

—知っておきたい感染症 (V)—

炭 疽

古屋裕崇, 玉村雪乃<sup>†</sup>

(国研農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門  
人獣共通感染症研究領域)



古屋裕崇



玉村雪乃

1 はじめに

炭疽は、炭疽菌 (*Bacillus anthracis*) の感染によって起こる急性敗血症性の疾病であり、わが国においては家畜 (法定) 伝染病に指定されている。家畜や野生動物のほか、人にも感染する、人獣共通感染症として重要な疾病である。加えて、バイオテロリズムに利用された事件が、1993年 (国内) と2001年 (米国) で発生している。伝染病のみならず、生物兵器の側面も持ち合わせる炭疽菌の公衆衛生上の重要性は高い。本稿では、炭疽の原因菌と症状、発生状況、病原因子、診断方法を解説する。

2 炭疽菌の発見

炭疽の原因菌である炭疽菌はドイツ人医師ロベルト・コッホ博士 (1843-1910) によって1876年に発見された。博士は1872年にポーランドのヴォルシュタイン (現在のヴォルシュティン) で地方医をしていたが、ヴォルシュタイン近郊では炭疽が定期的に人や家畜の命を奪っていた。当時は伝染病の原因が証明されていなかったため、炭疽は原因不明の病と認識されていた。ここで博士は、この原因不明の病の原因究明に尽力し、動物から休眠状態の炭疽菌芽胞を発見した。次に博士は、炭疽菌の構造、芽胞から栄養型への変化を発見した。これらの研究により、細菌が伝染病を引き起こすことが世界で初め

て証明された。博士は炭疽菌の研究を小冊子「Die Ätiologie der Milzbrand-Krankheit, begründet auf die Entwicklungsgeschichte des Bacillus Anthracis.」(訳: 炭疽菌の進化史からみた炭疽菌の病因)にまとめた。

3 炭疽菌の特徴と宿主及び症状

炭疽菌は *Bacillus* 属のグラム陽性通性嫌気性の大桿菌 (1~1.2×3~5 μm) で、破傷風菌やボツリヌス菌と同じ土壌菌の一種である。芽胞を形成し、高温や低温、pH、消毒剤、乾燥等に抵抗性である。芽胞は生体内に侵入するとマクロファージに取り込まれてリンパ節へ運ばれ、発芽して栄養体になるとともに増殖し、病原因子を発現する。栄養体は菌体表層に莢膜を形成し、短鎖状となる。感染動物から排出された栄養体は空気に触れると芽胞を形成し、環境中で長く生存する。

炭疽菌は人工培地上では竹節状の長い連鎖となる。鞭毛を欠き、運動性がなく、溶血を示さない。寒天培地上では辺縁が縮毛状の集落を形成する。

牛、馬、めん羊、山羊などの草食獣は炭疽菌に対する感受性が高く、豚や犬、人は比較的抵抗性である。感受性の強い動物においては、急性敗血症を呈して急死する。潜伏期は1~5日と考えられている。症状としては体温の上昇、眼結膜の充血、急性敗血症、チアノーゼ、肺水腫による呼吸困難等が挙げられる。剖検時には皮下の浮腫、天然孔からの出血、血液凝固不全とタール様出血、脾臓腫大が認められる。比較的抵抗性である豚では慢性的な経過をたどり、症状は腸炎型、アンギナ型、急性敗血症型に分類される。腸炎型は臨床症状をほとんど示さず、重症の場合には嘔吐や血便がみられる。剖検時には腸壁の肥厚 (ホース状)、腸間膜リンパ節腫大や出血、出血性大腸炎が認められる。アンギナ型では咽喉部に浮腫性の腫脹がみられ、呼吸困難を引き起こし、病理学的には咽頭部リンパ節の腫大、出血が認められる。幼豚の場合は急性敗血症で急死する。

<sup>†</sup> 連絡責任者: 玉村雪乃 (国研農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門 人獣共通感染症研究領域)

〒305-0856 つくば市観音台3-1-5 ☎029-838-7713(代表) E-mail: tamamura.yukino772@naro.go.jp

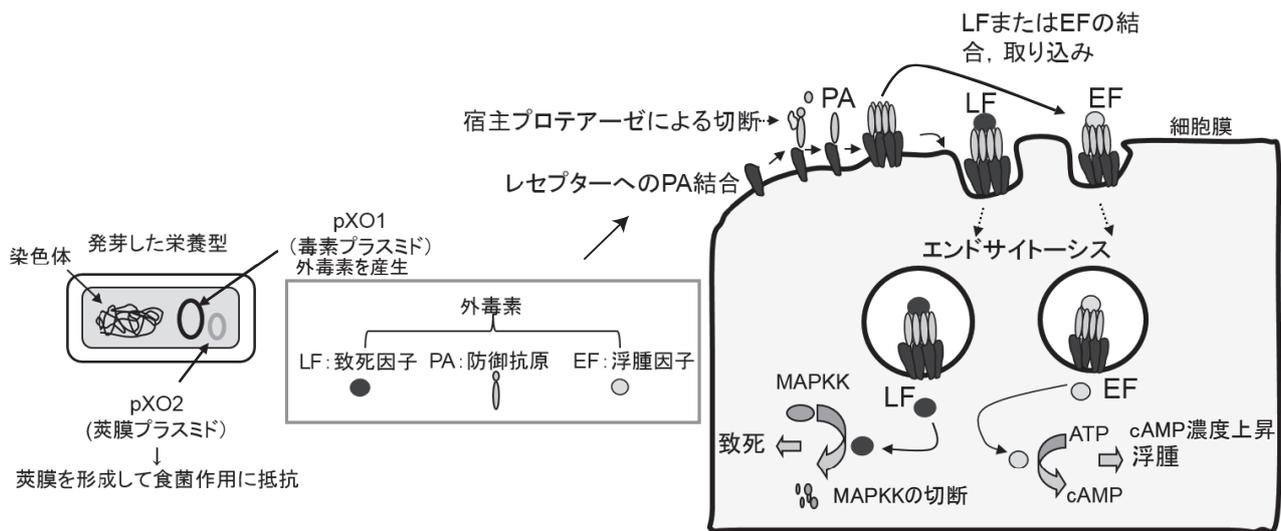


図1 炭疽菌の病原因子, 日本獣医師会雑誌, 69, 365-367 (2016) より玉村改変

#### 4 発生状況及び疫学

動物の炭疽は世界各国で地方病的に発生があり、特にスペイン中部からギリシャ、トルコを経てパキスタンに及ぶ汚染地域は炭疽ベルトと呼ばれ好発地帯である。国際獣疫事務局（World Organization for Animal Health : WOAH）に集められる世界中の家畜疾病の発生情報リスト（WAHIS : <https://wahis.woah.org>）によれば、2024年でスペイン、フランス、イタリア、キルギス、アゼルバイジャン、コンゴなど、炭疽ベルト付近や家畜衛生の未発達な地域の政府から発生が報告されている。日本では、昭和のはじめころまで牛や馬を中心に年間数百頭の発生が記録されていた。しかし、家畜の飼養形態の変化や衛生管理技術の向上により発生は急減し、1991年と2000年の牛における発生を最後に、現在まで発生していない。

炭疽菌は動物から動物へ直接伝播されることはほとんどない。本菌は感染動物の分泌物や排泄物中に排出され、死体の血液をはじめ全身の各臓器に存在する。感染動物の死体の処理が適切でない場合は、土壤中で環境抵抗性の芽胞となり長く残留し、感染源となる。感染経路のほとんどが経口であり、動物が水や牧草を介して芽胞を摂取することにより感染すると考えられている。創傷部や、まれにサシバエによる咬傷からも感染することがある。

#### 5 病原因子

炭疽菌の病原因子として、莢膜と毒素がある。両者は互いに独立した因子であるが、炭疽菌がその病原性を発揮するには両者の共存が必要である。炭疽菌の野外株は184 kb (pXO1) と96.5 kb (pXO2) の2種類のプラスミドを保有しており、それぞれ毒素産生及び莢膜形成に関連する [1-3]。毒素は、異なった蛋白質を主成分と

する3因子の複合体であり、それぞれの活性にちなんで浮腫因子 (edema factor : EF)、致死因子 (lethal factor : LF)、防御抗原 (protective antigen : PA) と呼ばれる。これらの遺伝子はpXO1上に存在する。EF及びLFは単独では毒素活性を示さず、PAと共同で活性を示す (図1) [4]。EFは細胞内サイクリックAMPの上昇をもたらすアデニレートシクラーゼ活性を有し、兎やマウスへの皮下接種により浮腫を惹起する。LFは金属プロテアーゼであり、細胞内シグナル伝達に参与するMAPキナーゼキナーゼ (MAPKK) を切断する。また、マウスやラットへ静脈内投与することにより致死活性を示し、マウスマクロファージ由来培養細胞 (RAW264.7細胞やJ774細胞) に細胞障害性を示すことが知られている。近年では、LFは主に心血管系の細胞を、EFは肝細胞を標的とすることなども明らかにされている [5]。炭疽菌感染により動物が死亡するのはLFによるものと考えられている。EF及びLFが宿主細胞にさまざまな影響を与える一方で、PAは毒性を持たない。しかし単独で動物に感染防御能を付与することが可能であり、さらにEF及びLFが細胞内に入るために重要な役割を果たす (図1)。PAは83 kdの蛋白質であり、細胞膜に存在するレセプターに結合する。レセプターに結合したPAは細胞膜に存在するプロテアーゼにより消化され、20 kdと63 kdのフラグメントを生じ、63 kdのフラグメントが細胞表面に残存する。細胞表面のPAは7量体を形成し、EFあるいはLFと結合してエンドサイトーシスにより細胞内へ取り込まれる。炭疽菌の莢膜は、D-グルタミン酸ポリペプチドで構成されており、宿主の食菌作用や抗体及び補体作用から菌体を守るうえで重要とされている。莢膜形成に必要な遺伝子領域 (Capオペロン) はpXO2上に存在し、*capB*, *capC*, *capA*, *capD*, *capE*の5つの遺伝子から構成される [6]。 *capA*,



図2 マウス脾臓の塗沫染色（農研機構動物衛生研究部門提供）

*capB*, *capC*, *capE* は、莢膜の構成成分であるグルタミン酸ポリペプチドの生合成に関与し、*capD* はグルタミン酸ポリペプチドの菌体への結合に関与する。

莢膜及び毒素は、感染後に宿主体内で産生される。しかし *in vitro* では、これらは血清あるいは重曹を加えた培地において、高濃度の炭酸ガス下で培養したときのみ産生される。pXO1 上には PA, LF, EF の構造遺伝子 (*pag*, *lef*, *cya*) の発現を活性化する遺伝子である *atxA* が存在している。pXO2 上の *acpA* 及び *acpB* は莢膜構造遺伝子の発現を制御するが、これら2つの遺伝子も pXO1 上の *atxA* により制御されている。現在家畜に用いられている無莢膜ワクチン株は莢膜プラスミドが脱落したものである。なお、毒素プラスミドの脱落した無莢膜ワクチン株は、感染防御能を付与しなくなる。

## 6 発見から診断まで

農場において急性経過で死亡した家畜の天然孔（肛門や鼻孔）から出血を確認し、血液が凝固不全を呈していた場合、炭疽や気腫疽、悪性水腫、硝酸塩中毒が類症鑑別に挙げられる。畜主の通報により農場立ち入りした家畜防疫員（家畜保健衛生所の獣医師）は、防疫措置の初動対応として汚染物品（死体を含む）の移動禁止を畜主に指示することができる。次に炭疽や気腫疽、悪性水腫が人獣共通感染症であることを考慮し、むやみに解剖は行わず、頸静脈から採血し検査材料とする。解剖し、脾臓を材料にする場合もあるが、執刀者の安全や芽胞による土壤汚染を考慮し、材料は血液に留めるほうが無難だと考える。以降、材料を用いて以下の細菌学的検査を行う。

### ①血液塗沫標本の作成・鏡検

用いる染色液はグラム染色液でもよいが、レビーゲル染色液を使うことが望ましい。レビーゲル染色液は炭疽菌に特徴的な莢膜の染色に適していて、ホルマンが含まれているので殺菌効果も高い。レビーゲル染色液の場合、ゲンチアナバイオレット 10 g を

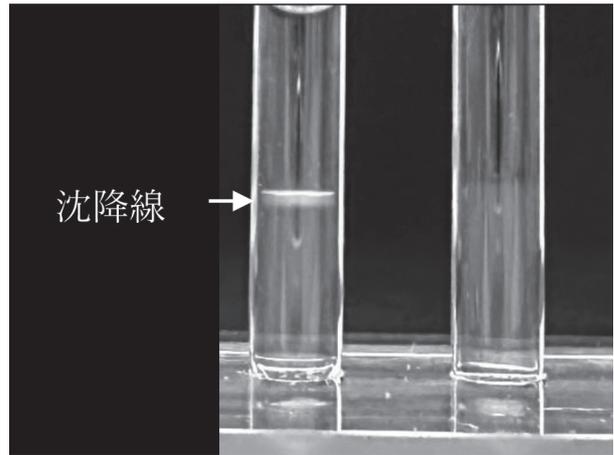


図3 アスコリーテスト  
（農研機構動物衛生研究部門提供）

局方ホルマリン 100 ml に溶解し作製する。容易には溶解しないため、少しずつ溶解し、何度かろ過することで、淡麗な染色液を得る。他の莢膜染色法として、メチレンブルー染色やヒス染色も有効である。染色後の鏡検により、莢膜を保有した大桿菌を観察する（図2）。

### ②アスコリーテスト

細試験管内で炭疽診断用沈降反応血清に抗原液として希釈した血液を重層する。陽性であれば、境界部に沈降線（炭疽菌莢膜の成分であるグルタミン酸ポリペプチドと抗血清の反応物）が出現する（図3）。重層する際に境界面が乱れると、陽性であっても沈降線を目視することが難しいため、慎重に重層する必要がある。その際に、二段針やマイクロピペットを利用してもよい。

### ③細菌分離

炭疽菌特有の非溶血性、縮毛状、辺縁ラフの集落を確認するために血液寒天培地を用いるが、普通寒天培地によっても培養可能である。炭疽菌であれば通常、37℃、24時間の好気培養で十分な大きさのコロニーを得ることができる。

また、類症鑑別として、気腫疽や悪性水腫の原因菌であるクロストリジウム属細菌を分離するため、嫌気培養を併用して診断するとなおよい。CO<sub>2</sub>濃度5～20%条件で0.7%炭酸水素ナトリウム加普通寒天培地を用いて培養を行うと、炭疽菌に特徴的な莢膜の観察を行うことができる。加えて、莢膜を形成したコロニーはムコイド状（湿潤で粘液様かつ光沢を増した状態）になる。

### ④パールテスト

力価を調整したペニシリンを段階希釈し、希釈ペニシリン液：普通寒天培地を 1 ml : 9 ml で丸型

シャーレに分注する。そのシャーレからスライドガラス幅にペニシリン加普通寒天培地を正方形に切り出し、スライドガラスに並べる。スライドガラス上にペニシリン濃度三段階分の普通寒天培地を並べ、そのうえに菌液を 10  $\mu$ l エーゼで接種し、カバーガラスをかけて培養する。培養中の乾燥対策として、シャーレ内にスライドガラスを容れ、濾紙などを濡らして同封するとよい。培養中は 30 分ごとに観察を行う。ペニシリン濃度が高い培地から順に真珠が数珠状に連なった菌体（検査名の由来）を確認することができる。

パールテストの原理は、ペニシリンの細胞壁合成阻害作用によるプロトプラスト現象（弱化した菌体が、浸透圧により膨化する）を利用している。したがって、30 分ごとの観察を怠った場合には、知らぬ間に菌体が破裂し、真珠状の菌体を確認することができないまま試験が終了になってしまうため、注意が必要である。パールテストは炭疽菌の有効な同定法として推奨されているが、炭疽菌の一部にペニシリナーゼ（ペニシリンを分解する  $\beta$  ラクタマーゼの一種）を獲得した、ペニシリン耐性株の存在が報告されている。ペニシリン耐性株に対しては本試験を実施することができない。

#### ⑤ ファージテスト

普通寒天培地上に被験菌を 3~4 cm の幅で塗抹し、そのうえに  $\gamma$  ファージ液を一滴滴下後、37°C で培養する。3~4 時間培養後に観察すると、被験菌が炭疽菌であれば  $\gamma$  ファージ液を滴下した部分が溶菌し、コロニーが透明化する。一度  $\gamma$  ファージ液を再活性化し準備しておけば、いつ何時の病性鑑定にも対応可能である。

加えて、上述のパールテストのような、耐性菌の報告もない。パールテストとファージテストは、抗菌薬やファージ（細菌に感染し溶菌するウイルス。  $\gamma$  ファージは炭疽菌を特異的に溶菌する。）と反応させることによる細菌の反応を観察する。試験成立には正確に抗菌薬やファージ液の力価を調整する必要があり、昨今のキット化された診断試薬にはない煩雑さがある。

一方で若手獣医師にはこのような技術を養う機会が少なくなっているという事実もある。意識的に機会を設け、技術を習得する際に、これらの検査を利用して頂きたい。

#### ⑥ 遺伝子検査

炭疽菌の病原性は 2 種類の毒性プラスミド pXO1、pXO2 によって発現調整されていることを上述したが、病原性野外株について、いずれのプラスミドが脱落しても病原性を失うことが知られている。これ

らに特異的なプライマーを設計し、遺伝子を増幅することで同定が可能である [7, 8]。遺伝子検査に必要な酵素とプライマーがセットになった製品も市販されているため、サーマルサイクラーを含む基本的な実験資材がある検査室では簡便に行うことができる。

## 7 炭疽を取り巻く法規制

炭疽は、家畜伝染病予防法と感染症法（正式名称：感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律）の規制を受ける。特に、人や家畜で炭疽が発生した場合には、診断した獣医師や医師、獣医療・医療従事者が行うべき適切な届出や対処が明記されている。さらに獣医師、医師には届け出を行わなかった場合に適用される罰則も規定されている。

感染症法には病原体等の所持、輸入、譲渡し、譲受けなどに関して、禁止、許可、届出といった基本的な規制の枠組みが設けられている。特に、社会情勢の変化や新たな感染症の出現、そしてバイオテロリズムの脅威の高まりに対応するため、適宜改正が行われ、2006 年の改正では、バイオテロ対策を強化する観点から、病原体の管理及び所持に関する規制がより厳格化された。この法律で炭疽菌は二種病原体に指定され、二種病原体は厚生労働大臣の許可を受けた場合に限り、所持、輸入、譲渡及び譲受けが可能で、その取り扱いにはバイオセーフティーレベル（BSL）3 施設での取り扱いを要する。BSL3 施設は、本格的な封じ込め設備を備え、国内では大学を含む感染症専門研究機関や地方衛生研究所に設置されているが、一種病原体が原則として所持、輸入を禁止されていることを考えると、二種病原体は、所持できる病原体のうち最も国民の生命及び健康に重大な影響を与える恐れがあり、バイオテロに使用される危険性を持つ病原体等と位置づけられる。日本国内で二種病原体等を所持することが許可されている施設は 62 施設であり、その数は炭疽菌を含む二種病原体等の所持が厳しく管理されていることを示唆している [9]。

炭疽菌の所持規制には例外がある。無莢膜弱毒変異株 34F2、有莢膜無毒株（Davis 株）は BSL2 施設でも所持することができ、これらは全国の家畜保健衛生所にも保存されている。これらは検査時の陽性コントロールとして利用できるとともに、炭疽診断研修にも利用可能である。家畜保健衛生所に勤務している読者の方は今一度、これらの株の保存を確かめ、機会があれば、良好に発育するのかどうか確かめてほしい。

## 8 予防と対策

牛及び馬用の予防には無莢膜弱毒変異株 34F2 の芽胞液が生菌ワクチンとして使用されている。生前に診断さ

れることは少ないため、治療することはない。同居家畜に対しては緊急予防的にペニシリンやテトラサイクリンを注射することがある。

炭疽が疑われる患畜を発見したらただちに家畜保健衛生所に届け出ることが重要である。炭疽と診断されたら、家畜伝染病予防法による処置（死体や飼育舎等の処理及び消毒、ワクチン接種、抗生物質投与、移動禁止等）をとる。炭疽菌が有芽胞菌であることから、その消毒には高圧滅菌、塩素剤、ヨード剤、さらし粉などを用いる。炭疽菌は伝播力が弱いいため、死体を迅速に処理すれば続発は防止できる。

## 9 おわりに

私（古屋）は前職で家畜保健衛生所（家保）の病性鑑定施設で細菌検査を担当していたが、私の勤務していた家保では毎年所内研修として炭疽研修を開催していた。家畜衛生の向上したわが国において、家畜に炭疽が自然発生する可能性は低いと言える。しかし、一部の都道府県では炭疽研修が定期的に企画され、炭疽を忘れ去れないための努力がされている。その理由には、炭疽菌の細菌学的特徴、炭疽の特徴、歴史、法律上の位置づけが挙げられるだろう。本稿を読み終えた際、読者の皆様が「もし目の前で牛が天然孔から出血して死んでいたらどうしよう」と想像し、「まあこの期に及んで炭疽ってことはないか」とは思いつつも、「一応家保に相談してみよう」と思っていただけなのならば、幸いである。

## 参 考 文 献

- [1] Green BD, Battisti L, Koehler TM, Thorne CB, Ivins BE : Demonstration of a capsule plasmid in *Bacillus anthracis*, *Infect Immun*, 49, 291-297 (1985)
- [2] Mikesell P, Ivins BE, Ristroph JD, Dreier TM : Evidence for plasmid-mediated toxin production in *Bacillus anthracis*, *Infect Immun*, 39, 371-376 (1983)
- [3] Uchida I, Sekizaki T, Hashimoto K, Terakado N : Association of the encapsulation of *Bacillus anthracis* with a 60 megadalton plasmid, *J Gen Microbiol*, 131, 363-367 (1985)
- [4] Moayeri M, Leppla SH : Cellular and systemic effects of anthrax lethal toxin and edema toxin, *Mol Aspects Med*, 30, 439-455 (2009)
- [5] Liu S, Zhang Y, Moayeri M, Liu J, Crown D, Fattah RJ, Wein AN, Yu ZX, Finkel T, Leppla SH : Key tissue targets responsible for anthrax-toxin-induced lethality, *Nature*, 501, 63-68 (2013)
- [6] Candela T, Fouet A : Poly-gamma-glutamate in bacteria, *Mol Microbiol*, 60, 1091-1098 (2006), (doi: 10.1111/j.1365-2958.2006.05179.x.)
- [7] Beyër W, Glöckner P, Otto J, Böhm R : A nested PCR method for the detection of *Bacillus anthracis* in environmental samples collected from former tannery sites, *Microbiol Res*, 150, 179-186 (1995)
- [8] Hutson RA, Duggleby CJ, Lowe JR, Manchee RJ, Turnbull PC : the development and assessment of DNA and oligonucleotide probes for the specific detection of *Bacillus anthracis*, *J Appl Bacteriol*, 75, 463-472 (1993)
- [9] 感染症法に基づく特定病原体等の管理規制について、(Available at : [https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou\\_iryuu/kekkaku-kansenshou17/03.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/kekkaku-kansenshou17/03.html)), (accessed : 2025-06-16)