

真菌由来 beaveriolide III の ACAT1 選択的阻害活性に関する研究

○大場 未央¹, 松田 大介¹, 大城 太一^{1,2}, 土井 隆行³, 高橋 孝志⁴, 大村 智⁵, 供田 洋¹(¹北里大院薬, ²自治医大, ³東北大院薬, ⁴東工大院理工, ⁵北里大生命研)

【目的】Beauveriolide III (BV) はマクロファージ内脂肪滴蓄積阻害剤として真菌培養液中より発見された。生化学的解析から、作用点は小胞体膜に局在する acyl-CoA:cholesterol acyltransferase (ACAT) と報告してきた。ACAT には 2 種類のアイソザイム (ACAT1 と ACAT2) が存在し、生体内における機能や局在が異なることから、阻害剤のその選択性を調べることは重要である。BV は細胞レベルと酵素レベルの選択性が一致しないという疑問点があり、その理由を検討する。

【方法】BV の結合タンパク質及び細胞内局在を調べるため biotin 化 BV 誘導体 (TM21) を調製した。細胞レベル、酵素レベル及び digitonin 処理により細胞膜透過性を上げたセミインタクト細胞レベルでの ACAT 活性は、ACAT1 又は ACAT2 発現 CHO 細胞 (Wake Forest 大 Dr. Rudel より分与) を用いて定法に従い評価した。すなわち、[¹⁴C]oleic acid 又は [¹⁴C]oleoyl-CoA を基質として反応させ、生成した cholesteryl [¹⁴C]oleate を BAS2000 で定量した。

【結果・考察】細胞レベルでは、BV は ACAT1 活性を選択的に阻害していたのに対し (IC₅₀: ACAT1, 0.9 μM; ACAT2, >20 μM)、酵素レベル (ミクロソーム) では両アイソザイムを同程度阻害した (IC₅₀: ACAT1, ACAT2 とともに 9.0 μM)。しかし、セミインタクト細胞レベルでは ACAT1 活性を選択的に阻害した (IC₅₀: ACAT1, 0.7 μM; ACAT2, >90 μM)。このことから、小胞体膜高次構造の保持が BV による ACAT1 選択的阻害活性に重要であると考えられる。

更に、マクロファージ細胞における TM21 と ACAT1 の局在を顕微鏡にて観察したところ、核周辺において共局在が認められた。以上の結果から、BV は ACAT1 に対して親和性を有し、その活性を阻害していると考えられる。