

カンピロバクター分離株のギラン・バレー症候群 (GBS) 関連糖鎖合成酵素遺伝子の保有状況調査

池田 伸代 清水 裕美子 竹原 祐美 田内 敦子*1
井澤 麻由*2 栗林 智早 千神 彩香 青田 達明
京塚 明美 坂本 綾 松室 信宏 石村 勝之

はじめに

Campylobacter jejuni(以下 *C. jejuni*)は下痢、腹痛、発熱等を主症状とする食中毒の起因菌である。近年、国内外で *C. jejuni* による食中毒が多発しており、広島市でも最も重要な食中毒病因物質の一つとなっている。*C. jejuni* 腸炎の予後は一般的に良好であるが、まれに難治性の自己免疫疾患であるギラン・バレー症候群 (Guillain-Barré syndrome:GBS) を続発することが知られている^{1), 2)}。GBS は急性に発症する四肢筋力低下や深部腱反射喪失を主徴とする末梢神経疾患で、その9割で神経症状発現の1~3週間前になんらかの感染症状が認められる。これまでの疫学的研究から、*C. jejuni* は先行感染の原因とされる病原体としては最も高頻度であるとされている^{1), 3)}。

GBS の発症機序の全貌は不明であるが、先行感染の病原体が神経の構成成分と共通する抗原を有し、病原体の交叉抗原に対する抗体が自己抗体として神経に障害を与える仮説(交叉抗原説)が提唱されている。*C. jejuni* には、菌体外膜にヒト末梢神経上のガングリオシド末端と共通した糖鎖構造を有するリポオリゴ糖(ガングリオシド様 LOS)をもつものがあることが明らかになっている¹⁾⁻³⁾。*C. jejuni* のガングリオシド様 LOS の生合成には、シアル酸転移酵素(Cst-II), N-アセチルガラクトサミン転移酵素(CgtA), 及びガラクトース転移酵素(CgtB)等が必要である^{2), 4)}。これら GBS 発症に関連しているとされる糖鎖合成酵素遺伝子(*cst-II*, *cgtA*, *cgtB*)の保有状況調査と血清型別を行ったのでその概要を報告する。

方 法

1 供試菌株

2015年1月から2017年3月に市内医療機関から分与された下痢症患者由来 *C. jejuni* 192株、当所で下痢症患者から分離した *C. jejuni* 14株及び

当所で分離した食肉由来 *C. jejuni* 121株の計327株を供試した。

2 LOS糖鎖合成遺伝子検出

Koga, M.⁵⁾, Nachamkin, I⁶⁾らの報告した *cst-II*, *cgtA*, *cgtB* 遺伝子領域を検出するプライマーを用いて、既報の方法⁷⁾によりPCRを行った。

3 血清型別

市販のカンピロバクター免疫血清(デンカ生研)を用いて Penner 群の血清型別を行い、型別不能の場合はさらにPCR法⁸⁾を用いて型別を行った。

結果と考察

1 下痢症患者由来 *C. jejuni* の解析結果

表1に下痢症患者由来 *C. jejuni* の *cst-II*, *cgtA*, *cgtB* の検出結果を血清型別に示した。206株のうち、*cst-II*, *cgtA*, *cgtB* の3遺伝子全てを保有していたものは106株(51.5%)、*cst-II*のみを保有していたものは31株(15.0%)、3遺伝子をいずれも保有していなかったものは69株(33.5%)であった。本邦の過去の調査で、GBS患者から Penner A群、B群、C群、D群、E群、F群、G群、O群、Y群、UT(血清型別不能)株の *C. jejuni* が分離されている⁹⁾。また、当所で行った2010年の調査では、B群、O群、R群、UT株で3遺伝子全てを保有する株が確認されている⁷⁾。今回の調査では、A群、C群、E群、F群、G群、Y群では3遺伝子同時保有株は確認されず、B群、B・R群、D群、I群、O群、R群、Z6群、UT株で3遺伝子全てを保有する株が確認された。また、2010年の調査ではB群、C群、D群、UT株で *cst-II*のみを保有する株が確認されたが、今回の調査でもB群、C群、D群、UT株で確認され、加えてL/U群でも *cst-II*単独保有株が確認された。過去の調査では、ヒト由来 *C. jejuni* 株において3遺伝子が同時に検出された割合は16.1%~32.8%との報告があるが^{7), 10), 11)}、今回の調査では51.5%と高い結果となった。また、分離株数が多かった Penner B群(75株, 36.4%)及びO群(23株, 11.2%)では、3遺伝子同時保有株の割合はB群で66.7%(50株)と高く、O群では100

*1: 現 健康福祉局保健部食品指導課

*2: 現 健康福祉局保健部食肉衛生検査所

表 1 下痢症患者由来 *C. jejuni* の Penner 血清群別 GBS 関連遺伝子検出結果

Penner 血清群	<i>cst-II</i> (+)		<i>cst-II</i> (+)		<i>cst-II</i> (-)		計	(%)※2
	<i>cgta</i> (+) <i>cgta</i> (+) <i>cgta</i> (+)	(%)※1	<i>cgta</i> (-) <i>cgta</i> (-) <i>cgta</i> (-)	(%)※1	<i>cgta</i> (-) <i>cgta</i> (-) <i>cgta</i> (-)	(%)※1		
A					5	(100.0)	5	(2.4)
B	50	(66.7)	15	(20.0)	10	(13.3)	75	(36.4)
B・F					1	(100.0)	1	(0.5)
B・R	1	(100.0)					1	(0.5)
C			1	(33.3)	2	(66.7)	3	(1.5)
D	2	(16.7)	10	(83.3)			12	(5.8)
F					6	(100.0)	6	(2.9)
G					3	(100.0)	3	(1.5)
G/HS17					4	(100.0)	4	(1.9)
I	1	(100.0)					1	(0.5)
J					2	(100.0)	2	(1.0)
K					4	(100.0)	4	(1.9)
L					1	(100.0)	1	(0.5)
L/U			1	(33.3)	2	(66.7)	3	(1.5)
O	23	(100.0)					23	(11.2)
R	1	(12.5)			7	(87.5)	8	(3.9)
Y					5	(100.0)	5	(2.4)
Z6	1	(100.0)					1	(0.5)
UT	27	(56.3)	4	(8.3)	17	(35.4)	48	(23.3)
計	106	(51.5)	31	(15.0)	69	(33.5)	206	(100.0)

※1 各血清群の株数に対する割合

※2 供試株数に対する割合

表 2 食肉由来 *C. jejuni* の Penner 血清群別 GBS 関連遺伝子検出結果

Penner 血清群	<i>cst-II</i> (+)		<i>cst-II</i> (+)		<i>cst-II</i> (-)		計	(%)※2
	<i>cgta</i> (+) <i>cgta</i> (+) <i>cgta</i> (+)	(%)※1	<i>cgta</i> (-) <i>cgta</i> (-) <i>cgta</i> (-)	(%)※1	<i>cgta</i> (-) <i>cgta</i> (-) <i>cgta</i> (-)	(%)※1		
A	1	(14.3)			6	(85.7)	7	(5.8)
B	19	(59.4)	7	(21.9)	6	(18.8)	32	(26.4)
C			1	(33.3)	2	(66.7)	3	(2.5)
D	2	(15.4)	9	(69.2)	2	(15.4)	13	(10.7)
D・F			1	(100.0)			1	(0.8)
E			1	(100.0)			1	(0.8)
F					3	(100.0)	3	(2.5)
G					3	(100.0)	3	(2.5)
G/HS17			2	(16.7)	10	(83.3)	12	(9.9)
I	3	(100.0)					3	(2.5)
K					1	(100.0)	1	(0.8)
L					2	(100.0)	2	(1.7)
L/U					2	(100.0)	2	(1.7)
O	3	(100.0)					3	(2.5)
R	2	(33.3)			4	(66.7)	6	(5.0)
Y					7	(100.0)	7	(5.8)
Z					1	(100.0)	1	(0.8)
Z6					1	(100.0)	1	(0.8)
UT	10	(50.0)	2	(10.0)	8	(40.0)	20	(16.5)
計	40	(33.1)	23	(19.0)	58	(47.9)	121	(100.0)

※1 各血清群の株数に対する割合

※2 供試株数に対する割合

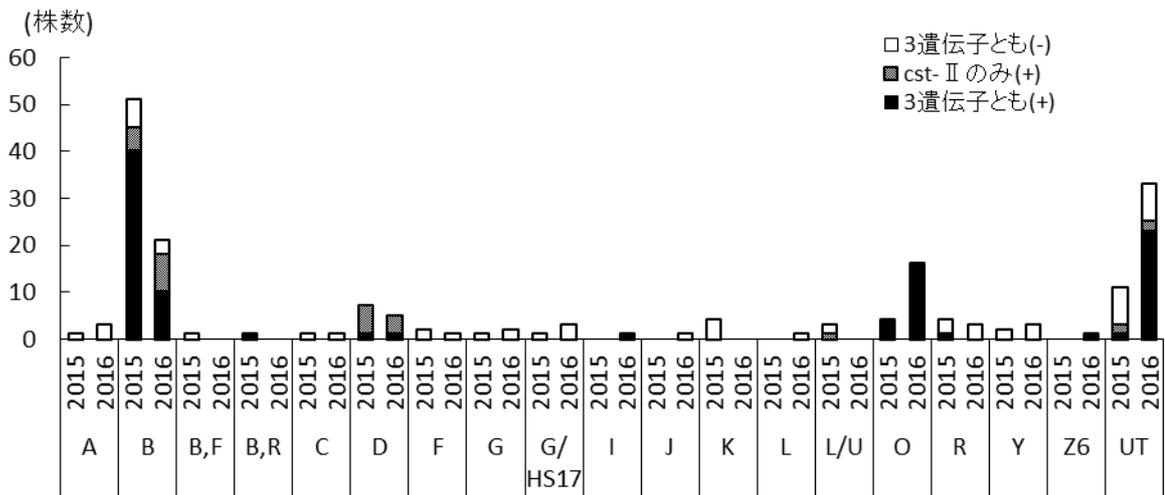


図1 2015年及び2016年の下痢症患者由来 *C. jejuni* の Penner 血清群別 GBS 関連遺伝子検出結果

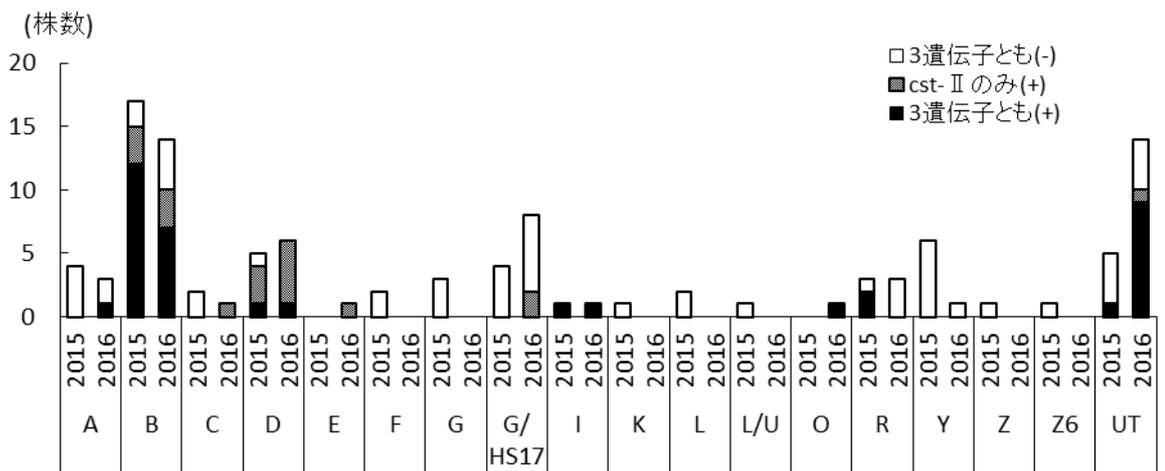


図2 2015年及び2016年の食肉由来 *C. jejuni* の Penner 血清群別 GBS 関連遺伝子検出結果

% (23 株)であった。

C. jejuni 腸炎後に GBS を発症する割合は 0.1% 程度で、GBS を発症していない下痢症患者からもガングリオシド様 LOS をもつ *C. jejuni* が分離されており、GBS 発症には宿主側因子等明らかになっていない因子が存在する^{1), 2)}。しかしながら、ガングリオシド様 LOS の糖鎖合成主要遺伝子 3 つ全てをもつ *C. jejuni* は、潜在的な GBS の細菌側リスク要因となり得る可能性がある。また本邦では、GBS 患者から分離される *C. jejuni* において Penner 0 群株が多いことが知られている⁹⁾。当所における 2010 年及び今回の調査で、下痢症患者由来の Penner 0 群株はいずれも 3 遺伝子全てを保有していた⁷⁾。

図1に2015年及び2016年の調査結果を年別に示した。2015年に検出数が多かった Penner B 群 (51 株) の 3 遺伝子同時保有株の割合は 78.4% (40 株) であったが、2016年には 47.6% (10 株, 21 株中) に減少した。UT 株の 3 遺伝子同時保有株の割合は 2015年には 9.1% (1 株, 11 株中) であったが、2016年には 69.7% (23 株, 33 株中) に増加した。

2 食肉由来 *C. jejuni* の解析結果

表2に食肉由来 *C. jejuni* の *cst-II*, *cgTA*, *cgTB* の検出結果を血清型別に示した。121 株のうち、*cst-II*, *cgTA*, *cgTB* のいずれも保有していたものは 40 株 (33.1%), *cst-II* のみを保有していたものは 23 株 (19.0%), 3 遺伝子をいずれも保有していなかったものは 58 株 (47.9%) であった。本邦の過

去の調査では Penner B 群, D 群, O 群, UT 株で 3 遺伝子同時保有株が報告されている^{10), 11)}。今回の調査では A 群, B 群, D 群, I 群, O 群, R 群, UT 株で 3 遺伝子全てを保有する株が確認され, B 群, C 群, D 群, D・F 群, E 群, G/HS17 群, UT 株で *cst-II* のみを保有する株が確認された。過去の調査では食肉由来 *C. jejuni* 株において 3 遺伝子が同時に検出された割合は 14.1%~43.5% との報告があり^{10), 11)}, 今回の調査でも 33.1% から 3 遺伝子が同時に検出された。また, 分離菌株数の多かった Penner B 群 (32 株, 26.4%) では 59.4% (19 株) から 3 遺伝子が同時に検出され, その他の血清群では, 分離菌株数は多くはないが, I 群 (3 株) 及び O 群 (3 株) で分離された全ての株から 3 遺伝子が同時に検出された。

図 2 に 2015 年及び 2016 年の調査結果を年別に示した。2015 年に検出数が多かった Penner B 群株 (17 株) の 3 遺伝子同時保有株の割合は 70.6% (12 株) であったが, 2016 年には 50.0% (7 株, 14 株中) に減少した。UT 株の 3 遺伝子同時保有株の割合は 2015 年には 20.0% (1 株, 5 株中) であったが, 2016 年には 64.3% (9 株, 14 株中) に増加した。既報¹²⁾によると, Penner O 群株の一部で何らかの原因から O 群抗原の発現が減弱し, 市販免疫血清による血清型別 (PHA 法) で型別不能となる可能性が示唆されている。今回実施した血清型別 PCR 法では O 群の検出ができないため, PHA 法及び PCR 法で UT 株とされた株の中に, O 群抗原の発現の弱い O 群株が含まれている可能性がある。

今回の調査でみられた血清群や糖鎖合成酵素遺伝子の保有状況等の変動がどのような要因で起きたのかは不明であるが, これらの変動について予防的視点からの検討も課題である。

謝 辞

この調査にご協力いただきました医療機関及び保健所の関係各位に深謝致します。

文 献

- 1) 古賀道明 他: *Campylobacter jejuni* 腸炎とギラン・バレー症候群, 感染症学雑誌, 77(6), 418~422(2003)
- 2) 西本幸弘 他: カンピロバクター感染とギラ

- ン・バレー症候群, フィッシャー症候群, 臨床検査, 53(6), 717~722(2009)
- 3) 駒ヶ嶺朋子 他: Guillain-Barré 症候群, 臨床検査, 55(11), 1249~1257(2011)
- 4) Yuki N: *Campylobacter* sialyltransferase gene polymorphism directs clinical features of Guillain-Barré syndrome, J. Neurochemistry, 103(Supp. 1), 150 ~ 158 (2007)
- 5) Koga M et al.: *Campylobacter* gene polymorphism as a determinant of clinical features of Guillain-Barré syndrome, NEUROLOGY 65(6), 1376~1381(2005)
- 6) Nachamkin I et al.: *Campylobacter jejuni* from patients with Guillain-Barré syndrome preferentially expresses a GD1a-like epitope, Infect. Immun., 70(9), 5299 ~ 5303(2002)
- 7) 国井悦子 他: 下痢症患者由来カンピロバクター分離株のギランバレー症候群 (GBS) 関与遺伝子の保有状況, 広島市衛生研究所年報, 29, 58~60(2010)
- 8) 青田達明 他: マルチプレックス PCR 法による *Campylobacter jejuni* の血清型別の検討, 広島市衛生研究所年報, 35, 87~88(2016)
- 9) Takahashi M et al.: Epidemiology of *Campylobacter jejuni* Isolated from Patients with Guillain-Barré and Fisher Syndromes in Japan, J. Clin. Microbiol., 43(1), 335~339(2005)
- 10) 松田正法 他: 下痢症患者や鶏肉類から分離された *Campylobacter jejuni* のギランバレー症候群 (GBS) 関連遺伝子保有状況と薬剤耐性, 日本食品微生物学会雑誌, 30(1), 39~42(2013)
- 11) 北尾孝司 他: ヒトおよび鶏から分離された *Campylobacter jejuni* におけるギラン・バレー症候群関連遺伝子の保有状況調査, 医学検査, 64(2), 173~178(2015)
- 12) 京塚明美 他: 広島市の食中毒事例から分離された Penner O 群 *Campylobacter jejuni* 菌株の分子疫学検討, 広島市衛生研究所年報, 35, 89~92(2016)