総説

[Jpn. J. Toxicol. Environ. Health]
[毒 生 化 学]
43 (1) 1-14 (1997)

—Reviews—

腸管出血性大腸菌 O157:H7 感染症

篠田純男,* 山本重雄, 友近健一, 三好伸一
岡山大学薬学部

Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 Infection

Sumio SHINODA,* Shigeo YAMAMOTO, Ken-ichi TOMOCHIKA,
and Shin-ichi MIYOSHI

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Okayama University, Tsushima-Naka,
Okayama 700, Japan

The first recognized outbreaks of hemorrhagic colitis occurred in 1982 in the United State and its etiologic agent was identified to be *Escherichia coli* O157:H7, a serotype not previously associated with diseases in humans. In Japan, isolates of the serotype O157:H7 from contaminated drinking water were first implicated in an outbreak occurred in 1990 in a kindergarten of the Saitama Prefecture, and at least other 12 such outbreaks have been recorded in 1993–1995. In the year 1996, unprecedentedly large outbreaks and many sporadic cases of disease caused by *E. coli* O157:H7 occurred in various parts of Japan, affecting more than 9000 people in total (11 deaths). In most cases, however, the ultimate source of the infection could not be traced.

Although many different serotypes of *E. coli*, which are collectively referred to as enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC), were found to cause bloody diarrhea, the serotype O157:H7 has been recognized worldwide as the pathogen associated most frequently with serious complications known as hemolytic colitis and hemolytic uremic syndrome. *E. coli* O157:H7 is characteristic of a low infectious dose, on the order of a few hundred organisms, which contributes to the spread of the infection in outbreak situations. Cattle are considered to be the major reservoir of EHEC including O157:H7. EHEC strains produce at least two immunologically distinct cytotoxins that closely resemble the Shiga toxin produced by the *Shigella dysenteriae* type 1 strains. These toxins (called Shiga-like toxins or Vero toxins) appear to be responsible for causing many pathological effects associated with EHEC infections. However, how the toxins move from the intestinal tract lumen to the sites where they damage the kidney remains to be evaluated. Moreover, there are some doubts about the value of antibiotic therapy in such infections because of the observation that some antibiotics can increase the toxin expression *in vitro* and because of the concern that EHEC which are lysing due to their actions in the gastrointestinal tract lumen may actually release more toxin than do intact bacterial cells. Unique biochemical characteristics of *E. coli* O157:H7— it ferments sorbitol very slowly and usually does not make β -glucuronidase— are used to differentiate this strain from other enteric *E. coli* strains. Alternative methods based on the detection of the toxins themselves by enzyme immunoassay are employed in parallel.

This review describes the current understanding of the infectious disease caused by *E. coli* O157:H7, with an emphasis on the main diagnostic tests and epidemiology for this serotype and the role of the toxins in pathogenesis.

Key words— enterohemorrhagic *E. coli*; serotype O157:H7; epidemiology; diagnostic test; Shiga-like toxin

1. はじめに

昨年(1996年)の夏は病原性大腸菌 O157:H7 による感染症が一種の社会不安を与えるほどの流行を示し、O157 という言葉が今や幼児さえ知る流行語になっている。この菌による感染症は 1990 年の埼玉県での集団例以来、わが国でも報告されていた。しかし、昨年は 5 月末の岡山県邑久郡の学校給食による集団例を皮切りに、同じ岡山県新見市や広島、岐阜などに飛び火し、7 月に入って大阪府堺市で 6000 人近い患者を出す集団例が発生するに至って、ついに厚生省では 8 月 6 日、O157 を含む腸管出血性大腸菌感染症を、患者の隔離を行わないなどの限定適用の条件をつけて伝染病予防法の指定伝染病に指定した。この年には、10 月 31 日までに、1 都 1 道 2 府 42 県で 9191 人の患者を記録した。

これだけの大発生にもかかわらず、岐阜市の集団例と神奈川県三浦市の単発例以外は原因食品が特定されていないことが社会不安の原因になっていると言える。なぜ、1996 年に至ってこのような大流行が起ったのか理由は分からないが、本稿ではそもそも O157 とは何なのかの情報を本誌の購読者である衛生に携わる方々に提供して、O157 に対する正しい理解を深めて、社会不安を取り除く一助としていただきたいと考えている。

なお、病原性大腸菌 O157 という言葉が一般的に使われており、本稿でも単に O157 とのみ記す場合が多いが、正しくは大腸菌 O157:H7 と書くべきであろう。O あるいは H は後述のように細菌の血清型を示す記号で、O は菌体抗原、H は鞭毛抗原を表わしており、O157 には O157:H7 以外に鞭毛を持たない O157:H⁻ も存在する。

2. 病原性を示す大腸菌の分類

一般の大腸菌 (*Escherichia coli*) は本来温血動物の腸管常在菌(寄生菌)であり、特に病気を起こすことはないと言われてきた。しかし、形態学的には区別できないが、本来腸管に存在する菌が腸管以外の部位に付着・定着した場合に尿路感染症や敗血症の原因となることがある(異所性感染)。大腸菌により最も頻繁に感染を受ける腸管外の部位は尿路系であり、外尿道口から侵入した菌の付着・定着により感染が成立する。特に尿路に基礎疾患を有さない単純性膀胱炎や小児における腎盂腎炎の原因菌として重要な菌である。単純性膀胱炎の原因菌としては大腸菌がその 90% 以上を占めており、タイプ 1 線毛保有大腸菌であることが多い。¹⁾ また、P 線毛を有する大腸菌が小児における腎盂腎炎の原因菌となりうると

の報告もある。²⁾ このような大腸菌をまとめて尿路病原性大腸菌 (Uropathogenic *E. coli*) と呼ぶこともあり、大腸菌感染症の代表的なものと考えられていた。その他にも、大腸菌は日和見感染として菌血症の重要な起因菌であり、様々な基礎疾患のために抵抗力の減弱した易感染宿主に対して明白な侵入門戸が認められないにもかかわらず肝、胆、腹膜、皮膚、肺等に感染を起こす。大腸菌は早発型新生児敗血症を起こす最も一般的なグラム陰性腸内細菌である。³⁾ 敗血症の 40% と髄膜炎の 80% の起因菌が K1 莢膜抗原陽性大腸菌である。⁴⁾

病原性を示す大腸菌は広義と狭義で定義されており、しばしば混乱の原因となっている。最も広い意味では病原性を示す大腸菌すべてを意味しており、尿路病原性大腸菌なども含まれる。通常は厚生省の食中毒統計に見られるように食中毒を起こす大腸菌(腸管病原性大腸菌)全体を指す言葉として使用されている。この場合、腸管を省略することも多く混乱に拍車をかけている。

ヒトに(腸管)病原性を示す大腸菌は、腸管付着性や毒素の産生能力等により Table 1 に示した 5 群に分類されている。⁵⁾ このうち最初に示した病原大腸菌(EPEC)とは狭義の意味で使用しており、サルモネラ菌と類似した病原性を示す菌が含まれる。EPEC の腸管上皮への付着・定着は、本菌の有するプラスミド上の遺伝子の産物である束状線毛(bundle-forming pilus, bfp)と染色体遺伝子産物である dsb (periplasmic disulfide bound oxidoreductase) の共同作用によりマイクロコロニー状の付着を起こし、*eaeA* 遺伝子産物であるインティミン(intimin)を介して上皮細胞に密着し(上皮細胞との間に約 10 nm の間隙が存在する)、*cfm* 遺伝子産物を介して細胞内にシグナルを伝達する過程を経て成立する。その後細胞内への菌の侵入が起こるがこの過程の詳細については不明である。^{6,7)}

ETEC はコレラ菌が産生する下痢原因毒素(cholera toxin, CT)と遺伝学的にほぼ同一である易熱性下痢原因毒素(heat-labile toxin, LT)や、より低分子量の耐熱性下痢原因毒素(heat-stable toxin, ST)を産生する菌である。本菌はプラスミド支配の colonization factor antigen (CFA) を介して腸管上皮に付着し、毒素を産生する。LT は B サブユニットで腸管上皮の G_{M1} ガングリオシドや 130—140 kDa 糖蛋白質に結合し、活性サブユニット(A サブユニット)が細胞内に侵入してアデニル酸シクラーゼを活性化し、ST はグアニル酸シクラーゼの細胞

Table 1. Types of *E. coli* Enteropathogens (Partial Modification of Guerant *et al.*⁵⁾)

	Toxin	Origin of gene	Pathogenic mechanism	Predominant O serogroups	Type of diarrhea
Enteropathogenic <i>E. coli</i> (EPEC)		1. Plasmid (60 MDa) 2. Chromosomal (<i>eaeA</i>) 3. Chromosomal (<i>cfm</i>)	Adhesion by bundle-forming pili Adhesion by intimin Tyrosine kinase and actin condensation	18, 26, 44, 55, 86, 111, 114, 119, 125, 126, 127, 128, 142, 158	Acute and persistent
Enterotoxigenic <i>E. coli</i> (ETEC)	LT Plasmid	Plasmid/ chromosomal Adhesion by CFA/I-V	Activation of adenylate cyclase 80, 85, 115, 128ac, 139, 148	6, 8, 15, 25, 20, 27, 63, 78, 153, 159, 167	Acute watery
Enteroinvasive <i>E. coli</i> (EIEC)	STa	Plasmid Plasmid (140 MDa) + Chromosomal	Activation of guanylate cyclase Cell invasion and spread (58—80 kDa protein)	11, 28, 29, 112, 115, 121, 124, 138, 143, 144, 147, 152, 164, 173	Acute watery Acute dysenteric
Enterohemorrhagic <i>E. coli</i> (EHEC) = Verotoxin-producing <i>E. coli</i> (VTEC)	SLT (VT)	Phage/Plasmid? (<i>eaeA</i> ?)	To halt protein synthesis	157, 26, 103, 111, 113	Bloody (±HUS)
Enterotoxigenic <i>E. coli</i> (EAggEC) = Enteroadherent <i>E. coli</i> (EAEC)	EAST-1	1. Plasmid (60 MDa) 2. Plasmid (60 MDa)	Adhesion by bundle-forming pili Activation of guanylate cyclase by EAST-1	3, 15, 44, 51, 77, 78, 86, 91, 92, 111, 113, 126, 141, 146	Persistent (Acute?)

外露部に結合しグアニル酸シクラーゼを活性化することにより下痢を引き起こす。⁸⁾

EIECはその病原性発現過程が赤痢菌のそれに全く同じである。それは両菌共に病原性因子と菌の細胞内侵入に関係した遺伝子をコードした140 MDaのプラスミドを有するからである。菌の病原性発現過程は、1) 細胞内への侵入、2) 細胞内での増殖、3) 細胞内及び細胞間での菌の拡散、4) 感染細胞の死滅の4段階に分けることができる。⁹⁾

EHECは菌体内に蓄積された毒素(Shiga-like toxin: SLTあるいはVero toxin: VT)が菌の破壊により放出され、この毒素が細胞内に取り込まれてタンパク合成を阻害して細胞死を起こさせる(詳細は後述)。¹⁰⁾なおEHECはTable 1に示したようにVTを産生することからVTECと呼ばれることが多いが、EHEC(腸管出血性大腸菌)の方が症状との関連を的確に表しているので本稿ではこれを用いる。

EAggECはDr血液型抗原を認識するDrグループの線毛(F 1845)を介して腸管上皮細胞に凝集して付着する。本菌のなかには耐熱性毒素STと良く似たEAST-1を産生するものも存在する。¹¹⁾

3. 大腸菌 O157:H7 及び類縁菌による感染症と疫学

VTを産生する大腸菌の存在は1977年にKonowalchukら¹²⁾により報告されていたが、この中にはO157:H7は含まれておらず、O26, O111などの血

清型の大腸菌であった。大腸菌 O157:H7 が広く注目されるようになったのは、1982年に米国のミシガン州とオレゴン州で同じファーストフード店のハンバーガーを原因食品とする出血性大腸炎(hemolytic colitis: HC)が集団発生し、その原因細菌としてO157:H7が単離されたのを契機としている。¹³⁾それ以来、この細菌は米国、カナダ、英国などの欧米諸国においては主要な食中毒原因細菌となっており、米国では毎年10000—20000人が発症していると推定されている。一方、わが国においても1984年にEHECによる集団下痢症が東京都の小学校で発生したが、このときの原因菌はO145:H⁻であり、O157:H7については1990年に埼玉県の子供園で発生した汚染された井戸水による集団下痢症が最初である。¹⁴⁾O157:H7に起因した国内の集団発生事例は、1993—1995年の3年間では12件であった。しかし、1996年には岡山県の小学校での食中毒を発端に、関西地方を中心として少なくとも19件の集団事例が発生した。そして、散発例を合わせた患者数は9000名を超え、過去に類を見ない大流行となった。

O157:H7による下痢症は、4—9日(平均5.7日)という比較的長い潜伏期の後に発症する。初期は感冒様の症状であるが、やがて激しい痛みとともに水様性の下痢が起こり、さらに2—6病日には鮮血あるいはタール様の便を排出するようになる。下痢の継続期間は成人では平均6.6日であるが、小児は少し長く平均9.1日である。また、出血性の下痢症に

進展した患者では平均 12.2 日間下痢が継続している。3—11 病日頃からは、血小板減少、尿量減少、貧血をきたすようになり、顔色不良、出血斑、血尿、浮腫、意識レベルの低下なども観察される。そして、小児と高齢者の患者を中心として、5—10%の患者では溶血性尿毒症症候群 (hemolytic uremic syndrome: HUS) に進展する。さらに HUS 患者の 20—35%は痙攣や意識障害を主症状とする脳症を合併する。また、高齢者の重症患者においては、まれにはあるが、血栓性血小板減少性紫斑症 (thrombotic thrombocytopenic purpura: TTP) を続発することもある。

このような臨床症状は O157:H7 の産生する VT によって引き起こされる。つまり、VT は腸管細胞、尿管細胞、血管内皮細胞といった標的細胞に結合した後、細胞内に取り込まれ、標的細胞のタンパク合成を阻害し細胞死を誘発する。¹⁵⁾ この毒素の遺伝子はバクテリオファージにコードされているので、毒素遺伝子を持つファージに感受性のある大腸菌は VT 産生株に変化する可能性がある。はたして、O26:H11, O91:H21, O113:H21 などの血清型も VT を産生することが知られており、これらの VT 産生性大腸菌 (VTEC=EHEC) による集団発生事例が国内外で報告されている。しかし、出血性大腸炎や HUS の原因となる EHEC の血清型はほとんどが O157:H7 である。わが国の医療機関と衛生研究所では、1991—1995 年の 5 年間に、10 種類の O 血清型に分類される 465 株の EHEC が検出されたが、そのうちの 82% (379 株) は O157:H7 であった。さて、VT には VT 1 と VT 2 の二つの亜型が存在しているが、毒性は VT 2 の方が強い。¹⁶⁾ 興味深いことに、これまでに単離されている大腸菌 O157:H7 のほぼ 100%は、VT 2 のみ、もしくは、VT 1 と VT 2 の両方を産生する株である。

ところで、急性溶血性貧血、血小板減少、腎不全の症状を呈する HUS は、1955 年に初めて報告された疾患である。病因としては微生物、薬剤、移植などが推定されていたが、1983 年になって EHEC との因果関係が明らかにされた。¹⁷⁾ 竹田ら¹⁸⁾ は 232 名の HUS 患者について抗体検査を行い、150 症例 (65%) から O157 に対する抗体を検出し、血清型 O157 の EHEC が原因細菌であることを明らかにした。さらに、161 症例からは VT に対する抗体を検出している。一方、米国やカナダの事例では、HUS 患者の 48—64%から大腸菌 O157:H7 が単離されている。¹⁹⁾

大腸菌 O157:H7 による下痢症はどの年齢層でも見られるが、年少者ほど感染率が高い。米国ワシントン州の調査では、全年齢層での対 100000 感染率が 2.1 であるのに対して、5 歳以下では 6.1 になっている。²⁰⁾ わが国で発生した O157:H7 を含む EHEC による感染症例 430 例についても、その年齢分布をみると、1 歳以下 40 症例 (9%)、2—5 歳 96 症例 (22%)、6—15 歳 223 症例 (52%) であり、やはり若年層での多発傾向がみられる。また、基礎疾患を持っている高齢者もハイリスクグループとなっている。EHEC による下痢症 (食中毒) は、北海道から九州まではほぼ全国にわたって発生しており、大きな地域的特徴や偏りは認められない。しかし、他の細菌性食中毒と同じ様に、6 月から 9 月に多く発生する夏期多発のパターンを示している。

大腸菌 O157:H7 は汚染された食品や水の経口摂取によって人の体内に取り込まれ、腸管内で増殖し下痢症を引き起こす。米国においては、ハンバーガーなどの肉類 (特に挽き肉) が原因となった食中毒事例がもっとも多い。¹⁹⁾ その他の事例においては、生の牛乳、酸性食品 (アップルサイダー、マヨネーズ、サラミソーセージ)、果物、野菜サラダなどが原因食品となっている。¹⁹⁾ 一般に酸性食品は安全であると考えられがちであるが、この食中毒細菌は pH 2.0 でも生存可能である。この耐酸性については十分留意しておく必要があると思われる。また、飲料水や環境水を介しての集団下痢症の事例も報告されている。例えば、オレゴン州では湖で水泳をしていた 21 人が下痢を起こすという事件が発生している。¹⁹⁾ さらに、家庭内での二次感染もしばしば起こっている。一方、わが国においては、井戸水が感染原因であることが明らかにされた 1990 年の埼玉県集団発生事例以外は、散発例を含め感染原因は特定されていない。1996 年は学校給食が原因と考えられた集団食中毒事例など大腸菌 O157:H7 に起因した下痢症が相次いで発生した。国内で単離された 400 株についての DNA 解析の結果、本年の大流行が起源を異にするいくつかの O157:H7 による同時流行であったことが明らかにされた。しかしながら、おなかサラダから O157:H7 が検出された岐阜県の集団食中毒事例、牛レバーから細菌が単離された神奈川県散発事例以外は原因食品は明らかにならなかった。大腸菌 O157:H7 に対する疫学研究が進んでいる米国では、たとえ細菌が単離されなくても、疫学的な調査の結果に基づいて感染原因が突き止められている。わが国においても今後は同様な戦略が

とられるのであろうか。

大腸菌は温血動物の腸管を本来の住処としている細菌である。したがって、O157:H7に感染している家畜のし尿によって食品や水などが汚染されると、食中毒の感染源となる可能性がある。牛肉や牛乳が原因食品となった事例が多いことから、牛が最も重要な保菌動物である可能性が高い。実際、ある食肉市場での調査では、EHECとO157を保菌している成牛の割合はそれぞれ7.6%、0.8%であった。また、他の調査では、牛以外に山羊と羊もある程度の頻度でO157に感染していること、豚と鶏はほとんど感染していないことが示された。一方、米国やカナダの食料品店で販売されている食肉(牛肉、豚肉など)についての調査では、O157の汚染率は1.5—3.7%であった。²¹⁾

栄養素の乏しい水環境では細菌はほとんど増殖できない。したがって、わずかな数の細菌で発症する伝染病とは異なり、数多くの細菌(10^7 — 10^8 個)を必要とする細菌性食中毒の場合には、汚染された水が感染源となることはほとんどない。しかし、大腸菌 O157:H7 は食中毒細菌であるにもかかわらず、非常に少ない細菌数 (10^2 — 10^3 個) でも発症するので、汚染水が感染原因となることがしばしばある。ところで、発症に必要な摂取菌量が少ないことが、二次感染を引き起こす原因にもなっている。食品衛生学では、細菌性食中毒では二次感染が起こらないが、経口伝染病では二次感染が起こるということが両者を区別する定義の一つになっている。本年8月に大腸菌 O157:H7 などの EHEC による腸管出血性大腸菌感染症は伝染病に指定された。上述の定義と照らし合わせても、EHEC に起因する下痢症は伝染病であるといえる。さらに、少量の菌量で発症し得ることは、潜伏期が長くなることにつながり、患者が発症した時に原因食品が既に残っておらず、感染源の特定が困難になる原因となっている。

4. 大腸菌 O157:H7 及び類縁菌の検査法

大腸菌は腸内細菌科に属し、周毛性鞭毛を持ち各種生化学性状の違いにより他の腸内細菌科細菌と区別される。糞便中に認められる大腸菌は乳糖分解性を示すので腸内細菌分離培地の多くは乳糖発酵の有無を判定できるように作られている。大腸菌の類別には、菌体表層に存在するリポポリサッカライド (LPS) を構成する糖鎖構造の違いによる O 抗原血清型別、鞭毛構成蛋白質の抗原性の違いによる H 抗原血清型別、莢膜を構成する糖鎖の違いによる K 抗原血清型別により得られた抗原式が用いられる。大

腸菌の類別に常用される O 抗原性は 170 以上の O 血清群に分類されている。H 抗原性は約 40、K 抗原性は約 100 の血清型に分類される。

EHEC の代表的菌株である O157:H7 は、本菌の大部分がソルビトール分解性や β -グルクロニダーゼ産生性を示さない点や、食品や水検体中の糞便大腸菌の分離に適用される 44—44.5°C の培養条件では生育しない点で特徴を有している。March と Ratnam²²⁾ は O157:H7 が他の大腸菌と異なりソルビトールを発酵できないことを見だし、糞便材料からの本菌の分離に、乳糖の代わりにソルビトールを添加したマッコンキー寒天培地が有効であることを報告している。彼らはこの培地を用いて 1000 検体以上の下痢便を検査し、出血性の下痢患者 18 名から大腸菌 O157:H7 を分離した。この場合、分離されたソルビトール非発酵菌の 85—95% は大腸菌 O157:H7 であった。但し、EHEC には O157 以外の O 血清型の大腸菌で SLT を産生する菌 (Shiga-like toxin-producing *E. coli*, SLTEC) も含まれるので、ソルビトール加マッコンキー寒天培地を用いての EHEC の分離に当たっては、釣菌するコロニーの数を増やすなどの注意が必要である。

食品や水検体からの大腸菌 O157:H7 の検出には、本菌の汚染菌量が極めて少ないため増菌培養後の培養液を用いて分離培養を行うことが必要である。増菌後の培養液から大腸菌 O157:H7 のスクリーニングを行う検出キットとしては、ELISA 法を応用した EHEC-TEK ELISA Test System (Organon Teknica Co.), NOW *E. coli* O157 Assay (Binax), TECRA *E. coli* O157 Visual Immunoassay (Bioenterprises Pty Ltd.), Single Step *E. coli* O157:H7 (Ampcor Inc.), mini VIDAS (bioMérieux) があり、O157 抗体を感作した磁気ビーズやラテックスを用いた菌の濃縮法としては DYNABEADS anti *E. coli* O157 (Dyanl) や *E. coli* O157 latex test (Oxoid Ltd.) がある。しかし、O157 抗血清は、*Brucella abortus*, *Salmonella* group N, *Vibrio cholerae*, *Yersinia enterocolitica* O9, *Francisella tularensis*, *Pseudomonas maltophilia*, *Citrobacter freundii*, *Escherichia hermannii* 等の菌と交差反応を示すので、これらの方法を過信することなく生化学性状の検査を付け加える必要がある。¹⁰⁾ また、前述のごとく O157 の 92—96% の菌は β -グルクロニダーゼを産生しないので、本酵素の蛍光基質である 4-methylumbelliferyl- β -glucuronide (MUG) 添加培地上に発育した O157 のコロニーに長波長の紫外線

(365 nm) を照射しても蛍光を示さない。²³⁾

ほとんどの O157 の鞭毛抗原性は H7 を示すが、非常にまれに他の抗原性を示す O157 が存在する。ただし、この菌は SLT を産生しない。また低頻度ではあるが運動性を示さない O157 も存在するので SLT 産生能を検討することも必要である。このような方法としては、PCR 法や DNA プローブ法による毒素遺伝子の検出や抗毒素抗体を結合したラテックス凝集法 (RPLA) がある。

以上の諸点を考慮した O157 の検出法として厚生省通達による食品及び水からの大腸菌 O157:H7 病原性大腸菌 O157 の検査法を Fig. 1-3 に参考のため示した。²⁴⁾ しかし、上述のように食品中の本菌の存在量は非常に少ないので、これらの方法でも検出される例はわずかであり、食品や環境試料からの有効な検査法の開発が望まれている。

5. 志賀毒素様毒素

O'Brien ら²⁵⁾ は大腸菌 O157:H7 や O26:H11 が産生する毒素のペロ細胞 (アフリカミドリザル腎細胞

由来) に対する活性が後述の志賀毒素 (Shiga toxin) に対する抗体で中和されることを見だし、この毒素を SLT (Shiga-like toxin) と名付けた。この毒素は前述のように VT とも呼ばれるが、本稿では出典に従い SLT の呼称を用いる。さらに、O157:H7 株からもう一つ物理化学的、免疫化学的性状の異なる毒素が精製され、²⁶⁾ そこで、前者を SLT-I、後者を SLT-II と呼んだ。その後、SLT-I は *Shigella dysenteriae* type 1 (志賀赤痢菌) の産生する志賀毒素と同一分子であることが示されると共に、SLT-II と抗原性やアミノ酸一次配列が一部異なる SLT-II 類似毒素 (SLT-IIc, SLT-IIe; これらは SLT-II variant と総称されている) の存在も明らかにされた。すなわち、EHEC の産生する毒素は志賀毒素そのものと SLT-II 群に大別できる。Table 2 にこれらの毒素の名称 (命名法は文献 27 に従った) と生物学的特徴などを示す。

5.1. タンパク質化学 これら毒素の分子量はいずれも約 70 kDa で、約 32 kDa の A サブユニッ

Fig. 1. Detection of Pathogenic *E. coli* O157. (1) Basic Method

Fig. 2. Detection of Pathogenic *E. coli* O157. (2) Method Combined with Enzyme Immunoassay (EIA)

ト1分子と、約7.7 kDaのBサブユニット5分子から構成されるA-B毒素(1A:5B)である。Aサブユニットは標的細胞内でプロセッシング(プロテアーゼによるニッキングとS-Sの還元)され、²⁸⁾ RNA *N*-glycosidase 活性を持つA₁フラグメント(*N*-端側、約28 kDa)とA₂フラグメント(*C*-端側、約4 kDa)に分かれる(Fig. 4参照)。一方、Bサブユニットオリゴマーは哺乳動物細胞表面の特異的レセプター、Gb₃(globotriaosylceramide)と結合し、毒素の細胞への侵入に寄与する。^{28,29)}

遺伝子から予想されるアミノ酸配列のSLT-IとSLT-IIの相同性はAサブユニットで約56%、Bサブユニットで約58%であった。^{30,31)}しかし、SLT-II群毒素間には両サブユニットにおいて高い相同性が認められている(Table 3)。³²⁾SLT-IIdはブタに浮腫を起こさせる菌からよく分離される。この毒素のBサブユニットはSLT-IIと高い相同性(83%)を示すにもかかわらず、主にGb₄(globotetraosylceramide)レセプターを介して標的細胞に取り込まれる。

Fig.3. Detection of Pathogenic *E. coli* O157. (3) Method Combined with Immunobead Assay

Table 2. Nomenclature and Characteristics of EHEC Enterotoxins

Nomenclature ^{a)}		Producing organisms (prototype strain)	Receptor ^{b)}	Gene
SLT	VT			
Shiga	Shiga	<i>S. dysenteriae</i> 1 (60R)	Gb ₃	Chromosome
SLT-I	VT1	<i>E. coli</i> (O26:H11,O157:H7) ^{c)}	Gb ₃	Bacteriophage
SLT-II	VT2	<i>E. coli</i> C600 [933w]	Gb ₃	Bacteriophage
SLT-IIc ^{d)}	VT2c ^{d)}	<i>E. coli</i> E3251 (O157:H)	Gb ₃	Bacteriophage
SLT-IIe ^{e)}	VT2e ^{e)}	<i>E. coli</i> S1191 (O139)	Gb ₄	Chromosome

SLT-II and SLT-II related toxins are not neutralized by antiserum raised against Shiga toxin or SLT-I. ^{a)} According to Ref. 27. The terms SLT and VT should be interchangeable. ^{b)} Gb₃, Gal α 1 $\rightarrow$ 4Gal β 1 $\rightarrow$ 4Glc β 1 $\rightarrow$ 1Ceramide; Gb₄, GalNAc β 1 $\rightarrow$ 3Gal α 1 $\rightarrow$ 4Gal β 1 $\rightarrow$ 4Glc β 1 $\rightarrow$ 1Ceramide. ^{c)} The most common serotypes producing SLT associated with human disease are O157:H7, O157:H⁻, O26:H11, O111:H⁻, and H8. ^{d)} SLT-IIc has been called SLT-II (VT2) vha or SLT-II (VT2) vhb. VT2c was often called VT2. ^{e)} SLT-IIe was called SLT-IIv and SLT-IIvp. VT2e has been called VT2v and VT2e.

Fig. 4. Schematic Representation of the Organization and Expression of the SLT-I Operon

The genetic map shows the locations of the promoters (P1, P2) and terminator (T) for the SLT-I operon. The primary translation products correspond to the unprocessed A and B subunits which have amino-terminal signal sequence (■). After internalization of the holotoxin (1A: 5B) into the target cells, the A subunit is subjected to proteolytic cleavage, which occurs after R273, and reduction of the S-S linkage between C242 and C261 to produce the A₁ fragment with the RNA glycosidase activity.

ヒト患者由来株の遺伝子解析や疫学調査などに基づいて、SLT-IIはSLT-IよりもHUS, TTPの発症にはより重要であることが指摘されていた。³³⁻³⁶⁾すなわち、SLT-IとSLT-IIあるいはSLT-IIのみを産生する菌の方がSLT-Iのみを産生する菌よりもこれらの病状を起こす頻度が高い。最近、SLT-IIのマウスに対するLD₅₀値がSLT-Iのそれの約400分の1と強力であることが示され、その理由としてSLT-IIは熱やpHに対してより安定性が高く、またレセプターに対してより高い親和性を示すことが挙げられている。³⁷⁾SLT-IIdの病態が他のSLTと異なるのはレセプターの相違に起因するのであろう。SLT-II遺伝子プローブを用いて多数の下痢患者や牛肉試料をスクリーニングし、*Citrobacter freundii*にもSLT-II関連遺伝子が存在し、ペロ細胞に対する毒素を産生していることが示された。³⁸⁾これらが腸管感染菌としてどれほど重要なのか、また、その遺伝子の由来はどうなっているのかなどは今後解決されるべき課題である。

さらに、大腸菌B2F1 (O91:H21)の産生するSLT-IIc (SLT-IIvha及びSLT-IIvhbと名付けられ

ている)はヒト結腸粘液とのインキュベーションによってペロ毒素活性が35—350倍増すという興味深い報告がなされている。³⁹⁾活性化されない他のSLT-IIcとアミノ酸配列を比較したところ、これら毒素のAサブユニットC-端付近(A₂フラグメントとなる部分)に特異的にアミノ酸残基の置換が認められた。これらの残基(S 291, E 297)が何らかの修飾を受け、標的細胞への侵入が促進され、細胞毒性が増すと考えられている。活性化因子や活性化機構の詳細、さらには活性化に伴う病状増悪との関わり

の解明が期待される。

5.2. 遺伝子の構成と発現調節 SLT-I, SLT-II, SLT-IIcの遺伝子は溶原化バクテリオファージのゲノムに存在する。しかし、志賀毒素とSLT-IIdの遺伝子はクロモソームにコードされている。大腸菌O157やO26株からはSLT-IをコードするH19AとSLT-IIをコードする993Wがプロファージとして同時に見つかっている。⁴⁰⁾H19Aや993Wに類似する配列は他のEHECにも存在するが、*Shigella* spp.では一切検出されていない。これらのファージは大腸菌間でのみ移動しうるのであろう。

Table 3. Comparison of the Predicted Amino Acid Sequences of the Processed A and B Subunits of the *slt-IIc* Genes with Those of the SLT-II Family^{a)}

Operon	% homology of the predicted amino acid sequence ^{b)}	
	A subunit	B subunit
<i>slt-IIc</i>	100 (100)	100 (100)
<i>vt2vha</i>	99.0 (99.1)	100 (100)
<i>vt2vhb</i>	99.0 (99.1)	100 (98.9)
<i>slt-II</i>	100 (100)	97.1 (96.6)
<i>slt-IIe</i>	94.2 (94.2)	82.9 (85.4)

a) Data are from Ref. 32. b) Values represent percent homology with the indicated sequences from the A and B subunits of *slt-IIc*. Numbers in parentheses are homologies comparing unprocessed gene products.

SLT-I オペロンの遺伝子構成と発現の模式図を Fig. 4 に示す。なお、志賀毒素オペロンはその上流（プロモーター、リボソーム結合部位）、下流（ターミネーター）の塩基配列も含めて SLT-I オペロンと同一である。⁴¹⁾ A, B 両サブユニットはシグナルペプチドを持つ分泌タンパクとして翻訳され、内膜通過の際にこのシグナルペプチドは除去される。ホロ毒素（1A:5B）へのアッセムブリグはペリプラスムでなされる。*slt-IA* の 5'-上流のプロモーターによって主に bicistronic mRNA として転写されると考えられている⁴²⁾ が、B シストロン独自のプロモーターの存在も示唆されている。⁴³⁾ さらに、B シストロンのより効率的な翻訳はそのリボソーム結合部位を含む mRNA の特異的な二次構造形成によってもたらされることが示された。⁴⁴⁾ このことはホロ毒素において B サブユニットが 5 倍多いことの説明に用いられている。他の SLT もほぼ同様の遺伝子構成で、両シストロンは 12—15 塩基対で隔たれている。しかし、検討された *slt-II* と *slt-IId* では B シストロン独自のプロモーターは認められていない。しかも、A シストロン上流のいずれのプロモーターにも *slt-I* プロモーターや他の既知の大腸菌プロモーターとの相同性は認められなかった。⁴⁵⁾ よって、SLT-II 群の転写効率などについてはなお検討の余地がある。

一方、以前から鉄イオンの豊富な培地では志賀毒素や SLT-I の産生が抑制されることが知られていた。²⁵⁾ 志賀毒素と SLT-I のプロモーター領域に Fur box（Fur は細胞内鉄イオンと結合して Fur-Fe²⁺ を形成する。これが Fur box に結合して当該遺伝子の転写を阻止する）の存在が示され、これを介する鉄制御機構が解明された。⁴⁶⁾ しかし、*slt-II*、*slt-IIc*、*slt-IId* には Fur box は認められず、鉄制御を受けない。⁴⁵⁾ このような発現調節の相違が宿主生体中での

それぞれの毒素の産生と病原性発現にいかに関わっているかはまだ十分には解明されていない。

最近、バクテリオファージにコードされている SLT-II オペロンの発現抑制における H-NS（DNA 結合タンパク）の関与とマイトマイシン（抗ガン抗生剤）によるファージ誘導に基づく顕著な毒素産生の増加が報告された。⁴⁷⁾ 特に、後者の事実 O 157: H 7 株でも認められ、注目されていた。⁴⁸⁾ さらに、ある調査によると HUS を発症した 85 人の癌患者の内 84 人が前月中にマイトマイシン治療を受けていたことが明らかにされている。⁴⁹⁾ HUS の主原因は SLT とされているので、この事例（cancer-associated HUS）はマイトマイシン治療によって無症状プロファージ菌から SLT-II 産生が誘導されることを強く示唆している。

5.3. 作用機構 各毒素の標的細胞におけるレセプターを Table 2 に示した。いずれの毒素もレセプターに結合後、ホロ毒素のままクラスリン被覆小胞としてエンドサイトーシスによって取り込まれる。毒素結合後、どのようなシグナルを介してエンドサイトーシスが惹起されるのかは明らかでないが、このレセプターはなんらかの膜タンパクと連結しているはずである。エンドソーム中でホロ毒素がプロセッシングを受け、活性本体である A₁ フラグメントが生成され、次いで、主に *trans*-Golgi network を経て小胞体に送達されると考えられている。^{28,50,51)}

A₁ フラグメントは RNA N-glycosidase であり、Fig. 5 に示す機構によってタンパク合成を阻害し、標的細胞を死に至らしめる。すなわち、真核細胞 60 S リボソームサブユニットの 28 S rRNA に作用し、その 5'-末端から 4324 番目のアデニンを特異的に加水分解し、遊離さす。⁵²⁾ その結果、伸長因子 (EF-1) 依存性 aminoacyl tRNA のリボソームへの結合が

たが、各地で単発例の報告が続き、9月27日には盛岡市で学校給食が原因と思われる集団例、さらに10月28日に帯広市の幼稚園で集団例が発生した。9月の2学期を迎えるに当たって給食再開の是非が各地で論議され、過剰とも思えるまでの神経を使って給食が行われた。これは当然、他の食中毒の予防にもつながっているはずであるが、実際には9月中旬に集団給食によるO157以外の食中毒がかなり発生している。加熱調理の徹底など当面の衛生面の対策がうたれているが、この機会に学校給食を根本的に見直すべきであろう。衛生面の確保が最も重要であるが、それに気を使うあまり、いたずらに熱をかけ過ぎるというのは、食材の味を生かす食の在り方から外れるものであり、消毒剤の過剰使用は消毒剤による薬害を懸念しなければならない。

O157の集団感染は米国、カナダ、英国などの先進国で従来多く報告されており、開発途上国ではあまり報告されていない。実際には開発途上国でも存在するが、他の病原体による症例が多いので表面に出ないのかも知れない。欧米の集団例でも保育園などの施設での発生もあるが、多くは特定集団ではなく、ファーストフード、特にハンバーガーによる一般市民の感染であるのに対して、わが国の例は多くが学校の集団給食である。わが国の学校では、欧米には見られない均一の大規模集団給食を実施していることがこの結果に現われていると言えるが、規模が大きいだけに一つ間違えば影響するところが大きい。ここ数年、地震対策、銃砲規制などの面でわが国の安全神話が崩れつつあるが、集団給食も衛生面の安全神話に乗って注意がおろそかになっていたと言えよう。この災禍を食品衛生の根本的改善のきっかけとすべきである。

厚生省は8月に、疫学的調査に基づいて堺の事例の原因食品として羽曳野市の業者のカイワレダイコンの可能性が否定できないとの見解を示したが、その後の調査でもO157そのものは検出されないため、生産業者や団体から非常な反発を受けた。しかし、その後の綿密な疫学的解析及びモデル実験の結果から、9月26日にやはりカイワレダイコンの可能性が高いとの最終報告を提出した。確かに疫学的に見れば可能性は高いとして重点調査対象にすることは正しい判断であろう。しかし、疫学的価値を理解させるに困難な一般社会にこのような形で公表することには異論もあろう。カイワレダイコンという食材そのものが汚染を受けやすいということが明らかになったわけではなく、また、たとえ原因食であっ

たとしても偶発的な汚染の可能性が高いわけであり、白黒のはっきりしないものを槍玉にあげて社会的制裁を受けさせるのではなく、食品製造・流通過程の衛生管理を見直す科学的な材料として活用するのが大切であろう。

O157の騒ぎを大きくした原因の一つに、適切な治療がないということがあり、本稿でも治療法の項をたてることが出来なかった。分離された出血性大腸菌は各種の抗生物質に対して感受性があるが、抗生物質療法には賛否両論があり、症状が現われてからの抗生物質投与は、むしろ下痢期間の延長や致死率の上昇などの逆効果を示すと記している報告もある。この原因として常在細菌を死滅させてしまうため、あるいは抗生物質がEHECの自己融解を促進して毒素を積極的に放出させるためなどの推測がされているが、いずれにしても下痢をすれば抗生物質を投与するという単純な術式が使えないのはやっかいである。しかし、菌が増殖して毒素を産生していない早期の抗生物質投与は当然有効であろう。今回の堺市の流行では健康保菌者の調査が行われ、保菌者への抗生物質投与で菌が検出されなくなっている。このように抗生物質の有効性は不明確であるが、データの蓄積が不十分であることもその一因である。今回の一連の流行でも不明確な情報のまま、試行錯誤を繰り返しながら様々な治療が試みられている。不幸な犠牲者まで出したこの経験をきちんと整理して今後の治療に役立ててほしいものである。抗生物質には種々の作用機構の異なるものがあるので、使われた抗生物質の相違によるきめ細かい分類を行えば、有効な抗生物質を見いだせるかも知れない。また止瀉薬も効果がなく、かえって悪影響を及ぼすと言われている。下痢による脱水症状には輸液療法、HUSに移行した場合も血漿交換や透析などの対症療法に頼らざるを得ないのが現状である。VTは細胞表面のglobotriaosyl ceramideをレセプターとしているので、このレセプターを結合させたChromosorbを用いて毒作用を中和させる試みなども行われており、本症にかかって治癒した人のγ-グロブリンを使用することも試みられようとしている。

治療薬の開発は薬学の使命である。O157を含めたEHEC感染症の治療薬開発にわが国の多くの薬学関係者が乗り出すことが望まれ、その際に本稿が少しでも役立てばと考えている。

References

- 1) Parkkinen J., Virkola R., Korkonen T.K., *Infect. Immun.*, **56**, 2623 (1988).
- 2) Roberts J.A., Kaack B., Kallenius G., *Invest. Urol.*, **131**, 163 (1984).
- 3) Aronoff S.A., Speck W.T., "Workbook in Practical Neonatology," ed. by Polin R.A., Bury E.D., W.B. Saunders Press, Philadelphia, 1983, p.57.
- 4) McCracken G.H., Freij B.J., "Pediatrics 18th Ed.," ed. by Rudolph A.M., Hoffman J.I.E., Appleton and Lange Press, California, 1987, p.479.
- 5) Guerrant R.L., Thielman N.M., "Infection of the Gastrointestinal Tract," ed. by Blaser M.J., Smith P.D., Ravdin J.I., Greenberg H.B., Guerrant R.L., Raven Press Ltd., New York, 1995, p. 687.
- 6) Edelman R., Levine M.M., *J. Infect. Dis.*, **147**, 1108 (1983).
- 7) Donnenberg M.S., Kaper J.B., *Infect. Immun.*, **60**, 3953 (1992).
- 8) Cohen M.B., Giannella R.A., "Infection of the Gastrointestinal Tract," ed. by Blaser M.J., Smith P.D., Ravdin J.I., Greenberg H.B., Guerrant R.L., Raven Press Ltd., New York, 1995, p.691.
- 9) Acheson D.W.K., Keusch G.T., "Infection of the Gastrointestinal Tract," ed. by Blaser M.J., Smith P.D., Ravdin J.I., Greenberg H.B., Guerrant R.L., Raven Press Ltd., New York, 1995, p.763.
- 10) Griffin P.M., "Infection of the Gastrointestinal Tract," ed. by Blaser M.J., Smith P.D., Ravdin J.I., Greenberg H.B., Guerrant R.L., Raven Press Ltd., New York, 1995, p.739.
- 11) Nataro J.P., "Infection of the Gastrointestinal Tract," ed. by Blaser M.J., Smith P.D., Ravdin J.I., Greenberg H.B., Guerrant R.L., Raven Press Ltd., New York, 1995, p.727.
- 12) Konowalchuk J., Speirs J.I., Stavric S., *Infect. Immun.*, **18**, 775 (1977).
- 13) Riley L.W., Remis R.S., Helgeson S.D., McGee H.B., Wells J.G., Davis B.R., Hebert R.J., Olcott H.M., Johnson L.M., Hargett N.T., Blake P.A., Cohen M.L., *N. Engl. J. Med.*, **308**, 681 (1982).
- 14) Joh K., *Rinsho To Biseibutsu*, **18**, 457 (1991).
- 15) Noda M., Yutsudo T., Nakabayashi N., Hirayama T., Takeda Y., *Microb. Pathog.*, **2**, 339 (1987).
- 16) Yutsudo T., Nakabayashi N., Hirayama T., Takeda Y., *Microb. Pathog.*, **3**, 21 (1987).
- 17) Karmali M.A., Steele B.T., Petric M., Lim C., *Lancet*, **i**, 619 (1983).
- 18) Takeda T., *Kagakuryoho No Ryhoiki*, **12**, 662 (1996).
- 19) Su C., Brandt L.J., *Ann. Intern. Med.*, **123**, 698 (1995).
- 20) Ostroff S.M., Kobayashi J.M., Lewis J.H., *JAMA*, **262**, 355 (1989).
- 21) Doyle M.P., Schoeni J.L., *Appl. Environ. Microbiol.*, **53**, 2394 (1987).
- 22) March S.B., Ratnam S., *J. Clin. Microbiol.*, **27**, 1675 (1989).
- 23) Thompson J.S., Hodge D.S., Borczyk A.A., *J. Clin. Microbiol.*, **28**, 2165 (1990).
- 24) Environmental Health Bureau, Ministry of Health and Welfare, Notification on operation of investigation of contamination of food materials with pathogenic *Escherichia coli* O157. Eishoku-196 and Einyu-174 (1996).
- 25) O'Brien A.D., LaVeck G.D., Thompson M.R., Formal S.B., *J. Infect. Dis.*, **146**, 763 (1982).
- 26) Strockbine N.A., Marques L.R.M., Newland J.W., Smith H.W., Holmes R.K., O'Brien A.D., *Infect. Immunol.*, **53**, 135 (1986).
- 27) Brunton B., "Molecular Genetics of Bacterial Pathogenesis," ed. by Miller V.L., Kaper J.B., Portnoy D.A., Isberg R.R., American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1994, pp.391-404.
- 28) O'Brien A.D., Tesh V., Jackson D.M., Olsnes S., Sandvig K., Lindberg A., Keusch G.T., *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, **180**, 65 (1992).
- 29) Lingwood C.A., *Ad. Lipid Res.*, **25**, 189 (1993).
- 30) Jackson M.P., Neill R.J., O'Brien A.D., Holmes R.K., Newland J.W., *FEMS Microbiol. Lett.*, **44**, 109 (1987).
- 31) Yutsudo T., *Nippon Saikingaku Zasshi*, **44**, 705 (1989).
- 32) Schmitt C.K., McKee M.L., O'Brien M.D., *Infect. Immun.*, **59**, 1065 (1991).

- 33) Klenthous H., Smith H.R., Scotland S.M., Gross R.J., Rowe B., Taylor C.M., Milford D.V., *Arch. Dis. Child.*, **65**, 722 (1987).
- 34) Ostroff S.M., Tar P.I., Neill M.A., Lewis J.H., Hargrett-Bean N., Kobayashi J.M., *J. Infect. Dis.*, **160**, 994 (1989).
- 35) Scotland S.M., Willshaw G.A., Smith H.R., Rowe B., *Epidemiol. Infect.*, **99**, 613 (1987).
- 36) Wadolowski E.A., Burris J.A., O'Brien A.D., *Infect. Immun.*, **58**, 2438 (1990).
- 37) Tesh V.L., Burris J.A., Owens J.W., Gordon V.M., Wadolowski E.A., O'Brien A.D., Samuel J.E., *Infect. Immun.*, **61**, 3392 (1993).
- 38) Schmidt H., Montag M., Bockemuhl J., Heesemann J., Karch H., *Infect. Immun.*, **61**, 534 (1993).
- 39) Melton-Celsa A.R., Darnell S.C., O'Brien A.D., *Infect. Immun.*, **64**, 1569 (1996).
- 40) Rietra P.J.G.M., Willshaw G.A., Smith H.R., Field A.M., Scotland S.M., Rowe B., *J. Gen. Microbiol.*, **135**, 2307 (1989).
- 41) Storockbine N.A., Jackson M.P., Sung L.M., Holmes R.K., O'Brien A.D., *J. Bacteriol.*, **170**, 1116 (1988).
- 42) De Grandis S., Ginsberg J., Toone M., Climie S., Friesen J., Brunton J., *J. Bacteriol.*, **169**, 4313 (1987).
- 43) Willshaw G.A., Smith H.R., Scotland S.M., Rowe B., *J. Gen. Microbiol.*, **131**, 3047 (1985).
- 44) Habib N.F., Jackson M.P., *J. Bacteriol.*, **175**, 597 (1993).
- 45) Sung L.M., Jackson M.P., O'Brien A.D., Holmes R.K., *J. Bacteriol.*, **172**, 6386 (1990).
- 46) Calderwood S.B., Mekalanos J.J., *J. Bacteriol.*, **169**, 4759 (1987).
- 47) Muhldorfer I., Hacker J., Keusch G.T., Acheson D.V., Tschaper H., Kane A.V., Ritter A., Olschlager T., Donohue-Rolfe A., *Infect. Immun.*, **64**, 495 (1996).
- 48) Karmali M.A., *Clin. Rev. Microbiol.*, **2**, 15 (1989).
- 49) Lesene J.B., Rothschild N., Erickson B., Korec S., Sisk R., Keller J., Arbus M., Woolley P.V., Chiazze L., Schein P.S., Neeffe J.R., *J. Clin. Oncol.*, **7**, 781 (1989).
- 50) Sandvig K., Prydz K., Ryd M., Van Deurs B., *J. Cell Biol.*, **113**, 553 (1991).
- 51) Sandvig K., Garred O., Prydz K., Kozlov J.V., Hansen S.H., Van Deurs B., *Nature (London)*, **358**, 510 (1992).
- 52) Endo Y., Tsurugi K., Takeda Y., Ogasawara T., Igarashi K., *Eur. J. Biochem.*, **171**, 45 (1988).
- 53) Yamasaki S., Furutani M., Ito K., Igarashi K., Nishibuchi M., Takeda Y., *Microb. Pathogen.*, **11**, 1 (1991).
- 54) Ohmura M., Yamasaki S., Kurazono H., Kashiwagi K., Igarashi K., Takeda Y., *Microb. Pathogen.*, **15**, 169 (1993).
- 55) Mangeney M., Lingwood C.A., Taga S., Caillou B., Tursz T., Wiels J., *Cancer Res.*, **53**, 5314 (1993).
- 56) Maloney M.D., Lingwood C.A., *J. Exp. Med.*, **180**, 191 (1994).
- 57) Tesh V.L., Ramegowda B., Samuel J.E., *Infect. Immun.*, **62**, 5085 (1994).
- 58) McKee M., O'Brien A.D., *Infect. Immun.*, **64**, 2225 (1996).
- 59) Knutton S., Baldwin T., Williams P.H., McNeish A.S., *Infect. Immun.*, **57**, 1290 (1989).
- 60) Acheson D.W.K., Moore R., De Breucker S., Lincicome L., Jacewicz M., Skutelsky E., Keusch G.T., *Infect. Immun.*, **64**, 3294 (1996).
- 61) Karch H., Heesemann J., Laufs R., O'Brien A.D., Tacket C.O., Levine M.M., *Infect. Immun.*, **55**, 455 (1987).
- 62) Schmidt H., Beutin L., Karch H., *Infect. Immun.*, **63**, 1055 (1995).