

<L-3> *H. pylori*が産生する空胞化毒素VacAのapoptosis誘発機序

○山崎栄樹<sup>1,2</sup>、和田昭裕<sup>1,2</sup>、熊取厚志<sup>1</sup>、中川一路<sup>3</sup>、船尾純子<sup>3</sup>、中山真彰<sup>1</sup>、久恒順三<sup>1</sup>、西義人<sup>1</sup>、平山壽哉<sup>1</sup>

(1 長崎大・熱研、2 PRESTO, JST、3 阪大・歯学部)

*H. pylori* 空胞化致死毒素(VacA)は *H. pylori* が引き起こす胃粘膜障害の重要な病原因子の一つである。VacAは標的細胞に対して細胞質内への空胞形成に代表される多様な生物活性を示す。近年、VacAは標的細胞に対してシトクロムcのミトコンドリアからの遊離(シトクロムc遊離)等のミトコンドリア障害を伴うapoptosisを誘発する事も示唆されているが、その詳細な機構については不明である。本研究ではVacAによるシトクロムc遊離及びapoptosis誘発機構の解明を目的として、VacAを作用させた細胞内におけるapoptosis関連因子(Bax)の活性化について明らかにした。

<方法> VacAによる細胞死及び空胞形成の測定: MTS法及びneutral red取込み活性により評価した。VacAの細胞内局在場所の同定: VacAを作用させたヒト胃癌由来株化細胞(AZ-521細胞)に対して抗VacA抗体を用いた免疫染色及び共焦点顕微鏡観察を行なった。ミトコンドリア及び空胞のマーカーとしてMitoTracker及び細胞内において発現させたGFP fusion Rab7 proteinを用いた。Bax活性化の考察: VacAを作用させたAZ-521細胞に対して活性化型Bax特異的抗体を用いた免疫染色を行ない、FACS analysis及び共焦点顕微鏡観察を行なった。

<結果・考察> VacAのミトコンドリアへの直接的作用の可能性について検討する目的で、VacAの作用によりAZ-521細胞の細胞死及びシトクロムc遊離が観察される条件下でVacAの細胞内局在場所を免疫染色及び共焦点顕微鏡観察により考察した。その結果、シトクロムc遊離が観察される細胞内においてもVacAはミトコンドリア上に局在化しておらず、VacAが引き起こすシトクロムc遊離にVacA以外の細胞内分子の関与が示唆された。そこで、シトクロムc遊離を促進する細胞内因子として知られているBaxの活性化の有無について検討した。その結果、VacA処理時間依存的にAZ-521細胞内でのBaxの活性化が確認された。以上の結果よりVacAが引き起こすミトコンドリア障害とそれに引き続く細胞死に細胞内のapoptosis促進カスケードの関与が示唆された。現在、VacAの細胞膜受容体であるRPTPβの活性変化と細胞内カスケードの相関について考察中であり合わせて発表する。