

<S-8> *Clostridium septicum* α 毒素の新規結合分子の同定

○向本雅郁¹, 幸田知子¹, 居原 秀², 杉本央³, 小崎俊司¹

(1;大阪府大院・生命・感染症制御, 2;大阪府大・理・生物科学,

3;阪大院・医・感染因子)

*Clostridium septicum*の主要な病原因子である α 毒素は細胞膜上のGPIアンカー蛋白を介して細胞に結合後、6~7量体のoligomerとしてporeを形成し膜を破壊する代表的な細胞溶解毒素である。前回の本シンポジウムにおいて、 α 毒素はGPIアンカー蛋白以外にアクチン蛋白特に α アクチンとも結合することを報告した。今回この α アクチンとの結合について臓器や細胞を用いて解析し、この結合の臓器特異性および病原性との関わりについて検討した。

マウスの心臓、骨格筋、腎臓、小腸、肝臓の各臓器をCHAPS bufferで可溶化後、抗 α アクチン抗体で免疫沈降し、その沈降物を用いてtoxin overlay assayを行った。 α 毒素はいずれの臓器においてもアクチンと結合したが、心臓および筋肉において最も強く反応した。マウス筋原細胞由来株化細胞であるC2C12と α 毒素を反応後、可溶化し、抗 α 毒素抗体で免疫沈降した結果、沈降物にアクチンが含まれていた。また同様の可溶化物を、抗アクチン抗体で免疫沈降したところ、沈降物に α 毒素が含まれておりそのほとんどがオリゴマーを形成していた。 α 毒素と相同性が高く同じ細胞溶解毒素であり、GPIアンカー蛋白を受容体とする*Aeromonas hydrophila* Aerolysinを用いてアクチンとのtoxin overlay assayを行った結果、Aerolysinは α アクチンとは結合しなかった。これらの結果から、 α 毒素は標的細胞に結合しオリゴマーを形成した後、 α アクチンと特異的に結合すると考えられた。 α アクチンは心臓と筋肉に多量に存在しこれら諸臓器の運動に重要な役割を担っている細胞骨格系蛋白の一つである。*C. septicum* α 毒素は心停止や筋肉壊死を引き起こすことから、 α アクチンとの結合が α 毒素の病原性発現にとって重要な役割を担っていることが予想される。現在、 α 毒素と α アクチン間の結合機構と病原性についての詳細な解析を進めている。