

家畜動物之大腸桿菌

O157

Escherichia coli O157
in Farm Animals

編輯

C.S. Stewart

H.J. Flint

Rowett Research Institute Aberdeen, UK

編譯

梁耀仁

國立台灣大學醫學院獸醫學士

國立陽明醫學院藥理碩士

國立台灣大學醫學院藥理所博士班

國家專技高考獸醫師



CAB International

合記圖書出版社 發行

家畜動物之大腸桿菌

O157

Escherichia coli O157
in Farm Animals

編輯

C.S. Stewart

H.J. Flint

Rowett Research Institute Aberdeen, UK

編譯

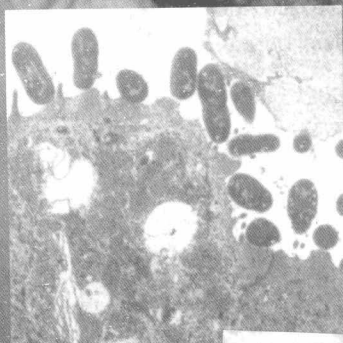
梁耀仁

國立台灣大學醫學院獸醫學士

國立陽明醫學院藥理碩士

國立台灣大學醫學院藥理所博士班

國家專技高考獸醫師



CAB International
合記圖書出版社 發行

家畜動物之大腸桿菌 O157 / C.S. Stewart, H.J. Flint

編輯：梁耀仁編譯.-- 初版.-- 臺北市：合記，

2004[民 93]

面：公分

含索引

譯自： *Escherichia coli* O157 in farm animals

ISBN 986-126-130-3(平裝)

1.大腸桿菌 2.家畜病理學

369.421

93013073

書 名 家畜動物之大腸桿菌 O157
編 譯 梁耀仁
執行編輯 王雪莉
發行人 吳富章
發行所 合記圖書出版社
登記證 局版臺業字第 0698 號
社 址 台北市內湖區(114)安康路 322-2 號
電 話 (02)27940168
傳 真 (02)27924702

總經銷 合記書局
北 醫 店 臺北市信義區(110)吳興街 249 號
電 話 (02)27239404
臺 大 店 臺北市中正區(100)羅斯福路四段 12 巷 7 號
電 話 (02)23651544 (02)23671444
榮 總 店 臺北市北投區(112)石牌路二段 120 號
電 話 (02)28265375
臺 中 店 臺中市北區(404)育德路 24 號
電 話 (04)22030795 (04)22032317
高 雄 店 高雄市三民區(807)北平一街 1 號
電 話 (07)3226177
花 蓮 店 花蓮市(970)中山路 632 號
電 話 (03)8463459

郵政劃撥 帳號 19197512 戶名 合記書局有限公司

西元 2004 年 9 月 10 日 初版一刷

原著序 (Preface)

在1998年4月在Bucksburn，Aberchen的Rowett研究機構中，舉辦一個討論家畜動物大腸桿菌O157發生的情形以及其細菌傳佈於環境和對人類影響狀況的討論會。蘇格蘭是迄今遭受單一細菌疾病侵襲最嚴重的地區，而其中所牽涉到一些科學性的問題和挑戰是應該在這會議中經由國際性團體被充分討論的。本書包含基於此議題有貢獻的文章，加上兩篇整合性的文章，由Victor Gannon 和 Roger Johnson 及他們的研究夥伴熱情同意所提供的。編輯在此非常感謝對於提供論文者能對於許多問題細心的回答，而任何可能因編輯過程缺失所造成的錯誤在此先行致歉。

由於他們對這個組織的幫忙以及工作室的運作，我們非常感謝 Dr. Andrew Chesson、Sylvia Duncan、Vera Smith、Margaret Davidson、Kate Masson、Hilary Robertson、Tony Richardson 與 Kenneth Young。我們同時也感謝提供附加財務上協助的 Marks、Spencer plc 與 Tesco Stores Ltd.。我們也感謝 Rowett 研究學會的指導者 W.P.T James 教授的熱情參與及支持。Rowett 研究學會是由 Scottish Office Agriculture, Environment and Fisheries Department 所資助的。

Colin Stewart and Harry Flint

Aberdeen, December 1998



隨著人與動物接觸的愈見頻繁，人與動物間的共同病原似乎也有日益精進的傾向。近期的SARS、禽流感、口蹄疫與狂牛症，都一再挑戰著獸醫師與人醫師們的智慧與決心。人與動物間的那道藩籬似乎正逐漸在瓦解當中。此書中所述的大腸桿菌O157：H7長久以來一直存在於人畜之間，並且持續在食介性疾病中帶給人類極大的威脅。此書文中收錄近幾年在大腸桿菌方面的研究，詳盡收錄從分子基因性質到臨床研究、人類與動物的致病感染狀況與傳播情形到可行控制策略的整合性文章，是為瞭解大腸桿菌很好的參考書。

要吸取新知最快的方式就是讀閱回顧整合性的文章（review articles），經由先進學者所撰寫的研究與經驗文章，進而快速瞭解所學主題的來龍去脈。藉此本書希望能使更多人對於大腸桿菌O157：H7有進一步的認識，希望能因為認識瞭解而能加以更妥善的控制。

文中若有遺漏與疏忽之處，不吝各位先進能給予指教。文中有些專有名詞以原文附上，以避免翻成中文所可能造成的誤解。專有名詞的中文參照自「生物技術暨遺傳工程辭典」。

此書能完成出版，最要感謝父親的協助與母親的支持在生活上的照顧，是他們使得我能順利達到這麼多的人生目標。謝謝琇真在醫學名詞的協助，這些一直是我更加向前的原動力。

梁耀仁 謹識

予 新光醫院

中央研究室暨實驗動物中心

2004年5月

***Escherichia coli* O157 in Farm Animals**

Edited by C.S Stewart

H.J Flint *Rowett Research Institute Aberdeen, UK*

ISBN 0-85199-332-X

Copyright© CAB International

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced in any form or by any means, electronically, mechanically, by photocopying, recording or otherwise, without the prior permission of the copyright owner.

Copyright © 2004 by Ho-Chi Book Publishing Co.

All rights reserved. Published by arrangement with
CAB International.

Ho-Chi Book Publishing Co.

Head Office	322-2, Ankang Road, NeiHu Dist., Taipei 114, Taiwan, R.O.C. TEL: (02)2794-0168 FAX:(02)2792-4702
1st Branch	249, Wu-Shing Street, Taipei 110, Taiwan, R.O.C. TEL: (02)2723-9404 FAX:(02)2723-0997
2nd Branch	7, Lane 12, Roosevelt Road, Sec. 4, Taipei 100, Taiwan, R.O.C. TEL: (02)2365-1544 FAX:(02)2367-1266
3rd Branch	120, Shih-Pai Road, Sec. 2, Taipei 112, Taiwan, R.O.C. TEL: (02)2826-5375 FAX:(02)2823-9604
4th Branch	24, Yu-Der Road, Taichung 404, Taiwan, R.O.C. TEL: (04)2203-0795 FAX: (04)2202-5093
5th Branch	1, Pei-Peng 1st Street, Kaoshiung 800, Taiwan, R.O.C. TEL: (07)322-6177 FAX:(07)323-5118
6th Branch	632, ChungShan Road, Hualien 970, Taiwan, R.O.C. TEL: (03)846-3459

本書經原出版者授權翻譯、出版、發行；版權所有。
非經本公司書面同意，請勿以任何形式作翻印、攝影、
拷錄或轉載。

目錄 (Contents)

原著序

譯者序

第 1 章	大腸桿菌 O157 的基因與分子型態 (Genetics and Molecular Ecology of <i>Escherichia coli</i> O157)	1
第 2 章	大腸桿菌的酸耐受性存在於尾端的刺？ (Acid Tolerance of <i>Escherichia coli</i> — the Sting in the Tail?)	27
第 3 章	大腸桿菌 O157:H7 以及瘤胃環境 (<i>Escherichia coli</i> O157:H7 and the Rumen Environment)	39
第 4 章	牛隻感染大腸桿菌 O157:H7 (Bovine Infection with <i>Escherichia Coli</i> O157:H7)	51
第 5 章	糞便排菌和大腸桿菌 O157:H7 在仔牛瘤胃中的增殖：實驗模式 (Faecal Shedding and Rumen Proliferation of <i>Escherichia coli</i> O157:H7 in Calver: an Experimental Model)	59
第 6 章	大腸桿菌 O157 和共生病原的交互作用以及控制的展望 (Commensal-Pathogen Interactions Involving <i>Escherichia Coli</i> O157 and the Prospects for Control)	71
第 7 章	在蘇格蘭的動物研究 (Animal Studies in Scotland)	91

第8章	大腸桿菌 O157：在英國 Sheffield 的 14 年經驗 (<i>Escherichia Coli</i> O157:14 Years' Experience in Sheffield, UK)	99
第9章	德國從人類、動物和食物所分離的大腸桿菌 O157 與其他黏液細胞毒性 <i>E. coli</i> O157 (VTEC) 型 (<i>Escherichia coli</i> O157 and Other Types of Verocytotoxigenic <i>E. coli</i> (VTEC) Isolated from Humans, Animals and Food in Germany)	121
第10章	接觸農場及農村環境的人類感染黏液細胞性大腸桿菌 (Human Infection with Verocytotoxigenic <i>Escherichia coli</i> Associated with Exposure to Farms and Rural Environments)	147
第11章	控制屠宰時的大腸桿菌 O157:H7 (Control of <i>Escherichia Coli</i> O157:H7 at Slaughter)	169
第12章	大腸桿菌 O157:H7 的生態循環 (The Ecological Cycle of <i>Escherichia coli</i> O157:H7)	195
第13章	未來方向或是我們接下來要怎麼做？ (Future Directions, or Where Do We Go from Here?)	225
索引		235

大腸桿菌 O157 的基因 與分子型態

(Genetics and Molecular Ecology of
Escherichia coli O157)

J.R. Saunders,¹ M.J. Sergeant,¹ A.J. McCarthy,¹
K.J. Mobbs,^{1,2} C.A. Hart,² T.S. Marks³ and
R. J. Sharp³

¹School of Biological Sciences and ²Department of Medical Microbiology, University of Liverpool, UK; ³Centre for Applied Microbiology Research, Porton Down, Salisbury, UK

◆ 引言 (Introduction)

大腸桿菌 O157 是最惡名昭彰的黏液毒性大腸桿菌(verotoxinigenic *E. coli*, VTEC)血清型，隸屬於跟人類疾病息息相關的 VTEC 亞型，此外也和腸出血型 *E. coli* (enterohaemorrhagic *E. coli*, EHEC)有相關性。最近發現的新病原 *E. coli* O157:H7 就被認為是其經由噬菌體黏液毒性(VT)的轉換而來的，這新病原的毒性遠大於溫和的病原前驅 O55:H7 和 O127:H6(Whittam, 1995)。由基因特性所決定的許多毒力決定因素，包含毒性產生、腸道表面的吸附性和腸細胞損害能力，都可在人類和動物身上所分離出來的很多種致病型態 *E. coli* 分離株中發現有共同點。致病性的 *E. coli* O157 不同於 EHEC 和 VTEC 是複雜的，因其含有多樣化的質體、噬菌體和染色體基因，而相似於腸毒性 *E. coli* (enteropathogenic *E. coli*, EPEC)，EHEC 含有毒性質體會促進非本質性附著，而毒性小島則負責本質性附著與作為訊息傳遞的裝置，以引致對哺乳動物腸細胞的吸附與移除作用（表 1.1）。此章將介紹 *E. coli* O157 致病性的分子基因和生物特性，特別是毒性轉換噬菌體在 VTEC 生活史中所扮演的角色。

表 1.1 E-Coli O157 和 VTEC 的毒力決定物原則

○ 抗原-LPS
毒力質體 (Virulence plasmid (~60MDa/90kbp))
Bundle-forming (type IV) pili (Bfp)
Ehx haemolysin
KatP catalase
Regulators of virulence genes (Per)
染色體致病性小島 (Chromosomal pathogenicity island)
Enterocyte effacement locus (LEE) (35 kbp)
Signal transduction (EspA, EspB, EspD)
Intimin (EaeA-94kDa) (colonic specificity?)
Translocated intimin receptor (Tir - 78 kDa - Hp90)
Type III secretion system (Sep, Cfm)
毒素轉換噬菌體 (Toxin-converting phages)
Enterohaemolysin (Ehly1, 2)
VT1 / VT2 (SLT)

◆ VTEC 引起的病理變化 (Pathology Caused by Vtec)

EHEC 能產生無徵兆的感染，引起非出血性的下痢、血痢或是出血性結腸炎 (haemorrhagic colitis, HC)、溶血性尿毒徵候群 (haemolytic uraemic syndrome, HUS) 和血小板減少性紫癍症 (thrombocytic thrombocytopenic purpura, TTP) (Griffin, 1995) (圖 1.1)。由 EHEC 所引起的出血性結腸炎會有嚴重腹痛、血便、可能輕微或沒有發燒的症狀，並且會有直腸黏膜水腫的病兆證據 (Griffin and Tauxe, 1991)。有接近 2~7% 的病人感染 VTEC 會引起全身性併發症，常見為 HUS 具有微血管病變性溶血性貧血、血小板減少症、腎衰竭和中樞神經徵候群的特徵。TTP 被認為是 HUS 的症狀，而其腎衰竭狀況通常輕微但神經方面的侵犯是較嚴重的 (Griffin, 1995)。

VTEC 感染過程中的主要困難在於一開始會產生一種或二種的黏液毒素，VT1 和 VT2；黏液毒性也就是大家所知的類志賀毒素 (shiga-like toxins, SLT)。此篇當中 VT 和 VTEC 會分別與 SLT 和 SLTEC 通用。目前有些證據顯示當病人全身性 VTEC 感染時在血液循環中會有 VT 存在。而直接去測量這毒素是困難的，因其只需要幾分鐘就能引致疾病發生。此外，VT 的球狀受器 globotriaosylceramide (G3b) 是血液族抗原 Pk 和 P1 的一部分，其可輕易的結合上 VT2 使得檢測發現率降低許多。VT 與 P 抗原的結合，可能也解釋為何當病患感染 EHEC 時，表現出低程度抗原的人反

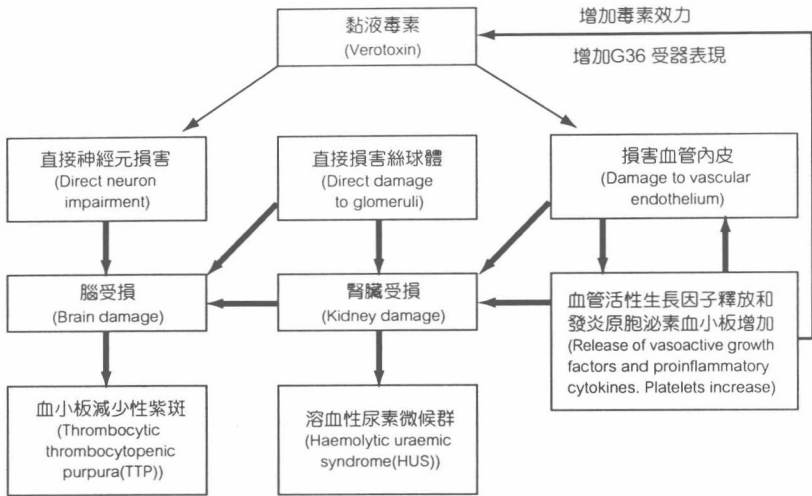


圖 1.1 *E. coli* O157 黏液毒素在疾病中的角色

而較可能發生HUS或TTP的狀況 (Taylor *et al.*, 1990)。

患有HUS的病患可能會有VT抗體於循環當中(Karmali *et al.*, 1983)。VT2也在本質上被認為是較弱的免疫原，例如，VT2的抗原反應並不能在試驗性感染表現VT1和VT2之O157:H7株的牛隻中被檢測出(Johnson *et al.*, 1996)。B淋巴球的標記—CD77，具有成為VT受器的功能(Maloney and Lingwood, 1994)並且參與於訊息傳遞路徑當中，以及調控B細胞的增生和分化。藉攻擊表現CD77的淋巴球，黏液毒素能抑制體液免疫反應。這將會抑制對VT1和VT2的抗體反應而使其能逃脫宿主免疫反應(Maloney and Lingwood, 1994)。事實上，無菌豬隻持續性感染表現VT1的*E. coli* O111已被發現會產生免疫妥協，其會降低周邊淋巴球數量並且降低對細胞分裂因子的增生反應(Christopher-Hannings *et al.*, 1993)。目前證實人類和動物的營養不良可能也在宿主易於感染VT中扮演一定角色 (Kurioka *et al.*, 1998)。

生物性活化VT1能使其在沒有明顯的細胞損害之下，穿過完好的腸表皮細胞(Acheson *et al.*, 1996)。而在腸表皮細胞尖端表面所表現的VT受器，可能會對於腔內VT1吸收性提供一些保護，這可解釋VT2表現株毒性為何會比較強。因為VT2與受器結合的能力較VT1弱，故其比較更容易從腔中被吸收。一旦進入血流當中，VT2就能再次藉由結合到較弱效力的P血液抗原而躲過去活化作用。而當其

抵達腎臟皮質時，由於此處富含 G3b，VT2 能更輕易的產生結合並發揮破壞的能力，即使是在很短的幾分鐘之間。

在 *Citrobacter freundii* (Schmidt *et al.*, 1993) *Enterobacter cloacae* (Paton and Paton, 1996) *Aeromonas* spp. (Haque *et al.*, 1997) 中，VT 基因已有超過 100 種血清型被發現 (Rietra *et al.*, 1989; Mobbs, 1997)。O157:H7 是目前最常在具有症狀的病人身上分離出來的血清型，此外 O157 株也是在牧場環境中所常見的 (Porter *et al.*, 1997)。而在非 O157 血清型當中，O26:H11、O103:H2、O111:NM 和 O113:H21 則是最常被分離出的 (Griffin and Tauxe, 1991)。非 O157 VTEC 較少引起嚴重的症狀，不過感染後病情通常會持續較久，而許多非 O157 VTEC 株並不屬於人類的病原菌 (Ramotar *et al.*, 1995)。有部分健康人的糞便中會和具有下痢症狀的病人檢體中，發現相同的非 O157 VTEC 細菌 (Gunzer *et al.*, 1992)。此外，非 O157 VTEC 比 O157 更常在食物樣本及牛隻糞便中被分離出來 (Griffin, 1995)。從 HC 或 HUS 病人所分離出的非 O157 則經常是比動物中所分離出的，更常會具有位於 60 MDa (90 kbp) EHEC 質體和 *eaeA* 基因中的關鍵毒性決定因子。這意味著許多從動物分離出的非 O157 VTEC 株並不是人類的病原 (Beutin *et al.*, 1995)。經由基因探針的方式，也清楚指出 (表 1.2) *E. coli* 族群能攜帶許多和 EHEC 病原有關的複合基因 (Mobbs, 1997)。但是其只有在具有完整或接近完整的正確基因序列時才能有致病力。而整個 *E. coli* 族群被認為是個廣大的基因庫能作為保毒儲存庫，用以產生新型複合的毒性因子和對人及動物都重要的新型流行株。事實上，*Shigella* spp. 的完整黏液毒性就被認為是此基因庫中的一部份。

◆ EHEC 病原產生的決定因素

(Determinants of EHEC Pathogenicity)

EHEC 傾向在直腸產生吸附-移除(att/eff)病徵，這和 EPEC 在小腸上段所造成的傷害很相似，因此其也對於瞭解此病徵病理上機轉提供很好的研究模式。EPEC 會密切的黏附在腸細胞膜上，腸細胞膜在菌體周邊會產生杯狀構造，而典型基座構造通常會在細菌的下緣形成。此時，微絨毛會消失且紋狀綠會與含有腸細胞酵素的小泡結合並被分解掉。在細菌產生 att/eff 作用下方的細胞其骨架微纖維結構中的多聚肌動蛋白會向細胞質尖端產生集中現象。微絨毛脫落和細胞骨架的重新排列，伴隨著紋狀酵素活性的消失會造成表面吸收力下降，因而引起滲透性下痢。(Hart *et al.*, 1993)。根據這些現象，*E. coli* O157 和其他的 EHEC 會產生多種毒素進而破壞

表 1.2 選擇地 VTEC 分離株毒力決定基因序列的分佈

分離株 (Isolate)	血清型 (Serogroup)	EHEC	VT1	VT2	eaeA
C409	O4	-	+	-	-
C415	O26	+	+	-	+
D172	O26	+	+	-	+
D175	O111	+	+	+	-
C412	O111	+	+	-	+
D167	O113	+	-	+	-
D176	O113	-	-	+	+
D166	O121	+	-	-	+
D165	O126	-	-	+	-
D177	O145	+	+	-	+
C877	O157	+	+	+	+
D420	O157	+	-	+	+
C410	O160	-	+	-	-
D178	ROUGH	+	-	+	+
D149	ND	+	+	+	+
D152	ND	+	+	-	+
D156	ND	-	-	+	+
D157	ND	+	-	+	+
D160	ND	-	+	-	+
D161	ND	+	-	-	+

+, 和專一標地基因探針雜交, -, 無雜交; ND, 測定不到。探針: VT1, verotoxin1; VT2, verotoxin2; eae A; EHEC

腸組織並進入血流循環當中引起多種更嚴重的病兆。*E. coli* O157所引起的致病性是很多樣化的(表 1.1)且其交互性也是相當複雜的。

黏附因子 (Adherence factors)

EAF (EPEC 黏附因子) 是 60-MDa 的非自體傳染性質體, 表現在許多 EPEC 株和 EHEC 的類似質體當中 (Hale *et al.*, 1992) 會於第四型束狀形成纖毛上 (bundle-forming, Bfp) (Donnenberg *et al.*, 1992)。從個別不同菌來的 Bfp 凝集 (aggregation) 會形成獨特附著模式稱為局部性附著 (localized adherence, LA), 也就是細菌細胞附著在組織培養細胞上會成為不同的微聚落 (Nataro *et al.*, 1985)。許多 EPEC 株也能附著在 HEp-2 細胞上, 此性質於腸毒性 *E. coli* (ETEC) 或腸侵犯性 *E. coli*

(EIEC) 株是少見的。失去 EAF 質體將會失去 LA 表現型以及吸附到 HEp-2 細胞的能力。然而，單獨只有 EAF 質體並不足以產生完整功能的 Bfp，通常也需要有染色體基因座包含在內才行 (Donnenberg and Kaper, 1992)。缺乏 EAF 質體的 EPEC 與自願受試者比較不會產生致病性，但是其仍具有在活體外產生引起 att/eff 病徵的能力 (Levine *et al.*, 1985)。EAF 質體屬於 *per* 基因，其加強表現染色體 *eaeA* 基因 (參見下方) 且和熱調控蛋白質表現基因 *envY* 的序列有關連性 (Jerse and Kaper, 1991)。*SepB* (分泌 EPEC 蛋白) 基因與 att/eff 病徵形成有關，其在此時會產生至少 5 種蛋白質 (McDaniel *et al.*, 1995)。

表現在大多 EHEC 株的 60 MDa 質體，具有溶血素、纖毛聚落化抗原以及其他毒性決定因素 (表 1.1)。此質體在一開始吸附黏膜表面時具有功能 (Karch *et al.*, 1987)，因此若 O157:H7 株移除這質體就不能產生纖毛並且會失去黏附腸細胞的能力。相反地，若 *E. coli* K-12 株植入這 60 MDa 的質體就能夠產生纖毛並且具有黏附腸細胞的能力。大不相同的，Junkins 和 Doyle (1980) 指出不含質體的 O157:H7 衍生物黏附到 Henle 407 細胞的能力是比同源株大上三倍的。此外，五種 O157:H7 株中，只有一種具有纖毛樣的 60-MDa 質體而能黏附在 Henle 407 和 HEp-2 細胞上 (Sherman *et al.*, 1987)。令人驚奇的是，雖然目前直腸被認為是 EHEC 感染人類和動物的主要位置，但是 O157:H7 株並無法黏附在人類直腸癌而來的 Caco-2 細胞株 (Knutton *et al.*, 1989)。而若將 60-MDa 質體轉殖到 K-12 株後其形成的黏附力較弱，但仍能夠形成支座樣構造以及細胞附著點處的肌動蛋白聚集 (Toth *et al.*, 1990)。當野生型 EHEC 株 933 和其無質體衍生物 933-cu，共同感染由 streptomycin 治療的老鼠時，雖然無質體株仍有能力在老鼠腸道形成聚落，不過具質體的野生株總是能壓過不具質體的衍生物 (Waldolkowaski *et al.*, 1990a, b)。

EHEC 株已在 log-jam 模式中顯示其黏附人類迴盲腸表皮細胞 (HCT8) 的能力 (Mckee and O'Brien, 1995)。但在 Hep-2 細胞實驗中則並未觀察到在此模式中產生的現象，這和 EHEC *eaeA* 基因無關 (參閱下方) 而是因為與非致病性株共同作用所致，不過並不是 *E. coli* K-12 株。Log-jam 表現型可能在 EHEC 株和腸細胞交互作用起始的過程中有其附加的意義存在。移除 EAF 質體的 EPEC 株可能因為感染近端小腸的能力減弱而較不具致病性 (Tzipori *et al.*, 1989, 1995)。相反的，根據 Waldolkowsk *et al.* (1990b) 的實驗顯示，移除 EHEC 株 (933-cu-rev) 並不像其他的 EHEC 株，其還是能在遠端小腸形成聚落化而使老鼠死亡。

黏附／移除作用形成的基因 (Genetics of att/eff formation)

對 att/eff 形成所必需的所有基因都位於一個大型染色體基因座（致病小島）稱為 LEE（locus of enterocyte effacement, 腸細胞移除位置）。LEE 在其他引起 att/eff 病兆的腸病原中是被保存的，包含 EPEC、EHEC、*Hafnia alvei* 與 *Citrobacter freundii* (McDonaniel *et al.*, 1995)。*eaeA*（腸細胞黏附與移除）基因位於 LEE 的 94-kDa 外膜蛋白(intimin)，其顯示出與 *Yersinia* spp. 相類似的侵犯性 (Jerse *et al.*, 1990)。這基因在所有分離出的 EPEC 株中都存在，類似物也在大多數的 EHEC 株中存在 (McDonaniel *et al.*, 1995)。EHEC *eaeA* 基因似乎對結腸表皮有專一性的附著能力，這跟 EPEC intimin 所表現的近端小腸附著專一性是相反的 (Griffin, 1995)，而在典型的 (O111) EPEC 中發現有不一致的序列，特別在 3' 末端位置 (Yu and Kaper, 1992)。EHEC 的 att/eff 性質並不一定和 intimin 有關：O113:H21 株所產生的臨床症狀和被能引起 att/eff 株所感染的病徵是不相上下的，而目前認為其是不含 *eaeA* 的 (Dytoc *et al.*, 1994)。而在宿主血漿膜上的 F 肌動蛋白黏附基座，以及其他細胞附著病兆下的細胞骨架也都是缺少的。圖 1.2 顯示“傳統”黏附／移除過程的三階段模式，這最初是由 Donnenberg 和 Kaper 所提出的 (1992)。這模式包括最初 Bfp 與其腸細胞上受器的交互作用，接著藉由 intimin (EaeA) 調控造成更緊密的附著，另外經由其他 LEE 基因上專一的訊息傳遞而引起肌動蛋白的積聚與細胞骨架的重新排列。EPEC 引起 att/eff 病兆的訊息傳遞路徑，包含宿主細胞的 tyrosine kinase 磷酸化 90-kDa 蛋白 (Hp90) (Rosenshine *et al.*, 1992)。雖然，Hp90 最初被認為是宿主的蛋白，目前則清楚知道 LEE 的基因產物 translocated intimin receptor (Tir) 是黏附／移除細菌所獨具的 (Wolff *et al.*, 1998)。這獨特的性質包含細菌病原產生和運送自己的受器到哺乳宿主的腸細胞上，作為形成特徵性的黏附／移除病兆序曲 (Wolff *et al.*, 1998)。

Att/eff 的訊息傳遞機制是複雜的，並且包含第三型 contact-dependence 分泌機制，以及分泌蛋白 EspA、EspB 和 EspD 的參與。EspA 形成細絲狀結構，相似於 *Salmonella* 侵犯型，其主要作用為一開始的附著，更主要的是成為第三型分泌系統中的傳遞機制 (Knutton *et al.*, 1998)。經由 EspA 纖毛，EspB、EspD 和其他組成，例如 Tir 蛋白（又稱 Hp90），可能從細胞被送到腸細胞中 (Wolff *et al.*, 1998)。目前很清楚的是傳統模式（圖 1.2）可能不足以解釋 EPEC 和 EHEC 的所有黏附性質，因此，Hicks 等人提出對於 EPEC 致病性修定成為四階段的模式 (1998)，而在起初的黏附則可藉由一些選擇性黏附素（可能為 EspA 纖毛）與 bfp

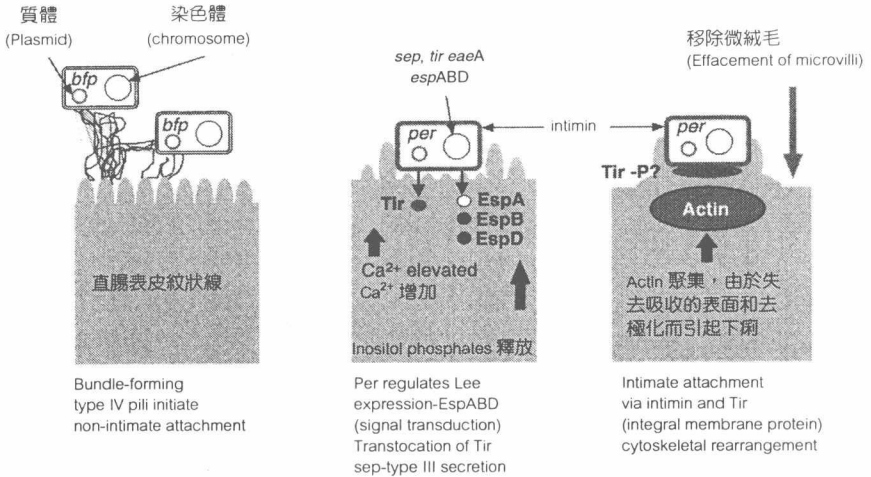


圖 1.2 *E. coli* O157 黏附和移除的傳統三階段模式

的調控造成細胞間的黏附，因以產生三度空間的微群落進而形成典型的緊密黏附細菌。

雖然EPEC病原能對於 *E. coli* O157 和其他黏附-移除 VTEC 提供一個有價值的研究模式，但是這些細菌的特性基本上還是有所不同的。例如EPEC和VTEC在訊息傳遞機制上以及之後結果的比較仍是不同的。值得注意的是宿主蛋白以及 Tir 似乎並沒有被磷酸化 (Ismail *et al.*, 1995, 1998)。 *eaeA* 基因是黏附到 Hep-2 細胞以及在無菌小豬形成聚落所必需的 (McKee *et al.*, 1995)。此外，O157:H7 和 O26:H11 血清型所特有的低分子量 (8 kDa) 外膜蛋白 (OMP) 也已被懷疑跟黏附有關連性 (Zhao *et al.*, 1996)。突變缺損產生的 *TnphoA* 無法表現此蛋白，呈現明顯較弱黏附 Henle 407 細胞的能力，並且在雞隻盲腸形成聚落的程度也明顯比野生株來得低。OMP 顯示和細胞上脂多聚醣 (LPS) 的 lipid A 部分有高度相關性，而在培養液中含有膽鹽和 acriflavin 時表現會增加許多。

黏液毒的結構和功能 (Structure and function of verotoxins)

黏液毒可分為兩型：VT1，其序列只有一個胺基酸和 *Shigella dysenteriae* 第一型所產生的 shiga 毒素不同，而以抗原性則是無法區分的。VT2 則只有 50-60% 的序列

和 VT1 相同，而且其不能被 shiga 毒素的抗血清所中和。黏液毒素顧名思義是因其對 vero (green monkey 腎臟) 細胞株有毒殺反應。VTs 經由液體蓄積在結紮的迴腸環中也會具有腸毒性，而在注射到小鼠和兔子時則會產生致死性麻痺。VT1 毒素是具保留性的，其只有一個變異被發現，不過也只有二個胺基酸的差異而已 (Paton *et al.*, 1993)。相反的，VT2 毒素會形成不同族群而具有許多抗原變異性。VTs 是 AB 毒素，由一個 A 次單位 (M_r 32,200) 非共價結合五個 B 次單位 (每個 M_r 7962) 所組成。VT 結合到哺乳類細胞是藉著 B 次單元與 globo-series G3b 膜上的醣脂質之間相互作用而產生的，這醣脂蛋白在末端具有 Gal α 1-4Gal disaccharide 似乎是毒素結合所需要的最低限度決定物質。一但結合之後，會藉由受器必需的內噬作用而活化 A 次單元而進入細胞。內部化的小囊附合到分解微粒且將其轉移位置，首先到達高基氏體，接著會到細胞質當中 (Sandvig *et al.*, 1992)。A 次單元是核糖核醣核酸 (rRNA) *N*-glycosidase，其是切斷在真核生物 28S rRNA 靠近 3 端的一個 adenine 殘基，因而避免延長 factor-1-dependent 結合到 aminoacyl-transfer RNA (tRNA) (Saxena *et al.*, 1989)。這將造成蛋白質合成受阻而使得細胞死亡。

雖然 VT1 與 VT2 皆以相同方式作用，但他們在活體外與活體內的影響卻是不同的。VT1 較有效率的結合到 G3b 受器而對 vero 細胞是較具作用力的。(Tesh *et al.*, 1993a)。然而，VT2 以靜脈注射小鼠其致死率比 VT1 可高出 400 倍 (Tesh *et al.*, 1993b)，而對人類腎微血管內皮細胞更有高過 1000 倍的活化能力 (Louie and Orrig, 1995)。在 streptomycin 治療過的小鼠腸道形成 *E. coli* 株聚落而致死，需要的是產生大量 VT2 的 *E. coli* 株，而表現 VT1 聚落化株則不會造成這種老鼠的死亡 (Waldolkowski *et al.*, 1990a)。而 VT1 和 VT2 在 cell-free 試驗中，抑制蛋白合成的能力是相同的，這意味著所觀察到在活體外或小鼠身上的細胞毒性差異，並不是由酵素活性的不同所導致的。

人類臍靜脈內皮細胞 (HUVECs) 在活體外對於 VTs 作用的敏感性在有一些發炎媒介表現時，例如 LPS 或細胞素 (如腫瘤壞死因子 (TNF) 或 interleukin-1 (IL-1) 會增加一千倍 (Louie and Obrig, 1995)。由於這些媒介物會造成在內皮細胞表面的 G3b 受器分子大量增加，因此才引起很大的可疑性 (Jackson, 1990; 圖 1.2)。的確，病人感染 VTEC 的早期若表現有發燒症狀或是白血球數量的增加，之後是比較有可能演進成為 HUS 和 TTP 的 (Walters *et al.*, 1989; Pavia *et al.*, 1990)。

VT 的 A 次單元具有一個 intrachain 雙硫鍵，包含在一個具有 2 個胰蛋白酶敏感性 arginine 殘基的親水性環中 (Burgess and Roberts, 1993)。VT1 A 次單元對胰蛋白