

200936165A

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患克服研究事業

レット症候群の診断と予防・治療法確立のための臨床  
および生物科学の集学的研究  
(H21-難治-一般-110)

平成21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 伊藤 雅之

平成22(2010)年 3月

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患克服研究事業

レット症候群の診断と予防・治療法確立のための臨床  
および生物科学の集学的研究  
(H21-難治-一般-110)

平成21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 伊藤 雅之

平成22(2010)年 3月

## 目 次

### I. 総括研究報告

レット症候群の診断と予防・治療法確立のための臨床および生物科学の集学的研究 -----	1
---	---

伊藤雅之

(資料1) レット症候群全国疫学調査 一次調査用紙

(資料2) レット症候群全国疫学調査 二次調査用紙

(資料3) レット症候群患者の全国分布 (一次調査の結果から)

(資料4) レット症候群診断基準 (案)

### II. 分担研究報告

1. レット症候群全国疫学調査 -----	14
-----------------------	----

伊藤雅之、野村芳子、松石豊次郎、立森久照

2. MECP2遺伝子変異の生物学的解析 -----	16
----------------------------	----

伊藤雅之、工藤伸一、齊藤貴志

3. レット症候群の臨床および生物マーカーの探求 -----	18
--------------------------------	----

伊藤雅之、松石豊次郎、高橋知之、西 芳寛

4. レット症候群の診断と治療・療育マニュアルの作成と生体試料の収集 -----	20
--	----

野村芳子、瀬川昌也、八森 啓、木村一恵、長尾ゆり、林 雅晴

5. 遺伝子改変細胞及びマウスの作製と行動、機能解析 -----	22
----------------------------------	----

栗政明弘、平塚正治

6. インプリンティング遺伝子の細胞生物学的解析 -----	24
--------------------------------	----

堀家慎一、堀家牧子、宮野 勝

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----	26
---------------------------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷 -----	27
-----------------------	----

レット症候群の診断と予防・治療法確立のための臨床および生物科学の集学的研究

研究代表者 伊藤 雅之 国立精神・神経センター神経研究所疾病研究第2部 室長

研究要旨

本研究では、レット症候群（RTT）を解明し、診断法と予防・治療法を確立するために、①RTTの臨床実態調査と体系的で包括的なマニュアル作成と生体試料の収集・管理、②エピゲノム機構の解明、③臨床的臨界期の解明の3つのテーマに取り組んだ。その結果、全国疫学一次調査において、患者総数1030名（推定値）、有病率0.008%が得られ、患者分布の地域差があることが分かった。

レット症候群の診断基準の普及と診断の標準化が必要であり、二次調査を通じて、診断基準の策定、診断・治療・療育のためのマニュアル作成を行う必要がある。基礎研究の進展は、複雑な病態解明のみならず、治療法の開発に役立つ。特に、*MeCP2*の発現制御マウスは詳細な治療実験が可能であり、今後の展開が期待できる。

分担研究者

野村 芳子・瀬川小児神経学クリニック 副院長  
栗政 明弘・鳥取大学大学院医学系研究科 准教授  
堀家 慎一・金沢大学フロンティアサイエンス機構  
特任助教

研究協力者

松石豊次郎・久留米大学医学部小児科学 教授  
工藤 伸一・北海道立衛生研究所微生物部 部長  
立森 久照・国立精神・神経センター精神保健研究  
所精神保健計画部 室長  
高森 一乗・日本大学歯学部小児歯科学講座 講師  
齊藤 貴志・国立精神・神経センター病院小児神経  
科 専門修練医  
瀬川 昌也・瀬川小児神経学クリニック 院長  
八森 啓・瀬川小児神経学クリニック 医師  
木村 一恵・瀬川小児神経学クリニック 医師  
長尾 ゆり・瀬川小児神経学クリニック 医師  
林 雅晴・瀬川小児神経学クリニック 医師  
平塚 正治・鳥取大学医学部生命科学科分子細胞生  
物学講座細胞工学分野 助教  
堀家 牧子・金沢大学学際科学実験センター 博士  
研究員  
宮野 勝・金沢大学フロンティアサイエンス機構  
博士研究員

A. 研究目的

レット症候群（RTT）は乳児期からの姿勢・協調運動異常、常同運動、ジストニアなどの運動症状、知的発達障害、自閉性行動を特徴とし、心電図異常

や側彎症など多臓器にわたる疾患である。これまでに全国的な疫学調査はなく、臨床実態は不明な点が多い。さらに有効な治療法がなく、早期からの療育に頼らざるを得ないのが実情である。RTTの原因遺伝子であるメチル化 CpG 結合タンパク 2 (*MECP2:Xq22*) の基礎研究が進められてきたが、X染色体不活化、*MECP2*変異部位による表現型の違いなど複雑な分子機構と診断の困難さ、検体収集システムの未整備により臨床研究が進んでいない。本研究では、RTTの臨床実態調査とそれに基づいた診断・治療・療育マニュアルを作成し、生体試料の収集と研究基盤の構築、独自開発したモデルマウスの分子生物学的研究を進め、広範な視点から集学的にRTT研究を行った。

これまで、我々は国内外のレット症候群家族会などを指導し、診療および情報提供等を行ってきた。RTTは神経症状だけでなく多臓器にわたる複雑な臨床像を呈するため、診断困難例が多く、その診断と治療・療育は経験によるところが大きい。そこで、(1) 野村、松石を中心にこれらを整理し、治療・療育の標準化に重要な体系的で包括的なマニュアルを作成する。また、診断、治療のための生物マーカーの探求を進める。一方、我々は*MECP2*の下流遺伝子*DLX5/6*、*IGFBP3*を発見し (Nat Genet 2005:37;31, J Neuropathol Exp Neurol 2007:66;117)、*MECP2*機能障害によるシナプス形成遅延やモノアミン合成低下 (Hum Mol Genet 2007:16;691, J Neuropathol Exp Neurol 2005:64;537) を明らかにした (伊藤、堀家)。さらに、細胞内シグナル伝達機構の障害も解明し、神経系のみならず全身性で多彩な症状の病態解明の糸口をつかんだ。(2) 独自に開発したモデ

ルマウスで発症と治療の臨界期を特定し、それらの時期にモノアミンの動態を調べ、診断と治療のマーカー分子の同定、診断、重症度のマーカーを検索する(伊藤、栗政)。また、(3) MECP2が関与するエピゲノム機構の研究(堀家)を行い、RTTの複雑な分子病態を解明するのみならず科学的な治療法の開発を視野に研究を進める。

## B. 研究方法

- (1) 臨床実態調査と体系的マニュアル作成(野村、伊藤、松石、立森): 疫学班(「特定疾患の疫学に関する研究」班(研究代表者: 永井正規(埼玉医科大学公衆衛生学))との共同研究により、全国の医療・療育機関へRTT患者のアンケート調査を行った。全国の小児科を有する全病院に大学医学部付属病院とレット症候群の患者が集中すると考える施設を加えた母集団(2,918施設)から層化無作為抽出された1020施設を対象に郵送による質問紙調査を行い、過去1年間(2008年11月より2009年10月)に診療したRTT患者およびRTT疑い例の有無と患者数を尋ねた(一次調査用紙(資料1)参照)。現在、個々の患者の実態把握のために二次調査を行っている(二次調査用紙(資料2)参照)。
- (2) RTTの生物マーカーの検索(松石、伊藤): 研究参加の同意を得られた患者検体を用いて、脳と消化管に分布するペプチドホルモンであるグレリン(GRL)をRIA法により、症状との関連性を調べた。さらに、類似のペプチド(GH, IGF-1, IGFBP3等)をRIA法で、またモノアミン・アミノ酸をHPLC法で測定し、診断および病期を反映する生物マーカーの探求を行った。
- (3) 患者由来変異MECP2によるヘテロクロマチン機構の解析(伊藤、工藤): MECP2のDNA結合領域(MBD)の患者由来変異7種類についてGFPとの融合タンパク発現ベクターを作成し、マウス繊維芽細胞に導入する。これら変異タンパクを発現した細胞でのヘテロクロマチンの違いとメチル化パターンの違い構造の違いを観察し、ヘテロクロマチン構造の相違と症状の重症度との関連性を検討した。
- (4) MECP2による染色体15q11-q13領域のAS責任遺伝子座の遺伝子発現制御機構の解明(堀家): ①ヒト神経細胞SH-SY5Yにおける15q11-q13上のMECP2結合部位の同定: SH-SY5Y細胞をPMAで分化誘導し、神経細胞への分化後特異的なMECP2結合部位をChIP法により解析した。②UBE3A遺伝子とそのアンチセンスRNA遺伝子(UBE3A-AS)の発現制御機構の解析: MECP2をノックダウンさせたSH-SY5Y細胞とMECP2に対する転写因子デコイ(おとり)を導入し

たSH-SY5Y細胞のUBE3A遺伝子とUBE3A-ASの発現解析を行った。

- (5) Mecp2発現制御遺伝子改変マウスの作製(伊藤、栗政): 染色体ROSA26領域にMecp2のcDNA+EGFPを組み入れ、組み換えによりマウスES細胞に導入する。サザンブロット等により確認し、これをマウス胚に入れ、キメラマウスを作製する。高い導入率が期待できるキメラマウスから、戻し交配を行う。

(倫理面への配慮)

本研究を行うにあたって、関係省庁の指針を遵守し、必要な手続きを行った。疫学調査および臨床研究においては、当該研究機関の倫理問題検討委員会の承認を得て行った。また、遺伝子改変および動物実験にあたって、国立精神・神経センターおよび金沢大学、鳥取大学大学院医学研究科に設置されている組換えDNA実験委員会および動物実験に関する倫理委員会等の承認を得て行った。

## C. 研究結果

- (1) 臨床実態調査: 一次調査対象1020施設からの有効回答は677施設(66.4%)で、RTTの報告患者数は計480名であった。この数値から求められる全国のRTTの推計患者数は約890人(95%信頼区間: 680から1100人)であった。RTT疑い例の報告数は79名、全国の推計例数は約140人(95%信頼区間: 120から150人)であった。つまり本邦のRTT患者数(含RTT疑い例)は1030人程度と推定され、これは20歳までの女性(1120万人(総務省統計局))の0.008%(20歳以下の女性の暫定有病率)にあたる。また、患者分布の地域差があることが分かった(資料3)。現在、個々の患者の実態把握をするために二次調査を行っている。なお、男児の報告も4例(うち疑い例が3人)あったが、これらについては二次調査による診断の確認を待つこととし、上述の集計や推計には女児のみを使用した。  
また、Rett Clinical Meeting/3rd RettSearch Consortium Meetingの診断基準作成に参加している野村を中心に本邦の診断基準(案)(資料4)を作成した。今後、協力を得ている患者に対して、実用化に向けた臨床実証を行う。
- (2) RTTの生物マーカーの検索: すでに集積している40家系50名以上の患者検体から、RTTでは血中GRLが低値であることをみつけた。さらに、GRL値と症状、MECP2遺伝子変異との関連性を調べている。また、GH, IGF-1, IGF-2, IGFBP3をRIA法で測定し、結果の解析を進めている。
- (3) 変異MECP2のヘテロクロマチン機構の解析: MECP2のMBD領域に変異を作製し、発現ベクター

を構築し、マウス繊維芽細胞に導入した。これら遺伝子変異によるヘテロクロマチン構造の違いを観察し、ヘテロクロマチン構造の相違と症状の重症度との相関を見出した。さらに、ゲノム DNA への結合能、転写活性化能、転写に与える影響について DNA チップによる発現解析およびクロマチン免疫沈降 (ChIP) 解析を行っている。

(4) MECP2による染色体15q11-q13領域のAS責任遺伝子座の遺伝子発現制御機構の解明：①ヒト神経細胞SH-SY5Yにおける15q11-q13上のMECP2結合部位の同定：SH-SY5Y細胞を神経細胞へ分化誘導した。ChIP法で15q11-q13領域の特異的なMECP2結合部位を同定した。②UBE3A遺伝子とそのアンチセンスRNA遺伝子 (UBE3A-AS) の発現制御機構の解析：MECP2ノックダウンSH-SY5Y細胞とMECP2転写因子デコイ導入SH-SY5Y細胞を作製した。現在、UBE3A遺伝子とUBE3A-ASの発現解析を進めている。

(5) *Mecp2*発現制御遺伝子改変マウスの作製：新規ROSA26法による発現制御*Mecp2*遺伝子改変ES細胞および改変マウスを作製した。改変ES細胞において発現制御のテトラサイクリン投与量について検討中である。また、改変マウスについては第2世代まで戻し交配が終了し、次年度には解析に用いることが可能である。

#### D. 考察

これまで、我が国におけるレット症候群(RTT)の疫学調査は行われたことがない。今回の調査によって初めて、RTTの暫定有病率が(20歳以下の女性)の0.008%であることが明らかになった。この数値は欧米諸国(0.01-0.015%)と比べて低く、その原因について、今後二次調査あるいはその後の追跡調査による詳細な解析で明らかにする必要がある。一方、今回の調査から患者分布の地域差が大きいことが分かった。その一因として、RTTの診断の難しさと医師のRTTの認知度の低さが基盤にあると考えられる。これまでのRTTの診断基準は欧米諸国を中心に作成され、その神経学的徴候の難解な表現や臨床所見の取り方の特殊性などにより、十分普及されていなかった。そこで、一般小児科医にも理解しやすい本邦独自の診断基準を新たに作成し、啓蒙および普及させる必要がある。現在、診断基準(案)(資料4)を作成し、臨床実証の準備を進めている。こうした診断基準の確立と普及は本邦におけるRTTの正確な実態把握のみならず、早期からの治療・療育への介入に不可欠であり、家庭や学校への支援をしていく上で重要である。

また、本邦のRTTおよびRTTの原因遺伝子であるMECP2の研究者を一堂に会する研究会を開催し、最新の研究情報の交換のみならず、共同研究の推進を

はかることができた。さらに、アメリカ遺伝病データベース GeneReview の日本語翻訳を行ない、GeneReview 日本語版 (<http://grj.umin.jp/>) に掲載し、RTTの疾患概念と臨床遺伝学的ガイドラインの普及を行った。

RTTの生物マーカーの探求とMECP2の分子生物学的研究の成果は、世界をリードするものであり、今後さらに発展することが期待できる。グレリンの発見は世界に先立つものであり、症状の重症度との関連を解析している。また、MECP2発現制御機構の解明は、RTTだけでなく15番染色体インプリンティング遺伝子が関与するPrader-Willi症候群やAngelman症候群の病態解明の可能性もある意義深い研究である。さらに、*Mecp2*発現制御遺伝子改変マウスは、いままでにない遺伝子発現制御機構のモデルマウスで、これにより詳細な治療実験の展開が期待できる。

#### E. 結論

本研究において、本邦で初めてレット症候群の全国疫学調査が始まった。一次調査において、患者総数1030名(推定値)、有病率0.008%が得られた。また、患者分布の地域差が大きいことが分かった。レット症候群の診断基準の普及と診断の標準化が必要である。臨床経過などの詳細な二次調査を通じて、診断基準の策定、診断・治療・療育のためのマニュアル作成を行う必要がある。基礎研究の進展は、複雑な病態解明のみならず、治療法の開発に役立つ。特に、*Mecp2*の発現制御マウスの完成は、詳細な治療実験が可能であり、今後の展開が期待できる。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Takashima S, Itoh M, Oka A. A history of our understanding of cerebral vascular development and pathogenesis of perinatal brain damage over the past 30 years. *Semin Pediatr Neurol* 2009;16:226-236.
2. Saitoh M, Itoh M, Takashima S, Mizuguchi M, Iwamori M. Phosphatidyl ethanolamine with increased polyunsaturated fatty acids in compensation for plasmalogen defect in the Zellweger syndrome brain. *Neurosci Lett* 2009;449:164-167.
3. Takizawa Y, Miyazawa T, Goto Y, Nonomura S, Itoh M. Edaravone inhibits neuronal cell

- death induced by DNA peroxidation in the neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy model rat. *Pediatr Res* 2009;65:636-641.
4. Larimore JL, Chapleau CA, Kudo S, Theibert A, Percy AK, Pozzo-Miller L. *Bdnf* overexpression in hippocampal neurons prevents dendritic atrophy caused by Rett-associated MECP2 mutations. *Neurobiol Dis* 2009;34:199-211.
  5. Chapleau CA, Calfa GD, Lane MC, Albertson AJ, Larimore JL, Kudo S, Armstrong DL, Percy A, Pozzo-Miller L. Dendritic spine pathologies in hippocampal pyramidal neurons from Rett syndrome brain and after expression of Rett-associated MECP2 mutations. *Neurobiol Dis* 2009;35:219-233.
  6. Nomura Y. Rett syndrome. In: Katie Kompoliti, Leonard Verhagen ed. *Encyclopedia of Movement Disorders*. Elsevier, New York, 2010. (in press)
  7. Inoue T, Nakayama Y, Yamada H, Li YC, Yamaguchi S, Osaki M, Kurimasa A, Hiratsuka M, Katoh M, Oshimura M. SIRT2 downregulation confers resistance to microtubule inhibitors by prolonging chronic mitotic arrest. *Cell Cycle* 2009;8:1279-1291.
  8. Horike S, Ferreira JCP, Meguro-Horike M, Choufani S, Smith AC, Shuman C, Meschino W, Chitayat D, Zackai E, Scherer SW, Weksberg R. Screening of DNA Methylation at the H19 Promoter or the Distal Region of its ICR1 Ensures Efficient Detection of Chromosome 11p15 Epimutations in Russell-Silver Syndrome. *Am J Med Genet* 2009;149A:2415-2423.
  9. 東田陽博, 堀家慎一, 吉原亨, 小泉恵太. 自閉症の遺伝子・分子生物・実験動物学的研究: 自閉症分子マーカー探索の第一歩. *医学のあゆみ* 2009;231:1072-1078.
  10. Ohya T, Nagai T, Matsuishi T. A pilot study on the changes in immunity after ACTH therapy in patients with West syndrome. *Brain Dev* 2009;31:739-743.
  11. Egami C, Morita K, Ohya T, Ishii Y, Yamashita Y, Matsuishi T. Developmental characteristics of visual cognitive function during childhood according to exploratory eye movements. *Brain Dev* 2009;31:750-757.
  12. Yamashita Y, Mukasa A, Matsuishi T. Short-term effect of American summer treatment program for Japanese children with attention deficit hyperactivity disorder. *Brain Dev* 2010;32:115-122.
2. 学会発表
1. Itoh M, Takizawa Y, Goto Y. Edaravone Inhibits DNA Peroxidation and Neuronal Cell Death in Neonatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy Model Rat. Workshop of Epilepsy and Child Neurology. The 13rd Congress of the European Federation of Neurological Societies. Florence, Italy, September 12, 2009
  2. Nomura Y. A case of Angelman syndrome. Rett Search Clinical Meeting, Chicago, USA, June 30-July 1, 2009
  3. 野村芳子. レット症候群 研究の最近の進歩. 第17回日本レット症候群協会サマーキャンプ. 愛知県. 2009年8月7日
  4. Horike S. Characterization of regulatory sequences essential for homologous pairing of chromosome 15q11-13. The 18th Lake Shirakaba Conference, Vedbaek, Denmark, June 20, 2009
- H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)
1. 特許取得  
なし
  2. 実用新案登録  
なし
  3. その他  
(特許申請予定)  
*Mecp2*発現制御マウス (伊藤雅之、栗政明弘)

(資料1) レット症候群全国調査 一次調査用紙

(依頼文)

(一次調査回答用紙)

レット症候群の実態に関する疫学調査へのご協力をお願い

拝啓 晩秋の候、ますます御健勝のこととお慶び申し上げます。日頃は大変お世話になっております。

さて、この度はレット症候群の実態に関する疫学調査へのご協力をお願いさせていただいております。レット症候群は、主に女兒に発症し、特異な手の常同運動、ジストニア、自閉傾向、重度精神遅滞、奇異呼吸、てんかんなどが年齢依存性に出現する神経発達障害です。有病率は女兒1万-1.5万人に1人と考えられていますが、本邦における患者数を含む実態調査が行われたことがありません。そこで、厚生労働省難治性疾患克服研究事業では「レット症候群の診断と予防・治療法確立のための臨床および生物科学の集学的研究」班と「特定疾患の疫学に関する研究」班が共同で、全国の医療機関、療育機関にご協力をお願いし、実態調査を行わせていただくこととなりました。

ご多忙のところ大変恐縮ですが、返信の裏面の質問事項にご回答いただき、2009年11月20日までにご返信をお願いいたします。ご協力をいただいた場合は、その旨を院内への掲示などにて患者様にお知らせください。掲示用のお知らせ文書は事務局からご提供できます。ご希望の場合は事務局までご連絡いただければ幸いです。

ご回答は疫学解析の後、本邦のレット症候群の実態把握のみならず診断、治療、療育への資料として活用させていただきます。なにとぞ、ご協力をお願い申し上げます。ご不明の点がございましたら下記事務局までお問い合わせください。

敬 具

問い合わせ先：レット症候群の全国疫学調査事務局

〒187-8502 東京都小平市小川東町4-1-1

国立精神・神経センター 神経研究所 疾病研究第2部 伊藤雅之 宛

電話：042-341-2712 (内線 5823) ファックス：042-346-1743

レット症候群の全国疫学調査 1次調査用紙

貴診療科における過去1年間(2008年11月1日から2009年10月31日まで)の受診患者についてそれぞれご記入ください。延べの受診件数ではなく、受診患者の実数をお願いいたします。

全国のレット症候群の有病患者数の推計に使用いたします。該当患者のない場合でも「0. なし」に○をつけ、ご返送をお願いします。

- 1. MECP2の変異の有無の関わらず、臨床的特徴により「レット症候群」と診断されている者

レット症候群	0. なし	1. あり	男 _____例 女 _____例
--------	-------	-------	----------------------

- 2. MECP2の変異の有無の関わらず、臨床的特徴により「レット症候群の疑い」と診断されている者

レット症候群の疑い	0. なし	1. あり	男 _____例 女 _____例
-----------	-------	-------	----------------------

・記載医師御氏名 \_\_\_\_\_

・記載年月日 \_\_\_\_\_ 2009年 \_\_\_\_月 \_\_\_\_日

後日、各症例については2次調査を行うことを予定しております。改めてご協力をお願いさせていただきますので、その際にはご検討いただければ幸いです。

返信はがきのご住所、貴施設名、貴診療科名などに誤りがありましたら、お手数ですがご訂正をお願いします。

2009年11月20日までにご返送をいただければ幸いです。



(資料2) レット症候群全国調査 二次調査用紙

レット症候群 第二次調査個人票

厚生労働省・厚生労働科学研究費補助金(難病克服研究事業)
レット症候群の診断と予防・治療法確立のための臨床および生物科学の集学的研究班
特定疾患の疫学に関する研究班

この調査票はレット症候群の実態調査のみに使用し、ここに記された記録は秘守されます。該当する番号を丸でかこむ、または\_\_\_\_\_上か( )内にご記入ください。冒頭に【複】とある項目は複数回答可です。

記載者氏名 \_\_\_\_\_ 記載年月日 \_\_\_\_\_ 平成 \_\_\_\_\_ 年 \_\_\_\_\_ 月 \_\_\_\_\_ 日

貴施設名 \_\_\_\_\_ 電話 \_\_\_\_\_

所在地 \_\_\_\_\_ E-MAIL \_\_\_\_\_
(省略可)

担当診療科 \_\_\_\_\_ 1 小児科 2 小児神経科 3 その他( )

Table with 2 columns: 調査対象 (患者番号) and 性 (男/女). Includes fields for birth date (year/month), residence (city/county), and birthplace (city/county).

Table with 2 columns: 記載日現在の年齢, 推定発症年齢, 貴施設初診時年齢. Includes fields for age in years and months.

診断した医療機関 \_\_\_\_\_ 1 貴院 2 他院(医療・療育機関名: )

診断 \_\_\_\_\_ 1 レット症候群 2 レット症候群の疑い

【複】診断の根拠 \_\_\_\_\_ 1 DSM-IV (R) 2 ICD-10 3 Rett syndrome diagnostic criteria (1985)
4 Rett syndrome diagnostic criteria (1988) 5 Rett syndrome diagnostic criteria (2002)
6 その他( ) 9 不明

I 初診時に認められた症状

Large table listing various symptoms such as motor delay, abnormal eye movements, hand coordination, muscle tension, spine issues, self-closing, mood abnormalities, language development, breathing patterns, sleep disorders, and neurological symptoms. Each item has a scale from 0 to 9.

II 家族歴

Table for family history including blood relationships (blood marriage) and family history of illness (Rett syndrome, self-closing, etc.).

\* 血族結婚、家族歴は、問診で知り得た範囲内で結構です。可能であれば、三等親までは調べてください。

III 母親の本児妊娠について

異常	0 無	1 有 (内容 )	9 不明
----	-----	-----------	------

IV 出生歴

異常	0 無	1 有 (内容 )	9 不明
出生時の体格	体重 ( g)	身長 ( cm)	頭囲 ( cm)

V 既往歴

疾患名 (罹患年齢)	0 無	1 有 ( )	9 不明
外傷 (部位と受傷年齢)	0 無	1 有 ( )	9 不明
骨折 (部位と年齢)	0 無	1 有 ( )	9 不明
手術 (内容と年齢)	0 無	1 有 ( )	9 不明
その他 (内容と年齢)	0 無	1 有 ( )	9 不明

VI 現病の特徴的徴候の有無について \* ( ) はその発現年齢を記してください

a 身体所見

初診時身長	1 ( ) cm	9 不明	
初診時体重	1 ( ) kg	9 不明	
初診時頭囲	1 ( ) cm	9 不明	
頭囲拡大の減速	0 無	1 有 ( 歳 カ月から )	9 不明
便秘	0 無	1 有 ( 歳 カ月から )	9 不明
足が冷たい	0 無	1 有 ( 歳 カ月から )	9 不明
初潮	0 無	1 有 ( 歳 カ月から )	9 不明
その他 (内容と年齢)	0 無	1 有 (内容 ; 歳 カ月)	

b 運動機能

頸定	0 無	1 有 ( 歳 カ月から )	9 不明
寝返り	0 無	1 有 ( 歳 カ月から )	9 不明
座位	0 無	1 有 ( 歳 カ月から )	9 不明
四つ這い移動	0 無	1 有 ( 歳 カ月から )	9 不明
上記1の場合 異常パターン	0 無	1 有 (内容 )	9 不明
独歩	0 未	1 有 ( 歳 カ月から )	9 不明
【複】上記1の場合 異常パターン	1 横揺れ歩行	2 つま先歩行	3 その他 ( ) 9 不明
手の合目的運動の消失	0 無	1 有 ( 歳 カ月から )	9 不明
【複】常同運動	0 無	1 手にあり ( 歳 カ月から )	2 口にあり ( 歳 カ月から )
	3 足にあり ( 歳 カ月から )		9 不明
他の不随意運動	0 無	1 有 (内容 : )	(時期 : 歳 カ月から) 9 不明
【複】筋緊張異常	0 無	1 低下 ( 歳 カ月から )	2 亢進 ( 歳 カ月から )
	3 ジストニア性 ( 歳 カ月から )		9 不明
脊柱異常 側弯	0 無	1 有 (内容 ) ( 歳 カ月)	9 不明
脊柱異常 後弯	0 無	1 有 (内容 ) ( 歳 カ月)	9 不明
運動の退行	0 無	1 有 (内容 ) ( 歳 カ月から )	9 不明
その他	0 無	1 有 ( )	

c 精神・情緒の発達及び異常

精神遅滞	0 無	1 有 (推定DQ/IQ : 、測定方法 : )	(施行時年齢 : 歳 カ月) 9 不明
有意語	0 無	1 単語 ( 語)	2 二語文 3 その他 9 不明
【複】自閉傾向	0 無	1 おとなしい ( 歳 カ月から )	2 手がかからない ( 歳 カ月から )
	3 視線が合わない ( 歳 カ月から )		4 多動 ( 歳 カ月から )
	5 その他 ( 歳 カ月から )		9 不明
【複】情緒異常	0 無	1 奇声 ( 歳 カ月から )	2 興奮 ( 歳 カ月から )
	3 自傷 ( 歳 カ月から )	4 固執 ( 歳 カ月から )	
	5 クラクラ笑う ( 歳 カ月から )	6 泣く ( 歳 カ月から )	
	7 鬱状態 ( 歳 カ月から )	8 見つめる ( 歳 カ月から )	9 不明

精神機能の退行	0 無	1 有 ( 歳 カ月)	9 不明
その他	0 無	1 有 ( )	

d けいれん性疾患、呼吸異常

有熱時けいれん	0 無	1 有 ( 歳 カ月)	9 不明
てんかん	0 無	1 有 ( 歳 カ月)	9 不明
【複】呼吸異常	0 無	1 過呼吸 ( 歳 カ月から)	2 息つめ ( 歳 カ月から)
	3 呑気 ( 歳 カ月から)	4 他 (内容 ; 歳 カ月から)	
その他	0 無	1 有 ( )	

e 睡眠異常

睡眠覚醒リズム障害	0 無	1 有 ( 歳 カ月)	9 不明
日中の睡眠過多	0 無	1 有 ( 歳 カ月)	9 不明
夜間覚醒	0 無	1 有 ( 歳 カ月)	9 不明
夜泣き	0 無	1 有 ( 歳 カ月)	9 不明
夜驚	0 無	1 有 ( 歳 カ月)	9 不明
その他	0 無	1 有 (内容 ; 歳 カ月)	9 不明

f 歯科・口腔の問題

歯ざしり	0 無	1 有 ( 歳 カ月)	9 不明
咬合不全	0 無	1 有 ( 歳 カ月)	9 不明
嘔む、飲み込みの異常	0 無	1 有 ( 歳 カ月)	9 不明
その他	0 無	1 有 ( )	

VII 検査

頭部MRI/CT異常	0 無	1 有 (所見 )	9 不明
染色体検査	0 未検査	1 G-band	2 高精度分染法
	3 FISH	4 その他 ( )	
検査した場合 染色体所見	0 異常なし	1 所見あり (具体的に )	
MECP2遺伝子検査	0 未検査	1 有 (検査実施施設名 )	
検査した場合 MECP2遺伝子異常	0 無	1 有 (結果 )	9 不明
その他	0 無	1 有 (内容 )	9 不明

VIII 治療・療育 (使用薬剤等を記載してください)

抗てんかん薬	0 無	1 有 (薬剤名: )	9 不明
他の内服薬	0 無	1 有 (薬剤名: )	9 不明
胃ろう	0 無	1 有 (造設年齢: 歳 カ月)	9 不明
側弯手術	0 無	1 有 (手術年齢: 歳 カ月)	9 不明
理学療法 (PT)	0 無	1 有 (開始年齢: 歳 カ月から; 現在の頻度: 月に 回程度)	9 不明
作業療法 (OT)	0 無	1 有 (開始年齢: 歳 カ月から; 現在の頻度: 月に 回程度)	9 不明
言語療法 (ST)	0 無	1 有 (開始年齢: 歳 カ月から; 現在の頻度: 月に 回程度)	9 不明
心理指導	0 無	1 有 (開始年齢: 歳 カ月から; 現在の頻度: 月に 回程度)	9 不明
音楽療法	0 無	1 有 (開始年齢: 歳 カ月から; 現在の頻度: 月に 回程度)	9 不明
水泳	0 無	1 有 (開始年齢: 歳 カ月から; 現在の頻度: 月に 回程度)	9 不明
その他	0 無	1 有 (開始年齢: 歳 カ月から; 現在の頻度: 月に 回程度)	9 不明

IX 医療費

【複】公費負担	0 無	1 精神障害者自立支援	2 小児慢性特定疾患	3 心身障害者医療費助成制度
	4 療育手帳	5 身障者手帳	6 生活保護	7 その他 ( )
その他	0 無	1 有 (内容 )	9 不明	

X 福祉関連

通所	0 無	1 療育センター	2 その他 ( )	9 不明
在宅介護支援	0 無	1 有 (内容 )	9 不明	
入所	0 無	1 重症心身障害者・児施設	2 その他 ( )	9 不明
その他	0 無	1 有 (内容 )	9 不明	

XI その他

受診状況（最近1年間）	1 主に通院 2 主に入院 3 通院と入院 4 転院（転院先：____） 9 不明
現在の状況	1 独歩 2 車いす 3 寝たきり 4 死亡（死亡時期：平成____年____月____日；死因：____；剖検：1 施行 2 未施行） 5 その他（____） 9 不明
最終受診日	平成____年____月____日

以下、当研究班への要望や患者様でお困りの点など、ご自由にご記入ください。

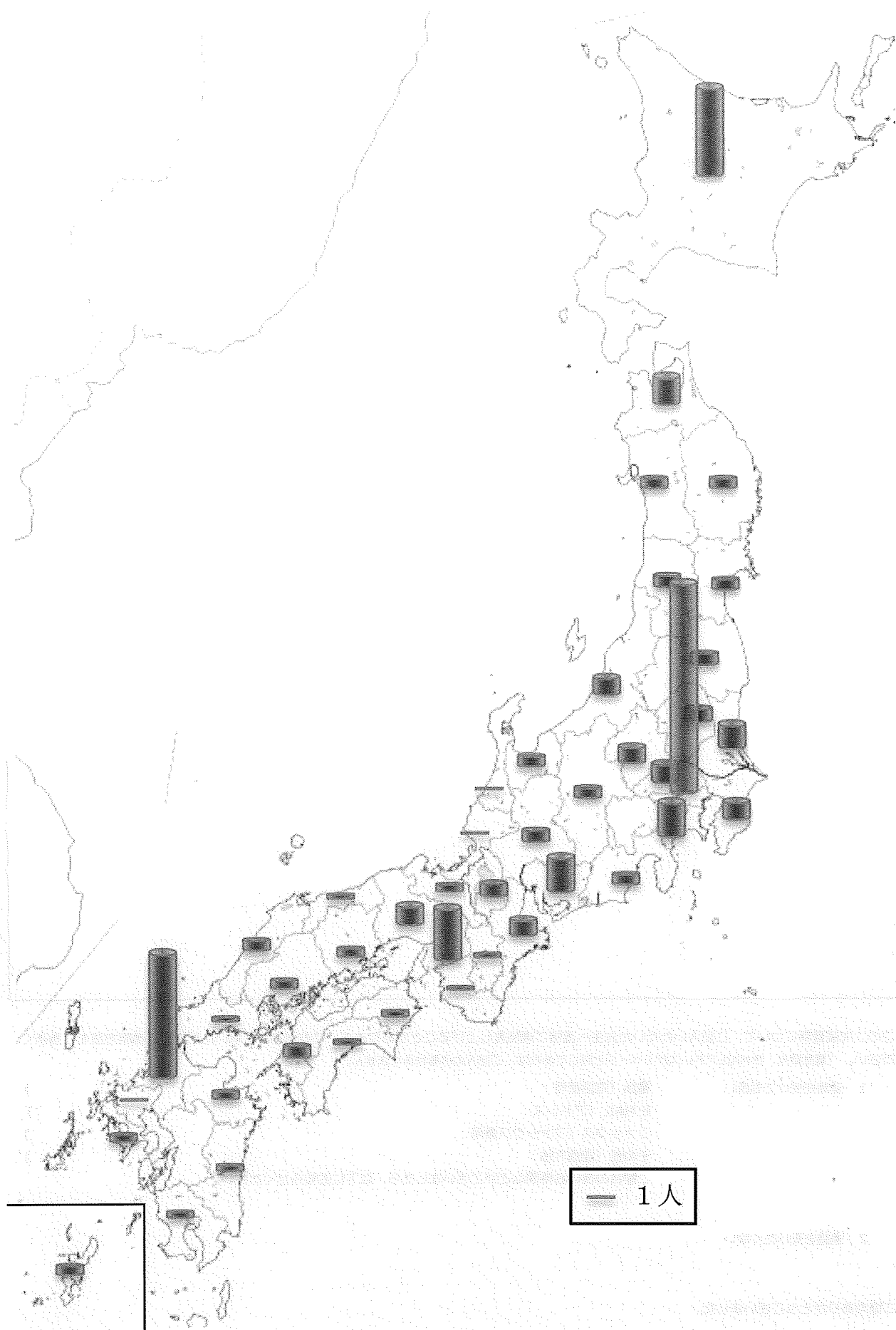
この二次調査票について、ご記入いただいた先生へ直接ご連絡差し上げることがあります。この点をご了承いただき、ご連絡方法をご指示ください。（電話番号、E-MAILアドレスが1ページと同じであれば、ご記入の必要はありません。）

- 1 連絡を受けても良い
- 電話（電話番号：\_\_\_\_）  
E-MAIL（アドレス：\_\_\_\_）  
ファックス（ファックス番号：\_\_\_\_）  
その他（通信方法：\_\_\_\_）  
ご都合の良いお時間などがございましたら、以下にお知らせください。  
（\_\_\_\_）

- 2 連絡を受けたくない

ご協力ありがとうございました。

(資料3) レット症候群患者の全国分布 (一次調査の結果から)



## レット症候群の診断基準 (案)

レット症候群は1966年の報告以来、これまでにDSM-IV-TRやICD-10などいくつかの診断基準が提唱されています。これらは数年ごとに改訂され、現在もRett Clinical Meeting/3rd RettSearch Consortium Meetingでは診断基準の見直しが行なわれています。こうした経緯は診断技術の進歩のみならず、レット症候群の病型の複雑を反映していると考えられます。

2009年、厚生労働省科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)「レット症候群の診断と予防・治療法確立のための臨床および生物科学の集学的研究」班(研究代表者 伊藤雅之)と「特定疾患の疫学に関する研究」班(研究代表者 永井正規)との共同研究により、本邦におけるレット症候群の患者数(1030名(推定値))、有病率(女児の0.008%(推定値))を初めて明らかにしました。諸外国の報告から、レット症候群の有病率は種族間に違いはないと考えられていましたが、本邦の有病率は欧米諸国のそれより低いものでした。この理由には、レット症候群の診断が困難なこと、実は種族間で違いがあること、が考えられます。そこで、「レット症候群の診断と予防・治療法確立のための臨床および生物科学の集学的研究」班では、本邦の医療・療育の現況に則した「レット症候群の診断基準(案)」を策定しました。これをもとに臨床場面での実証を重ね、本邦の「レット症候群の診断基準」を作り、普及させ、診断の標準化をはかります。さらに、International Rett Syndrome Foundationへの提言や世界標準化を目的としています。

平成22年2月

厚生労働省厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)  
レット症候群の診断と予防・治療法確立のための臨床および生物科学の集学的研究班  
研究代表者 伊藤 雅之 (国立精神・神経センター)  
疫学調査担当 野村 芳子 (瀬川小児神経学クリニック)  
臨床研究担当 松石豊次郎 (久留米大学医学部小児科)

### 1. 必須項目

#### A 出生時～生後6ヶ月頃

- 1) 胎生期および周生期 には異常に気がつかれない。
- 2) 生後6か月頃までは軽微であるが症状があり、それらは筋緊張の低下、日中の睡眠時間が長くおとなしい世話のかからない乳児である。
- 3) 出生時頭囲は正常のことが多いが小頭のこともある。

#### B 生後6ヶ月～1歳6ヶ月頃

- 4) ロコモーションの障害(四つ這い移動、歩行のパターンの異常)。
- 5) 頭囲拡大の減衰。
- 6) 獲得されていた手の合目的な運動の消失及びそれに前後して本症に特異な手の常同運動の出現。

#### C 1歳6ヶ月頃～3歳頃(この時期に退行が見られることが多い)

- 7) 下肢から始まるジストニア姿勢。
- 8) 言語発達の遅滞、知的発達の遅滞。
- 9) 社会性、コミュニケーション機能、獲得言語の喪失。

#### D 小児期～成人期

- 10) ジストニアは緩徐進行する。その一部症状として側彎が進行することがある。
- 11) 社会性、コミュニケーションの改善を見ることも多い。

#### E 中高年

- 12) パーキンソニズムを呈することもある。

### 2. 補助項目

- 1) 睡眠パターンの障害。
- 2) 覚醒時の呼吸障害（過呼吸、息止め発作、空気や唾液を無理にはき出す、吞気）。
- 3) 末梢の血管運動障害。
- 4) 小さな足、冷たい足。小さくて薄い手。

### 3. 除外項目（他疾患の除外）

- 1) 蓄積病の症状（臓器肥大など）。
- 2) 代謝性疾患、神経変性疾患。
- 3) （周産期仮死の病歴などから）現症の原因と考えられる明らかな周生期あるいは後天性脳障害。しかし、これは必ずしもレット症候群を否定するものではない。
- 4) 脳炎・脳症、頭部外傷などによる神経学的後障害。

レット症候群の全国疫学調査

研究分担者 伊藤 雅之 国立精神・神経センター神経研究所疾病研究第2部 室長  
野村 芳子 瀬川小児神経学クリニック 副院長  
研究協力者 松石豊次郎 久留米大学医学部小児科学 教授  
立森 久照 国立精神・神経センター精神保健研究所精神保健計画部 室長  
高森 一乗 日本大学歯学部小児歯科学講座 講師

研究要旨

疫学班（「特定疾患の疫学に関する研究」班（研究代表者：永井正規（埼玉医科大学公衆衛生学））との共同研究により、全国の医療・療育機関に対して、アンケート調査を行った。その結果、RTT患者数は1030人と推定され、有病率は女児の0.008%であった。さらに、患者実態調査のために二次調査を進めている。また、レット症候群の診断基準を作成し、有効性について実証を進めている。

A. 研究目的

レット症候群（RTT）は乳児期からの姿勢・協調運動異常、常同運動、ジストニアなどの運動症状、知的発達障害、自閉性行動を特徴とし、心電図異常や側彎症など多臓器にわたる疾患である。広範な領域にわたる医療の必要性があるにもかかわらず、これまでに全国的な疫学調査はなかった。本研究では、全国の小児科を標榜する医療・療育機関を対象にアンケート調査を行い、本邦における患者数、有病率（20歳以下の女性における暫定の有病率（以下、暫定有病率））を明らかにするのみならず、診断、受診状況、療育環境などRTT患者の実態を解明する。

B. 研究方法

疫学班（「特定疾患の疫学に関する研究」班（研究代表者：永井正規（埼玉医科大学公衆衛生学））との共同研究により、全国の医療・療育機関へRTT患者のアンケート調査を行った。全国の小児科を有する全病院に大学医学部付属病院とレット症候群の患者が集中すると考える施設を加えた母集団（2,918施設）から層化無作為抽出された1020施設を対象に郵送による質問紙調査を行い、過去1年間（2008年11月より2009年10月）に診療したRTT患者およびRTT疑い例の有無と患者数を質問した。現在、回収した結果から個々の患者の実態把握のための二次調査を行っている。

（倫理面への配慮）

疫学調査および臨床研究にあたって、当該研究機関の倫理問題検討委員会の承認を得て行った。

C. 研究結果

一次調査対象 1020 施設からの有効回答は 677 施設（66.4%）で、RTT の報告患者数は計 480 名であった。この数値から求められる全国の RTT の推計患者数は約 890 人（95%信頼区間：680 から 1100 人）であった。RTT 疑い例の報告数は 79 名、全国の推計例数は約 140 人（95%信頼区間：120 から 150 人）であった。つまり本邦の RTT 患者数（含 RTT 疑い例）は 1030 人程度と推定され、これは 20 歳までの女性（1120 万人（総務省統計局））の 0.008% にあたる。また、患者分布の地域差があることが分かった（資料3）。現在、個々の患者の実態把握をするために二次調査を行っている。なお、男児の報告も 4 例（うち疑い例が 3 人）あったが、これらについては二次調査による診断の確認を待つこととし、上述の集計や推計には女児のみを使用した。

また、レット症候群診断基準（案）を作成した。

D. 考察

これまで、我が国におけるレット症候群（RTT）の疫学調査は行われたことがない。今回の調査によって初めて、RTTの暫定有病率が女児の0.008%であることが明らかになった。この数値は欧米諸国（0.01～0.015%）と比べて低く、その原因について、今後二次調査あるいはその後の追跡調査による詳細な解析で明らかにする必要がある。一方、今回の調査から患者分布の地域差が大きいことが分か



った。その一因として、RTTの診断の難しさが基盤にあると考えられる。これまでのRTTの診断基準は欧米諸国を中心に作成され、その神経学的徴候の難解な表現や臨床所見の取り方の特殊性などにより、十分普及されていなかった。そこで、一般小児科医にも理解しやすい本邦独自の診断基準を新たに作成する必要がある。現在、診断基準(案)を作成し、臨床実証の準備を進めている。

さらに、本邦における本症の認知度が低く、正しく診断がなされていない可能性も否定できない。そのための啓蒙も必要である。

#### E. 結論

本研究において、本邦で初めてレット症候群の全国疫学調査が始まった。一次調査において、患者総数1030名(推定値)、暫定有病率0.008%が得られた。また、患者分布の地域差が大きいことが分かった。レット症候群の診断基準の普及と診断の標準化が必要である。臨床経過などの詳細な二次調査を通じて、診断基準の策定、診断・治療・療育のための

マニュアル作成を行う必要がある。

#### G. 研究発表

1. 論文発表  
なし

2. 学会発表  
なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

MECP2遺伝子変異の生物学的解析

研究分担者 伊藤 雅之 国立精神・神経センター神経研究所疾病研究第2部 室長  
研究協力者 工藤 伸一 北海道立衛生研究所生物科学部 部長  
齊藤 貴志 国立精神・神経センター病院小児神経科 専門修練医

研究要旨

レット症候群の原因遺伝子であるメチル化CpG結合タンパク2 (MECP2) のDNA結合領域 (MBD) の点変異と症状の重症度について、繊維芽細胞を用いて解析した。その結果、MECP2のMBD領域の点変異によるヘテロクロマチンの異常と症状の重症度の相関性を明らかにした。今後、発現解析を進め、軽症化をもたらす分子の同定を行う。これにより、新たな治療法の開発が期待できる。

A. 研究目的

レット症候群の原因遺伝子であるメチル化CpG結合タンパク2 (MECP2) は、DNA結合領域 (MBD) と転写抑制領域 (TRD) の二つの機能領域がある。このうち、MBDには点変異が多くみつき、症状との関連が議論されている。また、この領域のアミノ酸置換によりDNA結合能が著しく損なわれることが報告されている。そこで、MBDの点変異による発現分子機構を解明し、軽症化をもたらす分子の同定とそれを用いた治療法の開発を行う。

B. 研究方法

MECP2のMBDの変異遺伝子7種類についてGFPとの融合タンパク発現ベクターを作成し、マウス繊維芽細胞に導入する。導入した細胞において、(1) 遺伝子変異による変異タンパクのヘテロクロマチンへの集積性とその構造への影響を観察し、変異がもたらすRTT患者の症状の重症度との関連性を検討した。(2) 発現パターンの違いをDNAチップを用いて網羅的に調べた。

(倫理面への配慮)

本研究では、確立された培養細胞を用いた実験であり、遺伝子組換えにおいては国立精神・神経センター組換えDNA実験安全委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

MECP2のMBD領域に変異を作製し、発現ベクターを構築し、マウス繊維芽細胞に導入した。(1) これら遺伝子変異による変異タンパクのヘテロクロマチンへの集積性とその構造への影響を観察した結果、変異によるヘテロクロマチンの集積性と症状の重

度との間に関連性が存在することを見出した。(2) ゲノムDNAへの結合能、転写活性化能、転写に与える影響についてDNAチップによる発現解析およびクロマチン免疫沈降 (ChIP) 解析を進めている。

D. 考察

MBD領域の遺伝子変異がヘテロクロマチン構造の違いもたらし、影響の度合いと症状の重症度に相関があることを見出した。このことは、MBD領域の遺伝子変異がMECP2の多数の標的遺伝子の動態に影響を及ぼしていることを意味している。さらなる解析により、軽症化に特有の遺伝子発現パターンを見つけ出すことが期待できる。

E. 結論

MECP2のMBD領域の点変異によるヘテロクロマチンの異常と症状の重症度との相関を明らかにした。今後、これらの発現解析を進めて、軽症化に関わる分子の同定を行う。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Larimore JL, Chapleau CA, Kudo S, Theibert A, Percy AK, Pozzo-Miller L. Bdnf overexpression in hippocampal neurons prevents dendritic atrophy caused by Rett-associated MECP2 mutations. *Neurobiol Dis* 2009;34:199-211.
2. Chapleau CA, Calfa GD, Lane MC, Albertson AJ, Larimore JL, Kudo S, Armstrong DL, Percy A, Pozzo-Miller L. Dendritic spine pathologies

in hippocampal pyramidal neurons from Rett syndrome brain and after expression of Rett-associated MECP2 mutations. *Neurobiol Dis* 2009;35:219-233.

H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

2. 学会発表  
なし

論文の著作権は著者に帰属し、本誌に掲載された論文の複製・転載は著者の許可を得る必要があります。本誌に掲載された論文の著作権は著者に帰属し、本誌に掲載された論文の複製・転載は著者の許可を得る必要があります。

本誌に掲載された論文の著作権は著者に帰属し、本誌に掲載された論文の複製・転載は著者の許可を得る必要があります。本誌に掲載された論文の著作権は著者に帰属し、本誌に掲載された論文の複製・転載は著者の許可を得る必要があります。

レット症候群の臨床病態マーカーとしてのグレリンの検討  
および再生医療技術を利用した病態解明に関する研究

研究分担者 伊藤 雅之 国立精神・神経センター神経研究所疾病研究第2部 室長  
研究協力者 松石豊次郎 久留米大学医学部小児科学講座 教授  
高橋 知之 久留米大学高次脳疾患研究所 准教授  
西 芳寛 久留米大学医学部生理学講座 講師

研究要旨

本研究は2つの研究から構成されている。(1) レット症候群(RTT)におけるグレリンの役割の研究では、成長発育障害、摂食障害、自律神経症状と神経内分泌ホルモングレリン(GRL)の血中濃度との関連について検討した。正常対照と比較して、RTTの血中GRL値は有意に低値であり、摂食障害の高度な症例、消化管運動を中心とした自律神経障害の高度な症例で血中濃度がより低値であった。血中GRL濃度は、RTTの病態を反映する有力なマーカーの可能性はある。(2) MeCP2を欠失したRTTモデルES細胞の樹立を行ない、神経細胞の成熟・機能発現に及ぼす影響を調べた。MeCP2はES細胞の未分化能維持や神経細胞の初期発生に必須ではないが、神経細胞の成熟・機能発現過程で重要な役割を担う可能性が示唆された。

A. 研究目的

(1) グレリン研究：レット症候群(RTT)は発達障害、自律神経障害、自閉傾向などをきたす小児神経変性疾患であり、グレリン(GRL)は成長・発達、摂食調節、自律神経調節などの生理作用を有するホルモンで、グレリン作用の多くはRTTの臨床症状と関連している。RTT患者の血中GRL濃度を正常対照群と比較し、RTTの臨床症状と血中GRL濃度との関連について調べる。

(2) MeCP2欠損ES細胞(RTT-ES細胞)の樹立と未分化過程の解析：RTTの責任遺伝子として、MeCP2遺伝子が同定されている。RTT-ES細胞を用いてRTTの発症機序を解明する。

B. 研究方法

(1) 本学小児科通院の43家系のRTT患者を中心に28症例の早朝空腹時血液を用いて、血中GRL濃度を3系統(N-RIA、C-RIA、D-RIA)で測定した。正常対照は同年齢の95症例で、同様に血中GRL濃度を測定し、両群間で比較した。さらに、RTT患者における身体所見(身長、体重、肥満度)、臨床症状(摂食障害、消化管運動障害、概日リズム・睡眠障害ほか)と血中GRL濃度との関連性を検討した。

(2) MeCP2を欠失したES細胞(RTT-ES細胞)を樹立した。対照には、LacZ遺伝子発現のES細胞を作製して用いた。RTT-ES細胞のLIF存在下の細胞形態、

増殖能、未分化分子の発現を解析し、未分化維持能を評価した。さらに、共培養SDIA法を用いて、RTT-ES細胞の神経分化能とドーパミン産生細胞への分化能、ドーパミン産生・分泌能を評価し、電気生理学的解析を行なった。

(倫理面への配慮)

本研究は、久留米大学の遺伝子組換え実験安全委員会と同動物実験センターの承認を受け、学内外の種々の指針や法令を遵守し、実施している。

C. 研究結果

(1) RTT症例の血中GRL濃度は、全GRL  $117.0 \pm 13.1$  fmol/ml ( $p < 0.01$ 、対照:  $210.1 \pm 12.5$ )、活性型GRL  $17.7 \pm 1.6$  fmol/ml ( $p < 0.01$ 、対照:  $27.7 \pm 1.7$ )、D-GRL  $38.5 \pm 4.6$  fmol/ml ( $p < 0.01$ 、GRL  $64.8 \pm 3.0$ )であり、全ての測定系でRTT患者は対照群と比較して有意に低値であった。さらに、摂食障害や便秘など消化管運動障害のRTT症例( $p < 0.05$ )は、同症状のない症例と比較して血中GRL濃度が有意に低下していた。

(2) 樹立したRTT-ES細胞は、対照ES細胞と同様にOct3/4やSTAT3を発現し、倍加時間に有為差はなかった。ES細胞の未分化維持や増殖能にMeCP2は必須でないことが分かった。また、RTT-ES細胞の神経分化誘導では、共培養後4日目にNestinとTuJ1陽性細胞がみられ、8日目に定常状態に達し、TH陽性細胞