

学生優秀発表賞受賞者：福田博之 演題番号 055

gyrB 遺伝子を対象とした degenerate PCR-RFLP 法による *Campylobacter* の新規菌種鑑別法

福田 博之*1§ 小島 夫美子*2 藤本 秀士*2

I. 研究の概要

【背景】

Campylobacter はグラム陰性のらせん状桿菌で、現在、26 菌種¹⁾存在し、少なくとも 15 菌種²⁾は疾患との関連性が報告されている。一般的に食中毒の起炎菌として知られるが、菌種によってその病原性は異なり、胃腸炎の他にも敗血症や歯周炎を代表とした諸疾患を引き起こすことが知られている^{1,2)}。しかし、これまでに報告されている分子生物学的種鑑別法は、*Campylobacter* のうち臨床的重要性が明らかな *C. jejuni* や *C. coli* といった菌種を対象とした特異的プライマーの 1 組、あるいは数種類のセットを用いた方法である。そのため、セットに含まれない菌種は鑑別に至らない。このような現状から、幅広い菌種に対応できる簡便な鑑別法が望まれる。

【目的】

C. jejuni、*C. coli* を含む 14 菌種の *Campylobacter* を対象とし、その他の菌種にも対応可能で簡便な degenerate PCR-RFLP 法を確立する。

【方法】

GenBank から入手した *Campylobacter* 14 菌種 190 株の *gyrB* 遺伝子塩基配列データをもとに degenerate プライマー対を作製した。本プライマー対を用いて PCR を行った後、得られた PCR 産物

を制限酵素 *DdeI* もしくは *MboI* で切断した。上記 190 株の *gyrB* 遺伝子塩基配列データをもとに推定した制限酵素切断パターンを指標とし、実験的に得られた切断結果から菌種判定を行った。

【結果】

Campylobacter 胃腸炎臨床分離株 86 株を対象に本法を行ったところ、全ての株で目的の PCR 産物が得られた。得られた PCR 産物を *DdeI* や *MboI* で処理することによって、86 株中 83 株の菌種を鑑別でき、*C. jejuni* 76 株、*C. coli* 7 株であった。しかし、残りの 3 株の切断結果はデータベースの切断パターンとは合致せず、菌種を判定できなかった。

【結論】

今回の研究で、本法が *C. jejuni* と *C. coli* の鑑別に有用であることが示された。本法は残り 12 菌種とその他の菌種への対応が理論的には可能であり、臨床検査での幅広い菌種に対応した簡便な鑑別法になりうると考えられる。

II. 受賞の感想

日本臨床検査学教育学会学術大会での発表は私にとって初めての学会発表でした。尊敬する研究室の先生方と連名で発表できたことは大きな喜びであり、修士課程へ進学する際に掲げた目標のうちの 1 つを達成したという気持ちもありました。

*1九州大学大学院医学系学府保健学専攻 §2MD14531M@s.kyushu-u.ac.jp

*2九州大学大学院医学研究院保健学部門

そのうえ、優秀発表賞を頂けたことを大変光栄に思います。このたびの学会発表に至る過程には、日々の研究から発表準備において様々なエピソードがありました。私が研究や発表準備で袋小路に迷い込んだ時は毎度、先生方的確なアドバイスによって軌道修正され、このたびの受賞に至ったと確信しております。このたびの受賞はひとえに研究室の先生方(九州大学 藤本秀士教授、小島夫美子講師)の厚いご指導の賜物であり、この場を借りて深くお礼申し上げます。この受賞を糧に、今後もより一層研究に励んでいこうと考えます。

III. 将来への抱負

私は将来、大学教員となり、薬剤耐性菌に関する研究と学生への教育を行おうと考えています。私はこれまで、大学での卒業研究から修士課程にかけて、一貫して *Campylobacter* の検査法の研究を続けてきました。その研究過程で *Campylobacter* について学ぶうちに、本菌のフルオロキノロン耐性化の原因は、生産効率向上を目的とした家禽への抗生物質の投与にあると知り、薬剤耐性菌が発生する必然性とその深刻さを実感しました。このグローバル社会において、一国による薬剤の使用

制限だけでは耐性化を防ぐことはできず、根本的な解決法を見出す以外にはないと考え、将来の研究目標としました。一方、学生への教育を目標とした理由は修士課程での経験に根差します。私が研究を始めた当初は、研究における考え方や伝え方が(今以上に)未熟で、昔のラボノートや発表スライドを見直すと恥ずかしく感じるがありました。しかしながら、そう思えるようになったことは、私が成長した証であり、その成長を促して下さった先生という役職の重要性を改めて実感しました。先生方から教わったことを、将来、私が行う教育に活かせたらと思います。以上が私の将来への抱負になりますが、まずは博士課程に進学できるように頑張ります。

引用文献

- 1) Kaakoush NO, Castaño-Rodríguez N, Mitchell HM, Man SM. Global epidemiology of campylobacter infection. Clin Microbiol Rev 2015; 28: 687-720.
- 2) On SLW. Isolation, identification and subtyping of Campylobacter: Where to form here?. J Microbiol Methods 2013; 95: 3-7.