

秋田県における *astA* 保有大腸菌の侵淫実態と病原因子保有状況

今野貴之 八柳 潤 齊藤志保子

astA を保有する大腸菌は、毒素原性大腸菌の耐熱性エンテロトキシン (ST) に類似の毒素 EAST1 を産生し、これまでに数例の集団下痢症事例の報告もあることからその病原性が注目されている。今回、秋田県における *astA* 保有大腸菌による健康被害の実態を把握するため、平成 19 年から平成 21 年までの 3 年間に散発下痢症患者から分離された下痢原性大腸菌疑い株を用いて、その侵淫実態を調査した。また、*astA* 保有大腸菌は分離された菌株によって病原性に違いがあることが指摘されているため、*astA* 以外の病原因子の保有状況も併せて調査した。その結果、*astA* 保有大腸菌の下痢症患者からの分離を確認し、県内への侵淫実態が明らかとなった。また、病原因子の保有状況の調査では、腸管出血性大腸菌で報告された新規の付着因子、組織侵入性および毒素産生に関わる因子、腸管外の組織への付着を引き起こす因子、 α 溶血素、ヒト体内での菌の増殖に関与する siderophore の保有を確認した。これらの結果から、県内で分離された *astA* 保有大腸菌の一部は、様々な病原因子を保有しており、ヒトに下痢症を惹起する可能性があることが示唆された。

1. はじめに

大腸菌 (*Escherichia coli*) は腸内常在菌叢を構成する細菌の一種であるが、その中にはヒトに下痢を惹起させる菌も存在する。それらは下痢原性大腸菌と総称され、病原性の違いにより腸管出血性大腸菌 (EHEC)、腸管病原性大腸菌 (AEEC/EPEC)、腸管侵入性大腸菌 (EIEC)、毒素原性大腸菌 (ETEC)、腸管集合性大腸菌 (EAggEC) の 5 つに大別される¹⁾。しかしながら、最近の研究により大腸菌の新たな病原因子となりうる種々の遺伝子が報告され、必ずしも上記の 5 つにあてはまらない病原性を持つ大腸菌の存在が示唆されている^{2, 3)}。これらの大腸菌によって食中毒等が発生した場合には、原因不明となり適切な衛生改善指導や医療機関における治療法の選択等に支障をきたす可能性があり、問題となっている。特に *astA* を保有する大腸菌は、毒素原性大腸菌の耐熱性エンテロトキシン (ST) に類似の毒素 EAST1 を産生し、これまでに数例の集団下痢症事例の報告もあることからその病原性が注目されている³⁾。今回、*astA* 保有大腸菌による県内での健康被害の実態を把握するため、その侵淫実態を調査した。また、*astA* 保有大腸菌は分離された菌株によって病原性に違いがあることが指摘されているため、*astA* 以外の病原因子の保有状況も併せて調査したので、その概要を報告する。

2. 方法

2.1 実験材料

平成 19 年 1 月から平成 21 年 12 月までに秋田県内医療機関等から送付された下痢原性大腸菌疑い株計 2,168 株を調査対象とした。

2.2 実験方法

供試菌株が下痢原性大腸菌に該当するかどうか検査するため、腸管出血性大腸菌については VT1 および VT2、腸管病原性大腸菌については *eaeA*、腸管侵入性大腸菌については *invE*、毒素原性大腸菌については ST 遺伝子および LT 遺伝子、腸管集合性大腸菌については *aggR* を標的にした PCR を行った。また、同時に *astA* を標的とした PCR を行い、*astA* 保有株を探索した。各下痢原性大腸菌の病原因子を保有せず、*astA* のみ保有する菌株について、*daaE*, *afa/dra*, *aid*, *aah*, *iha*, *pilS*, *shf*, *irp2*, *pet*, *pic*, *pap*, *sfa* および *hlyA* の 13 種類の病原因子について PCR により検出を行った⁴⁻⁷⁾。

3. 結果と考察

3.1 *astA* 保有大腸菌の侵淫実態

平成 19 年から平成 21 年までの下痢原性大腸菌疑い株の総数は平成 19 年が 833 株、平成 20 年が 725 株、平成 21 年が 610 株であった。各下痢原性大腸菌の分離状況は表 1(a)に示したとおりである。

各下痢原性大腸菌の病原因子は保有せず、*astA* を保有していた菌株は表 1(b)に示したように、平成 19 年 7 株、平成 20 年 15 株、平成 21 年が 13 株であった。これにより、*astA* 保有大腸菌の秋田県における侵淫が明らかとなった。

表 1 下痢原性大腸菌および
astA 保有大腸菌の分離状況

(a)

Pathotype	H19	H20	H21
EHEC	52	69	20
AEEC/EPEC	18	7	10
EIEC	0	0	0
ETEC	5	5	8
EAggEC	9	15	5

(b)

	H19	H20	H21
<i>astA</i> (+) E.coli	7	15	13

3.2 *astA* 保有大腸菌の病原因子保有状況

astA 保有大腸菌の病原因子保有状況については、調査継続中のため平成 22 年 8 月における暫定的な値を示す。

astA の保有が確認された菌株のうち 20 株について、表 2 に示した 13 種類の病原因子の保有状況を調査し、その結果を表 3 にまとめた。

astA 保有大腸菌の腸管付着性に関わる因子はこれまで報告されてこなかったが、今回の調査で腸管出血性大腸菌において報告された新規の付着因子である *iha* を保有する株が 1 株見つかった。さらに、組織侵入を促進する *pic* を保有する株も 2 株見つかった。また、*pic* 遺伝子の相補鎖には *shET1* (Shigella enterotoxin 1) がコードされていることが知られている。

pap, *sfa* は腸管外の組織への付着を引き起こす因子であるが、しばしば腸管集合性大腸菌の病原因子と一緒に保有が確認されている。*pap* および *sfa* の両方もしくはいずれかを持つ株は 20 株中 6 株確認された。これらの因子を持つ *astA* 保有株は腸管感染症のみならず尿路感染症の原因にもなる可能性がある。また、*hlyA* も腸管外感染を起こす大腸菌にみられる病原因子の一つであるが、下痢症との関係が指摘され、

腸粘膜細胞の機能変化を引き起こす作用があり細胞毒性を有することが示されている。*pap*, *sfa* に加えて *hlyA* を保有する株は下痢原性大腸菌としても注意が必要と思われる。

また、20 株中 15 株が *irp2* を持っていた。*irp2* はヒトの体内での増殖に必要な因子であることから、病原性の指標として重要な因子の一つとなりうると考えられた。しかしながら、*astA* 保有大腸菌の病原性に関しては未だ不明な部分もあることから、その解明には今後さらなる感染事例の集積および病原性に関する調査研究が必要と考えられる。

最後に、全国の食中毒統計によると、未だ 1 割程度が原因不明となっている。また、散發の下痢症患者では原因菌が特定できないことも少なくない。本研究が、それらの解決の一助となれば幸いである。

表 2 対象病原因子と特性

Pathogenic factor	Associated property
<i>daaE</i>	diffuse adherence
<i>afa/dra</i>	Afa/Dra adhesin
<i>aid</i>	AIDA- I adhesin
<i>aah</i>	AIDA- I adhesin
<i>iha</i>	IrgA homologue adhesin
<i>pilS</i>	TypeIV pilus major subunit
<i>shf</i>	intercellular adhesin
<i>irp2</i>	siderophore
<i>pet</i>	plasmid encoding toxin
<i>pic/shET1</i>	mucinase/Shigella enterotoxin I
<i>pap</i>	P pili
<i>sfa</i>	S fimbriae
<i>hlyA</i>	α -hemolysin

表3 astA 保有株の病原因子

Strain No.	Serogroup	Pathogenic factor												
		daa	afa/dra	aid	aah	iha	pilS	shf	irp2	pet	pic	pap	sfa	hlyA
EC11935	115	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-
EC11969	18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EC12331	6	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+
EC12397	8	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
EC12434	18	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
EC12491	153	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EC12535	20	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
EC12580	8	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
EC12584	153	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EC12596	151	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-
EC12685	74	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+
EC12713	166	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EC12790	UT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EC12817	125	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
EC12908	8	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
EC12939	6	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-
EC13008	UT	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
EC13109	1	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-
EC13115	27	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
EC13273	UT	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-

4. まとめ

astA 保有大腸菌の秋田県における侵淫実態および病原因子保有状況が明らかとなった。これにより今後の病原性解明や食中毒等の発生時の原因菌の推定等に活用が期待される。

参考文献

- 1) 日本食品衛生協会: 食中毒予防必携, 1998, 58-64.
- 2) 坂崎利一: 食水系感染症と細菌性食中毒, 2000, 210-297.
- 3) 渡辺治雄: 食中毒検査・診療のコツと落とし穴, 2006, 11.
- 4) Abe CM., Salvador FA., Falsetti IN., Vieira MAM., Blanco J., Blanco JE., Blanco M., Machado AMO., Elias WP., Hernandez RT., Gomes TA.: Uropathogenic Escherichia coli (UPEC) strains may carry virulence properties of diarrhoeagenic E.coli., FEMS immunol Med Microbiol., **52**, 3, 2008, 397-406.

- 5) Tiba MR., Yano T., Lette DS.: Genotypic characterization of virulence factors in Escherichia coli strains from patients with cystitis., Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo., **50**, 5, 2008, 255-260.
- 6) Niewerth U., Frey A., Voss T., Le Bouguéne C., Baljer G., Franke S., Schmidt MA.: The AIDA Autotransporter System is Associated with F18 and Stx2e in Escherichia coli Isolates from Pigs Diagnosed with Edema Disease and Postweaning Diarrhea., Clin Diagn Lab Immunol., **8**, 1, 2001, 143-149.
- 7) Vidal M., Kruger E., Durán C., Lagos R., Levine M., Prado V., Toro C., Vidal R.: Single multiplex PCR assay to identify simultaneously the six categories of diarrheagenic Escherichia coli associated with enteric infections., J Clin Microbiol., **43**, 10, 2005, 5362-5365.