

## <S-9> ウエルシュ菌 $\alpha$ 毒素によるヒツジ赤血球溶血とネルボノイルセラミドの関係

○小田 真隆<sup>1</sup>、松野 隆幸<sup>1</sup>、高橋 雅也<sup>1</sup>、芦岡 弘樹<sup>1</sup>、越智 定幸<sup>2</sup>、櫻井 純<sup>1</sup>  
(1;徳島文理大・薬・微生物、 2;藤田保健衛生大・医・微生物)

ウエルシュ菌 $\alpha$ 毒素によるヒツジ赤血球に対する溶血は、血球膜中のGiを介して内因性SMaseを活性化し、スフィンゴミエリン(SM)からセラミド(Cer)、スフィンゴシン(Sph)、そして、スフィンゴシン1-リン酸(Sph 1-P)への一連の代謝系の亢進と密接に関連している。SMは、脂肪側鎖の違いにより多様な分子種が存在する。そこで、 $\alpha$ 毒素によるヒツジ赤血球溶血とSM分子種の代謝との関係について検討した。

まず、ヒツジ赤血球膜内に存在するSM分子種を明らかにするため、Bligh-Dyer法を用い、SM分画を調整後、LC/MS/MS解析を行った結果、パルミトイル-、リグノセリル-、そして、ネルボノイル-SMがヒツジ赤血球膜の主要なSMであることが明らかになった。

そこで、これら3種類のSMに焦点を絞り、ヒツジ赤血球を $\alpha$ 毒素処理した時の各SMの分解特異性について検討したところ、いずれのSMも $\alpha$ 毒素の処理濃度に依存して分解されることが判明した。従って、 $\alpha$ 毒素処理により誘導された内因性SMaseの赤血球膜SM分解特異性は、極めて低いと考えられる。

次に、パルミトイル-、リグノセリル-、及び、ネルボノイル-Cerの $\alpha$ 毒素によるヒツジ赤血球溶血に対する影響について検討するため、赤血球を各種Cerで前処理後、溶血を引き起こさない最大濃度の $\alpha$ 毒素を作用させた。その結果、ネルボノイルCer処理赤血球においてのみ、毒素による溶血が有意に亢進した。また、その時のSph、及び、Sph 1-P生成について検討したところ、ネルボノイルCerの処理濃度に依存して、 $\alpha$ 毒素によるSph、そして、Sph 1-P生成に亢進作用が認められた。しかしながら、パルミトイルCer、及び、リグノセリルCer処理赤血球において、本毒素によるSph、及び、Sph 1-P生成に対する影響は、全く認められなかった。従って、毒素処理血球内において内因性セラミダーゼは、ネルボノイルCerに対して高い基質特異性を示すと推察される。

以上から、ウエルシュ菌 $\alpha$ 毒素はヒツジ赤血球膜に結合後、Giを介して内因性SMaseを活性化し、血球膜中のSMを非選択的に加水分解すること、そして、生成亢進したCerの中でも、特に、ネルボノイルCerからSph、そして、Sph 1-Pへの選択的な代謝が本毒素に