

コレラ毒素やボツリヌス毒素の宿主腸上皮細胞内輸送について

○藤永由佳子^{1,2}、Anne Wolf³、Chiara Rodighiero³、Wayne Lencer³、有満秀幸¹、李 在哲¹、阪口 義彦¹、小熊恵二¹

¹岡山大・大学院医歯学総合研究科・病原細菌学、²科技団・さきがけ、³GI Cell biology, Children's Hospital and Harvard Medical School

(CT)は宿主の腸上皮細胞の生理的な小胞輸送系や細胞内小器官の機能を利用して細胞質の標的分子に到達することが明らかになってきている。CTはGM1に結合し、エンドサイトーシスされて、ゴルジ体、小胞体へ逆行輸送される。小胞体より細胞質にtranslocateし、アデニル酸シクラーゼを活性化し下痢症を引き起こす。CTの小胞体への輸送経路を明らかにするために我々は、Bサブユニットにチロシン硫酸化サイトとN結合型糖鎖付加サイトを付加した毒素(CT-GS)を作製した。チロシン硫酸化はTGNとゴルジ体でのみ起こり、N結合型糖鎖付加は小胞体でのみ起こることから、それらへの毒素の移行を直接証明することができる。ヒト腸管上皮培養細胞T84において、CT-GSの硫酸化と糖鎖付加が毒性発現に相関して検出された。Bサブユニットのみでも同様に輸送された。糖鎖付加したBサブユニットのみを、コンカナバリンA ビーズとGM1ビーズを用いた Double affinity precipitation により分画したところ、Aサブユニットが検出された。従ってCTはホロトキシンの状態で小胞体に到達することが明らかになった。毒素原性大腸菌の易熱性エンテロトキシン(LTIIb)はGM1ではなくGD1aに結合する。T84細胞膜上では、CTはラフトと呼ばれるマイクロドメインに局在し毒素活性を示すが、LTIIbはラフトに局在せず毒素活性を示さない。そこでLTIIb-GSを作製し輸送経路を解析した結果、LTIIb-GSはエンドサイトーシスされるが、ゴルジ体および小胞体には輸送されないことが明らかになった。従ってCTの輸送のsorting factorは、BサブユニットがGM1に結合しおそらくラフトに局在することである。一方、ボツリヌス神経毒素複合体(16S毒素)は小腸上皮細胞に結合した後、上皮細胞のバリアを通過して中毒を引き起こすがその機構は不明である。16S毒素は高い親和性でT84に結合するが、tight junction 機能には影響しないことから、16S毒素はトランスサイトーシスにより通過する可能性が考えられ、現在解析を行っている。