

トピック

豚丹毒に関する最近の知見

下地 善弘

(農研機構・動物衛生部門 動物感染症研究領域)

Shimoji Y. (2023). Recent findings on erysipelas infection.

Proc. Jpn. Pig Vet. Soc. 82, 18-22.

キーワード：豚丹毒、ゲノム解析、野生動物、新菌種

はじめに

家畜伝染病予防法の届出伝染病（対象は豚及びイノシシ）に指定されている豚丹毒は、2000年から2011年までは毎年2,000頭前後の発生があったが、2012年から2015年の4年間は年間2,800頭から4,500頭発生の流行があった（図1）。直近の発生件数は2021年及び2022年では1,000頭前後に減少しているが、豚丹毒菌は身近な野生動物からも分離されること、また、近年では、野生動物の大量死の原因となっている報告も多いことから、養豚における流行には今後も注意が必要である。

本稿では、ゲノム研究から明らかになった本菌の分子生物学に加えて、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を紹介する。

豚丹毒菌の分子生物学

豚丹毒菌 *Erysipelothrix rhusiopathiae* はグラム陽性の桿菌であり、分類学上、*Firmicutes* 門（ゲノム DNA の GC 含量が低い [通常50mol%以下] 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ほか、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、他の *Firmicutes* 門菌とは系統学的に離れてマイコプラズマに近縁であることが明らかとなった（図2）⁹⁾。

本菌の強毒株の Fujisawa 株のゲノムサイズは 1.79Mbp であり *Firmicutes* 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

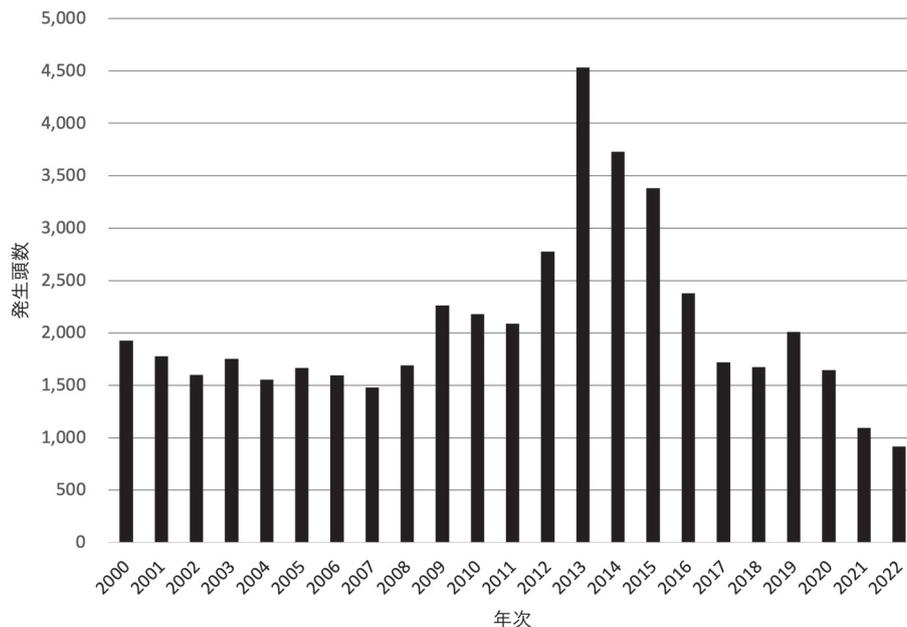


図1. 豚丹毒の発生件数（農水省・監視伝染病発生年報による）

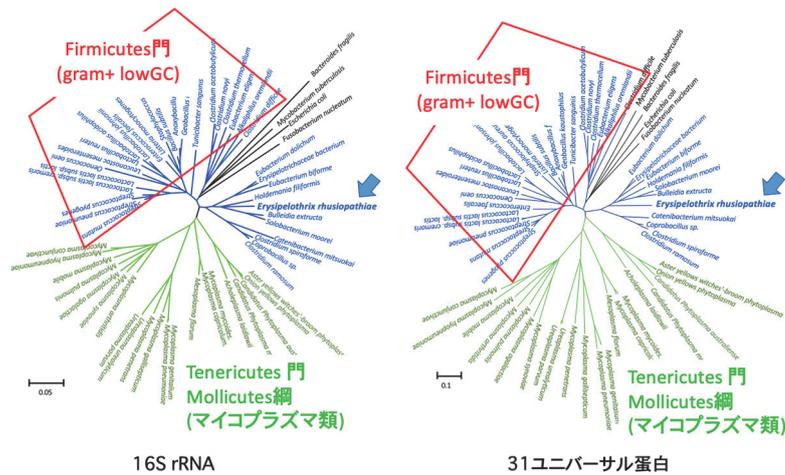


図2. 豚丹毒菌の系統学的位置

現行の分類に従い、*Firmicutes* 門に属する細菌は青、*Mollicutes* 綱に属する細菌は緑、他(アウトグループ)は黒で示した。矢印は豚丹毒菌を示す。

Mollicutes 綱細菌のゲノムサイズに近い⁹⁾。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関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、すなわち、テイコ酸、リポテイコ酸の合成経路、また、*dltABCD* オペロンを欠くことが判明した⁹⁾。このように、本菌は *Firmicutes* 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栄養素合成関連遺伝子の多くが脱落し、また、細胞壁合成に関わる遺伝子の多くも欠失している。これらの特徴は、マイコプラズマはグラム陽性菌から進化したとされる Maniloff の仮説⁷⁾ を考える上で、本菌が “missing link” となり得ることを考えると極めて興味深い。また、本菌のゲノム構造から、豚丹毒菌は自然界では自律的増殖ができず、増殖に必要な栄養素は寄生する動物に依存して細胞内寄生菌として食細胞内環境に適応するために進化してきたことがわかる。この細胞内寄生性は、莢膜を保有することによる貪食抵抗性に加えて、本菌感染症の疫学と菌の病原性を理解する上で重要となる。

本菌の宿主域は極めて広く、これまで多くの動物種から分離されている。1958年から2014年までに世界中の様々な動物（豚、家禽、野生鳥類、野生大型偶蹄類、鯨、イルカ、魚）から分離された合計83株の大規模全ゲノム解析³⁾ から、本菌種のコアゲノム、すなわち、すべての豚丹毒菌が共通して保有する遺伝子群は、全

ゲノムの58%であること、また、強毒株の Fujisawa 株が保有する1704個の遺伝子のうち、1137個がコアゲノム中に存在することが明らかになった。重要なことは、その小さなゲノム上に、抗酸化酵素遺伝子群やフォスホリパーゼ酵素遺伝子群など、細胞内寄生に有利に働く遺伝子をそれぞれ9分子コードするが、そのほとんどはコアゲノム中に存在する。この研究から、本菌種は大きく分けて宿主や地域性で区別されない3つのクレード (clade: 系統群) に分類されることが判明し、この中では Clade 3 が優占であり、系統学的に Clade 2 と Clade 3 の中間に位置する intermediate のグループが存在することが明らかとなった。

野生動物における発生状況と疫学

2010年から2014年にかけて、カナダからアラスカ地方の寒帯地方から北極圏における広範な地域に棲む野生の偶蹄類動物（ジャコウ牛、ムース、カリブー）の大量死の原因として、豚丹毒菌の関与が報告された²⁾。これらの動物から分離された80株以上の全ゲノム解析から、分離株の多くは Clade 3 に属するが新しく出現したクローナルな強毒株ではなく、これらの大量死は温暖化など気候変動のストレスや他のファクターが原因の日和見感染症であることが明らかとなった²⁾。すなわち、これらの大型野生動物での発生は、これらの動物の個体あるいは集団内で維持される genotype の異なる菌が原因であり、動物の抵抗力低下により発症

に至ったことが強く示唆された。興味深いことは、冒頭でも述べたように、同時期（2008年頃から始まりピークは2012年から2015年）に日本国内の養豚でも流行が起こったが、この時期には中国でも発生件数の顕著な増加と大規模化があったとの報告がある⁶⁾。しかし、北米の偶蹄類から分離された菌とは異なり、国内の流行は、遺伝学的に近縁の2つのクローナルな亜集団からなることが明らかになっている¹⁰⁾。この genotype 株は同時期に発生が頻発した中国でも分離されていることがデータベースの解析から判明しているが、日本と中国での発生の疫学的な関連性、また、発生の理由は分かっていない。

著者らは、野生のイノシシが養豚への豚丹毒の感染源となり得るかどうかにについて調査するため、宮城県以西の東京都を除くすべての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解析した¹²⁾。その結果、すべ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、その要因は分かっていない。また、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 *in silico* 解析による血清型同定調査でも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¹³⁾。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。養豚における豚丹毒発生の野生イノシシの役割を理解するには、サンプリングバイアスのない検体を用いた全ゲノム解析が必要であろう。

Erysipelothrix 属の分類と新菌種

最新の *Erysipelothrix* 属の分類を表1に示した。これまでは、*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 *E. sp. strain 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 *E. sp. strain 2* は、2020年に熱帯魚から分離された新菌種 *E. piscisarius* であることが明らかとなった¹¹⁾。2022年には、*E. urinaevulpis*、*E. aquatica*、*E. anatis* の3菌種が新たに登録され¹⁾、*Erysipelothrix* 属は現在では

表1 *Erysipelothrix* 属の分類

菌種名 ¹⁾	分離例 ²⁾
<i>E. rhusiopathiae</i>	豚、哺乳類、鳥類、多くの脊椎動物
<i>E. tonsillarum</i>	豚扁桃、イヌ心内膜炎
<i>E. inopinata</i> = 未命名 strain 1	野菜ブイヨン、豚関節炎 ³⁾ 、豚蕁麻疹 ³⁾
<i>E. piscisarius</i> = 未命名 strain 2	熱帯魚敗血症死 (11)、ヒト菌血症 (5)、七面鳥敗血症死 ⁴⁾ 、豚関節炎 ³⁾ 、豚敗血症死 ⁴⁾
<i>E. larvae</i>	カブトムシ幼虫
<i>E. urinaevulpis</i>	キツネの尿
<i>E. aquatica</i>	医療用ヒルとその環境、病気の亀、豚関節炎 ³⁾
<i>E. anatis</i>	アヒルの副鼻腔

1) 菌種名が報告された論文は次の通り。

E. tonsillarum: Takahashi T et al. (1992) Int J Syst Bacteriol. 42: 469-473.

E. inopinata: Verburg S, et al. (2004) Int J Syst Evol Microbiol. 54: 221-225.

E. piscisarius: Pomaranski EK, et al. (2020) Int J Syst Evol Microbiol. 70: 857-867.

E. larvae: Bang BH, et al. (2015) Antonie Van Leeuwenhoek. 107: 443-451.

E. urinaevulpis, *E. aquatica*, *E. anatis*: Eisenberg T, et al. (2022) Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 72: 005454

2) () 中の数字は本文中の引用文献を示す。

3) 国内分離例 (未発表データ)

4) 著者らによる実験成績 (未発表データ)

少なくとも8菌種で構成されている。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* であり、2022年には *E. piscisicarius* がヒト菌血症の原因菌であることがメタゲノム解析から明らかとなった⁵⁾。また、*E. piscisicarius* は死亡した七面鳥からも分離されていることから⁴⁾、この菌は *E. rhusiopathiae* と同様に宿主域が広いと考えられる。ちなみに、著者らの莢膜多糖抗原に対するモノクローナル抗体を用いたウエスタンブロット法による解析では、*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）。また、*E. rhusiopathiae* と *E. piscisicarius* は系統学的にも近縁であり、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¹⁾。

おわりに

豚丹毒菌が示すゲノム収縮は、ライ菌、クラジミア、リケッチア、バルトネラ、ボレリアなどの細胞内寄生病原体が共通に持つ特徴であるが、この特徴を利用して、著者らは短時間で理論的に生ワクチンを開発する手法を開発した⁸⁾。この研究では、本菌のゲノム上に残されたアミノ酸の合成経路に関わるすべての遺伝子（14個）に着目し、それらの遺伝子の中で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後に不活化して弱毒化させることに成功した。

豚丹毒菌は、2011年にゲノム解読が為され、それを基礎として現在では獣医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た。しかしながら、本菌による感染症は、産業的には七面鳥や鶏、海産哺乳類（イルカ等）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。将来、これらの分野においても、分子疫学解析により感染と発症の全体像が解明されることを期待したい。

利益相反状態の有無

著者は開示すべき利益相反はない。

引用文献

- 1) Eisenberg T, et al. (2022) *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: 005454.
- 2) Forde T, et al. (2016) Bacterial genomics reveal the complex epidemiology of an emerging pathogen in Arctic and boreal ungulates. Front Microbiol, 7: 1759.
- 3) Forde T, et al. (2016) Genomic analysis of the multi-host pathogen *Erysipelothrix rhusiopathiae* reveals extensive recombination as well as the existence of three generalist clades with wide geographic distribution. BMC Genomics, 17: 461.
- 4) Grazziotin AL, et al. (2021) Comparative genomics of a novel clade shed light on the evolution of the genus *Erysipelothrix* and characterise an emerging species. Sci Rep, 11: 3383.
- 5) Huang W, et al. (2022) First identification of human infection with *Erysipelothrix piscisicarius* by metagenomic next-generation sequencing. Emerg Microbes Infect, 11: 2781-2784.
- 6) Kwok AH, et al. (2014) Complete genome assembly and characterization of an outbreak strain of the causative agent of swine erysipelas -*Erysipelothrix rhusiopathiae* SY1027. BMC Microbiol, 14: 176.
- 7) Maniloff J (2002) Phylogeny and Evolution. In: Razin S and Herrmann R, eds. Molecular Biology and Pathogenicity of Mycoplasmas. p31-43. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.
- 8) Nishikawa S, et al. (2022) Rational design of live-attenuated vaccines against genome-reduced pathogens. Microbiol Spectr, 10: e0377622.
- 9) Ogawa Y, et al. (2011) 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.
- 10) Ogawa Y, et al. (2017) 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.
- 11) Pomaranski EK, et al. (2020) 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.
- 12) Shimoji Y et al. (2019) Wild boars: A potential

source of *Erysipelothrix rhusiopathiae* infection in Japan. Microbiol Immunol, 63: 465-468.

- 13) Söderlund R, et al. (2020) 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.