

ボツリヌス菌および毒素の基礎知識

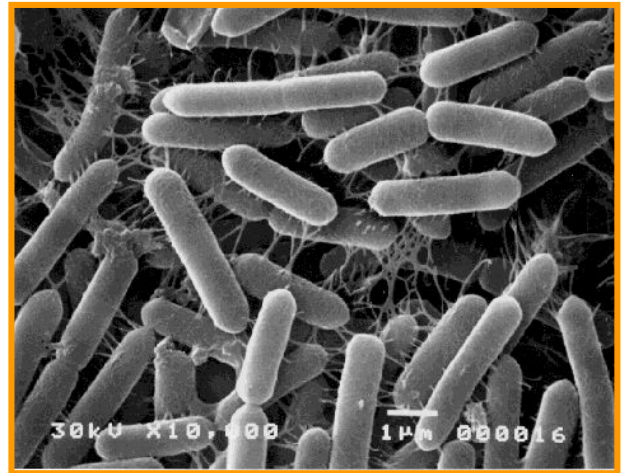
大阪府立大学大学院生命環境科学研究科
小崎 俊司

第2回 ボツリヌス毒素について

ボツリヌス菌の毒素は他の細菌性毒素とは異なり、神経に対して特異性の高い毒素（以下、神経毒素）と数個の成分からなる無毒成分が結合した複合体の形で産生される。

神経毒素は血中やリンパ管内の弱アルカリ条件で、無毒成分と容易に解離し神経終末部に到達することで毒性を発現する。

神経毒素は胃酸や消化酵素により活性を失うが、複合体毒素は安定である。これは、神経毒素が無毒成分と結合することが食中毒を引き起こすために必須の条件であることを示している。



ボツリヌス菌

神経毒素は菌体内で 150 kDa の 1 本鎖(Intact form)のポリペプチドの形で産生される。A 型および B 型菌では神経毒素は同時に産生されるタンパク分解酵素により培養液中で、神経毒素分子内に解裂(nicking)が生じ、50 kDa の軽鎖 (L; Light chain) と 100 kDa の重鎖 (H; Heavy chain) の 2 本鎖構造 (Nicked form) に変化する。この際、各型毒素の毒力が数倍から数百倍に上昇する活性化現象がみられる。

タンパク分解酵素を産生しない E 型菌では神経毒素は未活性の 1 本鎖構造で産生されるが、毒素が腸管内に到達するとトリプシンのような消化酵素で活性化された 2 本鎖構造に変化することで毒性を発現する。神経細胞内での毒作用の発現には、軽鎖と重鎖を結合している分子内 SS 結合が還元を受け解離することが必要である。実験的に軽鎖と重鎖は還元処理により分離した場合、単離された軽鎖、重鎖はそれぞれ動物に対して毒性を示さない。これは神経毒素全体が生体に対して毒性を発現するために必要であることを示している。

神経毒素は 3 つのドメインから構成されていることが結晶構造の解析から明らかになっている。これらのドメインは毒素の作用は細胞への結合、細胞内侵入、細胞質内への移行、細胞質内のタンパク質の修飾など、一連の毒性発現過程でそれぞれ独立した機能を持つ。

軽鎖部分には毒性発現活性、重鎖 N 末端領域 (H_N) には細胞内移行に関わる脂質二重膜にチャンネル形成を担う活性、重鎖 C 末端領域 (H_C) には受容体への結合活性があることから、それぞれ毒性ドメイン、チャンネル形成ドメイン、結合ドメインと呼ばれている。

軽鎖は α -ヘリックスと β -シートが混在するコンパクトな球形であり、活性中心に亜鉛が結合している金属プロテアーゼ（zinc-endopeptidase）である。この亜鉛原子は亜鉛結合モチーフと呼ばれる高度に保存されたアミノ酸配列（HEXXH）の2つのヒスチジン残基と1つのグルタミン酸残基を介して結合している。H_Nは10 nmの長さを持つ2本の α -ヘリックスで構成され、H_Cは2つのサブドメイン（H_{CN}、H_{CC}）に分かれることが明らかになっている。

すべての神経毒素および無毒成分遺伝子の塩基配列が明らかにされている。これらの一連の研究から、同一型の神経毒素であっても構造が部分的に異なることが明らかになってきた。

A型では5つ、B型では3つ、E型では5つのサブタイプの存在がわかってきた。わが国で発生した初期の乳児ボツリヌス症の原因菌はA2あるいはB2サブタイプであり、遺伝子解析による診断を行う際には現在市販されているプライマーでは、これらのサブタイプの特定は出来ないこともわかってきた。

ボツリヌス毒素遺伝子は多彩であり、診断を行う際にはサブタイプの存在を考慮しながら対応することが必要となっている。