

## ジフテリア毒素ミュータントCRM197が有する毒性について

○陰山卓哉、目加田英輔  
阪大・微研・発生遺伝

ジフテリア毒素は酵素活性部位であるフラグメントAとフラグメントBからなる典型的なA-B型毒素である。フラグメントAにはADPリボース転移酵素活性があり、真核細胞のタンパク質合成に必須なペプチド伸張因子EF-2を不活性化することにより毒性を発揮する。ジフテリア毒素は、細胞表面に存在するジフテリア毒素受容体を介して細胞内に侵入する。一方、ジフテリア毒素受容体には別の作用があり、ヘパリン結合性上皮細胞増殖因子HB-EGF膜結合型前駆体(proHB-EGF/HB-EGF)としても知られている。本研究にて用いたCRM197はジフテリア毒素の変異タンパク質であり、フラグメントA内のGly52がGluに変異した分子である。これまで全く毒性を示さないジフテリア毒素変異タンパク質と認識されている。今回我々は、ジフテリア毒素感受性細胞をCRM197存在下で培養したところ、CRM197が細胞に対して致死作用を示すことを見出した。そこで、このCRM197が示す細胞毒性について以下のように詳細に検討した。まず細胞毒性については、ジフテリア毒素感受性細胞であるVero細胞、Vero-H細胞を用いて、CRM197およびジフテリア毒素の二重変異であるE52K148の細胞毒性を検証した。タンパク質合成阻害能については、ジフテリア毒素の毒素作用はフラグメントAによる細胞のタンパク質合成阻害である。そこで、CRM197が示す毒性がフラグメントAによるタンパク質の合成阻害であるのかを検討した。ジフテリア毒素耐性細胞への影響については、CRM197の示す毒性がジフテリア毒素の有するADPリボシル化活性によるEF-2の不活性化であるかをVdtr細胞を用いて検証した。Vdtr細胞は、EF-2がADPリボシル化されないため、ジフテリア毒素を加えてもフラグメントAによる不活性化を受けない細胞である。最後に、CRM197の有するADPリボシル化活性は、CRM197のフラグメントAが実際にEF-2をADPリボシル化する活性があるのかを、cell-freeの条件下でADPリボシル化反応実験を行い検討した。以上の結果から、CRM197には従来認められていなかったADPリボシル化活性があり、HB-EGFを高度に発現した細胞に対して毒性を発揮することが明らかになった。また我々はジフテリア毒素感受性動物であるハムスターにCRM197を投与したところ、致死効果を示した。詳細な死因については現在解析中である。