

下痢症患者由来カンピロバクター分離株のギランバレー症候群 (GBS) 関与遺伝子の保有状況

国井 悦子 花木 陽子 田内 敦子 末永 朱美
宮野 高光 京塚 明美 毛利 好江 石村 勝之
伊藤 文明 池田 義文* 笠間 良雄 吉岡 嘉暁

ギランバレー症候群(Guillain-Barré syndrome : GBS) は、末梢神経の障害により手足に力が入らなくなる難治性の自己免疫疾患で、先行感染の約 30%が *Campylobacter jejuni*によると言われている。そこで、*C. jejuni* の病原性に関する知見を得ることを目的として、広島市で分離された下痢症患者由来菌株 64 株について、GBS 発症に関与するとされる糖鎖合成遺伝子(*cst-II*, *cgt-A*, *cgt-B*)の保有状況の検査を行った。その結果、*cst-II*は 64 株中 35 株(54.7%)に認められた。内訳は、*cst-II*単独陽性株が 14 株(21.9%)、*cst-II*, *cgt-A* 及び *cgt-B* の 3 遺伝子同時陽性株が 21 株(32.8%)であった。血清型別では、本邦の GBS 患者から高頻度に分離される Penner O 型では、供試 5 株中 5 株(100%)が *cst-II*, *cgt-A*, *cgt-B* 同時陽性であった。

キーワード: ギランバレー症候群 (GBS), *Campylobacter jejuni*, *cst-II*, *cgt-A*, *cgt-B*, ガングリオシド, リポオリゴ糖 (LOS)

はじめに

Campylobacter jejuni は発熱、腹痛、下痢、血便などの消化器症状を呈する食中毒(腸炎)の起原因菌である。広島市においても、近年、常に細菌性食中毒件数の筆頭にあげられており、行政的に発生防止のための啓発・指導ならびに細菌検査に重点が置かれている病原菌である。

一方、ギランバレー症候群(Guillain-Barré syndrome : GBS)は、末梢神経の障害により、四肢筋力低下や深部腱反射消失を主とする神経性の難治性疾患で、呼吸器あるいは消化器症状を呈した後、1~3 週間して発症する 경우가多く、これまでの疫学的研究から、この先行感染の約 30%が *C. jejuni* によることが知られている^{1), 2)}。

さらに、近年、*C. jejuni* には、菌体外膜に存在するリポオリゴ糖(LOS)のなかに、末梢神経の細胞膜を構成する糖脂質である GM1 ガングリオシドや GD1a ガングリオシドと類似した糖鎖構造を有する LOS を保有するものがあることが明らかとなった。*C. jejuni* による GBS の発症機序として、感染後生成された抗体が、交叉抗体として患者の神経細胞に作用し、発症に至る自己免疫疾患の一種と考えられている^{2), 3), 4)}。この *C. jejuni* のガン

グリオシド様 LOS は、本菌が有するシアル酸転移酵素(Cst-II)や、N-アセチルガラクトサミン転移酵素(CgtA)、ガラクトース転移酵素(CgtB)などにより生合成される^{3), 4)}が、本邦の *C. jejuni* における転移酵素遺伝子の保有状況について検討した報告は少なく、その実態は明らかでない。

そこで、*C. jejuni* の病原性に関する知見を得ることを目的として、下痢症患者由来菌株の GBS 関与遺伝子(*cst-II*, *cgt-A*, *cgt-B*)の保有状況について検討したので報告する。

方 法

1 供試菌株

2006 年 1 月から 2010 年 1 月までに分離された下痢症患者由来菌株 64 株を供試した。

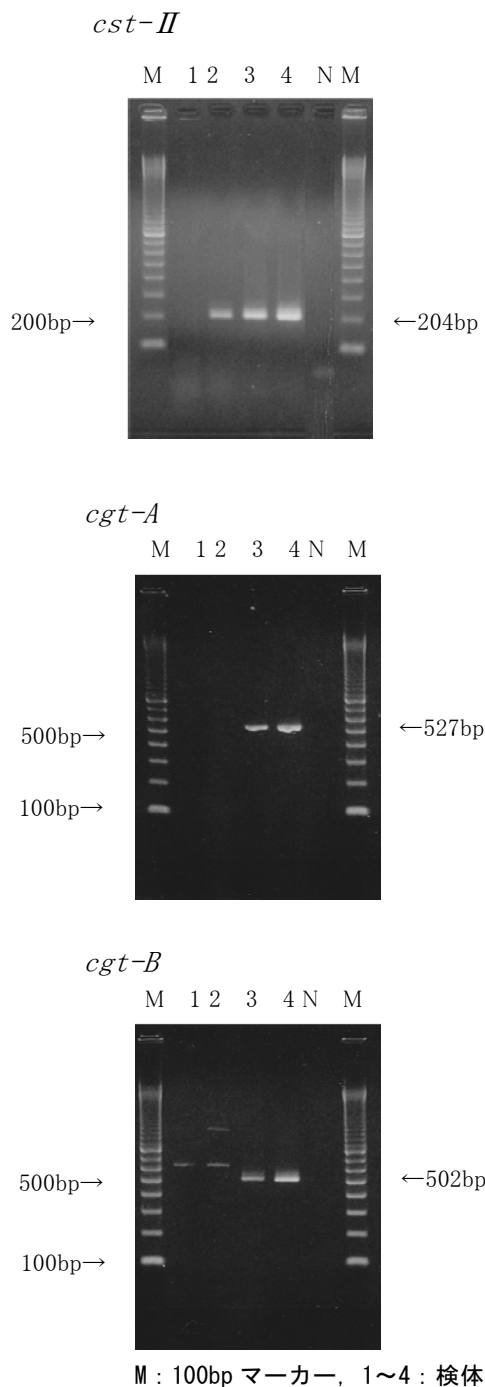
2 GBS 関与遺伝子検出の検討

Koga, M.⁵⁾, Nachamkin, I.⁶⁾らの報告した *cst-II*, *cgt-A*, *cgt-B* 遺伝子領域を検出するプライマーを用いて PCR 法により検出を行った(図 1)。なお、当所に関与 3 遺伝子保有既知の標準的菌株がないため、PCR 増幅産物をダイレクトシークエンス法により解析し、標的遺伝子の配列であることを確認した。

3 血清型別

デンカ生研製の Penner 型別用血清を用いて実

* : 退職



M : 100bp マーカー, 1~4 : 検体
N : Negative control
図 1 PCR 増幅結果

施した。

結果と考察

ヒトの神経細胞膜に豊富に存在する GM1 や GD1a などのガングリオシドは、シアル酸を有する酸性糖脂質である。一方、*C. jejuni* 菌体表面に GM1 や GD1a 様のシアル酸を有する (ガングリオシド様) LOS を構築するのは、シアル酸を LOS の糖鎖に追加転移する Cst-II や、N-アセチルガラクトサミンを転移する CgtA, ガラクトースを転移する CgtB などの各種の糖転移酵素群の作用による^{3), 4)}。

C. jejuni の LOS 合成に関与するこれらの酵素遺伝子群は、染色体 DNA 上でクラスターを形成しており、現在、少なくとも 8 つの異なるクラス (class A~H) が認められている⁷⁾。

Koga らの行った細菌側のリスク要因研究⁸⁾では、本邦における GBS 患者由来株はガングリオシド様 LOS の生合成に必要な遺伝子である *cst-II*, *cgt-A*, および *cgt-B* をセットで保有するクラス A, B および C の割合 (96%) が腸炎由来株 (70%) より高いことなど、LOS の生合成遺伝子の保有が GBS の発症を規定する必要条件であることが明らかにされている。

今回、広島市で分離された下痢症患者由来株 64 株について 3 種類の糖鎖合成遺伝子の PCR 検出を試みた結果、*cst-II* は 64 株中 35 株 (54.7%) に認められた。内訳は、*cst-II* 単独陽性株が 14 株 (21.9%), *cst-II*, *cgt-A* 及び *cgt-B* の 3 遺伝子同時陽性株が 21 株 (32.8%) であった。

cst-II は血清型 (Penner) B, C, D, O, R, UT 型の菌株に認められた。そのうち関与 3 遺伝子すべてが確認されたのは B, O, R, UT 型であった。また、GBS 患者から高頻度に分離されることが知られている血清型 O 型菌では^{9), 10)}、5 株中 5 株 (100%) が *cst-II*, *cgt-A*, *cgt-B* 同時陽性であった。これらの結果から、下痢症由来株の約半数がシアル酸

表 1 下痢症患者由来 *C. jejuni* の Penner 血清型別糖鎖合成遺伝子検出結果

遺伝子検出パターン			血清型 (Penner)											計		
			B	C	D	F	G	J	K	L	O	R	Y		UT	
<i>cst-II</i>	<i>cgt-A</i>	<i>cgt-B</i>														
+	-	-	1	1	7										5	14
+	+	+	4								5	6		5		21
-	-	-	1	1		1	3	1	1	1		2	9	9		29
計			6	2	7	1	3	1	1	1	5	8	9	32		64

を転移する酵素の遺伝子である *cst-II* を保有し、約 30% が 3 遺伝子をすべて保有する class A, B, C のいずれかに該当する菌株と考えられたが、この保有割合の評価については、今後さらに菌株を増やすなど検討を行うことが必要と考えられる。

一方、LOS のクラスは Penner 血清型とは関連しなかったとの国外での報告⁷⁾もあり、本邦の状況についても、さらに多くの下痢症患者や食品由来の *C. jejuni* における GBS 関与遺伝子の保有状況を調べることにより、その傾向や血清型と関与遺伝子保有の関連性がより明確にされると考えられる。

文 献

- 1) 伊藤武: カンピロバクター感染症とギランバレー症群, IASR, vol. 20, No5, May (1999)
- 2) 難病情報センター: ギランバレー症候群 http://www.nanbyou.or.jp/sikkan/020_i.htm
- 3) Yuki, N. : *Campylobacter* sialytransferase gene polymorphism directs clinical features of Guillain-Barré syndrome, J. Neurochemistry, 103 (Supp.1), 150~158 (2007)
- 4) 西本幸弘 他: カンピロバクター感染とギラン・バレー症候群, フィッシャー症候群, 臨床検査 vol. 53, No. 6, 717~722 (2009)
- 5) Nachamkin, I. et al: *Campylobacter jejuni* from patients with Guillain-Barré syndrome preferentially expresses a GD1a-Like epitope, Infect. Immun., Sept., p. 5299~5303 (2002)
- 6) Koga, M. et al: *Campylobacter* gene polymorphism as a determinant of clinical features of Guillain-Barré syndrome, NEUROLOGY 65 Nov. (1 of 2), 1376~1381 (2005)
- 7) Parker, C. T. et al: Comparison of *Campylobacter jejuni* lipooligosaccharide biosynthesis loci from a variety of sources, J. Clin. Microbiol., Jun., p. 2771~2781 (2005)
- 8) Koga, M. et al: Comprehensive analysis of bacterial risk factors for the development of Guillain-Barré syndrome after *Campylobacter jejuni* enteritis, J. Infect. Dis., 193, 547~555 (2006)
- 9) Takahashi, M. et al: Epidemiology of *Campylobacter jejuni* isolated from patients with Guillain-Barré and Fisher syndromes in Japan, J. Clin. Microbiol., Jan, p. 335~339 (2005)
- 10) Kuroki, S. et al: *Campylobacter jejuni* strains from patients with Guillain-Barré syndrome belong mostly to Penner serogroup 19 and contain beta-N-acetyl-glucosamine residues, Ann Neurol., vol. 33, no. 33, no. 3, p. 243~247 (1993)