



Title	新規EZH2アロステリック活性化剤の創製とその機能解析 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	戸子臺, 泰光
Citation	北海道大学. 博士(薬科学) 甲第15317号
Issue Date	2023-03-23
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/89752
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Yasuaki_Tokodai_review.pdf (審査の要旨)



[Instructions for use](#)

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（薬科学） 氏名 戸 子 臺 泰 光

審査担当者	主 査	准教授	薬 師	寺 文 華
	副 査	教 授	市 川 聡	
	副 査	教 授	周 東 智	
	副 査	准教授	渡 邊 瑞 貴	

学位論文題名

新規 EZH2 アロステリック活性化剤の創製とその機能解析

博士学位論文審査等の結果について（報告）

ヒストンの翻訳後修飾は遺伝子発現や疾患発症に深く関与しており、エピジェネティクスの中心的な役割を担っている。これより、化合物を用いたヒストン修飾酵素の機能制御は、ケミカルエピジェネティクスおよび創薬化学分野において重要な課題となっている。

本論文は、ヒストン H3 の 27 番目のリシン残基のメチル化を行うポリコーム抑制複合体 2（PRC2）を標的とし、コアサブユニットの一つである EZH2 のヒストンメチル化能をアロステリックに活性化する新規化学プローブの創製を目的に研究を展開したもので、所望の活性を有する環状ペプチド誘導体の創出およびその構造・機能解析について詳述している。

PRC2 は種々のガン細胞において、機能獲得型変異あるいは機能喪失型変異を有していることが報告されており、PRC2 特異的な阻害剤・活性化剤の創製が期待されている。EZH2 アロステリック活性化剤はこれまでに 1 例報告されているが、活性化作用が弱く改善の余地がある点、また更なる官能基の導入による機能性分子創製への展開が難しい点から、より強力な PRC2 活性化作用を有する新規化学プローブの創製を目指して研究に着手した。

まず、EZH2 アロステリック活性化作用を示すことが報告されている内在性分子由来鎖状 H3K27me3 ペプチド **1** をリード化合物とし、本活性の維持に必要な残基の特定を試みた結果、**1** が含有している 8 残基が必須であることを見出した。続いて、活性配座の固定および代謝安定性の向上を期待して環状ペプチド **2** へと変換したところ、PRC2 ヒストンメチル化活性における EC₅₀ 値の大幅な改善が見られた。これより、**2** の構造活性相関研究へと展開し、フェニルアラニン残基を導入した誘導体 **3** において比活性の最大値向上、および EC₅₀ 値のさらなる改善につながることを明らかにした。

先に見出した環状ペプチド誘導体の構造解析を実施した結果、分子内水素結合による環状ペプチドの配座固定が EZH2 活性化作用に重要であることが示唆された。さらに、機能解析として、酵素反応速度論的解析を行い、基質である SAM の濃度に依存して最大反応速度が増大することを示した。また、ヒストン八量体を基質とした *in vitro* での PRC2 メチル化反応において、特異的抗体を用いて生成

物の H3K27 メチル化レベルを検出したところ、**3** の濃度依存的に H3K27me1、me2、me3 レベルが増加することを明らかにした。リード化合物である鎖状 H3K27me3 ペプチド **1** でも同様の結果が見られたことから、見出した環状ペプチド誘導体 **3** は、**1** と同じアロステリック機構で EZH2 を活性化していることが示唆された。

環状ペプチドへの変換による EZH2 活性化作用の向上についてさらに考察を深めるべく、環状ペプチド誘導体が有する二つの塩基性残基に着目し、コアサブユニット EZH2/EED との相互作用について分子動力的シミュレーションを実施した。本検討より、創製した環状ペプチドは EED の疎水性ポケットを基盤とし、二つの塩基性残基が EZH2 の特定のアミノ酸残基と効果的に相互作用を形成していることが示唆された。実際に、双方の塩基性残基をアラニンに置換すると所望の活性を失うことから、二つの塩基性残基による特異な相互作用形成が EZH2 活性化作用の向上に寄与しているものと考察された。

以上を要するに、著者は、新規 EZH2 アロステリック活性化剤の創出およびその活性化能に関する構造・機能解析を通して新知見を得たものであり、エピジェネティクス制御化合物の創製研究において貢献するところ大なるものがある。

よって著者は、北海道大学博士（薬科学）の学位を授与される資格あるものと認める。