

かな関連が認められる最後の症例が発生した7月4日から3週間たった7月26日に、ドイツのRobert-Koch研究所はアウトブレイクの終息宣言を行った³⁰⁾。

今回のアウトブレイクの大きな特徴は以下の4つがあげられる。患者数等はRobert-Koch研究所からの報告書³⁰⁾“Final presentation and evaluation of the epidemiological findings in the EHEC O104:H4 outbreak, Germany 2011”に示されたものを用いた。

(1) 大規模の集団事例であり、重症化例も多数であった

ドイツにおいて計3,842例の急性胃腸炎症状を伴う患者が発生した。ドイツにおける2006～2010年の同時期(5月8日～7月4日)においてHUSを含むEHEC感染症の報告数は平均で231例であり、17倍もの報告数となった。それ以上に、重症化症例が多数に上ったことが大きな特徴としてあげられる。EHEC感染症患者のうちHUS症例は855例もの莫大な数になった。例年同時期(5月8日～7月4日)のHUS発症者(約13例)と比較して67倍の増加となる。これは、EHEC感染者が多数発生したことに加え、有症状者に対するHUS発症割合が顕著に高いことに起因する。有症状者に対するHUS患者の割合は通常5～10%と考えられているが、本事例では22%と非常に高い割合でHUSが発生した。死亡者も53名と多く、これまでのEHECアウトブレイクの中で最も大きなインパクトを与える事例となった。また、今回の事例では国際的な広がり認められ、ドイツ以外でも15か国で、54例のHUS症例を含む137名の感染者が発生した。

(2) 成人患者の多さ

ドイツにおける過去10年間のHUS症例($n = 696$)において5歳以下の子供の占める割合は69%であったことに対して、本事例ではHUS症例の約2%のみが5歳以下であり、大部分が成人であった(中央値は42歳)。腸炎症状のみの症例においても中央値は46歳となり、同様に大部分が成人の発症であった¹¹⁾。

患者における男女比も女性に多い傾向が認められた。HUS症例において女性の占める割合が68%であった¹¹⁾。過去10年の成人HUS症例($n = 63$)の男女比(女性56%)よりも有意に高いことが示された。

(3) 潜伏期間が比較的長い

今回のドイツにおけるアウトブレイクに関して推定される汚染食材の喫食と発症までの期間を解析した結果、中央

値で8日(四分位範囲6～10日)と推測された。これはEHEC O157による感染症の潜伏期間よりもやや長めであった。また、下痢発症からHUS発症までの期間は中央値で5日(4～7日)とされた¹¹⁾。

報告されたHUS症例の下痢発症日から、推定された潜伏期間を差し引いて汚染食材の喫食日を推定すると、5月12日から14日の間に発症者のおよそ30%が、また5月9日から16日の間に65%が汚染食材を喫食したと推定された³⁰⁾。

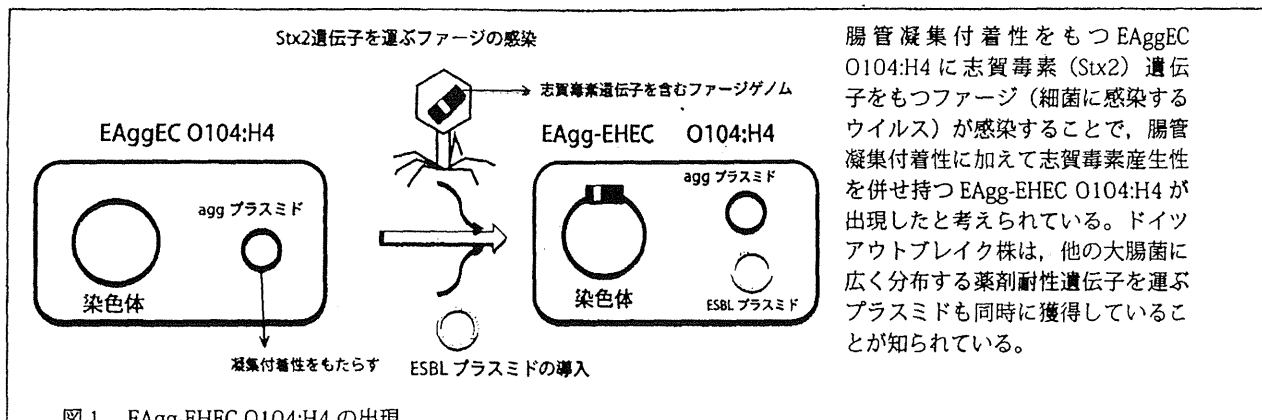
(4) 稀な血清型O104:H4大腸菌が原因であり、付着因子も特殊

本事例で分離されたEHECはO104:H4と型別された¹⁰⁾。EHEC O104:H4による感染症は極めて稀であり集団事例の報告は存在しなかった。HUS症例に関連してドイツ(2001)²¹⁾、フランス(2004, 2009)²²⁾、韓国(2005)^{2, 19)}、イタリア(2009)³²⁾においてそれぞれ散発例として、グルジア共和国(2009)³³⁾では2例のHUS症例が発生しており、フィンランドにおいて下痢症例(2010)が存在することが報告されている^{8, 33)}。

EHECは腸管細胞へのLEE領域依存的な付着と志賀毒素産生により出血性大腸炎を引き起こすと考えられる。また、志賀毒素遺伝子は2種類の亜型ともに、細菌に感染するウイルス(ファージ)によって運ばれており、ファージゲノムが染色体に挿入されることで毒素産生性を獲得する³⁴⁾。

今回のO104:H4株は、志賀毒素2型産生株であったが、LEE領域陰性の非典型的なEHECであることが示された。一方で、付着因子として腸管凝集性大腸菌の付着因子を有することが示された^{3, 11, 33, 35)}。そのため、腸管凝集付着性のEHEC(EAgg-EHEC)と位置づけられている。先述の韓国分離株以外は腸管凝集付着因子を保有するEAgg-EHEC O104:H4であることが示されている。O104以外の血清群のEAgg-EHECによるHUS症例の報告は、フランスにおけるO111:H2による集団事例²³⁾、国内で発生したO86:H-による散発事例¹⁶⁾が報告されている。

パルスフィールドゲル電気泳動法による制限酵素切断パターン解析、さらにはゲノムの塩基配列の比較解析から、ドイツで分離されたEAgg-EHEC株は志賀毒素遺伝子を持たないEAggEC O104:H4株と非常に近縁であることが示された^{26, 33)}。つまり、EAggEC O104にStx2遺伝子を持



腸管凝集付着性をもつ EAggEC O104:H4 に志賀毒素 (Stx2) 遺伝子をもつファージ (細菌に感染するウイルス) が感染することで、腸管凝集付着性に加えて志賀毒素産生性を併せ持つ EAagg-EHEC O104:H4 が出現したと考えられている。ドイツアウトブレイク株は、他の大腸菌に広く分布する薬剤耐性遺伝子を運ぶプラスミドも同時に獲得していることが知られている。

つファージが感染することで、毒素産生性を獲得したことが強く示唆される (図1)。

腸管出血性大腸菌 O104 集団事例の原因食材

原因食材として、当初より生野菜との関連等が指摘されていたが特定は困難であった¹⁰⁾。しかしながら、北ドイツ地方のある発芽野菜農場との疫学的関連が示され³⁸⁾、さらに、152名 (31名が血便あるいはHUSを発症) の recipe-based restaurant コホート研究により発症と発芽野菜喫食との関連が明らかとなった⁴⁾。関連が示唆された発芽野菜のうち Fenugreek の生産農場が複数の調査結果の共通項としてあげられたが、どの段階で汚染が起きたのかは不明であった。種子の汚染、生産過程における汚染、流通過程における汚染等の可能性が考えられた。

6月にフランスにおいてドイツ事例との関連が見いだせない、EAagg-EHEC O104:H4 を原因とする小規模なアウトブレイクが発生し^{13,20)}、分子タイピングの結果、細菌学的には同一の菌株を原因であるとみなされた。ドイツのアウトブレイク同様 Fenugreek の発芽野菜が喫食されており、種子の流通経路の遡り調査が行われた。その結果、エジプトから輸入された種子がドイツならびにフランスに流通したことが明らかにされた。なんらかの要因で Fenugreek の種子の生産からドイツおよびフランスへの流通の共通部分において汚染が示唆されている^{4,9)}。

終わりに

ドイツでの HUS 発生数が最大となる大規模アウトブレイクは約2か月で終息した。EAagg-EHEC に汚染された発芽野菜の喫食により多数の発症者、重症患者が発生した。稀な血清型であり、保有する病原因子も非典型的な EHEC

による事例であった。しかしながら、いまだ重症化率の高さを説明するには至っていない。アウトブレイク期間中のドイツ滞在者の発症者も多く国際的に波及した。幸いにも国内において EAagg-EHEC O104:H4 による患者の発生は報告されていない。しかしながら、アウトブレイクの終息宣言がなされた後でも、2011年9月トルコ旅行に出かけたフランス人グループの中で、2名が EAagg-EHEC O104:H4 による HUS を発生したとの報告がなされた¹⁷⁾。ドイツ、デンマークにおいてもトルコ旅行と関連した症例が8~9月の期間に3件あることが報告されている。EAagg-EHEC O104:H4 がどこに存在しているのか、Fenugreek の種子の汚染がどのように起こったのかも明らかにされていない。突然出現したように見えた EAagg-EHEC O104:H4 であったが、過去にも散見されていることも事実である。正確なリスクアセスメントを実施するには、家畜等を含めた十分な調査が国際協調のなかで広範に実施される必要がある。

引用文献

- 1) Askar, M., Faber, M.S., Frank, C. et al. (2011) : *Euro. Surveill.* 16, pii:19883.
- 2) Bae, W.K., Lee, Y.K., Cho, M.S. et al. (2006) : *Yonsei Med. J.* 47, 437-439.
- 3) Bielaszewska, M., Mellmann, A., Zhang, W. et al. (2011) : *Lancet Infect. Dis.* 11, 671-676.
- 4) Buchholz, U., Bernard, H., Werber, D. et al. (2011) : *N. Engl. J. Med.* 365, 1763-1770.
- 5) Cantey, J.R. & Blake, R.K. (1977) : *J. Infect. Dis.* 135, 454-462.
- 6) Cravioto, A., Gross, R.J., Scotland, S.M. et al. (1979) : *Curr. Microbiol.* 3, 95-99.
- 7) DuPont, H.L., Formal, S.B., Hornick, R.B. et al. (1971) : *N. Engl. J.*

- Med.* 285, 1-9.
- 8) European Centre for Disease Prevention and Control and European Food Safety Authority. (2011) : Shiga toxin/verotoxin-producing *Escherichia coli* in humans, food and animals in the EU/EEA, with special reference to the German outbreak strain STEC O104. ECDC, Stockholm.
 - 9) European Food Safety Authority. (2011) : Tracing seeds, in particular fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seeds, in relation to the Shiga toxin-producing *E. coli* (STEC) O104:H4 2011 outbreak in Germany and France. EFSA.
 - 10) Frank,C., Faber,M.S., Askar,M. et al. (2011) : *Euro Surveill.* 16, pii:19878.
 - 11) Frank,C., Werber,D., Cramer,J.P. et al. (2011) : *N. Engl. J. Med.* 365, 1771-1780.
 - 12) Frankel,G., Phillips,A.D., Rosenshine,I. et al. (1998) : *Mol. Microbiol.* 30, 911-921.
 - 13) Gault,G., Weill,F.X., Mariani-Kurkdjian,P. et al. (2011) : *Euro Surveill.* 16, pii:19905.
 - 14) Gorbach,S.L. (1970) : *N. Engl. J. Med.* 283, 44-45.
 - 15) Guerrant,R.L., Moore,R.A., Kirschenfeld,P.M. et al. (1975) : *N. Engl. J. Med.* 293, 567-573.
 - 16) Iyoda,S., Tamura,K., Itoh,K. et al. (2000) : *FEMS Microbiol. Lett.* 191, 7-10
 - 17) Jourdan-da Silva,N., Watrin,M., Weill,F.X. et al. (2012) : *Euro Surveill.* 17, pii:20065.
 - 18) Karmali,M.A., Steele,B.T., Petric,M. et al. (1983) : *Lancet.* i, 619-620.
 - 19) Kim,J., Oh,K., Jeon,S. et al. (2011) : *Emerg. Infect. Dis.* 17, 1755-1756.
 - 20) Mariani-Kurkdjian,P., Bingen,E., Gault,G. et al. (2011) : *Lancet Infect. Dis.* 11, 732-733.
 - 21) Mellmann,A., Bielaszewska,M., Köck,R. et al. (2008) : *Emerg. Infect. Dis.* 14, 1287-1290.
 - 22) Monecke,S., Mariani-Kurkdjian,P., Bingen,E. et al. (2011) : *Appl. Environ Microbiol.* 77, 8784-8786.
 - 23) Morabito,S., Karch,H., Marinani-Kurkdjian,P. et al. (1998) : *J. Clin. Microbiol.* 36, 840-842.
 - 24) Nataro,J.P., Kaper,J.B., Browne,R. et al. (1987) : *Pediatr. Infect. Dis. J.* 6, 829-831.
 - 25) Ogawa,H., Nakamura,A. & Sakazaki,R. (1968) : *Jpn. J. Med. Sci. Biol.* 21, 333-349.
 - 26) Rasko,D.A., Webster,D.R., Sahl,J.W. et al. (2011) : *N. Engl. J. Med.* 365, 709-717.
 - 27) Riley,L.W., Remis,R.S., Helgerson,S.D. et al. (1983) : *N. Engl. J. Med.* 308, 681-685.
 - 28) Ryder,R.W., Wachsmuth,I.K., Buxton,A.E. et al. (1976) : *N. Engl. J. Med.* 295, 849-853.
 - 29) Sakazaki,R., Tamura,K., Saito,M. (1967) : *Jpn. J. Med. Sci. Biol.* 20, 387-399.
 - 30) Robert Koch Institute (2011) : Report: Final presentation and evaluation of epidemiological findings in the EHEC O104:H4 outbreak, Germany 2011. Robert Koch-Institute (RKI).
 - 31) Rowe,B., Taylor,J. & Bettelheim, K.A. (1970) : *Lancet* 1, 1-5.
 - 32) Scavia,G., Morabito,S.T.R., Michelacci,V. et al. (2011) : *Emerg. Infect. Dis.* 17, 1957-1958.
 - 33) Scheutz,F., Nielsen,E.M., Frimodt-Møller,J. et al. (2011) : *Euro Surveill.* 16, pii:19889.
 - 34) Stroekbine,N.A., Marques,L.R.M., Newland,J.W. et al. (1986) : *Infect. Immun.* 53, 135-140.
 - 35) Struelens,M.J., Palm,D. & Takkinen,J. (2011) : *Euro Surveill.* 16, pii:19890.
 - 36) Taylor,J., Wilkins,M.P. & Payne,J.M. (1961) : *Br. J. Exp. Pathol.* 42, 43-52.
 - 37) Ulshen,M.H. & Rollo,J.L. (1980) : *N. Engl. J. Med.* 302, 99-101.
 - 38) Wilking,H., Götsch,U., Meier,H. et al. (2012) : *Emerg. Infect. Dis.* 18, 169-170.



腸管出血性大腸菌の多様性

* 国立感染症研究所 細菌第一部

大西 真* 伊豫田 淳

感染・炎症・免疫 第42巻 第1号 別刷

平成24年4月10日発行

鳥居薬品株式会社



腸管出血性大腸菌の多様性

大西 真*, 伊豫田 淳

Summary

病原性大腸菌はさまざまな病原因子を発現することで多様な臨床症状を惹起する。その1つとして下痢をはじめとする消化器症状を惹起する大腸菌を下痢原性大腸菌と呼ぶ。下痢原性大腸菌は引き起こす病態、培養細胞への付着性、保有している病原性遺伝子によってさらに分類される。その1つが腸管出血性大腸菌(enterohaemorrhagic *Escherichia coli*; EHEC)である。EHECは出血性大腸炎に続いて溶血性尿毒症症候群、中枢神経症状(脳症)等重篤な臨床症状を引き起こすことが大きな特徴であり、腸管細胞への付着性とタンパク質性毒素による細胞傷害性はその病原性の本態である。本稿では病原性大腸菌の分類、腸管出血性大腸菌の発見の経緯、ゲノム情報に基づいたEHECの多様性に関する知見を紹介し、さらに重要な病原因子である細胞毒性と腸管接着因子について概説する。



おおし・まこと

1991年信州大学医学部卒、同年細菌学助手。2001年より宮崎医科大学(現宮崎大学医学部)微生物学講師、助教授。2003~2005年ロックフェラー大学への留学を経て、2005年より国立感染症研究所細菌第一部第五室室長。2010年より細菌第一部部長。細菌の種内の多様性と、その多様性を形成するメカニズムに関して、特に臨床分離株の比較解析に着目して研究を進めている。

I. 病原性大腸菌

大腸菌は遺伝的に多様な菌株の集団であり¹⁾、病原性に関しても多彩である。大腸菌はヒト腸管内の常在性細菌の1つであり、多くは病原性をもたないが、特定の菌株はヒトに対する病原性を示す。また、病原性をもつ大腸菌は質的に多様であり、このような多様性の実体を明らかにすることはさまざまな大腸菌の成立過程を考えるうえで重要である。病原性大腸菌は大別して下痢等の原因となる腸管病原性をもつものと、膀胱炎、腎盂腎炎、敗血症、髄膜炎あるいは肺炎等の原因となる腸管外病原性をもつものが存在する。下痢を引き起こす病原性大腸菌(下痢原性大腸菌)は、さらに少なくとも5つに分類される(表)。

大腸菌のヒトに対する下痢原性に関する知見が集積されはじめたのは1960年代のことである^{2~6)}。赤痢菌の類似の病態(細胞侵入性)、あるいはコレラ様の下痢の原因となる大腸菌(毒素産生性)が存在し^{3, 7)}、こ

れらは1970年代半ばまでには腸管侵入性大腸菌(enteroinvasive *E. coli*; EIEC)、耐熱性あるいは易熱性の毒素を産生する腸管毒素原性大腸菌(enterotoxigenic *E. coli*; ETEC)としてそれぞれ分類され、病原性大腸菌として認識されることとなった^{7~9)}。さらに、EIECおよびETEC以外にも、腸管細胞に菌が付着し、腸管の微絨毛破壊を伴う特異的な病理変化を示す大腸菌が存在する可能性がCanteyらによって示唆された¹⁰⁾。慢性の下痢を示す乳児の症例において同様の病理変化が確かめられ、第3の下痢原性大腸菌の病原機構として認識されることとなった¹¹⁾。現在では、腸管病原性大腸菌(enteropathogenic *E. coli*; EPEC)と分類されている。

EIEC, ETEC, そしてEPECを分類するには動物実験等が必要であった。そこで、それぞれの下痢原性大腸菌の特異的な病原性遺伝子が同定される以前は、血清型別分類が下痢原性大腸菌の分類のうえで大きな役割を果たしてきた。つまり、特定の血清型を示す大腸菌がある特定の臨床症状と関

血清型別分類

さまざまな細菌種における分類方法の1手段。細菌細胞の抗原性を用いて、同一種をさらに細分化する。大腸菌においては、外膜に存在するLPSの抗原性(O抗原)および細菌の運動器官であるべん毛の抗原性(H抗原)に基づいた血清型別により主に分類される。EHECのO血清群としては190種程度に分類することが可能である。

* 国立感染症研究所 細菌第一部
〒162-8640
東京都新宿区戸山1-23-1
E-mail
ohnishi7@nih.go.jp

表 下痢原性大腸菌の分類

下痢原性大腸菌		保有病原因子等の特徴	
腸管侵入性大腸菌	enteroinvasive <i>E. coli</i>	EIEC	赤痢菌と同様の細胞侵入性に関する病原因子をプラスミド上にコードしている
腸管毒素原性大腸菌	enterotoxigenic <i>E. coli</i>	ETEC	下痢原性に関する毒素をコードするプラスミドを所持する。易熱性(heat-labile)毒素=LT, 耐熱性(heat-stable)毒素=STのいずれか、あるいは両毒素を産生する
腸管病原性大腸菌	enteropathogenic <i>E. coli</i>	EPEC	典型的なEPECは初期接着に必要な束状線毛と、強固な接着に必要なLEE遺伝子群をもつ。初期接着とLEE遺伝子群に必要な遺伝子はプラスミド上に存在する。束状線毛を産生しない菌株は非典型的なEPECとして考えられるが、その病原性についての詳細は不明の点がある
腸管出血性大腸菌	enterohaemorrhagic <i>E. coli</i>	EHEC	志賀毒素遺伝子はファージゲノムによってコードされている。典型的なEHECはEPEC同様、LEE依存性の細胞付着性を示す。LEEを保持しないEHECの細胞付着性に関しては、不明な点が残されているが、一部EAggECの付着因子をもつものが知られている
腸管凝集付着性大腸菌	enteroaggregative <i>E. coli</i>	EAggEC	菌が相互に凝集しつつ、宿主細胞に付着する特徴的な性状を示す。この付着性状はプラスミドにコードされている。志賀毒素遺伝子をコードするファージの感染により、毒素産生性を獲得した菌株も存在するが、それらはEAgg-STECとも呼ばれ、非典型的なEHECであると考えられる

連することを利用したものである。しかしながら、一般的には血清分類に用いられる抗原自身が病原性に関与しているわけではない。一方で、下痢原性を評価する方法として培養細胞に対する付着性を指標に分類する方法が取り入れられてきた。Craviotoらの方法では、HEp-2細胞に対する付着形態から3種類に分類される¹²⁾。その中の1つ、HEp-2細胞上に微小コロニーを形成する付着形態はUlshenらによって報告された第3の病原機構を示すEPECあるいは腸管出血性大腸菌の付着形態と同一と考えられる。これらに加え、いわゆる“煉瓦を積み重ねた”ような付着形態を示す大腸菌と小児下痢症との関連が示され¹³⁾、腸管出血性大腸菌に続いて5番目の下痢原性大腸菌(腸管凝集付着性大腸菌: enteroaggregative *E. coli*; EAggEC)として分類された。

II. 腸管出血性大腸菌の発見

腸管出血性大腸菌は1982年米国において同一レストランチェーン店を原因とした2つの食中毒事例の原因菌とされた。激しい腹痛、水様性の下痢とそれに続く血性下痢を呈し、発熱は顕著ではないことが特徴的であった。その当時認識されていた病原微生物は検出されなかったが、患者検体および喫食されたハンバーガーパテと同一ロットから血清型O157:H7を示す大腸菌が分離

された¹⁴⁾。血清型O157:H7は既知の下痢原性大腸菌の示す血清型には合致せず、その分離も稀であった。

Karmaliらは溶血性尿毒症症候群の患者便から、Vero細胞への毒性をもつ大腸菌が分離されることを示した¹⁵⁾。本毒素は後に赤痢菌の産生する志賀毒素と同様のものであることが示された(後述)。Rileyらによって報告された大腸菌O157:H7も志賀毒素を産生することが示され、激しい腹痛と血性下痢を特徴とする病態を示す病原性大腸菌の存在と細胞毒性との関連、加えて溶血性尿毒症症候群との関連が初めて示唆されることとなった。

わが国においても1984年に東京で志賀毒素産生性の大腸菌O145:H-による集団食中毒事例が報告されている。また、1986年愛媛県の乳児院において血性下痢を主徴とする集団事例が発生した。下痢便から志賀毒素を産生する*E. coli* O111:H-が分離され、1名が溶血性尿毒症症候群を発症し死亡した。

血清群O157による集団発生としては、1990年埼玉県での事例が最初であり2名がHUSを発症し死亡した。その後1994年までに10件の集団食中毒事例が散発的に続いた。1996年には大阪府における学童の大規模集団食中毒事件をはじめ全国的に大発生する事態となり、食中毒事例の有症状者のみで1万人を超えた。その後、毎年

腸管出血性大腸菌

腸管出血性大腸菌の病原性に志賀毒素の産生性が必須であり、志賀毒素産生大腸菌と称されることがある。志賀毒素はVero細胞に対する毒性を指標に見出されたことからVero毒素とも呼ばれ、EHECは志賀毒素(Vero毒素)産生大腸菌(Shiga-toxin producing *Escherichia coli*; STECあるいはVero-toxin producing *Escherichia coli*; VTEC)との呼び名がある。いずれも志賀毒素を産生することで出血性腸炎を引き起こす病原性をもつ大腸菌のことを指す。

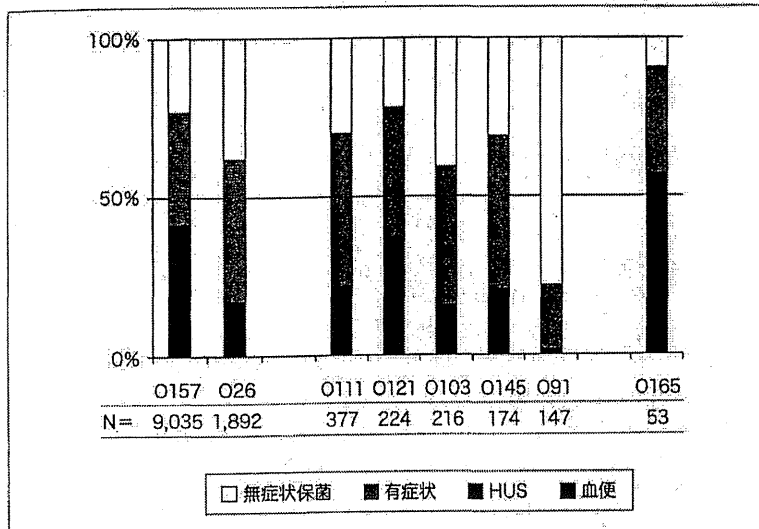


図1 O血清群ごとの菌株単離症例の症状別分類(2007年~2011年7月)
血便、溶血性尿毒症候群(HUS)を呈した症例数の割合をそれぞれ赤、黒で示した。それ以外の有症状例数の割合を灰色で、無症状保菌症例の割合を白で示した。

3,000~4,000名程度の腸管出血性大腸菌感染患者数の報告がなされている。

III. O血清群からみる 腸管出血性大腸菌の多様性

日本国内で単離されるEHECは、血清群O157、O26あるいはO111を示す菌株が国内分離株の95%程度を占めている。その他の血清群としては、O103、O121、O91、O145、O165等の血清群の菌株が分離されている。

EHEC分離例における血便を呈する症例の割合を血清群ごとにまとめた結果を図1に示した。O157の分離症例における血便陽性率は約40%程度であり、O121分離症例でも同様である。O26、O111、O103、O145は20%程度の症例で血便が認められる。また、O91が分離された症例においては、血便を呈する症例は極めて低率である。一方、O165は分離菌株数が少ないが、血便を呈する症例が比較的多い傾向にある。

後述する通り、志賀毒素は2種類存在する(Stx1およびStx2)。EHECは両者あるいはどちらか片方の遺伝子をもつ。毒素型との関係から、O157、O165、O121はほとんどすべてがStx2型あるいはStx1+Stx2型である一方、これらと比較して重症化率

が低いO111、O91、O26、O103ではStx1型が多い傾向がある。しかしながら、EHEC菌株間の病原性の強弱について詳細は不明な点が多く残されている。

IV. ゲノムからみた EHECの多様性

2001年にEHECの全ゲノム配列が明らかにされた^{16,17)}。非病原性大腸菌K-12株ゲノムとの比較から、O157 Sakai株のゲノム配列5.5 Mbのうち4.1 MbはK-12株にも共通に存在し、1.4 MbはEHEC O157 Sakai株だけに存在する特異的配列として同定された(Hayashi, et al.)。両者に保存される4.1 Mbの共通配列部分では極めて高い(98.3%)相同性が示され、各遺伝子の順序も保存されていることから、大腸菌染色体の基本骨格と考えられる¹⁷⁾。大腸菌染色体基本骨格上の至る所にSakai株およびK-12の特異配列が存在する。菌株特異的配列の多くは外来性のDNAと考えられ、Sakai株においては多くの病原因子遺伝子をコードしている。加えて、Sakai株染色体上には24種類のプロファージあるいはプロファージ様配列が存在し、Sakai株特異的配列の約60%(855 kb/1,393 kb)を占める¹⁷⁾。これらの比較解析の結果からは、図2に示すような大腸菌の進化の過程が見えてくる。すなわち共通の祖先大腸菌は、菌株特異的な外来性遺伝子を獲得することで病原性の面では大きく異なる2つの大腸菌が誕生したと考えられる。

多くのファージ様配列を獲得してきたことに加え、O157:H7の成立過程においてファージの多様化が進行してきたことが推

測されている。実際に現在単離される O157:H7 菌株には遺伝的多様性が存在する^{18~20)}。全ゲノムPCRスキニングの結果からは、ファージに関連する領域に大きな多様性が存在し、それぞれの菌株がもつファージが非常に多様であることが示唆された。O157の菌株間でもこのような大きな多様性が認められたことは、O157菌株が1つの系統として独立した後にもダイナミックに変化していることを示唆するものである。

EHECには異なる血清型を示す菌株が存在するが、系統解析の結果から血清群 O157とO26およびO111とは異なる系統に属することが知られている²¹⁾。異なる系統の菌株において、それぞれ共通の病原因子が獲得されて同様の病原性をもつ病原菌が形成されてきたと考えられている。異なる血清型のEHEC菌株の全ゲノム配列決定とそれらの比較解析から、異なる系統で独立してEHECが病原性を獲得してきた様子(並行進化)が明確に示されている²²⁾。

EHECの病原性に重要な2つの病原因子(志賀毒素遺伝子およびLEE領域)も水平伝播によって獲得された外来性の因子である。2種類の志賀毒素遺伝子(*stx1*, *stx2*)遺伝子はそれぞれ入ファージ様のゲノム上にコードされ、ファージを介して伝播する。EHECの毒素型の多様性は、いずれのファージが感染しているかで規定されている。さらに志賀毒素遺伝子をコードするファージは挿入部位においても多様である。さまざまな血清型のEHECの解析からStx1ファージでは6カ所、Stx2ファージでも6カ所の挿入部位が知られている²³⁾。同一血清群の菌株であってもStxファージ挿入部位には多様性が認められている。

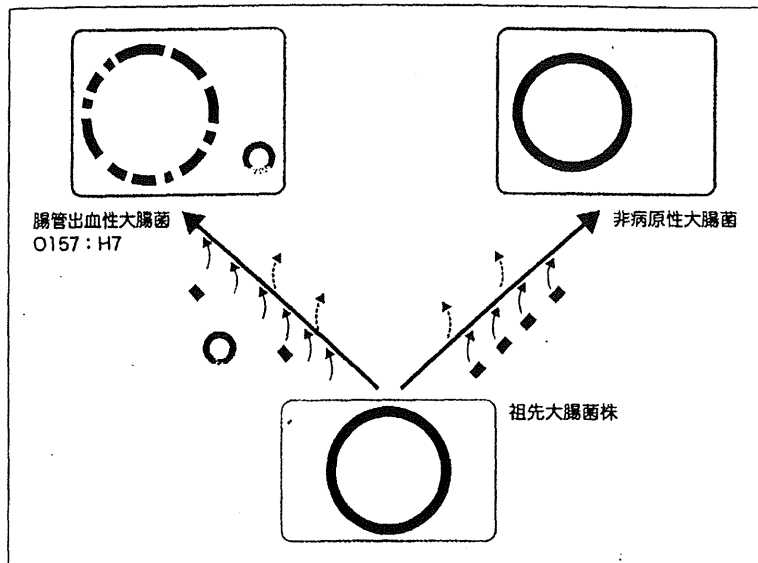


図2 大腸菌の多様性形成—腸管出血性大腸菌ゲノムの成立過程

祖先菌株が、系統・菌株特異的なDNA断片を外来から獲得し染色体に挿入、あるいはプラスミドを獲得する(実線矢印)ことで現在の大腸菌のゲノムが形成されてきたことが推測される。病原大腸菌はそれぞれの病原性を特徴づける病原因子(O157の場合はLEE, *stx1*, *stx2*遺伝子等)を獲得してきたと考えられる。また菌株特異的な脱落(破線矢印)も進化の過程で起きてきたことも推測されている。

LEE領域のゲノム上での挿入位置も少なくとも3カ所知られており、異なる系統の菌株でその挿入位置が異なる^{21, 23)}。

V. 腸管出血性大腸菌の病原因子

さまざまな血清群に属する腸管出血性大腸菌が存在するが、いずれも経口摂取されたのち大腸に到達し、腸管細胞への強固な定着と志賀毒素を産生することが重要な病原性発現機構となる。

1. 志賀毒素

志賀毒素は赤痢菌 *Shigella dysenteriae* 血清型1の産生するタンパク質性毒素として見出され、基本的な性状については OlitskyとKliglerによって報告されている²⁴⁾。大腸菌が産生する腸管毒性をもつタンパク質性毒素として易熱性毒素(heat-labile toxin; LT)が知られていたが、それとは異なる毒素が、Vero細胞に対する毒性を指標に報告された²⁵⁾。この大腸菌のVero細胞毒性は赤痢菌が産生する志賀毒素に対する抗体によって中和された²⁶⁾。さらに、EHEC O157:H7 933株の詳細な解析から、機能

PCRスキニング

PCRスキニング法とは、体系的にPCRを行い類似ゲノムの遺伝子構成を比較解析する方法である。基準株のDNA配列情報をもとにPCRプライマーを設計し、基準株と解析対象株のゲノムDNAを鋳型にPCR反応を行う。続いてPCR増幅産物の有無と基準株とのサイズの相違から、多様性部位を検出していく方法である。

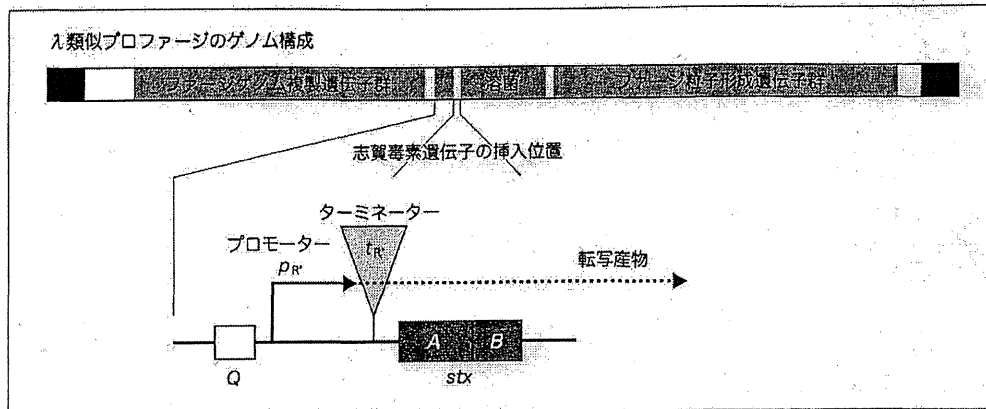


図3 抗転写終結因子Qによるstx遺伝子とファージ後期遺伝子の共役発現機構
志賀毒素遺伝子はファージの溶菌ステップに必要な遺伝子群内に挿入されている。ファージの生活環が溶菌サイクルに進み、抗転写終結因子Qが合成されると、Qの作用によって、プロモーター p_R から始まる転写反応が修飾され、すぐ下流に位置するターミネーター t_R において、転写終結を阻害し、stx遺伝子とファージ後期遺伝子の共役発現が起こる。

Stx1およびStx2

精製Stx2毒素の半数致死量(LD50)は1 ng/マウス程度(50 ng/kg)とされ、Stx1の400 ng/マウスよりも数百倍強力であることが、Teshらによって報告されている。

的に類似の毒素が2つ存在することが示され、一方は志賀毒素と抗原性として区別ができないものであり、他方は異なる抗原性を示すことが明らかになった²⁷⁾。現在ではStx1およびStx2とそれぞれ呼ばれるものである。毒素活性はいずれも志賀毒素と同様であり、宿主細胞のタンパク質合成阻害により毒性を発揮する。リボソームRNAの特定のアデノシンの糖鎖を切断することで蛋白質合成が阻害され、細胞毒性が発揮される^{28, 29)}。

Stx1およびStx2の細胞傷害機構は同一であるが、ヒト腎臓由来内皮細胞に対するStx2の傷害活性はStx1に比して1,000倍程度強いことが知られている³⁰⁾。さらに、マウスの感染モデルを用いた解析からStx2産生菌においてのみ致死活性が認められ³¹⁾、精製毒素を用いたマウス致死活性においてもStx2はStx1より毒性が強いとされる³²⁾。Stx2産生性がEHEC感染における重症化に関連していると考えられている³³⁾。

毒素遺伝子は入ファージに類似のファージにコードされている。これらのファージは抗菌剤や紫外線などのDNAに損傷を与える刺激によって溶菌サイクルへと移行し、水平伝播が可能なファージ粒子を合成する。stxはファージゲノム上においてファージの誘発に必要な後期遺伝子群の上流に位置する(図3)。 p_R プロモーターから開始される転写反応は、抗転写終結因子Qの作用によって t_R ターミネーターにおける停止が阻害される。その結果、ファージの溶菌蛋白質や形

態形成蛋白質の合成と共役してStxの発現が行われる³⁴⁾。

2. 細胞付着性

EHECの細胞付着性はEPECと同様の機構であることが知られるようになり、EHECはEPECが志賀毒素産生性を獲得したことで特有の病原性を発揮するようになったと考えることができる。EHECの細胞付着性は、そのプロトタイプと考えられているEPECの細胞付着性機構と比較することが重要である。EPECの細胞付着性は初期接着と強固な接着(intimate adhesion)と呼ばれる2つの付着機構で説明されている。EPECの初期接着は束状線毛(bundle forming pili; Bfp)と呼ばれるType IV線毛の宿主細胞との相互作用により成立すると考えられている³⁵⁾。また、強固な接着には初期接着後にLBB(locus of enterocyte effacement)と呼ばれる染色体上に存在する遺伝子群にコードされる特異的な蛋白質輸送装置(Type 3 protein secretion system; T3SS)が必要である。この強固な接着が成立する際には、菌の接着部分におけるアクチン線維の蓄積など細胞骨格系蛋白質の再構成による台座様構造の形成が起こる。この現象はattaching and effacing lesion(A/E傷害)と呼ばれる³⁵⁾(図4)。

EPECに存在するType IV線毛をコードするプラスミド(EPEC adhesion factorプラスミド; EAFプラスミド)はEHECには存在せ

ず、EHECの初期接着の機構は不明な点が多い。一方で、EPEC同様にLEE遺伝子群は多くのEHECが保有しており、EHECの腸管細胞への強固な付着に関与していると考えられている。

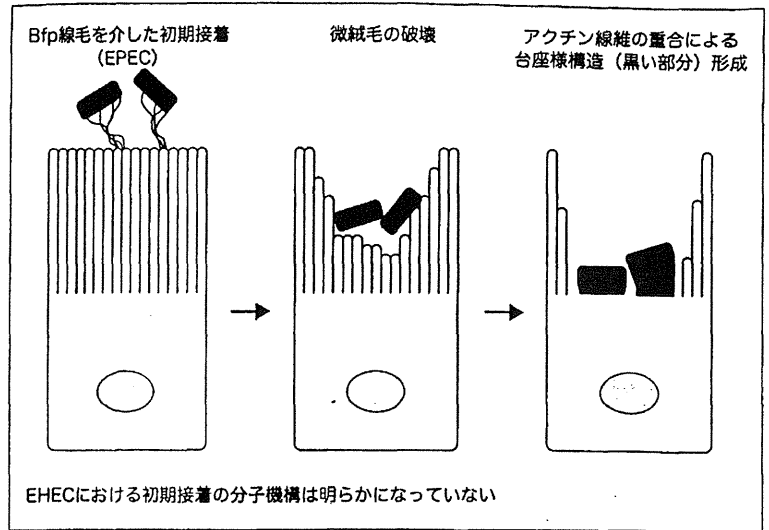


図4 EPEC/EHECによるA/E傷害形成の模式図

LEE 依存性の接着機構

LEE は大きく分けて5つの転写単位 (LEE1-LEE5オペロン) から構成され、T3SSを介して菌体外や宿主細胞へ局在する分泌性蛋白質 (宿主作用因子)、シャペロン、接着因子 (Intimin)、Intiminレセプター (Tir)、およびこれらの発現を統括的に調節する発現制御因子などをコードする約40個の遺伝子が含まれる (図5)^{35, 36)}。

初期接着の後、LEEにコードされる特異的なT3SSを介して菌体外へ分泌された作用因子が宿主細胞内に局在化し、これらの機能によってA/E傷害が引き起こされる³⁵⁾。その詳細は他の総説を参考にされたい。

LEE依存性の接着機構における菌側の接着因子は、LEEにコードされる外膜蛋白質 Intiminが担う。Intiminに対する宿主細胞側の受容体はLEEにコードされる宿主作用因子である Tirである。受容体 TirはEHECにおいて産生されたのち、T3SSによって宿主細胞膜に局在化する。宿主細胞に局在化した TirはIntiminのレセプターとして機能し、その結果強固な接着 (intimate adhesion) が起こる³⁵⁾。

TirのようなT3SSで分泌され宿主細胞内に輸送される宿主作用因子は数多く存在する。EHEC O157 Sakai株のゲノム配列情報から、約60程度の宿主作用因子が存在することが示唆された。その中で39の蛋白質が実験的に宿主細胞内に輸送されること

が示された³⁷⁾。興味深い点は、T3SSを介して菌体外へ分泌される蛋白質はLEE領域にコードされている因子ばかりでなく、染色体の他の領域にコードされている因子が存在することである。さらに、LEE領域の発現制御因子が、LEE領域以外の遺伝子の発現制御にも関与していることもEHECの病原性の確立の複雑さを示唆する。

5つのオペロンから構成されているLEE遺伝子群は (図5) 統合された発現調節を受けている。LEEは富栄養条件下ではその発現が顕著に抑制される一方、腸管内の環境に近い条件下で発現誘導が起こることが知られており、この現象にはいくつかの調節遺伝子が関与している。EPECでは上述したEAFプラスミド上に *perABC* (または *bfpTVW*) と呼ばれる転写活性化遺伝子群を保有し、これらが種々の環境シグナルによって発現レベルを変化させ、その結果 Ler (LEE1 オペロンにコードされる転写活性化因子) を介した LEE の発現制御を行っている (図6)³⁵⁾。一方、EHECにはEAFプラスミドは存在せず、EPECとは異なる経路を介してLEEの発現を制御している。EHECではLEE発現を上昇させる因子として、EPECの *perC* と相同性の高い遺伝子がEHEC染色体上に複数存在することが見出された。このうち3つのホモログ *pchA*, *pchB*, *pchC* (*perC* homologue A/B/C) が Ler を介してLEEの

作用因子 (エフェクター)

Type 3 蛋白質輸送装置 (T3SS) により分泌されるタンパク質。T3SSに特徴的なニードル構造を介して宿主細胞内に直接分泌され、感染成立に関与する多様なタンパク質を指す。

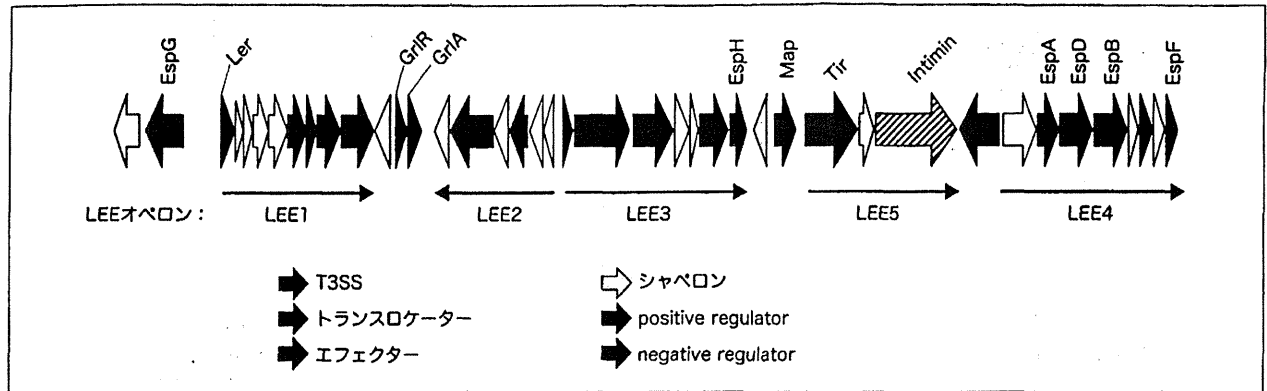


図5 LEE (locus of enterocyte effacement) の遺伝子構成

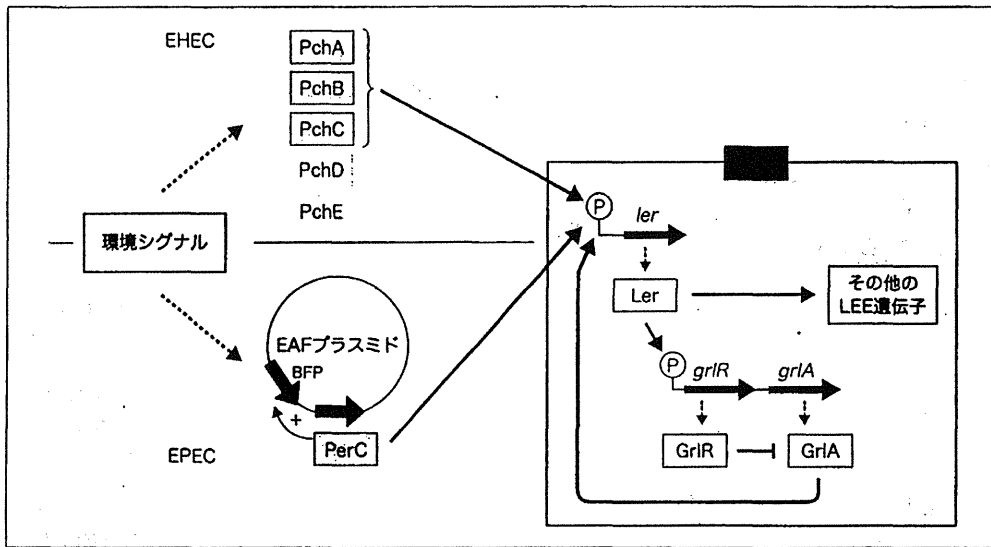


図6 LEEの発現制御

LEEの発現制御機構を簡略化して示した。種々の環境シグナルに反応してEPECではEAFプラスミド上の *per* 遺伝子群が、EHECでは染色体上の *pch* 遺伝子群が発現量を変化させる結果、Ler、GrlR-GrlA制御系を介してLEEの発現制御を行っていると考えられる。

べん毛遺伝子群

細菌の運動器官であるべん毛は菌体外に伸び出たらせん状の線維、膜に埋め込まれた基体、およびそれらをつなぐフックから構成されている。10を超えるタンパク質の高次構造体である。その形態形成や機能発現には50~60の遺伝子の機能が必要であり、これらの遺伝子は染色体上でいくつかのオペロンを形成している。これらのべん毛遺伝子の発現は階層性をもって、統合的に転写制御を受けている。べん毛レギュロンとは統合的な転写制御を受ける遺伝子の集合体。III型蛋白質輸送装置はべん毛と構造的に類似しており、その起源は同一であると考えられている。

発現を活性化させ、LEE発現のマスターレギュレーターとして機能している(図6)³⁸⁾。PchAおよびPchBは非病原性の大腸菌にも共通して存在する転写制御因子LrhAによってさらに発現が調節されており、種々の環境シグナルにตอบสนองしたLEEの発現調節に関与している可能性が示唆されている³⁹⁾。また、大腸菌に共通して存在するATP依存性プロテアーゼ複合体ClpXPはLEEにコードされる負の発現制御因子GrlRの細胞内濃度を制御することでLEEの遺伝子発現を正に制御していると考えられている(図7)⁴⁰⁾。

LEE以外の遺伝子がLEE発現制御に関与している一方で、LEEにコードされている転写制御因子GrlAによってLEE以外の遺伝子が制御されているケースがある(図7)。その一例として、LEEとべん毛遺伝子群の

遺伝子発現はGrlAによって互いに反対方向に調節されている。すなわち、LEEの正の転写制御因子であるGrlAはべん毛レギュロンのマスターオペロン *flhD* の転写発現を抑制することでべん毛レギュロン全体を抑制している⁴¹⁾。このような制御システムは、べん毛構成タンパク質(フラジェリン)が宿主の自然免疫系の活性化因子であること^{42, 43)}、細菌のエネルギー消費を効率化することからも、感染成立のための菌側の重要な戦略の1つであると考えられる。

大腸菌が水平伝播によって遺伝子を外来性に獲得することが、病原性の確立に重要である。しかしながら、単なる遺伝子の獲得だけではなく、既存の転写制御ネットワークと外来性遺伝子群の転写制御ネットワークとの統合が感染成立のために重要である

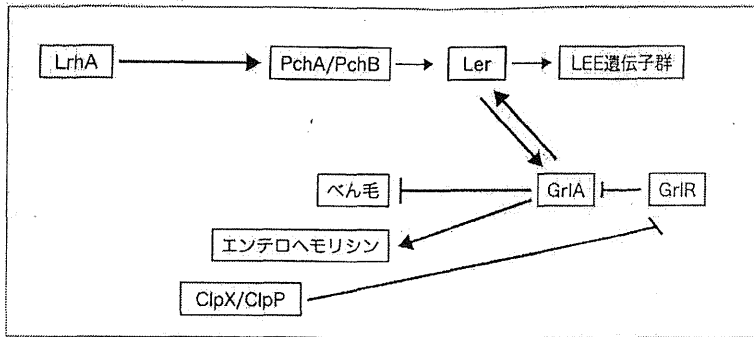


図7 LEEの発現制御

染色体上の異なる位置にコードされるPchABCは*ler*の転写活性化を介してLEE全体の発現制御を行うマスターレギュレーターとして機能する。Lerは大部分のLEE遺伝子の転写発現を活性化する。GriAは*ler*の転写を活性化することで自身の発現上昇を行う(positive autoregulation)とともに、べん毛レギュロンおよびエンテロヘモリシンの転写発現をそれぞれ負および正に制御する。ClpXPプロテアーゼ複合体はRpoSおよびGriRの細胞内量をコントロールすることによってLEEの発現を制御している。LEEの発現制御にはこの他にも多数の因子が関与している。

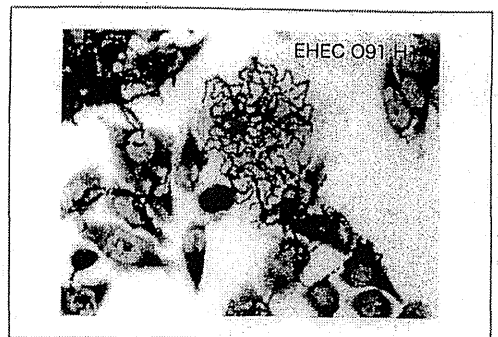


図8 LEE非保有型EHECに見出されたchain-like adhesion

と考えられる。

LEE以外の付着因子

日本国内で分離されるEHEC O157, O26, O111の菌株のほとんどすべてがLEE領域を保有している⁴⁴⁾。このような典型的なEHECもLEE以外の付着因子を保有しており、病原性に関与していることが示唆されているが、その詳細は不明である^{45~47)}。一方で、LEEを保有しないEHECも多くの感染事例に関与していることが知られている。2011年ドイツを中心として発生した大規模な集団食中毒事例の原因菌(O104:H4)はLEEを保持しない非典型的なEHECであったことから、LEE以外の付着因子とその病原性への関与について注目が集まっている。ドイツにおける大規模食中毒事例株であるO104:H4株は、凝集性繊毛の1つAAF/I (aggregative adherence fimbriae I)を付着因子として利用している^{48, 49)}。AAF/IはEAggECの付着因子として知られており、EAggECに*stx*毒素遺伝子がファージの感染により付与されたことが示唆された。すなわち、ドイツでの流行株はEHECとEAggECのハイブリッド型と考えられる。同様なハイブリッド型の国内例として、1999年にHUS患者由来のEHEC(血清型O86:HNM)がAAF/Iを保持していることが報告されている⁵⁰⁾。

このほか、LEE非保有型の非典型的なEHECではSaa⁵¹⁾あるいはEibG⁵²⁾などが付

着因子として機能している可能性が示されている。EibGは培養細胞に対する接着形態が「鎖をつないだ」ような接着パターン(図8)を示し、分布解析からEibGはLEE非保有型のEHECでSaa非保有株にのみ存在する。また、ヨーロッパでの分離菌株においてもLEE非保有型のEHECの15%がEibGを保持することが示されている⁵³⁾。LEEを保有しない非典型的なEHECのAAF/Iをはじめとする付着因子の病原性への関与を解析するとともに、その発生動向にも注意が必要である。

おわりに

出血性腸炎を主体とする病態を惹起するEHECの存在が明らかになってから30年が経過した。EPECと共通の病原因子であるLEEによる細胞付着性をもつ典型的なEHEC以外に、LEE非依存性の細胞接着性をもつ非典型的なEHECの存在が明らかにされてきた。病原因子の水平伝播によって、新たな病原因子の組み合わせによる新規の病原型の大腸菌が成立する可能性が実際に示されてきている。一方で、水平伝播で新規に獲得された病原因子の発現は既存の制御ネットワークとの統合が必要であることがLEE遺伝子群の転写制御システムで明らかにされている。動物モデルによる病原性の評価、転写制御ネットワークと総合的な理解が重要である。

参 考 文 献

- 1) Pupo GM, Karaolis DK, Lan R, *et al.* Evolutionary relationships among pathogenic and nonpathogenic *Escherichia coli* strains inferred from multilocus enzyme electrophoresis and *mdh* sequence studies. *Infect Immun* 1997; 65: 2685-92.
- 2) Taylor J, Wilkins MP, Payne JM. Relation of rabbit gut reaction to enteropathogenic *Escherichia coli*. *Br J Exp Pathol* 1961; 42: 43-52.
- 3) Sakazaki R, Tamura K, Saito M. Enteropathogenic *Escherichia coli* associated with diarrhea in children and adults. *Jpn J Med Sci Biol* 1967; 20: 387-99.
- 4) Ogawa H, Nakamura A, Sakazaki R. Pathogenic properties of "enteropathogenic" *Escherichia coli* from diarrheal children and adults. *Jap J Med Sci Biol* 1968; 21: 333-49.
- 5) Rowe B, Taylor J, Bettelheim KA. An investigation of travellers' diarrhoea. *Lancet* 1970; 1: 1-5.
- 6) Gorbach SL. Acute diarrhea - a "toxin" disease? *N Engl J Med* 1970; 283: 44-5.
- 7) DuPont HL, Formal SB, Hornick RB, *et al.* Pathogenesis of *Escherichia coli* diarrhea. *N Engl J Med* 1971; 285: 1-9.
- 8) Guerrant RL, Moore RA, Kirschenfeld PM, *et al.* Role of toxigenic and invasive bacteria in acute diarrhea of childhood. *N Engl J Med* 1975; 293: 567-73.
- 9) Ryder RW, Wachsmuth IK, Buxton AE, *et al.* Infantile diarrhea produced by heat-stable enterotoxigenic *Escherichia coli*. *N Engl J Med* 1976; 295: 849-53.
- 10) Cantey JR, Blake RK. Diarrhea due to *Escherichia coli* in the rabbit: a novel mechanism. *J Infect Dis* 1977; 135: 454-62.
- 11) Ulshen MH, Rollo JL. Pathogenesis of *Escherichia coli* gastroenteritis in man - another mechanism. *Engl J Med* 1980; 302: 99-101.
- 12) Cravioto A, Gross RJ, Scotland SM, *et al.* An adhesive factor found in strains of *Escherichia coli* belonging to the traditional infantile enteropathogenic serotypes. *Curr Microbiol* 1979; 3: 95-9.
- 13) Nataro JP, Kaper JB, Robins Browne R, *et al.* Patterns of adherence of diarrheagenic *Escherichia coli* to HEp-2 cells. *Pediatr Infect Dis J* 1987; 6: 829-31.
- 14) Riley LW, Remis RS, Helgerson SD, *et al.* Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *N Engl J Med* 1983; 308: 681-5.
- 15) Karmali MA, Steele BT, Petric M, *et al.* Sporadic cases of hemolytic uremic syndrome associated with fecal cytotoxin and cytotoxin-producing *Escherichia coli* in stools. *Lancet* 1983; 1: 619-20.
- 16) Perna NT, Plunkett G 3rd, Burland V, *et al.* Genome sequence of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Nature* 2001; 409: 529-33.
- 17) Hayashi T, Makino K, Ohnishi M, *et al.* Complete genome sequence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 and genomic comparison with a laboratory strain K-12. *DNA Res* 2001; 8: 11-22.
- 18) Kim J, Nletfeldt J, Benson AK. Octamer-based genome scanning distinguishes a unique subpopulation of *Escherichia coli* O157:H7 strains in cattle. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 13288-93.
- 19) Ohnishi M, Terajima J, Kurokawa K, *et al.* Genomic diversity of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 revealed by whole genome PCR scanning. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 17043-8.
- 20) Manning SD, Motiwala AS, Springman AC, *et al.* Variation in virulence among clades of *Escherichia coli* O157:H7 associated with disease outbreaks. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 4868-73.
- 21) Reid SD, Herbelin CJ, Bumbaugh AC, *et al.* Parallel evolution of virulence in pathogenic *Escherichia coli*. *Nature* 2000; 406: 64-7.
- 22) Ogura Y, Ooka T, Iguchi A, *et al.* Comparative genomics reveal the mechanism of the parallel evolution of O157 and non-O157 enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009; 106: 17939-44.
- 23) Ogura Y, Ooka T, Asadulghani, *et al.* Extensive genomic diversity and selective conservation of virulence-determinants in enterohemorrhagic *Escherichia coli* strains of O157 and non-O157 serotypes. *Genome Biol* 2007; 8: R138.
- 24) Olitsky PK, Kligler IJ. Toxins and antitoxins of *Bacillus dysenteriae* Shiga. *J Exp Med* 1920; 31: 19-33.
- 25) Konowalchuk J, Speirs JJ, Stavríc S. Vero response to a cytotoxin of *Escherichia coli*. *Infect Immun* 1977; 18: 775-9.
- 26) O'Brien AD, LaVeck GD, Thomson MR, *et al.* Production of Shigella dysenteriae type-1 like cytotoxin by *Escherichia coli*. *J Infect Dis* 1982; 146: 763-9.
- 27) Stroekbine NA, Marques LRM, Newland JW, *et al.* Two toxin converting phages from *Escherichia coli* O157:H7 strain 933 encode antigenically distinct toxins with similar biological activities. *Infect Immun* 1986; 53: 135-40.
- 28) 遠藤弥重太. 病原性大腸菌O157の毒素. 蛋白質・核酸・酵素 1997; 42: 652-8.
- 29) Sandvig K. Shiga toxins. *Toxicon* 2001; 39: 1629-35.
- 30) Louise CB, Obrig TG. Specific interaction of *Escherichia coli* O157:H7-derived Shiga-like toxin II with human renal endothelial cells. *J Infect Dis* 1995; 172: 1397-401.
- 31) Wadolkowski EA, Sung LM, Burriss JA, *et al.* Acute renal tubular necrosis and death of mice orally infected with *Escherichia coli* strains that produce Shiga-like toxin type II. *Infect Immun* 1990; 58: 3959-65.
- 32) Tesh VL, Burriss JA, Owens JW, *et al.* Comparison of the relative toxicities of

- Shiga-like toxins type I and type II for mice. *Infect Immun* 1993 ; 61 : 3392-402.
- 33) Boerlin P, McEwen S, Boerlin-Petzold F, *et al.* Associations between virulence factors of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and disease in humans. *J Clin Microbiol* 1999 ; 37 : 497-503.
- 34) Neely MN, Friedman DI. Functional and genetic analysis of regulatory regions of coliphage H-19B: location of shiga-like toxin and lysis genes suggest a role for phage functions in toxin release. *Mol Microbiol* 1998 ; 28 : 1255-67.
- 35) Frankel G, Phillips AD, Rosenshine I, *et al.* Enteropathogenic and enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: more subversive elements. *Mol Microbiol* 1998 ; 30 : 911-21.
- 36) Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev* 1998 ; 11 : 142-201.
- 37) Tobe T, Beatson SA, Taniguchi H, *et al.* An extensive repertoire of type III secretion effectors in *Escherichia coli* O157 and the role of lambdoid phages in their dissemination. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006 ; 103 : 14941-6.
- 38) Iyoda S, Watanabe H. Positive effects of multiple *pch* genes on expression of the locus of enterocyte effacement genes and adherence of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 to HEp-2 cells. *Microbiology* 2004 ; 150 : 2357-71.
- 39) Honda N, Iyoda S, Yamamoto S, *et al.* LrhA positively controls the expression of the locus of enterocyte effacement genes in enterohemorrhagic *Escherichia coli* by differential regulation of their master regulators PchA and PchB. *Mol Microbiol* 2009 ; 74 : 1393-411.
- 40) Iyoda S, Watanabe H. ClpXP protease controls expression of the type III protein secretion system through regulation of RpoS and GrlR levels in enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 2005 ; 187 : 4086-94.
- 41) Iyoda S, Koizumi N, Satou H, *et al.* The GrlR-GrlA regulatory system coordinately controls the expression of flagellar and LEE-encoded type III protein secretion systems in enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 2006 ; 188 : 5682-92.
- 42) Hayashi F, Smith KD, Ozinsky A, *et al.* The innate immune response to bacterial flagellin is mediated by Toll-like receptor 5. *Nature* 2001 ; 410 : 1099-103.
- 43) Zhou X, Giron JA, Torres AG, *et al.* Flagellin of Enteropathogenic *Escherichia coli* stimulates interleukin-8 production in T84 cells. *Infect Immun* 2003 ; 71 : 2120-9.
- 44) 伊豫田淳, 田村和満, 伊藤健一郎, 他. LEE遺伝子群非保有型志賀毒素産生性大腸菌に存在する病原性遺伝子の解析. *日本細菌学会誌* 2003 ; 58 : 181.
- 45) Batisson I, *et al.* Characterization of the novel factor Paa involved in the early steps of the adhesion mechanism of attaching and effacing *Escherichia coli*. *Infect Immun* 2003 ; 71 : 4516-25.
- 46) Tarr PI, Bilge SS, Vary JC Jr, *et al.* Iha: a novel *Escherichia coli* O157:H7 adherence-conferring molecule encoded on a recently acquired chromosomal island of conserved structure. *Infect Immun* 2000 ; 68 : 1400-7.
- 47) Nicholls L, Grant TH, Robins-Browne RM, *et al.* Identification of a novel genetic locus that is required for in vitro adhesion of a clinical isolate of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* to epithelial cells. *Mol Microbiol* 2000 ; 35 : 275-88.
- 48) Scheutz F, Nielsen EM, Frimodt-Møller J, *et al.* Characteristics of the enteroaggregative Shiga toxin/verotoxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 strain causing the outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany, May to June 2011. *Euro Surveill* 2011 ; 16 : pii : 19889.
- 49) Rasko DA, Webster DR, Sahl JW, *et al.* Origins of the *E. coli* strain causing an outbreak of hemolytic-uremic syndrome in Germany. *N Engl J Med* 2011 ; 365 : 709-17.
- 50) Iyoda S, Tamura K, Itoh K, *et al.* Inducible *stx2* phages are lysogenized in the enteroaggregative and other phenotypic *Escherichia coli* O86:HNM isolated from patients. *FEMS Microbiol Lett* 2000 ; 191 : 7-10.
- 51) Paton AW, Srimanote P, Wiidrow MC, *et al.* Characterization of Saa, a novel autoagglutinating adhesin produced by locus of enterocyte effacement-negative Shiga-toxigenic *Escherichia coli* strains that are virulent for humans. *Infect Immun* 2001 ; 69 : 6999-7009.
- 52) Lu Y, Iyoda S, Satou H, *et al.* A new immunoglobulin-binding protein, EibG, is responsible for the chain-like adhesion phenotype of locus of enterocyte effacement-negative, Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Infect Immun* 2006 ; 74 : 5747-55.
- 53) Merkel V, Ohder B, Bielaszewska M, *et al.* Distribution and phylogeny of immunoglobulin-binding protein G in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and its association with adherence phenotypes. *Infect Immun* 2010 ; 78 : 3625-36.

臨床と微生物

Clinical
Microbiology

Vol.40
NO. 2

特集 腸管感染症の最新知見

腸管感染症の最近の動向と疫学

小児における感染性胃腸炎 ー学校保健との関連を含めて

細菌性腸管感染症

細菌性赤痢, サルモネラ腸炎/コレラ, 腸炎ビブリオ感染症

下痢原性大腸菌感染症/カンピロバクター腸炎

クワイフィシル菌関連下痢症 (CDAD)

ウイルス性腸管感染症

ロタウイルス胃腸炎/ノロウイルス下痢症

アデノウイルス胃腸炎

寄生虫性腸管感染症

クリプトスポリジウム症, イソスポーラ症, ジアルジア症, 赤痢アメーバ症

クドア食中毒, フェイヤー住肉胞子虫食中毒

感染症:現状の問題点と未来への展望 *Helicobacter pylori* の病原因子

話題 NHCAPについて

Roots & Routes 冬に注目される感染症

感染症からみたModern Nursing 感染症教育, 特に性感染症教育のUp to date

近代出版

腸管感染症の 最近の動向と疫学

OHNISHI MAKOTO

大西 真

●国立感染症研究所細菌第一部

要旨 感染症法に規定されている腸管感染症について、発生動向調査の概要を紹介した。本邦においては水系感染のリスクは改善されているが、輸入感染症・食系感染症として、さらにはヒト-ヒト感染（飲食を介した間接的なものも含む）として動向に注意していく必要がある。

はじめに

腸管感染症は、世界的には肺炎、HIV/AIDSに次いで死亡者の多い疾患とされる。原因となる微生物、患者の年齢、基礎的な健康状態等によって、その生命予後は大きく異なる。汚染された水、食品による食水系感染に加えて、直接的なヒト-ヒト感染ルートも存在する。上下水道整備等の社会基盤の充実、食品流通・調理過程での衛生管理、手指衛生管理などの総合的な対策が重要である。

■腸管感染症

細菌やウイルスなどの病原体が経口的に侵入し、急性的に下痢・嘔吐・腹痛などの腸管症状を呈する疾患群を指す。汚染された飲水を原因とする水系感染の場合には患者数は多くなる。また、汚染された食材の摂取も主要な原因である。

水電解質代謝の恒常性は生体の内部環境維持のなかで最も重要な位置を占める。腸管感染症による激しい下痢、嘔吐により、水分喪失量の増大とそれに見合う水分が摂取されないことで、水電解質の恒常性が破綻する危険性がある。水分の補給、

電解質異常の補正が適切に行われないと生命の危険を招く。特に小児は水電解質異常から受ける影響は強く、腸管感染症においても小児の生命予後が最も重要な課題である。また、高齢者においても腸管感染症がしばしば生命予後に直接的あるいは間接的に影響する。

WHOとUNICEFによる推定によると¹⁾、世界全体では2010年の5歳未満の小児の人口は2000年に比べて300万人増加している一方で、死亡する小児の数は963万人から762万人へ大きく減少に転じた。感染症を原因とする死者は64%（488万人）を占め、その対策が最重要課題であることに変わりはない。下痢を原因とする死者数も、この10年の間に36万人減少したにもかかわらず80万人と多数存在し、肺炎を原因とする死者（140万人）に次いで2番目の多さとなる。

腸管感染症の発生動向の地域的相違は、社会的経済基盤の整備の程度に大きく影響される。上水道の整備が進むことで、水系感染の危険性が低減する。一方で、社会経済基盤の発展に伴う流通システムが革新的に変化することで、同一の汚染さ

れた食材を原因として、広い範囲で患者が発生する可能性がある(diffuse outbreak)。国内流通に限らず、国際間の活発な食材・加工食品の流通もそれぞれの地域における腸管感染症の動向に影響を与える。

■感染症法における腸管感染症の動向調査

国内において腸管感染症の動向を知るために「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律(感染症法)」における発生動向調査が実施されている²⁾。

1. 三類感染症

感染症法では三類感染症として、コレラ、細菌性赤痢、腸管出血性大腸菌感染症、腸チフス、パラチフスの5つの疾患が取り扱われている。これらの疾患では、診断した医師は全例を届出する義務がある。患者ならびに無症状病原体保有者の届出により、都道府県知事は感染症を公衆にまん延させるおそれがある業務への就労制限を通知することになっている。

1) コレラ

コレラはコレラ菌の経口感染による水様性下痢を主徴とする腸管感染症で、コレラ毒素(CT)産生性のO1血清群およびO139血清群のコレラ菌による感染と定義される³⁾。

国内においては、2000年以降100以下の報告数で推移している(図1A)。2012年の報告数は3例(速報値)ときわめて少なかった。

日本におけるコレラは、推定感染地域にかかわらず、成人例がほとんどである。2006~2010年間のコレラ患者の解析では、20歳未満の患者は118例中3例(2.5%)に過ぎない。多くは海外で感染する輸入感染症であり、主な推定感染地はインド、フィリピン等である。国内発生は疫学的な関連がみられない散発事例が多く、原因施設・食材等が不明であることが多い。まれに国内飲食店が原因施設となる食中毒事例があるが⁴⁾、原因食材の解明は困難であることが多い。輸入食品と

の関連について今後さらに詳細な調査が必要である。

2) 細菌性赤痢

細菌性赤痢は赤痢菌による、腹痛、しぶり腹(テネスマス)、膿粘血便などの赤痢症状と呈する急性感染性大腸炎である。細菌性赤痢の原因となる赤痢菌は4種(*Shigella dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. boydii* および *S. sonnei*)で構成されるが、本邦では*S. sonnei*による細菌性赤痢が全体の約75%を占める⁵⁾。

細菌性赤痢の報告数は2000年以降漸減し、近年は200~300例程度の報告数であり(図1B)、2012年の報告数は213となっている(速報値)。

患者の年齢分布をみると、若年成人にピークがみられ、20歳未満よりも成人の感染例が多い。全体の70%を占める海外渡航と関連する輸入感染症例で、成人例に偏る傾向が顕著である。輸入感染症の推定感染地域はインド、インドネシア、中国、ベトナムなどのアジア諸国が多い。国内感染例のなかでは散発例とともに、飲食施設を原因とする食中毒、保育園での集団事例の報告も存在する。

2011年には単一の医療機関で短期間(3カ月)に5名の男性HIV患者が細菌性赤痢と診断されたことが報告された⁶⁾。各症例間に疫学的な関連性は明白ではないが、海外では男性同性愛者のコミュニティのなかでの集団事例が報告されていることから、国内においても予防啓蒙活動等が必要である。

3) 腸チフス、パラチフス

腸チフス、パラチフスはそれぞれチフス菌(*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhi)、パラチフスA菌(*S. enterica* subsp. *enterica* serovar Paratyphi A)によって起こる局所の腸管病変と細網内皮系での菌の増殖による菌血症を特徴とする感染症である。その他のサルモネラ属菌による感染症とは区別される。チフス菌、パラチフスA菌以外にもヒトにチフス様症状を起こすサルモネラ属菌(*S. Sendai*, *S. Paratyphi B*,

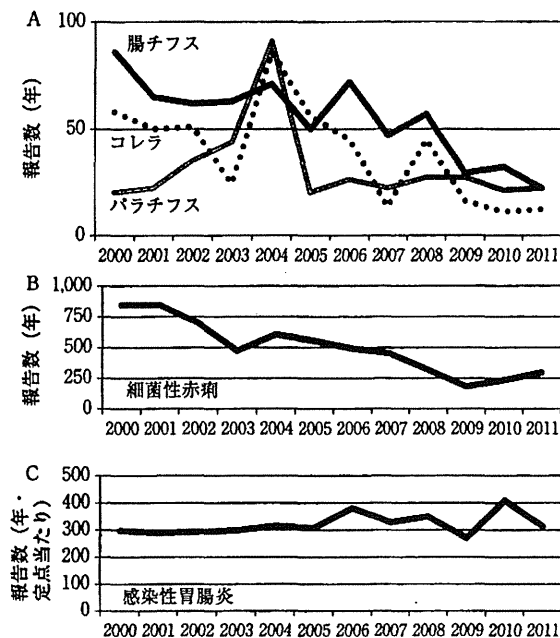


図1 本邦におけるコレラ、腸チフス、パラチフス、細菌性赤痢、感染性胃腸炎の発生動向
 感染症における三類感染症（全数把握）であるコレラ、腸チフス、パラチフス（A）、細菌性赤痢（B）の報告数および五類感染症（小児科定点把握）である感染性胃腸炎（C）の定点当たり報告数の2000～2011年における推移を示した。

S. Paratyphi C)もあるが、我が国ではこれらの感染症はサルモネラ症として扱われている⁷⁾。

腸チフス、パラチフスともに年間報告数は2000年以降100例以下で推移している（図1A）。2012年は腸チフスが35、パラチフスが23の報告があった。

本邦では成人の感染例が90%程度を占める。感染例の多く（80～90%）が海外渡航と関連する症例である。推定感染地はインド亜大陸、アジア各国が多くを占める。インド亜大陸からの輸入例においてニューキノロン系に対して低感受性あるいは耐性を示す菌の分離が増加している。有熱期間が長くなるなど、治療期間の延長を招き、さらには感染源として遷延化することにもつながる。セフトリアキソン耐性チフス菌が出現していることから⁸⁾、薬剤耐性菌の動向にも注意が必要である。

4) 腸管出血性大腸菌感染症

腸管出血性大腸菌感染症は2000年以降4,000

例前後の報告がある（図2A）⁹⁾。全体の報告数の約1/3の無症状保菌者の報告が含まれる。集団事例における積極的疫学調査、あるいは食品取扱者の健康・衛生管理のために行う検便検査からのものと考えられる。2012年の報告数は3,746（速報値）であった。

年齢分布は0～4歳、次いで5～9歳における年齢群で最も報告数が多く、これらの年齢群を含む20歳未満の群で約半数を占める。コレラ、細菌性赤痢、腸チフス、パラチフスとは異なり、その大部分が国内例である。海外渡航先での感染を疑わせる報告も年間1%前後（30～60例）存在するが、詳細な疫学解析はなされていない。韓国、中国、トルコ、インドネシア、米国への渡航との関連が疑われる症例は例年複数報告されることから、今後とも注意していく必要がある。

2012年の腸管出血性大腸菌感染症報告数を週ごとにみていくと（図2B）、ほぼ過去10年の平均週報告数（当該週とその前後5週を含む11週

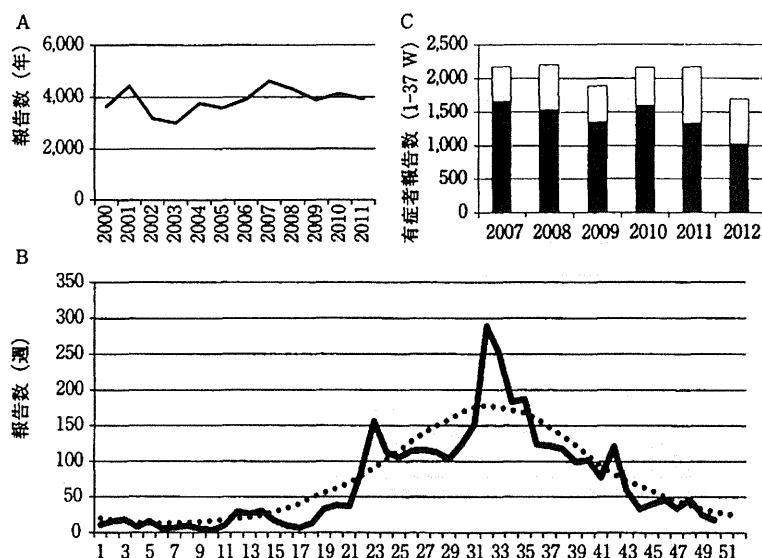


図2 腸管出血性大腸菌感染症の発生動向

- A: 感染症における三類感染症（全数把握）である腸管出血性大腸菌感染症の報告数の2000～2011年における推移を示した。
 B: 2012年の週ごとの腸管出血性大腸菌感染症報告数を示した（実線）。点線は過去10年間の当該週および前後各5週の報告数の平均値を示した。
 C: 2007～2012年に報告された腸管出血性大腸菌感染症のうち有症者数を示した。2012年は第1～37週の報告をまとめ、比較のために2007～2011年もそれぞれ第1～37週の報告数を示した。有症者数のうち腸管出血性大腸菌O157によるものを黒で、その他の血清群に属する腸管出血性大腸菌を白で示した。

の平均値)を下回る推移を示した。第23週(保育施設)、第32週(白菜浅漬けを原因とした食中毒、および複数の保育施設)、第42週(複数の保育施設)では集団事例の影響で平均値を上回る報告数のピークを形成した(図2B)。EHECは赤痢菌同様、微量の菌でも感染が成立するため、ヒトからヒトへの直接的な感染の危険性もある。特に、保育所等での集団発生が複数発生していることに今後の対策が必要である。

本年第37週までの患者(有症状者)に絞った累積報告数は、1,700例で2007年以降最も少なく、最も分離報告が多い血清群であるO157感染報告数も2012年は1,030にとどまり、過去6年間で最も少なかった(図2C)。

2011年の牛肉の生食による食中毒の発生を受けて、厚生労働省では生食用食肉の規格基準の見直しが行われ、2011年10月より告示第321号が施行された。また、2012年7月より牛レバー

(肝臓)を生食用として販売・提供することが禁止された。

2. 五類感染症(感染性胃腸炎)

五類感染症として感染性胃腸炎が定義され、全国約3,000カ所の小児科定点医療機関が届出機関として指定されている。指定届出機関は、細菌またはウイルスなどの感染性病原体による嘔吐、下痢を主症状とする感染症(届出が必要な他の腸管感染症を除く)を感染性胃腸炎と診断した場合には届出することが求められている。

感染性胃腸炎は多種多様な病原体が原因となることから、症候群サーベイランスとしての色彩が強い。細菌、ウイルス、寄生虫が本疾患の起原病原体となりうる。細菌性のもでは腸炎ビブリオ、病原性大腸菌¹⁰⁾、非チフス型サルモネラ症、カンピロバクターなど、ウイルス性のもではノロウイルス、ロタウイルス、腸管アデノウイルスなど

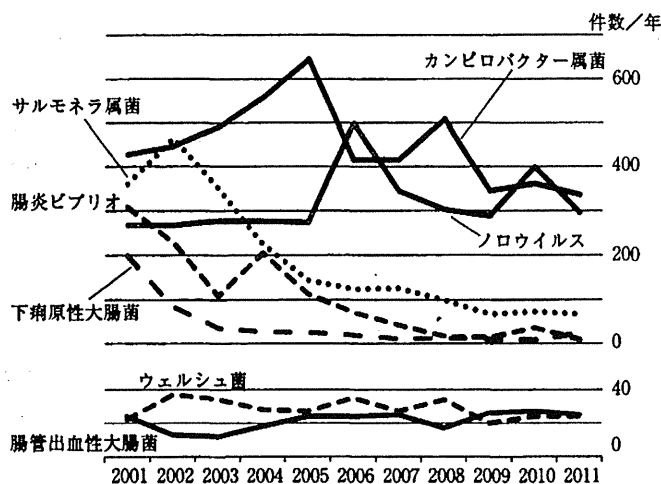


図3 食中毒統計による食中毒の年次推移

上段に、カンピロバクター属菌、サルモネラ属菌、ノロウイルス、腸炎ビブリオ、下痢原性大腸菌を、下段にウェルシュ菌、腸管出血性大腸菌を原因とする食中毒件数を示した。

*：下痢原性大腸菌は、腸管出血性大腸菌食中毒を除く他の下痢原性大腸菌食中毒件数である。

がみられる。

小児科定点当たりの報告数は、年ごとに変動がみられるが、およそ300～400の範囲で推移してきている(図1C)。報告数は例年夏期に少なく冬期に多い。ウイルス性腸管感染症の特徴を反映していると考えられ、感染性胃腸炎の発生動向調査の結果はノロウイルスをはじめとする小児ウイルス性疾患のトレンドが強く影響していると考えられる。

2012年は第42週から増加しはじめ、例年よりも多い報告数で推移している。定点当たりの報告数は392程度となり(2012年速報値)、大規模なノロウイルス感染症事例が多発していることと関連していると考えられる。

3. その他の五類に分類される腸管感染症

その他の下痢症状を起こす腸管感染症として、アメーバ赤痢¹¹⁾、ジアルジア症、クリプトスポリジウム症¹²⁾が五類全数把握疾患として感染症法に規定されている。アメーバ赤痢(腸管外アメーバ症を含む)は年間800～900例程度で、2001年に比較して倍増している。2012年速報値は925と

なっている。国内感染例が約80%を占め、男性患者が多いことが特徴的である。ジアルジア症は年間約70～80例、クリプトスポリジウム症は年間10例前後の報告がある。2012年速報値はそれぞれ71および6となっている。

■微生物が原因となる食中毒の動向

食品衛生法に基づいて厚生労働省に報告された食中毒件数を原因物質別に図3に示した。詳細は厚生労働省による食中毒統計調査を参照されたい(<http://www.mhlw.go.jp/toukei/list/112-1.html>)。2001年から2011年までの間に総件数は1,850件から1,062件へ激減し、件数の減少幅は細菌性食中毒の減少幅(1,377件から543件)に相当する。カンピロバクターおよびノロウイルスによる食中毒は、400件前後で大きな変動はみられない。サルモネラ属菌および腸炎ビブリオによる食中毒は、この10年の間にそれぞれおよそ1/5および1/30に減少した。同様に腸管出血性大腸菌以外の下痢原性大腸菌を原因とする食中毒も激減している。腸管出血性大腸菌およびウェルシュ菌による食中毒は年間20件前後で推移している。