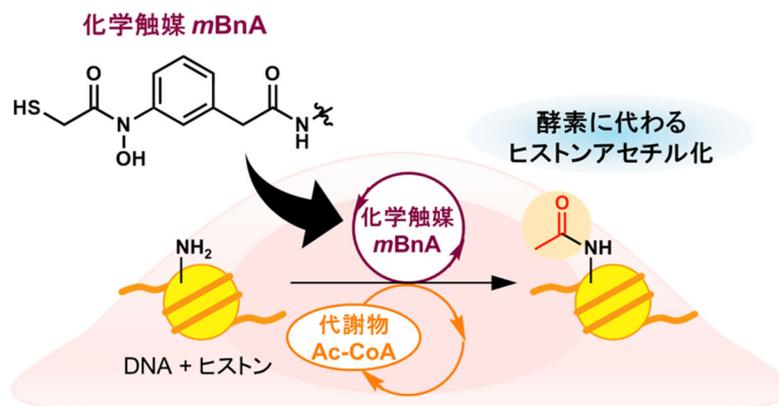


東京大学  
千葉大学

## 細胞内で酵素のようにヒストンを修飾する化学触媒の開発 ——疾患における酵素機能の異常に介入する新規治療法の可能性——

### 発表のポイント

- ◆重要な翻訳後修飾の一つであるヒストンアセチル化は、細胞内で生合成される代謝物であるアセチル CoA をヒストンアセチル化酵素が活性化することによって起こる。
- ◆細胞内に存在するアセチル CoA を活性化して、ヒストンタンパク質のアセチル化を促進する化学触媒の開発に、世界で初めて成功した。
- ◆本研究は、疾患における酵素機能異常に介入する新規治療法開発へ繋がることが期待される。



細胞内でヒストン修飾を行う化学触媒

### 発表概要

今回、東京大学 大学院薬学系研究科 有機合成化学教室 金井 求 教授、山次 健三 助教（現千葉大学 大学院薬学研究院 教授）、川島 茂裕 准教授らの研究グループは、細胞内にアセチル源として存在する代謝物アセチル CoA を酵素（注1）のように活性化してヒストン（注2）のアセチル化（注3）反応を促進させる、低分子（注4）化学触媒（注5）の開発に成功しました。生体内では、様々な化学反応がネットワークを形成することで生命機能の維持・制御が行われています。そのような化学反応のひとつである核内タンパク質ヒストンのアセチル化は、遺伝子の転写を制御するのに重要な反応として知られています。ヒストンアセチル化はヒストンアセチル化酵素がアセチル CoA を活性化することによって起こり、その機能異常はさまざまな疾患に関与しています。したがって、酵素に代わって生体内ヒストンアセチル化反応を促進できる人工的な化学触媒の開発は、疾患における異常なヒストンアセチル化の機能解明やその制御を介した新規治療法に繋がる可能性があります。

研究グループは、細胞内の存在量が少ないアセチル CoA からアセチル基を効率的に取り込み活性化する触媒デザインを考案し、構造改変による触媒の化学的性質の調節・最適化を行いました。この結果得られた触媒分子を生細胞に添加したところ、細胞内のアセチル CoA を用いた、ヒストンの特定の位置でのアセチル化が進行することを確認しました。

本成果は、生体内で産生される代謝物を用いた生命活動にとって意味のある生体内化学反応を、酵素に代わり低分子の化学触媒によって実現した初めての例であり、新たな基礎生物学の研究ツールや創薬基盤概念構築の第一歩とも言えます。

## 発表内容

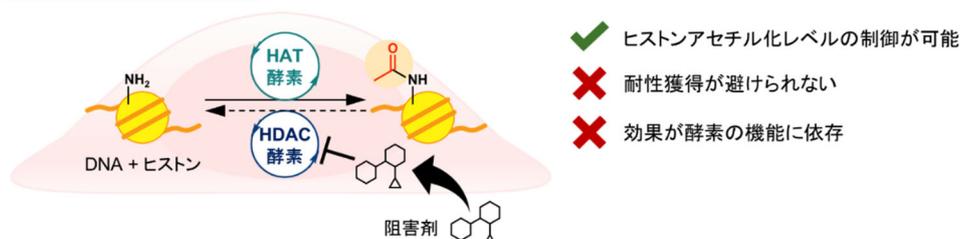
### 〈研究の背景〉

生体内では、様々な化学反応が絡み合ったネットワークによって生体分子の機能・局在・相互作用などの制御が行われ、生命活動が維持されています。このような生体内化学反応は酵素によって厳密に制御されており、その異常はさまざまな疾患に関与します。したがって、生体内化学反応ネットワークに直接介入し異常な化学反応を正常化する手法は、疾患の治療に繋がることが期待されます。中でも、核内で DNA の格納を担うタンパク質ヒストンは、リジン残基（注 6）のアセチル化に代表される多様な翻訳後修飾（注 7）を受けることで遺伝子転写の制御に関与することが知られ、その修飾反応は抗がん剤の重要な標的とされています。

従来、治療を目的とした生体内反応の調節には、経口投与可能な低分子の阻害剤などを用いて反応にかかわる酵素の機能を制御する手法がとられてきました。例えばヒストンアセチル化レベルが低下したがん細胞においてアセチル化を促進させる場合には、アセチル化を取り除くヒストン脱アセチル化酵素の機能を低分子薬剤によって阻害する、という戦略をとることができます。このような低分子による酵素機能の制御によって成功している抗がん剤もいくつかありますが、生体が持つ酵素を標的とする以上、酵素の変異による耐性獲得（注 8）が避けられないことに加え、そもそもヒストンをアセチル化する酵素の機能が低下していると脱アセチル化を抑えてもアセチル化レベルが上がらない可能性も考えられます。

これに対し本研究グループでは、ヒストンアセチル化のような生命活動にとって意味のある生体内化学反応を酵素に頼らず直接進行する化学触媒を開発できれば、新たな創薬概念になるのではないかと考え、研究を行ってきました（図 1）。

#### 従来の戦略: 酵素活性の制御



#### 本研究グループの戦略: 化学触媒による直接ヒストンアセチル化

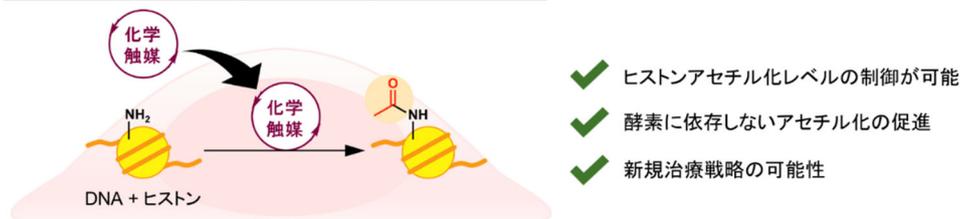


図 1: ヒストンアセチル化反応を制御する戦略

従来のがん治療を志向したヒストンアセチル化レベルの制御では、ヒストンアセチル化酵素（HAT）やヒストン脱アセチル化酵素（HDAC）といった酵素の機能を阻害剤などによって調節する戦略がとられていました。これに対し本研究グループは、ヒストンアセチル化反応を直接進行できる化学触媒を開発することで、酵素の機能に依存する従来の戦略が抱える課題を克服する新たな創薬概念の創出を目指しています。

本研究グループではこれまでに、細胞内でタンパク質のリジン残基をアセチル化できる化学触媒を開発してきました(注 9)。これらの触媒は、アセチル源を活性化して、タンパク質リジン残基上へとアセチル基を移す反応を行うことができます。しかし、細胞内にはヒストンアセチル化酵素が反応に用いるアセチル CoA がすでに存在しているにも関わらず、従来の化学触媒はいずれも細胞外から人工的なアセチル源を加えないと反応が進行しませんでした。アセチル CoA はチオエステルと呼ばれる比較的反応性の低い形でアセチル基を有しており、細胞内濃度も数  $\mu\text{M}$  から数十  $\mu\text{M}$  と、代謝物としては低くとどまっています。そのような細胞内アセチル CoA を直接活性化することは化学的に困難な課題であり、従来の化学触媒ではこれを実現できていませんでした。

今回、本研究グループは、外からアセチル源を添加することなく、細胞内のアセチル CoA のみをアセチル源として用いてヒストンをアセチル化できる、高活性な化学触媒の開発に取り組みました。

### 〈研究の内容〉

まず、細胞内アセチル CoA を効率よく活性化するための触媒分子のデザインを行いました(図 2)。触媒は大きく 2 つの機能を持った部位からなり、一つはアセチル CoA のアセチル基を触媒分子に取り込むための部位(チオール基)、もう一つは取り込んだアセチル基を活性化してリジン残基と反応させるための触媒中心となる部位となっています。後者の触媒中心には、本研究グループで過去に開発した細胞内環境でも高い触媒活性を示すヒドロキサム酸型の骨格(注 10)を用いることとしました。反応の要となる触媒中心の性質が変化するように少しずつ構造を変えた複数の触媒候補分子を合成し、そのヒストンアセチル化活性を比較したところ、図 2 に示す触媒分子 *mBnA* が最も優れた活性を有することが分かりました。

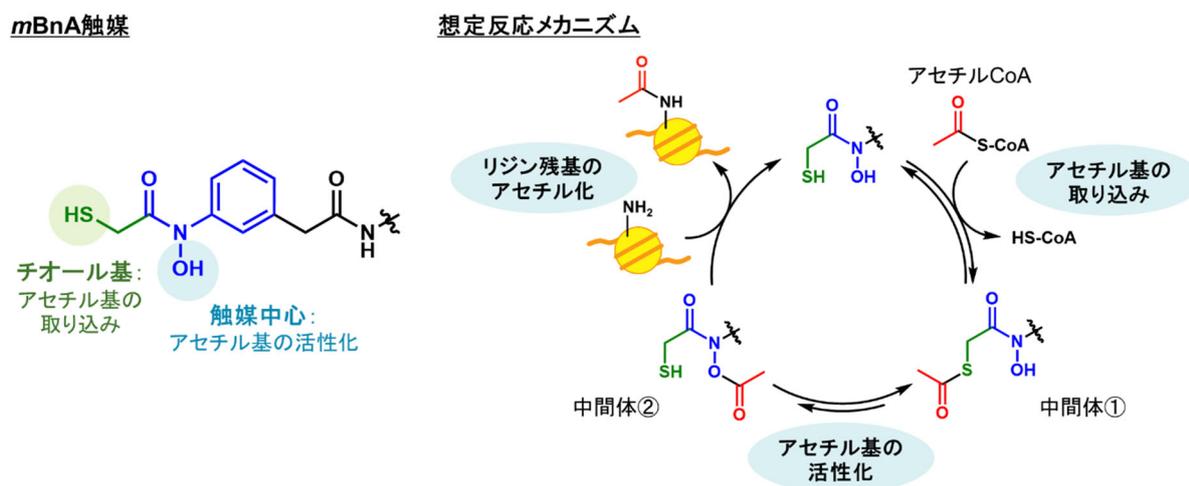


図 2 : 細胞内アセチル CoA を活性化する化学触媒のデザイン

反応性が低く細胞内の存在量が少ないアセチル CoA を効率よく活性化するため、アセチル CoA からアセチル基を素早く取り込むための部位としてチオール基を、取り込んだアセチル基を強力に活性化するための部位としてヒドロキサム酸型の構造を有する触媒中心を、それぞれ分子内に組み込んだ触媒構造をデザインしました。反応は図の右側に示すように、2 つの中間体を經由しながら進行するものと想定しています。

開発した *m*BnA 触媒をヒト細胞に添加したところ、アセチル源を加えていないにもかかわらず、ヒストンのアセチル化が進行しました。この時 *m*BnA 触媒はヒト細胞内の代謝経路で産生されるアセチル CoA を反応に用いていることが、実験的に確かめられました。さらに、細胞内にはアセチル CoA 以外にも類似の構造を持つ代謝物が存在しており、*m*BnA 触媒はその一つであるマロニル CoA を用いてヒストンのマロニル化反応も行えることが明らかとなりました。マロニル CoA はヒストンアセチル化酵素のポケットにはうまくはまらないことから、酵素が反応に使うことのできない代謝物とされています。化学触媒は、生体内の酵素機能を代替するだけでなく、酵素にない機能を発揮する可能性も有すると言えます。

本研究ではさらに、*m*BnA 触媒によるヒストンアセチル化反応の進行度が細胞内アセチル CoA 量の指標となることを提示しました (図 3)。ヒストンは細胞の核に存在することから、核およびそれと繋がった細胞質区画に存在するアセチル CoA のみを検出することができます。これにより、これまで困難だった生細胞内の特定区画におけるアセチル CoA 検出が可能となりました。

本成果は、*m*BnA 触媒が核-細胞質区画におけるアセチル CoA 代謝とヒストンアセチル化の関連を調べるための生化学研究のツールとしても応用可能なことを示すものであると言えます。

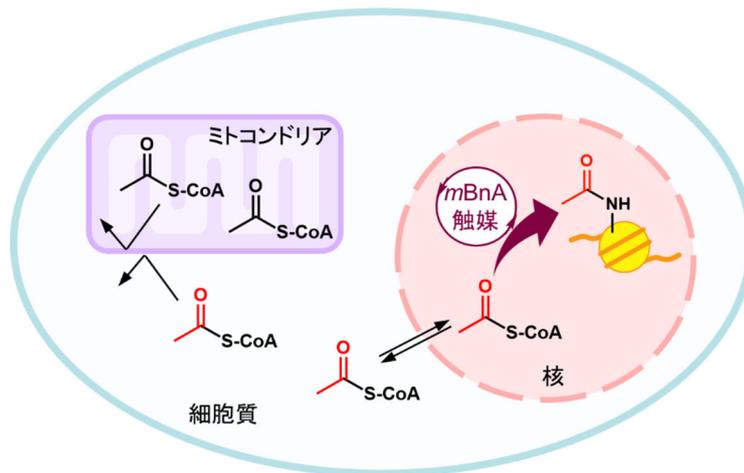


図 3：核-細胞質区画におけるアセチル CoA 量変化の検出

細胞内において、アセチル CoA は核・細胞質・ミトコンドリアにおいて生合成されていることが知られています。アセチル CoA は細胞や細胞内小器官を区切る膜を通り抜けることができないため、膜で区切られたミトコンドリア内のアセチル CoA は他の区画と独立して存在しています。一方、核を覆う膜には核膜孔と呼ばれる穴があるため、核と細胞質に存在するアセチル CoA はこの穴を介して互いに行き来が可能です。したがって、*m*BnA 触媒が核内でヒストンをアセチル化するのに用いることのできるアセチル CoA は核-細胞質に存在するものに限られることから、触媒によるヒストンアセチル化の進行度から核-細胞質のアセチル CoA 量の変化を知ることができます。これまで困難だった、細胞内の特定の区画におけるアセチル CoA 量を検出するための手法となることが期待されます。

#### 〈今後の展望〉

今回、酵素のように細胞内代謝物アセチル CoA を活性化してヒストンアセチル化を促進できる低分子化学触媒の開発に成功しました。本成果は、生体内のヒストンアセチル化酵素の機能を代替・補完することで細胞内の化学反応ネットワークに介入することのできる低分子化学触媒を開発していく上での足掛かりとなり、ヒストンアセチル化を介した疾患治療の可能性を拡張するものと期待されます。

〈関連のプレスリリース〉

①東京大学プレスリリース「化学触媒によって細胞内エピゲノムを操作する」(2021/01/21)

URL: [https://www.u-tokyo.ac.jp/focus/ja/press/z0111\\_00035.html](https://www.u-tokyo.ac.jp/focus/ja/press/z0111_00035.html)

②東京大学大学院薬学系研究科・薬学部プレスリリース「有機合成化学教室の Christopher Adamson 大学院生、梶野 英俊 博士研究員、川島 茂裕 特任准教授、山次 健三 助教、金井 求 教授が、反応剤を惹き寄せる触媒を開発し、生細胞中の狙ったタンパク質の高効率な化学修飾に成功」(2021/09/14)

URL: <https://www.f.u-tokyo.ac.jp/topics.html?page=9&key=1631594020>

## 発表者

東京大学大学院薬学系研究科

金井 求 (教授)

川島 茂裕 (准教授)

千葉大学大学院薬学研究院

山次 健三 (教授) 〈研究当時：東京大学大学院薬学系研究科 (助教)〉

## 論文情報

〈雑誌〉 Nature Communications

〈題名〉 A chemical catalyst enabling histone acylation with endogenous acyl-CoA

〈著者〉 Misuzu Habazaki, Shinsuke Mizumoto, Hidetoshi Kajino, Tomoya Kujirai, Hitoshi Kurumizaka, Shigehiro A. Kawashima\*, Kenzo Yamatsugu\*, Motomu Kanai\*

〈DOI〉 10.1038/s41467-023-41426-z

〈URL〉 <https://www.nature.com/articles/s41467-023-41426-z>

## 研究助成

本研究は、文部科学省科学研究費・基盤研究 A「体分子の構造変換ダイナミズムに介入する化学触媒研究」(JP20H00489)、基盤研究 S「体内の化学秩序を操作する触媒の開発と応用」(JP23H05466)、国際共同研究強化 B「化学触媒ツールの開発を基軸としたヒストン修飾と DNA 修復の相関解明」(JP19KK0179)、挑戦的研究(萌芽)「酵素には不可能なヒストン超アシル化による生細胞エピゲノム操作と理解」(JP21K19326)、学術変革領域研究 B「化学触媒による neo-PTMs の導入」(JP22H05018)、基盤研究 B「エピゲノム操作が可能な化学触媒の開発」(JP21H02074)、新学術領域研究「ヌクレオソーム高次構造とダイナミクスの解析によるクロマチン潜在能の解明」(JP18H05534) の支援により実施されました。

## 用語解説

(注1) 酵素

生体内で起こる化学反応を促進する「触媒」の機能を持ったタンパク質の総称。生体は、約 37 °C・中性の水中に多種多様な分子が混在する複雑な環境である。このような生体内環境において酵素は、特定の化学反応を選択的に温和な条件で効率良く促進できるという特徴を持つ。

(注 2) ヒストン

細胞の核に存在し、DNA を巻き付けることでその格納にかかわっているタンパク質。加えて、化学反応による様々な翻訳後修飾（注 7 参照）を受けることで、DNA にコードされた遺伝子の転写を制御する機能も持つ。

(注 3) アセチル化

アセチル基 $-C(=O)CH_3$ を、有機化合物上にある官能基（特定の構造を持った原子団）へと導入する化学反応のこと。ヒストンアセチル化の場合は、ヒストンタンパク質に存在するリジン残基（注 6 参照）のアミノ基 $-NH_2$ へとアセチル基を導入する反応を指す。

(注 4) 低分子

およそ一万以上の分子量を持ったタンパク質などの高分子に対し、原子が数個から百個ほど繋がってできた、分子量が数百程度の小さな分子を指す。本研究では、数十万程度の分子量の酵素が行っている「アセチル CoA の活性化によるリジン残基（注 6 参照）のアセチル化」を、分子量 250 程度の小さな化学触媒モチーフによって実現することに成功した。

(注 5) 化学触媒

「生体触媒」とも呼べる酵素に対し、化学合成によって人工的に合成した触媒分子を指す。触媒は、特定の化学反応の反応速度を上昇させながらも、それ自身は反応の前後で変化しない分子のこと。原料が存在する限り、繰り返し反応を促進させ続けることができる。

(注 6) リジン残基

タンパク質中に含まれる、アミノ基 $-NH_2$ を有するリジンと呼ばれるアミノ酸に由来する部位。アセチル化をはじめとする様々な翻訳後修飾の標的となることで、タンパク質の機能制御にかかわることが多い。

(注 7) 翻訳後修飾

細胞内でタンパク質が生合成（翻訳）された後に、タンパク質上のある官能基を化学反応によって変化させること。リジン残基のアセチル化はその代表例の一つ。翻訳後修飾はタンパク質の活性を変化させたり、特定の生体内反応のトリガーとなったりすることで、生命活動の動的な制御を実現している。

(注 8) 耐性獲得

もともと効いていた薬剤が効かなくなること。酵素などのタンパク質に結合して機能を変化させる抗がん剤の場合、がん細胞が遺伝子変異を起こしてタンパク質の構造を変化させ、薬剤が結合できないタンパク質が生じると耐性を獲得してしまう。

(注 9) 詳細は関連プレスリリース①②参照

(注 10) 詳細は以下を参照

Mizumoto, S. *et al.* Hydroxamic Acid-Piperidine Conjugate is an Activated Catalyst for Lysine Acetylation under Physiological Conditions. *Chem. Asian J.* 2020, 15, 833-839.  
DOI 番号: 10.1002/asia.201901737

URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/asia.201901737>

## 問合せ先

〈研究に関する問合せ〉

東京大学大学院薬学系研究科

教授 金井 求 (かない もとむ)

Tel : 03-5841-4830 E-mail : kanai@mol.f.u-tokyo.ac.jp

〈報道に関する問合せ〉

東京大学大学院薬学系研究科 庶務チーム

Tel : 03-5841-4702 E-mail : shomu@mol.f.u-tokyo.ac.jp

千葉大学広報室

Tel : 043-290-2018 E-mail : koho-press@chiba-u.jp