

令和 5 年 5 月 25 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K06988

研究課題名(和文)一残基ドライバー遺伝子変異を標的としたケミカルエピジェネティクス研究

研究課題名(英文)Chemical epigenetics for targeting driver mutations

研究代表者

薬師寺 文華 (Yakushiji, Fumika)

北海道大学・薬学研究院・准教授

研究者番号：40548476

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：ヒストン H3 27 番目のリシン残基がメチオニン残基へと変異した小児脳幹グリオーマのドライバー遺伝子変異に着目し、化合物を用いたヒストンメチル化制御について検討を行った。本ドライバー遺伝子変異では、ゲノム全体の H3K27 メチル化レベルの減少が報告されていることから、H3K27 メチル化酵素 ポリコーム抑制複合体 2 (PRC2) 活性促進剤の創製を試み、有効な活性化作用を有する環状ペプチド誘導体を見出すことができた。さらに、変異により導入されたメチオニン残基選択的な化学修飾を検討することで、メチオニン修飾体が PRC2 機能制御に寄与することを確認することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ガンにおけるドライバー遺伝子変異が種々見出されているものの、個々の変異に対応した制御方法の開発が求められている。今回、ヒストン H3 27 番目のリシン残基がメチオニン残基へと変異した小児脳幹グリオーマに着目し、化合物によるエピジェネティクス制御を試みた。ヒストン H3K27 をメチル化するポリコーム抑制複合体 2 (PRC2) 活性促進剤の創製、およびメチオニン残基選択的な化学修飾を基盤とした PRC2 メチル化制御について検討を行い、それぞれ所望の活性を有する誘導体を見出すことができた。本成果は、H3K27メチル化の新たな制御戦略として検討を重ねることが期待される。

研究成果の概要(英文)：We have focused on histone H3 lysine(27)-to-methionine (H3K27M) mutations of diffuse intrinsic pontine glioma, and examined regulation of the histone H3K27 methylation using compounds. In this driver mutation, decrease in H3K27me3 levels was reported. Therefore, projects consisting of development of polycomb repressive complex 2 (PRC2) activators and selective chemical modifications at the methionine residue for functional regulation of PRC2 were investigated. In this time, the desired PRC2 activators were developed. In addition, it was found that the introduced substituents on the methionine side chain affected the PRC2 activity.

研究分野：ケミカルエピジェネティクス

キーワード：ケミカルエピジェネティクス ヒストンメチル化 ドライバー遺伝子変異

1. 研究開始当初の背景

ガン細胞におけるドライバー遺伝子変異の同定、続くエピゲノム創薬への展開は、個別化医療の実現を視野に入れた次世代治療薬創製分野において注目されている。しかしながら、個々のドライバー遺伝子変異に対する制御戦略は今後の検討が必要な状態にあり、化合物を用いたエピジェネティクス制御(ケミカルエピジェネティクス)研究はさらなる発展が期待される研究領域である。申請者はこれまで、ヒストン H3 27 番目のリシン残基 (H3K27) のメチル化制御について検討を行なって来たことから、本研究基盤をもとに、ヒストン H3 の 27 番目のリシン残基がメチオニン残基 (H3K27M) へと変異した小児脳幹グリオーマに着目し、研究を展開することとした。

H3K27M は手術困難な悪性型グリオーマのドライバー遺伝子変異として報告されている。ゲノム全体で H3K27 メチル化の減少が確認されていることから、本メチル化の正常化を念頭に、H3K27 メチル化酵素複合体であるポリコム抑制複合体 2 (PRC2) の機能制御を目的として新規モジュレーターの創製研究に着手した。

本メチオニン変異は特定の構造を取らないヒストン H3 の N 末端に存在しているため、変異タンパク質選択的に親和性を示す化合物を見出すことは困難であることが予想される。これより新たな戦略による PRC2 機能制御法の開発が求められており、今回、PRC2 活性促進剤の創製に加えて、変異により導入されたメチオニン残基選択的な化学修飾を行うことで、PRC2 機能制御を試みることにした。

2. 研究の目的

本課題では H3K27 メチル化の正常化を念頭においたケミカルエピジェネティクス研究を実施する。これより、H3K27 メチル化を触媒する PRC2 の機能制御を試みるべく、下記の 2 つのアプローチにより検討を行うこととした。

1) PRC2 活性促進剤の創製

これまでにタンパク質複合体である PRC2 (EZH2、EED、SUZ12、RbAp46/48) の構成因子 EED に結合する鎖状ペプチドをリード化合物として、活性発現のために必要な残基の特定と環状体への変換により、アロステリックに EZH2 ヒストンメチル化能を向上させる環状ペプチド誘導体を見出している。これより、環状ペプチドの構造最適化を行うことで、活性化作用の向上を目指すこととした。また、獲得した高活性誘導体の構造・機能解析を目的に研究を展開することとした。

2) メチオニン選択的な化学修飾を基盤とした PRC2 機能制御

変異により導入されたメチオニン残基に対し選択的に化学修飾を施すことで PRC2 の機能制御を行い、H3K27 メチル化レベルの改変につなげることを計画した。まず、H3K27M ペプチドを用いて、水系溶媒中、メチオニン上に種々の置換基を導入できるかを検討することとした。また、導入した置換基による PRC2 ヒストンメチル化への影響を精査することとした。

3. 研究の方法

本課題では、誘導体の設計・合成、続く活性評価および構造・機能解析を逐次実施する。具体的には、それぞれの課題において下記の検討を行うこととした。

1) PRC2 活性促進剤の創製

EED に結合することで EZH2 のヒストンメチル化能を活性化することが報告されている鎖状ペプチドをリード化合物とし、アミノ酸残基の短縮、環状体への変換を行うことで、所望の PRC2 活性化作用を有する環状ペプチドを見出している。今回は、見出した環状ペプチド誘導体の構造最適化を実施する。さらに、*in vitro* での活性評価において高い PRC2 活性促進作用を示した誘導体の構造、機能解析を行う。

2) メチオニン選択的な化学修飾を基盤とした PRC2 機能制御

メチオニン選択的な化学修飾法として、既知のオキサジリジンを用いたメチオニン選択的コンジュゲーション法に着目し、研究を展開することとした。まず、PRC2 活性評価条件下 (水系溶媒、pH 8.5) において、本反応による H3K27M ペプチドのメチオニン側鎖への置換基導入について検討することとした。次に、種々の置換基を有するオキサジリジン誘導体を合成後、H3K27M ペプチドと反応させることでメチオニン修飾体へと変換する計画を立てた。さらに、導入した置換基上の構造変化が PRC2 メチル化反応に影響を及ぼすかを *in vitro* PRC2 活性評価系において評価することとした。

4. 研究成果

本課題の実施期間において得られた成果を、各々以下に示す。

1) PRC2 活性促進剤の創製

H3K27M 変異ではゲノム全体の H3K27 メチル化レベルの減少が報告されていることから、メチル化レベルの向上を目的とし、PRC2 活性促進剤の創製研究を展開した。これまでに、所望の活性を有する環状ペプチド誘導体を見出しており、さらなる構造最適化を実施した結果、PRC2 との相互作用形成に重要な残基を特定することができた。また、環状ペプチドの構造解析を行なった結果、分子内水素結合に起因する特定の二次構造をとっていることが明らかになった。さらに、機能解析より、メチル化反応の各段階を濃度依存的に加速していることを示すことができた。

2) メチオニン選択的な化学修飾を基盤とした PRC2 機能制御

メチオニン残基選択的な化学修飾法として、オキサジリジンによるメチオニン選択的コンジュゲーション法を用いることで、PRC2 活性評価条件下においてメチオニンに置換基を導入できることを確認した。そこで、種々の置換基を有するオキサジリジン誘導体を設計・合成後、H3K27M ペプチドに作用させることでメチオニン修飾体の合成を行った。メチオニン修飾体の PRC2 活性評価を行なった結果、メチオニン側鎖に導入した置換基が PRC2 ヒストンメチル化反応に影響を及ぼすことを明らかにした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yasuaki Tokodai, Fumika Yakushiji	4. 巻 20
2. 論文標題 Polycomb Repressive Complex 2: Modulator Development for Functional Regulation of a Multiprotein Complex by Using Structural Information	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ChemBioChem	6. 最初と最後の頁 2046, 2053
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/cbic.201900212	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Moe Toyobe, Fumika Yakushiji	4. 巻 17
2. 論文標題 Synthetic Modifications of Histones and Their Functional Evaluation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chem. Asian J.	6. 最初と最後の頁 e202200197
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/asia.202200197	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 7件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 豊邊萌, 市川聡, 薬師寺文華
2. 発表標題 メチオニン残基選択的の化学修飾法によるPRC2ヒストンメチル化能の制御
3. 学会等名 日本薬学会第142年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 薬師寺文華
2. 発表標題 ヒストンメチル化酵素複合体の機能制御を指向した分子創製研究
3. 学会等名 日本薬学会第141年会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 薬師寺文華
2. 発表標題 ヒストン修飾酵素複合体の機能制御を指向したケミカルエピジェネティクス研究
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 薬師寺文華
2. 発表標題 タンパク質複合体の機能制御を指向した分子創製研究
3. 学会等名 第51回若手ペプチド夏の勉強会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Fumika Yakushiji
2. 発表標題 Development of novel small molecules for medicinal chemistry research
3. 学会等名 7th SNU Mini-Symposium on Medicinal Chemistry（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 薬師寺文華
2. 発表標題 有機合成化学を基盤とした新規生物活性化合物の創製研究
3. 学会等名 日本薬学会北海道支部第148例会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 薬師寺文華
2. 発表標題 ヒストンメチル化酵素複合体を標的としたケミカルエピジェネティクス研究
3. 学会等名 日本女性科学者の会 新春シンポジウム2023 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 薬師寺文華
2. 発表標題 ケミカルエピジェネティクスを基盤とした創薬研究
3. 学会等名 日本薬学会第143年会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関