



2015年5月27日

報道関係者各位

慶應義塾大学医学部

## レット症候群 iPS 細胞を樹立し、神経発生異常を特定

- 自閉症の病態解明、新薬開発に期待 -

慶應義塾大学医学部生理学教室(岡野栄之教授) 山梨大学大学院総合研究部環境遺伝医学講座(久保田健夫教授)と順天堂大学大学院医学研究科ゲノム・再生医療センター(赤松和土特任教授)の共同研究グループ(注1)は、小児神経発達障害であるレット症候群(注2)患者より iPS 細胞を樹立し、神経発生過程における異常を明らかにしました。

レット症候群は女兒のおよそ15000人に1人の確率で発症する小児神経発達障害で、自閉症をはじめ、てんかんや失調性歩行などの様々な神経症状を示す疾患です。患者の多く(約90%)は、性染色体であるX染色体上に存在する *MECP2* 遺伝子に変異を有し、現在のところ根本的治療法がありません。本研究グループは、同一遺伝子変異を持つ2名のレット症候群患者より提供を受けた皮膚細胞を用いて、正常あるいは変異した *MECP2* 遺伝子を発現する2種類の iPS 細胞(注3)を作製し、これらの iPS 細胞から神経細胞やグリア細胞のもととなる神経幹細胞を作製、分化を誘導したところ、変異 *MECP2* 遺伝子を発現する細胞群において、脳を構成するグリア細胞の一種であるアストロサイト(注4)が正常な細胞群と比較して多く作られることが明らかになりました。これまで、レット症候群は神経細胞の異常により自閉症などの神経症状を示すと考えられてきましたが、今回グリア細胞の一種であるアストロサイトに異変が起こることが明らかになったことで、今後はアストロサイトにも注目したレット症候群および自閉症の研究が展開されることが期待されます。

本研究成果は、2015年5月27日(英国時間)に医学雑誌「Molecular Brain」オンライン版で公開されます。

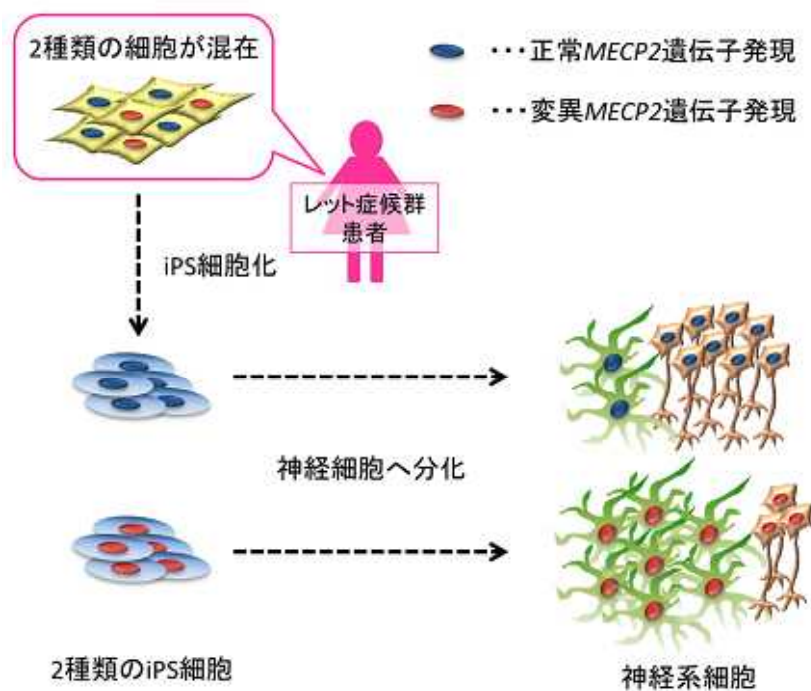
### 1. 研究の背景

レット症候群は進行性の小児神経発達障害として知られています。6か月～18か月は通常の発達経過をたどるものの、徐々にそれまでに獲得していた能力(言語、運動)を失うとともに特徴的な手もみ運動やてんかん、自閉症といった症状が現れます。この疾患の患者の約90%以上がX染色体上にある *MECP2* 遺伝子に変異を有しています。女性の細胞にはX染色体が2本存在しますが、片方のX染色体に *MECP2* 遺伝子変異が生じることで発症します。X染色体はランダムなX染色体不活性化(注5)を受けるため、患者の体内には正常な *MECP2* 遺伝子を発現する細胞と変異 *MECP2* 遺伝子を発現する細胞の2種類が存在しています。X染色体が1本しか存在しない男性の場合は、胎生致死になることが大多数となってしまう疾患です。またレット症候群は、自閉症状を示す病気の中では原因遺伝子が見つかった数少ない病気の一つです。現在は根本的治療法がないのが現状ですが、レット症候群の研究が進めば自閉症全体の治療法の解明にもつながることが期待されています。遺伝子異常によってレット症候群を引き起こす *MECP2* 遺伝子は全身のあらゆるところで役割を果たしていますが、特に神経細胞に強く発現していることが知られており、レット症候群は神経に異常が起こる疾患として考えられています。

これまでに *Mecp2* 遺伝子 (ヒトでいう *MECP2* 遺伝子) に変異を加えたマウスを用いてレット症候群の解析が行われていますが、実際の患者の症状を完全には再現できませんでした。患者の生きた脳から神経系の細胞を手に入れることは不可能でしたが、2006年に京都大学の山中伸弥教授らが開発した iPS 細胞の技術は、患者の皮膚細胞から、これまで手に入れることが困難であった神経系の細胞を作製することを可能にしました。正常の脳の発生過程においては、胎生期において神経幹細胞という細胞からまずニューロンが生まれ、引き続きアストロサイトを含むグリア細胞が産み出され、脳の複雑な構造と機能の基本構築が形成されます。本研究では、神経幹細胞における *MECP2* 遺伝子の役割に着目し、レット症候群における神経系の発生過程の異常を検索するために、患者由来の神経幹細胞を iPS 細胞から作製し解析を行いました。

## 2. 研究の概要と成果

### 参考図 本研究成果の要約



**変異MECP2遺伝子発現iPS細胞から誘導した神経系細胞からはGFAP陽性細胞が正常MECP2遺伝子発現細胞群と比べて多く作られた**

本研究グループは、*MECP2* 遺伝子に同一遺伝子変異を持つ 2 名の患者 (以下、RS1 および RS2 といたします) に皮膚細胞を提供してもらい、iPS 細胞の樹立を行いました。前述のように女性の細胞は 2 本の X 染色体を有し、ランダムな X 染色体の不活性化を受けることでそのどちらか片方の X 染色体は遺伝子発現が抑制されます。そのため患者の皮膚細胞は正常 *MECP2* 遺伝子発現細胞と変異 *MECP2* 遺伝子発現細胞の 2 種類の細胞が混在しています。種類の異なる皮膚細胞が混在している状態から iPS 細胞を作成したところ、RS1 と RS2 のどちらからも、正常 *MECP2* 遺伝子が発現している iPS 細胞と、変異 *MECP2* 遺伝子が発現している iPS 細胞の 2 種類の iPS 細胞が樹立されました。この 2 種類の細胞は、*MECP2* 遺伝子

を除き、その他のゲノム配列 (注 6) は同一とみることができ、純粋な *MECP2* 遺伝子の機能を見るには最適な細胞株と言えます。

作成した 2 種類の iPS 細胞から誘導した神経幹細胞と神経細胞を比較したところ、変異 *MECP2* 遺伝子を持つ細胞群では、グリア細胞の一種であるアストロサイトを識別するマーカーの一種である GFAP (Glial fibrillary acidic protein: グリア細胞線維性酸性タンパク質) の陽性細胞数が正常 *MECP2* 遺伝子を持つ細胞群と比較して多く存在することが明らかとなりました (参考図)。

以上の結果より、レット症候群の患者の神経発生において、グリア細胞であるアストロサイトの発生に異常をきたしていることが明らかとなり、今後はアストロサイトにも注目した研究の発展が期待されます。

### 3. 研究の意義・今後の展開

今回明らかとなったレット症候群の患者由来の細胞におけるグリア細胞の発生異常が、自閉症状を始めとするレット症候群で見られる様々な臨床所見とどのように結びついているのかはこの研究だけでは分からないため、引き続き研究を続けてこの点を明らかにする必要があります。また、レット症候群は遺伝子変異により引き起こされる疾患であるため、現段階では根本的治療は望めません。本研究のように、患者由来の iPS 細胞を用いた研究成果は、新たに治療すべきターゲットの一つを明らかにしたと言えます。今後はこの iPS 細胞の技術を活かし、疾患の病態解明や創薬研究が推し進められることで患者の生活の質の向上につながると期待されています。

### 4. 特記事項

本研究は、国立研究開発法人科学技術振興機構( JST ) 新エネルギー・産業技術総合開発機構( NEDO ) 厚生労働省・厚生労働科学研究費補助金、文部科学省 科学技術試験研究委託事業再生医療の実現化プロジェクト「再生医療の実現化を目指したヒト iPS 細胞・ES 細胞・体性幹細胞研究拠点」などの助成によって行われました。

### 5. 論文について

タイトル(和訳):“ Differentiation of multipotent neural stem cells derived from Rett syndrome patients is biased toward the astrocytic lineage ”

(レット症候群患者由来の神経幹細胞を分化させるとアストロサイト系の細胞へ分化が偏る)

著者名:野田(安藤)友子、赤松和土、三宅邦夫、松本拓也、山口亮、佐野坂司、岡田洋平、

小林哲郎、大山学、中島欽一、黒澤尋、久保田健夫、岡野栄之

掲載誌:「Molecular Brain」オンライン版

#### 【用語解説】

##### (注1) 研究グループについて

本研究は、岡野栄之教授の指導の下、久保田健夫教授(山梨大学大学院総合研究部環境遺伝医学講座)の協力を受けて、赤松和土特任教授(順天堂大学大学院医学研究科ゲノム・再生医療センター)が中心となって行われました。

##### (注2) レット症候群(Rett syndrome)

1966年 Andreas Rett(ウィーンの小児神経科医)により初めて報告された小児神経発達障害です。女兒の15000人に1人程度の割合で発症し、日本にも5000人以上の患者がいると予測されており、大規模なデータベース化が現在進められています。レット症候群の患者の多く(約90%)はX性染色体上に存在するMECP2遺伝子に変異を持っており、遺伝子診断を受けてレット症候群を確定させます。遺伝子変異による疾患であるためいずれもが対症療法であり、病気そのものに対する根本治療はありません。

##### (注3) 人工多能性幹細胞(iPS細胞)(Induced pluripotent stem cell:iPS cell)

2006年に京都大学の山中伸弥教授らのグループによって世界で初めて作成された細胞のことで、2007年にヒトでも同様の細胞が作製されました。この細胞は、皮膚組織などの体細胞にOct4, Sox2, Klf4, c-Mycといった転写因子を導入することで作成され、体のあらゆる組織や細胞に分化可能な多能性を獲得します。この技術は、本研究のように神経細胞のようなヒトの細胞を用いた研究が困難であった分野に、新たな研究手法を生み出しました。また、拒絶反応のない移植細胞として利用することもでき、再生医療の分野では大きく注目されています。

(注4) グリア細胞とアストロサイト

脳を構成する細胞は、ニューロンのほかにグリア細胞と呼ばれる細胞群が存在します。グリア細胞はアストロサイト、オリゴデンドロサイト、ミクログリアなど多数存在します。その中でアストロサイトは、細胞外のイオン濃度調整や血流調整、神経伝達物質の調節など重要な役割を担っています。

(注5) X染色体不活性化

ヒトの女性の性染色体は、母親由来のX染色体と父親由来のX染色体の2本を有し、男性の性染色体はどちらかの親由来のX染色体とY染色体の2本を有しています。女性と男性の遺伝子発現量を調節するために、女性が2本有するX染色体のどちらか1本のX染色体の遺伝子発現を停止させる機能を持っており、これをX染色体の不活性化と呼びます。不活性化されるX染色体はランダムに決定され、母親由来のX染色体が不活性化を受けた細胞と父親由来のX染色体が不活性化を受けた細胞の割合は、多くの女性では約半数ずつとなっています。男性の場合はX染色体数が1本であるため、この不活性化は受けません。

(注6) ゲノム配列

ATGCの4つの塩基によって定義される、生物が持つ遺伝情報のことを表します。

ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

本リリースは文部科学記者会、科学記者会、厚生労働記者会、厚生日比谷クラブ、各社科学部等に送信させていただいております。

【本発表資料のお問い合わせ先】

慶應義塾大学医学部 生理学教室

岡野 栄之 教授

TEL:03-5363-3747 FAX:03-3357-5445

E-mail: hidokano@a2.keio.jp

<http://www.okano-lab.com/>

【本リリースの発信元】

慶應義塾大学信濃町キャンパス総務課:吉岡、三船

〒160-8582 東京都新宿区信濃町3-5

TEL 03-5363-3611 FAX 03-5363-3612

E-mail: med-koho@adst.keio.ac.jp

<http://www.med.keio.ac.jp/>