

令和元年9月13日現在

機関番号：82601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08040

研究課題名(和文) ゲノムのゆらぎを基盤とするカンピロバクターの宿主適応及び病原性変動に関する研究

研究課題名(英文) Study on the host adaptation and virulence dynamics of *Campylobacter* based on the genomic alteration

研究代表者

朝倉 宏 (Asakura, Hiroshi)

国立医薬品食品衛生研究所・食品衛生管理部・部長

研究者番号：40370936

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)：本研究では野鳥が保有する*Campylobacter jejuni*株の一部が鶏腸管内への定着過程でゲノム変動を生じ、鶏腸管への定着を成立させ得る事象を基に、これらの形質変動関連遺伝子群の機能性について*in silico*パスウェイ予測を行った。ヒト食中毒事例由来株についても同様の検討を、特に糖鎖合成・輸送関連遺伝子群について着目し、検討を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

野鳥がカンピロバクターを高率に保菌することは以前より認知されていたが、本研究の遂行を通じ、一部の株は鶏腸管定着を果たした上で、ヒト健康被害を招き得ることがゲノムの揺らぎを通じて確認された。関連遺伝子群の探知ならびに機能性探索は、今後の本菌感染に係る予防疫学の充実を図る上で重要な事項となるものと思われる。また、ヒト感染を通じた当該菌のゲノム・形質変動は、未だ明確に定義がなされていない、ヒトにおける病態発現機構を探知するにあたって重要な知見となるものと考えられ、同菌の病原性亢進に資すると思われる候補遺伝子の抽出は、本菌感染危害の早期探知に向けた標的分子としての活用も期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, we performed comparative genomic analysis of *Campylobacter jejuni* from wild birds that exhibited genomic and phenotypic alteration through colonization in chicken intestine. The *in silico* pathway analysis predicted the functional network of the motility-associated genes that were altered through the chicken passage. Human clinical strains were also subjected to the similar pathway analysis and bacterial sugar biosynthesis/transport networks were predicted.

研究分野：獣医公衆衛生学

キーワード：カンピロバクタ 野鳥 ゲノム・形質変動

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

## 1. 研究開始当初の背景

カンピロバクター感染症は、現在世界的に最も注視される食品媒介性細菌感染症であり、本邦においても年間約 2,000 人の食中毒患者が報告される。本菌はヒト下部消化管に定着し、多くは不顕性に経過するが、発症時には発熱・嘔吐・腹部痙痛を伴う水様性或いは出血性下痢を顕す。本菌表層に発現するリポオリゴ糖はギランバレー症候群 (Guillain-Barré syndrome, GBS) や炎症性腸疾患の重要な危害因子であることが相次いで報告され、本感染症に対する予防・防除対策は広く公衆衛生学的意義を有する。

本感染症の約 90% は *Campylobacter jejuni* (以下 Cj) を起因菌とする。鶏は腸管内に持続的に Cj を保菌し、食鳥肉処理過程で可食部を汚染するため、ヒトに感染を顕す。ヒトや動物宿主の腸管内には、100 兆個以上もの多様な細菌が分布し、Cj を含む病原細菌の感染・定着を正負両面で変動させると目され、その変動要因としては、腸内細菌叢の産生する抑制物質や同細菌叢の共存による競合的栄養枯渇、宿主免疫機構の賦活化等が挙げられる。これ迄に、大腸菌の過剰投与がマウス腸管内での Cj 定着を著減させること、ヒト由来腸内細菌叢を移植したノトバイオトマウスは非移植個体に比べ有意に Cj 感染性を高めること等が明らかとなっており、Cj 感染と腸内細菌叢は密接な相互作用の上に形成されると考えられる。

本菌は 2 型分泌装置を介した外来核酸の取込み効率や相同組換え効率が高い性状を有するため、ゲノム多様性に富み、それ故に様々な自然環境に適応分布すると解される。即ち、本菌のゲノムは環境適応のための防御機構とも言える。本菌の鶏への侵入・定着経路については、多くのフィールドスタディで検討され、越境性に飛来する野鳥からの伝播が従来より指摘されてきた。しかしながら、先行研究は分離率や血清型等による分離宿主間での同一性の検証に留まり、野鳥由来株の鶏腸管への定着事象を明確に実証した報告は未だなされていない。部分的遺伝子型別手法である MLST 解析を通じ、多くの野鳥由来株はヒトや鶏由来株とは大きく異なる系統進化的位置付けがなされている。しかしながら、上述のごとく、宿主・環境変化に対して、優れたゲノム変動・適応を果たし得る本菌の特徴から推察するに、野鳥から鶏への本菌伝播を否定する根拠には乏しい。更に、野鳥からヒトへの感染事例も報告されている疫学実態は、野鳥も感染源としてヒト感染の媒介者として位置づけられるとの考えを支持するものといえよう。こうしたゲノム変動は、ヒト感染過程においても生じると予想される。ヒトは本菌感染に伴い下痢原性を生ずる唯一の宿主であるが、同一感染源を有する患者間にも、顕性・不顕性の別をはじめとして、感染病態には顕著な差異が認められることが多い。その分子機構については宿主要因のみが想定され、病原体側要因は多くが未解明の状況にあるが、ヒト感染を通じて変動を示す本菌のゲノム構造が、宿主間での感受性の差異を決定づける一因となることも想定され、ヒト感染を通じたゲノム変動は、時として病原性亢進を招く可能性も孕んでいると思われる。

## 2. 研究の目的

本研究では、食品媒介性感染症として世界中で猛威を奮うカンピロバクターが、主要な感染源動物である鶏宿主、及びヒトへの感染過程に於いて顕すゲノム変動に着目し、宿主適応及び病態発現形質等の多様性を裏付けるゲノム可動域の特定、更にはこうした変動を担う腸内菌叢を特定することで、本菌の生態やヒトでの病態発現に係る分子基盤の解明を行うことを目的とする。野鳥から鶏への本菌伝播定着事象の検証並びに同宿主間適応を担うゲノム可動域の同定は現在未解明である野鳥の疫学的位置付けを明確化しようとする特色を有する他、腸内菌叢制御に因る本菌伝播制御策の構築への波及が期待される。更に、食中毒事例由来株を対象としたヒト感染過程でのゲノム変動を病態発現の観点から捉える内容は、本菌の対ヒト宿主病原発現に係る本菌の可動性因子の同定を目指す独創性を有し、感染に伴う病原性亢進、集団事例での患者間感染感受性の差異や複数の原因菌が分離される疫学事象の解明に資することが期待される。

## 3. 研究の方法

昨年度までに実施した、野鳥由来複カンピロバクター株を対象とする全ゲノム配列データ並びに鶏腸管定着形質成績を基に、野鳥由来株が鶏腸管定着を果たす上で機能性を示すと想定される遺伝子群について KEGG pathway 等を通じた遺伝子機能性ネットワークの探索を行った。また、ヒト感染事象を通じた本菌のゲノム変動領域のうち、病態形成に関わると思われる遺伝子群を抽出し、同様の検討を行った。また、食中毒事例由来株の収集を継続的に言い、分離株の性状解析並びにゲノム解析を行った。

## 4. 研究成果

本研究 3 年目は、野鳥が保有する *Campylobacter jejuni* の一部の株が鶏腸管内への定着過程でゲノム変動を生じ、鶏腸管への定着を成立させ得る事象を基に、同事象を裏付けるゲノム変動を比較ゲノム解析により検証し、それらの遺伝子について機能性ネットワークについて KEGG pathway 等を通じて予測評価した。また、ヒト食中毒事例由来株の収集を継続し、菌株間の比較ゲノム解析を行い、複数事例由来株のうち、ゲノム相動性が極めて高い菌株を見出した上で、既存保有株との間で比較解析を行い、コアゲノム中で病態発現関連遺伝子群の安定性を評価した。野鳥がカンピロバクターを高率に保菌することは以前より認知されていたが、本研究の遂行を通じ、一部の株は鶏を介してヒト健康被害を引き起こしうることが示され、その中で、ゆらぎを示しうる遺伝子群の同定並びに機能性の探知を行うことができた。同菌の病原性亢進に資する

と思われる候補遺伝子の抽出は、本菌感染危害の早期探知に向けた標的分子としての活用も期待される

## 5. 主な発表論文等

### 〔雑誌論文〕(計 4 件)

Asakura H, Sakata J, Nakamura H, Yamamoto S, Murakami S. Diversity and antimicrobial resistance of *Campylobacter coli* from humans and animals in Japan. *Microbes Environ.* 査読有、34巻、2019、146-154  
DOI: 10.1264/jsme2.ME18115.

Honda M, Sawaya M, Taira K, Yamazaki A, Kamata Y, Shimizu H, Kobayashi N, Sakata R, Asakura H, Sugita-Konishi Y. Effects of temperature, pH and curing on the viability of *Sarcocystis*, a Japanese sika deer (*Cervus nippon centralis*) parasite, and the inactivation of their diarrheal toxin. *J Vet Med Sci.* 査読有、80巻、2018、1337-1344  
DOI: 10.1292/jvms.18-0123.

Yamazaki A, Honda M, Kobayashi N, Ishizaki N, Asakura H, Sugita-Konishi Y. The sensitivity of commercial kits in detecting the genes of pathogenic bacteria in venison. *J Vet Med Sci.* 査読有、80巻、2018、706-709  
DOI: 10.1292/jvms.17-0530.

Sugita-Konishi Y, Kobayashi N, Takasaki K, Kanno T, Itoh M, Riztyan, Futo S, Asakura H, Taira K, Kawakami Y. Detection of *Sarcocystis* spp. and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in Japanese sika deer meat using a loop-mediated isothermal amplification-lateral flow strip. *J Vet Med Sci.* 査読有、81 巻、2019、586-592  
DOI: 10.1292/jvms.18-0372.

### 〔学会発表〕(計 6 件)

1. 朝倉宏、森田幸雄、中馬猛久、中村寛海. 食鳥肉におけるカンピロバクター汚染制御と汚染探知への次世代シーケンサーの活用. 第 161 回日本獣医学会学術集会シンポジウム.
2. 川瀬遵、朝倉宏. Real-time PCR による糞便検体からの食中毒菌の検出と培養成績との相関. 第 71 回日本細菌学会中国・四国支部総会.
3. 牧野有希、山本詩織、関享子、大河内美穂、宮下隆、朝倉宏. カット野菜における細菌汚染実態調査について. 日本防菌防黴学会第 45 回年次大会.
4. 朝倉宏、岡村雅史、中馬猛久、中山達哉、佐々木貴正、村上覚史. 野鳥由来 *Campylobacter jejuni* は鶏腸管環境に適応するか?. 第 11 回日本カンピロバクター研究会総会.
5. 中村寛海、山元誠司、朝倉宏、梅田薫、山本香織、小笠原準. 調理環境から採取したふきとり材料からのカンピロバクター遺伝子の検出. 第 11 回日本カンピロバクター研究会総会.
6. 中村寛海、山元誠司、朝倉宏、梅田薫、山本香織、小笠原準. 生菌由来カンピロバクター DNA のふきとり材料からの定量的検出. 第 39 回日本食品微生物学会学術総会.

### 〔図書〕(計 2 件)

1. 朝倉宏、佐々木貴正、渡辺麻衣子、中川博之、上垣隆一、鈴木敏之、道野英司、岡崎隆之、五十嵐明夏. 第 52 回 UJNR 有毒微生物専門部会/第 12 回国際シンポジウム. 食品衛生研究. 68(9): 7-29.
2. 朝倉宏. 細菌性の食中毒. 健康教室. 2018 年 7 月号. 76-79.

### 〔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： 中村寛海

ローマ字氏名：Hiromi Nakamura

所属研究機関名：大阪健康安全基盤研究所

部局名：微生物部 微生物課

職名：主任研究員

研究者番号（8桁）：00332445

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名：村上 覚史

ローマ字氏名： Satoshi Murakami

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。