

新春放談

ゲノム医学の将来

微生物学はどう変わる



語り手

江崎 孝行 先生

岐阜大学大学院医学系研究科 病原体制御学分野 教授

中山 哲夫 先生

北里生命科学研究所 ウイルス感染制御学研究室I 教授

松本 哲哉 先生

東京医科大学 微生物学講座 教授

東京医科大学病院感染制御部 部長

(五十音順)

聞き手

河島 尚志 先生

東京医科大学 小児科学 講師

(2009年12月13日 収録)

河島 本日はお忙しい中お集まりいただき、大変ありがとうございます。この『モダンメディア』、創刊号が皆さんのお手元に置いてあると思いますが、1955年に発刊、定価20円ということです(笑)。今は無料で配布していますが、ファンが非常に多く、その中でも新春放談は人気のある特集で、毎年企画させていただいています。

今日は、ウイルスでは中山先生、細菌では江崎先生、松本先生においでいただきました。本日の話題ですが、「ゲノム医学の将来—微生物学はどう変わる」です。最近のシーケンサーはものすごい速さで塩基配列が読み込めるということで、これが微生物の分野をどのように変えていくのか、そういうのを知っておくことがこれからの医学あるいは若い研究者のためになると思い企画しました。

最初に自己紹介をお願いしたいと思います。私は現在、新宿にあります東京医科大学の小児科で臨床を中心に仕事をしています。日々の臨床では松本教授、あるいは中山教授にもお世話になっております。臨床と基礎研究の中間ぐらいのところにいる立場で、今日はぜひ皆さまからいろいろな話を聞かせていただければと思います。それでは自己紹介をお願いいたします。

中山 北里生命科学研究所でワクチンをやっております。ウイルス感染制御学研究室という、自分で言うのも舌をかみそうな名前になっていますけれども(笑)。もともとは小児科でありまして、卒業して17年ぐらい臨床をやっていました。それからちょっと進路変更しまして基礎医学のほうに入って、麻疹、風疹、おたふく風邪についての分子疫学的な研究と、それから、北里研究所はワクチンを作っているところですから、麻疹ワクチン、おたふく風邪のワクチン、風疹のワクチンに関連する仕事をしています。ワクチンはもともと野生株をベースにして弱毒化されているわけですけども、その弱毒のメカニズムがどこにあるのかという研究をしています。分子疫学にシーケンスは必須ですが、最近ではそのシーケンスを利用して、次の世代のワクチンをどう開発するか、そういう研究をやっているところです。よろしくお願いします。

松本 私は東京医科大学の松本でございます。微生物学講座と病院の感染制御部を担当させていた



中山 哲夫 先生

だいております。長崎大学を出てから東邦大学に移りまして、日和見感染症、特に緑膿菌の敗血症をマウスモデルを用いて免疫との関連、特に細菌と宿主のインターアクションを主なテーマとして研究を続けてきました。東京医大に移っても、その研究を継続してやっているのですが、病院では感染制御部として臨床にも携わっております。今回のゲノムというテーマについては、いろいろと検査のほうでかかわっている仕事もありますので、そのあたりでお話しできればと思います。よろしくをお願いいたします。

江崎 岐阜大学の江崎です。私は今、再生医科学の中の病原体制御という分野で、本来の細菌学講座は文部省の講座編成のあおりでこういうふうになりました。もともとは細菌の系統分類をやっておりました。特に腸内フローラを中心とした系統分類をやっていたのですが、教室が嫌気性菌と一般細菌に分かれたので、そのときに好気性菌の研究をやるようになりまして、それから系統分類と診断学に仕事が変わり、いろいろな微生物を取り扱うようになってきました。いま松本先生もやっぺらっしゃいますけれども、病気の主流が病原性の強い菌ではなくて日和見病原体による感染症が多くなったので、きちっとした検出同定システムを作ろうということで分類学に入り込みました。今はヒトだけではなくて動物とか植物とか魚の病気まで手を出して、環境中の微生物のモニタリングという仕事もやっています。そういう技術の中でいろいろな感染症の診断を網羅的に調べようということを始めていまして、将来は遺

伝子検査で微生物感染症診断を1時間以内にしてみようというのがライフワークになっております。ちょっと言い過ぎかもしれませんが、外来で診断できる遺伝子検査というものを目標にして仕事をしております。

河島 ありがとうございます。各分野のエキスパートの先生にお集まりいただき、私としましては、非常に心強く感じて放談を進めていけます。

1. シークエンサーの進歩

河島 最近シークエンサーが第4世代、第5世代とか言われます。シークエンサーは主に塩基配列を先生方はやられていると思いますけれども、この機械の進歩というのは今どういう具合に進んでいるのでしょうか。

江崎 シークエンサーのコストは格段に下がってきたので、ついこの間発表されたヒト全ゲノムはだいたい50万円程度で読めるような時代になってきました。今、バクテリアの全ゲノムを読もうとしたら、実際には50万円から数百万円くらいお金がかかるんですね。ところが、次の世代のシークエンサーでは10万円前後くらいでバクテリアの全ゲノムがわかるようになるという時代になってきました。

そういう中で、次世代、次々世代のシークエンサーは非常にコストが高いので、一般の研究室でメンテナンスして使うのは大変だと思っていたのですが、今後、1,000万円ちょっとくらいで迅速にできるシークエンサーが、パーソナルユーズという仕様で全ゲノム解析に利用できる時代になりそうなので、非常に期待しています。

実際に僕らはシークエンスをして菌を同定検出しようという話に持っていきたいのですが、そういうときに、今のシークエンサーではまだ目的があまりにも汎用すぎて、用途を、細菌のシークエンスあるいはウイルスのシークエンス同定に限定すれば、本当に安いコストで実用化ができると思います。

うちでも、実際に一つの菌の同定のためのシークエンスのコストというのは、今200円くらいで済みますので、従来法で培養するよりはるかに安いです。情報も正確ですので、近い将来、これが臨床の細菌の同定のスタンダードになると思っています。

河島 ウイルスの分野ではいかがですか。中山先生のところでずいぶんLAMP法を含めてPCR法やシークエンスをルーチンにされていると思いますが。

中山 ええ。でも、われわれのやる場所は、網羅的に全部の遺伝子をみる必要は何もないので、例えばウイルスに関しては、病原性に関連する遺伝子の部分だけをシークエンスしていく。麻疹だったら、例えばHA蛋白とかN蛋白で、系統樹解析とかジェノタイプの解析に必要なところの情報だけみればいいわけですから、そんなに高性能なシークエンサーは必要ではないのです。最初はゲルを作って、ガラス板を作ってシークエンスをみていましたが、それがキャピラリーになって、これはすごいなと思ったんですけれども、それから先、そのキャピラリーのでかいやつも36レーンとかありますが、実際それはあまり動かさないんですよ。4連のキャピラリーぐらいのやつをずーっと動かしていく。それでシークエンスする領域は限定されていますから、それから多くのウイルス株の情報を得る。一つのウイルス株の全部の情報が必要なわけではなくて、多くの株の特定の領域の情報が必要になってきます。その情報を基に迅速診断のLAMP法とかそういうものを組み立ててきているわけです。

いろいろなことの進歩がすごいなと思ったのは、今年流行のインフルエンザなんですね。4月15日ぐらいにウイルスが分離されて、そのあとブタ型のH1N1ということになって、そのあと数日したら全塩基配列がもう出ているわけですから、それはすごいと思いました。でも、それはわれわれの日常の研究の中にはそれほど必要なことではなくて、シークエンサーも、われわれに必要なのは先ほどのようなパーソナル型で、要するにいつでも簡便にできるということです。たくさんの情報量をいちどきに集めることはあまりない状況です。昔はこのシークエンサー自体がすべての用途を満たしているような感じがあったんですけれども、今、研究分野によってその使い道が変わっているところが出てきているんじゃないかなと思います。

河島 松本先生、そのあたりはどうですか。

松本 私の領域でこれまでかかったところでも、いつもシークエンスが必須ということではありませんし、必要なときに目的に応じて利用していま

す。最終的に遺伝子を押さえないと何とも言えないというところが確かにありますし、特に耐性菌の細かい分類に関しては、遺伝子のシークエンスまでやらなければいけない部分もあります。ただ、そこに至るまでの菌の耐性の評価は、やはりMICなど薬剤感受性結果を基にした表現型の把握が先ですので、遺伝子学的なアプローチだけで全ての結論が出てしまうというわけではないと思います。

2. 系統樹解析の将来

河島 次に関係するので、分類となると、ウイルスや細菌も大腸菌の分類がどんどん変わってきています。今、遺伝子で分類する方向なのか、性状で分かれていくのか、そのへんはどうなのでしょう。今、系統樹解析がワットとでてきますけれども、例えばウイルスだと表面の蛋白で分けていくのいいのか、どちらかという病原性で分けていくのか。

中山 まず、いろいろな性状が既に決まっているものに関しては、生物活性のほうはあまり重要ではないのですね。麻疹ウイルスなどは株によって生物活性には差がなく性状が決まっているものに関してはシークエンスだけでやっていくわけで、そんなに生物活性のバリエーションのないものに関してはそれでいいですけれども、逆に、今までのそうした分類の方法が生物活性で、例えばセロタイプで分類しているものがたくさんあるわけです。いちばん特徴的なことを言うと、エンテロウイルス系が今まで、コクサッキー、エコー、エンテロ系というふうにセロタイプで分かれていたわけですが、それを実際シークエンスしてみると、同じセロタイプなのに違うクラスターに入ってくるというのはたくさん出てきていて、今、エンテロウイルスの分類の方向性というのは、今までのセロタイプの分類の方法から、ジェノタイプによって、例えばエンテロウイルス系のものはA、B、C、Dの4つの群に遺伝子で分類する方向になってきています。ただ、それが血清型と一致するかどうかとか、そのシークエンスによってジェノタイプの分類が生物活性とどういう関連性があるかというのは、逆に、今までの血清型と合わないところが出てきているわけですから、遺伝子型

で、今度はどういう生物活性が共通しているかという方向性に、これから行くと思います。

河島 そのジェノタイプというのは地域的にもだいたい密集すると考えてよろしいんですか。

中山 ジェノタイプというのはウイルスの種類によって全然違いますよね。要するに、伝播の速いものに関しては、例えば麻疹においては日本全国だいたい均一のもが出てくるし、伝播力の弱いものに関しては、時間と空間の中でいろいろなタイプのものが出てくるわけですね。遺伝子解析の系統樹解析というのは、伝播経路の解析、その時間的・空間的な変化がどうあるか、それと同時に、菌とかウイルスが分離されたバックグラウンドとして臨床の場がどうなのか、臨床症状がどうなのか。そういうバックグラウンドを持った遺伝子の分類がこれから必要になってくると思います。遺伝子だけではなくて、血清型だけではなくて、生物活性だけではなくて、そのバックグラウンドにある臨床的な背景、それを全部ひっくるめて、これからの系統樹解析に必要な条件になってくると思います。

河島 細菌に関しては、もともと、わが国にはMRSAやPRSPはなかった菌で、実はヨーロッパから来たんじゃないかというのをどこかで読んだことがあります。そういうのも、こういうシークエンスの解析でだいたいわかってくる。あるいは、どこの病院の分離菌は輸入された菌だとか、そういうのもすぐわかってくるでしょうからね。

松本 MRSAはその代表的なものだと思いますが、例えばシークエンスタイプでST何番というふうに分けると、ある程度、地域とか国によって流行しているメインの株が分かれてきます。そういう意味では、耐性菌のものをたどっていく上で、重要な示唆を与えてくれると思います。

河島 今ブドウ球菌は、アメリカで何とか300ですか。

松本 USA300とかですね。

河島 日本ではあまり聞かないんですけど。

松本 そうですね。MRSAについては従来の院内感染型に加えて市中感染型のタイプが加わって状況がだんだんと変わってきています。市中感染型かどうかの判断は臨床的なバックグラウンドも影響するのですが、最終的な決定には、菌のある部分

のシーケンスをもとに判断する必要があります。最終的に遺伝子学的なアプローチに頼らないといけない点が臨床の現場で疑わしい症例に遭遇した際に判断を難しくさせていると言えます。

河島 江崎先生、どうでしょうか。

江崎 今の話はたぶん株の話だと思うんです。僕らは、株の分類と種の分類あるいは属の分類と使い分けていますので。MRSAのタイピングの話とかいうのはほとんど株の話ですね。細菌の場合は、種はほぼ系統的な定義ができあがっていますので、例えば、今いちばんよく使われている16Sリボソームの系統樹で、菌種というのはだいたい1.3%の多型のある株の集団というふうに定義しています。16Sの全シーケンスを読めば、ほぼ菌種は決まるんですね。

ところが臨床的には、菌種が決まっても、病原因子とかいろいろなファクターの解析が必要なので、もうちょっと細かいところをみようと思えば16Sでは解決できないので、病原因子や疫学的な情報はもっと多型遺伝子を調べろというふうに位置づけています。

普通、通常の日和見病原体の同定ですと16Sではほぼ同定はできるんですけれども、高度病原体になってくると16Sの情報だけでは危険なので、1.3%のバリエーションという時々シーケンスのミスで間違った名前が付くんですね。実際に、また病原菌でも、16Sのシーケンスで識別できないのがたくさんありまして、そういうところには多型情報を3つ4つ加えて調べる。あるいは病原因子を解析する。2つ3つぐらいの遺伝子を組み合わせないと医学的には病原菌の同定にシーケンスは使えないというので、種の同定と、病原因子を持った株の情報というのは、きちっと分けて情報収集しています。

今よく間違えられているのが、16Sのシーケンスをやって100%一致したからその菌だと言うんですけど、実はそれは必ずしも正しくなくて、種の定義からいけば、あくまでもシーケンスが一致したというだけなんです。ですから、そういうデータをきちっと整理しなければいけないという課題がいくつもあります。

もう一つは、分類体系が、昔の表現型質で分類された菌がたくさんあるものですから、それを新



江崎 孝行 先生

しい遺伝子の系統に合わせて分類体系を変えないといけないんです。ここがまた厄介なところで、ご存じかもしれませんが、例えば赤痢菌と大腸菌は全く同じ菌なんです。今の分類手法からいけば同じ菌なんですけれども、病原因子が違うというので分けられてきたんです。ところが、よくよくみると、大腸菌の中にも赤痢菌と同じような病原因子を持っているのがいっぱいあるわけです。それをどう整理するかというのは、これから重要な課題だと思っています。同定手法をきちっと提示して、皆さんが使えるような情報を提供しないと……。名前の変更はそう簡単にやってはいけません。

今いちばん問題だと思っていますのが、チフス菌とかパラチフスなんですけれども、これは今みんな *Salmonella enterica* という名前に統一されているんです。そうすると、16Sのシーケンスをやっただけで *Salmonella enterica* という名前が付いて、それ以上のことを調べないんですね。チフス菌が通常のBSL2病原体の *Salmonella enterica* として報告されている論文が、けっこうあるんです。これは非常に由々しき問題だと思っています。これは僕ら分類学者の責任で、16Sのシーケンスだけでは病原体をきちっと識別できないというのを認知させないといけないと思っています。

河島 言葉の定義の問題も出てきているということですね。細菌の世界でも、もう、ヒューマンゲノムと同じようにSNPsみたいなものはすぐ調べられるんですか。

江崎 有名な病原体はデータがそろっているんで

すけれども、日和見はほとんどデータはそろっていません。誰もなかなかやってくれないです(笑)。

河島 皆さんあまりデータバンクに届けていないということですね。

江崎 そうですね。要は、耐性が多くて注目を浴びているような病原体であれば、SNPの多型情報がかなりそろっているんですけれども、日和見病原体はだいたい1,500種ぐらいありますので、ほとんどの菌についてはそういう情報はまだまだ足りないですね。

河島 ウイルスでは、麻疹であれば麻疹の世界のネットワークがあって、そこに全部登録されるようなシステムがあると聞いていますけど。

中山 vaccine-preventable diseaseというのはWHOとCDCがイニシアチブをとって、分離された株についてはどこの領域のシーケンスをしましょうというのが決まっているんですね。麻疹だったらN蛋白の一部とHA蛋白の解析をする。おたふく風邪に関してはSHの領域、それから風疹に関してはE1の領域というので、WHOが全部領域を決めて、世界中のネットワークの中で共通の領域でみんなシーケンスをして、それに基づいてジェノタイプを分けているわけです。それで、昔から分離されている株がどこに属するかとか、地域的にどういう流行株があるか、それに基づいてWHOが全部の、麻疹、風疹、おたふく風邪の株の整理はだいたいしています。細菌のほうもそういうのはないんですか。部分的にシーケンスをする部位を決めておき、世界的にある菌の特定領域のシーケンスを調べて情報を集めるとか……。

江崎 個人的にそういうデータをまとめているサイトがネット上にあるんです。multilocus sequencingというホームページを作って、正確な数字は覚えていないんですが20～30ぐらいの重要な菌種に関しては、4種類ぐらいの多型遺伝子を決めて多型とその系統をみようという提案をされています。でも、分類をやっている人間からすれば、それは種の分類とは何の関連もないやり方なので、分類学的には使えないのです。ウイルスの場合だと、有名な病原体はだいたいターゲットの遺伝子が決まっていますよね。バクテリアの日和見の1,500種ぐらいに全部それをやろうという動きは、全くないんです。

中山 ただ、ウイルスはゲノムサイズも小さくて、たかだか2万、3万ぐらいのところで、その中の病原因子が特定されていますから、そのシーケンスだけで話がついていくようなところがあるんですね。

江崎 バクテリアの場合も、蛋白毒素は比較的数据がそろっているんですけれども、逆に、多型があまり多くないんです。ですから、それを積極的に集めて疫学情報に使えるということにはならないのです。病原菌は、多型が多いのです。パルスフィールドのような多型で株の由来をみようとか、multilocus 遺伝子5種類を選んで世界中の菌株の多型を比べようというのは大切です。まだまだ遺伝情報は僕は蓄積したいし、特に基準株の情報はほしいですね。いま1,700属ぐらい分類されているんですけれども、その中の基準株の全ゲノム情報だけでもそろってくると、周辺の菌の情報を集めやすくなりますが、まだそれすら終わっていないんです。ゲノムプロジェクトでは有名な菌や非常に特定の有用な機能の高い菌に集中してしまして、幅広く一般細菌を調べるということになっていないんです。どこか公的な機関が、音頭を取って、代表的な基準種の全ゲノムを決めてくれば、僕は仕事がやりやすいんですけど。

河島 薬剤の耐性の解析はかなり進んできているんですね。そういった解析は遺伝子的にはそうでもないですか。ペニシリンだけでしたか。

江崎 そうですね。ある特定のターゲットに絞ってデータを集めてというのは、厚労省の研究班なんかであります。ただ、最近の薬剤耐性は、一つの遺伝子だけでなかなか結論が出ない。一回抗生物質に曝露するといろいろなミュータントが出てきて、とても一つのストーリーで予測はできないので、耐性菌のデータベースも、どこどこを調べればすぐわかるというふうにはいかないですね。バクテリアはわれわれよりも賢いような気がします(笑)。

中山 そうというのは生物学的な活性のほうが先なんですか。要するに、どういう耐性があるかというのを先にみて、それから遺伝子の検索をする。

江崎 そうですね。そうしないと、あまりにも株が多いので、普通そういう方法ですね。

中山 それはだいたい共通する遺伝子配列があるわけですか。



松本 哲哉 先生

江崎 はい。だいたい予想どおりなんですけれども、全く予想できないようなケースもあります。一つの遺伝子配列の SNP だけだったら話は簡単なんですけれども、deletion、insertion、inversion といろいろなことが起きるので、なかなか予測できないですね。

河島 一人のホストからでもかなり性質の違うのものが検出されてしまう可能性もありますね。普通は分離した菌で性状を調べるわけですね。

江崎 そうですね。

河島 ダイレクトにやったらいくらでもいろいろな種類がとれてしまうわけですね。

江崎 僕らも一回やったことがあるんですけど、バクテリアに抗生物質を曝露してミュータントが出たら、そのミュータントを拾ってゲノム解析をしてみると、今のように SNP があったり insertion があったり deletion があったりとさまざまなんです。

3. 耐性菌のゲノム

河島 そう考えると、よくヒトの体は大丈夫なものです（笑）。細菌からそれだけの変異に対応しているわけですね。すごいことですね。シーケンサーが進歩してもその先の難題がすごくあるということですかね。

江崎 どうですか、松本先生。耐性菌が出て、耐性菌のゲノム解析をやって予測するというのが、どれだけ可能性があるか。

松本 耐性のメカニズムは大きく分けて4つぐらいあって、薬剤を壊すとか、薬剤を取り入れないと

か、逆に菌体の外に排出するとか、薬剤の作用点を変えるとか、いろいろなタイプがあります。薬剤耐性について詳しく知ろうとすればもちろん遺伝子がかかわってきます。例えばメタロ-β-ラクタマーゼという酵素を出すかどうかは、その遺伝子を検出すればわかりますし、その遺伝子の分類も可能です。ただし同じ一つの菌がいろいろな酵素を産生することがありますので、一つの酵素の遺伝子だけ検出して「それで決まり」というわけにいかない。さらにいろいろな耐性メカニズムを同時に一つの菌が持っていて、複数のメカニズムが組み合わさって最終的な表現型として表れる場合もありますので、実際のところ、遺伝子型と表現型のどちらが大事なのかは判断が難しいと思われます。患者さんの治療ということで考えると、それがメタロであろうが何であろうが、結局その患者さんにはどの抗菌薬が使えるのかという点が重要であり、遺伝子型よりは表現型をみた方が、この菌に対するアプローチとしては有効性が高いのかもしれません。

ただ、特殊な菌が出た場合、どういう分類に属する菌なのかというのは、どうしても遺伝子を調べていくほうがクリアカットに判断しやすいので、学会や論文で報告するには遺伝子を調べなければいけない場合が多いと思います。

河島 DNA のシーケンスをいくらやっても限界があって、細菌の RNA も調べなければいけないし、メチル化もみなければいけない。それに加えてホストのほうまで全部みないと駄目ということですよ。

松本 例えば、薬剤耐性を評価する際に、この菌はこういった種類の遺伝子を持っているから、遺伝子から逆に表現型を推測して、これらの抗菌薬が有効でしょうという判断ができるものでしょうか？

江崎 いや、あくまでも推測なので、100%自信を持って言えることはないですね。いま言ったように、これだけのわかった耐性遺伝子を持っているのに、この菌株は耐性だろうと思ってみると、今度、発現のところで違っていて、感受性だったというもあるんですよ。

河島 僕ら小児科ですと化膿性髄膜炎が多いんですが、一応、MIC で判断していますが、組織への移行性とか、急性期と回復期で、回復期になった

ら急に反応が悪くなったりするので、MIC なんかもみて判断しても意味がないんじゃないのかということがよくあります (笑)。中山先生からのアドバイスで、効かなくなったら一回切ってみるしかないよと言われ (笑)、出てきた菌で考えればいいんだと言われました。実際、臨床の場合だと、違うことがしばしばあります。

松本 それは先生がおっしゃったように、菌が抗菌薬にずっとさらされている状態では、最初の時期に分離された菌と、あとまで生き残っている菌とは異なる性質を示す場合も少なくないと思います。

河島 一回治療に入ってしまうと、どんな検査をしても検出されないじゃないですか。そうすると、実際に脳膿瘍ができてしまい、開頭して膿を培養検査に提出しても分離されないの、じゃあ何を基準に決めるんだろうと問題に思うことがしばしばあるんです。

松本 さすがに菌が出ないとなかなか難しいですね。

江崎 そうですね。最近、ダイレクトに、白血球が食べている菌をPCR法で同定する方法がありますが、菌が見えても検出されないこともあります。

松本 今、江崎先生が作られている検出系で感度はどれぐらいなんですか。

江崎 少なくとも培養よりははるかに感度が高いです。もう一つは、薬剤感受性について言えば、いったん薬を使って検出しようと思うと、先生がおっしゃるとおり、なかなか菌は検出できないんですけれども、僕らは今、どちらかというと、生きた菌がちゃんとそこに残っているかどうかを検査しようという方向に走っています。そうすると、抗生物質に曝露されていてそこで病原体のコロニーまで作らなくても、メッセンジャーが増えているのであれば、まだ生きている可能性があるということで、そういう検査をやろうかと。そうすると、抗生物質の耐性遺伝子を持っているという検査ではなくて、その菌を抗生物質に曝露したときにメッセンジャーが増えているかを短時間の培養と併用して調べます。メッセンジャーが増えれば、生きた菌がまだそこにはいるだろうと判断します。そういう検査をこれからやったらいいんじゃないかなと個人的には思っているんです。

河島 RNAを測定するのですね。

江崎 RNAですね。



河島 尚志 先生

河島 RNAを直接抽出してですか。

江崎 ええ。今、結核菌でそういうことをちょっとやっています。結核菌でもだいたい半日で結果が出るんですね。あれを、きちっとコロニーまで作らせようとか、濁度を作らせようと思うと、2週間、時に1週間から数週間、時間がかかりますよね。1日でメッセンジャー量の増減がわかりますので、そういった検査で治療中の患者さんのサンプルの菌の生死が判別できるんじゃないかと思っています。個人的には、耐性遺伝子を一生懸命調べていって感受性を予測するというのは限界を感じていまして。

松本 いま言われたことはすごく大事なところでして、特に結核菌の場合、治療に入っても、死菌を排菌していればPCR自体は陽性に出てきますので、PCRの結果は治療効果を反映できていません。しかし一部の医師はPCRを治療後にも連続してオーダーする場合があって、結果としてはずっとPCRポジティブになるので、治療効果が得られていてもその判定が誤ってしまう場合もあります。江崎先生がおっしゃったように生死を判定できるような遺伝子検査は、これから先非常に大切だと思います。

4. 解析情報の利用

河島 ヘルペス属のDNAウイルスをRNAレベルで調べるというのは、最近はどうなんですか。あまりやられないんですかね。

中山 あまりやっていないですね。

河島 どうしてですかね。

中山 どうしてでしょうかね。持続感染しているものに関しては、いつ何時そういうものが起きているかわからないわけですね。潜伏感染しているから。結局、やっても、たぶんメッセンジャーもとれると思いますし、そのときの評価としてアクティブかどうかというのもわからないわけですね。そここのところがちゃんとしないわけですね。

河島 じゃあヘルペス属なんかは、RNA レベルで検出されてもただ転写があるということですか。

中山 潜伏感染している部位ではあるんでしょうね。それで免疫が落ちたら……。

河島 そうでなければ持続感染しないですからね。

中山 伝播するようなことは少ないです。免疫能が落ちているときにはよく増えてきて、そのときにメッセンジャーレベルは上がってくるんですけど、システム的に全身のレベルで上がってくることはまずないですね。局所のところだけですから、それを取り上げようとするともまず難しいわけですから、そここのところで菌とはやっぱり違いますよね。

河島 なるほど。難しいですね。最近、人の分野ではメチル化の話題を見聞しますが、細菌の世界ではあまり……。

江崎 僕らはあまりやっていないので、お話しできないんですけども、どうですか。バクテリアはそういう解析はやらないものね。メチル化まで。

松本 やらないですね。

河島 まだ、ヒトのゲノムでやっと始まったところですからね。でも、シーケンスでどんどんどんどんデータが出ると、やっぱり、DNA、RNA、蛋白、酵素を統合するというのが、非常に問題となります。KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes ; 生命システム情報統合データベース) というんですか、いろいろ相互の関係はどうなんでしょうかね。RNA とのインタラクションを含めると、無限大にいろいろなことがあるような気がします。

江崎 バクテリアの感染症で蛋白解析までやろうという人はそういないですね。

松本 そうですね。

中山 逆にウイルスのほうはけっこう多いんですよ。細菌は自律増殖できるわけですから。ウイルスのほうは、宿主の中に入って増えるわけで

すから、本来のウイルスの遺伝子と宿主側の蛋白、ですから遺伝子のインタラクションというのは、みんな注目してこれからやっていくと思います。いちばん最初にウイルスが感染して、今までは、感染したかどうかというのは最初は抗体レスポンス、免疫反応でみていて、それから分離があったりして、抗原検出、遺伝子検出になったわけですけども、その現象のいちばん最初は何が起こっているのだろうということで、細胞にウイルスが感染して、そのときに起こるイベントは何かというと、やっぱり自然免疫を介していろいろな応答がいちばん最初に出ているわけですから、今そここのところがいちばん注目されていて、ウイルスの感染とウイルスのゲノムと宿主側のインタラクション、それといちばん最初に起こるイベントがどうなのかというのは、これからどんどん解析されてくると思います。

河島 当然、細菌に感染するウイルスもありますが、そういう面も進むということですかね。

松本 そうだと思います。

河島 今、遺伝子治療とかベクターで、結局あまりいいベクターが見つからないという話も聞くんですけど、いずれ、シーケンスがどんどんできるようになって、将来的にはいいベクターが見つかるかと考えてもいいんでしょうか。

中山 今、アデノウイルスとかセンダイウイルスとかウイルスベクターが使われていますけれども、やっぱり限界があります。そうすると、それは遺伝子治療として使う。疾患に対する治療をワクチンとしてのウイルスベクターとして使うわけですから。それと、今度はワクチンに使うベクターとか、また別個ですよ。シーケンス解析ができたからといって、そのベクターの開発がうまくいくというものではないですよ。要するに、もとに使うウイルスの性状がはっきりわかってきて、どこに病原性がある、それを抜くとかどうということが起きるのかというのは、やっぱり確かめなければいけないし、いちばん最初にやるのはシーケンス塩基配列があって、その次、その蛋白はどういう機能をしているのか、その機能解析ができないと、ウイルスのベクターというのはなかなかいいものはできないですよ。

河島 そうですね。でも、ウイルスの世界では、

短いので蛋白まで解析が行けるかなというところで、細菌に関してはまだちょっと難しいかなというところですか。

中山 ウイルスのほうは、シークエンスの時代はだいたい終わっていますよね、10年ぐらい前に。そうすると今は、シークエンス解析を基にして蛋白でどうなのか。それから、今度は逆に、シークエンスを基に人工的にウイルスを作って、ミューテーションを入れて、その解析をしていく。そうした reverse genetics の方向。それから、virus replicon を作っていった機能解析をする。今までに起こった生体の生の反応を人工的に作るということですよね。それはシークエンスをベースにして次のところに進んできている状況です。

江崎 今の解析だと、バクテリアだったらせいぜいリケッチア、クラミジアとか、あるいは細胞内に寄生するような病原体ぐらいが限度かなと思いますながら聞いていました。大腸菌に5,000 ぐらいの遺伝子がありますので、その解析をこういう方法でやるのはまだまだ大変だと思いますよね。

河島 では今度、そういういろいろな大腸菌の遺伝子があると、その蛋白を合成させる産業的なものとして、ものすごく効率よくいろいろなものを作らせるとか、そういう工場としての細菌を応用する。そういう点はどうですか。

中山 それは大腸菌以外に放線菌なんかの世界で、全長ゲノムを解析して、その中のプロモーターを解析することによって、今まで抗生剤とか有用生理活性物質の生産工場として使うというのができています。もっと効率よく、生体の工場として、微生物を工場として、そういうものを利用する方向というのはありますよね。有用蛋白を合成する微生物というので、全塩基配列の解析と、それにどういう刺激をやったりプロモーターを変えたりするともっと効率よく産生できるとか、そういう研究はやっていますよね。

松本 そうですね。

河島 産業分野ですね。医療分野ではまだまだそういう話にはならないと。

中山 ならないですね。

松本 あくまで研究レベルですが、サイトカインを腸内細菌に産生させて利用するような試みも行われています。例えば大腸菌に IL-10 という抗炎症

性サイトカインを産生させて、それを飲ませて炎症性腸疾患を治療するといった報告もあります。あるいは、抗癌剤の変換酵素の遺伝子を組み込んだビフィズス菌を静注して癌治療に応用する研究も行われています。ビフィズス菌は嫌気状態である悪性腫瘍の内部に残り、さらに抗癌剤の前駆物質を投与すると、ビフィズス菌は前駆物質を抗癌剤に変換して癌にのみ効果を発揮します。こういった研究はまだ臨床ですぐに利用できる状態ではありませんが、一部のものは今後臨床試験に入る見込みですので、これから発展性が望める分野だと思います。

河島 やはりいちばん使われているのは乳酸菌で、乳酸菌飲料ですかね。今多数の種類があり市販されていますね。

松本 遺伝子を組み換えた菌をヒトに用いるというのは倫理的な問題がありますので、あくまで組み換えを行っていない自然なものから菌を選別して、本来その菌が持っている特徴をうまく生かして利用するというのが乳酸菌飲料だと思います。

江崎 人工的に特定の機能を増強させたバクテリアを飲ませるとなってくると、これはまた、組み換え体の環境放出というのはカルタヘナ法に違反するので、そう簡単には使えないですね。使いにくい。一般の人はなかなか受け入れられないんじゃないかと思いますね。乳酸菌に、例えばサイトカインを放り込んで飲むといたら、かなり危険な話だから(笑)。

河島 便秘の人って多いじゃないですか。下痢の薬の種類はたくさんあっても、やはり効かないものも多いので、細菌で作れるといいかもしれません。

江崎 産業界でも、組み換え体を環境に出して使うというのは全然やっていません。組み換え体を使うということに対して、カルタヘナ法で国民の目が厳しいので。

河島 先生のところはずいぶん昔から菌が保管されていると聞きますが。

江崎 病原微生物はほとんど保存しているんですけども、それも系統分類、感染症の診断のために、標準物質として必要なので。本当は、日和見病原体の全ゲノム情報をいっぱい集めたいんですけど、膨大なお金がかかって、とても僕らにはできないので、蓄積されるのを待っているんです。

菌種にしたら、まだせいぜい300種ぐらいしかないんです。株は1,000株を超しているんですけども、有名な菌だけなんです。日和見病原体の全ゲノムシーケンスというのはなかなか出てこないんです。**中山** それは重要そうなんですけど、なぜないんですかね。注目されていないことはないと思いますけど。

江崎 いろいろな機能を持った微生物がいるので、国家戦略でやっていただければいいんでしょうけれども、今お金がないので、なかなかそういうことにはならないような気がします。

河島 海外ではこういうところはどうか、いろいろな産業応用しているとか、考えているのでしょうか。

江崎 経産省の関連で、こういう機能性蛋白を大量に生産する微生物というのはよく実験計画を見るんですけども、企業は非常に熱心ですよ。やっぱり効率、生産性を上げれば、企業としてはもうかるわけですので、僕らが考える以上に優れた技術を使っているんじゃないですかね。海外も同じことだと思いますが、そういう情報は企業の秘密情報なのでなかなか出てこない。

中山 産業微生物としての役割はすごく高いし、逆に、カルタヘナ条約に入っていないアメリカなんかはすごいんですよ。組み換え体のウイルスをワクチンに使ったり癌の治療に使ったりする方向なものですから。日本はずっと金縛りにあっている状態で、ヨーロッパはだんだんそれを緩くしていく傾向にあるんですね。いつまでもその縛りがあると、どんどんどんどん遅れていく可能性もありますし。

江崎 日本で組み換えを前面に出して納豆を市販されている先生がいらっしゃいますけど、これは納豆の悪い部分を取り除きたい納豆なんだと。でも、それを受け入れる人と拒否する人に分かれるみたいですね。大げさなことを言うといけないんですが、これはやっぱり教育が足りないんだと思います。小学校で、組み換えでも悪い遺伝子を取り除いた安全な微生物を使えばいいじゃないですかね。僕は個人的にそう思うんですけど、人工的な手を加えた微生物を飲むというのは怖いとか、感情的な拒否があるようですね。

中山 日本人は自然がすごくいいみたいなイメー

ジがあるわけですね、一般の人たちは。人為的に操作すると、それは悪い方向にあるんだというイメージがあるわけですから、やっぱりそのところはカルチャーの違いがあるのかもしれない。

河島 じゃあ納豆菌は食べちゃいけないんですよ（笑）。納豆菌はずいぶんセレクションして作ったわけですよ。

江崎 小学校とか中学校あたりで、あるいは高校でもそうなんですけど、組み換えをもうちょっと教育して、基本的な知識を教えれば、アレルギーはなくなるんじゃないかという気はするんです。日本の中高の教科書を見てもそういうことはほとんど書いていないですね。

5. 細菌の解析をめぐって

河島 今度、各論のほうに入ります。最初、ブドウ球菌ということですが、松本先生、どうでしょうか。シーケンスの進歩がブドウ球菌の分野をどう変えていくのでしょうか。

松本 シーケンスといいますか、どのように遺伝子の分野を感染症の臨床で利用するかについては、大きく分けて、原因となっている病原体の検出や、分離された病原体の同定、さらに同定後の病原体の分類といった分野に分けられると思います。例えば黄色ブドウ球菌、特にMRSAを検出する目的でPCRによる検出系を作ったある企業は、サーベイランスなどの検査用にそのシステムを投入してきています。本来、黄色ブドウ球菌などは培養すれば容易に発育する菌なので、従来の検査法でも特別そんなに大きな問題があるわけではないのですが、あえて遺伝子を利用する利点があるとすれば、それはやはり高い感度と迅速性という点にあると思います。

例えばPCRではおよそ2時間ぐらいでMRSAがいるかないかがわかります。以前、私達の施設で救急領域の患者を対象にこのPCRを用いて、入院時から検査をやってみたら、1割を超える患者さんからMRSAが検出されました。PCRだけでなく培養も同時にやったのですが、培養とPCRが両方陽性になったのはMRSA陽性例の6割で、残る4割は培養陰性でPCRだけが陽性でした。ということは、逆に考えると培養だけでスクリーニングを

やったとすると、4割ぐらいは見逃していたのかもしれないということになります。PCRなど感度の高い検査法を用いることで、培養だけでは検出されない潜在的な保菌者もピックアップできる可能性があり、検査の価値を高めてくれると思います。ただし、やはりコストが高いですし、どの施設でも誰にでもやれる検査ではないところが問題です。

河島 皮膚ではブドウ球菌は常在している方もいらっしゃると思いますよね。そういう場合は、実際に病気とどのぐらい関連しているかという点は、どうやってクリアするんですか。

松本 結局、培養が陰性でPCRが陽性という方は、おそらく菌量が少ないんだと思います。入院後の経過を追って、抗MRSA薬による治療の対象になったかどうか調べてみると、培養が陽性だった人のほうが圧倒的に治療の対象になっている率が高く、PCRのみ陽性となった例の中で治療対象となったのはわずかでした。そういう意味では、先生がおっしゃるように、PCRのみの陽性例はあくまで保菌をつかまえている可能性が高く、それと治療の対象になるかどうかは、全然別物だと思います。

河島 最近、人工呼吸器をつけている人が多いと思いますが、何日かたつと、VAP (Ventilator-associated pneumonia) というんですか、人工呼吸器関連の肺炎というのがずいぶん多い。あれはやはりブドウ球菌がほとんどですか。

松本 MRSAや緑膿菌などの耐性菌が多いと思います。

河島 ブドウ球菌はどこにでもいるだけに難しいですよ。インフルエンザ菌とか肺炎球菌だと、耐性のBLNARとか、PRSPとかPISPが問題ですね。去年から、分離された部位によりPRSPの定義が変わり、一次混乱しました。髄液から分離された場合はPRSPだけど、鼻から分離された場合はPISPでいいと言われたんですけど、そうですね。

松本 そうです。まず肺炎球菌から話を進めると、ペニシリンに対する感受性をもとにPRSPとPISP、さらにPSSPの3つのグループに分けられます。しかし薬剤の肺と髄液への移行は全く違いますので、同じ感受性の菌であっても髄膜炎なら効かないので耐性と判断すべきだけれど、肺炎なら治療も可能なので耐性とはいえない、といった矛盾が生じ

ていました。つまり肺炎の患者からペニシリン耐性であるPRSPが分離されても、十分な量のペニシリンを用いればちゃんと治るということが証明されています。それだったら、PRSP、つまりペニシリン耐性肺炎球菌といいながらペニシリンが効くじゃないかということになって、肺炎の場合は基準を変えてもう少し高いブレイクポイントが設定されるようになったんです。

肺炎球菌ではさらにマクロライド耐性が重要ですが、キノロン耐性は遺伝子の一部に変異が起こっており、耐性機序の解析にはゲノムの関与が大きいと思われます。

インフルエンザ菌の耐性については、北里大学の生方先生のグループが精力的に研究されておられますが、 β -ラクタマーゼを産生していないのにペニシリンが耐性を示すBLNARという菌が日本では重要になっています。

河島 臨床医としては、菌が出て、遺伝子でこうだからこの患者さんだったら倍量使ったらいいいよとかそういうのが出たら、すごくうれしいと思うんですけど。このインフルエンザ菌だったら倍量使ったらいいいとか。

松本 インフルエンザ菌の場合は倍量というよりは有効な他の薬剤への変更が通常行われていると思います。

中山 さっきの肺炎球菌の話はあまりよくわからなかったんですけども、要するに菌自体は、厳密にMICとかでみると耐性菌なんだけれども、臨床的にはドカッとやればちゃんと効くということなんですか。

松本 そうです。結局、ブレイクポイントの決め方というのも、正直言って絶対的なものではなくて、あくまで菌のMICのデータとか体内の動態とかいろいろなものを加味して決めていくわけです。ただ、感染症別に別々のブレイクポイントを用いると混乱が生じるので、これまでは肺炎であろうが尿路感染であろうが髄膜炎であろうが、感染症を全部ひっくるめて一つの基準で行きましょうというのが、今までの考え方だったんです。しかし、例えば肺炎球菌による肺炎の場合は、菌のブレイクポイントとその薬剤の治療効果に明らかな差が生じてきましたので、異なるブレイクポイントを用いた別個の分類ができちゃったんですね。とい

うことで、現在では一つの菌にもかかわらずブレイクポイントが二種類設定されていて、髄液から出た場合と痰から出た場合とでは、同じ薬剤感受性を示す肺炎球菌でも耐性菌かどうかの評価が違ってきます。

中山 そうなんですか。

江崎 すみません、勉強不足でわからないんですけど、そういった場合記載するときにはどうやって球菌を報告するんですか。

松本 そうなんです、その点が今現場ではすごく混乱しているんです。例えばある検体から肺炎球菌が分離されてMICを測った結果、従来のブレイクポイントをもとにPRSPと判定されたとします。しかしもしその検体が肺炎患者からの喀痰だった場合、PRSPではなくPSSPと判定される可能性があります。自動機器などに付属したシステムはまだ二つのブレイクポイントに対応できていないので、返ってきた結果を見て、今回は肺炎だからこの“R”は“S”だな、と読み替えないといけないんです。そこがいま問題で。

話は飛びますがCLSIは今度、大腸菌やクレブシエラなどのブレイクポイントを変更する予定です。外国でESBLなどの耐性菌の頻度がだんだん高くなってきて、それを反映させた結果だと思うのですが、その影響として日本だったらまだ有効と考えても良い抗菌薬が、変更後の基準を当てはめるとその多くが“R”になってしまう可能性があります。これもかなり混乱の原因になる可能性が高くて、これから問題になると思います。

河島 大腸菌に関してはもう分類が変わると思ってよろしいんですか。そういうものは『モダンメディア』（飯島義雄：転換期を迎えた下痢性大腸菌感染症の検査方法. モダンメディア 55: 46-50, 2009）で書いていただいたものもありますが。

江崎 大腸菌の分類を変えるのはなかなか大変なんです。さっき言いましたが、大腸菌と赤痢菌の問題ですね。命名委員会での裁定事項があるので。先ほどのサルモネラのチフス菌やパラチフスAを *Salmonella enterica* にするという最初の提案が出たのが、1985年ぐらいなんです。それが2002年にやっと決着がつけました。20年近くかかってやっと決着がつけました。提案して、それが命名委員会で決まっても、一般社会で受け入れられるまで

にまだ時間がかかると思います。ただ、今の話、菌の耐性率が上がってきたのでブレイクポイントを動かしていこうというのは、分類とはまた別の話なので、実情に合わせてブレイクポイントを変えていけばいいと思います。

河島 抗生物質が、食品、つまり家畜や魚に使っていると思いますが、輸入の食べ物にはO-157が3%も5%も入っていると聞きます。そうすると、耐性や分類がはっきりしていないと難しいんじゃないかなと思うんですけど。

江崎 これは仕方がないんじゃないですかね。分離されたデータ、ちゃんと薬剤感受性のデータを蓄積して、モニタリングしていきながら、耐性状況をみながらブレイクポイントを決めていかないといけないので、地道に感染情報を収集して耐性菌情報を収集していくという作業が大事になってくると思います。

抗生物質の制御は、今いろいろやろうとしていますけど、なかなか難しいですね。日本だけの話ではないので。農家にとってみれば抗生物質を使って家族を育てるのは死活問題になってくるので、なかなか妥協できないみたいですね。抗生物質を使わずにウシやブタやトリを育てようと思うと膨大なコストがかかるので、使っている人たちと競争できない。出荷するまでの日数がかかなり変わってくるみたいですね。

河島 O-157も数は全然減っていないですね。

腸内細菌として、シーケンスをどんどんすることで、新しい病気との関連がわかってくるとか。今、慢性炎症性腸疾患でも菌が関与しているんじゃないかとかいわれています。ピロリ菌ではあれだけ劇的に胃潰瘍に関与していたというので、腸疾患でも菌が関与していると考えて、抗生剤を使ったりしている施設もあるみたいなんです。そういうのはどうでしょうか。

江崎 ピロリの場合は胃だから菌数が少ないので、ストーリーが比較的簡単に出来上がるんですけど、大腸になってくると菌数がべらぼうに多くて、グラム当たり 10^{13} 個いますので、そう簡単にはできないんです。ただ、最近、いろいろ微生物のシーケンス情報が蓄積されたので、腸内フローラを遺伝子で簡単にモニタリングするというのができるようになりました。僕らも、実際には100種類ぐら

いの微生物と50種類ぐらいの病原体を糞便からリアルタイムでモニタリングするというのをやっていますので、耐性菌を低濃度持っていると病原菌を低濃度持っているというのが見えてきます。そこで抗生物質を使ったりいろいろな治療をやったときにどう変動するかとかが解析できるようになりました。

河島 やっぱかなり変動しますか。

江崎 ええ、かなり変わりますね。

河島 小児科医としていちばん心配しているのは、1歳前のお子さんにも重症であればつい抗生剤を何日にもわたって使うんですが、あれがこの子の将来どうなっていくのかなとたまに思うときがあるんです。

江崎 数回しか経験したことがないのですが、子どもの糞便を培養して何も生えてこなかったことがあります。

河島 生えない状況があるんですか。

江崎 それはたぶん、いろいろな抗生物質をたくさん使っていて生えてこないだと思いますけれども、唖然としてしまいました。

河島 無菌状態(笑)。それはかなり怖いですね。

江崎 怖い話です、本当に。

河島 特に、母乳栄養の子とミルク栄養の子でもずいぶん腸内のフローラは違いそうな気がするんです。

江崎 僕の小さい経験なんですけど、母乳栄養ではなくて経口栄養と静脈栄養で、腸内菌叢を調べたことがあるんです。これは動物実験なんですけれども、2週間続けて静脈栄養をやったラットと2週間経口栄養をやったラットにサルモネラを感染させたときに、腸内の腸管からの菌の侵入の度合いを比べたんです。そうすると、静脈栄養をやったラットでは、15分ぐらいで血中に菌が入り込むんです。ところが、経口栄養をしたほうでは、3時間モニタリングしていても何も変化が起こらない。これは、静脈栄養の場合、粘液が少なくなっているとか、絨毛が萎縮しているとか、いろいろな変化が起きているんです。

今までそういうことは実験で示しても、実際のヒトの場合、それをモニタリングするのはなかなか難しかったんですけれども、今、バクテリアの系統情報がありますので、100種類とか384種類ぐ

らいをモニターするというのは簡単にできるようになったので、そういう技術を使えば、これから、化学療法をやりながら子どものフローラの影響をみるという研究ができます。

河島 それはだいたいPCR法で……。

江崎 PCR法ですね。

河島 16Sの。

江崎 16Sプラスアルファの遺伝子で実施します。

中山 そういうのはmultiplexのPCR法でやられているか。

江崎 いや、single wellでやります。

河島 じゃあ何本もですか。

江崎 通常は96wellに全部、96種類の一般細菌のプライマーを入れておくわけです。

河島 300種類だとプレート3つ……。

江崎 384種類。これは定量するために濃度を希釈してやっています。

河島 定量もやるんですね。

江崎 ワンステップの濃度の定量ではなかなか定量域に入らないのです。今まではそういう仕事というのはけっこう大変でして、以前のように培養でやっていると30種類、40種類の培地を使って、しかも定量・希釈して、そのあと菌を同定しないといけないので、膨大な時間がかかるんです。PCR法のおかげで今1日でわかるようになってきました。コストも数万円ぐらいで実施できます。酵素代が高いので。そのくらいで調べられるようになったので、臨床の先生がそういうところに着目して、化学療法前後のとか、いろいろな栄養療法をやっているときのフローラの変動というのも、こういう遺伝子で調べられると思います。

河島 そこらへんはみんなけっこう注目しているんですけど、小腸・大腸が結局手つかずになっているんですね。特に小児だと、侵襲性のある検査はなかなかできない。

江崎 予算を獲得したらやりましょう(笑)。今、10マイクロリッターのPCR法をやるときの酵素のコストが25円ぐらいなんですね。25円×196wellなので、1枚当たりそのくらいで酵素代としてはいけるんです。だから培養よりはるかに楽なんです。

河島 そういうのは将来的にはどんどんコストは下がってくるわけです。

江崎 ほぼ限界まで下がっているんじゃないかと

思います。1well が 25 円なので。

中山 すごいですね。

江崎 25 円という 100 種類で 2,500 円ですかね。酵素代はそのくらいでできますので、実質的には 1 万円以下で腸内フローラを調べられることになります。

河島 すごいですね。これは楽しみです。

6. ウイルスの解析

河島 あとは、少しウイルスのほうに行きましようか。インフルエンザはどうですか。

中山 シークエンスがいちばん役立ったのはやっぱりインフルエンザですね。今年のものもそうですし、ブタのインフルエンザもそうですけれども、通年のもの以外に、もっと夢のある話。夢といますか科学のロマンのような話ですが、昔のウイルスを掘り出してくるような話があるわけですね。1918 年のスペイン風邪で何が起こったのかということで、アラスカとかシベリアのツンドラの中に埋められている遺体の中からインフルエンザウイルスの RNA を採り出してきてウイルスを作るとか、ニューヨークの昔の病院にある病理組織から遺伝子を持ってきて、スペイン風邪のウイルスを作るという方向もあります。それでスペイン風邪の遺伝子も見つかったわけですね。

ところが、ヒトの中ではいろいろ変わるわけですが、動物の中ではそんなに変異はしていないらしいんですね。トリはトリの中でずっと同じウイルスがいる。それで、1918 年のスペイン風邪というのは、トリのウイルスが直接ヒトに伝播したんじゃないかと言われていたんですけども、調べてみると塩基配列がいくつか違うわけですね。HA 蛋白のところで。そうすると、トリから一回どこかの動物を介してヒトに伝播しているんじゃないか。そこのところでやっぱり、直接はトリからヒトにはあまり来ないんじゃないかということもありますし、シークエンスが簡単にできるようになってから、いろいろなことがわかってきているわけです。

インフルエンザにしても、そうしたウイルスを作る。要するに、基本的な DNA から mRNA を作って、蛋白を作って、ものができわけですけども、

逆に RNA のウイルスから DNA を作って、cDNA 合成をして、それからウイルスを合成していく。そうした reverse genetics の方向性ができたのは、いちばん最初ポリオができて、インフルエンザができていたんですね。そういうウイルスを作ることができるようになってきて、インフルエンザというのはすごく進んできているわけですね。で、毎年毎年かかるわけですけども、その変異がどこに起きているのかとか、ノイラミニダーゼ (neuraminidase) の耐性の遺伝子がどこにあるのかとか、そういうことがだんだんわかってきているわけです。

いちばん問題なのは、なぜ毎年毎年かかるのかとか、そういうことがあまりはっきりわかっていないし、ワクチンの効果とかそういうところであまり効果がないわけですから、もっといいワクチンを作るにはどうするのかということになってくるわけですけども、そういうところでシークエンスの情報がいちばん蓄積されているのはやっぱりインフルエンザだと思います。それをまたみんなちゃんと利用できるような方向まで、いま進んできているわけです。

ブタのインフルエンザに関しても、数日のうちに全部わかって、どの遺伝子がどこから来ているというのはわかったわけです。その中で、ある程度病原性は最初予測されたんですね。インフルエンザのウイルスの中の病原性に関する遺伝子として、HA 蛋白のところの開裂部位の配列とか、ポリメラーゼの遺伝子の配列とか、NS1 というインターフェロンの産生に関係するところの遺伝子、そこのシークエンスを全部みることによって、高病原性と考えられた H5N1 とかスペイン風邪とか違うということもわかったわけです。そうすると、そこのところで、遺伝子レベルでは病原性がそんなに高くないウイルスだとわかったわけですけども、実際に流行が広まってくると、どういう人たちが重症化するか、まだわからないんですね。遺伝子自体はそんなに病原性が強くないウイルスなんですけれども、そのホスト、要するに、実際にはやってくると小さな子どもたちに関しては、肺炎を起こしたりとかそういうのが出てくる。やっぱり、遺伝子のレベルの解析と、実際にはやった場合に、病原性というのはちょっと差があるということがわかってきます。あとは、ウイル

スの耐性の遺伝子とかそういうところも、だんだんわかってきますよね。

河島 今回私どもに入院したインフルエンザの重症の肺炎の方は、迅速で鼻汁は陰性でも人工呼吸器管理になった当日に、気管の洗浄液からは陽性でした。聞きましたら、新型インフルエンザは37℃で増えやすく、季節型は33℃で増えやすいということで、肺のほうは温度が高いから、肺でウイルス量が多くなるんじゃないのかと言っていた先生がいたんです。そういう温度感受性での増殖能が病原性に関連するということもよくあるのですか。麻疹ワクチンAIK-C株もそういうことですか。

中山 温度感受性の因子というのはあると思いますけれども、それがどこの遺伝子になるかというのは、インフルエンザはあまりわかっていないんです。

河島 麻疹ではわかっているんですか。

中山 麻疹はわかっていますね。ウイルスの病原性が高いというのは、生体の中でよく増える状況にあれば、それは病原性が高いわけですが、さっきの迅速診断キットというのは、基本的にH1N1というのは、要するに外側のHA蛋白とNA蛋白ですよね。つまり、迅速診断キットというのはインナープロテイン、中のN蛋白なんですね。N蛋白に対する抗体でみているので、基本的なところでは外側の蛋白をみていないので、ちょっと違ってくると感度というのは変わってくるわけです。60%ぐらいの診断率しかないということ。それから、レセプターの問題というのはHA蛋白の頭部のところの遺伝子によって規定されているわけですから、どこにくつつくかというのは同じなんですけれども、レセプター分布が肺にあるのか上気道に多いのかどうかはちょっとわからないですね。

河島 実際臨床の場合だと、新型インフルエンザでも、どう見てもけいれんを起こしてきて、お母さんはインフルエンザだと言っても、キットで出ていないから、インフルエンザの部屋に入れていいのか、インフルエンザのいない部屋に入れるべきかというので、ものすごく現場が混乱します。今のキットが季節型のキットだからということで、いろいろexcuseして説明しているんですけれども。でも、ウイルス量がそこではあまりいないと考え

ていいのでしょうか。

中山 新型というか新しいタイプのものが出たときは、いつもだいたい肺の症状は強いみたいな感じなんですよ。そういうこともあるし、それから、だんだんヒトに慣れてくるところもあるし、迅速診断キットで出なくても臨床的にインフルエンザでいいんじゃないかと思うんですけど。

河島 同じ部屋に入れて院内感染した時に大事件になるわけです。

中山 でも、そういうことを言い始めると、市中でこれだけ流行しているわけで、その社会環境を全部反映しているわけですから、そのところで厳密にやってもそんなに変わりはないんじゃないかと思うんです。もっといい迅速診断キットが出ればいいんですけれども、今のところ、そうしたイムノクロマトなんかのレベルのところの迅速診断キットでH1N1のパンデミックでいいものは、まだ出ていないような感じですね。

河島 そうすると、もし鼻汁で増えなくても症状を起こすとなると、やはりPCR法とか遺伝子検査をしないといけないウイルスと解釈していいのでしょうか。

中山 ええ。ただ、通年の季節型のものはウイルス量が多いんですけれども、少ない場合にどうするかというと、遺伝子レベルの迅速診断がいちばん信頼性が高いと思いますけれども、それが簡単にできない状況ですから、LAMP法みたいに簡単にできるものが普及すればもっといいと思います。

河島 また少し総論的に戻ってしまいますが、PCR法とか、最初にRNA抽出とかDNA抽出というワンステップが、非常に時間のロスというか、この点はなくなるんでしょうかね。

江崎 最近、前処理方法はかなり簡便化されてきたので、やりやすくなったと思います。それと増幅装置が、僕らはPCR法を中心にやっているんですけれども、10分前後ぐらいで増やせる速い機械が出てきました。

河島 高速PCR法はどうでしょうか。

江崎 RT反応を15分、PCR法を10分ぐらいと、30分ぐらいで答えが出るようなものが出てきたんですけれども、まだ、前処理のところが臨床の先生が片手間でやれるぐらいに簡単になっていないのと、増幅する機械が簡単なものがまだ出ていない

のが問題だと思います。LAMP 法なんか特にそのままでできるので、もっと普及してもいいと思うんですけど。

中山 だからそのところでは、そこにアプライするまでには、RNA は抽出しなければいけない。そのところがやっぱり……。

江崎 核酸の抽出を自動化させないと無理ですね。

中山 DNA のタイプのものは、サンプルをそのまま使ったりとか、ヒートショックでやったりできるみたいですけども。

河島 でも、ヒートショックだけの全処理だと、やっぱり感度は落ちますか。

中山 感度は落ちる。

江崎 落ちますね。

河島 インヒビターですか。尿では直接 PCR にかけて陰性でも、DNA を抽出すると陽性になる。

江崎 尿は塩濃度が高いので、かなり精製しないと難しいですね。喀痰なんか、蒸留水で懸濁してやれば PCR 法は簡単にいくんですけど、RNA の場合はワンステップ、精製しないといけないんです。そういうのを簡単なキットでできるようにするのはなかなか難しい。栄研化学は開発していないんですか。カートリッジ方式で抽出する方法を。

中山 結核のなんかはやっていると聞いていますけど*。

江崎 もう一つは、以前は RNA 検出というのは、RT-PCR 法、reverse transcriptase が非常に高かったじゃないですか。だから僕らは敬遠していたんですけども、最近酵素が安くなってきて非常にやりやすくなったので、インフルエンザも外来で遺伝子検査ができるようにしてもらいたいんです。

中山 そうですね。

河島 たぶん、今年もし季節型がはやり始めた場合、季節型、新型なのかというのはかなり大事なことになる。まだ今、季節型は出ていないですけど。

中山 B 型はちょこちょこ出ていますけれども A 型は出ていないんですね。ただ、この勢いでいくと、あまり出ないんじゃないのかなと思うんですけど。

河島 抑制されてですか。

中山 ええ、抑制されて。

河島 そうあってほしいんですけど。

中山 それはやっぱりどこかでちゃんと……。衛生研究所のほうでは PCR 法もやらないし、そうす

ると鑑別できないわけですから、そのところはやっぱり……。流行がいま下り坂になっているわけですね。そのところでもう一回立ち上がってくるときには、ちゃんと検体を採って、ブタ型の H1N1 なのか H1 ソ連なの H3 香港なのかをちゃんと見極めをしないと、やっぱりわからないわけですね。

河島 ちょっと違う話になってしまいましたが、検体の保存というのが気にかかっているのですが。血液や DNA の保存は、患者さんの承諾や倫理委員会の許可を得て行なっていますが、患者さんから採ったウイルスや細菌というのは、そういう問題はいいんでしょうか。

江崎 細菌のほうは、患者さんから分離した細菌は、ご本人の個人情報をくっつけない限り大丈夫、自由に使っていいということになっています。

河島 じゃあウイルスも同じように。

中山 ウイルスもほとんど、命名法というのは決まっているんですね。インフルエンザウイルスの場合には H1N1 で、どこで採れて、流行の何週で採れてという。患者のバックグラウンドは絶対出ないようになるんですね。麻疹ウイルスにしても、すべてのウイルスというのは命名法が決まっていますから、個人情報と結びつくところは何もないんです。

河島 じゃあ、個人情報と結びつかなければ、基本的には保存していいと。

中山 それは大丈夫だと思います。

7. ワクチンの将来

河島 先ほども先生のワクチンの reverse genetics の話も出ているようですが、麻疹、風疹、おたふくの reverse genetics の新しいワクチンというのはどうなのでしょう。

中山 最初、RNA 抽出してから PCR 法をやっているだけなんですね。今度はそれをつなげていこうという発想が出てくるわけです。そうすると全体ができるんじゃないか。それを今度、細胞に入れて転写、複製させると、ウイルスができるわけです。そのセントラルドグマに反してウイルスを作る技術がいちばん最初にできたのがポリオで、それからインフルエンザに応用されて、麻疹が 1995

* PURE 法 ; <http://www.eiken.co.jp/news/pdf/20080228-1.pdf>

年ぐらいに reverse genetics の技術ができた。

今までの普通のワクチンというのは、強毒株を感受性のない細胞で継代していくわけですね。そうすると、温度を変えたりすることによって弱毒のウイルスがとれてきたわけです。それはなぜそういう弱毒になっているか、メカニズムは何もわかっていなかったわけです。それが最近では、reverse genetics の技術ができると、全部のシーケンスから全長の遺伝子 cDNA を作って、ウイルスを回収して、もとの株とどう違うかということで、変異を入れていくわけです。そうすると、どこの遺伝子が違うと性状が変わってくるかというのを、麻疹と風疹にわれわれがやっているわけです。温度感受性で、弱毒のウイルスというのは 32℃ とか 33℃ で増えて、高い温度では増えないという性状があるわけですが、そういうのはポリメラーゼ系統の蛋白のところに変異が入っているわけです。そういうのがわかってくると、今度は、そこのところはいじらないで、弱毒のポイントになっているところはちゃんと残しておいて、ほかのところは、まだワクチンが開発されていないようないろいろなウイルスの抗原の遺伝子を入れていく。バックボーンは麻疹のウイルス、麻疹のワクチン株で、そこで今、RS のウイルス、respiratory syncytial virus というのは子どもたちの気道感染症の中でインフルエンザに次いで重症度の高いウイルスですが、その遺伝子を入れて、合いの子のキメラのウイルスを作っているんですね。そうすると、先ほどのカルタヘナ条約にも関連してくることなんですけれども。理論的に、生ワクチンというのは体の中で増えるわけですから、細胞性免疫能もちゃんと誘導するし、抗体もちゃんと作るわけですから、これから新しい生ワクチンを作るということはまず難しいわけですね。生ワクチンは体の中で増えるわけで、副反応の問題が絶対にでてくるわけですから。

そうすると、いま使われている生ワクチンの中で安全性とか免疫原性がちゃんとわかっているものだったら、それをバックボーンにして生ワクチンを作るというのは、決して危険な発想ではないと思っているんです。要するに安全で有効なベクターとして使える。それで、その麻疹のワクチンの中にいろいろな抗原を入れて新しいワクチンの

開発をしているわけです。それは RS を入れたりウエストナイルを入れたり、今ワクチンのできていないものとかの感染防御抗原の遺伝子を入れることができる。

そういう方向で今ワクチンを作っていて、日本の中ではあまり日の目を見ないんですけども、外国のほうは、いま Phase III まで行っているのは黄熱のワクチンがあります。安全性もある程度確立されていますから、その中にデングの4価の抗原を全部入れて、黄熱のワクチンウイルスなんだけれどもデングの感染防御抗原を発現する。組み換え体のワクチンの発想が、どんどんどんどん進んでいるわけです。そういうものに乗遅れてはいけないわけですから、安全性とか免疫原性がちゃんとわかっているものを、弱毒のポイントがどこにあるか、そういうのを理解した上で、新しいウイルスの遺伝子を入れていく。そういう方向のワクチンがこれからも出てきていいんじゃないかと思っています。

江崎 そういう方向で作った DNA、RNA を細胞に打つわけですね。

中山 ええ、細胞に接種して感染性のウイルスを回収して、まず発現することを確認して、それから動物モデルで免疫ができることを観察して、そのあと、おサルさんでできるかどうか、それからヒトにこういう流れですね。

江崎 僕はあまり詳しくないんですが、最近臨床の先生の話聞いていたら、dendritic cell に癌細胞の抗原を入れて治療に使うというのがやり出したとかいうので。

中山 それは新しい方法。dendritic cell を採り出してきてやるわけですね。ワンステップかかる。

河島 サイトメガロでは行なわれているみたいですね。患者さんの dendritic cell を採ってきて免疫し体内に戻していると聞きます。

江崎 僕はインフルエンザは全くわからないんですけども、HA や NA の変異しやすいところ以外にも比較的保存されているような抗原領域を放り込んでも、感染免疫が1年以上もたないのですか？

中山 それで、いま世界中でワクチンのベンチャー企業が500ぐらいあるんですね。その中で、ワクチンのプロジェクトでいちばん多いのは、インフルエンザのプロジェクトなんです。それだけ現行の

ワクチンにみんな不満を持っていて、新しいタイプのワクチンを開発しようとしているわけです。皮下接種のルートを経鼻に変えたり。

シーケンスの話に限ってくると、抗体がいちばん重要な感染防御能の働きがあって、それからCTLがある。そうすると、抗体の認識するエピトープの中で共通するエピトープが、すべてのインフルエンザの中にあるわけですから、その共通するエピトープとCTLのエピトープというのはわかってきているので、そのエピトープをつなげて、マルチバレントのインフルエンザの抗原というのできるわけです。それだけでは効かないわけですから、これから先は、それにアジュバントをいかに利用していくかということになってきて、いいアジュバントの開発と、Tセルエピトープをつなげたものというのが、サブユニットの新しいワクチンの方向性が出てくると思います。それはもう実際にマウスでやったりしているところがあります。

河島 日本でどうしてワクチン会社のベンチャーがないんでしょうか。ワクチンというふうに言うからいけないんですか。

中山 ベンチャーはなかなか育たないですね。

江崎 ワクチンは、日本は国が買い上げてくれないと作らない。

中山 ものを作って開発しても、それが使われる目安がなければ、なかなか元気が出ないですね。

江崎 ええ。たぶんアメリカの企業は世界中を市場にしているから、それで生き延びていけるんでしょうね。日本の企業はまだそこまでやっていないんじゃないかな。

中山 それはやっぱり国として、例えばこういうワクチンを開発しようという国のコンセプトがあって、そのコンセプトをメーカーに出して、何年以内に開発してくださいということで開発をうながす。その中でベンチャーも頑張って開発するわけですね。その中で、プレクリニカル、前臨床試験をクリアしたものに関しては、またアメリカの政府の中で臨床試験をサポートしていくわけです。そうすると、Phase I とか Phase II ぐらいまで行くわけです。それを通り越したものに関しては、今度、メーカー側と一緒になってくるわけですから、要するにワクチンの開発のコンセプト自体が違うわけですね。

河島 DNA ワクチンというのは最近あまりはやらないんですか。

中山 十何年ぐらい前から脚光を浴びて出てきたんですが。

河島 その後、鳴かず飛ばずというか、話ができませんが。

中山 マウスではよく免疫応答が出るんですけども、ヒトに応用すると発現系がうまくいかないんです。

河島 やっぱり駄目なんですか。

中山 ええ。発現系がうまくいっているように見えるDNAワクチンというのは、みんなアジュバントと一緒に入っているんです。だからDNAのワクチン自体ではなくて、アジュバントの効果で、微量に出てくる蛋白に対する免疫原性を高めているだけで、DNAワクチン自体の効果としてはまだそんなに確立しているものではないです。

河島 今、バクテリアのワクチンはだいぶ認可されていますよね。肺炎球菌やHibとか、だいぶ出てきているんですけど、細菌のほうのワクチンの将来像というのはどうなっているんでしょうね。

松本 細菌のワクチンの製造は、実際に菌を培養して、そこから成分を抽出して、抗原として作っているものがほとんどですので、これから先もたぶん同じ製造法でいくんだと思います。ただ同じ肺炎球菌のワクチンでも、いろいろな血清型のものでありますので、その中で主要なものを選んで、23価や7価のものがあったりしますけど。

あと、先ほど話題に出たDNAのワクチンについては、私たちも共同研究で緑膿菌のDNAワクチンを検討しました。いろいろな病原因子にかかわるDNAワクチンを製造してマウスに免疫すると、肺炎のモデルでは明らかな有効性を証明することができました。こういったワクチンがヒトでも応用化できればいいのですが、まだ先の道のりは遠そうですね。

河島 例えば悪性腫瘍にかかって、これから抗癌剤治療をやるとか、移植をやるとか、先に免疫をつけておくとか。今、脾臓を取る患者さんは、必ず先に肺炎球菌ワクチンを打つとかあるので、抗癌剤をやるのであれば緑膿菌ワクチンを打つとかブドウ球菌のワクチンを打つとか。

松本 そうですね。まさにそういう意味で緑膿菌

のワクチンもすごく重要だと思うんですけど、肺炎球菌にいろいろな血清型があるのと同じで、緑膿菌も多様で数多くの種類の型が存在します。結局、一つの型でうまくDNAワクチンを作ったとしても、それに合う緑膿菌に感染すればいいんですが、別の型の緑膿菌だと効かない可能性が高いんです。限られた型のワクチンで今流行している多くの型の菌を広くカバーするのはなかなか難しいと思いますので、この点が今後の課題になると思います。

中山 血清型はだいたい夾膜型で分けますよね。夾膜以外に共通するような病原性因子を感染防御の抗原として使うというのは、できないんですか。

松本 例えばグラム陰性菌ではおそらくいちばんいいターゲットはLPSなんですけど、LPSもかなり多様性があるので簡単ではありません。

江崎 さっきのインフルエンザと同じように、バクテリアの場合も表面抗原の多様性があるものだから、ターゲットをそこにしている限り、万能のワクチンがなかなかできないということですね。

松本 そこなんですよね。

江崎 LPSも、共通のコアのところの抗体を使って免疫応答をみている人がいらっしゃいますけれども、そこは免疫抗原性が少ないから、なかなか難しいですね。

松本 その通りです。

江崎 肺炎球菌の血清型も非常に多くて、全部の菌株を維持してそういう免疫作りをするというのは大変な作業なので、日本企業はやっていないですね。

河島 でも、実際に効果はありますよね。商業ベースに乗るのか乗らないのかというのが一つの問題ですけど、考え方によっては、抗生物質を開発するより、金銭的にはかからないはずですよ。

江崎 夢なんですけれども、免疫が低下した人を、この人はどういう病原体に応答できるか、抗体を作れるかどうかというのを、きちっと予測できるようなシステムを作ればいいんじゃないかなと。日和見の病原体はある程度、主要なものが限られているじゃないですか。そういうものの免疫力を測定できるようなシステムを、免疫学者に頑張ってもらいたければと思うんです。僕はまったくわからないんですけど。

河島 テーラーメイドですね。

江崎 そうすると、ある程度選択的に、この患者さんにはこういう感染免疫をつけたほうがいい、ワクチンを打ったほうがいいというのが、予測できるような気がするんですけども、難しいですかね。

河島 例えば抗生物質一つでも、代謝系が強い、肝障害が強く来ちゃう人と、来ない人の、そういう遺伝子は、かなりわかってきていますよね。抗癌剤とかではかなり言われてきています。

江崎 たぶん製薬メーカーはいっぱい集めていると思いますけどね。

中山 そうですね。

河島 そうしたら、この人は倍量使って短期間で治せばいいとか、そういうようなこともわかってくるかと思います。

中山 同じような発想は、HIVがそうなんです。まず、かかったウイルスを分離して、今度はどういう薬剤を使用するかを決めるかというときには、HIVの逆転写酵素や、プロテアーゼの遺伝子を増幅させておいて、その塩基配列の違いで、どの薬剤を使えばいちばん効率がいいかという方向を考える。ホスト側のテーラーメイドではなくて、ウイルス側の変異に対して、今までの情報の中からどういう薬剤を選択していくのがいちばんいいかという方向性がありますよね。

江崎 バクテリアが出すような抗原や細胞内で発現する蛋白を、感染のときにどれがいちばん重要かというデータを蓄積するには、膨大な時間とお金がかかります。大腸菌の4,000か5,000ぐらいの遺伝子の中でどれがいちばん機能しているかというのを予測できるといいですね。細菌学者にはそれをやるだけの力がないというか、資財力、お金がたぶんないですね。あまりにも抗原数が多いので。

河島 たぶんシーケンスに関してはコストがどんどんどんどん下がってきて、遺伝子の情報だけがたまると思うんです。

江崎 蛋白の発現、ヒトの細胞の発現なんかタンパクチップというのがありますけど、膨大なコストがかかりますよね。あんなのを、重要なバクテリアにすべて実施するだけの研究費は、たぶん出ないでしょう(笑)。

8. 人獣共通感染症の病原体

河島 人獣共通感染症の分野ではどうでしょうか。

江崎 うちは最近、ネコとかペットの保菌状況を調べているんですけども、ブルセラとかバルトネラとかけっこう分離されます。ここ2年の間に、*Bartonella quintana* (塹壕熱の病原体) が2例東京で見つかりました。血液培養をして、培養ボトルに入れていたら、1カ月後に生えてきたとか。

河島 1カ月かかるんですか。

江崎 いや、通常はそんなにかからないんですが、たまたま菌数が少なかったんだと思います。もう忘れ去られたような病原体がけっこういるんですね。僕はブルセラ症の患者を経験したのは初めてなんですが、今年になって。教科書で忘れ去られたような人獣共通の病原体が出てきますね。それもほとんど同定できなくて、何か知らないけど菌が生えている。検査キットを使ってもわからないというので、シーケンスをしてくれと依頼されます。シーケンスして、はじめて病原体がわかったというケースが増えています。猫ひっかき病は昔からいろいろありましたけれども、*B. quintana* や、他の *Bartonella* の菌種が出てきて、かなりびっくりしています。

あと、たまに出てくるのが、*Corynebacterium ulcerans* といってジフテリアと同じ毒素を出す菌がいて、そういう感染症も立て続けに出ました。膿瘍をつくっているんですけども、毒素はジフテリアの毒素を出すんです。そういう感染症。これも動物だと思えますけれども。ヒトとペットが共存して生活しているので、ペットが持って、ペットにはほとんど病気を起こさないけどヒトにうつしているというのが、出てきている。

河島 今、イヌだけで国内に1200万匹ですか(笑)。ネコを入れたら2000万匹以上といます。子どもの数より多いですから(笑)、大変なことになってしまいます。

江崎 ペットが日本に輸入されている量が、年間500万頭ぐらいでしょうか？

河島 輸入で菌も一緒に持ってきているんですよね。

江崎 検疫をいくらしっかりやっても、全部防ぎきれないですよね。

松本 人獣感染症や、グローバルな感染症という意味でとらえると、日本にはほとんどいないような病原体でも、海外旅行で感染する機会が高くなる感染症は多いと思います。しかし通常実施されている日本国内の検査ではそれらがなかなか引っかけこないので、最終的には遺伝子を調べることで決定できたというケースも少なくありません。

河島 狂犬病は、去年何か出ませんでしたか。

江崎 ありましたね。

河島 ヨーロッパではすごく多数いるのですよね。

中山 普通にある。日本とかそういうところは、そういう危険意識がなくて外国に行くわけですから、トラベルワクチンとかそういう発想にもなってくるわけですけども、あまりにも日本の中がきれいすぎて、感染症の脅威というのはだんだんみんな忘れてくるわけですし、先ほど先生がおっしゃったように、遺伝子組み換えの教育の話と同じように……。それも大切なんですけども、基本的な感染症の教育というのは受けていないわけですから、自分の体が健康であることとか病気はどうだということとか、それに対してワクチンがどうかとか、サイエンスがどういう方向にあるとか、そういうのを小学校とか中学校の基本的なところでもっと教えていかないと、日本はだんだん停滞していくんじゃないかなんて思うんですよね。

江崎 僕らも、1970年代後半から80年代半ばぐらいまでは、出血熱ウイルスはほとんど教えなかったんです。「こんなのない」とか言って。でも、交流が盛んになってきたので、今は出血熱ウイルスも。今日、外来で診て発熱している患者さんが、昨日までケニアにいたかもしれないとか、アフリカにいてマラリアをもらってきたか、あるいは眠り病をもらってきたか、そういう可能性だってあるわけですよね。だから、「日本にはない病気だから勉強しなくてもいいなんて思ったら大間違いだ」と言って教育しています。ゲノム情報が蓄積していちばん助かっているのは、細菌とかびはそれぞれ共通プライマーがあるので、何かわからないときに、少なくとも細菌かかびかというのは、それでつかまってくる。ウイルスはちょっと手に負えない。あまりにも多様で共通プライマーがないですからね。

河島 呼吸器の multiplex PCR とかはかなり使われ

ているようですが。

中山 呼吸器系のものですね。それに限定して。それはシークエンスのわかっているものに関してしかできないわけです。新しく出てくるものに関しては、最初はやっぱりお手上げです。ところが、出てくるのは、新興感染症はほとんどウイルスなんです。要するに、今まで動物のウイルスが、宿主域を超えてヒトに感染してくるわけですから、なかなか厄介ですよ。

江崎 いま記載されているバクテリアは7,000種ぐらいしかないんです。でも、環境中にいるバクテリアは、既存の菌種に当たらない確率が非常に多くて、わかるのは1%ぐらいで、ほとんどわからない。

河島 そうすると、いま地球に存在する菌の99%は知らないということですか。

江崎 わからない。数百万種ぐらいの未知の細菌がいるとか言われているんです。

河島 じゃあ、もしかしたら宝の山かもしれない。

江崎 そうですね。誰か興味を持って調べるのに一生かけても終わらない(笑)。

河島 最後になりましたが、シークエンサーがどんどんコストが下がり、また時間的にも速くなり、数時間以内で結果が出るような時代にもう少しで突入するということで、そういった技術の進歩が微生物界にどういう影響を及ぼすかということで皆さんのご意見を聞かせていただきました。多数のお話を聞かせていただき、夢のある話を交え、教育論にまでふれていただき、最後は国際問題で締めていただきました。非常に楽しく有益なお話をいただき本当にありがとうございました。