

令和7年度 共同研究報告書

研究区分		一般共同研究		
研究課題名		EBV 陽性がん治療薬の創出に向けた BRD4 ET ドメイン阻害剤の開発		
新規・継続の別		新規 <u>継続</u>		
研究代表者	所属	横浜市立大学大学院生命医科学研究科	35歳 以下○	40歳 以下○
	職名・氏名	准教授・小沼 剛		
研究分担者 (適宜行を追加して下さい)	所属		/	/
	職名・氏名			
	所属		/	/
	職名・氏名			
受け入れ教員	職名・氏名			
概要 (100～150 字程度)		<p>Epstein-Barr (EB) ウイルスはガンマヘルペスウイルスに分類されるヒト腫瘍ウイルスであり、宿主細胞に感染することで自身の維持、拡大を図っている。EBV 陽性がんを発症すると多くは難治性で悪性度が高いことが知られている。発がんの要因にはウイルスだけでなく宿主細胞の多くの遺伝子が関わっており、それらを創薬標的として治療薬の開発を目指す。</p>		
研究目的 (300 字程度)		<p>これまでの研究から、ヒトの転写制御因子 BRD4 が前初期遺伝子の一つである <i>BZLF1</i> のエンハンサーとプロモーターを活性化することが知られている。このことは、BRD4 の機能を阻害することで <i>BZLF1</i> の発現を抑制し、溶解感染への移行を防げることを示唆している。BRD4 は、2つのプロモドメイン (BrD) と ET ドメインという 3つの構造ドメインから構成される蛋白質である。BrD 阻害剤である JQ1 は EBV の再活性化の阻止に有効であることが細胞レベルで示されている。しかしながら、生体内でこれらの阻害剤の半減期が短すぎる等、薬物動態において問題があり、がん治療薬として認可された BRD4 阻害剤はまだ存在しない。本研究では、EBV 感染に起因するがんの治療薬の創出を目指し、BRD4 阻害剤の開発を行う。</p>		
研究内容・成果 (1000 字程度・Web 会議の回数も記載)		<p>低分子の探索と並行して、代表者はこれまでに開発した ETD 結合ペプチド MLV_11 (Kd ≈ 30 nM) を出発点として、中分子ペプチド阻害剤の最適化を進めた。本研究では MLV_11 の配列を基盤に、結合界面を強化するためのアミノ酸置換、構造固定化による結合エントロピー損失の低減を目的とした環状化など、複数の設計を施した誘導体を合成した。各ペプチドについて、等温滴定型</p>		

	<p>熱量計 (ITC) あるいは流動誘起分散解析 (FIDA) により解離定数を測定し、結合強度を比較した。その結果、約 1 nM という極めて高い親和性を示す環状ペプチド cMLV_04 の取得に成功した。これは ETD 阻害剤として十分に強力な分子認識能を示すものであり、以降の細胞評価へ進める候補として最有力と判断した。</p> <p>cMLV_04 の抗腫瘍効果を細胞レベルで評価するため、まずは評価系がすでに確立している急性骨髄性白血病 (AML) 細胞株 MOLM13 を用いた。cMLV_04 を最終濃度 1 μM、10 μM、100 μM となるよう培地に添加し、3 日後の細胞生存率を比較した。しかし、いずれの濃度でも明確な増殖抑制は観測されなかった。主因として、cMLV_04 が中分子ペプチドであり、細胞膜透過性が低く細胞内標的に到達できない可能性が高いと考えられた。この課題を解決するため、膜透過ペプチド (CPP) として代表的な TAT、Penetratin、PTD4 を cMLV_04 に融合したペプチド (ETDi-TAT、ETDi-Pen、ETDi-PTD4) を設計し、さらに核内標的到達の可能性を高める目的で核移行シグナル (NLS) を付加した融合体 (ETDi-TAT-NLS、ETDi-Pen-NLS、ETDi-PTD4-NLS) を合成した。ETDi-Pen-NLS は収量が十分得られなかったため、残る 5 種について MOLM13 で生存率を評価した。その結果、いずれの CPP 融合体でも抗腫瘍効果が観測され、特に ETDi-TAT、ETDi-TAT-NLS が強い効果を示した。これらの結果は、ETD 阻害剤として分子認識能に加え、細胞内送達性が薬理効果の律速となっていることを支持し、CPP 融合が有効な手段であることを提案する。</p> <p>Web 会議は、ひと月に 1 回程度の頻度で、13 回行った。</p>
成果	<p>【学会報告】 参加者名、講演タイトル、学会名、開催場所、開催日時入力のこと</p> <p>特になし</p> <p>【論文発表】 著者、論文名、掲載誌名、号・年・ページ等、IF 入力のこと</p> <p>特になし</p> <p>【新聞報道】 特になし</p>

【学位取得者】

学部名・学年（または職位）・氏名を入力のこと

特になし