



Title	Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Degraders Targeting Lysine-specific Demethylase 1
Author(s)	Yu, Shengwang
Citation	大阪大学, 2026, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/105651
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

Abstract of Thesis

Name (SHENGWANG YU)

Title

Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Degraders Targeting Lysine-specific Demethylase 1
(リジン特異的脱メチル化酵素1を標的とする分解誘導剤の設計、合成、および生物学的評価)

Abstract of Thesis

Lysine-specific demethylase 1 (LSD1) is a flavin-dependent histone demethylase that plays a critical role in epigenetic regulation through both its catalytic activity and scaffolding functions. Aberrant overexpression of LSD1 has been implicated in the development and progression of multiple cancers, making it an attractive therapeutic target.¹ However, most conventional inhibitors primarily suppress the catalytic activity of LSD1, leaving its scaffolding functions largely unaffected. This limitation may reduce their therapeutic efficacy.² To address this challenge, this thesis investigated targeted protein degradation (TPD) as an alternative strategy to eliminate LSD1 at the protein level (Figure 1).

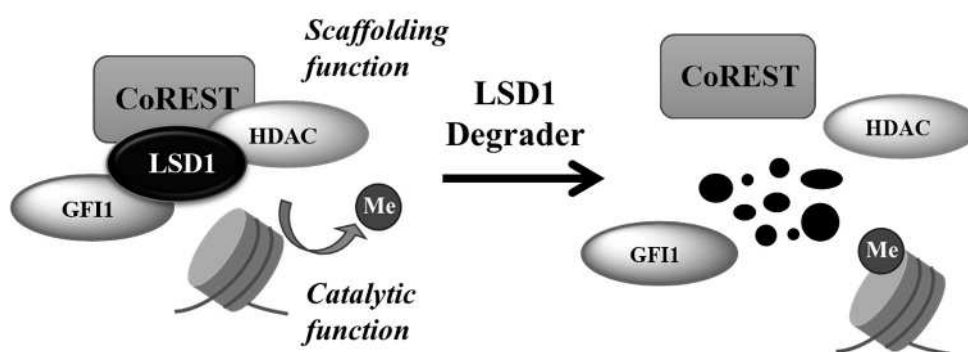


Figure 1. Degradation of LSD1 abolishes both catalytic and scaffolding functions

TPD harnesses the cellular proteolytic machinery to selectively eliminate proteins of interest (POIs), thereby disrupting both their catalytic and scaffolding functions. TPD strategies typically rely on heterobifunctional degraders in which a POI-binding ligand is covalently linked to a degron moiety (Such as an E3 ligase ligand or a hydrophobic moiety) via an appropriately designed linker. This design often results in a combinatorial expansion of candidate degraders, causing a significant burden in synthesis and screening. To address this challenge and accelerate the identification of active LSD1 degraders, an efficient platform was established for the rapid synthesis and cellular evaluation of LSD1 degraders using inverse electron-demand Diels-Alder (IEDDA) click reaction, a metal bioorthogonal click chemistry.³ A focused library of 20 candidate degraders was generated by conjugating tetrazine-functionalized LSD1 inhibitors (TzLIs) with *trans*-cyclooctene-linked degrons (TCOEhs) via IEDDA reaction. These conjugates were directly evaluated for their cellular degradation activity without purification (Figure 2).

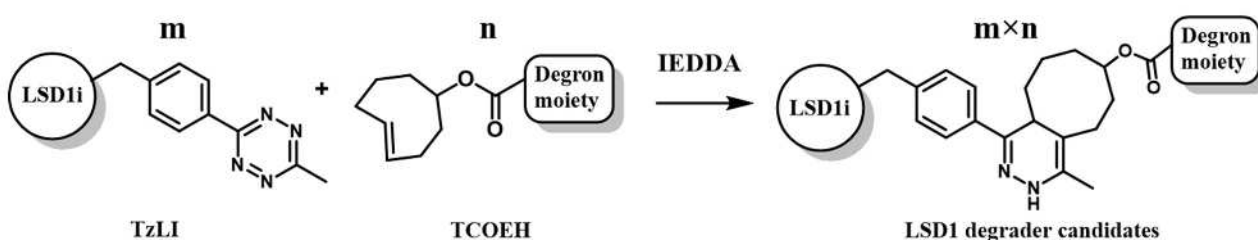


Figure 2. Modular construction of LSD1 degraders via IEDDA click chemistry

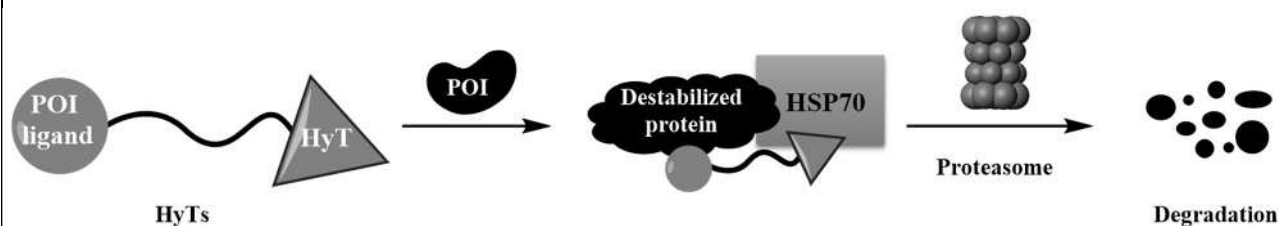


Figure 3. Model HyT-mediated protein degradation.

Using this rapid screening approach, LI2EH2 was identified as a hydrophobic tagging (HyT)-based degrader for LSD1 that induces moderate, proteasome-dependent degradation of LSD1. In general, HyT-based degraders are composed of a POI ligand and a hydrophobic moiety which promotes proteasomal degradation of POI by facilitating recognition by molecular chaperones such as HSP70 (Figure 3).⁴ To further improve degradation activity of LI2EH2, subsequent optimization of the linker and HyT moiety ultimately led to the discovery of a more potent degrader, Hyt1 (Figure 4). Hyt1 was found to induce concentration- and time-dependent degradation of LSD1, and consistent with reported mechanism, Hyt1 also promoted LSD1 degradation via a proteasome- and HSP70-dependent pathway. Proteomic analysis further revealed coordinated downregulation of LSD1-associated core complex components, including CoREST and HDAC1/2. In cellular assays, Hyt1 also exhibited pronounced cytotoxic, antiproliferative, and anti-migratory effects in HeLa cells, whereas the parental LSD1 inhibitor, the hydrophobic moiety alone, or their combination showed minimal activity, highlighting the superior cellular efficacy of targeted LSD1 degradation over enzymatic inhibition.

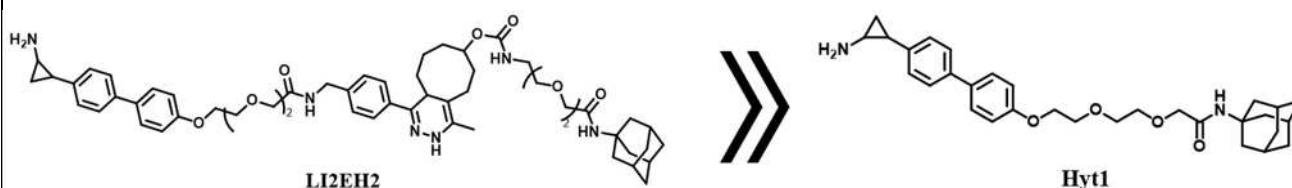


Figure 4. Chemical structure of LI2EH2 and Hyt1

Overall, this study establishes a rapid and modular platform for the discovery of LSD1 degraders, enabled by click chemistry, and provides the first demonstration of HyT-mediated degradation of LSD1. Further optimization led to the identification of a more potent LSD1 degrader capable of degrading the LSD1 complex. These findings highlight targeted protein degradation as an effective strategy for eliminating both the catalytic and scaffolding functions of LSD1, thereby supporting continued exploration of epigenetic therapeutic approaches.

- 1) *Medicinal Research Reviews*, 2023, 44(2), 833; 2) *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2020, 77(17), 3341;
- 3) *Chemical Society Reviews*, 2017, 46(16), 4895; 4) *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2019, 10(2), 207.

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (SHENGWANG YU)			
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	教授	鈴木孝禎
	副 査	教授	難波康祐
	副 査	教授	西村多喜
論文審査の結果の要旨 リシン特異的脱メチル化酵素 1 (LSD1) は、エピジェネティック制御において重要な役割を果たすフラビン依存性ヒストン脱メチル化酵素であり、その異常な過剰発現は複数のがんの発生と進行に関与している。従来の LSD1 阻害剤は主にその酵素活性を抑制するが、足場機能にはほとんど影響を与えず、治療効果が限定される可能性があった。 この課題を解決するため、本研究では LSD1 をタンパク質レベルで除去する標的タンパク質分解 (TPD) 戦略を採用した。TPD は、細胞内のタンパク質分解システムであるユビキチン・プロテアソーム系を利用して、標的タンパク質 (POI) を選択的に分解する技術である。これにより、酵素機能だけでなく足場機能も同時に破壊できる。 通常、TPD 誘導剤の開発は合成とスクリーニングに大きな負担を伴うが、本研究では、IEDDA クリック反応を用いた効率的なプラットフォームを確立した。これにより、20 種類の候補化合物の迅速な合成と細胞内評価が可能になった。 スクリーニングの結果、LI2EH2 が疎水性タグ (HyT) ベースの LSD1 分解誘導剤として同定された。HyT ベースの分解誘導剤は、POI リガンドと疎水性部分で構成され、分子シャペロン (HSP70 など) による認識を促進することでプロテアソーム分解を誘導する。LI2EH2 の構造最適化により、より強力な分解誘導剤である Hyt1 を見出した。Hyt1 は、LSD1 の濃度依存的・時間依存的な分解を誘導し、LSD1 関連複合体 (CoREST や HDAC1/2 など) の協調的な分解を引き起こした。Hyt1 は HeLa 細胞に対して強力な細胞毒性、抗増殖、抗転移効果を示した。Hyt1 は、親 LSD1 阻害剤単独よりも優れた有効性を示しており、本研究における標的分解戦略の優位性を強調している。 本研究は、クリックケミストリーを利用した LSD1 分解誘導剤の迅速かつモジュール式の発見プラットフォームを確立し、LSD1 の HyT を介した分解の最初の実証を提供した。これらの結果は、LSD1 の触媒機能と足場機能の両方を排除するための効果的な戦略として、標的タンパク質分解の可能性を示しており、エピジェネティック治療アプローチの継続的な探求を支持するものである。 以上のように、本研究は、LSD1 を標的とした新たな治療戦略として、TPD 技術を用いた分解誘導剤の開発とその評価を行ったものであり、本専攻の博士論文研究に相応しい業績である。 よって、本論文は博士 (理学) の学位論文として十分価値あるものと認める。			