

講演番号：2F37p10

講演日時、会場：3月27日 15:49～ F 校舎 37 会場

NPC1L1 依存的なコレステロール取込みを阻害するクロサルノコシカケ由来新規天然物 fomiroid A の同定

Identification of a novel natural product fomiroid A, which inhibits NPC1L1-dependent cholesterol uptake, from the mushroom *Fomitopsis nigra*.

○千場 智尋<sup>1,2,3</sup>、櫻田 剛史<sup>1</sup>、渡邊 理恵<sup>1</sup>、山口 宏二<sup>1</sup>、木村 泰久<sup>2</sup>、木岡 紀幸<sup>2</sup>、河岸 洋和<sup>4,5,6</sup>、松尾 道憲<sup>2,7</sup>、植田 和光<sup>2,3</sup> (1ファンケル総研、<sup>2</sup>京大院農、<sup>3</sup>京大 iCeMS、<sup>4</sup>静大院・創造、<sup>5</sup>静大・グリーン研、<sup>6</sup>静大院農、<sup>7</sup>京女大・食物栄養)

○Tomohiro CHIBA<sup>1,2,3</sup>, Tsuyoshi SAKURADA<sup>1</sup>, Rie WATANABE<sup>1</sup>, Kohji YAMAGUCHI<sup>1</sup>, Yasuhisa KIMURA<sup>2</sup>, Noriyuki KIOKA<sup>2</sup>, Hirokazu KAWAGISHI<sup>4,5,6</sup>, Michinori MATSUO<sup>2,7</sup>, Kazumitsu UEDA<sup>2,3</sup> (1FANCL Research Institute, <sup>2</sup>Grad. Sch. of Agric., Kyoto Univ., <sup>3</sup>iCeMS, Kyoto Univ., <sup>4</sup>Grad. Sch. of Sci. and Tech., Shizuoka Univ., <sup>5</sup>RIGST, Shizuoka Univ., <sup>6</sup>Fac. of Agric., Shizuoka Univ., <sup>7</sup>Dept. of Food and Nutr., Kyoto Women's Univ.)

【背景・目的】高コレステロール血症は、我が国において死因の上位を占める心筋梗塞や脳梗塞を誘発する動脈硬化症の危険因子であり、血中コレステロール濃度の低下がこれら疾患の予防として重要である。近年、コレステロール吸収阻害剤である ezetimibe が、高コレステロール血症の改善に有効であり、その標的蛋白質が小腸上皮細胞の頂端膜に局在する Niemann-Pick C1-Like 1 (NPC1L1)であることが報告された。ezetimibe は NPC1L1 の第二細胞外ループに直接結合し、その機能を阻害する。しかし、その阻害メカニズムはほとんど不明である。一方、コレステロール等のステロール類は、NPC1L1 の N 末端ドメインに結合するが、更に N 末端ドメインとは異なる第二ステロール結合部位の存在も提唱されている。このように低分子化合物の NPC1L1 における結合部位は複数存在することが推測され、NPC1L1 機能に影響を与える可能性があった。本研究では様々な骨格の化合物を有する植物やキノコの抽出物から NPC1L1 と結合し、ezetimibe と同様にコレステロール取込み阻害作用を示す天然物由来化合物を明らかにすることを目的とした。

【方法・結果】 [<sup>3</sup>H]ezetimibe-glucuronide 及び NPC1L1 発現細胞の膜画分を用いて、その結合を阻害する植物やキノコの抽出物を探索した結果、キノコ的一种クロサルノコシカケ (*Fomitopsis nigra*) に強い阻害活性を見出した。更に阻害活性を指標として活性化合物の単離及び構造決定を試みたところ、新規化合物である fomiroid A を見出した。fomiroid A と構造が類似し、N 末端ドメインに結合する lanosterol や 25-hydroxycholesterol に阻害活性が認められなかったことから、fomiroid A 結合部位は、N 末端ドメイン以外であると思われる。次に NPC1L1 の ezetimibe 結合部位と fomiroid A 結合部位の関係性を調べた。ミスフォールディングのため細胞内の小胞体に留まる NPC1L1 変異体に対して fomiroid A を処理したところ、NPC1L1 変異体への結合によるフォールディングの是正が起こり、局在が小胞体から細胞膜上へと救済されるファーマコロジカルシャペロン作用が観察された。一方、この変異体に対し ezetimibe は同様の効果を示さなかった。この結果より NPC1L1 の主要な fomiroid A 結合部位は、ezetimibe 結合部位とは異なることが示唆された。最後に NPC1L1 発現細胞及び [<sup>3</sup>H]cholesterol を用いて fomiroid A の影響を調べた結果、fomiroid A は ezetimibe と同様、NPC1L1 依存的なコレステロール取込みとコレステロールエステルの形成を濃度依存的に阻害した。

上記結果より、クロサルノコシカケより単離し構造決定した新規化合物の fomiroid A は、ezetimibe とは異なる結合部位を介して NPC1L1 依存的なコレステロール取込みを阻害することが示唆された。

Cholesterol, NPC1L1, lipids