



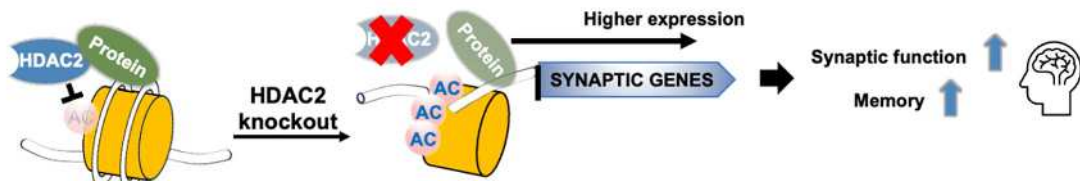
Title	Development, Mechanistic Elucidation, and In Vivo Evaluation of BBB-Permeable HDAC2 Inhibitors
Author(s)	Liu, Siyu
Citation	大阪大学, 2026, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/105653
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

Abstract of Thesis

Name (SIYU LIU)	
Title	Development, Mechanistic Elucidation, and In Vivo Evaluation of BBB-Permeable HDAC2 Inhibitors (血液脳関門透過性HDAC2阻害剤の開発、作用機構の解明および in vivo 評価)
Abstract of Thesis Histone acetylation is a major epigenetic regulatory mechanism that broadly participates in the control of gene expression and is closely associated with diverse pathological processes, including cancer, inflammation, and neurological disorders. Among class I histone deacetylases, HDAC2 plays an important role in neuronal development and synaptic plasticity, serving as a key regulator of neural function and emotional behavior. HDAC2 activity has been associated with neuronal structural changes which lead to cognitive impairment and depression-like behaviors (Figure 1). Although many HDAC inhibitors have been developed and some have advanced into clinical stages, most existing compounds function as pan-HDAC inhibitors and lack isoform selectivity, leading to non-specific epigenetic effects and safety concerns that limit their suitability for long-term treatment of central nervous system disorders. Consequently, the development of highly selective inhibitors targeting key isoforms such as HDAC2 has become an important objective in epigenetic drug discovery.  Figure 1. HDAC2 is involved in neurological disorders. Our group previously reported a slow-binding HDAC2 inhibitor, KTT-1, which achieved effective HDAC2 inhibition. However, in vivo studies revealed that KTT-1 suffers from insufficient blood–brain barrier penetration, thereby limiting its pharmacological efficacy in the central nervous system. To address this limitation, KTT-1 was used as a lead scaffold for systematic molecular design to improve in vivo exposure and overall efficacy. Based on established molecular design principles, heteroaromatic nitrogen atoms were introduced into the aromatic ring of the lead compound KTT-1 to enable the potential formation of intramolecular hydrogen bonding, with the aim of improving permeability and in vivo exposure. Meanwhile, the cap group was simplified from an aryl sulfonyl moiety to more compact heteroaromatic structures, which was expected to reduce polarity-related parameters in the cap region and improve physicochemical properties, leading to the design of a series of optimized compounds. Kinetic analyses demonstrated that a representative compound, compound 2, is a slow-binding type A inhibitor with selectivity for HDAC2 over HDAC1 and exhibits improved inhibitory potency toward HDAC2 compared with KTT-1. Meanwhile, compound 2 showed improved solubility and in vivo exposure and exhibited enhanced blood–brain barrier permeability relative to KTT-1. Accordingly, compound 2 was selected for further functional evaluation in central nervous system–related studies. At the cellular level, compound 2 effectively increased histone acetylation levels, while significantly promoting neurite outgrowth in N2a cells. In vivo studies showed that oral administration of compound 2 significantly	

improved social avoidance and anhedonia-like behaviors in an smSDS mouse model and increased neuronal dendritic spine density, without observable toxicity (Figure 2).

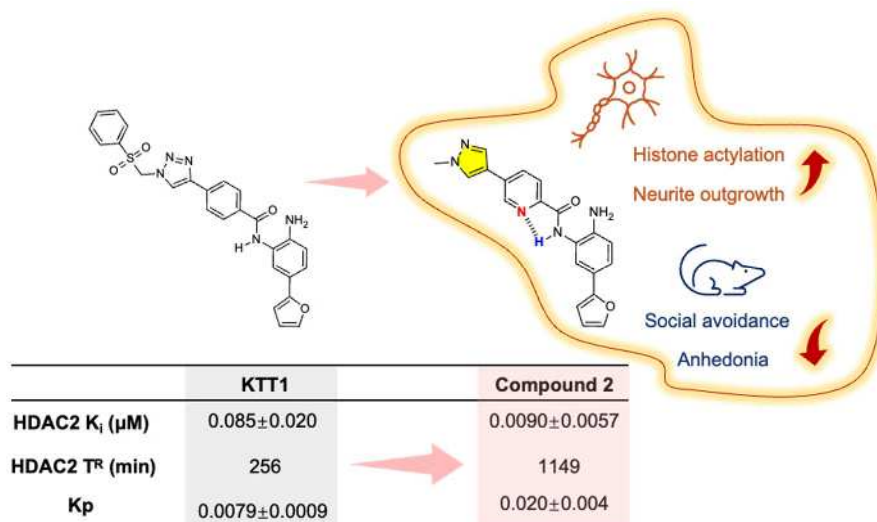


Figure 2. Optimization and evaluation of compound 2.

Notably, in addition to its inhibitory activity, compound 2 exhibited the ability to selectively induce HDAC2 protein degradation. Mechanistic studies indicated that this degradation process primarily depends on the ubiquitin–proteasome system. Further analyses revealed that compound 2 not only promotes HDAC2 degradation but also reduces the protein levels of LSD1 and CoREST within the associated CoREST complex (Figure 3).

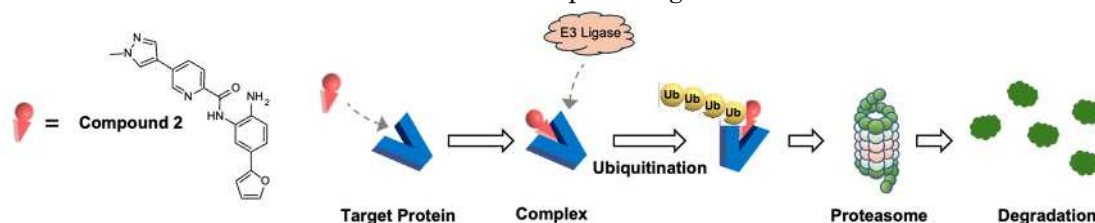


Figure 3. Compound 2 induces UPS-dependent protein degradation.

In summary, this thesis successfully identified an inhibitor with HDAC2-selectivity and favorable in vivo activity. In addition to catalytic inhibition, this molecule was found to induce the degradation of HDAC2 and its associated complex, thereby exhibiting a mode of action distinct from that of conventional HDAC inhibitors. The compounds developed in this study may serve as chemical tools for investigating the roles of HDAC2 and its associated complexes in central nervous system function, and provide a reference for exploring epigenetic regulation across multiple levels.

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (Siyu Liu)		
論文審査担当者	(職)	氏 名
	主 査	教授 鈴木孝禎
	副 査	教授 北條裕信
	副 査	教授 山口哲志

論文審査の結果の要旨

ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) は、がんや神経疾患を含む多様な病態に関与するエピジェネティックな制御因子である。特にクラス I HDAC の HDAC2 は、神経機能やシナプス可塑性の重要な制御因子であるが、既存の HDAC 阻害剤の多くは非選択的であり、中枢神経系 (CNS) 疾患の長期治療には副作用の懸念がある。また、先行研究の HDAC2 阻害剤 KTT-1 は、BBB 透過性が不十分という課題があった。本研究は、この KTT-1 をリード化合物として、中枢移行性を改善した新規 HDAC2 選択的阻害薬を開発することを目的とした。

分子内水素結合をもたせることにより脂溶性を増大し、膜透過性の向上を期待した分子設計により得られた化合物 2 は、KTT-1 と比較して HDAC2 に対する阻害活性が向上しており、HDAC1 に対して HDAC2 選択的であることが速度論解析で示された。さらに、化合物 2 では、溶解性と *in vivo* 曝露量、BBB 透過性も改善されていた。

化合物 2 は、触媒阻害活性に加えて、ユビキチン・プロテアソーム系を介した HDAC2 タンパク質の選択的分解を誘導するという、従来とは異なる作用機序を持つことが明らかになった。また、HDAC2 が含まれる CoREST 複合体内の LSD1 や CoREST タンパク質レベルも低下させることが分かった。

細胞レベルでは、化合物 2 はヒストンアセチル化レベルを効果的に増加させ、N2a 細胞の神経突起伸長を有意に促進した。In vivo 試験では、化合物 2 の経口投与により、smSDS マウスモデルにおける社会的回避行動や快感消失様行動が有意に改善され、神経樹状突起スパイン密度が増加した。これらの薬理効果は、顕著な毒性なしに達成された。

本研究により、HDAC2 選択性と良好な *in vivo* 活性を併せ持つ阻害剤が同定された。この分子は、触媒阻害だけでなく、HDAC2 とその関連複合体の分解を誘導するという独特な作用機序を示す。開発された化合物は、CNS 機能における HDAC2 の役割を研究するための有用なケミカルツールとなるとともに、エピジェネティック創薬研究に新たな方向性を提供する可能性がある。

以上のように、本研究は、HDAC2 を標的とした新たな治療戦略として、BBB 透過性 HDAC2 阻害薬の開発とその薬効メカニズム解析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。