
水圏原生生物に着目したカンピロバクター環境内生存戦略の解明

福井県立大学海洋生物資源学部海洋生物資源学科・准教授 下畑 隆明

■ 目的

カンピロバクターは日本で頻発する細菌性食中毒の原因菌である。ヒトに対しては病原性を示す一方で、鶏などの家禽類では腸管常在菌として存在している。カンピロバクターは成長した鶏からは高頻度で検出されるため鶏肉を原因とした食中毒が発生するが、雛鶏からは検出されず、成長に伴う餌や水との接触でカンピロバクターを保有するようになると考えられている。しかしながら微好気性細菌で酸素や環境ストレスに弱く、またゲノムの変異により栄養嗜好性にも偏りを持っているカンピロバクターが、腸管と比べて酸素が多く栄養が少ない自然環境中でどのように潜伏し、鶏腸管への定着を企てているのか、環境中での生存機構は明らかとなっていない。近年水圏環境に生存する原生生物が病原性細菌のリザーバーとして働くことが報告されるようになってきたが、カンピロバクターと原生生物の共生関係は報告されていない。申請研究では環境中の原生生物に焦点を絞りカンピロバクターとの共生関係を調べ、水圏環境に存在する原生生物と鶏伝搬との関連を明らかにする。

■ 方法

本研究では、*Campylobacter jejuni* : ATCC 700819 (NCTC 11168) 株と *Campylobacter jejuni* : NCTC 11828 (Strain 81116) 株を使用した。床敷サンプル、河川サンプル、オートクレーブによる加熱処理により環境生物を死滅させたサンプルに *C. jejuni* を添加し、5% CO₂ 条件下 25°C で 2 時間共培養した。サンプルにゲンタマイシン溶液を加えて 37°C で 2 時間静置し、溶液中に浮遊している *C. jejuni* を殺菌処理した。1% Triton-X/PBS を加え、細胞を溶解させ、Muller Hinton 寒天培地にプレーティングし、微好気条件下 (85% N₂, 10% CO₂, 5% O₂)、37°C で 2 日間培養した後に、コロニー形成単位 (CFU) を数えることで環境生物に取り込まれた *C. jejuni* の生菌数の評価を行った。また採取した環境サンプルは、DNA の抽出を行った後、微生物叢解析を行った。

■ 結果及び考察

床敷抽出サンプルに *C. jejuni* を添加し、床敷由来の生物による取り込み評価を行ったところ、加熱処理を行った床敷サンプルに比べて、顕著なコロニーの増加が認められた。河川水サンプルについても同様の検討を行った結果、81116 株では未処理ではコロニー形成数が有意に高値を示した。また抗原虫薬処理でも有意的にコロニー検出が低下したことから、河川に存在する *C. jejuni* を細胞内に取り込む生物は原生生物である可能性が高まった。18s シークエンス解析結果から、*C. jejuni* の宿主として注目されてきたアメーバ類として、アメーバ鞭毛虫グループであるケルコゾア (*Cercozoa*) やアメーボゾア (*Amoebozoa*) ツブネリア綱 (*Tubulinea*)、有中心粒目 (*Centrohelida*) が確認された。

■ 結語

本研究により、床敷、河川水など鶏舎を取り巻く環境因子には *C. jejuni* を取り込む原生生物が存在することが示唆された。今後鶏舎や鶏舎を取り巻く環境の生物種をさらに解析し、*C. jejuni* の取り込みとの関連を明確にすることで、環境から鶏舎への *C. jejuni* に拡散に関わる生物種を明らかにしたいと考えている。