

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 革新的先端研究開発支援事業 ユニットタイプ「エピゲノム研究に基づく
診断・治療へ向けた新技術の創出」
(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation

研究開発課題名： (日本語) ヒストンリジンメチル化制御系に基づく脳機能の理解と治療戦略への展開
(英語) Uncovering brain functions and its medical application based on the
regulation of histone lysine methylation

研究開発担当者 (日本語) 国立研究開発法人理化学研究所 主任研究員 眞貝 洋一
所属 役職 氏名： (英語) RIKEN, Chief Scientist, Yoichi Shinkai

実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) 先天奇形症候群患者・精神疾患患者におけるヒストンリジンメチル化調節
因子遺伝子の変異解析：自閉症・統合失調症患者における検討
開発課題名： (英語) Genetic analyses of regulatory system for histone lysine methylation
in subjects with congenital anomalies and mental disorders: targeting
autism spectrum disorders and schizophrenia

研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人理化学研究所脳科学研究所 チームリーダー 吉川武男
所属 役職 氏名： (英語) RIKEN Brain Science Institute, Team Leader, Takeo Yoshikawa

分担研究 (日本語) モデルマウスによる治療基盤の検証研究 2 -神経学的解析
開発課題名： (英語) The Neurological analysis of Glp Δ /+ mouse-

研究開発分担者 (日本語) 帝京大学理工学部バイオサイエンス学科 講師 平澤孝枝
所属 役職 氏名： (英語) Department of Biosciences, School of Science and Engineering, Teikyo
University, Lecture, Takae Hirasawa

分担研究 (日本語) 治療対象候補としてのヒト疾患患者の同定研究2

—先天奇形症候群患者における検討

開発課題名: (英語) Molecular analysis of congenital malformation syndrome caused by perturbation of histone modification

研究開発分担者 (日本語) 神奈川県立こども医療センター 遺伝科 部長 黒澤健司

所属 役職 氏名: (英語) Kenji Kurosawa

Director, Kanagawa Children's Medical Center

II. 成果の概要 (総括研究報告)

・ 研究開発代表者による報告の場合

和文

研究開発の目的及び内容

生後の私たちの体を作っている大部分の細胞は終末分化を迎え、細胞周期から逸脱した (post-mitotic な) 細胞として、長期にわたりその細胞形質を維持したまま存在し機能している。これらの細胞でのエピゲノム制御の可塑性がどのくらいあるのか、エピゲノム情報はどのくらい塗り替えられ得るのかが明らかになれば、エピゲノム情報を任意に変える技術の将来性がより明確なものとなる。そこで、本課題では、2つの観点から、エピゲノムの可塑性に迫る。研究項目1. モデルマウスによる治療基盤の検証研究では、マウスの脳細胞をモデルとして、エピゲノム情報の可塑性がどれほどあるのか、特に post-mitotic な細胞における実体を明らかにし、エピゲノム制御不全による表現型がどこまで後天的に相補可能であるかを検討する。具体的には、ヒトの遺伝性疾患の1つ Kleeftstra 症候群 (KS) の原因遺伝子として知られるヒストンメチル化酵素 *GLP/EHMT1* を欠損させたマウス (*GLP* Δ /+マウス) をモデルとし、*GLP* が制御しているヒストンメチル化の制御不全が後天的に回復可能か、検討する。その結果、この不全により引き起こされている脳機能不全も後天的に回復可能か、検証する。本研究の最終到達点は、エピゲノム制御不全に起因する疾患において、エピゲノムの可塑性を利用した可逆的治療が本当に成立しうるのかを遺伝学的に検証することにある。そのため、研究項目2. 治療対象候補としてのヒト疾患患者の同定研究として、精神神経活動の不全を伴う様々な患者リソースの中から、治療対象となりうるヒストンメチル化制御に関わる因子の遺伝子が欠損・変異している患者を同定しておく。

研究成果

研究項目1. モデルマウスによる治療基盤の検証研究

・生後3週齢において、*GLP*ヘテロKOマウスの前脳のneuron特異的に外来性のFlag-*GLP*の発現を誘導し、その後 *Glp*ヘテロKOマウスの行動異常の表現型が改善するか検討した。その結果、3週齢からの相補では、行動異常 (活動能の低下) の表現型が不完全ではあるが改善すること、脳内のいくつかの表現型も相補されていることが観察された。(眞貝、平澤)

・*GLP*ヘテロKOマウスに於いて、胎児期から脳で特異的に外来性のFlag-*GLP*の発現を誘導させるために、Nestin-Cre TGとCAG-lox-stop-lox-Flag-*GLP* TGとを持たせたマウスと *GLP*ヘテロKOマウスを掛け合わせて、

相補実験を行った。その結果、Nestin-Cre TGとCAG-lox-stop-lox-Flag-GLP TGを持った *GLP*ヘテロKOマウスでは、行動異常の表現型ならびに脳内の表現型はいずれも相補されることが明らかとなった。つまり、KSモデルとしての *GLP*ヘテロKOマウスの表現型は脳におけるGLPの発現低下により引き起こされていることが証明された。(眞貝、平澤)

研究項目 2. 治療対象候補としてのヒト疾患患者の同定研究

・解析対象サンプルサイズを拡大し、*EHMT1 & 2*, *WIZ*, *SETDB1*, *SUV39H1 & 2*, *KDM3A*, *KDM3B*, *PHF8*の合計9遺伝子を対象に、MIP (Molecular Inversion Probe)法を用いて網羅的かつ大規模な変異検索を行った。MIPによって検出した変異は、サンガー法によって確認した。その結果、自閉症特異的なアミノ酸変異として、計29個の変異を見出した。これらのうち、20個はこれまで報告されたこのない、新規の変異であった。これらの情報は、自閉症の病理をヒストンのメチル化の観点から考察するために有用な材料となる。(吉川)

・Histone methylation を制御する *EHMT1* の変異を原因とする Kleefstra 症候群をゲノムスクリーニングにより新たに2例検出した。(黒澤)

英文

Most of the terminally differentiated cells in our body exit from the cell cycle and maintain their cellular identities for a long time. However, it is not much known about how much epigenetic regulation is plastic in these terminally differentiated cells or their epigenome information can be re-writable. If these problems can be addressed, it is more confident that how much we can control epigenome. The aim of this project is to challenge the plasticity of epigenetic regulation tackled by the following two approaches, I) proof of principle studies of reversible epigenome therapy, II) screening of the mental disorder patients possessing disease specific epigenetic gene mutations.

Sub-project I: Studies of Kleefstra syndrome model animal, *GLP*^{+/-} mice--proof of principle studies of the reversible epigenome therapy

・Abnormal behavior of *GLP*^{+/-} mice was partially rescued by induction of Flag-tagged GLP expression at 3 weeks old. Furthermore, some of the brain phenotypes were also complemented in these mice. (Shinkai and Hirasawa)

・Both the behavior and brain phenotypes of *GLP*^{+/-} mice were completely rescued by brain specific induction of Flag-tagged GLP expression from the embryo stage, demonstrating that the phenotypes of *GLP*^{+/-} mice as a Kleefstra syndrome model animal are induced from the insufficient expression of GLP in brain. (Shinkai and Hirasawa)

Sub-project II: screening of the mental disorder patients possessing disease specific epigenetic gene mutations

・In 2016, we have expanded sample sizes for both control and ASD (autism spectrum disorders) groups, and performed re-sequencing analyses of a total of 9 genes relevant to histone H3K9 methylation/demethylation, which included *EHMT1/GLP* & *EHMT2/G9a*, *WIZ*, *SETDB1*, *SUV39H1 & 2*, *KDM3A*, *KDM3B* and *PHF8* genes. We have identified 29 missense mutations that are specific to ASD. Among them, the 20 mutations are novel ones. These data should be helpful for the

understanding of pathophysiology of ASD from the point of epigenetic histone modification. (Yoshikawa)

・ We diagnosed additional two patients with Kleefstra syndrome caused by the novel mutations in *EHMT1* encoding a histone methyltransferase. (Kurosawa)

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 4 件、国際誌 12 件)

1. Muramatsu D, Kimura H, Kotoshiba K, Tachibana M, and Shinkai, Y. Pericentric H3K9me3 formation by HP1 interaction-defective histone methyltransferase Suv39h1. *Cell Structure and Function.*, 2016, 41(2):145-152.
2. Koide S, Oshima M, Takubo K, Yamazaki S, Nitta E, Saraya A, Aoyama K, Kato Y, Miyagi S, Nakajima-Takagi Y, Chiba T, Matsui H, Arai F, Suzuki Y, Kimura H, Nakauchi H, Suda T, Shinkai Y, Iwama A. Setdb1 maintains hematopoietic stem and progenitor cells by restricting the ectopic activation of nonhematopoietic genes. *Blood.* 2016 Aug 4;128(5):638-649.
3. Takikita S, Muro R, Takai T, Otsubo T, Kawamura YI, Dohi T, Oda H, Kitajima M, Oshima K, Hattori M, Endo TA, Toyoda T, Weis J, Shinkai Y, Suzuki H. A Histone Methyltransferase ESET Is Critical for T Cell Development. *J. Immunol.* 2016, Sep 15;197(6):2269-2279.
4. 山田 亜夕美、眞具 洋一 : 「エピゲノム制御破綻とその修復の可能性 ～Rett 症候群の解析より」 *BIO Clinica* 2016 年 5 月号、北隆館、2016.
5. Hamazaki K, Maekawa M, Toyota T, Iwayama Y, Dean B, Hamazaki T, Yoshikawa T: Fatty acid composition and fatty acid binding protein expression in the postmortem frontal cortex of patients with schizophrenia: a case-control study. *Schizophrenia Research* 171: 226-232, 2016.
6. Liu X, Shimada T, Otowa T, Wu YY, Kawamura Y, Tochigi M, Iwata Y, Umekage T, Toyota T, Maekawa M, Iwayama Y, Suzuki K, Kakiuchi C, Kuwabara H, Kano Y, Nishida H, Sugiyama T, Kato N, Chen CH, Mori N, Yamada K, Yoshikawa T, Kasai K, Tokunaga K, Sasaki T, Gau SSF: Genome-wide association study of autism spectrum disorder in the East Asian populations. *Molecular Autism* 9: 340-349, 2016.
7. Toyoshima M, Akamatsu W, Okada Y, Ohnishi T, Balan S, Hisano Y, Iwayama Y, Toyota T, Matsumoto T, Itasaka N, Sugiyama S, Tanaka M, Yano M, Dean B, Okano H, Yoshikawa T: Schizophrenia patient-derived induced pluripotent stem cells exhibit changes in neurogenic and gliogenic competences. *Translational Psychiatry* 6: e934, 2016.
8. Takasaki Y, Koide T, Wang C, Kimura H, Xing J, Kushima I, Ishizuka K, Mori D, Sekiguchi M, Ikeda M, Aizawa M, Tsurumaru N, Iwayama Y, Yoshimi A, Arioka Y, Yoshida M, Noma H, Oya-Ito T, Nakamura Y, Kunimoto S, Aleksic B, Yota Y, Okada T, Ujike H, Egawa J, Kuwabara H, Someya T, Yoshikawa T, Iwata N, Ozaki N: Mutation screening of *GRIN2B* in schizophrenia and autism spectrum disorder in a Japanese population. *Scientific Reports* 6: 33311, 2016.

9. Miyashita M, Watanabe T, Ichikawa T, Toriumi K, Horiuchi Y, Kobori A, Kushima I, Hashimoto R, Fukumoto M, Koike S, Ujike H, Arinami T, Tatebayashi Y, Kasai K, Takeda M, Ozaki N, Okazaki Y, Yoshikawa T, Amano N, Washizuka S, Yamamoto H, Miyata T, Itokawa M, Yamamoto Y, Arai M: The regulation of soluble receptor for AGEs contributes to carbonyl stress in schizophrenia. *BBRC* 479: 447-452, 2016.
10. Kushima I, Aleksic B, Nakatochi M, Shimamura T, Shiino T, Yoshimi A, Kimura H, Takasaki Y, Wang C, Xing JX, Ishizuka K, Oya-Ito T, Nakamura Y, Arioka Y, Maeda T, Yamamoto M, Yoshida M, Noma H, Hamada S, Morikawa M, Uno Y, Okada T, Iidaka T, Iritani S, Yamamoto T, Miyashita M, Kobori A, Arai M, Itokawa M, Cheng M-C, Chuang Y-A, Chen C-H, Suzuki M, Takahashi T, Hashimoto R, Yamamori H, Yasuda Y, Watanabe Y, Nunokawa A, Someya T, Ikeda M, Toyota T, Yoshikawa T, Numata S, Ohmori T, Kunimoto S, Mori D, Iwata N, Ozaki, N: High-resolution copy number variation analysis of schizophrenia in Japan. *Molecular Psychiatry* 22: 430-440, 2017.
11. Hamazaki K, Maekawa M, Toyota T, Dean B, Hamazaki T, Yoshikawa T: Fatty acid composition of the postmortem corpus callosum of patients with schizophrenia, bipolar disorder, or major depressive disorder. *European Psychiatry* 39: 51-56, 2017.
12. Ohnishi T, Miura I, Ohba H, Shimamoto C, Iwayama Y, Wakana S, Yoshikawa T: A Spontaneous and novel *Pax3* mutant mouse that models Waardenburg syndrome and neural tube defects. *Gene* 607: 16-22, 2017.
13. 吉川武男、島本知英、和田唯奈：統合失調症はどこまで理解できているか。こころの科学、HUMAN MIND SPECIAL ISSUE (7 Suppl), 110-116、2016.
14. 豊島学、吉川武男：統合失調症の神経発達障害基盤にかかわる miRNA の分子基盤。分子精神医学、Vol. 16, No.4, 234-240、2016.
15. 高田篤、吉川武男：ゲノム研究発展の長期展望。精神科、Vol. 30, No.3, 206-212、2017.
16. Tsurusaki Y, Ohashi I, Enomoto Y, Naruto T, Mitsui J, Kurosawa K, Aida N. A novel UBE2A mutation causes X-linked intellectual disability type Nascimento. *Human Genome Variation* (in press)

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 後天的なエピゲノム改変による高次脳機構改善の試み、ポスター、山田亜夕美、西村佳也子、平澤孝枝、向後直美、前川素子、吉川武男、糸原重美、眞貝洋一、第10回日本エピジェネティクス研究会年会、2016/5/20、国内
2. G9a 複合体タンパク質 Wiz は G9a の H3K9 メチル化の維持に必須である、ポスター、福田幹子、眞貝洋一、第10回日本エピジェネティクス研究会年会、2016/5/20、国内
3. モデルマウスを用いた後天的エピゲノム改変による Kleefstra 症候群の病状改善を目指して、山田亜夕美、西村佳也子、平澤孝枝、眞貝洋一、第39回日本分子生物学会年会、2016/11/30、国内
4. Bloom 症候群遺伝子 Blm のノックダウンは遺伝子ターゲティングの効率を上げる、ポスター、福田幹子、井上真悠子、村松大輔、宮地均、眞貝洋一、第39回日本分子生物学会年会、2016/11/30、国内

5. Recovery of neurological phenotypes in Ehmt1 heterozygous KO mice by re-expression of Ehmt1 in brain. poster, Ayumi Yamada, Kayako Nishimura, Takae Hirasawa and Yoichi Shinkai, RIKEN Epigenetics in Tsukuba, 2017/2/16-17, Japan
6. Which timing does G9a methylate H3K9 in cell cycle? poster, Mikiko Fukuda, Asako Sakaue-Sawano, Atsushi Miyawaki, Yoichi Shinkai, RIKEN Epigenetics in Tsukuba, 2017/2/16-17, Japan
7. エピゲノムはどこまで操れるようになったか、口頭、眞貝洋一、第10回日本エピジェネティクス研究会年会、2016/5/20、国内
8. エピジェネティクスによる生命機能制御、口頭、眞貝洋一、理化学研究所-埼玉大学理工学研究科、生命科学系合同シンポジウム、2017/1/26、国内
9. 22q11 欠失をもつ統合失調症の iPS 細胞解析、口頭、吉川武男、第12回日本統合失調症学会シンポジウム「心と身体を結ぶー統合失調症の回復を助ける研究とは」(米子)、2017/3/23、国内
10. Synaptic dysfunction in the Glp Knockout mouse model of Kliefstra syndrome. ポスター発表、Takae Hirasawa, Ayumi Yamada, Madoka Kato, Yoichi Shinkai, Takeo Kubota. 第39回日本神経科学学会、2016/7/22、国内
11. Proteasome Activator PA28 gamma regulates neuronal function of cerebellar Purkinje cells. 中村和純, 天笠太一, 鶴岡直人, 葛西宏威, 森石恆司, 平澤孝枝 第39回日本分子生物学会、2016/12/01
12. Hatano C, Yokoi T, Enomoto Y, Tsurusaki Y, Saito T, Nagai J, Kurosawa K. Dosage Changes of NIPBL cause various types of neurodevelopmental disability. The 13th International Congress of Human Genetics 2016.4.3-7 Kyoto
13. Minatogawa M, Iwasaki F, Fukuda K, Hatano C, Yokoi T, Enomoto Y, Ida K, Tsurusaki Y, Harada N, Saitou T, Nagai J, Goto H, Kurosawa K. Early development of rare tumors in individuals with congenital malformation syndrome. The 13th International Congress of Human Genetics 2016.4.3-7 Kyoto
14. Tsurusaki Y, Enomoto Y, Yokoi T, Hatano C, Ida K, Kurosawa K. Next-generation sequencing identifies novel *ARID1B* mutations in patients with Coffin-Siris syndrome. The 13th International Congress of Human Genetics 2016.4.3-7 Kyoto
15. Enomoto Y, Yokoi T, Hatano C, Ohashi I, Kuroda Y, Tsurusaki Y, Ida K, Naruto T, Kurosawa K. The comprehensive genetic analysis of Rubinstein-Taybi syndrome(RSTS). The 13th International Congress of Human Genetics 2016.4.3-7 Kyoto

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

なし

(4) 特許出願

なし

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 革新的先端研究開発支援事業 ユニットタイプ「エピゲノム研究に基づく
診断・治療へ向けた新技術の創出」

(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation

研究開発課題名： (日本語) ヒストンリジンメチル化制御系に基づく脳機能の理解と治療戦略への展開

(英語) Uncovering brain functions and its medical application based on the
regulation of histone lysine methylation

分担研究 (日本語) 先天奇形症候群患者・精神疾患患者におけるヒストンリジンメチル化調節因子
遺伝子の変異解析：自閉症・統合失調症患者における検討

開発課題名： (英語) Genetic analyses of regulatory system for histone lysine methylation in
subjects with congenital anomalies and mental disorders: targeting
autism spectrum disorders and schizophrenia

研究開発分担者 (日本語) 脳科学総合研究センター シニアチームリーダー吉川 武男

所属 役職 氏名： (英語) RIKEN Brain Science Institute, Team Leader, Takeo Yoshikawa

実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

II. 成果の概要（総括研究報告）

・ 研究開発代表者による報告の場合

・ 研究開発分担者による報告の場合

研究開発代表者：国立研究開発法人理化学研究所・主任研究員・眞貝洋一 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 3件、国際誌 8件）

1. Hamazaki K, Maekawa M, Toyota T, Iwayama Y, Dean B, Hamazaki T, Yoshikawa T: Fatty acid composition and fatty acid binding protein expression in the postmortem frontal cortex of patients with schizophrenia: a case-control study. *Schizophrenia Research* 171: 226-232, 2016.
2. Liu X, Shimada T, Otowa T, Wu YY, Kawamura Y, Tochigi M, Iwata Y, Umekage T, Toyota T, Maekawa M, Iwayama Y, Suzuki K, Kakiuchi C, Kuwabara H, Kano Y, Nishida H, Sugiyama T, Kato N, Chen CH, Mori N, Yamada K, Yoshikawa T, Kasai K, Tokunaga K, Sasaki T, Gau SSF: Genome-wide association study of autism spectrum disorder in the East Asian populations. *Molecular Autism* 9: 340-349, 2016.
3. Toyoshima M, Akamatsu W, Okada Y, Ohnishi T, Balan S, Hisano Y, Iwayama Y, Toyota T, Matsumoto T, Itasaka N, Sugiyama S, Tanaka M, Yano M, Dean B, Okano H, Yoshikawa T: Schizophrenia patient-derived induced pluripotent stem cells exhibit changes in neurogenic and gliogenic competences. *Translational Psychiatry* 6: e934, 2016.
4. Takasaki Y, Koide T, Wang C, Kimura H, Xing J, Kushima I, Ishizuka K, Mori D, Sekiguchi M, Ikeda M, Aizawa M, Tsurumaru N, Iwayama Y, Yoshimi A, Arioka Y, Yoshida M, Noma H, Oya-Ito T, Nakamura Y, Kunimoto S, Aleksic B, Yota Y, Okada T, Ujike H, Egawa J, Kuwabara H, Someya T, Yoshikawa T, Iwata N, Ozaki N: Mutation screening of *GRIN2B* in schizophrenia and autism spectrum disorder in a Japanese population. *Scientific Reports* 6: 33311, 2016.
5. Miyashita M, Watanabe T, Ichikawa T, Toriumi K, Horiuchi Y, Kobori A, Kushima I, Hashimoto R, Fukumoto M, Koike S, Ujike H, Arinami T, Tatebayashi Y, Kasai K, Takeda M, Ozaki N, Okazaki Y, Yoshikawa T, Amano N, Washizuka S, Yamamoto H, Miyata T, Itokawa M, Yamamoto Y, Arai M: The regulation of soluble receptor for AGEs contributes to carbonyl stress in schizophrenia. *BBRC* 479: 447-452, 2016.
6. Kushima I, Aleksic B, Nakatochi M, Shimamura T, Shiino T, Yoshimi A, Kimura H, Takasaki Y, Wang C, Xing JX, Ishizuka K, Oya-Ito T, Nakamura Y, Arioka Y, Maeda T, Yamamoto M, Yoshida M, Noma H, Hamada S, Morikawa M, Uno Y, Okada T, Iidaka T, Iritani S, Yamamoto T, Miyashita M, Kobori A, Arai M, Itokawa M, Cheng M-C, Chuang Y-A, Chen C-H, Suzuki M, Takahashi T, Hashimoto R, Yamamori H, Yasuda Y, Watanabe Y, Nunokawa A, Someya T, Ikeda M, Toyota T, Yoshikawa T, Numata S, Ohmori T, Kunimoto S, Mori D, Iwata N, Ozaki, N: High-resolution copy number variation analysis of schizophrenia in Japan. *Molecular Psychiatry* 22: 430-440, 2017.

7. Hamazaki K, Maekawa M, Toyota T, Dean B, Hamazaki T, Yoshikawa T: Fatty acid composition of the postmortem corpus callosum of patients with schizophrenia, bipolar disorder, or major depressive disorder. *European Psychiatry* 39: 51-56, 2017.
8. Ohnishi T, Miura I, Ohba H, Shimamoto C, Iwayama Y, Wakana S, Yoshikawa T: A Spontaneous and novel *Pax3* mutant mouse that models Waardenburg syndrome and neural tube defects. *Gene* 607: 16-22, 2017.
9. 吉川武男、島本知英、和田唯奈：統合失調症はどこまで理解できているか。こころの科学、HUMAN MIND SPECIAL ISSUE (7 Suppl), 110-116、2016.
10. 豊島学、吉川武男：統合失調症の神経発達障害基盤にかかわる miRNA の分子基盤。分子精神医学、Vol. 16, No.4, 234-240、2016.
11. 高田篤、吉川武男：ゲノム研究発展の長期展望。精神科、Vol. 30, No.3, 206-212、2017.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 22q11 欠失をもつ統合失調症の iPS 細胞解析, 口頭, 吉川武男, 第 1 2 回日本統合失調症学会シンポジウム「心と身体を結ぶー統合失調症の回復を助ける研究とは」(米子), 2017/3/23, 国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

(4) 特許出願

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 革新的先端研究開発支援事業 ユニットタイプ「エピゲノム研究に基づく
診断・治療へ向けた新技術の創出」

(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation

研究開発課題名： (日本語) ヒストンリジンメチル化制御系に基づく脳機能の理解と治療戦略への展開

(英語) Uncovering brain functions and its medical application based on the
regulation of histone lysine methylation

分担研究 (日本語) 治療対象候補としてのヒト疾患患者の同定研究 2
－先天奇形症候群患者における検討

開発課題名： (英語) Molecular analysis of congenital malformation syndrome caused by
perturbation of histone modification

研究開発分担者 (日本語) 黒澤 健司, 遺伝科 部長

所属 役職 氏名： (英語) Kenji Kurosawa, Director, Kanagawa Children's Medical Center

実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

II. 成果の概要（総括研究報告）

- ・ 研究開発代表者による報告の場合
- ・ 研究開発分担者による報告の場合

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 件、国際誌 件）

1. Tsurusaki Y, Ohashi I, Enomoto Y, Naruto T, Mitsui J, Kurosawa K, Aida N. A novel UBE2A mutation causes X-linked intellectual disability type Nascimento. *Human Genome Variation* (in press)

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Hatano C, Yokoi T, Enomoto Y, Tsurusaki Y, Saito T, Nagai J, Kurosawa K. Dosage Changes of NIPBL cause various types of neurodevelopmental disability. The 13th International Congress of Human Genetics 2016.4.3-7 Kyoto
2. Minatogawa M, Iwasaki F, Fukuda K, Hatano C, Yokoi T, Enomoto Y, Ida K, Tsurusaki Y, Harada N, Saitou T, Nagai J, Goto H, Kurosawa K. Early development of rare tumors in individuals with congenital malformation syndrome. The 13th International Congress of Human Genetics 2016.4.3-7 Kyoto
3. Tsurusaki Y, Enomoto Y, Yokoi T, Hatano C, Ida K, Kurosawa K. Next-generation sequencing identifies novel *ARID1B* mutations in patients with Coffin-Siris syndrome. The 13th International Congress of Human Genetics 2016.4.3-7 Kyoto
4. Enomoto Y, Yokoi T, Hatano C, Ohashi I, Kuroda Y, Tsurusaki Y, Ida K, Naruto T, Kurosawa K. The comprehensive genetic analysis of Rubinstein-Taybi syndrome(RSTS). The 13th International Congress of Human Genetics 2016.4.3-7 Kyoto

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
該当なし。

(4) 特許出願
該当なし。

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名： (日本語) 革新的先端研究開発支援事業 ユニットタイプ「エピゲノム研究に基づく
診断・治療へ向けた新技術の創出」
(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation
- 研究開発課題名： (日本語) ヒストンリジンメチル化制御系に基づく脳機能の理解と治療戦略への展開
(英語) Uncovering brain functions and its medical application based on the
regulation of histone lysine methylation
- 分担研究 (日本語) モデルマウスによる治療基盤の検証研究2－神経学的解析
開発課題名： (英語) The Neurological analysis of *Glp* Δ / $+$ mouse-
- 研究開発分担者 (日本語) 帝京大学理工学部バイオサイエンス学科 講師 平澤孝枝
所属 役職 氏名： (英語) Department of Biosciences, School of Science and Engineering, Teikyo
University, Lecture, Takae Hirasawa
- 実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

II. 成果の概要 (総括研究報告)

- ・ 研究開発代表者による報告の場合
- ・ 研究開発分担者による報告の場合
研究開発代表者： 独立行政法人 理化学研究所 眞貝細胞記憶研究室 眞貝洋一主任研究員
総括研究報告を参照。

平成 24 年度より *Glp* ヘテロ KO マウスでは、1) 神経細胞の位置配列、構造的な変化はなかった、2) ミ
クログリアの発現の異常が認められた、3) シナプスを形成するスパインの数の低下、形態異常が認められ
た。H27 年度において後天的に外来性 *Glp* 遺伝子を発現させた CamKII-ER-Cre を用いて neuron 特
異的に発現させた場合、3か月齢での GLP 発現誘導では行動異常の改善は観察できなかったものの、
Glp ヘテロ KO マウス脳内で増えていたミクログリア細胞の数が WT レベルに戻ることに、数だけではなく活

性化状態も抑制されていることが観察されたことから、脳内環境の改善に一定の効果があることが示された。平成 28 年度はさらに早期の生後 3 週齢の post-mitotic neuron 特異的に GLP の発現を誘導することでこの処理が *Glp* ヘテロ KO マウスの行動を相補し、更に脳内のスパイン数の増加など効果が認められ、生後治療の可能性に期待が持てる成果となった。ミクログリアが単に損傷や疾患における指標ではなく神経活動を制御していることは既に報告があるが、すでに異常を起こした神経細胞の回復に関与している知見は新しく、新奇性がある成果となった。

平成 29 年度は1)生後3週齢より早期に外来性 GLP の発現を誘導することでよりシナプス数などの神経機能の効果があるか？(いつから相補治療を行うべきか?)2)行動不全と脳内の表現型の特徴としてみられるミクログリアの活性化との関係を明らかにする。3)ミクログリアの活性化からミクログリアの活性阻害剤(P2X7 受容体 antagonist; A-804598) 投与を用いた *Glp* ヘテロ KO マウスの神経機能の回復の確認、4)これまで進めてきた研究をまとめて論文化する。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 件、国際誌 件）

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Synaptic dysfunction in the *Glp* Knockout mouse model of Kliefstra syndrome. ポスター発表, Takae Hirasawa, Ayumi Yamada, Madoka Kato, Yoichi Shinkai, Takeo Kubota. 第 39 回日本神経科学学会, 2016/7/22, 国内
2. Proteasome Activator PA28 gamma regulates neuronal function of cerebellar Purkinje cells. 中村和純, 天笠太一, 鶴岡直人, 葛西宏威, 森石恆司, 平澤孝枝 第 39 回 日本分子生物学会, 2016/12/01

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

(4) 特許出願