

## 各学部の活動

### 衛生微生物学部 1988-2001

中 島 節 子

#### (1) 概観

井上榮部長時代に国立公衆衛生院の和光市移転が決まり、部全体が移転に関する調査に巻き込まれた。井上部長は92年8月に国立予防衛生研究所（現国立感染症研究所）（予研）に出向し、93年1月に同じ予研から牛島廣治が部長に就任した。牛島部長時代に、衛生微生物学部が解体して国立感染症研究所（感染研）に吸収される方針が決まり、牛島部長は95年8月に東京大学に出向した。その後、しばらく部長人事が凍結になり、97年8月になり漸く免疫・寄生虫室長の荒木國興が部長に就任した。この間に、出向、転出、定年退職、死亡などにより88年の時点で8名いた部員はウイルス室長、細菌室長、培養基職員の定員の研究職への振り替えを除いて後補充はされず、97年には5名に減少した（後出）。培養基職員は富岡キミエが89年に定年退職し、岡田千代榮が94年5月に45歳で急逝した後、95年4月に大越みちが定員外職員として採用された。2001年には荒木部長が定年退職し、部員は4名となった。このうち88年から在職している部員はわずかに1名であった。4名の部員は2002年4月に感染研の戸山庁舎に1名、村山庁舎に3名が出向する予定である。

この間、WHOによる80年の天然痘の根絶宣言に続き、2000年10月には日本を含む西太平洋地区におけるポリオ根絶宣言が出され、ワクチンによる感染症の制圧が成功を収めつつある。つぎの目標としてWHOは21世紀の早い時期での麻疹の根絶をかかげている。

一方、エイズ、エボラウイルス感染症、ニパウイルス感染症、西ナイルウイルス感染症、新型インフルエンザ、腸管出血性大腸菌O157感染症、結核、クリプトスポリジウム感染症、カリシウイルス感染症、変異型クロイツフェルト・ヤコブ病などの新興・再興感染症が大きな問題となり、感染症が再び脚光を浴びるようになった。99年には伝染病予防法が約100年ぶりに改正され、同年4月から新たな感染症新法（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）が施行され、新興・再興感染症に対応

できる体制が整った。

トリ（H5N1）インフルエンザウイルスによる新型インフルエンザ、狂牛病、炭疽菌感染症など本来動物の感染症であったものがヒトへ感染したことが報告され、人獣共通感染症の重要性がここ数年クローズアップされてきた。また、かねてより危惧されていた微生物を用いたバイオテロがついに現実のものとなり、2001年10月に米国で炭疽菌によるバイオテロが発生した。危険病原体の管理体制の強化と感染者の早期発見・診断及び治療薬、ワクチンの開発・備蓄の必要性がせまられている。

以上のような背景のもとで、衛生微生物学部における教育、研究のあり方も変わらざるを得なくなった。これまでの基礎研究から現実的な要望に対応したテーマに基づいた研究が主体となっていった。

#### (2) 教育訓練

本院の養成訓練の方針に従い、長期課程の学生に対し、感染症の基本知識、検査法、その時期重要と考えられる感染症に対しての公衆衛生的アプローチなどに主眼をおいて教育し、さらに細菌学、ウイルス学、寄生虫学の新しい知識の紹介にも努めた。88年以降長期課程の講義を受け持ったのは、細菌関係：吉田、岡村、本藤、伊藤；ウイルス関係：植田、中島、井上、本藤、牛島、西尾；寄生虫関係：荒木；アレルギー関係：井上、阪口、今岡であった。講義の他に実習や特別演習、特別研究のときには、上記の者に他に培養基の富岡、岡田、大越も実験準備を手伝った。

一方、地研・保健所の微生物検査技術者を対象とした現任者訓練としての特別課程は細菌コースとウイルスコースを隔年に実施し、寄生虫の実習・講義を両コースの一部に含めた。これらのコースは実習を主体とするが、最新の知識に関する講義も行った。88年度はウイルス（責任者：植田）、89年度は細菌（同：岡村）、90年度はウイルス（同：植田）、91年度は細菌（同：本藤）、92年度はウイルス（同：中島）、93年度は細菌（同：本藤）、94年度はウイルス（同：牛島）、95年度は細菌（同：本藤）、96年度はウイルス（同：中島）、97年度は細菌（同：伊藤）、98年度はウイルス（同：西尾）、99年度は細菌（同：伊藤）、

2000年度はウイルス（同：西尾）コースが実施されたが、年々受講希望者の数が増え続け、定員20名のところ毎年約30名から40名が受講している。上記の職員の他に井上、荒木、吉田、阪口、今岡、富岡、岡田、大越も参加した。講義と実習はその他に感染研、東京大学医科学研究所（東大医科研）をはじめ、多くの機関の先生方にも依頼した。2000年度のウイルスコースでは白金キャンパス最後のコースとしてシンポジウムとその後同窓会が都ホテルで盛大に開かれた。現・旧職員、客員研究員、研究生を始め、全国の地研・保健所のウイルスコース修了者約80名が集まり、白金キャンパスにおけるウイルスコースの最後を語った。11月には細菌コースで同様の会が開かれる予定である。

### (3) 調査研究

#### ①細菌分野

岡村登と吉田洋子は、赤痢菌の研究を行った。ボイド赤痢菌の巨大プラスミドが細胞侵入性を支配していることを明らかにし、菌側の血清耐性の研究を行った。また、赤痢菌I相リボ多糖体の遺伝学的及び化学的解析を行った。90年4月に岡村が東京医科歯科大学に就任し、後任の室長として、90年9月に本藤良が東大医科研から迎えられた。マイクロプレートハイブリダイゼーション法による *Mycobacterium intracellulare* の診断法を研究生の山本らと開発した。また、リステリア菌ゲノムまたは病原性関連遺伝子 *hlyA* 及び *iap* 遺伝子の増幅産物を対象として、制限酵素切断パターンによる分子疫学的解析法の研究を齊藤（研究生）らと行った。96年3月に本藤は日本獣医畜産大学に転出し、また吉田が同時に定年退職した。しばらくの間細菌分野の研究者は不在であったが、97年10月に細菌室長として伊藤健一郎を感染研から迎えた。

i) 下痢原性大腸菌の病原性の研究 (97年～現在) 病原血清型大腸菌は、病原性の発現機構の研究が遅れていたせいもあり、診断の科学的根拠に乏しく、行政措置の際にしばしば混乱を招いていた。患者対照研究及び日本とタイの散发下痢症由来大腸菌の血清型及び既知病原因子の分布を調査し、診断の鍵となる血清型・因子を検索している。

ii) 細菌感染症診断法の開発 (97年～現在) チフス菌・パラチフス菌の多重PCR法を開発した。

iii) 細菌の分子疫学的解析 (97年～現在) 細菌の分子疫学的解析にはゲノム全体の制限酵素切断パターンを用いるパルスフィールド電気泳動法がよく用いられるが、時間がかかるという欠点がある。腸内細菌に分布している反復配列を対象にしたPCR法、即ちREP-, ERIC-PCR法を用いて赤痢菌の迅速解析を行った。

#### ②ウイルス分野

植田昌宏 (93年4月に(株)エスアールエルに転出)・中島節子らによるインフルエンザウイルスの研究に加え、井上・本藤によるヘルペスウイルスの研究、牛島によるレトロウイルス、牛島・西尾治 (94年4月に植田の後任のウイルス室長として愛知県衛生研究所から転入)・中島に

よる下痢症ウイルスの研究が主に行われた。以下項目別に説明する。

i) インフルエンザウイルスの温度感受性 (ts) 変異株を用いた遺伝学的研究 (88年～95年) 植田らが分離したインフルエンザウイルスのts変異株を用いて、植田は遺伝研の山中らと共同して、RNAポリメラーゼPB2遺伝子の性質を調べた。中島はTong (専門課程学生) および中島 (捷) (名古屋市立大学医学部) らと共同して、HA遺伝子のts変異株の一つが点突然変異によりおこり、またこのts変異の復帰を起こすHAの三次構造上の復帰変異の位置を同定した。

ii) インフルエンザウイルスの分子疫学 (88年～現在) 中島はインフルエンザウイルスの遺伝子が一定の方向に変化していることを利用して、流行ウイルスの進化系統樹を作成した。また、この方法を応用して、中島 (捷)・西川 (客員研究員) らと共に、インフルエンザの流行季節の前に分離されたウイルスが後の流行の親ウイルスになっているかどうか、またインフルエンザの再感染を起こすウイルスが初感染ウイルスとどうちがっているかなどを調べた。

iii) インフルエンザウイルスの抗原性のドリフトのメカニズムの解析 (93年～現在) 中島は中島 (捷) らと共に、インフルエンザ感染血清中に存在する抗体をHA遺伝子のキメラを用いた発現系と反応させて解析し、抗原性のドリフトが抗体を免れたウイルスが連続的に感染することにより出現するとする仮説を立てた。

iv) 感染症の遺伝子診断法の研究 (90年～93年) 井上・本藤はPCR法で増幅させたウイルスDNA断片をマイクロプレートに吸着させ、ラベルしたプローブと反応させてハイブリダイゼーションを行うマイクロプレートハイブリダイゼーション法を確立し、感染症のDNA診断法の基礎に貢献した。

v) ヘルペスウイルスの分子疫学 (90年～96年) 本藤・井上は伊東 (出雲小児病院) らと共に、PCR法を用いて水痘・帯状疱疹の分子疫学的解析を行った。中国・韓国・日本で分離された水痘・帯状疱疹ウイルスの遺伝子をPCR法で増幅させ、制限酵素切断パターンの違いをみる方法、或いは反復構造部位を解析し、その反復回数の違いをみる方法などを用いて感染状況を比較した。

vi) レトロウイルスの分子疫学的研究 (92年～94年) 牛島はHIV (エイズウイルス) のサブタイプと株間の変異決定のための遺伝子解析を行った。さらに合成ペプチドを用いてのサブタイプの決定を試みた。

vii) 下痢症病原体の分子疫学、免疫学的研究 (92年～現在) 牛島、西尾はロタウイルスのRT-PCR法によるA群ロタウイルス検出法とその血清型を確立するとともに、日本各地の下痢症患者のロタウイルスによる発生頻度を明らかにした。さらにロタウイルス血清型1, 2, 3, 4型のVP7について日本、中国、パキスタン等の株の遺伝子配列を決定し、国間の違いを見出した。94年から西尾は小型球形ウイルスのRT-PCR診断法開発に取り組み、95年からは実際にその方法を用い食品から小型球形ウイルス (ノーウォー

クウイルス, NLVs) の検出と検出されたウイルスの分子疫学的解析を行っている。わが国の生カキがNLVsにしばしば汚染されていることを明らかにした。98年から日本産の二枚貝のみならず輸入食品、特に東南アジアからの二枚貝並びに世界各地からのエビ類等におけるウイルス汚染状況の実態解明と安全性の評価の研究に取り組んでおり、2001年からは12地方衛生研究所がこの研究に加わった。また、全国の地方衛生研究所に検査マニュアル並びにNLVs確認試験用のプローブを配布し、感染症行政に寄与している。一方、中島は杉枝(静岡環衛科研)らと共に、貝類を喫食した後に急性胃腸炎になった患者の便中に2種類のノーウオークウイルスが混在することを見出した。また、ブタの盲腸内容物中に世界で初めてノーウオークウイルス遺伝子を検出し、ブタがヒトNLVsの病原保有動物である可能性を示唆した。

viii) アデノウイルス感染症のウイルス・分子疫学的解明に関する研究(94年～現在) 西尾はアデノウイルスの迅速診断法の確立と日本におけるアデノウイルス感染症のウイルス・分子疫学的解明を行った。腸管アデノウイルス(40型, 41型)を日本、パキスタン、タイ国と比較すると、パキスタンの株が最も変異が多く、次いで日本で、タイ国の株は変異が極めて少なかった。96年からは日本でアデノウイルス7型が全国的に流行したが、この流行はアデノウイルス7型D typeによるもので、近隣国からの輸入感染症であり、わが国では40年振りの再興感染症であることを明らかにした。また、シンガポールについても調べ、シンガポールでは近年の流行は30年振りの再興感染症であったことを明らかにした。さらに、アデノウイルス3, 7, 11型のPCR法による迅速診断法を開発し、この方法をウイルスコースの実習で行い、地方衛生研究所職員に技術移転を行った。

ix) 発展途上国のHIV母子感染の実態と予防に関する研究(97年～99年) 西尾は名古屋大学磯村、カラチ市民病院等と共に、パキスタンおよびスリランカにおける感染実態調査を行い、両国共に未だ一般家庭にはHIV感染が侵入していないと考えられる成績を得た。

### ③寄生虫分野

荒木による寄生虫感染症の免疫学的診断法に関する研究に加えて、西尾によるクリプトスポリジウムの研究が行われた。

i) 寄生虫感染症の免疫学的診断に関する研究(88年～2001年3月) 荒木は88年～2001年までに依頼された1820例の患者血清を検査し、12種類の寄生虫症、286例を見出した。96年からは酵素抗体法(ELISA)を簡略化したdot-ELISA法について検討し、本法が吸虫感染症(肺吸虫症、肝蛭症、住血吸虫症など)や赤痢アメーバ症の診断に有効なことを明らかにした。また、免疫学的診断に必要な寄生虫抗原の特異性についても検討し、順天堂大学医学部の山崎浩らと共同で組換え犬回虫抗原による犬回虫症の免疫学的診断法を確立した。

ii) 遺伝子操作法による原虫の検出法と分子疫学に関する

研究(97年～現在) 西尾はクリプトスポリジウムのPCR法による診断法の確立と各種動物から分離される同病原体の遺伝子配列を比較し、感染経路の解明のための基礎資料を集積している。また、ヒトおよび各種動物由来クリプトスポリジウムを検出可能なPCRのプライマーを設定し、この系を用いてヒトおよび各種動物由来クリプトスポリジウムの遺伝子型別を行った。ヒト由来にはヒト型と動物型が、ウシ由来は全て動物型、ペットであるイヌ、ネコ由来はヒト型が多く検出され、クリプトスポリジウム感染症が人獣共通感染症であることを分子疫学的に確認した。

### ④免疫・アレルギー分野

i) アレルギー分野 井上榮部長及び阪口雅弘は、我が国で急増するスギ花粉症を公衆衛生学的視点から捉えようとした。まず、スギ花粉特異的IgE抗体測定法として、IgE捕捉蛍光ELISA法を開発し、厚生科学研究費によりスギ花粉症の血清疫学調査を実施し、都市部の3割近くが特異的IgE抗体を持ち、1割が症状を持つことを報告した(当時、現在では3割近くが症状を示す)。また、抗原の分析・検討も行い、90年にスギ花粉における第2のアレルゲンとしてCry j 2を同定した。

90年4月に東大医科研から今岡浩一を迎え、東京都花粉症対策検討委員会における調査研究に参加し、スギ花粉症患者のスギ特異的抗体の季節内変動や、スギ花粉飛散数と抗体量の相関を明らかにした。

また、ヒトのみではなく、サルにおけるスギ花粉症についても検討を加え、ヒトと同様にスギ花粉特異的IgE抗体を持ち、発症していることを示した。阪口・井上は、環境中のアレルゲンの測定も行い、屋内のダニアレルゲンの測定と評価を行った。

井上は92年7月に、阪口は92年10月に予研に出向した。

今岡・井上は、環境庁委託研究業務として、大気汚染と花粉症に関する研究を行った。まず、日本ではあまり馴染みのなかったBrown Norway (BN) ラットがIgE抗体をよく産生することを見だし、大気汚染物質である二酸化窒素の亜急性暴露やディーゼル排気微粒子がアレルゲン特異的IgE抗体産生を増強することを報告した。また、民間との研究協力により、シソなど食品にも分類される生薬に、抗原特異的IgE抗体産生抑制効果を持つものがあることを、その効果は、内因性に誘導されるIFN-alphaによることを示した。

今岡は、文部省科学研究費(98年～)により、食物アレルギーにおける経胎盤感作の重要性について検討し、妊娠BNラットに免疫機能を修飾する物質と抗原を同時感作する事で、新生児に抗原特異的IgE抗体を誘導することに成功し、かつ、その後の経口免疫寛容が破綻していることを明らかにした。

ii) 粘膜免疫分野 今岡は、アレルゲンも感染症の原因となる多くの病原体も、その侵入始点が粘膜面であることに注目し、粘膜免疫機能の研究のため、科学技術庁長期在外研究員として、アラバマ大学に出張した(95年11月～97年4月)。HIVに対する経粘膜ワクチン開発の研究の一環

として、サルに対してSHIVタンパクとコレラ毒素（粘膜アジュバントとして）を経口もしくは経鼻免疫する事により、血液中のみならず、全身の粘膜面に特異的IgA抗体が誘導されることを明らかにした。特に経鼻免疫においては、

HIVの最も重要な感染始点である膣粘膜にも特異的IgA抗体が誘導され、かつ、細胞性防御免疫も誘導されることを示した。感染症に対する経粘膜（特に経鼻）ワクチンの有用性を明らかにした。