

전사체 기반 자폐모델생쥐 약물반응 예측연구

김은준 (IBS 시냅스뇌질환 연구단 및 KAIST 생명과학과)

배미현, 노준엽 (IBS 시냅스뇌질환 연구단)

강효진, 전유경 (한국과학기술정보연구원/KISTI)

TRANSCRIPTOMICS

Transcriptome-based classification in mice with ASD-risk mutations

Junyeop Daniel Roh^{1†}, Yukyung Jun^{2†}, Heesu Jeon³, Junyoung Kim³, Yunho Yi³, Minji Kim⁴, Heejin Cho¹, Yusang Oh³, Heera Moon³, Jinkyong Kim¹, Seongbin Kim¹, Jeseung Ryu³, Muwon Kang¹, Jisoo Kim³, Yeonghyeon Kim³, Yewon Jung³, Taesun Yoo¹, Hyoseon Oh¹, Hyosang Kim¹, Chunmei Jin¹, Yeji Yang^{3,5}, Gahyeon Choi⁶, Sunjoo Ahn⁶, Jin Young Kim⁵, Hyojin Kang^{2*}, Mihyun Bae^{1*}, Eunjoon Kim^{1,3*}

Autism spectrum disorder (ASD) is a neurodevelopmental condition with a strong genetic component. Large-scale human genetic studies have identified >1200 ASD-risk genes. We report a sex-balanced atlas of 1008 prefrontal RNA sequencing (RNA-seq) profiles from 17 mouse lines carrying ASD-risk mutations. Our analysis identified two opposing transcriptomic states. The two groups differed in sex bias, regional specificity, developmental stability, cell type remodeling, and responses to fluoxetine and lithium. Single-nucleus RNA-seq revealed broader cell type remodeling in group 1 than in group 2, and cell type-specific modules showed reciprocal associations that mirrored bulk

we further generated P25 hippocampal bulk RNA-seq across the same 17 lines, longitudinal P40 prefrontal profiling in representative lines, and single-nucleus RNA-seq across all 17 discovery lines including sex- and drug-treatment cohorts. We additionally analyzed three independent ASD-risk lines (Chd8-S62X, Ank2, and Shank2) and human cortical [Brodmann area 9 (BA9)] transcriptomes for cross-cohort and cross-species testing. These analyses define two opposing molecular states; their sex, regional, developmental, and cellular boundaries; and their differential responses to fluoxetine and lithium. The framework converts genetic heterogeneity into experimentally testable transcriptomic strata.

Results

Transcriptome analysis across 17 mouse lines carrying ASD-risk mutations

To evaluate whether bulk transcriptomics can mechanistically stratify ASD-risk genes, we generated prefrontal cortex RNA-seq profiles for 17 genetically engineered mouse lines that collectively model three principal biological domains implicated in ASD (6, 29, 40). The synaptic cohort comprised Grin2b, two distinct Shank3 mutants (the truncating Shank3-ΔC and the missense Shank3-L68P), and Scn2a. Chromatin and transcriptional regulators were represented by Chd8-N2373K, Arid1b, Kmt5b, Ash1l, Adnp, Myt1l, Tbr1, and Tbl1xr1. Finally, cell signaling components included Dyrk1a, Pten, Tanc2, Naa15, and Trip12 (Fig. 1A and fig. S1A).

자폐 스펙트럼 증후군 (Autism Spectrum Disorders/ASD)



사회성 결여

자폐 스펙트럼 증후군



반복행동; 제한된 관심

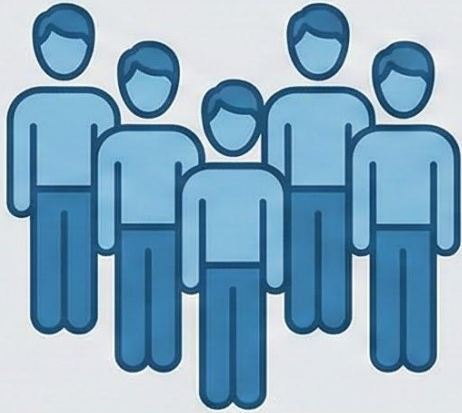
자폐 관련 증상(지적장애,ADHD,불안,간질,감각이상)



자폐의 성차 (남:여 비율 약 ~4:1)

**ASD is ~4 times more common
in males than in females.**

MALES



~4x MORE COMMON

FEMALES

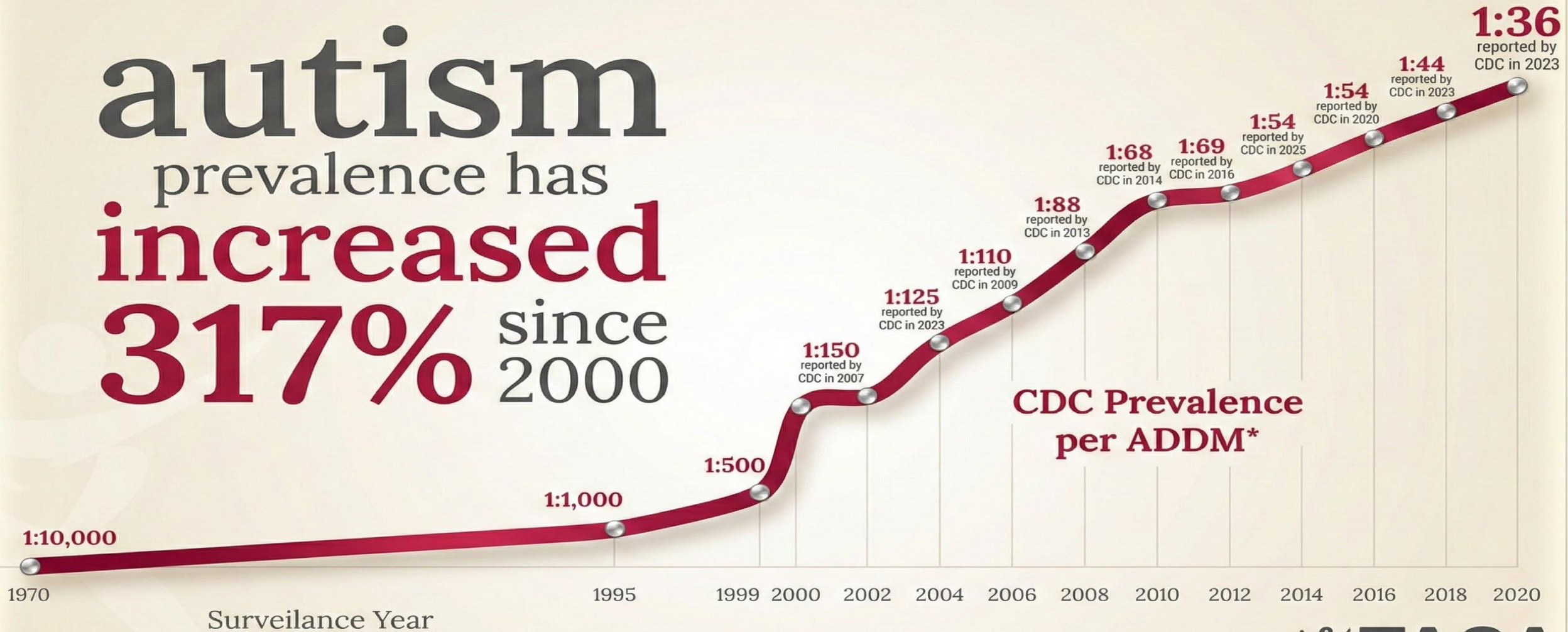


1x (COMPARISON)

Source: Various Epidemiological Studies

자폐 진단율의 가파른 증가 (지난 20년간 ~4배 증가; 2.8%)

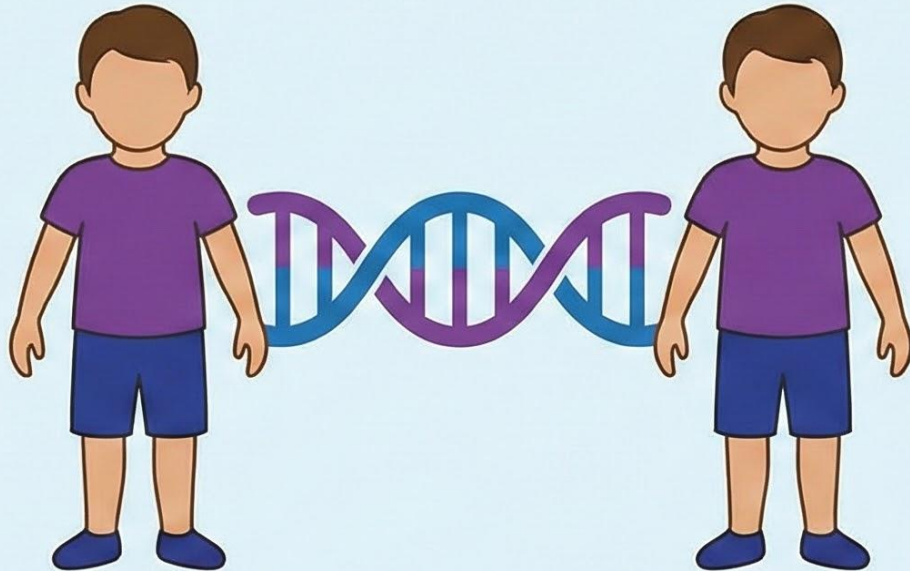
autism
prevalence has
increased
317% since
2000



*ADDM (Autism and Development Disabilities Monitoring Network)

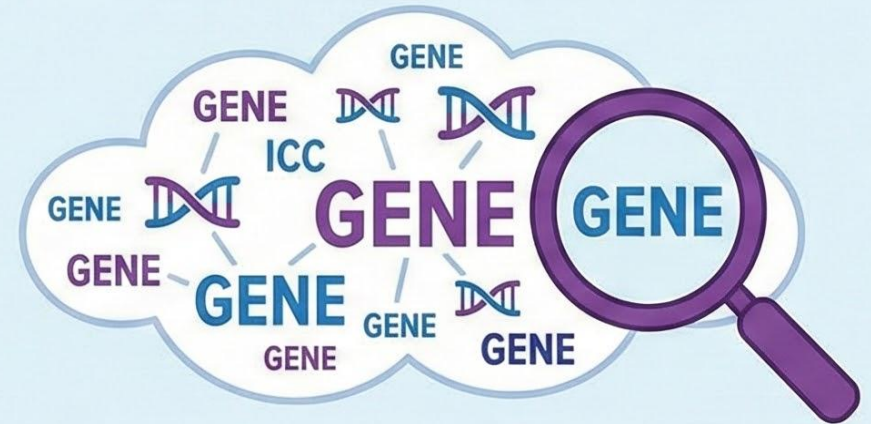
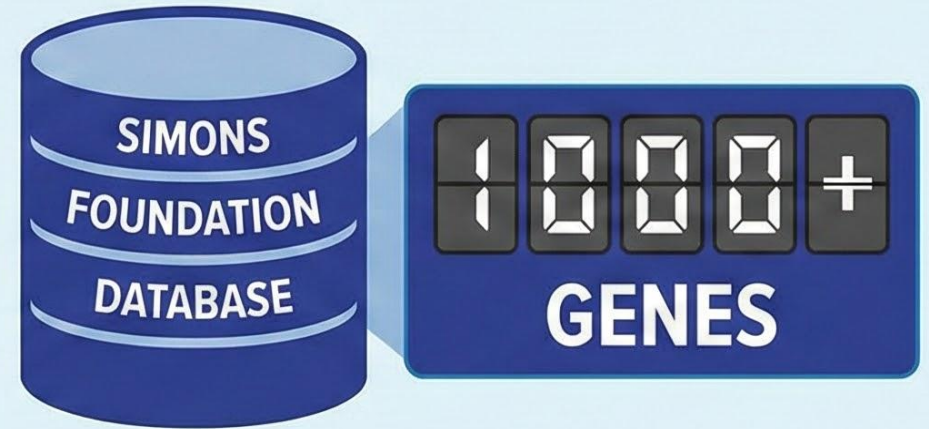
자폐(고-유전성 뇌질환, 1000 종 이상의 관련 유전자)

HIGH GENETIC HERITABILITY



Identical twins show
same ASD symptoms
(Concordance Rate)

GENETIC COMPLEXITY & RESEARCH



More than 1,000 genes
implicated in ASD

자폐 치료제 현황 (주증상 치료약물 FDA 허가 사례 없음)



CORE ASD SYMPTOMS
(e.g., Social Communication,
Repetitive Behaviors)



NO FDA-APPROVED DRUGS

Treatment is Minimal



**IRRITATION ASSOCIATED
WITH ASD**
(e.g., Agitation, Aggression,
Self-injury)



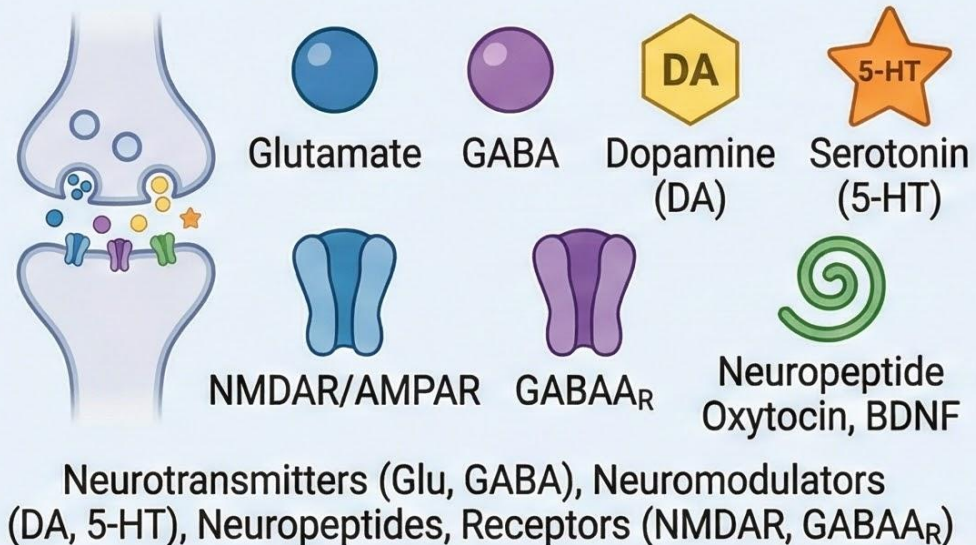
FDA-APPROVED ANTIPSYCHOTICS

Risperidone
Aripiprazole

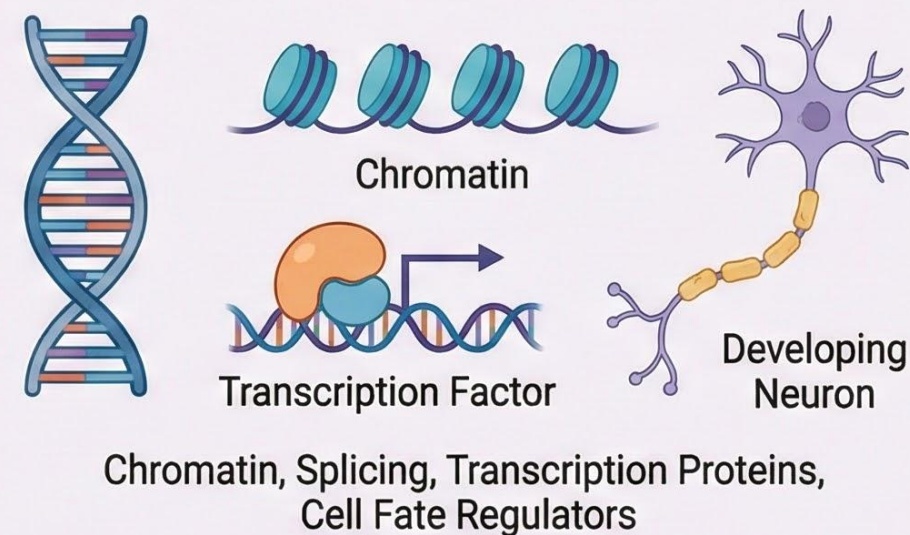
Available for Symptom Management

자폐 메커니즘

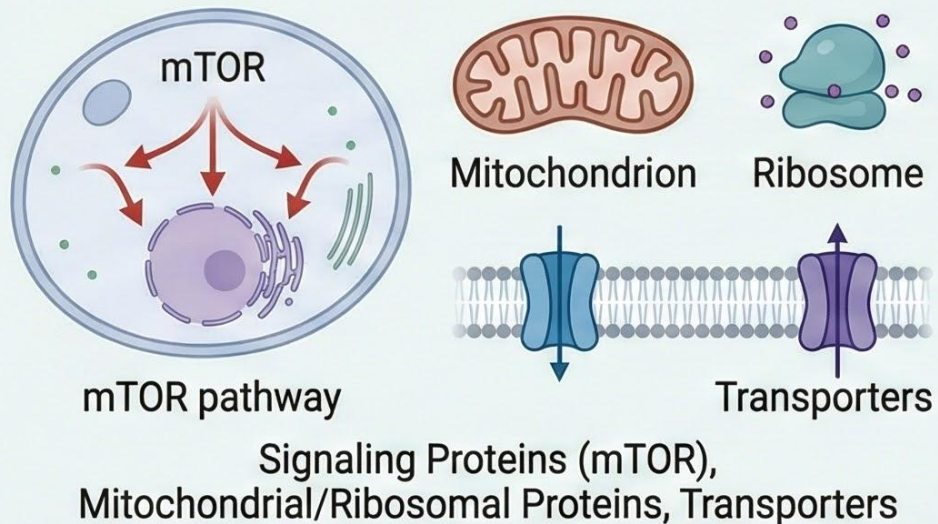
NEUROTRANSMISSION & SYNAPSE



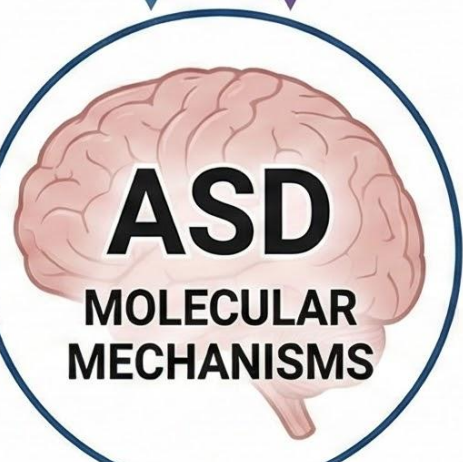
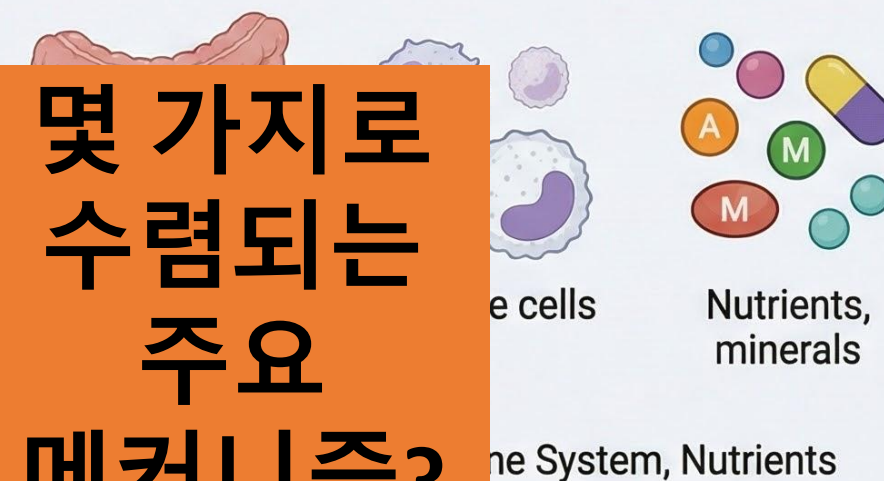
GENE REGULATION & DEVELOPMENT



INTRACELLULAR SIGNALING & METABOLISM



SYSTEMIC FACTORS



넌리
수용되는
메커니즘
부재

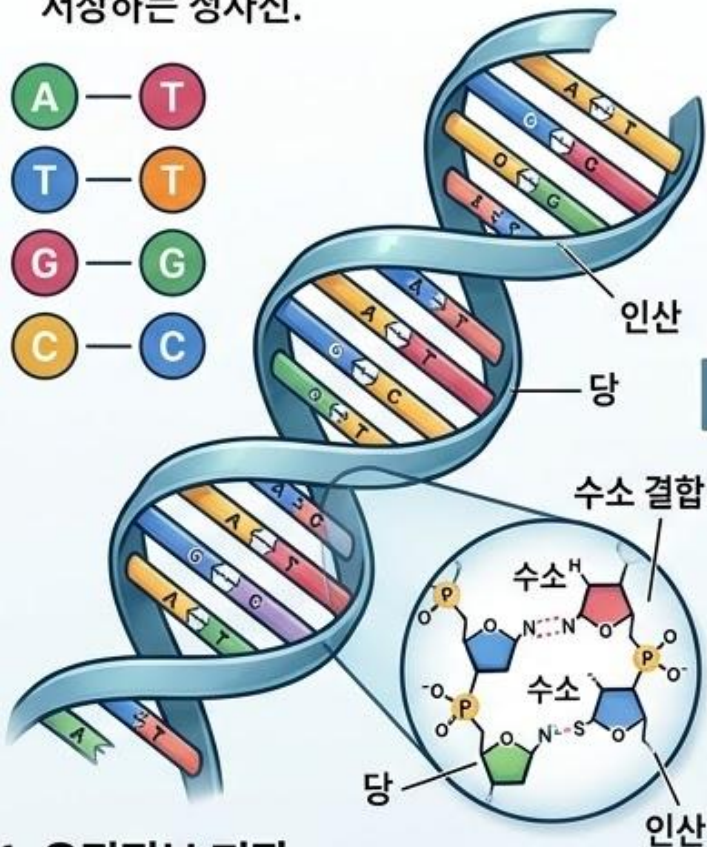
몇 가지로
수렴되는
주요
메커니즘?

유전정보의 흐름: DNA, mRNA, 단백질 설명

DNA (이중 나리보핵산)

1. 유전정보 저장

세포의 모든 유전 정보를 영구적으로 저장하는 청사진.



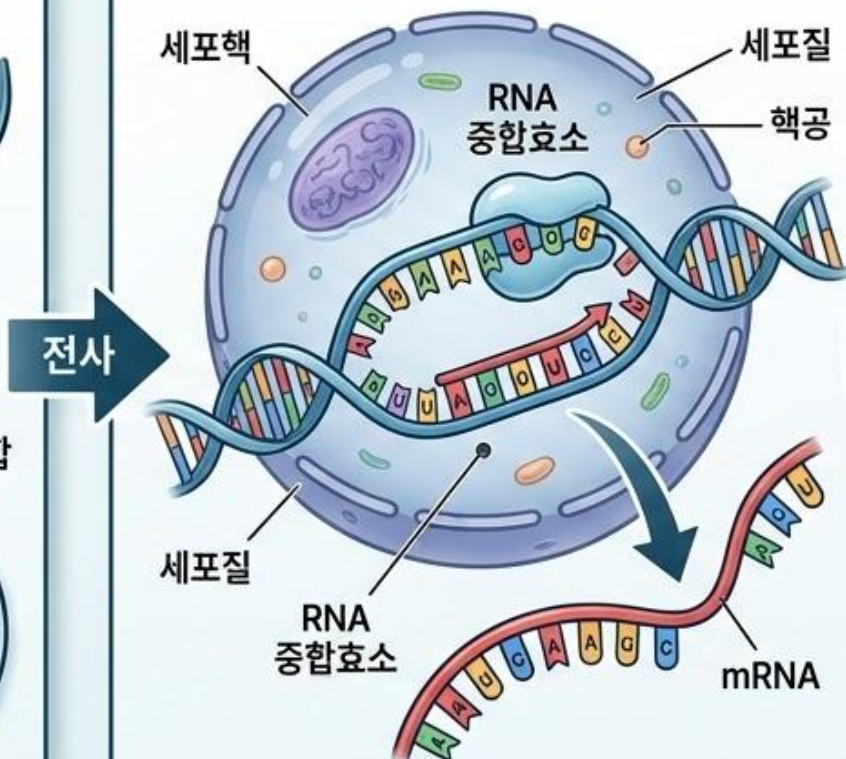
1. 유전정보 저장

세포의 모든 유전 정보를 영구적으로 저장하는 청사진.

mRNA (전사 과정)

2. 정보 전달

DNA의 유전 정보를 복사하여 리보솜으로 전달하는 메신저.



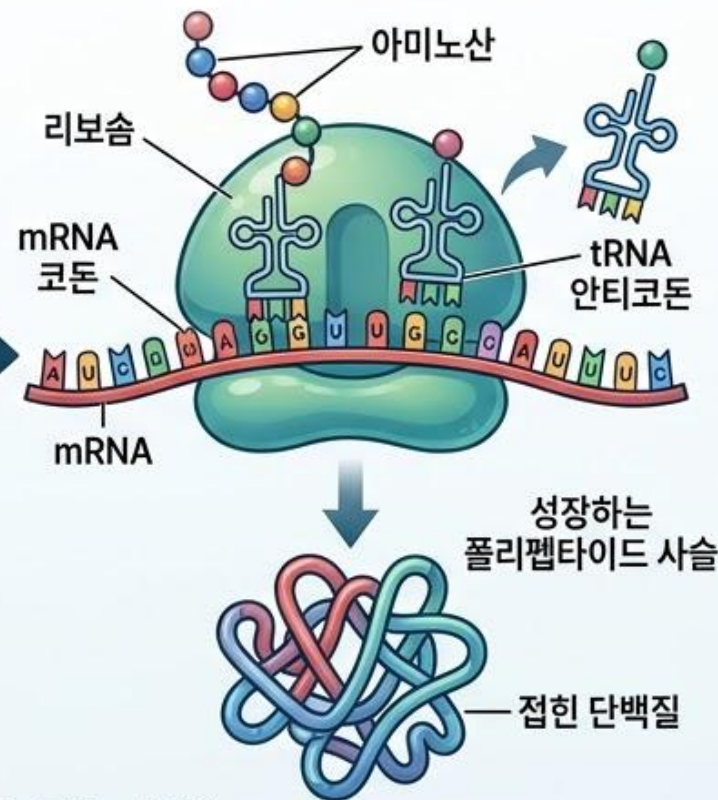
2. 정보 전달

DNA의 유전 정보를 복사하여 리보솜으로 전달하는 메신저.

단백질 (번역 과정)

3. 기능 수행

mRNA 정보를 바탕으로 아미노산을 연결하여 단백질을 합성. 생명 활동 조절 및 수행.



3. 기능 수행

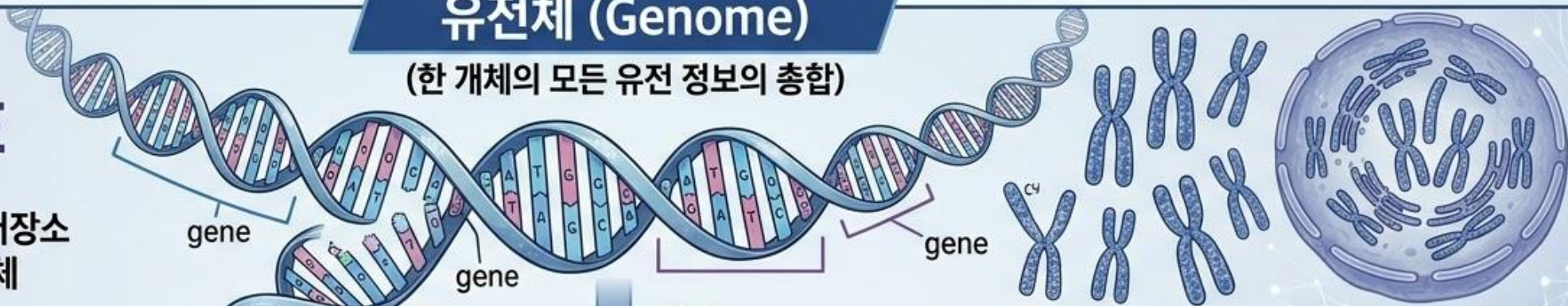
mRNA 정보를 바탕으로 아미노산을 연결하여 단백질을 합성. 생명 활동 조절 및 수행.

GENOME

1. 유전 정보의 근본적 저장소
2. DNA로 구성된 유전체

유전체 (Genome)

(한 개체의 모든 유전 정보의 총합)



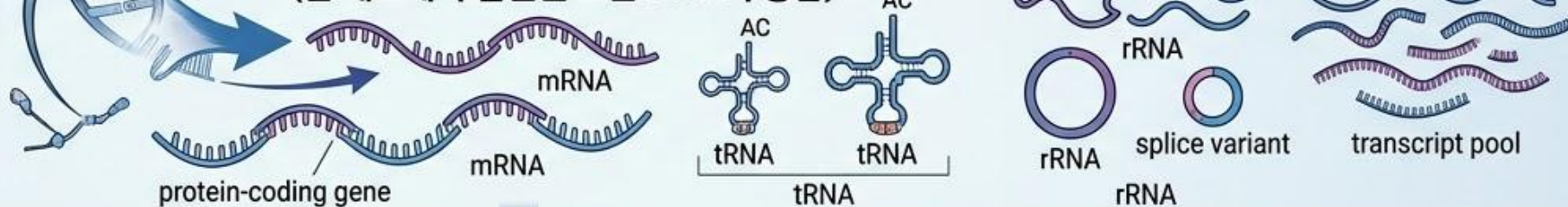
전사

TRANSCRIPTOME

3. 유전 정보의 동적인 발현
4. RNA로 구성된 전사체
5. 조직별, 조건별 발현 차이

전사체 (Transcriptome)

(한 세포에서 발현된 모든 RNA의 총합)



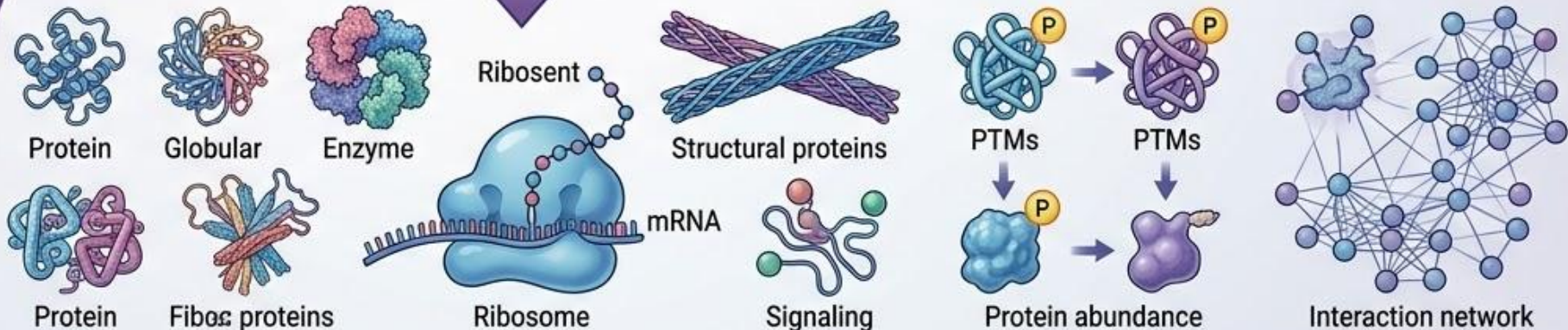
번역

단백체 (Proteome)

PROTEOME

(한 세포에서 생성된 모든 단백질의 총합)

6. 최종적인 기능적 표현형
7. 다양한 단백질의 총합
8. 세포 내 기능을 수행

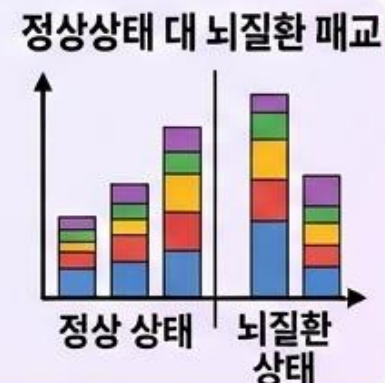
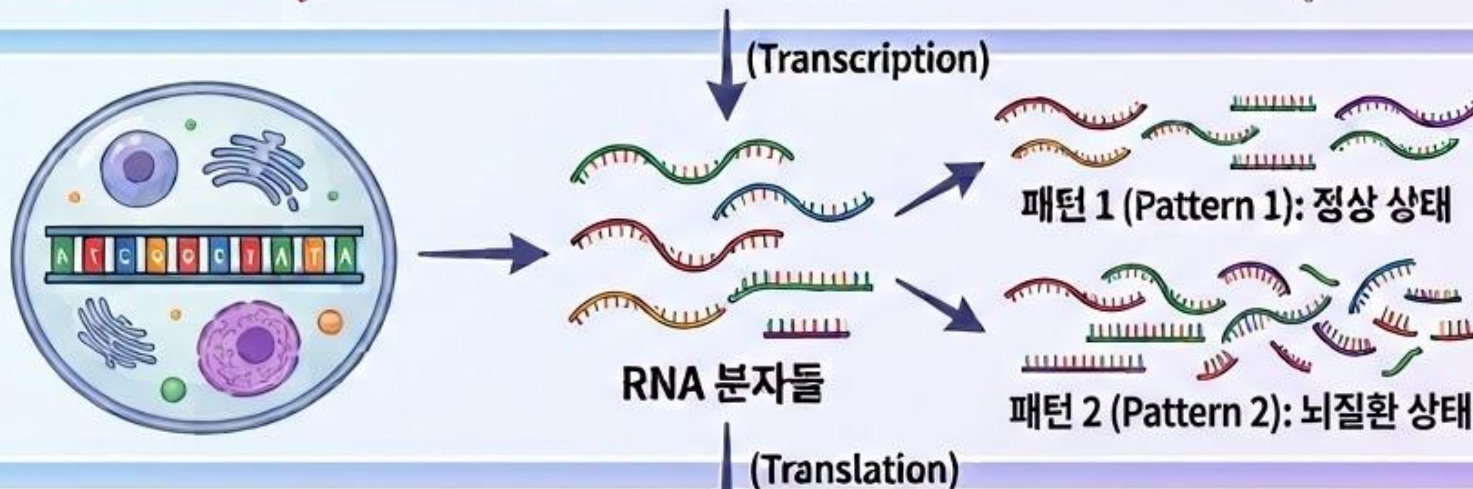


전사체/단백체가 패턴이 될 수 있는 이유 (뇌질환 예시)

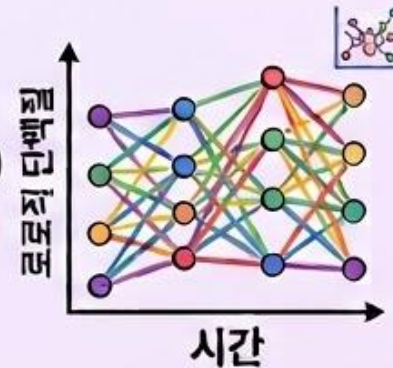
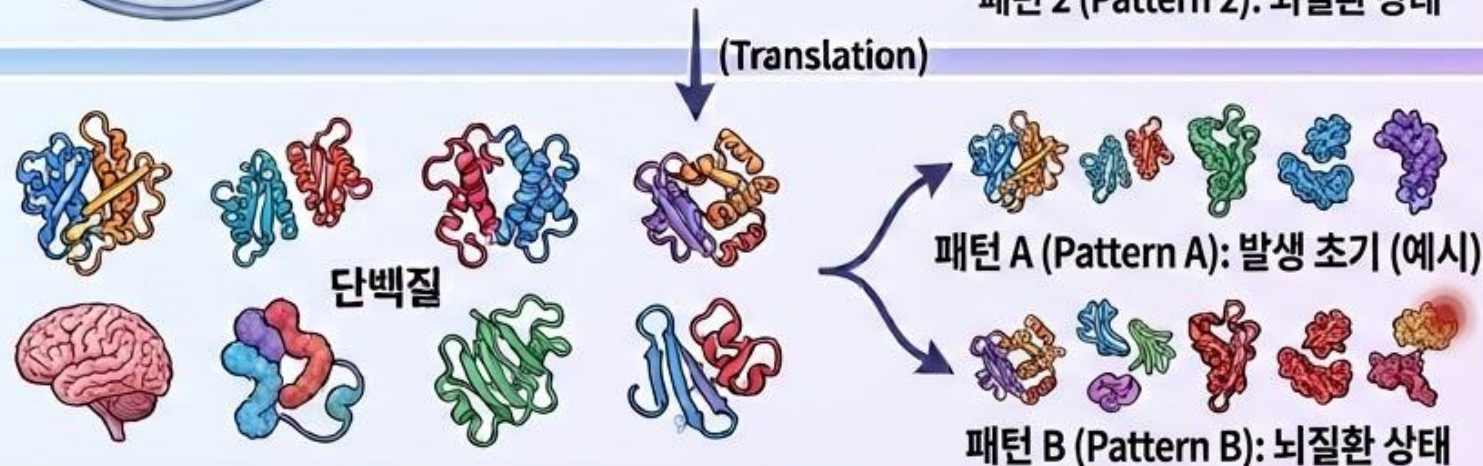
유전체
(Genome)
정적인 DNA 서열



전사체
(Transcriptome)
세포 상태에 따라
역동적인 RNA 패턴
(Dynamic RNA Patterns by
Cell State)



단백체
(Proteome)
시간과 환경에 따른
복잡한 단백질 패턴
(Complex Protein Patterns
over Time & Environment)



자폐 주요 메커니즘 탐색; 접근방법

- 전사체?
- 접근 용이 (시냅스/신경회로/행동 대비)
- 전사체는 각 유전자의 발현 대변; 기능 유추 가능
- 가설 1: 특정 자폐 돌연변이 → 전사체 변화
- 가설 2: 특정 치료 → 전사체 회복
- 전사체 변화로 약물반응 모니터링 가능
- 알려진 자폐 유전자 (> 1000 genes)
- 17종의 자폐모델생쥐 라인
- 수컷 및 암컷
- 약물 (fluoxetine/항우울제 및 lithium/항조울제; 생후 직후)
- 총 204 조합 (1008 마리 생쥐 전사체)
- Bulk RNA (총전사체; 생물학적 변화) + snRNA-seq (세포단위 전사체; ~100만 세포)
- 추가적인 자폐모델생쥐 및 환자 유래 총전사체 데이터

사용 자폐모델생쥐 종류

시냅스

유전자 발현 조절

세포신호 조절

Synapse



Grin2b



Shank3-D



Shank3-L



Scn2a

Gene regulation



Chd8-N



Arid1b



Kmt5b



Ash1l



Adnp



Tbr1



Tbl1xr1

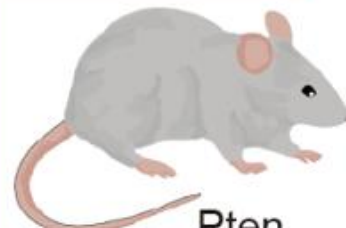


Myt1l

Signaling



Dyrk1a



Pten



Tanc2

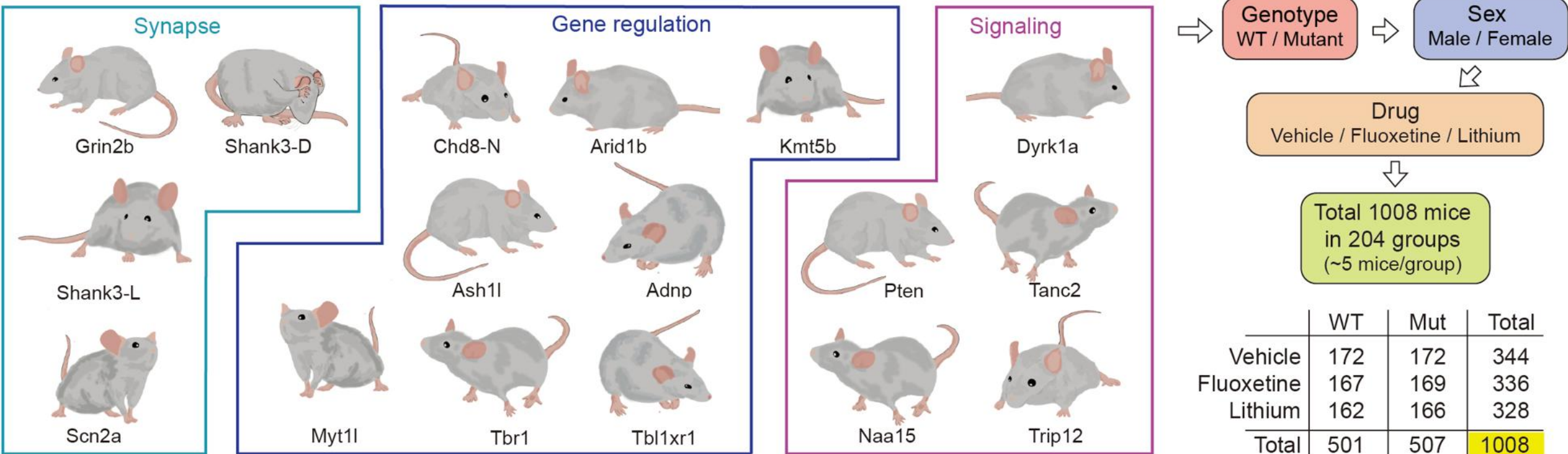


Naa15



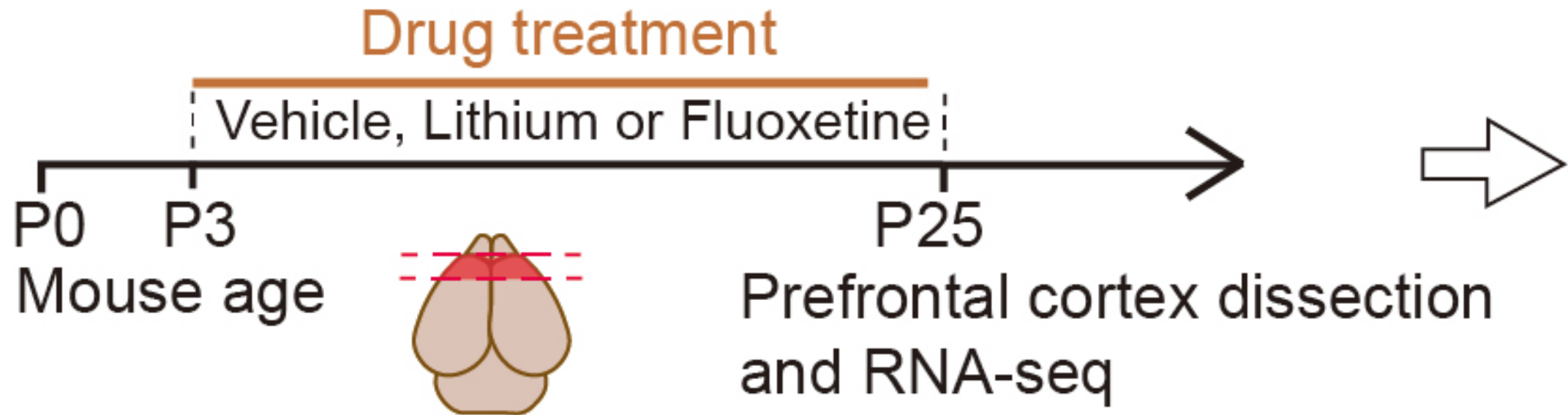
Trip12

사용 자폐모델생쥐 (유전자 x 성별 x 약물)

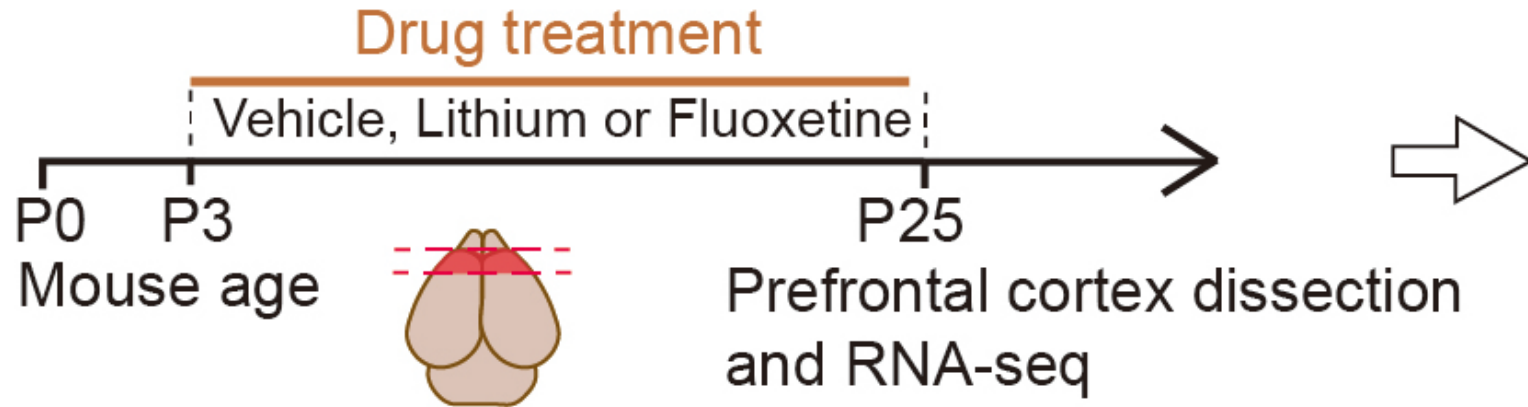


약물 투여 방법(생후 초기 3주) 및 전전두엽 (인지) 샘플

Experimental scheme



총전사체 분석 방법 (4 종)

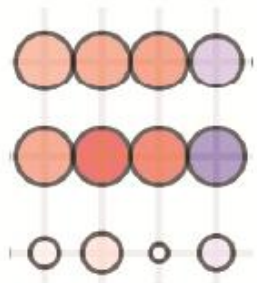


Bulk-RNA
analyses

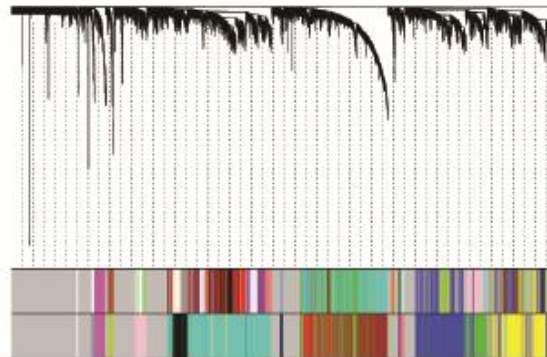
Clustering
(pairwise correlation
PCA and UMAP)



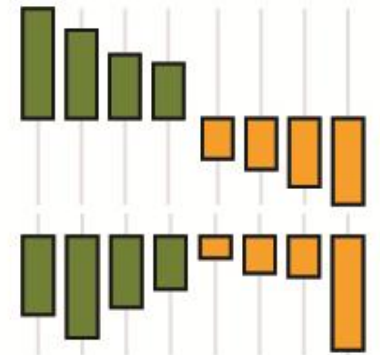
Biological
function
(GSEA)



Gene module analysis
(WGCNA)

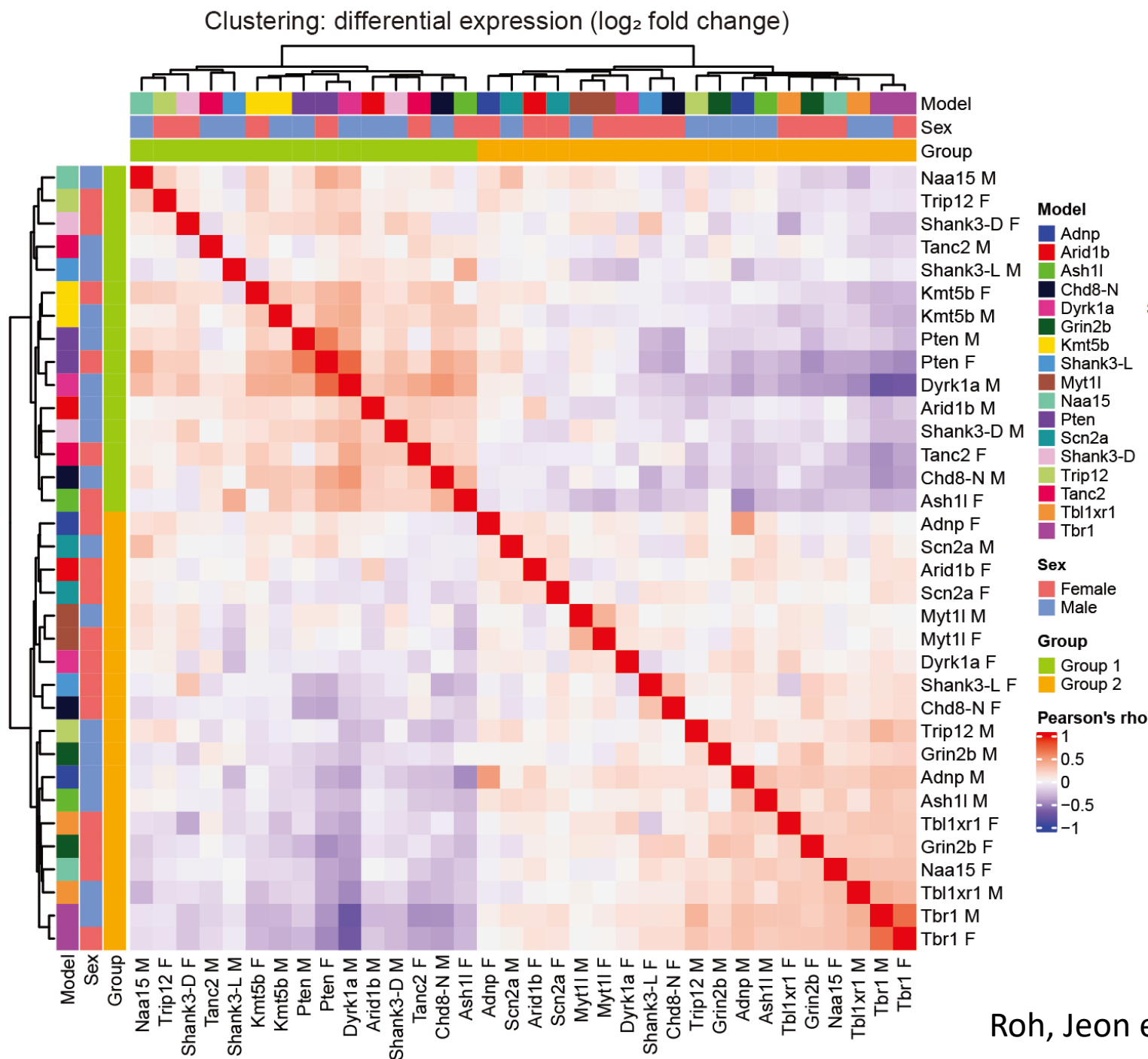


Gene module response
to drug treatment

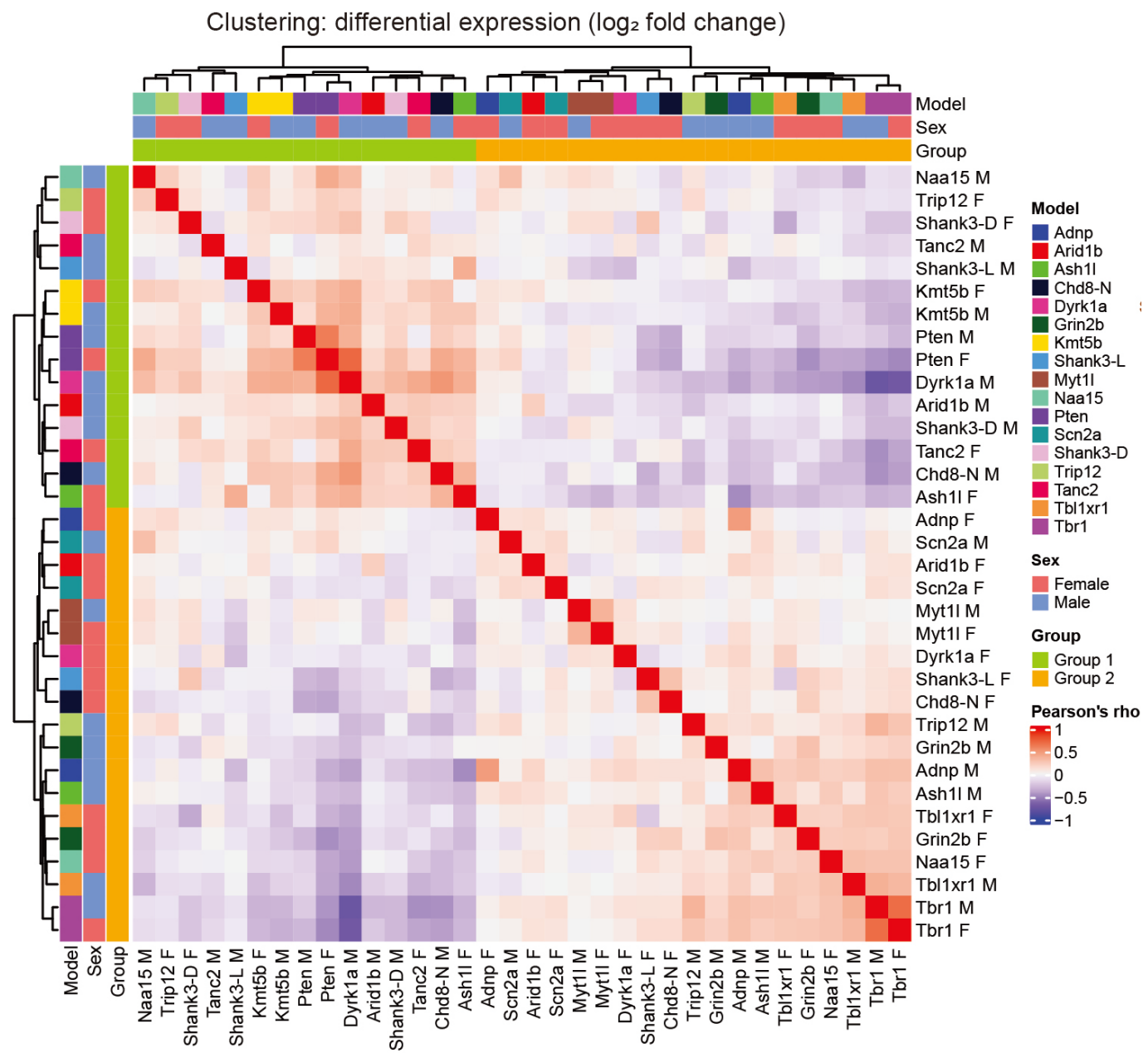


c

1008개의 총전사체 클러스터링 패턴



c



Synapse

Gene regulation

Signaling

Group 1

Group 2

Shank3-D M,F

Shank3-L M

Kmt5b M,F

Chd8-N M

Arid1b M

Ash1l F

Pten M,F

Tanc2 M,F

Dyrk1a M

Naa15 M

Trip12 F

Grin2b M,F

Scn2a M,F

Shank3-L F

Adnp M,F

Myt1l M,F

Tbr1 M,F

Tbl1xr1 M,F

Chd8-N F

Arid1b F

Ash1l M

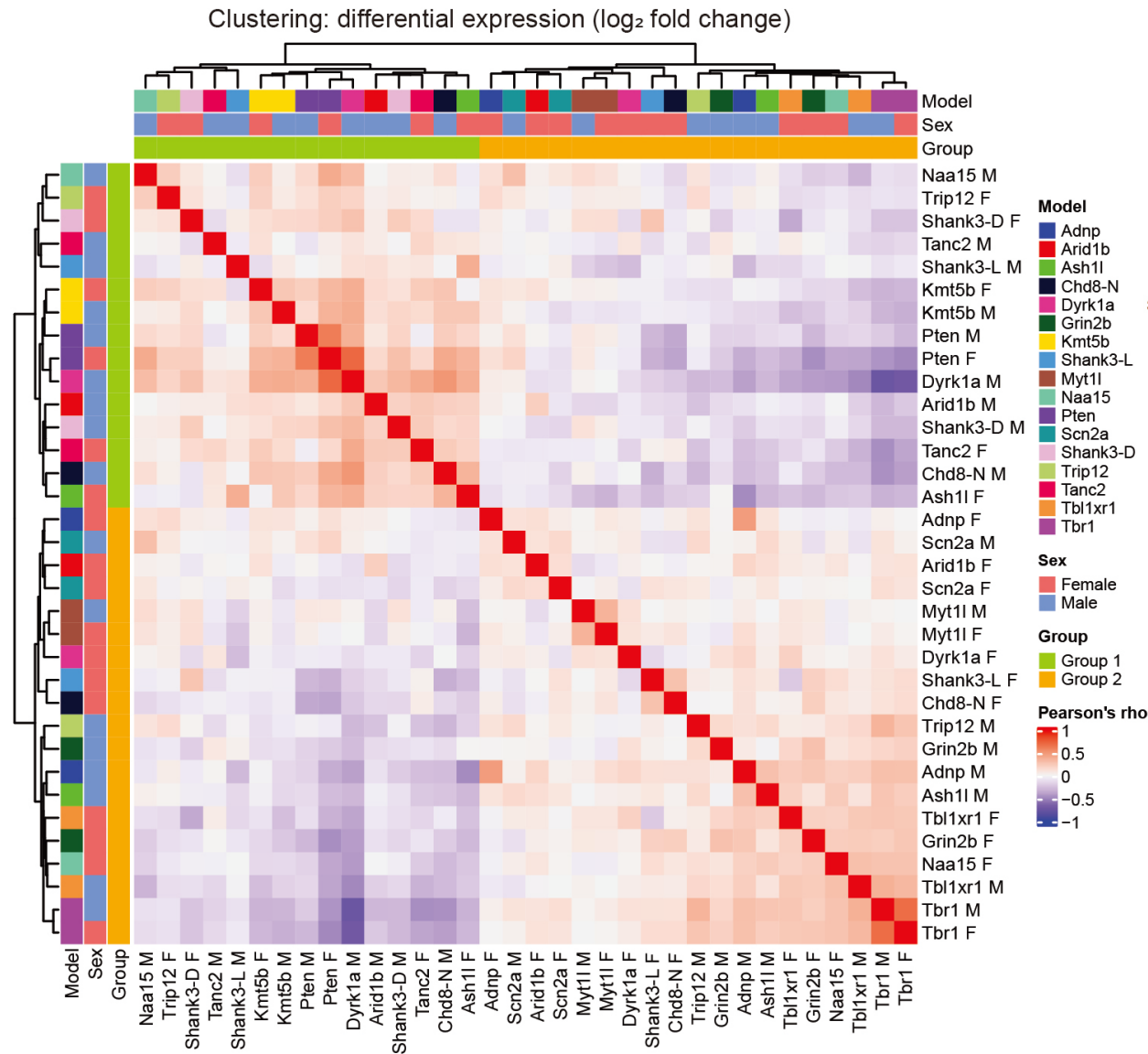
Dyrk1a F

Naa15 F

Trip12 M

전사체 그룹핑에 유전자 및 성별이 상호작용

c



Synapse

Gene regulation

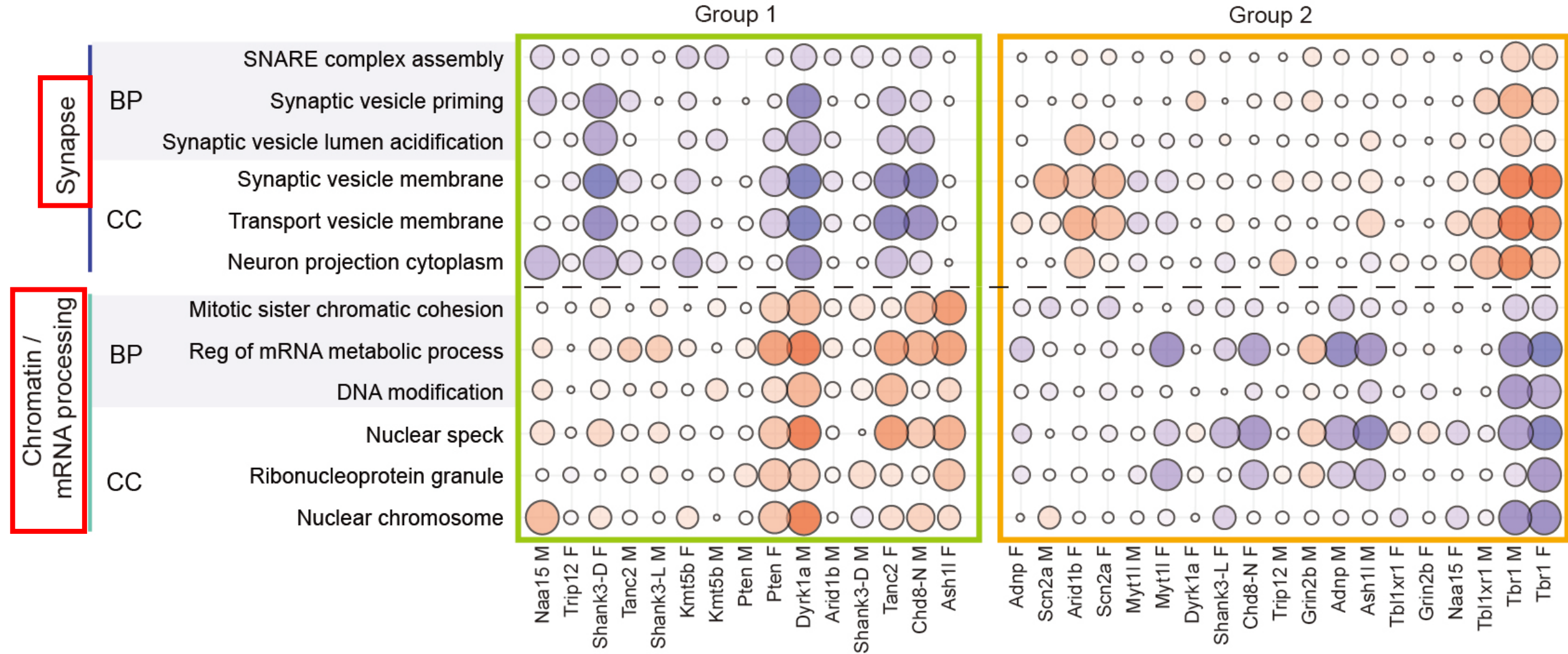
Signaling

Group 1

Group 2

	Grin2b M,F	
	Scn2a M,F	
Shank3-D M,F		
Shank3-L M		Shank3-L F
Kmt5b M,F		
	Adnp M,F	
	Myt1l M,F	
	Tbr1 M,F	
	Tbl1xr1 M,F	
Chd8-N M		Chd8-N F
Arid1b M		Arid1b F
Ash1l F		Ash1l M
Pten M,F		
Tanc2 M,F		
Dyrk1a M		Dyrk1a F
Naa15 M		Naa15 F
Trip12 F		Trip12 M

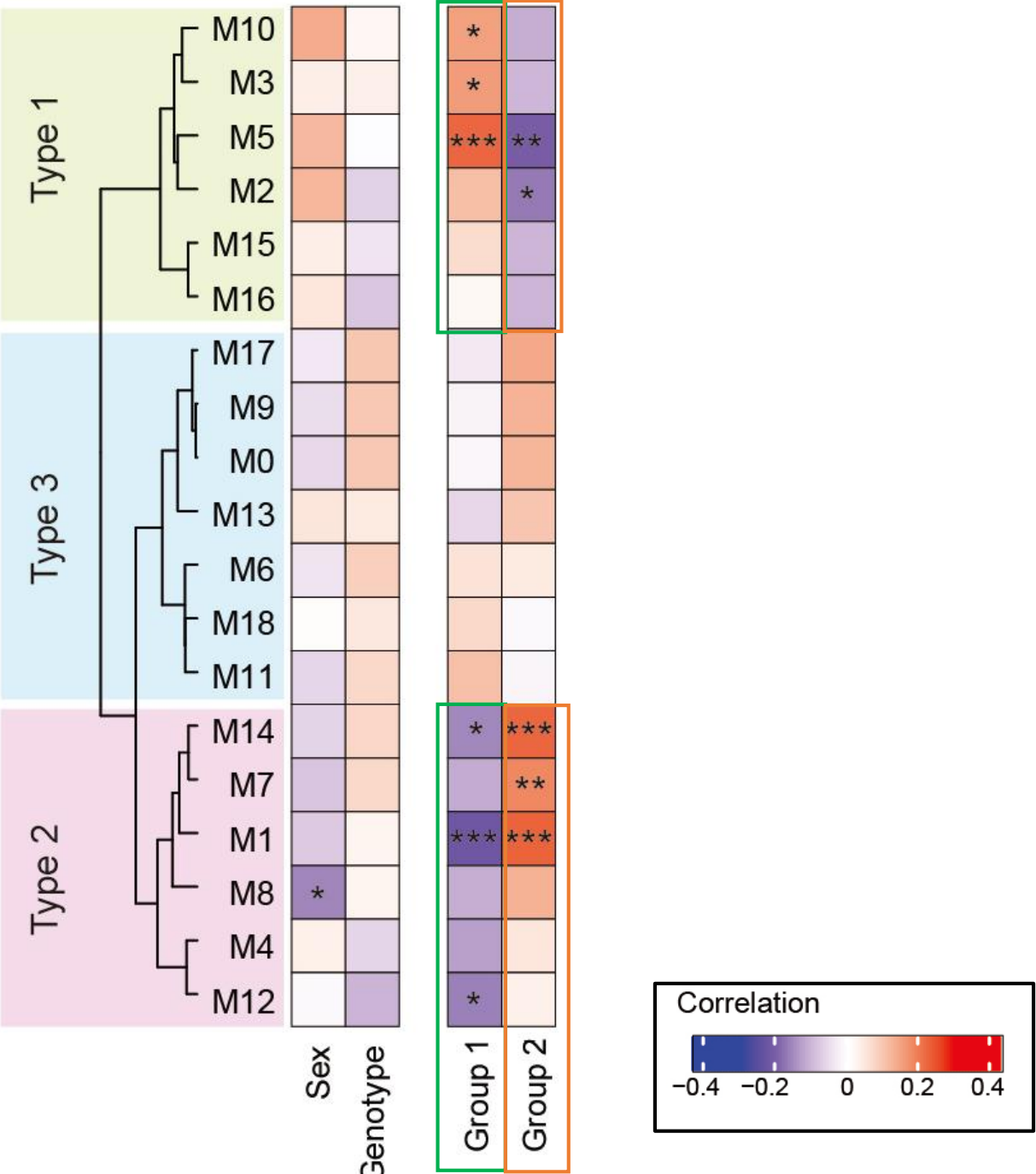
두 전사체 그룹의 상반된 생물학적 변화 (시냅스/synapse 및 유전자발현/chromatin 및 mRNA)



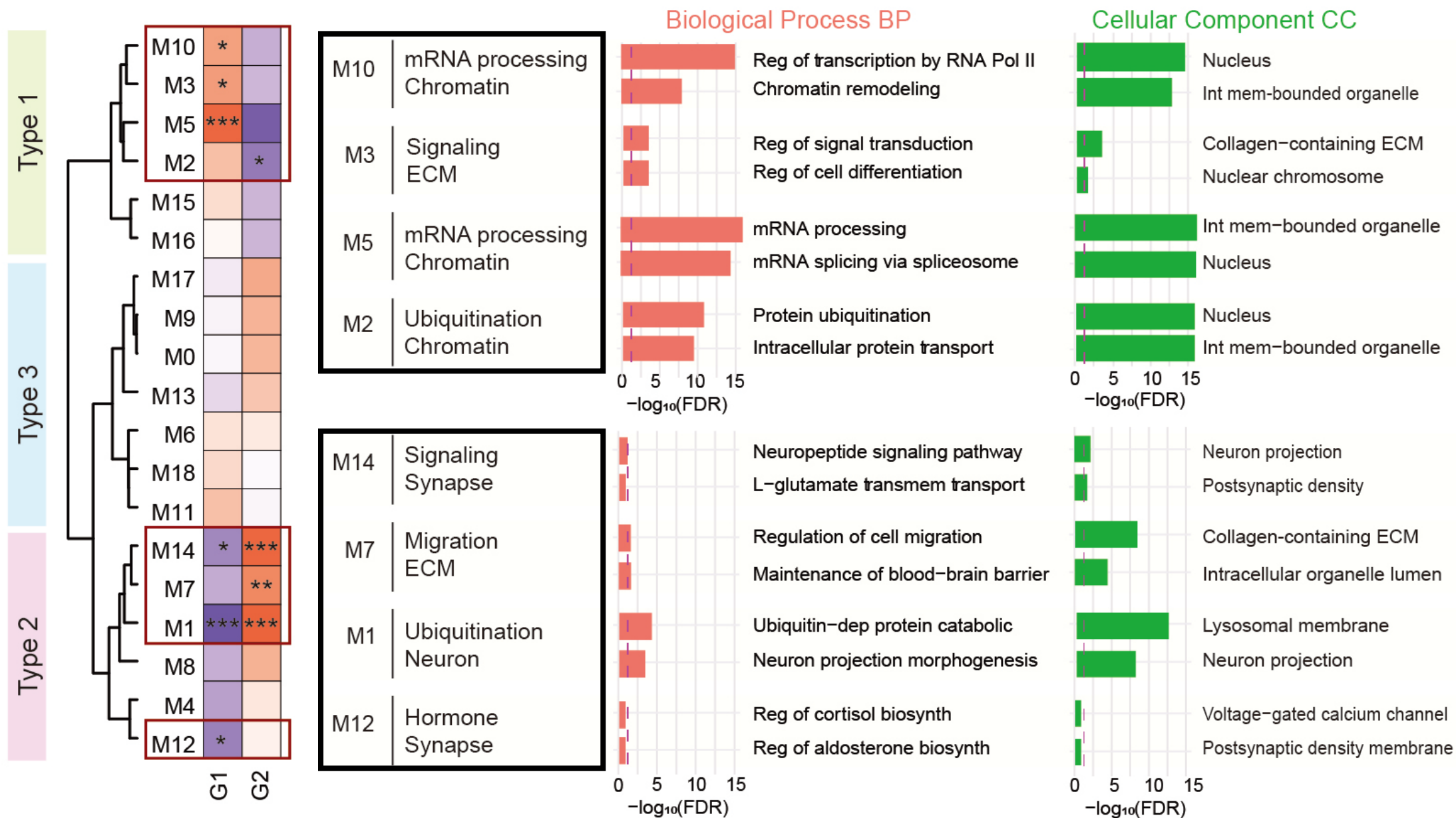
유전자 모듈 (gene module) 분석

유전자 모듈:
총전사체의
subgroup

두 전사체 그룹의
상반된 유전자
모듈 변화



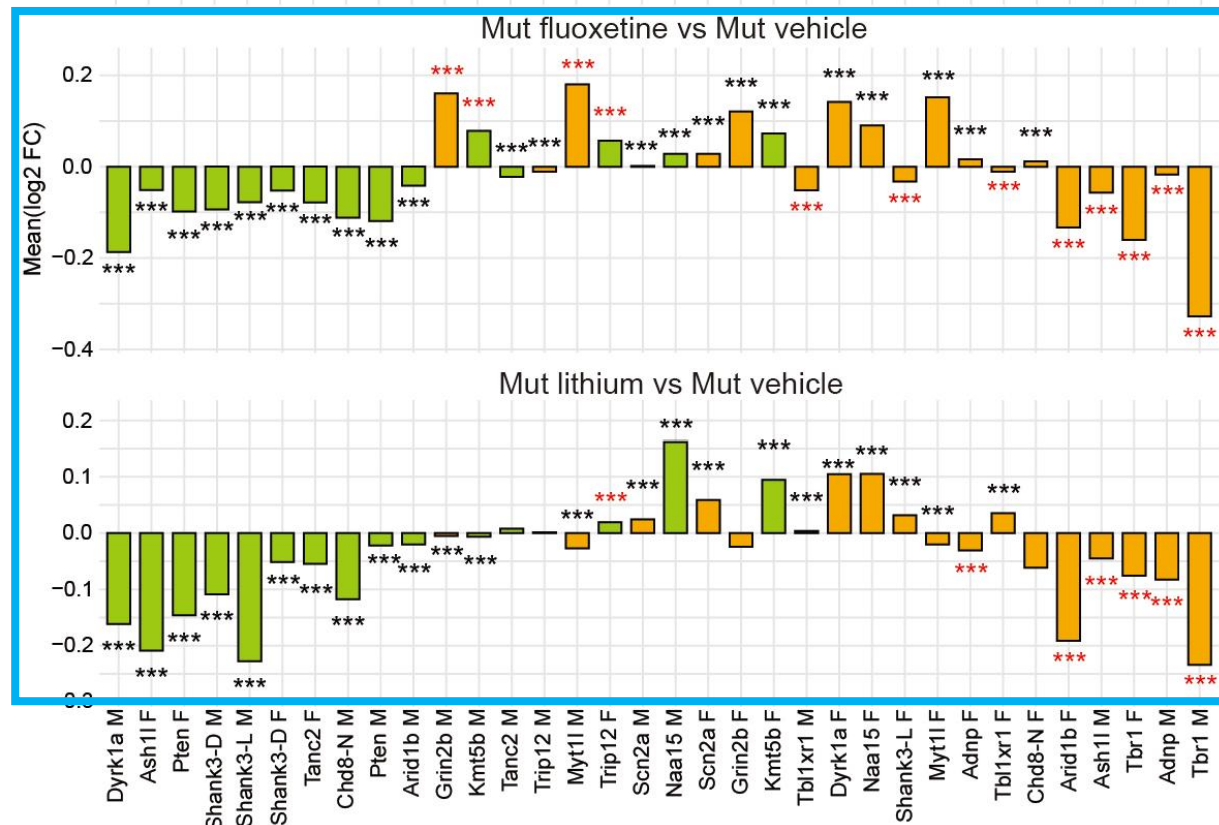
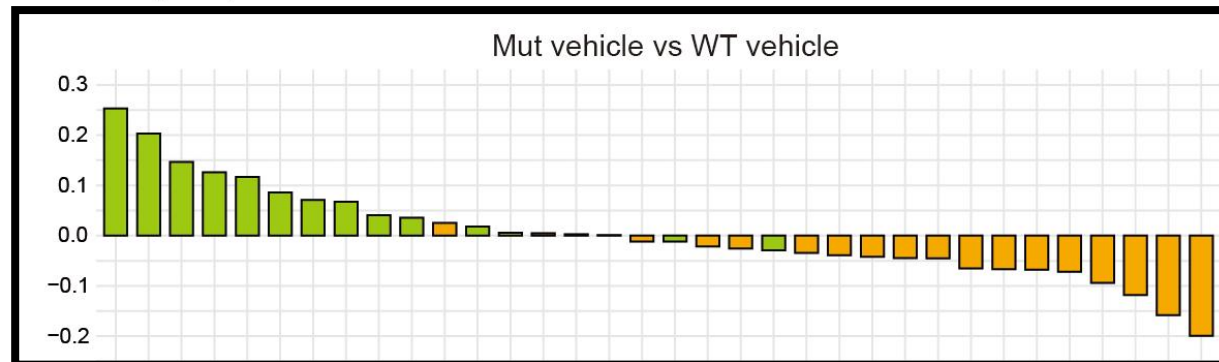
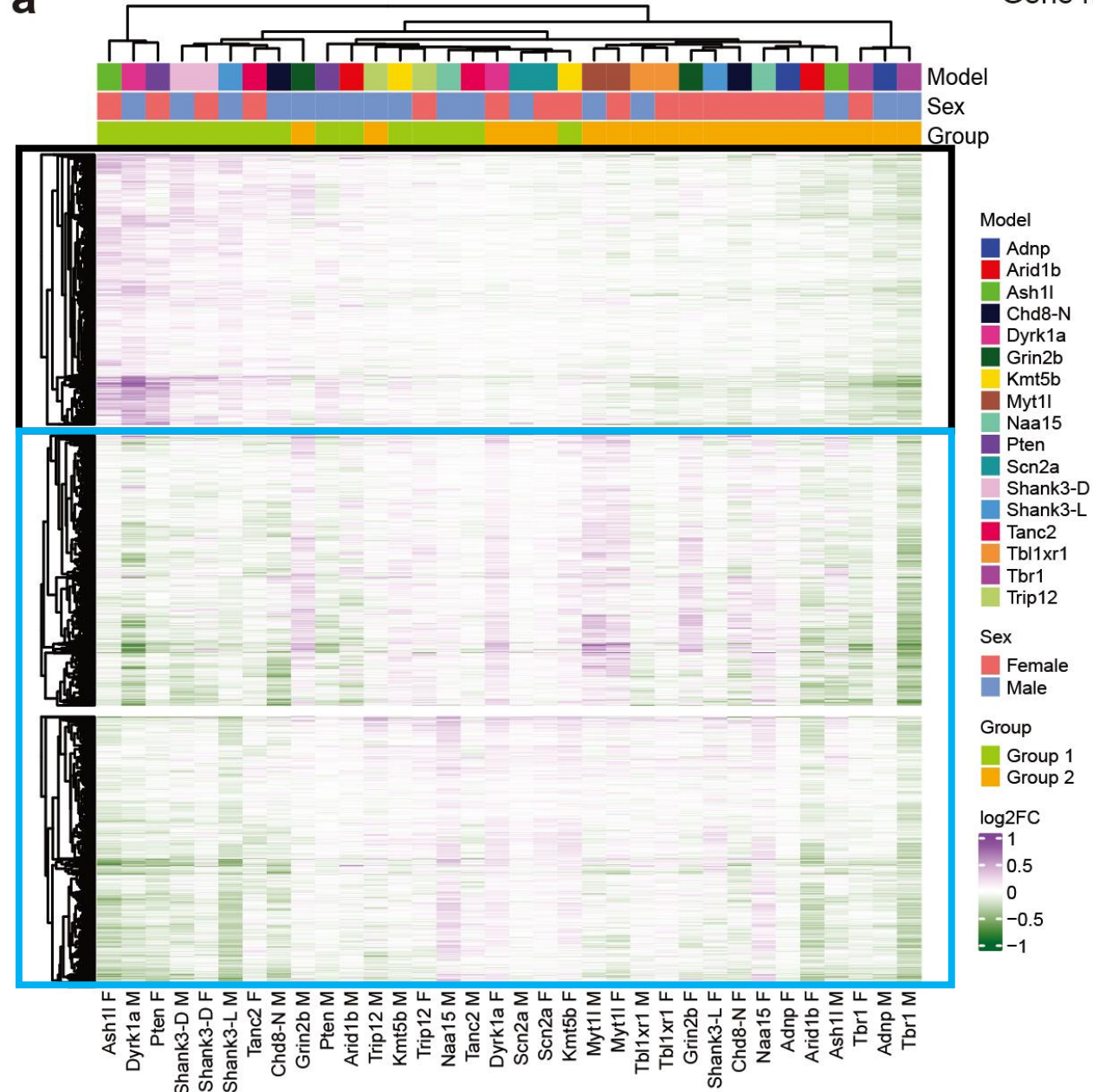
유전자 모듈의 생물학적 특성



유전자 모듈의 약물반응 (M5 모듈 케이스; G1 특이적 회복)

a

Gene module M5 drug response



여러 유전자 모듈의 약물반응 (Group 1 강세; Group 2 약세)

약물 반응/회복 인덱스 (Drug rescue index)

Median rescue index by module and group



개별 세포 전사체 분석; 그룹 1 특이적 변화

17 종의 마우스 라인

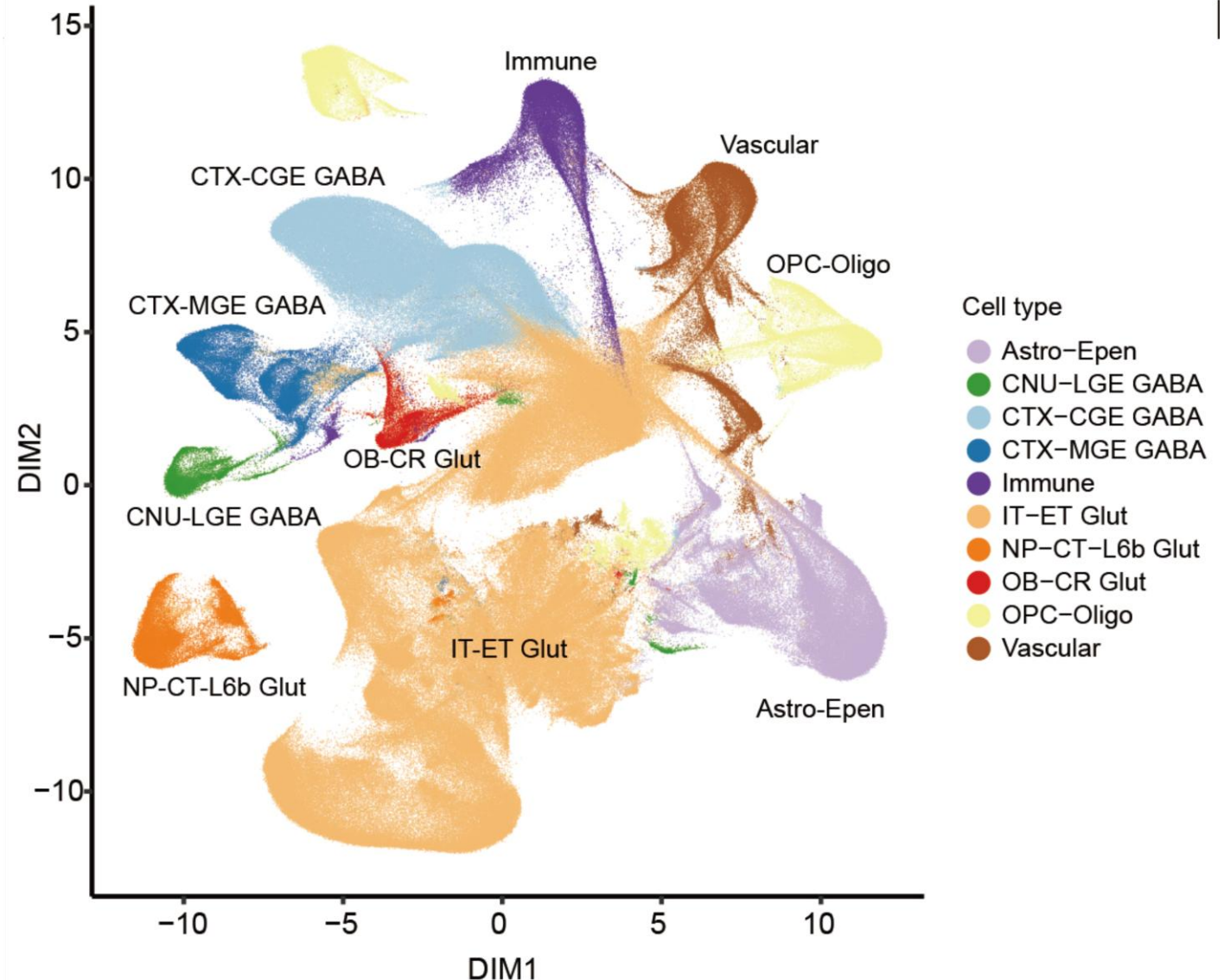
암/수

약물

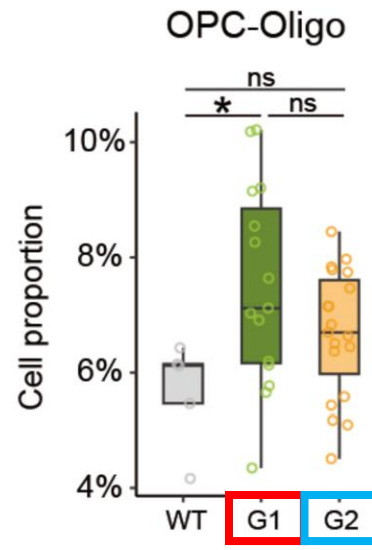
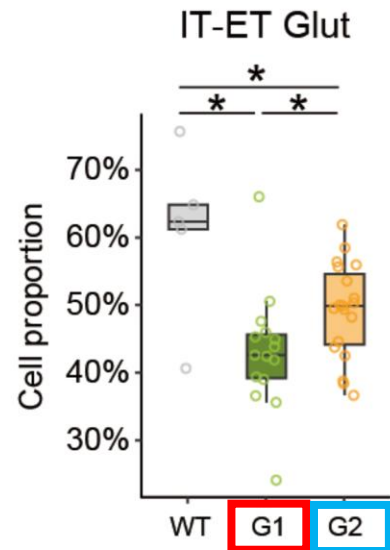
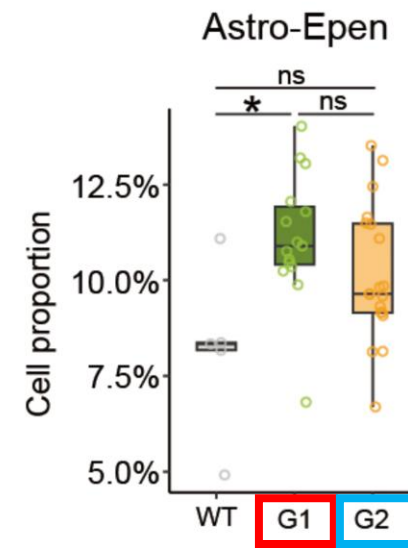
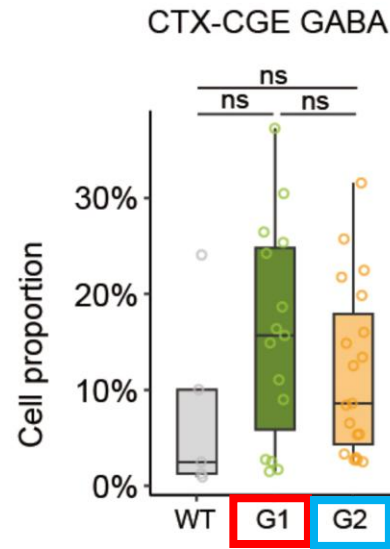
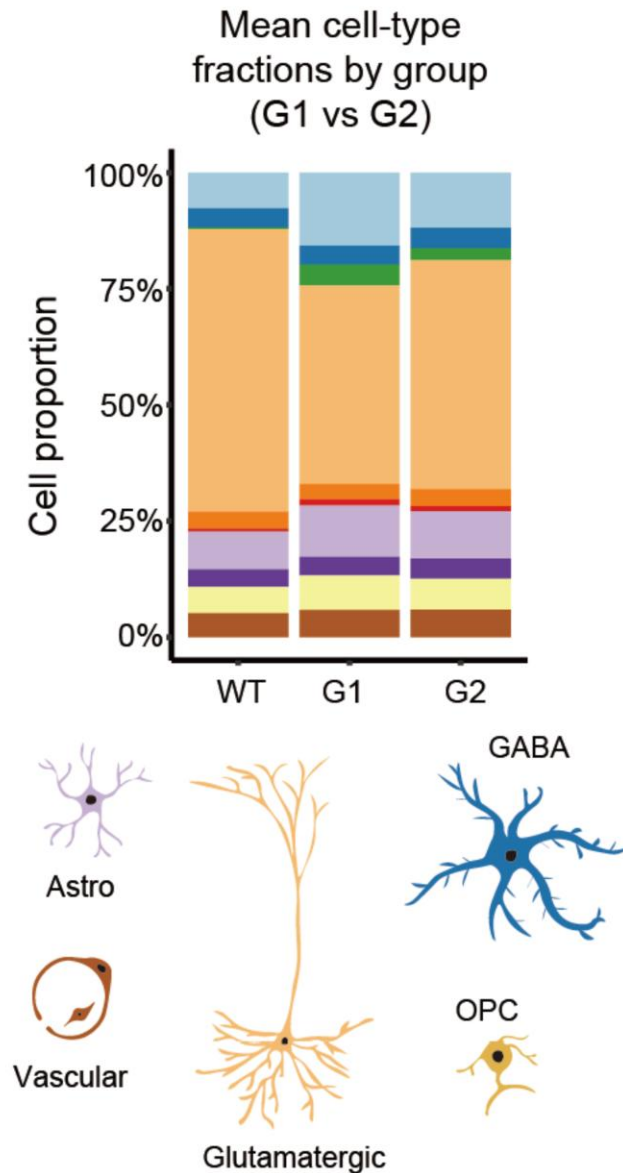
(대조군/fluoxetine/lithium)

205 mice

~백만개의 single nuclei
(생후 25일 전전두엽)



개별세포 전사체; 그룹1-특이적 세포 숫자의 변화



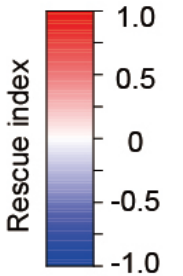
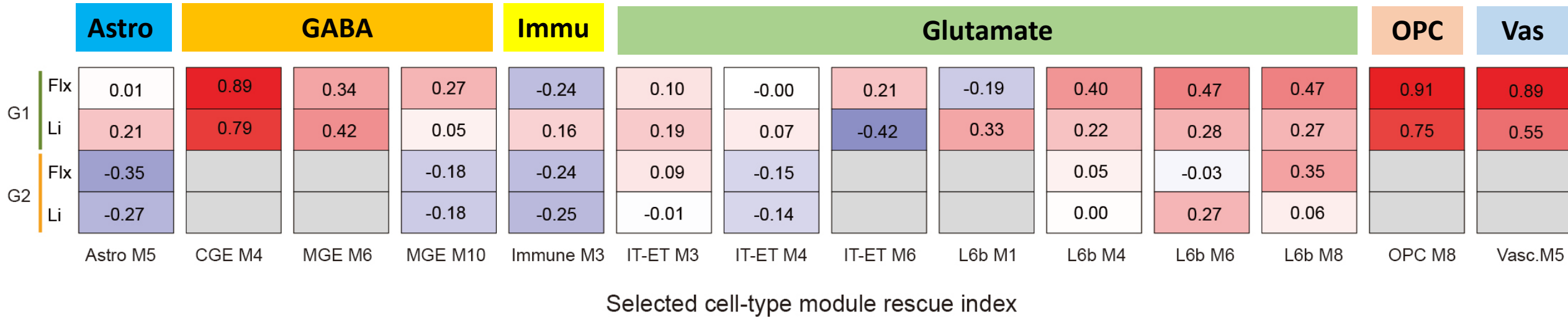
억제성
신경세포

별세포
뇌벽세포

흥분성
신경세포

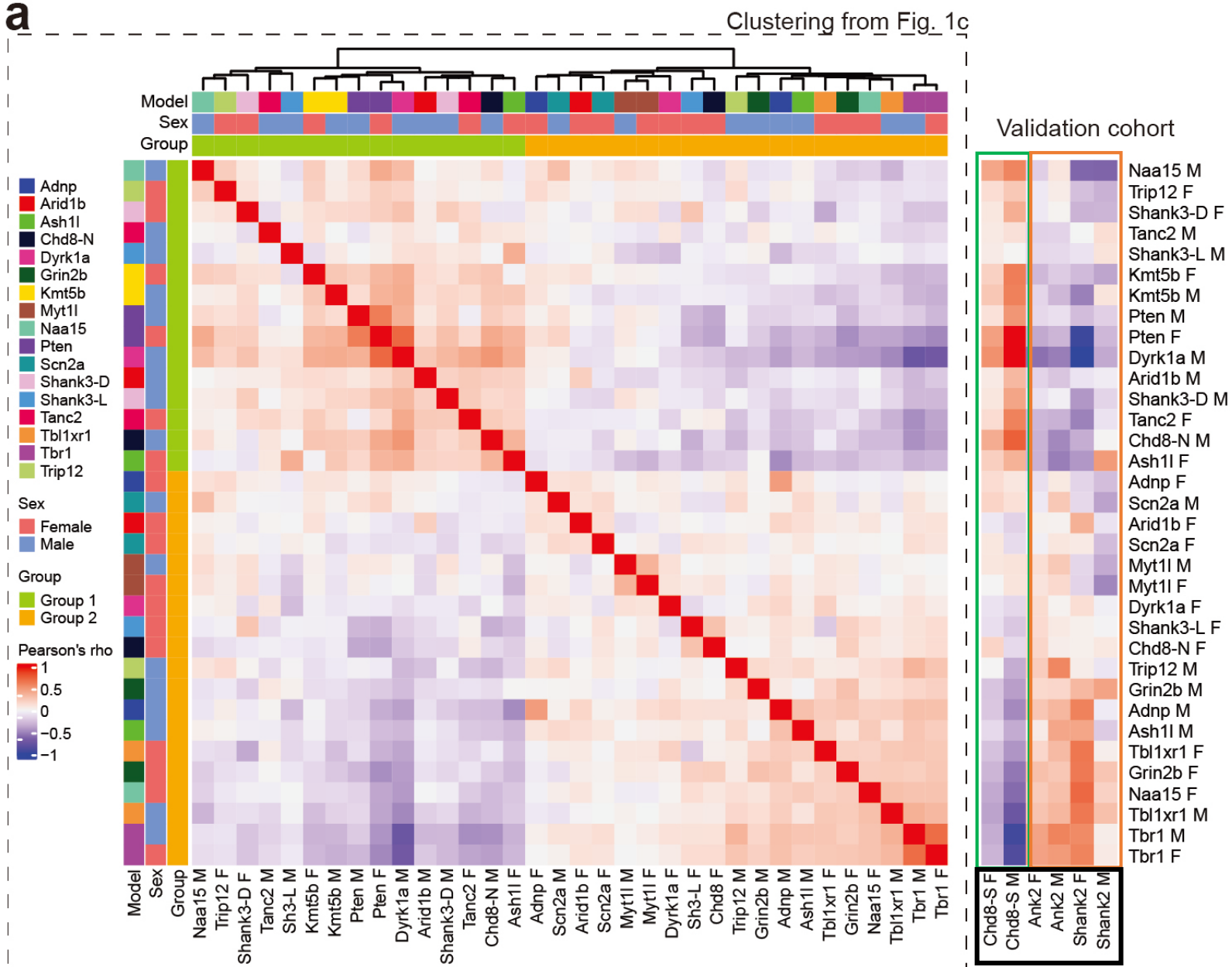
올리고덴드
로사이트

개별 세포별 유전자모듈의 그룹1 특이적 약물 반응

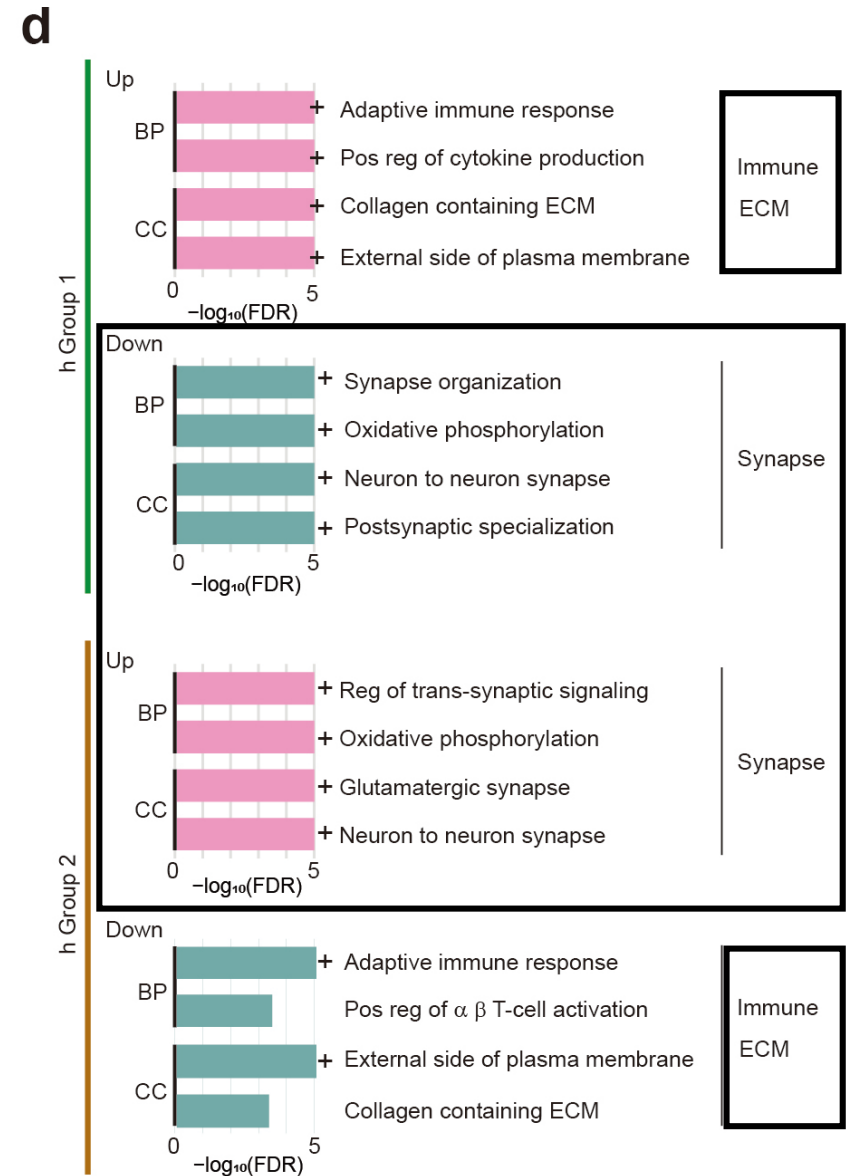
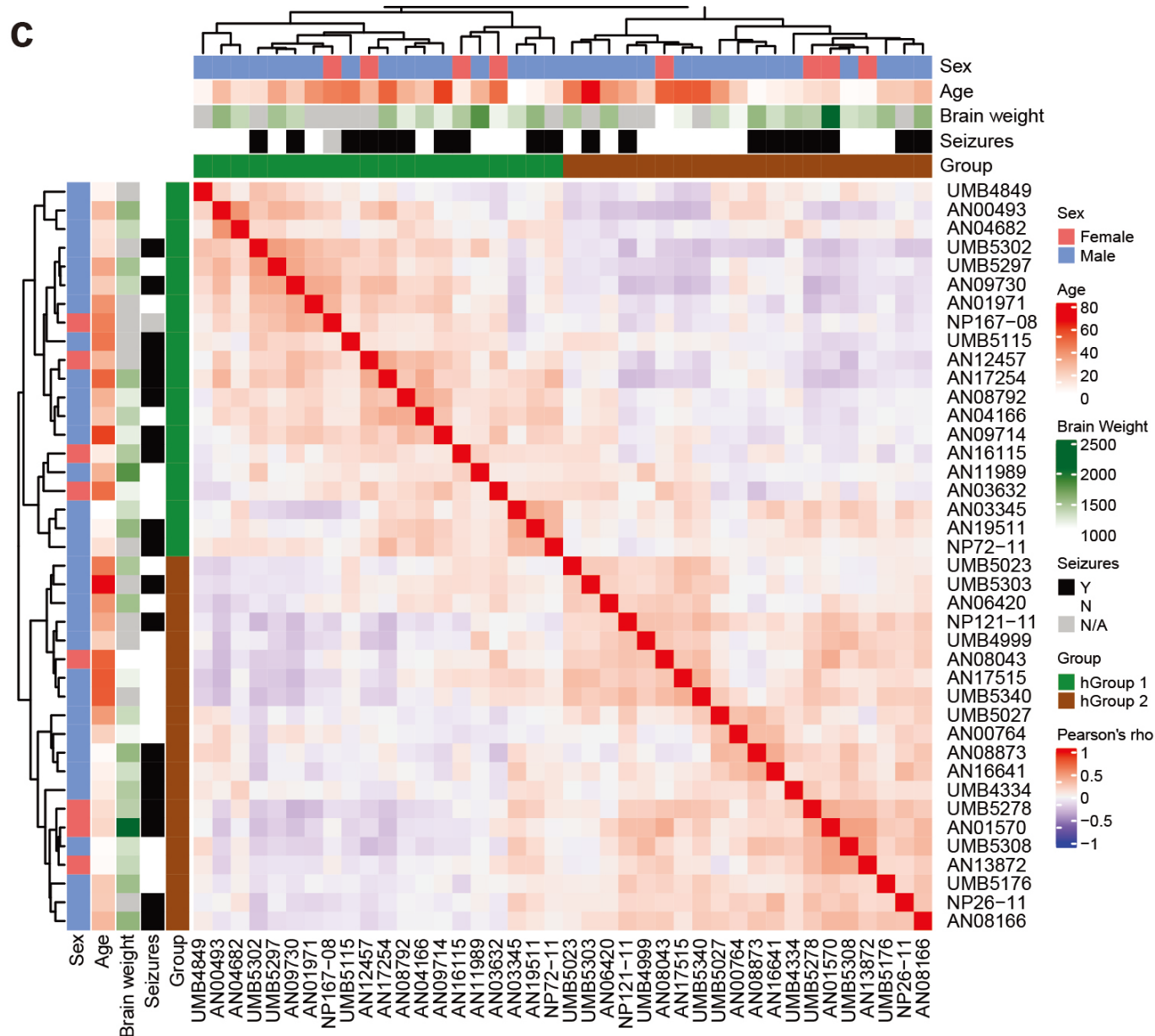


추가 자폐모델생쥐 분석 (3종; 암/수)

a



인간 자폐 총전사체 분석 (두 그룹; 상반적 생물학적 변화)



결론

- 전사체 그룹 1 및 2
- 그룹 특이적 생물학적 변화
- 그룹 특이적 약물반응
- 그룹 특이적 개별세포 전사체 변화
- 추가적인 자폐모델생쥐 분석
- 인간 자폐 총전사체와 연관
- 결과 요약: 전사체를 이용한 약물반응 예측 가능
- 결과의 의미: 인간 자폐의 분자적 세분화 및 자폐
정밀치료를 향한 첫 걸음

향후 연구 방향

- 다른 뇌영역 및 발달 단계
- 추가 자폐생쥐모델 분석
- 추가 약물 분석
- 단백질 분석 (전사체와의 비교)
- 뇌신경회로 연결 분석
- 뇌파 측정 (동물/인간)
- 뇌영역별 신경세포 활성화도 측정
- 인간 뇌신경세포 및 오가노이드 이용 자폐 그룹핑 (바이오마커, 줄기세포)
- 다른 뇌정신질환(지적장애, ADHD, 조현병 등)으로의 확장

감사합니다!!!



KAIST