
高食中毒原性黄色ブドウ球菌が産生する 新型エンテロトキシンの危害評価

自治医科大学医学部感染免疫学講座細菌学部門・助教 佐藤 祐介

■ 目的

ブドウ球菌食中毒は世界中で今尚頻発している重要な食中毒である。本食中毒は、ブドウ球菌が食品中でエンテロトキシン (Staphylococcal enterotoxin, SE)を産生し、ヒトがそれら汚染食品を摂取することで起きる。この SE は 25 種類以上のタイプが存在する非常に多様性に富んだ毒素であることが最近明らかになったが、各毒素および毒素産生菌の正確な危害レベルの評価は未だなされていない。このことが本食中毒の全容の把握ができていないことが問題となっていた。近年、申請者らは CC81 subtype-1 に分類される黄色ブドウ球菌が、非常に高頻度で食中毒を起こすことを発見し、その原因を解明してきた。その内のゲノム解析の過程で、CC81 subtype-1 が未知の SE を産生していることが判明した。本研究では、この新規毒素のブドウ球菌食中毒における重要性および CC81 subtype-1 が新規毒素を産生する意義の解明を行なった。

■ 方法

新型毒素遺伝子をクローニングし、遺伝子工学技術によりタグなしリコンビナントタンパク発現ベクターを作成した。ベクターと大腸菌を用いて、リコンビナントタンパク精製を行なった。この精製タンパクを用いて、その物性評価および活性評価を行なった。物性評価として耐熱性および耐消化性、活性評価としてスーパー抗原活性と嘔吐活性の評価を行なった。さらに培地中 (*in vitro*) および食品中 (*in situ*) における本毒素の発現解析を行なった。

■ 結果および考察

純度 97% 以上のリコンビナントタンパクの精製に成功した。このタンパクはリン酸バッファー中に溶解した場合、低温 / 常温 / 凍結などの様々な条件で 1 ヶ月以上安定的に存在していた。

精製毒素を 95°C で 6 時間以上加熱しても約 50% の毒素が残存していた。一方、ペプシンやトリプシンでは、両酵素共に精製毒素は 30 分以内に約 90% 以上を消化し、60 分以内に検出限界以下となった。一方、代表的な SE である SEA (腸管毒素タイプ A) では、新型毒素よりも低い耐熱性、高い耐消化性を示した。新型毒素は SE に共通して認められる物性を持っていたが、それは既知の SEA と異なるものであった。

マウス脾臓内の免疫細胞を用いてスーパー抗原活性を測定したところ、タンパク濃度依存的なスーパー抗原活性が検出された。しかし、これらの活性は代表的なスーパー抗原である TSST などと比較し、弱いものであった。また活性化する T cell のレポーターをみると代表的なスーパー抗原である TSST とは異なる T cell を活性化していた。

マーモセットに精製毒素を投与することで 6 匹中 4 匹の嘔吐が認められた。ただし、嘔吐回数や嘔吐までの潜伏時間などを比較すると、新型毒素の嘔吐活性は最強の嘔吐活性を保有する SEA よりも若干弱いレベルであった。

新型 SE の遺伝子発現を解析すると培地中のみならず食品中でも維持されていた。その発現量を比較すると食品中で産生されやすい SEH (腸管毒素タイプ H) よりも発現量は多かった。

■ 結語

これまでに助成者は CC81 subtype-1 が食中毒を頻繁に起こす理由として、1) 嘔吐活性が最も高い SEA の多量産生、2) SEB を多量産生する外来性因子の獲得、3) 食品中で産生されやすい SEH の特異的産生などが原因であること報告してきた。これに加えて、本助成で対象とした新規 SE も重要な関与をしていることが判明した。