



2018年4月25日放送

「腸管出血性大腸菌 O157 はどこから来て、どこへ行くのか？」
 ～ゲノムからみた解析」
 九州大学大学院 細菌学分野教授 林 哲也

はじめに

O157 などの腸管出血性大腸菌による集団感染は、様々なマスメディアで何度も報道され、腸管出血性大腸菌は最も有名な病原細菌の一つとなっています。今回は、O157 に代表される腸管出血性大腸菌の特徴と、この大腸菌がどのようにして生まれ、どのように変化し続けているのかを、ゲノム解析の結果に基づいて解説します。スライド1に理解のポイントとなる3点を示しました。

腸管出血性大腸菌 (EHEC) O157はどこから来て、どこへ行くのか？
 ～ゲノムからみた解析～

理解のポイント

- (1) 大腸菌の多様性：その中でのEHEC O157とそのゲノムの特徴
- (2) O157と他の血清型のEHECの比較：EHECという同じ病原型をもった菌群の共通性と進化のメカニズム
- (3) O157の中での株間比較：菌株間にみられるゲノム多様性<<株の違い>>

Slide 1

大腸菌の多様性

まず、大腸菌の多様性についてですが、スライド2に示すように、ほとんどの大腸菌は様々な動物の腸管に常在し、非病原性あるいは易感染性宿主でのみ問題となる弱毒菌です。その代表が、DNA組換え実験に広く利用されているK-12株であり、1997年にその全ゲノム配列が決定されました。

大腸菌と大腸菌感染症の多様性

非病原性大腸菌 腸管の常在菌 (非病原性～弱毒)
 実験室株 K-12株 ———— 全ゲノム配列の決定 (1997, Blattner et al.)

病原性大腸菌

- 腸管内病原性大腸菌 (下病原性大腸菌)
 - 腸管侵入性大腸菌 (EIEC) ———— 赤痢様疾患
 - 腸管毒素原性大腸菌 (ETEC) ———— コレラ様疾患
 - 腸管病原性大腸菌 (EPEC) ———— サルモネラ様腸炎
 - 腸管出血性大腸菌 (EHEC) ———— 出血性腸炎、HUS
 - 腸管凝集性大腸菌 (EAEC) ———— サルモネラ様腸炎 (主に小児)
 - その他 ———— 多様な腸炎
- 腸管外病原性大腸菌 ———— 尿路感染症 (膀胱炎、腎盂腎炎)
 新生児髄膜炎
 敗血症

Slide 2

一方、ヒトに対して明らかな病原性を示す株も存在します。病原性大腸菌と呼ばれるこれらの大腸菌は、腸管内と腸腸管外病原性大腸菌に大別され、腸管内病原性大腸菌は、さらに5種類の病原型に分類され、それぞれが異なった腸管感染症や疫学パターンを示します。この中で、特に問題となるのが腸管出血性大腸菌 EHEC であり、その代表が O157 です。

EHEC 感染症の特徴

スライド3に EHEC 感染症の特徴をまとめました。

EHEC は、1980 年代に初めて見出された病原菌で、他の下痢原性大腸菌と異なり、主に先進国で大きな問題となっている点が大きな疫学的特徴です。

ウシなどの動物がリザーバーであり、その腸内から食品や水などを介して、ヒトに感染します。また、胃酸耐性があるために感染力

が強く、ごく少数の菌の摂取によっても感染が成立するため、家族内や保育所などでの2次感染も発生します。

症状としては一般的な下痢症の他、20%程度の患者で鮮血と強烈な腹痛を特徴とする出血性大腸炎を発症し、さらに一部の患者では、溶血性尿毒症症候群（HUS）や脳症などの重篤な合併症が生じます。脳症に関しては、治療法が確立していません。そのため、EHEC 感染症は、一度発生すると、医療先進国においても、ある頻度で死者が出る危険な感染症であると言えます。また、小児と高齢者がハイリスクで、特に HUS や脳症のほとんどは小児で発症しています。

EHEC の主要な病原因子は Shiga 毒素（Stx）で、Stx1 と Stx2 に大別され、菌株によって Stx1 と Stx2 のいずれか又は両方を産生します。また、Stx1 と Stx2 のそれぞれに何種類かのサブタイプが存在します。Stx は出血性大腸炎、HUS、脳症の発症に直接関係しますが、腸管感染の成立と下痢の発症には、LEE と呼ばれる領域にコードされる III 型分泌系など、その他の病原因子が必要となります。

血清型に関しては、比較的限定されており、我が国で分離される EHEC の 60%は O157、20%程度が O26 で、これに O111, O103, O145, O121 が続きます。O157 は、最初に発見された EHEC であり、世界的にも最も主要な EHEC であるため、ゲノム解析など、様々な研究で EHEC のプロトタイプとして解析が進んできました。

腸管出血性大腸菌 (EHEC: enterohemorrhagic *E. coli*) 感染症

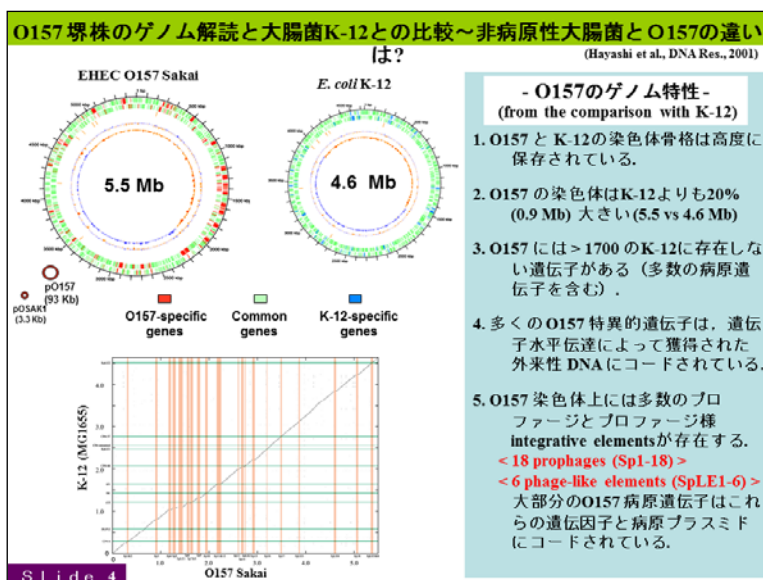
- 新興感染症の1つ (1980年代に発見)
- 大規模な集団感染と多数の散发例
- 先進国で多発 (他の下痢原性大腸菌との大きな違い)
- 感染経路: 牛などの腸管 ⇒ 食品・飲料水 ⇒ ヒト (⇒ ヒト) Photo: Dr. N. Kawamura (Osaka Rosai Hospital)
- 下痢～激しい出血性大腸炎
- 生死に関わる重篤な合併症: HUS, 脳症 (感染症法: 3類)
- 小児と高齢者: ハイリスク
- Shiga toxin 1 (Stx1)/ Shiga toxin 2 (Stx2)のいずれか又は両方を産生 (それぞれに、Stx1a-1c, Stx2a-2fなどのサブタイプが存在する)
- その他の病原因子群 (腸管への付着・増殖に必要な因子等; 特にLEE領域にコードされる3型分泌系など)
- 特定の血清型の大腸菌 (O157>> O26> O111, O103, O145, O121>その他)

Slide 3

0157 のゲノム解読と大腸菌 K-12 株との比較

EHEC の Stx 遺伝子がファージによって運ばれていることは、ゲノム解読以前に明らかになっていました。しかし、大阪堺市で 1996 年に発生した集団感染の原因となった 0157 の全ゲノム配列を決定し、非病原性大腸菌 K-12 株と比較することで、さらに詳細な 0157 の特徴、特にその進化の過程が明らかになりました。

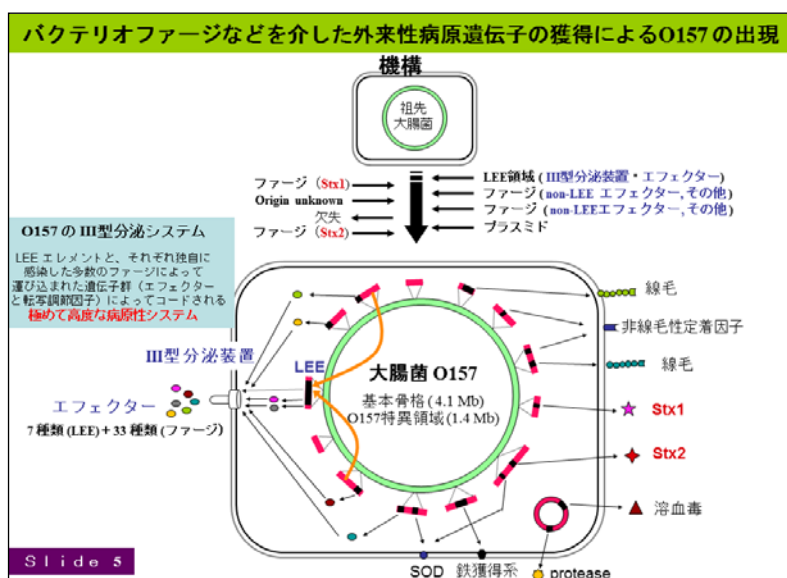
スライド 4 の左上に 0157 と K-12 のゲノムマップ、左下に染色体の基本骨格の配列比較を示しますが、これらの解析から、0157 と K-12 の染色体の基本骨格は非常に良く似ていること、しかし、0157 のゲノムサイズは K-12 に比べて 20% も大きく、K-12 には存在しない遺伝子が約 1700 も存在することが分かりました。



重要な点は、その大部分がファージなどの可動性遺伝因子によって運び込まれた外来性遺伝子であることで、0157 堺株の染色体には、18 種類ものプロファージと 6 種類の integrative element が挿入されており、2 種類のプラスミドも存在します。

ゲノム解析から見てきた 0157 の出現機構

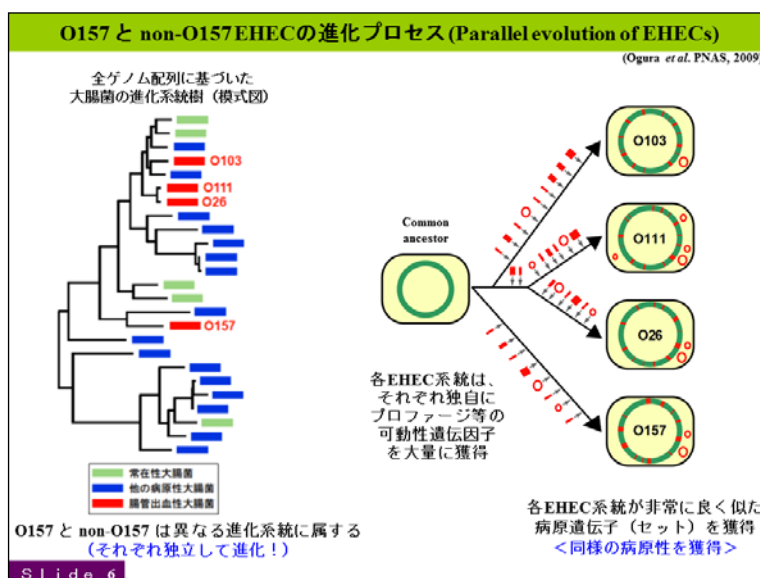
スライド 5 に、ゲノム解析から見てきた 0157 の出現過程を模式的に示しますが、ファージを中心とした可動性遺伝因子の上に、Stx1、Stx2、III 型分泌系遺伝子群の他、接着因子や溶血毒素など数多くの潜在的な病原因子がコードされており、大規模な遺伝子の水平伝播によって 0157 が出現したと考えられます。



ここで特に興味深いのは、LEE を中心とした III 型分泌系の進化です。LEE には分泌装置と、この装置によって分泌されるエフェクターなどがコードされていますが、0157 は大腸上皮に付着した後、エフェクターを腸管上皮細胞に注入することによって、上皮細胞への強固な付着、タイトジャンクションの傷害、炎症反応の抑制や促進などを惹起し、感染の成立と下痢発症に至ります。重要な点は、LEE にコードされるエフェクター以外に、30 種類ものエフェクターや、LEE の発現を制御する転写因子が複数のプロファージによって持ち込まれていることで、0157 の III 型分泌系は、LEE と多数のファージによって持ち込まれた遺伝子群によって形成された、極めて高度で複雑な病原性システムであると言えます。

0157 と non-0157 EHEC の進化プロセス

EHEC には 0157 以外の血清型をもつものが存在することは既に紹介しましたが、私たちは、主要なものである 026, 0111, 0103 の全ゲノム配列も決定し、その解析を行いました。その結果、スライド 6 に示すように、これらの EHEC は、0157 とは異なる大腸菌の進化系統に属し、それぞれが独立して進化してきた大腸菌であること、また、0157



と同様に、プロファージなどの多数の可動性遺伝因子を獲得しており、Stx や III 型分泌系遺伝子など、0157 と同様の病原遺伝子群がこれらの遺伝因子にコードされていることが明らかになりました。この結果は、それぞれの EHEC は、多数の可動性遺伝因子をそれぞれ独立に獲得し、その結果として、非常によく似た病原遺伝子セットを獲得したことで、EHEC という同じ病原型の大腸菌に進化したことを示しており、この現象は EHEC の平行進化とも呼ばれます。

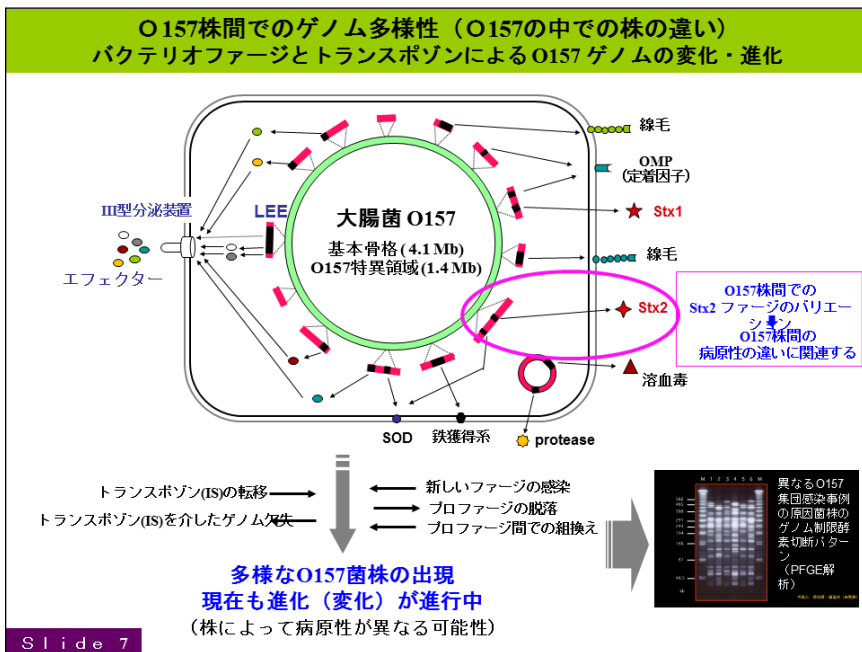
0157 のゲノム多様性

ここまで、0157 などの出現過程について解説してきましたが、最後に、一つの血清型の中での株の違いについての知見を紹介します。

集団感染の疫学調査では、分離菌のゲノムを制限酵素で切断し、その切断パターンの類似性を調べて、集団感染の検出や原因菌の検索を行います。0157 などでも同様の解

析が行われますが、このことは、同じ O157 でも株が違えば、異なる切断パターンを示すこと、つまり何らかのゲノムの違いが存在することを意味します。スライド7の右下にその例を示します。

私たちは、O157 において、このような多様性がどのようにして生じているかについても調べてきましたが、その結果、スライド7に示すように、プロファージの入れ替わりや、トランスポゾン(IS)の一種である IS エLEMENT の転移などによって多様性が生じて



いることが分かってきました。つまり、O157 では、これらの遺伝因子が駆動力となって現在でもゲノム進化が続いており、菌株間のゲノム多様性が生まれていると考えられます。臨床的に重要な点は、このようなゲノム多様性は病原性のバリエーションとも関連する可能性が高く、同じ O157 であっても菌株によって病原性が異なる可能性が示唆されることです。

実際に、O157 の系統解析などから、特定の O157 系統では HUS の頻度が高いことが報告されていますが、この点に関して、私たちは Stx2 ファージの違いに着目しています。

O157 菌株における Stx2 産生量の多様性

EHEC では、Stx1 だけを産生する株に比べて、Stx2 を産生する株は重症化率が高いと考えられています。しかし、O157 の中には、Stx2a、Stx2c、またはその両方を産生する株があります。さらに、スライド8に示すように、Stx2c の産生量は低いのに対して、Stx2a の産生量は非常に高く、しかもその産生量には株によって大きな異なります。

私たちの解析では、Stx2 ファージのゲノムの違いが Stx2 産生量を規定している可能性を示唆する結果が得られており、重症化リスクの高い O157 系統の出現には、Stx2 ファージのタイプが関係している可能性があります。

この点に関しては、今後、詳細な解析が必要ですが、株による病原性の違いについては、O157 においても、他の血清型においても、十分な注意が必要と考えられます。

O157菌株における Shiga toxin 2 (Stx2) 産生量の多様性

(Ogura *et al.*, Sci. Rep. 2015)

- # Stx2 は O157 の最も重要な病原因子 (特にHUS や脳症の発症に関与)
- # O157 は Stx2a, Stx2c, または両方のStx2を産生

Stx2aの産生量に違いはStx2ファージの違いによって規定される?
 ↓
 特定のStx2ファージを獲得したO157系統は病原性が高い?



Stx2aの産生量には O157 株間に顕著なバリエーションがある

Stx2cの産生量は非常に低い (誘導がかからない)