

豚丹毒菌のゲノム解析を基盤とした病原性解析およびワクチン開発

小川洋介

Genomic information of *Erysipelothrix rhusiopathiae* leads to the understanding of the pathogenesis and vaccine development.

Yohsuke OGAWA

平成 27 年 9 月 7 日から 9 日に開催された第 158 回日本獣医学会学術集会において 2015-2016 年度獣医学奨励賞を受賞したので、その受賞内容について紹介致します。

豚丹毒は、グラム陽性の細胞内寄生菌である豚丹毒菌 *Erysipelothrix rhusiopathiae* の感染により、豚に急性敗血症や慢性の関節炎を引き起こす感染症である。本疾病は、家畜伝染病予防法により届出伝染病に指定されている。本病の予防のために生・不活化ワクチンが利用されているが、国内では依然として豚丹毒が発生しており、本疾病は、畜産経営上、極めて重要な感染症として認識されている。

これまでに、豚丹毒菌の弱毒生ワクチン株に *Mycoplasma hyopneumoniae* の P97 付着因子抗原遺伝子を組込んだ豚マイコプラズマ肺炎に対するベクターワクチン候補株を開発した¹⁾。本株は、経口投与により豚に防御効果を付与することのできる省力型の経口ワクチンである。また、豚丹毒菌の莢膜欠損弱毒株や弱毒生ワクチン株を豚 Interleukin-18 のデリバリーツールとして利用した非特異的防御亢進による感染症予防法への応用を検討してきた²⁾。

現在は、豚丹毒菌の病原性発現機序を詳細に明らかにした上で、安全で免疫誘導能に優れた弱毒株を複製し、この弱毒株を利用したベクターワクチンを開発することを最終目的としている。そのために、強毒株である Fujisawa 株の全ゲノム配列を解読した³⁾。その結果、本菌の生態および病原学的特徴について初めて遺伝学的に

明らかにした。すなわち、本菌は退行的進化によりゲノムサイズを減少させていること、グラム陽性菌とマイコプラズマの両方の遺伝学的特徴を持つこと、および、分子系統学的にもユニークな位置にある細菌であることが判明した。また、生存に必要な栄養素の生合成に関与する遺伝子のほとんどを欠く一方、外界からの栄養素を取り込むトランスポーターの他、抗酸化酵素やフォスホリパーゼなどの食細胞内生残に必要な酵素群をコードする遺伝子を極めて多く保持するなど、本菌の病原性としてマクロファージ内における生残に特化したゲノム構造をしていることを明らかにした。さらに、ゲノム情報とプロテオーム技術を用いた菌体表層と培養上清中に存在するタンパク質の網羅的解析により、これらの菌体表層における発現と免疫原性を明らかにし、新規防御抗原を発見した⁴⁾。

次に、豚丹毒菌の主要な病原因子である莢膜多糖について解析した。その結果、莢膜多糖はフォスホリルコリン (PCho) に分子修飾されており、PCho 欠損株はマウスおよび豚に対して病原性を示さないことから、莢膜多糖の PCho による分子修飾は、本菌の病原性に決定的な役割を果たすことを明らかにした⁵⁾。このように、豚丹毒菌はインフルエンザ菌や肺炎球菌などの粘膜常在病原体と同様に、PCho を菌体表面に発現しており、その感染ルートとして粘膜が極めて重要であることが示唆された。そこで、本仮説を実証するために、無菌豚に弱毒生ワクチン株を経口投与し、その体内動態について解析した。その結果、ワクチン株を投与された豚では扁桃陰窩に菌抗原が多数観察され、また、扁桃陰窩上皮に存在する cytokeratin 18 マーカー陽性を示す M 細胞様細胞が特異的に菌を取り込んでいることが示された⁶⁾。さら

に、この細胞の粘膜下部ではマクロファージと思われる食細胞が菌を取り込んでいる様子が電子顕微鏡で確認された。以上から、細胞内寄生菌である本菌は、経口感染において扁桃上皮のM細胞様細胞を介して豚体内へ侵入することが示唆された。

これらの研究により明らかになった本菌の病原性発現機序は、より安全で免疫誘導能に優れた弱毒株を作製すること、および、この弱毒株を利用したベクターワクチンを開発することに重要な知見であり、今後さらに研究を推進していく予定である。

最後に、本研究を遂行するにあたり、下地善弘ユニット長をはじめ数多くの方々から多大な協力および支援を頂きました。この場を借りて深謝致します。

参考文献

- 1) Ogawa Y, Oishi E, Muneta Y, Sano A, Hikono H, Shibahara T, Yagi Y, Shimoji Y., 2009. Oral vaccination against mycoplasmal pneumonia of swine using a live *Erysipelothrix rhusiopathiae* vaccine strain as a vector. *Vaccine*. 27(33): 4543-50.
- 2) Ogawa Y, Minagawa Y, Shi F, Eguchi M, Muneta Y, Shimoji Y. 2012. Immunostimulatory effects of recombinant *Erysipelothrix rhusiopathiae* expressing porcine interleukin-18 in mice and pigs. *Clin Vaccine Immunol*. 19(9): 1393-8.
- 3) Ogawa Y, Ooka T, Shi F, Ogura Y, Nakayama K, Hayashi T, Shimoji Y., 2011. The genome of *Erysipelothrix rhusiopathiae*, the causative agent of swine erysipelas, reveals new insights into the evolution of *Firmicutes* and its intracellular adaptations. *J Bacteriol*. 193,2959-71.
- 4) Shi F*, Ogawa Y* (*contributed equally.), Sano A, Harada T, Hirota J, Eguchi M, Oishi E, Shimoji Y. 2013. Characterization and identification of a novel candidate vaccine protein through systematic analysis of extracellular proteins of *Erysipelothrix rhusiopathiae*. *Infect Immun*. 81(12): 4333-40.
- 5) Shi F, Harada T, Ogawa Y, Ono H, Ohnishi-Kameyama M, Miyamoto T, Eguchi M, Shimoji Y. 2012. Capsular polysaccharide of *Erysipelothrix rhusiopathiae*, the causative agent of swine erysipelas, and its modification with phosphorylcholine. *Infect Immun*. 80(11): 3993-4003.
- 6) Harada T, Ogawa Y, Eguchi M, Shi F, Sato M, Uchida K, Nakayama H, Shimoji Y. 2013. *Erysipelothrix rhusiopathiae* exploits cytokeratin 18-positive epithelial cells of porcine tonsillar crypts as an invasion gateway. *Vet Immunol Immunopathol*. 153(3-4): 260-6.