

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名： (日本語) 創薬基盤推進研究事業
(英語) Research on Development of New Drugs
- 研究開発課題名： (日本語) ポジトロン CT で脳内炎症が確認された患者に対するミクログリア活性化抑制薬の有効性検証
(英語) Efficacy of inhibitors for microglial activation in the patients with neuroinflammation evidenced by PET
- 研究開発担当者 (日本語) ライフサイエンス技術基盤研究センター センター長 渡邊恭良
所属 役職 氏名： (英語) Yasuyoshi Watanabe, Director,
RIKEN Center for Life Science Technologies
- 実施期間： 平成 28 年 12 月 20 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日
- 分担研究 (日本語) 研究統括・統合データ解析
開発課題名： (英語) Head-quarter function for integration research: Comprehensive data analyses
- 研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人理化学研究所 ライフサイエンス技術基盤研究センター
センター長 渡邊恭良
所属 役職 氏名： (英語) Yasuyoshi Watanabe, Director,
RIKEN Center for Life Science Technologies
- 分担研究 (日本語) 関西地区における ME/CFS 患者の病因・病態解明と臨床試験
開発課題名： (英語) Understanding of the pathophysiological features of patients with myalgic encephalomyelitis (ME)/ chronic fatigue syndrome (CFS) in Kansai area, and conducting the clinical trial.

研究開発分担者 (日本語) 大阪市立大学大学院医学研究科 代謝内分泌病態内科学 客員教授
倉恒弘彦

所属 役職 氏名 : (英 語) Hirohiko Kuratsune, Visiting Professor
Department of Metabolism, Endocrinology, and Molecular Medicine,
Osaka City University Graduate School of Medicine

分担研究 (日本語) ME/CFS 患者の睡眠分析

開発課題名 : (英 語) Sleep analysis in ME/CFS patients

研究開発分担者 (日本語) 大阪市立大学大学院医学研究科 代謝内分泌病態内科学 教授 稲葉雅章

所属 役職 氏名 : (英 語) Masaaki Inaba, Professor
Department of Metabolism, Endocrinology, and Molecular Medicine,
Osaka City University Graduate School of Medicine

分担研究 (日本語) 統計解析

開発課題名 : (英 語) Statistical analysis

研究開発分担者 (日本語) 大阪市立大学大学院医学研究科 システム神経科学 客員教授 福田早苗

所属 役職 氏名 : (英 語) Sanae Fukuda, Visiting Professor, Department of Physiology,
Osaka City University Graduate School of Medicine

分担研究 (日本語) ME/CFS 患者の病因・病態解明と臨床試験

開発課題名 : (英 語) Studies on etiology and pathophysiology of the ME/CFS and the clinical
trial

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人九州大学大学院医学研究院 准教授 岡 孝和

所属 役職 氏名 : (英 語) Takakazu Oka, Associate Professor,
Departement of Psychosomatic Medicine,
Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University

分担研究 (日本語) ME/CFS 患者の心身医学的分析

開発課題名 : (英 語) Analysis of psychosomatic data of ME/CFS patients

研究開発分担者 (日本語) 九州大学大学院医学研究院心身医学 講師 吉原 一文

所属 役職 氏名 : (英 語) Kazufumi Yoshihara, Lecturer, Department of Psychosomatic Medicine,
Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University

分担研究 (日本語) 抗疲労効果の判定における酸化ストレスからの検証

開発課題名 : (英 語) Assessment of anti-fatigue effects based on oxidative stress index

研究開発分担者 (日本語) 山口大学大学院医学系研究科 教授 野島順三

所属 役職 氏名 : (英語) Junzo Nojima, Professor,
Yamaguchi University Graduate School of Medicine

分担研究 (日本語) 臨床試験における患者リクルートと患者指導

開発課題名 : (英語) Patient recruitment and guidance in the clinical trial

研究開発分担者 (日本語) 大阪市立大学大学院医学研究科システム神経科学 研究員 中富康仁

所属 役職 氏名 : (英語) Yasuhito Nakatomi, Postdoctoral fellow, Department of Physiology,
Osaka City University Graduate School of Medicine

分担研究 (日本語) ヒト脳イメージング研究

開発課題名 : (英語) Human neuroimaging study using magnetoencephalography

研究開発分担者 (日本語) 大阪市立大学大学院医学研究科システム神経科学 講師 田中雅彰

所属 役職 氏名 : (英語) Masaaki Tanaka, Assistant Professor, Department of Physiology,
Osaka City University Graduate School of Medicine

分担研究 (日本語) ME/CFS 患者の MRI・PET データ解析および重症度相関解析

開発課題名 : (英語) Analyses of MRI, PET and severity correlations for ME/CFS patients

研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人理化学研究所ライフサイエンス技術基盤研究センター
健康・病態科学研究チーム 上級研究員 水野敬

所属 役職 氏名 : (英語) Kei Mizuno, Senior Scientist, Pathophysiological and Health Science
Team, RIKEN Center for Life Science Technologies

分担研究 (日本語) 神経炎症モデル動物の開発・検証ならびにヒト・動物を対象としたオミックス解析

開発課題名 : (英語) Development and evaluation of animal models of neuroinflammation, and
omics analysis in humans and animals

研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人理化学研究所 ライフサイエンス技術基盤研究センター
細胞機能評価研究チーム チームリーダー 片岡洋祐

所属 役職 氏名 : (英語) Yosky Kataoka, Team Leader, Cellular Function Imaging Team,
RIKEN Center for Life Science Technologies

分担研究 (日本語) 慢性疲労モデル動物の開発および病態メカニズムの解明

開発課題名 : (英語) Development of a chronic fatigue animal model and elucidation of
pathophysiological mechanisms of chronic fatigue

研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人理化学研究所 ライフサイエンス技術基盤研究センター
分子動態イメージング研究ユニット ユニットリーダー 崔 翼龍

所属 役職 氏名 : (英語) Yi-Long Cui, Unit Leader, Molecular Dynamics Imaging Unit,
RIKEN Center for Life Science Technologies

II. 成果の概要（総括研究報告）

平成 28 年度は、統合的に研究を進めるため、研究開発担当者の渡邊恭良センター長（理化学研究所）は、倉恒弘彦客員教授（大阪市立大学）や全研究分担者と相談し、全体を大きく臨床研究（観察研究と介入研究）、前臨床研究との 2 班に分け、それぞれ、会合やメールベースで、詳細のプロトコール検討などを行って意思疎通を図った。PET 研究を推進するために、MI クリニックに理化学研究所所有の自動合成装置を移設する準備を進め、神経炎症の高感度臨床用 PET プローブ^[18F]DPA-714 合成環境を整えつつある。また、水野敬上級研究員（理化学研究所）を中心に、PET 撮像や MRI 撮像に関しても数回の協議を行い、プロトコールを決定した。実際に、大阪市立大学医学部附属病院での^[18F]DPA-714 合成は 3 ロット試験を終了し、倫理委員会に提出する品質管理書類の完成を行ったので、これに準じて、MI クリニックでも手順書類を整えた。倉恒弘彦客員教授（大阪市立大学）と中富康仁研究員（大阪市立大学）を中心に臨床研究グループは、脳・神経炎症の有無を評価するための PET 検査を実施する ME/CFS 患者を特定するために、試験対象患者基準と除外基準を策定した。次に、この基準を用いて PET 検査を実施する 100 名の ME/CFS 患者リストの作成に着手し、平成 28 年度は ME/CFS 患者 15 名の登録を完了した。田中雅彰講師（大阪市立大学）を中心に、脳磁図研究においては、13 名の健常者を対象として、閉眼状態、および開眼状態でそれぞれ約 3 分間脳活動を計測した。開眼によって後頭葉を中心に α 周波数のパワー値が低下するとともに、本試験実施によっても疲労感は全く増加しなかった。その結果により、ME/CFS 患者の過活動病態を明らかにするための脳磁図試験のプロトコール作成を行った。稲葉雅章教授（大阪市立大学）は、ME/CFS 患者を対象とした先行研究において、同患者の睡眠時間は一般人口と比較して長いものの、入眠潜時や中途覚醒時間も長く、さらに日中活動量の低下に伴う夜間交感神経の賦活化により良質な睡眠が減少することを示してきた。本研究では PET で脳内炎症が確認された ME/CFS 患者を対象に、ミクログリア活性化抑制薬が睡眠状態の変化に与える影響について検討することを目的とし、臨床試験時の睡眠評価研究体制を整えている。一方、片岡洋祐チームリーダー（理化学研究所）は、メタボローム解析研究について、ME/CFS 患者の判別に利用できる代謝物をより安価に測定できる GC-MS を用いた測定システムを確立した。バイオマーカー解析や睡眠評価などの連携体制に関しても協議を進めて、ほぼ全体の詳細が明らかになり、福田早苗客員教授（大阪市立大学）を中心に臨床研究グループは、一旦、平成 28 年度末の大阪市立大学大学院医学研究科での倫理委員会に申請し、承認を得た。個人情報セキュリティの新規記述項目に関して、平成 29 年度初期に追加記載を行う予定である。岡孝和准教授（九州大学）と吉原一文講師（九州大学）は、九州大学医学部附属病院や岡先生の平成 29 年 4 月からの新任地である国際医療福祉大学病院（栃木県）における ME/CFS 患者の臨床試験実施に向けての準備を行った。野島順三教授（山口大学）は、ME/CFS 患者を対象にした酸化ストレス評価および免疫学的評価（FACS 解析）の検査体制を構築した。また、本試験を実施するための山口大学大学院医学系研究科・倫理審査委員会の承認を受けた。

前臨床研究グループでは、臨床研究グループが進める研究と連携を密にし、渡邊、片岡洋祐チームリーダー（理化学研究所）、崔翼龍ユニットリーダー（理化学研究所）とアステラス製薬の研究陣とで、双方向性のトランスレーショナルリサーチを進めている。片岡洋祐チームは、平成 28 年度は、ラット脳内へ直接、LPS（リポポリサッカライド）を投与し、ミクログリア活性化抑制剤の効果を詳細に確認できるよう、比較的軽微な神経炎症が一過性に引き起こされる動物モデルを作製した。そして、腹腔内への Poly I:C（合成二本鎖 RNA）投与による間接的脳内神経炎症病態モデルとの比較により、ミクログリア活性化抑制剤の作用点を明らかにするための研究プラットフォームを構築した。一方、崔ユニットでは、これま

で、生体恒常性からの逸脱は個体の“疲労”として現れ、恒常性機能の紊乱は疲労の慢性化を来たすという仮説の元に、疲労負荷中に短期間の疲労回復期を頻りに挿入し、徐々に神経・内分泌・免疫系の機能破綻を誘導し、生理的な疲労蓄積から病的な疲労へ変容して行く慢性疲労モデルの確立を試みており、平成 28 年度は持続的な水浸疲労負荷中に短い回復期を繰り返して挿入することで、自発行動量の回復が有意に遅延する慢性疲労モデルを確立した。さらにこの慢性疲労モデル動物において睡眠や体温調節機能の異常を示唆する所見も得た。アステラス製薬の研究陣も本研究に資する慢性疲労モデル動物を作成しており、この前臨床研究グループの深い討論の上で、効率的なリバーストランスレーションを果たす体制を構築した。

In the fiscal year 2016, for the integrated and efficient study, Prof. Yasuyoshi Watanabe (RIKEN Center for Life Science Technologies), Visiting Prof. Hirohiko Kuratsune (Osaka City University Graduate School of Medicine), and colleagues organized major two study groups on clinical research (observatory and drug challenge studies) and preclinical research. Two groups worked on common protocols of PET studies and of sampling and preparation of blood for measurement of biomarkers by the meetings and E-mail or TV conference. PET-CT and MRI measurement protocols were fixed by Dr. Kei Mizuno (RIKEN Center for Life Science Technologies) and colleagues. Especially, for PET study in MI Clinic, the synthetic apparatus (including synthetic robotics) for [¹⁸F]DPA-714 was transferred from RIKEN to MI Clinic, and the environment for radio-synthesis of [¹⁸F]DPA-714 was also transferred. In the other site of PET clinical study (Osaka City University Hospital), Prof. Yasuyoshi Watanabe's colleagues have completed 3-lots synthesis tests for quality control study of [¹⁸F]DPA-714. As for a magnetoencephalography (MEG) study, Dr. Masaaki Tanaka (Osaka City University Graduate School of Medicine) recruited thirteen healthy male volunteers for pilot MEG study to decide the tasks for the ME/CFS patients. The volunteers performed 3-min eye-closing and 3-min eye-opening sessions. Alpha-frequency band (8-13 Hz) power in the visual cortex was decreased after eye-opening. In addition, subjective level of fatigue was not increased after performing these sessions. So, we therefore succeeded to establish the MEG protocol to clarify the central mechanisms of ME/CFS in terms of over-activation. In the previous study, Prof. Masaaki Inaba (Osaka City University Graduate School of Medicine) and colleagues found that the sleep quality is worse because of longer sleep latency and more nocturnal awakening in ME/CFS patients in comparison with general population, although total sleep time is longer. This result suggested that the activation of the nocturnal sympathetic nerve due to decreasing diurnal physical activity disturbs the normal sleep pattern in ME/CFS patients. So, Prof. Inaba's team will examine the effect of the inhibitor of microglial activation on sleep condition in ME/CFS patients with neuro-inflammation confirmed with PET study. In the metabolome study, Dr. Yosky Kataoka (RIKEN Center for Life Science Technologies)'s team constructed an inexpensive GC-MS system for the measurement of metabolites for ME/CFS diagnosis. After further discussion by all members of the study group, Visiting Prof. Sanae Fukuda (Osaka City University Graduate School of Medicine) and all members applied the paper concerning this GAPFREE2 observatory study to the Ethics Committee of Osaka City University Graduate School of Medicine, and the application was approved. Minor correction is needed with a newer documentation about security of personal information within

the beginning of the fiscal year 2017. In 2016, Prof. Kuratsune, Dr. Nakatomi, Dr. Fukuda, and colleagues formulated the inclusion and exclusion criteria for positron-emission tomography (PET) study evaluating the neuro-inflammation. By using this criteria, the Clinical Study group is engaged on the preparation of ME/CFS patients list who desire to take a PET study, and we have enrolled 15 ME/CFS patients in this PET study. Dr. Takakazu Oka (Kyushu University) and Dr. Kazufumi Yoshihara (Kyushu University) prepared for the clinical study in Kyushu University Hospital and Dr. Takakazu Oka also did the efforts in his newly appointed International University of Health and Welfare hospital (Tochigi). Prof. Junzo Nojima (Yamaguchi University Graduate School of Medicine) established the team to analyze oxidative stress and perform FACS analysis for patients with ME/CFS. This project was approved also by the Ethical Review Board of Yamaguchi University Graduate School of Medicine.

In the pre-clinical study, Prof. Yasuyoshi Watanabe, Dr. Yosky Kataoka, Dr. Yi-Long Cui (RIKEN Center for Life Science Technologies) , and the researchers in Astellas Pharma Inc. discussed about the mutual collaboration with clinical study group and efficient reverse translation. Dr. Kataoka' s team developed an animal model of mild and long-lasting neuroinflammation by the direct injection of LPS into the brain for evaluation of inhibitors of microglial activation. Then his team constructed a research platform for identification of action point of inhibitors of microglial activation by using such an animal model and the different model showing indirect neuroinflammation triggered by peripheral inflammation induced by intraperitoneal injection of poly I:C, artificial double strand RNA. Dr. Yi-Long Cui (RIKEN Center for Life Science Technologies) ' s unit have been making a great efforts to develop chronic fatigue animal model. Deviation from homeostasis often attenuates the performance of biological functions, and such restricted performance could be considered as individual fatigue. Dr. Cui' s unit have developed a chronic fatigue animal model in which the rat was frequently allowed to rest for short periods with certain lengths of sleep during fatigue loading. In these rats, the fatigue recovery was extended as compared with a continuous fatigue loading procedure, indicating the repeated short-term rest periods during the fatigue loading process might disrupt some homeostatic functions, such as sleep- and/or thermo-regulatory system. The pre-clinical group will continue to further discuss with the clinical study group concerning the highly efficient bi-directional translational researches.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 2 件、国際誌 0 件）

1. 石井聡, 田中雅彰, 山野恵美, 渡邊恭良. 脳磁図による疲労の神経メカニズムの研究. 日本疲労学会誌 2016, 11(2), 1-6.
2. 久米慧嗣, 大和正典, 片岡洋祐. 複合疲労モデル動物を利用した疲労の潜在的代謝物バイオマーカーの探索研究. 日本疲労学会誌 2016, 11, 26-31.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

該当なし

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 疲労および情動変化の科学的解明とヘルスケア産業への応用, 片岡洋祐, 健康科学ビジネス推進機構「快適性の追及」事業化コンソーシアム講演会, 2017/1/20, 国内.
2. 脳磁図を用いた疲労の評価方法, 田中雅彰, メディカル ジャパン 2017 大阪, 研究成果企業化促進セミナー, 2017/2/16, 国内.
3. 「筋痛性脳脊髄炎 (ME) /慢性疲労症候群 (CFS)」, 倉恒弘彦, 筋痛性脳脊髄炎/慢性疲労症候群の患者の救済を進める議員連盟勉強会 (衆議院第 2 議員会館 B1F 第 9 会議室), 2017/3/3, 国内.
4. 慢性疲労症候群研究の最近の進展, 片岡洋祐, 糖尿病と疲労を考える会, 2017/3/11, 国内.

(4) 特許出願

該当なし