

遺伝子が存在すれば検出できるように設計したもの。それと、*V. vulnificus* 特異的な配列の領域を用いて、菌種特異的な遺伝子として検出できるかどうかを検討するために設計したもので実験を行った。今回は、このような検討のため、患者由来株、環境由来株が含まれていて、菌種として確立しているものということで、血清型の参照株を用いた。

今回 PCR 法で調べた *vvh*、*vvuA*、*vpvE*、*vpl* については、参照株すべてが保有しており、含まれる環境由来株との差は見いだせなかった。しかし、環境由来株とは言っても、血清型参照株に含まれるものは、患者由来株との関連のある可能性もあり、患者発生の見られていない地域から分離された株を、さらに調査して見る必要があるものと考えられる。なお、血清型別参照株の O10 (586-88; エビ(インド))については、生化学的性状では *V. vulnificus* と判定されるのであるが、本菌に特異的な 16S や ISR の PCR では陰性であり、本研究でも、いずれの PCR も陰性であったことから、*V. vulnificus* に該当しない菌株かもしれない。さらに解析が必要と思われる。

以上のように、これまでのところ、患者由来株と環境由来株の間に違いは見られていないが、前述の通り、環境からの本菌の分離数の多さと患者数とを比較すると、環境由来株のすべてが、病原性株とは考えにくい。菌側には特定の病原因子がなく、肝疾患などの患者側の因子が重要であることも充分考えられるが、菌側にも発症の引き金となる因子が存在するものと考えられる。

V. vulnificus の場合は、前述の通り、病原因子にまだ不確定な部分があり、それらを標的とした PCR が陽性になったからといって、原因菌であるとは言い切れない面が残る。しかし PCR 法を用いて毒素産生性や病原因子の遺伝子が検出されれば、同定を待たずとも原因菌としてまず疑うことが出来る。症状の進行の早い本菌感染症においては、PCR 法の開発によって迅速、高感度に、病原性のある *V. vulnificus* を検出できることが期待され、臨床においても、環境中の汚染実態調査においても有効な方法になるものと思われる。

今回鉄利用に関しては、*vvuA* だけしか検討しておらず、*vvuA* も今回作成した common primer では検出されたので遺伝子自体は保有しているが、specific primer では患者由来株でも検出されないものがあり、primer として選んだ領域に菌株間に差のあることがわかった。残る *hupA* についても調査する予定である。また、莢膜も宿主側の殺菌抵抗性と関係するとの報告もあるので、合わせて検討する予定である。PFGE 法についても、血清型の同じ患者由来株と環境由来株について比較検討することで、その差異から患者由来株の特徴を求めていく予定である。

E. 研究発表

1. 学会発表

荒川英二, 田村和満

Vibrio vulnificus の細菌学的検査法について,
第 23 回衛生微生物技術協議会, 2002

F.参考文献

1. Hill WE, et al.
Polymerase chain reaction identification of *Vibrio vulnificus* in artificially contaminated oysters.
Appl Env Microb 57(3): 701-11 (1991)
2. Miyoshi S, et al.
Characterization of the hemorrhagic reaction caused by *Vibrio vulnificus* metalloprotease, a member of the thermolysin family.
Infect Immun 66(10):4851-5 (1998)
3. Testa J, et al.
Extracellular phospholipase A2 and lysophospholipase produced by *Vibrio vulnificus*.
Infect Immun 45(2):458-63 (1984)
4. Webster AC, et al.
Cloning and characterization of *vuuA*, a gene encoding the *Vibrio vulnificus* ferric vibriobactin receptor.
Infect Immun 68(2):526-34 (2000)
5. Powell JL, et al.
Release of tumor necrosis factor alpha in response to *Vibrio vulnificus* capsular polysaccharide in *in vivo* and *in vitro* models.
Infect Immun 65(9):3713-8 (1997)
6. Heidelberg JF, et al.
DNA sequence of both chromosomes of the cholera pathogen *Vibrio cholerae*.
Nature 406(6795):477-83 (2000)
7. Makino K, et al.
Genome sequence of *Vibrio parahaemolyticus*: a pathogenic mechanism distinct from that of *V. cholerae*.
The Lancet 361: 743-9 (2003)
8. Shimada T, et al.
On the serology of *Vibrio vulnificus*.
Jpn J Med Sci 37: 241-6 (1984)
9. Arakawa E, et al.
Pulsed-field gel electrophoresis-based molecular comparison of *Vibrio cholerae* O1 isolates from domestic and imported cases of cholera in Japan.
J Clin Microbiol 38(1):424-6 (2000)
10. 古城八寿子ら
*Vibrio vulnificus*感染症-診断と治療のフローチャートの試み-
日皮会誌 109(6): 875-84 (1999)