

—ワンヘルス時代の感染症対策 (V)—

豚 丹 毒

—ゲノム解読が明らかにした感染の疫学—

下地善弘[†] (国研農研機構・動物衛生部門 動物感染症研究領域)

はじめに

豚丹毒は、主として豚丹毒菌 *Erysipelothrix rhusiopathiae* の感染によって起こる人獣共通感染症である。本疾病は、人では創傷感染による手指の皮膚疾患が主な症状であり類丹毒と呼ばれる。豚及びイノシシの本疾病は、家畜伝染病予防法の「届出伝染病」に指定されており、今なお多くの発生報告がある。豚における臨床症状は、大まかに分類すると、急性の敗血症、亜急性の皮膚病変（蕁麻疹）、また、慢性の関節炎や心内膜炎に分けられる。食肉検査時において、これらの所見が認められた個体はと殺禁止、あるいはと体の全部廃棄の対象となることから、公衆衛生だけでなく畜産経営の観点からも予防対策が重要な疾病である。

豚丹毒菌の宿主域はきわめて広く、豚をはじめとする家畜、陸棲及び海棲哺乳類、鳥類など、多様な動物に感染し豚丹毒を発症させることができる。また、本菌は魚や甲殻類表面からも分離される。海外においては、本疾病は豚以外の産業動物では七面鳥の被害が大きく、EUではアニマルウェルフェアに配慮した飼育形態の変化に伴い、養鶏での発生報告が増えている。その他、人間とは生活圏内の異なる野生動物での発生報告も多く、2009～2014年頃にカナダからアラスカの冷寒帯から北極圏の広範な地域で、本菌が原因となる大型偶蹄類（ジャコウ牛、ムース、カリブー）の大規模な集団死亡例が相次いで報告された。

豚丹毒菌の歴史は非常に古く、1876年にドイツのロバート・コッホによりマウスより分離されたのが最初の報告である。本菌の病原性については永年不明であったが、1994年に本菌は莢膜を保有することが著者らによって初めて明らかにされた [1]。さらに、2011年にゲノム解読がなされて網羅的な遺伝子解析が進んだ結果

[2-4]、現在では獣医学領域の細菌の中でも、最も病原性解析が進んだ病原体の一つとなっている。

本稿では、ゲノム解読から明らかになった本菌の分子生物学と感染の疫学、また、野生動物における本疾病の発生や新たな菌種の発見など、豚丹毒に関する最近の知見について紹介と解説を行う。

豚丹毒菌の分子生物学

系統学的位置：豚丹毒菌 *Erysipelothrix rhusiopathiae* はグラム陽性の桿菌であり、分類学上、*Bacillota* 門 (旧 *Firmicutes* 門) (ゲノム DNA の GC 含量が低いグラム陽性細菌の総称)、*Erysipelotrichia* 綱、*Erysipelotrichales* 目、*Erysipelotrichaceae* 科、*Erysipelothrix* 属に属する。この門には、炭疽菌、クロストリジウム属菌、連鎖球菌、ブドウ球菌など、家畜に重大な疾病を引き起こす病原細菌の他、ラクトバチルス、ラクトコッカスなどの有用細菌も含まれる。ゲノム解析から、*Erysipelotrichia* 綱は独自の進化を遂げたグループであり、*Bacillota* 門に属する他の菌とは系統学的に離れてマイコプラズマのグループに近縁であることが明らかとなった [2]。

豚丹毒菌の強毒株 Fujisawa 株のゲノムサイズは 1.79 Mbp であり *Bacillota* 門細菌の中で最も小さく、細胞壁を欠くマイコプラズマのグループ、すなわち *Mollicutes* 綱細菌のゲノムサイズに近い [2]。また、細菌学的特徴として、本菌ゲノムは脂肪酸、ビタミン類、補酵素、アミノ酸等の多くの栄養素の合成にかかわる遺伝子群に加えて、通常のグラム陽性菌の細胞壁構成成分であるテイコ酸及びリポテイコ酸の合成経路、また、*dltABCD* オペロンを欠く [2]。このように、豚丹毒菌は *Bacillota* 門細菌でありながらマイコプラズマと同じようにゲノム上から代謝系遺伝子の多くが脱落し、さらに、細胞壁の構造にも変化が起こっている [4]。マイコプラズマはゲノムサイズの小さいグラム陽性菌から進化したとされる Maniloff の仮説 [5] があるが、豚丹毒菌の系統樹上の

[†] 連絡責任者：下地善弘 (国研農研機構・動物衛生部門 動物感染症研究領域)

〒305-0856 つくば市観音台3-1-5 ☎029-838-7713 FAX 029-838-7880
E-mail : shimoji@affrc.go.jp

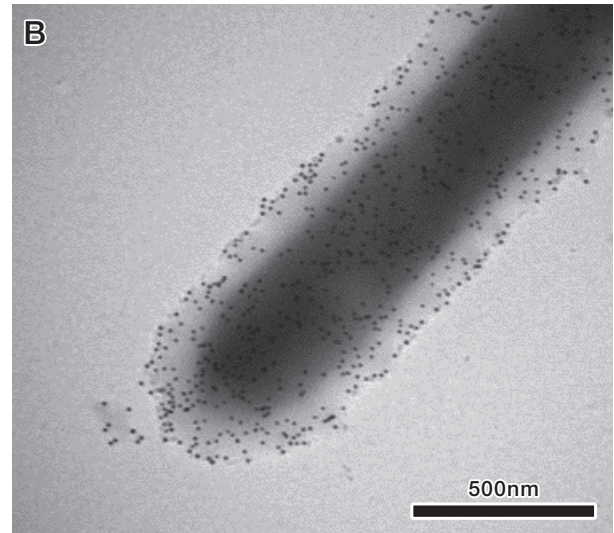
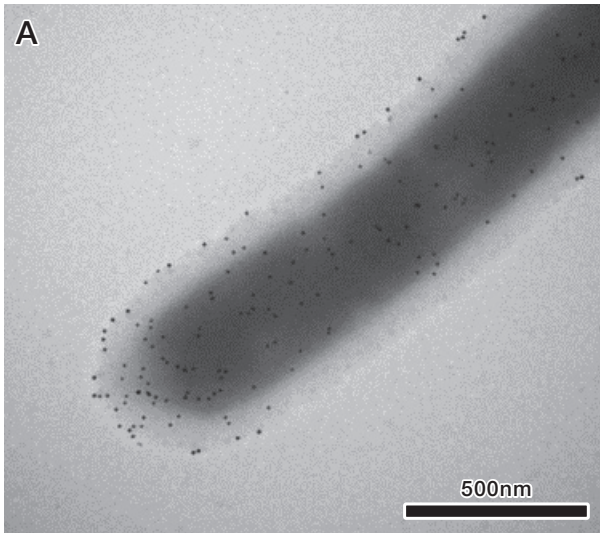


図1 豚丹毒菌（強毒 Fujisawa 株）の莢膜多糖（A）及びPCho（B）の局在を金コロイド標識モノクローナル抗体を用いて可視化した電子顕微鏡写真

位置並びに縮小したゲノムの構造から考えると、本菌はグラム陽性菌とマイコプラズマの両者をつなぐ“missing link”になり得ることは、これらの細菌の進化を考えるうえできわめて興味深い。

病原性：豚丹毒菌の病原性で最も重要な因子は莢膜である。本菌は莢膜を保有することにより宿主の白血球による貪食に対して強い抵抗性を示す [1]。本菌の莢膜多糖はフォスフォルコリン（PCho）によって分子修飾を受けており（図1）、PChoを発現できない変異株はマウスや豚に対して病原性を示さなくなる [6]。病原体がPCho分子を菌体表層に発現することは宿主の免疫機構から逃れるために重要であり、インフルエンザ菌、パストレラ菌、ナイセリア菌、ヒストフィルス菌、肺炎球菌などの粘膜感染病原体に共通の感染戦略である。このことから、本菌の体内侵入門戸として粘膜を介した感染経路が重要であることがわかる。また、莢膜を保有する強毒株は、免疫抗体がない条件下でマクロファージや好中球に取り込まれると細胞内で増殖する [7]。ゲノム解析の結果、本菌が食細胞内殺菌を回避するためのエスケープ機構として、食細胞内の殺菌物質である活性酸素から逃れるための抗酸化酵素遺伝子や、ファゴゾーム等を構成する細胞膜を分解するためのフォスホリパーゼ酵素遺伝子をそれぞれ9個ずつ持つことも明らかになった [2]。そして、これらの遺伝子は、本菌種のコアゲノム、すなわち、全ての豚丹毒菌が共通して保有する遺伝子群の中に存在することがわかっている。このように、最小ゲノムでありながら細胞内寄生に有利に働く遺伝子をきわめて冗長的に保有するというゲノム構造から、豚丹毒菌は細菌にとって劣悪な食細胞内環境に適応するために進化をしてきたことがわかる。この細胞内寄生戦略は、莢膜を保有することによる貪食抵

抗性に加えて、本菌の感染疫学を理解するうえで重要である。

感染経路と発症機序

豚丹毒菌は、必要な栄養素の多くを宿主に依存しており、自然界では自律的増殖ができない。このため、本菌の自然界での分布には何らかの宿主動物との共存が必須である。例としてあげると、豚、牛、野生イノシシ、野生アライグマ、野生ジャコウ牛など、動物の多くは扁桃に保菌していることがわかっている。前述したように、本菌の宿主動物体内への侵入は経口感染が主な経路であり、豚では扁桃上皮のM-cell様細胞を介し体内へ侵入する [8]。扁桃陰窩上皮のM-cell様細胞に取り込まれた菌は、細胞基底膜側に待ち受けているマクロファージに受け渡された後に血中に移行すると考えられるが、マクロファージ内で殺菌されない菌は、高温、多湿、輸送などのストレスにより宿主の免疫状態が低下したことをきっかけとして増殖し、病気を起こすと考えられる。これを裏付ける野生動物での発生例がある。冒頭で述べた、カナダからアラスカ地方の冷寒帯地方から北極圏に棲む大型偶蹄類の集団死亡例において、これらの動物から分離された80株以上の全ゲノム解析を行った結果、動物の大量死は新しく出現したクローナルな強毒株による感染死ではなく、これらの動物がもともと体内に保有する菌あるいは集団内で維持される遺伝子型（genotype）の異なる菌が原因であることが判明した [9]。この研究では、これらの動物が発症に至った要因は、気候変動によるストレスであるとされている。

このように、本疾病の発症には宿主の健康状態が密接に絡んでおり、免疫状態にない動物では抵抗力の低下がきっかけとなり、細胞内寄生菌として体内に潜む菌が増

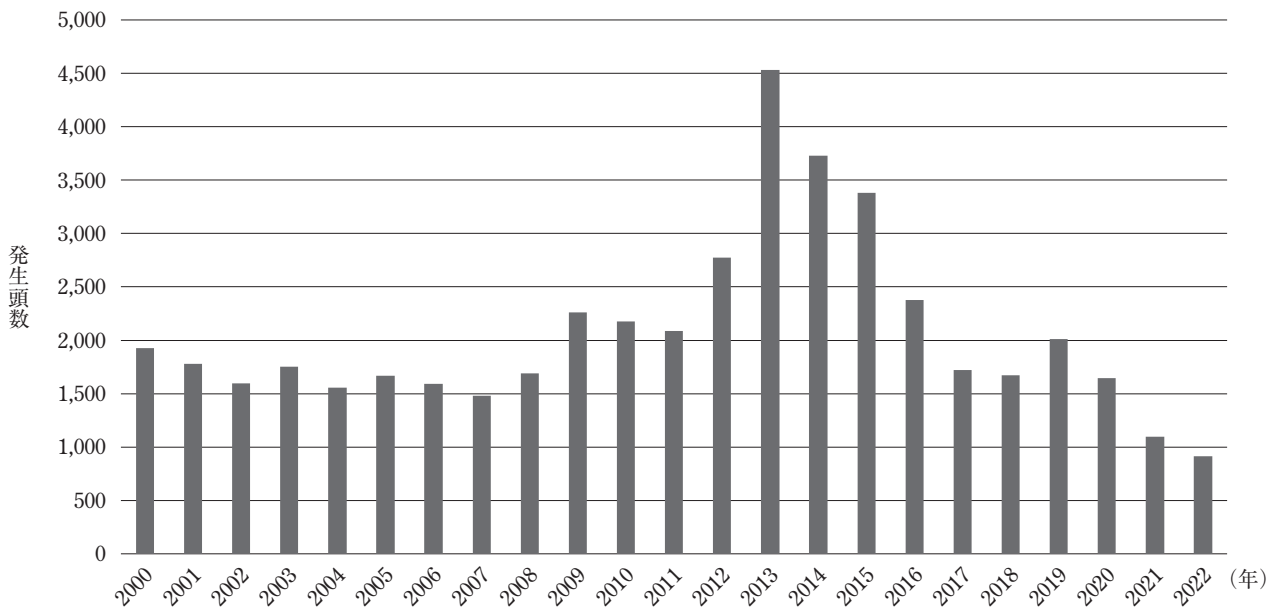


図2 豚丹毒の発生件数（農水省・監視伝染病発生年報による）

殖して発症に至ると考えられる。

国内外での発生状況と疫学

国内の養豚業における豚丹毒の発生件数（急性型及び慢性型）は、2000～2011年までは毎年2,000頭前後であったが、2012～2015年の4年間は年間2,800頭から4,500頭と大きな発生があった（図2）。この発生は2008年頃から増えてきた急性型豚丹毒によるもので、その頃から分離されるようになった遺伝学的に近縁な集団株、すなわちクローナルな株が原因であったことが全ゲノム解析から明らかになっている [10]。これらの株は、過去に分離された株と異なり、主要防御抗原である SpaA (Surface protective antigen) 蛋白遺伝子に非同義（アミノ酸置換を伴う）一塩基多型（Single Nucleotide Polymorphism : SNP）を共通に持つことがきっかけで発見された [11]。SpaA 蛋白は血管内皮細胞等に付着する機能を持つ病原因子であるが [12]、これらの株は、SpaA の他に別の2つの付着因子にも過去の分離株ではみられなかった非同義 SNP を共通に保有しており、これらの違いが病原性に影響を与えた可能性がある [10]。

興味深いことに、この時期には中国でも発生件数の顕著な増加と感染拡大があったが [13]、データベースの解析から、中国では日本国内と同じ遺伝子型の株が多く分離されたことが明らかとなっている [10]。しかし、日本と中国での発生の疫学的な関連性や発生の理由はわかっていない。加えて、北米の野生動物で集団死亡例が多発したのとほぼ同時期に、東アジアの2カ国で本疾病の発生が相次いだことの要因も不明である。北海及びバルト海に棲むアザラシやイルカなどの海棲哺乳類、そし

て、北極地方の陸棲哺乳類において、豚丹毒を含めた感染症の発生が増えており、その要因として気候変動の影響が考えられている [14, 15]。このことを考えると、東アジアでクローナルな株が原因で急性型豚丹毒が多発した要因として、特定の菌の伝播拡散がしやすい飼育豚であることに加えて、北半球における気候変動の影響の可能性も考えられる。

一方、日本でみられる慢性型の大半は、国内で使用されている生ワクチン小金井 65-0.15 株の接種による副作用が原因で発生していることが判明している。小金井 65-0.15 株は、強毒株を変異原性であるアクリフラビン色素が入った培地で継代を重ねることで染色体上にランダムな変異を誘発し、人為的に弱毒化させた株である。著者らの研究グループは、この生ワクチン株のゲノム上に存在する SNP を PCR 法により検出することで、本ワクチン株と野生株とを特異的かつ迅速に識別することができる方法を開発した [16]。この方法を用いて、生ワクチンを使用した農場で慢性型豚丹毒を発症した豚から分離された株について調査した結果、解析した 155 株のうち 101 株 (65.2%) が生ワクチン株に由来することが明らかとなった [17]。小金井 65-0.15 株のゲノム上には多くの変異が起こっているためその弱毒化の機構は完全には理解されていない。しかし、著者らの解析では、本ワクチン株には病原性やストレス反応を転写調節すると考えられる遺伝子に変異がみられること、また、この変異は同一の塩基が5回連続した配列の1塩基欠損によるフレームシフト変異であり、DNA ミスマッチ修復機構を有する豚丹毒菌ではこの変異は修復されてワクチン株の病原性が高まる可能性があることが明らかにされている [18]。

表 *Erysipelothrix* 属の分類

菌種名	分離例等	菌種名が報告された論文
<i>E. rhusiopathiae</i>	豚, 哺乳類, 鳥類, 多くの脊椎動物	Buchanan RE. <i>J Bacteriol.</i> 3: 27-61. 1918
<i>E. tonsillarum</i>	豚扁桃, イヌ心内膜炎	Takahashi T et al. <i>Int J Syst Bacteriol.</i> 42: 469-473. 1992
<i>E. inopinata</i> = <i>Erysipelothrix</i> species 1	野菜ブイヨン, 豚関節炎 ¹⁾ , 豚蕁麻疹 ¹⁾	Verborg S, et al. <i>Int J Syst Evol Microbiol.</i> 54: 221-225. 2004
<i>E. piscisicarius</i> = <i>Erysipelothrix</i> species 2	熱帯魚敗血症死, ヒト菌血症, 七面鳥敗血症死, 豚関節炎 ¹⁾ , 豚実験感染敗血症死 ²⁾	Pomaranski EK, et al. <i>Int J Syst Evol Microbiol.</i> 70: 857-867. 2020
<i>E. larvae</i>	カブトムシ幼虫	Bang BH, et al. <i>Antonie Van Leeuwenhoek.</i> 107: 443-451. 2015
<i>E. urinaevulpis</i>	キツネの尿	Eisenberg T, et al. <i>Int J Syst Evol Microbiol.</i> 72: 005454. 2022
<i>E. aquatica</i>	医療用ヒルとその飼育環境, 病気の亀, 豚関節炎 ¹⁾	Eisenberg T, et al. <i>Int J Syst Evol Microbiol.</i> 72: 005454. 2022
<i>E. anatis</i>	アヒルの副鼻腔	Eisenberg T, et al. <i>Int J Syst Evol Microbiol.</i> 72: 005454. 2022

1) 国内分離例 (未発表データ) 2) 著者らによる実験成績 (未発表データ)

イノシシにおける本疾病の発生状況については公式なデータはない。しかし、国内の野生イノシシのほとんどは本菌に対する抗体を保有していることが明らかとなっている。著者らは、野生イノシシから養豚への感染リスクを検証するため、宮城県以南の東京都を除く全ての41府県で捕獲された野生イノシシ由来の1,372の血清サンプルについて豚丹毒菌抗体保有の有無を調査した[19]。その結果、全ての府県のサンプルにおいて陽性が確認され、全体サンプルでの陽性率は、95.6% (1,312/1,372)であった。この抗体陽性率は、EU諸国(スウェーデン17.5%, スペイン15%, ギリシャ2.4%)と比べて著しく高いが、その要因はわかっていない。また、この研究において、国内で捕獲されたイノシシの扁桃から分離された99株の血清型を調べたところ、1b, 2, 5型菌が多く、豚の急性敗血症から分離されることが多い1a型菌は分離されなかった。同様に、スウェーデンとイタリアで捕獲された健康な野生イノシシの扁桃から分離された71株の解析でも1a型菌は分離されておらず、著者らの成績と同様に1b, 2, 5型等の比較的病原性の低い血清型菌が分離されている[20]。これらの結果を総合すると、病原性の強い1a型菌に感染した個体は死亡するため、捕獲された野生動物からは1a型菌は分離されないと考えられる。これらの研究では、サンプリングバイアスのない、すなわち偏りのない検体を用いた解析ができないため、野生イノシシから養豚への感染リスクについて解析することはできなかった。しかし、国内では野生イノシシの著しく高い抗体陽性率を考えると、野生イノシシから豚への感染リスクは否定できない。

Erysipelothrix 属の新菌種

これまで*Erysipelothrix*属に含まれる菌種は、*E. rhusiopathiae*, *E. tonsillarum*, *E. inopinata*, *E. larvae*の4菌種と未命名の数菌種が報告されていたが、その後の全ゲノム解析から、*E. inopinata*は未命名のために便宜上*Erysipelothrix* species 1として区別されていた株であり(著者ら未発表データ)、また、未命名の*Erysipelothrix* species 2は2020年に熱帯魚から分離された新菌種*E. piscisicarius*であることが明らかとなった[21]。さらに、2022年には*E. urinaevulpis*, *E. aquatica*, *E. anatis*の3菌種が新たに登録され[22]、*Erysipelothrix*属は現在では少なくとも8菌種で構成されている(表)。これまでの疫学情報を考慮すると、これらの菌種の中で病原性が強く豚に敗血症を起こす可能性がある菌種は*E. rhusiopathiae*と*E. piscisicarius*である。*E. piscisicarius*が原因となったヒト菌血症例が報告され[23]、また、死亡した七面鳥からも分離されていることから[24]、本菌種は*E. rhusiopathiae*と同様に宿主域が広いと考えられる。ちなみに、*Erysipelothrix*属菌の中で*E. rhusiopathiae*と*E. piscisicarius*は系統学的に最も近縁であり、どちらもゲノム収縮が進んでおり保有する遺伝子数も少ない[22]。また、著者らの解析では、*E. piscisicarius*も莢膜抗原を保有することが確認されている(著者ら未発表データ)。豚の関節炎や心内膜炎病変から*E. rhusiopathiae*以外の*Erysipelothrix*属菌が分離されることはまれであるが、これまでの疫学情報を考慮すると、*E. piscisicarius*については、豚丹毒あるいは類丹毒の原因菌としてその同定に注意を払う必要がある。

おわりに

ゲノムサイズが進化の過程で収縮する変化は「退行的進化」と呼ばれ、豚丹毒菌をはじめとして、ライ菌、クラジミア、リケッチア、バルトネラ菌、ボレリア菌など細胞内寄生病原体が共通に持つ生存戦略である。これらの病原体では、必要な栄養素は宿主に依存するように進化しており栄養素合成経路の遺伝子の多くを失っている。著者らは、豚丹毒菌をモデルとして、ゲノム情報から病原性に関与する遺伝子を推定し、短期間で合理的に生ワクチンを設計する方法を確立した [25]。この研究では、ゲノム上に残されたアミノ酸の合成にかかわる全ての遺伝子 (14 個のみ) の中から、菌がマクロファージ感染時に発現が亢進している遺伝子を同定しそれらを除去することで弱毒化できることが示された。このように、本菌のゲノム構造を理解しその機能を読み解くことで、理論的にワクチン候補株を開発することが可能になっている。

最後に、豚丹毒は産業的には七面鳥や鶏でも重要であるが、それらの感染源については不明な点が多い。鑑賞用の鯨類 (イルカ等) では、餌となる魚類を介して感染が起こると考えられるが、魚類がどのように汚染させるのかについてはわかっていない。また、人の全身感染の例では感染ルートが不明な場合も少なくない。さらに、他国と比較して日本の野生イノシシの著しく高い豚丹毒菌抗体保有率についても、その要因はわかっていない。このように、ゲノム研究の進展により本菌の病原性に関する理解は進んだものの、媒介生物の存在の有無など、その生態については不明な点が多い。近年、気候変動がもたらすさまざまな生態系の変化により感染症の増加が懸念されている。宿主域の広い豚丹毒菌の生態を明らかにすることは、微生物—動物—環境の相互作用、すなわちマクロ生態学的観点から感染症の発生と流行を理解しコントロールすることに役立つかもしれない。将来、本菌の生態の全容が解明されることを期待したい。

引用文献

- [1] Shimoji Y et al. : Presence of a capsule in *Erysipelothrix rhusiopathiae* and its relationship to virulence for mice, *Infect Immun*, 62, 2806-2810 (1994)
- [2] Ogawa Y et al. : The genome of *Erysipelothrix rhusiopathiae*, the causative agent of swine erysipelas, reveals new insights into the evolution of firmicutes and the organism's intracellular adaptations, *J Bacteriol*, 193, 2959-2971 (2011)
- [3] Ogawa Y et al. : Identification of the chromosomal region essential for serovar-specific antigen and virulence of serovar 1 and 2 strains of *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Infect Immun*, 86, e00324-18 (2018)
- [4] Shimoji Y et al. : Genome-wide identification of virulence genes in *Erysipelothrix rhusiopathiae*: use of a mutant deficient in a *tagF* homolog as a safe oral vaccine against swine erysipelas, *Infect Immun*, 87, e00673-19 (2019)
- [5] Maniloff J, Phylogeny and Evolution, In: Razin S and Herrmann R, eds, *Molecular biology and pathogenicity of mycoplasmas*, p31-43, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York (2002)
- [6] Shi F et al. : Capsular polysaccharide of *Erysipelothrix rhusiopathiae*, the causative agent of swine erysipelas, and its modification with phosphorylcholine, *Infect Immun*, 80, 3993-4003 (2012)
- [7] Shimoji Y et al. : Intracellular survival and replication of *Erysipelothrix rhusiopathiae* within murine macrophages: failure of induction of the oxidative burst of macrophages, *Infect Immun*, 64, 1789-1793 (1996)
- [8] Harada T et al. : *Erysipelothrix rhusiopathiae* exploits cytokeratin 18-positive epithelial cells of porcine tonsillar crypts as an invasion gateway, *Vet Immunol Immunopathol*, 153, 260-6 (2013)
- [9] Forde TL et al. : Bacterial genomics reveal the complex epidemiology of an emerging pathogen in arctic and boreal ungulates, *Front Microbiol*, 7:1759 (2016)
- [10] Ogawa Y et al. : Clonal lineages of *Erysipelothrix rhusiopathiae* responsible for acute swine erysipelas in Japan identified by using genome-wide single-nucleotide polymorphism analysis, *Appl Environ Microbiol*, 83, e00130-17 (2017)
- [11] To H et al. : Characterization of *Erysipelothrix rhusiopathiae* strains isolated from recent swine erysipelas outbreaks in Japan, *J Vet Med Sci*, 74, 949-953 (2012)
- [12] Harada T et al. : Phosphorylcholine and SpaA, a choline-binding protein, are involved in the adherence of *Erysipelothrix rhusiopathiae* to porcine endothelial cells, but this adherence is not mediated by the PAF receptor, *Vet Microbiol*, 172, 216-222 (2014)
- [13] Kwok AH et al. : Complete genome assembly and characterization of an outbreak strain of the causative agent of swine erysipelas -*Erysipelothrix rhusiopathiae* SY1027, *BMC Microbiol*, 14:176 (2014)
- [14] Sonne C et al. : A review of pathogens in selected Baltic Sea indicator species, *Environ Int*, 137:105565 (2020)
- [15] Dolgin E : Climate change: As the ice melts, *Nature*, 543, S54-S55 (2017)
- [16] Shiraiwa K et al. : Development of an SNP-based PCR assay for rapid differentiation of a Japanese live vaccine strain from field isolates of *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *J Microbiol Methods*, 117, 11-13 (2015)
- [17] Shiraiwa K et al. : Single nucleotide polymorphism genotyping of *Erysipelothrix rhusiopathiae* isolates from pigs affected with chronic erysipelas in Japan, *J Vet Med Sci*, 79, 699-701 (2017)
- [18] Shimoji Y et al. : A putative transcription regulator involved in the virulence attenuation of an acriflavine-resistant vaccine strain of *Erysipelothrix rhusiopathiae*, the causative agent of swine erysipelas, *Vet Microbiol*, 239:108488 (2019)

- [19] Shimoji Y et al. : Wild boars: A potential source of *Erysipelothrix rhusiopathiae* infection in Japan, *Microbiol Immunol*, 63, 465-468 (2019)
- [20] Söderlund R et al. : Comparative genome analysis of *Erysipelothrix rhusiopathiae* isolated from domestic pigs and wild boars suggests host adaptation and selective pressure from the use of antibiotics, *Microb Genom*, 6, mgen000412 (2020)
- [21] Pomaranski EK et al. : Description of *Erysipelothrix piscisicarius* sp. nov., an emergent fish pathogen, and assessment of virulence using a tiger barb (*Puntigrus tetrazona*) infection model, *Int J Syst Evol Microbiol*, 70, 857-867 (2020)
- [22] Eisenberg T et al. : *Erysipelothrix anatis* sp. nov., *Erysipelothrix aquatica* sp. nov., and *Erysipelothrix urinaevulpis* sp. nov., three novel species of the genus, and emended description of *Erysipelothrix*, *Int J Syst Evol Microbiol*, 72, doi: 10.1099/ijsem.0.005454 (2022)
- [23] Huang W et al. : First identification of human infection with *Erysipelothrix piscisicarius* by metagenomic next-generation sequencing, *Emerg Microbes Infect*, 11, 2781-2784 (2022)
- [24] Grazziotin AL et al. : Author Correction: Comparative genomics of a novel clade shed light on the evolution of the genus *Erysipelothrix* and characterise an emerging species, *Sci Rep*, 11:9861 (2021)
- [25] Nishikawa S et al. : Rational design of live-attenuated vaccines against genome-reduced pathogens, *Microbiol Spectr*, 10:e0377622 (2022)