

## ブドウ球菌エンテロトキシンAは腸管上皮細胞内Ca<sup>2+</sup>シグナルを修飾する

○胡 東良<sup>1</sup>、重茂克彦<sup>2</sup>、品川邦汎<sup>2</sup>、中根明夫<sup>1</sup>

<sup>1</sup>弘前大・医・細菌、<sup>2</sup>岩手大・獣医・微生物

【目的】ブドウ球菌エンテロトキシンA(SEA)は黄色ブドウ球菌の産生する菌体外タンパク質で、食中毒の原因毒素である。SEAは催吐活性を示す一方、スーパー抗原活性を有することが知られている。しかし、SEAによる食中毒のメカニズムはまだ明らかにされていない。今回、我々はSEAによるヒト腸管上皮細胞内Ca<sup>2+</sup>シグナルへの影響について検討した。

【材料と方法】大腸菌発現系を用いて組換えSEAを作製した。腸管上皮細胞Henle 407をcover slip上で48時間培養し、Fura-2で35分ロードした後、SEAで刺激し、細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度変化を倒置蛍光顕微鏡測定システムにより測定した。一部の実験ではRp-cAMP(PKA阻害剤)、U73122(PLC阻害剤)、L-NMMA(NOS阻害剤)を添加しその影響をみた。また、細胞のNOS発現についてリアルタイム RT-PCR法により定量し、細胞内Ca<sup>2+</sup>シグナル変化への影響を検討した。

【結果と考察】ヒト腸管上皮細胞Henle 407はSEA刺激により細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度が上昇した。Ca<sup>2+</sup>free細胞外液においても、同様にCa<sup>2+</sup>濃度の上昇がみられた。次に、上皮細胞をRp-cAMP、U73122またはL-NMMAで処理し、SEAで刺激後の細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度を調べた。Rp-cAMP及びU73122はSEAによるCa<sup>2+</sup>濃度の上昇を抑制できなかったが、L-NMMAはCa<sup>2+</sup>濃度の上昇を明らかに抑制した。Henle 407細胞のNOSの発現を調べたところ、本細胞はendothelial NOS (eNOS)を発現し、また、SEA、TNF- $\alpha$ の刺激によりinducible NOS (iNOS)の発現が誘導された。さらに、TNF- $\alpha$ 処理細胞をSEAで刺激したところ、未処理細胞より、Ca<sup>2+</sup>濃度は顕著に増加した。以上の結果から、腸管上皮細胞はSEA刺激によりCa<sup>2+</sup> storeからCa<sup>2+</sup>を放出し、細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度が上昇したと考えられる。また、細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度の上昇に、eNOS及びiNOSが関与していることが示唆された。

共同研究者:菅 世智子、泉井 亮(弘前大・医・第一生理)