

## ボツリヌスC型神経毒素と糖脂質およびリン脂質との相互作用について

○塚本健太郎、竹内くみこ、幸田知子、向本雅郁、小崎俊司  
大阪府大・院・農学生命

ボツリヌス菌の産生する神経毒素はシナプス前部に特異的に結合し、神経伝達物質の遊離を阻害する。神経毒素は血清学的にAからG型に分類され、型によって罹患する動物種や感受性が異なり、A、B、E、F型はヒトのボツリヌス中毒の、C、D型は家畜や鳥類のボツリヌス症の原因となっている。いずれの型の毒素も重鎖C末端領域(Hc)、重鎖N末端領域、軽鎖の3つの領域から構成され、それぞれ毒作用発現に関わる受容体結合、細胞内侵入・移行、および細胞内標的蛋白の分解を担っている。C型神経毒素には典型的なC型構造を有する毒素とHcがD型神経毒素に非常に類似した構造を持つ「C/Dキメラ」毒素の存在が知られており、両者の受容体は異なると予想される。今回、私共はこれら2種の毒素が異なる脂質に結合することを見出したので報告する。

C型および「C/Dキメラ」型毒素Hc(CB-19Hcおよび003-9Hc)のリコンビナントを用いて、ニワトリ脳シナプトソームに対する結合を調べた結果、<sup>125</sup>I-CB-19Hcおよび<sup>125</sup>I-003-9Hcの結合は異なる未標識Hcにより阻害されず、両者の受容体は異なると考えられた。シナプトソームをプロテイナーゼKおよびエンドグルコセラミダーゼを処理すると、プロテイナーゼ処理ではCB-19Hc、003-9Hcの結合活性は変化しなかったが、セラミダーゼ処理によりCB-19Hcの結合活性のみ低下した。このことから両者のシナプトソームへの結合には蛋白質の関与は薄く、特にCB-19Hcは糖脂質に結合していることが示唆された。シナプトソームから総脂質を抽出し、薄層クロマトグラフィー(TLC)で分離後、標識Hcを用いてTLC overlay assayを行った。CB-19Hcはレゾルシノール試薬で染色される2つの糖脂質に結合し、移動度からこれらの糖脂質はガングリオシドGD1bおよびGT1bであることがわかった。一方、003-9Hcはニンヒドリン試薬で染色されるリン脂質ホスファチジルエタノールアミン(PE)に結合した。

これまでガングリオシドとボツリヌス毒素との結合は古くから指摘されていたが、リン脂質との相互作用について過去に報告はない。PEの大部分は細胞膜の内側に存在しているが外側にフリップ・フロップすることが知られており、実際に毒素受容体として機能しているか現在検討中である。