

# 分 担 研 究 報 告 書

## ヒトの感染に關与する家畜の探索

西川 禎一

28年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

食品での新たな病原大腸菌のリスク管理に関する研究

研究者代表 工藤由起子 国立医薬品食品衛生研究所

### 分担研究報告書

### ヒトの感染に関与する家畜の探索

研究分担者 西川禎一 大阪市立大学大学院生活科学研究科

#### 研究要旨

平成27年度にETEC 0169:H41の病原プラスミドの全塩基配列を決定した。その結果、本プラスミドはRepFIIプラスミドファミリーに属するが、他のRepFIIファミリーのETECプラスミドと比較してサイズが大きく、挿入配列の割合が高くプラスミドの安定性に関する遺伝子が少ないことが明らかになった。このような特性は、本プラスミドがin vitroで容易に0169から脱落する原因になっていると推察される。しかし、0169は四半世紀に渡り主要なETECの地位を占めており、病原プラスミドを落とさない選択圧が野外では働いている。本プラスミドには、CS6、CS8-like、K88-like、以上3種類の腸管定着因子がコードされている。極めて不安定で脱落しやすいプラスミドであるにもかかわらずin vivoではよく維持されている理由として、異なる宿主に対応できる定着因子をコードし、0169の感染適応力の増強に本プラスミドが大きく寄与しているためとの仮説を立てた。3種の定着因子遺伝子を用いて組み換え用菌株TOP10を形質転換し、腸粘膜上皮細胞に対する付着性と宿主特異性をヒト、ブタ、ウシの培養細胞を用いて検討した。その結果、定着因子K88-like遺伝子で組み換えた株はヒトおよびブタの細胞に強い接着性を示した。本プラスミドは多様な宿主への感染力を0169に提供することで、野外では保持されているようだ。ETEC対策にはOne Healthも考慮した検討が必要と考えられる。

#### 研究協力者

坂 瑛里香	大阪市立大学大学院生活科学研究科	修士課程
鄭 冬明	大阪市立大学大学院生活科学研究科	修士課程
大森裕子	大阪市立大学大学院生活科学研究科	修士課程
中臺枝里子	大阪市立大学大学院生活科学研究科	准教授
麻生 久	東北大学大学院農学研究科	教授
Weiping Zhan	カンザス州立大学獣医学研究科	教授

## A. 目的

大腸菌(*Escherichia coli*) は、恒温動物の腸内に広く分布しており、ヒトにおいても出生と同時に腸管内へと急速に広がり常在菌として定着する(1)。しかしながら、大腸菌の一部には特殊な病原因子によって人に下痢症を起こすものがあり、行政的には病原大腸菌、学術的には下痢原性大腸菌(Diarrheagenic *E. coli*、以後 DEC と略す)と呼ばれる。

DEC は、その病原機構に基づいて 腸管病原性大腸菌(Enteropathogenic *E. coli*、EPEC)、腸管毒素原性大腸菌(Enterotoxigenic *E. coli*、ETEC)、志賀毒素産生性大腸菌(Shiga toxin-producing *E. coli*; STEC)、腸管侵入性大腸菌(Enteroinvasive *E. coli*、EIEC) 以上4群に長らく大別されてきたが、2012年1月からは腸管凝集接着性大腸菌(Enteraggative *E. coli*、EAEC)もDECに認定された。他にも分散接着性大腸菌(Diffusely adherent *E. coli*、DAEC)、細胞膨化致死毒素産生性大腸菌(CTEC)、腸管凝集接着性大腸菌耐熱性腸管毒素(EAST1)遺伝子保有大腸菌(EAST1EC)、細胞剥脱性大腸菌(CDEC)など、新たなDECの候補とされるサブグループが複数存在する。

このうちETECは、大腸菌によるヒト下

痢症の最も一般的な原因菌である(2)。

その主な感染経路は、汚染された水や食べ物を体内に摂取することであり、1~3日の潜伏期間を経て水様性下痢を主徴とする症状を発症する(2)。下痢は菌が産生するエンテロトキシンの作用によるもので、胃腸炎症状は原則として見られない(3)。しかしながら、水分や電解質の喪失による脱水症を引き起こし、死亡する場合もある(4)。ETECは特に発展途上国において頻発し、EPECやロタウイルスそしてクリプトスポリジウムとならぶ主要な下痢症原因菌である(5)。これらは5歳未満で死亡した下痢症患者の半数以上を占めており、ETECだけでも年間2万人から7万6千人の乳幼児が死亡する(6)。これらの国を訪れる旅行者や軍人にも下痢症を引き起こすため、いわゆる旅行者下痢症の原因菌としても知られている。

ETECの0169:H41(以後0169と略す)は1991年に日本で初めて発見されたが(7)、以後、0169感染の報告が日米で相次ぎ(8-10)、1990年代にはETECによる集団感染の多くが本血清型菌によるものとなった(11)。0169はエンテロトキシンSTpを産生し、腸管定着因子CS6を保有する。また、巨大なプラスミドを有し、STpもこのプラスミドにコードされてい

ることが確認された (12)。さらに、0169 は既知の付着因子 CS6 を有しているが、他の ETEC では見られない HEp-2 細胞への強い凝集接着性を示すことが報告された。その細胞付着像は EAggEC の HEp-2 細胞への付着像に酷似しているが、EAggEC の凝集接着に参与する線毛の発現を制御する遺伝子 *aggR* を保有していない (12)。0169 が 1991 年以降急激に広がったことから、その腸管定着因子が従来の定説とは異なる宿主特異性を有する可能性も否定できない。また、この付着性もプラスミドの脱落により喪失することから、付着因子をコードする遺伝子もプラスミド上にあり、本菌が未知の定着因子を保有する可能性が示唆された (12)。

0169 を試験管内で培養すると、その病原プラスミドは極めて容易に脱落し、0169 は細胞付着性も毒素産生性も喪失する (13)。しかし、0169 は既に四半世紀以上に渡り主要な ETEC として数多くの集団発生を起こしており、野外においてはプラスミドを喪失させない選択圧が働いていると考えられる。一般に、ETEC には厳密な宿主特異性があり、ブタやウシの ETEC はブタやウシのみに感染し、ヒトの ETEC はヒトのみに感染すると考えられている。しかしながら、昨年度報告した 0169 の病原プラスミド (pEntYN10)

全塩基配列の解析では、CS6 以外に 2 種の接着因子候補 (CS8-like と K88-like) の遺伝子が新たに発見された。K88-like の遺伝子はブタ ETEC の腸管定着因子である K88 と一部相同性を有していた (13)。そこで、本プラスミドが自身を維持する遺伝子が少なく *in vitro* では脱落しやすいにもかかわらず野外で保持されている理由として、これら 3 種の接着因子が 0169 の宿主特異性を広げて感染の連鎖を保たれやすくすることでプラスミドを保持する 0169 が優勢を保てるようにし、ETEC 0169 の急激な流行を支えている、との仮説を立てた (13、14)。

本研究の目的は、組み換え実験用の大腸菌株に 3 種の付着因子候補遺伝子それぞれを組み込み、その細胞接着性と宿主特異性を検討することで、前記の仮説を検証することにある。

## B. 方法

### 1. 使用菌株

下痢症患者の便から独自に分離した ETEC 0169:H41 の YN10 株、大腸菌の実験室株として One Shot® TOP10 Chemically Competent *E. coli* (Life technologies)、Competent-high DH5 (TOYOBO、大阪) および JM109 (TOYOBO、大阪) を実験に供した。

## 2 . 培養細胞

ヒト結腸癌由来の上皮細胞である

Caco-2(15)および喉頭ガン由来の HEp-2 細胞(16)、ブタ小腸由来の上皮細胞である IPEC-1(17)およびブタ空腸由来の上皮細胞である IPEC-J2(18-20)、ウシ腸粘膜上皮細胞である BIE(21)について、各細胞指定の組織培養液を用いて実験に供した。

## 3 . プラスミド DNA の抽出

0169 の病原プラスミド pEntYN10 は Plasmid DNA Purification KIT BAC 100 (タカラ)を用いて 0169 から抽出回収した。クロラムフェニコール耐性遺伝子のベクターである pSV28 (Cm<sup>r</sup>) は形質転換した実験室株を LB ブイヨンに接種し 37 で振盪培養して菌体を回収後に QIAprep®Spin Miniprep Kit (QIAGEN)を用いて抽出した。

## 4 . In-fusion クローニング

接着因子の安定的な発現には、プロモーターより上流の領域も必要なのではないかと考え、先行研究(22)にならい、YN10 の CS6 の前後 1500 bp を含んだ領域を挟み込むプライマーを設計し iProof High Fidelity DNA Polymerase (Bio-Rad、USA)を用いて増幅した。さらに、CS8(CFA/III)の前後 1000 bp を含んだ領域、K88(F4)-like の前後 1000 bp を含ん

だ領域についても同様にプライマーを設計し増幅した。

pSV28 を制限酵素 EcoR I-HF® (NEB) と BamH I-HF® (NEB)で処理し、1%アガロースゲル(SeaKem® Gold Agarose、LONZA、USA)で泳動してから切り出し Illustra GFX PCR DNA and Gel Band Purification Kit (GE Healthcare)を用いて精製しベクターとした。

前記の直鎖状ベクターと、同様にアガロースゲルから切り出し精製した標的遺伝子領域の PCR 産物を混合して In-Fusion® HD Cloning Kit (TAKARA、滋賀)を用いて TOP10 の形質転換を行った。Cm 耐性を獲得して生育したコロニーを採り、PCR とその産物のシーケンスにより目的の遺伝子が含まれているか確認した。

## 5 . 付着性試験

10% ウシ胎児血清加イーグル MEM 培地 (EMEM、日水製薬)を用いて 25 cm<sup>2</sup> のフラスコに細胞がフルシートになるまで培養した。フルシート後は PBS で洗浄し、トリプシン処理した後 3 倍に希釈して継代した。トリプシン処理したフルシートの HEp-2 細胞を EMEM 12 ml で懸濁し、24 穴プレートの各ウェルに 0.5 ml ずつ分注し、CO<sub>2</sub> インキュベータで 48 時間培養した。その後上清を除き、メチル -

D - マンノピラシド(和光純薬)を 0.5%含む EMEM を 0.5 ml 加えた。供試菌株を培養した LB ブイオンを 10  $\mu$ l ずつ接種し (50 倍希釈)、3 時間培養した。細胞をメタノール固定後、10 %ギムザ液で細胞を染色し、鏡検した (23)。

### C. 結果

#### 1 . ヒト由来の HEp-2 に対する細胞接着性

0169 野生株が HEp-2 細胞に凝集接着のような強い接着性を示したのに対し、病原プラスミド pEntYN10 が脱落した 0169cured 株、実験室株の TOP10 は全く接着性を示さなかった (Fig. 1)。CS6 遺伝子を含む領域を組み込んだ pSV28CS6 で形質転換された TOP10CS6 株も、CS8-like の遺伝子領域を組み込んだ pSV28CS8-like で形質転換された TOP10CS8-like 株も、弱い分散接着像を示すにとどまり、野生株のような接着性は見られなかった。しかしながら、K88-like 遺伝子を含む領域を組み込んだ pSV28K88-like で形質転換された TOP10K88-like 株は 0169 野生株と同様の凝集接着像を示した。

#### 2 . ブタ由来の IPEC-1 および IPEC-J2 に対する細胞接着性

0169 野生株は、HEp-2 細胞に比べると

弱いものの、IPEC-1 および IPEC-J2 細胞に対しても凝集接着性を示したのに対し、実験室株の TOP10、病原プラスミド pEntYN10 が脱落した 0169cured 株、CS6 遺伝子を含む領域を組み込んだ pSV28CS6 で形質転換された TOP10CS6 株、CS8-like の遺伝子領域を組み込んだ pSV28CS8-like で形質転換された TOP10CS8-like 株、いずれも全く接着性を示さなかった。しかしながら、K88-like 遺伝子を含む領域を組み込んだ pSV28K88-like で形質転換された TOP10K88-like 株は 0169 野生株に類似した接着像を示した (Fig. 2)。

#### 3 . ウシ由来の BIE に対する細胞接着性

0169 野生株は BIE に対しては弱い接着性を示すにとどまり、CS6 遺伝子を含む領域を組み込んだ pSV28CS6 で形質転換された TOP10CS6 株も、CS8-like の遺伝子領域を組み込んだ pSV28CS8-like で形質転換された TOP10CS8-like 株も同様に弱い接着性を示した。しかしながら、K88-like 遺伝子を含む領域を組み込んだ pSV28K88-like で形質転換された TOP10K88-like 株は 0169 野生株以上の凝集接着像を示した (Fig. 3)。実験室株の TOP10、病原プラスミド pEntYN10 が脱落した 0169cured 株は全く接着性を示さなかった。ただし、BIE を用いた接着性試

験は1回だけの結果であり、再現性を今後確認する必要がある。

#### D. 考察

ETECは宿主の腸粘膜への定着、すなわち上皮細胞への接着と局所での増殖、を果たしながらエンテロトキシンを産生して下痢症を引き起こす。したがって、接着因子は極めて重要な病原因子であるが、Caco-2細胞が使われるようになる前は、*in vitro*での接着試験に有用な培養細胞はなく(15)、赤血球凝集試験(24)や菌体疎水性試験(25)などが接着性の指標として使われていた。そのような時代にHEp-2細胞に凝集接着するETECとして出現した0169は異色の存在であった(12)。

0169の病原プラスミドpEntYN10の全塩基配列を解析したところ、CS6、CS8-like、K88-likeの3種の定着因子候補遺伝子群を認めた(13)。ブタETECの定着因子であるK88(別名F4)は線毛を形成するが、0169の電子顕微鏡観察ではK88様の線毛は観察されておらず(12)、しかもpEntYN10のK88-like遺伝子群には主要線毛サブユニットを

コードする*faeG*と相同性のある配列が2つ保有される前例のないものであった。*faeG*配列の系統発生樹によると、2つの*faeG*遺伝子は、ブタから分離された大腸菌の*faeG*よりも、ヒトから分離された*Salmonella enterica* serovar *Infantis*の*faeG*と近いことが分かった(13)。このことから、pEntYN10のK88-likeがヒトへの感染のために働いている可能性が考えられ、実際に今回の組み換え実験によってK88-likeが*in vitro*における0169の特異な接着像を創り出していることが明らかになった。

ETECはヒトのみならずブタやウシの下痢症原因ともなる。そのエンテロトキシンLTとSTの毒性は家畜とヒトに共通のものが多い。しかし、腸粘膜への定着因子が異なるため、家畜のETECは家畜の間で、ヒトのETECはヒトの間だけで感染を循環させており相互の行き来はないとされてきた(3)。しかしながら、pEntYN10のように*in vitro*では脱落しやすいプラスミドが0169に保たれているという事実は、本菌が常に効率よく感染を

繰り返し *in vivo* に保たれていることを示唆する。本プラスミド上にコードされた 3 種の定着因子遺伝子を使い分けることによって 0169 が多様な宿主に感染する能力を得ているとすれば、脱落しやすいプラスミドが保持され続けるのも理解できる。K88 はもともとブタ ETEC の定着因子であり、ヒトに感染するための CS6 や CS8 などと宿主に合わせた使い分けを 0169 がしているとすれば、ETEC 感染症対策について考えを改める必要も生じる。ヒト ETEC の汚染源が本当にヒトだけなのか、新しい視点で調べ直す必要もありそうだ。

CS6 は、ヒト腸粘膜への定着因子として有名で ETEC における保有率も高い。この非線毛性接着因子は *cssA* および *cssB* の 2 つの構造タンパクから構成されている。アミノ酸配列の違いにより、*cssA* は AI、AII、AIII の 3 種に、*cssB* は BI、BII の 2 種に型別できる (26)。CS6pEntYN10 の CS6 の *cssA* は AII タイプと似ているが 5 つのアミノ酸変異を持つ新規サブタイプであった。*cssB* は BII タイプと 100%一致した。本来、BII は、付着性の

弱いタイプと報告されており、本菌の強い凝集接着性と合致しない。しかしながら、0169 には線毛が確認できなかったため、非線毛性定着因子の代表ともいえる CS6 をコードする *cssA* の変異により特異な細胞接着性が賦与されている可能性もあると考えていた。しかしながら、TOP10CS6 株は 0169 と同様の接着性を *in vitro* 試験では示さなかった。

CS8 (別名 CFA/III) も ETEC の代表的な定着因子であり、線毛を形成してヒトの腸細胞に特異的に付着すると報告されている (27、28)。CS8 の主要構造タンパク質である CofA は、コレラ菌の主要線毛構成要素である TcpA と高い構造相同性を有している (29)。pEntYN10 の CofA のアミノ酸配列は、ETEC 260-1 株のプラスミドである pSH1134 がコードする CofA と 73.2% の相同性を有していた (13)。近年、TcpA タンパク質のうち、ある 5 つの残基が、線維状の構造を構築するために高度に保存されているという報告があり (29、30)、pEntYN10 の CofA 遺伝子にもこれらの残基が保存されていることが分かった (13)。したがって CS8 と



しての機能も保持されていると考えられる。しかし、CS8抗体を用いたドットプロットテストでは陰性であった(12)。アミノ酸配列の違いから抗体が反応しなかった可能性が考えられるが、電子顕微鏡観察でもCS8様の線毛は観察されおらず(12)、0169のCS8-like遺伝子は発現していないか、あるいは非線毛性の形態をとっているのであろう。RT-PCRなどによりmRNAの転写が起きているのか今後検討すべきと考える。

#### E. 結論

ETEC 0169:H41の病原プラスミドの全塩基配列を決定したところ、本菌にはCS6、CS8-like、K88-like、以上3種類の腸管定着因子がコードされていることが明らかとなった。極めて不安定で脱落しやすいプラスミドであるにもかかわらず維持されている理由として、異なる宿主に対応できる定着因子をコードし、0169の適応力増強に本プラスミドが寄与しているためかもしれない。今回、in vitroではあるが、K88-like遺伝子がヒトとブタ両方の腸粘膜上皮細胞への附着

性に寄与することが明らかになった。ETECの宿主特異性について固定観念を取り払って考え直す価値がありそうだ。

#### F. 文献

1. 光岡知足. 腸内菌叢の形成、推移、分布. In: 光岡知足、editor. 腸内細菌学. 東京: 朝倉書店; 1990. p. 87-107.
2. Gastra W, Svennerholm AM. Colonization factors of human enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC). Trends Microbiol. 1996;4(11):444-52.
3. 甲斐明美. ETEC (腸管毒素原性大腸菌). In: 仲西寿男、丸山務、editors. 食品由来感染症と食品微生物. 東京: 中央法規; 2009. p. 269-80.
4. Qadri F, Svennerholm AM, Faruque AS, Sack RB. Enterotoxigenic *Escherichia coli* in developing countries: epidemiology, microbiology, clinical features, treatment, and prevention. Clin Microbiol

- Rev. 2005;18(3):465-83.
5. Kotloff KL, Nataro JP, Blackwelder WC, Nasrin D, Farag TH, Panchalingam S, et al. Burden and aetiology of diarrhoeal disease in infants and young children in developing countries (the Global Enteric Multicenter Study, GEMS): a prospective, case-control study. *Lancet*. 2013;382(9888):209-22. PMID: 23680352. PubMed 6736(13)60844-2.
  6. Lanata CF, Fischer-Walker CL, Olascoaga AC, Torres CX, Aryee MJ, Black RE. Global causes of diarrheal disease mortality in children <5 years of age: a systematic review. *PLoS One*. 2013;8(9):e72788.
  7. Nishikawa Y, Hanaoka M, Ogasawara J, Moyer NP, Kimura T. Heat-stable enterotoxin-producing *Escherichia coli* O169:H41 in Japan. *Emerg Infect Dis*. 1995;1(2):61.
  8. Ando K, Itaya T, Aoki A, Saito A, Masaki H, Tokumaru Y. An outbreak of food poisoning caused by enterotoxigenic *Escherichia coli* O169:H41. *Jpn J Food Microbiol*. 1993;10:77-81.
  9. Beatty ME, Bopp CA, Wells JG, Greene KD, Puhf ND, Mintz ED. Enterotoxin-producing *Escherichia coli* O169:H41, United States. *Emerg Infect Dis*. 2004;10(3):518-21.
  10. Devasia RA, Jones TF, Ward J, Stafford L, Hardin H, Bopp C, et al. Endemically acquired foodborne outbreak of enterotoxin-producing *Escherichia coli* serotype O169:H41. *Am J Med*. 2006;119(2):168 e7-10.
  11. 西川 禎一. 食生活をおびやかす食中毒と感染症. In: 山口 英昌、 editor. 食環境科学入門 食の安全を環境問題の視点から: ミネルヴァ書房; 2006. p. 117-36.
  12. Nishikawa Y, Helander A, Ogasawara J, Moyer NP,

- Hanaoka M, Hase A, et al. Epidemiology and properties of heat-stable enterotoxin-producing *Escherichia coli* serotype O169:H41. *Epidemiol Infect.* 1998;121(1):31-42.
13. Ban E, Yoshida Y, Wakushima M, Wajima T, Hamabata T, Ichikawa N, et al. Characterization of unstable pEntYN10 from enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) O169:H41. Virulence. 2015;6(8):735-44.
14. Gonzales-Siles L, Sjolting A. The different ecological niches of enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Environ Microbiol.* 2016;18(3):741-51.
15. Darfeuille Michaud A, Aubel D, Chauviere G, Rich C, Bourges M, Servin A, et al. Adhesion of enterotoxigenic *Escherichia coli* to the human colon carcinoma cell line Caco-2 in culture. *Infect Immun.* 1990;58(4):893-902.
16. Cravioto A, Tello A, Navarro A, Ruiz J, Villafan H, Uribe F, et al. Association of *Escherichia coli* HEp-2 adherence patterns with type and duration of diarrhoea. *Lancet.* 1991;337(8736):262-4.
17. Lu S, Yao Y, Cheng XY, Mitchell S, Leng SY, Meng SM, et al. Overexpression of apolipoprotein A-IV enhances lipid secretion in IPEC-1 cells by increasing chylomicron size. *J Biol Chem.* 2006;281(6):3473-83.
18. Fekete PZ, Mateo KS, Zhang WP, Moxley RA, Kaushik RS, Francis DH. Both enzymatic and non-enzymatic properties of heat-labile enterotoxin are responsible for LT-enhanced adherence of enterotoxigenic *Escherichia coli* to porcine IPEC-J2 cells. *Vet Microbiol.* 2013;164(3-4):330-5.
19. Gonzalez-Ortiz G, Hermes RG,

- Jimenez-Diaz R, Perez JF, Martin-Orue SM. Screening of extracts from natural feed ingredients for their ability to reduce enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) 1038 adhesion to porcine intestinal epithelial cell-line IPEC-J2. *Vet Microbiol.* 2013;167(3-4):494-9.
20. Zakrzewski SS, Richter JF, Krug SM, Jebautzke B, Lee I-FM, Rieger J, et al. Improved cell line IPEC-J2, characterized as a model for porcine jejunal epithelium. *Plos One.* 2013;8(11):e79643.
21. Miyazawa K, Hondo T, Kanaya T, Tanaka S, Takakura I, Itani W, et al. Characterization of newly established bovine intestinal epithelial cell line. *Histochemistry and Cell Biology.* 2010;133(1):125-34.
22. Wajima T, Sabui S, Fukumoto M, Kano S, Ramamurthy T, Chatterjee NS, et al. Enterotoxigenic *Escherichia coli* CS6 gene products and their roles in CS6 structural protein assembly and cellular adherence. *Microb Pathog.* 2011;51(4):243-9.
23. Nishikawa Y, Scotland SM, Smith HR, Willshaw GA, Rowe B. Catabolite repression of the adhesion of Vero cytotoxin-producing *Escherichia coli* of serogroups O157 and O111. *Microb Pathog.* 1995;18(3):223-9.
24. Old DC. Haemagglutination methods in the study of *Escherichia coli*. In: Sussman M, editor. *The virulence of Escherichia coli*. London: Academic Press; 1985. p. 287-313.
25. Lindahl M, Faris A, Wadstrom T, Hjerten S. A new test based on 'salting out' to measure relative surface hydrophobicity of bacterial cells. *Biochim Biophys Acta.* 1981;677(3-4):471-6.

26. Sabui S, Ghosa A, Dutta S, Ghosh A, Ramamurthy T, Nataro JP, et al. Allelic variation in colonization factor CS6 of enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated from patients with acute diarrhoea and controls. *J Med Microbiol.* 2010;59(7):770-9.
27. Honda T, Arita M, Miwatani T. Characterization of new hydrophobic pili of human enterotoxigenic *Escherichia coli*: a possible new colonization factor. *Infect Immun.* 1984;43(3):959-65.
28. Shinagawa H, Taniguchi T, Yamaguchi O, Yamamoto K, Honda T. Cloning of the genes that control formation of the fimbrial colonization factor antigen III (CFA/III) from an enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Microbiol Immunol.* 1993;37(9):689-94.
29. Fukakusa S, Kawahara K, Nakamura S, Iwashita T, Baba S, Nishimura M, et al. Structure of the CFA/III major pilin subunit CofA from human enterotoxigenic *Escherichia coli* determined at 0.90 Å resolution by sulfur-SAD phasing. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr.* 2012;68(Pt 10):1418-29.
30. Li J, Lim MS, Li S, Brock M, Pique ME, Woods VL, Jr., et al. Vibrio cholerae toxin-coregulated pilus structure analyzed by hydrogen/deuterium exchange mass spectrometry. *Structure.* 2008;16(1):137-48.
- G. 健康危険情報  
なし
- H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし
- I. 研究発表  
1. 論文発表  
Wang, L., Nakamura, H., Kage-Nakadai, E., Hara-Kudo, Y., and Nishikawa, Y. (2017) Comparison by multi-locus

- variable-number tandem repeat analysis and antimicrobial resistance among atypical enteropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from foods and human and animal faecal specimens. *J. Appl. Microbiol.* 122 (1):268-278. DOI: 10.1111/jam.13322
- Wang, L., Zhang, S., Zheng, D., Fujihara, S., Wakabayashi, A., Okahata, K., Suzuki, M., Saeki, A., Nakamura, H., Hara-Kudo, Y., Kage-Nakadai, E., and Nishikawa, Y. (2017) Prevalence of diarrheagenic *Escherichia coli* in foods and fecal specimens obtained from cattle, pigs, chickens, asymptomatic carriers, and patients in Osaka and Hyogo, Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.* (in press)
- Wang, L., Nakamura, H., Kage-Nakadai, E., Hara-Kudo, Y., and Nishikawa, Y. (2017) Prevalence, antimicrobial resistance and multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis profiles of diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from different retail foods. *Int. J. Food Microbiol.* (in press)
- Seo, D., Choi, S., Jeon, S., Jeong, S., Park, H., Lee, B., Kim, G., Yang, S., Nishikawa, Y., and Choi, C. (2017) Comparative sequence analysis of enteroaggregative *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin 1 identified in Korean and Japanese *Escherichia coli* strains. *Int. J. Food Microbiol.* 243: 1-8  
DOI information: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.11.017
2. 学会発表  
鄭 冬明、坂 瑛里香、池崎 沙耶加、中臺枝里子、和田崇之、輪島丈明、濱端 崇、堀口安彦、西川禎一 .Complete DNA sequence of the ETEC 0169:H41 virulence plasmid and the novel colonization factor. 第89回日本細菌学会総会、平成28年3

月23-25日 大阪大学微生物病  
研究所 大阪国際交流センター  
一般演題P2-045  
玉井 沙也加、能重 匠、谷本佳彦、  
松崎壮宏、中臺枝里子、山口良  
弘、児玉年央、飯田哲也、西川  
禎一. Inhibitory effects of  
diffusely adherent  
*Escherichia coli* strains on  
cytokine secretions of  
epithelial cells. 第89回日本  
細菌学会総会、平成28年3月  
23-25日 大阪大学微生物病研  
究所 大阪国際交流センター  
一般演題P2-153  
鄭 冬明、坂 瑛里香、大森裕子、  
中臺枝里子、山口良弘、和田崇  
之、西川禎一. 上皮細胞に対す  
る腸管毒素原性大腸菌0169:H41  
の特異な接着性に寄与する新規  
付着因子、第37回日本食品微生  
物学会学術総会、平成28年9月  
15-16日 麻布大学 タワーホ  
ール船堀 p.58  
玉井 沙也加、能重 匠、谷本佳彦、  
松崎壮宏、中臺枝里子、山口良  
弘、児玉年央、飯田哲也、西川  
禎一. 培養細胞の炎症性サイ  
トカイン分泌に対する健康者由

来分散接着性大腸菌の抑制機構、  
第37回日本食品微生物学会学術  
総会、平成28年9月15-16日 麻  
布大学 タワーホール船堀  
p.59  
鄭 冬明、坂 瑛里香、大森裕子、  
中臺枝里子、山口良弘、和田崇  
之、工藤由起子、西川禎一. 上  
皮細胞に対する腸管毒素原性大  
腸菌0169:H41の特異な接着性に  
寄与する新規付着因子、日本栄  
養食糧学会第55回近畿支部大会、  
平成28年10月22日 帝塚山学院  
大学 p.52  
玉井 沙也加、能重 匠、谷本佳彦、  
松崎壮宏、中臺枝里子、山口良  
弘、児玉年央、飯田哲也、西川  
禎一. 培養細胞の炎症性サイ  
トカイン分泌における健康者由  
来分散接着性大腸菌の抑制機構、  
日本栄養食糧学会第55回近畿支  
部大会、平成28年10月22日 帝  
塚山学院大学 p.52  
玉井沙也加、能重匠、谷本佳彦、  
松崎壮宏、中臺枝里子、山口良  
弘、児玉年央、中村昇太、元岡  
大祐、飯田哲也、西川禎一. 培  
養細胞の炎症性サイトカイン分  
泌に対する分散接着性大腸菌の

抑制機構、第69回日本細菌学会  
関西支部学術集会、平成28年11  
月19日 大阪市立大学 p.44

鄭冬明、坂 瑛里香、大森裕子、  
中臺枝里子、和田崇之、工藤由  
起子、西川禎一 . 腸管毒素原性  
大腸菌0169:H41の特異な細胞接  
着性に寄与する新規付着因子、  
第69回日本細菌学会関西支部学  
術集会、平成28年11月19日 大  
阪市立大学 p.45