

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：37104

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K15692

研究課題名(和文) レット症候群のグレリン投与による治療メカニズムの解明

研究課題名(英文) Mechanisms of treatment of Rett syndrome with ghrelin administration

研究代表者

弓削 康太郎 (Yuge, Kotaro)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：20624472

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、乳児期に発症し重度知的障害、自閉、てんかん、睡眠障害、ジストニアなどを特徴とする神経発達障害で、MeCP2変異が主な原因である。申請者は、胃・腸管ホルモンであるグレリンの多彩な生理活性に着目し、グレリンによるRTT治療研究を進めてきた結果、ジストニアや睡眠、便秘の改善効果を認めため、RTTモデル(MeCP2欠損)マウスを利用して治療メカニズムを解析した。本研究では、治療メカニズムとしてドパミン・ノルアドレナリン反応性の改善、また自律神経の改善が示唆されることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、グレリン治療のメカニズムとしてRTTモデルマウスにてドパミン・ノルアドレナリン反応性の改善、また自律神経症状の改善が示唆されることを見出した。これらの成果は臨床におけるRTTに対するグレリン治療法開発の一助となる可能性がある。また本研究の評価方法や結果はRTTの病態解明へつながり、さらに自閉症や知的障害などの神経発達症、また付随することの多い睡眠障害やてんかんなどの病態解明にもつながる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Rett syndrome (RTT) is a neurodevelopmental disorder that develops in infancy and is characterised by severe intellectual disability, autism, epilepsy, sleep disturbance and dystonia, and is mainly caused by MeCP2 mutations. The applicant has focused on the diverse physiological activities of ghrelin, a gastric and intestinal hormone, and has conducted research on RTT treatment with ghrelin. As a result of this research, the therapeutic mechanism was analysed using an RTT model (MeCP2-deficient) mouse, as it was found that the treatment improved dystonia, sleep and constipation. The study found that improvement of dopamine and noradrenaline reactivity as well as improvement of the autonomic nervous system were suggested as treatment mechanisms.

研究分野：小児神経学

キーワード：レット症候群 グレリン 治療メカニズム

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

レット症候群(RTT)は、乳児期に発症し重度知的障害、自閉、てんかん、睡眠障害、ジストニアなどを特徴とする神経発達障害で、*MeCP2* 変異が主な原因である。申請者は、胃・腸管ホルモンであるグレリンの多彩な生理活性に着目し、グレリンによる RTT 治療研究を進めてきた結果、ジストニアや睡眠、便秘の改善効果を認めている。

2. 研究の目的

本研究は、RTT モデル(*MeCP2* 欠損)マウスを利用して病態におけるグレリンの役割や治療効果を発揮する詳細なメカニズムを明らかにすることが目的である。本研究の成果は臨床における RTT に対するグレリン治療法開発の一助となる。また本研究の評価方法や結果は RTT の病態解明へつながり、さらに自閉症や知的障害などの神経発達症、また付随することの多い睡眠障害やてんかんなどの病態解明にもつながる可能性があると考えている。

3. 研究の方法

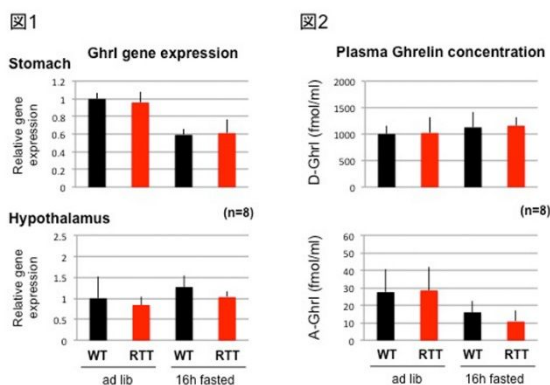
(1) RTT モデル (*MeCP2* 欠損) マウスにおける血中グレリン濃度、視床下部及び胃組織におけるグレリン遺伝子発現を解析した。対照コントロールとして、野生型 (WT) 及び、RTT モデルマウスは、7-10 週目に、麻酔後、心臓採血、胃、脳組織の採取を行なった。*MeCP2* 欠損マウスは、誤嚥性肺炎による肺傷害の無いものを対象とした。*Ghrelin* (*Ghrl*) 遺伝子の発現は、Quantitative RT-PCR 法によって、血中 *Ghrl* 濃度は、血漿に対する ELISA 法によって行なった。

(2) グレリン投与により RTT モデルマウスと対象 (野生型マウス) の脳内ドパミン (DA)、ノルアドレナリン (NA) の変化をマイクロダイアリス法によって比較・解析をした (共同研究のため詳細データ省略)。

(3) RTT モデルマウスは、生後 4 週目まではほぼ正常に成長する一方で、その後、体重や活動量の減少、呼吸異常が認められ、8 週目頃より死亡する。申請者は、RTT モデルマウスの多くが、RTT 患者と同様に誤嚥性肺炎により死亡すること、更に呑気症の症状が認められることを示している。そこで、グレリン投与が、RTT モデルマウスの死亡原因や嚥下、呼吸異常などの自律神経障害により引き起こされるとされる呑気症に及ぼす影響を解析した。

4. 研究成果

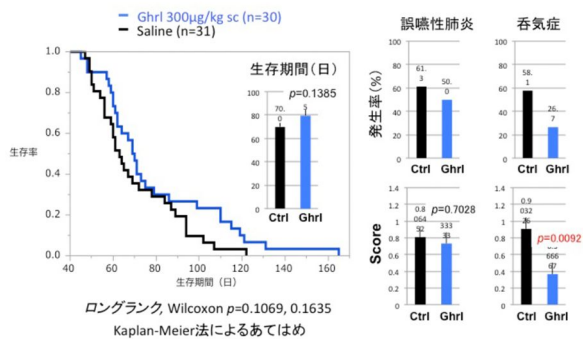
(1) 自由摂食時、16 時間絶食時ともに、WT と RTT 胃 (stomach) における遺伝子発現に有意な差は認められなかった (図 1 上段)。その一方で、視床下部 (hypothalamus) における遺伝子発現は、有意な差はないが低くなる傾向が認められた (図 1 下段)。また、血漿中の D-グレリン、A-グレリンともに、自由摂食時、16 時間絶食において、WT と RTT グループ間での有意な差は無かったが、A-グレリンは、絶食時には、RTT で低値を示す傾向が認められた (図 2 下段)。本研究により、RTT モデル (*MeCP2* 欠損) マウスにおけるグレリンの発現、分泌動態が明らかとなった。



(2) 前頭前野領域では、DA 及び、NA の量に明らかな差はなかった。一方、野生型マウスでは、前頭前野の DA、NA は、新規ストレスによって上昇するのに対して、RTT モデルマウスでは、その上昇が弱いことが明らかとなった。更に、グレリンを投与したところ、野生型及び RTT モデルマウスの DA、NA が上昇した。以上より、DA、NA の分泌能は維持されているが、新規ストレス刺激による反応性が障害されている可能性が考えられた (共同研究のため詳細データ省略)。

(3) RTT モデルマウスに、6 週目より、3 μ g/body/day で連日腹腔内投与した結果、生存率、生存期間の改善傾向を示したが統計的な有為差は認められなかった。その一方で、誤嚥性肺炎、呑気症の罹患率の低下が認められた。また、病態スコアは、呑気症で有為に低下した。それぞれの病態スコアは、いずれも 0 - 2 点 (0 点 = 正常、2 点が最も悪い) で評価を行った。本研究では、グレリン投与によって生存期間に明らかな延長は認められなかったが、誤嚥性肺炎、呑気症の罹患率の低下や呑気症の病態スコアの低下を認めた。本モデルマウスは、症状が強く、早期に死亡することから、病態評価に限界があるものの、嚥下、呑気症には自律神経障害が関与するとされており、RTT 臨床研究における自律神経改善効果を支持するものと考えられる。

今後は、RTT モデルマウスにおける睡眠病態の評価方法や自律神経系の評価のために心拍変動解析の測定法の確立を進めており、グレリン投与が睡眠、心拍変動解析に及ぼす影響を解析することで、作用メカニズムの解明を目指したい。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Saikusa Tomoko, Kawaguchi Machiko, Tanioka (Tetsu T) Tetsuji, Nabatame (Shin N) Shin, Takahashi Satoru, Yuge Kotaro, Nagamitsu Shin-ichiro, Takahashi Tomoyuki, Yamashita Yushiro, Kobayashi Yasuyuki, Hirayama Chisato, Kakuma Tatsuyuki, Matsuishi Toyojiro, Itoh Masayuki	4. 巻 42
2. 論文標題 Meaningful word acquisition is associated with walking ability over 10 years in Rett syndrome	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Brain and Development	6. 最初と最後の頁 705 ~ 712
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.braindev.2020.06.012	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Iwama K, Mizuguchi T, Takeshita E, Nakagawa E, Okazaki T, Nomura Y, Iijima Y, Kajiura I, Sugai K, Saito T, Sasaki M, Yuge K, et al	4. 巻 56(6)
2. 論文標題 Genetic landscape of Rett syndrome-like phenotypes revealed by whole exome sequencing	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Med Genet	6. 最初と最後の頁 396-407
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/jmedgenet-2018-105775	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Kotaro Yuge, Yukako Yae, Aiko Isooka, Ryuta Ishii, Shinichiro Nagamitsu, Kazuhiro Iwama, Naomichi Matsumoto, Toyojiro Matsuishi, Yushiro Yamashita
2. 発表標題 A novel USP8 mutation causes Rett syndrome-like phenotypes in a Japanese boy
3. 学会等名 15th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Aiko Isooka, Kotaro Yuge, Yukako Yae, Tomoyuki Takahashi, Toyojiro Matsuishi, Yushiro Yamashita
2. 発表標題 Questionnaire survey on fractures in patients with Rett syndrome
3. 学会等名 15th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 弓削康太郎, 高橋知之, 松石豊次郎, 山下裕史朗
2. 発表標題 MeCP2欠損マウスによるレット症候群の睡眠障害に関する研究
3. 学会等名 第63回日本小児神経学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 弓削康太郎
2. 発表標題 グレリンを用いたレット症候群の新規治療法開発、世界の治療開発のレビューを含めて
3. 学会等名 第63回日本小児神経学会学術集会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関