

# 国立公衆衛生院研究懇話会記事

第 269 回 (平成 4 年 10 月 22 日)

## 1. 高血圧発症の微小循環系に及ぼす影響に関する病態生理学的研究

大久保千代次 (生理衛生学部)

粥状動脈硬化発生の危険因子の一つである高血圧について、動物を対象に実験的に腎性高血圧を発生させその過程における微小循環系の変化を追究した。高血圧発症の対象動物として耳介透明窓 (REC) を予め装着した体重約 3 Kg の雄日本白色種を選び、微小循環系血行動態の経時的変化について REC 法により同一血管床を生体顕微鏡的に追究した。高血圧 (H) 群、対照 (C) 群の 2 群を設けた。高血圧発症の人工的モデルとして 2 腎 2 クリップの Goldblatt 法 (腎動脈狭窄法) を用い、右側には絹糸で外径 0.8mm の、左側には白金クリップで外径 0.6mm の腎動脈狭窄を施した。高血圧発症判定の閾値は手術前より収縮期血圧の上昇分が 20mmHg 以上とした。C 群には狭窄処置を除く

Sham 手術を施した。実験は腎動脈狭窄手術前、手術実施 3 週後の高血圧発症確認時点、その後の 3 および 6 週間、通算して 9 週間行い、各時点で REC の生体顕微鏡的観察、耳介中心動脈圧の計測および末梢血の血液学的・生化学的検査を行った。その結果 H 群では、①高血圧発症が確認された時点で認むべき細動脈内径の縮小が観察され、この程度が高血圧発症の進展に伴い、週を追って経時的に増強された。②細動脈内径の長軸方向への不均一化に伴う細動脈走行の不整化が観察された。③高血圧状態の進展に従って、動静脈吻合の数が増加した。④血管網密度が経時的に減少したが、この減少は機能的変化によるものと推察された。C 群では実験期間中に認むべき変化は得られなかった。

## 2. 生体防御機構における顆粒球中性プロテアーゼの意義

青木 洋祐 (栄養生化学部)

白血球の一種である顆粒球には様々なプロテアーゼが存在することが知られている。そのうち酸性に至適 pH を有する酸性プロテアーゼの主な働きは顆粒球のライソゾーム内に取り込まれた蛋白の分解におけると考えられる。これに反し、中性ないし弱アルカリに至適 pH を有する中性プロテアーゼは生体の通常の pH でも作用し得るので顆粒球外での働きが重要である。しかも顆粒球に種々の刺激が加わるとライソゾーム内の物質は比較的容易に細胞外へ放出されることがわかっている。顆粒球のライソゾーム内に存在する中性プロテアーゼは顆粒球外に遊離し、生体機能に影響を与えるものと考えられる。顆粒球の中性プロテアーゼのうち、従来からよく研究されてきたものにエラス

ターゼ、カテプシン G、コラゲナーゼがある。エラスターゼは生体内のエラスチン繊維を断裂することにより、肺気腫や炎症の際の組織破壊に重要な働きをされると考えられている。カテプシン G は補体成分よりの白血球遊走因子の生成や崩壊に重要な働きをされると考えられ、また両プロテアーゼ共に関節軟骨の成分であるプロテオグリカンを破壊することにより、関節障害に関与するとされている。コラゲナーゼは生体組織中のコラーゲン繊維を断裂することにより、結合組織の破壊に関与するとされている。また顆粒球の細胞質内にはキニンの生成や崩壊に関与するとされるキニンゲナーゼやキニナーゼが存在するといわれている。筆者達は 1975 年ヒト骨髄細胞に新しいセリンプロテアーゼ

を見出し、メグラシンと命名したが、本プロテアーゼは末梢血中では顆粒球にのみ存在し、種々の刺激により顆粒球外へ遊離し、多彩な働きをすることがわかった。メグラシンの分子量は31,800であり至適 pH は 8.0~5.5 である。ヒト末梢血よりリンパ球を分離し、メグラシンを作用させるとリンパ球の DNA および RNA 合成能が増大し、各種マイトゲンに対する反応性が著増する。単球に対しては遊走能を阻害し、スーパーオキシド産生能を増大させる。顆粒球に対しては遊走能を増大させる。メグラシンを動物皮内に中止やすると単球浸潤を特徴とする炎症が惹起される。電顕による検索では細静脈内皮細胞が著明に変性していることがわかった。顆粒球のメグラシン活性は慢性関節リウマチ、多発性硬化症、ベーチェット病、ブドウ膜炎等の慢性炎症性疾患の増悪期に増大し、寛解期では正常化することがわかった。従って顆粒球メグラシンは炎症、特に慢性炎症の発現に重要な働きをしていると考えられる。ヒトリンパ球に *in vitro* で微量のメグラシンを作用させるとナチュラルキラー (NK) 活性が増大することがわかった。その機構を詳細に検討したところ、インターフェロンやインターロイキン 2 の産生を介さず、直接 NK 細胞の幼若細胞に作用し、これを成熟させることにより NK 活性を有する成熟 NK 細胞にすることにより NK 活性を増大させることがわかった。これに反し、インターフェロンは成熟 NK 細胞に作用し、その細胞障害活性を増大させることにより NK 活性を高めることがわかっている。従

てメグラシンとインターフェロンは共にヒトリンパ球に作用してその NK 活性を増大させるが、その機構は全く異なるものである。NK 細胞はある特定のクローン化された腫瘍細胞を傷害する作用のある細胞として見出された。しかし生体内で普遍的にがんの予防に重要な働きをするためにはある特定のクローン化された腫瘍細胞のみでなくほとんどすべての腫瘍細胞を傷害する作用のある細胞が重要であると考えられる。そのような細胞としては LAK (lymphokine activated killer) がある。これはリンパ球に作用させると NK 活性が増大するが、同時に NK 細胞に感受性のない標的細胞を傷害する活性も生じることがわかった。標的細胞としてはクローン化された腫瘍細胞のみでなく、ヒトの白血病やリンパ腫の患者から得られた腫瘍細胞を用いてもメグラシン処理したヒトリンパ球は細胞傷害活性を示した。すなわちメグラシンには activated killer 細胞 (ほとんどすべての腫瘍細胞を傷害する活性を有する細胞) を誘導する働きがあることがわかったのである。その機構を詳細に検討した結果、メグラシンは CD16 陽性細胞に作用し、activated killer 細胞を誘導することがわかった。その際にインターフェロンやインターロイキンのようなサイトカイン産生を介さないこともわかった。以上の如く顆粒球に存在する中性プロテアーゼであるメグラシンは炎症の発現を含めて広く生体防御能の調節因子として重要な働きをしていると考えられる。

## 第 270 回 (平成 4 年 11 月 26 日)

### 1. エイズと公衆衛生

尾崎 米厚 (疫学部)

エイズと人権という問題について公衆衛生分野でも考慮しなくてはならない時代になっている。

HIV 感染者の増加を防ぐにはエイズの患者や感染者が潜在化しないことが重要であるがそのためにはどのような感染ルートの感染者でも等しく医療費補助などのサポートを受けれるようにすることが大切である。また現在のわが国は患者や感染者の増加よりも周囲の人々の偏見や差別の方が社会に与える影響が大きいと

考えられるためこの問題に対する対応も重要である。

患者の人権擁護について参考になるのはアメリカ合衆国で 1990 年に制定された障害者保護法である。これは企業の障害者雇用に関する法律で HIV 感染者も障害者に含めて考えており、HIV 感染者と一緒に働くのを拒否した同僚従業員を解雇できる、HIV 感染従業員が発病して機能障害が生じた場合仕事が継続できる配慮を雇用主に課すといったものである。

公衆衛生分野でもエイズ対策がすでに行われているが現場では様々な問題が生じている。1992年に公衆衛生院において開始されたエイズ対策コースのなかで受講生の中から出てきたエイズ対策の問題点をあげると以下のようであった。

1) 最新の知識を得ることがなかなかできない。

特にエイズ・ノイローゼ様の人に細かい質問を追究されても科学的なデータを示して答えられない。たとえば性的接触の行為別の感染率を聞かれても答えられない。

2) 保健所における匿名検査について

- ・陰性証明書を出すべきかどうか。出すならどのようなときに出すか。
- ・検査結果を聞きに来ない人がいる。
- ・風俗営業の支配人から集団検査の依頼があり結果を支配人へ返すように言われた。
- ・件数が増え困っている。人員確保。

3) エイズ不安症候群

- ・エイズ不安症候群の対応法。  
精神科的対応が必要。
- ・ノイローゼと思われる人は精神科の受診を勧めたほうがよいのか。

4) カウンセリング方法

- ・男性の中には検査が陰性とわかるとまた買春できると言う人がいる。
- ・一人一人の性行動の容容まで踏み込んでよいのか。
- ・陽性者がでたときの対応方法。
- ・検査前後の精神的サポートはどこが役割を担うのか（エイズ不安症候群も含めて）。

5) 行政のエイズ対策

- ・どういう層に対してどういうキャンペーンが有効か。
- ・保健所がどのようにして地域住民、青少年、企業の対象者に健康教育を実施するか。
- ・感染者の把握をいかにするか。特に外国人。
- ・患者に対応できる医療施設はどのような施設か。特定機能病院のレベルが必要か。

6) 在日外国人に関する問題

- ・外国人に説明がちゃんと通じたかどうか不安。
- ・外国人労働者を雇用している事業主が外国人労働者のHIV検査を実施したいと言ってきたときどう答えるべきか。

以上がコース受講生からの主な意見であった。今後のエイズ対策を改善していくために早急に解決せねばならない重要な問題が数多く挙がっていると思われる。

## 2. D群赤痢菌 I 相 0 抗原の遺伝子解析

吉田 洋子 (衛生微生物学部)

赤痢菌は生化学的性状および血清学的性状により A 亜群 (志賀赤痢菌)、B 亜群 (フレクスナー赤痢菌)、C 亜群 (ボイド赤痢菌)、D 亜群 (ソネネ赤痢菌) に分類される。

わが国における最近の赤痢菌検出状況は A 群志賀菌、および C 群ボイド菌の検出例数は少なく、D 群ソネネ菌が半数以上を占め、B 群フレクスナー菌がこれに次いでいる。患者数は 1000 名弱と減少しているが、このうち輸入例が 80% を占めている。また発展途上国においてはとくに乳幼児の主要な死亡原因ともなっている。

0 抗原はグラム陰性菌の外膜の外側に存在し菌体抗原とも呼ばれている。抗体産生に関与し、古くから菌の血清型別に使用されていた。化学的成分がリポ多糖

(リポポリサッカライド, LPS) から構成されているため、いずれも同じ意味に用いられる。0 抗原の基本構造は外膜に隣接するリピド A、外膜から遠く位置する 0 抗原多糖、両者を連結する R コアから成っている。R コアは複数の異なった糖質から成り、菌種間における構成成分および構造の違いは比較的少ない。これに対して 0 抗原多糖は 2~5 種類の糖のくり返し構造から成り、糖の種類および組合せを変化させることにより異なった抗原決定基を決定する。

D 群赤痢ソネネ菌は I 相菌と II 相菌に分類される。I 相菌は 0 抗原多糖を保有し、I 相 0 抗原と呼ばれている。これに対して II 相菌には 0 抗原多糖が存在しない。この I 相 0 抗原多糖を合成する遺伝子はプラスミド上に存在することがすでに報告されていた。そこで

われわれはO抗原合成のための遺伝子の構造と機能の解析および有効な経口ワクチンの開発を目的としてO抗原遺伝子の解析を試みた。プラスミド上に存在するソネI相O抗原遺伝子はほぼ200Kbである。これを制限酵素Sau3AIで部分分解した後35~45kbの断片を集めコスミドベクターに挿入した後、大腸菌に形質転換した。得られたコロニーからO抗原を産生するクローンを血清凝集反応により確認した。この組換えプラスミド(37Kb)上に存在するO抗原合成のための必須遺伝子領域を決定するために(1)制限酵素地図の作製(Sal I, EcoR I, Bgl II, Hind III)(2)トランスポゾンTn3(アシピシリン耐性)による挿入変異を利用した。Tn3が連続したHind III断片1.26kbと12.4kbに挿入した時O抗原の喪失がみられた。さらに他のHind III断片にTn3が挿入されてもO抗原喪失は見られなかった。したがってO抗原合成のための必須遺伝子領域は連続したHind III断片1.26kbと1.24kb上に存在することが推定された。そこでこの領域を含む約17kbSma I断片をさらにpUC18ベクターにクローニ

ングし、O抗原合成に関与する20kbの組換えプラスミドを得た。O抗原の存在は血清凝集反応以外にLPSの存在でも確認した。溶菌液からLPSを抽出後、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動をした後、銀染色法により検出した。I相菌、および今回クローニングした組換えプラスミド保有II相菌から抽出したLPSはO抗原多糖特有のくり返し構造が見られたがII相菌、およびO抗原喪失変異株からは検出されなかった。これらの現象は大腸菌を宿主としたときも同じ結果が得られている。したがって今回クローニングした遺伝子はO抗原の合成に関与することが明らかとなった。さらに相補性試験の解析からこの領域はA, B, C, Dの4コの遺伝子群から構成され、A, Dの両領域はそれぞれ2種類の蛋白をコードしていた。したがってこれらの蛋白がO抗原の合成に関与することが考えられるため、この領域内の遺伝子の構造を明らかにするため現在A領域内のDNA塩基配列の決定を進めている。

#### 第271回(平成4年12月24日)

### 1. 水道水質に関する基準の改正について

国包 章一(水道工学部)

「水道水質に関する基準」が、14年ぶり、実質的には実に約35年ぶりに大幅改正されることになった。水道水の水質基準は、水道における浄水処理等のあり方を左右するだけでなく、環境基準や排水基準等、他の水質基準に対する波及効果も非常に大きく、水質の問題を考える上で基本的に重要である。このようなことから、今回の基準改正に至るまでの経緯と新基準の要点について解説した。

厚生省が水道水の水質基準を初めて定めたのは水道法が施行された1957年であり、その後1978年に一部改正されたが、これは水質試験方法の改正を中心としたもので、水質基準そのものについてはそれほど大きな変更はなかった。しかし、最近の水道水源の状況について見ると、トリクロロエチレン等の有機溶剤による地下水の汚染や、ゴルフ場農薬による河川水等の汚染の問題が、全国的に明らかになってきている。また、

浄水場での塩素処理に伴いトリハロメタン等が生成されることも、以前から明らかになっているところであり、安心して飲めるおいしい水に対する国民の期待は益々高まってきている。

一方、WHOや米国等では、飲料水の水質基準等の制定に際して、化学物質による健康影響を重視する方向を強く打ち出している。WHOは、このような考え方で既に1984年に44項目につき飲料水質ガイドラインを定めたが、その後の状況変化に対応すべく現在106項目について改めて検討中であり、1993年には新しいガイドラインが定められる予定である。また、米国EPAでも、同様な考え方に立って、多数の項目につき順次、基準制定の作業が行われている。

以上のようなことを背景として、今回の基準改正では、一層安全でおいしい水道水を供給して国民の信頼を高めるべく、その内容が大幅に拡充強化される見込

みである。現在のところ、基準改正に関する生活環境審議会の答申が出されたばかりであるが、厚生省ではこの答申の内容に沿って1993年12月から施行するよう準備を進めている。

新しい水質基準の大きな特徴は、水道水の健康影響の問題について真正面から取り組んだことであり、その骨子は以下のとおりである。

基準項目は、「健康に関連する項目」(29項目)と「水道水が有すべき性状に関する項目」(17項目)の計46項目より成り立っている。「健康に関連する項目」では、従来からの基準項目のほかに四塩化炭素、ベンゼン等の有機化学物質、クロロホルム等の消毒副生成物、農薬が新たに追加され、生涯にわたる連続的な摂取をしても人の健康に影響が生じないことを前提に、食物、空気等の暴露源からの寄与を考慮して基準値が定められた。健康影響評価に当たっては、1人1日当りの飲料水摂取量2L、体重50kgが基準とされた。「水道水が有すべき性状に関する項目」の大半は現行基準にあるものであるが、生活利用上あるいは腐食性など施設管理上障害を生ずるおそれのある項目として、健康影響のある項目と明確に区別されている。

このほか答申では、「快適水質項目」(13項目)についての目標値と「監視項目」(26項目)についての指針値を同時に定めている。「快適水質項目」は、より質の

高い水道水を供給するために管理を行うことが必要となる項目として位置づけられており、その採用については、基準項目と異なり本来的には個々の水道事業者の判断に委ねられるものとされている。また、「監視項目」は、現在では基準項目とする必要がないものの、将来的には検出レベルが上昇する懸念があるため、安全性を期する見地から全国的に監視を行う項目であり、監視結果は国が定期的に取りまとめ、検出状況によっては基準項目への移行を含め科学的な検討を加えることとされている。「快適水質項目」の多くは「水道水が有すべき性状に関する項目」と重複しているが、前者では、後者が最低限の数値を示しているのに対して、より良質の水道水の供給へ向けてインセンティブが働くように目標値が設定されている。

以上のように、現行基準ではわずか26項目であったが、通知により目標値等が設定されていた項目も大幅に取り入れられ、合計85項目について基準値等が示された。

基準改正と併せて水質試験方法も改正されることになっており、高精度の多項目同時・迅速分析をねらいとして、ガスクロ、原子吸光はもとより、GC-MS、HPLC、イオンクロマト、ICP等の機器分析も、大幅に取り入れることになっている。

## 2. ツンドラ土壌からのメタン放散—地球温暖化—廃棄物の埋立処分

井上 雄三 (廃棄物工学部)

### 1. はじめに

地球は太陽放射を吸収して暖められる一方で、絶えず赤外放射をすることによって冷却され、そのバランスの上で地球の温度が決まってくる。温室効果とは文字どおり、園芸作物栽培用の温室 (green house) による太陽光による加温効果から来ており、大気中に存在するいくつかのガスが温室のガラスの役割をすることによって地球が温暖化することをいう。地球大気の放射吸収率は太陽放射の波長領域では小さいが、地球放射の波長領域で大きいからである。

1970年代には温室効果が主として二酸化炭素と水蒸気のみが考慮され、二酸化の増加に伴う熱収支と気象変化が問題にされてきた。しかし、1980年以降にな

ると、それら以外の温室効果ガスの影響が非常に大きいことがわかり、にわかに注目されるようになった。これらはメタン、亜酸化窒素、フロン、対流圏オゾンなどの大気成分であり、微量温暖化ガスと呼ばれ、低濃度で強い温室効果を示す。現在ではこれらのガスによる温室効果が二酸化炭素の効果を上回るようになってきた。中でもメタンは、濃度上昇率、温暖化の寄与率、北極域における温度フィードバック効果などから注目を集めている。そこでここでは地球温暖化におけるメタンの役割、主要なメタン発生の機構と分布、放散量の推定法を紹介し、メタンの放散量の推定と放散量抑制対策が廃棄物工学の分野—特に埋立処分においても地球規模的課題となっていることを報告する。

## 2. 大気中メタン濃度の変遷と排出源

大気中のメタン濃度がこの100年間に急速に増加し、かつての2倍以上になっていることが近年認められ、関心と呼ぶようになった。メタンは、約200年前0.7 ppmvであったが1990では1.74ppmvとなっている。メタン濃度の増加機構には地表からのフラックスの増加と光分解速度の低下があるが、メタン濃度の急激な増加が人間活動の増加による環境へのインパクトの時期と一致していることから、この100年の大気中濃度の増加が前者によるものであることが一般的に認められている。

大気中メタン濃度の緯度分布は北高南低となっており、排出源が人間活動あるいは生物活動が関与する北半球にかたよっていることを示している。メタンの排出源としては湿原、湖沼などの自然発生源および水田、家畜、鉱業(油田、天然ガス田、炭田)、廃棄物埋立地、焼畑などの植物燃焼の人為発生源がある。それらの寄与率はそれぞれ10~25%、10~20%、10~20%、20~30%、5~10%、5~15%である。自然由来のメタン放散量は熱帯雨林圏(10~15°N)およびツンドラおよび寒帯湿原(50~70°N)に集中しており、それぞれ30~40%程度を占めると推定されている。特に、ツンドラ・寒帯においては土壤中に蓄積された大量の有機物と微生物活動の温度効果によって温暖化によるメタン放散量の増加が危惧される。そこで、温暖化にともなうメタン放散量を予測することが重要になってくるが、現段階では有効な予測モデルが作られていない。筆者は北海道大学在勤中、亜寒帯湿原地において、メタン放散速度と種々の生物・物理・化学的な因子の調査を基に、土壤中でのメタンの生成・酸化と輸送を考慮したメタン放散モデルを構築した。また、モデルの数値計算から放散速度に大きな影響を及ぼすパラメータとしてメタン酸化速度、間隙気相率、地下水位が明かとなり、植物による蒸散輸送がそれほど大きくないことがわかった。

## 3. 土壌・水圏におけるメタン排出機構

土壌中の有機物は好氣的微生物によって二酸化炭素と水、アンモニアに分解される。しかし、好氣的分解によって酸素が無くなると、嫌氣的分解(発酵)が進行するようになり最終的にはメタンが生成される。これらの反応経路は極めて複雑で未だに解明されてはいな

いが、酸素の輸送が律速となる水分の多い土壌系、あるいは湖沼底泥系では嫌氣的分解が重要な役割を果たすようになる。生成されたメタンは土壌間隙あるいは底層水空間をとおして大気中に放散される。この過程でメタンはメタン酸化菌によって好氣的に分解され、二酸化炭素に変換される。土壌層からの大気へのメタンの放散は、これらの反応速度のバランスと輸送特性に依存している。

## 4. メタン放散量の推定方法

一般に、大気成分の排出あるいは放散量を推定するのは多くの困難を伴う。まず第一に全球規模(グローバル)であるが故に、測定が全体をカバーできないこと、第二に排出が微生物を經由した土壌・水圏からのものが多く、気象・時空間的要因による影響が著しく大きく、測定の困難さに加えて測定値の代表性に問題があることが原因している。メタン放散量の推定も例外ではなく非常に困難でその精度も推定範囲が2~3倍となっているように極めて悪い。ところが、温暖化の予測ではメタン濃度の推定精度としては数十パーセントが要求される。そのため、フィールドにおける測定精度の向上と放散量推定モデルの構築が望まれる。現在、測定方法としては、チャンバー法、微気象学的方法、航空機によるバルク法、渦相関法などがあるが、メタンフラックスの測定方法として利用できるものは、チャンバー法と微気象学的方法のみである。

## 5. アラスカツンドラ地帯からのメタン放散量の実測調査

温暖化による温度フィードバック効果を見積もるためには、ツンドラ地帯における増加量を見積もる必要がある。そこで、ツンドラ地帯のメタン放散量の調査の機会を探していたが、運良く極地研究所から調査費用が認められた。1991年7月末から1週間かけて調査を行った。調査結果を要約すると、メタンフラックスは測定地点によって著しく変化したが、他の研究者の値とほぼ同様な値を得た。同時に土壌の生物、物理、化学的測定項目の垂直分布とメタンフラックスの関係性を求めた。その結果、メタン生成菌が土壌の極表面近くでも生息していること、メタン生成菌が数多く生息していてもメタン酸化菌が多く生息しているところではメタンフラックスが極端に小さいこと、メタン生成菌の菌数が土壌中有機物、特に未分解のセルロース含

量に密接な関係があることなどが明らかとなった。以上のようにツンドラにおけるメタン放散モデルの構築に極めて有用な情報が得られた。今年、北海道大学では国立環境研究所と共同でシベリアツンドラおよびタイガ地帯のメタン放散量の測定と解析を行っている。現在、北海道における連続観測湿原、アラスカおよびシベリアの調査結果を基に、温暖化によるメタン放散量の増加を予測するためのより精度の高いモデルの構築を行っている。

#### 6. 廃棄物処分場からのメタン放散

以上、筆者が北海道大学在勤時における研究の一部を紹介したが、現在従事している廃棄物に関する分野においても、廃棄物処分場というメタンの主要な排出源を抱えている。廃棄物処分場、いわゆるごみ埋立処分場は台所ごみ、紙、草木、汚泥など有機物を大量に

含んだ都市ごみを特定の場所に集中的に集めた空間であるから、有機物を大量に蓄積した湿原土壌と同様な特性を持っている。さらには有機物層が10~30mにも達するから、反応の結果大量の熱が蓄積され、ごみ層内の温度が60~80℃にも達し、メタンの生成速度は自然土壌系に比べると著しく大きくなる。

埋立地からのメタン放散量はグローバル量の5~10%に達すると推定されているが、これはCrutzenらのモデルを基にしているだけである。このモデルは実測フラックスを基にして求められたものではなく、多くの仮定の上での計算によって求められており、実証されていない。それ故、フィールドにおけるより正確なフラックス測定方法の確立と放散量推定モデルの精度向上が望まれている。