

A群およびG群劇症型レンサ球菌感染症病態の SDS-PAGE分析による解析

浅野 眞, 菅野 武史, 坂口 和子, 鈴木 潤

麻布大学 生命・環境科学部 食品生化学

【目的】

近年、劇症型A群レンサ球菌感染症 (Streptococcal toxic shock syndrome-Group A Strain : STSS-GAS) と類似した臨床像を呈する劇症型G群レンサ球菌感染症 (Streptococcal toxic shock syndrome-Group G Strain : STSS-GGS) は劇的症状を惹起することで注目されている。今回はSTSSの主要な病原因子であるstreptolysin O (SLO)¹⁾, cysteine protease streptococcal pyrogenic exotoxin B (SpeB) およびNAD glycohydrolase (NADase) のSDSポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS-PAGE) およびウェスタンブロット (WB) によるタンパク分析後に、CS Analyzerを用いて定量を行なった。本研究ではA群²⁾ およびG群³⁾ ⁴⁾ 劇症型レンサ球菌感染症原因菌の菌体外代謝物質を解析することによって、両群の菌体外代謝物質の性状の差異、共通点を明らかにすることにより、STSSの病態解析を試みた。

【方法】

STSS患者由来株のA群レンサ球菌No.1株, No.2株およびNo.4株, 加えてG群レンサ球菌Niigata株, F・Y株およびM・S株を供試した。1% Yeast Extract含有Todd Hewitt Brothで37℃, 前培養8時間, 本培養6および18時間培養を行ない, 培養液を遠心分離し, 除菌ろ過したものを試料とした。試料はトリクロロ酢酸およびアセトンにより濃縮した。次に, SDS-PAGE分析, さらに起因菌の産生する主要な病原因子であるSLO, SpeBおよびNADaseのWB分析を行ない, CS Analyzer (ATTO) による光学積算値からタンパク量を測定⁵⁾ した。

【結果】

6および18時間培養した菌の培養上清中代謝物質をSDS-PAGE分析し, 既報値から60および70 kDaをSLO, 50 kDaをNADaseおよび30 kDaをSpeBと推測した。WB分析によりSLOは60および70 kDaの2 hemolytic formを確認でき, A群のNo.1株では6および18時間, No.2株では6時間で確認できた。G群では供試した3株すべてにおいて確認できた。NADaseでもA群のNo.1株では6および18時間, およびNo.2株では6時間で確認でき, G群では供試した3株すべてにおいて確認できた。次にSpeBはA群のNo.2株は6時間でSpeB前駆体が確認され, 18時間でSpeBが確認できた。No.4株は6時間でSpeB前駆体が確認できなかったが, 18時間ではSpeB前駆体およびSpeBが確認できた。A群のNo.1株, およびG群の3株全てはSpeB非産生であった。

SLOでは産生の有無, hemolytic formおよびタンパク量については両群において多様性が認められた。60および70 kDaの2 hemolytic formのSLOはそれぞれ主要等電点がpI 6.0 (Acidic type) とpI 7.5 (Neutral type) であり, Neutral typeのSLOのほうが溶血効率がよく, 培養8~10時間で60 kDaのSLOにシフトすることが既に報告されており, 6時間から18時間で60 kDaのSLOにシフトしているため溶血効率が高くなっていることが推察される。F・Y株は18時間でもNeutral typeのみとなり多様性が認められる。No.2株において18時間時でSLOが消失しているのはSpeBによってタンパク分解を受けたものと推察される。NADaseでは産生の有無およびタンパク量に両群において多様性が認められた。また, NADase

はSLOとの相乗効果などの報告があり生体への影響は大きいと考えられる。SpeBは、A群レンサ球菌は3株中2株において産生されたのに対し、G群レンサ球菌は3株すべてにおいて非産生であった。このことはA群およびG群レンサ球菌の顕著な特徴と考えられる。SpeB産生株であるNo.2株およびNo.4株はSDS-PAGE分析およびタンパク量より主要な代謝物質がSpeBと推察される。

【考察】

STSSの診断基準の中で特に成人型呼吸窮迫症候群はSLO、軟部組織壊死および壊死性筋膜炎はSpeBの関与が大きいと報告されている。今回、使用した菌株の臨床症状からSpeB非産生株のNo.1株、Niigata株、F・Y株およびM・S株の4株中3株が軟部組織壊死および壊死性筋膜炎を発症しており、これらの病態はSpeBではなく別の病原因子の原因が推察される。A群は主要病原因子SLO、NADaseおよびSpeBの3病原因子を産生するのに対し、G群はSLOおよびNADaseの2病原因子のみの産生であった。一方、病態はA群の劇症に対し、G群は急性と報告があるが、それはA群とG群の病原因子産生数の差と考え

られる。しかし、劇症および急性のどちらも死亡率はA群が男性36.9% (n = 141)、女性52.3% (n = 107) および全体43.2% (n = 250)、一方、G群が男性54.5% (n = 11)、女性38.5% (n = 13) および全体45.8% (n = 24) と大きな差は見られない。したがってA群およびG群の共通する病原因子が病態に強く関与することが示唆される。

【文献】

- 1) Suzuki J. Characterization of acidic and neutral streptolysin O. *J Electrophoresis* 2009; 53: 45-50.
- 2) 鈴木 潤 他 劇症型A群レンサ球菌感染症患者分離株の菌体外産生毒素について. *化学療法の領域* 1997; 13: 45-50.
- 3) Ikebe T et al. Surveillance of Severe Invasive Group G Streptococcal Infections in Japan during 2002-2008. *Jpn J Infect Dis* 2010; 63: 372-375.
- 4) 丹野 英 他 β 溶血性G群レンサ球菌による toxic shock syndrome 一股関節離断術により究明しえた1症例. *日集中医誌* 2000; 7: 115-120.
- 5) Kanno T et al. Time course of factors produced by group A streptococcus during a food epidemic. *J infect Chemother* 13 July 2011.