小児血清中に存在するペロ毒素タイプ2 (VT2) 不活化因子の検討

¹⁾札幌医科大学医学部微生物学講座²⁾札幌医科大学医学部小児科学講座³⁾日本赤十字社血漿分画センター藤井 暢弘¹⁾ 久保田 耐¹⁾ 中田 修二²⁾千葉 俊三²⁾ 伊藤 硯候³⁾

(平成9年1月7日受付)

(平成9年1月17日受理)

Key words: VTEC, vero toxin 2,
neutralizing factor

序 文

腸管出血性大腸菌の感染は、単に集団食中毒の発生ばかりではなく溶血性尿毒症症候群 (HUS) の発症とも密接に関連していることから極めて慎重な配慮を必要とする感染症である。特に、O-157を中心とする腸管出血性大腸菌による HUS の発症は5歳以下の小児が約50%を占め¹⁾、しかも女子が男子の2倍近い頻度で HUS を起こすことが知られている。また HUS の発症はペロ毒素-1型と-2型、あるいはペロ毒素-2型の産生株の感染による場合が圧倒的に多く、ペロ毒素-1型産生株の感染によるものは少ない¹⁾²⁾。ヒト血清中にはペロ毒素2型 (VT2) に対する不活化因子が存在することが報告されており³⁾、高比重リポ蛋白質 (HDL) 画分にその活性が認められるがアポ A, B, E 蛋白質ではないことが知られている⁴⁾。5歳未満の小児における HUS の発症頻度と不活化因子の関係を検討し興味のある結果を得たので報告したい。

検体と方法：血清-臍帯血血清 (10名)、0 から3カ月 (40名)、4 から11カ月 (40名)、1 から2歳 (40名)、3 から6歳 (20名)、7 から11歳 (20

名)、12から19歳 (20名) の190検体。

毒素-VT2単独産生株 (O-157・H7) をトリプトソイ培地で20時間培養液、ポリミキシン B (20,000IU/ml) を加え、さらに6時間培養した上清を濾過滅菌し使用した。毒素活性は Vero 細胞と96穴プレートを用いて測定し⁵⁾、50%細胞障害を与える希釈倍数を1ユニット (単位) とした。用いた毒素は 2×10^3 単位である。

毒素活性の不活化実験-血清をRPMI1640培養液で2倍階段希釈した後、各希釈血清に培養液で 10^3 倍に希釈した VT2 を等量加え60分室温放置した後、毒素活性測定法に準じて行った。3日培養後、細胞障害を阻止しうる最高希釈倍数をもって阻害あるいは不活化活性 (単位) とした。

Table Verotoxin 2 (VT2) neutralization titers in sera of different age groups

Age		Neutralization titers (units)		
		<20	40	80-160
<0	Months	10 ^a	—	—
0-3		10	18	12
4-11		6	6	28
1-2	Years	4	6	30
3-6		1	2	17
7-11		1	0	19
12-19		0	1	19

^{a)}The number of persons

別刷請求先：(〒160) 札幌市中央区南1条西十七丁目
札幌医科大学医学部微生物学講座

藤井 暢弘

結 果

臍帯血血清については10名全てが20単位以下であった。0 から 3 歳未満120名については、20単位以下が 20名(16.7%) であり、40から160単位を示した者が100名であった。3 歳から19歳までの60名においては、20単位以下の者は僅か 2 名 (3.3%) であり、80から160単位の力価を示した者が 55名 (91.7%) と大多数を占めた。

考 察

VT2不活化因子は、臍帯血血清中には殆ど存在しないか、極めて低力価である。生後3カ月以内から高力価の活性が認められるようになり、3 歳ころまでに殆どのヒトが十分な活性を示すようになると予想される。O-157の感染・有症者の約5から10%がHUSを発症し、またその50%以上が5歳以下の低年齢相に集中している。この理由として低年齢相のVT2不活化因子活性の低さに関連していることが示唆される。

文 献

- 1) 竹田多恵, 吉野健一, Ramamurthy T, 内田 寛, 松田枝里子, Pal A : 1996年夏, 日本で多発した腸管出血性大腸菌 O157 感染症. 日本細菌誌 1996 ; 51 : 1037-1042.
- 2) 病原微生物検出情報 : 国立予防衛生研究所. 1996 ; 1-2.
- 3) Bitzan M, Klemm M, Steffens R, Muller-Wiefel DE : Differences in Verotoxin neutralizing activity of therapeutic immunoglobulins and sera from healthy controls. Infection 1993 ; 21 : 140-144.
- 4) Caprioli A, Luzzi I, Karmali MA, Clarke I, Boyd B : Frequency and Nature of Verocytotoxin 2(VT2) Neutralizing Activity(NA) in Human and Animal Sera. Abstr. 2nd. International Symposium on VTEC Infection 1994, Bergamo Italy.
- 5) 草野友子, 甲斐明美, 宮尾陽子, 伊藤 武 : 成牛の糞便, 枝肉および食肉処理施設における Vero 細菌毒素産生性大腸菌の実態調査. Modern Media 1993 ; 39 : 351-355.

Frequency of Verocytotoxin 2 (VT2) Neutralizing Activity in Human Sera

Nobuhiro FUJII¹⁾, Toru KUBOTA¹⁾, Shyuji NAKATA²⁾,
Shunzo CHIBA²⁾ & Hiroyoshi ITO³⁾

¹⁾Department of Microbiology and ²⁾Pediatrics, Sapporo Medical University

³⁾Japanese Red Cross Plasma Fractionation Center