい発現変動を示す遺伝子である。

【0044】

<判定に用いる特定の遺伝子>

本発明の方法においては、表 1、表 4、表 5 又は表 6 に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる 1 個以上の特定の遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較する。

【0045】

本発明における、好ましい特定の遺伝子としては、表 1、表 4、表 5 又は表 6 に記載の、ADAMTS1 遺伝子、ADAMTS20 遺伝子、ADAMTS9 遺伝子、AGT 遺伝子、ATF3 遺伝子、ATF4 遺伝子、ATP2A2 遺伝子、ATP6V0D1 遺伝子、BCL2L11 遺伝子、CARHSP1 遺伝子、CASP9 遺伝子、CCRN4L 遺伝子、CD38 遺伝子、CHRD 遺伝子、CHST15 遺伝子、CLIC4 遺伝子、CTGF 遺伝子、DDIT3 遺伝子、EIF2B2 遺伝子、ERN1 遺伝子、FKBP5 遺伝子、FOSB 遺伝子、FOS 遺伝子、FOXO1 遺伝子、GLUL 遺伝子、HMOX1 遺伝子、HSP90AA1 遺伝子、HSPA1A 遺伝子、HSPA1B 遺伝子、ID1 遺伝子、INHBB 遺伝子、JUN 遺伝子、LCN2 遺伝子、LGALS3 遺伝子、MT1E 遺伝子、NFATC1 遺伝子、NFIL3 遺伝子、NR4A1 遺伝子、NR4A3 遺伝子、OPTN 遺伝子、PLAU 遺伝子、PLK3 遺伝子、PPP1R15A 遺伝子、SDC4 遺伝子、SMAD3 遺伝子、THBS1 遺伝子、TINAGL1 遺伝子、TLR4 遺伝子、TLR8 遺伝子、TP53 遺伝子、ZBTB16 遺伝子、及びそれらのホモログ遺伝子より選ばれる 1 個以上の遺伝子である。

【0046】

より好ましい特定の遺伝子としては、AGT 遺伝子、ATF3 遺伝子、ATP6V0D1 遺伝子、CARHSP1 遺伝子、CCR4NL 遺伝子、CD38 遺伝子、CHST15

10

20

30

40

50

遺伝子、CLIC4 遺伝子、CTGF 遺伝子、ERN1 遺伝子、FKBP5 遺伝子、FOSB 遺伝子、FOS 遺伝子、FOXO1 遺伝子、GLUL 遺伝子、HMOX1 遺伝子、HSP90AA1 遺伝子、HSPA1A 遺伝子、HSPA1B 遺伝子、LCN2 遺伝子、LGALS3 遺伝子、MT1E 遺伝子、NFIL3 遺伝子、NR4A1 遺伝子、NR4A3 遺伝子、OPTN 遺伝子、PLK3 遺伝子、PPP1R15A 遺伝子、SDC4 遺伝子、SMAD3 遺伝子、THBS1 遺伝子、TINAGL1 遺伝子、TLR4 遺伝子、TLR8 遺伝子、ZBTB16 遺伝子、及びそれらのホモログ遺伝子より選ばれる 1 個以上の遺伝子である。

【0047】

より好ましい特定の遺伝子としては、ATP6VOD1 遺伝子、CARHSP1 遺伝子、CCRN4L 遺伝子、CD38 遺伝子、CHST15 遺伝子、FKBP5 遺伝子、FOS 遺伝子、GLUL 遺伝子、HMOX1 遺伝子、HSP90AA1 遺伝子、HSPA1A 遺伝子、HSPA1B 遺伝子、LCN2 遺伝子、NFIL3 遺伝子、OPTN 遺伝子、PPP1R15A 遺伝子、TINAGL1 遺伝子、TLR4 遺伝子、TLR8 遺伝子、及びそれらのホモログ遺伝子より選ばれる 1 個以上の遺伝子である。

10

【0048】

より好ましい特定の遺伝子としては、ATP6VOD1 遺伝子、CARHSP1 遺伝子、CCRN4L 遺伝子、CD38 遺伝子、CHST15 遺伝子、FKBP5 遺伝子、GLUL 遺伝子、HMOX1 遺伝子、LCN2 遺伝子、NFIL3 遺伝子、OPTN 遺伝子、PPP1R15A 遺伝子、TINAGL1 遺伝子、TLR4 遺伝子、TLR8 遺伝子、及びそれらのホモログ遺伝子より選ばれる 1 個以上の遺伝子である。

20

【0049】

より好ましい特定の遺伝子としては、ATP6VOD1 遺伝子、FKBP5 遺伝子、HMOX1 遺伝子、LCN2 遺伝子、NFIL3 遺伝子、OPTN 遺伝子、PPP1R15A 遺伝子、TINAGL1 遺伝子、TLR4 遺伝子、TLR8 遺伝子、及びそれらのホモログ遺伝子より選ばれる 1 個以上の遺伝子である。

【0050】

さらに好ましい特定の遺伝子としては、FKBP5 遺伝子、LCN2 遺伝子、NFIL3 遺伝子、OPTN 遺伝子、PPP1R15A 遺伝子、TLR4 遺伝子、TLR8 遺伝子、及びそれらのホモログ遺伝子より選ばれる 1 個以上の遺伝子である。

30

【0051】

特に好ましい特定の遺伝子としては、FKBP5 遺伝子、NFIL3 遺伝子、PPP1R15A 遺伝子、TLR4 遺伝子、及びそれらのホモログ遺伝子より選ばれる 1 個以上の遺伝子である。

【0052】

疲労の程度の判定のために用いる特定の遺伝子は、ハウスキーピング遺伝子や疾患診断のための遺伝子などと組み合わせて用いてもよい。

< 2 個以上の遺伝子の組み合わせ >

【0053】

本発明の方法において、発現変動を分析及び／又は比較する遺伝子としては、表 1、表 4、表 5 又は表 6 に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる 1 個以上の特定の遺伝子であれば特に限定されないが、2 個以上の特定の遺伝子を組み合わせて使用することにより、測定機器や測定手法、個体差による影響を小さくすることもできる。2 個以上の特定の遺伝子を組み合わせて用いる場合、好ましくは 2 個から 51 個の遺伝子の組み合わせであり、より好ましくは 2 個から 35 個の遺伝子であり、より好ましくは 2 個から 19 個の遺伝子であり、より好ましくは 2 個から 15 個の遺伝子であり、より好ましくは 2 個から 10 個の遺伝子であり、さらに好ましくは 2 個から 7 個の遺伝子であり、特に好ましいのは 2 個から 4 個の遺伝子の組み合わせである。

40

【0054】

2 個以上の遺伝子の組み合わせに用いる特定の遺伝子としては、好ましくは、ADAM

50

TS1 遺伝子、ADAMTS20 遺伝子、ADAMTS9 遺伝子、AGT 遺伝子、ATF3 遺伝子、ATF4 遺伝子、ATP2A2 遺伝子、ATP6VOD1 遺伝子、BCL2L11 遺伝子、CARHSP1 遺伝子、CASP9 遺伝子、CCRN4L 遺伝子、CD38 遺伝子、CHRD 遺伝子、CHST15 遺伝子、CLIC4 遺伝子、CTGF 遺伝子、DDIT3 遺伝子、EIF2B2 遺伝子、ERN1 遺伝子、FKBP5 遺伝子、FOSB 遺伝子、FOS 遺伝子、FOXO1 遺伝子、GLUL 遺伝子、HMOX1 遺伝子、HSP90AA1 遺伝子、HSPA1A 遺伝子、HSPA1B 遺伝子、ID1 遺伝子、INHBB 遺伝子、JUN 遺伝子、LCN2 遺伝子、LGALS3 遺伝子、MT1E 遺伝子、NFATC1 遺伝子、NFIL3 遺伝子、NR4A1 遺伝子、NR4A3 遺伝子、OPTN 遺伝子、PLAU 遺伝子、PLK3 遺伝子、PPP1R15A 遺伝子、SDC4 遺伝子、SMAD3 遺伝子、THBS1 遺伝子、TINAGL1 遺伝子、TLR4 遺伝子、TLR8 遺伝子、TP53 遺伝子、ZBTB16 遺伝子、及びそれらのホモログ遺伝子より選ばれる 2 個以上 51 個以下の遺伝子である。

【0055】

より好ましくは、AGT 遺伝子、ATF3 遺伝子、ATP6VOD1 遺伝子、CARHSP1 遺伝子、CCRN4L 遺伝子、CD38 遺伝子、CHST15 遺伝子、CLIC4 遺伝子、CTGF 遺伝子、ERN1 遺伝子、FKBP5 遺伝子、FOSB 遺伝子、FOS 遺伝子、FOXO1 遺伝子、GLUL 遺伝子、HMOX1 遺伝子、HSP90AA1 遺伝子、HSPA1A 遺伝子、HSPA1B 遺伝子、LCN2 遺伝子、LGALS3 遺伝子、MT1E 遺伝子、NFIL3 遺伝子、NR4A1 遺伝子、NR4A3 遺伝子、OPTN 遺伝子、PLK3 遺伝子、PPP1R15A 遺伝子、SDC4 遺伝子、SMAD3 遺伝子、THBS1 遺伝子、TINAGL1 遺伝子、TLR4 遺伝子、TLR8 遺伝子、ZBTB16 遺伝子、及びそれらのホモログ遺伝子より選ばれる 2 個以上 35 個以下の遺伝子である。

【0056】

より好ましくは、ATP6VOD1 遺伝子、CARHSP1 遺伝子、CCRN4L 遺伝子、CD38 遺伝子、CHST15 遺伝子、FKBP5 遺伝子、FOS 遺伝子、GLUL 遺伝子、HMOX1 遺伝子、HSP90AA1 遺伝子、HSPA1A 遺伝子、HSPA1B 遺伝子、LCN2 遺伝子、NFIL3 遺伝子、OPTN 遺伝子、PPP1R15A 遺伝子、TINAGL1 遺伝子、TLR4 遺伝子、TLR8 遺伝子、及びそれらのホモログ遺伝子より選ばれる 2 個以上 19 個以下の遺伝子の組み合わせである。

【0057】

より好ましくは、ATP6VOD1 遺伝子、CARHSP1 遺伝子、CCRN4L 遺伝子、CD38 遺伝子、CHST15 遺伝子、FKBP5 遺伝子、GLUL 遺伝子、HMOX1 遺伝子、LCN2 遺伝子、NFIL3 遺伝子、OPTN 遺伝子、PPP1R15A 遺伝子、TINAGL1 遺伝子、TLR4 遺伝子、TLR8 遺伝子、及びそれらのホモログ遺伝子より選ばれる 2 個以上 15 個以下の遺伝子の組み合わせである。

【0058】

より好ましくは、ATP6VOD1 遺伝子、FKBP5 遺伝子、HMOX1 遺伝子、LCN2 遺伝子、NFIL3 遺伝子、OPTN 遺伝子、PPP1R15A 遺伝子、TINAGL1 遺伝子、TLR4 遺伝子、TLR8 遺伝子、及びそれらのホモログ遺伝子より選ばれる 2 個以上 10 個以下の遺伝子の組み合わせである。

【0059】

さらに好ましい特定の遺伝子としては、FKBP5 遺伝子、LCN2 遺伝子、NFIL3 遺伝子、OPTN 遺伝子、PPP1R15A 遺伝子、TLR4 遺伝子、TLR8 遺伝子、及びそれらのホモログ遺伝子より選ばれる 2 個以上 7 個以下の遺伝子の組み合わせである。

【0060】

特に好ましい特定の遺伝子としては、FKBP5 遺伝子、NFIL3 遺伝子、PPP1R15A 遺伝子、TLR4 遺伝子、及びそれらのホモログ遺伝子より選ばれる 2 個以上 4

【 0 0 6 1 】

2 個の遺伝子の組み合わせとしては、例えば、A T P 6 V 0 D 1 遺伝子と C A R H S P
 1 遺伝子、A T P 6 V 0 D 1 遺伝子と C C R N 4 L 遺伝子、A T P 6 V 0 D 1 遺伝子と C
 D 3 8 遺伝子、A T P 6 V 0 D 1 遺伝子と C H S T 1 5 遺伝子、A T P 6 V 0 D 1 遺伝子
 と E R N 1 遺伝子、A T P 6 V 0 D 1 遺伝子と F K B P 5 遺伝子、A T P 6 V 0 D 1 遺伝
 子と F O S 遺伝子、A T P 6 V 0 D 1 遺伝子と G L U L 遺伝子、A T P 6 V 0 D 1 遺伝子
 と H M O X 1 遺伝子、A T P 6 V 0 D 1 遺伝子と H S P 9 0 A A 1 遺伝子、A T P 6 V 0
 D 1 遺伝子と H S P A 1 A 遺伝子、A T P 6 V 0 D 1 遺伝子と H S P A 1 B 遺伝子、A T
 P 6 V 0 D 1 遺伝子と L C N 2 遺伝子、A T P 6 V 0 D 1 遺伝子と N F I L 3 遺伝子、A
 T P 6 V 0 D 1 遺伝子と O P T N 遺伝子、A T P 6 V 0 D 1 遺伝子と P P P 1 R 1 5 A 遺
 伝子、A T P 6 V 0 D 1 遺伝子と T H B S 1 遺伝子、A T P 6 V 0 D 1 遺伝子と T I N A
 G L 1 遺伝子、A T P 6 V 0 D 1 遺伝子と T L R 4 遺伝子、A T P 6 V 0 D 1 遺伝子と T
 L R 8 遺伝子、C A R H S P 1 遺伝子と C C R N 4 L 遺伝子、C A R H S P 1 遺伝子と C
 D 3 8 遺伝子、C A R H S P 1 遺伝子と C H S T 1 5 遺伝子、C A R H S P 1 遺伝子と E
 R N 1 遺伝子、C A R H S P 1 遺伝子と F K B P 5 遺伝子、C A R H S P 1 遺伝子と F O
 S 遺伝子、C A R H S P 1 遺伝子と G L U L 遺伝子、C A R H S P 1 遺伝子と H M O X 1
 遺伝子、C A R H S P 1 遺伝子と H S P 9 0 A A 1 遺伝子、C A R H S P 1 遺伝子と H S
 P A 1 A 遺伝子、C A R H S P 1 遺伝子と H S P A 1 B 遺伝子、C A R H S P 1 遺伝子と
 L C N 2 遺伝子、C A R H S P 1 遺伝子と N F I L 3 遺伝子、C A R H S P 1 遺伝子と O
 P T N 遺伝子、C A R H S P 1 遺伝子と P P P 1 R 1 5 A 遺伝子、C A R H S P 1 遺伝子
 と T H B S 1 遺伝子、C A R H S P 1 遺伝子と T I N A G L 1 遺伝子、C A R H S P 1 遺
 伝子と T L R 4 遺伝子、C A R H S P 1 遺伝子と T L R 8 遺伝子、C C R N 4 L 遺伝子と
 C D 3 8 遺伝子、C C R N 4 L 遺伝子と C H S T 1 5 遺伝子、C C R N 4 L 遺伝子と E R
 N 1 遺伝子、C C R N 4 L 遺伝子と F K B P 5 遺伝子、C C R N 4 L 遺伝子と F O S 遺
 伝子、C C R N 4 L 遺伝子と G L U L 遺伝子、C C R N 4 L 遺伝子と H M O X 1 遺伝子、C
 C R N 4 L 遺伝子と H S P 9 0 A A 1 遺伝子、C C R N 4 L 遺伝子と H S P A 1 A 遺
 伝子、C C R N 4 L 遺伝子と H S P A 1 B 遺伝子、C C R N 4 L 遺伝子と L C N 2 遺
 伝子、C C R N 4 L 遺伝子と N F I L 3 遺伝子、C C R N 4 L 遺伝子と O P T N 遺
 伝子、C C R N 4 L 遺伝子と P P P 1 R 1 5 A 遺
 伝子、C C R N 4 L 遺
 伝子と T H B S 1 遺
 伝子、C C R N 4 L 遺
 伝子と T I N A G L 1 遺
 伝子、C C R N 4 L 遺
 伝子と T L R 4 遺
 伝子、C C R N 4 L 遺
 伝子と T L R 8 遺
 伝子、C D 3 8 遺
 伝子と C H S T 1 5 遺
 伝子、C D 3 8 遺
 伝子と E R N 1 遺
 伝子、C D 3 8 遺
 伝子と F K B P 5 遺
 伝子、C D 3 8 遺
 伝子と F O S 遺
 伝子、C D 3 8 遺
 伝子と G L U L 遺
 伝子、C D 3 8 遺
 伝子と H M O X 1 遺
 伝子、C D 3 8 遺
 伝子と H S P 9 0 A A 1 遺
 伝子、C D 3 8 遺
 伝子と H S P A 1 A 遺
 伝子、C D 3 8 遺
 伝子と H S P A 1 B 遺
 伝子、C D 3 8 遺
 伝子と L C N 2 遺
 伝子、C D 3 8 遺
 伝子と N F I L 3 遺
 伝子、C D 3 8 遺
 伝子と O P T N 遺
 伝子、C D 3 8 遺
 伝子と P P P 1 R 1 5 A 遺
 伝子、C D 3 8 遺
 伝子と T H B S 1 遺
 伝子、C D 3 8 遺
 伝子と T I N A G L 1 遺
 伝子、C D 3 8 遺
 伝子と T L R 4 遺
 伝子、C D 3 8 遺
 伝子と T L R 8 遺
 伝子、C H S T 1 5 遺
 伝子と E R N 1 遺
 伝子、C H S T 1 5 遺
 伝子と F K B P 5 遺
 伝子、C H S T 1 5 遺
 伝子と F O S 遺
 伝子、C H S T 1 5 遺
 伝子と G L U L 遺
 伝子、C H S T 1 5 遺
 伝子と H M O X 1 遺
 伝子、C H S T 1 5 遺
 伝子と H S P 9 0 A A 1 遺
 伝子、C H S T 1 5 遺
 伝子と H S P A 1 A 遺
 伝子、C H S T 1 5 遺
 伝子と H S P A 1 B 遺
 伝子、C H S T 1 5 遺
 伝子と L C N 2 遺
 伝子、C H S T 1 5 遺
 伝子と N F I L 3 遺
 伝子、C H S T 1 5 遺
 伝子と O P T N 遺
 伝子、C H S T 1 5 遺
 伝子と P P P 1 R 1 5 A 遺
 伝子、C H S T 1 5 遺
 伝子と T H B S 1 遺
 伝子、C H S T 1 5 遺
 伝子と T I N A G L 1 遺
 伝子、C H S T 1 5 遺
 伝子と T L R 4 遺
 伝子、C H S T 1 5 遺
 伝子と T L R 8 遺
 伝子、E R N 1 遺
 伝子と F K B P 5 遺
 伝子、E R N 1 遺
 伝子と F O S 遺
 伝子、E R N 1 遺
 伝子と G L U L 遺
 伝子、E R N 1 遺
 伝子と H M O X 1 遺
 伝子、E R N 1 遺
 伝子と H S P 9 0 A A 1 遺
 伝子、E R N 1 遺
 伝子と H S P A 1 A 遺
 伝子、E R N 1 遺
 伝子と H S P A 1 B 遺
 伝子、E R N 1 遺
 伝子と L C N 2 遺
 伝子、E R N 1 遺
 伝子と N F I

L 3 遺伝子、ERN 1 遺伝子とOPTN 遺伝子、ERN 1 遺伝子とPPP 1 R 1 5 A 遺伝子、ERN 1 遺伝子とTHBS 1 遺伝子、ERN 1 遺伝子とTINAGL 1 遺伝子、ERN 1 遺伝子とTLR 4 遺伝子、ERN 1 遺伝子とTLR 8 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とFOS 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とGLUL 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とHMOX 1 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とHSP 9 0 A A 1 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とHSPA 1 A 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とHSPA 1 B 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とLCN 2 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とNFIL 3 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とOPTN 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とPPP 1 R 1 5 A 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とTHBS 1 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とTINAGL 1 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とTLR 4 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とTLR 8 遺伝子、FOS 遺伝子とGLUL 遺伝子、FOS 遺伝子とHMOX 1 遺伝子、FOS 遺伝子とHSP 9 0 A A 1 遺伝子、FOS 遺伝子とHSPA 1 A 遺伝子、FOS 遺伝子とHSPA 1 B 遺伝子、FOS 遺伝子とLCN 2 遺伝子、FOS 遺伝子とNFIL 3 遺伝子、FOS 遺伝子とOPTN 遺伝子、FOS 遺伝子とPPP 1 R 1 5 A 遺伝子、FOS 遺伝子とTHBS 1 遺伝子、FOS 遺伝子とTINAGL 1 遺伝子、FOS 遺伝子とTLR 4 遺伝子、FOS 遺伝子とTLR 8 遺伝子、GLUL 遺伝子とHMOX 1 遺伝子、GLUL 遺伝子とHSP 9 0 A A 1 遺伝子、GLUL 遺伝子とHSPA 1 A 遺伝子、GLUL 遺伝子とHSPA 1 B 遺伝子、GLUL 遺伝子とLCN 2 遺伝子、GLUL 遺伝子とNFIL 3 遺伝子、GLUL 遺伝子とOPTN 遺伝子、GLUL 遺伝子とPPP 1 R 1 5 A 遺伝子、GLUL 遺伝子とTHBS 1 遺伝子、GLUL 遺伝子とTINAGL 1 遺伝子、GLUL 遺伝子とTLR 4 遺伝子、GLUL 遺伝子とTLR 8 遺伝子、HMOX 1 遺伝子とHSP 9 0 A A 1 遺伝子、HMOX 1 遺伝子とHSPA 1 A 遺伝子、HMOX 1 遺伝子とHSPA 1 B 遺伝子、HMOX 1 遺伝子とLCN 2 遺伝子、HMOX 1 遺伝子とNFIL 3 遺伝子、HMOX 1 遺伝子とOPTN 遺伝子、HMOX 1 遺伝子とPPP 1 R 1 5 A 遺伝子、HMOX 1 遺伝子とTHBS 1 遺伝子、HMOX 1 遺伝子とTINAGL 1 遺伝子、HMOX 1 遺伝子とTLR 4 遺伝子、HMOX 1 遺伝子とTLR 8 遺伝子、HSP 9 0 A A 1 遺伝子とHSPA 1 A 遺伝子、HSP 9 0 A A 1 遺伝子とHSPA 1 B 遺伝子、HSP 9 0 A A 1 遺伝子とLCN 2 遺伝子、HSP 9 0 A A 1 遺伝子とNFIL 3 遺伝子、HSP 9 0 A A 1 遺伝子とOPTN 遺伝子、HSP 9 0 A A 1 遺伝子とPPP 1 R 1 5 A 遺伝子、HSP 9 0 A A 1 遺伝子とTHBS 1 遺伝子、HSP 9 0 A A 1 遺伝子とTINAGL 1 遺伝子、HSP 9 0 A A 1 遺伝子とTLR 4 遺伝子、HSP 9 0 A A 1 遺伝子とTLR 8 遺伝子、HSPA 1 A 遺伝子とHSPA 1 B 遺伝子、HSPA 1 A 遺伝子とLCN 2 遺伝子、HSPA 1 A 遺伝子とNFIL 3 遺伝子、HSPA 1 A 遺伝子とOPTN 遺伝子、HSPA 1 A 遺伝子とPPP 1 R 1 5 A 遺伝子、HSPA 1 A 遺伝子とTHBS 1 遺伝子、HSPA 1 A 遺伝子とTINAGL 1 遺伝子、HSPA 1 A 遺伝子とTLR 4 遺伝子、HSPA 1 A 遺伝子とTLR 8 遺伝子、HSPA 1 B 遺伝子とLCN 2 遺伝子、HSPA 1 B 遺伝子とNFIL 3 遺伝子、HSPA 1 B 遺伝子とOPTN 遺伝子、HSPA 1 B 遺伝子とPPP 1 R 1 5 A 遺伝子、HSPA 1 B 遺伝子とTHBS 1 遺伝子、HSPA 1 B 遺伝子とTINAGL 1 遺伝子、HSPA 1 B 遺伝子とTLR 4 遺伝子、HSPA 1 B 遺伝子とTLR 8 遺伝子、LCN 2 遺伝子とNFIL 3 遺伝子、LCN 2 遺伝子とOPTN 遺伝子、LCN 2 遺伝子とPPP 1 R 1 5 A 遺伝子、LCN 2 遺伝子とTHBS 1 遺伝子、LCN 2 遺伝子とTINAGL 1 遺伝子、LCN 2 遺伝子とTLR 4 遺伝子、LCN 2 遺伝子とTLR 8 遺伝子、NFIL 3 遺伝子とOPTN 遺伝子、NFIL 3 遺伝子とPPP 1 R 1 5 A 遺伝子、NFIL 3 遺伝子とTHBS 1 遺伝子、NFIL 3 遺伝子とTINAGL 1 遺伝子、NFIL 3 遺伝子とTLR 4 遺伝子、NFIL 3 遺伝子とTLR 8 遺伝子、OPTN 遺伝子とPPP 1 R 1 5 A 遺伝子、OPTN 遺伝子とTHBS 1 遺伝子、OPTN 遺伝子とTINAGL 1 遺伝子、OPTN 遺伝子とTLR 4 遺伝子、OPTN 遺伝子とTLR 8 遺伝子、PPP 1 R 1 5 A 遺伝子とTHBS 1 遺伝子、PPP 1 R 1 5 A 遺伝子とTINAGL 1 遺伝子、PPP 1 R 1 5 A 遺伝子とTLR 4 遺伝子、PPP 1 R 1 5 A 遺伝子とTLR 8 遺伝子、THBS 1 遺伝子とTINAGL 1 遺伝子、THBS 1 遺伝子とTLR 4 遺伝子、THBS 1 遺伝子とTLR 8 遺伝子、TINAGL 1 遺伝子とT

LR 4 遺伝子、TINAGL 1 遺伝子とTLR 8 遺伝子、並びにTLR 4 遺伝子とTLR 8 遺伝子が挙げられる。

【0062】

3 個の遺伝子の組み合わせとしては、例えば、FKBP 5 遺伝子とLCN 2 遺伝子とNFIL 3 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とLCN 2 遺伝子とOPTN 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とLCN 2 遺伝子とPPP1R15A 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とLCN 2 遺伝子とTLR 4 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とLCN 2 遺伝子とTLR 8 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とNFIL 3 遺伝子とOPTN 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とNFIL 3 遺伝子とPPP1R15A 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とNFIL 3 遺伝子とTLR 4 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とNFIL 3 遺伝子とTLR 8 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とOPTN 遺伝子とPPP1R15A 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とOPTN 遺伝子とTLR 4 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とOPTN 遺伝子とTLR 8 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とPPP1R15A 遺伝子とTLR 4 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とPPP1R15A 遺伝子とTLR 8 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とTLR 4 遺伝子とTLR 8 遺伝子、LCN 2 遺伝子とNFIL 3 遺伝子とOPTN 遺伝子、LCN 2 遺伝子とNFIL 3 遺伝子とPPP1R15A 遺伝子、LCN 2 遺伝子とNFIL 3 遺伝子とTLR 4 遺伝子、LCN 2 遺伝子とNFIL 3 遺伝子とTLR 8 遺伝子、LCN 2 遺伝子とOPTN 遺伝子とPPP1R15A 遺伝子、LCN 2 遺伝子とOPTN 遺伝子とTLR 4 遺伝子、LCN 2 遺伝子とOPTN 遺伝子とTLR 8 遺伝子、LCN 2 遺伝子とPPP1R15A 遺伝子とTLR 4 遺伝子、LCN 2 遺伝子とPPP1R15A 遺伝子とTLR 8 遺伝子、LCN 2 遺伝子とLR 4 遺伝子とTLR 8 遺伝子、NFIL 3 遺伝子とOPTN 遺伝子とPPP1R15A 遺伝子、NFIL 3 遺伝子とOPTN 遺伝子とTLR 4 遺伝子、NFIL 3 遺伝子とOPTN 遺伝子とTLR 8 遺伝子、NFIL 3 遺伝子とPPP1R15A 遺伝子とTLR 4 遺伝子、NFIL 3 遺伝子とPPP1R15A 遺伝子とTLR 8 遺伝子、NFIL 3 遺伝子とTLR 4 遺伝子とTLR 8 遺伝子、OPTN 遺伝子とPPP1R15A 遺伝子とTLR 4 遺伝子、OPTN 遺伝子とPPP1R15A 遺伝子とTLR 8 遺伝子、OPTN 遺伝子とTLR 4 遺伝子とTLR 8 遺伝子、PPP1R15A 遺伝子とTLR 4 遺伝子とTLR 8 遺伝子が挙げられる。

【0063】

4 個の遺伝子の組み合わせとしては、例えば、FKBP 5 遺伝子とLCN 2 遺伝子とNFIL 3 遺伝子とOPTN 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とLCN 2 遺伝子とNFIL 3 遺伝子とPPP1R15A 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とLCN 2 遺伝子とNFIL 3 遺伝子とTLR 4 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とLCN 2 遺伝子とNFIL 3 遺伝子とTLR 8 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とLCN 2 遺伝子とOPTN 遺伝子とPPP1R15A 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とLCN 2 遺伝子とOPTN 遺伝子とTLR 4 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とLCN 2 遺伝子とOPTN 遺伝子とTLR 8 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とLCN 2 遺伝子とPPP1R15A 遺伝子とTLR 4 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とLCN 2 遺伝子とTLR 4 遺伝子とTLR 8 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とNFIL 3 遺伝子とOPTN 遺伝子とPPP1R15A 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とNFIL 3 遺伝子とOPTN 遺伝子とTLR 4 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とNFIL 3 遺伝子とOPTN 遺伝子とTLR 8 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とNFIL 3 遺伝子とPPP1R15A 遺伝子とTLR 4 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とNFIL 3 遺伝子とPPP1R15A 遺伝子とTLR 8 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とNFIL 3 遺伝子とTLR 4 遺伝子とTLR 8 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とOPTN 遺伝子とPPP1R15A 遺伝子とTLR 4 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とOPTN 遺伝子とPPP1R15A 遺伝子とTLR 8 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とOPTN 遺伝子とTLR 4 遺伝子とTLR 8 遺伝子、FKBP 5 遺伝子とPPP1R15A 遺伝子とTLR 4 遺伝子とTLR 8 遺伝子、LCN 2 遺伝子とNFIL 3 遺伝子とOPTN 遺伝子とPPP1R15A 遺伝子、LCN 2 遺伝子とNFIL 3 遺伝子とOPTN 遺伝子とTLR 4 遺伝子、LCN 2 遺伝子とNFIL 3 遺伝子とOPTN 遺伝子とTLR 8 遺伝子、LCN 2 遺伝子とNFIL 3 遺伝子とPPP1R15A 遺伝子とTLR 4 遺伝子、LCN 2 遺伝子と

10

10

20

30

40

50

7 個の遺伝子の組み合わせとしては、例えば、FKBP5 遺伝子とLCN2 遺伝子とNFIL3 遺伝子とOPTN 遺伝子とPPP1R15A 遺伝子とTLR4 遺伝子とTLR8 遺伝子が挙げられる。

【 0 0 6 7 】

以下の遺伝子（括弧内にはアクセッション番号を併記する）の塩基配列をそれぞれ、配列表の配列番号 1 から 5 1 に記載する。

ADAMTS1 (AF060152.1)	配列番号 1	
ADAMTS20 (NM_025003.3)	配列番号 2	
ADAMTS9 (AF261918.1)	配列番号 3	
ATF4 (NM_001675.2)	配列番号 4	
ATP2A2 (NM_0016881.3)	配列番号 5	
BCL2L11 (AF032458.1)	配列番号 6	
CASP9 (NM_032996.1)	配列番号 7	10
CHRD (NM_003741.2)	配列番号 8	
DDIT3 (NM_004083.4)	配列番号 9	
EIF2B2 (NM_014239.3)	配列番号 1 0	
ERN1 (NM_001433.3)	配列番号 1 1	
ID1 (NM_002165.2)	配列番号 1 2	
INHBB (NM_002193.2)	配列番号 1 3	
JUN (NM_002228.3)	配列番号 1 4	
NFATC1 (NM_172390.1)	配列番号 1 5	
PLAU (NM_002658.3)	配列番号 1 6	
PPP1R15A (NM_014330.3)	配列番号 1 7	20
THBS1 (NM_003246.2)	配列番号 1 8	
TP53 (NM_000546.4)	配列番号 1 9	
AGT (NM_000029.3)	配列番号 2 0	
ATF3 (NM_001674.2)	配列番号 2 1	
ATP6V0D1 (NM_004691.4)	配列番号 2 2	
CARHSP1 (NM_014316.2)	配列番号 2 3	
CCRN4L (NM_012118.2)	配列番号 2 4	
CD38 (NM_001775.2)	配列番号 2 5	
CHST15 (NM_015892.3)	配列番号 2 6	
CLIC4 (NM_013943.2)	配列番号 2 7	30
CTGF (NM_001901.2)	配列番号 2 8	
FKBP5 (U42031.1)	配列番号 2 9	
FOS (NM_005252.3)	配列番号 3 0	
FOSB (NM_006732.2)	配列番号 3 1	
FOXO1 (NM_002015.3)	配列番号 3 2	
GLUL (NM_002065.5)	配列番号 3 3	
HMOX1 (NM_002133.2)	配列番号 3 4	
HSP90AA1 (NM_005348.3)	配列番号 3 5	
HSPA1A (BC002453.2)	配列番号 3 6	
HSPA1B (NM_005346.4)	配列番号 3 7	40
LCN2 (NM_005564.3)	配列番号 3 8	
LGALS3 (NM_002306.3)	配列番号 3 9	
MT1E (NM_175617.3)	配列番号 4 0	
NFIL3 (NM_005384.2)	配列番号 4 1	
NR4A1 (L13740.1)	配列番号 4 2	
NR4A3 (U12767.1)	配列番号 4 3	
OPTN (NM_021980.4)	配列番号 4 4	
PLK3 (NM_004073.2)	配列番号 4 5	
SDC4 (NM_002999.2)	配列番号 4 6	
SMAD3 (NM_005902.3)	配列番号 4 7	50

TINAGL1 (NM_022164.2) 配列番号 4 8

TLR4 (U88880.1) 配列番号 4 9

TLR8 (NM_016610.2) 配列番号 5 0

ZBTB16 (NM_006006.4) 配列番号 5 1

【0068】

＜遺伝子の発現変動の分析＞

本発明における遺伝子の発現の変動（発現変動）とは、例えば、遺伝子の発現量、発現強度又は発現頻度などの遺伝子の測定可能な特性や特徴の変動（増加又は減少）を示す。

通常、遺伝子の発現変動の分析は、当該遺伝子の遺伝子産物の発現量を測定し、その発現量を補正し、その発現変動量を算出することにより可能である。

10

【0069】

＜遺伝子産物の発現量の測定＞

「遺伝子産物」とは、転写産物又は翻訳産物のいずれでもよく、例えば、遺伝子の発現変動の分析とは、通常、転写産物や翻訳産物の発現量を測定し、その発現量を補正し、その発現変動量を算出することを示す。

「転写産物」とは、遺伝子から転写の過程を経て生じる遺伝子、通常、RNAを示し、好ましくはmRNAを示す。

「翻訳産物」とは、遺伝子から転写、翻訳の過程を得て生じるタンパク質を示し、未修飾であっても翻訳後修飾されていてもよい。

「翻訳後修飾」としては、リン酸、糖、糖鎖、リン脂質、脂質などによる修飾が挙げられる。

20

【0070】

遺伝子産物の発現量などを測定する方法としては、転写産物を検出し得るプローブやプライマーを用いる方法、翻訳産物を認識する抗体や結合する物質を用いる方法などがある。

「プローブ」とは、ハイブリダイゼーションによって、転写産物の検出の用に供される核酸分子を示す。本発明に用いられるプローブとしては、遺伝子の特異的に検出するため、少なくとも10塩基長以上の長さを有するものが好ましい。

「プライマー」とは、核酸の合成反応にあたりヌクレオチド鎖が伸長していく出発点として働く核酸分子を示す。本発明に用いられるプライマーとしては、遺伝子の特異的に増幅するため、少なくとも10塩基長以上の長さを有するものが好ましい。

30

プローブやプライマーとしては、市販のプローブやプライマーを用いてもよいし、遺伝子データベースなどの配列情報をもとにクローニング又は化学合成したものでもよい。プローブやプライマーは、当業者に公知の技術に従って設計することができる。これらのプローブやプライマーは、適当な標識が施されていてもよい。

「標識」としては、酵素標識、放射性標識、蛍光標識などが挙げられる。また、ビオチン、リン酸、アミンなどにより標識されていてもよい。

【0071】

「転写産物を検出し得るプローブやプライマーを用いる方法」の一例としては、プライマーを用いた遺伝子の増幅手法を用いる方法が挙げられる。ここでの遺伝子の転写産物の測定にはRNAのみでなく、RNAから調整されたcRNA、cDNA又はaRNAを測定する場合も含まれる。測定のためには先ずRNAを抽出するが、RNAは、当該分野で公知の方法によって抽出してもよいし、市販のキットを用いて行ってもよい。対照として用いられる転写産物は、同様の抽出及び精製方法により調製してもよいし、市販のものを用いてもよい。

40

【0072】

「プライマーを用いた遺伝子の増幅手法」としては、特に限定されないが、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）法の原理を利用した方法（PCR法、Q-PCR法、RT-PCR法など）、LAMP法、ICAN法などを挙げることができる。増幅は遺伝子産物が検出可能なレベルになるまで行う。これらの増幅手法の条件や方法は、当業者に公知であり、

50

当業者であれば適宜設定することができる。

【0073】

転写産物の発現量を測定する他の方法としては、プローブを用いたサザンハイブリダイゼーション法やノーザンハイブリダイゼーション法などを挙げることができる。これらのハイブリダイゼーション手法の条件や方法は、当業者に公知であり、当業者であれば適宜設定することができる。

【0074】

「翻訳産物を認識する抗体や結合する物質を用いる方法」の一例としては、抗体を用いて特定の遺伝子の翻訳産物の発現量などを測定する方法が挙げられる。翻訳産物を認識する抗体は、ポリクローナル抗体又はモノクローナル抗体のどちらでもよい。翻訳産物に対する抗体が市販されている場合には、市販の抗体を用いてもよい。ポリクローナル抗体やモノクローナル抗体は、当該分野で周知の方法によって作製することができる。これらの抗体は修飾されていてもよい。

【0075】

翻訳産物の発現量を測定する他の方法としては、翻訳産物の活性を測定してもよい。ここでいう「翻訳産物の活性」とは、キナーゼ活性、プロテアーゼ活性、サイトカイン活性などが挙げられる。他の方法として、公知の二次元電気泳動、LC/MS質量分析法、クロマトグラフィー、核磁気共鳴分光法、免疫沈降法、ELISAなどの方法でもよく、特に限定されない。

【0076】

<遺伝子産物の発現量の補正>

遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較する場合には、予め発現量などの測定値を公知の方法によって補正することができる。補正により、独立した複数の生体試料における遺伝子の発現変動をより正確に比較することが可能となる。測定値の補正は、疲労の状態の有無において発現量などが大きく変動しない遺伝子、例えば、ハウスキーピング遺伝子の発現量などの測定値に基づいて、特定の遺伝子の発現量などの測定値を補正することにより行われる方法や、全測定値の平均値及び分散値を用いる標準化処理方法などがあり、その他にも公知の方法がある。

「ハウスキーピング遺伝子」としては、グリセルアルデヒド3-リン酸脱水素酵素 (GAPDH) や β -アクチン (ACTB) などを挙げることができる。

【0077】

<遺伝子の発現変動の比較>

遺伝子の発現変動の比較は、例えば、(i) 遺伝子の発現量や発現変動量の増減の比較、(ii) 遺伝子の発現量や発現変動量が増加又は減少している遺伝子数の増減の比較、(iii) 統計的処理、により可能である。

【0078】

特定の遺伝子の発現量の増減を比較する方法としては、例えば、生体試料 (A) において発現している遺伝子 (x) の発現量などが、生体試料 (B) において発現している当該遺伝子 (x) の発現量と比較して、“増加”、“減少”又は“変動なし”と判断する方法が挙げられる。

また、特定の遺伝子の発現変動量を比較する方法としては、例えば、生体試料 (A) において発現している遺伝子 (x) の発現量と比較対照の発現量との差 (発現変動量 A) などが、生体試料 (B) において発現している当該遺伝子 (x) の発現量と比較対照の発現量との差 (発現変動量 B) と比較して、“増加”、“減少”又は“変動なし”と判断する方法が挙げられる。

ここでの「比較対照の発現量」とは、特定の遺伝子の疲労の状態の対照体由来の生体試料における発現量又は非疲労の状態の健常対照体由来の生体試料における発現量などを示す。

【0079】

遺伝子の発現量や発現変動量の“増加”、“減少”又は“変動なし”の判断をする際

10

20

30

40

50

には、一定の倍率をもって“増加”、“減少”又は“変動なし”と判断する Fold Change 比較の方法と統計処理により判断する方法が好ましい。

「Fold Change 比較の方法」とは、例えば、生体試料 (B) において発現している遺伝子 (x) の発現量が生体試料 (A) において発現している遺伝子 (x) の発現量と比較して 1.3 倍以上の比率で増加している場合に、生体試料 (B) において発現している遺伝子 (x) の発現量は、30.0% 以上に“増加”と判断する方法を意味する。また、1.3 倍以上の比率で減少している場合には、-23.1% 以下に“減少”と判断することができる。比率は 1.3 倍以上が好ましいが、特に限定されない。

【0080】

統計的処理には、2 群間以上で比較することが可能である方法であれば、どのような方法であってもよい。例えば、T-検定 (2 群の場合)、分散分析 (3 群以上の場合)、多変量解析、クラスタリング、判別分析などの方法、回帰直線を求める方法、相関係数を求める方法など、公知の方法が広く知られている。これらの統計的処理における基準の設定は、当業者であれば、適宜行うことができる。

【0081】

< 2 個以上の遺伝子の発現変動の分析及び／又は比較 >

2 個以上の遺伝子の転写産物などの発現変動を分析及び／又は比較する場合にも、RT-PCR 法などのプライマーを用いた遺伝子の増幅手法を選択することができる。しかし、特に測定する遺伝子の数が多い場合には、同時に複数の遺伝子の転写産物などを測定することができる技術、例えば、プローブやプライマーが固定化された担体により同時に複数の遺伝子の転写産物の発現量などを測定する方法を用いることも可能である。

担体としては、例えば、ガラス板、プラスチック板、メンブレン、繊維、マイクロビーズ又はシリコンチップなどを使用することができる。これらの好ましい例としては、ハイスループット qPCR ダイナミックアレイ、RNA カード、DNA マイクロアレイチップなどを用いる方法が挙げられる。DNA マイクロアレイチップとしては、特定の遺伝子の転写産物の発現量などを測定できるものであれば、市販のものを用いてもよいし、表 1、表 4、表 5 又は表 6 に記載の遺伝子より選ばれる特定の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子を含む DNA マイクロアレイチップなどを作製してもよい。

【0082】

2 個以上の遺伝子の翻訳産物などを測定する場合においても、抗体を用いて特定の遺伝子の翻訳産物の発現量などを測定する方法を選択することができるが、担体にこれらの抗体を固定化した抗体アレイチップを用いることも可能である。

【0083】

DNA マイクロアレイチップなどを用いて複数の遺伝子の遺伝子産物の発現量などを同時に測定する際には、標準化操作により各遺伝子の遺伝子産物の発現量などを補正することが望ましい。また、シグナル強度の低い部分は、バックグラウンドの影響を大きく受けるので、測定データを棄却するレベル (カットオフ値) を設け、シグナル強度がカットオフ値を超えるデータのみを採用することが好ましい。

【0084】

発現変動を比較する遺伝子が 2 個以上である場合、例えば、生体試料 (A) において発現している遺伝子 (x) 及び遺伝子 (y) の発現量や発現変動量と、生体試料 (B) において発現している遺伝子 (x) 及び遺伝子 (y) の発現量や発現変動量とを比較して、それぞれの遺伝子の発現量や発現変動量において“増加”、“減少”又は“変動なし”と判断することができる。

また、それぞれの遺伝子の発現量や発現変動量の平均値又は中央値を分析及び／又は比較することにより“増加”、“減少”又は“変動なし”と判断することができる。さらには、発現変動している遺伝子の数を比較し、全体としての発現挙動、発現量が発現している遺伝子の占める割合など、遺伝子の発現量の状態を判定できる情報、即ち遺伝子の発現変動の特徴 (発現強度、発現頻度、発現パターンなど) により判断することもできる。

【0085】

<疲労の程度の判定方法>

本発明においては、疲労の程度が未知である被験体由来の生体試料における、表1、表4、表5又は表6に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる1個以上の特定の遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較することによって“疲労の程度”を判定する。

【0086】

表1、表4、表5又は表6に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる1個の特定の遺伝子の発現変動量又は発現変動率を分析及び／又は比較しても良く、2個以上の特定の遺伝子それぞれの発現変動量又は発現変動率、発現変動量又は発現変動率の平均値又は中央値を分析及び／又は比較しても良い。

ここでの「発現変動量」とは、被験体由来の生体試料における特定の遺伝子の発現量と、非疲労の状態の健常対照体由来の生体試料における当該遺伝子の発現量との差を示す。

「発現変動率」とは、特定の遺伝子の発現変動量の疲労の状態の対照体由来の生体試料における発現変動量に占める割合を示す。

【0087】

具体的には、被験体由来の生体試料における特定の遺伝子の発現量が非疲労の状態の健常対照体における当該遺伝子の発現量と比較して増加又は減少している場合に、被験体は疲労の状態であると判定し、その発現変動量又は発現変動率を疲労の程度とすることができる。

また、被験体由来の生体試料における遺伝子の発現量が、疲労状態の対照体及び／又は非疲労の状態の健常対照体における発現量のどちらに近いかに基づいて行われ、疲労状態の対照体に近い発現量の場合に、被験体は疲労の状態であると判定し、その発現変動量又は発現変動率を疲労の程度とすることができる。

また、被験体由来の生体試料における遺伝子の発現変動量又は発現変動率が、疲労状態の対照体における発現変動量又は発現変動率に近い場合に、被験体は疲労の状態であると判定し、その発現変動量又は発現変動率を疲労の程度とすることができる。

また、被験体由来の生体試料における2個以上の遺伝子の発現変動量又は発現変動率の平均値又は中央値が、疲労状態の対照体における2個以上の当該遺伝子の発現変動量又は発現変動率の平均値及び又は中央値に近い場合に、疲労の状態であると判定し、その発現変動量又は発現変動率の平均値又は中央値を疲労の程度とすることができる。

また、表1、表4、表5又は表6に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる2個以上の特定の遺伝子について、少なくとも2個以上の当該遺伝子のうち発現変動量又は発現変動率が異なる遺伝子の数を分析及び／又は比較してもよい。

これらによると、特定の遺伝子の発現変動量又は発現変動率が増加している程、疲労の程度は増加していると判定することができる。

【0088】

疲労の程度が異なる状態における遺伝子の発現量又はその特徴から、前もって疲労の程度を判定できる資料（データベース）を作成し、被験体由来の生体試料における遺伝子の発現量又はその特徴を、上記資料を用いて分析及び／又は比較することにより、簡易に被験体の疲労の程度を判定することも可能である。

【0089】

「疲労の程度を判定できる資料」を作成する方法としては、例えば、表1、表4、表5又は表6に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる1個以上の特定の遺伝子において、

(a) 非疲労の状態の複数の健常対照体由来の生体試料における遺伝子の発現量を測定し、発現量の平均値又は中央値を算出する工程、

(b) 生理的疲労を呈している複数の被験体由来の生体試料における遺伝子の発現量を測定し、作業効率の低下の程度が同程度と判断される複数の被験体由来の生体試料ごとに遺伝子の発現量の平均値又は中央値を算出する工程、

(c) 非疲労の状態の健常対照体由来の生体試料における遺伝子の発現量の平均値又は中

10

20

30

40

50

央値と、作業効率の低下の程度が同程度と判断される生理的疲労を呈している被験体の発現量の平均値又は中央値との差（発現変動量）を算出する工程、

（d）作業効率の低下の程度が特に著しい複数の被験体由来の生体試料における遺伝子の発現変動量を“疲労の程度100”又は“発現変動率100%”と変換する工程、及び、

（e）作業効率の低下の程度が異なる生理的疲労を呈している被験体由来の生体試料における遺伝子の発現変動量の“疲労の程度100（発現変動率100%）”に相当する疲労の状態にある遺伝子の発現変動量に占める割合（発現変動率）より、多段階で疲労の程度を判定する手順を作成する工程、

により作成する方法がある。

【0090】

疲労の程度を判定できる資料を用いて、疲労の程度が未知の被験体の疲労の程度を判定する方法としては、例えば、表1、表4、表5又は表6に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる1個以上の特定の遺伝子において、

（f）疲労の程度が未知の被験体由来の生体試料における遺伝子の発現量を測定する工程、

（g）疲労の程度が未知の被験体における遺伝子の発現量と、非疲労の状態の健常対照体由来の生体試料における遺伝子の発現量（疲労の程度0に相当する発現量）との差（発現変動量）を算出する工程、

（h）疲労の程度が未知の被験体における発現変動量の“疲労の程度100”に相当する発現変動量に占める割合（発現変動率）を算出する工程、及び、

（i）疲労の程度が未知の被験体における発現変動量が0に近似している場合（発現変動率が0%に近似している場合）に被験体は非疲労の状態であると判定し、“疲労の程度100”に相当する変動変動量に近似している場合（“発現変動率100%”に近似している場合）に“被験体は疲労の状態である”と判定する工程、

により疲労の程度を判定する方法がある。

【0091】

この方法によれば、非疲労の状態の被験体由来の生体試料を用いて疲労の程度を判定した場合には“発現変動率0%”、即ち“疲労の程度0”の判定となりやすく、疲労困憊の状態の被験体の生体試料を用いて疲労の程度を判定した場合には“発現変動率100%”以上、即ち“疲労の程度100”以上の判定となりやすい。

【0092】

また、発現量や発現変動量が異なる2個以上の遺伝子を組み合わせて、当該遺伝子における“発現変動率”や“疲労の程度”を算出し、当該遺伝子の“発現変動率”や“疲労の程度”の平均値又は中央値などを算出することによっても、多段階で疲労の程度を判定することが可能となる。

【0093】

従って、表1、表4、表5又は表6に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる1個以上の特定の遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較することにより、多段階で疲労の程度を判定することが可能であり、疲労の程度が未知の被験体における発現変動量が、疲労の程度100に相当する発現変動量の50%（発現変動率50%）であった場合に、被験体は“疲労の程度50”と判定し、疲労の程度100に相当する発現変動量の150%（発現変動率150%）であった場合に、被験体は“疲労の程度150”と判定することが可能となる。

【0094】

さらには、例えば、“疲労の程度50”以上と判定された被験体においては休息の確保、栄養補給や摂取を適切に行うことを選択したり、“疲労の程度75”以上と判定された被験体においては医薬品投与を適切に行うことを選択することなどが可能となり、疲労の回復、改善及び予防が容易に可能となる。

【0095】

また、本発明にかかる疲労の程度の判定方法の一部あるいは全部をコンピューター等の

10

20

30

40

50

従来公知の演算装置（情報処置装置）を利用して用いることも可能であることは、当業者には明らかである。

【0096】

本発明にかかる疲労の程度の判定方法は、血液などの生体試料における遺伝子の発現量を測定する工程と、生体試料における遺伝子の発現量の測定結果に応じて、発現変動量や発現変動率の算出による被験体の疲労の程度を判定する工程とを含むが、特に発現変動量や発現変動率の算出による被験体の疲労の程度を判定する工程に演算装置を利用することができる。

【0097】

＜被験物質の疲労に対する有効性の判定方法＞

本発明によれば、被験体に被験物質を投与し、当該被験体由来の生体試料における表1、表4、表5又は表6に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる1個以上の特定の遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較し、被験物質を投与した被験体の疲労の程度の判定をすることによって、当該被験物質の疲労に対する有効性（効果）を判定することができる。

【0098】

本発明における「被験物質」とは、本発明の方法を用いて被験体の疲労を回復、改善又は予防し得るか否かを評価するために用いる物質を意味し、ヒトを含む哺乳動物に投与可能な物質であれば特に限定されず、微生物、動物、植物などの天然成分、有機化合物、ビタミン類、アミノ酸類、ミネラル類、脂質類、糖質類、タンパク質類、核酸類などを挙げることができる。

【0099】

被験物質の疲労に対する有効性を判定する方法としては、疲労の状態である被験体において、被験物質の投与前と投与後における特定の遺伝子の発現量、発現変動量又は発現変動率を比較し、被験物質を投与した前後の発現変動量や発現変動率が、疲労の状態における特定の遺伝子の発現変動量や発現変動率より減少している場合に、被験物質は疲労に対して有効であると判定することができる。

また、被験物質を投与する前に、疲労の状態とする被験体を被験物質投与群と被験物質非投与群に分け、これらの群における特定の遺伝子の発現量、発現変動量又は発現変動率を比較し、被験物質を投与した群の発現変動量又は発現変動率が、被験物質を投与しなかった群の発現変動量又は発現変動率より減少している場合に、被験物質は疲労に対して有効であると判定することができる。

尚、被験物質投与群においては、複数の投与用量又は複数の被験物質の疲労に対する有効性を判定するために、群の数を適宜増減してもよい。

【0100】

被験物質の疲労に対する有効性の判定を身体作業による身体への負荷と組み合わせて行う場合、被験物質の投与の時期は、被験物質の特性に応じて、身体作業の前でも後でもよく、前後でもよく、投与の時期は特に限定されない。

【0101】

疲労の状態に特有の又は特徴的な遺伝子の発現変動があることから、被験物質などを投与した後にそのような疲労の状態に特徴的な発現変動が減少していることは、被験物質の疲労に対する有効性を判定するための条件である。

これらによると、被験物質を投与した被験体の特定の遺伝子の発現変動量又は発現変動率が減少している程、被験物質は疲労に対して有効であると判定することができる。

【0102】

本発明による被験物質の疲労に対する有効性を判定する方法についての具体的な態様を以下に示すが、本発明の方法はこれらに限定されるものではない。

【0103】

（第一の態様）

（a）被験物質又はこれを含む製剤を投与した疲労の状態である被験体由来の生体試料に

10

20

30

40

50

おける表 1、表 4、表 5 又は表 6 に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれた 1 個以上の特定の遺伝子の発現量を測定する工程、

(b) 被験物質又はこれを含む製剤を投与しなかった疲労の状態である被験体由来の生体試料における工程 (a) と同一の 1 個以上の遺伝子の発現量を測定する工程、

(c) 工程 (a) にて測定した遺伝子の発現量と、非疲労の状態の健常被験体由来及び／又は疲労の状態の被験体由来の生体試料における遺伝子の発現量と比較し、被験物質又はこれを含む製剤を投与した被験体における遺伝子の発現変動量又は発現変動率を算出する工程、

(d) 工程 (b) にて測定した遺伝子の発現量と、非疲労の状態の健常被験体由来及び／又は疲労の状態の被験体由来の生体試料における遺伝子の発現量と比較し、被験物質又はこれを含む製剤を投与しなかった被験体における遺伝子の発現変動量又は発現変動率を算出する工程、

(e) 被験物質又はこれを含む製剤を投与した被験体由来の生体試料における遺伝子の発現変動量又は発現変動率が、被験物質又はこれを含む製剤を投与しなかった被験体由来の生体試料における遺伝子の発現変動量又は発現変動率と比較して減少している場合に、被験物質又はこれを含む製剤を投与した被験体の疲労の程度は減弱又は消失していると判定する工程、及び、

(f) 工程 (e) において、被験物質又はこれを含む製剤を投与した被験体の疲労の程度は減弱又は消失していると判定した場合に、被験物質又はこれを含む製剤は疲労に対して有効であると判定する工程、

を含む、被験物質の疲労に対する有効性を判定する方法。

ここで、工程 (a) と工程 (b) における疲労状態の被験体は同一の個体であっても、別々の個体であっても良い。

【0104】

(第二の態様)

(a) 被験物質又はこれを含む製剤を投与した疲労の状態である被験体由来の生体試料における表 1、表 4、表 5 又は表 6 に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれた 1 個以上の特定の遺伝子の発現量を測定する工程、

(b) 被験物質又はこれを含む製剤を投与した非疲労の状態である被験体由来の生体試料における工程 (a) と同一の 1 個以上の遺伝子の発現量を測定する工程、

(c) 工程 (a) 及び工程 (b) にて測定した遺伝子の発現量より発現変動量を算出する工程、

(d) 工程 (c) にて算出した被験物質又はこれを含む製剤を投与した被験体の疲労有無における発現変動量と、非疲労の状態の健常被験体及び疲労の状態の被験体における発現変動量を比較する工程、

(e) 被験物質又はこれを含む製剤を投与した被験体の疲労有無における発現変動量が、非疲労の状態の健常被験体及び疲労の状態の被験体における遺伝子の発現変動量と比較して減少している場合に、被験物質又はこれを含む製剤を投与した被験体の疲労の程度は減弱又は消失していると判定する工程、及び、

(f) 工程 (e) において、被験物質又はこれを含む製剤を投与した被験体の疲労の程度は減弱又は消失していると判定した場合に、被験物質又はこれを含む製剤は疲労に対して有効であると判定する工程、

を含む、被験物質の疲労に対する有効性を判定する方法。

ここで、工程 (a) と工程 (b) における疲労状態の被験体は同一の個体であっても、別々の個体であっても良い。

【0105】

発現量、発現変動量又は発現変動率が異なる 2 個以上の遺伝子を組み合わせて、各遺伝子における“発現変動率”や“疲労の程度”を算出し、それら 2 個以上の遺伝子の“発現変動率”や“疲労の程度”の平均値又は中央値などを算出することによっても、被験物質の疲労に対する有効性を判定することが可能である。

具体的な態様を以下に示す、

【0106】

(第三の態様)

(a) 被験物質又はこれを含む製剤を投与した疲労の状態である被験体由来の生体試料における表1、表4、表5又は表6に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる2個以上の特定の遺伝子の発現量を測定する工程、

(b) 工程(a)にて測定した各遺伝子の発現量と、非疲労の状態の健常被験体及び疲労の状態の被験体由来の生体試料における当該遺伝子の発現量と比較し、被験物質又はこれを含む製剤を投与した被験体由来の生体試料における当該遺伝子の発現変動量又は発現変動率を算出する工程、

(c) 工程(b)にて測定した各遺伝子の発現変動量又は発現変動率において、平均値又は中央値を算出する工程、

(d) 被験物質又はこれを含む製剤を投与しなかった疲労の状態である被験体由来の生体試料における工程(a)と同一の2個以上の遺伝子の発現量を測定する工程、

(e) 工程(d)にて測定した各遺伝子の発現量と、非疲労の状態の健常被験体及び疲労の状態の被験体由来の生体試料における当該遺伝子の発現量と比較し、被験物質又はこれを含む製剤を投与しなかった被験体由来の生体試料における当該遺伝子の発現変動量又は発現変動率を算出する工程、

(f) 工程(e)にて測定した各遺伝子の発現変動量又は発現変動率において、平均値又は中央値を算出する工程、

(g) 被験物質又はこれを含む製剤を投与した被験体における発現変動量又は発現変動率の平均値などが、被験物質又はこれを含む製剤を投与しなかった被験体における発現変動量又は発現変動率の平均値などと比較して減少している場合に、被験物質又はこれを含む製剤を投与した被験体の疲労の程度は減弱又は消失していると判定する工程、及び、

(h) 工程(g)において、被験物質又はこれを含む製剤を投与した被験体の疲労の程度は減弱又は消失していると判定した場合に、被験物質又はこれを含む製剤は疲労に対して有効であると判定する工程、

を含む、被験物質の疲労に対する有効性を判定する方法。

ここで、工程(a)と工程(d)における疲労状態の被験体は同一の個体であっても、別々の個体であっても良い。

【0107】

この方法によれば、疲労に対する有効性(効果)が高い被験物質を投与した疲労状態の被験体由来の生体試料を用いて疲労の程度を判定した場合には、“疲労の程度75(発現変動率75%)”以下、さらには“疲労の程度50(発現変動率50%)”以下の判定となり、疲労を増悪させる被験物質を投与した疲労状態の被験体由来の生体試料を用いて疲労の程度を判定した場合には“疲労の程度150(発現変動率150%)”以上の判定となりやすい。

従って、表1、表4、表5又は表6に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる1個以上の特定の遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較することにより、多段階で被験物質の疲労に対する有効性を判定することが可能となる。

【0108】

<疲労を回復、改善又は予防し得る物質又はこれを含む製剤の探索方法>

本発明においては、被験体に被験物質を投与し、被験体由来の生体試料における表1、表4、表5又は表6に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる1個以上の遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較し、当該遺伝子の発現変動量を減弱又は消失させる物質を、疲労を回復、改善又は予防し得る候補物質として選択することによって、疲労を回復、改善又は予防し得る物質を探索することができる。

【0109】

被験体としては、好ましくはヒト又は非ヒト哺乳動物であり、より好ましくはマウス、ラット又はヒトである。生体試料としては、血液、心筋、骨格筋、肝臓又は細胞などが好

10

20

30

40

50

ましく、より好ましくは血球を含む血液である。複数の被験物質から探索する際には、培養可能な細胞を用いることがさらに好ましい。

【0110】

表1、表4、表5又は表6に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる1個以上の特定の遺伝子の発現変動を解析するためには、これらの遺伝子を発現変動させることが望ましく、疲労の状態における特定の遺伝子の発現変動の特徴と類似させるための処置を施すことがより望ましい。

このような処置としては、例えば、走行、遊泳、跳躍などの運動を身体に負荷させることにより疲労を惹起し得る方法や随意収縮及び電気刺激により筋疲労を惹起し得る方法、睡眠や休息を除去する方法、栄養を低減する方法などが挙げられる。細胞の遺伝子を発現変動させる処置としては、疲労における生理学的メカニズムと類似の処理が好ましい。

10

【0111】

ヒト又は非ヒト哺乳動物への被験物質の投与は、経口投与又は非経口投与のいずれでもよく、投与時期は、遺伝子の発現量などを変動させる処置の前でも後でもよく、前後に投与してもよい。細胞培養培地への被験物質の添加においても、遺伝子の発現量を変動させる処置の前でも後でもよく、前後に添加してもよい。

【0112】

疲労の程度を判定できる資料を用いて疲労を回復、改善又は予防し得る物質又はこれを含む製剤の探索をすることも可能である。

この方法によれば、疲労に対して有効である被験物質を投与した疲労状態の被験体由来の生体試料を用いて疲労の程度を判定した場合には、被験体は“疲労の程度75（発現変動率75%）”以下、さらには、“疲労の程度50（発現変動率50%）”以下の判定となりやすく、疲労を増悪させる被験物質を投与した疲労状態の被験体由来の生体試料を用いて疲労の程度を判定した場合には、被験体は“疲労の程度150（発現変動率150%）”以上の判定となりやすい。

20

また、発現量、発現変動量又は発現変動率が異なる2個以上の遺伝子を組み合わせて、各遺伝子における“疲労の程度”を算出し、それら2個以上の遺伝子の“疲労の程度”の平均値又は中央値などを算出することによっても、被験物質などを選択することが可能である。

【0113】

従って、表1、表4、表5又は表6に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる1個以上の特定の遺伝子の発現変動を減弱又は消失させる被験物質を選択することにより、疲労を回復、改善又は予防し得る物質を選択することが可能となる。

30

【0114】

<疲労判定試薬及び疲労判定キット>

本発明によれば、表1、表4、表5又は表6に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる1個以上の遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較するための疲労判定試薬又は疲労判定キットが提供される。

【0115】

本発明の疲労判定試薬又は疲労判定キットには、表1、表4、表5又は表6に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる1個以上の遺伝子の転写産物に特異的なプローブ又はプライマーなど、又は上記遺伝子の翻訳産物に特異的な抗体などが含まれている。

40

本発明の疲労判定試薬又は疲労判定キットには、更に所望により、標識、標識二次抗体、担体、サンプル希釈液、酵素基質、反応停止液、標準物質、遺伝子の発現量や特徴などから疲労の程度（発現変動率）を判定するための資料などを含めてもよい。さらに必要に応じて、洗浄バッファー、保存剤、防腐剤などを加えることもできる。

本発明の疲労判定試薬又は疲労判定キットに含まれるプライマー、プローブ、抗体などは、1種のみでもよいし、2種以上を組み合わせてもよい。これらは、固体でも液体でもよく、単一又複数の固相上に固定されているもの、例えば、マイクロタイタープレートの

50

ようなプレートに個別に分注された状態となってもよいし、RNAカードやDNAマイクロアレイチップに固定された状態でもよい。

【0116】

本発明にかかる疲労判定キットは、被験体の血液などの生体試料を採取するための手段を含んでいてもよい。

また、疲労判定キットの包装材に付されたラベル又は添付された文書に、生体試料における遺伝子の発現変動を指標として被験体の疲労の程度を判定するために使用できることを表示していてもよい。

さらに、本発明にかかる疲労判定キットは、コンピューターなどの従来公知の演算装置を用いてなるキットとなってもよい。

【0117】

<疲労のバイオマーカー>

本発明においては、疲労の程度が未知の被験体由来の生体試料において、表1、表4、表5又は表6に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる1個以上の特定の遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較することにより、被験体の疲労の程度を判定することができる。従って、表1、表4、表5又は表6に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる1個以上の特定の遺伝子及びそれらの遺伝子産物は、疲労のバイオマーカー（生物学的指標）として用いることができる。

【0118】

「バイオマーカー」とは、例えば、通常の生物学的過程、病理学的過程、もしくは治療介入に対する薬理学的応答の指標として、客観的に測定され評価される特性である。即ち、正常なプロセスや病的プロセス、あるいは治療に対する薬理学的な反応の指標として客観的に測定・評価される項目であり、治癒の程度を特徴づけるバイオマーカーは新薬の臨床試験での有効性を確認するためのサロゲートマーカーとして使われる項目である。バイオマーカーは、疾患にかかった後の治療効果の判定だけでなく、疾患を未然に防ぐための日常的な指標として疾患の予防にも用いることができる。

【0119】

また、一般的に、「ゲノムバイオマーカー」とは、正常な生物学的過程、発病過程、及び／又は治療介入等への反応を示す指標となる、DNAもしくはRNAの測定可能な特性である。ゲノムバイオマーカーは、例えば、遺伝子の発現、遺伝子の機能、遺伝子の制御により測定され、1つまたは複数の特性から構成され得る。RNAの特性としては、RNA配列、RNA発現量、RNAプロセッシング、マイクロRNAが含まれるが、これらに限定されるものではない。

【0120】

従って、疲労の状態の被験体と非疲労の状態の健常対照体との比較において発現量などが著しく異なっている遺伝子、疲労の形成又は回復過程において発現量などが著しく異なっている遺伝子は、疲労の治療標的候補遺伝子として同定することもできる。

【0121】

以下の実施例により本発明を更に詳細に説明するが、本発明は実施例によって限定されるものではない。

【実施例】

【0122】

試験例1：遺伝子リスト作成及び疲労の程度の判定

身体作業による肉体疲労の状態としたマウス由来の骨格筋における遺伝子の発現量を、DNAマイクロアレイを用いて測定し、疲労の状態において発現増加又は発現減少する遺伝子を選定し、疲労の程度の判定に用いる遺伝子リストを作成し、疲労の程度の判定方法を開発した。

【0123】

実験動物には、7から11週齢のBALB/c系マウス、オス（日本エスエルシー（株））（14匹）を用いた。実験動物は入荷後、試験期間を通して標準飼料（オリエンタル

10

20

30

40

50

酵母工業（株））及び滅菌水を自由に摂取させ、少なくとも1週間の馴化を行った。遺伝子リストの作成及び疲労の程度の判定方法の開発は、（1）走行運動の負荷、（2）骨格筋の採取、（3）RNAの抽出、（4）遺伝子の発現量の分析及び比較、及び（5）遺伝子リストの作成、の工程よりなる。

【0124】

（1）走行運動の負荷

実験には、安静（非疲労）マウス（6匹）、走行運動負荷直後マウス（2匹）、走行運動負荷1時間後マウス（6匹）を用い、走行運動負荷直後マウス及び走行運動負荷1時間後マウスに走行運動を負荷した。走行運動の負荷は、マウス・ラット用トレッドミル走行装置（室町機械（株）又はバイオリサーチセンター（株））を用いて行った。走行運動の負荷条件は、傾斜角度10度、走行開始速度9メートル／分、漸増ステップ3メートル／4分とし、高強度（高速）運動により走行困難に至るまで負荷した。

尚、走行訓練を3から4日間隔で4回実施し、疲労を惹起させる走行運動の負荷は最終走行訓練の3から4日後に実施した。走行訓練は全てのマウスに行った。

【0125】

（2）骨格筋の採取

走行運動負荷直後マウスは走行運動負荷直後に、走行運動負荷1時間後マウスは走行運動負荷1時間後に安楽死させ、後肢骨格筋（速筋及び遅筋より構成されているヒフク筋部位）を採取し、直ちにRNA抽出に供した。安静（非疲労）マウスは運動負荷をすることなく安楽死させ、同様の方法を行った。

【0126】

（3）RNAの抽出

RNA later を浸透後、筋組織100mgをRNAiso 18ml中でホモジェナイズし、筋組織のRNAiso溶液とした。筋組織のRNAiso溶液1mlにクロロホルム0.2mlを加えて十分ボルテックスし、遠心の後、水層500から700μlをRNA粗抽出液として回収した。得られたRNA粗抽出液をRNeasy Mini kit中のColumnに流し入れ、RNAを吸着させた。洗浄後60μlのスクレアーゼ不含水に溶解させた。RNAを含むスクレアーゼ不含水1μlを、NanoDrop Spectrophotometer（NanoDrop社）を用いてRNAの定量及び純度指標による品質確認を行った。スクレアーゼ不含水1μl中のRNAを、常法により変性後、BioAnalyzer 2100（Agilent社）を用いて電気泳動し、分解度指標による品質確認を行った。

【0127】

（4）遺伝子の発現量の分析及び比較

Affymetrix社において作製された約34000個の遺伝子を含む約39000個の転写産物とバリエーションに対応する45000のオリゴヌクレオチド・プローブセット（パーフェクトマッチとミスマッチがペアとなっているプローブセット）が搭載されたDNAマイクロアレイ（GeneChip Mouse Genome 430 2.0 Array）を用い、遺伝子発現量の解析を行った。具体的には、次の手順で行った。

【0128】

GeneChip 3' IVT Express Kit（Affymetrix社）を用い、プロトコルに従って、250ngのTotal RNAより、ビオチンラベルaRNAを調製した。ビオチンラベルは、aRNAの合成の際にビオチンラベル化UTPを取り込ませることによって行った。GeneChip 3' IVT Express Kitを用い、プロトコルに従って、15μgのビオチンラベルaRNAを断片化した。断片化前後のビオチンラベルaRNA（断片化前300ng、断片化後375ng）を、常法により変性後、BioAnalyzer 2100を用いて電気泳動し、品質確認を行った。

【0129】

12.5μgの断片化ビオチンラベルaRNAを、GeneChip Hybridization

12.5μgの断片化ビオチンラベルaRNAを、GeneChip Hybridization

10

20

30

40

50

zation、Wash and Stain Kitを用い、プロトコールに従って、GeneChip Arrayへハイブリダイズさせるハイブリカクテルを調製した。ハイブリカクテルを、まず99℃で5分間、続けて45℃で5分間、ヒートブロックを用いてインキュベートし、室温、20,400×gにて、5分間遠心した。GeneChip Arrayへ、プロトコールに従って調製したプレ・ハイブリダイゼーション溶液200μlを満たし、GeneChip Hybridization Oven 640 (Affymetrix 社)を用いて、45℃で10分間、毎分60回転でインキュベートし、予めアレイの加温を行い、かつアレイ内部を湿潤状態にした。インキュベートが完了したGeneChip Arrayからプレ・ハイブリダイゼーション溶液を除き、速やかに45℃でインキュベートされたハイブリカクテル200μlを注入し、45℃で16時間、毎分60回転を保ちつつインキュベートし、ハイブリダイズを行った。

10

【0130】

ハイブリダイズ完了後、GeneChip Hybridization、Wash、and Stain KitとGeneChip Fluidics Satation 450 (Affymetrix 社)を用い、解析及びシステム制御ソフトウェア・Affymetrix GeneChip Command Console (AGCC) (Affymetrix 社)上の規定プロトコールに従って、GeneChip Arrayの染色及び洗浄を行った。同じくCommand Console 上の規定プロトコールに従って、GeneChip Scanner 3000 7G (Affymetrix 社)によりGeneChip Arrayをスキャンし、各遺伝子プローブの蛍光強度を遺伝子発現データのアレイ毎の画像ファイル (DATファイル)として取得した。更に Command Consoleを用いて、DATファイルを数値化可能なCELファイルへ変換した。

20

【0131】

解析ソフトウェア・Expression Console (Affymetrix 社)を用い、CELファイルから標準化された発現シグナル値の数値データと、信頼度指標のp-valueをテキストファイルとして出力した。発現シグナル値の標準化には、Affymetrix 社標準のMAS5法を用い、そのTarget値、即ち発現シグナル値の上下2%を外れ値として除いた残りの遺伝子プローブのシグナル値の平均値は、100に設定した。

30

【0132】

次に、運動負荷前と運動負荷後の各アレイの遺伝子発現データについて、対応する運動負荷前後のアレイ間で、運動負荷後の発現シグナル値を分子としてそれぞれ発現比を求め、負荷後で発現増加もしくは発現減少と見なすデータを以下の基準で選定した。

増減それぞれの発現変動幅の絶対値を等しくするために、原則として、発現比については1.5倍の比率とし、50.0%以上(増加)又は-33.3%以下(減少)とするFold Change比較の方法を採用した。

【0133】

次に、運動負荷後で発現増加として選定する為の段階として、運動負荷後のアレイの発現シグナル値が全て16以上、かつアレイの信頼度指標のp-valueが原則として0.05未満、の条件を全て満たすものとした。また、運動負荷後で発現減少として選定する為の段階としては、運動負荷前のアレイの発現シグナル値が全て16以上、かつアレイの信頼度指標のp-valueが原則として0.05未満、の条件を全て満たすものとした。

40

【0134】

上記により選定した遺伝子より、その中で機能的に意味を有する遺伝子名が付与されている遺伝子を選定し、重複を除いた。

【0135】

(5) 遺伝子リストの作成

試験により選定した、疲労の程度の判定に用いる特定の遺伝子を次に示す。

50

走行運動負荷直後において著しく発現変動した遺伝子は392個であり、表2に示した。また、走行運動負荷1時間後において著しく発現変動した遺伝子は254個であり、表3に記載した。表2に記載の走行運動負荷直後の遺伝子において、発現量が増加している遺伝子は169個であり、減少している遺伝子は223個であった。表3に記載の走行運動負荷1時間後の遺伝子において、発現量が増加している遺伝子は161個であり、減少している遺伝子は93個であった。また、表2と表3に記載の遺伝子をまとめたものを表4に示す。

【0136】

表2及び表3に記載されている遺伝子より、マウスとの相同性又は同一性の高いヒトの遺伝子（ホモログ遺伝子）466個を選定し、遺伝子リストを作成した。遺伝子リストは表1と同じである。表1において、発現が増加している遺伝子としては225個であり、減少している遺伝子は241個であった。

10

【0137】

表2及び表3に含まれる遺伝子は、生理的疲労であり、末梢性疲労であり、運動などの身体作業による肉体疲労に伴って発現量の変動する遺伝子である。

【0138】

従って、被験体由来の生体試料を用いて、表1又は表4に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子の全ての遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較することにより、疲労感に頼ることなく疲労の程度を判定することが可能である。また、表1又は表4に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる、少なくとも1個以上の特定の遺伝子の発現変動を比較することによっても、疲労の程度を判定することが可能であり、疲労の程度を客観的に判定する方法を開発することができた

20

【0139】

試験例2：疲労の程度の判定及び疲労を回復、改善又は予防し得る物質（被験物質）の有効性（効果）の判定

表4に記載の遺伝子より作成された遺伝子リストに含まれる特定の遺伝子4個を用い、被験物質の投与により疲労の状態におけるマウス由来の骨格筋における遺伝子の発現変動量を減少させた場合に被験物質の投与に伴って被験体の疲労の程度は減弱していると判定し、被験物質は疲労に対して有効であると判定する工程を含む、疲労の回復、改善又は予防し得る物質（被験物質）の有効性（効果）の判定方法を開発した。

30

【0140】

被験物質には、哺乳動物及びヒトにおいて走行運動を延長させ、疲労を改善し得る効果が多く報告されている2-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-3,5,7-トリヒドロキシ-4H-クロメン-4-オン（和光純薬工業（株））（Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.、296号4巻、P1071-1077、2009年）を用いた。

【0141】

実験動物には、7から11週齢のBALB/c系マウス、オス（日本エスエルシー（株））（8匹）を用いた。実験動物は入荷後、試験期間を通して標準飼料（オリエンタル酵母工業（株））及び滅菌水を自由に摂取させ、少なくとも1週間の馴化を行った。被験物質の有効性の判定方法の開発は、（1）被験物質の投与、（2）走行運動の負荷、（3）骨格筋の採取、（4）RNAの抽出、（5）遺伝子の発現量の分析及び比較、及び（6）被験物質の疲労に対する効果の判定、よりなる。

40

【0142】

（1）被験物質の投与

抗疲労物質は、疲労を惹起させる走行運動の負荷前まで、1週間、1日1回、50mg/kgの投与量でマウスに経口投与した。

【0143】

（2）走行運動の負荷

抗疲労物質投与したマウス4匹には走行運動を負荷し、試験例1と同様に疲労困憊まで

50

おこなった。他の抗疲労物質投与したマウス4匹には走行運動を負荷しなかった。

【0144】

(3) 骨格筋の採取

マウスからの骨格筋の採取は、走行運動負荷前(4匹)及び走行運動負荷1時間後(4匹)に行った。

【0145】

(4) RNAの抽出及び(5)遺伝子の発現量の分析及び比較は、試験例1と同様に実施した。

【0146】

(6) 被験物質の疲労に対する効果の判定

遺伝子リストに含まれる特定の遺伝子から、走行運動負荷1時間後に増加する遺伝子であるERN1、BCL2L11、PPP1R15A及びDDIT3の遺伝子4個を選定し、各遺伝子の発現変動を比較した。

【0147】

被験物質を投与し、疲労困憊まで運動負荷したマウスの運動負荷1時間後における骨格筋での遺伝子の発現変動の特徴を、試験例1において取得した運動負荷1時間後におけるマウス骨格筋での遺伝子の発現変動の特徴と比較した。

試験例1において、運動負荷1時間後のBCL2L11及びDDIT3の発現量は運動負荷前と比較して50%以上増加し、ERN1及びPPP1R15Aの発現量は100%以上増加していた。

【0148】

これと比較し、試験例2において被験物質を投与したマウスの、運動前後におけるBCL2L11及びERN1の発現変動量は、試験例1における被験物質を投与しなかったマウスの運動前後における発現変動量より減少しており、BCL2L11の発現増加は認められなかった。

一方、疲労困憊まで運動を負荷したマウスの運動前後におけるDDIT3及びPPP1R15Aの発現変動は、著しく変化しなかった。

従って、運動前後における特定の遺伝子4個の発現変動量を分析及び／又は比較することにより、被験物質の投与に伴って遺伝子2個(50%)の発現変動量が減少することを評価し、被験物質を投与した被験体の疲労の程度は減弱していると判定することができた。これより、被験物質は疲労に対して有効であると判定することができた。

【0149】

上記の結果より、遺伝子リストより選ばれる特定の遺伝子の発現変動の特徴を比較することにより、疲労の程度を判定すること、及び被験物質の疲労に対する有効性を判定することが可能であった。

【0150】

試験例3：遺伝子リストの作成、疲労の程度を判定できる資料(データベース)の作成、及び疲労の程度の判定

身体作業による肉体疲労の状態としたマウス由来の骨格筋における遺伝子の発現量を測定し、疲労の状態において発現増加又は発現減少する遺伝子を選定し、より少数の遺伝子よりなる、疲労の程度の判定に用いる遺伝子リストを作成し、疲労の程度を判定できる資料(データベース)を作成し、疲労の程度の判定方法を開発した。

【0151】

実験動物には、7から11週齢のBALB/c系マウス、オス(日本エスエルシー(株))(8匹)を用いた。実験動物は入荷後、試験期間を通して標準飼料(オリエンタル酵母工業(株))及び滅菌水を自由に摂取させ、少なくとも1週間の馴化を行った。遺伝子リストの作成、疲労の程度を判定できる資料(データベース)の作成、及び疲労の程度の判定方法の開発は、(1)走行運動の負荷、(2)骨格筋の採取、(3)RNAの抽出、(4)遺伝子の発現量の分析及び比較、(5)遺伝子リストの作成、(6)疲労の程度を判定できる資料(データベース)の作成、の工程よりなる。

【0152】

(1) 走行運動の負荷

実験には、安静（非疲労）マウス（4匹）、走行運動負荷1時間後マウス（4匹）を用い、走行運動負荷1時間後マウスに走行運動を負荷した。走行運動の負荷は、マウス・ラット用トレッドミル走行装置（バイオリサーチセンター（株））を用いて行った。走行運動の負荷条件は、傾斜角度10度、走行開始速度9メートル／分、漸増ステップ3メートル／4分とし、高強度（高速）運動を負荷した。走行時間は一定時間（52分間）とした。

尚、走行訓練を3から4日間隔で4回実施し、疲労を惹起させる走行運動の負荷は最終走行訓練の3から4日後に実施した。走行訓練は全てのマウスに行った。

10

【0153】

(2) 骨格筋の採取

走行運動負荷1時間後マウスは走行運動負荷1時間後に深麻酔条件にて安楽死させ、後肢骨格筋（速筋及び遅筋より構成されているヒフク筋部位）を採取し、液体窒素中で急速凍結後、 -80°C で一時保管し、後日RNA抽出に供した。安静（非疲労）マウスは運動負荷をすることなく安楽死させ、同様の方法を行った。

【0154】

(3) RNAの抽出

-80°C で一時保管された筋組織100mgをRNAiso 4ml中でホモジェナイズし、筋組織のRNAiso溶液とした。筋組織のRNAiso溶液1mlにクロロホルム0.2mlを加えて、十分ボルテックスし、遠心の後、水層500から700 μl をRNA粗抽出液として回収した。得られたRNA粗抽出液をRNeasy Mini kit（QIAGEN社）中のColumnに流し入れ、RNAを吸着させた。洗浄後60 μl のヌクレアーゼ不含水に溶解させた。RNAを含むヌクレアーゼ不含水1 μl を、NanoDrop Spectrophotometer（NanoDrop社）を用いてRNAの定量及び純度指標による品質確認を行った。RNAを含むヌクレアーゼ不含水1 μl を常法によりRNAを変性後、BioAnalyzer 2100（Agilent社）を用いて電気泳動し、分解度指標による品質確認を行った。

20

【0155】

(4) 遺伝子の発現量の分析及び比較

Affymetrix社において作製されたゲノム上の既知、及び想定される28853個の遺伝子について25mer $\times$ 770317個の対象と完全一致するオリゴヌクレオチド・プローブ（パーフェクトマッチプローブ）が搭載されたDNAマイクロアレイ（GeneChip Mouse Gene 1.0 ST Array）を用い、遺伝子発現量の解析を行った。具体的には、次の手順で行った。

30

【0156】

WT Expression Kit（Ambion社）を用い、プロトコールに従って、250ngのTotal RNAより、anti-sense鎖cRNAの合成を介して、sense鎖cDNAを合成した。その後、WT Terminal Labeling and Control Kit（Affymetrix社）を用いて、合成したcDNAを断片化し、その5'末端にビオチンラベルを行った。中途産物であるcRNAを常法により変性後、断片化前のcDNA及び断片化後のcDNA（100から375ng）をBioAnalyzer 2100を用いて電気泳動し、品質確認を行った。

40

【0157】

5 μg の断片化ビオチンラベルcDNAを、GeneChip Hybridization Wash and Stain Kit（Affymetrix社）を用い、プロトコールに従って、GeneChip Arrayへハイブリダイズさせるハイブリカクテルを調製した。ハイブリカクテルを、まず99 $^{\circ}\text{C}$ で5分間ヒートブロックを用いてインキュベーションし、続けて45 $^{\circ}\text{C}$ で5分間GeneChip Hybridization Oven 640（Affymetrix社）を用いてインキュベーションし、

50

微量高速遠心機で室温、20, 400×g、1分間遠心した。GeneChip Arrayへハイブリカクテル80μlを注入し、45℃で17時間、毎分60回転で、GeneChip Hybridization Oven 640内で、ハイブリダイゼーションを行った。

【0158】

ハイブリダイゼーション完了後、GeneChip Hybridization Wash and Stain KitとGeneChip Fluidics Station 450 (Affymetrix社)を用い、システム制御ソフトウェア・Affymetrix GeneChip Command Console (AGCC) (Affymetrix社)上の規定プロトコールに従って、GeneChip Arrayの染色及び洗浄を行った。同じくCommand Console上の規定プロトコールに従って、GeneChip Scanner 3000 7G (Affymetrix社)によりGeneChip Arrayをスキャンし、各遺伝子プローブの蛍光強度を遺伝子発現データのアレイ毎の画像ファイル(DATファイル)として取得した。更にCommand Consoleを用いて、DATファイルを数値化可能なCELファイルへ変換した。

【0159】

解析ソフトウェア・Expression Console (Affymetrix社)を用い、CELファイルから標準化された発現シグナル値の数値データをテキストファイルとして出力した。発現シグナル値の標準化には、本アレイにおけるAffymetrix社標準のRMA-skech法を用いた。

【0160】

次に、運動負荷前と運動負荷後の各アレイの遺伝子発現データについて、対応する運動負荷前後のアレイ間で、運動負荷後の発現シグナル値を分子としてそれぞれ発現比を求め、負荷後で発現増加もしくは発現減少と見なすデータを以下の基準で選定した。

増減それぞれの発現変動幅の絶対値を等しくするために、原則として、発現比については30%以上(増加)又は-30%以下(減少)とするFold Change比較の方法を採用した。

【0161】

次に、運動負荷後で発現増加として選定する為の段階として、運動負荷後のアレイの発現シグナル値が全て16以上の条件を全て満たすものとした。また、運動負荷後で発現減少として選定する為の段階としては、運動負荷前のアレイの発現シグナル値が全て16以上の条件を全て満たすものとした。

【0162】

上記により選定した遺伝子より、その中で機能的に意味を有する遺伝子名が付与されている遺伝子を選定し、重複を除いた。

【0163】

(5) 遺伝子リスト作成

DNAマイクロアレイを用いた遺伝子の発現量の解析後、さらにパスウェイデータベースや遺伝子オントロジーデータベースを用いた解析により、細胞機能の低下、細胞機能の維持・回復、細胞機能の活性と関連する遺伝子より35個の遺伝子を選定し、35個の遺伝子よりなる遺伝子リストを作成した。作成した遺伝子リストを表6に示す。

表6に記載の走行運動負荷1時間後の特定の遺伝子において、発現量が増加している遺伝子は33個であり、減少している遺伝子は2個であった。

【0164】

表6に記載のNo. 001からNo. 035の遺伝子35個それぞれにおいて、安静(非疲労)マウスにおける遺伝子の発現量は平均値±標準偏差: 411.7±447.4、中央値: 244.9であり、走行運動負荷1時間後マウスにおける遺伝子の発現量は平均値±標準偏差: 1057.4±1139.9、中央値: 630.3であった。

表6に記載のNo. 001からNo. 033の遺伝子33個の発現変動は、Fold

Change比較の方法によると、平均値±標準偏差：238.5±443.0%（増加）、中央値：107.3%（増加）であり、No. 034及びNo. 035の遺伝子2個の発現変動は、平均値±標準偏差：-41.6±7.9%（減少）、中央値：-41.6%（減少）であった。さらに、遺伝子リストに含まれる遺伝子35個のいずれの1個の遺伝子においても、30%以上又は-30%以下の著しい発現変動が認められた。

【0165】

表6に記載されている遺伝子より、マウスとの相同性又は同一性の高いヒトの遺伝子（ホモログ遺伝子）35個を選定し、遺伝子リストを作成した。遺伝子リストは表5と同じである。表5において、発現量が増加している遺伝子としては33個であり、減少している遺伝子は2個であった。

10

【0166】

表5又は表6に含まれる遺伝子より選ばれる特定の遺伝子は、生理的疲労であり、末梢性疲労であり、運動などの身体作業に伴う、いわゆる肉体疲労の状態において、疲労の程度を判定することに適している遺伝子である。

【0167】

従って、被験体の生体試料を用いて、表5又は表6に記載の遺伝子よりなる遺伝子リストに含まれる遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる全ての遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較することによっても、1個以上の特定の遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較することによっても、疲労の程度を判定することが可能であり、疲労の程度を客観的に判定する方法を開発することができた。

20

【0168】

（6）疲労の程度を判定できる資料（データベース）の作成

疲労の程度を判定できる資料は、非疲労の状態及び疲労の状態とする遺伝子の発現量、疲労の状態とする遺伝子の発現量、発現変動量及び発現変動率の設定により作成した。具体的な作成方法を以下に示す。

【0169】

遺伝子リストに含まれる遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子において、

（a）非疲労の状態の健常対照体に相当する被験体由来の生体試料における遺伝子の発現量の平均値及び／又は中央値を算出する工程、

（b）生理的疲労及び末梢性疲労を呈している被験体由来の生体試料における遺伝子の発現量の平均値及び／又は中央値を算出する工程、

30

（c）非疲労の状態の健常対照体由来の生体試料における遺伝子の発現量の平均値及び／又は中央値と、生理的疲労及び末梢性疲労を呈している被験体由来の生体試料における遺伝子の発現量の平均値及び／又は中央値の差（発現変動量）を算出する工程、及び、

（d）生理的疲労及び末梢性疲労を呈している被験体の遺伝子の発現変動量を“発現変動率100%”又は“疲労の程度100”と変換する工程、

により、(i)非疲労の状態の健常対照体に相当する遺伝子の発現量、(ii)疲労の状態の対照体に相当する遺伝子の発現量、(iii)“発現変動率100%”又は“疲労の程度100”に相当する遺伝子の発現変動量を設定して、作成することができた。

【0170】

40

即ち、安静（非疲労）マウスにおける各遺伝子の発現量を算出し、走行運動負荷1時間後マウスにおける各遺伝子の発現量を算出し、安静（非疲労）マウスにおける遺伝子の発現量と走行運動負荷1時間後マウスにおける遺伝子の各発現量の差（発現変動量）を算出し、発現変動量を“発現変動率100%”又は“疲労の程度100”と設定した。

疲労の程度が未知のマウスの疲労の程度を判定するにおいては、疲労の程度が未知のマウスにおける各遺伝子の発現量を算出し、安静（非疲労）マウスにおける各遺伝子の発現量と疲労の程度が未知のマウスにおける各遺伝子の発現量の差（発現変動量）を算出し、算出した疲労の程度が未知のマウスにおける各遺伝子の発現変動量が、“発現変動率100%”又は“疲労の程度100”に相当する発現変動量に占める割合を算出し、疲労の程度が未知のマウスにおける遺伝子の“発現変動率”又は“疲労の程度”を算出する手順と

50

した。また、2個以上の遺伝子を用いて判定する場合には、各遺伝子の“発現変動率”又は“疲労の程度”の平均値又は中央値などを算出する手順とした。

【0171】

従って、疲労の程度の判定に用いる遺伝子リストを作成し、疲労の程度を判定できる資料（データベース）の作成し、疲労の程度の判定方法を開発することができた。

【0172】

試験例4： 疲労の程度が未知の被験体における疲労の程度の判定

表6に記載のNo.001からNo.035の特定の遺伝子35個を用い、疲労の程度が未知のマウス由来の骨格筋における遺伝子の発現変動量を分析及び比較し、疲労の程度を判定できる資料（データベース）を用い、“発現変動率”及び“疲労の程度”を算出することによって、疲労の程度が未知の被験体の疲労の程度を判定し、疲労の判定方法を検証した。

10

【0173】

実験動物には、7から11週齢のBALB/c系マウス、オス（日本エスエルシー（株））（8匹）を用いた。実験動物は入荷後、試験期間を通して標準飼料（オリエンタル酵母工業（株））及び滅菌水を自由に摂取させ、少なくとも1週間の馴化を行った。疲労の程度の判定方法の検証は、（1）走行運動の負荷、（2）骨格筋の採取、（3）RNAの抽出、（4）遺伝子の発現量の分析及び比較、及び（5）疲労の程度の判定、の工程よりなる。

【0174】

20

（1）走行運動の負荷

実験には、疲労の程度が未知である持久型走行運動負荷1時間後マウス（4匹）及び走行運動負荷24時間後マウス（4匹）を用い、走行運動を負荷した。

走行運動の負荷は、マウス・ラット用トレッドミル走行装置（バイオリサーチセンター（株））を用いて行った。

持久型走行運動負荷1時間後マウスへの走行運動は、走行開始速度9メートル／分、漸増ステップ3メートル／4分にて28分間走行した後、到達速度30メートル／分にて60分間走行させた（総走行時間 88分）。

走行運動負荷24時間後マウスへの走行運動は、試験例3と同様に走行開始速度9メートル／分、漸増ステップ3メートル／4分にて、52分間の一定負荷とした。

30

尚、走行訓練を3から4日間隔で4回実施し、疲労を惹起させる走行運動の負荷は最終走行訓練の3から4日後に実施した。走行訓練は全てのマウスに行った。

【0175】

（2）骨格筋の採取、（3）RNAの抽出及び（4）遺伝子の発現量の分析及び比較は、試験例3と同様に行った。

【0176】

（5）疲労の程度の判定

疲労の程度を判定できる資料を用いて、疲労の程度の判定を行った。

表6に記載のNo.001からNo.035の遺伝子35個それぞれにおいて、持久型走行運動負荷1時間後マウスにおける遺伝子の発現量は、平均値±標準偏差：1246.4 ± 1248.3、中央値：793.9であった。

40

また、Fold Change比較の方法を用い、持久型走行運動負荷1時間後マウスにおけるNo.001からNo.033の遺伝子33個の発現量を試験例3の安静（非疲労）マウスにおける遺伝子の発現量と比較すると、平均値±標準偏差：301.7 ± 406.9%（増加）、中央値：137.5%（増加）であった。

No.034及びNo.035の遺伝子2個の発現量を比較すると、平均値±標準偏差：-36.7 ± 8.4%（減少）、中央値：-36.7%（減少）であった。さらに、遺伝子リストに含まれる遺伝子35個のいずれの1個の遺伝子においても、30%以上又は-30%以下の著しい発現変動が認められた。

【0177】

50

これより、試験例 4 における持久型走行運動負荷 1 時間後マウスの発現変動量は、試験例 3 における走行運動負荷 1 時間後マウスの発現変動量と比較しても増加していることから、強度の疲労の状態であると判定できた。

【0178】

試験例 3 により作成した疲労の程度を判定できる資料を用い、試験例 3 の走行運動負荷 1 時間後マウスにおける発現変動量を“疲労の程度 100（発現変動率 100%）”と変換すると、持久型走行運動負荷 1 時間後マウスは、表 6 に記載の遺伝子それぞれにおいて、“疲労の程度（発現変動率%） 154.5 ± 82.7 （平均値 $\pm$ 標準偏差）”、“疲労の程度（発現変動率%） 135.7 （中央値）”であった。

【0179】

これより、試験例 4 における持久型走行運動負荷 1 時間後マウスの発現変動量は、試験例 3 における走行運動負荷 1 時間後マウスの発現変動量と比較しても増加していることから、強度の疲労の状態であると判定できた。

【0180】

従って、持久型走行運動負荷 1 時間後マウスの疲労の程度は、表 6 に記載の遺伝子より選ばれる 1 個の特定の遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較することによっても、2 個から 35 個の特定の遺伝子の組み合わせにおける遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較することによっても、疲労の状態であり、疲労の程度を判定することができた。

【0181】

表 6 に記載の No.001 から No.035 の遺伝子 35 個それぞれにおいて、運動を負荷した 24 時間後のマウスにおける遺伝子の発現量は、平均値 $\pm$ 標準偏差： 405.3 ± 382.2 、中央値： 299.2 であった。また、発現変動は、Fold Change 比較の方法を用い、試験例 3 の安静（非疲労）マウスにおける、表 6 に記載の No.001 から No.033 の遺伝子 33 個の発現量と比較すると、平均値 $\pm$ 標準偏差： $8.2 \pm 29.4\%$ （増加）、中央値： 0.3% （増加）であった。No.034 及び No.035 の遺伝子 2 個の発現量を比較すると、平均値 $\pm$ 標準偏差： $1.0 \pm 1.7\%$ （増加）、中央値： 1.0% （増加）であった。さらに、遺伝子リストに含まれる遺伝子 35 個のいずれの 1 個の遺伝子においても、著しい発現変動の減弱が認められた。

【0182】

試験例 3 により作成した疲労の程度を判定できる資料を用いると、走行運動を負荷した 24 時間後のマウスは、表 6 の遺伝子リストに記載の遺伝子それぞれにおいて、“疲労の程度（発現変動率%） -1.0 ± 16.8 （平均値 $\pm$ 標準偏差）”、“疲労の程度（発現変動率%） 0.3 （中央値）”であった。さらに、35 個全ての遺伝子において“疲労の程度（発現変動率%）”は休息により減弱しており、35 個のいずれの 1 個の遺伝子を用いても、疲労は減弱していると判定することができた。

【0183】

従って、走行運動を負荷した 24 時間後のマウスの疲労の程度は、表 6 に記載の遺伝子より選ばれる 1 個の特定の遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較することによっても、遺伝子 2 個から 35 個の組み合わせにおける特定の遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較することによっても、非疲労の状態であり、十分な休息や睡眠を得ることにより、疲労は消失（回復）していると判定することが可能であった。

【0184】

上述のように、遺伝子リスト、疲労の程度を判定できる資料、これらを含む疲労の判定方法を用いることにより、表 6 に記載の遺伝子より選ばれる 1 個の特定の遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較することによっても、遺伝子 2 個から 35 個の組み合わせにおける特定の遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較することによっても、著しい疲労の状態における被験体由来の生体試料から判定した疲労の程度は高値を示し、十分な休息や睡眠を得ることにより疲労が消失している状態における被験体由来の生体試料から判定した疲労の程度は低値を示し、疲労の程度が未知の被験体の疲労の程度を判定することができる方法を開発できた。

10

20

30

40

50

【0185】

即ち、疲労の程度が未知の被験体由来の生体試料における遺伝子の発現変動量（発現変動率）が増加している場合に、被験体は疲労の状態であると判定し、発現変動量（発現変動率）の増加の程度に応じて疲労の程度を判定することができる、疲労の程度の判定方法を開発することができた。

【0186】

試験例5：血液を生体試料とする疲労の程度の判定方法

表6に記載のNo.001からNo.017、No.034及びNo.035の特定の遺伝子19個を用い、身体作業による肉体疲労の状態としたマウス由来の末梢血液における遺伝子の発現量を測定することによって、末梢組織と同様に発現変動する遺伝子を用いた、生理学的な特徴に立脚した客観的な疲労の程度の判定方法を開発した。

10

【0187】

実験動物には、7から11週齢のBALB/c系マウス、オス（日本エスエルシー（株））（12匹）を用いた。実験動物は入荷後、試験期間を通して標準飼料（オリエンタル酵母工業（株））及び滅菌水を自由に摂取させ、少なくとも1週間の馴化を行った。疲労の程度の判定方法の開発は、（1）走行運動の負荷、（2）血液の採取、（3）RNAの抽出、（4）遺伝子の発現量の分析及び比較、及び（5）疲労の程度の判定、の工程よりなる。

【0188】

（1）走行運動の負荷

実験には、安静（非疲労）マウス（4匹）、走行運動負荷1時間後マウス（4匹）及び走行運動負荷24時間後マウス（4匹）を用い、走行運動を負荷した。

走行運動の負荷は、マウス・ラット用トレッドミル走行装置（室町機械（株）又はバイオリサーチセンター（株））を用いて行った。

走行運動負荷1時間後マウス及び走行運動負荷24時間後マウスへの走行運動は、試験例3と同様に、走行開始速度9メートル／分、漸増ステップ3メートル／4分にて52分間の一定負荷とした。

尚、走行訓練を3から4日間隔で4回実施し、疲労を惹起させる走行運動の負荷は最終走行訓練の3から4日後に実施した。走行訓練は全てのマウスに行った。

20

【0189】

（2）血液の採取

走行運動負荷1時間後マウス又は走行運動負荷24時間後マウスは、それぞれ走行運動負荷1時間後または24時間後に深麻酔条件にて安楽死させ、腹部大静脈より血液を1ml採取し、ヌクレアーゼ不含有水1mlを添加し、Isogen-LS（ニッポンジーン社）2mlを添加し、血液を溶解した。その後、液体窒素中で急速凍結後、-80℃で一時的保管し、後日RNA抽出に供した。安静（非疲労）マウスは運動負荷をすることなく安楽死させ、同様の方法を行った。

30

【0190】

（3）RNAの抽出

Isogen-LS（ニッポンジーン社）に溶解されている血液サンプル4mlの半量を用いて精製を行った。Isogen-LS溶解サンプル2mlに対し、クロロホルム400μlを加えて、十分ボルテックスし、遠心の後、水層800から1000μlをRNA粗抽出液として回収した。得られたRNA粗抽出液をRNeasy Mini kit中のColumnに流し入れ、RNAを吸着させた。洗浄後60μlのヌクレアーゼ不含有水に溶解させた。RNAを含むヌクレアーゼ不含有水1μlを、NanoDrop Spectrophotometer（NanoDrop社）を用いてRNAの定量及び純度指標による品質確認を行った。

40

【0191】

ヌクレアーゼ不含有水1μl中のRNAを、常法により変性後、BioAnalyzer 2100（Agilent社）を用いて電気泳動し、分解度指標による品質確認を行っ

50

た。その後、5 μ gの抽出したTotal RNAから、GLOBINclear™-Mouse/Rat Kit (Ambion社)を用いて、同キットの規定プロトコールに従って、血液中に大量に含まれるグロビンmRNAの除去処理を行い、30 μ lのKit付属Elution Bufferに溶解させた。RNAを含むKit付属Elution Buffer 1 μ lを、NanoDrop Spectrophotometer (NanoDrop社)を用いてRNAの定量及び純度指標による品質確認を行った。Kit付属Elution Buffer 1 μ l中のRNAを、常法により変性後、BioAnalyzer 2100 (Agilent社)を用いて電気泳動し、分解度指標による品質確認を行った。

【0192】

(4) 遺伝子の発現量の分析及び比較は、試験例3と同様に行った。

【0193】

(5) 疲労の程度の判定

表6に記載のNo. 001からNo. 017、No. 034及びNo. 035の特定の遺伝子19個の発現量より疲労の程度を判定した。

表6の遺伝子リストに記載のNo. 001からNo. 017の遺伝子17個それぞれにおいて、安静（非疲労）マウスにおける遺伝子の発現量は、平均値±標準偏差：246.9±248.6、中央値：154.2であり、走行運動負荷1時間後マウスにおける遺伝子の発現量は、平均値±標準偏差：410.7±447.6、中央値：205.6であり、走行運動負荷24時間後マウスにおける遺伝子の発現量は、平均値±標準偏差：222.1±204.4、中央値：143.9であった。さらに、17個の遺伝子全てにおいて運動負荷による発現量の増加、休息による発現変動の減弱を認めた。

【0194】

また、表6の遺伝子リストに記載のNo. 034及びNo. 035の遺伝子2個それぞれにおいて、安静（非疲労）マウスにおける遺伝子の発現量は、平均値±標準偏差：234.0±71.1、中央値：234.0であり、走行運動負荷1時間後マウスにおける遺伝子の発現量は、平均値±標準偏差：139.0±17.4、中央値：139.0であり、走行運動負荷24時間後マウスにおける遺伝子の発現量は、平均値±標準偏差：298.0±146.7、中央値：298.0であった。さらに、2個の遺伝子全てにおいて運動負荷による発現量の減少、休息による発現変動の減弱を認めた。

【0195】

Fold Change比較の方法に用い、安静（非疲労）マウスにおけるNo. 001からNo. 017の遺伝子17個の発現量と比較すると、走行運動負荷1時間後マウスにおける遺伝子の発現変動は、平均値±標準偏差：66.5±42.0%（増加）、中央値：59.9%（増加）であった。

さらに、17個の全ての遺伝子を用いても、いずれの1個の遺伝子を用いても、発現量又は発現変動量は増加しており、疲労の状態であると判定することができた。

走行運動負荷24時間後マウスにおける遺伝子の発現変動は、平均値±標準偏差：-2.8±15.4%（減少）、中央値：-2.3%（減少）であった。

さらに、17個の全ての遺伝子を用いても、いずれの1個の遺伝子を用いても、発現量の増加は休息により減弱しており、疲労は減弱または消失していると判定することができた。

【0196】

No. 034及びNo. 035の遺伝子2個の発現量を比較すると、走行運動負荷1時間後マウスにおける遺伝子の発現量は、平均値±標準偏差：-38.9±11.1%（減少）、中央値：-38.9%（減少）であった。また、2個の全ての遺伝子を用いても、いずれの1個の遺伝子を用いても、発現量は減少しており、疲労の状態であると判定することができた。

走行運動負荷24時間後マウスの遺伝子の発現量は、平均値±標準偏差：23.5±25.1%（増加）、中央値：23.5%（増加）であった。2個の全ての遺伝子を用いて

10

20

30

40

50

も、いずれの1個の遺伝子を用いても、走行運動負荷1時間後に認められた発現量の減少は休息により減弱しており、疲労は減弱または消失していると判定することができた。

【0197】

これらより、19個の遺伝子のいずれの1個の遺伝子を用いても、運動負荷による発現変動が認められ、休息により発現変動は減弱しており、疲労の程度を判定することができた。

【0198】

従って、走行運動を負荷した1時間後のマウスの疲労の程度は、表6に記載のNo. 001からNo. 017、No. 034及びNo. 035の遺伝子19個より選ばれる1個の特定の遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較することによっても、2個から19個の特定の遺伝子の組み合わせにおける遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較することによっても、No. 001からNo. 017の遺伝子17個より選ばれる1個から17個の特定の遺伝子の発現増加及び／又はNo. 034及びNo. 035の遺伝子2個より選ばれる1個から2個の特定の遺伝子の発現減少を比較することによっても、疲労の程度を判定することができた。

【0199】

上述のように、運動負荷により疲労の状態における被験体由来の血液から判定した被験体の疲労の程度は高値を示し、十分な休息や睡眠を得ることにより疲労が消失している状態における被験体由来の血液から判定した疲労の程度は低値を示し、多段階で疲労の程度を判定する方法を開発できた。

【0200】

即ち、被験体由来の血液における遺伝子の発現変動量（発現変動率）が増加している場合に、被験体は疲労の状態であると判定し、発現変動量（発現変動率）の増加の程度に応じて疲労の程度を判定することができる、疲労の程度の判定方法を開発することができた。

【0201】

試験例6：疲労を回復、改善又は予防し得る物質（被験物質）の有効性（効果）の判定方法の検証

表6に記載のNo. 001からNo. 010の特定の遺伝子10個を用い、被験物質の投与により疲労の状態における遺伝子の発現変動量を減少させた場合に、被験物質の投与により被験体の疲労の程度は減弱したと判定し、被験物質は疲労に対して有効であると判定する工程を含む、疲労の回復、改善又は予防し得る物質（被験物質）の有効性（効果）の判定方法を開発した。

【0202】

被験物質には、哺乳動物において走行運動を延長させ、疲労を改善し得る効果が多く報告されている2-アミノエタンスルホン酸を用いた。

【0203】

実験動物には、7から11週齢のBALB/c系マウス、オス（日本エスエルシー（株））（12匹）を用いた。実験動物は入荷後、試験期間を通して標準飼料（オリエンタル酵母工業（株））及び滅菌水を自由に摂取させ、少なくとも1週間の馴化を行った。被験物質の疲労に対する有効性の判定方法の開発は、（1）被験物質の投与、（2）走行運動の負荷、（3）骨格筋の採取、（4）RNAの抽出、（5）遺伝子の発現量の分析及び比較、及び（6）被験物質の疲労に対する効果の判定、よりなる。

【0204】

（1）被験物質の投与

被験物質投与走行運動マウス（4匹）には、疲労を惹起させる走行運動の負荷前まで、2週間、1日1回、300mg/kgの投与量で経口投与し、走行運動負荷終了直後にも経口投与した。安静（非疲労）（4匹）及び媒体投与走行運動マウス（4匹）には、疲労を惹起させる走行運動の負荷前まで、2週間、1日1回、蒸留水を経口投与した。

【0205】

(2) 走行運動の負荷

被験物質投与走行運動マウス及び媒体投与走行運動マウスへの走行運動の負荷は、マウス・ラット用トレッドミル走行装置（室町機械（株）又はバイオリサーチセンター（株））を用いて行った。

走行運動は、試験例3と同様に、走行開始速度9メートル／分、漸増ステップ3メートル／4分にて52分間の一定負荷とした。

尚、走行訓練を3から4日間隔で4回実施し、疲労を惹起させる走行運動の負荷は最終走行訓練の3から4日後に実施した。走行訓練は全てのマウスに行った。

【0206】

(3) 骨格筋の採取

骨格筋の採取は、走行運動負荷2時間後に深麻酔条件にて行った。他の方法は試験例3と同様に行った。

【0207】

(4) RNAの抽出及び(5) 遺伝子の発現量の分析及び比較は、試験例3と同様におこなった。

【0208】

(6) 被験物質の疲労に対する効果の判定

安静（非疲労）マウスにおける遺伝子の発現量と媒体投与走行運動マウスにおける遺伝子の発現量とを、Fold Change比較の方法に用いて比較すると、No. 001からNo. 010の特定の遺伝子10個においては、平均値±標準偏差：106.6±82.9%（増加）、中央値：65.4%（増加）であった。遺伝子10個の全ての遺伝子において著しい発現変動が認められ、疲労の状態であると判定することができた。

【0209】

次に、媒体投与走行運動マウスの特定の遺伝子10個それぞれの発現変動量を“疲労の程度100（発現変動率100%）”に相当する発現変動量に換算し、被験物質投与走行運動マウスと安静（非疲労）マウスとの発現変動量を算出し、被験物質投与走行運動マウスにおける発現変動量の“疲労の程度100”に相当する発現変動量に占める割合を算出し、“疲労の程度（発現変動率）”を算出した。

被験物質投与走行運動マウスにおける特定の遺伝子10個それぞれにおいては、“疲労の程度（発現変動率%）62.3±15.9（平均値±標準偏差）”、“疲労の程度（発現変動率%）61.6（中央値）”であった。

【0210】

特定の遺伝子10個の全てにおいて、発現変動量の減少、発現変動率又は疲労の程度の減弱が認められた。これより、被験物質の投与により疲労の程度は減弱しており、被験物質は疲労に対して有効であると判定することができた。

【0211】

従って、表6の遺伝子リストに記載のNo. 001からNo. 010の遺伝子10個より選ばれる1個の特定の遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較することによっても、遺伝子2個から10個の組み合わせにおける特定の遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較することによっても、疲労を回復、改善又は予防し得る物質の疲労に対する有効性を判定する方法を開発することができた。

【0212】

試験例7：プライマーを用いたRNAの発現増幅手法を用いた疲労の程度の判定方法

表6に記載のNo. 001からNo. 006の特定の遺伝子6個を用い、身体作業による肉体疲労の状態としたマウス由来の末梢血液におけるRNAの発現量を、プライマーを用いた遺伝子の発現増幅手法（RT-PCR法）を用いて測定し、定量的な疲労の程度の判定方法を開発した。

【0213】

実験動物には、7から11週齢のBALB/c系マウス、オス（日本エスエルシー（株））（12匹）を用いた。実験動物は入荷後、試験期間を通して標準飼料（オリエンタル

10

20

30

40

50

酵母工業（株））及び滅菌水を自由に摂取させ、少なくとも1週間の馴化を行った。RT-PCR法を用いた疲労の程度の判定方法の開発は、（1）走行運動の負荷、（2）血液の採取、（3）RNAの抽出、（4）RT-PCR法による遺伝子の発現量の分析及び比較、及び（5）疲労の程度の判定、の工程よりなる。

【0214】

（1）走行運動の負荷

実験には、安静（非疲労）マウス（4匹）、走行運動負荷1時間後マウス（4匹）及び持久型走行運動負荷1時間後マウス（4匹）を用い、走行運動を負荷した。

走行運動の負荷は、マウス・ラット用トレッドミル走行装置（バイオリサーチセンター（株））を用い、試験例3又は試験例4と同等に行った。

10

【0215】

（2）血液の採取及び（3）RNAの抽出は、試験例6と同様に行った。

【0216】

（4）RT-PCR法による遺伝子の発現量の分析及び比較

Total RNA 各200ngより、Quntitect Reverse Transcript (QIAGEN社)を用いて、規定のプロトコールに沿って、20μlのcDNAを調製した。具体的には、まずTotal RNAにゲノムDNAの除去試薬を加え14μlとし、42℃ 2分間の処理後、直ちに氷冷した。同じく氷上で逆転写反応溶液を調製し、ゲノムDNA除去処理後のTotal RNAを加えて20μlとし、42℃で30分間反応させた。反応終了後95℃で3分間処理して含まれる酵素を不活性化し、5倍濃度に希釈して以降の工程に供した。プライマーと調製されたcDNAを用いて、定量的PCR解析を実施した。PCR試薬はAbsolute SYBR Green ROX Mix (Thermo Scientific社)、装置は7300 Real Time PCR System (Applied Biosystems社)を使用した。反応条件は、95℃で15分変性後、「95℃ 15秒、55 or 58℃ 30秒、72℃ 30秒」を50サイクルとした。プライマー濃度は100nM、もしくは250nMとした。

20

【0217】

各遺伝子の相対発現量の基準となるハウスキーピング遺伝子はβ-アクチン（β-actin、Actb）とし、個々の検体における各遺伝子の発現量をハウスキーピング遺伝子を用いて正規化した。正規化に対応する値は以下の式で求めた。

30

$$\Delta Ct = [(各遺伝子のCt値) - (Actb遺伝子のCt値)]$$

次に各被検体について、対照検体に対する相対発現量に対応する値を以下の式で求めた。

$$\Delta\Delta Ct = [(各検体の\Delta Ct) - 運動前検体の\Delta Ct値]$$

$$相対発現量 = 2^{-\Delta\Delta Ct}$$

【0218】

プライマーは、プライマー設計ソフトウェア：Primer3Plusを用い、目的遺伝子の転写産物に対して全てのバリエーションをカバーするように設計した。設計条件は、「Primer size: 18-20base、Primer Tm: 55-62 (Max Tm difference 2℃)、Primer GC%: 40-60%、Max poly-X: 3、Max Self Complementarity: 3、Product Size: 80-200」とし、それ以外はソフトウェアの通常設定条件で行なった。

40

【0219】

各プライマーの配列は下記の通りである。

【0220】

表6に記載のNo. 001の遺伝子

Fkbp5 :

センス鎖 5' - CTC A A A C C C A A A C G A A G G A G - 3' (配列番号52)

50

アンチセンス鎖 5' - C A C A T C T C G G C A A T C A A A T G - 3' (配列番号 53)
【0221】

表6に記載のNo. 002の遺伝子

N f i l 3 :

センス鎖 5' - A G G G A G C A G A A C C A C G A T A A - 3' (配列番号 54)

アンチセンス鎖 5' - C G G A T G G A G G A G A C A A A T C A - 3' (配列番号 55)
【0222】

表6に記載のNo. 003の遺伝子

P p p 1 r 1 5 a :

センス鎖 5' - G C T T C T G C T G C T T C C A T A G C - 3' (配列番号 56)

アンチセンス鎖 5' - T T C T T C C G T G G C T T G A T G T T - 3' (配列番号 57)
【0223】

表6に記載のNo. 004の遺伝子

T l r 4 :

センス鎖 5' - G C A C T G A C A C C T T C C T T T C C - 3' (配列番号 58)

アンチセンス鎖 5' - C T G G T T C T C C T T T C T G T T C T C A - 3' (配列番号 59)
【0224】

表6に記載のNo. 005の遺伝子

T l r 8 :

センス鎖 5' - G G C A T T T A C A C C C T C A C A G A G - 3' (配列番号 60)

アンチセンス鎖 5' - C A T T C C A C A A A C G G T C A A G A - 3' (配列番号 61)
【0225】

表6に記載のNo. 006の遺伝子

O p t n :

センス鎖 5' - T G A A G A G G G A G G C A G T A G A C A - 3' (配列番号 62)

アンチセンス鎖 5' - G G C A G G A G T G A A T C G G A A T A - 3' (配列番号 63)
【0226】

内部標準の遺伝子

A c t b :

センス鎖 5' - C A G C A G A T G T G G A T C A G C A A G - 3' (配列番号 64)

アンチセンス鎖 5' - G C A C T T G C G G T G C A C G A T - 3' (配列番号 65)
【0227】

(5) 疲労の程度の判定

表6の遺伝子リストに記載のNo. 001からNo. 006の特定の遺伝子6個を選定し、遺伝子の発現量を定量的に測定した。

【0228】

走行運動負荷1時間後マウスの発現量の安静（非疲労）マウスの発現量に対する相対倍率を次に示す。

No. 001 : F k b p 5	2. 37 倍
No. 002 : N f i l 3	1. 76 倍
No. 003 : P p p 1 r 1 5 a	1. 43 倍
No. 004 : T l r 4	1. 27 倍
No. 005 : T l r 8	1. 77 倍
No. 006 : O p t n	1. 80 倍

これらより、表6の遺伝子リストに記載のNo. 001からNo. 006の遺伝子6個全てにおいて、高強度（高速）での運動負荷に伴い、発現増加することを認めた。

【0229】

次に、持久型走行運動負荷1時間後マウスの発現量の安静（非疲労）マウスの発現量に対する相対倍率を次に示す。

10

20

30

40

50

No. 001 : F k b p 5	2. 00 倍
No. 002 : N f i l 3	2. 69 倍
No. 003 : P p p l r l 5 a	1. 90 倍
No. 004 : T l r 4	1. 56 倍
No. 005 : T l r 8	2. 49 倍
No. 006 : O p t n	2. 05 倍

これらより、表6の遺伝子リストに記載のNo. 001からNo. 006の遺伝子6個全てにおいて、運動負荷に伴う疲労困憊の状態において、発現増加することを認めた。

【0230】

従って、プライマーを用いた遺伝子の発現増幅手法の一つであるR T - P C R法を用いて、R N Aの発現変動量を定量的に測定することが可能である、被験体の遺伝子の発現変動量が増加している場合に被験体は疲労の状態であると判定することができる、疲労の程度の判定方法を開発することができた。

【0231】

以上より、表1、表4、表5又は表6に記載の遺伝子又はそれらのホモログ遺伝子より選ばれる1個の特定の遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較することによっても、2個から35個の特定の遺伝子の組み合わせにおける遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較することによっても、被験体由来の血液などの生体試料における遺伝子の発現量を測定し、被験体由来の生体試料を用いた遺伝子の発現量が、疲労状態の対照体及び／又は非疲労の状態の健常対照体における発現量のどちらに近似しているかに基づいて行われ、疲労状態の対照体に近似している場合に疲労の状態であると判定することを特徴し、著しい疲労の状態における被験体の生体試料から判定した疲労の程度は高値を示し、十分な休息や睡眠を得ることにより疲労が消失している状態における被験体の生体試料から判定した疲労の程度は低値を示し、多段階で疲労の程度を判定することができる方法を提供することが可能となった。

【0232】

即ち、疲労の程度の判定に用いる遺伝子リストを作成し、被験体の生体試料を用いて遺伝子の発現変動を分析及び／又は比較することにより、客観的に疲労の程度を判定することが可能となり、さらには、疲労に対する回復、改善又は予防の効果（有効性）を判定すること、疲労を回復、改善又は予防し得る物質を探索する方法を提供することが可能となった。

【0233】

本発明にかかる疲労の程度の判定方法は、バイオマーカーやサロゲートマーカーに利用することができる。

【0234】

本発明を利用することにより、疲労感に頼ることなく、日常生活における生理的疲労、末梢性疲労、特に肉体疲労の程度を客観的に判定することが可能になる。さらには、睡眠や休息の確保、栄養補給や摂取、医薬品投与を適切に行うことを可能とし、疲労の回復、改善及び予防が容易に可能となり、国民の健康維持・増進に大きく寄与する分野に利用が可能である。

【0235】

10

20

30

40

【表 1】

表1：遺伝子リスト (ヒト)

No.	遺伝子シンボル	アクセッションNo.	発現変動
NO.001	ADAMTS1	AF060152.1	+
NO.002	ADAMTS20	NM_025003.3	+
NO.003	ADAMTS9	AF261918.1	+
NO.004	ADRB2	NM_000024.5	+
NO.005	AHSA1	NM_012111.2	+
NO.006	AKAP12	U01607.1	+
NO.007	ALDH2	NM_000690.2	+
NO.008	ALPL	NM_000478.4	+
NO.009	ANKRD33B	NM_001164440.1	+
NO.010	APBA3	AB021638.1	+
NO.011	APBB3	NM_006051.3	+
NO.012	APOLD1	NM_030817.2	+
NO.013	ARL4D	NM_001661.3	+
NO.014	ARL5B	NM_178815.3	+
NO.015	ARPP21	NM_016300.4	+
NO.016	ARRDC2	NM_015683.1	+
NO.017	ARRDC3	NM_020801.2	+
NO.018	ATF3	NM_001674.2	+
NO.019	ATF4	NM_001675.2	+
NO.020	ATP2A2	NM_001681.3	+
NO.021	ATP6V1H	NM_015941.2	+
NO.022	BCL2L11	AF032458.1	+
NO.023	BCL6B	NM_181844.3	+
NO.024	BTG2	NM_006763.2	+
NO.025	Cl9orf26	NM_152769.2	+
NO.026	C2CD2	NM_015500.1	+
NO.027	CC128	NM_148672.2	+
NO.028	CD2AP	AF146277.1	+
NO.029	CDKN1A	NM_078467.1	+
NO.030	CDT1	NM_030928.3	+
NO.031	CEBPE	NM_005194.2	+
NO.032	CEBPD	NM_005195.3	+
NO.033	CENPF	NM_001012267.1	+
NO.034	CHAC1	NM_024111.3	+
NO.035	CHID1	NM_023947.3	+
NO.036	CHPT1	NM_020244.2	+
NO.037	CISH	NM_145071.2	+
NO.038	CLIC4	NM_013943.2	+
NO.039	COQ10B	NM_025147.3	+
NO.040	CPNE5	NM_020939.1	+
NO.041	CSRNP1	NM_033027.3	+
NO.042	CTGF	NM_001901.2	+
NO.043	CXCL1	J03561.1	+
NO.044	CYR61	NM_001554.4	+
NO.045	DACH1	NM_004392.5	+
NO.046	DCAF6	NM_018442.2	+
NO.047	DDIT3	NM_004083.4	+
NO.048	DDIT4	NM_019058.2	+
NO.049	DFNB31	NM_015404.3	+
NO.050	DMP1	U34037.1	+

10

20

30

40

表1：遺伝子リスト (ヒト) (つづき)

No.	遺伝子シンボル	アクセッションNo.	発現変動
NO.051	DNAJA1	L08069.1	+
NO.052	DNAJB1	NM_006145.1	+
NO.053	DNAJB6	AB014888.1	+
NO.054	DNAE1	NM_005223.3	+
NO.055	DTWD2	NM_173666.2	+
NO.056	DUSP1	NM_004417.3	+
NO.057	E2F7	BC016658.1	+
NO.058	EGR1	NM_001964.2	+
NO.059	EGR2	NM_000399.3	+
NO.060	EIF4EBP1	NM_004095.3	+
NO.061	ELL2	NM_012081.5	+
NO.062	EMD	X82434.1	+
NO.063	ENAH	NM_018212.4	+
NO.064	ENC1	NM_003633.2	+
NO.065	ERCC5	X71342.1	+
NO.066	ERN1	NM_001433.3	+
NO.067	ERRFI1	NM_018948.3	+
NO.068	FAM107A	NM_007177.2	+
NO.069	FAM134B	NM_001034850.1	+
NO.070	FBXO32	AJ420108.1	+
NO.071	FBXW11	NM_012300.2	+
NO.072	FGD4	NM_139241.2	+
NO.073	FGF1	NM_000800.3	+
NO.074	FGFR3	NM_000142.4	+
NO.075	FKBP4	M88279.1	+
NO.076	FKBP5	U42031.1	+
NO.077	FNIP1	NM_133372.2	+
NO.078	FOS	NM_005252.3	+
NO.079	FOSL2	NM_005253.3	+
NO.080	FOXF1	NM_001451.2	+
NO.081	FOXO1	NM_002015.3	+
NO.082	GADD45G	NM_006705.3	+
NO.083	GEM	NM_181702.2	+
NO.084	GIGYF2	NM_001103146.1	+
NO.085	GLTSCR2	AF182076.1	+
NO.086	GSN	NM_000177.4	+
NO.087	GSR	NM_000637.2	+
NO.088	HSEGF	NM_001945.2	+
NO.089	HDLBP	NM_203346.2	+
NO.090	HNRNPA1	NM_031157.2	+
NO.091	HS3ST5	NM_153612.3	+
NO.092	HSP90AA1	NM_005348.3	+
NO.093	HSPA1A	BC002453.2	+
NO.094	HSPA1B	NM_005346.4	+
NO.095	HSPA6	Y00371.1	+
NO.096	ID1	NM_002165.2	+
NO.097	IER2	NM_004907.2	+
NO.098	IFI30	NM_006332.3	+
NO.099	IFNB1	NM_002176.2	+
NO.100	IFRD1	NM_001550.2	+
NO.101	IMPACT	NM_018439.3	+
NO.102	INHBB	NM_002193.2	+
NO.103	INO80	NM_017553.1	+

10

20

30

40

表1：遺伝子リスト (ヒト) (つづき)

No.	遺伝子シンボル	アクセッションNo.	発現変動
NO.104	IP6K3	NM_054111.4	+
NO.105	IRF2BP2	NM_182972.2	+
NO.106	IRF8	NM_002163.2	+
NO.107	IRS2	NM_003749.2	+
NO.108	JUN	NM_002228.3	+
NO.109	KDM4A	NM_014663.2	+
NO.110	KDM5B	NM_006619.3	+
NO.111	KLF2	AF123344.1	+
NO.112	KLF4	NM_004235.4	+
NO.113	KLF6	U51869.1	+
NO.114	KLHL2	AF059569.1	+
NO.115	KLHL8	AB037799.2	+
NO.116	LGALS3	NM_002306.3	+
NO.117	LITAF	NM_004862.3	+
NO.118	LPGAT1	NM_014873.2	+
NO.119	LRRC52	NM_001005214.3	+
NO.120	MAFB	AF134157.1	+
NO.121	MAFF	AJ010857.1	+
NO.122	MAFK	NM_002360.3	+
NO.123	MALT1	NM_006785.2	+
NO.124	MAP3K14	NM_003954.2	+
NO.125	MAP3K6	NM_004672.3	+
NO.126	MAST2	NM_015112.2	+
NO.127	MBNL2	NM_144778.2	+
NO.128	MED26	NM_004831.3	+
NO.129	MIDN	AC004221.2	+
NO.130	MNT	NM_020310.2	+
NO.131	MT1E	NM_175617.3	+
NO.132	MT1F	NM_005949.3	+
NO.133	NDUFB4	NM_004547.5	+
NO.134	NDUFS4	NM_002495.2	+
NO.135	NEDD9	NM_006403.3	+
NO.136	NFATC1	NM_172390.1	+
NO.137	NFIL3	NM_005384.2	+
NO.138	NLE1	NM_018096.3	+
NO.139	NMNAT2	AF288395.1	+
NO.140	NR4A1	L13740.1	+
NO.141	NR4A2	X75918.1	+
NO.142	NR4A3	U12767.1	+
NO.143	NRIP1	NM_003489.3	+
NO.144	NTSR2	Y10148.1	+
NO.145	NUAK2	NM_030952.1	+
NO.146	NUF54	AF157322.1	+
NO.147	OTUD1	AK096389.1	+
NO.148	PAN3	NM_175854.7	+
NO.149	PDLIM5	AF061258.1	+
NO.150	PDXK	NM_003681.4	+
NO.151	PER1	AB002107.1	+
NO.152	PIM3	NM_001001852.3	+
NO.153	PLOD2	NM_000935.2	+
NO.154	PLXDC1	NM_020405.4	+
NO.155	PLXNA2	NM_025179.3	+
NO.156	PPARGC1A	NM_013261.3	+

10

20

30

40

表1：遺伝子リスト (ヒト) (つづき)

No.	遺伝子シンボル	アクセッションNo.	発現変動
NO.157	PPP1R10	Y13247.1	+
NO.158	PPP1R15A	NM_014330.3	+
NO.159	PPP1R3C	NM_005398.4	+
NO.160	PPP4R1L	NR_003505.2	+
NO.161	PQLC1	NM_025078.4	+
NO.162	PRKD2	NM_016457.4	+
NO.163	PSME3	NM_176863.1	+
NO.164	PSTK	NM_153336.2	+
NO.165	PTGER4	NM_000958.2	+
NO.166	RAMP1	NM_005855.2	+
NO.167	RASIP1	NM_017805.2	+
NO.168	RBKS	NM_022128.1	+
NO.169	RCAN1	NM_004414.5	+
NO.170	RCC2	NM_018715.2	+
NO.171	RGS2	NM_002923.3	+
NO.172	RHOB	NM_004040.2	+
NO.173	RRM2B	AB036532.2	+
NO.174	RSRC2	NM_023012.4	+
NO.175	S100A10	NM_002966.2	+
NO.176	SAP30	NM_003864.3	+
NO.177	SCYL2	NM_017988.4	+
NO.178	SDC4	NM_002999.2	+
NO.179	SERPINE1	NM_000602.3	+
NO.180	SERTAD1	NM_013376.3	+
NO.181	SESN1	NM_014454.1	+
NO.182	SGMS1	NM_147156.3	+
NO.183	SIAH2	NM_005067.5	+
NO.184	SIK1	NM_173354.3	+
NO.185	SLC20A1	NM_005415.3	+
NO.186	SLC25A25	NM_052901.2	+
NO.187	SLC25A39	NM_032315.2	+
NO.188	SLC38A2	AB037803.2	+
NO.189	SLC38A9	NM_173514.2	+
NO.190	SLC5A3	NM_006933.4	+
NO.191	SLC7A2	NM_003046.5	+
NO.192	SLC7A5	NM_003486.5	+
NO.193	SLC7A8	Y10403.1	+
NO.194	SMAD3	NM_005902.3	+
NO.195	SOCS2	AF037989.1	+
NO.196	SORBS1	AF136381.1	+
NO.197	SOX17	AB073988.1	+
NO.198	SPAG9	NM_003971.5	+
NO.199	SPSB1	NM_025106.3	+
NO.200	ST6GALNAC3	NM_152996.2	+
NO.201	TAOK2	NM_016151.2	+
NO.202	TBC1D1	AB029031.1	+
NO.203	TBC1D10A	NM_031937.1	+
NO.204	TGIF1	NM_170695.2	+
NO.205	THBS1	NM_003246.2	+
NO.206	TINAGL1	NM_022164.2	+
NO.207	TIPARP	NM_015508.3	+
NO.208	TLR4	U88880.1	+
NO.209	TMCC3	NM_020698.2	+

10

20

30

40

表1：遺伝子リスト (ヒト) (つづき)

No.	遺伝子シンボル	アクセッションNo.	発現変動
NO.210	TMEM140	NM_018295.3	+
NO.211	TNFRSF12A	AB035480.1	+
NO.212	TOB2	NM_016272.3	+
NO.213	TOP1	NM_003286.2	+
NO.214	TP53INP2	NM_021202.1	+
NO.215	TRIM63	NM_032588.2	+
NO.216	UBC	NM_021009.4	+
NO.217	UGDH	NM_003359.2	+
NO.218	UTS2R	NM_018949.1	+
NO.219	XIRP1	NM_194293.2	+
NO.220	ZFAND2A	NM_182491.2	+
NO.221	ZFP36	M63625.1	+
NO.222	ZIK1	NM_001010879.2	+
NO.223	ZMI21	NM_020338.3	+
NO.224	ZNF706	NM_016096.3	+
NO.225	ZSWIM6	NM_020928.1	+
NO.226	AATK	AB014541.2	-
NO.227	ADAMTS12	NM_030955.2	-
NO.228	ADAMTS5	AF142099.1	-
NO.229	AFG3L1	NR_003226.1	-
NO.230	AHR	NM_001621.4	-
NO.231	AIRN	AW008515.1	- (EST)
NO.232	ANKRD1	NM_014391.2	-
NO.233	APLNK	NM_005161.4	-
NO.234	APOOL	NM_198450.3	-
NO.235	ARHGAP15	NM_018460.3	-
NO.236	ARHGAP18	NM_033515.2	-
NO.237	ASNS	NM_001673.3	-
NO.238	ATP9B	NM_198531.3	-
NO.239	AUTS2	AF326917.1	-
NO.240	BACE2	AF117892.1	-
NO.241	BANK1	NM_017935.4	-
NO.242	BBS12	NM_152618.2	-
NO.243	BECN1	NM_003766.3	-
NO.244	BLNK	NM_013314.3	-
NO.245	BRDT	NM_207189.2	-
NO.246	CAPRIN1	NM_005898.4	-
NO.247	CASP9	NM_032996.1	-
NO.248	CBX1	NM_006807.4	-
NO.249	CCDC53	NM_016053.2	-
NO.250	CCDC85A	AB067499.2	-
NO.251	CD1D	NM_001766.3	-
NO.252	CD200	NM_005944.5	-
NO.253	CD47	NM_001777.3	-
NO.254	CDC25B	NM_021873.2	-
NO.255	CDK14	NM_012395.2	-
NO.256	CDK6	NM_001259.6	-
NO.257	CFLAR	NM_003879.4	-
NO.258	CHEK2	NM_001005735.1	-
NO.259	CHRD	NM_003741.2	-
NO.260	CHRD12	AL110169.1	-
NO.261	CITED2	U65093.1	-
NO.262	CLEC14A	NM_175060.1	-

10

20

30

40

表1：遺伝子リスト (ヒト) (つづき)

No.	遺伝子シンボル	アクセッションNo.	発現変動
NO.263	CNP	NM_033133.4	-
NO.264	COL18A1	NM_030582.3	-
NO.265	CP	NM_000096.3	-
NO.266	CSF2RB2	NG_002638.4	-
NO.267	CTSE	NM_001910.2	-
NO.268	CTSS	NM_004079.3	-
NO.269	CXCL13	AJ002211.1	-
NO.270	CYBB	X04011.1	-
NO.271	CYP4X1	NM_178033.1	-
NO.272	DACT1	NM_016651.5	-
NO.273	DFPB	NM_004402.2	-
NO.274	DHX30	NM_138615.2	-
NO.275	DOCK4	NM_014705.3	-
NO.276	DPP4	M74777.1	-
NO.277	DPY19L3	NM_207325.2	-
NO.278	DZIP3	NM_014648.3	-
NO.279	EBF2	NM_022659.2	-
NO.280	EED	NM_003797.2	-
NO.281	EFNA1	NM_004428.2	-
NO.282	EFNB2	NM_004093.2	-
NO.283	EIF2B2	NM_014239.3	-
NO.284	ELAVL1	NM_001419.2	-
NO.285	ELK3	NM_005230.2	-
NO.286	ELOVL6	NM_024090.2	-
NO.287	EN1	L12699.1	-
NO.288	ERI2	NM_080663.2	-
NO.289	EVI2A	NM_014210.3	-
NO.290	EYA4	NM_004100.4	-
NO.291	FAM105B	NM_138348.4	-
NO.292	FAM161A	NM_032180.2	-
NO.293	FAM198B	NM_016613.6	-
NO.294	FAM49A	NM_030797.3	-
NO.295	FANCF	NM_022725.3	-
NO.296	FAT4	NM_024582.4	-
NO.297	FBXL7	NM_012304.3	-
NO.298	FOXP1	NM_032682.4	-
NO.299	FRG1	NM_004477.2	-
NO.300	GABRP	NM_014211.2	-
NO.301	GALK1	NM_000154.1	-
NO.302	GART	NM_000819.4	-
NO.303	GBP1	NM_002053.2	-
NO.304	GBP2	NM_004120.3	-
NO.305	GBP3	NM_018284.2	-
NO.306	GBP6	NM_198460.2	-
NO.307	GDA	AF095286.1	-
NO.308	GDAP1	NM_018972.2	-
NO.309	GIYD2	NM_024044.2	-
NO.310	GMFR2	NM_016576.3	-
NO.311	GPER	NM_001039966.1	-
NO.312	GPR137B	NM_003272.3	-
NO.313	GSTT2	NM_000854.3	-
NO.314	GVIN1	BX538318.1	-
NO.315	HIST1H2BD	NM_021063.2	-

10

20

30

40

表1：遺伝子リスト (ヒト) (つづき)

No.	遺伝子シンボル	アクセッションNo.	発現変動
NO.316	HLA-B	NM_005514.6	-
NO.317	HLA-C	NM_002117.4	-
NO.318	HLA-DQA1	NM_002122.3	-
NO.319	HLA-DRA	NM_019111.3	-
NO.320	HLA-DRE1	NM_002124.2	-
NO.321	HOXB3	NM_204743.1	-
NO.322	HTRA3	NM_053044.2	-
NO.323	HYI	NM_031207.3	-
NO.324	IFIT1	NM_001548.3	-
NO.325	IFIT2	NM_001547.4	-
NO.326	IFNAR1	NM_000629.2	-
NO.327	IGK0	AC009958.3	-
NO.328	IGKC	AB245096.1	-
NO.329	INVS	NM_014425.2	-
NO.330	ITGB1BP3	NM_170678.2	-
NO.331	JUB	AK025567.1	-
NO.332	KBTBD11	NM_014867.2	-
NO.333	KHNYN	AB002321.1	-
NO.334	KIAA1033	NM_015275.1	-
NO.335	KIAA1217	NM_019590.3	-
NO.336	KLHL6	NM_130446.2	-
NO.337	KRIT1	AJ294850.1	-
NO.338	LAPTM5	NM_006762.2	-
NO.339	LGI2	AJ487516.1	-
NO.340	LIMCH1	NM_014988.2	-
NO.341	LIMD2	NM_030576.3	-
NO.342	LOC388559	XM_496322.5	-
NO.343	LONP2	NM_031490.2	-
NO.344	LPCAT1	NM_024830.3	-
NO.345	LY6E	NM_001127213.1	-
NO.346	LYL1	NM_005583.3	-
NO.347	MAP4K5	NM_006575.3	-
NO.348	MARCKS	NM_002356.5	-
NO.349	MCAM	X68264.1	-
NO.350	MCC	NM_001085377.1	-
NO.351	MEIS2	NM_170677.2	-
NO.352	MEOX2	NM_005924.4	-
NO.353	MICAL1	NM_022765.3	-
NO.354	MLLT4	NM_005936.2	-
NO.355	MMP11	NM_005940.3	-
NO.356	MTHFD2L	BC065771.1	-
NO.357	MTUS2	AB018317.2	-
NO.358	MYCT1	NM_025107.2	-
NO.359	MYH8	NM_002472.2	-
NO.360	MYLIP	NM_013262.3	-
NO.361	MYO1B	NM_012223.3	-
NO.362	NAP1L3	NM_004538.4	-
NO.363	NCAPD2	NM_014865.3	-
NO.364	NFATC2IP	NM_032815.3	-
NO.365	NFIB	NM_005596.2	-
NO.366	NLN	AJ300837.1	-
NO.367	NNAT	NM_005386.2	-
NO.368	NONO	NM_007363.4	-

10

20

30

40

表1：遺伝子リスト (ヒト) (つづき)

No.	遺伝子シンボル	アクセッションNo.	発現変動
NO.369	NRP1	AF016050.1	-
NO.370	NT5DC2	NM_022908.2	-
NO.371	NTF3	NM_001102654.1	-
NO.372	NTRK3	U05012.1	-
NO.373	OR51E2	NM_030774.3	-
NO.374	P2RY14	NM_014879.3	-
NO.375	PABPC1	NM_002568.3	-
NO.376	PACRG	NM_152410.2	-
NO.377	PAPPA2	NM_020318.2	-
NO.378	PDE4B	NM_002600.3	-
NO.379	PDS5A	AF294791.1	-
NO.380	PER3	NM_016831.1	-
NO.381	PEX1	AF026086.1	-
NO.382	PEX13	NM_002618.3	-
NO.383	PEX6	NM_000287.3	-
NO.384	PISD	NM_014338.3	-
NO.385	PITPNM3	NM_031220.3	-
NO.386	PKLR	NM_000298.5	-
NO.387	PLAU	NM_002658.3	-
NO.388	PLCG2	NM_002661.2	-
NO.389	PLEKHA2	NM_021623.1	-
NO.390	PRMT10	BC004337.1	-
NO.391	PTGER3	X83863.1	-
NO.392	PTN	NM_002825.5	-
NO.393	PTPN2	NM_002828.2	-
NO.394	PTPRC	Y00062.1	-
NO.395	PUS3	NM_031307.3	-
NO.396	PVRL3	NM_015480.1	-
NO.397	QARS	NM_005051.1	-
NO.398	RAD51AP1	NM_006479.4	-
NO.399	RBM39	L10910.1	-
NO.400	RFC2	NM_181471.1	-
NO.401	RGS4	NM_005613.5	-
NO.402	RSAD2	NM_080657.4	-
NO.403	S1PR3	NM_005226.2	-
NO.404	SACM1L	NM_014016.3	-
NO.405	SASH3	NM_018990.3	-
NO.406	SCAI	NM_173690.4	-
NO.407	SEPT4	AF073312.1	-
NO.408	SERPINA1	NM_001002235.2	-
NO.409	SERPINE1	M93056.1	-
NO.410	SERPINE9	L40378.1	-
NO.411	SF3B3	NM_012426.4	-
NO.412	SIGMAR1	NM_005866.2	-
NO.413	SIKE1	NM_025073.2	-
NO.414	SIRPA	NM_080792.2	-
NO.415	SLC11A2	AB015355.1	-
NO.416	SLC16A4	NM_004696.1	-
NO.417	SLC25A19	NM_021734.4	-
NO.418	SLC25A24	NM_013386.3	-
NO.419	SLC35A2	NM_005660.1	-
NO.420	SOX18	AB033888.1	-
NO.421	SP1	J03133.1	-

10

20

30

40

表1：遺伝子リスト (ヒト) (つづき)

No.	遺伝子シンボル	アクセッションNo.	発現変動
NO.422	SPATA13	NM_153023.2	-
NO.423	SPEN	NM_015001.2	-
NO.424	SPP1	NM_001040058.1	-
NO.425	STBSIA4	NM_005668.4	-
NO.426	STAT1	NM_007315.3	-
NO.427	STRADE	NM_018571.5	-
NO.428	SUFU	NM_016169.2	-
NO.429	TACC3	AF093543.1	-
NO.430	TERF1	NM_017489.2	-
NO.431	TFF1	NM_003225.2	-
NO.432	TKT	NM_001064.2	-
NO.433	TMEM219	NM_001083613.1	-
NO.434	TMEM30C	NR_028357.1	-
NO.435	TNFAIP3	M59465.1	-
NO.436	TNFSF10	U37518.1	-
NO.437	TP53	NM_000546.4	-
NO.438	TP63	NM_003722.4	-
NO.439	TPM1	NM_001018004.1	-
NO.440	TRIB2	NM_021643.3	-
NO.441	TRIO	NM_007118.2	-
NO.442	TROVE2	NM_004600.5	-
NO.443	TSPAN12	NM_012338.3	-
NO.444	TSPAN33	NM_178562.3	-
NO.445	TSPAN8	NM_004616.2	-
NO.446	TTC27	NM_017735	-
NO.447	TWF1	NM_002822.3	-
NO.448	UNC5B	NM_170744.3	-
NO.449	UOX	NR_003927.1	-
NO.450	VAMP3	NM_004781.3	-
NO.451	VASH2	NM_024749.3	-
NO.452	VEGFC	NM_005429.2	-
NO.453	WDR37	NM_014023.3	-
NO.454	XAF1	NM_017523.2	-
NO.455	YWHAB	NM_003404.3	-
NO.456	ZBTB8A	AF548353.1	-
NO.457	ZFAND3	NM_021943.2	-
NO.458	ZMYM5	AF161535.1	-
NO.459	ZMYND8	NM_183047.1	-
NO.460	ZNF182	NM_006962.1	-
NO.461	ZNF398	AB037760.1	-
NO.462	ZNF511	NM_145806.2	-
NO.463	ZNF608	AB033107.2	-
NO.464	ZNF627	NM_145295.3	-
NO.465	ZNF708	NM_021269.2	-
NO.466	ZNF8	NM_021089.2	-

【 0 2 3 6 】

【表 2】

表 2 :

マウスへの運動負荷直後に、後肢骨格筋においてmRNAの発現量が増加した遺伝子

No.1	1110038B12Rik
No.2	1190002H23Rik
No.3	1810011Q10Rik
No.4	2210018M11Rik
No.5	2810427A07Rik
No.6	2900064B18Rik
No.7	4921511E18Rik
No.8	4921537I17Rik
No.9	5730409N24Rik
No.10	6030422H21Rik
No.11	6330416G13Rik
No.12	6720403M19Rik
No.13	7120451J01Rik
No.14	8430408G22Rik
No.15	9030624J02Rik
No.16	A130038J17Rik
No.17	A530054K11Rik
No.18	Adamts1
No.19	Adamts9
No.20	Ahsa1
No.21	Akap12
No.22	Aldh2
No.23	Apbs3
No.24	Apold1
No.25	Arl4d
No.26	Arl6b
No.27	Arpp21
No.28	Arrdc2
No.29	Atf3
No.30	Atf4
No.31	Atp2a2
No.32	Bcl2l11
No.33	Bcl6b
No.34	Btg2
No.35	C230007H23Rik
No.36	C2cd2
No.37	C80998
No.38	Col28
No.39	Cd2ap
No.40	Cdkn1a
No.41	Cebpd
No.42	Cenpp
No.43	Chac1
No.44	Chid1
No.45	Cish
No.46	Cog10b
No.47	Cpne5
No.48	Carrp1
No.49	Ctgf
No.50	Ctla2b
No.51	Cxcl1
No.52	Cyr61
No.53	D4Wsu53a
No.54	Dach1
No.55	Dcaf6
No.56	Ddit4
No.57	Dmp1
No.58	Dnaja1
No.59	Dnajb1
No.60	Dnase1

10

20

30

40

表 2 : (つづき)

マウスへの運動負荷直後に、後肢骨格筋においてmRNAの発現量が増加した遺伝子

No.61	Dtwd2
No.62	Dusp1
No.63	Egr1
No.64	Egr2
No.65	Eif4ebp1
No.66	Enah
No.67	Errf1
No.68	Fbxw11
No.69	Fgd4
No.70	Fkbp4
No.71	Fnip1
No.72	Fos
No.73	Fosl2
No.74	Gadd45g
No.75	Gem
No.76	Gltscr2
No.77	Gm129
No.78	Gm4002
No.79	Gm7899
No.80	Gsn
No.81	Ger
No.82	Hdlbp
No.83	Hnrnpa1
No.84	Hs3st5
No.85	Hsp90aa1
No.86	Hspa1a
No.87	Hspa1b
No.88	Hspa8
No.89	Id1
No.90	Ier2
No.91	Ifnb1
No.92	Ino80
No.93	Ire2
No.94	Jun
No.95	Kdm5b
No.96	Klf2
No.97	Klf4
No.98	Klf6
No.99	Klhl8
No.100	LOC100046556
No.101	LOC100046817
No.102	LOC100047324
No.103	LOC100048743
No.104	LOC624853
No.105	LOC634417
No.106	LOC640441
No.107	LOC641192
No.108	LOC677319
No.109	Lpgat1
No.110	Mafb
No.111	Maff
No.112	Mbnl2
No.113	Med26
No.114	Mt1
No.115	Myd116
No.116	Ndufb4
No.117	Ndufs4
No.118	Nedd9
No.119	Nfya1
No.120	Nmnat2

10

20

30

40

表 2 : (つづき)

マウスへの運動負荷直後に、後肢骨格筋においてmRNAの発現量が増加した遺伝子

No.121	Nr4a1
No.122	Nr4a2
No.123	Nrip1
No.124	Nuak2
No.125	Nup54
No.126	Otud1
No.127	Pan3
No.128	Per1
No.129	Plxdc1
No.130	Ppp1r10
No.131	Ppp1r3c
No.132	Ppp4r11
No.133	Pqlc1
No.134	Prkd2
No.135	Psme3
No.136	Pstk
No.137	Ptger4
No.138	Ramp1
No.139	Rbks
No.140	Rgs2
No.141	Rhob
No.142	Rrm2b
No.143	Rsrc2
No.144	S100a10
No.145	Scyl2
No.146	Serpine1
No.147	Sertad1
No.148	Sesn1
No.149	Sgms1
No.150	Sik1
No.151	Slc25a25
No.152	Slc38a9
No.153	Slc7a2
No.154	Soos2
No.155	St6galnac3
No.156	Tack2
No.157	Tbc1d1
No.158	Tbc1d10a
No.159	Thbs1
No.160	Tlr4
No.161	Tob2
No.162	Top1
No.163	Trp53inp2
No.164	Whrn
No.165	Zfand2a
No.166	Zfp36
No.167	Zfp706
No.168	Zfp871
No.169	Zik1

10

20

30

40

表 2 : (つづき)

マウスへの運動負荷直後に、後肢骨格筋においてmRNAの発現量が減少した遺伝子

No.1	1700029I01Rik
No.2	2210418Q10Rik
No.3	2410042D21Rik
No.4	2410089E03Rik
No.5	2610203Q20Rik
No.6	2900046L07Rik
No.7	4632428N05Rik
No.8	5230400M03Rik
No.9	5730470L24Rik
No.10	5830408B19Rik
No.11	5930433N17Rik
No.12	6330407A03Rik
No.13	6430537J21Rik
No.14	6530403Q13Rik
No.15	8030497Q21Rik
No.16	9230108I15Rik
No.17	9430081J23Rik
No.18	9430082L08Rik
No.19	9630023Q09Rik
No.20	A130001G05Rik
No.21	A230046K03Rik
No.22	A830082N09Rik
No.23	Aatk
No.24	Adamts12
No.25	Afg3l1
No.26	AI467606
No.27	Airm
No.28	Ankrd1
No.29	Aplnr
No.30	Apool
No.31	Asns
No.32	Atp9b
No.33	Aut52
No.34	AY512938
No.35	Bace2
No.36	Bank1
No.37	Bbs12
No.38	BC030867
No.39	Becn1
No.40	Bink
No.41	Brdt
No.42	C130038Q02Rik
No.43	Caprin1
No.44	Cbx1
No.45	Ccdc53
No.46	Cdc25b
No.47	Cflar
No.48	Chrd
No.49	Chrdl2
No.50	Glacl4a
No.51	Cnp
No.52	Col18a1
No.53	Cp
No.54	Csf2rb2
No.55	Ctse
No.56	Ctes
No.57	Cxcl13
No.58	Cyp4x1
No.59	D230044B12Rik
No.60	D2Ert093e

10

20

30

40

表 2 : (つづき)

マウスへの運動負荷直後に、後肢骨格筋においてmRNAの発現量が減少した遺伝子

No.61	D630004K10Rik
No.62	D930050J11
No.63	Dffb
No.64	Dhx30
No.65	Dnm3os
No.66	Dock4
No.67	Dpp4
No.68	Dpy19l3
No.69	Dzip3
No.70	E430016P22Rik
No.71	Eed
No.72	Efnal
No.73	Ehf2b2
No.74	Elovl6
No.75	En1
No.76	Erl2
No.77	Etl4
No.78	Eya4
No.79	Fam105b
No.80	Fam161a
No.81	Fancf
No.82	Fbxl7
No.83	Foxp1
No.84	Frg1
No.85	Gabrp
No.86	Galk1
No.87	Gart
No.88	Gbp1
No.89	Gbp2
No.90	Gbp3
No.91	Gbp6
No.92	Gdap1
No.93	Glyd2
No.94	Gm10883
No.95	Gm1420
No.96	Gm7202
No.97	Gm8276
No.98	Gper
No.99	Gvin1
No.100	H2-Aa
No.101	H2-Ea
No.102	H2-Eb1
No.103	H2-K1
No.104	H2-Q7
No.105	Hoxb3
No.106	Htra3
No.107	Hyl
No.108	Ifit1
No.109	Ifit2
No.110	Ifnar1
No.111	Igk
No.112	Igk-C
No.113	Igk-V28
No.114	Ilgp1
No.115	Invs
No.116	Iteb1bp3
No.117	Kbtbd11
No.118	Kilhl6
No.119	Krit1
No.120	Laptn5

10

20

30

40

表2：(つづき)

マウスへの運動負荷直後に、後肢骨格筋においてmRNAの発現量が減少した遺伝子

No.121	Lgl2
No.122	Llmoh1
No.123	Limd2
No.124	LOC100047628
No.125	LOC100047693
No.126	LOC638038
No.127	Ly6e
No.128	Lyl1
No.129	Map4k5
No.130	Mcarn
No.131	Mela2
No.132	Mical1
No.133	Mmp11
No.134	Mthfd2l
No.135	Myot1
No.136	Myh8
No.137	Myo1b
No.138	Nap1l3
No.139	Ncapd2
No.140	Nln
No.141	Nono
No.142	Nrp1
No.143	Nt5dc2
No.144	Ntrk3
No.145	Olf78
No.146	OTTMUSG00000010657
No.147	P2ry14
No.148	Pabpc1
No.149	Paorg
No.150	Pappa2
No.151	Pds5a
No.152	Pex1
No.153	Pex13
No.154	Pex6
No.155	Pftk1
No.156	Pitpnm3
No.157	Pklr
No.158	Plcg2
No.159	Plekha2
No.160	Prmt10
No.161	Ptn
No.162	Ptpn2
No.163	Ptprc
No.164	Pus3
No.165	Pvrl3
No.166	Qars
No.167	Rbm39
No.168	Rfc2
No.169	Rgs4
No.170	Rian
No.171	Rsad2
No.172	Secm1l
No.173	Sash3
No.174	Scal
No.175	Serpina1a
No.176	Serpina1b
No.177	Serpinb1a
No.178	Sf3b3
No.179	Sigmar1
No.180	Sirpa

10

20

30

40

表 2 : (つづき)

マウスへの運動負荷直後に、後肢骨格筋においてmRNAの発現量が減少した遺伝子

No.181	Slc11a2
No.182	Slc25a24
No.183	Slc35a2
No.184	Sox18
No.185	Spata13
No.186	Spen
No.187	Spp1
No.188	Stat1
No.189	Stradb
No.190	Sufu
No.191	Tacc3
No.192	Terf1
No.193	Tff1
No.194	Tgtp
No.195	Tgtp2
No.196	Tkt
No.197	Tmem219
No.198	Tmem30c
No.199	Tnfrsf3
No.200	Tnfrsf10
No.201	Trlo
No.202	Trove2
No.203	Trp63
No.204	Tspan12
No.205	Tspan33
No.206	Ttc27
No.207	Twf1
No.208	Uox
No.209	Vamp3
No.210	Vash2
No.211	Wdr37
No.212	Xaf1
No.213	Ywhab
No.214	Zbtb3a
No.215	Zfand3
No.216	Zfp182
No.217	Zfp273
No.218	Zfp398
No.219	Zfp472
No.220	Zfp511
No.221	Zfp783
No.222	Zfp85-rs1
No.223	Zmynd8

10

20

30

【表 3】

表 3 :

マウスへの運動負荷1時間後に、後肢骨格筋においてmRNAの発現量が増加した遺伝子

No.1	I190002H23Rik
No.2	I200003I10Rik
No.3	I200015M12Rik
No.4	I200016E24Rik
No.5	I700019D03Rik
No.6	I810011O10Rik
No.7	I810044D09Rik
No.8	I2900079Q21Rik
No.9	I3930401B19Rik
No.10	I4930481A15Rik
No.11	I4930513N20Rik
No.12	I5330406M23Rik
No.13	I6030422H21Rik
No.14	I8430408G22Rik
No.15	I130040M12Rik
No.16	AB041B03
No.17	Adamts20
No.18	Adamts9
No.19	Adrb2
No.20	Akap12
No.21	Alpl
No.22	Ankrd33b
No.23	Apbb3
No.24	Arl4d
No.25	Arpp21
No.26	Arrdc2
No.27	Arrdc3
No.28	Atf3
No.29	Atp6v1h
No.30	B930025B16Rik
No.31	Bcl2l11
No.32	Btg2
No.33	Cdkn1a
No.34	Cdt1
No.35	Cebpb
No.36	Clic4
No.37	Cog10b
No.38	Csmpl
No.39	Ctla2a
No.40	Ctla2b
No.41	D030041H20Rik
No.42	D19Wsu162e
No.43	D4Wsu53e
No.44	Ddit3
No.45	Ddit4
No.46	Dnaja1
No.47	Dnajb1
No.48	Dnajb6
No.49	Dos
No.50	E2f7
No.51	E430024C06Rik
No.52	Egr1
No.53	Elf2
No.54	Emd
No.55	Enc1
No.56	Erec5
No.57	Ern1
No.58	Fam107a
No.59	Fam134b
No.60	Fbxo32

10

20

30

40

表3：(つづき)

マウスへの運動負荷1時間後に、後肢骨格筋においてmRNAの発現量が増加した遺伝子

No.61	Fgf1
No.62	Fgfr3
No.63	Fkbp5
No.64	Fos
No.65	Fosl2
No.66	Foxf1a
No.67	Foxo1
No.68	Glyf2
No.69	Gm129
No.70	Hbegf
No.71	Hsp90aa1
No.72	Hspa1a
No.73	Hspa1b
No.74	Id1
No.75	Ifi30
No.76	Ifrd1
No.77	Impact
No.78	Inhbb
No.79	Irfk3
No.80	Irf2bp2
No.81	Irf8
No.82	Irf2
No.83	Kdm4a
No.84	Klf4
No.85	Klf6
No.86	Klf12
No.87	Lgals3
No.88	Litaf
No.89	LOC100048232
No.90	LOC100048802
No.91	LOC100048855
No.92	LOC100047324
No.93	LOC100047619
No.94	LOC552901
No.95	LOC834417
No.96	LOC840441
No.97	Lrrc52
No.98	Maff
No.99	Mafk
No.100	Malt1
No.101	Map3k14
No.102	Map3k6
No.103	Mast2
No.104	Midn
No.105	Mnt
No.106	Mt1
No.107	Mt2
No.108	Myd116
No.109	Nfatc1
No.110	Nfil3
No.111	Nfe1
No.112	Nr4a1
No.113	Nr4a2
No.114	Nr4a3
No.115	Ntar2
No.116	Ottd1
No.117	Pdlim5
No.118	Pdxk
No.119	Per1
No.120	Pim3

10

20

30

40

表3：(つづき)

マウスへの運動負荷1時間後に、後肢骨格筋においてmRNAの発現量が増加した遺伝子

No.121	Plod2
No.122	Plxna2
No.123	Ppargc1a
No.124	Ppp1r3c
No.125	Rasip1
No.126	Rcan1
No.127	Rcc2
No.128	Rhob
No.129	Sap30
No.130	Sdc4
No.131	Sesn1
No.132	Siah2
No.133	Sik1
No.134	Slc20a1
No.135	Slc25a25
No.136	Slc25a33
No.137	Slc38a2
No.138	Slc5a3
No.139	Slc7a5
No.140	Slc7a8
No.141	Smad3
No.142	Sorbs1
No.143	Sox17
No.144	Spag9
No.145	Spsb1
No.146	Tgfr1
No.147	Thbs1
No.148	Tinagl1
No.149	Tiparp
No.150	Tmcc3
No.151	Tmem140
No.152	Tnfrsf12a
No.153	Tob2
No.154	Trlm63
No.155	Ubc
No.156	Ugdh
No.157	Uts2r
No.158	Xirp1
No.159	Zfp36
No.160	Zmiz1
No.161	Zwim6

10

20

30

表3：(つづき)

マウスへの運動負荷1時間後に、後肢骨格筋においてmRNAの発現量が減少した遺伝子

No.1	1110032E23Rik
No.2	2900008Q10Rik
No.3	4632428N05Rik
No.4	5930433N17Rik
No.5	6720462K09Rik
No.6	8430436C05Rik
No.7	9130227C06Rik
No.8	A930018M24Rik
No.9	Adamts5
No.10	Ahr
No.11	A184375b
No.12	Aplnr
No.13	Arhgap15
No.14	Arhgap18
No.15	AY512938
No.16	Casp9
No.17	Ccdc85a
No.18	Cd1d1
No.19	Cd200
No.20	Cd47
No.21	Cdk6
No.22	Chek2
No.23	Cited2
No.24	Cp
No.25	Cybb
No.26	D230044B12Rik
No.27	D330050I23Rik
No.28	Dact1
No.29	Ebf2
No.30	Efnb2
No.31	Elavl1
No.32	Elk3
No.33	Evl2a
No.34	Fam49a
No.35	Fat4
No.36	Gda
No.37	Gmpr2
No.38	Gpr137b
No.39	Gpr137b-ps
No.40	Gstt2
No.41	Hist1h2bp
No.42	Ifi203
No.43	Jub
No.44	LOC100044979
No.45	LOC100048332
No.46	LOC100189605
No.47	Lamp2
No.48	Lpcat1
No.49	Marcks
No.50	Mcc
No.51	Meox2
No.52	Mlt4
No.53	Mmp11
No.54	Mup1
No.55	Mup10
No.56	Mup12
No.57	Mup2
No.58	Mup7
No.59	Mup8
No.60	Myet1

10

20

30

40

表 3 : (つづき)

マウスへの運動負荷1時間後に、後肢骨格筋においてmRNAの発現量が減少した遺伝子

No.61	Mylip
No.62	Nfatc2ip
No.63	Nfib
No.64	Nnat
No.65	Ntf3
No.66	Pde4b
No.67	Per3
No.68	Pisd
No.69	Pisd-ps
No.70	Pisd-ps3
No.71	Plau
No.72	Plcg2
No.73	Ptger3
No.74	Rad51ap1
No.75	S1pr3
No.76	Sept4
No.77	Serpinh9
No.78	Sle16a4
No.79	Sp1
No.80	St0sis4
No.81	Tnfrsf10
No.82	Tgm1
No.83	Trib2
No.84	Trp53
No.85	Tspan8
No.86	Unc6b
No.87	Vegfc
No.88	Zfp128
No.89	Zfp383
No.90	Zfp472
No.91	Zfp608
No.92	Zfp867
No.93	Zmym5

10

20

【 0 2 3 8 】

【表 4】

表 4 : 遺伝子リスト (マウス)

No.	遺伝子シンボル	アクセッションNo.	発現変動
NO.001	1110038BT2Rik	NR_015536	+
NO.002	1190002H23Rik	NM_025427	+
NO.003	1200003110Rik	BT076834	+
NO.004	1200015M12Rik	BT076834	+
NO.005	1200018E24Rik	XM_001472371.1	+
NO.006	1700019D03Rik	NM_144953	+
NO.007	1810011010Rik	NM_026831	+
NO.008	1810044D09Rik	AV057045	+
NO.009	2210018M11Rik	NM_172280	+
NO.010	2810427A07Rik	Q78158	+
NO.011	2900064B18Rik	AV154597	+
NO.012	2900079G21Rik	NR_015468	+
NO.013	3930401B19Rik	AU018141	+
NO.014	4921511E18Rik	AK014868	+
NO.015	4921537I17Rik	BE635076	+
NO.016	4930481A15Rik	NR_015545	+
NO.017	4930513N20Rik	AK015786	+
NO.018	5330406M23Rik	BM241296	+
NO.019	5730409N24Rik	AI086154	+
NO.020	6030422H21Rik	AK098139	+
NO.021	6330416Q13Rik	NM_144905	+
NO.022	6720403M19Rik	BB472466	+
NO.023	7120451J01Rik	BB541643	+
NO.024	8430408G22Rik	NM_145980	+
NO.025	9030624J02Rik	NM_027615	+
NO.026	A130038J17Rik	BB157945	+
NO.027	A130040M12Rik	NR_002860	+
NO.028	A530054K11Rik	NM_183146	+
NO.029	AB041803	XR_035177	+
NO.030	Adamts1	NM_009621	+
NO.031	Adamts20	NM_177431	+
NO.032	Adamts9	NM_175314	+
NO.033	Adrb2	NM_007420	+
NO.034	Ahsa1	NM_146036	+
NO.035	Akap12	NM_031185	+
NO.036	Aldh2	NM_009656	+
NO.037	Alpl	NM_007431	+
NO.038	Ankrd33b	NM_001164441	+
NO.039	Apba3	NM_018758.2	+
NO.040	Apbb3	NM_146085	+
NO.041	Apcll1	NM_001109914	+
NO.042	Arl4d	NM_025404	+
NO.043	Arl5b	NM_029466	+
NO.044	Arpp21	NM_028755	+
NO.045	Arrdc2	NM_027560	+
NO.046	Arrdc3	NM_001042591	+
NO.047	Atf3	NM_007499	+
NO.048	Atf4	NM_009716	+

10

20

30

表4：遺伝子リスト (マウス) (つづき)

No.	遺伝子シンボル	アクセッションNo.	発現変動
NO.049	Atp2a2	NM_001110140	+
NO.050	Atp6v1h	NM_133826	+
NO.051	B930025B16Rik	BE648536	+
NO.052	Bcl2l1	NM_009754	+
NO.053	Bcl8b	NM_007528	+
NO.054	Btg2	NM_007570	+
NO.055	G230007H23Rik	BB380551	+
NO.056	C2cd2	NM_174647	+
NO.057	C80998	BQ068927	+
NO.058	Ccl20	NM_020279	+
NO.059	Gd2ap	NM_009847	+
NO.060	Gdkn1a	NM_001111099	+
NO.061	Gdt1	NM_026014	+
NO.062	Gebp	NM_009883	+
NO.063	Gebp	NM_007679	+
NO.064	Gsnpp	NM_025495	+
NO.065	Ghaol	NM_026929	+
NO.066	Ghid1	NM_001142681	+
NO.067	Gish	NM_009895	+
NO.068	Glic4	NM_013885	+
NO.069	Gq10b	NM_001039710	+
NO.070	Gpne5	NM_153166	+
NO.071	Gsnpp	NM_153287	+
NO.072	Gtcf	NM_010217	+
NO.073	Gtla2a	NM_001145799.1	+
NO.074	Gtla2b	NM_001145601.1	+
NO.075	Gxcl1	NM_008176	+
NO.076	Gyr81	NM_010516	+
NO.077	D030041H20Rik	BB443518	+
NO.078	D19Wsu162a	NM_148099	+
NO.079	D4Wsu53e	NM_023665	+
NO.080	Dach1	NM_001038610	+
NO.081	Dcaf6	NM_028759	+
NO.082	Ddit3	NM_007637	+
NO.083	Ddit4	NM_029083	+
NO.084	Dmp1	NM_016779	+
NO.085	Dnaja1	NM_008298	+
NO.086	Dnaja1	NM_018608	+
NO.087	Dnaja6	NM_001037940	+
NO.088	Dnaso1	NM_010061	+
NO.089	Dps	NM_015761	+
NO.090	Dtwd2	NM_026654	+
NO.091	Dusp1	NM_013642	+
NO.092	E2f7	NM_178609	+
NO.093	E430024C06Rik	B1076634	+
NO.094	Egr1	NM_007913	+
NO.095	Egr2	NM_010118	+
NO.096	Elf4ebp1	NM_007918	+
NO.097	Ell2	NM_138953	+
NO.098	Emd	NM_007927	+
NO.099	Enah	NM_001083120	+
NO.100	Enc1	NM_007930	+

10

20

30

40

表4：遺伝子リスト（マウス）（つづき）

No.	遺伝子シンボル	アクセッションNo.	発現変動
NO.101	Ercs5	NM_011729	+
NO.102	Em1	NM_023913	+
NO.103	Errfi1	NM_133753	+
NO.104	Fam107a	NM_183187	+
NO.105	Fam134b	NM_001034851	+
NO.106	Fbxo32	NM_028346	+
NO.107	Fbxw11	NM_134015	+
NO.108	Fgd4	NM_139232	+
NO.109	Fgf1	NM_010197	+
NO.110	Fgfr3	NM_001163215	+
NO.111	Fkbp4	NM_010219.3	+
NO.112	Fkbp5	NM_010220	+
NO.113	Fnip1	NM_173753	+
NO.114	Fos	NM_010234	+
NO.115	Fosl2	NM_008037.4	+
NO.116	Foxf1a	NM_010426	+
NO.117	Foxo1	NM_019739	+
NO.118	Gadd45g	NM_011817	+
NO.119	Gem	NM_010276	+
NO.120	Gigyl2	NM_001110212	+
NO.121	Gltscr2	NM_133831	+
NO.122	Gm129	NM_001033302	+
NO.123	Gm4002	AA165749	+
NO.124	Gm7899	AK004608	+
NO.125	Gsn	NM_146120	+
NO.126	Gsr	NM_010344	+
NO.127	Hbegf	NM_010415	+
NO.128	Hdlbp	NM_133808	+
NO.129	Hnmpa1	NM_001039129	+
NO.130	Hs3st5	NM_001081208.1	+
NO.131	Hsp90aa1	NM_010480	+
NO.132	Hspa1a	NM_010479	+
NO.133	Hspa1b	NM_010478	+
NO.134	Hspa8	NM_031165.4	+
NO.135	Id1	NM_010495	+
NO.136	Ier2	NM_010499	+
NO.137	Ifi30	NM_023065	+
NO.138	Ifnb1	NM_010510	+
NO.139	Ifrd1	NM_013562	+
NO.140	Impact	NM_008378	+
NO.141	Inhbb	NM_008381.3	+
NO.142	Ino80	NM_026574	+
NO.143	Ipbk3	NM_173027	+
NO.144	Irf2bp2	XM_001002526	+
NO.145	Irfb	NM_008320	+
NO.146	Irs2	NM_001081212	+
NO.147	Jun	NM_010591	+
NO.148	Kdm4a	NM_001161823	+
NO.149	Kdm5b	NM_152895	+
NO.150	Klf2	NM_008452	+
NO.151	Klf4	NM_010637	+
NO.152	Klf8	NM_011803	+

10

20

30

40

表4：遺伝子リスト (マウス) (つづき)

No.	遺伝子シンボル	アクセッションNo.	発現変動
NO.153	Kihl2	NM_178633	+
NO.154	KihlB	NM_178741	+
NO.155	Lgals3	NM_001145953	+
NO.156	Litaf	NM_019980	+
NO.157	LOC100046232	XM_001475817.1	+
NO.158	LOC100046556	XM_001476556.1	+
NO.159	LOC100046802	XM_001476835.1	+
NO.160	LOC100046817	XM_001476849.1	+
NO.161	LOC100046855	XM_001476916	+
NO.162	LOC100047324	XM_001477554.1	+
NO.163	LOC100047619	XR_033736.1	+
NO.164	LOC100048743	XM_001461106.1	+
NO.165	LOC552901	AW546414	+
NO.166	LOC624553	NR_015570.1	+
NO.167	LOC634417	XM_009130.2	+
NO.168	LOC640441	XM_017391.3	+
NO.169	LOC641192	XM_018535.2	+
NO.170	LOC677319	XR_031654.1	+
NO.171	Lpgat1	NM_001134929	+
NO.172	Lrrc52	NM_001013382	+
NO.173	MafB	NM_010658	+
NO.174	MafF	NM_010755	+
NO.175	MafK	NM_010757	+
NO.176	Malt1	NM_172833	+
NO.177	Map3k14	NM_016896	+
NO.178	Map3k6	NM_016693	+
NO.179	Mast2	NM_001042743	+
NO.180	Mbnl2	NM_175341	+
NO.181	Med26	NM_027485	+
NO.182	Mldn	NM_021565	+
NO.183	Mnt	NM_010813	+
NO.184	Mt1	NM_013602	+
NO.185	Mt2	NM_008630	+
NO.186	Myd116	NM_008654	+
NO.187	Ndufb4	NM_026610	+
NO.188	Ndufs4	NM_010867	+
NO.189	Nedd9	NM_001111324	+
NO.190	Nfya1	NM_001164109	+
NO.191	Nfil3	NM_017373.3	+
NO.192	Nle1	NM_145431	+
NO.193	Nmnat2	NM_175460	+
NO.194	Nr4a1	NM_010444	+
NO.195	Nr4a2	NM_001139509	+
NO.196	Nr4a3	NM_015743	+
NO.197	Nrip1	NM_173440	+
NO.198	Nter2	NM_008747	+
NO.199	Nuak2	NM_028778	+
NO.200	Nup54	NM_183392	+
NO.201	Otud1	XM_622877	+
NO.202	Pan3	NM_028291	+
NO.203	Pdlim5	NM_019808	+
NO.204	Pdxk	NM_172134	+

10

20

30

40

表4：遺伝子リスト（マウス）（つづき）

No.	遺伝子シンボル	アクセッションNo.	発現変動
NO.205	Par1	NM_001159367	+
NO.206	Pim3	NM_145478	+
NO.207	Plod2	NM_001142916	+
NO.208	Plxdc1	NM_001163608	+
NO.209	Plxna2	NM_008662	+
NO.210	Ppargc1a	NM_008804	+
NO.211	Ppp1r10	NM_175934.3	+
NO.212	Ppp1r3c	NM_016654	+
NO.213	Ppp4r1l	NR_027957	+
NO.214	Pqlc1	NM_001164420	+
NO.215	Prkd2	NM_178900	+
NO.216	Psme3	NM_011192	+
NO.217	Petk	NM_001039534	+
NO.218	Ptger4	NM_001136079	+
NO.219	Ramp1	NM_016694	+
NO.220	Rasip1	NM_028544	+
NO.221	Rbks	NM_153106	+
NO.222	Rcan1	NM_001081549	+
NO.223	Rcc2	NM_173867	+
NO.224	Rgs2	NM_009061	+
NO.225	Rhob	NM_007463	+
NO.226	Rrm2b	NM_189476	+
NO.227	Rerc2	NM_001005523	+
NO.228	SIQ0a10	NM_009112	+
NO.229	Sap30	NM_021788	+
NO.230	Seyl2	NM_198021	+
NO.231	Sdc4	NM_011521	+
NO.232	Serpine1	NM_008671	+
NO.233	Sertad1	NM_018620	+
NO.234	Seas1	NM_001013370.2	+
NO.235	Sgms1	NM_144792	+
NO.236	Siah2	NM_009174	+
NO.237	Sik1	NM_010831	+
NO.238	Slc20a1	NM_001159593	+
NO.239	Slc25a25	NM_001164357	+
NO.240	Slc25a33	NM_027460	+
NO.241	Slc38a2	NM_175121	+
NO.242	Slc38a9	NM_178746	+
NO.243	Slc5a3	NM_017391	+
NO.244	Slc7a2	NM_001044740	+
NO.245	Slc7a5	NM_011404.3	+
NO.246	Slc7a8	NM_016972	+
NO.247	Smad3	NM_016769	+
NO.248	Socs2	NM_007706	+
NO.249	Sorbs1	NM_001034962	+
NO.250	Sox17	NM_011441	+
NO.251	Spag8	NM_001025428	+
NO.252	Spsb1	NM_029035	+
NO.253	St6galnac3	NM_011372	+
NO.254	Taok2	NM_001163774	+
NO.255	Tbc1d1	NM_019636.2	+
NO.256	Tbc1d10a	NM_134023	+

10

20

30

40

表4：遺伝子リスト (マウス) (つづき)

No.	遺伝子シンボル	アクセッションNo.	発現変動
NO.257	Tgfr1	NM_001164074	+
NO.258	Thbs1	NM_011580	+
NO.259	Tinag1	NM_023476	+
NO.260	Tiparp	NM_178892	+
NO.261	Tlr4	NM_021297	+
NO.262	Tmo3	NM_172051	+
NO.263	Tmem140	NM_197988	+
NO.264	Tnfrsf12a	NM_001161746	+
NO.265	Tob2	NM_020507	+
NO.266	Top1	NM_009408	+
NO.267	Trim63	NM_001039048	+
NO.268	Trp53inp2	NM_178111	+
NO.269	Ubc	NM_019639	+
NO.270	Ugdh	NM_009466	+
NO.271	Uts2r	NM_145440	+
NO.272	Whrn	NM_001008791	+
NO.273	Xlrp1	NM_001081339	+
NO.274	Zfand2a	NM_001159908	+
NO.275	Zfp38	NM_011756	+
NO.276	Zfp706	NM_026521.4	+
NO.277	Zfp871	NM_172458	+
NO.278	Zrk1	NM_009577	+
NO.279	Zmix1	NM_183208	+
NO.280	Zswim6	NM_145456	+
NO.281	I110032E23Rik	NM_133187	-
NO.282	1700029I01Rik	NM_027285	-
NO.283	2210416O10Rik	NM_029813	-
NO.284	2410042D21Rik	NM_024254	-
NO.285	2410089E03Rik	NM_001162906	-
NO.286	2610203C20Rik	NM_001033153	-
NO.287	2800008G10Rik	XM_001477165	-
NO.288	2900046L07Rik	AK013658	-
NO.289	4632428N05Rik	NM_001159572	-
NO.290	5230400M03Rik	BB312292	-
NO.291	5730470L24Rik	NM_025679	-
NO.292	5830408B19Rik	BE135996	-
NO.293	5930433N17Rik	Q85455	-
NO.294	6330407A03Rik	NR_028126	-
NO.295	6430537I21Rik	AV343428	-
NO.296	6530403G13Rik	AK018318	-
NO.297	6720462K08Rik	BB053380	-
NO.298	6030497O21Rik	AK020225	-
NO.299	6430436C05Rik	AU016566	-
NO.300	8130227C08Rik	NM_027143	-
NO.301	9230108I15Rik	XM_974671	-
NO.302	9430081E23Rik	BB102201	-
NO.303	9430082L08Rik	BB102433	-
NO.304	9630023C09Rik	A049170	-
NO.305	A130001G05Rik	BB631473	-
NO.306	A230046K03Rik	NM_001033375	-
NO.307	A830082N09Rik	NR_015528	-
NO.308	A930018M24Rik	XM_907235	-

10

20

30

40

表4：遺伝子リスト（マウス）（つづき）

No.	遺伝子シンボル	アクセッションNo.	発現変動
NO.309	Aatk	NM_007377	-
NO.310	Adamts12	NM_175501	-
NO.311	Adamts5	NM_011782.2	-
NO.312	Afg3l1	NM_054070	-
NO.313	Ahr	NM_013464	-
NO.314	Aj467606	NM_178901	-
NO.315	Ajb43755	AJ843755	-
NO.316	Airm	NR_002853	-
NO.317	Ankrd1	NM_013468	-
NO.318	Aplnr	NM_011784	-
NO.319	Apool	NM_026565	-
NO.320	Arhgap15	NM_001025377	-
NO.321	Arhgap18	NM_178837	-
NO.322	Asns	NM_012055	-
NO.323	Atp9b	NM_015805	-
NO.324	Autx2	NM_177047	-
NO.325	AY512938	BM239547	-
NO.326	Bace2	NM_019517	-
NO.327	Bank1	NM_001033350	-
NO.328	Bbs12	NM_001008502	-
NO.329	BOD30867	NM_153544	-
NO.330	Beon1	NM_019584	-
NO.331	Blnk	NM_008528	-
NO.332	Brdt	NM_001078873	-
NO.333	C130038Q02Rik	NM_028920	-
NO.334	Caprin1	NM_001111289	-
NO.335	Casp9	NM_015733	-
NO.336	Cbx1	NM_007622	-
NO.337	Ccdc53	NM_001122960	-
NO.338	Ccdc55a	NM_181577	-
NO.339	Cd1d1	NM_007639	-
NO.340	Cd200	NM_010818	-
NO.341	Cd47	NM_010581	-
NO.342	Cdc25b	NM_001111075	-
NO.343	Cdk6	NM_009873	-
NO.344	Cflar	NM_009805	-
NO.345	Chek2	NM_016881	-
NO.346	Chrd	NM_009893	-
NO.347	Chrdl2	NM_183709	-
NO.348	Cited2	NM_010828	-
NO.349	Cleo14a	NM_025809	-
NO.350	Cnp	NM_001146318	-
NO.351	Col18a1	NM_001109991	-
NO.352	Op	NM_001042611	-
NO.353	Csf2rb2	NM_007781	-
NO.354	Ctss	NM_007799	-
NO.355	Ctss	NM_021281	-
NO.356	Cxcl13	NM_018886	-
NO.357	Cybb	NM_007807	-
NO.358	Cyp4x1	NM_001003947	-
NO.359	D230044B12Rik	BB472163	-
NO.360	D2Ert493a	BE952347	-

10

20

30

40

表4：遺伝子リスト（マウス）（つづき）

No.	遺伝子シンボル	アクセッションNo.	発現変動
NO.361	D330050J23Rik	NM_001162926	-
NO.362	D630004K10Rik	BB335465	-
NO.363	D930050J11	BB529208	-
NO.364	Dact1	NM_021532	-
NO.365	Dffb	NM_007859	-
NO.366	Dhx30	NM_133347	-
NO.367	Dnm3es	NR_002870	-
NO.368	Dock4	NM_172803	-
NO.369	Dpp4	NM_001159543	-
NO.370	Dpy19l3	NM_178704	-
NO.371	Dzlp3	NM_001110017	-
NO.372	E430016P22Rik	BB295976	-
NO.373	Ebf2	NM_010095	-
NO.374	Eed	NM_021878	-
NO.375	Efnal	NM_001162425	-
NO.376	Efnb2	NM_010111	-
NO.377	Efr2b2	NM_145445	-
NO.378	Eflavl1	NM_010485	-
NO.379	Elk3	NM_013509	-
NO.380	Elavf5	NM_130450	-
NO.381	En1	NM_010133	-
NO.382	Erl2	NM_027699	-
NO.383	Etl4	NM_001081006	-
NO.384	Evl2a	NM_001033711	-
NO.385	Eya4	NM_010167	-
NO.386	Fam105b	NM_001013792	-
NO.387	Fam161a	NM_028672	-
NO.388	Fam49a	NM_001148119	-
NO.389	Fancf	NM_001115087	-
NO.390	Fat4	NM_183221	-
NO.391	Fbxl7	NM_178959	-
NO.392	Foxp1	NM_053202	-
NO.393	Frg1	NM_013522	-
NO.394	Gabrp	NM_146017	-
NO.395	Galk1	NM_016905	-
NO.396	Gart	NM_010256	-
NO.397	Gbp1	NM_010259	-
NO.398	Gbp2	NM_010260	-
NO.399	Gbp3	NM_018734	-
NO.400	Gbp6	NM_001083312	-
NO.401	Gds	NM_010266	-
NO.402	Gdas1	NM_010267	-
NO.403	Glyd2	NM_029420	-
NO.404	Gm10883	BC013496	-
NO.405	Gm1420	BC013496	-
NO.406	Gm7202	BC013496	-
NO.407	Gm8276	AK005009	-
NO.408	Gmpr2	NM_177992	-
NO.409	Gper	NM_029771	-
NO.410	Gpr137b	NM_031999.2	-
NO.411	Gpr137b-ps	NR_003588	-
NO.412	Gstt2	NM_010361	-

10

20

30

40

表4：遺伝子リスト（マウス）（つづき）

No.	遺伝子シンボル	アクセッションNo.	発現変動
NO.413	Gvin1	NM_001039160	-
NO.414	H2-Aa	NM_010378	-
NO.415	H2-Ea	NM_010381	-
NO.416	H2-Eb1	NM_010382	-
NO.417	H2-K1	NM_001001892	-
NO.418	H2-Q7	NM_010394	-
NO.419	Hist1h2bp	NM_178202	-
NO.420	Hoxa3	NM_001079889	-
NO.421	Htra3	NM_001042615	-
NO.422	Hyl	NM_026801	-
NO.423	Ifi203	NM_001045481	-
NO.424	Ifit1	NM_008331	-
NO.425	Ifit2	NM_008332	-
NO.426	Ifnar1	NM_010508	-
NO.427	Igk	BC013496	-
NO.428	Igk-C	BC013496	-
NO.429	Igk-V28	BC013496	-
NO.430	Iigp1	NM_001146275	-
NO.431	Invs	NM_010569	-
NO.432	Irgb1bp3	NM_027120	-
NO.433	Jub	NM_010590	-
NO.434	Kbtbd11	NM_029116	-
NO.435	Klfh6	NM_163390	-
NO.436	Krt1	NM_030675	-
NO.437	Laptn5	NM_010686	-
NO.438	Lgi2	NM_144945	-
NO.439	Llmc1	NM_001001980	-
NO.440	Limd2	NM_172397	-
NO.441	LOC100044979	XM_001473441.1	-
NO.442	LOC100047628	XM_001476664.1	-
NO.443	LOC100047893	XM_001478695.1	-
NO.444	LOC100048332	XM_001480027.1	-
NO.445	LOC100189605	NM_001135127.1	-
NO.446	LOC638038	XM_922963	-
NO.447	Lonp2	NM_025827	-
NO.448	Lpcat1	NM_145376	-
NO.449	Ly6e	NM_001164036	-
NO.450	Ly11	NM_008535	-
NO.451	Map4k5	NM_024275	-
NO.452	Marcks	NM_008538	-
NO.453	Meam	NM_023061	-
NO.454	Mec	NM_001085373	-
NO.455	Meis2	NM_001136072	-
NO.456	Meox2	NM_008584	-
NO.457	Mical1	NM_001164433	-
NO.458	Milt4	NM_010806	-
NO.459	Mmp11	NM_008606	-
NO.460	Mthfd2l	NM_026788	-
NO.461	Mup1	NM_001163010.1	-
NO.462	Mup10	NM_001122647.1	-
NO.463	Mup12	NM_031188	-
NO.464	Mup2	NM_001045550.1	-

10

20

30

40

表4：遺伝子リスト（マウス）（つづき）

No.	遺伝子シンボル	アクセッションNo.	発現変動
NO.465	Mup7	NM_001134675.1	-
NO.466	Mup8	NM_001134675.1	-
NO.467	Myet1	NM_026793	-
NO.468	Myh8	NM_177369	-
NO.469	Myli1	NM_153789	-
NO.470	Myo1b	NM_001161817	-
NO.471	Nap113	NM_138742	-
NO.472	Ncapd2	NM_146171	-
NO.473	Nfatc2lp	NM_010900	-
NO.474	Nfib	NM_001113209	-
NO.475	Nln	NM_029447	-
NO.476	Nnat	NM_010923	-
NO.477	Nono	NM_023144	-
NO.478	Nrp1	NM_008737	-
NO.479	Nt5dc2	NM_027289	-
NO.480	Ntf3	NM_001164034	-
NO.481	Ntrk3	NM_008745	-
NO.482	Olfr78	NM_130866	-
NO.483	OTTMUSG00000010657	NM_001083918	-
NO.484	P2ry14	NM_001008497	-
NO.485	Pabpc1	NM_008774.3	-
NO.486	Paorg	NM_027032	-
NO.487	Pappa2	NM_001085376	-
NO.488	Pde4b	NM_019840	-
NO.489	Pds5a	NM_001081321	-
NO.490	Per3	NM_011067	-
NO.491	Pex1	NM_027777	-
NO.492	Pex13	NM_023651	-
NO.493	Pex8	NM_145488	-
NO.494	Pfk1	NM_011074	-
NO.495	Pisd	NM_177298.3	-
NO.496	Pisd-ps	NR_003517.1	-
NO.497	Pisd-ps3	NR_003518.2	-
NO.498	Pitpnm3	NM_001024927	-
NO.499	Pklr	NM_001099779	-
NO.500	Plau	NM_008873	-
NO.501	Plcg2	NM_172285	-
NO.502	Plckha2	NM_031257	-
NO.503	Prmt10	NM_001081240	-
NO.504	Ptger3	NM_011196	-
NO.505	Ptn	NM_008973	-
NO.506	Ptpn2	NM_001127177	-
NO.507	Ptpre	NM_001111316	-
NO.508	Pus3	NM_023292	-
NO.509	Pvrl3	NM_021495.3	-
NO.510	Qars	NM_133794	-
NO.511	Rad51ap1	NM_009013	-
NO.512	Rbm39	NM_133242	-
NO.513	Rfo2	NM_020022	-
NO.514	Rgs4	NM_009062	-
NO.515	Rian	NR_028261	-
NO.516	Rsad2	NM_021384	-

10

20

30

40

表4：遺伝子リスト (マウス) (つづき)

No.	遺伝子シンボル	アクセッションNo.	発現変動
NO.517	Slpr3	NM_010101	-
NO.518	Sacm11	NM_030682	-
NO.519	Sash3	NM_026773	-
NO.520	Seal	NM_178778	-
NO.521	Sept4	NM_011129	-
NO.522	Serpina1a	NM_009243.3	-
NO.523	Serpina1b	NM_009244	-
NO.524	Serpina1a	NM_025429	-
NO.525	Serpina1b	NM_009256	-
NO.526	Sf3b3	NM_133953	-
NO.527	Sigmar1	NM_011014	-
NO.528	Sirpa	NM_007547	-
NO.529	Slc11a2	NM_001146161	-
NO.530	Slc16a4	NM_146136	-
NO.531	Slc25a24	NM_172685	-
NO.532	Slc35a2	NM_001083937	-
NO.533	Sox18	NM_009236	-
NO.534	Sp1	NM_013872	-
NO.535	Spata13	NM_001033272	-
NO.536	Spen	NM_019763	-
NO.537	Sppi	NM_009263	-
NO.538	St8sia4	NM_001159745	-
NO.539	Stat1	NM_009283	-
NO.540	Stradb	NM_172656	-
NO.541	Sufu	NM_001025391	-
NO.542	Tacc3	NM_001040435	-
NO.543	Terf1	NM_009352	-
NO.544	Tff1	NM_009362	-
NO.545	Tgtp	NM_011579.3	-
NO.546	Tgtp2	NM_001145164.1	-
NO.547	Tkt	NM_009388	-
NO.548	Tmem210	NM_026827	-
NO.549	Tmem30c	NM_027651	-
NO.550	Tnfrsf3	NM_009397	-
NO.551	Tnfrsf10	NM_009425	-
NO.552	Tpm1	NM_001164248	-
NO.553	Trib2	NM_144551	-
NO.554	Trio	NM_001081302	-
NO.555	Trove2	NM_013835	-
NO.556	Trp53	NM_001127233	-
NO.557	Trp63	NM_001127259	-
NO.558	Tspan12	NM_173007	-
NO.559	Tspan33	NM_146173	-
NO.560	Tspan8	NM_146010	-
NO.561	Ttca27	NM_152817	-
NO.562	Twf1	NM_008971	-
NO.563	Unc5b	NM_029770	-
NO.564	Uox	NM_009474	-
NO.565	Vamp3	NM_009498	-
NO.566	Vash2	NM_144879	-
NO.567	Vgfa	NM_009506	-
NO.568	Wdr37	NM_001039388	-

10

20

30

40

表4：遺伝子リスト（マウス）（つづき）

No.	遺伝子シンボル	アクセッションNo.	発現変動
NO. 569	Xaf1	NM_001037713	-
NO. 570	Ywhab	NM_018753	-
NO. 571	Zbtb8a	NM_028603	-
NO. 572	Zfand3	NM_148926	-
NO. 573	Zfp128	NM_153802	-
NO. 574	Zfp182	NM_001013387	-
NO. 575	Zfp273	NM_198322.3	-
NO. 576	Zfp383	XM_001000071	-
NO. 577	Zfp398	NM_027477	-
NO. 578	Zfp472	NM_153063	-
NO. 579	Zfp511	NM_027201	-
NO. 580	Zfp608	NM_175751	-
NO. 581	Zfp783	NF_027063	-
NO. 582	Zfp85-rs1	NM_001001130.2	-
NO. 583	Zfp867	NM_178417	-
NO. 584	Zmym5	NM_144842	-
NO. 585	Zmynd8	NM_027230	-

【 0 2 3 9 】

【表 5】

表 5 : 遺伝子リスト (ヒト)

No.	遺伝子シンボル	アクセッションNo.	発現変動
NO.001	FKBP5	U42031.1	+
NO.002	NFIL3	NM_005384.2	+
NO.003	PPP1R15A	NM_014330.3	+
NO.004	TLR4	U88880.1	+
NO.005	TLR8	NM_016610.2	+
NO.006	OPTN	NM_021980.4	+
NO.007	LCN2	NM_005564.3	+
NO.008	ATP6V0D1	NM_004691.4	+
NO.009	HMOX1	NM_002133.2	+
NO.010	TINAGL1	NM_022164.2	+
NO.011	CARHSP1	NM_014316.2	+
NO.012	CCRN4L	NM_012118.2	+
NO.013	GLUL	NM_002065	+
NO.014	FOS	NM_005252.3	+
NO.015	HSP90AA1	NM_005348.3	+
NO.016	HSPA1A	BC002453.2	+
NO.017	HSPA1B	NM_005346.4	+
NO.018	ERN1	NM_001433.3	+
NO.019	THBS1	NM_003246.2	+
NO.020	AGT	NM_000029.3	+
NO.021	CLIC4	NM_013943.2	+
NO.022	CTGF	NM_001901.2	+
NO.023	FOSB	NM_006732.2	+
NO.024	FOXO1	NM_002015.3	+
NO.025	NR4A1	L13740.1	+
NO.026	PLK3	NM_004073.2	+
NO.027	SDC4	NM_002999.2	+
NO.028	SMAD3	NM_005902.3	+
NO.029	MT1E	NM_175617.3	+
NO.030	NR4A3	U12767.1	+
NO.031	ZBTB16	NM_006006.4	+
NO.032	ATF3	NM_001674.2	+
NO.033	LGALS3	NM_002306.3	+
NO.034	CD38	NM_001775.2	-
NO.035	CHST15	NM_015892.3	-

【 0 2 4 0 】

10

20

30

【表 6】

表 6：遺伝子リスト（マウス）

No.	遺伝子シンボル	アクセッションNo.	発現変動
NO.001	Fkbp5	NM_010220.3	+
NO.002	Nfil3	NM_017373.3	+
NO.003	Ppp1r15a (Myd116)	NM_008654.2	+
NO.004	Tlr4	NM_021297.2	+
NO.005	Tlr8	NM_133212.2	+
NO.006	Optn	NM_181848.4	+
NO.007	Lcn2	NM_008491.1	+
NO.008	Atp6v0d1	NM_013477.3	+
NO.009	Hmox1	NM_012580.2	+
NO.010	Tinagl1	NM_023476.3	+
NO.011	Carhsp1	NM_025821.2	+
NO.012	Ccm4l	NM_009834.2	+
NO.013	Glu1	NM_008131.3	+
NO.014	Fos	NM_010234.2	+
NO.015	Hsp90aa1	NM_010480.5	+
NO.016	Hspa1a	NM_010479.2	+
NO.017	Hspa1b	NM_010478.2	+
NO.018	Ern1	NM_023913.2	+
NO.019	Thbs1	NM_011580.3	+
NO.020	Agt	NM_007428.3	+
NO.021	Clic4	NM_013885.2	+
NO.022	Ctgf	NM_010217.2	+
NO.023	Fosb	NM_008036.2	+
NO.024	Foxo1	NM_019739.3	+
NO.025	Nr4a1	NM_010444.2	+
NO.026	Plk3	NM_013807.2	+
NO.027	Sdc4	NM_011521.2	+
NO.028	Smad3	NM_016769.4	+
NO.029	Mt1	NM_013602.3	+
NO.030	Nr4a3	NM_015743.2	+
NO.031	Zbtb16	NM_001033324.2	+
NO.032	Atf3	NM_007498.3	+
NO.033	Lgals3	NM_001145953.1	+
NO.034	Cd38	NM_007646.4	-
NO.035	Chst15	NM_029935.5	-

【産業上の利用可能性】

【0241】

本発明は、疲労の研究や判定などの分野、疲労を改善するための医薬や食品の評価などの分野、そのためのキットの製造の分野などにおいて利用可能である。

【配列表】

[2012019784000001.app](#)

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I テーマコード (参考)
G 0 1 N 33/53 D

(72)発明者 加藤 敬太
東京都豊島区高田 3 丁目 2 4 番 1 号 大正製薬株式会社内

(72)発明者 松永 博英
東京都豊島区高田 3 丁目 2 4 番 1 号 大正製薬株式会社内

F ターム (参考) 2G045 AA25 CA25 CB01 DA14
4B024 AA11 CA04 CA09 CA12 HA14
4B063 QA01 QA18 QA19 QQ03 QQ08 QQ42 QQ53 QR32 QR36 QR40
QR55 QR62 QR77 QS25 QS34

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	JP2012019784A5	公开(公告)日	2014-07-03
申请号	JP2011133825	申请日	2011-06-16
申请(专利权)人(译)	大正制药有限责任公司		
[标]发明人	小川伸一 森戸晓久 德田泰士 加藤敬太 松永博英		
发明人	小川 伸一 森戸 晓久 德田 泰士 加藤 敬太 松永 博英		
IPC分类号	C12Q1/68 C12Q1/02 C12N15/09 G01N33/50 G01N33/53		
FI分类号	C12Q1/68.ZNA.A C12Q1/02 C12N15/00.A G01N33/50.P G01N33/53.M G01N33/53.D		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/CA25 2G045/CB01 2G045/DA14 4B024/AA11 4B024/CA04 4B024/CA09 4B024/CA12 4B024/HA14 4B063/QA01 4B063/QA18 4B063/QA19 4B063/QQ03 4B063/QQ08 4B063/QQ42 4B063/QQ53 4B063/QR32 4B063/QR36 4B063/QR40 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QR77 4B063/QS25 4B063/QS34		
优先权	2010138894 2010-06-18 JP		
其他公开文献	JP5990871B2 JP2012019784A		

摘要(译)

解决的问题：提供一种使用可以容易地从受试者获得的生物样品确定受试者的疲劳程度的方法，一种确定测试物质对抗疲劳的有效性的方法以及一种能够恢复，改善或预防疲劳的物质。提供一种搜索方法和疲劳确定试剂或试剂盒。一种确定疲劳程度的方法，该方法包括分析和/或比较选自受试者的生物样品中的一个或多个选自其基因或其同源物的基因的表达波动。[选择图]无