

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K15752

研究課題名（和文）エピジェネティック制御機能を有するメチル基転移酵素に着目した自閉症病態の解明

研究課題名（英文）Molecular pathological analysis of autism spectrum disorder caused by haploinsufficiency of a gene encoding histone methyltransferase

研究代表者

中村 匠（Nakamura, Takumi）

国立研究開発法人理化学研究所・脳神経科学研究センター・研究員

研究者番号：40881123

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、自閉スペクトラム症（ASD）のリスクであるKMT2Cのハプロ不全を再現した、Kmt2cヘテロ変異マウスの脳サンプルを用いて、トランスクリプトーム解析を主軸とした分子病態解析を行った。その結果、成体変異マウス脳における発現変動遺伝子群に既知のASD遺伝リスクが集積していたこと、新生児マウスの脳では神経分化初期の細胞群において発現変動遺伝子が多く既知のASD遺伝リスクが集積していたこと、マウス成体へのヒストン脱メチル化酵素（LSD1）阻害剤の投与によって変異マウスにおける社会性の低下や発現変動遺伝子がレスキューされることを見いだした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、ASDおよびヒストンメチル化パスウェイの研究に寄与する新たなモデルマウスを提供するとともに、ヒストン修飾や転写異常が原因の精神神経疾患の大人の患者に対しての治療介入の可能性を示すものである。ASDは、近年のアメリカでの疫学調査によると8歳の子どもの2.8%程度がASDと診断されると報告されているなど、有病率の高い疾患であるため、その治療方法の発展は社会的な意義が大きいと考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we analyzed the molecular pathology of autism spectrum disorder (ASD) caused by haploinsufficiency of the KMT2C gene. We performed transcriptomic analyses using mouse brains derived from Kmt2c heterozygous mutant mice. Our results demonstrated that known ASD genetic risks were enriched among differentially associated genes (DEGs) in the Kmt2c mutant mice. Additionally, we found that the number of DEGs and the enrichment of ASD genetic risks were significantly higher in cells at early stages of neural differentiation. Furthermore, we showed that treatment with an LSD1 inhibitor rescued social deficits and transcriptomic dysregulation in the Kmt2c mutant mice.

研究分野：精神神経科学

キーワード：自閉スペクトラム症 KMT2C トランスクリプトーム解析 LSD1阻害剤

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

自閉スペクトラム症 (Autism spectrum disorder; ASD)は、社会性の異常や決まった手順や行動へのこだわりを特徴とする発達障害のひとつであり、発達の早期から症状が顕在化する。約 2% 程度の高い有病率を示すとされ、発症機序の多くは明らかになっておらず、根本的な治療法は確立されていない。一方、ASD を対象とした遺伝学的研究は盛んに行われており、近年最も大規模な希少変異探索研究において、72 の有力な ASD 関連遺伝子が同定された (Fu JM. *et al. Nature Genetics*, 2022)。

Lysine Methyltransferase 2c (KMT2C) 遺伝子は、上記の有力な ASD 関連遺伝子のひとつである。これまで、*Kmt2c* 遺伝子を欠損した *Kmt2c* ヘテロ変異マウスを CRISPR/Cas9 により作製したところ、脳の過成長および社会性の変化や固執行動などの ASD 特徴を示すことを発見していた。

KMT2C は、ヒストン 3 の 4 番目のリジン (H3K4) に対するメチル基転移酵素であり、広範に遺伝子発現を制御するエピジェネティック因子であるが中枢神経系における分子機能は明らかになっていない。そのため、KMT2C のヘテロ欠損が、遺伝子発現や細胞機能にどのような異常をもたらすのかは不明であった。

2. 研究の目的

本研究は、ASD 関連遺伝子 *KMT2C* のヘテロ欠損により生じる ASD 特徴の発症機序を、遺伝子改変マウスおよび iPS 細胞を用いて、ゲノム科学・神経生物学的観点から明らかにすることを目的としている。

3. 研究の方法

KMT2C は、H3K4 のメチル化を介して、脳内の遺伝子発現パターンを大きく変容させると予測されるため、*Kmt2c* 変異マウスの成体脳サンプルを用いて、bulk RNA-sequencing (RNA-seq) を行った。加えて、より詳細な知見を得るために、ASD は幼少期から症状が顕現する発達障害であることから、新生児期である生後 4 日齢の *Kmt2c* 変異マウス脳を用いた single cell RNA-seq を行った。本研究の最後には、KMT2C 変異保有患者を対象とした治療法開発に迫るべく、KMT2C の機能欠損による効果をレスキューすると予測されるヒストン脱メチル化酵素 LSD1 の阻害剤投与実験を行った。

4. 研究成果

成体前脳サンプルを用いた Bulk RNA-sequencing により、既知の ASD 遺伝リスクが、*Kmt2c* 変異マウスの発現上昇遺伝子に偶然以上の確率で集積していることや、シナプスや樹状突起の形成に関わる遺伝子群が発現上昇していることを明らかにした。

生後 4 日齢のマウス前脳サンプルを用いた single cell RNA-sequencing (scRNA-seq) では、同定した細胞種の中で、どれが特に病態に関与し得るかを明らかにするため、各細胞種での変異マウスの発現変動遺伝子に着目し、ASD 遺伝リスクとの重複度や変動遺伝子の数などの観点から各細胞種の順位付けを行った結果、放射状グリアのサブタイプが最も高スコアを示した。これは、神経分化初期の細胞群における、既知の ASD 遺伝リスクの発現変動が、ASD 分子病態に関与する可能性を示唆している。

最後に、*Kmt2c* 変異マウスに対してヒストン脱メチル化酵素 LSD1 阻害剤の投与を行った結果、*Kmt2c* 変異マウスの社会性が改善することを見い出した。また、この薬剤が、未投与マウスにおける変動遺伝子の大部分を逆方向に制御することを見い出し、LSD1 阻害剤の治療効果および作用機序を明らかとした。

本研究は、ASD および H3K4 メチル化研究に寄与する新たなモデルマウスを提供するとともに、ヒストン修飾や転写異常が原因の精神神経疾患の大人の患者に対しての治療介入の可能性を示すものである。

これらの成果は、*Molecular Psychiatry* 誌において発表されている。

Nakamura T, Yoshihara T, Tanegashima C, Kadota M, Kobayashi Y, Honda K, Ishiwata M, Ueda J, Hara T, Nakanishi M, Takumi T, Itohara S, Kuraku S, Asano M, Kasahara T, Nakajima K, Tsuboi T, Takata A†, and Kato T†.

Transcriptomic dysregulation and autistic-like behaviors in *Kmt2c* haploinsufficient mice rescued by an LSD1 inhibitor.

Molecular Psychiatry. 2024. doi: 10.1038/s41380-024-02479-8

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Nakamura Takumi, Yoshihara Toru, Tanegashima Chiharu, Kadota Mitsutaka, Kobayashi Yuki, Honda Kurara, Ishiwata Mizuho, Ueda Junko, Hara Tomonori, Nakanishi Moe, Takumi Toru, Itohara Shigeyoshi, Kuraku Shigehiro, Asano Masahide, Kasahara Takaoki, Nakajima Kazuo, Tsuboi Takashi, Takata Atsushi, Kato Tadafumi	4. 巻 in press
2. 論文標題 Transcriptomic dysregulation and autistic-like behaviors in Kmt2c haploinsufficient mice rescued by an LSD1 inhibitor	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Molecular Psychiatry	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41380-024-02479-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Nakamura Takumi, Ueda Junko, Mizuno Shota, Honda Kurara, Kazuno An-a, Yamamoto Hirona, Hara Tomonori, Takata Atsushi	4. 巻 4
2. 論文標題 Topologically associating domains define the impact of de novo promoter variants on autism spectrum disorder risk	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Cell Genomics	6. 最初と最後の頁 100488 ~ 100488
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.xgen.2024.100488	査読の有無 無
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 Nakamura Takumi, Takata Atsushi	4. 巻 N/A
2. 論文標題 The molecular pathology of schizophrenia: an overview of existing knowledge and new directions for future research	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Molecular Psychiatry	6. 最初と最後の頁 N/A
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41380-023-02005-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Nakamura T, Nakajima K, Kobayashi Y, Itohara S, Kasahara T, Tsuboi T, Kato T.	4. 巻 30
2. 論文標題 Functional and behavioral effects of de novo mutations in calcium-related genes in patients with bipolar disorder.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Human Molecular Genetics	6. 最初と最後の頁 1851-1862
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/hmg/ddab152	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Nakamura T, Tsuboi T, Takata T, and Kato T.
2. 発表標題 Manifestation and treatment of autistic-like phenotypes in the heterozygous mutant mice of a histone methyltransferase
3. 学会等名 The 46th Annual meeting of Japan Neuroscience Society
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Nakamura T, Nakajima K, Yoshihara Y, Takano K, Tanegashima C, Kadota M, Toyoshima M, Kobayashi Y, Ueda J, Itohara S, Yoshikawa T, Kuraku S, Asano S, Kasahara T, Tsuboi T, Takata A, and Kato T.
2. 発表標題 Functional analyses of a histone methyltransferase related to neurodevelopmental disorders
3. 学会等名 第43回日本神経科学学会大会（NEURO2022）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 1. Nakamura T. Nakajima K. Yoshihara T. Tanegashima C. Kadota M. Toyoshima M. Kobayashi Y. Itohara S. Yoshikawa T. Kuraku S. Asano M. Kasahara T. Takata A. Tsuboi T. and Kato T.
2. 発表標題 神経発達障害に関連するヒストンメチル化酵素KMT2Cの分子・行動学的解析
3. 学会等名 日本生物学的精神医学会
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
---------	---------