
総 説 **カンピロバクター感染時の腸管定着機構に関する知見**

Findings of intestinal colonization mechanism in *Campylobacter jejuni* infection.

根来幸恵 下畑隆明 中橋睦美 上番増喬 馬渡一諭 高橋章

Sachie NEGORO, Takaaki SHIMOHATA, Mutsumi NAKAHASHI, Takashi UEBANSO, Kazuaki MAWATARI, Akira TAKAHASHI

カンピロバクター感染時の腸管定着機構に関する知見

Findings of intestinal colonization mechanism in *Campylobacter jejuni* infection.

根来幸恵^{1,2} 下畑隆明² 中橋睦美² 上番増喬² 馬渡一諭² 高橋章²

¹東京医療保健大学 医療保健学部 医療栄養学科

²徳島大学大学院 医歯薬学研究部 予防環境栄養学分野

Sachie NEGORO^{1,2}, Takaaki SHIMOHATA², Mutsumi NAKAHASHI²,

Takashi UEBANSO², Kazuaki MAWATARU², Akira TAKAHASHI²

Division of Medical Nutrition, Faculty of Healthcare, Tokyo Healthcare University¹

Department of Preventive Environment and Nutrition, Institute of Biomedical Sciences, Tokushima University Graduate School²

要 旨：カンピロバクター・ジェジュニは頻発する食中毒の起因菌であり、宿主腸管に定着し、上皮細胞へ侵入することが知られている。腸管上皮細胞は粘液層に覆われており、病原性細菌が定着しないように守られている。この防御機能は粘液濃度に大きく影響され、Cl⁻チャンネルのcystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) によるCl⁻分泌と、それに伴う水の移行によって維持されている。近年、カンピロバクター・ジェジュニ感染が活性化されたCl⁻分泌を抑制することや、粘液成分が本菌の腸管定着因子をアップレギュレートすることが報告されており、カンピロバクター・ジェジュニ感染によるCl⁻分泌抑制が粘液層による防御機能を弱め、菌の腸管定着を促進している可能性が示唆された。今後、生存特性の更なる解明により、感染予防や治療方法の改善への貢献が期待される。

キーワード：食中毒、カンピロバクター、CFTR、腸管粘液層、腸管外排泄抵抗

Keywords：

1. はじめに

平成26年には全国で969件もの食中毒が報告されており、その患者数は約20,000人にも及ぶ¹⁾。食中毒の発症原因として、細菌性、ウイルス性、自然毒などが知られており、その中で細菌性食中毒は発症原因全体の約60%を占めている。細菌性食中毒は菌、あるいはそれが産生した毒素に汚染された食品を摂取することで引き起こされる。食肉及びその加工食品はしばしば食中毒の原因物質となり、厚生労働省が発表した食中毒統計資料からも、食肉及び加工食品を原因とする細菌性食中毒が増加していることが明らかである。特にサルモネラ属菌やカンピロバクター属菌、腸管出血性大腸菌など、食中毒起因菌は健康な家畜や家禽が保菌していることも多いため、感染リスクが高くなる。平成23年4月、富山県や福井県など4つの県において、焼肉チェーン店で生肉のユッケを食べた181人が腸管出

血性大腸菌による食中毒となり、そのうち5人が死亡するという大規模な感染も起こり²⁾、肉の生食に対する危機管理意識が近年益々高まっている。

生の食肉を介して感染する食中毒起因菌として、カンピロバクター属菌がしばしば問題となっている。本菌は生や加熱不十分である鶏肉を原因食品とした感染報告が多く、ヒトの腸管内に定着・生存し、カンピロバクター腸炎を誘導する。ヒトの腸管上皮は粘液層で覆われており、腸管病原性細菌の定着を防いでいることが知られているため、本菌は粘液層の防御機能に抵抗、あるいは適応する能力を持つことで持続感染を示すと考えられている。宿主腸管内における保菌の動向を明らかにすることは、カンピロバクター食中毒の予防や、食品衛生の向上に役立つと期待されている。本稿では、カンピロバクター属菌による食中毒発生状況と宿主腸管への病原性の発揮機構、さらに近年明らかにされつつある宿主腸管での生存方法について概説する。

2.カンピロバクター感染による 食中毒発生状況

カンピロバクター属菌を原因とする食中毒は、高い衛生水準を誇る先進国においても多く、日本でもその発生件数はノロウイルスに次いで多い (Fig.1a)^{1,3)}。細菌性食中毒では最も高い発生件数を示しており、細菌性食中毒の原因の約半数をカンピロバクター属菌が占めていることから、その発生頻度の高さが伺える (Fig.1b)¹⁾。カンピロバクター属は17菌種6亜種3生物型に分類されるが、カンピロバクター食中毒の患者から分離される菌種はカンピロバクター・ジェジュニ (*Campylobacter jejuni*) が95-99%を占めている。

カンピロバクター属菌は家畜や家禽の消化管に広く分布している常在菌であり、市販食肉においては、鶏肉の汚染率が極めて高い。平成24年度食品の食中毒菌汚染実態調査によって、国内に流通している鶏ミンチ肉の約36%が汚染されていることが明らかにされており⁴⁾、我々は感染リスクが非常に高い状況下におかれていると言える。カンピロバクター属菌は適切な加熱によって死滅するため、生あるいは加熱があまりなされていない鶏肉 (鶏刺し、タタキなど)、加熱不十分な鶏肉 (バーベキュー、鶏鍋、焼き鳥など) が食中毒の主な原因食品として頻繁に報告されている。上記の通り鶏肉は高い頻度でカンピロバクター属菌に汚染されているにも関わらず、内閣食品安全委員会が実施した調査によると、約20%の世帯が自宅で、約17%の人が飲食店で鳥刺しなどの鶏肉の生食をしている結果となり、鶏肉の生食が食中毒発生を助長していると考えられる。鶏肉を生食する人については、1食当たりの感染確率の平均値が家庭で1.97%、飲食店で5.36%、生食しない人については、家庭で0.20%、飲食店で0.07%と、大きく差があることが報告されており、飲食店での衛生管理の重要性が伺える⁵⁾。カンピロバクター食中毒発生の原因施設として、飲食店での発生が占める割合が増加しており、平成26年度では約66%を占めていた (Fig.1c)^{1,6)}。これらの報告から、カンピロバクター食中毒のリスク低減のためには、最も発生件数が多い飲食店における鶏肉の適切な保管、調理器具や手指等からの二次感染防止、鶏肉料理における加熱の徹底が重要となる。

3.カンピロバクターの病原因子

日本で発生する細菌性食中毒の起原因菌としては、カンピロバクター・ジェジュニの他に、黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*)、ボツリヌス

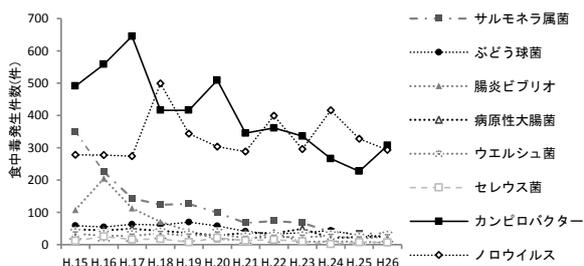


Fig.1 a) 本邦における食中毒発生件数の推移；文献 1) 3)

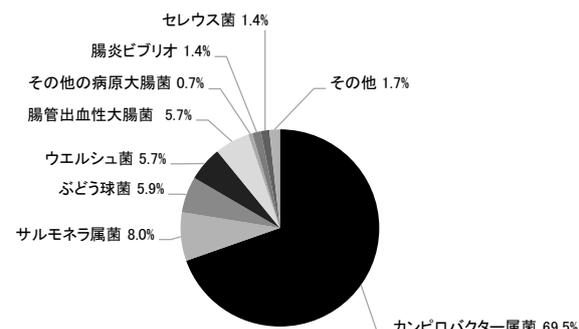


Fig.1 b) 平成26年度における食中毒に占める起原因菌の割合；文献 1)

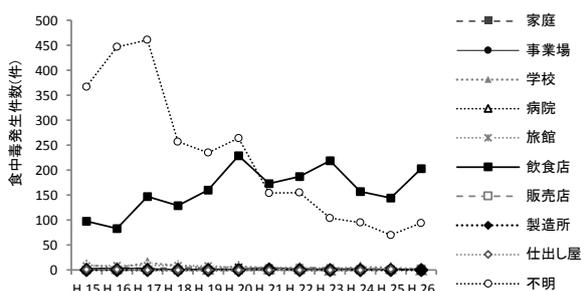


Fig.1 c) 施設別にみたカンピロバクター食中毒発生件数の年次推移；文献 1) 6)

菌 (*Clostridium botulinum*)、腸炎ビブリオ (*Vibrio parahaemolyticus*)、腸管出血性大腸菌 (*Escherichia coli*)、サルモネラ菌 (*Salmonella Enteritidis*) などが知られている。これら細菌性食中毒菌は、その発生機序の違いにより、毒素型と感染型の2つに大別され、感染型はさらに感染毒素型、感染侵入型に分類される。

毒素型食中毒には黄色ブドウ球菌やボツリヌス菌が分類され、これらの病原体が食品内で毒素を産生し、食品内に存在する毒素の摂取によって食中毒が生じる。一方で感染毒素型食中毒に分類される腸炎ビブリオや腸管出血性大腸菌では、食品を介して摂取された菌が腸管内で定着・増殖する際に腸管内で産生された毒素が腸管上皮細胞の炎症や壊死を引き起こす。カンピロバクター・ジェジュニやサルモネラ菌は上記2種の食中毒と異なり、食品を介して摂取された菌が腸管上皮細胞に付着・侵入することによって食中毒が生じる。サルモネラ属菌については研究の進展に伴い病原

Table.1 カンピロバクター・ジェジュニの腸管への接着・侵入に関わる因子

因子	機能	参考文献
CadF	フィブロネクチンへの接着促進	Konkel et al. (1997), Ziprin et al. (1999), Monteville et al. (2003), Scott et al. (2010)
CapA	接着・侵入促進	Ashgar et al. (2007), Flanagan et al. (2009)
CiaB, CiaC	侵入促進	Konkel et al (1999), Christensen et al. (2009)
FlaC	侵入促進	Song et al. (2008)
FlapA	フィブロネクチンへの接着促進	Flanagan et al. (2009), Konkel et al. (2010), Euker and Konkel (2012), Poly et al. (2007)
JlpA	HSP90- α への接着促進	Jin et al. (2001), Jin et al. (2003)
PorA	接着・侵入促進	Schröder and Moser (1997)

性に関する様々な因子が明らかにされているが、カンピロバクター・ジェジュニについては明らかな病原因子は特定されておらず、その病態の発症機構については不明な点が多い。しかしながらカンピロバクター・ジェジュニの腸管上皮細胞への侵入が、腸管上皮細胞において、炎症関連シグナルのMAPkinaseを活性化し、炎症性サイトカインinterleukin-8 (IL-8)の分泌を引き起こす事が報告されている⁷⁾。IL-8は好中球を遊走・活性化させる働きを持つ炎症のインシエーターとして知られていることから、カンピロバクター・ジェジュニの腸管上皮細胞への接着・侵入は感染による炎症や臨床所見と深く関わると考えられており、Table.1に示すように複数の因子が明らかにされている。一方で、宿主には病原性細菌に対する様々な防御機構が備わっており、多くの菌は死滅したり、排除されたりする。菌が接着・侵入を果たすには、その第一段階として宿主の防御機構に適応あるいは対抗し、腸管に留まる(定着する)ことが重要であることから、腸管定着に関わる因子を明らかにすることがカンピロバクター・ジェジュニの病原性解明において重要であると考えられる。

4. CFTRと病原性細菌に対する防御機構

腸管上皮細胞の表面は、杯細胞から分泌される粘液に覆われており、粘液層を形成している。粘液層は内腔側から上皮、粘膜固有層、粘膜筋板で形成され、腸管内容物の移送だけでなく、生体内に侵入した異物の定着抑制や除去に働いており、病原性細菌に対する防御機構として機能している。粘液層が機能的に働くためには、ムチン等の粘液成分の分泌の他、水分の分泌も重要であり、上皮細胞からの水の移行によって、腸管内は適切な粘度に保たれている。腸管における水の移行は腸管上皮細胞に発現しているイオンチャンネルによって制御されており、中でもcAMP依存性Cl⁻チャンネルであるCystic fibrosis transmembrane

conductance regulator (CFTR) が、主要な役割を果たしていることが知られている。種々の刺激によりCFTRが活性化されると、Cl⁻が管腔側へと分泌され、管腔側の浸透圧が上昇する。水の移行は浸透圧によって受動的に行われるため、CFTRの活性化により水も管腔側へ移行する。また、CFTRはCl⁻チャンネルとしての機能の他に、Na⁺ channel (ENaC) やK⁺ channels、Ca²⁺-activated Cl⁻ channelsといった他のイオンチャンネルやトラスポーターのレギュレーターとしての機能を持ち、管腔側への水の移行の制御因子として働いている^{8,9,10)}。そのためCFTRはイオンや水分の恒常性維持において重要な役割を担っていると同時に、粘液層の機能維持にも大きく関与していると考えられる。

感染によるCFTRへの影響については毒素産生型大腸菌やコレラ菌 (*Vibrio cholera*) の毒素での研究が進んでおり、CFTRの異常活性が下痢症を引き起こすことが明らかにされている^{11,12)}。腸管においてCFTRが活性化されると、管腔へ過剰にCl⁻が分泌され、管腔内の浸透圧が上昇する。その結果、管腔内に水が引き寄せられ、腸管管腔に液体の貯留が生じ分泌性の下痢となる。一方で、一部の腸菌やサルモネラ属菌は、CFTRのCl⁻分泌機能を抑制するなど^{13,14)}、腸管病原性細菌との関わりも多く報告されているが、詳細については未だ明らかにされていない。

CFTRによる粘液層の機能維持と細菌感染の関連については、気道における研究が進んでいる。CFTRは腸管の他に気道系に高く発現しており、CFTR遺伝子変異によって引き起こされる疾患、Cystic fibrosis (CF) では、CFTR機能障害によってCl⁻分泌障害、水の移行に異常をきたし、緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) による慢性気道感染症を引き起こすことが明らかにされている。これは気道上皮細胞を覆っている粘液の濃度が高まることで細菌に対する防御機構が破綻するためと考えられており¹⁵⁾、CFTRによるCl⁻分泌は、細菌の感染効率に大きく影響すると考えられている。

5. カンピロバクター感染によるCFTR抑制

腸管上皮は病原性細菌に対するバリアー機構として存在し、粘液層に覆われていることが知られており、特に侵入性を示す病原性細菌に対して重要な防御機構となる。カンピロバクター・ジェジュニは前述の通り、宿主上皮細胞に侵入することで病原性を発揮することが知られている。ヒト腸管の分泌性粘液成分ムチンの主要分泌因子Muc1欠損マウスではカンピロバクター・ジェジュニの感染による腸管の炎症が起こりや

すくなることが報告されており¹⁶⁾、粘液層による防御機構がカンピロバクター属菌の定着を阻害していると考えられている。一方でカンピロバクター・ジェジュニは粘液に対して正の走化性を示し、さらに粘膜との接触は菌の運動性を高め、菌の増殖を促進することが報告されているなど^{17,18)}、粘液層環境が菌の病原性に大きな影響を与えることも明らかになっている。これらの報告から、粘液層は防御機構であると同時に病原性を高める因子であり、粘液層の環境がカンピロバクター感染の成立に非常に重要であることが伺える。

近年、腸管病原性大腸菌やサルモネラ感染では、ヒト腸管上皮細胞及びマウス腸管上皮組織において、Cl⁻分泌を抑制するという下痢とは全く逆のチャネル活性が報告された^{13,14)}。菌によるCl⁻分泌抑制作用は、腸管内容物の排泄を妨げることで、病原性細菌が長く腸管に留まることができると感染を促進するための手段の1つと考えられている。興味深いことに、腸管上皮細胞のT-84細胞を使った実験で、カンピロバクター感染においてもCFTRチャネル活性が抑制されることが明らかにされた¹⁹⁾。カンピロバクター感染によるCFTR抑制はforskolin、Prostaglandin E₂ (PGE₂)等様々なCFTRアゴニストを用いた実験で共通に認められ、菌量、感染時間依存的にCFTRが抑制されることが明らかとなった。さらに、CFTRと同様に腸管上皮細胞のapical側に発現し、Cl⁻を管腔側へと分泌するイオンチャネルであるCa²⁺ activated chloride channel (CaCC)もまた、アゴニストのATP刺激によるチャネル活性が、カンピロバクター感染によって抑制されることが明らかとなり¹⁹⁾、カンピロバクター感染は様々なCl⁻チャネルを対象に、Cl⁻分泌を抑制することが示唆された。

Cl⁻分泌機能の低下は、粘液の濃縮、粘液層の流動減弱、異物排除の低下を引き起こす。これにより粘液層の恒常性は破綻をきたし、粘液層の防御機能は低下すると考えられる。さらに、粘液の濃縮は前述のカンピロバクター腸管定着を促進する因子のアップレギュレートに貢献していると考えられるため、総合的にカンピロバクター感染が成立しやすい環境への遷移を促していると考えられる (Fig.2)。そのため、感染初期においてCl⁻分泌抑制が重要な作用を示していると考えられる。カンピロバクター・ジェジュニは潜伏期間が他の食中毒起因菌に比べて長く (2-7日程度)、また、少ない菌数 (1 × 10²⁻³ 個程度) で病原性を示すという特徴をもっていることから²⁰⁾、Cl⁻分泌抑制はカンピロバクター・ジェジュニの感染効率を高めるための独自の戦略手段である可能性が示唆された。

カンピロバクター食中毒の症状として下痢が認めら

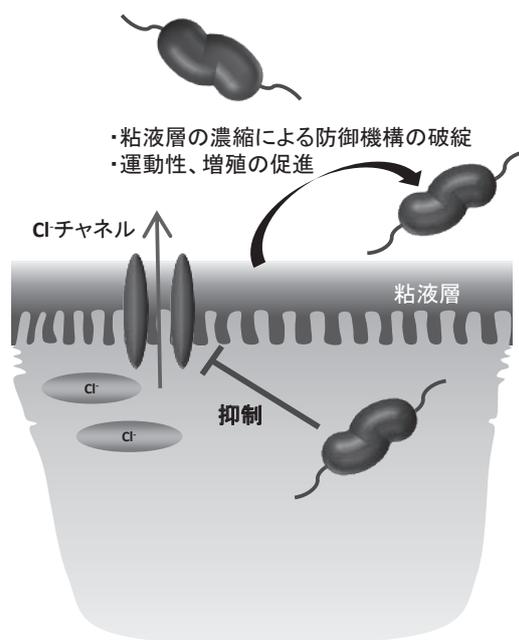


Fig.2 カンピロバクター・ジェジュニによるCl⁻分泌抑制機能

れるが、カンピロバクター感染においてCFTRの活性化は依然として確認されていない。下痢のメカニズムは未だに不明であるが、感染が長期化した場合のCFTRの活性について検討を行うこと、また感染により腸管での炎症が認められるため、炎症と下痢の関連について解析を行うことで今後カンピロバクター感染による下痢症におけるCFTRの関わりについても新たな発見が期待される。

6. 終わりに

カンピロバクター食中毒の予防、あるいはその症状を軽減させるには、本菌の生存特性や病原性を理解し、感染リスクを低減させるための適切な対応が必要である。流通している鶏肉の大部分が本菌に汚染されていることや⁴⁾、鳥刺しやたたきといった加熱不十分の鶏肉を提供する飲食店が多く存在することから、菌の摂取を完全に回避することは困難であると考えられる。そこで、摂取された菌が腸管に定着するのを防ぎ、感染を成立させないことが重要となる。近年、カンピロバクター・ジェジュニによるCl⁻分泌抑制機能が報告され、腸管定着の一助となることが示唆されたが、腸管定着メカニズムについては未だ不明な点が多い。菌の腸管内での動向を解明することで、頻発しているカンピロバクター食中毒の被害軽減に繋がると期待される。

参考文献

- 1) 厚生労働省, 平成26年(2014年)食中毒発生状況: 2015
- 2) Matano S, Inamura K, Konishi M, et al. Encephalopathy, disseminated intravascular coagulation, and hemolytic-uremic syndrome after infection with *enterohemorrhagic Escherichia coli* O111. *J Infect Chemother.* 2012;18 (4) :558-64. doi:10.1007/s10156-011-0336-9.
- 3) 厚生労働省, 年次別食中毒発生状況
- 4) 厚生労働省, 平成24年度食品の食中毒菌汚染実態調査: 2012
- 5) 食品安全委員会, 微生物・ウイルス評価書 鶏肉中のカンピロバクター・ジェジュニ/コリ: 2009
- 6) 厚生労働省, 資料1平成25年食中毒発生状況:2014
- 7) MacCallum AJ, Harris D, Haddock G, Everest PH. *Campylobacter jejuni*-infected human epithelial cell lines vary in their ability to secrete interleukin-8 compared to in vitro-infected primary human intestinal tissue. *Microbiology.* 2006;152 (Pt 12):3661-5.
- 8) Stutts MJ, Canessa CM, Olsen JC, et al. CFTR as a cAMP-dependent regulator of sodium channels. *Science.* 1995; 11;269 (5225) :847-50.
- 9) McNicholas CM, Nason MW Jr, Guggino WB, et al. A functional CFTR-NBF1 is required for ROMK2-CFTR interaction. *Am J Physiol.* 1997;273 (5 Pt 2) :F843-8.
- 10) Kunzelmann K, Mall M, Briel M, et al. The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator attenuates the endogenous Ca^{2+} activated Cl^{-} conductance of *Xenopus oocytes*. *Pflugers Arch.* 1997;435 (1) :178-81.
- 11) Gabriel SE, Brigman KN, Koller BH, Boucher RC, Stutts MJ. Cystic fibrosis heterozygote resistance to cholera toxin in the cystic fibrosis mouse model. *Science.* 1994; 7; 266 (5182) : 107-9.
- 12) Field M, Graf LH Jr, Laird WJ, Smith PL. Heat-stable enterotoxin of *Escherichia coli*: in vitro effects on guanylate cyclase activity, cyclic GMP concentration, and ion transport in small intestine. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1978; 75 (6) : 2800-4.
- 13) Li Z, Elliott E, Payne J, Isaacs J, Gunning P, O'loughlin EV. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* can impair T84 cell structure and function without inducing attaching/effacing lesions. *Infect Immun* 1999;67:5938e45.
- 14) Marchelletta RR, Gareau MG, McCole DF, et al. Altered expression and localization of ion transporters contribute to diarrhea in mice with *Salmonella*-induced enteritis. *Gastroenterology* 2013;145:1358e68.
- 15) Worlitzsch D, Tarran R, Ulrich M, Schwab U, et al. Effects of reduced mucus oxygen concentration in airway *Pseudomonas* infections of cystic fibrosis patients. *J Clin Invest.* 2002 Feb;109 (3) :317-25.
- 16) Julie L. McAuley, Sara K. Linden, et al. MUC1 cell surface mucin is a critical element of the mucosal barrier to infection. *J Clin Invest.* 2007; 117 (8) : 2313-2324. doi:10.1172/JCI26705
- 17) CM Szymanski, M King, M Haardt, G D Armstrong. *Campylobacter jejuni* motility and invasion of Caco-2 cells. *Infect Immun.* 1995 ;63 (11) : 4295-4300.
- 18) Martin Stahl, Lorna M. Friis, Harald Nothaft, et al. I-Fucose utilization provides *Campylobacter jejuni* with a competitive advantage. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011; 26; 108 (17) : 7194-7199. doi:10.1073/pnas.1014125108
- 19) Negoro S, Shimohata T, Hatayama S, et al. *Campylobacter jejuni* infection suppressed Cl^{-} secretion induced by CFTR activation in T-84 cells. *J Infect Chemother.* 2014; 20 (11) : 682-8. doi:10.1016/j.jiac.2014.07.007.
- 20) Black RE, Levine MM, Clements ML, Hughes TP, Blaser MJ. Experimental *Campylobacter jejuni* infection in humans. *J Infect Dis.* 1988; 157 (3) : 472-9.

