

Clostridium perfringens ϵ 毒素の活性化と標的細胞膜の性質

○宮田 茂¹、松下 治¹、南 純三朗²、玉井栄治¹、嶋本聖子¹、岡部昭延¹
¹香川医大・分子微生物、²香川県立医療短大

腸管毒素血症の起因菌である *C. perfringens* type B及びDが産生する ϵ 毒素は、ボツリヌス毒素、テタヌス毒素に次ぐ強さの致死毒素である。しかし、致死に至る標的細胞は未だ同定されていない。一方で、Madin-Darby canine kidney (MDCK) 細胞に対して細胞毒性を示し、その細胞膜にイオン透過性の細孔であるSDS耐性の高分子量複合体を形成する。 ϵ 毒素は不活性な前駆体として菌体外に分泌された後、トリプシンやキモトリプシン、本菌自体が産生する λ 毒素(サーモリン様プロテイナーゼ)によってそのN-末端領域とC-末端領域が共にプロセシングされて活性化する。大腸菌発現系で生産した組換え毒素を用いて調べた結果、C-末端領域のプロセシングが ϵ 毒素の致死活性、細胞毒性及び高分子量複合体形成に必須であった。また、N-末端領域の長さの異なる毒素を混合し、シナプトソーム膜と反応させた結果、分子量の異なる8個の高分子複合体が検出されたことより、 ϵ 毒素は感受性細胞の細胞膜に7個の分子からなる細孔を形成することが明らかとなった。一方、動物細胞の細胞膜には、raftと呼ばれるスフィンゴ脂質とコレステロールに富む非イオン性界面活性剤不溶性膜領域 (detergent-resistant membranes, DRMs) が存在する。DRMには、バルクの膜領域と比較して、GPI-anchored proteinやGタンパク質複合体などのシグナル伝達分子がより多く分配している。そこで、 ϵ 毒素が標的細胞膜のどの領域に結合し7量体を形成するか調べたところ、主にDRMに結合しDRMで7量体を形成した。次に、DRM構成成分が毒素活性に及ぼす影響について検討した。methyl- β -cyclodextrin (MBCD) 処理により細胞膜からコレステロールを一部除去した結果、7量体形成が阻害された。また、MBCD処理したMDCK細胞は、 ϵ 毒素感受性が約4倍低下した。同様に、細胞膜中のスフィンゴミエリンを減少させたMDCK細胞は、 ϵ 毒素感受性が約2倍低下した。これらの結果から、 ϵ 毒素の毒性発現には、DRMのintegrityが重要であると考えられた。また、静脈内投与した ϵ 毒素が腎臓と脳・中枢神経系に局在することや感受性細胞が限定されることから、特異的なレセプターの存在が示唆された。これらの結果から、 ϵ 毒素は、DRMに局在する特異的なレセプターを介して標的細胞に結合し、DRMという場において7量体を形成することにより細胞膜に細孔をあけ、細胞死を引き起こしていると推察された。