

*Helicobacter cinaedi*のヒト臨床分離株と動物分離株の遺伝学的解析

藤高由貴、神谷保吉、富田純子、森田雄二、河村好章

【目的】

*Helicobacter cinaedi*はグラム陰性らせん菌で、ヒトの腸管在位菌である。本菌種の感染症状として、発熱、蜂窩織炎、下痢、菌血症、敗血症等があげられる。本菌種は、発育に微好気環境が必須で数日間を要し培養が困難である。そのため、臨床現場でも分離が困難とされている。本菌種は、ホモセクシャル腸炎患者から初めて分離が報告された。それ以降、HIV患者・肝炎患者など何らかの基礎疾患によって免疫機能の低下した患者の腸管や肝臓、血液からの分離報告がみられ、日和見感染症として認識されていた。しかし、近年では、健康人からの分離報告や本菌種による院内感染の報告が多く見られる。日本においても、2003年に初めて血液からの分離が報告されて以来、感染報告が増加している。本菌種は、公衆衛生上問題となる新興感染症として位置づけられているが、感染ルートや病原性は未だ特定されていない。また、本菌種は、ヒト以外にもイヌやハムスター、アカゲザルなど様々な動物の腸管からの分離報告があり、幅広い宿主が存在し人獣共通感染症と考えられてきた。しかし、実際にはヒト臨床分離株と動物分離株の系統関係は詳細に解析されていないため、分類学的に同一菌種であるか不明である。そこで、本研究では*H. cinaedi*のヒト臨床分離株と動物分離株の解析を行い、分類学的位置の確定や菌種間の同異を明確にすることを目的とした。

【方法】

九州の国立大学病院から提供された*H. cinaedi*ヒト臨床分離株と同地域から分離された動物分離株を含む合計49株を使用した。これらの菌株は血液寒天培地を用いて、37℃微好気環境で3-4日間培養した。培養後、菌体を回収してDNAをSDS法で抽出し、16S rRNA遺伝子および9つのハウスキーピング遺伝子(*atpD*, *cdtB*, *clpX*, *glyA*, *gyrB*, *hsp60*, *murC*, *recA*, *rpoB*)を決定しMLST解析を実施した。これらの塩基配列から系統解析を行い、系統樹を作成した。

系統樹の結果をもとに、近縁菌種についてDNA-DNAハイブリダイゼーション試験を実施した。用いた菌株は、

*H. cinaedi*基準株を含むヒト臨床分離株2株、動物由来株3株、さらに比較対象として*H. bilis*基準株である。DNA-DNAハイブリダイゼーション試験は、マイクロプレート法で行いDNAの類似度を算出した。

【結果】

16S rRNA遺伝子解析の結果、多くの動物分離株はヒト臨床分離株とは別に、動物分離株のみで独立してグループを形成していた (Fig)。しかしながら、例外的に動物分離株1株PAGU1557のみは、ヒト分離株のグループに属していた。MLST解析でも、16S rRNA遺伝子解析の結果と同様に、動物分離株のみのグループとヒト臨床分離株の2つのグループに分けられ、PAGU1557は、ヒト臨床分離株グループに属していた。

DNA-DNAハイブリダイゼーション試験の結果は、系統解析において動物分離株のグループに属していた菌株間では、DNA類似度70%以上を示した。ヒト臨床分離株はこれと別に、ヒト臨床分離株同士での類似度70%以上を示した。但し、ヒト臨床分離株と動物分離株間の類似度は、お互いに70%未満であった。動物分離株PAGU1557は、ヒト臨床分離株とは70%以上の類似度を示し、ヒト臨床分離株と同一のグループに属していた。

【考察】

本研究の系統解析により、動物分離株グループとヒト臨床分離株グループの2つに分けることができた。しかし、動物分離株PAGU1557に関しては、ヒト臨床分離株と同じグループに属していた。このことから、動物分離株の一部は、これまで考えられてきたように人獣共通感染症に関連があると示唆されたが、本菌種の動物分離株すべてが必ずしも人獣共通感染症と関連があるとは言えないと考えられた。

細菌の分類学では、ハイブリダイゼーション試験で得られる菌種間のDNA類似度が70%以上で同じ菌種であり、70%未満で異なる菌種であると定義されている。したがって、70%を境に菌種の同異を決定できる。ヒト臨床分離株とPAGU1557は、*H. cinaedi*基準株と70%以上の類似度

であった。このことより、ヒト臨床分離株とPAGU1557は、*H. cinaedi*であると確定できた。一方で、PAGU1557を除く動物分離株は、*H. cinaedi*基準株とは70%未満の類似度であったことから、*H. cinaedi*とは異なる菌種であることがわかった。よって、動物分離株は、今まで*H. cinaedi*と同定されてきたが、実際には、*H. cinaedi*とは

異なった菌種であり、新菌種に相当すると考えられた。今後、これらの菌株について、新菌種提案のためのさらなる解析を行う必要がある。

(本研究の一部は、平成22年度日本薬学会東海支部例会(静岡、2010)で報告した)

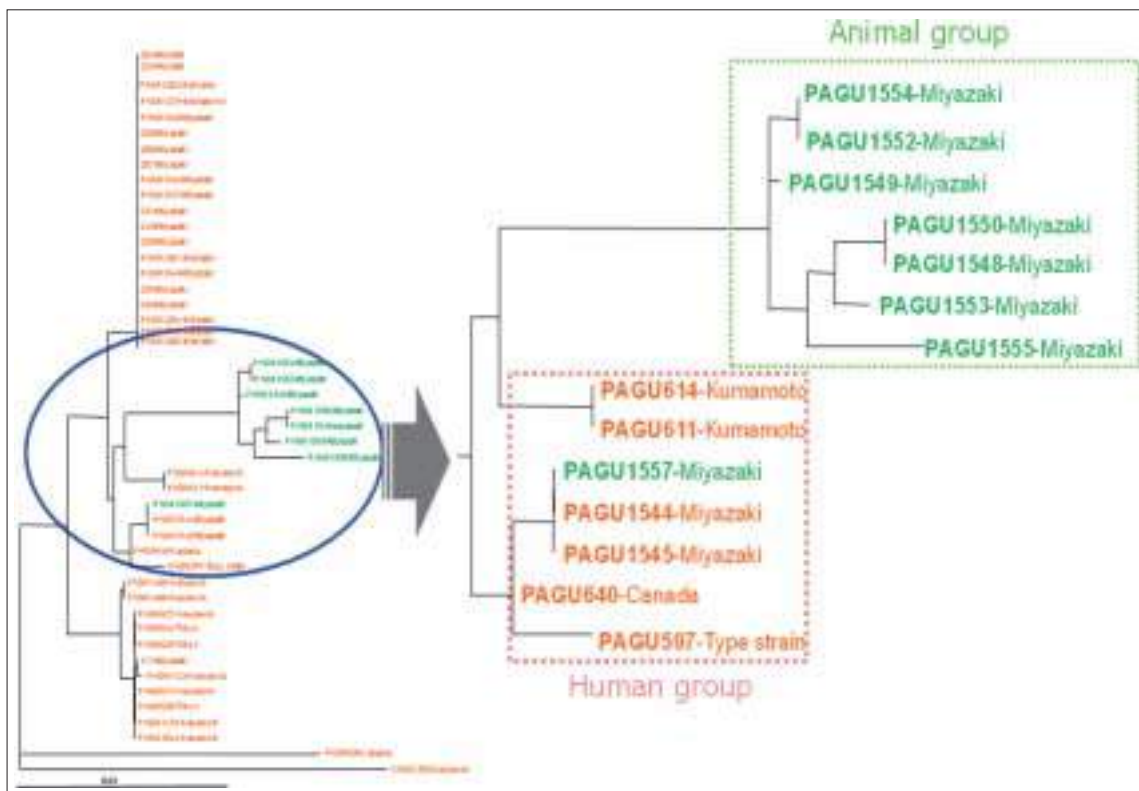


Fig. 1 6S rRNA塩基配列に基づく系統樹