

30T-pm02

ウエルシュ菌 ϵ 毒素の空胞形成機構の解析

○東原 将宏¹, 永浜 政博¹, 小林 敬子¹, 櫻井 純¹ (徳島文理大薬)

【目的】ウエルシュ菌の ϵ 毒素は、本菌による動物の腸性中毒症の原因毒素であると考えられている。我々は、 ϵ 毒素を MDCK 細胞に作用させると 7 量体のオリゴマーを形成して結合し、細胞毒性を示すと報告してきた。今回、 ϵ 毒素の作用機構を明らかにするため、本毒素の MDCK 細胞に対する空胞形成作用を検討した。

【方法】 ϵ 毒素による空胞形成は、ニュートラルレッドの取り込みで測定した。空胞形成と Rab7 の関係を検討するため、常法に従い、Rab7 の WT や Dominant negative(DN)体をトランスフェクトし細胞を作製した。また、細胞中の Rab7 の挙動は、抗 Rab7 抗体と発光 2 次抗体で染色し、レーザー蛍光顕微鏡で観察した。

【結果および考察】 ϵ 毒素は、MDCK 細胞に作用させると用量依存的に空胞形成を示した。本毒素による空胞形成は、ピロリ菌空胞形成毒素(VacA)による空胞形成を阻害剤する V 型 ATPase 阻害剤であるバフィロマイシン A1 や微小管脱重合剤であるコルヒチンとノコダゾール処理で阻害された。次に、VacA の空胞形成に Rab7 が関与することが報告されているので、Rab7 の WT と DN 体をトランスフェクトした細胞に対する毒素の空胞形成を調べると、Rab7 の DN 体をトランスフェクトした場合、空胞形成が阻害された。さらに、 ϵ 毒素により空胞形成した細胞を抗 Rab7 抗体で染色し、蛍光顕微鏡で観察すると、空胞の周囲に Rab7 が特異的に集積した。以上より、 ϵ 毒素は、特異的レセプターに結合後、V 型 ATPase の活性化、微小管の集合、後期エンドソームに存在する Rab7 の集積などが関与して空胞が形成されると推察される。