

令和元年6月6日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K19915

研究課題名(和文) ヒト末梢血誘導型ミクログリア様細胞を用いた慢性疲労症候群の客観的評価系の確立

研究課題名(英文) Establishment of objective evaluation system for chronic fatigue syndrome using human peripheral blood induced microglia-like cells

研究代表者

扇谷 昌宏 (Ohgidani, Masahiro)

九州大学・医学研究院・学術研究員

研究者番号：60636455

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、申請者の開発した末梢血誘導型ミクログリア様細胞技術を用いて、慢性疲労症候群におけるミクログリアの関与と客観的評価法の開発を目的に研究を実施した。

慢性疲労症候群と類似した症状を示す線維筋痛症患者群において、ATP刺激後ではTNF- α の遺伝子発現が有意に増大していた。さらに興味深いことに、不安・抑うつ(重症度(HAD))とTNF- α 遺伝子の発現量との間に正の相関関係を認めた。これらの知見は、患者群における精神症状(抑うつ・不安)及びQOLがミクログリア由来のTNF- α によってコントロールされている可能性を示唆している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで関連が指摘されていながらも不明のままであった疾患へのミクログリアの関与がヒトレベルで初めて明らかとなった。

臨床症状との相関からも客観的評価法の開発に役立つ研究成果が得られた。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to develop an objective evaluation method for the involvement of microglia in chronic fatigue syndrome using the peripheral blood derived microglia-like cell technology.

In a group of fibromyalgia patients with symptoms similar to those of chronic fatigue syndrome, TNF- α gene expression was significantly increased after ATP stimulation. More interestingly, there was a positive correlation between the severity of anxiety and depression (HAD) and the expression level of the TNF- α gene. These findings suggest that psychiatric symptoms in the patient population may be controlled by microglia-derived TNF- α .

研究分野：生物学的精神医学

キーワード：ミクログリア

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

慢性疲労症候群とは、原因不明の強い疲労が長期間に及び継続する病気である。患者の約30%が寝たきり状態になるほどの重篤な疾患であるが、未だに原因が不明であり、治療法だけでなく、客観的診断法も確立していないのが現状である。また、その病態に不安・抑うつといった精神症状が合併しているケースが多く、線維筋痛症と病態が類似していることが注目されているが、その病態は非常に複雑である。

近年の研究では、脳細胞の一種であるミクログリアが注目されている。マウスモデルを用いた実験で、ミクログリアの活性化が報告されている。さらに、PETを用いたヒトの脳画像研究でもミクログリアの活性化が報告されている。これらの研究から、慢性疲労症候群の病態にミクログリアが関与していることが強く示唆されている。

しかし、脳細胞であるミクログリアがどのように病態に関与しているのかはヒトでは未だ明らかにされていない。それは、ヒトでのミクログリア研究がこれまで倫理的・生理的に不可能である上に、iPS細胞技術を用いても未だ成功例が無いためである。つまり、ミクログリアを標的とした慢性疲労症候群研究における最大の問題点は、ヒトのミクログリアを用いて実験ができないという点にあった。

そのような中、申請者は、末梢血からヒトのミクログリア様細胞を作成する技術を開発した(Ohgidani, Sci Rep, 2014; Ohgidani, Front Cell Neurosci, 2015; 国内・PCT国際特許出願済)。

2. 研究の目的

本研究は申請者が開発したミクログリア様細胞作製技術を用いて慢性疲労症候群患者の病態生理とミクログリアの関係を明らかにし、客観的評価系の確立を行うことを目的としている。

3. 研究の方法

患者・健常者からのミクログリア様細胞作成

申請者が開発した末梢血ミクログリア様細胞技術(Ohgidani, Sci Rep, 2014; Ohgidani, Front Cell Neurosci, 2015; 国内・PCT国際特許出願済)を用いて、患者・健常者の血液からミクログリア様細胞を作成する。上腕静脈より約20mlの採血を行い、フィコールによる密度勾配遠心を行う。単核球層を回収し、単球を分離する。分離した単球をGM-CSFおよびIL-34含有培地で14日間培養してミクログリア様細胞の作成を行った。

当然ながら、研究参加者には医師がインフォームドコンセントに基づいた丁寧な行い、同意が得られた場合のみ実施した。なお、本研究では慢性疲労症候群と類似した症状を呈する線維筋痛症と診断された患者を対象とした。

患者・健常者での比較解析

作成したミクログリア様細胞を用いて、患者群と健常群で貪食等の細胞機能や炎症関連の遺伝子・タンパクの比較解析を細胞レベルで行った。また、ミクログリア刺激因子を添加した際の細胞応答も測定し、疾患特異的な反応を検討した。

神経心理学的検査による精神症状の評価

採血時抑うつ・不安等の精神項目、睡眠関連やQOL等に多項目の神経心理学的検査を行った。

実験データと臨床データの統合解析

ミクログリア様細胞を解析した実験データと患者由来の臨床データを用いて相関関係を解析した。

4. 研究成果

健常者および患者から作製したミクログリア様細胞(iMG細胞)の貪食能を比較したところ、有意な差は見られなかった。

その一方で、ミクログリア刺激因子(ATP)を添加した際に興味深い結果が得られた。中枢神経系において、細胞外ATPは神経伝達や神経調整因子として機能し、ミクログリアの様々な生理機能も調節することが知られている。そのため筆者らは、ATPによって誘発されるiMG細胞

の反応を健常群と患者群で比較した。ATP 未刺激の状態では TNF- α の遺伝子発現が患者由来の iMG 細胞で低下していたが、興味深いことに、ATP 刺激後では TNF- α の遺伝子発現が患者群の iMG 細胞で有意に増大していた。さらに、患者由来 iMG 細胞の培養上清中 TNF- α のタンパク質濃度も有意に増大していた。これらの結果は、患者群のミクログリアが ATP 刺激に対して過感受性になっており、その結果、中枢神経系での TNF- α の産生増大を誘導している可能性を示唆している。

さらに、iMG 細胞の ATP 刺激による TNF- α 遺伝子の発現量と様々な臨床パラメーターとの相関解析を行った。興味深いことに、不安・抑うつ¹の重症度 (HAD) と TNF- α 遺伝子の発現量との間に正の相関関係を認めた。一方、生活の質 (QOL) は TNF- α の遺伝子発現量との間に負の相関関係を認めた。本疾患は、精神疾患を併存することが多く、不安・抑うつといった精神症状と関係性があることが報告されている。これらの知見は、患者群における精神症状(抑うつ・不安)及び QOL がミクログリア由来の TNF- α によってコントロールされている可能性を示唆している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

1. 扇谷昌宏, 細井昌子, 加藤隆弘. 線維筋痛症のトランスレーショナル研究 ミクログリア過剰活性化と TNF- α . 日本臨床, 2018 年 11 月, 76, 1937-1942.
2. Ohgidani M, Kato TA, Hosoi M, Tsuda M, Hayakawa K, Hayaki C, Iwaki R, Sagata N, Hashimoto R, Inoue K, Sudo N, Kanba S, Fibromyalgia and microglial TNF- α : Translational research using human blood induced microglia-like cells, Scientific Reports, 2017 年 9 月, 7, 11882.

〔学会発表〕(計 4 件)

1. M. Ohgidani, TA. Kato, S. Kanba, Direct induction of microglia-like cells from human monocytes: A novel cellular tool for translational research of neuropsychiatric disorders, ASCB2018, 2018 年 12 月
2. 扇谷昌宏、加藤隆弘、神庭重信、精神神経疾患のトランスレーショナル研究ツールとしての iMG(induced microglia-like)細胞、第 31 回動物実験代替法学会、2018 年 11 月
3. 扇谷昌宏、佐方功明、加藤隆弘、患者由来直接誘導ニューロン・ミクログリア様細胞による精神疾患の病態解明研究、第 5 回サイコグリア研究会、2018 年 5 月 26 日
4. 扇谷昌宏、ヒト血液由来直接誘導ミクログリア様 (iMG) 細胞による痛みの客観的評価法の開発、第 17 回痛みの研究会、2018 年 2 月

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別:

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：
ローマ字氏名：
所属研究機関名：
部局名：
職名：
研究者番号（8桁）：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：
ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。