

ウエルシュ菌 α 毒素のPC12細胞に対する作用

○小田真隆、井狩秀佑、森宗由華、松野隆幸、櫻井 純
徳島文理大・薬・微生物

ウエルシュ菌 α 毒素は、ヒツジ、及び、ウサギ赤血球においてスフィンゴミエリンやホスファチジルコリン代謝系を亢進することにより溶血を引き起こすこと、さらに、ウサギの好中球において、MAPK経路を活性化することにより活性酸素産生を惹起することを明らかにしてきた。最近、神経細胞における MAPK系の役割が注目され、特に、神経活動のシグナル伝達は、MAPK系の活性化の関与が明らかにされてきた。そこで、今回、神経細胞モデルであるラットの副腎髄質由来褐色細胞腫(PC12細胞)に着目し、本毒素のPC12細胞に対する作用について検討した。

PC12細胞を、コラーゲン \diamond でコートしたウエルプレートに撒き、1.0~100 μ g/mLの α 毒素を作用させると、神経突起の伸長が引き起こされ、濃度に依存して神経突起の伸長が認められた。一方、高濃度(100 μ g/mL)の毒素処理においても細胞毒性は全く認められなかった。そこで、神経細胞の活性化にチロシンキナーゼ受容体の関与が報告されているので、本毒素により、チロシンキナーゼ受容体がリン酸化について検討した。その結果、本毒素による神経突起の伸長は、チロシンキナーゼ受容体のキナーゼドメインを阻害するAG1478やK252aにより濃度依存的に阻害された。次に、チロシンキナーゼ受容体のアダプタータンパクであるShcに着目し、本毒素による Shcのリン酸化について解析した。その結果、毒素添加後、5~10分でShcのリン酸化が最大となり、その後、脱リン酸化していることが明らかとなった。これらの結果から、リン酸化したShcがGrb2などのタンパクと相互作用することにより下流へシグナルを伝達していることが示唆された。そこで、Shc活性化以降のシグナル伝達系について分析するため、MAPK経路に注目し検討した。その結果、 α 毒素によるERKのリン酸化は認められたが、他の MAPKのリン酸化は認められなかった。また、神経突起の伸長を調節するp90RSKの本毒素によるリン酸化は、ERKの活性化の挙動とほぼ同様であること、さらに、本毒素による神経突起の伸長、及び、ERKとp90RSKのリン酸化は、ERKを介するMAPK経路の阻害剤であるPD98059により濃度依存的に阻害されることも明らかになった。

以上から、 α 毒素は、PC12細胞のチロシンキナーゼ受容体のアダプタータンパクであるShcをリン酸化しMEK、ERK、そして、p90RSKを介するMAPK経路の活性化を誘導することにより、神経突起伸長に関与する転写因子の活性化を惹起し、PC12細胞の突起伸長を引き起こすと推察される。