

総括研究報告書

1. 研究開発課題名： 「がんエピゲノム異常を標的とした治療・診断法の開発」（発がんに関わるヒストン修飾酵素を標的とした抗がん剤の開発）
2. 研究開発代表者： 伊藤 昭博（国立研究開発法人理化学研究所 吉田化学遺伝学研究室）
3. 研究開発の成果

細胞のがん化には遺伝子自体の変異のみでなく、エピジェネティックな遺伝子発現の異常も重要な役割を果たしていることが近年明らかになってきている。ほぼ全てのがん細胞でエピゲノム異常が蓄積されており、その制御は新しいがん治療法の開発に繋がる。エピジェネティック制御の中心は、ヒストンの化学修飾（アセチル化およびメチル化）と DNA のメチル化である。したがって、それら修飾酵素や修飾基認識因子が抗がん剤開発のための新規分子標的となる。

本研究では、エピゲノム因子を標的とした新しいがん治療法の確立を目的とし、発がんあるいはがんの発育進行に関わることが示唆されるヒストン修飾酵素について抗がん剤開発研究を実施した。

1. ヒストンリジンメチル化酵素を標的とした抗がん剤開発研究

ヒストン H3K4 メチル化酵素 Set7/9 の阻害剤として同定した cyproheptadine の最適化のため、SET7/9 と cyproheptadine の複合体の X 線結晶構造の情報を基に類縁体を多数合成し、構造活性相関研究を推進した。その結果、親化合物より阻害活性が増強した化合物を得ることに成功した。

ヒストンリジンメチル化酵素 A については、シード化合物との X 線結晶構造の情報を基に化合物の最適化を実施した。In vitro 酵素阻害活性に加えて、ヒストンメチル化レベルを指標にした細胞内の阻害活性、肝ミクロゾームを用いた代謝安定性、細胞膜透過性試験（PAMPA）等を行い、薬物動態試験（PK 試験）を実施する化合物を選別した。さらに代表的な化合物について、他のヒストンメチル化酵素サブタイプ選択性について検討し、30 種類以上のヒストンメチル化酵素関連酵素に対して 1,000 倍以上の選択性を有する化合物の取得に成功した。がん細胞パネル試験によりヒストンメチル化酵素 A 阻害剤に対して高感受性を示した肺がん細胞を用いたマウスゼノグラフトモデルにより化合物の抗腫瘍活性を検討した。

2. ヒストン脱アセチル化酵素を標的とした抗がん剤開発研究

ヒストン脱アセチル化酵素 B について、シード化合物との X 線結晶構造の情報を基に化合物の最適化を実施した。開発中の阻害剤の問題点として、難溶解性、非特異的なタンパク質吸着（アルブミン結合率）があり、これが in vitro の阻害活性に比べて、細胞レベルでの効果が弱い原因であると思われた。そこで、溶解性、アルブミン結合率の改善に焦点を当てた最適化研究を実施した。溶解性、アルブミン結合率の改善した化合物は、がん細胞の増殖をより顕著に抑制することが分かり、溶解性、アルブミン結合率の改善が化合物の抗がん活性の増強に重要であることを示した。

3. 発がんに関わるその他ヒストン修飾酵素阻害剤の探索

がん細胞の薬剤耐性に関わることが示唆されているヒストン脱メチル化酵素 C について、HTS により見出されたヒット化合物の選択性およびシフェラーゼレポーターアッセイ系を利用し細胞評価系により、細胞で効く複数のヒストンヒストン脱メチル化酵素 C 阻害剤の同定に成功した。

発がんと密接に関わるヒストン化学修飾を認識するリーダータンパク質 D について、Alpha テクノロジーを利用した確立したヒストン化学修飾とリーダータンパク質 D の結合活性を検出可能なアッセイ系を用いて、インシリコスクリーニングにより選択された化合物を評価し、ヒストン化学修飾とリーダータンパク質 D の結合活性を阻害する化合物を同定した。