

令和元年6月17日現在

機関番号：32658

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08031

研究課題名(和文) EmergingしたSalmonella Agonaの生物系統地理学的評価

研究課題名(英文) Phylogeography analysis of Salmonella Agonain in prior period to occurrence of the serovar shift in broilers

研究代表者

鳥居 恭司 (TORII, Yasushi)

東京農業大学・農学部・准教授

研究者番号：50723475

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：我々は同一食鳥処理場を調査地点とした肉用鶏におけるサルモネラの分布調査を行っており、S. Agonaのemergingが起きていることを確認した。このemergingの要因を明らかとするために検討を行った。全国の衛生研究所等の協力のもとS. Agona菌株を収集した。これらの菌株をPFGE、NGS解析を行ったところ、関東および関西での分離株でemerging菌株のクローンが認められ、千葉県で分離されていた菌株はemerging菌株の祖先である可能性が示された。また、病原性を確認したところ、emerging菌株は他で分離された菌株よりも細胞侵入性等において病原性が高いことを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

病原細菌のemerging現象はその病原体がかなり蔓延した状態になってから把握することが多い。今回のS. Agonaについてはemerging現象を比較的早期に把握出来、そのemergingを引き起こしている菌株が過去に他県で分離されていたことが明らかとなった。養鶏農家への侵入経路についてはまだ分からないが、今回のケースが他の病原細菌のemerging現象が発生した際における要因解明のモデルケースとなり得ると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We have been investigate isolation of Salmonella sp. strains in broiler chicken at broiler-raising farms. S. Agona was occurred emerging in broiler chicken. This study was investigated the cause of emerging of S. Agona. We collected S. Agona strains in Japan. The strains were analyzed PFGE and NGS. This results indicated that some strains were clone of the emerging strain, and a strain isolated Chiba prefecture was ancestor of the emerging strain. In study of pathogenic, the emerging strain have higher cellular invasion than other isolated strains.

研究分野：微生物学

キーワード：サルモネラ 食中毒 PFGE NGS 病原性

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

サルモネラは腸内細菌科に属し、動物の腸管、自然界に広く分布しており、近年、サルモネラによる食中毒が世界的に増加している。ヒトにおけるサルモネラ食中毒は食肉や鶏卵食品が主な原因食品とされており、日本国内では主に *Salmonella* Enteritidis は鶏卵、*S. Infantis* では鶏肉がその感染源として重要とされている。これまで我々は同一食鳥処理場を調査定点として、肉用鶏のサルモネラの分布を検討してきた。2011年の調査では *S. Infantis* が優勢に分離されていたが、2014年の調査では、*S. Infantis* は1%分離されたのに留まり、代わって *S. Agona* が優勢に分離された。分離された *S. Agona* は、パルスフィールド電気泳動 (PFGE) を用いて解析し、同一クローンの emerging であることが示された。

病原細菌の emerging 現象は同じサルモネラである *S. Enteritidis* や *S. Typhimurium* DT104 などでも報告されているが、その要因はほとんど明らかとなっていない。また、病原細菌の emerging 現象を比較的早期に把握することは非常に困難であり、病原細菌がかなり蔓延してから emerging であることが確認されることが多い。今回我々が確認した *S. Agona* の emerging は、同一調査定点において経時的なサルモネラ汚染を調査したことで比較的発生地域が限定している早期に把握出来たこと、及び分離される優勢な血清型が完全に変化するというあまり報告のない現象であることから、今回の *S. Agona* の emerging 要因の解明は非常に貴重なデータとなり得る。

### 2. 研究の目的

病原体の emerging は、優勢に分布する進化系統群の交代現象によって引き起こされることがあるが、*S. Agona* については進化系統群そのものが調査されておらず不明である。そこで本研究では、全国的規模で *S. Agona* 菌株を収集し、次世代シーケンサー(NGS)解析により *S. Agona* の進化系統群を解明するとともに、それぞれの進化系統群の多様性を集団遺伝学的解析および病原性解析により日本に分布する *S. Agona* の系統地理学的解析を行い、emerging を引き起こした *S. Agona* の由来を調査した。

### 3. 研究の方法

本研究では *S. Agona* 菌株の全国規模での収集および NGS による進化系統群の解明として、様々な検体から分離された *S. Agona* 菌株を全国規模で収集し、PFGE による分子疫学的解析により同一クローン由来と思われる菌株を特定した。その菌株を NGS で解析して系統解析を実施し、*S. Agona* の進化系統群の解析を行った。また、*S. Agona* の進化系統群による病原性差の解明として、培養細胞への付着性および侵入性を検討し、さらに生体感染に重要なマクロファージ細胞死誘導能についても検討した。さらに、以上の結果を受けて、*S. Agona* の生物系統地理学的検討を行った。

### 4. 研究成果

*S. Agona* 菌株は全国の衛生研究所等の協力のもと約 300 菌株を収集し、これらの菌株を PFGE、NGS 解析を行ったところ、関東および関西での分離株で emerging 菌株のクローンが認められた。千葉県で分離されていた菌株は emerging 菌株の祖先である可能性が示された。*S. Agona* 菌株の病原性を確認したところ、emerging 菌株は他で分離された菌株よりも高い細胞侵入性が認められた。また、一般的に病原性が強いとされている *S. Enteritidis* よりも細胞侵入性が高い傾向が認められ、emerging 菌株は病原性が高い可能性を示した。

### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 2件)

[Torii Y](#), [Yokoyama E](#), Seki M, [Shigemura H](#), Ishige T, Yanagimoto K, Uematsu K, Ando N, Fujimaki T, [Murakami S](#). Genetic characteristics of emerging *Salmonella enterica* serovar Agona strains isolated from humans in the prior period to occurrence of the serovar shift in broilers. J. Vet. Med. Sci. In press. (査読あり)

[Yokoyama E](#), [Torii Y](#), [Shigemura H](#), Ishige T, Yanagimoto K, Uematsu K, Ando N, [Murakami S](#). (2019) Isolation of *Salmonella enterica* serovar Agona strains and their similarities to strains derived from a clone caused a serovar shift in broilers. J. Infect. Chemother 25 71-74. (査読あり)

[学会発表](計 7件)

[横山栄二](#)、[鳥居恭司](#)、[重村洋明](#)、[石毛太一郎](#)、[柳本恵太](#)、[植松香星](#)、[安藤直史](#)、[村上覚史](#). 次世代シーケンサーを用いたブロイラー農場におけるサルモネラ血清型シフトの公衆衛生的意義の評価。平成 30 年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会(2019年2月、神奈川)

[横山栄二](#)、[鳥居恭司](#)、[重村洋明](#)、[石毛太一郎](#)、[柳本恵太](#)、[植松香星](#)、[安藤直史](#)、[村上覚史](#). ブロイラー農場で血清型シフトを起こした *Salmonella enterica* serovar Agona 菌株とのヒト由来菌

株の同一性. 平成 30 年度日本獣医師会学術年次大会東京・関東地区学会 (2018 年 9 月、茨城)

鳥居恭司、磯貝岳、横山英二、重村洋明、村上覚史. 一地域から分離された *Salmonella* Agona の分子疫学的解析及び病原性評価. 2018 年日本細菌学会関東支部インターラボセミナー (2018 年 8 月、神奈川)

鳥居恭司、横山栄二、重村洋明、石毛太一郎、安藤直史、中里圭汰、左右田凌輔、藤巻勤、柳本恵太、村上覚史. わが国で収集した *Salmonella* Agona の分子疫学的解析. 第 91 回日本細菌学会総会 (2018 年 3 月、福岡)

横山栄二、鳥居恭司、重村洋明、石毛太一郎、植松香星、安藤直史、村上覚史. 次世代シーケンサーによる *Salmonella enterica* serovar Agona の emerging クローンの解析. 平成 29 年度千葉県獣医学術年次大会 (2018 年 3 月、千葉)

鳥居恭司、横山栄二、重村洋明、石毛太一郎、安藤直史、中里圭汰、左右田凌輔、藤巻勤、柳本恵太、村上覚史. わが国で収集した *Salmonella* Agona の分子疫学的解析. 第 160 回日本獣医学学会学術集会 (2017 年 9 月、鹿児島)

鳥居恭司、関美咲、横山栄二、藤巻勤、柳本恵太、石毛太一郎、村上覚史. *Salmonella* Agona の emerging とその分子疫学のおよび病原性の解析. 平成 28 年度関東・東京獣医公衆衛生学会 (2017 年 9 月、神奈川)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年：  
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名：横山 栄二

ローマ字氏名：(YOKOYAMA, Eiji)

所属研究機関名：千葉県衛生研究所

部局名：細菌研究室

職名：室長

研究者番号 (8 桁)：40370895

研究分担者氏名：村上 覚史

ローマ字氏名：(MURAKAMI, Satoshi)

所属研究機関名：東京農業大学

部局名：農学部

職名：教授

研究者番号(8桁)：40385498

研究分担者氏名：重村 洋明

ローマ字氏名：(SHIGEMURA, Hiroaki)

所属研究機関名：福岡県保健環境研究所

部局名：その他部局等

職名：主任技師

研究者番号(8桁)：50761540

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。