第 29 回埼玉医科大学医学会総会

第 5 回公開シンポジウム

新世紀の感染症学

－その病態解明と治療に挑む－

平成 14 年 11 月 22 日（金）16:00 ～ 20:00

埼玉医科大学本部棟第三講堂

総合司会　齋藤　一之（埼玉医科大学法医学）

感染症学の動向と埼玉医科大学

赤塚　俊隆（埼玉医科大学微生物学教授）

C 型肝炎の問題と最新研究

宮村　達男（国立感染症研究所 ウイルス第二部部長）

細胞内寄生菌感染症と免疫応答

光山　正雄（京都大学大学院医学研究科 感染・免疫学教授）

レジオネラ感染症の最新の診断と治療

舘田　一博（東邦大学医学部 微生物学講師）

抗菌薬耐性菌感染症の現状とその対策

生方　公子（北里生命科学研究所 感染制御・免疫学部門教授）

これからの感染症学の研究と診療の展望

前崎　繁文（埼玉医科大学感染症科・感染制御科）

齋藤幹事長：埼玉医学会の幹事長を務めさせていただいております，法医学の齋藤です．本日は演者の先生方にはご遠路お越しいただき，どうもありがとうございます．本日はどうぞよろしくお願いいたします．お忙しいところおいでいただきました皆様方にお礼申し上げます．今回のシンポジウムは，本学の微生物学の赤塚教授と，感染症・感染制御科の前崎科長にお願いし，コーディネートしていただきました．最初と最後におふたかたの先生にレビューをしていただく予定です．

それでは早速，最初の演題で，本学微生物学の赤塚教授からお願いしたいと思います．どうぞよろしくお願いいたします．

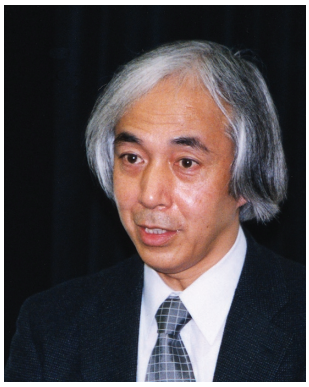
本記録は、平成13年12月14日に行われた埼玉医科大学医学会総会第5回公開シンポジウム「新世紀の感染症学－その病態解明と治療に挑む－」を採録したものである。

© 2003 The Medical Society of Saitama Medical School

シンポジウム

感染症の動向と埼玉医科大学

赤塚　俊隆
（埼玉医科大学・微生物学教授）



今日はお忙しい中，皆さんお集まりくださいまして，どうもありがとうございます．では，早速始めたいと思います．私のイントロの話ですが，タイトルを少し変更させていただきました．というのは，「感染症学の動向」となっていましたが，感染症というのは単にその学問だけではなく，相手が生き物ですので，それと人間とのかかわりとなると，感染症という病気をまず中心に考えなければいけない．その中における埼玉医科大学の役割，問題点について少し触れたいと思います．

まず，世界中でどんな感染症があるかというと，この左側にある症例数を見てください．下痢症，結核，寄生虫，マラリアと，こういった順序で大体，年間100億ぐらいの発生があるといわれています．ということは，世界人口の六十数億の人が複数回かかっている．死因も世界的に見ると，感染症がトップを占めています．

右側の死因で見ますと，結核，下痢症は少し少なくなり，マラリア，エイズ，そして呼吸器感染症．左側の症例数と少し様相が異なり，ここに麻しんが7％と，こういう感じで，エイズやマラリアは別ですが，ほかの疾患は現在のテクノロジーでは，予防も治療も一応可能な疾患であるわけです．それにもかかわらず，これだけの人が亡くなっているわけです．

麻しんが7％も死因を占めていましたが，麻しんやポリオはWHOの拡大予防接種計画により，天然痘に続いて根絶の目標が立てられていたのです．けれども，ポリオの場合は2000年に根絶という目標を立てたにもかかわらず，これは今週の新聞ですが，現実にはこういう状況なわけです．結局，ポリオは2005年に目標が延長されました．

こういう出来事を考え，それから今までの過去の感染症，伝染病の流行を見ますと，その流行には必ず社会的な背景があったことがわかると思います．

例えば黒死病と呼ばれるペストですが，これがヨーロッパで大流行した背景には，その前に十字軍の遠征がありました．それにより，中東からイエネズミがヨーロッパにもたらされ，それがペストの媒介に非常に大きな仲立ちをしたという背景があります．

また梅毒は，ご存じのようにコロンブスが新大陸の発見をしたために，ヨーロッパに持ち込まれたといわれています．

それから，発疹チフスは，戦争につきものの伝染病で，例えばナポレオンがロシアに遠征したときに，教科書的には寒さのために敗退を余儀なくされたとされていますが，実際には兵隊の3分の1はこれによって死んだといわれています．これは戦争につきものの病気だったわけです．

それから19世紀に入り帝国主義の時代になりますと，それまでガンジス川流域など，非常に局地的にしか発生していなかったコレラが，急に世界中に大流行するようになります．こういうことを見ても，我々人間の世界のあり方と感染症は非常に関係があることがわかると思います．

抗生物質の発見やワクチンの開発により，一度は人類が感染症に勝ったと思われた時代もありました．しかし最近，新興感染症，あるいは再興感染症が次々と現れてきているわけです．こういった感染症も，やはりその背景にはいろいろな要因があるということがいえます．

その要因をいくつか挙げてみます．

「微生物の変化とヒトの変化」これが挙げられると思うのですが，これの根底には，微生物自身の，いろいろな周囲の変化に対する我々の予想を越えた適応力があるといえると思います．これからは単なるワクチン開発や治療薬の開発だけではなく，微生物はどう

やって適応していくのか．そういったメカニズムの研究も，おそらく重要になっていくのではないかと思います．

微生物が変化する要因を考えると，まずはヒトの人口の変化を挙げることができます．

人口の増加やヒトの移動によって，例えばエイズはアフリカのある部落で起こったようなものが，世界中に大流行するまでに発展したわけです．

2 番目に，感受性の高い人の増加が挙げられます．

例えばこれは今，非常に問題になっている，低開発国の栄養不良児，あるいはワクチン未接種児．大体世界レベルで見ると，3 分の 1 の人間は 1 日 1 ドル以下の生活費で暮らしているといわれています．そういった現状ですから，なかなかワクチンを接種するわけにはいかないという現実があります．一方先進国では易感染宿主が増えています．高度先進医療が発達するに従い，余計こういった感受性の高い人が増えてくるわけです．

3 番目は飲食物の変化です．

食品の大量生産や保存により，O157 やコレラなど，こういったものも再興感染症として注目されています．それから，卵を介するサルモネラなども増えています．

また，水道についていうと，埼玉県でもおなじみになった，このクリプトストリジウムという原虫の発生が挙げられます．

それから畜産の形態の変化により，例の BSE という騒ぎも起こっています．

4 番目は生態系の変化です．地球の温暖化により，媒介蚊の生息の広がりが見られます．これにより，デング熱，マラリア，最近ではウエストナイルウイルスなどが問題になってきています．

それから，ヒトの野生動物生息地への侵入により，ホスト・スイッチングと呼ばれていますが，それまで野生動物にしか感染していなかった微生物が，ヒトにもホストを変えて感染するようになった．その例として，モンキーポックス，エボラ，最近ではニパウイルスなどがあります．

最後に薬剤耐性です．細菌では VRE や VRSA，耐性緑膿菌，耐性結核菌．真菌では深在性真菌症の耐性菌．それからウイルスでは HIV，原虫ではマラリアなどが挙げられます．

こういった社会的な現象と微生物の適応力によって，いろいろ感染症が変化して起こってくるわけですが，これに対する対応としては，何といっても大事なのは情報の伝達です．厚生省が進めているサーベイランスといったことが，まず第一に必要になってくると思います．それとともに必要なことは，そういった情報に基づいて我々が行動することです．それをいかに迅速に対応するかといったことが問題だと思います．

埼玉医大でこういう感染症に今関心が持たれている理由として，一つはこの大学が心臓移植施設として認定され，いよいよ心臓移植が開始されようとしていることがあります．そのためには，感染症対策は欠かせないわけです．それから一類感染症といわれる，昔，法定伝染病といわれたような伝染病の患者の受け入れも行われようとしています．

そういう中で，今年度この大学では感染症科・感染制御科が開設されました．その科長が，ここに写真がありますが，前崎先生です．前崎先生は，この病院で ICT（Infection Control Team）をつくり，リーダーとして活躍されています．こういったニュースも発表されています．我々，微生物学教室もこの前崎先生の活動を側面から支援することを行っています．

これはうちの教室の助手の小林さんですが，彼はこの ICT のメンバーの 1 人として活躍しており，ICT で必要となる検査，例えば病院のスリッパは本当に交換する必要があるのかどうか．あるいはレスピレーターの水がどの程度汚染しているのか．そういった検査をしたいというときは，すぐに彼が対応して検査を行ったりしています．それ以外に我々のワクチン研究も手伝っているという活躍をしています．

教室全体も感染リンクナース講習会，ICT の立ち上げなどに協力してきたのですが，この毛呂の病院だけではなく，今年は川越の医療センターでも ICT をつくろうということになり，これはそのために作った教科書なのですが，我々は川越にも出かけていって講習会を行っています．

それから感染症科の開設に伴い，こういう若い先生方が感染症の研究をされるようになりました．ここにあるのはパルスフィールド電気泳動装置といって，院内感染などでは非常に威力を発揮します．患者さんに，ある病原菌が分離されたとき，それがほかの菌と同じ株なのかどうか，それを同定することができる装置です．これを使って，我々の教室で研究されています．

それから感染症科の方が，そういう微生物を使うための環境，バイオセーフティーに対応した施設はほかにありませんので，うちの教室の設備を使って研究していただいています．これは浜松医大から来られている山口先生です．

これは，今週のうちの教室の前です．これは私の教室のドアです．その前はこんな状態になっているのですが，これはどうしてかというと，こういったうちの施設を提供するのはなかなかもう現状では追いつかなくなってきて，もう少し設備を拡大しなければいけないということで，こういう引っ越しを始めました．

今，右側にあったのは集会室ですが，集会室のテーブルも全部取り，これがわずかにうちの部屋でくつろげる場所です．このエアコンが夜は止まってしまうよ

うな部屋に，それまで3階にいた室員に引っ越してもらってきているところです．

その3階の部屋とは，こういうドアがあり，そこに「微生物学バイオセーフティー実験室」という看板があります．この部屋が，私が赴任したときに，理事長から多額のお金を投じて整備していただいた感染実験のための部屋です．

そのドアに，バイオセーフティーのルールが日本語と英語で書いてあります．これが部屋の間取りです．入ってすぐのところが居室で，ピンクのところはレベル2の微生物を扱う領域，ここはレベル3のエイズや結核を扱える施設のあるところと色分けしてあります．

ドアを開けて入りますと，教室の神吉先生という講師の方が，ここに座って番をしています．来月，バイオセーフティー講習会を受けていただき，この主任管理者講習の認定証をいただいてくる予定になっています．そうすれば，彼にこの部屋の管理を任せられることができます．ここは居室ですから，白衣は絶対に着てはいけない．講堂に行くときも白衣を脱いだまま行くというルールになっています．

このドアを開けて更に中に入りますと，レベル2の実験区域になっており，これが先程6階にあったものでつい最近移ってきたパルスフィールドの電気泳動装置です．それからここの実験台も，私たちが使っていたところを空けて，感染症科の人たちが使えるようにしてあります．

それから，この部屋の右側に行きますと，レベル2用の安全キャビネットが2台あります．前は3台ありましたが，1台移動しました．そしてオートプレートがあり，左側にはP3レベルの部屋があります．

これがP3の部屋です．まだこれは整理しないと，本当にP3としては使えないのです．このように，単に我々の教室だけではなく，これから大学全体のために安全性，バイオセーフティーに基づいた実験ができるような環境を，整えていきたいということで努力しているところです．

以上で私のイントロは終わりますが，埼玉医大はこれから感染症に，このように向かっていこうというところなのです．そういったことを確実に進めていく中で，高度先進医療を進めていこうという状況になっていることをお伝えして，私のイントロに代えさせていただきます．

© 2003 The Medical Society of Saitama Medical School

シンポジウム

C型肝炎の問題と最新研究

宮村　達男
（国立感染症研究所・ウイルス第二部部長）

座長　赤塚俊隆（埼玉医科大学微生物学教授）

では早速，最初の演者の先生を紹介したいと思います．国立感染研の宮村先生ですが，宮村先生は昭和45年に新潟大の医学部を卒業され，国立予防衛生研究所腸内ウイルス部に入られました．NIHに留学したあと，University of California, San Francisco（UCSF）の研究室，それからカイロンという会社の研究室にも留学して，当時，non A，non Bと呼ばれていたウイルスの研究をしました．その後，WHOの仕事もされ，ポリオのglobal eradication programのspecialized laboratoryのディレクターもされています．そして，B型肝炎のワクチンの開発で厚生大臣の表彰を受け，また野口英世記念賞もいただいています．

たしか私の記憶がまちがっていなければ，数年前に雑誌“Science”が「日本の科学」の特集を組んだ時，日本で最もアクティブな研究者の1人として紹介されました．

では宮村先生，よろしくお願いします．

赤塚先生，ご紹介ありがとうございます．今日はC型肝炎の話をします．C型肝炎ウイルスは，ごく最近明らかになったウイルスですが，このウイルス病自体は昔からありました．

C型肝炎は，輸血後の肝炎として臨床的には非常に大きな問題となっていました．皆さんご存じのように，ウイルスはその核酸の種類によって，DNAウイルスとRNAウイルスとに大きく分けられます．C型肝炎ウイルスはRNAウィルスでフラビウイルス（Flavivirus）やペスティウィルス（Pestivirus）というなかまに入ります．この中には日本脳炎やデング熱，黄熱病などの原因ウイルスが知られています．先程赤塚先生が言われましたが，僕らは1980年代の初めから赤塚先生や志方先生などと一緒に，非A非B型肝炎ウイルスのハンティングをやっていました．でもそのとき，輸血後肝炎の原因となるC型肝炎ウイルスが日本脳炎やデングのような，蚊やノミなどによって媒介されるARBOVIRUS（arthropod-born virus）のなかまとは考えにくかった．

非A非B型肝炎ウイルスとしてC型肝炎ウイルスが発見される過程で，ほぼ同時に経口感染するE型肝炎ウイルスの遺伝子が分離同定されました．このウイルスはやはり経口感染するA型肝炎ウイルス同様，決して慢性化することはありません．私たちはこのE型肝炎ウイルスについても研究対象としているのですが，私たちの調べたかぎりでは，日本固有のE型肝炎ウイルスが存在し，感染がひろがっていることはないだろうということでした．しかし最近，こちらの藤原先生をはじめ東芝病院の三代先生など，特に重症な非A非B非C型の肝炎の中で，E型肝炎はあなどれないという報告があります．大変重要なことですが，それについてはまたいづれ別の機会で話しますので今日は触れません．

私たちが研究をスタートしたころ，輸血をすると10-20％の人が，もとの病気は治っても輸血後肝炎になっていた．C型肝炎ウイルスが見つかって，C型肝炎ウイルスをふくんだ血液をスクリーニングすることが可能となって，我が国では輸血後肝炎はほとんどなくなった．C型肝炎ウイルスは高率に持続感染し，その後慢性肝炎へと進展してゆきます．したがっていま一番大切なのは，こういうキャリアの人たちにおいていかに発症を予防し，ウイルスを排除するか，それが一番の課題です．例えばワクチンという一つの方策も，そういう目で見ていくことが必要だと思われます．

これは歴史的に有名な “Science” にサイド・バイ・サイドで出たカイロングループの仕事です．QL Choo, George Kuo, Mike Houghton という三銃士が，非 A 非 B 輸血後肝炎の原因ウイルスのゲノムの cDNA の断片を取りましたという 1989 年のペーパーです．もうひとつは取れた cDNA を発現させ，この cDNA の発現産物に対する抗体が特異的に輸血後肝炎の患者さんに見つかるという仕事です．これはサイド・バイ・サイドで出ているところに深い意味があり，はじめのは遺伝子の分離のペーパーであり，2 番目は遺伝子の同定のペーパーです．

ここで強調したいのは，この Bradley というアメリカの CDC の研究者の貢献です．この人がチンパンジーを用い，非常にていねいな感染実験をやっていました．そのデータが実際に Molecular Biology の手法を駆使したカイロングループの遺伝子クローニングの作戦に大きな意義を持ちました．この Bradley さんが，チンパンジーへの血液の感染実験から，（僕らは少し反対をしていたのですが,）RNA ウイルスである，しかもトガウイルス属に入るエンペロープウイルスであると．そういう仮説をもっていたのです．私たちがこのカイロンのグループとクローニング実験をスタートしたときは，この Bradley の仮説にしたがったのです．実際彼はキャリアチンパンジーの血液の感染性の証明されている分画をもっていた．そして，これから述べますが，そこからトガウイルスに非常によく似たウイルスの断片が取れたわけです．

このペーパーはもう一つ深い意義があります．世界のいろいろな非 A 非 B 型肝炎患者の血清が調べられ，C 型肝炎ウイルスが，たしかに世界中の輸血後肝炎の普遍的な原因因子であることが明らかになったわけです．

その決め手となった抗体アッセイはどうかというと，二つ重要なペーパーがあります．一つは “New England Journal of Medicine” に出た NIH の Harvey Alter らのものです．

もうひとつが日本のグループによるものです．これらは非常によく似た目的と結果が示されています．

前者はアメリカの輸血後肝炎患者の血清，後者は日本の輸血後肝炎患者の血清が調べられました．これは東京の清瀬の国立療養所で，外科手術のときに輸血を受けた患者さんが，そのあと多峰性の GOT, GPT の異常を示したあと，抗 HCV 抗体が出てきたという例です．こういう例をずっと集めてきますと，経過が長い例では，この抗体が非常に高い頻度で見つかる．更に実際に輸血に用いられた血液をもう 1 回調べ直しますと，このような供血者の血液の中に少なくとも 1 人の陽性例が見つかったのです．

それからもう一つ，Alter たちの解析の中には出てこないのですが，日本のペーパーには 1365 人の実際に輸血に用いられた血液を提供した人たちのパイロット血清が保存されており，これを retrospective に調べました．その抗体の値をリンクさせてこの正規分布を越える一群の血液を受けた患者さんは輸血を受けたあとどうなったのかというレトロスペクティブな解析がなされた．その結果，これらの血液はほぼ 100％，輸血後肝炎を起こした元凶であったことがわかりました．これこそこの新たなアッセイ系の，カットオフ値の算出の決め手となったのです．この仕事の意義は非常に高く，もっと評価されてしかるべきであろうと思います．

もう一つ，HCV 抗体を調べて意義深い重要なペーパーは，C 型肝炎のキャリアが，肝癌の患者に非常に多いことを示したものです．これから述べますが，C 型肝炎ウイルスは明らかに肝癌を起こす癌ウイルスである．これは血清学的に初めてそれを示したペーパーです．まとめますと，日本においては肝細胞癌の 80％は C 型肝炎由来で B 型肝炎は少ない．そしてこの C 型肝炎ウイルスの感染は血液を介して成立するということです．

ところが，C 型肝炎ウイルス研究の一番の問題点は，培養細胞で増やすことができないということです．いまだに増やすことができません．今日のセミナーの後半にこれについてのチャレンジの話をさせていただくつもりですが，いままでのところ培養細胞で C 型肝炎ウイルスの感染性粒子を産生させることは依然としてできていないのです．

もう一つの問題点は，チンパンジーに代わる適当な実験動物がいないということです．例えばウイルス増殖の阻害剤やそれからワクチンの評価をするためにどうしてもチンパンジーを使わなくてはいけない．そういう意味で先程，東京清瀬の患者さんの血清をレトロスペクティブに調べることができたということは実に貴重であったと云わねばなりません．

ご承知のようにインターフェロンの効果というのは決して万全ではないし，C 型肝炎ウイルスにはいろいろなタイプがあり，ウイルスのタイプによってはインターフェロンの効き方がそれほどかんばしくない．そういうことで，これからの研究対象は新しい治療，全く新しいメカニズムに基づく，新しい治療薬を開発しよう，あるいは治療用のワクチンを開発しようということが C 型肝炎研究に課せられた一番の課題です．

ではこれからしばらく C 型肝炎の遺伝子の構造と機能について話します．

フラビウイルスは，一本の単鎖 RNA をそのゲノムとして持ち，大きな前駆体の蛋白がまず翻訳され，それがウイルスのプロテアーゼ，および宿主細胞由来のプロテアーゼの共同作用により，ウイルス固有の蛋白が生成されます．そして，遺伝子の前半 3 分の 1 にウイルスの粒子を構成する構造蛋白をコードする領域が

ある．それにひきつづきウイルス粒子を構成はしないけれども，ウイルスの増殖にはエッセンシャルな酵素例えばプロテアーゼやポリメラーゼをコードする領域が並んでいます．

その前駆体の蛋白のコード領域の前に，5’側の非翻訳領域があります．C 型肝炎ウイルスの場合は，他のフラビウイルスにくらべて長い領域です．特徴的な立体構造を取ります．

一方，3’側にも非常によく保存されている 98X という配列があります．これも C 型肝炎ウイルスの遺伝子でユニークな点です．構造蛋白としてエンベロープ蛋白がありますが，E1 と E2 とで heterodimer（二量体）を作り，粒子の表面を形成しています．

一方で，ウイルス由来のプロテアーゼは 2 種類あります．NS2 と NS3 とを cleave する NS2 プロテアーゼと NS3 のセリンプロテアーゼです．NS3 セリンプロテアーゼには NS4A が Cofactor として働きます．ウイルスの固有の蛋白がこのようにして作られていくわけです．

そして先程言いましたように，第一世代のカイロン社の抗体検出系というのは，このNS3 から NS4 にかけての領域を発現させた蛋白に対応しています．

これからしばらく C 型肝炎ウイルスのコア蛋白の話をします．

もう 1 回，先程の患者さんのプロファイルをみてみましょう．この多峰性の GPT 上昇がはじまる直前に，すでにこのコアに対する抗体が出ていたことがわかりました．更に，この患者さんが発症するに至った 10 単位の血液の中に，コア蛋白に対する抗体を有している血液が確かに検出された．したがってこの蛋白に対する特異抗体の存在は，感染性のウイルスの存在と一致することが明らかになりました．

これが第二世代の抗体検出系として，このコアの領域を入れることになった根拠です．こうして輸血後の C 型肝炎は激減しました．今では更に NAT の検査として，日赤では HCV，HIV，HBV について核酸検査がそれぞれの血液に対してなされ，世界で最も鋭敏なスクリーニング体制が確立しました．

HCV のコア蛋白は非常に効率よく産生されるわけですが，これはヌクレオキャプシドを形成して，ウイルスのゲノムと結合するもので，ウイルスの構造蛋白となる以外にもいろいろな機能があります．核移行シグナルを持っていて，細胞質で産生されたコアの蛋白が，種々の修飾をうけて核に移行する．それからその先，いったん核に移行したコア蛋白がまた細胞質に移行するという複雑な機能もあります．

蛋白の機能を考える時一つの蛋白が細胞の修飾をうけ，又，局在が変化して種々の機能にかかわるわけです．細胞－ウイルスの interaction を研究するのにひとつの大きな風穴があきました．

C 型肝炎のコア蛋白は宿主，あるいは C 型肝炎ウイルス固有のプロモーターの調節をしたり，アポトーシスに関しては，up-regulate したり，down-regulate したりします．それから，細胞内の骨格構造物であるアクチンと特異的に結合したりする．更には脂肪代謝と密接にかかわっていて，最終的には肝細胞癌と密接にかかわる，そういう機能があります．

まず第一に，コア蛋白とウイルスゲノムが特異的に結合して，ヌクレオキャプシドを形成することを示しました．そして，コアのどの領域が RNA のどの領域と結合しているかをまとめました．

それからもう一つ，このコア蛋白を発現させて調べているうちに，このコア蛋白は，5’の非翻訳領域の一部に特異的に結合し，その自身の蛋白の翻訳を抑制することがわかりました．これは一見意外ですが，でもよく考えてみると例えば C 型肝炎ウイルスが持続感染し，自身のウイルス増殖を自身で制御するメカニズムについて，大変重要な示唆を与えているのかもしれません．

もう一つわかったことは，このコアの蛋白の C 末端側を削っていきます．191 アミノ酸から成るフルサイズのコア蛋白は細胞質に存在しますが，それから削っていきますと核に移行します．E1，E2 の蛋白を強発現させますと，そこにコア蛋白がマージしてきて，E1 とコアとが結合することがわかります．

そこで，この E1 蛋白質を E2 とともに発現させ，ここにあります糖鎖の付加シグナルをトリプシン処理をして，細胞質内のドメインを壊します．あるいは，このようなシグナルを丹念に一つずつつぶしていきまして，次のようなモデルを作りました．長い前駆体の蛋白ができたときに，コアの蛋白がここと，E1 蛋白のここかと結合する．E1 中の細胞質のドメインとコア蛋白とが結合して粒子構造をつくるということです．今日まで Dubisson のモデルというのがありますが，これでは E1 蛋白の細胞質ドメインがあまりにも短くこれでは E1，E2 とコア蛋白が，細胞質の中で結合することをうまく説明できないのです．

これから私たちは更に HCV の成熟機構について，このようなモデルを中心として更に仕事をつづけるつもりです．

もう一つ，コアの蛋白のことについて調べていく過程で重要なことは，このコアの蛋白は，脂肪肝と肝細胞癌をトランスジェニック・マウスで起こすことです．そして，コアの蛋白の領域を全長即ち 191 アミノ酸を導入したものと，コントロールとして E1，E2 の領域を導入したそういうトランスジェニックマウスをつくりました．この実験のポイントは，発現の為のプロモーターとして B 型肝炎ウイルスの X 蛋白のプロモーターを使ったところです．結果として，高いコアの発現が得られました．これは生後 10 週目の組織像

です．コアを発現しているマウスでは，まさにヒトの脂肪肝のようにズダン染色で脂肪滴が染まります．しかし，炎症像や肝癌は全く起こってこない．それでがっくりすることなくフォローしていったのが次のスライドです．

20 週，寿命の終わり近くになりますと，このような肝細胞癌が出てきました．組織像を見ますと肝細胞癌の周囲に adenoma があり，nodule-in-nodule という人間の肝癌と非常によく似た特徴を示しました．そして，このように細胞質にはコアの蛋白が発現しています．

そしてもう一つ，ヒトの肝癌に非常によく似ていることは，こうやって樹立したマウスの系は，肝癌ができるのは圧倒的に雄である．雌にもできるのだけれども，それは頻度が非常に少ない．ヒトの肝癌の場合も，圧倒的な性差があります．少なくともトランスジェニックマウスの系で，コア蛋白が肝癌の誘導には確かにかかわっているけれども，それだけでは説明できない宿主因子の関与が何かあるはずである．その中の一つが，このような雌雄間で発現が異なっている因子がかかわっている可能性は否定できないと思います．

もう一つが肝癌細胞における脂肪変性です．アポリポ蛋白 A II とコア蛋白を染めますと，この二つの蛋白の局在は非常によく一致します．これに対して Apo A I は全く別な挙動を示しています．

これはコントロールとして C 型肝炎ウイルスの E1，E2 蛋白を導入したトランスジェニックマウスですが，これには癌が生じません．ここではその代わり唾液腺にこのようなシェーグレン症候群様の，リンパ球の浸潤を見ました．おもしろい所見ですがこれについては，もう少し解析が必要です．

このトランスジェニック・マウスは，世界で多くの人たちが追試をしています．このごろぽつぽつと追試に成功した例が報告されてきていますが，うまくいっていない人がたくさんいます．それは一にかかって，コアの発現量が相当違うということです．我々の系は全体としてみれば人間の場合のコアの発現量に匹敵するような系と考えています．そしてこういうトランスジェニック・マウスの肝組織から，サブトラクション・メソッドで up-regulate されている遺伝子，更には down-regulate されている遺伝子を検索しています．差が認められる遺伝子の中には，先にのべた脂肪代謝に関係のある遺伝子やあるいは転写調節にかかわる遺伝子，細胞増殖や cell cycle にかかわりがあるような遺伝子，それから炎症にかかわる遺伝子，そういうものが続々と取れてきました．それを今一つ一つ検証をしているところです．

そういうことで，今，この C 型肝炎ウイルスのコアの蛋白は，粒子形成にかかわるだけではなくて脂肪肝やあるいは今日は話しませんでしたが，ミトコンドリアへの沈着も認められます．そこでいくつかの細胞の遺伝子とかかわったあげくに，最終的に肝癌になる．コアの蛋白の発現は，いくつかのマルチステップの一つとして肝発癌に関与していると考えております．

最近の C 型肝炎研究で，非常に注目を浴びたのが CD81 という分子です．C 型肝炎ウイルスは中々培養細胞で増殖させることができない．しかし実際 in vivo では増えているわけですから，レセプターがうまく発現していないからと考えるのも当然です．イタリアのカイロングループが，E2 の蛋白が CD81 と特異的に結合することを見つけこれがレセプターだと提唱しました．

C 型肝炎ウイルスが実際にレセプターを発現している細胞に出会ったときに，どうやって侵入していくのか，その初期過程を追おうというわけです．ウイルスは，いくつかの方法で細胞に侵入してゆきます．

一つは，インフルエンザウイルスや日本脳炎ウイルスのように，レセプターを介して結合したものがエンドサイトーシスによって細胞質の中に入って，脱核をして遺伝子を放出する．

もう一つは，HIV や麻しんウイルスのように，ウイルスの表面と細胞の表面とが，融合して侵入する．そしてC 型肝炎ウイルスの場合はどうも前者のかたちをとっているということがわかりました．

これは非常にもう古い話になりますが，カイロンのグループがこの C 型肝炎ウイルスの遺伝子を採った段階で，だれもがウイルス表面の E1，E2 蛋白がワクチンの第一候補になると思ったわけです．大量の E1，E2 をつくり，チンパンジーに免疫します．免疫したチンパンジー群では 7 頭中 5 頭で感染が防御された．1 頭は RNA だけ検出されたけれども症状は起きなかった．もう 1 頭は，かすかな RNA も検出されたし，それから一過性ではあるが ALT の上昇もあったということです．免疫は完全ではなかったけれどこれは考えようによっては，非常に promising なデータでもあります．というのは，この感染防御が成立したチンパンジーについては，完全に抗 E1 抗体が出現していて，更に NOB という先程の E2 と結合することがわかっている抗体が出ていたのです．だからこのような抗体がうまく誘導できれば感染防御できるのだと．誘導できなかった 2 匹は，この NOB 抗体が誘導されなかったせいであると考えるならば，7 匹中 5 匹でもこれは十分に評価はできると思います．

ただし，実際にこういう慢性 C 型肝炎の患者さんが自然治癒するケースは少ないわけですから，NOB をいかにして誘導するかが問題で，それができれば治癒にむかう可能性があるわけです．

そこで先般大阪大学に移られた松浦教授のグループと次のような仕事をしています．自然回復して NOB 活性を持っている患者さんの血液からヒト型のモノク

ローナル抗体を作ります．これをどうセレクトするかですが，3つの方法が考えられました．ひとつがこの今のNOBの結合アッセイです．もうひとつがレセプターがあると想定される細胞とリポーター遺伝子を発現させるplasmidを別の細胞に導入しておき，細胞融合が起こるか否かをみる．抗体にこの融合を阻止する活性があるかどうかをみる．

そして最後に，VSVというウイルスの表面を全部HCVのE1，E2におきかえた偽ウイルスをつくり，この偽ウイルスによって導入される遺伝子の発現を定量的にしらべ，抗体にこれを阻害する働きがあるかどうかを検証する．この3つの方法です．

このようにスクリーニングしたヒト型モノクロナール抗体の実際のウイルス排除能がチンパンジーで調べられています．

一方，C型肝炎ウイルスの研究は本当に日進月歩です．数年前にはNS3のセリンプロテアーゼの結晶を，アメリカのグループが作り上げました．今は，セリンプロテアーゼ，あるいはRNAポリメラーゼが阻害剤のターゲットとなっています．今月の初めにアメリカで開かれました肝臓学会では，夢の経口ウイルス・インヒビターがベーリンガー社から発表されて，みんなの度肝を抜きました．それはたった1回の経口投与で，2週間後に，10の4乗のウイルスが減少したということです．

残り5分になりましたが，最後にいちばん肝腎なC型肝炎ウイルスの増殖について話したいと思います．

HCVのサブジェノミック・レプリコンが作られています．HCVの全体の遺伝子のうちの構造蛋白を除外し，RNA増殖に必須な領域と非構造蛋白の後半部は残す，その上流にネオマイシンの耐性遺伝子を入れる．このようなdicistronicなRNAコンストラクトをつくり，いろんな細胞の中に入れます．ネオの耐性の細胞株を選択してきた中で，HCV　RNAの複製がないかということを見ます．これを見事にドイツのBartenschlagerという先生が一番乗りをはたしました．これは，ここ数年のC型肝炎の研究の中の，ブレークスルー中のブレークスルーです．

例えばここでNS5Aに，インターフェロンへの感受性を規定している領域がありますから，例えばここに変異を入れると，そのRNAの複製は認められると同時に，インターフェロンの感受性が変わるか確認されました．この系がいま世界中で使われ始めています．ただこのシステムがうまくいくのは，いまのところHuH7という特定の日本で樹立された肝癌細胞だけである．うまくいかないのは，このネオマイシンのセレクションがうまくいかないこともあるでしょうし，RNAの複製がうまくいかないこともあるでしょう．

しかし，これができてきたということで，次にはこの系を用いて全長のHCVのRNAを挿入して，HCVのIRESのもとに読み取られ，複製し，翻訳が起こるようなシステムをHuH7の細胞で確立させることが考えられます．

実際Barten先生らによればすべての蛋白が翻訳されて，産生される．しかも，それらはウイルス由来のセリンプロテアーゼの作用により，きちんとプロセスされている蛋白である．しかし，ウイルスの粒子，感染性の粒子というのは，未だ得られていないのです．ウイルスの増殖をきちんとコントロールする因子は，HuH7で提供されるけれども，ほかの肝細胞ではされない．このような宿主因子を，これから地道に探していくということです．

私たちはずっと前から，赤塚先生のいたころから，なんとかして培養細胞で，C型肝炎ウイルスをオーソドックスな方法で増やしたいと思っていました．これは慈恵医大のグループと共同でやっています．三次元のラディアルフロー型の培養系を用いますと，非常にたくさんの肝細胞を，長期間にわたって生理的に培養することができます．

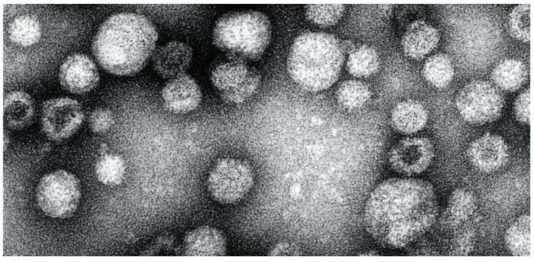
例えば培養の温度を少し低めに設定することにより，肝機能を保ちつつ長期の培養ができます．

ウイルス増殖の効率は悪いのですが，HCVの増殖がみられました．感染してからの培養液をプールしておきますとその増えたウイルスを回収することができます．先程のBartenschlager先生の系でもそうなのですが，増殖をくりかえすうちにいろいろな変異が入ってきます．その中で，最初感染時の配列と違う配列が出てくることに注目をしました．増殖のあいだにウイルス側に変異が入り，ひょっとすると細胞の中でよく増えるように変異した塩基配列を獲得したのかも知れません．私たちは特にこのNS3とNS5の領域での変化を調べています．

ところが，これはBartenschlagerの系で起こる変化と，それからNew YorkのC. Riceが見つけている遺伝子の変化と，我々が東京でやっている遺伝子の変化に必ずしも一致しません．なかなか難しいです．

さてこの細胞培養液の中にこのような粒子構造が見られます．

これを遠心分画しますと，このような57mぐらいの球状構造をもった粒子が確認され，そこにはHCV-RNAがふくまれていました．



HCV particle

そして，回収されたウイルスを，新たなフレッシュな培養系に secondary passage を行います．やはり同じように長い潜伏期間のあと新たにウイルスの RNA とウイルスのコア蛋白が検出されます．

この系は C 型肝炎ウイルスの特性を反映しているのではないでしょうか．肝細胞の中で C 型肝炎ウイルスは自ら自分の増殖を制御するメカニズムがあるのではないでしょうか．そしてこのシステムはそれを再現しているのではないでしょうか．C 型肝炎の研究で一番大切なことはこれから先，ウイルス増殖のメカニズムを明らかにして理にかなったウイルスの阻害剤や，理にかなったワクチンを作っていくことだと思います．そういうことがこれからの C 型肝炎研究の一番の課題だといって私の今日のお話を終わらせていただきます．

座長：ありがとうございました．質問がありましたらどうぞ．

藤原研司（埼玉医大）：内科の藤原です．どうもありがとうございました．2 点お伺いします．第 1 点は，東大の小池先生のトランスジェニック・マウスを見ても，発癌にはどうしてもこの脂肪化が必須条件のような印象を私は持っています．

宮村：同感です．

藤原：その場合，コアが脂肪化するメカニズムが，発癌とのインタラクションがあるのかどうか，その辺はいかがでしょうか．

宮村：それは原因か結果か 2 つの可能性をいつも考えなければいけないと思いますが，私は，現実には肝の脂肪化が必ず先行しますので，そのことには深い意味があると思っています．

藤原：まだこの辺はわかっていないのですね．

宮村：はい．

藤原：もう 1 点は臨床からの質問です．埼玉医大の場合，C 型で，要するに血液ルートのはっきりしない症例は大体，二十数％ですから，全国的に見ても，大体 4 割は全く感染ルート不明というものがあります．先生のウイルス学的な観点から見て，どういうものがありうるか，その辺は何かお考えはありますか．

宮村：C 型肝炎ウイルスが血液および血液の混じった体液を介して感染することは，まちがいないわけです．インフルエンザウイルスや麻しんウイルスなどと違い，感染してもすぐ発症しない．C 型肝炎の場合は，感染，発症の因果関係をレトロスペクティブに示すことが非常に難しいわけです．ただ輸血後肝炎の場合は非常にきれいに証明されましたが．輸血以外の場合は本当に感染が成立して発症するまでの時間が非常に長いので，C 型肝炎の輸血以外の伝播経路の追求の一番の問題点です．その中で同じ人口集団で，HIV や B 型肝炎ウイルスと比べて，性感染の効率を見ますと，C 型肝炎ウイルスの感染ははるかに少ないといわれています．効率が悪い．

藤原：ルートは．

宮村：はい．ルートは，例えば唾液の中にあるのではないかとか，精液の中にあるのではないか．そして，検出されたという症例報告が，ちらほらと例えば “Lancet” のショートレポートに出ています．それがどれくらいの relevance があるかについては，ちょっと・・・．

藤原：確かに理論的にはセクシュアルであり，あるいは母子感染がありうるとは思うのですが，その頻度は，証明されたものはきわめて少ないです．それに比べて，全くパーセンテージが違うのです．大体，場所によってかなり違う．おそらく全国集計しますと，4 割ぐらいだろうと推定されるのですが，これはかなり，ある意味では社会的には非常に重要な問題ですので，そういった目でも，また先生方，ウイルス学的な面で教えていただければと思います．ありがとうございました．

© 2003 The Medical Society of Saitama Medical School

シンポジウム

細胞内寄生菌感染症と免疫応答

光山　正雄
（京都大学大学院医学研究科・感染・免疫学教授）

座長　松下　祥（埼玉医科大学免疫学教授）
次のご講演は光山正雄先生です．先生は現在京都大学大学院医学研究科におられます．昭和48年，九州大学医学部をご卒業後，51年九州大学医学部細菌学講座へ出向，53年同助手，56年に米国NIH国際奨励研究員として，ハーバード大学に留学され，58年には九州大学の細菌学助教授，それから62年に新潟大学医学部細菌学教授．そして平成10年から京都大学で教授をされています．先生は日本細菌学会や，それから日米医学協力会議の結核部会の部会長としてご活躍です．本日は「細胞内寄生菌感染と免疫応答」のタイトルでお話をお願いします．

松下先生，どうもご紹介をありがとうございました．このたびは，このシンポジウムにお招きいただきましたことを感謝申し上げます．

私も大昔は臨床を少しやっていたのですが，もう25年ぐらい医者をやっておらず，いつの間にか，感染生物学のようなことをやっています．今日の私のお話は，必ずしも臨床の先生方や看護婦さんのお役には立たないかもしれませんが，しばらく耳をお貸しください．

「細胞内寄生菌」，もしくは「細胞内寄生性細菌」という用語が出てきますが，あまりなじみがないのではないかと思います．これは，細胞がないと生きられない細菌という意味ではありません．この菌についてこれから生体防御との関連でお話ししようと思います．

ここには免疫学の大家の松下先生がいらっしゃいますが，一応，免疫学では進化した免疫機構が大事なのですが，あえて申しますと，すべての生命体に普遍的に必要な生体防御機構の一番の基本は食細胞であると思います．これはマクロファージが，今日の私のお話の中心でありますリステリアという菌を貪食している像です．異物を異物として認識し，それを細胞の中で殺すことができるのは食細胞だけです．抗体であれ補体であれ，T細胞であれ，B細胞であれ，NK細胞であれ，γδT細胞であれ，菌を直接殺すという機能はなく，食細胞だけが細菌を行うことができます．

食細胞，特に好中球といわれるもの，およびマクロファージには，いろいろな細胞内殺菌機構が備わっています．ここで赤く示したものが，何らかの細菌なり異物とお考えください．これを異物と認識した食細胞は細胞の中に取り込みますが，それは裸の異物を取り込むのではなく，細胞膜で取り囲み，内部に取り込みます．これを私たちは食胞（phagosome）と呼んでいます．この食胞というのは，単なる袋ではなく，食細胞の中では，その中に取り込んだバクテリアを殺菌してしまう，殺してしまう，そういうるつぼのようなものであり，非常にたくさんの多様な殺菌因子が，ここで働くようになっています．

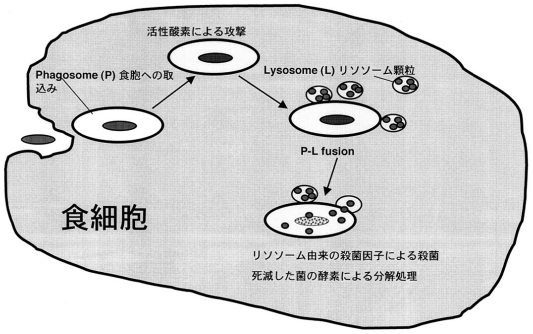


図1. 食細胞による貪食以後の細胞内殺菌の過程

その一つはNADPHオキシダーゼといわれる，電子伝達系によって生成される活性酸素，スーパーオキサイド・アニオンに始まる，いろいろな活性酸素群です．もう一つは，顆粒として認められるリソソーム（Lysosome）で，アズール顆粒や特殊顆粒が組織学的に認められていますが，この異物を取り込んだ食胞にはこの顆粒が融合します．これをP-L fusionと呼んでいますが，この中には，非常に多様な殺菌性の物質が蓄積されていて，それが降り注ぐことになります．例えば，今日は詳しくお話ししませんが，デフェンシンやセリンプロテアーゼ系の殺菌因子，それからラクトフェリンのような鉄をキレートするようなもの，細胞壁を壊すリゾチームといった酵素系，このようなものがたくさんあります．また，ミエロペルオキシダーゼが供給されますと，非常に強力なハイポクロライドが作られてきます．

したがって，免疫系という高度に発達した，抗原特異的なクローンで対応する機構がなくても，この非特異的な食細胞群が十分にあって機能すれば，おそらくウイルスも含めて，ほとんどのバクテリアに対応できるはずなのです．ところが，困ったことに細胞内寄生性細菌と私たちが呼んでいるいくつかの種類の菌は，この取り込まれて本来，殺されるステップに乗らなければいけないにもかかわらず，いろいろな方法でそれをエスケープしてしまうという特性を持っています．

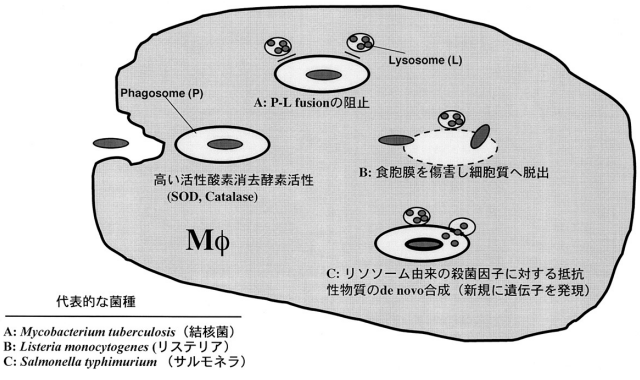


図2. 細胞内寄生菌の食細胞殺菌からのエスケープ機構

あまり知られていないものまで含めますと，20種類ぐらいの細菌・原虫がこの細胞内寄生菌，つまり食細胞の中で殺されずに生き延びられるという性格を示しますが，ここでは代表的なものとして，3つのものを挙げています．一つは，グローバルな脅威である結核を起こす結核菌．もう一つが，私が長らく研究しているリステリアという菌で，この菌は臨床的にはそれほど大きな問題にはなりませんが，大学病院や癌センターのようなところで，基礎疾患がある方，血液疾患，癌の方に，ごくまれに非常に致命的なリステリオーシスが起こることがあります．また産婦人科でも，リステリアによる死産などを経験することがあります．報告されているものとしては日本では年間大体50例ぐらいですが，この菌の一番臨床的な問題は，これは牛のような反すうを持っている偶蹄類が自然界に持っており，それからヒトへ移ってくる，いわゆるzoonosis（人獣共通感染症）なわけです．

世界中ではいろいろなアウトブレイクが起こっており，特に乳製品，生乳や低温殺菌乳，風味がいいということで好まれているパスチャライズドミルクや，自家製のアイスクリームやチーズなどによって，特に肝臓が悪い方などが召し上がりますと，たまに脳髄膜炎や脳炎などを発症し，わかったときには手遅れということがしばしばあります．幸か不幸か日本ではアウトブレイクは起こっていませんが，食生活の変化によって，日本でも，カナダやヨーロッパで見られた100人規模，死亡が半数以上ということが起こらない保障はありません．

ただ，今日お話ししますのは，そういうリステリア症を引き起こす原因起炎菌としてどうかということではなく，あくまでマクロファージの中で生き延びるメカニズムと，それに対して我々はどう応答するかという，一つのモデルとしてお話をさせていただきたいと思います．

もう一つは，サルモネラのある種のものです．このA, B, Cと書いてありますが，簡単に申しますと，そのエスケープのしかたが違うわけです．結核菌はなぜ殺されないかというと，たくさんのものがありますが，最も大きな理由は，この殺菌因子を含んでいる顆粒が，自分を取り込んだファゴソームに融合しないようにしてしまう方法を取ります．

リステリアというのは，あとで詳しくお話ししますが，ある蛋白分子を使って，その融合をブロックすることはできませんが，自分を取り囲んでいるファゴソームの膜を破り，細胞質へ逃げ出すということをします．非常に珍しいタイプの菌です．

サルモネラおよびその類似の菌についてはよくわかりませんが，P-L fusionが起こり，活性酸素が降り注ぎ，そこからいろいろな殺菌性のペプチドや蛋白が降り注いでも，この中での環境の変化を察知するシステムを持っています．それによって，新たな遺伝子発現を起こして，そういった殺菌因子から身を守る，新たな蛋白を作ると考えられています．

一つだけ結核菌のスライドをお出ししますが，結核菌がなぜあれほど病原性が高いのか，そして慢性化するのか，十分わかっているわけではありませんが，その一つは構造にあります．それは普通のグラム陽性菌とはずいぶん違う，特殊な脂肪酸をたくさん持ったミコール酸含有糖脂質をはじめとする，非常に脂質に

富んだ細胞壁を持っていることです．これが非常に強いサイトカイン応答を引き起こします．

しかし，これだけで結核菌の病原性は説明できません．というのは，このような細胞壁のコンポーネントをマウスに注射しますと，確かに granuloma を作ったり炎症応答を引き起こしますが，いわゆる結核的な病気にはなりません．なぜ結核という伝染病，伝播性の強い病気が起こるかというと，それは結核菌がマクロファージの中に，むしろ積極的に入り込んでいき，その中で殺されずに長く生き延びるという能力にあります．

一つは，マクロファージの表面にある，非常に多様なレセプターを積極的に使うという能力があり，もう一つ最も重要な能力は，このファゴソームに取り囲まれたあと，リソソームのフュージョンをブロックしてしまうという能力です．すでに結核菌の全ゲノムが明らかにされていますが，残念ながらこれがどのジーンプロダクトによって，どのような仕組みによってこれが可能になっているかは，まだわかっていません．

以下のお話は，非常に実験上のお話ばかりになりますが，リステリアという，私が若いころからいじっております菌についてお話をします．このリステリアという菌は，少し低温で培養しますと，鞭毛を 4 本作る，多少遊走能のあるグラム陽性の短桿菌です．コロニーとしては，ストレプトコッカスに似たコロニーを作りますが，この菌はストレプトコッカスなどとは違い，マクロファージに感染させますと，貪食に抵抗することなく，簡単に取り込まれます．取り込まれた菌は，普通は殺されてしまうわけですが，この菌は殺されずに，例えばマクロファージ系の細胞の中でどんどん増えていきます．これをもしマウスに接種して，実験動物感染を起こしますと，ここにあるように，臓器の中で指数関数的に増えていき，病気を引き起こします．主な動物では，ターゲットは脾臓や肝臓ということになります．

このような動物は正常な動物ですから，生体防御能が正常です．にもかかわらず，このように増殖し，マウスを倒すわけです．ということは，それだけ強い病原性を持っているわけです．この病原機構がわかってきたのは比較的最近で，今私たちが知っている範囲では，このような pathogenicity island と私たちは呼びますが，この菌を病原菌たらしめる（これは必ずしもオペロンというわけではありませんが）一連の遺伝子群がまとまって，ある chromosomal DNA の中に存在しています．

その一つ一つについては，詳しくお話をすれば，ずいぶん時間を取ってお話ができるのですが，今日のお話のポイントは，私たちが主にやっている，この遺伝子産物の役割についてお話をしたいと存じますので，簡単にだけこの役割をお話しします．

このリステリアという菌は，マクロファージに取り込まれます．もしくは経口摂取されたリステリアは，おそらくもう一つ，インターナリン，インル A，インル B（InlA/B）という遺伝子があり，それを使って上皮細胞の E-カドヘリンを介して上皮細胞に入り込みます．しかし，マクロファージのような，異物を識別し貪食する能力のある菌に関しては，別にそのインターナリンがなくても取り込まれる．つまり，殺す兵隊さんにどんどんつかまってしまうということをするわけです．

菌がこのファゴソームに取り込まれますと活性酸素が働きます．ところがこの菌は，非常にカタラーゼ反応の強い菌で，活性酸素の消去能が高い，さらにスーパーオキサイド・ディスムターゼ（superoxide dismutase）の活性も高いということで，この中で降り注ぐ活性酸素は，ほとんど殺菌の役に立ちません．ところが，この食細胞の顆粒にある，特に好中球などではよく発達していますが，殺菌因子を含んだ顆粒が融合し降り注ぐと，この菌も生き延びていけないわけです．

ところが，この菌は結核菌のように，この融合をブロックする能力を持ちませんので，彼らはどうするかというと，できるだけ速やかにここに穴を空けて細胞質へ出ることをします．細胞質は同じ食細胞，つまり我々の防御細胞の，同じ細胞の中の殺菌機構，活性酸素にせよ，リソソームから供給される殺菌因子にせよ，非常にリスクが高いものですから，我々の食細胞では，この食胞の中でしか作用しない仕組みになっています．逆に言うと，この食胞さえ脱出してしまえば，同じ敵の腹の中であっても，細胞質という場所はぬくぬくと何の障害も受けずに，生き延びられる安住の地となります．

このファゴソームを破ることを可能にしているのが，*hly* という遺伝子の産物で，これから詳しくお話をしますリステリオリシンO（Listeriolysin O）という蛋白です．外に出たこの菌はそのあとどうするかというと，鞭毛があるわけですが，このべん毛を構造している遺伝子の発現は，37℃ではオフになるようになっていますので，移動装置としてべん毛を使うことができません．そこで彼らは，この ActA という遺伝子産物の，6 万 7000 ぐらいの ActA 蛋白を作ります．この ActA 蛋白は，非常におもしろい蛋白で，サイトゾルにあるアクチンを重合させる非常に重要なイニシエーターであり，それによって次々と，ある一方向に，アクチンのポリマーから成る，我々がコメットテールと呼ぶものができてきます．菌体端で新しいモノメリックなアクチンが置き換わっていくのですが，それによってできるコメットテールに押される，押し上げられることによって，細胞質の中を動き回ることができます．

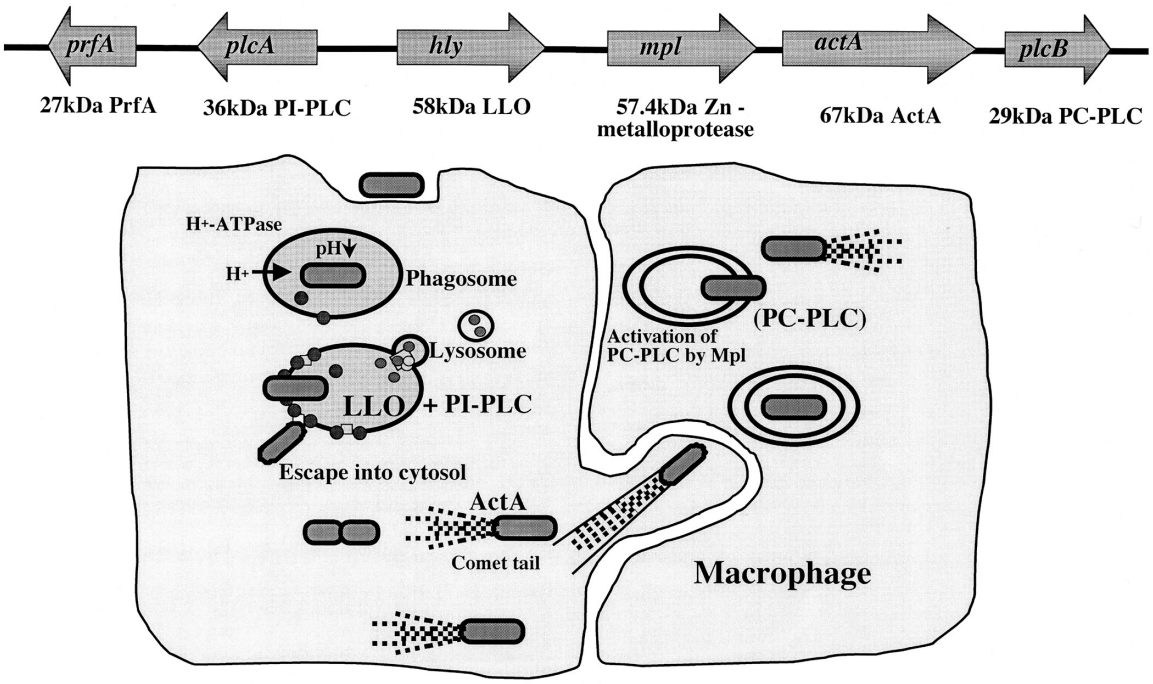


図 3. リステリアの細胞内寄生を可能にする遺伝子群とマイクロファージ内での菌の動揺

そして，この二重膜をかぶって，隣の細胞へどんと protrusion するわけです．二重膜をかぶりますが，この 2 つのホスホリピッドを，ここに 2 つありますホスホリパーゼ，ホスファチジールイノシトールにスペシフィックなホスホリパーゼと，ブロードスペクトラムのレシチナーゼの 2 つを使って，このメタルプロテアーゼはこれを活性化するわけです．この膜を破って，また裸になって動き回って移るという，細胞から細胞への伝播をしてどんどん広がっていくと考えられます．

しかし，あくまでこのファゴソームを出ないことにはこういうことは起こりませんので，この中で何が一番重要なビルレンス・ファクターかというと，この *hly* です．実際，この *hly* という遺伝子をノックアウトした菌を作ってやりますと，ほかの遺伝子はインタクトに発現される菌であっても，*hly* の遺伝子が障害されただけでマクロファージの中での増殖は不可能になります．また，動物に接種しますと，ほかのブドウ球菌や連鎖球菌を打ったときと同じようにさっと殺されて，動物はひどい病気にはならないことを観察することができます．

このような病原因子があるために，例えば数千個のリステリア菌を健康なマウスに静注で接種しますと，肝臓や脾臓に菌が分布します．そのあと数日間にわたり，指数関数的に菌が増えます．したがって，この菌数を増やしてある程度以上打ちますと，マウスは 3 日ぐらいで全部死んでしまい，そのときには臓器の中には 10 の 8 乗から 9 乗ぐらいのレベルにまで生菌が増殖しているという状態になります．

ところが，接種菌量をある程度のところまで下げてやりますと，いったん増えた菌がなぜか治療も何もしないのに，だんだん減り始めることを観察することができます．これがいわゆる生体防御機構です．つまり，生体防御機構をエスケープするような，そういう遺伝子を，virulence gene cluster として持っている菌に対しても，我々は何らかの方法によって，その感染を何とかやりくりすることができることがわかります．

実際に，10 日ぐらいしますと菌が全部いなくなり，動物は回復します．そのように，いったん感染から自力で回復したマウスに，気の毒なのですが，もう 1 度同じ菌を接種してみます．そうしますと，初めて感染を受けたマウスだと，このように菌が増えていくのに，前に感染から立ち直ったマウスでは，全く菌が増殖していないことを観察することができます．つまり免疫ができている訳です．

簡単に申しますと，この免疫というのは，いわゆる TH1 細胞が主体で働くものであり，この TH1 はいろいろな抗原，リステリアが持っている多様な抗原の刺激を受けますと，マクロファージ活性化因子を出します．その実態として最も重要なものは，インターフェロンガンマですが，そのほかに GM-CSF なども活性化因子として TH1 からリリースされます．このような免疫を担う抗原特異的な TH1 ができてきますと，抗原の刺激によってこういう因子が出て，それ

によってマクロファージが活性化されます．活性化されたマクロファージの中では，もはやこのリステリア菌も増殖することはできません．

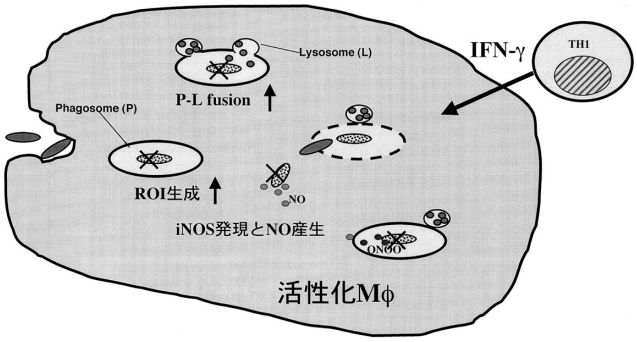


図 4. THI 由来マクロファージ活性化因子（IFN- γ）によるマクロファージの活性化と細胞内殺菌の亢進

なぜ増殖できなくなるのか．それはマクロファージが強くなるからです．どのように強くなるのか．大体，3 つのことが考えられています．一つは，本来マクロファージが持っている機能がより高まること．その一つは，活性酸素を生成する能力が非常に高まります．これにより，一定程度のスーパーオキサイド・ディスムターゼや，一定程度のカタラーゼしか発現できない菌は，それをはるかに上回るエフェクターの活性酸素が出てくれば殺されることになります．

もう一つは，これは分子レベルでのメカニズムがよくわかりませんが，ファゴソームとリソソームのフュージョンが非常に促進されます．これにより，P-L fusion をブロックするような結核菌などに対しても，かなり対処できるようになりますし，P-L fusion が時間的にも量的にも促進されることは，ある程度，時間をかけてこれを破ろうとしている菌をやっつけるうえでも役に立つわけです．

もう一つのメカニズムは，ナイトリック・オキサイド（NO）を産生するということです．マクロファージは，high-output nitric oxide synthase，iNOS というものを持っており，これは普通は簡単には発現しないようになっていますが，活性化されるとこの発現が起こります．この一酸化窒素合成酵素がいったん発現されますと，アルギニンを基質として，ナイトリック・オキサイドというガス状の分子がつくられます．このナイトリック・オキサイドはラディカルであり，サイトゾルの中に作られます．すなわち，細胞内寄生菌のうち，サイトゾルへ逃げ出すことによって身を守ろうとしている菌に対しても，ナイトリック・オキサイドはアタックをかけることができます．

もう一つ，ナイトリック・オキサイドの重要な点は，活性酸素はファゴソームの生体膜を通って外へと浸透できないのに対して，ナイトリック・オキサイドは膜を越えて入っていくことができることです．したがって，ナイトリック・オキサイドがファゴソームの中に入りますと，ファゴソームの中に充満しているスーパーオキサイド・アニオンと反応が起こり，ペルオキシナイトライト（$ONOO^-$）という分子ができますが，これはかなり安定で，非常に強力な殺菌作用を持っています．ナイトリック・オキサイドができることによって，細胞質に逃げ出した細胞内寄生菌も殺すことができるし，その中で増えているような P-L fusion をブロックしているような菌に対しても，アタックがかけられることになります．

つまり，このような単純化した系における T 細胞免疫というのは，わかりやすく言えば，ポパイにほうれん草の缶詰めを T 細胞があげて，それを食べたポパイが元気になる，そしてブルートをやっつけるということになります．

ところで，この菌に対して感染マウスでは，非常に強い TH1 の誘導と，再感染防御免疫がみられ，これは passive transfer で TH1 であることが証明できるわけですが，私たちは昔から，このような TH1 細胞がどのようにして誘導されるのか，どのようにそのエフェクターとして働くのかを研究してきました．その過程で，大昔から常に疑問であったことが一つあります．

というのは，リステリアの生菌で免疫をすることによって誘導ができますが，死菌ワクチンでは，絶対に再感染防御免疫を誘導することはできません．もしくは，リステリアのコンポーネントワクチンを作って打ってやっても，ほとんど誘導できません．実は結核でも似たようなことがいえます．マウスに BCG を接種することにより，結核菌に対する感染防御免疫を誘導することができます．その本体は，ほとんど TH1 だということを知ることができます．

ご存じのように，BCG は今は効き目が悪い，効かないと，1980 年に報告のあったインドのチングルプットスタディでは，20 万人規模のフィールドスタディをやって，BCG の予防接種の効果はゼロという結果が“Lancet”に載りました．“Bad News from India”というタイトルで，エディトリアルが掲載されました．いろいろ問題はありますが，世界の多くの研究者は，BCG は効かないのだと公言しています．一般にはそういわざるをえません．

しかし，少なくともマウスに BCG を接種して，全身感染モデルを作りますと，これは決してヒトの結核のモデルではないのですが，ものすごく効きます．そのときに BCG をもし加熱死菌にしたりホルマリン死菌にしたものを接種すると，ほんのわずかの防御効果は出ますが，生菌と同様の強い防御効果は全く誘導できません．これは昔からどなたもお考えだと思いますが，BCG がある程度，効くのではないかと思って

いた時代でも，あれが死んでいたら効くはずはない．たぶんあまりエビデンスはなくても，BCG の活きが悪ければ，それはだめだろうということは常識だったのではないかと思います．動物実験では，まさにそうなるわけです．

私たちは，なぜそうなのかということに，非常に長い間興味を持っていました．そのなぜ生菌でないとだめなのかということを明らかにすれば，裏を返せば，それによって有効なワクチンへの手だても考えられるかもしれない．また，その臨床応用はともかく，実験感染学的に昔から非常に，だれもが知っていて，だれもが説明できないことを説明したいということでした．

このリステリアを使った研究をしている過程で，私たちは次のようなことに気づきました．それは，生きた病原性の高いリステリアで，弱い感染を起こしたネズミには，プロテクションが誘導され，TH1 細胞が誘導される．しかし，死んだリステリア，これは加熱をしてもホルマリンでも，そういうことは誘導されません．ところが生きていても，彼らがファゴソームからエスケープして生き延びるための菌の病原因子である，***hly*** という遺伝子をノックアウトしてやった菌では，この菌もワイルドタイプの菌も，培地の上では全くその増殖は変わらないにもかかわらず，感染させてやっても免疫が誘導できないことがわかりました．さらにいろいろ調べていきますと，その免疫をされた動物の体内では，非常に早期に，このグループのマウスにおいてだけ，内因性のインターフェロンガンマの発現が非常に強く誘導されるけれども，この 2 つではだめだということがわかりました．

このことが何を意味するかというと，免疫が誘導されるときには，早期に内因性のインターフェロンガンマがたくさん出る状況でないとだめだということです．これは昔のオブザベーションですが，今のように TH1，TH2 が，やや極端にアクセプトされ，インターフェロンガンマの役割が教科書に載る時代では，これはあたりまえのオブザベーションなのです．そのような昔のオブザベーションから，私たちは次のようなことを考えました．

つまり，内因性のインターフェロンガンマが重要である．そして，一つの遺伝子をノックアウトしただけで，それが起こらなくなるということには，単純化すればこの ***hly*** という遺伝子産物である LLO というバクテリアのトキシンが，ダイレクトにマウスにインターフェロンガンマを誘導させるのではないか．死菌は，遺伝子 DNA は壊れていなくて，あってもいいわけですが，殺していますので蛋白を作れません．ですから，これは当然作らないわけです．そのようなことを一つの仮説として考えました．

と同時に，本当にこの内因性のインターフェロンガンマを in vivo でブロックしてやると，プロテクションが誘導できないかどうかということを，動物実験をしました．簡単に申し上げますと，そのとおりであり，免疫をして最初の数日間だけ，マウスのインターフェロンガンマを中和する十分量のラットの抗体を投与してやりますと，出るべきこのプロテクションが全く出てこないことがわかり，この内因性インターフェロンガンマの重要性がわかりました．

そこで私たちはその仮説を検証すべく，私がまだ新潟にいたころには，培養上清からリステリオリシン O を作っていました．これはカラム使って精成するわけです．そして，このネイティブなリステリオリシン O というバクテリアの毒素蛋白を生成し，マウスの脾臓の細胞にかけてやりますと，確かに用量依存的にインターフェロンガンマが培養上清中に産生されることがわかりました．この毒素には，宿主にインターフェロンガンマ誘導活性があることがわかりました．

さらに，そうであるとすれば，このインターフェロンガンマが TH1 の分化を促進させるという考え方に立てば，単独では防御免疫が誘導できない，例えば Δ***hly*** 株による免疫において，LLO という蛋白をアジュバントのように使えば，プロテクションが誘導できるのではないかという考えに基づいて，そのような動物実験を行いました．

そうしますと，野生株で感染を起こさせると，1 週か 10 日後に防御免疫が誘導でき，TH1 が誘導されますが，死菌や Δ***hly*** というノックアウト株ではだめです．この Δ***hly*** 株と同時に，ある方法を使ってリステリオリシン O を一緒に混ぜてマウスに打ってやります．死菌に混ぜて打ってやりますと，LLO だけを打ってもだめなのですが，こういう抗原と LLO をアジュバント的に使うと，防御免疫や TH1 が誘導できることが証明できました．つまり，そのような仮説は正しいであろうということになります．

そこで，私たちが次に知りたいと思ったことは，本来リステリオリシン O は，細胞膜を壊すバクテリアの毒素タンパクです．これは血液寒天培地の上では，A 群溶連菌として知られている，ストレプトコッカス・ピオジェネス（***Streptococcus pyogenes***）のように，コロニーの周りに溶血斑を作ります．その溶血斑は，周りの赤血球が壊れて溶血しているわけで，非常に長い間，このリステリオリシン O というものは溶血毒としてのみ知られていました．

そのような溶血性，もしくはファゴソームを破る，つまり生体膜を破るという毒素が，なぜ生体にとっては都合のいいサイトカイン誘導という別な側面を持っているのか．一つの分子に，そのように全く違う活性があるのは，いったいどういう機構になっているのか，そういうことを少し詳しく調べようと思いました．

4年少し前に，私は京都大学の方に移る機会があり，ゼロからラボをつくって，最初は2～3人から始めたのです．動物実験が，いろいろな事情でできにくい状態にありましたので，しかたなくもう少し試験管の仕事，バイオケミカルな仕事で，それを明らかにしようと考えました．幸い，私たちの力ではありませんが，すでにこのリステリオリシンOをコードする *hly* という遺伝子のシークエンスがわかっていました．ただ残念ながら，まだだれもLLOの立体構造を明らかにした人はいないわけです．この同じファミリーの毒素蛋白は，グラム陽性菌に分布していますが，クロストリジウム・パーフリンジェンス（*Clostridium perfringens*）が産生するパーフォリンゴリシンOという分子の結晶解析の結果が，1998年，“Cell”に載りました．このような4つのドメインから成っています．

このアミノ酸シークエンスは，非常にホモロジーが高いので，この構造をもとに調べていくと，LLOの，これはアミノ酸のシークエンスですが，このようにドメインが分布しています．1, 2, 3というのは非常に折り畳まれていて，コンプレックスになっているので，これを切り離した，ドメイン1だけの標品やドメイン2だけの標品を作ることは難しいのです．ここでヒンジがあり，ドメイン4だけは一本鎖になっているということがわかります．

そこで，私たちはリコンビナントの蛋白を作ってみました．まずフルサイズのものを作ってみますと，確かに私たちが作ったリコンビナントLLOは溶血活性を示しました．これを細胞にかけて電子顕微鏡で見ると，ここにありますように，少し小さいのですが，孔が形成され，細胞傷害性があるということがわかりました．ここにありますように，溶血活性を見ますと，このリコンビナントは用量依存的に非常に速やかにサーチュレートして，非常に強い細胞傷害活性を示します．

ところが，この状態で細胞にかけてやりますと，細胞から障害されてインターフェロンガンマの産生は認められません．ところが，非常に少量のコレステロールで処理をしてやりますと，その溶血活性が完全になくなってしまうのと反対に，サイトカイン誘導活性が出てきます．つまり，この分子はたぶん膜のコレステロールにくっつくのです．しかし，フリーのコレステロールをかけてやりますと，常に毒素がブロックされて，膜にくっつけなくなる代わりに，なぜかサイトカイン誘導活性が前面に出てくるというように考えられました．

そこで，それを明らかにするために，私たちはこのフルサイズのLLOを，いろいろ切ったりアミノ酸を入れ替えることをしました．そして，たくさんのリコンビナントを作りました．その一部をお示ししますが，これは第4ドメインを構成しているC末端部分から少しずつ削っていったものです．このように，シルバーステインで，シングルバンドになるような標品を作りました．

そうしてみますと，結論だけ申し上げますと，このC末端の第4ドメインを削っていくと，すぐに細胞傷害活性はなくなってしまうことがわかりました．ところが，サイトカイン誘導活性は，このC末端を削っていっても結構残っているということがわかりました．しかしながら，第4ドメインだけの分子量の小さな標品を作ってやりますと，それ自身には溶血活性もなければ，サイトカイン誘導活性もないことがわかりました．

少し時間が足りなそうなので，この辺は飛ばしますが，薄層を使ってコレステロールへの結合能を見てみますと，フルサイズのものと第4ドメインには，コレステロールへの結合能があるけれども，C末端を少しでも削ってやると，それがなくなることがわかりました．さらに，コンピペティティブ・アッセイをすることにより，このドメイン4という短い分子は，フルサイズの毒素による細胞障害活性を用量依存的にブロックできるけれども，サイトカイン誘導活性はブロックできないことを知ることができました．

つまり，第4ドメインは，細胞膜のコレステロールにくっついて細胞傷害活性を発揮するのですが，それとはどうも別の，無関係のN末端側の方の部分が，細胞と何らかのインタラクションして，サイトカイン誘導を引き起こすことがわかりました．

このシェーマにありますように，ドメイン4というのは，この膜のコレステロールにくっついて，このような構造を取ると考えられています．オリゴマーを作って，私たちが電顕で見たような穴を開ける．このプロセスには，第4ドメインを介する膜コレステロールへの結合と，1－3ドメインも含まれたオリゴマーの形成，このメカニズムはまだよくわからないのですけれども，重要であることがわかります．サイトカインのシグナルを入れるには，ここだけで十分であるということがわかりました．

次に私たちがやりましたのは，このリステリアという病原菌の仲間には，少し病原性が落ちますが，いくつかの菌種があり，その中の残り2つの遺伝子を見てみますと，非常によく似た病原因子遺伝子群があります．しかし，*Listeria welshmeri* と *Listeria innocua* という環境から見つかる非病原菌には，ここからここまでの病原因子遺伝子群がごっそり欠落しています．どこからか，入ってきたのかもしれません．そして，それをよく検討し，シークエンスも調べてみますと，この *hly* と非常によく似た，80％ぐらいのホモロジーを示すようなヘモリシンがコードされていることがわかりましたので，私たちはこの2つの異なったヘモリ

シンも作ってみることにしました．

当初は，私たちは最初に観察したリコンビナントLLOと同じようなことを予想したわけです．ところが，作った結果はどうも様相が違いました．一つは，*Listeria seeligeri* の遺伝子であるLSO遺伝子がコードしているseeligeriolysinという530アミノ酸から成るリコンビナントなのです．インターフェロンガンマ誘導活性は同じようにあるにもかかわらず，LLOに比べると，膜傷害活性が非常に低いことがわかりました．なぜそうなのか．いろいろなことを調べていくうちに，そのC末端に近いこのアミド化ペプチドのこのコンサーブされた領域の，本来Alaであるところが，Pheに置き換わっていることがわかりました．そこで，このAlaとPheを取り換えてみることをしてみました．

そうしますとわかったことは，このペプチド配列の中のAlaが，cytolytic activityの発現にはかなり重要であり，もともと遺伝子レベルでこれが置き換わってpheになっているために，LSOのcytolytic activityは弱いのだということがわかりました．

またもう一つこれから得られる情報は，このC末端でそのようなことが起こって細胞傷害活性に変化が出ても，N末端側がたぶんやっているだろうと思われるサイトカイン誘導活性には影響がないということで，これも私達の仮説をサポートするものです．

もう一つの菌である *Listeria ivanovii* という菌の持っている *ilo* 遺伝子産物であるivanolysinというやはりこれも528個のアミノ酸から成る蛋白を作ってみますと，非常に強い細胞傷害活性を示しました．

ところが，またこれも予想に反して，ILOは，LLOが示すようなインターフェロンガンマ誘導活性を示さなかったのです．そこで私たちは困り，このN末端が重要であろうから，ここが何かおかしいのだろう．そうすれば，これを置き換えてやれば，つまりいわゆるドメイン・スワッピングをすれば回復するのではないかと考えました．そういうドメイン・スワッピングをやってみましたら，確かにそのとおりで，この強いものの1−3ドメインをこれに持ってきて変えてやりますと活性が出ますし，この1−3ドメインを，ない1−3ドメインにスワップしてやりますと活性がなくなることから，1−3ドメインが重要であることがわかりました．

ただ問題は，非常にホモロジーの高い3つの蛋白でありながら，なぜあるものはサイトカイン誘導活性がほとんどなく，あるものはcytolytic activityが低いのか？．私たちの興味は，TH1を誘導するうえで必要なサイトカイン誘導活性ですから，cytolysisではなくて，サイトカイン誘導活性の本体がどうなっているかということを知りたい訳です．

それで，この1-3ドメインのこの辺に注目し，いろいろなことを考えてみました．コンピュータでいろいろな解析をしましたが，サイトカイン誘導活性があるものだけに共通で，こちらにないというシークエンスやアミノ酸を見つけ出すことができませんでした．しかしその後，少しずつ削っていく実験から，どうもこのシグナル・シークエンス以降の大体20番目ぐらいまでのアミノ酸が，特に重要だということがわかりましたので，これをいろいろアミノ酸を変えるようなことも考えました．

そして，あるときこのシークエンスを，いろいろあちらから眺めたり，こちらから眺めたりしていて，ハイドロパシーを描かせてみたわけです．そうしたら，サイトカイン誘導活性があるこの2つと，ILO，サイトカイン誘導活性のないものを並べますと，非常によく似ている．ところが，どこが違うかというと，この一番エクストリームN末端のところを拡大しますと，こういう違いがあるのです．そこで，これは大体12～13番目ぐらいまでのアミノ酸の，オリゴペプチドで書かれるハイドロパシーなのですが，そこで13番目ぐらいまでのアミノ酸が重要ではないかと考え，今度は13番目までのアミノ酸をいろいろ入れ替えることをやってみました．

そうしますと，必ずしも望んだとおりの結果ではありませんでしたが，本来活性があるこのようなフルサイズのものの13番目までを，活性のない由来のものに置き換えただけで，活性がなくなることがわかりました．しかし残念ながら，活性が全くないものの13番目を活性のある13個のアミノ酸に置き換えても，少し上がったのですが，これがどんと上がることはありませんでした．

次に，これは34番なのですが，N末端から順番にオリゴペプチドをオーバーラッピングペプチドを作って，そのものに単独でサイトカイン誘導活性がないかということをかなりお金をかけて調べましたら，残念ながら，そのような活性は，オリゴペプチドそのものにはありませんでした．やはり全体としての構造，その中でN末端の部分がとっている何らかのコンフォメーションが大事だろうと考えられました．まだ結論は出ていませんが，どうもPEST sequenceというものが，かなり重要な意味を持っているのではないかということが，今の一つの作業仮説です．このPEST sequenceは，本来は細胞の中でいかなる蛋白であれ，どのようなデグラデーションを受けるかという，一つのデグラデーションを受けやすさのシグナルになっているものです．詳細は省略しますが，簡単に言いますと，サイトカイン誘導活性がある蛋白のN末端には，PEST scoreが高い．ないものには，このPEST配列が認められないということに気がつきました．

そのサイトカイン誘導活性があるものには，このPEST sequenceがある，これにはない．そこで，

PEST をなくすことをしました．アルギニンをトリプトファンに置き換えることをして，PEST score をなくしてやりますと，この場合にはチョッピングやドメインスワップではないので，シークエンスは全く一緒で，アミノ酸の数も一緒で，アミノ酸の種類が 1 個だけ置き換わっていることになるわけです．この Lys を置き換えただけで PEST score がゼロになり，サイトカイン誘導活性がなくなってしまうが，溶血活性はなくならないことがわかりました．

ここで少し話が変わり，LLO のこのようなサイトカイン誘導活性によって，どのようにしてインターフェロンガンマが産生されるのかについて，in vitro での結果をお示しします．いろいろな細胞を分画するとか抗体を使う，ノックアウトマウスを使うことによって，何がわかったか．このインターフェロンガンマを出すうえで何が大事かというと，NK 細胞とマクロファージ系の細胞が大事であり，dendritic cell も関与していること，サイトカインとしては，IL-12 と IL-18 が大事だということがわかりました．それは，IL-12 のノックアウトマウスや IL-18 のノックアウトマウスを使っても確認することができました．漫画で書きますと，つまり LLO という菌の蛋白毒素は，マクロファージを最初に刺激して，IL-12 や IL-18 を出させる．これにより，NK もしくは NK+DC から，インターフェロンガンマがたくさん産生されることにより，TH1 の分化が起こると考えられます．

このようなバクテリアのプロダクトが，マクロファージという innate immunity を刺激することは，この数年来，非常にもてはやされており，特に TLR にからんだ研究が進んでいます．私たちも当然，この LLO という蛋白が，TLR を介してマクロファージを刺激するのではないかと想定し，TLR のノックアウトマウスを入手してやってみました．

非常におもしろいことには，これはまだパブリッシュしていないのですが，これまでにないオブザベーションとなります．それは TLR の 2 と TLR の 4 の両方が必要であることです．そして，どちらか欠けているだけで起こりませんので，これはどちらも使っているのではなく，たぶんヘテロダイマーか何かになっていないと，だめだということになるわけです．そういうイグザンプルは，これまでないわけです．そのせいもあってなかなか通りにくい．

そしてもう一つ，確かに TLR を使っていることを証明するためには，MyD88 という，TLR すべてのファミリーに共通しているアダプター分子を，ノックアウトしたものを使えばいいわけです．これも審良教授から頂戴してやってみますと，TLR2 を使うペプチドグリカン, TLR4 を使う LPS，どちらもこの MyD88 のノックアウトマウスでは全然，反応がない．そういう状況で LLO も反応を起こさないということで, TLR を使っていることはまちがいないし，ノックアウトから 2 と 4 の両方を使っているらしいということができます．

もう一つ，これをサポートするためには，例えば HEK cell のような細胞に TLR をトランジェントにエクスプレスさせてやり，この強制発現系でどう反応が起こるか，NF-κB のアクチベーションを見るという方法があります．それをやってみますと，まだこれは十分とは言えませんが，TLR の 2 と 4，もちろんそこに CD14 と MD2 がいるわけですが，それらを発現させたときに最もいい反応が起こることから，結論としては，たぶんこのエクストリーム N 末端の部分が（もう一つ何か介しているかどうかまではわからないのです．いろいろ探しているのですが），少なくとも TLR の 2 と 4 を介して，NF-κB アクチベーションのシグナルを入れて，それにより IL-12 や IL-18 の産生が起こり，インターフェロンガンマ応答が最終的に起こり，TH1 が誘導されるであろうと考えられます．

最後に，ここで申し上げたいことは，細かいことは置くとして，バクテリアは非常に巧妙な仕組みを使って，私たちがこれまで evolve してきたというか，獲得してきた生体防御機構をすり抜けようとしたり，これを壊そうとしたりするわけです．それがビルレンス・ファクターなわけです．ところがよく見てみると，この例のように，そのようなビルレンス・ファクターを一つのアラームとして，私たちというかネズミなのですが，動物は「もう一歩上の方策を繰り出すべき」という，シグナルとして使っているのではないかと．そのようなせめぎ合い，しのぎ合いの過程で，今の私たちがあり，今の私たちが見ている免疫機構，免疫防御機構があるのではないかということが，伺えるのではないかと思いました．

時間をオーバーしてしまい，あまり臨床のお役に立つお話ではなく恐縮ですが，以上です．

座長：光山先生，大変興味深いお話をいただき，どうもありがとうございました．質疑応答です．はい，どうぞ．

参加者：ありがとうございました．非常にプリミティブな質問になろうかと思いますが，先生のお話ですと，リステリアのエスケープ現象は，免疫した場合には，マクロファージ内でスーパーオキサイドなり，ナイトリック・オキサイドを大量に産生するゆえに失われるのだと，こういうお話ですね．TH1 系のマクロファージ・エスティメート・ファクターにインターフェロンガンマを含み，それによって，細胞内の濃度が高まるというお話ですね．

光山：はい．

参加者：実は，私どもも肝のマクロファージを使って，これは P. アクネスなのですが，プライミングという状態が起きて，そのときに細胞内でいったいそう

いう TNF にしろ，あるいはスーパーオキサイドがどうであるかは，動態を見ていないのです．しかし，もう一つそこに excitation を LP3 で刺激しますと，それが大量に産生され，細胞外に放出されて，toxicity を発揮するという現象をとらえているのです．しかも，そのときにはプライミングを起こす刺激因子が，やはりインターフェロンガンマなのです．その 2 つの間で何か違いがあるのかどうか，私の質問をもう 1 度繰り返しますと・・・．

光山：わかります．先生がおっしゃっている系は，昔から非常に有名なものです．

参加者：ええ，昔からあるものです．

光山：P．アクネスで前感作をしておいて，LPS をシステミックに投与すると，ものすごい肝障害が起こるし，そのときに血中に TNF やインターフェロンや，サイトカインが出るわけですね．その系を使って兵庫医大の岡村さんが見つけたのが，IL-18 なのです．そこで起こっている現象と・・・．

参加者：先生の先程のマクロファージの中で，ナイトリック・オキサイドにしろ，スーパーオキサイドが大量に存在する．それがエスケープ現象をブロックするのだという，こういうお話だったと思うのですが．

光山：はい．

参加者：つまり，細胞内に，すでにそこにものが存在しているというメカニズムなのですが，私どもの見ているものは，産生能を高める，要するにプライミングを起こしているだけであるということなのです．インターフェロンガンマであるということもつかまえています．

光山：P．アクネスは，私はあまり経験がないのですが，あれを接種しますと，顕微鏡で切ってみますと，クッパーセルにたくさんいますね．たしか．

参加者：ええ．

光山：そしてヘパティックセルには，あまりないのではないかと思うのですが．

参加者：何がですか．

光山：P．アクネスの菌体です．

参加者：いや，これは動物モデルとして，たまたま使っているのであって，P．アクネス自体が普通の人間の肝細胞にいることはありません．

光山：ですから，これは私の考えですが，実はその P．アクネス＋LPS の系を使っている方は，日本でも世界でも非常にたくさんの方がいらっしゃると思うのです．けれども，おそらくだれ 1 人としてその前感作に使った P．アクネスが，どのような動態で，どのように分布していて，何を刺激しているかを分子レベルで知っている人はいないと思うのです．わずかに最近いわれているのは，例えば TLR のエクスプレッションが変わっているかということを見ると，非常に高まっているという実験系がいくつかあります．それによって，FPS で次に provocation するのかと思いますが，そういう実験が・・・．

参加者：私どもは TNF α とスーパーオキサイドです．

光山：なるほど．やはりそのプロボケーションで行かなくなりますか．

参加者：そうです．プロボケーションで広範な肝壊死を起こすということは，10 年以上前からいくつか証明していますけれども．細胞内で見たことはないのです．今，先生のお話を聞いて，少し疑問に思ったというか．

光山：十分お答えできなくて申し訳ありません．

座長：あと一つだけございますか．はい，渡辺先生．

渡辺（埼玉医大・生理）：LLO のドメイン 4 がコレステロールについて，細胞膜を破壊して溶血する．私は細菌の細胞膜や壁，あるいはそういう細菌が LLO をどうやって放り出すのか，全然わかっていないからこういう質問をするのです．リステリア自身に，その膜の崩壊をこの LLO が起こさない理由は，コレステロールがないとか，あるいは何かそういう理由なのでしょうか．

光山：自分が壊れない理由ということですか．

渡辺：ええ，自分自身．

光山：それは確かに，ごもっともなご質問だと思います．LLO を，それがリコンビナントでもネイティブでも，我々が作ったものを，せっせと菌にかけてどのくらい傷害がないのかということを，コンファームしたことはありません．しかし，おそらくこれは細菌の膜にはコレステロールがありませんので，コレステロールがないことが，たぶんインタープリテーションとしては一番考えていいのではないかと思います．

それから，これはリーダーシークエンスがありますが，25 個のアミノ酸がシグナル・シークエンスでついていて，そのプロボークされるところのメカニズムは，必ずしもコンファームされてはいないのですが，外に出ていって切り離されます．そして外で働くわけですが，この菌の場合には，グラム陽性菌で比較的セルウォールが強いので，大腸菌などとは違い，cytoplasmic membrane の外側には，かなり厚いギャップがあるわけです．

ですから，うまく出してしまえば，例えばコレステロールのあるなしで説明できますが，感受性が多少あったとしても，cytoplasmic membrane へのアクセスはほとんど不可能になると思いますので，その 2 つで一応解釈はできますけれども，実験的にそれを実際に見て確かめたことはありません．

渡辺：そうすると，いずれにしてもドメインの 1–3 のあたりが，うまく組み合うことによって，膜に穴を開けていくとか，そういうメカニズム自体は存在しているわけですか．

光山：メカニズムとしては，実はこれはものすごくバ

イオケミカルな人たちの中には，ステプトオリシン O とか，LLO を使っている人はいないのですが，パーフリングオリシオン O を使って，そのモデルでどのように配列するのかを，一生懸命やっているグループが世界に 3 つぐらいあるのです．これは全く感染や免疫，宿主応答，病原性など全く無関係に，物として，蛋白の一つのモデルとして，やっていらっしゃる方があるのです．

そのグループが，JBC などにときどき出しているものを見ますと，まだよくわからないのですけれども，パーフォリンゴオリシン O などは，ドメイン 4 でコレステロールにくっついて，そうすると，ある物理科学的な力がかかって，1–3 の丸いドメインが，ある角度でベントしてくるのです．そしてそれが並ぶ．実際に並ぶのは電顕的に証明，見ることはできるのですが，なぜそのライニングするのか．固まりになってふさぐのではなく，なぜ孔が開くのか．それはまだよくわからないのです．

もう一つは，やはりこの細胞から言うとコレステロールといえば，ラフトです．リピッドラフトがどのように存在していて，もしかすると，そのシグナリングにはラフトが関係しているのではないかという可能性が非常にあります．ラフトの研究も含めてやっているのですが，そういったことも関係あるかもしれません．そんな状況です．

渡辺：どうもありがとうございます．
座長：それでは，光山先生，どうも興味深いお話をいただきまして，ありがとうございました．それでは，ブレイクを 10 分間取らせていただき，6 時 20 分から次の演題に入らせていただきたいと思います．よろしくお願いいたします．

© 2003 The Medical Society of Saitama Medical School

シンポジウム

レジオネラ感染症の最新の診断と治療

舘田　一博
（東邦大学医学部・微生物学講師）

座長　別所正美（埼玉医科大学第一内科学教授）

舘田先生は，昭和60年長崎大学医学部卒業，平成2年東邦大学医学部の微生物学教室の助手になられています．その後，平成7年には同じく講師になられて，平成11年からはスイスのジュネーブ大学，それから米国のミシガン大学の呼吸器内科に留学されています．平成13年に東邦大学に復職され，現在に至っております．この間，舘田先生は上田泰記念感染症化学療法研究奨励賞，それから，日本抗生物質学術協議会奨励賞を受賞されています．現在，感染症学会評議員・編集委員，あるいは日本臨床微生物学会の幹事や化学療法学会評議委員などを歴任されており，大変活躍をされています．

今日のテーマは「レジオネラ感染症の最新の診断と治療」ということです．
それでは舘田先生，よろしくお願いします．

過分なご紹介をありがとうございます．東邦大学の微生物学教室の舘田です．よろしくお願いします．

今日は非常に大きなテーマですが，「新世紀の感染症学」というシンポジウムに参加させていただきまして，ありがとうございます．宮村先生，光山先生，生方先生とか，非常に有名な先生の中で，私などが出てくるような立場にありませんが，今，ご紹介がありましたように，世話人の前崎と同級生ということで参加させていただいているものと思っております．

私は，今，紹介にありましたように，長崎大学の感染症内科の出身で，前崎先生と一緒に研修医をやっていました．そのときは私の方が優秀でしたが，今は立場が逆転してしまって非常に悔しい思いをしています．その悔しい思いを，今日の発表に込めてやっていきたいと思います．よろしくお願いします．

今日のお話は今，何かと話題の「レジオネラ感染症の最新の診断と治療」ということでタイトルをいただきました．私の教室は基礎の教室ですが，実際には基礎と臨床の両方をやっているような教室ですので，そういう意味ではレジオネラ症の疫学，あるいは診断の部分についてもお話しさせていただければと思います．また，後半では基礎的なリサーチの部分についても，いくつかご紹介させていただきたいと思います．

レジオネラ菌はよくご承知かと思いますが，グラム陰性の細胞内寄生菌であり，自然界，特にその辺の水とか土壌とか，クーリングタワーを調べれば，ほとんどまちがいなく検出されてくるような非常にポピュラーな細菌です．そして，その感染症は市中肺炎の3～16%．あるいは院内感染の原因としても重要であることが報告されています．また，インフルエンザ様の急性感染症としてのpontiac feverの原因となることも知られています．

この菌は最近，いろいろと話題になっていますが，ルーチンの細菌検査では培養されてこない，そういう意味では，まだまだ見逃されている症例が多数ある感染症であると考えられます．

レジオネラを考えるうえで非常に重要なポイントは，その細胞内寄生性です．臨床的には，レジオネラ感染症に対して，細胞の中にいかないような薬剤，例えばβラクタムであったり，あるいはアミノグリコシドで

あったり，そのような薬剤が全く効かないということに関連します．また，先程からTH1-type生体反応というお話が出ていますが，細胞内寄生菌に対する反応として，このTH1-type生体反応が，レジオネラ症の病態を考えるうえで重要になってきます．

レジオネラ感染症の歴史は，1976年のフィラデルフィアのホテルの宿泊客に，集団感染がみられたということにさかのぼります．この時，ホテルのクーリングタワーが汚染され，宿泊客，あるいは通りすがりの人の221人が肺炎に罹患し，34人が死亡．そして，剖検肺の中から新しい属，レジオネラ・ニューモフィラという菌が分離されてきました．

レジオネラ感染症の感染源としては，最初のアウトブレイクの原因となったクーリングタワーに加え，あるいは最近では温泉や，24時間風呂，循環式浴槽が重要であることが報告されています．いずれも大事なポイントは水の中で菌が増殖して，この場合にはアメーバの中での増殖が関与してきますが，それがエアゾールとなって，感受性宿主がそれを吸い込むというかたちで肺炎が発症してきます．

では，どのくらいのレジオネラ症が発症しているのかという点に関しては，まだわかっていない部分が多いようです．米国のCDCの報告によりますと，アメリカでは少なくとも年間1万から1万5000症例，本邦では平成11年の4月から感染症法によりその報告が義務づけられているわけですが，2年8か月たった時点でたったの294症例が報告されているのみです．アメリカと日本では若干の違いはあるかもしれませんが，欧米において90％以上が見逃されているという事実を考えますと，日本でもかなりの症例が，診断がつかずに見逃されていると考えるのが妥当かと思います．

そのような状況の中で，私どもの施設は厚生省のレジオネラ感染症研究班の1施設として，レジオネラの診断を開始しました．これが約10年ほど前のことですが，いろいろな施設で発症した肺炎，疑わしい肺炎の症例および検体を送っていただき，その検査を実施してきました．以下，その成績について少しお示ししていきたいと思います．

調査期間は92年10月から2001年9月までの9年間ということで，875症例を検討し，170症例，陽性率が19.4％でした．年度別のその報告数，検討症例数と陽性数というかたちで示していますが，このように検討症例数が増るに従い，陽性症例数も増えている傾向にあります．

167症例の年齢性別分布を示していますが，40代から70代に明らかなピークがあり，そして男女比は4対1で男性に多く見られています．この傾向は米国におけるそれとよく一致するものです．

起炎菌の内訳を示しています．起炎菌としては，レジオネラ・ニューモフィラのserogroup1，これが約50％で最も多く，それ以外の血清型タイプを合わせますと，レジオネラ・ニューモフィラで約70％を占めています．それ以外に*L.bozemanii*や*L.micdadei*，

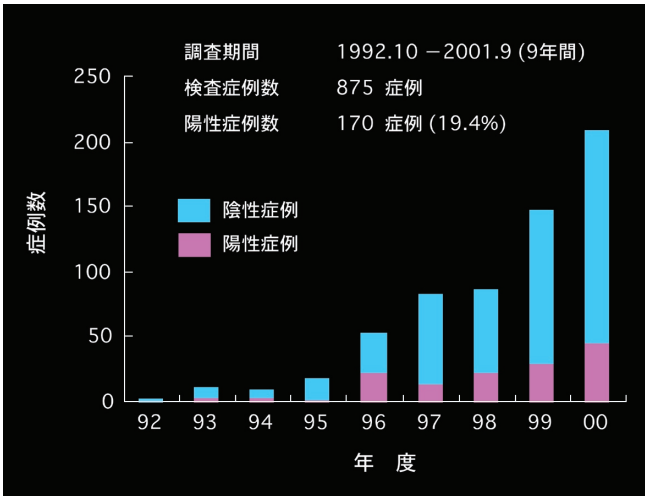


図1. 調査期間および症例数.

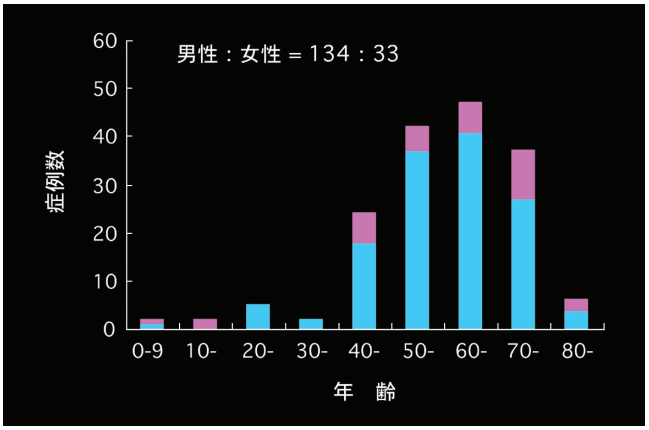


図2. レジオネラ肺炎患者の年齢・性別分布（167症例）.

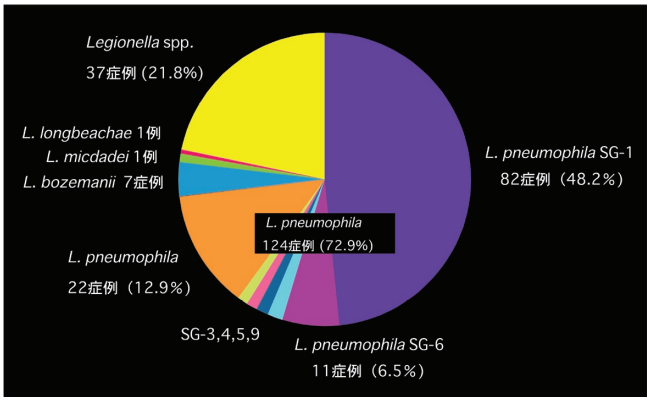


図3. レジオネラ肺炎の起炎菌分布 -170症例の解析 -.

L.longbeachae などがありますが，約 70％がレジオネラ・ニューモフィラであることは，これも欧米の成績とよく一致するものです．

症例をお示しします．42 歳の男性で，特に基礎疾患のない人です．1 週間ほど前から感冒様症状があって，近医を受診していたのですが，よくならないと思っているうちに，急激に病態が悪化して，当方の救急救命に運ばれてきました．このときに，すでに両肺野広範に浸潤影があって，低酸素血症が非常に強かったのですぐに挿管となりました．この時点ですぐにレジオネラを疑って，抗菌薬療法を開始しました．しかし残念ながら 1 週間後に亡くなるという経過を取っております．入院時に気管内採痰を行って培養しておきましたところ，約 5 日目でしょうか，レジオネラに特徴的なコロニーの発育が見られました．

レジオネラは先程申しましたように，一般の細菌培地には発育してきません．本症を疑ったうえで特殊な培地を使わないと培養することができない菌です．そして，このように 4 ～ 7 日で，大小不同の乳白色のコロニーを作ってくるわけです．

これは別の症例です．これは私が行っている 50 床ぐらいの病院で経験した症例です．46 歳の男性で，特に主な既往歴はありません．やはり感冒様症状があって近医受診，よくならないということで，再度，受診したところ左の下肺野胸壁に接して浸潤影を認めました．この時点で私が見させていただきましたが，いわゆる市中肺炎というかたちで治療を開始しました．治療として PIPC，の投与を開始しましたが，3 日後になって，明らかな陰影の拡大があり，全身症状の改善も見られないことから，おかしいと思いました．

そこですぐに，レジオネラの尿中抗原検査を実施しました．陽性結果が得られたために，レジオネラ肺炎の診断のもとに，PIPC から，クラリスロマイシンを含む抗菌薬療法に変更し，軽快したという症例です．このようにレジオネラの診断において，最近出てきた検査法ですが，尿中抗原検査が非常に効果的です．以下，少しそれについて触れていきます．

現在，いくつかの尿中抗原の検査法が利用可能となっていますが，その中でも特に免疫クロマトグラフィ法を用いたレジオネラ尿中抗原検出キットが非常に簡便で迅速です．患者尿をスワブで取って，キットに入れて試薬を 2 滴たらして，15 分後に陽性バンドの出現を見るだけです．ですから，これは本当に外来でもベッドサイドでも，どこでもだれでもいつでもできるという，非常に理想的な検査法の一つだと思います．

ここには私どもの施設で診断しました，レジオネラ肺炎症例の各種検査における陽性率をまとめて示しています．現在，培養検査と血清抗体価，尿中抗原，PCR 法等が利用できるわけですが，こちらに陽性率を示しています．尿中抗原，そして PCR における陽性率が 61％と良好な成績です．これは全症例で見ていますが，さらに培養陽性，レジオネラ・ニューモフィラ血清型 1 に限ってみますと，尿中抗原における陽性率が 84.2％と上昇してきます．この結果からもわかりますように，この検査は非常に有用な検査法ですが，残念ながら，まだ保険点数が通っていないという問題があります．

肺炎診断における尿中抗原検出の有用性を，このレジオネラ肺炎診断キットを通してみんなが認識するようになってきました．その理由としては，呼吸器検体に比べますと，検体の採取が容易なことがあげられます．そして，口腔内常在菌の汚染を受けることがありません．また，血中抗原の濃縮を意味するもので，診断的意義が高く，また尿は大量に採取することができます．そして，それをいくらでも，100 倍でも 1000 倍でも，やろうと思えば濃縮することができ，感度を高めることができます．また尿中抗原は，抗菌薬投与の影響を受けにくい，長期間にわたって排出されるという特徴があります．

実はこの感染症における尿中抗原の意義に関しては，すでに尿が病原体抗原のリザーバーになっているという報告が，1983 年の論文において報告されています．そのときに，いろいろな感染症における尿中抗原が検討されているわけですが，陽性を示すものとして肺炎球菌があり，レジオネラがあり，インフルエンザ桿菌，髄膜炎菌など報告されています．現在，先程のバイナックス社は，免疫クロマトグラフィ法によるレジオネラ，そして肺炎球菌の尿中抗原診断キットを開発している状況にあります．

さらに，それに続くものとしていろいろとやっているようですが，特に臨床から見てみますと，なかなか診断の難しい感染症，急性期に診断をつけることの難

図 4. 免疫クロマトグラフィー法によるレジオネラ尿中抗原検出キット．

しい感染症として，肺炎マイコプラズマ，あるいは肺炎クラミジアなどがあるかと思います．現在，そういう病原体においても，尿中抗原が出ていないかどうかについて検討が進んでいます．

ただし，問題点もあります．レジオネラ・ニューモフィラの血清型 I 以外の感染症を対象として，それぞれ培養検査，血清抗体価，尿中抗原，PCR の陽性率を見てみますと，尿中抗原の陽性率ががくっと下がっています．これに対して，血清抗体価の陽性率が 85％になっています．ですから，それぞれの検査法の長所と短所をうまく考えながら，それらできるだけ並行して行っていくことが，レジオネラ症の診断において重要かと思われます．

もう一つの診断法，PCR 検査によるレジオネラ診断としては，現在，そのプライマーターゲットとして染色体 DNA，あるいは MIP，あるいはリボゾーマル RNA などが考えられています．特に肺炎の診断ということで考えますと，呼吸器検体を用いることが一般的であったわけですが，最近になってそれ以外，つまり血清や尿においても PCR 診断で陽性になることがわかってきました．

その代表的なデータをここにお示ししておりますが，血清，尿，PCR 陽性例をピンクで示しています．感染してから 5 あるいは 10 日目を超えても，陽性を示す症例がかなりの頻度で入ってきます．もちろん，これはまだプレリミナリーな実験であり，すぐに臨床応用できるわけではありませんが，血清や尿は非常に取りやすい検体であることを考えますと，非常に重要な検査法になってくるのではないかと考えています．

今日のシンポジウムのテーマですが，「新世紀の感染症学」ということで，このレジオネラに代表される肺炎をどうやって診断していくか，その診断法はどのように変わっていくかを少し考えてみました．従来の呼吸器感染症の診断といいますと，喀痰や咽頭ぬぐいを用いた検査が一般的でしたが，そこにはどうしても大きな問題点がありました．すなわち常在菌の問題，あるいは汚染菌の問題です．

そういう中でレジオネラの例で見られますように，例えば無菌的な検体，BALF や胸水，特に血清や尿などに関しては，まさにこういうところに抗原が出ていることがわかれば，あとはどうやってその感度を高めていくかという問題になってきます．そういう意味では，新しいテクノロジーを用いて，これは日本が得意な分野でしょうが，いかに感度を高めるかによって，検査法が大きく変わってくる可能性があります．ここまで来ますと，ただ感度を高めるということだけですから，自動化がしやすい，迅速化も可能であるというメリットがあるかと思います．そういう意味では，いつになるかわかりませんが，肺炎球菌，レジオネラ肺炎に関しては，今の白血球の数，あるいは CRP と同様に血清や尿を取って，それを検査部に提出し，数時間後にこの方の診断は何々です，という検査になってくるのではないかと考えております．

レジオネラ肺炎の臨床的特徴をまとめてお示ししました．今回のサーベイの中で特別に新しいものはありません．従来から報告されていますように，市中肺炎として見られる症例がかなり多いです．レジオネラ肺炎というと，何となくコンプロマイズド・ホストにおける重症肺炎というイメージが強いのですが，その多くは市中肺炎として発症してきます．意識レベルの変化が約 30％，GOT，GPT，LDH，CPK の酵素異常もかなりの頻度です．そして陰影としては多発性陰影，肺胞性・混合性陰影の頻度が高いことも報告されているとおりです．また，胸部陰影に比して低酸素血症が強いことも特徴であり，その死亡率は約 20％でした．

これはペンシルベニア大学のエーデルスタイン教授から分けていただいた成績ですが，レジオネラ肺炎における死亡率をまとめて示しています．左には市中肺炎例，右には院内肺炎例を示しています．このように適切な治療が行われた症例における死亡率はそれぞれ約 10％，30％です．院内肺炎例ではそれぞれ 25％，75％になっています．このことからも，まだまだレジオネラ症は治療の難しい感染症の一つであると考えなければいけません．

スライドにはレジオネラに対する各種抗菌薬の in vitro 抗菌活性，MIC の成績をお示ししました．ニューキノロン系のスパルフロキサシンからカルバペネム系のイミペネムまでいろいろあるわけですが，ブレイクポイントから考えてみますと，いずれもほとんど 100％感性と判断されます．ところが，実際にはニューキノロン系，あるいはエリストロマイシン，リファンピシンといった薬剤は効くわけですが，薬剤感受性では効くと判断されるイミペネムではほとんど有効性が認められません．すなわち最初に申しましたが，MIC はあくまでも in vitro での抗菌活性です．レジオネラ症の治療を考えるうえでは，細胞の中へ移行のいい薬剤を選択しなければ，その治療効果は期待できないということです．実際にはマクロライド剤，ニューキノロン剤，あるいはそれとの併用としてのリファンピシンが第 1 選択薬になってくるかと思います．

幸いなことに，レジオネラにおいては，耐性菌はほとんど出ておりません．したがって，最新の治療ということでテーマをいただきましたが，特にこれらに代わるものはなく，今の時点では正しく診断ができ，このような薬剤が投与されればそれで OK ということになります．

レジオネラ肺炎を疑うヒントをまとめてみました．温泉や循環式浴槽など，エアゾールへの曝露の既往が

ある人．大体，潜伏期間が 1 週間から 10 日ということを考えて，そのくらいの期間の中で，エアゾールへの曝露があった症例については注意して対応する必要があります．また，急激に進行する肺炎，βラクタム，アミノグリコシドが無効．グラム染色で有意な菌が見られない．これが，まず疑ううえで重要になってくるかと思いますが，グラム染色で陰性，なおかつヒメネス染色，あるいはアクリジンオレンジ染色で陽性という場合には，レジオネラ症を強く疑ってきます．

これはレジオネラ感染を受けたマクロファージですが，グラム染色では，ほとんどその菌を識別することができません．ところが同じ検体を，ヒメネス染色で染色してみますと，このように細胞内で盛んに増殖するレジオネラが観察されます．肺炎の患者さんの喀痰を取ったら，ベッドサイドで染めてみる．もしグラム染色で陰性の場合であっても，レジオネラを疑うようであれば，ヒメネス染色を実施して，検査をおこなっていくことが重要かと思います．

次に本邦におけるレジオネラの集団感染事例について，お話を移していきたいと思います．1995 年から 1996 年にかけて，大学病院における新生児病棟において，院内感染事例が見られました．また，今年の 7 月から 9 月にかけて，宮崎県の日向市で患者数 295 人，死亡が 7 人という循環式浴槽を感染源とする非常に大きなアウトブレイクがありました．これは明らかになっただけのものですから，おそらくわからないところでのアウトブレイクは，かなりの頻度で起きていると考えられます．24 時間風呂，あるいは温泉が感染源となった症例も多数報告されています．

新生児病棟における集団感染時の院内の環境調査を，私どもでさせていただきましたが，加湿器，ミルク加温器，蛇口，シャワーといった水に関連するところから，かなりの頻度でレジオネラが分離され，それがいずれもパルスフィールドで，同一の菌ということがわかっています．ですから，この場合はもとになる水系が，レジオネラで濃厚に汚染され，それが各蛇口からばらまかれていたと考えられます．

一つレジオネラの院内感染対策において大事なポイントは，95％以上が市中肺炎として起きてくるわけですが，もし院内肺炎としてレジオネラを見た場合には，おそらくその医療施設の中の水系が汚染している可能性が非常に高い．ですから，1 例の院内感染型のレジオネラ肺炎であったとしても，その時点で環境調査を実施することが必要かと思います．

ここまでが臨床的なお話で，次に少し研究の分野について，いくつかご紹介してみたいと思います．

私どもは，ヒトのレジオネラ肺炎の臨床的なバックグラウンドを意識しながら，それをどうやって動物に持っていくか，そして病態を解析していくかということで，検討を行っています．そのうえで非常に大事な論文がこれです．これは 94 年に “American Journal of Pathology” に報告された成績です．この論文の中で，A/J マウスを用いることにより，ヒトの肺炎の病態に近いレジオネラ肺炎ができることが報告されました．

そこで，このモデルを使って検討を進めていったわけですが，実際にこの A/J マウスにレジオネラを感染させますと，感染 1 日目から 2 日目にこのように肺内菌数の増加が見られます．そして，マクロファージを見てみますと，貪食空胞の中で増殖するレジオネラが観察されます．

これはヒトのデータですが，以前，レジオネラ肺炎患者の血清を用いてその中にどんなサイトカインが出ているのかを検討してみました．そうしたところ，IL-4，IL-10 といった，TH2-type サイトカインがほとんど検出されないのに対して，インターフェロンγ，IL-12 が非常に高濃度で検出されることを確認しています．

では，このマウスモデルでどうかを検討してみましたところ，ヒトの病態と同じようにインターフェロンγ，IL-12 が Day2 をピークに認められましたが，IL-4 や IL-10 はほとんど動きません．すなわち，ヒトもそうですし，この A/J マウスモデルにおいても，TH1-type の生体反応が生じていることがわかりました．

これは教科書から取ってきたレジオネラ肺炎におけるサイトカインネットワークを示しています．マクロファージの中でレジオネラが増殖し，そしてこのマクロファージが TH1-type サイトカイン（IL-12，18）を産生します．それがエフェクター細胞からのインターフェロンγの産生を誘導し，そしてインターフェロンγ，TNF α等がマクロファージの活性化を通して，貪食・殺菌，クリアランスを促進していきます．

しかし，実際の肺炎病巣部にはマクロファージだけではなく，非常にたくさんの好中球が遊走してきていることが確認されています．レジオネラ感染症におけるこの好中球の役割は，あまりないのではないかというのが一般的な考え方でした．というのは，in vitro の系で，好中球とレジオネラを混ぜて貪食・殺菌を見てみますと，レジオネラは殺菌されないというのがわかっていたからです．

そのような中で，私どもはもう少し違う角度から検討して見ましたところ，好中球は，直接の貪食・殺菌という役割ではなくて，より immuno-modulatory な作用として，レジオネラ感染症に関与していることがわかってきました．

どういう実験を行ったかといいますと，好中球を特異的に減少させる抗体を，先程の A/J マウスの肺炎モデルに投与して検討したところ，好中球を減少させると，致死感受性が 100 倍にも亢進することが確認されました．この好中球を減少させる抗体は，感染する

1日前に1回投与するだけで，実際に好中球が減少しているのは感染の当日と1日目で，2日目にはほとんど正常のレベルまで好中球は戻ってきているという状況です．そのような状況の中で，肺内菌数を見てみますと，感染から1日目，2日目まで，ほとんど肺内菌数において差が見られません．コントロールのマウスは，菌数が減少して助かっていくわけですが，この急性期に好中球を減少させたマウスは，このまま菌のクリアランスがうまくいかなくて死んでいきます．

そこで実際に，このDay1，Day2，Day3を含めて，肺の中でどんなことが起きているのかを見てみたところ，非常におもしろいことに，このIL-12，インターフェロンγの産生が，好中球減少マウスで有意に低下していることが確認されました．それとともに，IL-4，IL-10といったTH2-typeサイトカインが上昇するという現象が認められています．

すなわち，レジオネラ感染症においては，TH1-typeの生体反応がその感染防御に重要でしたが，好中球を減少させるという状態において，そのバランスが微妙に変わってきます．すなわち，TH1-typeからTH2-typeにシフトするという現象が確認されたことになります．

そこで，どうしてなのかとなってくるわけですが，特にこのIL-12がどうしてこのように下がってくるのかということに焦点を当てながら，いろいろと検討をしていきましたところ，レジオネラ感染において好中球は，IL-12の産生源としても需要であることがわかってきました．実際に感染48時間後の肺のBALF細胞を抗IL-12抗体で染めてみますと，マクロファージは染まってきませんが，好中球が強く染まってくるという現象が確認されています．それとともに，この細胞を壊して，その中にどれだけIL-12があるかを確認しましたが，好中球数に応じたIL-12の存在が確認されています．

すなわち，この結果からわかってきたことは，レジオネラ感染症においては，好中球が今までの貪食・殺菌細胞としての役割だけではなく，おそらくIL-12産生細胞として，TH1，TH2の生体反応に影響を与えていると思います．

以上ですが，この研究に関しては，東邦大学の微生物学教室の先生方，また疫学，細菌検査に関しては，検査部の村上，岩田などの共同研究です．また，後半部分に関しては，ミシガン大学の呼吸器内科のProf. Standifordとの共同研究により実施したものです．ご清聴ありがとうございました．

座長：舘田先生，ありがとうございました．それでは，ご質問があれば受けたいと思いますが，いかがでしょうか．

前崎：学生時代は僕の方が成績がよかったと言いましたが，今は舘田君の方が難しいことを言っていまして，大変おもしろい話でした．ありがとうございました．

埼玉県は，実は日本で2番目に温泉が少ない県だそうで，一番少ないのは沖縄で，その次が埼玉県だそうです．埼玉県はおそらく温泉が少ないので，レジオネラも少ないかもしれません．

いつも疑問に思っていますが，宮崎の場合はたくさんの症例が出ましたが，温泉というのは，普通は

表1. レジオネラ肺炎の診断法

検査法	レジオネラ全症例		培養陽性SG1	
	陽性/検査症例	(%)	陽性/検査症例	(%)
培養検査	28/104	(26.9)	−	−
血清抗体価	64/162	(39.5)	6/20	(30.0)
尿中抗原	94/154	(61.0)	16/19	(84.2)
PCR	61/100	(61.0)	10/16	(62.5)

表2. レジオネラ肺炎の臨床的特徴のまとめ

- 95%以上が市中肺炎として発症
- 意識レベルの変化（約30%）
- GOT, GPT, LDH, CPKなどの酵素異常
- 多発性陰影、肺胞性・混合性陰影の頻度が高い
- 胸部陰影に比して低酸素血症が強い
- 死亡率　約20%

表3. レジオネラ肺炎を疑うヒント

- 温泉、循環式浴槽などエアロゾルへの暴露
- 急激に進行する肺炎
- βラクタム剤、アミノグリコシド剤が無効
- グラム染色で有意な菌がみられない

* ヒメネス染色あるいはアクリジン・オレンジ染色が陽性の場合にはさらに強く本症を疑う

まず疑うこと、そして特殊検査を実施

たくさんの人が入るのに，その中でレジオネラが発症する人は，ほんの数名です．臨床的に見ると，例えば 50～60 代の男の人で，たばこを吸っているような人を，リスクファクターだといいますが，どうして同じような菌を曝露しているのに，ある人は発症して，ある人は発症しないのかというのが，ホストの側から見ると，何か違いがあるのかどうか．いつも疑問に思っているのですが，その辺は実際にはどのように推測されているのでしょうか．

舘田：それは非常に重要な問題ですが，まだ良くわかっていないというのが現状です．先程，TH1-type 生体反応が重要であると言いましたが，そのお風呂に入った人で，TH1-type 生体反応が弱い人が発症しているのかどうか．そのような検討が必要になってくるかもしれませんが，実際にはそれは不可能なことです．

ただ，一つ言えることは，最初にお話ししましたが，エアゾールを吸入するか，しないかが重要であると思います．また，その入ったときのお風呂の水の中のレジオネラの濃度に，非常に強く関係するのではないかと思います．

ですから，たまたまお湯をきれいにしたあとでしたら，菌数は少ないでしょうし，お湯の交換の前であれば，増えているかもしれない．そのようないろいろなファクターが重なって，起きたり，起きなかったりということが，起きているのではないかと思います．

前崎：先日，びっくりしましたが，ある患者さんから電話がかかってきて，温泉に行ったそうですが，その温泉からレジオネラが出ましたので，「症状があったら，すぐに受診してください」と手紙がきましたということなのです．今の温泉は非常にレジオネラに対して敏感ですから，検査も厳しくやっています．そうすると，ある程度の菌量は出ますが，その人が私に聞かれたのは，「いつごろまでに発症しなかったら，大丈夫なのですか」．「温泉に行ったのはいつですか」ということで，「1 か月ぐらい前に行ったのだ」．手紙をもらったのはもう 1 か月過ぎていたのですが，そうしたら先生，大丈夫なのでしょうかということを聞かれたのです．疫学的には 1 週間ぐらいが一番ピークで，3 週間を過ぎれば大丈夫だといいますが，実際にそれで大丈夫なのでしょうか．

舘田：潜伏期間というところから考えますと，1 週間から 10 日というところでよろしいかと思います．ただ，1 例か 2 例，HIV の患者さんで，細胞性免疫が強く抑制されている宿主においては，半年してから，あるいは 1 年してから，また同じ菌の再燃による感染症が起きたということが報告されています．しかし，基本的に健常人の場合には，それでよろしいかと思います．

藤原（埼玉医大第三内科）：24 時間風呂に関してお伺いしますが，例の新聞をにぎわしたあと，国あるいは先生方が中心になって，全国レベルで陽性率などを調査されたことはありますか．

舘田：あの事例のあと，実は私どもの大学の学生と協力して 24 時間風呂のお水を集めて検査をしましたら，かなりの頻度でレジオネラが出ます．この場合，レジオネラだけではなくて，緑膿菌とか大腸菌とか，とにかくいろいろな菌が出てきますが．

藤原：それは地方にかかわらずですか．

舘田：東邦大学の学生の父兄ですので関東が中心になっていると思います．

藤原：僕も持っているものですから．もう一つ，呼吸不全が非常に強い場合には，酸素は，実際の現場ではどのようにするのですか．

舘田：それは非常に難しい問題だと思います．低酸素血症が強ければ，それは致死的になるわけですから，酸素は与えなければいけません．ただ，このように高酸素療法がレジオネラ肺炎を憎悪するという事実が明らかになってきますとより注意深く観察しながら酸素を投与するということが必要になってくるものと思います．現在，酸素の濃度，あるいは時間との関係等で，さらに実験を行っている段階です．

参加者：先程，先生は適切に治療しても，死亡率が 10％云々というデータをお示しになりましたが，あの適切というのは，どういうことですか．新薬を使ったら，まず問題はないというお話もありましたが．

舘田：あの適切・不適切というのは，基本的に β ラクタム剤，アミノグリコシド剤は無効であるという，そのような治療が行われた症例と，エリスロマイシンンを含む，マクロライド系抗菌薬が投与された症例と理解していただければよいかと思います．

上原（埼玉医大・小児科）：小児科の上原です．大変興味深く拝聴しました．尿中の抗原を大切にするということは，私は大変賛成です．私たちも千葉大におりましたとき，中村あきらさん，共同研究者，髄膜炎とか，肺炎で尿中抗原，肺炎球菌，インフルエンザ菌などでもチェックしました．適切な治療をしていても，二十数日ぐらいまで，尿中抗原がインフルエンザ菌の場合は証明できました．

レジオネラの場合は，どのくらいまで見つかるのでしょうか．

それから濃縮ですが，そのときは 10 倍ぐらいの濃縮でしましたが，先生は普通はどのくらいの濃縮に（今，いくらでもそれはやろうと思えばできますが），ルーチンにはやっていらっしゃるのでしょうか．

舘田：私どもの施設では濃縮はやっていません．

上原：私たちは全部，5 倍ないし 10 倍に濃縮しておりました．

舘田：たぶん，インフルエンザタイプ B による感染症でしょうか．その場合には，おそらく抗原量の問題が

あって，なかなか原尿では検出できないのかもしれません．そういう意味では，肺炎球菌やレジオネラに関しては，抗原量が多いのではないかと思います．

ただ，おそらく先程，ニューモフィラの1は検出できるが，1以外は検出できないという点を言いました．そのような病原体に対しては，濃縮してやることによって，さらに陽性率を高めることができると思います．

尿中抗原の推移に関しても同じです．やはり2週間，4週間も持続して陽性になるような傾向があります．

座長：それでは舘田先生，ありがとうございました．

参考文献

1) 山口恵三 他．Legionella肺炎の診断法と臨床的特徴に関する検討．感染症学雑誌 1997;71:634-43.
2) Tateda K. et al. Evaluation of clinical usefulness of the microplate agglutination test for serological diagnosis of Legionella pneumonia. J. Med. Microbiol 1998;47:325-8.
3) Tateda K. et al. Serum cytokines in patients with Legionella pneumonia: relative predominance of Th1-type cytokines. Clin Diagn Lab Immunol 1998; 5:401.
4) Tateda K. et al. Early recruitment of neutrophils determines subsequent T1/T2 host responses in a murine model of Legionella pneumophila pneumonia. J Immunol 2001;166:3355-61.
5) Tateda K. et al. Chemokine-dependent neutrophil recruitment in a murine model of Legionella pneumonia: potential role of neutrophils as immunoregulatory cells. Infect Immun 2001;69: 2017-24.
6) Tateda K. et al. Hyperoxia Mediates Acute Lung Injury and Increased Lethality in Murine Legionella Pneumonia: The Role of Apoptosis. J Immunol 2003;170:4209-16.

© 2003 The Medical Society of Saitama Medical School

シンポジウム

抗菌薬耐性菌感染症の現状とその対策

生方　公子
（北里生命科学研究所・感染制御・免疫学部門教授）

座長　前崎繁文（埼玉医科大学感染症科・感染制御科科長）
それでは，次のご講演をお聞きしたいと思います．次は北里大学の北里生命科学研究所の教授であられます，生方公子先生のお話をお聞きしたいと思います．
恒例ですので，生方先生のご紹介をさせていただきます．生方先生は昭和39年に日本女子大学理学部に入学され，43年にご卒業になられています．56年に日本医科大学で医学博士を取得され，43年から東京大学の小児科に最初はご勤務になられました．そのあと，帝京大学に移られ，帝京大学の臨床病理で助手，講師，それから助教授となられています．
私がちょうど東大でMRSAの仕事をしていましたときに，生方先生の教室に少しおじゃまさせることがあり，そのときに生方先生から「医者は実験ができないので，超遠心機を壊すな」と言われたことをよく覚えています．私はそのときに実験させていただきましたので，医者とはあまり見てくれなかったのかもしれません．そういう記憶があります．
そのときもMRSAをはじめとした，薬剤耐性菌の仕事をされていました．そのあと，途中，財団法人の微生物化学研究所に特別研究員として移られ，本年の4月から北里大学の北里生命科学研究所，感染情報学研究室の教授になられています．いわゆる薬剤耐性菌の耐性機構，それからそのサーベイランス，それから私がやっております院内感染，そういうものに非常に近いお仕事をされています．今日は特に市中の感染症の薬剤耐性菌のお話を伺えるものと思っております．

早速，始めさせていただきたいと思います．前の先生方が大変レベルの高いお話をしたあとで，非常に気が引けております．私はどちらか申しますと，感染情報学研究室という名前が示すように，臨床サイドと細菌検査室をつなぐ，いわばインターサイエンス的な研究をしております．本日はそのお話をしたいと思います．
私はもともと院内感染菌のMRSAについて，最初の耐性菌研究として始めました．現在はむしろ市中において発症する肺炎等の主要な起炎菌である肺炎球菌とインフルエンザ菌における耐性菌を研究テーマとしています．実はこれらの菌が非常に耐性化してきており，それが小児の間で髄膜炎の増加となって，問題化しています．本日はそのお話を中心にさせていただきたいと思います．
臨床の現場ではいろいろな耐性菌が話題になっていますが，市中で，どういった耐性菌によって発症すると，どのような症状がみられるかを調べますと，1か月のうちに4回以上，繰り返し受診したいわゆる遷延化した小児気道感染症例からは肺炎球菌とインフルエンザ菌が同時に検出される例が圧倒的に多いことが明らかにされています．平均治療日数は1か月以上となっています．次いで，肺炎球菌単独検出例が16例，インフルエンザ菌が6例ですが，治療に2週間以上を要しています．
臨床症状としては，膿性鼻汁がいつまでも続く，あるいは漿液性の鼻汁，それから咳がいつまでも

取れないといった特徴がみられます．問題は検出された菌ですが，肺炎球菌はすべて PRSP と呼ばれる耐性菌でした．インフルエンザ菌は急速に増加してきている BLNAR と呼ばれる耐性菌が多くなっています．つまり，従来は経口抗菌薬が有効であった市中における細菌が急速に変化してきているということです．市中において発症した成人における肺炎例の起炎菌をみますと，成人の場合には基礎疾患を有する例と，基礎疾患を有していない例で，起炎菌が明らかに異なっています．基礎疾患を有する場合は，肺炎球菌の検出率が高く，次いで，インフルエンザ菌です．ところが，基礎疾患を有しない成人例の場合には，むしろマイコプラズマ・ニューモニエ（肺炎マイコプラズマ），あるいはクラミジア・ニューモニエといった微生物が関与している例が多く，次いで肺炎球菌と，インフルエンザ菌であることが示されています．

一方，小児肺炎例では PCR によって起炎菌を特定しています．その成績で見ますと，インフルエンザ菌が 21%，次いで肺炎球菌が 17.6%，マイコプラズマ単独が 16.5%，マイコプラズマ＋その他の細菌が検出されたものが約 10%認められています．そのほかに，抗体価の上昇によってマイコプラズマ肺炎と特定できた例が 8.2%あり，マイコプラズマの関与する割合は約 30%となっています．

他方，肺炎球菌とインフルエンザ菌の混合感染と思われる症例が約 20%あります．いずれにしても，本日のテーマとして肺炎球菌とインフルエンザ菌は，小児において特に重要であることが示されていることになるかと思います．

一方，近頃は耳鼻咽喉科領域の先生方がこのような耐性菌に対して大変興味を持っております．と申しますのは，中耳炎を何回も繰り返す症例から検出される菌の場合において，耐性肺炎球菌とインフルエンザ菌が多いということが判ってきたからです．ここには耳漏，あるいは鼓膜切開液から検出される菌を示していますが，肺炎球菌が約半数例から検出されています．次いでインフルエンザ菌が約 3 割となっている．

本日はこのような耐性菌が，1）いつ頃から 2）なぜ増加してきたのか 3）どのような症例と年齢層で問題であるのか 4）耐性菌の特徴とその現状 5）最も注意すべき重症感染症とは何か，また 6）今後の耐性化動向を中心にお話ししたいと思います．

PRSP と呼ばれる耐性肺炎球菌は，1980 年代頃から報告され始めたわけですが，日本においては，この耐性菌はそれから約 10 年後に顕彰化してきたと推察されます．（図 1）私どもがストックしてありました菌について，遺伝子学的に検査をしましたところ，1987 年前後から軽度耐性の菌，すなわち PISP が出現してき

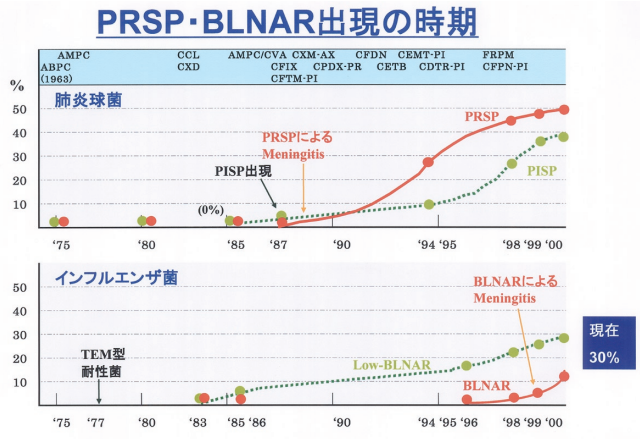


図 1. PRSP-BLNAR 出現の時期

ていることが明らかにされています．その後ほどなくして，PRSP による髄膜炎が報告されております．

そのことを契機に私どもはいろいろな研究会を組織し，耐性菌の疫学調査を行ってきているのですが，1994～1996 年にかけては，PRSP は 30%前後へと急速に増加してきていました．2000 年にはこの耐性率は全国平均で，50%前後となっています．一方，PISP の割合は 40%前後で，差し引き遺伝子変異を持たない感性菌は，現在 10～15%程度しかないという状況になっていることが示されています．

一方，インフルエンザ菌ですが，この菌では昔からβラクタマーゼ産生の耐性菌（BLPAR）が認められていました．これはプラスミド性の耐性菌です．ところが，1985 年ごろから細菌検査ではなかなか識別のできない新たな軽度耐性菌が出現してきました．このタイプは持続的に増えてきていましたが，1998 年頃からさらに耐性のアップした菌が出始めてきました．2000 年以降急速に増加してきており，最も注目されている耐性菌（BLNAR）です．

このような耐性菌が，どのような年齢層において問題になるかということがあります．図 2 に示すように，肺炎球菌の場合，PRSP の検出例は 1 歳代にピークがあり，年齢が高くなるのと反比例して暫時減少していることが示されています．成人でも多いのですが，成人の場合には喀痰を採取しなければならないので，なかなか私どものところに検体を送っていただくわけにはいきません．それで症例数が少ないのです．

それから，インフルエンザ菌も 1 歳に検出のピークのあることが，お判りいただけるかと思います．つまり，母体からの抗体が消失する生後 6 か月以降これらの菌による感染症が増加してきていることが示されているわけです．免疫学的な問題がバックグラウンドにあることが示されているかと思います．

最初に肺炎球菌のお話をしたいと思います．PRSP

と呼ばれる耐性菌ですが，この略語は penicillin resistance の肺炎球菌ということで，頭文字を取って PRSP と呼ばれます．軽度耐性菌の場合は，penicillin intermediate resistance ということで，PISP と呼ばれます．それから感性菌の場合には，susceptible ですから，S を取って PSSP と略しています．

PRSP の多くは β-ラクタム薬だけではなく，テトラサイクリン，マクロライド系薬等異なる系統の薬物にも，耐性を示すことから，multi-drug resistance の肺炎球菌という意味で，MDRSP という呼び方をする場合もあります．

これらの急速に増加してきている PRSP は，細菌細胞のどこが変化して耐性化しているかということがあります．図 3 に示しますと，細胞壁を合成する酵素（penicillin-binding proteins）の中の PBP1a，PBP2x，そして PBP2b 遺伝子が変異して耐性化していることが明らかにされています．つまり，耐性化には複数の遺伝子が関係している複雑なメカニズムになっています．

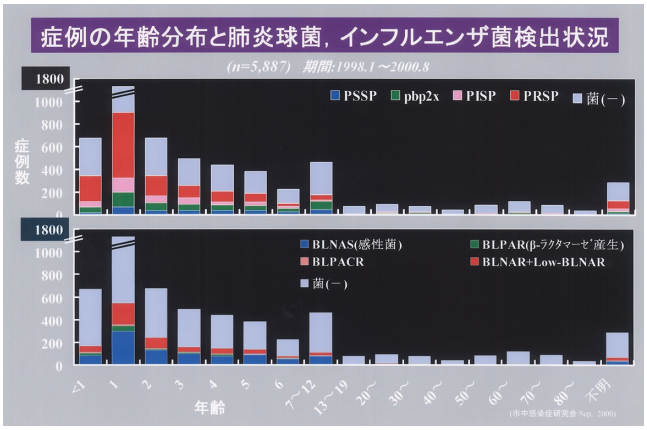


図 2. 症例の年齢分布と肺炎球菌，インフルエンザ菌検出状況

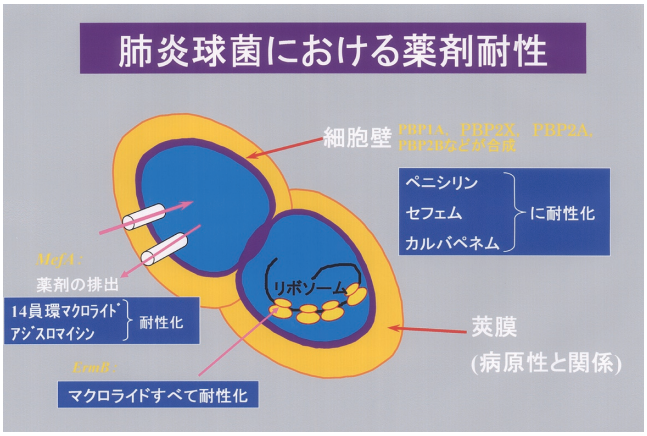


図 3. 肺炎球菌における薬剤耐性

MRSA の場合には，*mecA* 遺伝子と呼ばれる私どもがその遺伝子構造を明らかにした遺伝子ですが，肺炎球菌の場合には少なくとも 3 つが関係しているので，複雑な機構になっている訳です．

一方，PRSP とともにマクロライド耐性の菌が非常に増えてきています．この耐性メカニズムには 2 つの機構があり，一つは黄色ブドウ球菌でも知られているリボゾームをジメチル化する酵素の産生で，その遺伝子は *ermB* と呼ばれる遺伝子に乗っています．この遺伝子を持っている菌は市販されているマクロライド薬すべてに耐性化します．もう一つは，*mefA* という遺伝子に乗っているものですが，この場合には菌体内に取り込まれたマクロライド薬を排出する機構です．この機構を保持しますと，14 員環マクロライドと呼ばれる，マクロライドの微量投与法で使われるマクロライド薬のエリスロマイシン，クラリスロマイシン，アジスロマイシン等に軽度耐性化します．

このような耐性遺伝子を，私どもは PCR によって検索するシステムを構築し，キット化していますが，その詳細は本日は省略します．キットを使って耐性遺伝子を調べ基準薬であるペニシリン G に対する感受性と遺伝子変異の関係を調べました（図 4）．

日本では小児科，あるいは耳鼻科の先生方は，好んでセフェム系薬をお使いになられますが，欧米においては第一選択薬はペニシリン系薬で，アンピシリン，あるいはアモキシリンが勧められているという違いがあります．それが菌の耐性化にどのような影響を与えているかを見ますと，PBP1a，2x，2b の 3 つの遺伝子が変化した菌の場合は，MIC が 1 μg/ml から 4 μg/ml に集中して分布していることがおわかりいただけるかと思います．一方，耐性遺伝子を持たない PSSP の場合は，MIC は 0.031 μg/ml 以下にあるわけですから，耐性菌の MIC がたかだか 2 μg/ml 程度といっても，感性菌から比べますと約 100 倍近い MIC の上昇となっているわけです．

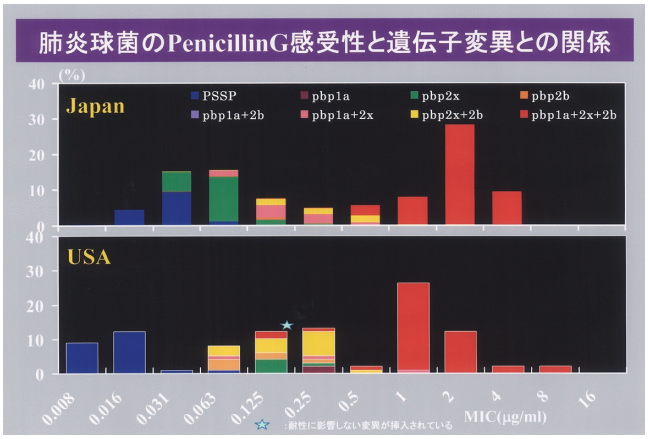


図 4. 肺炎球菌の PenicillinG 感受性問と遺伝子変異との関係

それから日本株と欧米株で違うのは，日本株ではPBP2x遺伝子のみだけが変異した株が約20％分離されています．ところが，欧米ではこの株が非常に少ないのです．この株は，セフェム系薬では0.125～0.5 μg/mlと，ちょうど感性菌と耐性菌の中間のところにシフトしてきています．つまり，セフェム系薬には軽度耐性化した菌といえます．

一方，欧米では，PBP2xと2bの2つの遺伝子が変異した株が約20％認められます．このPBP2bというのがペニシリンに耐性を与える遺伝子だといわれています．

PRSPの割合は確かに日本で多いのですが，欧米ではさらに高度耐性化した菌が出現しつつあることに注目しておかなければならないと思います．セフォタキシムのような注射薬ですと，血中濃度が非常に高くなりますので，1～4 μg/ml程度の耐性菌は治療可能と思われますが，MICが8 μg/ml以上となった菌の場合には，治療に難渋するかも知れません．

問題なのは，外来でお使いになられる経口薬ではどうかということです．代表的なセフポドキシム，セフジニルの感受性と遺伝子変異の関係をみますと，経口セフェム薬の場合には通常投与量を服用した場合，血中濃度はせいぜい1～2 μg/ml位にしかなりません．両薬剤ともPRSPに対する抗菌力は，4～8 μg/mlと血中濃度をはるかにオーバーしています．ですから，このような耐性菌で呼吸器感染症を起こしている場合，これらの薬剤を服用させましても菌はなかなか消失致しません．症状が遷延化する原因はこの点にあるように思います．

図5には6種類の経口薬の感受性累積分布を示します．1 μg/mlに血中濃度の目安として点線を入れてあります．現在外来で使われています薬剤の中で，ファロペネム，セフジトレン，図には示していないセフカペンの3薬剤しか，PRSPに対して1 μg/ml以下のMICしか示しておりません．菌を抑えることができません．ほかの薬剤では，ほとんどが1 μg/ml以上になっていることが示されています．このようなことがバックグラウンドにあって，PRSPが非常に増えてきたといえます．

もう一つ，マクロライド薬も相当量使われていますが，先程，2つの耐性メカニズムが存在すると申し上げました．一つは*ermB*と呼ばれるリボゾームを不活化する酵素を産生する遺伝子を持った菌です．これを保持しますと，図6に示すように非常に高度耐性化します．既存のマクロライド薬は効かなくなります．パープルで示しました*mefA*遺伝子を保持する場合には，14員環マクロライド薬とアジスロマイシン等に，0.5～8 μg/ml前後のMICを示す軽度耐性菌となります．これらも1 μg/ml前後にMICが分布しているわけです．この点が大変重要だと思われます．

このMICレベルを薬物の体内動態からながめたらどうなるかということです．図7に示すように，抗菌薬の臨床効果は菌の感受性の良否だけで説明できるものではなく，いろいろな要因が関与しています．一つは，抗菌薬そのものの優劣，菌のビルレンス（virulence）の問題，そして3番目は宿主側の問題です．肺炎球菌，あるいはインフルエンザ菌の場合は，その菌量も問題になるともいわれています．これらの菌は常在細菌の一面も持っているからです．また，多糖体でできた莢膜のタイプも重要です．

宿主側の問題としては，先程もお示ししましたように，年齢が非常に重要であること，また，免疫機能が低下してくる高齢者の場合にも問題になってきます．それから病巣部位，基礎疾患の有無も重要です．免疫学的に未熟な小児の場合には，保育園等の集団生活をしているかどうかも大変重要です．

一方，抗菌薬の場合には，一般的にMICという抗菌力の優劣のみで比較されてきました．しかし，本来

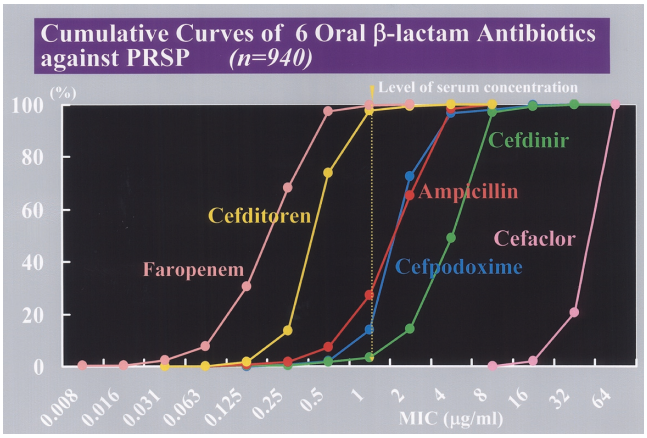


図 5. Cumulative Curves of 6 Oral β-lactam Antibiotics against PRSP (n＝940)

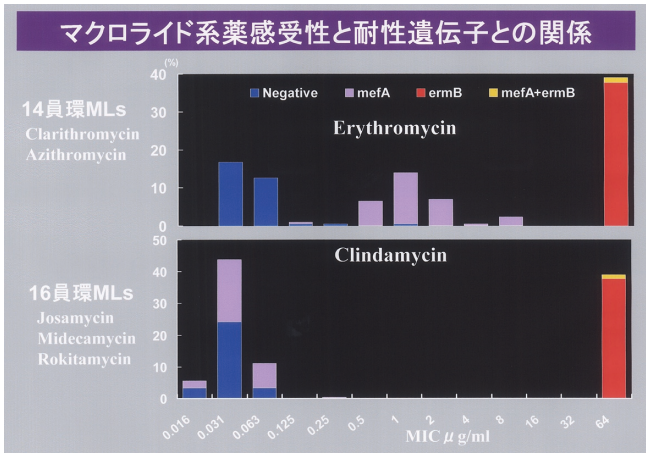


図 6. マクロライド系薬感受性と耐性遺伝子との関係

は殺菌性の優劣が薬剤消失後における post-antibiotic effect（PAE 効果）の有無が問題になります．また，経口薬の場合には服用後の吸収性の良否が問題になります．β-ラクタム薬の場合には，Craig の理論というのがあり，time above MIC，すなわち，血中濃度が起炎菌の MIC を上回る時間が非常に重要であるといわれています．セフェム系薬の場合はその時間が 50％必要であり，ペニシリン系のように殺菌力が比較的ある薬剤は 35％程度で良いと言われています．つまり，8 時間間隔で服用させるセフェム系薬の場合，50％は 4 時間保たれる濃度となります．一般的には MIC が 0.5～0.8 μg/ml の菌まで臨床効果が期待出来るという計算になります．

アンピシリン，アモキシシリン，それからケフラール，そしてマクロライド薬では MIC が 1 μg/ml 前後の菌に対しても臨床効果が期待できるという計算になります．日本で好まれているセフェム系薬は，有効濃度が意外と低いレベルにあることが問題なわけです．欧米で

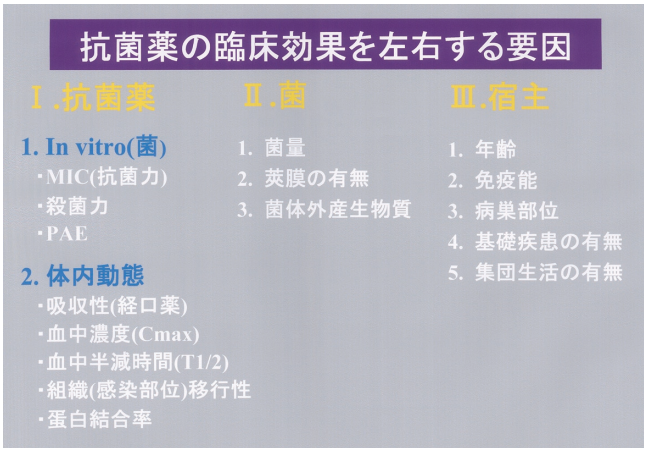
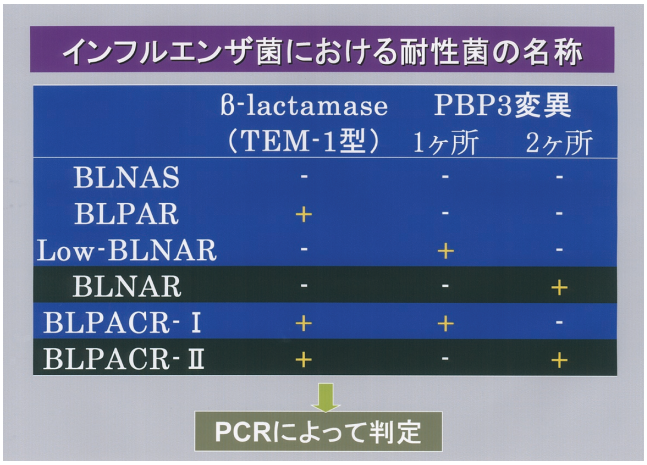


図 7. 抗菌薬の臨床効果を左右する要因

表 1. インフルエンザ菌における耐性菌の名称



PRSP の場合にはアモキシシリン，あるいはアンピシリンを，倍量投与しなさいとされているのはこの点にあります．日本で許可されている投与量は，耐性菌の現状を考えますと，投与量が少なすぎると言わざるをえません．

次にインフルエンザ菌のお話に移りたいと思います．この耐性菌の名称を本日初めて聞かれた方もいらっしゃるかと思います．急速に増えてきている BLNAR は，表-1 に示すβ-lactamase non-producing ampicillin resistance の略です．それから，最近 1 年位の間に急速に増えてきているさらに新たな耐性菌があります．それは，複数の耐性メカニズムを持った菌です．これを BLPACR と略しますが，β-lactamase producing Amoxicillin/clavulanate resistance の意味で，βラクタマーゼ阻害剤が入った薬剤にも耐性という意味です．それから感性菌は，β-lactamase non-producing ampicillin susceptible で，BLNAS と略しています．

この BLNAR は検査室レベルでどのように判定できるのかといいますと，感性菌では，いろいろな感受性ディスクで阻止円がすべて大きくみられますが，BLNAR ではセファクロール，セフジニル，セフポドキシムには阻止円が形成されていません（図 8）．アンピシリンは 10 μg 含有されていますが，阻止円が非常に小さくなっています．それから，セフォタキシムは 30 μg 含まれていますので，耐性菌の識別には使えません．唯一，経口薬で阻止円が認められるのはセフジトレンのみです．

BLNAR では菌が分裂する時の隔壁，ちょうど部屋の仕切りと同じものを作る酵素が変化しております．この PBP3 をコードしている遺伝子を *ftsI* 遺伝子と呼びますが，この遺伝子上の 3 か所に既に変異が入っていることを私共は明らかにしています．1 か所にのみ変異を持った場合には軽度耐性となります．ところが，2 か所に変異を持ちますと，ちょう

図 8. BLNAR - ディスクでの判定 -

ど薬剤の相乗効果と同じように，耐性レベルが一挙に上昇してきます．

このような遺伝子変異を持ちますと，感受性（MIC）がどのように変化してくるかをアンピシリンとセフォタキシムでみますと，図 9 に示すように感性菌（BLNAS）に比べ，BLNAR では MIC が高くなっていることがおわかりいただけるかと思います．約 64 倍上がっています．そしてちょうど 1 μg/ml 以上と先程の PRSP と同じような濃度であることが注目されます．

一方，私どもが軽度耐性と呼んでいる Low-BLNAR は 1 か所だけ変異を持った菌ですが，この場合は感性菌に比べ，試験管で 2 本～3 本位の MIC 低下で，遺伝子解析をしないと見分けがつきにくい耐性菌です．また，セフェム系薬で，明らかに感受性が低下してきているということが重要です．

ペニシリン系薬を好んで使う欧米ではどうかといいますと，BLNAR は 1 株もないことが示されています．すなわち，BLNAR と呼ばれる耐性菌は，日本で問題になっている菌で，欧米ではきわめてまれな耐性菌です．

しかし，欧米ではβラクタマーゼ産生菌が 40％も分離されています．欧米ではβラクタマーゼ阻害剤の入った経口薬を外来で多く処方するのは，たぶん，このような理由からです．

それでは，日本で使われている経口薬が，BLNAR に対してどの程度の抗菌力を示すかを図 10 でみますと，1 μg/ml に血中濃度の目安として点線を引いてありますが，セフジトレンを除き，ほとんどの薬剤が BLNAR に対しては抗菌力を持っていません．日本で開発された経口セフェム系薬の多くは，BLNAR に対して弱いことが示されています．BLNAR が急速に増加してきている原因は，ここにあると思っています．加えて殺菌力も非常に低下してきていることもあります．

残りの時間は，今までにお話した耐性菌による重症感染症のことを少しお話しておきたいと思います．まず，肺炎球菌による重症感染症として，髄膜炎をお示しします．私どもが，ここ 2 年ほどの間に全国的に収集しているものですが，250 症例以上集まってきています．肺炎球菌性髄膜炎は小児の病気かと思いますと，実は小児 105 例に対し，成人 53 例という割合になっています．つまり，2 対 1 と成人でも髄膜炎がきわめて増えてきていることが示されています．

しかも，PRSP による発症例が非常に多く，次いで PISP です．成人では PISP 例が多いように見えますが，統計学的には有意差は認められておりません．

問題はこれらの菌の病原性です．病原性に関わる莢膜のタイプは 84 に分けることができます．

気道感染症から分離される菌を PRSP，PISP，2x 変異株，そして感性菌に分けて菌の血清型をみますと，PRSP では 19 型が最も多くなっています．このタイプは急性中耳炎のお子さんから高頻度に分離されるタイプです．次が 6 型と 23 型，そして 14 型が少し認められます．PISP では少し異なり，14 型が圧倒的に多く，次いで 23 型と 6 型となっています．14 型は肺炎例から非常に多く分離されるタイプです．PBP 2x 変異株の中では，3 型菌といってムコイド型のコロニーを形成する特徴のある菌が多くなっています．感性菌の場合にはいろいろなタイプが認められております．髄膜炎から分離された菌の成績を比べますと，小児の場合には抗体獲得と非常に関連しているといわれていますが，母体からの免疫移行がないといわれている 6 型によって発症している例が約 4 割を占めています．小児の場合は，6 型菌は非常に重要になってきます．むしろ，中耳炎を惹起する 19 型での髄膜炎は 1 割位で，次いで 23 型という割合になっております．

一方，成人例ですが，髄膜炎がどのタイプで発症し

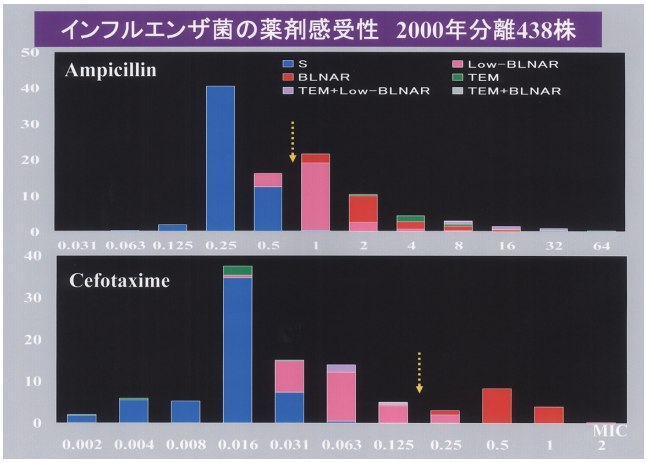


図 9. インフルエンザ菌の薬剤感受性 2000 年 分離 438 株

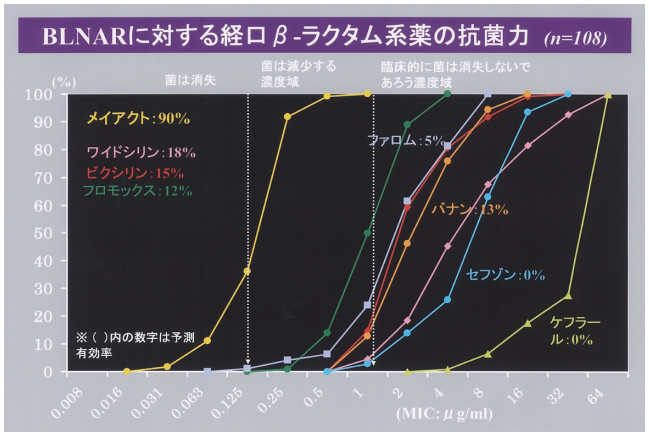


図 10. BLNAR に対する経口 β-ラクタム系薬の抗菌力 (n=108)

ているかといいますと，ビルレンスの低い 23 型です．次いで 22 型，それから，ムコイド型の 3 型というのが 14％あります．つまり，小児と成人では髄膜炎を惹起する菌のタイプは異なるということが示されているわけです．

小児の予後不良例（12 例）を見ますと，劇症型ともいえるタイプがあるような気がします．死亡した例 3 例では，発症から 24 時間以内に死亡している例が 2 例あります．重篤な基礎疾患を有していたことが，高いリスクファクターになっているように思います．検出された菌は PISP です．

一方，後遺症を残した例で，入院に至るまでに 48 時間以上を要していることが，重要であると思います．それと PRSP が非常に多いこと，年齢が 1 歳以下と小さいことの 3 つがリスクファクターです．

このように入院に至るまでに時間を要しますと，治療薬として最も適切であるといわれているカルバペネム系薬を使用しても，後遺症を残している例があります．治療のタイミングが非常に重要であることが示されています．

成人例の場合には，PRSP による死亡例が多くなっています．我慢をして病院を受診するタイミングを失した例が非常に多いように思います．それと，意外と壮年期発症例が多いことです．約半数の人が何がしかの基礎疾患を持っています．それから，DIC に至っている例が多いことも判ります．

問題なのは初期治療薬です．適切だと思われるカルバペネム系薬が使われていたのは 1 例のみで，他は殺菌力の劣る注射用セフェム薬が使われていました．

治療薬ですが，図 11 には考えられる治療薬をいくつか示してあります．肺炎例に対するブレイクポイントは，日本化学療法学会ではカルバペネム系薬に対し 2 μg/ml に設定しております．しかし，髄膜炎の場合には髄液への移行が悪いわけですから，どの辺にブレイクポイントをおいたら良いかが問題です．恐らく 0.125 ～ 0.25 μg/ml 位に設定しないと，治療効果とマッチしないのではないかと思います．というのは，このような重症感染症の場合，MBC（最小殺菌濃度）が一番問題になってくるといわれ，髄液濃度としては起炎菌の MIC のおそらく 10 ～ 20 倍必要だといわれています．そういった意味で，パニペネム，イミペネム，ビアペネム等のカルバペネム系薬が，治療薬として適していると考えられます．欧米で使われているバンコマイシンは，日本では PRSP に対する治療薬としての許可を取得しておりません．

最後はインフルエンザ菌による髄膜炎のお話です．BLNAR による髄膜炎が非常に増えてきております．私どものところには現在 350 例位の菌が集積されてきております．インフルエンザ菌性髄膜炎は成人ではめったに問題になりませんが，小児では 4 歳ぐらいまでが一番重要であります．

問題はこれらの起炎菌の中で，BLNAR が指数関数的に増えてきていることです．2002 年の 96 株では 26％が BLNAR であったという成績になっています．従来の治療方法による効果は非常に劣ってきているという印象を受けています．また，将来的に注目しておかなければいけないのは BLPACR という新しいタイプの耐性菌です．

治療薬として何が最適かということですが，先程，セフォタキシムの MIC は BLNAR に 0.5 ～ 1 μg/ml にあるというお話をしました．この MIC 前後の殺菌力をみますと，それが劣っていることが示されています．インフルエンザ菌性の髄膜炎の場合には，セフォタキシム，あるいはセフトリアキソンを使用した場合に，再発・再燃例が意外と多いことにつながっていることが問題だと思います．むしろ，MIC はそれほどよくありませんが，図 12 に示すカルバペネム系薬の中のメロペネムだけが，比較的殺菌力に優れていると思います．

いずれにしても，どれが最適な治療薬であるのか，

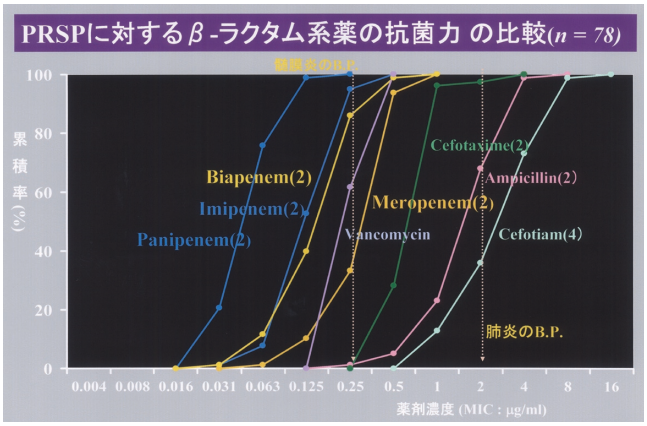


図 11. PRSP に対する β - ラクタム系薬の抗菌力の比較 (n =78)

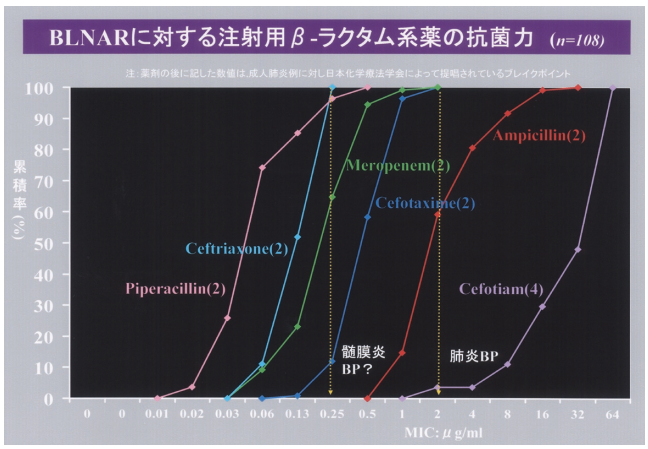


図 12. BLNAR に対する注射用 β - ラクタム系薬の抗菌力 (n=108)

まだ確定していないというのが現状です．

残り時間がなくなりましたのでまとめを申し上げます．日本ではいろいろな耐性菌が増えてきて問題になっていますが，実は耐性化の問題は日本だけではありません．ワールドワイドに見ますと，欧米でも異なったタイプの耐性菌が分離されてきているわけです．これだけ交通網が発達致しますと，どこかで出現した耐性菌は，瞬く間に世界中に広がることを承知しておかなければいけません．

サマリーです．菌に対して多少のダメージを与えることはできても，完全に死滅させることのできない不十分な薬剤濃度，まさしく今の経口薬の多くがそうですが，こういった状況下では耐性菌が選択されて，残存しやすい状況になっています．そのようなことを考えますと，もう少しエビデンスに基づいて抗菌薬を選択しないと，将来さらに BLNAR 等の耐性菌が問題になってくると思います．

耐性菌を増加させない対策として，何が必要かということですが，適切な検査材料を用いた，正確で迅速な細菌検査が必要です．そして，エビデンスに基づいた適切な抗菌薬を選択することが重要だと思います．また抗菌薬を選択する上では，ただ単に MIC の優劣だけではなく，血中移行濃度，あるいは組織移行，殺菌性などを加味して選択する必要があるように思います．日本ではワクチンに非常に消極的ですが，インフルエンザ菌に対しては Hib ワクチンは必須であると思っております．

今，私どもは，PCR とマイクロチップをコンビネーションにした迅速診断を確立しようと努力しています．検体を採取後 2 時間あれば十分に結果が報告できるシステムです．

重症の肺炎例が入院した場合，8 時間後の 2 度目の注射の際には，エビデンスに基づいた注射薬が選択できることを目標にしています．経口薬の場合には再来の時に，参考になれば良いと思っています．

ご清聴ありがとうございました．

座長：生方先生，ありがとうございました．日常診療では一番大事な，市中感染ということで，ご開業の先生もおられれば非常に，何かご質問をどうぞ．

参加者：2 点お伺いします．一つは耐性菌の動態を見ていますと，一般論として新生児と老年者が問題になってきます．ということは，通常の免疫能を持っているならば，あまり怖くないのだということになろうかと思います．どうして，そういう高齢者などの死亡率が高いかというのは，早期診断をして適切なる薬剤があれば，何も怖くないのだととらえることができようかと思います．その一方では，先程のどのデータでしたか，高齢者の場合には，あっという間に死亡するものもあるのだというお話もいただきました．耐性菌というのは一般にビルレンスは高くなるのですか．こういう理解なのですか．

生方：菌の耐性化とビルレンスは別の問題ですが，現状では母体から抗体が移行しない 6 型等で耐性菌が出現してきて問題になっているわけです．

参加者：つまり薬剤があるかないかが，すべてなわけですね．

生方：ただ，適切な抗菌薬を選択したとしても，確定診断するまでに時間を要しますと無効です．劇症型の例が結構ありますが，そのような例ですと，どのように適切な薬剤を使っても，無効です．

参加者：それは免疫が関与するということで，本質的には同じことですね．

生方：はい．

参加者：もう一つは，薬物の抗菌力の判定の中に，in vitro の検定の中で 3 つのうちの一つ，post-antibiotic effect（PAE）は，何を見ることになるのですか．また，あれはどういう意味を持って検定する必要があるのか，臨床でどういう意味を持ちうることなのですか．

生方： post-antibiotic effect というのは，薬剤が消失した後でもどの位の時間溶菌しなかった菌の発育を抑えられるかという指標です．菌をフィラメント化させるような抗菌薬の場合は，PAE 効果はないと言われています．β-ラクタム薬が該当します．薬剤が消失するとフィラメント化した菌は分裂が阻害されているだけですので，一挙に菌数が増えてきます．PAE 効果はマイナスとなります．

参加者：そうすると，一般に我々が実際に感受性テストをやってもらいますが，あれはそれを含んだ内容になるのですか．

舘田：普通の感受性テストは，そこまではみていません．

参加者：そこまでは入っていないのですか．

生方：感受性テストは単に MIC のみです．

舘田：薬剤を 1 回抜かないとだめですね．

生方：ですから，むしろ PAE 効果があるのはカルバペネム，それからアミノ配糖体とか，殺菌性の高いものです．ですから，注射薬を一日何回投与するとかも PAE 効果があるかないかで決まってきます．

β-ラクタムの場合は，PAE 効果がほとんどないので頻回に注射をしなければならないことになるわけです．要するに菌が再増殖しやすいことが問題になってくるわけです．

参加者：大変すばらしいご講演を拝聴して，感激しております．セロタイプをするときに，肺炎球菌の場合は，先生はコペンハーゲンのスキュラム・インスティテュートから輸入しているわけですね．インフルエンザ菌の場合は，タイプ B かノン B かですが，残念なことに日本の＊デンカ生研＊のは，ちょっと私は初めからだめで．

生方：感度が悪くて全然だめです．私どもはインフルエンザ菌の場合には，タイプ b から f まで遺伝子がわかっておりますので，PCR でタイピングしております．

座長：これからもいろいろな大切な情報を，私たち臨床の現場に教えていただいて，それをもとに，私は適正な抗菌薬を選択しようと思っています．
今日はありがとうございました．

© 2003 The Medical Society of Saitama Medical School

シンポジウム

これからの感染症学の研究と診断の展望

前崎　繁文

（埼玉医科大学感染症科・感染制御科科長）

最後にまとめということで，本当であれば私のようなものよりも，先輩の先生方にしていただいた方がよろしいのですが，役柄ですので，私が最後にまとめをさせていただきます．まとめはどうしても，どちらかというと大言壮語といいますか，偉そうなことになってしまいますが，私から見た今の感染症とその問題ということで，先程，赤塚先生から埼玉医大におけるということがありましたので，日本あるいは世界を見たということで，少しお話をさせていただきたいと思います．

これは先程，赤塚先生からもお話がありましたように，感染症というのは，いろいろな社会の現象と密接に関係しております．私たち医療現場の人間だけではありませんし，行政も必要ですし，あるときは普通の一般の国民，そういう方も感染症には，非常にかかわってくるわけです．もちろん，社会の要因は非常にさまざまに変わってきています．生方先生のお話にもありましたように，交通網の発達で昨日アメリカに行った人が今日戻ってきます．あるいは，ザイールに行った人が戻ってきて，エボラ出血熱を日本で発症することもあります．それから，こういうことは本当はあってほしくありませんが，バイオテロを中心とした戦争やテロにも感染症はかかわってきます．

社会の要因ですが，私たち医療の側の要因として，耐性菌というのは必ず抗菌薬の使用によって起こってきます．ですから，私たちが抗菌薬を使用すれば，それによって耐性菌が生まれ，そして新しい感染症ができます．また，私たち自身が変わっていく，すなわち，免疫不全患者の増加です．そのため，いろいろな重症の難治性感染症が出てきます．それから，昨今言われております医療保険制度の変化も，感染症の変化にはかかわってきています．

まず，病原体の側の要因から見てますと，先程言いましたように，病原体というのは常に進化していきます．その病原菌は新たな病原体，あるいは新たな病原因子，あるいは新たな薬剤耐性などを作って，日々変化していきます．

それから今度は，私たち自身の問題です．これには一番関係するのは免疫不全患者の増加です．これは単純に年を取るというだけでも免疫不全状態になりますし，例えば臓器移植，そういう医原性のものによる免疫不全の患者さんがいます．

それからワクチンの問題です．例えばインフルエンザで，昔は子どもさんはみんな，私も小さいころは学校でインフルエンザのワクチンをしましたが，今はそうではありません．あるいは麻疹のワクチンや天然痘のワクチンもそうです．そういう予防接種の変化によって，感染防御能が変わってきます．私たち自身，宿主の側の変化も非常に大きいものがあります．

それからもう一つは社会の変化です．ここには例えば地球温暖化の問題であるとか，森林開発の問題であるとか，このように本当にこれが直接，感染症にかかわるのかということもありますが，実際にはそういうものも感染症にかかわってきます．それからペットや食生活の変化なども，感染症の変化にかかわってきます．

そのようなバックボーンをもとに，行政の方では感染症新法が定められています．新感染症とは，今までにないような感染症で，きわめて伝播力が高くて重症なものです．一般的には1類から4類までに分けて，ある程度，感染症を区別化して，その感染性あるいはその病原性を区別しています．

1類感染症というのは非常に感染力が強く，きわめて重篤だという感染症に属します．

2類は，それよりも少し感染力は劣りますが，危険性，重篤性が非常に高い．

3類といいますのは，特定な職業に従事している人に集団感染が起こる，具体的には，これは出血性大腸菌，O157しかありません．

4類というのは，国がその動向を調査することによって，一般の国民個人個人，あるいは医療関係者が，その拡大防止をすべき感染症と定義されてい

ます．ですから 4 類というのは感染症ですが，それほど怖がる感染症ではないことになります．

ところが，実際の医療現場では，この 1 類感染症を診るというのは，全国で 12 医療機関しかありません．22 しかベッドはないわけです．ですから，もし 1 類感染症がいっぺんに出てきますと，全国の病院でもどこでも対応できないことになります．1 類感染症は先程言いましたように，きわめて伝染力が高い感染症です．ですから，1 人に出ればあっという間に広がります．ところが，現時点で日本で対応できるのは，たった 22 床しかありません．ここで見ておわかりのように，例えば大阪府に 3，東京に 2 つです．関東近辺を見ても千葉と東京しかありません．これだけの人口がいる関東に，千葉と東京を合わせて 6 床しかないのです．ですから実際の現場は，このような感染症に対してはきわめて防備が不足していることがおわかりになると思います．

埼玉医科大学も来年度でしょうか，第 1 感染症の指定医療機関になることが決まっていると思いますので，ここに一つ埼玉医科大学も入るのですが，大学としては初めてです．見ておわかりのように，ほとんど医療機関は公立の医療機関です．

内科学会雑誌の先月号で，100 年を振り返るということで，ちょうど感染症の特集でした．その中で著名な感染症の先生方が対談をされています．そこからなかから，20 世紀を振り返って，21 世紀の感染症の展望をするということで，私なりにまとめてみました．

20 世紀最大の業績は，天然痘の撲滅です．天然痘の撲滅は，1980 年に WHO が天然痘を根絶しました．そのあとはワクチンの備蓄もやめて，日本では今はワクチンはありません．アメリカはワクチンを持っています．ところが，その意味は全然違います．2001 年に炭疽菌のバイオテロが起こりました．この天然痘も，バイオテロの非常に大事な微生物ということで，おそらく北朝鮮とかイラクなどでは天然痘をたくさん持っているということで，天然痘があらためてクローズアップされています．

ポリオについても，今，根絶の方向に向かっています．ところが，ワクチンというのは全世界が協力して，ワクチンの接種をしないといけません．ある国だけが一生懸命にワクチンをしても，全世界的なレベルでこれをやらないと，根絶ということはできません．それから戦争やバイオテロにワクチンが使われると，あるいはそれをまた武器に使うというように，非常に悲しむべき事態が起こりつつあります．

もう一つの大きな業績は，結核だと思います．ストレプトマイシンに始まって，非常に抗菌活性が強いリファンピシンが出てきたことによって，結核の患者さんは非常に減少しました．しかし，結核の患者さんは最近，その減少傾向が鈍化して，再び増えてきています．そのため，厚生労働省も「結核緊急事態宣言」を出しています．例えば若い人の結核とか，移民の外国人の結核，HIV の結核，あるいは結核の院内感染と，結核も新たな問題をたくさん抱えつつあります．

もう一つは日和見感染症です．「日和見感染」という言葉は，日本で 1969 年に immuno-compromised host を和訳するということで，非常に議論になったそうです．いい言葉がないということで，最初はカタカナで「イムノコンプロマイズドホスト」と書いていました．ところが，それではどうも意味がわからないということで，「日和見」という言葉をあてられたそうです．今では一般的に「日和見感染症」という言葉を使っていますが，この言葉は 1970 年，今から 30 年前に出てきたばかりの言葉なのです．ですから，それを見てもこの日和見感染というのは，つい最近出てきた感染症です．

緑膿菌やセラチアという弱毒菌による感染症です．これがまた非常に問題になっています．これはどちらかというと，菌の側よりも私たちの変化に原因があります．高度な免疫不全患者さんが増加し，さらに院内感染に日和見感染が大事な原因菌となってきています．

最後に，この対談では今後の問題点を考えます．まず，一つは正確なサーベイランスが日本ではできていないということです．「あなたの病院では，いったい何人の院内感染の患者さんがいますか」，それに答えられる病院長はおそらくどこにもいないだろうということです．

それからもう一つは，新しい感染症を発見するのは，大病院ではなくて開業医の先生だということです．新しい感染症，新しい病気は大きな病院で見つかると思いがちですが，急性の感染症は，実はかかりつけの先生で見つかるのです．

また，これは非常に身につまされますが，感染症専門医の不足です．感染症は抗生物質の登場によって終わったと考えられ，若い医師の関心がうすくなっていましたが，最近，ますますこの感染症の重要度は高くなってきています．ところが，実際は感染症の専門医がいないという現状です．

最後に，感染症というのは日本だけに限ったことではなく，非常にグローバルな病気です．ですから，常に全世界に目を向けて，全世界の情報を集めながら，日本の，あるいは目の前の患者さんの感染症の診療をしなくてはいけません．確かに，ここに挙げてある問題点は，私自身も今後，こういうことを考えながら，感染症の診療を進めていかなくてはいけないと思っています．

最後に，20 世紀の感染症は伝染病といい，戦争と貧困がもたらしたと言われています．戦争と貧困によって，伝染病が起こった．しかし，この伝染病の時

代はすでに終わりを遂げました．

21 世紀，新しい感染症学は何か，これは平和で豊かな社会が，まず基本にないといけません．戦争やテロが起こってはいけません．平和で豊かな社会があり，そして世界の人たちが一緒に感染症対策を考える，そのような感染症に対する気持ちを持たなくてはいけないのではないかと思っています．

齋藤幹事長：長時間にわたり，ありがとうございました．これでプログラムは終了しました．最後に学長から一言お願いします．

東　博彦学長：それでは一言お礼を申し上げたいと存じます．本日，本学の公開シンポジウムとして「新世紀の感染症－その病態解明と治療に挑む－」と，まことに魅力的なテーマを計画され，学外から 4 人の先生方にいらしていただきました．最初のイントロダクションから最後のまとめまで，私はもう現役の医師から離れ，しかも整形外科という勉強をしてまいりまして，ちょうど骨関節結核があふれていたのがなくなったころ，そして医局生活をしばらく過ごしたころに，ポリオがなくなってきました．そのような時代を経験して，本日の最初の基礎の方の話は，私にとってはあまりに難しすぎて，なかなかわかりませんでしたが，臨床の方はそれでも少しわかりました．私自身も非常に勉強になりましたし，おそらく，ここにお出ましいただいた先生方，学生さんもいらっしゃると思いますが，医師の方，大変勉強になったと思います．

実は夜もだいぶ遅くなったので，このあとに懇親会でお食事でもご一緒しながらということを企画されたようですが，お忙しい方々で，なるべく早く帰りたいというご希望もあったようですので，これをもちまして終わりにさせていただきたいと思います．本当にありがとうございました．

© 2003 The Medical Society of Saitama Medical School