

平成 30 年 6 月 8 日現在

機関番号：37104

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09608

研究課題名(和文) Rett症候群の病態解明と新規治療法開発の基礎的・臨床的研究

研究課題名(英文) Basic and clinical research for clarify the pathophysiology and development of new therapeutic trial for Rett syndrome

研究代表者

松石 豊次郎 (Matsuishi, Toyojiro)

久留米大学・付置研究所・教授

研究者番号：60157237

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：レット症候群(RTT)は多彩な症状を示すが、病態は不明で有効な治療法はない。モデル動物、ES細胞、iPS細胞を用いて、病態解明、新規治療法開発を行った。RTT患者4例にグレリンを投与し、ジストニア、振戦の錐体外路徴候、自律神経症状への効果が認められた。遺伝子解明では、HDAC8、STXBP1遺伝子変異の患者を同定した。モデル動物、ES細胞を用いた心臓、肺の分子基盤、電気生理、微細構造研究で、MeCP2はTbx5を制御し、刺激伝道や情報の受け渡しをする介在版の未熟な形態、不整脈の原因を証明した。肺組織では2型肺胞上皮細胞が減少し、MeCP2は、脳幹における遺伝子発現制御に関わる可能性が示された。

研究成果の概要(英文)： Rett syndrome (RTT) is a neurodevelopmental disorder, caused by MECP2 gene mutation. Patients showed dystonia, and tremor. We speculated that ghrelin may play an important role in RTT. We found that ghrelin markedly improved dystonia, tremor in 2 patients and constipation improved all 4 patients. We founded that RTT caused by a novel STXBP1 mutation, and also due to a mutation in HDAC8 gene.

Previous studies reported cardiac arrhythmias plays an important role in sudden death of RTT. We detected methylation of the CpG islands in the Tbx5 locus. Our results suggest that MeCP2 is an important regulator of the gene-expression program responsible for maintaining normal cardiac development and cardiomyocyte structure.

Respiratory infection is the most common cause of death in RTT. Our results indicated that aspiration might be a cause of MeCP2-null mice. MeCP2 deficiency affected the expression of several neuromodulator genes in the lower brainstem, especially SP is involved.

研究分野：医師薬学

キーワード： Rett症候群 発達障害 自閉症スペクトラム障害 MECP2遺伝子 STXBP1遺伝子 HDAC8遺伝子 不整脈 肺炎

1. 研究開始当初の背景

レット症候群 (RTT) は発達障害病態解明の鍵となる重要な疾患で、知的障害、成長障害、ジストニア、振戦などの錐体外路徴候、自律神経障害、睡眠障害などの多彩な症状を呈する。原因遺伝子は Methyl CpG binding protein2 (MECP2) の変異が典型例の 9 割に認められるが、残りの 1 割の患者、および非典型例と言われる患者では不明である (Nature Review Neurology, 2016)。また、長期のフォローアップ研究から、RTT 患者の生命予後は悪い事が明らかになり、死因として肺炎、不整脈などが報告されているが、病態は不明で未だ有効な治療法はない。

2. 研究の目的

本研究では、ヒト、モデル動物の両面から病態生理の解明を目指し、最終的には、治療法のない難治疾患への基礎・臨床の研究を展開し、トランスレーショナルリサーチへの基盤研究を展開する。

3. 研究の方法

久留米大学でフォローアップしている RTT 患者約 70 人で MECP2 変異が認められなかった患者で次世代シーケエンサーを用いて候補遺伝子を検索する。モデル動物、その ES 細胞、iPS 細胞、および RTT 患者の iPS 細胞を用いて、突然死の機序を解明する。

4. 研究成果

MECP2 以外に *FOXG1*, *CDKL5* 等の遺伝子が候補遺伝子になっているが、1 割の RTT 患者の原因遺伝子は不明である。われわれは自閉症、学習障害、統合失調症の原因遺伝子として報告されていた *SHNK3* 遺伝子変異で、典型例の RTT が発症する事を報告した。また、Cornelia de Lange 症候群の遺伝子異常として報告され

ていた、*HDAC8* 遺伝子変異、*STXBP1* 遺伝子変異で、典型 RTT になった患者を報告中である。RTT モデル動物、ES 細胞を用いた心臓の分子基盤、電気生理、微細構造研究：疾患モデルの *Mecp2* 欠失マウス ES 細胞を用いて、心臓の発生段階から遺伝子発現、生理機能、心筋構造について解析した。特に *Tbx5* については、ES 細胞や心臓においても高度に CpG メチル化されており、MeCP2 がその発現を直接制御していた。モデル動物では心筋同士の刺激伝道や情報の受け渡しをする介在版の未熟な形成が認められ、チャンネル遺伝子の発現変化とともに、不整脈の要因となる事を証明した。

レット症候群モデル動物、細胞を用いた肺・脳幹の基礎的研究：モデルマウスの肺では、MeCP2 は肺組織の機能や構造に必要な遺伝子の発現に関わり、肺組織では 2 型肺胞上皮細胞が減少することを証明した。更に MeCP2 欠損が、嚥下や誤嚥の防止の反射に関わる脳幹に及ぼす影響を調べ、*Tac1*, *Tacr1*, *Gad67*, *Vamt2* 遺伝子などの発現低下が認められ、MeCP2 は、脳幹における遺伝子発現制御に関わる可能性が示された。更に、サブスタンス P が、脳幹の様々な領域で発現低下し、咳反射や腸管運動などの自律神経調節に関わる孤束核、迷走神経背側運動核における有意な発現の低下が示された。未だ有効な治療法がない RTT 患者に対して、4 例の RTT 患者にグレリンを投与し、全例で便秘、食欲不振の改善が認められ、2 例に認めたジストニア、振戦の改善を確認できた。グレリンが新規治療薬となることが期待された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 16 件)

1 Kida H, Takahashi T, Nakamura Y,

- Kinoshita T, Hara M, Okamoto M, Okayama S, Nakamura K, Kosai K-I, Yamashita Y, Matsuishi T. Pathogenesis of lethal aspiration pneumonia in *Mecp2*-null mouse model for Rett syndrome. *Scient Rep*, 2017 Sep 20;7(1):12032. doi: 10.1038/s41598-017-12293-8. (査読有)
3. Yuge K, Hara M, Okabe R, Nakamura Y, Okamura H, Nagamitsu S, Yamashita Y, Orimoto K, Kojima M, Matsuishi T. Ghrelin improves dystonia and tremor in patients with Rett syndrome: A pilot study. *J Neurol Sci* 2017 Jun 15;377:219-223. doi: 10.1016/j.jns.2017.04.022. Epub 2017 Apr 12. (査読有)
 4. Suda M, Nagamitsu S, Kinoshita M, Matsuoka M, Ozono S, Otsu Y, Yamashita Y, Matsuishi T. A child with anorexia nervosa presenting with severe infection with cytopenia and hemophagocytosis: a case report. *Biopsychosoc Med*, 2017 Sep 5;11:24. doi:10.1186/s13030-017-0108-6. eCollection. (査読有)
 5. Okabe R, Okamura H, Egami C, Tada Y, Anai C, Mukasa A, Iemura A, Nagamitsu S, Furusho J, Matsuishi T, Yamashita Y. Increased cortisol awakening response after completing the summer treatment program in children with ADHD. *Brain Dev* 2017 Aug 39(7):583-592; doi:10.1016/j.braindev.2017.03.001. Epub 2017 Mar 24. (査読有)
 6. Takata A, Miyake N, Tsurusaki Y, ---Matsuishi T (46人中35番目), ---Matsumoto N. Integrative analysis of *de novo* mutations in autism spectrum disorders provided deeper insight into disease genes, its biology and drug discovery. *Cell Reports* 2018 22:734-747. doi: 10.1016/j.celrep.2017.12.074. (査読有)
 7. Iemura A, Iwasaki M, Yamakawa N, Tomiwa K, Anji Y, Sakakihara Y, Kakuma T, Nagamitsu S, Matsuishi T. Influence of sleep-onset time on the development of 18-months-old infants: Japan Children's cohort study. *Brain Dev* 2016;38:364-372. (査読有)
 8. Yokochi T, Sakanishi S, Ishidou Y, Kawano G, Matsuishi T, Akita Y, Obu K. Acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion associated with staphylococcal toxic shock syndrome by burns. *Brain Dev* 2016;38:875-879. Doi.org/10.1016/j.braindev.2016.04.003. (査読有)
 9. Chiba H, Nagamitsu S, sakurai R, Mukai T, Shintou H, Yamagata Y, Kakuma T, Uchimura N, Matsuishi T. Children's eating attitudes test: reliability and validation in Japanese adolescents. *Eating Behaviors* 2016;23:120-125. (査読有)
 10. Nagamitsu S, Sakurai R, Matsuoka M, Chiba H, Ozono S, Tanigawa H, Yamashita Y, Kaida H, Ishibashi M, Kakuma T, Paul E. Croarkin8 and Matsuishi T. Altered SPECT ¹²³I -iomazenil Binding in the Cingulate Cortex of Children with Anorexia Nervosa. *Front Psychiatry*. 2016 Feb 16;7:16. doi: 10.3389/fpsy.2016.00016. eCollection 2016. (査読有)
 11. Egami C, Yamashita Y, Tada Y, Anai C, Mukasa A, Yuge K, Nagamitsu S,

- Matsuishi T. Developmental trajectories for attention and working memory in healthy Japanese school-aged children. *Brain Dev* 2015;37:840-848. (査読有)
12. Katayama K, Yamashita Y, Yatsuga S, Koga Y, Matsuishi T. ADHD-like behavior in a patient with hypothalamic hamartoma. *Brain Dev* 2015. doi:10.1016/j.braindev.2015.05.011 (査読有)
13. Hara M, Ohba C, Yamashita Y, Saitsu H, Matsumoto N, Matsuishi T: De novo SHANK3 mutation causes Rett syndrome-like phenotype in a female patient. *Am J Med Genet A.* 2015 Jul;167(7):1593-6. doi: 10.1002/ajmg.a.36775. Epub 2015 Apr 30. (査読有)
14. Nagamitsu S, Yamashita Y, Tanigawa H, Chiba H, Kaida H, Ishibashi M, Kakuma T, Croarkin PE, Matsuishi T. Upregulated GABA inhibitory function in ADHD children with child behavior checklist-dysregulation profile: 123I-iomazenil SPECT study. *Frontiers in Psychiatry* 2015;6:1-7, DOI: 10.3389/fpsyt.2015.00084. (査読有)
15. Hara M, Takahashi T, Mitsumasu C, Igata S, Takano M, Minami T, Yasukawa H, Okayama S, Nakamura K, Okabe Y, Tanaka E, Takemura G, Kosai K, Yamashita Y, Matsuishi T. Disturbance of cardiac gene expression and cardiomyocyte structure predisposes *Mecp2*-null mice to arrhythmias. *Scientific Reports* 2015 | 5:11204 | DOI:10.1038/strep11024. (査読有)
16. Tsuchiya Y, Minami Y, Umemura Y, Watanabe H, Ono D, Nakamura W, Takahashi T, Honma S, Kondoh G, Matsuishi T, Yagita K. Disruption of MeCP2 attenuates circadian rhythm in CRISPR/Cas9-based Rett syndrome model mouse. *Genes to Cells* 2015 DOI:10.1111/gtc.12305. (査読有)
- [学会発表](計 19 件)
1. 松石豊次郎, 弓削康太郎. グレリンはレット症候群のジストニア、振戦を改善させる - パイロット研究. International Rett syndrome symposium 2017 in Kobe. 18 March, Japan.
 2. Matsuishi T. Rett syndrome in Japan. 25 March 2017. Taiwan University, Taipei, Taiwan.
 3. Matsuishi T. Rett Syndrome: The State of Clinical and Basic Research and Future Perspectives. 2017 Epileptic Encephalopathy-From Pathophysiology to Management. 25 March 2017. Taipei, Taiwan.
 4. Matsuishi T. Update Preclinical Study and Clinical Trial in Rett Syndrome: 2017 Epileptic Encephalopathy-From Pathophysiology to Management. 26 March 2017. Taipei, Taiwan.
 5. Matsuishi T, Yuge K, Takahashi T. Epilepsy in Rett syndrome. 2017 Epileptic Encephalopathy-From Pathophysiology to Management. 26 March 2017. Taipei, Taiwan.
 6. Yuge K, Saikusa T, Shimomura G, Okabe R, Okamura H, Hara M, Nagamitsu S, Yamashita Y, Kojima M, Matsuishi T. Can Ghrelin improve dystonia, tremor and autonomic nerve dysfunction in patients with Rett syndrome? 14th AOCCN 2017.5.13 (Fukuoka)
 7. Kida H, Takahashi T, Nakamura Y, Kinoshita T, Okayama S, Nakamura K, Taniwaki T, Yamashita Y, Matsuishi T. Lung abnormalities in *Mecp2*-null mouse model of Rett syndrome. WCN2017 2017.9.16 (Kyoto).
 8. Orimoto K, Matsuishi T, Yuge K. An atypical form of Rett syndrome (RTT) patient exhibited dystonia and characteristic psychological/behavioral dysfunction. 2017年、XXIII World Congress of Neurology, Kyoto. (9月16 - 21日)
 9. 織本健司, 松石豊次郎, 弓削康太郎. 言

- 語能力保持型 Rett 症候群の Genotype-phenotype relationship と治療反応性の分子制御機構。ConBio 2017 生命科学系学会合同年次大会。2017 年 12 月 7 日 (12 月 6 - 9 日) 神戸。生命科学系学会合同年次大会。ConBio 2017、2017 年 12 月 8 日 (12 月 6 - 9 日) 神戸。
10. 織本健司、松石豊次郎、弓削康太郎。言語能力保持型レット症候群に対するアリプラゾールの言語情動機能改善効果 言語にとって情動とは何か。第 41 回日本高次脳機能障害学会。2017 年 12 月 15 - 16 日、埼玉。
 11. 松石豊次郎。3. 神経科学からみた発達障害。第 18 回「子どもの心」研修科医 前期講演集 pp27 - 34。2016.5.7 (福岡市)
 12. Itoh M, Saikusa T, Ikenaga T, Hirayama S, Nabatame S, Matsuishi T. Japanese Rett Syndrome Database Consortium. RTT 50.1 The 50th Anniversary of the First Publication on Rett Syndrome. Austria September 15-17, 2016.
 13. Orimoto K, Matsuishi T, Yuge K. Development of the therapeutic strategies for Rett syndrome. 第 39 回日本分子生物学会総会 シンポジウム (生育疾患 その多様性と普遍性を探る) 2016 年、11 月 30 日 (横浜)。
 14. 松石豊次郎 Rett 症候群の謎に挑戦する。小児神経学クリニック 瀬川塾講演 2016 年 11 月 19 日 (東京)
 15. 松石豊次郎、弓削康太郎、児島将康。レット症候群のグレリン治療について。小児神経学クリニック 瀬川塾講演 2016 年 11 月 20 日 (東京)
 16. 松石豊次郎。小児神経疾患の謎に挑戦するーバイオマーカー、睡眠からのアプローチと今後の展望 第 483 回日本小児科学会福岡地方会、特別講演。2015。2.14 (福岡)
 17. 松石豊次郎。神経疾患研究・治療の進歩。バイオマーカー、睡眠、モデル動物からのアプローチと今後の展望。第 9 回福岡小児科医会セミナー。2015。2.20。
 18. 松石豊次郎。発達障害を科学するーバイオマーカー、睡眠からのアプローチ。第 7 回筑後地区発達障害治療研究会。特別講演。2015.3.3 (久留米)
 19. Matsuishi T, Itoh M, Nabatame S, Tachimori H. Study of Rett syndrome epidemiology and database in Japan. 4th European Congress on Rett Syndrome. 2015.10.30-11.1 Roma, Italy
- [図書](計 7 件)
1. 松石豊次郎。1 - 16。Rett 症候群。稀少てんかん診療指針。第 2 章 疾患の特徴と診療指針 1. てんかん症候群、日本てんかん学会 (編集)。診断と治療社、2017: 90 - 93。
 2. 松石豊次郎。21。レット症候群。てんかんの指定難病ガイド、厚生労働省科学研究補助金 難治性疾患政策研究事業「希少難病てんかんのレジストリ構築による総合的研究」班。日興美術株式会社、2017 年: 46 - 47。
 3. 松石豊次郎。特集 慢性疾患児の一生を診る。神経疾患 Rett 症候群 2016 Vol 48 No.10. 1517-1519. 小児内科。
 4. 松石豊次郎。小児脳神経外科学、12 章 脳神経外科医が知っておくべき各領域の知識。小児神経内科領域、1。知的障害、2015 年、頁 959 - 960、改訂第 2 版、山崎麻美、坂本博昭編、金芳堂。
 5. 松石豊次郎。小児脳神経外科学、12 章 脳神経外科医が知っておくべき各領域の知識。小児神経内科領域、2。自閉症スペクトラム症(障害) 2015 年、頁 960 - 967、改訂第 2 版、山崎麻美、坂本博昭編、金芳堂。
 6. 松石豊次郎。1 レット症候群の概要 1 -1 レット症候群の歴史 レット症候群診療ガイドブック。2015 年、頁 9 - 13、青天目 信、伊藤雅之編、大阪大学出版会
 7. 松石豊次郎。2 よくある症状の解説と対処法。16。思春期・第二性徴、内分泌 レット症候群 診療ガイドブック。2015 年、頁 189 - 193、青天目 信、伊藤雅之編、大阪大学出版会

〔産業財産権〕

出願状況（計 1 件）

名称：グレリンを有効成分として含有するレット症候群（RTT）の予防・治療剤

発明者：松石豊次郎、児島将康、弓削康太郎、原宗嗣、山下裕史朗

権利者：久留米大学

種類：PCT出願

番号：2016/4/20 PCT/JP2016/062553

出願年月日：2016年4月20日

国内外の別：日本国

取得状況（計 0 件）

名称：

〔その他〕

ホームページ等

報道等（新聞報道）

- ・ 2017年6月21日：松石豊次郎、弓削康太郎。レット症候群に「グレリン」有効，毎日新聞，朝刊社会面。
 - ・ 2017年6月21日：松石豊次郎、弓削康太郎。食欲増進ホルモン神経障害に「有効」朝日新聞
 - ・ 2017年5月22日：松石豊次郎、弓削康太郎。小児難病 ホルモンで改善 レット症候群，西日本新聞，朝刊5面。
 - ・ 2017年6月21日：松石豊次郎、弓削康太郎。レット症候群「グレリン」症状改善に効果。読賣新聞
- （テレビ放映）
- ・ 2017年6月20日：FBSめんたいPlus 松石豊

次郎センター長レット症候群治療法開発の系口つかむ

- ・ 2117年6月30日：RKB 今日感ニュースレット症候群治療に光

6. 研究組織

(1)研究代表者

松石 豊次郎 (Matsuishi Toyojiro)

久留米大学・付置研究所・客員教授

研究者番号：60157237

(2)研究分担者

山下 裕史朗 (Yamashita Yushiro)

久留米大学・医学部・教授

研究者番号：90211630

高橋 知之 (Takahashi Tomoyuki)

久留米大学・医学部・准教授

研究者番号：20332687

御船 弘治 (Mifune Hiroharu)

久留米大学・動物実験センター・准教授

研究者番号：70174117

(3)連携研究者 無し

()

研究者番号：

(4)研究協力者

弓削 康太郎 (Yuge Kotarou)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：20624472