

第29回麻布環境科学研究会 一般演題6

Campylobacter jejuni のヒト臨床株における 23S rRNA 遺伝子内の intervening sequence (IVS), V ドメイン及びエリスロマイシン耐性の相関

田積 晃浩, Jiru Xu¹, Lei Han¹, 三澤 尚明², John E Moore³,
B Cherie Millar³, 村山 洋, 松田 基夫

麻布大院・環境保健学・遺伝子生物,

¹Dept Immunol Patho Biol, Sch Med, Xi'an-Jiaotong Univ, China,

²宮崎大・農・獣医公衆衛生,

³Dept Bacteriol, N Ireland Public Health Lab, Belfast City Hosp, UK

【はじめに】

Campylobacter はグラム陰性のらせん状桿菌で、微生物による食中毒の主要な原因菌である。*Campylobacter* 種の中でも主に *C. jejuni* 及び *C. coli* は下痢症患者からの分離が多く、現在日本では *C. jejuni* による食中毒の発生事例数は第1位である。*Campylobacter* 症の治療には抗生物質が使用されるが、フルオロキノロン系の薬剤はもはや効果がなく、マクロライド系のエリスロマイシンの使用が有効であるとされている。しかし近年、このマクロライド系の抗生物質に耐性を示す、*C. coli* の食用動物からの分離の増加が報告されている。

我々は2008年の本研究会で、*Campylobacter* 属の23S rRNA 遺伝子内の介在配列である intervening sequence (IVS) に関する報告を行った。従前より、IVSは同一種内で散発的に存在している点が特徴であるとされていたが、我々が解析を行った *C. jejuni* 株の50%以上に23S rRNA 遺伝子内の helix 45 領域にIVSが存在していた [Tazumi *et al.* BMC Microbiol (submitted)]。一方、Chan 等は *C. coli* における23S rRNA 遺伝子内のIVSの存在とエリスロマイシンへの耐性能は同時に株間で伝播していること、即ちIVSが存在している *C. coli* 株はエリスロマイシンに対して耐性を示すことを報告した (Chan *et al.* 2007, Appl Environ Microbiol. 73; 1208-)。

そこで、我々は *C. jejuni* のヒト臨床由来株を対象として23S rRNA 遺伝子内のIVSの存在とエリスロマイシン耐性の相関性に関する解析を行った。

【材料及び方法】

まず、ヒト臨床由来株である *C. jejuni* 49株を用いて、エリスロマイシン及びカナマイシンに対する耐性試験を行った。23S rRNA 遺伝子内のエリスロマイシンの標的であるVドメイン領域を増幅するためのPCRプライマーを *in silico* に構築し、PCRを行い次いで全ての株の増幅断片の塩基配列を決定した。更に、random amplified polymorphic DNA (RAPD) 法により、全49株のサブタイピングを行った。

【結果及び考察】

C. jejuni 49株の内、18株がエリスロマイシンに2-16 µg/mlの範囲で耐性を示した。更に、カナマイシンには10株が耐性を示し、両薬剤に耐性能を持つ株は5株であった。エリスロマイシンは23S rRNAのVドメインを標的として、細菌のタンパク質合成を阻害する抗生物質であるが、*Campylobacter* のエリスロマイシン耐性のメカニズムの1つとしてVドメイン内の塩基置換が報告されている。Vドメインの特定の1塩基または複数塩基の置換によりエリスロマイシンの23S rRNAへの結合を阻害するというものである。ところが、本研究で用いたヒト臨床由来の *C. jejuni* 49株のエリスロマイシンに耐性を示す株全

てで、そのVドメイン内の塩基置換は認められなかった。この事より、エリスロマイシンに耐性を示した株では、その獲得した耐性能はVドメイン内の塩基置換によるものではなく、他の要因として報告されている多剤排出ポンプやその他の因子に起因したものと考えられる。また、RAPD法により全49株は11のサブタイプに型別されたが、IVSの有無とサブタイプとの間に相関はなかった。また、23S rRNA 遺伝子内の helix 45 領域の IVS は、*C. jejuni* 49 株中 28 株 (57%) に存在していたが、それら IVS の塩基配

列は4つのタイプに分かれた。これらの結果の詳細を Table 1 に示した。

以上の結果より、ヒト臨床由来の *C. jejuni* 株では 23S rRNA 遺伝子内の IVS と V ドメインの塩基置換に相関性はなく、IVS の存在はエリスロマイシン耐性には関与していない事が明らかとなった。それ故に、*C. jejuni* に起因するヒト *Campylobacter* 症の治療には依然としてエリスロマイシンの使用が有効であることが示唆された。

Table 1. Human clinical isolates of *C. jejuni* analyzed in the present study and their some details

No. Isolate no.	Source (Country) (Disease)	Helix 45 IVS (Type)	Erythromycin (MIC)	Kanamycin	RAPD
1 81-176	Human (USA)	+	S	S	1
2 HP5110	Human (Japan)	-	S	S	2
3 HP5122	Human (Japan)	-	S	S	2
4 LCDC4483	Human (Canada)	-	S	S	2
5 CF-85-46	Human (Japan)	-	S	S	3
6 HP5090	Human (Japan)	+	S	S	4
7 HP5095	Human (Japan)	±	I	S	5
8 HP5100	Human (Japan)	+	S	S	6
9 HP5096	Human (Japan)	+	S	R	7
10 OH4382 (O19)	Human (Japan) (GBS)	+	S	S	4
11 86-357	Human (USA)	+	R (8 µg/ml)	R	8
12 86-389	Human (USA)	-	S	R	5
13 85-3	Human (USA)	+	I	S	9
14 D450 (O19)	Human (USA) (GBS)	+	S	S	4
15 D3083	Human (USA) (GBS)	+	R (8 µg/ml)	S	5
16 MHU003	Human (Japan)	-	R (16 µg/ml)	S	4
17 HP5117	Human (Japan)	-	S	S	5
18 011220	Unknown	-	R (8 µg/ml)	S	4
19 ST23	Human (USA)	-	I	S	4
20 CF85-48	Human (Japan)	+	R (4 µg/ml)	S	4
21 HP5072	Human (Japan)	+	I	S	9
22 HP5083	Human (Japan)	-	S	S	10
23 HP5075	Human (Japan)	±	R (4 µg/ml)	S	4
24 HP4941	Human (Japan)	+	R (8 µg/ml)	S	5
25 LMG6444	Human (Belgium)	-	R (4 µg/ml)	R	2
26 HP5084	Human (Japan)	+	S	S	5
27 84-196	Human (USA) (GBS)	-	R (8 µg/ml)	S	4
28 D3468 (O19)	Human (USA) (Diarrhea)	+	S	S	4
29 D3215 (O19)	Human (USA) (Diarrhea)	+	S	S	4
30 OH4384 (O19)	Human (Japan) (GBS)	+	S	S	4
31 D452 (GBS-19, O19)	Human (USA) (GBS)	+	S	R	4
32 D445 (O19)	Human (USA) (GBS)	+	S	S	4
33 D3141	Human (USA) (Diarrhea)	+	S	R	4
34 85-1	Human (USA) (Diarrhea)	-	S	S	4
35 84-198 (non GBS non19)	Human (USA) (Diarrhea)	-	S	S	8
36 84-194	Human (USA) (Diarrhea)	-	R (4 µg/ml)	R	4
37 81116	Human (UK) (Diarrhea)	+	R (2 µg/ml)	R	11
38 86-386	Human (USA) (Diarrhea)	-	S	S	5
39 84-191	Human (USA) (Diarrhea)	-	R (8 µg/ml)	R	5
40 D3002	Human (USA) (Diarrhea)	+	S	S	5
41 R	Human (UK) (Diarrhea)	+	R (4 µg/ml)	S	5
42 O	Human (UK) (Diarrhea)	-	R (4 µg/ml)	S	4
43 M	Human (UK) (Diarrhea)	-	R (4 µg/ml)	S	4
44 L	Human (UK) (Diarrhea)	-	R (8 µg/ml)	S	2
45 CUM001	Human (USA) (Diarrhea)	+	S	R	5
46 79AH88-88	Human (France) (Diarrhea)	+	S	S	4
47 D3088	Human (USA) (Diarrhea)	+	S	S	5
48 88-84 (85AC)	Human (France) (Diarrhea)	-	R (4 µg/ml)	S	3
49 88-89 (85H)	Human (France) (Diarrhea)	+	R (4 µg/ml)	S	2

C. Campylobacter; IVS, intervening sequence; MIC, minimum inhibitory concentration; GBS, Guillain Barre Syndrome; I, intermediate; R, resistant; S, susceptible; RAPD, random amplified polymorphic DNA