

広範な血管内容血を生じた ウェルシュ菌株のヒト血球に対する障害作用

須崎 愛¹⁾, 相澤志保子²⁾, Trinh DuyQuang²⁾

Cytotoxic effects of *Clostridium perfringens* derived from massive intravascular hemolysis cases on human peripheral blood cells

Ai SUZAKI¹⁾, Shihoko AIZAWA²⁾, Trinh DuyQuang²⁾

要旨

集団食中毒やガス壊疽の起因菌であるウェルシュ菌 (*Clostridium perfringens*) には、頻度は少ないものの広範な血管内容血を生じ電撃的な経過で死に至る敗血症の病態がある。症例数が少なく生前診断が困難なことから、血管内容血については未だ詳細不明なため、我々は劇症型血管内容血性敗血症例から分離した臨床株を用いて、ヒト血球に対する細胞障害作用を非溶血群との間で比較検討した。有意差はでなかったものの、溶血群では末梢単核球への障害作用が強い傾向があり、菌体が産生する毒素の量または種類に非溶血群と異なる可能性が示唆された。

1. はじめに

ウェルシュ菌 (*Clostridium perfringens*) は、破傷風菌と同じクロストリジウム属の芽胞形成性偏性嫌気性菌で、ヒトや動物の腸管内、土壌などの自然界に広く分布し、ヒトを含む動物に対して強い病原性を持つ。ヒトに対しては、集団食中毒やガス壊疽の起因菌としてよく知られている。ウェルシュ菌による敗血症は、食中毒やガス壊疽に比べて頻度は低いが致死率の高い疾患で、特にこの菌により血管内容血が生じた場合は電撃的な経過をとり、抗菌薬の効果を待つ間もなく死に至る重篤な疾患である¹⁾。

ウェルシュ菌は4種類の主要毒素 α , β , ϵ , ι の産生性によってA, B, C, D, Eの5つの型に分類されるが、ヒトから分離されるウェルシュ菌の殆どが α 毒素を産出するA型菌である。 α 毒素はホスホリパーゼCで、細胞膜を破壊し溶血作用や組織の壊死を起こすため、ガス壊疽の病態に関与していると考えられている²⁾。広汎な血管内容血を生じる敗血症の病態も α 毒素によると考えられているが、ヒト

に感染するA型ウェルシュ菌の殆どが α 毒素を産生するため、 α 毒素だけでは必ずしも病態を説明できない。広汎な血管内容血を呈する敗血症症例が少ないことや、発症後電撃的な経過を取るなど生前診断も困難なため、今までの報告は殆どが一例報告にすぎず、現在まで血管内容血を生じる病態についての詳細な検討はなされていない。

本研究は、ウェルシュ菌敗血症時の致死性血管内容血機序を解明する目的で、広範な血管内容血を生じた敗血症例の血液由来株と溶血を生じなかった症例の血液由来株を用いて、ヒト赤血球に対する溶血作用とヒト末梢単核球への細胞障害作用を比較検討し、両群の臨床像の差異が菌株そのものの違いによるものかどうかを検討した。

2. 対象及び方法 菌株及び培養上清

日本大学病院に凍結保存されていたウェルシュ菌臨床株のうち、劇症型の血管内容血群5株と非溶血

1) 日本大学医学部内科学系総合診療学分野
2) 日本大学医学部病体病理学系微生物学分野
須崎 愛: suzaki.ai@nihon-u.ac.jp

群4株の血液由来株を使用した。9株はいずれもα毒素を産生するA型菌であった。培養上清は、ヒツジ血液寒天培地で起こした臨床分離株をGAM培地で培養し、それぞれの菌数を揃えた時点で遠心分離し採取した。

ヒト血球

倫理委員会で承認された研究内容に基づいてインフォームドコンセントを行なった健康ボランティアから、実験当日に採取した末梢血を使用した。ヒト赤血球はO型血を使用した。ヒト末梢単核球はLymphoprep™を用いて分離した。

溶血実験

1%のヒトO型血と2倍希釈系列したウェルシュ菌培養上清を37℃で60分間培養し、溶血率を測定した。

末梢血単核球障害作用

分離した末梢単核球に、ウェルシュ菌培養上清を1%、5%になるように加えて37℃で4時間培養し、細胞数をコントロール群と比較した。

3. 結果

溶血実験

ウェルシュ菌培養上清によるヒト赤血球の溶血作用は強く、64倍希釈した菌培養上清でも50%の溶血率を呈した。溶血群と非溶血群では溶血群に1%ヒト赤血球への溶血作用が強い傾向があったが、非溶血群に属する菌株間の特性の違いが大きく、有意差は認められなかった(図1)。

末梢血単核球障害作用

1%と5%濃度のウェルシュ菌培養上清がヒト末梢血単核球へ及ぼす細胞障害作用を検討した。溶血群の菌株から採取した培養上清は、1%の濃度でもコントロールに比べて80%に、5%濃度では60%へと明らかに細胞数を減じ(p<0.01)、溶血群の菌株培養上清には、ヒト末梢血単核球へ細胞障害作用を及ぼす要因があることが判った。非溶血群の培養上清は、1%の濃度で95%、5%濃度でも84%と末梢血単核球数への障害作用が比較的良かった。溶血群と非溶血群では溶血群に単核球細胞障害作用が強かったが、両群間で有意差は認められなかった(図2)。

4. 考察

ウェルシュ菌は多数の毒素・酵素を産生し、体内

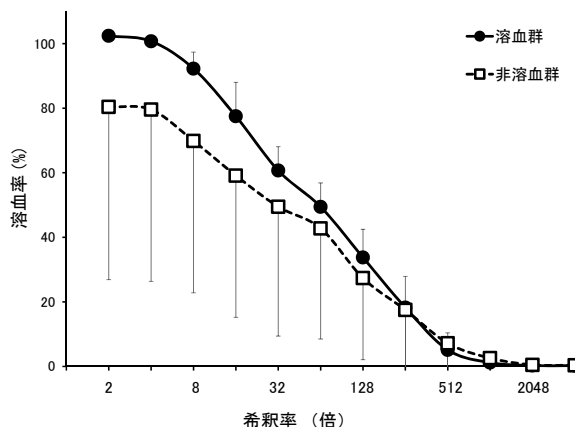


図1 ウェルシュ菌培養上清のヒト赤血球に対する溶血作用

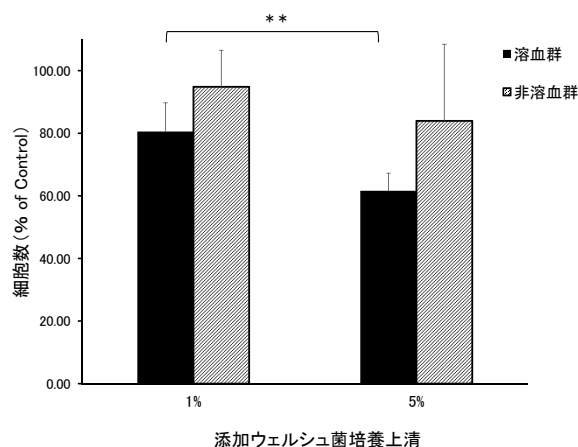


図2 ウェルシュ菌培養上清のヒト末梢単核球に対する障害作用

で多くの細胞障害作用を呈することにより、様々な病態を呈する。今回、劇症型血管内容血性敗血症例から分離した貴重な臨床株を用いて、非溶血群との間で菌培養上清による細胞障害作用を比較検討したところ、有意差はでなかったが溶血群で末梢単核球の障害作用が強い傾向が示された。

5. 結語

ウェルシュ菌による劇症型血管内容血性敗血症の病態には、末梢単核球に細胞障害作用を及ぼす菌体産生成分が関与していると考えられた。

文 献

- 1) van Bunderen CC, Bomers MK, Wesdorp E, *et al.* Clostridium perfringens septicaemia with massive intravascular haemolysis: a case report and review of the literature. Neth J Med. 2010; 68 (9) : 343-6.
- 2) Uzal FA, Freedman JC, Shrestha A, *et al.* Towards an understanding of the role of Clostridium perfringens toxins in human and animal disease. Future Microbiol. 2014; 9 (3) : 361-77.