

Title	下痢原性大腸菌のはなし
Author(s)	勢戸, 和子
Citation	makoto. 2009, 146, p. 2-7
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.18910/85735">https://doi.org/10.18910/85735</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

# 下痢原性大腸菌のはなし

大阪府立公衆衛生研究所  
感染症部 細菌課

主任研究員 勢戸和子

## 1. はじめに

大腸菌 (*Escherichia coli*) は、哺乳動物や鳥類の腸内フローラのひとつで、ほとんどのものは無害ですが、一部の大腸菌は病原因子を保有し、尿路感染症や髄膜炎、敗血症、腸管感染症などの疾患を引き起こします。20世紀の初め頃は腸内フローラの大腸菌と患者から分離された大腸菌を区別することができませんでしたが、1940年代にKauffmannらによって血清学的な手法で大腸菌を区別することが可能となり、大腸菌の研究は菌体抗原 (O

抗原) と鞭毛抗原 (H抗原) の血清型別法を利用して発展しました。現在O抗原はO1からO181まで、H抗原はH1~H56までであり、OとHの組合せで血清型を表します。

腸管内感染を起こす大腸菌は下痢原性大腸菌と総称されますが、その病原因子や発症機序は多様で、表1のように数種類に分類されます。本稿では、主な下痢原性大腸菌の特徴を紹介し、検査方法の問題点について考えます。

表1. 下痢原性大腸菌の分類と病原性

分類	主な病原性	病原因子検出法
腸管病原性大腸菌 <i>Enteropathogenic E. coli</i> (EPEC)	A/E傷害 局在型付着	PCR (インチミン遺伝子, 集束線毛遺伝子等の検出) 細胞付着性試験
腸管侵入性大腸菌 <i>Enteroinvasive E. coli</i> (EIEC)	細胞侵入性	PCR (病原性プラスミドの検出) コンタクトヘモリシス試験
腸管毒素原性大腸菌 <i>Enterotoxigenic E. coli</i> (ETEC)	易熱性毒素 (LT) 耐熱性毒素 (ST) CFA	PCR (毒素遺伝子の検出) RPLA (LTの検出) EIA (STの検出)
腸管出血性大腸菌 <i>Enterohaemorrhagic E. coli</i> (EHEC)	ベロ毒素 (VT) A/E傷害	PCR (毒素遺伝子の検出) RPLA, IC, EIA (VTの検出)
腸管凝集付着性大腸菌 <i>Enteroaggregative E. coli</i> (EAEC)	凝集型付着	PCR (AAF遺伝子, <i>aggR</i> の検出) 細胞付着性試験, 菌膜形成試験, バイオフィルム形成試験
散在付着性大腸菌 <i>Diffusely adherent E. coli</i> (DAEC)	散在型付着	細胞付着性試験

PCR:遺伝子増幅法, RPLA:逆受け身ラッセクス凝集反応, IC:イムノクロマト法, EIA:酵素抗体法

## 2. 腸管病原性大腸菌 (EPEC)

1940~50年代に世界各国で大腸菌による乳幼児の下痢症が頻発し、特定の血清型を示す大腸菌が原因菌として認識され、enteropathogenic *E. coli* (EPEC) と名付けられました。病原機序が解明されたのは1980年頃からで、患者の生検材料や無菌仔ブタへの感染実験などから、EPECは小腸粘膜に密着し、粘膜上皮細胞の微絨毛を破壊して、attaching and effacing lesions (A/E障害) と呼ばれる特徴的な病変を引き起こすことが明らかになりました。また、培養細胞に感染させると局在型付着することも見出され、培養細胞を実験モデルにして分子レベルでの研究が発展しました。現在では、EPECは菌体表面に外膜タンパクであるインチミンを保有し、Ⅲ型分泌装置と呼ばれる微細な管を注射器のように粘膜上皮細胞を通して、インチミン受容体およびA/E障害に関与する様々な「エフェクター」を粘膜上皮細胞へ注入することがわかっています。一方、O157を始めとするEHECの多くがEPECと同様のA/E障害を引き起こすことがわかり、1995年の国際シンポジウムで、EPECは「腸管細胞にA/E障害を起こし、志賀毒素を産生しない下痢原性大腸菌」と定義されています。

EPECは2歳以下（特に6ヵ月以下）の感染が多く、発展途上国では乳幼児下痢症の原因の30~40%を占めると言われています。臨床症状は下痢、腹痛で嘔吐や発熱を伴うこともあり、重症例では脱水症状を呈します。

EPECには、EAF (EPEC adhering factor) プラスミドにコードされている集束線毛を介して培養細胞に局在型付着する typical EPEC

(t-EPEC) とEAFプラスミドを欠く atypical EPEC (a-EPEC) があります。古典的血清型に属する大多数のt-EPECは、ボランティア研究などから下痢原性を有することは間違いないところですが、a-EPECの病原性についてはあいまいな点が残っています。

## 3. 腸管侵入性大腸菌 (EIEC)

大腸菌の中に赤痢菌に類似した病原性をもつものがあることが、1967年に国立予防衛生研究所（現在の国立感染症研究所）の坂崎利一博士によって報告され、粘膜上皮細胞に侵入することから enteroinvasive *E. coli* (EIEC) と呼ばれています。

EIECによる症状は下痢、発熱、腹痛で、重症例では粘血便やしぶり腹など赤痢と同様の症状がみられます。潜伏期間は必ずしも一定せず、通常12~48時間とされています。わが国では1970年代まではしばしば集団感染事例が報告されていましたが、現在ではその多くは海外渡航者から分離されています。

EIECは赤痢菌同様120~140MDaの大型プラスミドを保有し、このプラスミドが染色体遺伝子の制御のもとに細胞侵入性に関与します。感染部位は大腸で、粘膜上皮細胞へ侵入後、増殖しながら菌体の一極に宿主細胞のアクチンを凝集させ、アクチン重合によって発生する物理的な作用によって細胞内を移動し、隣接する細胞へ次々と侵入して、上皮細胞の壊死や脱落、潰瘍形成や炎症を起こします。EIECはその病原性だけでなく、生化学的性状も赤痢菌とよく似ており、一般的な大腸菌のほとんどが陽性であるブドウ糖からのガス産生や乳糖発酵性、リジン脱炭酸酵素、運動性で陰性を示す株が多いとされています。

(表2)。また、血清型も赤痢菌と密接な関係を持ち、表3のように同一抗原あるいは交叉反応を示す場合があるので、同定に気をつけなければなりません。

表2. 代表的なEIECの生化学的性状

生化学的性状試験	陽性率(%)	
	EIEC	一般の大腸菌
リジン脱炭酸酵素	40	90
アルギニン加水分解酵素	5	40
オルニチン脱炭酸酵素	20	70
運動性	5	95
$\beta$ -ガラクトシダーゼ	45	95
ブドウ糖からのガス産生	5	95
乳糖の発酵	25	95

表3. EIECと赤痢菌の菌体抗原関係

EIEC	<i>Shigella</i> spp.	
	同一抗原	交叉反応
O28a, O28c		<i>S. boydii</i> 13
O29		<i>S. boydii</i> 11
O112a, O112c	<i>S. dysenteriae</i> 2	
O115		<i>S. boydii</i> 18
O124	<i>S. dysenteriae</i> 3	<i>S. boydii</i> 17
O135	<i>S. flexneri</i> 4b	
O144	<i>S. dysenteriae</i> 10	
O152	<i>S. dysenteriae</i> 12	

#### 4. 腸管毒素原性大腸菌 (ETEC)

1967年に、仔ブタの下痢症原因菌として分離された大腸菌がエンテロトキシンを産生することが報告されました。数年後に、インドでコレラ様下痢患者から分離された大腸菌の培養上清にエンテロトキシンが含まれることが確かめられ、血清型に依存してきた下痢原性大腸菌の概念が大きく変わるきっかけとなりました。

ETECは大規模な食中毒や海外渡航者下痢症の原因となることが多く、特に上下水道の整備されていない地域では生水やサラダ、果物には注意が必要です。主な症状は水様性下

痢で、嘔吐を伴うこともありますが、腹痛は軽度で発熱はまれです。しかし途上国の乳幼児や小児の感染では重症例もみられ、コレラと同様に脱水症状に陥ることがあります。潜伏期間は12~72時間ですが、それより短いこともあります。

ETECはcolonization factor antigen (CFA) と呼ばれる特殊な線毛で粘膜上皮細胞の微絨毛に定着して増殖し、エンテロトキシンを産生して下痢を引き起こします。エンテロトキシンは、粘膜上皮細胞に傷害を与えることなく水分と電解質の漏出をもたらす毒素で、60°C 30分の加熱で活性を失う易熱性毒素 (LT) と、100°C 15分の加熱に耐える耐熱性毒素 (ST) の2種があり、両方を産生する株もあります。LTには抗原的に異なるLT I とLT II があり、ヒトやブタのETECに由来するLT I はコレラ毒素と理化学的にも免疫学的にも類似し、下痢発症機序も同じです。STはメタノール溶解性によって、可溶性のST I と不溶性のST II に分けられ、さらにST I は塩基配列の違いによってSTpとSThに分けられますが、STp産生菌がヒト、ブタ、ウシから分離されるのに対し、STh産生菌はヒト由来株に限られています。

#### 5. 腸管出血性大腸菌 (EHEC)

1982年にアメリカ合衆国でハンバーガーが原因と推定される2例の食中毒事件が発生し、疫学調査の結果から当時は珍しい血清型であったO157:H7が原因菌であると断定されました。患者の主症状は激しい血便と腹痛で、原因菌はenterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) と名付けられました。まもなく、このEHEC O157:H7がすでに報告されていたVero細

胞に対する細胞毒（Vero毒素、VT）を産生することが明らかになりましたが、VTは志賀赤痢菌（*Shigella dysenteriae* 1）の産生する志賀毒素と同じ生物活性を示すことから志賀毒素産生性大腸菌（Shiga toxin-producing *E. coli*、STEC）とも呼ばれています。

日本で最初のEHEC O157感染症は、1984年に当所で確認された兄弟感染事例ですが、1990年に埼玉県の幼稚園で園児2名が死亡した集団事例から社会的に注目されるようになりました。1996年には日本各地で集団発生が相次いで社会問題になり、厚生労働省への届出が必要な全数把握疾患になりました。

EHEC感染症の潜伏期間は平均4～8日で、典型的な症例では、激しい腹痛と水様性下痢で発症し第2～3病日に血便を呈します。重症例ではHUS（溶血性尿毒症症候群）や脳症などの合併症を引き起こし死に至る場合もありますが、その一方で軽い下痢や無症状ですむ人もあり、感染に気付かないうちに家族などへうつしてしまう場合があります。これはEHECの感染菌量が少ないためで、排便後の手洗いが不十分だと、水道の蛇口やドアのノブに残った菌が次に触った人に感染してしまうのです。

EHECは大腸粘膜上皮細胞へ定着して増殖し、腸粘膜の水分吸収阻害による下痢や、腸内で産生されたVTによる種々の細胞障害を引き起こします。上皮細胞への定着はO157、O26など多くのEHECではEPECと同様の機序ですが、STEC autoagglutinating adhesin (Saa) や *E. coli* immunoglobulin-binding protein G (EibG) といった新しい付着因子も報告されています。VTは志賀毒素とアミノ酸配列が同一のVT1と、アミノ酸配列の相同性が約

60%のVT2に大別され、どちらも細胞内へ取り込まれてタンパク質合成を阻害し、細胞障害を引き起こします。また、VTはマクロファージや上皮細胞を刺激してサイトカイン産生を誘導し、その結果、遊走してきた好中球にVTが結合して血流に入り腎臓や脳へ達し、各部位では内皮細胞上のVT受容体発現を増強することで細胞傷害性を高め、HUSや脳症を引き起こすと考えられています。

## 6. 腸管凝集付着性大腸菌 (EAEC)

1985年にNataroらによって発見された新しい下痢原性大腸菌で、局在型付着や散在型付着とは異なり、レンガを積んだように菌が集まって付着する（凝集型付着）ことから enteroaggregative *E. coli* (EAEC) と名付けられました。EAEC (EA<sub>g</sub>ECとも呼ばれる) は培養細胞だけでなくガラス表面にも付着する特徴があります。

発展途上国の6ヵ月以下の幼児にみられる持続性下痢（14日以上）の原因菌として発見されましたが、その後の各国の調査により、途上国、先進国にかかわらず、幼児の慢性および急性下痢症、成人の急性下痢症の原因となり、時に集団事例を起こすことがわかりました。一般的な症状は粘液を含む水様性下痢と腹痛で、発熱は軽度で頻度は高くなく、嘔気や嘔吐が伴うこともあります。潜伏期間は7時間～2日程度とされています。

EAECは小腸や大腸の粘膜に付着し、粘液の分泌を促して腸の表面に粘液を含むバイオフィルムを形成すると考えられています。凝集型付着に関与する線毛 (aggregative adherence fimbriae、AAF) は、AAF/I、AAF/II、AAF/IIIの3種類が報告されてい

ますが、これらの線毛の遺伝子をもたないEAECも多く、新たな線毛や非線毛性の接着因子の存在が考えられます。AAFの形態形成に関与し、他の病原性関連遺伝子にも働く総合的な制御遺伝子として*aggR*が知られており、いくつかの患者対照研究で、*aggR*陽性を示すEAECは患者に多いことが報告されています。毒素は、耐熱性毒素様毒素 (EAST 1) と plasmid encoded toxin (PET) が見つっていますが、どの程度病原性に関与しているかは明らかではありません。

## 7. 検査方法

下痢原性大腸菌の培養検査はO157やO26といった代表的なEHECを除くと、選択性の高い分離培地がなく、DHLやマッコンキー寒天培地などで大腸菌を疑うコロニーを釣菌し、生化学的性状や病原因子、血清型を確認します。生化学的性状は、前述のようにEIECで赤痢菌に似た性状を示しますが、その他の下痢原性大腸菌の性状は様々で、ETECやEHECで乳糖非発酵、または運動性やブドウ糖からのガス産生陰性を示す株もあります。病原因子は、ETECとEHECでは毒素産生性を、EIECは細胞侵入性を、EPECとEAECは細胞附着性を確認することが必要ですが、細胞侵入性試験や細胞附着性試験は培養細胞が必要な上、判定には熟練を必要とすることから、侵入性や附着性に関連する遺伝子を検出する方法が用いられます。毒素遺伝子を含めた数種類の病原因子を検出するマルチプレックスPCRも数多く報告されています。

大腸菌が分離されれば、まず血清型別を実施するという検査室も多いと思いますが、血清型で下痢原性大腸菌と判断することはでき

ません。たとえば、EHECといえばO157が有名ですが、世界各国でヒトから分離されたEHECのO血清群はすでに130以上報告されており、このうち67タイプはHUS患者から分離されています。日本でもEHEC分離報告数に占めるO157の割合は減少しており、1996年には約90%でしたが2006～2008年は60～70%台で、O26が約20%、次いでO111、O103、O121、O91、O145、O165などが分離され、1人から複数のO血清群が分離されることもあります。一方、O157やO26でVTを産生しない株もあります。ETECも同様で、O6やO25、O159など「ETECの主な血清型」として教科書に記載されているO血清群でも毒素非産生の株は多く、必ず毒素産生性を調べなくてはなりません。EPECは「特定の血清型を示す」ことが発見のきっかけでもあり、現在でも鑑別に血清型が用いられています。しかし、H抗原の型別も必要な上、日本で分離されるEPECは古典的血清型には属さないことが多く、細胞附着性試験が必要となります。

## 8. 多種類の下痢原性大腸菌が分離された事例

食中毒や感染症では、複数のタイプの下痢原性大腸菌が分離されることもあり、EHECあるいはETECだけを対象に検査しては事例の真相は見えてきません。当所が経験した事例を紹介します。

2006年10月に大阪府内の2つの小学校で集団下痢症が起きました。患者は修学旅行に出かけた6年生で、主な症状は腹痛と下痢でした(表4)。A小学校27人、B小学校15人の糞便検査を実施したところ、A小学校は19人から9タイプのETEC、4タイプのEAECおよび3タイプのEPECが、B小学

表 4. 患者数と症状

		喫食者 有症者		症状(%)			
		(人)	(人)	腹痛	下痢	嘔吐	発熱
A小学校	小学生	113	67	88.2	69.1	13.2	47.1
	教師	5	1				
B小学校	小学生	53	26	80.0	73.3	10.0	33.3
	教師	5	4				

表 5. 分離された下痢原性大腸菌と検出者数

分類	血清型	検出者数	
		A小	B小
ETEC	O159:H27 (LT)	2	2
ETEC	O62:H12 (LT)		2
ETEC	O180:H21 (LT)	1	
ETEC	OUT:H21 (LT)	1	
ETEC	O15:H11 (ST)	6	2
ETEC	O128:H12 (ST)	3	4
ETEC	O8:H19 (ST)	1	
ETEC	O25:NM (ST)	1	
ETEC	O27:H7 (ST)	1	
ETEC	O148:H28 (ST)	1	
EAEC	O126:H12		3
EAEC	OUT:H10	3	
EAEC	O92:H33	1	
EAEC	O125ab:H8	6	6
EAEC	O181:H16	1	
EAEC	O44:H18		1
EPEC	O119:H21	5	
EPEC	O55:NM	1	
EPEC	O128:H2	1	

アンダーラインは市販血清で型別できない

校は11人から4タイプのETECと3タイプのEAECが検出されました(表5)。このうち、ETEC O159:H27 (LT陽性)、ETEC O15:H11 (ST陽性)、ETEC O128:H12 (ST陽性)、EAEC O125ab:H8は両校に共通して分離されました。両校は1日違いで同じ旅館に宿泊しており、食事のメニューは同一でしたが、聞き取り調査等からは推定原因食品は判明しませんでした。複数のタイプの下痢原性大腸菌が分離された患者が多く、調理場などが多種類の下痢原性大腸菌で汚染されていたので

はないかと考えられました。

この事例では、分離された大腸菌についてPCR法で病原遺伝子を調べ、LT遺伝子またはST遺伝子陽性をETEC、インチミン遺伝子陽性をEPEC、*aggR*陽性をEAECと判定しました。病原遺伝子陽性株は血清型別を行いました。分離当初はEAECのほとんどがOUTで、薬剤感受性試験やパルスフィールド・ゲル電気泳動で菌株の異同を区別しました。O128はETECとEPECがあり、血清型別よりも病原因子の確認を優先した検査の重要性をあらためて感じました。

## 9. おわりに

下痢原性大腸菌は病原機序が多様な上、混合感染もみられることから、臨床症状や潜伏期間で推察することが困難です。また、EHECではO157の選択分離培地やVT検出キットが市販されていますが、その他の大腸菌を検出するには、多くのコロニーを釣菌し病原因子を確認することが必要で、検査結果の判明にどうしても時間がかかります。さらに、EPECやEAECでは、ヒトの下痢症への関与が明らかになっていない部分もあり、サルモネラやカンピロバクターのように、患者から分離されたからと言って原因菌と決定できない場合もあります。しかし、これまでに分離された菌株の病原因子を詳しく調べるとともに、散発下痢症患者と健康者、集団発生事例では有症者と無症者の分離率を比較し、疫学的な裏付けを積み重ねていくことで、病原性を解明できることでしょう。下痢症あるいは胃腸炎の患者で、既知の食中毒菌や下痢症ウイルス、原虫が分離されない場合は、ぜひ大腸菌にも目を向けてください。