

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」（ヒストン脱メチル化酵素を標的とした特殊ペプチド創薬と医療応用）
2. 研究開発代表者： 菅 裕明（国立大学法人東京大学大学院理学系研究科）
3. 研究開発の成果

本研究開発においては、がんエピゲノム異常、特にヒストン脱メチル化酵素(KDM)を標的とした新しい薬剤の開発を目指し、独自に開発した RaPID (Random non-standard Peptide Integrated Discovery) システムを用い、大環状特殊ペプチドの開発を推進した。まず臨床に資する KDM4A-C の阻害剤の開発を進め、他の KDM アイソフォームの選択的阻害剤の開発を行った。

①大環状特殊ペプチドへの細胞内あるいは血中で耐えうる十分なプロテアーゼ耐性の付与

KDM4A（注釈 1）活性部位に結合するのに極めて有効である RSG (arginine-serine-glycine) 配列を固定し、その前後のアミノ酸配列をランダム化した大環状 N-メチルペプチドライブラリーを再構築した。さらに、このライブラリーに対し、LiPID システム（注釈 2）を用いた探索を行った結果、活性種の同定に成功した。

②高い細胞膜透過性をもつ配列への改変

作成した大環状 N-メチルペプチドライブラリーから、LiPID システムを駆使して発見された細胞膜透過性をもつ可能性が高い大環状特殊ペプチドを化学合成した。その際、C 末端部位に蛍光基（一般的にはフルオレセン基）を付けたペプチドも合成することで、細胞膜透過性の評価をし易くした。また、必要に応じて、活性種の配列活性相関から、短鎖配列の大環状特殊ペプチドも化学合成した。

③抗 KDM4A 特殊ペプチド阻害剤の生理活性の検証

①で合成した大環状特殊ペプチドについて、動力学的解析法により KDM4A あるいはその類縁アイソフォームに対しアイソフォーム選択的な阻害活性をもつか検証した。また、細胞膜透過性については、C 末端に蛍光基を導入したペプチドを用いて、その導入効率を確認した。導入効率が良かった化合物に関しては、HeLa 細胞あるいは他のがん細胞における脱メチル化活性を H3K9me3 抗体により染色することで、その細胞内阻害活性を確認した。

注釈 1：KDM4A とその類縁アイソフォーム 4B と 4C は、Mdm2（がん抑制作用を有する p53 の活動を抑制的に調整する遺伝子）の活性化に関わるヒストン脱メチル化酵素である。

注釈 2：LiPID システムは菅らが独自に開発した新技術で、特許への配慮からその方法論の具体的な記載はしていない。

以上のように、本研究開発において獲得された抗 KDM4A 特殊ペプチド阻害剤は、極めて高い阻害活性を示すのみならず、特筆すべきアイソフォーム選択性を持ち、これまで知られている阻害剤を遙かに凌駕する物質であることがわかった。この成果は、臨床に資する薬剤開発に新たな道筋をつけたと言える。今後、この抗 KDM4A 特殊ペプチド阻害剤の薬剤動態等の検討をすることで、その残された弱点を克服し、癌治療の新たな薬剤開発につなげていく予定である。