

「エピゲノムに基づく診断・治療へ向けた新技術の創出研究」  
平成 23 年度採択研究代表者

H24 年度  
実績報告

萩原 正敏

京都大学大学院医学研究科・教授

エピゲノム創薬による広汎性発達障害の克服

## §1. 研究実施体制

### (1) 萩原グループ

- ① 研究代表者: 萩原 正敏 (京都大学大学院医学研究科、教授)
- ② 研究項目
  - ・広汎性発達障害のモデル動物作成と新しいエピゲノム診断・治療技術の開発

### (2) 平家グループ

- ① 主たる共同研究者: 平家 俊男 (京都大学大学院医学研究科、教授)
- ② 研究項目
  - ・患者検体および患者由来 iPS 細胞を用いた広汎性発達障害のエピゲノム解析

### (3) 細谷グループ

- ① 主たる共同研究者: 細谷 孝充 (東京医科歯科大学疾患生命科学研究部、教授)
- ② 研究項目
  - ・エピゲノム創薬を指向した低分子化合物の合成

## §2. 研究実施内容

### ○萩原グループ

平成 24 年度は、取得予定である化合物の評価に用いる、マウス行動解析試験の構築を行い、予備実験を施行した。また自閉症モデルマウスである、SHANK3 の KO マウスを用いて、タッチパネルスケールを利用した行動試験を行い、認知機能評価を行った。一部モデルマウスについては、

検討の結果、当初案にあった対象分子を変更し、データベースを用いて新規自閉症モデルマウスの検索に着手した。平家グループにより採取される、包括的な発達・心理検査バッテリーを施行した成人の広汎性発達障害患者 26 名および年齢・性別をマッチさせた健常成人 26 名の血液検体から、前年度に確立した手法を用いて、高純度の DNA/RNA 抽出精製を行った。広汎性発達障害の原因の一つとして、Copy Number Variation (CNV) が報告されていることから、本研究に用いた広汎性発達障害 26 名、健常成人 26 名において、CNV 異常の有無を検索するため、CGH/CNV 解析に着手した。また、抽出した高純度 RNA を用いた、トランスクリプトーム解析に着手した。また広汎性発達障害とは一見逆転した”hyper-sociability”と称される特異な発達様式をとるウィリアムズ症候群について、患者会からの賛同を得て、42 名のウィリアムズ症候群の血液サンプルの採取、発達・心理検査バッテリーを含めた評価を開始した。iPS 細胞の樹立については、エピソーマルベクターを用いたヒト iPS 細胞の樹立・維持培養方法の技術習得を行った。

#### ○平家グループ

平家グループでは、研究項目として患者検体および患者由来 iPS 細胞を用いた広汎性発達障害のエピゲノム解析をあげているが、平成 24 年度は前年度に引き続き、発達障害患者の臨床的評価を継続するとともに、発達障害患者からの検体採取、iPS 細胞の作成を進めた。前年度より継続している広汎性発達障害患者の神経行動学的評価として、1 時間程度の ADOS (Autism Diagnostic Observation Schedule Generalized) にて自閉的な度合いを、WAIS-III (Wechsler Adult Intelligence Scale-III)、WMS-R (Wechsler Memory Scale-revised) にて知的レベル、記憶機能を測定した。また、広汎性発達障害は診断だけでなく、特性の多様性、個人差が知られているため、独自開発の MSPA (Multi-dimensional Scale for PDD and ADHD) にて発達障害全般の特性把握を行い、更に、DSM-IV にて精神医学的診断を行った。なお、より簡便な質問紙、AQ (Autism Spectrum Quotient)、ASR (Adult Self-Report)、ABCL (Adult Behavior Checklist)、ASSQ (Autism Spectrum Screening Questionnaire) にても評価し、発達歴や生活歴も聴取した。また今年度より新たに、特異な発達様式をもつ染色体微細欠失症候群である Williams 症候群患者を発達障害のひとつのモデル疾患と考え、Williams 症候群患者 42 名より血液検体を採取し、順次 WISC-IV (Wechsler Intelligence Scale for Children-IV)、新版 K 式発達検査、KIDS type T による知能・発達評価、TVPS-3 (Test of Visual-Perceptual Skills-3) 等を用いた視覚認知機能評価、CBCL (Child Behavior Checklist)、HQ (Hyperacusis Questionnaire)、FSSC-R (Fear Survey Schedule for Children-Revised) などを用いた臨床評価を施行中である。

また、発達障害動物モデルとの比較検討、および治療候補薬剤スクリーニングへの応用を念頭に置いた、発達障害を合併する遺伝性神経疾患の患者由来 iPS 細胞の作成においては、Rett 症候群、Williams 症候群、神経線維腫症、結節性硬化症、古典的自閉症などの患者リクルートを行い、実際に広汎性発達障害を合併する神経線維腫症患者からの iPS 細胞を樹立した。現在は Rett 症候群および Williams 症候群の iPS 細胞樹立を目指している。

#### ○細谷グループ

広汎性発達障害治療薬候補化合物の創出を目的に、これまでに当研究グループで見いだされたスプライシングに影響を与えるベンゾチアゾール誘導体である TG003 及びケミカルライブラリースクリーニングによりヒットしてきた化合物の構造展開により周辺化合物の合成を行い、新しい分子骨格及び作用機序を有する低分子化合物の開発を目指して研究を行った。今年度は、前年度に引き続き、既存阻害剤と標的酵素との複合体構造情報から高い阻害活性を示すことが期待されたチオヒダントイン、ロダニン及びシュードチオヒダントインを基本骨格とした周辺化合物を新たに十数種類合成した。これら化合物の活性評価を萩原グループにて実施した結果、*in vitro* においてスプライシング因子リン酸化酵素 DYRK1A を安定化する化合物の取得に成功した。DYRK1A は、自閉症の発症確率を著しく高める *de novo* 突然変異の候補遺伝子として同定されており、DYRK1A 遺伝子にヘテロ変異を持つため DYRK1A タンパク質量が減少し、その結果として自閉症を発症する機序が報告されていることから、今回取得に成功した化合物は、変異のない片側正常アレルから転写・翻訳されるDYRK1Aタンパク質を増加させ、DYRK1Aタンパク質量を正常値に近づけることで、自閉症の発症を抑止することが期待できる。次年度以降、本化合物の活性及び選択性の向上を目指すとともに、生体安定性及び脳移行性の向上を目的とした分子設計を施し、性質のより優れた阻害剤の開発を進める予定である。