

総合研究報告書 2

ミトコンドリア病、レット症候群に関する調査研究

【レット症候群】

研究分担者 伊藤雅之 国立精神・神経医療研究センター 研究員

研究要旨

本研究では、レット症候群（RTT）の臨床調査研究と診療支援を行なった。また、RTT の患者データベースの 5 年毎の追跡調査を行ない、自然暦調査を行った。

RTT の睡眠障害は日常生活に支障をきたすだけでなく、家族や介護者の生活の質にも影響する。そこで、睡眠障害の状況調査を行なった。その結果、睡眠障害は約 65%にみられた。このうち、80%以上で 1 日の睡眠時間は 8 時間以上保たれていたが、夜間の睡眠は短い傾向にあった。夜間覚醒、夜驚、不規則な睡眠が多くを占めていた。これに対して、薬剤の効果は限定的であった。また、RTT の主症状として、てんかん、便秘、心電図異常についてまとめた。

遺伝子検査では、*MECP2* 変異 15 例、*CDKL5* 変異 1 例、*FOXG1* 変異 1 例であり、これらの患者はデータベースへ登録された。患者データベースに登録されている *MECP2* 変異を有する患者の協力を得て、MRI 検査によって脳内の構造的・機能的ネットワークについての検討を行い、本症に特徴的な 2 つのネットワーク異常を同定した。

臨床診断には必須ではないが、遺伝学的検査は極めて有用である。RTT の遺伝学的検査適用を視野に入れ、類縁疾患の遺伝学的検査について検討した。遺伝学的検査の保険適用、次世代シーケンス解析でのバリエーション解釈、マイクロアレイ染色体検査の活用が、これらの疾患群で重要であることが明らかにした。

引き続き、公開シンポジウム等を開催し、患者及び患者家族だけでなく一般社会に向けて情報発信する。

A. 研究目的

本研究では、レット症候群（RTT）患者データベースの運用、および臨床研究を行なった。

RTT の追跡調査を行い、その結果から自然暦、臨床実態を明らかにし、診断基準を検証した。

睡眠の実態についてアンケート調査を行った。また、診断基準に挙がる症状以外に、医学的な管理・観察の必要な症状は複数あり、それらの特徴の中から、てんかん、便秘、心電図異常について、臨床的特徴について後方視的にまとめた。

RTT の遺伝子診断を行なった。さらに、遺伝学的検査の位置づけを検討した。また、遺伝学的検査として、エクソーム解析の実用化とマイクロアレイ染色体検査の有用性について検討した。

RTT の病態理解を深めるために脳内ネットワーク異常について検討した。

関連学会発表および公開シンポジウム開催し、RTT の普及と啓発を行った。

B. 研究方法

①RTTの臨床研究:RTT患者データベース登録されている30名の登録患者の追跡調査を行った。同一患者での

症状の変化を経年的に解析し、自然暦を調べた。日本小児科学会、日本小児神経学会、重症心身障害学会の協力の協力で、患者の有無と診療状況について調査を行い、レットの臨床評価、重症度分類を検討した。カルテより後方視的に、レット症候群患者の症状について検討した。

②RTT の患者データベースの運用:本年度も患者家族会の協力を得て、新規患者登録を行った。遺伝子診断は、当該施設の倫理委員会の承認を得て、患者あるいは保護者への十分な説明と同意を得て行った。

③睡眠実態調査:レット症候群支援機構が運営するインターネット情報サイト「レッコミ」を通じて、アンケート調査を行った。

④特徴的な症状の調査:便秘と心電図異常について、後方視的にカルテ等の情報を抽出して調査した。

⑤遺伝子検査:遺伝子診断用の DNA は、末梢血白血球より抽出した。レット症候群の遺伝子診断は、*MECP2*、*CDKL5*、*FOXG1* 遺伝子について、サンガー法あるいは MLPA 法にて行った。

⑥変異スクリーニング体制とマイクロアレイ染色体検査の検証:次世代シーケンサーを用いた変異スクリーニング体制を確立した。分析は、メンデル遺伝病

疾患パネル解析 TruSight One Sequence Panel (Illumina) を用いて卓上型次世代シーケンサー MiSeq (Illumina) で解析を進めた。マイクロアレイ染色体検査は Agilent 社製マイクロアレイシステムを用いた。さらに、FISH 解析を加えた。検出された copy number variations (CNV) の意義を検討した。

⑦脳内機能解剖学的ネットワーク解析: 9 例の RTT 患者について、定量的 MRI 画像、拡散テンソル画像、安静時機能的 MRI 画像検査を行い、臨床症状の重症度 (clinical severity score) との関連について検討した。

(倫理面への配慮)

すべての本研究および調査は、当該施設の倫理問題等検討委員会等の承認のもと行った。

C. 結果

①RTT の臨床研究: 疫学調査とその解析: RTT 患者データベースに登録されている 186 例の登録者のうち 5 年を経過した登録患者について、現況調査として再度登録用紙の提供を依頼し、回収、解析を行なった。

②RTT の患者データベースの運用: 研究期間中に 35 名の登録を更新した。臨床遺伝学的解析では、レット症候群の臨床診断を受けた患者について遺伝子診断を行った。

③睡眠実態調査: MECP2 遺伝子異常を有するレット症候群患者 120 名から回答を得た。睡眠障害は約 65% にみられた。このうち、80%以上で 1 日の睡眠時間は 8 時間以上保たれていたが、夜間の睡眠は短い傾向にあった。夜間覚醒、夜驚、不規則な睡眠が多くを占めていた。これに対して、薬剤の効果は限定的であった。

④特徴的な症状の調査: 便秘情報がある患者 18 名中、便秘を有する患者が 13 名 (72%) であった。

心電図情報のある患者は 14 名であった。概ね 1-2 年ごとに調べられていた。QTc の値は、361-435 msec (平均値 400 msec、中央値 398 msec) で、QT 延長と判定される 460 msec 以上の患者はいなかった。

⑤遺伝子検査: MECP2 変異 15 例、CDKL5 変異 1 例、FOXG1 変異 1 例を同定し、患者データベースへの登録を進めた。

⑥変異スクリーニング体制とマイクロアレイ染色体検査の検証: 遺伝学的検査では、102 例をスクリーニングし、1 例に MECP2 遺伝子既報告変異例の診断ができた。CDKL5 遺伝子異常症は 1 例の診断が可能であった。

⑦脳内機能解剖学的ネットワーク解析: MRI を用いた機能的ネットワーク解析では、2 つの脳内ネットワーク (左右半球間の背側注意ネットワーク、視覚ネットワークと小脳ネットワーク) の機能的結合性低下を見出した。

D. 考察

RTT の臨床研究では、RTT の自然歴調査は、治験を行う上で重要な資料となる。

遺伝子診断システムを確立し、原因遺伝子の発見に貢献した。診療支援体制が確立してきた。しかし、遺伝子診断は高額で高度な技術を要することから、継続的な診断には経済的な支援が必要である。

RTT の睡眠障害は、50~80% と報告されている。今回の調査でも概ね既報告に一致していた。1 日の睡眠時間は確保されているものの、夜間の睡眠にさまざまな問題があることが明らかになった。夜間の睡眠障害は、患者本人だけでなく、介護者、家族の負担が大きく、今後の課題である。

RTT 患者の便秘の有症率は 70-80% と言われている。便秘に対して、緩下剤、経口薬で無効な場合に座薬や浣腸が推奨されている。QT 延長症候群に該当する患者はいなかったが、QT 間隔が延長する傾向にあった。

今後、遺伝学的検査として導入する際には、施設設備、人材、報告書のありかた、バリエーション解釈の手順書、なども必要かもしれない。

また、今回の脳 MRI 研究により本症に特徴的な構造的・機能的ネットワーク異常が同定された

E. 結論

RTT の臨床研究では、RTT 患者データベース登録の継続と追跡調査を行なった。遺伝子診断体制を確立した。しかし、高額で高度な技術であり、継続的な診断には経済的な支援が必要である。

また、レット症候群の夜間の睡眠障害は、その内容が特殊であり、今後解決していかねばならない課題である。

便秘は、発症率は 70% 程度であった。多くは酸化マグネシウムや浣腸によりコントロールされていた。QT 延長症候群は認められた患者はいなかった。

今後、レット症候群の保険適用が課題と考えられた。また、実際の網羅的解析がレット症候群および類縁疾患の診断に有用であることを確認した。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Hoshi M, Ishiyama M, Wada T, Hase K, Itoh M, Kikuri T, Shirakawa T. Alteration of monoaminergic systems in the caudal medulla and its possible link to diurnal increase of apnea in a mouse model of Rett syndrome. J Oral Sci 2023; 65 (2): 96-101. doi.org/10.2334/josnusd.22-0474.

2. Dai H, Kitami Y, Goto Y, Itoh M. 5-HT_{1A} Receptor Agonist Treatment Partially Ameliorates Rett Syndrome Phenotypes in mecp2-Null Mice by Rescuing Impairment of Neuron Transmission and the CREB/BDNF Signaling Pathway. Int J Mol Sci 2022; 23:

14025. doi.org/10.3390/ijms232214025.
3. Saikusa T, Kawaguchi M, Tanioka T, Nabatame S, Takahashi S, Yuge K, Nagamitsu S, Takahashi T, Yamashita Y, Kobayashi Y, Hirayama C, Kakuma T, Matsuishi T, Itoh M. Meaningful word acquisition is associated with walking ability over 10 years in Rett syndrome. *Brain Dev* 2020; 42: 705-712.
 4. Takeguchi R, Takahashi S, Kuroda M, Tanaka R, Suzuki N, Tomonoh Y, Ihara Y, Sugiyama N, Itoh M. MeCP2_e2 partially compensates for lack of MeCP2_e1: a male case of Rett syndrome. *Mol Genet Genomic Med* 2020;8(2):e1088.
 5. Takeguchi R, Takahashi S, Akaba Y, Tanaka R, Nabatame S, Kurosawa K, Matsuishi T, Itoh M. Early diagnosis of MECP2 duplication syndrome: insights from a nationwide survey in Japan. *J Neurol Sci* 2021; 422: 117321.
 6. 伊藤雅之. Rett 症候群. 小児疾患診療のための病態生理 3. 小児内科, 「小児内科」「小児外科」共同編集委員会. 東京, 東京医学社, 385-390pp., 2022 年 12 月.
 7. 伊藤雅之. MECP2 Rett 症候群. 小児遺伝子疾患辞典. 小児科診療特集. vol. 84 (11), 診断と治療社. 東京. 1484-1486pp, 2021.
 8. 伊藤雅之. Rett 症候群. 遺伝子医学 37 巻. メディカルドゥ. 112-119pp, 東京. 2021 年 7 月.
 9. Inoue Y, Hamano S, Hayashi M, Matsuishi T, --- Kuki I. Burden of seizures and comorbidities in patients with epilepsy: a survey based on the tertiary hospital-based epilepsy syndrome Registry in Japan *Epileptic Disord* 24:82-94, 2021.
 10. Yoshida S, Amamoto M, Takahashi T---Matsuishi T. Perampanel markedly improved clinical seizures in a patient with a Rett-like phenotype and 960-kb deletion on chromosome 9q34.11 including the *STXBPI* *Clin Case Rep* 10, e05811. doi.org/10.1002/ccr3.58112022
 11. Nishimura N, Murakami H, Hayashi T, Sato H, Kurosawa K. Multiple craniosynostosis and facial dysmorphisms with homozygous IL11RA variant caused by maternal uniparental isodisomy of chromosome 9. *Congenit Anom (Kyoto)*. 2020;60:153-155.
 12. 黒澤健司 熊木達郎 遺伝情報を小児科診療に役立てよう 小児内科 2020;5(8): 1004-1009
 13. 黒澤健司 保険収載されている遺伝学的検査 小児内科 2022;54(2):319-324.
 14. Murakami, H., Uehara, T., Enomoto, Y., Nishimura, N., Kumaki, T., Kuroda, Y., Asano, M., Aida, N., Kosaki, K., & Kurosawa, K. Persistent Hyperplastic Primary Vitreous with Microphthalmia and Coloboma in a Patient with Okur-Chung Neurodevelopmental Syndrome. *Mol Syndromol* 2022;13(1), 75-79.
 15. Nishimura N, Enomoto Y, Kumaki T, Murakami H, Ikeda A, Goto T, Kurosawa K. Delineation of a Phenotype Caused by a KAT6B Missense Variant Not Resembling Say-Barber-Biesecker-Young-Simpson and Genitopatellar Syndromes. *Mol Syndromol*. 2022 May;13(3):221-225.
 16. 黒澤健司 顔貌の異常—顔貌でわかる主な症候群 周産期医学 2022;52:1334-1337.
 17. Shono K, Enomoto Y, Tsurusaki Y, Kumaki T, Masuno M, Kurosawa K. Further delineation of SET-related intellectual disability syndrome. *Am J Med Genet A*. 2022 May;188(5):1595-1599.
 18. 黒澤健司 アレイ CGH モダンメディア 2022;68:470-473.
 19. Nishimura Y, Kurosawa K. Analysis of Gene-Environment Interactions Related to Developmental Disorders. *Front Pharmacol*. 2022;13:863664.
 20. Natsume J, Ishihara N, Azuma Y, Nakata T, Takeuchi T, Tanaka M, Sakaguchi Y, Okai Y, Ito Y, Yamamoto H, Ohno A, Kidokoro H, Hattori A, Nabatame S, Kato K. Lenticular nuclei to thalamic ratio on PET is useful for diagnosis of GLUT1 deficiency syndrome. *Brain Dev* 2021;43(1):69-77.
 21. Kagitani-Shimono K, Kato H, Kuwayama R, Tominaga K, Nabatame S, et al. Clinical evaluation of neuroinflammation in child-onset focal epilepsy: a translocator protein PET study. *J Neuroinflammation* 2021;18(1):8.
 22. Tanigawa J, Nabatame S, Tominaga K, et al. High-dose pyridoxine treatment for inherited glycosylphosphatidylinositol deficiency. *Brain Dev* 43(6):680-7, 2021.
 23. Kimizu T, Ida S, Okamoto K, Awano H, Niba ETE, Wijaya YOS, Okazaki S, Shimomura H, Lee T, Tominaga K, Nabatame S, et al. Spinal Muscular Atrophy: Diagnosis, Incidence, and Newborn Screening in Japan. *Int J Neonatal Screen* 3(45):45, 2021.
 24. Itai T, --- Nabatame S, et al.. Prenatal clinical manifestations in individuals with COL4A1/2 variants. *J Med Genet* 2021;58(8):505-13,
 25. Yoshitomi S, --- Matsuishi T, Matsuo T, Nabatame S, et al. Current medico-psychosocial conditions of patients with West

- syndrome in Japan. *Epileptic Disord* 23(4):579-89, 2021.
26. Kubota T, Nabatame S, Sato R, Hama M, Nishiike U, Mochizuki H, Takahashi MP, Takeshima T. Hemiplegic migraine type 2 caused by a novel variant within the P-type ATPase motif in ATP1A2 concomitant with a CACNA1A variant. *Brain Dev* 43(9):952-7, 2021.
 27. Nabatame S The anatomical and functional rationale for conducting dysphagia rehabilitation. *Pediatr Int* 24(1):e15091, 2022.
 28. Inoue Y, ---, Matsuishi T, Matsuo T, Nabatame S, et al. Burden of seizures and comorbidities in patients with epilepsy: a survey based on the tertiary hospital-based Epilepsy Syndrome Registry in Japan. *Epileptic Disord* 24(1):82-94, 2022.
 29. Kuwayama R, ---, Nabatame S, et al. Establishment of mouse model of inherited PIGO deficiency and therapeutic potential of AAV-based gene therapy. *Nat Commun* 13(1):3107, 2022.
 30. Suzuki T, Ito Y, Ito T, Kidokoro H, Noritake K, Hattori A, Nabatame S, Natsume J. Quantitative Three-Dimensional Gait Evaluation in Patients With Glucose Transporter 1 Deficiency Syndrome. *Pediatr Neurol* 132:23-26, 2022.
 31. Kishimoto K, Nabatame S, Kagitani-Shimono K, Kato M, Tohyama J, Nakashima M, Matsumoto N, Ozono K. Ketogenic diet for focal epilepsy with SPTAN1 encephalopathy. *Epileptic Disord* 24(4):726-8, 2022.
 32. Saffari A, ---, Nabatame S, et al. The clinical and molecular spectrum of ZFYVE26-associated hereditary spastic paraplegia: SPG15. *Brain* in press.
 33. Kagitani-Shimono K, Kato H, Soeda F, Iwatani Y, Mukai M, Ogawa K, Tominaga K, Nabatame S, Taniike M. Extension of microglial activation is associated with epilepsy and cognitive dysfunction in Tuberous sclerosis complex: A TSPO-PET study. *Neuroimage Clin* :103288, 2022.
 34. Ogawa K, Tanigawa J, Mukai M, Tominaga K, Kagitani-Shimono K, Nabatame S, Ozono K. Epilepsy with myoclonic absence presenting with unilateral jerks: A case of 2q13 microdeletion syndrome. *Seizure* 106:77-9, 2023.
 35. Nabatame S, et al. Association between cerebrospinal fluid parameters and developmental and neurological status in glucose transporter 1 deficiency syndrome *J Neurol Sci* 447:120597, 2023
2. 学会発表
1. 伊藤雅之. レット症候群 Overview -これまでとこれから- シンポジウム7 患者会と進める日本レット症候群研究・治療の現状. 第63回日本小児神経学会学術集会. 2021年5月27日福岡.
 2. 弓削康太郎、高橋知之、河原幸江、坂井勇介、佐藤貴弘、児島将康、西昭徳、松石豊次郎、山下裕史朗。レット症候群モデルマウスにおける睡眠・覚醒病態とオレキシンシグナル伝達の異常。第49回日本脳科学学会、2022年12月3日、4日、久留米
 3. 黒澤健司 先天異常の診かたと考え方 第29回日本形成外科学会基礎学術集会 2020.10.8-9. 横浜
 4. 上原健史、関衛順、榎本友美、黒澤健司 メンデル遺伝病シーケンスパネル解析により診断された TRRAP 遺伝子変異の2例. 第368回日本小児科学会神奈川県地方会 2022.2.12 横浜 ウェブ
 5. 村上博昭、榎本友美、熊木達郎、黒澤健司 De novo の 3q 腕内逆位を有し、Gomez-Lopez-Hernandez 症候群を疑った男児におけるナノポア長鎖シーケンサーによる切断点解析 日本人類遺伝学会第67回大会 2022.12.14-17 横浜
 6. 成戸卓也、関衛順、黒田友紀子、齋藤洋子、榎本友美、黒澤健司 KMT2D 遺伝子内のエクソン欠失による歌舞伎症候群の一例 日本人類遺伝学会第67回大会 2022.12.14-17 横浜
 7. 竹口諒、黒田真実、田中亮介、鈴木菜生、高橋悟: Rett症候群の構造的・機能的MRI画像解析, 第64回日本小児神経学会学術集会, 2022年6月4日 (高崎市、Web)
 8. Nabatame S, Shima M, Nakai R, Kuwayama R, Tanigawa J, Tominaga K, Kagitani-Shimono K, Ozono K. The effect of additional antiepileptic drugs for epilepsy in glucose transporter 1 deficiency syndrome. The 6th Congress of the European Academy of Neurology : 20.04.30, パリ
 9. 第123回 日本小児科学会学術集会 : 20.4.10-12, Web開催 早期にケトン食療法を導入したグルコーストランスポーター1 (GLUT1) 欠損症の1例 浜野彰太, 青天目 信, 大藪恵一 日本小児科学会雑誌 124: 401, 2020
 10. 第40回 日本骨形態計測学会 : 20.6.18-20, Web開催 グルコーストランスポーター1型異常症の顎顔面口腔領域の形態的特徴について 黒坂 寛, 伊藤慎将, 村田有香, 森田千里, 下野九理子, 青天目 信, 大藪恵一, 山城 隆

11. 第62回 日本小児神経学会学術集会 : 20.08.18-20, Web開催 先天性十二指腸閉鎖を伴い, 知的障害が軽度であった先天性GPI欠損症の1女兒例 白井謙太郎, 渡辺章充, 今村公俊, 堀 哲夫, 青天目 信, 桑山良子, 村上良子
 12. KCNA遺伝子変異を認めたepisodic ataxia type1の1家族例 島 盛雅, 青天目 信, 中井理恵, 桑山良子, 谷河純平, 岩谷祥子, 富永康仁, 下野九理子, 久保田智哉, 高橋正紀, 大藪恵一 脳と発達 52: S222, 2020
 13. 第68回 日本小児神経学会近畿地方会 : 20.10.17, 大阪 焦点発作の群発およびstroke-like episodeで発症した、不完全型Sturge-Weber症候群の一例 小川勝洋, 島 盛雅, 中井理恵, 桑山良子, 谷河純平, 岩谷祥子, 富永康仁, 下野九理子, 青天目 信, 大藪恵一
 14. 第16回 日本てんかん学会近畿地方会 : 21.01.17 比較的広範囲の白質石灰化を伴った限局性皮質異形成Type IIbの一例 小川勝洋, 島 盛雅, 佐藤和明, 谷河純平, 岩谷祥子, 富永康仁, 下野九理子, 青天目 信, 押野 悟, 村山繁雄, 貴島晴彦, 大藪恵一
 15. 青天目信. 患者会と進める日本レット症候群研究・治療の現状 レット症候群の臨床的研究 ガイドブック作成から見えてきたこと. 第63回 日本小児神経学会学術集会 : 21.5.27-29, 脳と発達 2021;53:S102
 16. 谷河純平, 青天目信, 富永康仁, 西村洋子, 前垣義弘, 木下タロウ, 村上良子, 大藪恵一. 先天性glycosylphosphatidylinositol (GPI) 欠損症に対するピリドキシン大量療法. 第63回 日本小児神経学会学術集会 : 21.5.27-29 脳と発達 2021;53:S297
 17. 向井昌史, 青天目 信, 小川勝洋, 谷河純平, 富永康仁, 下野久理子, 押野 悟, 貴島晴彦, 大藪恵一. 脱力発作に対して迷走神経刺激療法が著効したLennox-Gastaut症候群の1例. 第230回 大阪小児科学会. 21.06.26
 18. 小川勝洋, 向井昌史, 谷河純平, 岩谷祥子, 富永康仁, 下野久理子, 青天目 信, 大藪恵一. 新生児期からエベロリムスを導入した結節性硬化症のてんかん患者の一例. 第17回 日本てんかん学会近畿地方会 : 21.07.18
 19. 鈴木健史, 伊藤祐史, 伊藤 忠, 城所博之, 則竹耕治, 隈井すみれ, 鈴木良輔, 澤村 文, 白木杏奈, 川口将宏, 牧祐輝, 山本啓之, 中田智彦, 青天目信, 夏目 淳. グルコーストランスポーター1欠損症の歩行異常 三次元歩行解析を用いた検討. 第54回 日本てんかん学会学術集会 : 21.09.23-25
 20. Shin Nabatame. Glucose Transporter 1 Deficiency : Past Experience, Current Status, and Future Challenges. The 22nd Annual Meeting of The Infantile Seizure Society : 21.10.22-24
 21. 青天目信. 難治てんかんに対するケトン食療法. 第4回中性脂肪学会 : 21.12.04
 22. 橋本有観, 渡辺陽和, 青天目信, 繁縄翔太, 菅野直記, 馬場達也, 三好宏昌, 川西邦洋, 濱田悠介, 吉川真紀子, 徳永康行, 茶山公祐. 当院で診断されたGLUT1欠損症の3例. 第126回日本小児科学会. 22.4.16
 23. 増田 奈保子, 青天目 信, 平野 翔堂, 北井 征宏, 荒井 洋, 武内 俊樹, 上原 朋子, 鈴木 寿人, 小崎 健次郎, 岡本 伸彦, 大藪 恵一. 知的障害・低緊張と常同運動を認めたGNB1遺伝子病的バリエーションを認めた1例. 第126回日本小児科学会 22.4.17
 24. Shin Nabatame, Masashi Mukai, Katsuhiko Ogawa, Junpei Tanigawa, Koji Tominaga, Kuriko Shimono-Kagitani, Toshiyuki Mano, Keiichi Ozono. Ketogenic diet introduction and modification in an adult patient with Glut1 deficiency syndrome. 第64回日本小児神経学会学術集会 22.6.2
 25. 青天目信. 『てんかん診療を多職種で考える』当施設のてんかん診療における食事療法の取り組み. 第10回全国てんかんセンター協議会 23.02.10
 26. 青天目信. GLUT-1欠損症治療におけるケトン食の実際. 第1回日本ケトン食療法学会 23.03.12
- G. 知的財産権の出願・登録状況
なし。