

## 審査の結果の要旨

氏名 坂内 千尋

ヒストンアセチル化は遺伝子発現を制御する重要な機構の1つであり、アセチル基を導入するライター、消去するイレイサー、認識するリーダーによって制御されている。これらの機能の破綻によりがんをはじめとする様々な疾患が引き起こされる。

アセチル化リーダータンパク質の1つである Bromodomain-containing protein 4 (BRD4)はアセチル化リシンを認識するブロモドメイン及びタンパク質間相互作用を担う extra-terminal (ET)ドメイン、転写伸長に関与するC末端モチーフを含み、主に転写を正に制御する。複数のがん種で BRD4 が過剰発現しており、さらにその下流でがんドライバーである c-Myc の発現を上昇させることでがんを促進することが知られている。BRD4 の欠損により腫瘍が縮小するという報告などから BRD4 はがんの治療標的として注目されるようになり、BRD4 阻害剤の開発が行われた結果、JQ1 をはじめとして、ブロモドメインを競合的に阻害するアセチル化リシン模倣型阻害剤が合成された。これらは現在のところ様々ながんに対する臨床試験に進んでいるが、近年になってアセチル化リシン模倣型阻害剤に抵抗性を示すがん細胞が存在することが見出された。しかしながら、その詳細な分子メカニズムについては未だに不明であった。

以上の背景に基づき、本研究では BRD4 による転写制御機構の詳細を解明することにより BRD4 阻害剤抵抗性の分子機構を解明することを試みた。申請者は BRD4 のドメインのうち詳細な解析が進んでいなかった ET ドメインに注目し、質量分析法による解析から同定された結合因子である chromodomain helicase DNA binding protein 4 (CHD4)との複合体が制御する遺伝子発現及びその BRD4 阻害剤抵抗性への寄与について解析を行った。以下に本研究によって得られた新たな知見をまとめる。

1. BRD4 は ET ドメインを介して CHD4 N 末端領域と結合する
2. BRD4/CHD4 複合体はオートファジー・アポトーシス・細胞周期進行の関連遺伝子群を負に制御する
3. BRD4 ET ドメインにおける結合阻害によりオートファジー・アポトーシス・細胞周期停止が引き起こされる
4. BRD4 ET ドメインにおける結合阻害により JQ1 抵抗性のがん細胞の生存・増殖が抑制される

BRD4 及び CHD4 の欠損変異体を用い、BRD4 ET ドメインにおいて CHD4 の N 末端領域と結合することを示した。CHD4 は負の転写制御因子であることが知られていたことから BRD4/CHD4 複合体が転写を負に制御する可能性が考えられたが、BRD4 ET ドメインを競合的に阻害する murine leukemia virus (MLV) インテグラーゼの部分ペプチドを用いた BRD4 ET ドメインにおける結合の阻害により、細胞周期停止およびアポトーシス、オートファジー促進に関する遺伝子の発現が上昇し、これらの現象が誘導されることを示した。さらに MLV 部分ペプチドにより HCT116 細胞の生存または増殖が抑制されることを示した。その一方で、JQ1 は MLV 部分ペプチドと同様の遺伝子群の発現を上昇させ、オートファジーを促進するものの、細胞周期の停止およびアポトーシスは誘導しないことを示した。また JQ1 は HCT116 細胞の生存または増殖を抑制せず、過去の HCT116 細胞が JQ1 抵抗性を示すという報告と合致した。このことから、MLV 部分ペプチドが JQ1 抵抗性がん細胞の生存や増殖を抑制する可能性を提示した。

以上のように申請者は BRD4 ET ドメインにおける結合の阻害により細胞周期の停止およびアポトーシス、オートファジーの促進を介して JQ1 抵抗性がん細胞の生存および増殖が抑制されることを明らかにした。これは、ET ドメインの結合阻害が既存の BRD4 阻害剤に抵抗性を示すがん細胞の新たな治療標的となることを示唆している。

以上より本論文は博士（薬科学）の学位請求論文として合格と認められる。