

1 炭 疽 菌

山本 達男

新潟大学大学院医歯学総合研究科 国際感染医学講座
細菌学分野（細菌学教室）

Bacillus anthracis

Tatsuo YAMAMOTO

*Division of Bacteriology, Department of Infectious Disease
Control and International Medicine, Niigata University
Graduate School of Medical and Dental Sciences*

わが国の炭疽

炭疽は動物由来感染症で、わが国にも存在していた（図 1）。ヒトの感染が最後に報告されたのは平成 6 年（1994 年）で、東京都と宮城県で 1 名ずつ、合計 2 名の患者が発生している。その内東京都の患者は死亡。1995 年以降は炭疽は発生していない。

ウシでの感染は、ヒトでの感染より多く報告されており、激減傾向を示しながらも平成 3 年（1991 年）まで続いた。その後 8 年間は報告が途絶えていたが、9 年後の平成 12 年（2000 年）に宮崎県で 2 例の発生があった。

炭疽菌と感染サイクル

炭疽菌（栄養型）はグラム陽性の桿菌で、長さがおおよそ $4\mu\text{m}$ 、幅がおおよそ $0.5\mu\text{m} \sim 1\mu\text{m}$ である（図 2 上）。寒天平板上で培養すると、長くつながって竹のような形をした連鎖桿菌がみられる。

培養が進むと菌体内に丸い芽胞（サイズ約 $1\mu\text{m}$ ）が形成される。芽胞は炭疽菌の耐久型構造で、乾燥や熱に強く、土壌中などの自然界で長く生存することができる。

炭疽菌の自然界での宿主（リザーバー）はヒツジ、ウシ、ヤギなどの草食動物である。このような草食動物の感受性は高く、牧草などに付いていたたった数個の芽胞で感染すると言われている。オオカミや野生のイヌなどの肉食動物は感染しない。

芽胞が生体内に入ると、発芽して栄養型菌（桿菌）に変わり、活発に分裂し、増殖を始める。このような生体に感染した炭疽菌は、連鎖は少し短くて、2～3 個がつながった連鎖菌のことが多い。また、生体内では炭酸ガス（重炭酸イオン）の存在によって、炭疽菌は莢膜をもつようになる。莢膜は宿主の免疫に抗して炭疽菌が増殖するための構造であり、炭疽菌は血液中でも殺菌されず、脾臓でも活発に増殖する。莢膜をもった炭疽菌は強毒型菌である。

Reprint requests to: Tatsuo YAMAMOTO
Division of Bacteriology
Department of Infectious Disease
Control and International Medicine
Niigata University Graduate School of
Medical and Dental Sciences
1-757 Asahimachi-dori,
Niigata 951-8510 Japan

別刷請求先：〒951-8510 新潟市旭町通り 1-757
新潟大学大学院医歯学総合研究科国際感染医学講座
細菌学分野 山本 達男

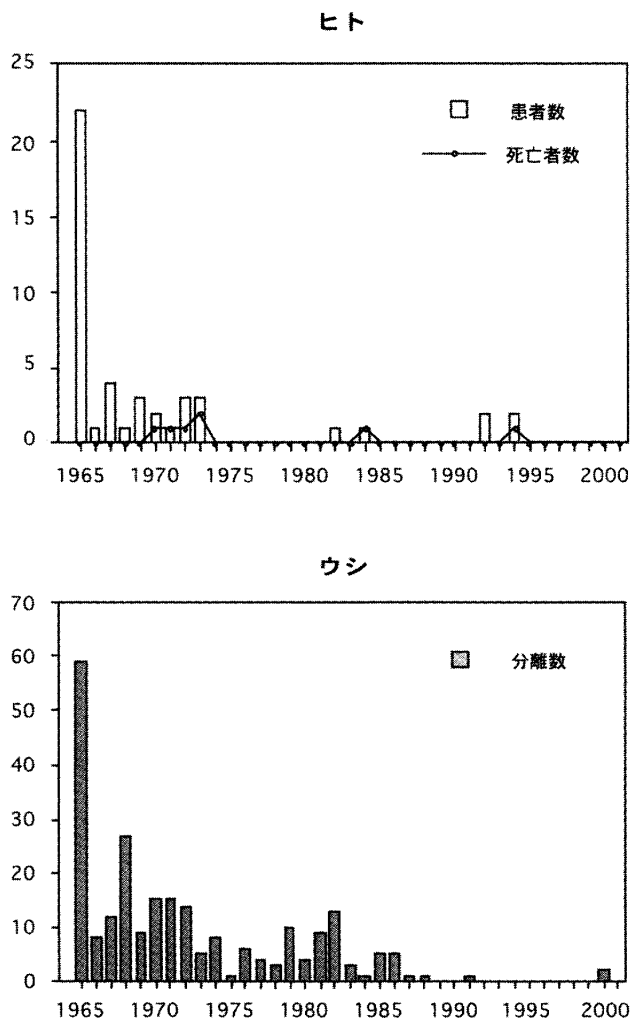


図1 我が国における炭疽の発生状況

感染した動物（ヒト）が死ぬと、体内の炭疽菌は酸素に触れ、芽胞を作るようになる。

炭疽菌の芽胞は、安定で、小さく、空気感染することから細菌兵器として使用される。

炭疽菌の細胞感染の電子顕微鏡解析

炭疽菌は、細胞侵入性の細菌である。培養細胞に炭疽菌を感染させると特異な感染構造が観察される。感染部位の細胞膜にはトンネル状の穴が開き、炭疽菌がそこにめり込んでいる（図2下）。そのトンネル構造には、炭疽菌の線毛（TFP1）構造が多数観察される。炭疽菌はTFP1線毛を使い、標的となる細胞の細胞膜に強い刺激を与え、酵素

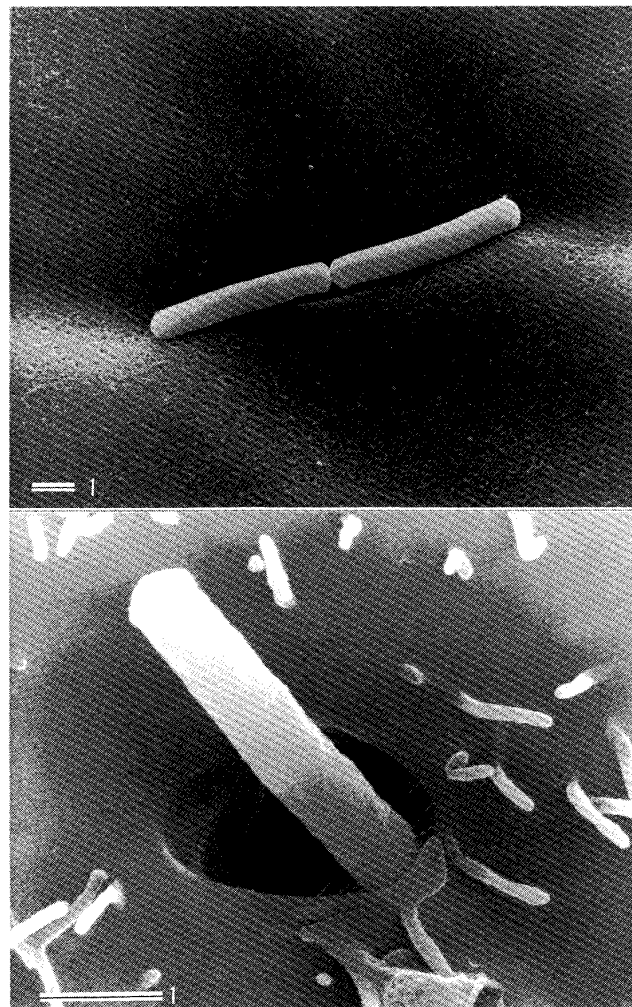


図2 炭疽菌の走査型電子顕微鏡像

上：寒天平板上の炭疽菌（連鎖状桿菌である。）

下：細胞表面に感染した炭疽菌（炭疽菌は細胞に感染すると、特異な線毛を発現し、細胞表面にトンネル状の穴をあけていく。）

反応によって巨大な穴を作って、細胞（膜）に侵入すると考えられる。線毛（TFP1）は、新しいコンポーネント型の炭疽ワクチン候補である。

炭疽菌の病原性因子

図3は炭疽菌の病原性因子と遺伝子をまとめたものである¹⁾。炭疽菌の全ゲノム配列は未だ報告はされていないが、病原性発現で重要な2つのプラスミド（pXO1とpXO2）については全塩基配

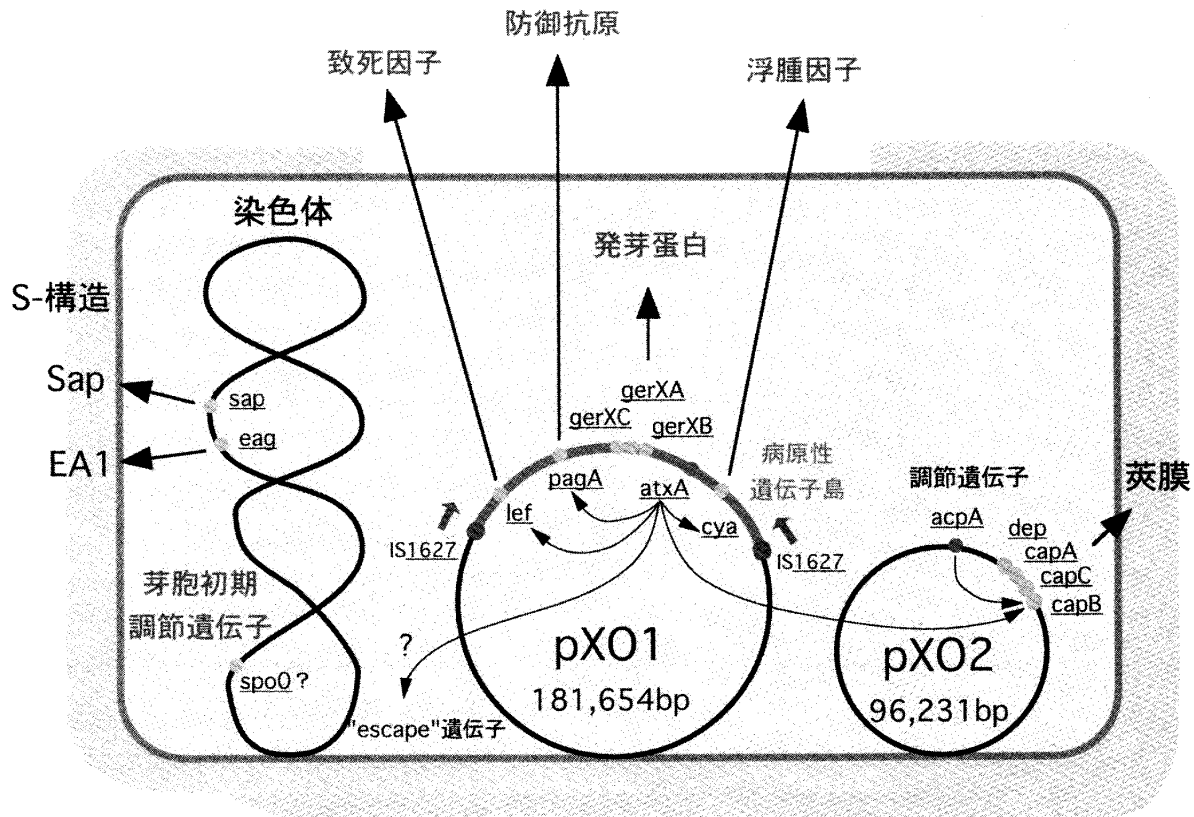


図3 炭疽菌がもつ病原性遺伝子

炭疽菌の主要な病原性遺伝子はプラスミドに存在している。2つの病原性プラスミド pXO1 と pXO2 については、全塩基配列が決定されている。

列が解析済みであり、病原性遺伝子とその産物を把握することができる。

pXO1 は長さ 181kbp で、ホロ毒素の構成成分である防御抗原 (protective antigen, PA), 致死因子 (lethal factor, LF) そして浮腫因子 (edema factor, EF) をコードする遺伝子をもつ。また、このような毒素遺伝子群はまとまって存在していて、まとまった遺伝子構造を病原性遺伝子島 (pathogenicity island, PI) と呼んでいる。炭疽菌は進化の過程でこの病原性遺伝子島を獲得して病原菌に変化したと考えられる。

もう一つのプラスミド pXO2 は長さが 96kbp で、莢膜を産生するための遺伝子群をもっている。

炭疽菌の DNA 診断と鑑別

炭疽が起きた場合の診断には、PCR を用いる。

標的遺伝子は、莢膜遺伝子と毒素 (防御抗原, 致死因子, 浮腫因子) 遺伝子である。PCR によって、炭疽菌であるかどうか、そしてその炭疽菌が強毒株であるのか弱毒株であるのかを鑑別することができる。米国やわが国で問題になっている「白い粉」でも数時間以内に結果を出すことができる。リアルタイム PCR 法を用いると判定時間がさらに短縮される。

米国では、複数の患者が出た場合には分子疫学解析と呼ばれる調査が行われる。患者から試料 (炭疽菌) を分離・培養し、DNA を抽出する。この DNA を制限酵素で切断し、例えばリボタイピング法によってその切断パターンを解析して、複数の炭疽菌が同一菌かどうかを判定するものである。この他に、パルスフィールドゲル電気泳動法と呼ばれる方法がある。いずれの方法でも判定に 4, 5 日を要する。

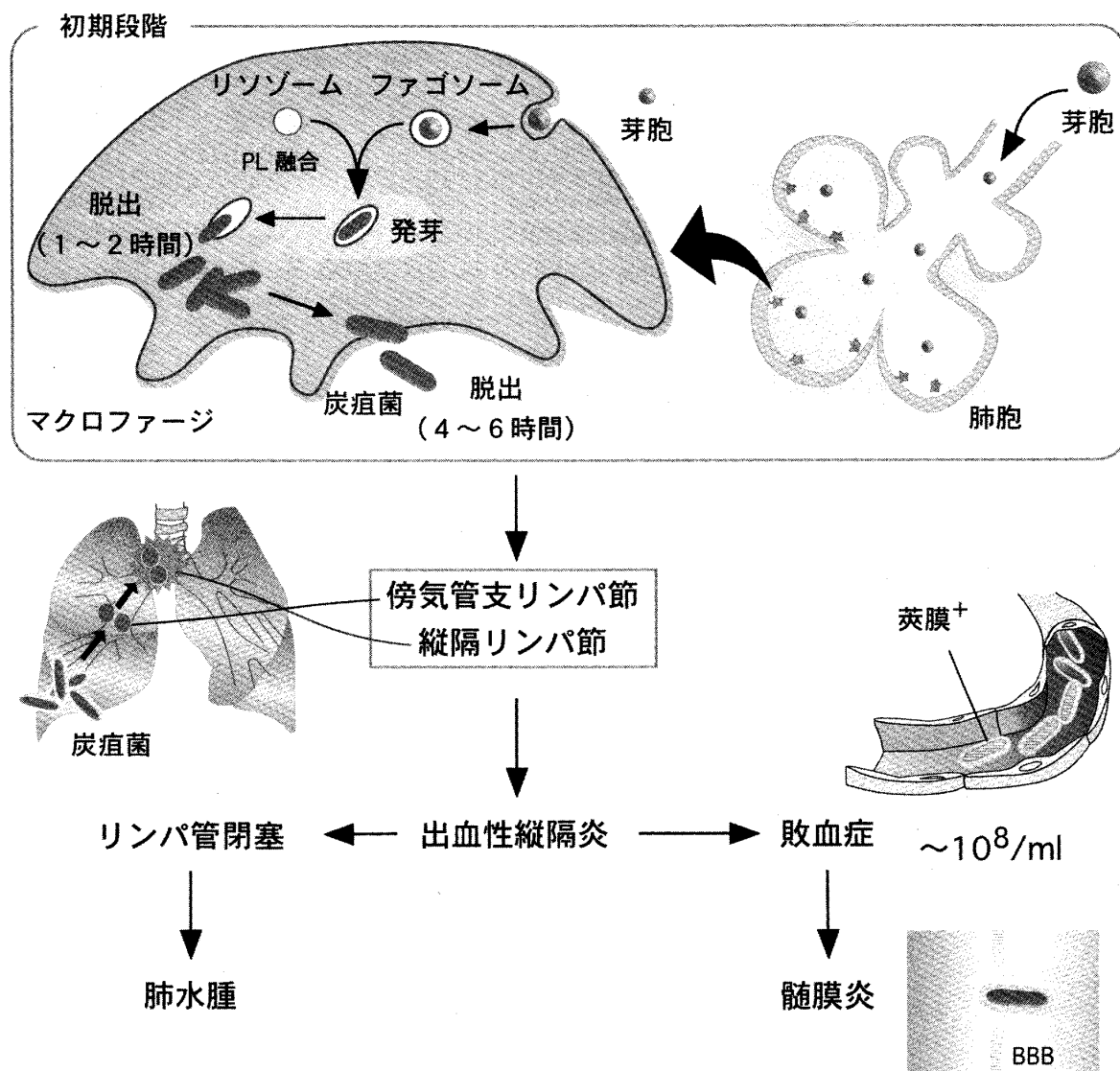


図4 肺炭疽：感染と発症のメカニズム

空気感染した炭疽菌の芽胞は肺胞に達し、肺胞マクロファージに取り込まれる。発芽後、炭疽菌はマクロファージ内で増加し、一部は脱出する。さらに、リンパ管を通してリンパ節に到達した炭疽菌、あるいは芽胞は一連の深部感染症の原因となる。

主な症状：軽度の発熱、疲労感、頭痛、筋肉痛、胸部の軽度の疼痛

DNA診断と同時に、検体（菌株）の生物性状検査を行う。まず、レシチナーゼ活性を検査する。卵黄培地（レシチンを含んだ培地）に炭疽菌を培養すると、炭疽菌は菌体の外にレシチナーゼを産生するために、集落の周りに白い沈殿（レシチンが分解されて生じた不溶性のリン脂質）を生じる。また、マンニットを分解しないので、（アミノ酸を分解してアンモニアを産生して）培地を赤く

変色させる。卵黄反応は枯草菌との鑑別に有用である。赤血球溶解反応は、セレウス菌（食中毒の原因菌）との鑑別に用いられる。ヒツジ血液寒天培地で培養すると、セレウス菌集落は溶血性を示すが、炭疽菌集落は溶血性を示さない。また、両者を運動性で鑑別することもできる。SIM軟寒天培地に針で穿刺し、培養すると、セレウス菌は遊走して培地全体に広がる。炭疽菌は鞭毛を作らな

いために運動性が無く、穿刺した場所だけに菌が増殖する。

発症メカニズム

肺炭疽：

約 $1\mu\text{m}$ と小さな構造である芽胞を吸い込むと、芽胞は肺胞にまで到達してしまう (図 4)²⁾³⁾。肺胞には肺胞マクロファージが多数存在している。炭疽菌芽胞はその肺胞マクロファージに侵入、内部のファゴソームに取り込まれると、リソソームと融合する。この段階で、リソソーム内の殺菌物質によって芽胞が刺激され、発芽が促進される。一般細菌ではこの融合によって (リソソーム内の加水分解酵素や活性酸素が作用して) 殺菌されてしまう。また、結核菌の場合には、炭疽菌と同様に肺胞マクロファージ内に侵入し、そこで増殖するが、リソソームに対しては融合を阻止する。

発芽して栄養型になった炭疽菌はファゴリソソームを脱出して細胞質内に移行し、細胞質内で増殖する。その一部は細胞膜を破り、細胞外に出る。この段階では莢膜や毒素は不要である。

細胞外の炭疽菌あるいは肺胞マクロファージに取り込まれた状態の炭疽菌 (芽胞) は傍気管支リンパ節に移動し、さらに胸郭リンパ節に移動してそこで増殖し、毒素を産生して出血性のリンパ節炎を惹起する。毒素の作用によりリンパ節・リンパ管を閉塞させ、浮腫を起こす。さらに、菌血症や敗血症を起こす。血中の炭疽菌濃度が菌血症としては最高レベルの $10^8/\text{ml}$ に達することがある。この状態の炭疽菌は血液脳関門の細胞をも突破して髄液中に入り、深刻な髄膜炎を起こす。

腸炭疽：

炭疽菌はサルモネラや赤痢菌と同様に、パイエル板の M 細胞から侵入する可能性がある。侵入後、炭疽菌は増殖して毒素を産生し、腸管粘膜に浮腫を起こしたり、壊死を起こしたりして腸管に穿孔を形成する。稀に、炭疽菌がリンパ節・リンパ管を経て静脈中に侵入し、敗血症を惹起する。

皮膚炭疽：

炭疽菌が皮膚の傷から侵入し、増殖して毒素を

産生する。毒素の作用の 1 つとしてサイトカインを誘導し、リンパ球の浸潤や、発疹、水疱を形成し、さらに潰瘍と壊死を起こす。

炭疽毒素：

炭疽毒素とは、防御抗原と致死因子からなる致死毒素 (lethal toxin) と、防御抗原と浮腫因子からなる浮腫毒素 (edema toxin) の 2 種類からなる複合毒素である。致死毒素と浮腫毒素は AB 型毒素である。防御抗原は、感染防御抗原として炭疽を防御することができる因子と考えられていたが、実際には病原性因子である。毒素の X 線構造が明らかになった。

防御抗原は単量体で、N 末端側に PA20 と呼ぶドメインが、C 末端側に PA63 と呼ぶドメインが位置する。防御抗原が細胞表面のレセプターを認識して結合すると、細胞表面のプロテアーゼ (フリリン) によって切断され、N 末端側の PA20 が切り離されて、C 末端側の PA63 だけが残る。PA63 は細胞表面で 7 量体を形成し、中心に穴が空いた構造を取る。この 7 量体に致死因子や浮腫因子が結合する。この状態で毒素がファゴソームに取り込まれ、さらに防御抗原の働きで致死因子と浮腫因子が細胞質内に注入される。

致死因子はメタロ (亜鉛) プロテアーゼである。マイトジェン活性化プロテインキナーゼキナーゼ (MAPKK) を分解する。MAPKK は、マクロファージ内においてはマイトジェン活性化プロテインキナーゼ (MAPK) をリン酸化してマクロファージを活性化させる。炭疽菌は致死因子によってマクロファージの機能を低下させ、マクロファージ内で生存し続ける。また、MAPKK の切断によって $\text{TNF-}\alpha$ 、 $\text{IL-1}\beta$ 等のサイトカインが細胞から大量に放出され、ショックを惹起する。

浮腫因子も致死因子と同様のメカニズムで細胞質内に取り込まれる。そこで浮腫因子はカルモジュリン依存性アデニレートシクラーゼを活性化する。活性化されたカルモジュリン依存性アデニレートシクラーゼは ATP からサイクリック AMP (cAMP) を生成する。細胞内で cAMP 濃度が上昇すると、水の透過性が変化して浮腫が惹起される。ポーリンや Cl^- チャンネル等の水透過に関与す

るチャネルを活性化させると考えられている。

おわりに

納豆菌との関連

炭疽菌の莢膜は γ -ポリグルタミン酸で構成されている。日本でよく食べられている納豆の“ネバネバ”，つまり納豆菌 (*Bacillus subtilis*) がつくる粘着質の構造も同じく γ -ポリグルタミン酸でできている。両者の γ -ポリグルタミン酸の合成遺伝子 (4つの遺伝子) にも相同性がある。

ただし、違いもある。炭疽菌の γ -ポリグルタミン酸 (莢膜) はD型であり、菌表層結合型である。一方、納豆菌の γ -ポリグルタミン酸はD型とL型の混ざりで、菌体から分泌される物質である。

納豆菌はその粘着性 (“ネバネバ”) によって納豆に付着するが、炭疽菌の場合も、莢膜は組織に結合するための構造である可能性がある。あるいは、納豆の“ネバネバ”で炭疽が防御できるのだろうか。

炭疽菌テロ対策として、市民用のワクチン開発、そして交差耐性を引き起こさない新しい概念の抗菌薬 (抗炭疽菌薬) の開発が必要である。

文 献

- 1) Mock M and Fouet A: Anthrax. *Annu Rev Microbiol* 55: 647-671 2001.
- 2) Inglesby TV, Henderson DA, Bartlett JG, Ascher MS, Eitzen E, Friedlander AM, Hauer J, McDade J, Osterholm MT, O'Toole T, Parker G, Perl TM, Russell PK and Tonat K: Anthrax as a biological weapon: medical and public health management. Working Group on Civilian Biodefense. *JAMA* 281: 1735-1745 1999.
- 3) Dixon TC, Meselson M, Guillemin J and Hanna PC: Anthrax. *N Engl J Med* 341: 815-826 1999.

2 私の経験した炭疽

川名 林治

岩手医科大学名誉教授

Anthrax that I Experienced

Rinji KAWANA

Professor Emeritus, Iwate Medical University

Reprint requests to: Rinji KAWANA
1-11-6 Tsukigaoka,
Morioka 020-0121 Japan

別刷請求先: 〒020-0121 盛岡市月が丘1-11-6
川名 林治