

Title	ウエルシュ菌エンテロトキシンによるクローディン認識機構の解析
Author(s)	木村, 淳
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/49322">http://hdl.handle.net/11094/49322</a>
DOI	
rights	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏名	木村 淳 <small>じゅん</small>
博士の専攻分野の名称	博士 (生命機能学)
学位記番号	第 23081 号
学位授与年月日	平成 21 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 生命機能研究科生命機能専攻
学位論文名	ウエルシュ菌エンテロトキシンによるクローディン認識機構の解析
論文審査委員	(主査) 教授 目加田英輔 (副査) 教授 月田早智子 教授 仲野 徹

### 論文内容の要旨

ウエルシュ菌エンテロトキシン (*Clostridium perfringens* enterotoxin, CPE) はウエルシュ菌の産生する膜孔形成毒素である。CPE受容体としてこれまでにタイトジャンクションを構成する4回膜貫通型タンパク質のクローディン (ClDn) が同定されている。ClDnは20種類以上の相同分子からなるファミリーでCPE受容体となるのはその一部の分子である。しかしCPE感受性あるいは非感受性のClDnの中に明らかな共通モチーフは認められない。そこでCPE感受性がどのように決定されているのかを明らかにするために本研究を行った。

CPE感受性の異なるClDn間のキメラ分子をコードする種々の遺伝子をCPE非感受性細胞に恒常的に発現させて、そのCPE感受性を調べた。その結果、ClDnの第二細胞外ドメイン内のC末端側の12アミノ酸領域がCPE感受性に関与していることを見だし、この領域をCPE-RR (CPE-recognition region) と名付けた。CPE感受性と非感受性のClDnのCPE-RR相当領域を比較したところ非感受性のClDnのCPE-RRは感受性のClDnのそれと比較して負に荷電する傾向があることがわかった。そこでCPE感受性のClDn4と非感受性のClDn5を用いて、CPE-RR相当領域の荷電アミノ酸を入れ替えた変異体を非感受性細胞に発現させてCPE感受性を調べたところ、CPE-RR相当領域に正の荷電を持つClDn5変異体は感受性になり、逆にCPE-RRに負の荷電を持つClDn4変異体は感受性が著しく低下していることがわかった。<sup>125</sup>I標識CPEを用いてClDn、あるいはClDn変異体を発現する細胞に対するCPEの直接の結合を調べたところ、CPE-RRの荷電状態は両者の結合の段階に影響していることがわかった。また環境中の塩濃度が高くなるにつれCPEの受容体結合断片とClDn4の結合は減弱した。また現在報告されているCPEの受容体結合断片の立体構造よりCPEの受容体結合領域の表面電荷をシミュレートするとこの領域は負電荷が集中している。これらのことからCPEとClDnとの結合には感受性ClDnのCPE-RRが必須であり、CPE-RRの正電荷と、ClDnの受容体結合ドメインの負電荷の静電的相互作用が大きく関与していると考えられた。

### 論文審査の結果の要旨

ウエルシュ菌のエンテロトキシン (CPE) は、食中毒の原因毒素であり、その受容体が上皮細胞間接着部位に局在するクローディン (ClDn) であることが明らかにされている。ClDnは哺乳動物において

少なくとも24種類以上の相同分子からなるファミリーを形成しており、そのなかにはCPE感受性の強いものと弱いものがあることが知られている。本研究ではこのような感受性の差に注目して、CPEと受容体の認識機構の検討が行われた。遺伝子工学的手法による解析から、CPE感受性にはClDnの細胞外ドメインの特定の12アミノ酸の領域が特に重要であることが明らかにされ、この領域の等電点が感受性ClDnでは高く、非感受性ClDnでは低いこと、そして、荷電アミノ酸の置換でCPE感受性が変化すること、さらにCPEとClDnの結合がイオン強度の影響を受けることなどが明らかにされた。CPEとその受容体であるClDnの結合を系統的に変化させうるClDnのアミノ酸配列が特定できたことは、CPEの感染機構とその制御、そして今後の感染予防戦略を考える上で重要であると思われ、本論文は学位論文に値する。