

川崎病の病原因子の究明：A群溶血性連鎖球菌の 産生する pyrogenic toxin の検出法の確立

竹田 美文

要約：A群溶血性連鎖球菌が産生する pyrogenic toxin (SPE) の検出法を確立するため、すでに報告されている SPE A, SPE B, SPE C の遺伝子塩基配列に基づいて、各 SPE に特異的な DNAプローブを作成するとともに、PCR法によってSPE A, SPE B, SPE Cそれぞれの遺伝子断片を増幅検出できる系を確立した。

見出し語：A群溶血性連鎖球菌、pyrogenic toxin, SPE A, SPE B, SPE C, DNAプローブ、polymerase chain reaction (PCR)法。

川崎病の病態は、A群溶血性連鎖球菌感染症の病態と類似している。A群溶血性連鎖球菌感染の際の猩紅熱等の病態は、本菌が産生する pyrogenic toxin によって引き起こされると考えられている。川崎病の病態も pyrogenic toxin ないしはそれと類似した毒素によって引き起こされるのではないかと考え、まずA群溶血性連鎖球菌が産生する3種類の pyrogenic toxin の検出法を確立することを目的として研究を行った。

pyrogenic toxin の遺伝子構造は、A (SPE A) については Weeks and Ferretti (Infect. Immun., 52: 144-150, 1986)が、B (SPE B) については Hanser and Schlievert (J. Bacte-

riol., 172: 4536-4542, 1990)が、C (SPE C) については Goshorn and Schlievert (Infect. Immun., 56: 2518-2520, 1988) が、すでに報告している。

これら報告された塩基配列に基づいて、SPE A, SPE B, SPE C それぞれに特異的な DNAプローブを作成した。それぞれのプローブの特異性は、標準菌株を用いたDNAハイブリダイゼーションテストにより確認した。

次いで polymerase chain reaction (PCR) 法による毒素遺伝子の検出法を確立するため、SPE A, SPE B, SPE C それぞれについて primer を設計した (図1)。これらの primer を

京都大学医学部微生物学教室

Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Kyoto University

図 1. PCR法に用いたPrimer

	Primer 1	Primer 2
SPE A	GCTCAACAACAAGACCCCGATCCA	ACTATCCGAAACCTATGGTAGC
SPE B	GATCAAAACTTTGCTCGTAAC	TCCAAACTACGGATGTTGTCG
SPE C	GACTCTAAGAAAGACATTT	AAAAAGTTCATTATAGCTT

用いた場合、SPE A については 393bp の、SPE B については1.113bpの、SPE C については623bpの DNA 断片が増幅される。PCRの反応条件を図2にまとめた。アニーリングの温度はSPE A については68°C、SPE B については64°C、SPE C については52°Cとした。図3に示したように、PCRの結果、目的とするDNA断

片が増幅された。この反応系を用いて、*S. pyo-*genesのSPE A、SPE B、SPE C 遺伝子保有状況を調べた結果、表1に示したように、SPE A 遺伝子のみの保有株、SPE B 遺伝子のみの保有株、SPE A 遺伝子とSPE B 遺伝子の保有株、SPE B 遺伝子とSPE C 遺伝子の保有株、及び3種のSPEすべての遺伝子の保有

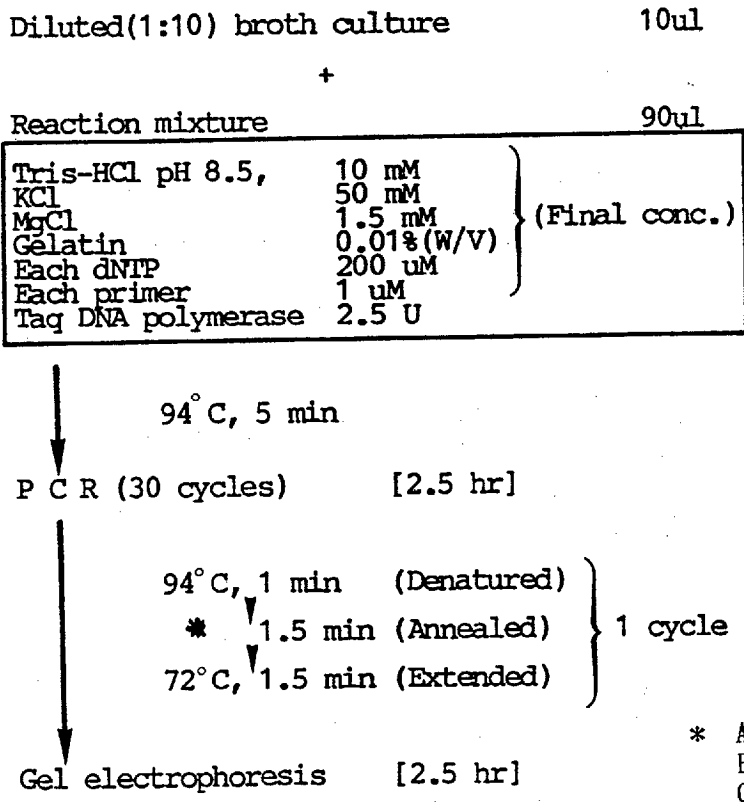
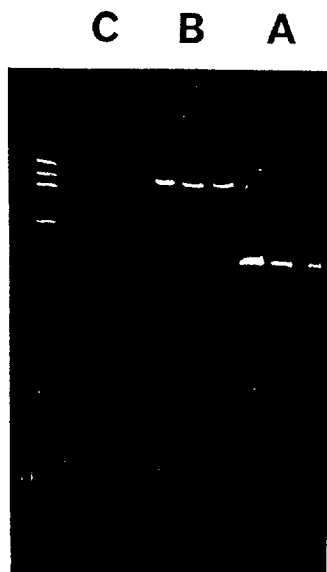


図 2. PCRの術式



株と、*S. pyogenes*のS P E遺伝子保有状況は極めて多種類のパターンであることがわかった。

今後は作成したDNAプローブ及び確立したPCR法を用いて、川崎病患者由来のStreptococcus属ないしは他属の菌が、これらの遺伝子ないしは類似遺伝子を保有しているかどうかを調べる予定である。

図 3. PCRによって増幅されたSPE A,B,C それぞれのDNA断片のバンドの一例

表 1. *S. pyogenes*からのSPE遺伝子の検出

菌 株	疾患名	検出されたSPEの型
<i>S. pyogenes</i> A-3560	pharyngitis	B, C
<i>S. pyogenes</i> A-3558	pharyngitis	B
<i>S. pyogenes</i> A-05	pharyngitis	A
<i>S. pyogenes</i> A-4669	pharyngitis	A
<i>S. pyogenes</i> A-4744	pharyngitis	B
<i>S. pyogenes</i> SN-488-1	tonsillitis	A, B
<i>S. pyogenes</i> SN-489-2	pharyngitis	A, B, C
<i>S. pyogenes</i> SN-490	skin erosion	A, B



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



要約：A群溶血性連鎖菌が産生する pyrogenic toxin(SPE)の検出法を確立するため、すでに報告されている SPE A, SPE B, SPE C の遺伝子塩基配列に基づいて、各 SPE に特異的な DNA プローブを作成するとともに、PCR 法によって SPE A, SPE B, SPE C それぞれの遺伝子断片を増幅検出できる系を確立した。