

原 著

ブドウ球菌スーパー抗原 TSST-1 の長時間暴露によるウサギ毒素性
ショック症候群の誘導とその病態の解析¹⁾東京女子医科大学 医学部 微生物学免疫学 (主任: 内山竹彦教授)²⁾同 実験動物中央施設³⁾(株)東レ 医療システム研究所⁴⁾日本獣医畜産大学 獣医外科学

カワチ 河内	アキラ 章 ¹⁾	ウエシバ 上芝	ヒデヒロ 秀博 ²⁾	イシカワ 石川	カズオ 和男 ¹⁾³⁾
ミワ 三和	ケイシ 敬史 ³⁾	イダ 井田	ノブオ 伸夫 ³⁾	ハラ 原	ヤスシ 康 ⁴⁾
タガワ 多川	マサヒロ 政弘 ⁴⁾	カナイ 金井	タカオ 孝夫 ²⁾	ウチヤマ 内山	タケヒコ 竹彦 ¹⁾²⁾

(受付 平成 11 年 5 月 7 日)

Pathogenic Mechanism of Toxic Shock Syndrome in Rabbits Induced by
Long-term Exposure to Staphylococcal Superantigen TSST-1Akira KAWACHI¹⁾, Hidehiro UESHIBA²⁾, Kazuo ISHIKAWA¹⁾³⁾, Keishi MIWA³⁾, Nobuo IDA³⁾
Yasushi HARA⁴⁾, Masahiro TAGAWA⁴⁾, Takao KANAI²⁾ and Takehiko UCHIYAMA¹⁾²⁾¹⁾Department of Microbiology and Immunology (Director: Prof. Takehiko UCHIYAMA), and²⁾Institute of Laboratory Animals, Tokyo Women's Medical University, School of Medicine³⁾Medical Devices Diagnostics Research Laboratories, Toray Industries, Inc.⁴⁾Department of Veterinary Surgery, Nihon Veterinary and Animal Science University

A staphylococcal infectious disease, toxic shock syndrome (TSS), is characterized by acute and systemic disorders, such as fever, erythema, shock, and multi-organ failures. A causative exotoxin of TSS, TSS toxin-1 (TSST-1), one of the bacterial superantigens, activates a vast number of human T cells in V β 2-selective way and induces overproduction of cytokines. However, it does not exhibit direct cytotoxic actions. Cytokines produced in an excessive amount are primarily involved in the pathogenicity of TSS. In the present study, we analyse abnormal reactions seen in TSS in rabbits induced by long-term exposure to TSST-1 filled in an osmotic pump implanted.

All of the rabbits exposed to TSST-1 exhibited acute and systemic abnormal reactions and 60% of them died within 14 days. The rabbits which survived TSS exhibited transient decrease in body weight, erythrocyte counts, and concentration of hemoglobin in peripheral blood, and transient increases in serum glutamic oxaloacetic transaminase, glutamic pyruvic transaminase, lactate dehydrogenase, triglyceride, and total cholesterol values. By comparison, the rabbits that died exhibited

steady decreases in body weight, erythrocyte counts, and concentration of hemoglobin in peripheral blood prior to their deaths, and transient increases, in higher degrees than did survived ones, of the other clinical data described above.

緒 言

黄色ブドウ球菌感染症の毒素性ショック症候群 (toxic shock syndrome, TSS) は、広範な無菌性炎症や多臓器不全等を主たる病変とし、急性全身性の発熱、発疹、ショック症状等を主症状とする致死性の高い感染症である^{1)~4)}。TSSの原因外毒素としてTSS毒素 (TSS toxin-1, TSST-1) や腸管毒素 A~H (staphylococcal enterotoxins A~H, SEA~SEH) が知られているが、これらは今日スーパー抗原として分類されている^{5)~8)}。その中でTSST-1が最も高頻度にTSSの発症に関与しているようである。最近我々は、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA) が作るTSST-1による新しいタイプの新生児感染症である新生児TSS様発疹症 (neonatal TSS-like exanthematous disease, NT-ED) を報告した⁹⁾。

スーパー抗原は、通常の免疫抗原と異なり、マクロファージら抗原提示細胞によってペプチドに細断されること (プロセシングの過程) なく主要組織適合抗原クラスII分子 α 鎖 β 鎖複合体の外側部と直接結合し¹⁰⁾¹¹⁾、T細胞の抗原レセプター β 鎖に特定の可変部V β 領域を表現するT細胞を一括して活性化する^{5)~8)}。V β はファミリーとして30種程度に限られるため、スーパー抗原は、ごく微量で短時間のうちに莫大な数のT細胞を活性化することが可能である。例えばTSST-1は全T細胞クローン種 (ヒトの場合は、 10^{10} 種とも推定される) の10%を占めるV $\beta 2^+$ T細胞を活性化する¹²⁾。このようにして過度にT細胞が活性化された結果、IL-2, TNF α , IFN γ 等のサイトカインの過剰な産生が引き起こされる。

スーパー抗原の試験管内の作用は上記のT細胞の活性化のみで直接的な細胞障害性は認められないことと、動物を用いた実験結果^{13)~17)}から、ヒトのTSSにみられる一連の特徴的な病態と臨床症状は、スーパー抗原性外毒素による各種サイト

カインの過剰分泌によってもたらされる免疫系制御の破綻によると考えられる^{18)~20)}。例えば、マウスを用いた実験系では、抗TNF- α や抗IFN- γ の投与によって、スーパー抗原の致死活性性が抑制される¹⁵⁾¹⁷⁾。

ウサギはヒトのTSS症と極めて類似した病像を呈する。TSST-1を浸透圧ポンプに充填し、ウサギ皮下に埋設して持続的にTSST-1で刺激することにより、ヒトのTSSの多臓器不全と極めて類似した病態が誘導されることが報告された¹³⁾¹⁴⁾。今回我々は、さらに深く広くTSSの病態を解析することを目的として、ウサギにTSST-1を充填した浸透圧ポンプを埋設してスーパー抗原性ショックを誘導し、臨床症状の観察をはじめ血液学的、臨床生化学的な検査を併せて行った。

材料および方法

1. 動物

ウサギ (日本白色種, 株式会社日本医科学動物資材研究所, 東京), 雄, 体重2.5~3 kgを通常飼育して実験に用いた。

なお、本研究の動物実験は、東京女子医科大学動物実験倫理委員会の許可を得て行われた (整理番号 97-67)。

2. TSST-1 とウサギのTSST-1投与

TSST-1 (TOXIN TECHNOLOGY, INC., Sarasota) を滅菌生理食塩水で300 μ g/mlの濃度に調整し、その0.2 ml (TSST-1は60 μ g) を浸透圧ポンプ (MINI-OSMOTIC PUMP: ALZET model 2001, Alza Corp., Palo Alto, Calif.) に充填し、メデトミジンとキシラジンの混合注射による全身麻酔下で、ウサギ頸背部皮下に、無菌的に浸透圧ポンプを埋設した。以下、この浸透圧ポンプをTSST-1ポンプと呼ぶ。

3. 臨床観察検査項目

1) 一般状態

体重, 体温 (直腸温), 活動状況, 食欲, 被毛状態, 可視粘膜, 体表リンパ節等を観察した。

2) 血清中 TSST-1 濃度の測定

血清中 TSST-1 濃度は三和らの方法による ELISA 法により測定した²¹⁾。ウサギ血漿 33 μ l を希釈バッファー (0.25% 牛胎児血清, 0.05% Tween 20 加 PBS, pH 7.2) 66 μ l を含んだ ELISA プレートに加えて 25°C で 1 時間放置後, 上清を吸引・除去し, 0.05% Tween 20 加 PBS で 3 回洗浄した。ビオチンラベルしたマウス単クローン抗体 (0.1 μ g/ml) 100 μ l を加え 25°C 1 時間反応させ, そこへアビジン-horseradish ペルオキシダーゼを加えて 25°C 15 分反応させた。その後 3 回プレートをすすぎ, 基質溶液を 100 μ l 加えて 25°C 30 分反応させた。酵素反応は 0.5 M 硫酸 100 μ l を加えて停止させ, 450 nm の吸光度をマイクロプレートリーダー (M-3550, Bio-Rad, Calif.) により測定した。血漿を含まない PBS を陰性コントロールとして用いた。

3) 血液学的検査

自動血球計算機 (Sysmex F-800: 東亜医用電子, 東京) により, 赤血球数, 血色素量, 血球容積, 白血球数を測定した。

4) 血液生化学的検査

乾式臨床化学自動分析装置 (スポットケム SP-4420: 京都第一科学, 京都) により, glutamic oxaloacetic transaminase (GOT), glutamic pyruvic transaminase (GPT), lactate dehydrogenase (LDH), 総コレステロール, トリグリセリドを測定した。

4. 統計処理

体重, 体温, 赤血球数, 血色素濃度, 平均赤血球容積, 白血球数については, 約 100 匹の無処置ウサギのそれぞれの値の平均値を正常個体平均値とした。また, それらの平均値の 95% 信頼区間を正常範囲として図示し, 実験群の検体測定値との比較を t-test により行った。

結 果

1. 生死観察

今回の解析に用いたウサギは, 全体で 20 匹で, そのうち 8 匹は生存 (観察期間 30 日以内), 12 匹は TSST-1 ポンプ埋設処置後 2 週間以内に死亡した (死亡率 60%) (図 1)。以後の諸検査値は, 生

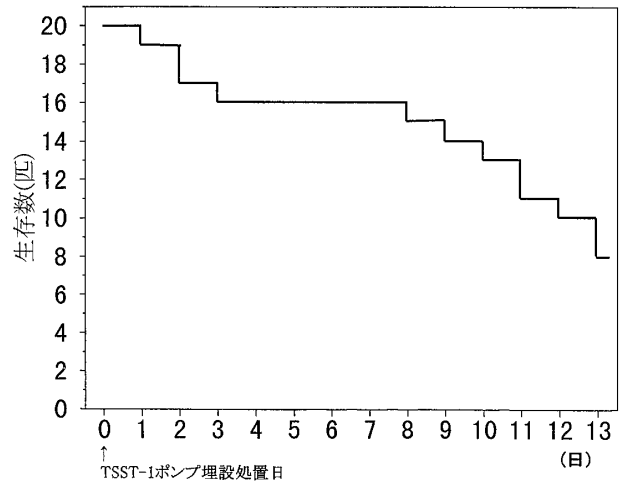


図 1 経過時間と生存数

TSST-1 ポンプ埋設日を 0 (日) として生存ウサギ数 (匹) の推移を示した。

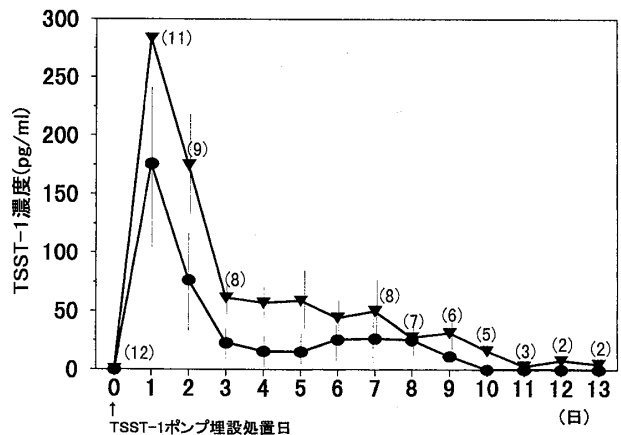


図 2 末梢血血清中の TSST-1 濃度の推移

TSST-1 ポンプ埋設日を 0 (日) とし, 耳静脈採血した末梢血血清中の TSST-1 濃度をサンドイッチ ELISA により測定, 処置後の経緯で生存個体および死亡個体を群別し, その群平均値 \pm SD の推移を示した。

●: 生存群, ▼: 死亡群, (): 死亡群における観察個体匹数 (生存群は観察中を通じて 8 匹)。

存群と死亡群に群別して平均値をとり, 経時的な推移を解析して表出した。

2. 血清 TSST-1 濃度

TSST-1 ポンプ埋設処置後の血清中の TSST-1 濃度の推移について解析した (図 2)。血清中 TSST-1 濃度は, 生存群, 死亡群とも, TSST-1 ポンプ埋設処置後, 1 日目に一過性に顕著な上昇を示した後, 3 日目まで急速な減少が観察された。その後, TSST-1 濃度は漸減傾向を示し, 10 日目以

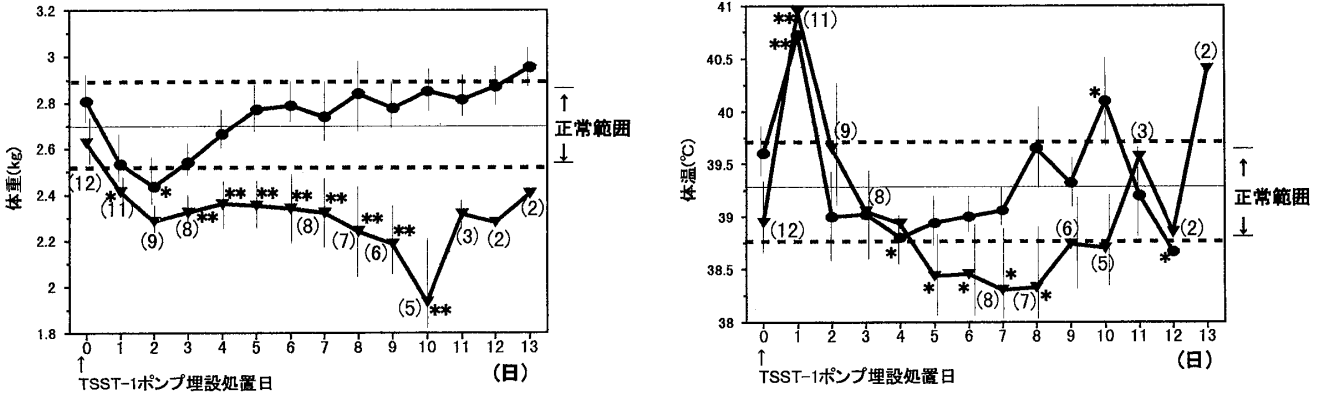


図3 体重および体温推移

TSST-1 ポンプ埋設日を0(日)とし、体重および体温(直腸温)を測定、処置後の経緯で生存個体および死亡個体を群別し、その群平均値±SDの推移を示した。

●: 生存群, ▼: 死亡群, —: 正常個体平均値, (): 死亡群における観察個体匹数(生存群は観察中を通じて8匹), *: 生存群および死亡群測定値と正常平均値の間に有意水準5%で有意差あり, **: 同じく有意水準1%で有意差あり。

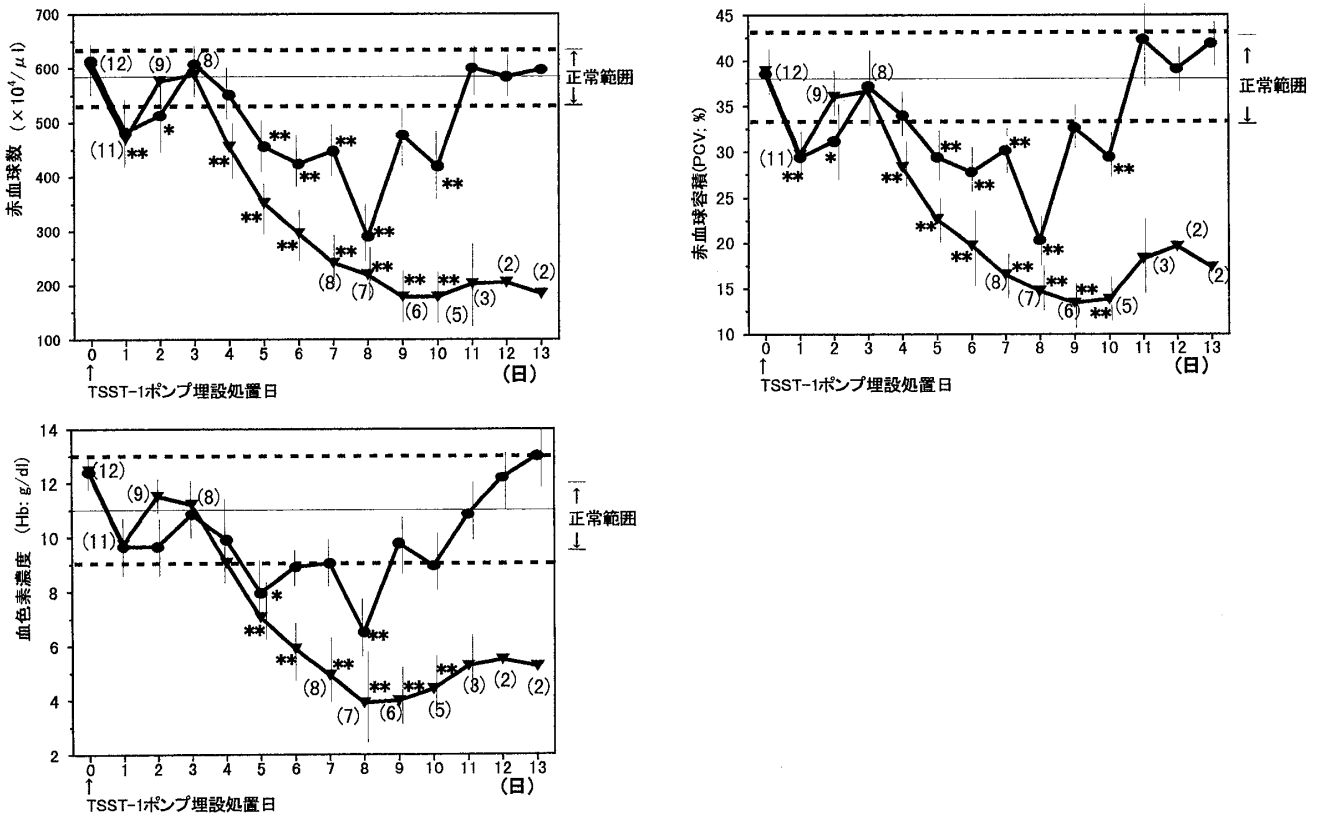


図4 末梢血赤血球数、赤血球容積、血色素濃度の推移

TSST-1 ポンプ埋設日を0(日)とし、耳静脈採血した末梢血の赤血球数、赤血球容積、血色素濃度を自動血球計算装置により測定、処置後の経緯で生存個体および死亡個体を群別し、その群平均値±SDの推移を示した。

●: 生存群, ▼: 死亡群, —: 正常個体平均値, (): 死亡群における観察個体匹数(生存群は観察中を通じて8匹), *: 生存群および死亡群測定値と正常平均値の間に有意水準5%で有意差あり, **: 同じく有意水準1%で有意差あり。

降はほぼ測定限界かそれ以下となった。全体として、TSST-1濃度は、死亡群が生存群より高い傾向であった。

3. 全身状態、体重および体温の推移

体重は、生存群はTSST-1ポンプ埋設処置後3日目までは減少傾向を示したが、その後正常範囲まで回復をみた。一方、死亡群では回復はみられず減少が続いた(図3)。死亡群では死亡により個体数が減少するため10日目以降の測定値に変動がみられた。体温は、生存群、死亡群とも処置後第1日目で顕著な上昇を認め、その後両群とも下降した。傾向としては、生存群では、ほぼ正常範囲内で推移したが、死亡群では、正常範囲より低い体温が観察された(図3)。

体重減少が認められている間は、生存群、死亡群とも、食物摂取の著しい減退、軽度の軟便等が認められた。生存群は、体重回復と平行してそれらの状態も改善がみられたが、死亡群では状態は改善せず、動きも低下していった。体重が減少し削瘦が認められる個体では、体表リンパ節(腋窩リンパ節や鼠径リンパ節等)の腫脹が体表側から触知できることもあった。

4. 赤血球数、赤血球容積、血色素濃度の推移

TSST-1ポンプを埋設したウサギの末梢血の赤血球数、赤血球容積および血色素濃度を測定し、貧血の指標とした(図4)。赤血球数、赤血球容積および血色素濃度は、生存群では処置後8日目まで小刻みに変動しながら減少傾向を示し、その後、漸次回復傾向を示し、処置後11日目以降は正常範囲に回復した。死亡群では、赤血球数、赤血球容積および血色素濃度も死亡時まで減少を続けた。

5. 白血球数の推移

白血球数は、生存群、死亡群ともに、TSST-1ポンプ埋設処置後1~2日目にかけて、顕著な減少がみられた。処置後3日目以降、生存群では、若干の値の変動を示しながら軽い減少を示した。一方死亡群では、若干の増加はみられたが、正常範囲に達することなく、9日目以降再び急激な減少を呈し、回復がみられなかった(図5)。

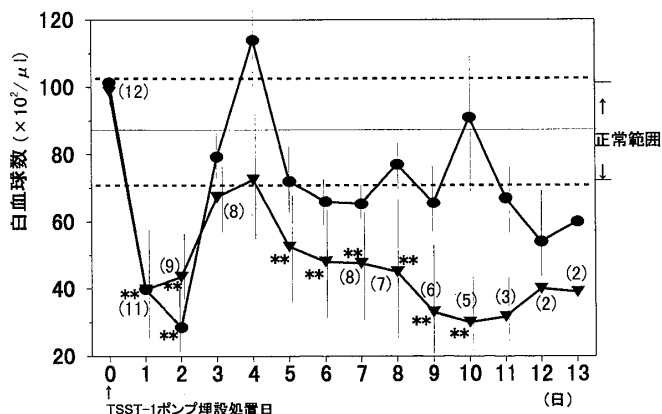


図5 末梢血白血球数の推移

TSST-1ポンプ埋設日を0(日)とし、耳静脈採血した末梢血の白血球数を自動血球計算装置により測定、処置後の経緯で生存個体および死亡個体を群別し、その群平均値±SDの推移を示した。

●：生存群、▼：死亡群、—：正常個体平均値、()：死亡群における観察個体匹数(生存群は観察中を通じて8匹)、*：生存群および死亡群測定値と正常平均値の間に有意水準5%で有意差あり、**：同じく有意水準1%で有意差あり。

6. 血清GOT、GPT、LDH値の推移

血清中GOT、GPT、LDH値の推移を、肝臓障害の指標として解析した(図6)。GOT、GPT、LDH値は、いずれも、生存群、死亡群ともTSST-1ポンプ埋設処置後1~2日目にかけて顕著な上昇を示し、その後漸次減少し、処置後6日目以降はほぼ正常範囲までの減少がみられた。検査値は、GOT、GPTおよびLDHとも、死亡群が生存群より高い傾向がみられた。

7. 血清トリグリセリド値および総コレステロール値の推移

予備検査で血清トリグリセリド値と総コレステロール値の上昇がみられたので、これらの値についても他の項目と同様に解析した(図7)。血清トリグリセリド値および総コレステロール値は、TSST-1ポンプ埋設処置後生存群および死亡群とも上昇し、2日目(血清中トリグリセリド値)および3日目(総コレステロール値)に最高値を示した。その後検査値は、生存群においては、7日目以降は正常範囲に回復を示した。死亡群ではトリグリセリド値は漸減傾向を示しながら、長期間高値を示した。総コレステロール値は、途中死亡によ

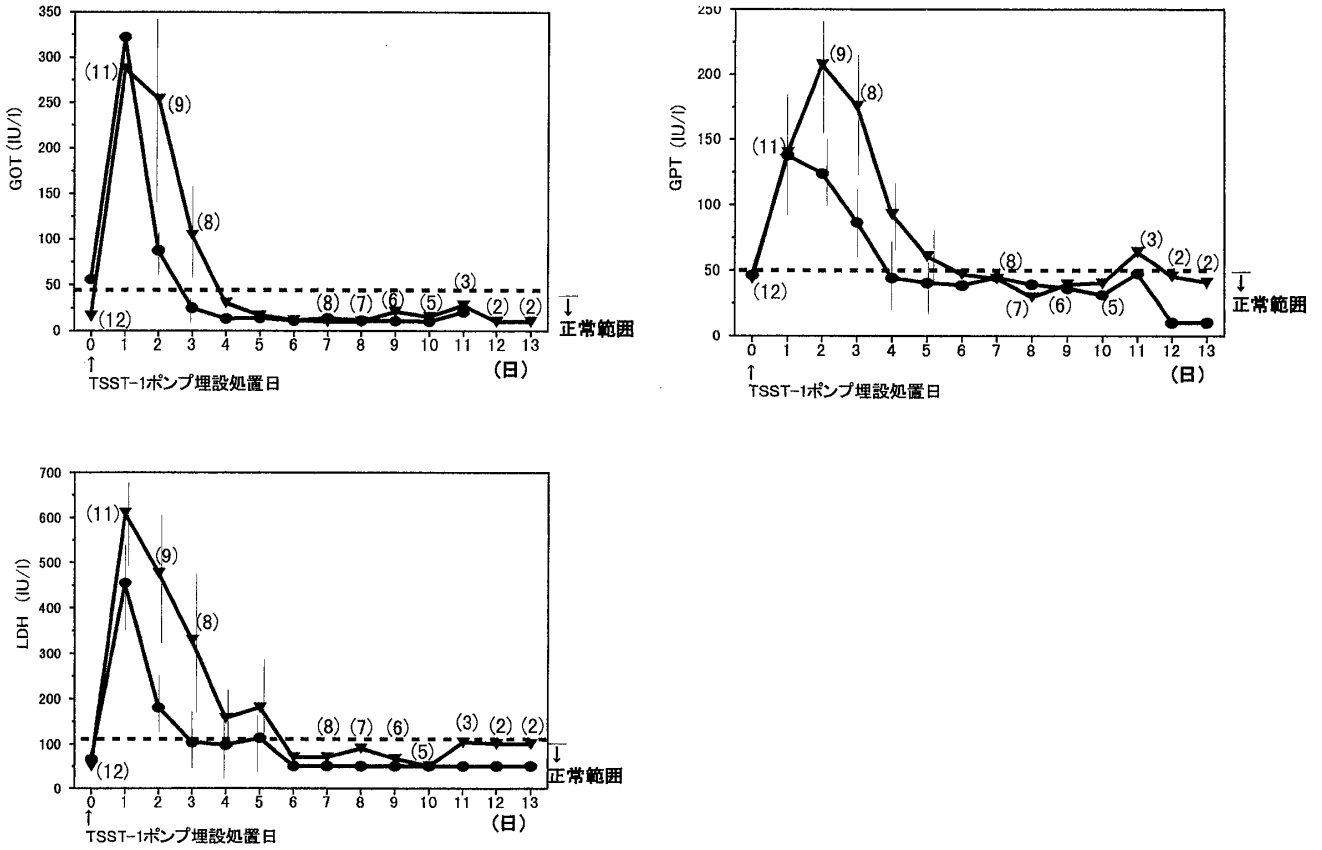


図6 末梢血血清中のGOT, GPT, LDH濃度の推移

TSST-1ポンプ埋設日を0(日)とし, 耳静脈採血した末梢血血清中のGOT, GPT, LDH濃度を乾式臨床化学自動分析装置により測定, 処置後の経緯で生存個体および死亡個体を群別し, その群平均値±SDの推移を示した.

●: 生存群, ▼: 死亡群, —: 正常個体平均値, (): 死亡群における観察個体匹数 (生存群は観察中を通じて8匹).

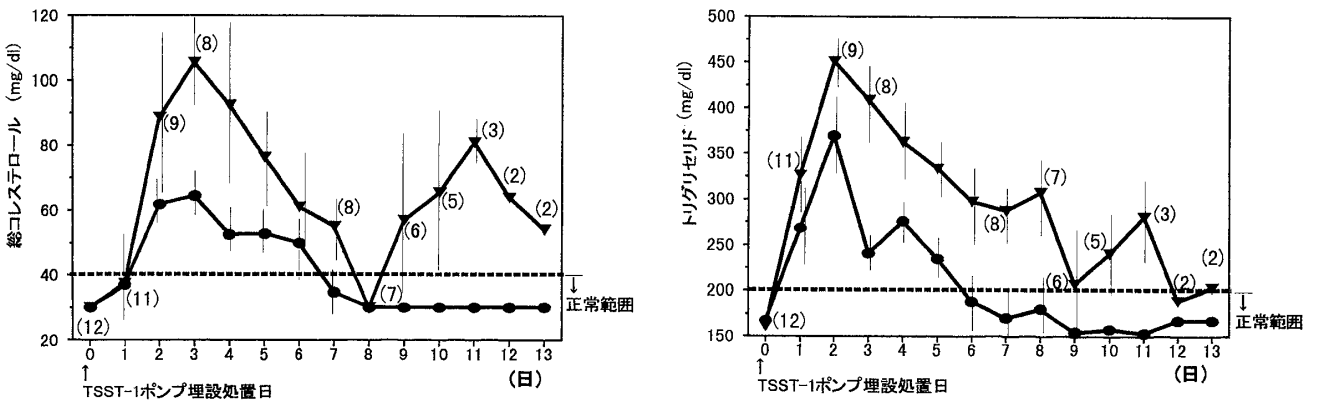


図7 末梢血血清中の総コレステロール, トリグリセリド濃度の推移

TSST-1ポンプ埋設日を0(日)とし, 耳静脈採血した末梢血血清中の総コレステロール, トリグリセリド濃度を乾式臨床化学自動分析装置により測定, 処置後の経緯で生存個体および死亡個体を群別し, その群平均値±SDの推移を示した.

●: 生存群, ▼: 死亡群, —: 正常個体平均値, (): 死亡群における観察個体匹数 (生存群は観察中を通じて8匹).

る個体数の減少から、処置後8日目以降のばらつきがあったが、死亡まで高値であった。

考 察

既に述べたように、TSST-1をはじめとするスーパー抗原性細菌外毒素が発症機序に関与する細菌感染症は、他の多くの細菌感染症とは異なる機序で病態が形成されることが解ってきた^{6)~8)}。例えばTSSでは、その発症はTSST-1等のスーパー抗原によるT細胞活性化作用によるサイトカインの過剰産生が関与する^{18)~20)}。

本研究は、スーパー抗原が関与する感染症における病態の発生機序の解析のため、スーパー抗原に対する反応がヒトと類似点の多いウサギにTSST-1ポンプを埋設して、臨床、血液、生化学的動態を追い、TSS病態モデルとしての可能性を検討した。

TSST-1ポンプ埋設処置によるウサギの反応(症状)は、以下のように2つの典型的な形式に分類できる。

1: 処置後早期に一過性の顕著な変化が認められる反応

1-a. 顕著な上昇がみられる反応; GOT, GPT, LDH, トリグリセリド, 総コレステロール

1-b. 顕著な減少がみられる反応; 白血球数

2: 処置後漸減が進行し死亡群で正常範囲に回復しない反応

体重, 赤血球数, 赤血球容積, 血色素濃度の減少

TSST-1ポンプ埋設処置を用いた他の研究者の実験結果では、被験ウサギは発熱、悪液質、嗜眠傾向そして最終的に全例死亡した。臨床検査所見では血清カルシウムの減少、BUNの上昇、トリグリセリドの上昇、GPTの上昇そして部分スロンボプラスチン時間の上昇がみられた¹³⁾¹⁴⁾。上記の研究でなされた検査項目のいくつかでは、今回の我々の研究と類似した結果となった。体温、GOT、GPTの上昇は、ヒトのTSSと類似しており、TSSの診断基準²⁾とも一致する。

他の研究者の研究結果と大きく異なる点は、我々の研究の死亡例では著しい貧血状態が惹起されたことである。他の研究者による実験では貧血

状態が記載されていないが¹³⁾¹⁴⁾、それは投与されたTSST-1の量が比較的少量だったことと、経過が急で、観察期間が短かったためと思われる。ヒトの症例では貧血は目立った異常所見ではないが、リンパ節におけるマクロファージの赤血球貪食像(erythrophagocytosis)や腸管出血、血尿がみられる症例がある³⁾⁴⁾。血色素濃度の減少と赤血球容積の減少から判断して、この著しい貧血状態は、持続的な出血が発生原因のひとつとして関与することを示唆している。これらの数値の変化とTSST-1の作用の関係については、今後の具体的な検証によらなければならないが、病理組織学的検索によっても、ヒトのTSSと類似した変化が観察された(上芝ら論文作製中)。

近年メチシリン耐性黄色ブドウ球菌による院内感染の問題が危惧されており、今でもTSS症例の発生報告⁷⁾や、新たな類似の新生児におけるTSS⁹⁾の発見も報告されている。さらに全身性エルシニア菌(*Yersinia pseudotuberculosis*)感染症²³⁾²⁴⁾や猩紅熱にはスーパー抗原性外毒素が関与する。さらには劇症型A型レンサ球菌感染症(streptococcal TSSとも表現される)²⁵⁾や原因不明の川崎病⁸⁾やインスリン依存型糖尿病⁹⁾の発症機序にもスーパー抗原の関与が考えられている。スーパー抗原性外毒素の関与する感染症の病態解析や治療法開発のためにTSST-1ポンプ埋設ウサギはTSSさらにはスーパー抗原が関与する感染症の病態動物モデルとして有効と考えられる。

本研究の一部は文部省科学研究費の助成を受けた。

文 献

- 1) Todd J, Fishaut M, Kapral F et al: Toxic-shock syndrome associated with phage-group-1-staphylococci. *Lancet* 2: 1116-1118, 1978
- 2) Shands KN, Schmid GP, Bruce B et al: Toxic shock syndrome in menstruating women. Association with tampon use and *Staphylococcus aureus* and clinical features in 52 cases. *N Engl J Med* 303: 1436-1442, 1980
- 3) Larkin SM, Williams DN, Osterholm MT et al: Toxic shock syndrome: clinical, laboratory and pathologic findings in nine fatal cases. *Ann Intern Med* 96: 852-857, 1982

- 4) **Paris AL, Herwaldt LA, Blum D et al:** Pathogenic findings in twelve fatal cases of toxic shock syndrome. *Ann Intern Med* **96**: 852-857, 1982
- 5) **White J, Herman A, Pullen AM et al:** The V β -specific superantigen staphylococcal enterotoxin B: stimulation of mature T cells and clonal deletion in neonatal mice. *Cell* **56**: 27-35, 1989
- 6) **Uchiyama T, Yan XJ, Imanishi K et al:** Mini-review; Bacterial superantigens—Mechanism of T cell activation by the superantigens and their role in the pathogenesis of infectious diseases. *Microbiol Immunol* **38**: 245-256, 1994
- 7) **内山竹彦, 戸塚恭一:** スーパー抗原と腸管感染症. *医のあゆみ* **178**: 666-668, 1996
- 8) **内山竹彦:** 細菌性スーパー抗原と感染症. *モダンメディア* **43**: 312-321, 1997
- 9) **Takahashi N, Nishida H, Kato H et al:** Exanthematous disease induced by toxic shock syndrome toxin-1 in the early neonatal period. *Lancet* **351**: 1614-1619, 1998
- 10) **Uchiyama T, Imanishi K, Saito S et al:** Activation of human T cells by toxic shock syndrome toxin-1: the toxin-binding structures expressed on human lymphoid cells acting as accessory cells are HLA class II molecules. *Eur J Immunol* **19**: 1803-1809, 1989
- 11) **Uchiyama T, Tadakuma T, Imanishi K et al:** Activation of murine T cells by toxic shock syndrome toxin-1: the toxin-binding structures expressed on murine accessory cells are MHC class II molecules. *J Immunol* **143**: 3175-3182, 1989
- 12) **Choi Y, Lafferty JA, Clements TR et al:** Selective expansion of T cells expressing V β 2 in toxic shock syndrome. *J Exp Med* **172**: 981-984, 1990
- 13) **Rasheed JK, Arko RJ, Feeley JC et al:** Acquired ability of *Staphylococcus aureus* to produce toxic shock-associated protein and resulting illness in rabbit model. *Infect Immun* **47**: 589-604, 1985
- 14) **Parsonnet J, Gillis ZA, Richter AG et al:** A rabbit model of toxic shock syndrome that uses a constant subcutaneous infusion of toxic shock syndrome toxin-1. *Infect Immun* **55**: 1070-1076, 1987
- 15) **Miethke T, Wahl C, Heeg K et al:** T cell-mediated lethal shock triggered in mice by the superantigen staphylococcal enterotoxin B: critical role of tumor necrosis factor. *J Exp Med* **175**: 91-98, 1992
- 16) **Florquin S, Amraoui Z, Dubois C et al:** The protective role of endogenously synthesized nitric oxide in staphylococcal enterotoxin B-induced shock in mice. *J Exp Med* **180**: 1153-1158, 1994
- 17) **Miyoshi-Akiyama T, Fujimaki W, Yan XJ et al:** Identification of murine T cells reactive with the bacterial superantigen *Yersinia pseudotuberculosis*-derived mitogen (YPM) and factors involved in YP-induced toxicity in mice. *Microbiol Immunol* **41**: 345-352, 1997
- 18) **Uchiyama T, Kamagata Y, Wakai M et al:** Study of the biological activities of toxic shock syndrome toxin-1. I. Proliferative response and interleukin 2 production by T cells stimulated with the toxin. *Microbiol Immunol* **30**: 469-483, 1986
- 19) **Uchiyama T, Kamagata Y, Yan X-J et al:** Study of the biological activities of toxic shock syndrome toxin-1. II. Induction of the proliferative response and the interleukin 2 production by T cells from human peripheral blood mononuclear cells stimulated with the toxin. *Clin Exp Immunol* **68**: 638-647, 1987
- 20) **Uchiyama T, Kamagata Y, Yan X-J et al:** Relative strength of the mitogenic and interleukin-2-production-inducing activities of staphylococcal exotoxins presumed to be causative exotoxins of toxic shock syndrome toxin-1, and enterotoxin A, B and C to murine and human T cells. *Clin Exp Immunol* **75**: 239-244, 1989
- 21) **Miwa K, Fukuyama M, Kunitomo T et al:** Rapid assay for detection of toxic shock syndrome toxin-1 from human sera. *J Clin Microbiol* **32**: 539-542, 1994
- 22) **Center for Disease Control:** Follow-up on toxic shock syndrome. *MMWW* **29**: 441-445, 1980
- 23) **Uchiyama T, Miyoshi-Akiyama T, Kato H et al:** Superantigenic properties of a novel mitogenic substance produced by *Yersinia pseudotuberculosis* isolated from patient manifesting acute and systemic symptoms. *J Immunol* **151**: 4407-4413, 1993
- 24) **Miyoshi-Akiyama T, Abe A, Kato H et al:** DNA sequencing of the gene encoding a bacterial superantigen, *Yersinia pseudotuberculosis*-derived mitogen (YPM) and characterization of the gene product, cloned YPM. *J Immunol* **154**: 5228-5234, 1995
- 25) **Shiseki M, Miwa K, Nemoto Y et al:** Comparison of pathogenic factors expressed by group A Streptococci isolated from patients with streptococcal toxic shock syndrome and scarlet fever. *Microb Pathog* **27**: (in press)