



Title	長崎県沿岸におけるVibrio vulnificusの分布と環境および臨床由来株のクラスタリングに関する研究
Author(s)	右田, 雄二
Citation	(2018-08-29)
Issue Date	2018-08-29
URL	http://hdl.handle.net/10069/38663
Right	

This document is downloaded at: 2019-09-17T00:55:32Z

長崎県沿岸における *Vibrio vulnificus* の分布と環境および臨床由来株のクラスタリングに関する研究

長崎大学大学院水産・環境科学総合研究科
右田 雄二

Vibrio vulnificus (以下、*V. vulnificus*) は温帯地域の海岸と河口域の汽水帯に広く常在する細菌であり、同じ海域に棲息する多様な種類の魚介類にも *V. vulnificus* は存在している。本菌のヒトへの感染は魚介類の生食や皮膚創傷部の海水暴露を介し成立し、稀に劇症型感染症を惹き起こす。ハイリスク群は慢性肝疾患を有するヒトで壊死性筋膜炎や敗血症ショックにより死に至る場合が多い。*V. vulnificus* 感染症の患者発生の多い地域では、沿岸海水の分布調査が行われており、国内外を問わず、夏季に最大 3-5 Log MPN/100 ml まで増加する。国内では有明海周辺地域が最も患者が多発する地域でありながら、有明海については詳しく調べられておらず、本菌の分布とその成因は不明である。また、*V. vulnificus* は魚類の感染症原因菌としても知られ、養殖環境が *V. vulnificus* の貯蔵庫（リザーバー）になる可能性があることから、漁業従事者や周辺住民の感染予防や水産物の安全確保は重要な課題である。このような背景から、患者発生の多い有明海の沿岸海水中における *V. vulnificus* の分布密度と水温や塩分等の環境因子との関係を詳細に調査する必要がある。

V. vulnificus の病原性因子として、莢膜、線毛、溶血毒素、タンパク質分解酵素、エンテロトキシン等が報告されているが、病気の発症は肝硬変等の基礎疾患の有無によるところが大きい。*V. vulnificus* の病原性判定手法に関する研究はこれまで、患者由来株に特有な特定機能遺伝子の塩基配列の差異に基づくタイピング法〔病原性に関連する特定 ORF 領域 (*vcg* 遺伝子)、菌の莢膜生成にかかる遺伝子群 (*CPS* オペロン)、small subunit 16S rRNA 遺伝子および鉄獲得に関与するシデロフォア遺伝子 (*viuB* 遺伝子)] や複数のハウスキーピング遺伝子の塩基配列の差異を解析する MLST (Multilocus sequence typing) 法が知られているが、近年では細菌等の 16S-23S rDNA internal transcribed spacer (rITS) 領域の遺伝的多様性に着目し、種から亜種レベルまで識別可能な RISA (Ribosomal Intergenic Spacer Analysis) 法も注目されている。海水中の *V. vulnificus* には多様なゲノムプロファイルが存在しており、その中に高病原性株が潜んでいる可能性がある。従って、多様な *V. vulnificus* 群から高病原性タイプを識別する簡便な手法の開発は必須である。

そこで第 2 章では、有明海をのぞく長崎県内の沿岸、有明海および有明海流入河川（河川から沖合）において *V. vulnificus* の分布を観測し、それぞれを比較することで、有明海

における *V. vulnificus* の分布の特徴と環境特性を考察した。第3章では、我々が考案した制限酵素断片長多型(rITS-RFLP)解析法による *V. vulnificus* 種内の識別法を評価するとともに高病原性株のスクリーニング法としての利用可能性を検討した。

第2章では、2004年8月～2007年1月にわたり有明海沿岸と橘湾沿岸を、2006年と2007年7月～9月にわたり離島を含む県内沿岸を、それぞれ表層海水を採取し、*V. vulnificus* 数、水温および塩分を調査した。次に、2007年10月～2008年9月にわたり有明海流入河川の一つである船津川流域（河川から沖合まで）を月1回連続観測し、*V. vulnificus* 数、*V. parahaemolyticus* 数、水温および塩分等の環境因子を調査した。その結果、有明海における *V. vulnificus* の分布の特徴を以下のとおり考察した。1) 有明海沿岸における夏季の *V. vulnificus* は、河口に平均 2-4 Log MPN/100 mL で生息するが、増殖に適した環境が出現した際には、有明海は他の海域以上に高い分布密度になる。2) 満潮時の船津川流域では、*V. vulnificus* は水温が 25°C を超過する夏季に、塩分が 8.4～27.0 psu の範囲にある河口域で高い分布密度を示し、本菌の安定的な生息場は河口域にあると考えられる。3) 2006年8月に有明海沿岸で *V. vulnificus* が最大 6 Log MPN/100 mL を超過するまで増加した原因は記録的な降水量の増加による諫早湾周辺広範囲における低塩分水の出現と 25°C 以上の水温の維持が大きく関与していたと考えられる。

第3章では、2004年8月から2009年8月に単離した126株〔有明海由来86株（海水50株、潮溜り22株、牡蠣14株）、長崎県沿岸（有明海をのぞく）海水由来40株〕および臨床由来株32株（九州北部医療機関分与21株、菌株保存施設分与11株）の合計158株について、*V. vulnificus* の rITS-RFLP 解析を行った。得られた7クラスターについて、患者由来株の占める割合、臨床型機能遺伝子 (*vcg*、*CPS*) の保有割合、両海域（有明海と県内沿岸）間の海水由来 *V. vulnificus* 株の遺伝的特徴を評価した。rITS-RFLP 解析の結果得られたクラスターⅢには特に患者由来株が多く出現し、臨床型 *vcg* 遺伝子の集積がみられた。有明海は他の県内沿岸よりもクラスターⅢの検出割合が高く、全7クラスターが出現した。これらの結果から、*V. vulnificus* の生息場としての有明海は、県内の他の海域と比べ、遺伝的に多様で、かつ潜在的にヒトへの感染リスクの高い株の生息割合が高いことが示唆された。

第4章では、得られた結果を総合的に検証し、夏季に降水量の増加により低塩分環境が広範囲に出現する有明海特有の環境特性が、有明海における *V. vulnificus* の遺伝的多様性を生み出すと同時にヒトへの感染リスクの高い株の出現割合を上昇させると考察した。

今後、感染リスクの高い *V. vulnificus* の存在をモニタリングすることは、水産業従事者や周辺住民に対する感染予防や水産物の安全確保の観点からも重要と考える。