

ウエルシュ菌  $\beta$  毒素のオリゴマー形成と細胞障害作用の関係

○永浜政博、林 慎也、森光伸介、小林敬子、櫻井 純  
徳島文理大・薬・微生物

ウエルシュ菌  $\beta$  毒素は、本菌による壊疽性腸炎の原因毒素である。我々は、本毒素をヒト急性前骨髄性白血病細胞由来のHL60細胞に作用させると、まず、 $K^+$ イオンの遊離や $Ca^{2+}$ イオンの細胞内流入が認められ、その後、細胞の膨化等を引き起こされること、さらに、細胞膜上でポアーの形成の可能性も報告してきた。今回、本毒素の細胞膜障害作用の機構を明らかにするため、HL60細胞における  $\beta$  毒素の結合部位について検討した。 $^{32}P$ -ラベル  $\beta$  毒素とHL60細胞をインキュベーション後、細胞を超音波で処理し、さらに、ショ糖密度勾配超遠心法により分画し、ラフト分画への  $\beta$  毒素の結合をSDS-PAGEとオートラジオグラフィーで分析した。その結果、HL60細胞のラフト分画に毒素のモノマーに加え、毒素の6~7量体に相当するオリゴマーの存在を認めた。この毒素オリゴマー形成は、インキュベーション開始後、約30分で最大となり、その後、時間経過とともに減少した。次に、HL60細胞をラフトからコレステロールを除去し、その機能を変化させる methyl- $\beta$ -cyclodextrin、または、カベオラのコレステロールを除去し、その機能を変化させるコレステロールオキシダーゼでHL60細胞を処理すると、 $\beta$  毒素による $K^+$ イオンの遊離と細胞膨化が有意に抑制された。次に、 $\beta$  毒素オリゴマーが、活性を有するかどうかを検討するため、蛍光色素カルボキシフルオレセイン(CF)を取り込ませたホスファチジルコリン-コレステロール(1:1)リポソームに  $\beta$  毒素を作用させると、リポソームからのCF遊離とリポソーム上でのオリゴマー形成が認められた。以上より、 $\beta$  毒素は、HL60細胞のラフトに局在する受容体に結合しラフトでオリゴマーを形成して、その作用を発現すると推察される。