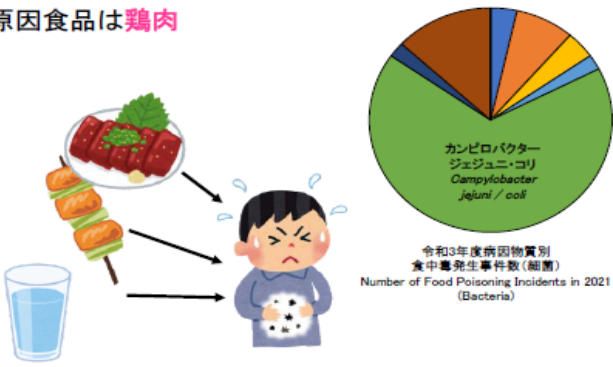


食中毒菌カンピロバクターの環境適応機構に関する研究

岡田彩加 (岐阜大学 応用生物科学部 助教)

カンピロバクター属菌 | 食中毒の原因菌 *Campylobacter* spp. | Food poisoning bacteria

- 細菌性食中毒の発生件数: **第1位**
- 主な原因食品は**鶏肉**



環境中のVBNC菌の存在

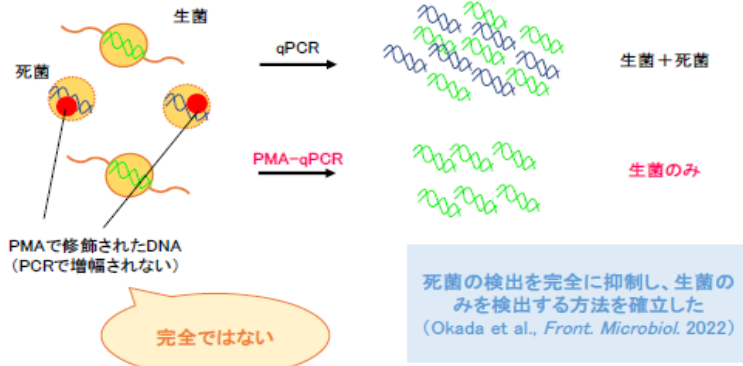


VBNC菌について明らかにしたいこと

- ①実際の環境中に存在するのか?
 - 生菌選択的qPCRの利用 (新規導入されたデジタルPCRも利用可能)
- ②どのような機序でVBNC状態が誘導されるのか?
 - 新規培地の開発に向けて
- ③VBNC状態の菌に病原性はあるのか?
 - 食中毒菌の症状を呈する動物モデルの利用

①実際の環境中に存在するのか?

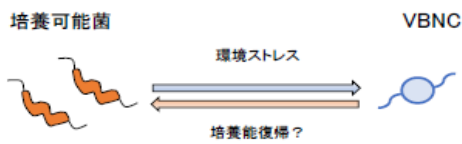
培養によらない検出法:PMA-qPCR



畜舎環境中のカンピロバクターの汚染度調査



②どのような機序でVBNC状態が誘導されるのか?



- VBNC誘導機序を解明すれば、復帰方法が見つかる?
- 培養可能菌とVBNC菌において発現している遺伝子を解析
- ➔ **VBNC菌の培養能を復帰させる培地の作製!**

VBNC状態の菌の作製



結果のまとめ

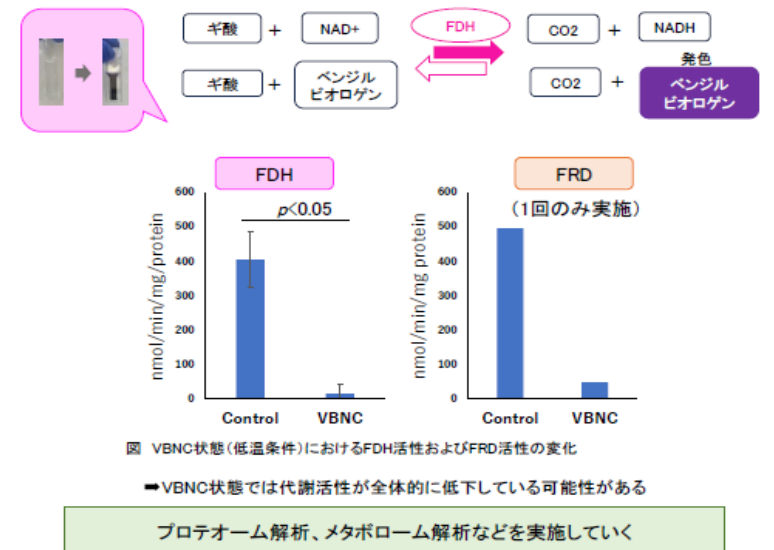
mRNA	マイクロアレイ	qPCR 低温	qPCR 高浸透圧	遺伝子の機能
cj1500	↑↑↑	↑↑↑	↑	ギ酸デヒドロゲナーゼ
cj1254	↑↑↑	↑↑↑	↑	DNA修復
cj1040	↑↑↑	↑↑↑	↑	薬剤耐性関連輸送体
cj0077	↑↑↑	↑↑↑	-	細胞膨脹毒素
cj1031	↓↓↓	↑↑↑	-	薬剤排泄関連

↑↑↑: 上昇(p<0.05) ↑: 上昇傾向(有意差なし)
 ↓↓↓: 減少(p<0.05) -: 変化なし

cj1500について

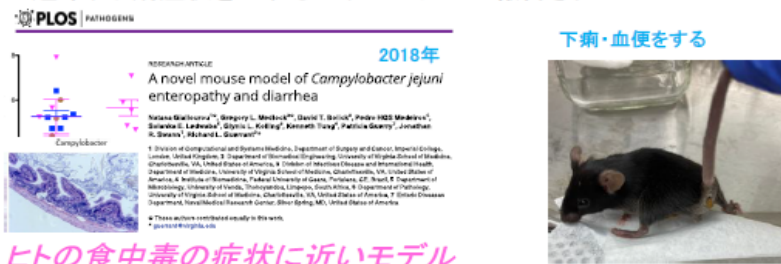
- ・cj1500: ギ酸デヒドロゲナーゼ(FDH)の合成と活性に関与
- ・*C. jejuni* はFDHによってギ酸を代謝している
- ・NAD+の代わりにベンジルピオロゲンが酸化されると発色することを利用して、FDH活性を吸光度を測ることにより測定
- ・FDH特異的か判断するために、フマル酸デカルターゼ(FRD)活性も測定

VBNC状態でFDH活性は変化するか?



③病原性はあるのか?

- 近年、下痢症状を呈するマウスモデルが報告された



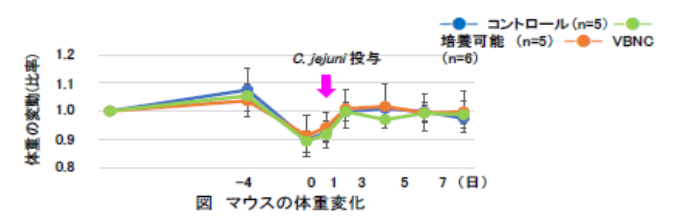
ヒトの食中毒の症状に近いモデル

亜鉛欠乏食モデルマウスによる病原性の評価

- ・IL-10ノックアウトマウスよりも簡単に病原性評価が可能なモデル
- ・*C. jejuni*投与の2週間前から**亜鉛欠乏食**を投与
- ・*C. jejuni*投与の4日前から1日前まで**抗生物質入り水**(ab水を投与)
- ・ab水組成: ゲンタマイシン(35 μg/ml), バンコマイシン(45 μg/ml), メトロニダゾール(215 μg/ml), コリスチン(850IU/ml)
- ・*C. jejuni*投与で血便や体重減少が認められる (Giallourou et al., PLOS Pathogens 14, 2018)

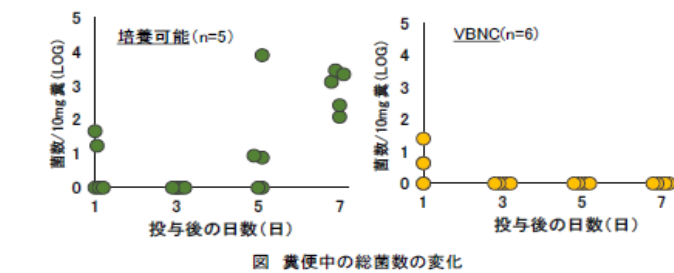


臨床症状



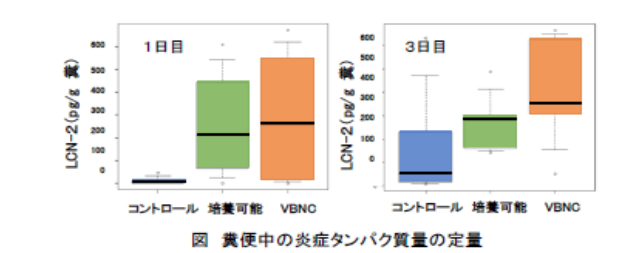
- ➔ 今後、条件を検討して、カンピロバクターの病原性評価モデルを確立したい (抗生物質の投与期間などを変更すれば下痢・血便が認められる?)

qPCRによる糞便中の総菌数の検証

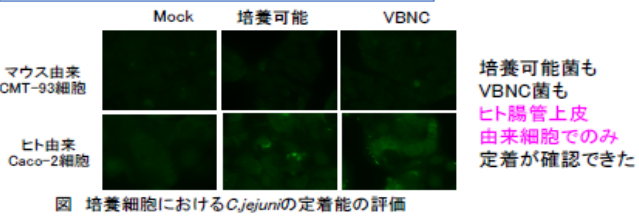


- ➔ 感染7日後まで菌が認められる=菌が腸管に定着していることは確認できた

糞便中の炎症タンパク質 (Lipocalin-2: LCN-2)



培養細胞を用いた細胞への定着能の検証



- ➔ マウス腸管におけるカンピロバクターの定着は認められた。条件を検討し、下痢・血便が認められれば、食中毒菌の病原性を評価可能となる。