

私の歩んだ研究の道とそこからの教訓④

分子疫学から始まった臨床と基礎をつなぐ研究

牛島 廣 治*

はじめに

日本小児感染症学会の編集委員長(または委員)を務めていたときに、「私の歩んだ研究の道とそこからの教訓」を提案し掲載が始まったのが2007年と思います。私に執筆する機会がこのように早く来るとは思っておりませんでした。読者(会員)それぞれに道があり、もっとこのタイトルにふさわしいことをされている方々がおありと思いますが、ありがたく書かせてもらいます。

このような機会をいただいた経緯には、平山宗宏先生をはじめとする諸先輩方を含めた皆様から日本小児感染症学会の運営委員長(現在の理事長)にさせていただいたこと、2004年に第36回日本小児感染症学会学術集會を東京でさせていただいたこと、さらに役職を終えた後、皆様の推薦により名誉会員にさせていただいたことによるかと思えます。ともかく当学会の会員数が増え、内容がより充実し心から嬉しく思います。これも歴代の評議員、理事、会員、事務局などの方々の協力によるものと思っています。

今回、ここで書かせていただく内容は研究生活が中心となりますが、一部はより私的な内容があることをお許しください。

I. 小児科学研究を志すまで

私は第二次世界大戦後に生まれ、小さいころからどちらかというと大人しい子どもであったように思いますが、自然現象に興味をもっていたように思います。「なぜだろうなぜかしら」(実業之日本社刊)という小学生向けの科学の本がありまし

た。わくわくしながら読んでいたことを思い出します。この本は今ではカラフルな色彩の本として売られています。そしてその当時、ホタルはなぜ光るかと思ひ、光る部分をとってきて何やらつぶして試みたり、どうして木の葉が落ちるかとか秋になると色がかわるかとか落ちた葉を調べたり、結論は出なくても本を読みながら行ったことを覚えていて、試薬などは親に頼んで近くの知っている薬局で購入したことがありました。佐賀市の市街から少し離れたところに生まれ住んでいましたが、田がそばにあり四季それぞれの昆虫、小動物をとってきて肉眼・虫眼鏡で観察したりしていました。また小さいながらも畑があり、父の手伝いとして菜園作業をしたりしておりました。父につれられて川の魚釣りなどした覚えがあります。当時の普通の子どもの同様の環境として育ったと思えます。中学、高校時代も生物に興味があり大学も生物系にしました。小中学生の頃、生物関係の得意な先生方に恵まれたことも関係したと思えます。たまたま医学科に進学しましたが、1966年大学紛争の火が燃え始め、そして全国に広がり、消えかかるまでを経験することになりました。学生時代の各科を回っての実習のときに丁度七夕のころに小児科にきました。私の誕生日がその翌日であり、病気の子どものたちの願いに少しでも助けになればと思ったことが小児科に進むきっかけのように思えます。小林登教授の門をたたき快く受けいただきました。

II. 小児科の臨床と研究 (part 1: 1972~1979)

しかし当時の東京大学小児科学教室は、大学紛

* 日本小児感染症学会名誉会員・元 運営委員長・前 編集委員長

争が全大学・全学部的には消えかかっているなかでも複雑な状況をもっていました。国家試験を終えてその発表があり、免許証を有して小児科に入局するまで1カ月ぐらい中途半端な臨床を行えない時期がありました。医科学研究所だったと思いますが、新規の大学院生に教室を越えての全体の初期実習がありました。最初から基礎医学に進んだ友人星野洪郎氏を通して、その実習に参加させていただきました。臨床に出る前に基礎医学の初歩の経験をしたこととなります。その後、大学で臨床を行いながらも興味のある神経（鈴木昌樹先生、鴨下重彦先生らがおられました）や免疫の研究グループに参加させていただきながら日々を過ごしていました。1年間の短い東大での研修期間ではありましたが、夕方から夜にかけて研究室に寄らせていただきました。ちょうど分泌型IgAが発見された当時だと思います。ダウン症候群の患者さんには自己抗体、異常抗体があるとのことが知られており、追試だったかもしれませんが食肉処理場に行ってウシ、ブタなどの血液を沢山いただきました。その他いろいろな動物の血液を集めてオークタロニー法で患者血清との抗原抗体反応をみたりしました。研究といえるかどうかですが、最初は国内雑誌に論文を出しておりました。その時点では英文雑誌はハードルが高かったように思います。小児科教室の規約上、1年大学にいたらその後まずは関連病院に行くことになっていました。関連病院を回りながら、夕方になると実験らしきことをしたくなって星野氏を通して医科学研究所に所属させてもらったことがあります。肩書きのうえでは研究生ではありましたが、ご迷惑をかけない程度で半年ほど夜を過ごさせていただきました。どうしてか大学の門は閉まっていますが、門が阿弥陀くじの梯子のような構造をしており、足をかけてまたぎ反対側におることができました。乗り越えて最終に近い地下鉄で帰宅したことを覚えています。途中で眠って乗り越すことがあります。ちゃんと乗り越した人のためにタクシーが待っていて、戻る方面へと相乗りし帰宅ができました。関連病院の築地産院、東京通信病院では藤井とし先生、多田裕先生、渡辺悌吉先生などに臨床の基礎、臨床研究の考え方を教えい

ただきました。そうこうするうちに免疫グループの吉野加津哉先生が帝京大学小児科に移られ、それを機会に私も帝京大学の小児科の免疫部門に参加させていただきました。帝京大学小児科では、小児感染症のトップの方々が集まり藤井良知教授の下、細菌学では紺野昌俊先生、ウイルス学では中村健先生、篠崎立彦先生、免疫学では吉野加津哉先生がおられました。研究の内容もさることながら、研究に対する心構えも教えを受けました。一方、当時いた同世代の私たち（岡部信彦先生が短期間でありましたがおられました）は各専門分野を越えて、ある程度自由に研究をすることができ、とても感謝しています。川崎病研究会に先輩に連れて行ってもらい、他大学などの研究者との交流もできました。当時川崎病にはダニ説、細菌説、マイコプラズマ説などがあり、菌体成分を抽出して免疫反応をみました。また重症のアトピーでIgEが極めて高値の患者がいました。その頃T細胞、B細胞の分離などが行われるようになっており、健常者と患者のT、B細胞の組換えを行いました。患者のT細胞と健常者のB細胞を合わせることで、健常者のB細胞からもIgE産生がみられ興奮したことを覚えています。当時大学院に進むという医学生は少なく、私も大学院に属さない1人でしたが、卒後7年となると論文博士がとれる基準が満たされることを知り、また急に留学の話がもち上がってきたので持ち合わせの研究内容で論文をまとめました。すでに和文の雑誌に出していたので、博士論文の提出にはそう時間をとりませんでした。また博士号取得のための語学試験まで1カ月も満たなかったですが、第一外国語の英語は何とかなるとして第二外国語のドイツ語にはわか勉強でしたが運よく通りました。

今は博士号をとるための資格や、論文審査がより厳しくなっているように思います。

私の博士論文のタイトルは「ビリルビンの細胞毒性について—中枢神経細胞と末梢白血球の形態、機能の変化の相関性について—」で、内容は新生児の核黄疸の予知を目的として、市販のビリルビンを用いて末梢血の好中球の viability や phagocytosis の機能を顕微鏡下でみて、ビリルビンの濃度が上昇すると好中球の viability や

phagocytosis が落ちるというものでした。また培養神経細胞でも viability を観察し、相関性をみました¹⁾。論文内容の価値は別として、自分のアイデアで行った研究です。そのときの実験で好中球の貪食能をブドウ球菌を用いて行いました、リンパ球表面にブドウ球菌が吸着しているのを見出しましたが、これが IgG 産生細胞、すなわち IgG 産生のリンパ球の表面に結合していることに気がつかないで、というかアイデアが浮かばないでおりました。なぜ表面についているのかわからずに行いました。口頭試問の多田富雄先生、鈴木義之先生からは、「留学頑張ってください」と励まして終わりました。

III. 米国アラバマ時代 (1979~1981)

帝京大学医学部小児科で篠崎立彦先生はウイルス性胃腸炎の研究、中村健先生はウイルス性呼吸器感染症をされておりました。私は外来では東京大学からの引き続きで神経の専門外来を行っていました。ワクチン接種外来も行いたかったのですが、その機会に恵まれませんでした。国立家畜試験所(現在の動物衛生研究所)が国分寺から筑波に移転する時期のために、アラバマ州立大学(バーミンガム市にある)の微生物部門から研究者を招きたいという申し出に適任者がいなく応えられないということで、篠崎先生を通して私のほうに話が来ました。その話が来る前に免疫部門での留学を考えていて、同じアラバマ州立大学の Max Cooper 先生(当時、安保徹先生が留学)に留学したいと手紙をだしましたが、うまくいきませんでした。分野が違うけれども何か新しいことができることを期待し留学を決めました。あわただしく数カ月間ウイルス学の初歩をウイルスグループから習いました。運よく博士論文の審査を終わって家族4人で渡米しました。米国では日本にいたときの臨床などの仕事もなく、研究に没頭し充実した生活を2年4カ月間送りました。また週末は自分の研究スケジュールに支障がないときは車を使って家族で国内旅行をしました。私の所属する微生物ウイルス部門には Bishop と Compans の両教授がいました。Bishop 教授は私の指導教授であり、当時、新興感染症、特にブニヤウイルス科、アレナウイ

ルス科を扱っていました。また Compans 教授はインフルエンザ科の研究をしていました。両教室が同じ場所の区画にあるために交流が盛んで、お互いに刺激を受けあっていました。私のウイルス学の基礎はその当時いただいたといっても過言ではありません。新参者でしたのですでに教室にいる研究者たち、あるいはテクニシャンたちが親切に研究面、日常生活面を細かに教えてくれました。米国は共同研究が進んでいるためか、自分の守備範囲が決められるのか、私の担当は、すでに血清学的にブニヤウイルス科と決まっていた細胞培養が可能となったウイルス株を遺伝子レベルで確認し、属の分類、株ごとの特徴などを調べることでした。ブニヤウイルスは L, M, S の3分節マイナス鎖 RNA ウイルスです。現在のような遺伝子解析の手法はまだないので、感染した細胞の T フラスコに P³²を加え、ウイルスゲノムに取り込まれた P³²を目印に一次元の電気泳動による泳動型や制限酵素を用いた二次元での電気泳動でもつばら比較していました²⁾。一部はサンガー法で塩基配列を行っていました。また蛋白についても、標識アミノ酸や蛋白分解酵素などを用いて株の区別をしていました。今まで聞いたこともない世界のブニヤウイルスの名前を知りました。株の数を増やしていくうちに、L, S 分節は類似するも M 分節の二次元核酸電気泳動型が異なるのを見出しました。自然界での組換えです。インフルエンザウイルス科では知られていましたが、ブニヤウイルス科のなかでは初めてでした³⁾。また当時インフルエンザ科では非構造蛋白があり、それがウイルス蛋白や宿主蛋白に作用していることがわかっていました。ブニヤウイルス科では非構造蛋白の存在が知られていませんでした。ラジオアイソトープ標識のアミノ酸を培地に添加し、感染細胞内のウイルスにより産生される蛋白と、超遠心で精製したウイルス粒子の蛋白を比較することにより細胞内ではブニヤウイルスの非構造蛋白が作られることを明らかにしました³⁾。そうこうするうちに2年間が経ち、アメリカの他大学から勧誘も来ましたが、もともと長期間いる予定ではなかったことなど諸事情で帰国することにしました。2年4カ月の間に、多くの同僚から技術面の支援を受け

ました。当時、アジアからの留学生といえば日本人が主で、現在のような中国人、その他のアジア人は極めてまれでした。米国国籍の大学院生、研究者で勤勉な方は、日本人と同程度以上に研究に熱意をもっているのを感じました。指導教授とともに、当時助教授で夫婦であった Roy 先生にはお世話になりました。Roy 先生はブルータングウイルスを研究しており、帰国後の私のロタウイルスの研究に示唆を与えてくれました。両先生には、その後現在に至るまで数十名の日本の研究者がお世話になっています。

一方米国での日常生活のなかで、後で私の東京大学での活動に影響を与えることになることがありました。研究の場には多くの留学生がおりました。米国が「人種のるつぼ」といわれる所以ですが、大学でも家族生活にとってもいろいろな国の方との交流ができ、沢山教えていただきました。またそのなかで米国では日本人は少数民族で勤勉な国民で通っていましたが、少数民族に対する国民の支援の温かさを感じました。また米国で、日本人とは何かと自分を見つめる機会となりました。

IV. 小児科の臨床と研究 (part 2 : 1981~1987)

帰国してまた帝京大学の小児科学教室に属しました。病棟で若い世代の医師の指導と外来、そして研究が始まりました。私に留学の機会をくださった家畜衛生試験所(現 動物衛生研究所)の稲葉右二先生、佐藤邦彦先生と帝京大学篠崎先生たちで留学中に、ヒトのロタウイルスの試験内細胞培養が可能となっていました。現在でも培養がされている株として Ito, Hochi, Odelia などの株があります。もともとブタのロタウイルスの培養が家畜衛生試験所で可能となっていたので、その手技をヒトのロタウイルスに使用したということですが、このことにより診断、病態、ワクチン開発を可能にしたことで新しいロタウイルスの研究の夜明けと感じられました。一方このときまでにサポウイルスの発見が、札幌医科大学の千葉峻三先生らのグループでなされていました。また今野多助先生のグループでも、ロタウイルスなどの下痢症ウイルスが電子顕微鏡を用いてなされていま

た。私の米国での研究はブニヤウイルスでしたが、小児科の研究としてはこのウイルスはふさわしくありません。ちょうど小児科でウイルス下痢症の研究が始まったばかりでしたので、私の米国で培ってきた遺伝子研究の分野で行うことにしました。現在行うような遺伝子解析はまだ始まったばかりでした。当初始めた RNA ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (PAGE) とエチジウムあるいは銀染色は便利な方法でした。留学中の国際 Negative Stranded RNA 学会でお会いした中島捷久・節子先生が国立公衆衛生院におられ、インフルエンザウイルスで RNA-PAGE をされていたので方法を聞きにいきました。そのとき、「分子疫学の研究は10年以上続けなければ現象はみえないよ、続けることが大切だよ」といわれたことが今まで続ける契機となったと思います。前の晩にゲルを作り、朝の診療の前に電気泳動を開始してから、診療が終わったとき、あるいはその日の診療の時間によって泳動を調整して終了し、その晩に染色とゲルの乾燥を行いました。多いときは一度に2台の泳動装置を用い両面で流し、48 検体ぐらいを同時に行ったことがあります。一方、臨床のほうではロタウイルス脳症、免疫不全を伴う症例の慢性ロタウイルス胃腸炎がありました。篠崎立彦先生、荒木和子先生や大学院生とともに行き、英文誌への論文ができました⁴⁾。臨床と研究が一番充実していた時期と思います。そのなかで田島剛先生とマウスロタウイルスの細胞培養について初めて成功しました⁵⁾。このウイルスは国立予防衛生研究所に保管されていたものです。また診断会社(イムノプローブ)と一緒にロタウイルスのラテックス凝集抗原検査の作製を行いました。その後一緒にノロウイルス、アデノウイルス、サポウイルス、アストロウイルスの診断キットを同時に開発することになります。そうこうするうちに、アラバマ時代にブニヤウイルスなどを扱ったために、機会があり国立予防衛生研究所(現国立感染症研究所)において、感染症法でいうところの1類の感染症を司る部署に勤務することになりました。

V. 国立予防衛生研究所～国立感染症研究所時代 (1987～1993)

当時ウイルス 1 部の北村敬部長の推薦で外来性ウイルス室の室長となりました。外来性ウイルス室は名前の通り海外から来た、すなわち輸入ウイルス感染症を扱う部門です。私が外来性ウイルス室に属したのは米国で扱ってきたウイルス科にはそれが含まれていたからです。当時米国留学中にニュースで見聞きした HIV/AIDS が血友病の患者で海外から輸入した血液製剤で起きたことから、わが国でも大きな問題となりました。厚生労働省の研究あるいは検定機関として血液製剤への HIV の混入を調べる任務がありました。私が赴任する前から血液製剤からの HIV の検査が始まっておりました。幸いなことに、社会的な問題について、特に検定結果に対しては北村部長が行ってくださり、私は森川茂先生(現 獣疫部長)などと HIV の診断法の開発と普及を目的で活動しました。また同時に P4 の施設も管理することから、バイオセーフティについても任され大いに勉強になりました。この設備は HIV, SIV などの感染動物実験にも使われました。もちろん、米国 CDC などの協力を得てラッサ熱、マールブルグ病などの診断も抜けがないように準備を遂行しました。その後エイズ研究センターが所内にできたことから一室を司る、すなわち併任の時期もありました。これからは診断についてはエイズ研究センターの他の室に任せられ、もっぱら基礎研究やわが国の治療薬の開発に携わりました。

エイズ研究センターに属していたとき、CD4 の発現が cell analyzer では検出できない骨髄系の未熟な細胞に HIV を感染させた後、培養を続けることにより持続感染細胞の成立を見出しました。すなわち、CD4 以外のファクターがレセプターとして関与することが推定されましたが、その究明には力及ばず、数年後にケモカインレセプターが見出されました⁶⁾。一方、いろいろなウイルスを経験してもらおうという計いからか、腸内ウイルス室の併任の時期もありました。腸内ウイルス室では私の任務としてポリオワクチンの検定がありました。すなわちカニクイザルを用い、腰部脊髄にウ

イルス量を変えて注入し麻痺の状態を観察します。量が多いと上行性に脳にウイルスが行き呼吸器系の麻痺で死亡します。ウイルス量に応じて弛緩性麻痺の程度が変わります。ヒトに使用するワクチンの力価を確認するわけです。腸内ウイルス室としてポリオウイルス以外にロタウイルス、ノロウイルスなど下痢に関係するウイルスの遺伝子診断の開発なども手がけました。そのなかで新しい発見は、臨床の場で得た髄液や血清中にロタウイルスの遺伝子が見出されたことです⁷⁾。その理由としては乳幼児の腸管が感染症で破壊されるとウイルス、ウイルス抗原、ウイルス遺伝子が血液のなか、またけいれんなどがあると血液から髄液のほうにウイルス遺伝子などが侵襲・漏出していくものと考えられます。ロタウイルスの遺伝子型を RT-PCR で行うこと、またノロウイルスのゲノムグループを決めることなど分子疫学を開始することが可能となりました。少し遡りますが、1990 年代にノロウイルスの全塩基配列が相次いで発表されたことから共通の領域のプライマーを設定し、それを用いて遺伝子の増幅をすることと、バキュロウイルスを用いて人工的に中空ウイルス様粒子を作ることが発表されてから、それを用いて抗原抗体反応をみるができるようになりました。

感染症研究所は約 7 年間勤務しました。外来性ウイルス室、エイズ第一室、腸内ウイルス室と単独あるいは併任をしましたが、そのなかで多くの先輩、同僚、そして民間からの研究者との交流ができました。これらの方々とは今でも学会や研究会などでお付き合いさせていただいています。そのなかで野口英世賞、ウイルス学会の杉浦賞などをもって社会に貢献した松浦善治先生、谷英樹先生もおられます。また、それらの方々のさらに同僚、後輩などとも縁があったりしております。国立感染症研究所は私の研究生活の一時期として深い思い出があります。後になるのですが、東京大学に勤務したとき大学院生のお世話をこの同僚たちにお願したこともありました。このような業務・研究を行っていたところ、わが国で広く分子疫学をウイルス性胃腸炎に波及させることと、公衆衛生という立場からの研究を目的に当時の感染症研究所所長の山崎修道先生を通して国立公衆衛生院

(現 国立保健医療科学院)の話が来ました。私自身どちらかというと流れに従うタイプとっていますが、移動することにしました。

VI. 国立公衆衛生院時代 (1993~1995)

国立公衆衛生院はロックフェラー財団の基金により 1938 に設立されました。戦時中の建物ですが、豪華で堅固な建物です。トイレ、階段などが大理石で作られています。重厚で格調のある建物のなかでの公衆衛生のメッカである国立公衆衛生院は、その後 2002 年に国立保健医療科学院として和光市に移転しております。設立当時は米国からするとわが国の公衆衛生状況が悪く、援助する必要があると感じたことと思います。第二次世界大戦終結時期には、米国の援助で建てられたためか戦火から免れました。現在、建物は任務を終え港区の管理となっております。公衆衛生院の各部の名称からして、われわれの健康には衣食住が医療とともに大切であり、その任務を受けもつていたといえると思います。

1993 年に国立公衆衛生院の衛生微生物学部長に就任しました。染谷四郎先生、中谷林太郎先生、井上栄先生が歴代の部長でおられました。公衆衛生としての新しい立場からの仕事が始まりました。立場上近いのは衛生獣医学部になります。また母子保健学部があり、衛藤隆先生とも親しくさせていただきました。衛生微生物学部が主に任務としているのは、地方衛生研究所の方々の衛生微生物検査の初期研修です。1 年おきに細菌とウイルスコースを行っていました。赴任時にウイルス担当の室長の移動があり、愛知衛生研究所から西尾治先生に責任者として来ていただきました。西尾先生には、国立公衆衛生院の廃止で国立感染症研究所に移られてからも、研究班に私を参加させていただいたりしました。カキのノロウイルス汚染の現状を知るとともにカキ養殖者の声を聞くべく三陸海岸を釜石から大船渡、陸前高田を車で視察した思い出があります。それらの場所は 2011 年の津波で大きな災害を受けることになりました。またその他にその後東京都や内閣府の食品安全の仕事もさせていただきました。当時 RT-PCR を用いた下痢症ウイルス (ロタウイルス、ノロウ

イルス、アストロウイルス、サポウイルス)の診断を確立しており⁸⁾、その技術を主として地方衛生研究所のウイルス担当の方へ研修として普及させることができました。それがきっかけで地方衛生研究所の方々との付き合いも長くさせていただきました。国立公衆衛生院の勤務期間は残念ながら短く、東京大学の母子保健学教室・発達医科学教室に移ることになりました。

VII. 東京大学大学院医学系研究科国際保健学専攻 発達医科学・医学部母子保健学時代 (1995~2007)

東京大学附属病院の小児科研修医期間が 1 年と短かったので、東京大学に戻るといえることは正直考えておりませんでした。また、学部の保健学科についてはそれほど精通していませんでしたが、国立公衆衛生院での衣食住を含めた total な考え方は役に立ちました。保健学科に属していたので医学科とは異なり、修士課程 2 年と博士課程 3 年があります。赴任してから今までの経歴からどのように教室運営を進めていくか考えて、平山宗宏元教授、日暮眞前教授、杉下知子教授の母子保健と感染症との路線を踏襲しようと思いました。思えば、平山宗宏先生から始まった母子保健は、感染症が一つの教室のテーマでした。また平山先生、日暮先生が培われた社会学系の研究も加えました。私の在任中の 12 年間の初期に、組織としては大学院が国際保健学専攻のなかの発達医科学教室という名称に代わりました。国際保健学となったため国際的、特にアジアとの関係での研究・教育が行いやすくなりました。ただ私の経歴から発達という神経科学的な研究も行いたかったのですが、そこまで手が及びませんでした。大学院生の海外での母子保健の調査で栄養についての項目とともに神経の発達の項目を入れるように心がけました。現教授の水口雅先生は、神経からアプローチをして教室の研究を進められておられます。職員の数に限られており、発達医科学のおおののスタッフが独立したテーマで研究をされていたので、研究の方向性を一つに向けていくことは大変だと感じました。ただスタッフのベクトルの総方向がマイナスを向かないように、また

バクトルの総和が個々より伸びるように気をつけました。スタッフは協力的で助かりました。特に帝京のときに免疫関係での仲間の沖津祥子先生が私のほうにこられて、一緒に研究ができたことは大きいことでした。学生を含めて個人の研究意欲を損なわないように気を使いました。幸いなことに、私自身を含めて日本学術振興会科学研究費や厚生労働科学研究費をいただくことができたため研究費のほうは何とかやりくりできました。また赴任した当時は研究費(消耗品)をサポートしてくださる教授がおられ、今でも感謝しております。さすが東京大学と思えるほど、それなりの大学の研究費はあったように思います。このことはよい研究をするにはヒトが必要で、成果が出れば研究費が賄えるという相乗効果が東京大学ではできやすいことだと思います。しかしこのことは決して東京大学だけには限らないことと思います。

すでに述べたように研究内容は、貪欲かもしれませんが、社会学系と実験系両方をもちました。社会学系は、母子保健に関する内容では各大学院生または学部学生の希望を尊重しました。ただ現実的には本人・教室の能力あるいは経済的に可能な範囲としていました。アジアにおける母乳哺育の現状を日本、中国、タイ、韓国、台湾、ベトナムなどで比較、中国の母子保健、中国での子どもの肥満、中国での子どもの鉛中毒、中国およびベトナムの少数民族の子どもの健康、特に栄養、ラオスの子どもの健康、ラオスでの風疹および先天性風疹症候群、ベトナムの子どもの感染症(特にHIV母子感染、ウイルス性下痢症)、わが国での在日外国人の子どもの健康などが含まれます^{9~11)}。また、感染症ではウイルス性下痢症の分子疫学、HIV母子感染の分子疫学などを日本、タイ、中国、極東ロシア、バングラデシュ、スリランカなどを対象国として扱いました^{12~14)}。海外のウイルス性下痢症は留学生が自分の国で関係する地域の検体を集めました。留学生が修士あるいは博士課程で十分に研究ができるように、あらかじめ現地を訪問し留学生に会って話し合いをしました。検体採取は少なくとも1年間を通して採取しました。修士の発表に間に合い、さらに修士時代の業績で博士課程の民間の奨学金がもらえるよう

に、原著をなるべく早く論文が作れるようにと考えて進めました。その成果か、ほぼすべての修士学生が博士課程に入ることができる程度には研究の内容を高めました。海外の大学院生についてはアジア開発銀行の支援があったことで、研究の目的を遂行できる研究者に来ていただくことができました。アジア開発銀行の支援は修士課程だけです。博士課程では民間の奨学金をいただかなければなりません。幸いにも多くの修士学生は申請までにすでに英語の論文が2報ほどは出ましたので、民間からの奨学金を戴けました。また、発達医科学教室に属しながら国立感染症研究所、東京大学の他の学部にも属した大学院生もおります。一部は外部から頼まれて教室に属された院生です。これらの研究者が総計年間20編以上の海外雑誌に発表されたこと^{15,16)}は深く感謝しています。

わが国の下痢症の検体は帝京時代から続いておりますが、北海道(札幌)、東京、京都(舞鶴)、佐賀・久留米、大阪の小児科クリニックから検体が集められました。北海道は兼次邦男先生から菊田英明先生に、また東京は帝京大学や山本あつ子先生、舞鶴は上田勇一先生から西村修一先生に、大阪は西村忠史先生から杉田久美子先生、佐賀・久留米は本廣孝先生から黒岩利正先生、馬場常嘉先生、その後静岡(藤枝)の小林正明先生から長らく検体のご支援をいただいています。これらの検体は研究の宝であります。過去からの検体を保存しておりますが、私が移転を数回繰り返しており整理がついてないの也有ります。また惜しいことですが、捨てざるを得なかった検体もあります。私としては、ご連絡いただければ共用として使用していただければありがたいと思っております。診断としては一つの検体から複数の下痢症ウイルスを、一度にmultiplex PCRとして検出する方法を開発しました。Aセット(ロタウイルスA, B, C, アデノウイルス)、Bセット(ノロウイルスG I, II, サポウイルス, アストロウイルス)、Cキット(パレコウイルス, アイチウイルス, エンテロウイルス)を作りました(図1)。また最近、ポカウイルス, コサウイルス, サフォードウイルスのRT-PCR法も行っています^{17,18)}。新しいウイ

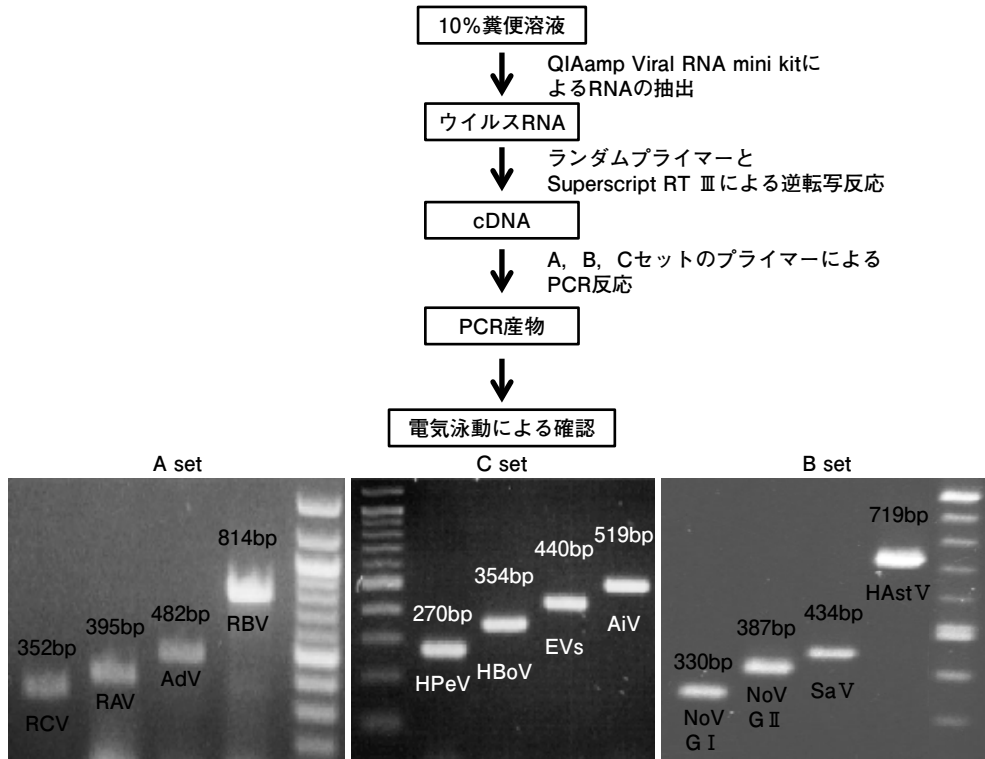


図 1 A, B, Cセットの multiplex RT-PCR

これで 11 種の下痢症ウイルスが検出される。現在は呼吸器系のウイルスの検出も行っている。

ルス性下痢症もあり得ますので、その後も新奇なウイルスが論文で発表されると検討しております。RNA ウイルスを抽出する Qiagen のキットでアデノウイルスやボカウイルスの DNA ウイルスも検出できます。またランダムプライマーを使用することにより、今のところどのウイルスも検出できる cDNA を作っております。さらにリアルタイム RT-PCR と同程度の感度をもてる nested PCR や semi-nested PCR を行っています。同時に PCR 産物は遺伝子解析にもっていきます。PCR だけではときに危険性が伴います。プライマー領域の変異があると PCR 産物ができないことがあります。他のプライマーを用いて行うことや、免疫学的手法を用いて確認することが必要です。免疫学的手法としてはロタウイルス、ノロウイルス、サポウイルス、アストロウイルスのキットを作製しています(図 2)。これらは民間会社と共同で開発しています。特にノロウイルスのイム

ノクロマトキットは世界で初めてのものです^{19,20)}。サポウイルス、アストロウイルスについてはすべての型を拾えるキットが欲しいですが、現時点では最も流行している型を中心に検出可能で改良中です。ロタウイルスとノロウイルスあるいはロタウイルス、アデノウイルス、ノロウイルスを同時に検出できるキットができ、間もなく市販されると思います。これまでの検出法を示しました(図 3)。これらの診断法を用いて疫学を行うと、わが国においては小児の散発性下痢症としてノロウイルスの流行が初冬にみられるのはこの 20 年ぐらいかわりはないのですが、ロタウイルスの流行は次第に冬 12~1 月から初春に変わってきました。その理由はわかりません。国の機関から出される感染症情報としては、小児の感染性胃腸炎としての頻度はロタウイルスがノロウイルスより少ないようですが、私たちの共同研究者の下では従来ロタウイルスの割合が多かったのがこの

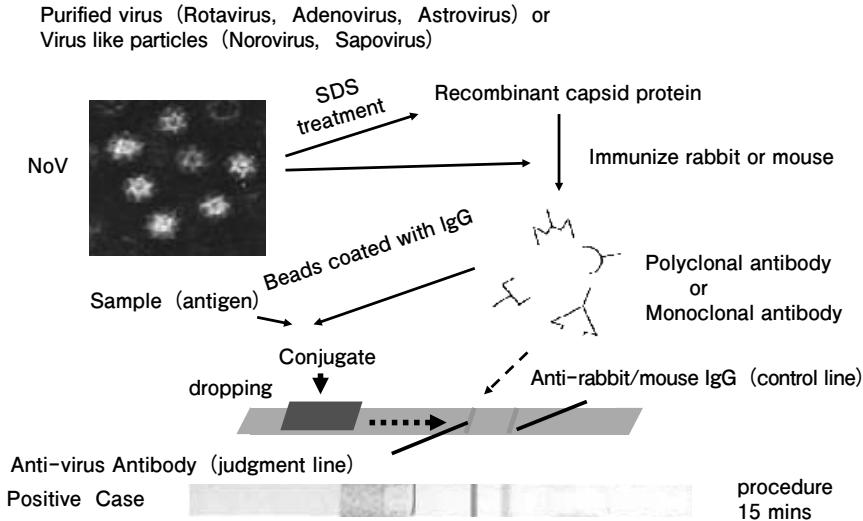


図 2 イムノクロマトグラフィーの原理

精製ウイルスあるいはウイルス様中空粒子を家兎またはマウスに免疫しポリクローナルやモノクローナル抗体を作る。これを用いてキットを作製する。

数年はノロウイルスが多くなってきています。感染症情報での定点で検体をいただく小児科機関ではロタウイルス迅速診断検査が自前でできるようになったので、国の機関に出すことが少なくなったというバイアスがかかったとしています。Multiplex RT-PCRはこの間特にプライマーや条件の方法を変えているわけではありません。この理由もよくわかりません。海外の留学生による自国のウイルス性下痢症の分子疫学は、留学生が来た年については詳細に調べましたが必ずしもその後継続されたわけではありません。しかし、自国に帰った大学院生のなかには、時間の余裕や研究費がとれたりしてリーダーとして研究を始めた者もあります。そのなかで東南アジアでは一般的な傾向はロタウイルスの検出が一番多いということです。このことはロタウイルスがより重症なため病院に来て治療を受けるためと考えられます。ノロウイルスを含めたその他のウイルスも見出されています。また、わが国では検出が難しいことですが、ロタウイルスのVP7とVP4をみて通常のPCRの方法で型が見出せない場合、VP7、VP4の全体の遺伝子解析をすると動物、例えばサル、ウシなどのVP7、VP4との自然界での組換えが生じている場合があります^{21~23)}。東南アジアでの流行の季

節性は2つあるようです。これらの国ではおおまかにみると雨季または乾季に多いという流行の偏りはありますが、気温はほぼ恒常的で気温での流行の差はいえませんが、また洪水などが生じると衛生状態が悪くなるためか、下痢症が増えます。またバングラデシュではD群アデノウイルス内での組換えなどなど、わが国では見出せなかった成果を得ました²⁴⁾。分子疫学について私が大学院生によくいうのは、遺伝子型がunknownな検体は砂のなかにダイヤモンドがあるかもしれないことを示しており、しつこくいくつかのアプローチを加えるべきだと話しています。大学院生の論文数、論文の質の違いはそこよることが考えられます。わが国の20年以上にわたるG遺伝子型の変化については、大きくはG1が多いがG1とG3の割合が逆転することが2回ありました(図4)。アジアの国によってはG2が最多の年、G3が最多の年がありました。G1とG3の逆転の年をみると、世界的にも同様な現象がみられました。このことは大きな変動は全世界のことと考えられました²⁵⁾。G遺伝子型内で年ごとの遺伝子解析をするとそれぞれクラスターをもっていました。近年ロタウイルスの全遺伝子を解析する方向にあります。遺伝子解析が安価で解析が簡単になったため

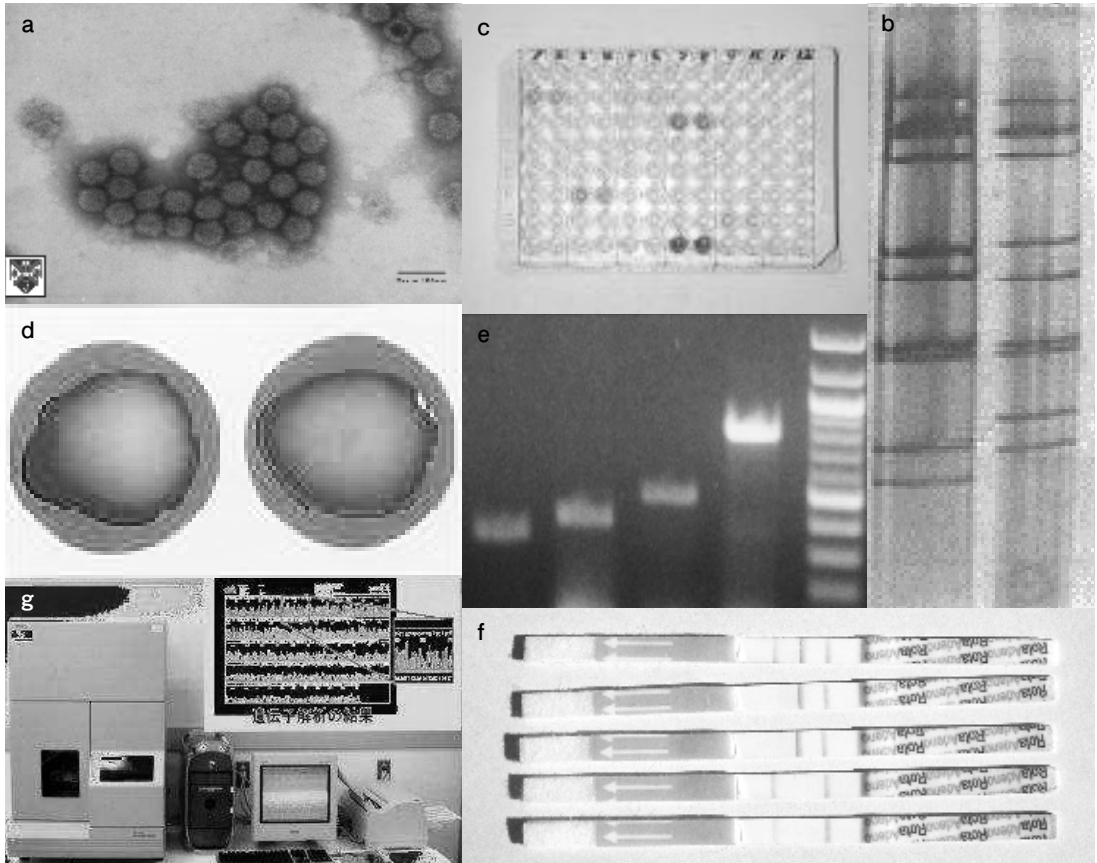


図 3 ウイルス検査法の変遷

a : 電子顕微鏡法 (ロタウイルス) b : RNA-PAGE 法 (ロタウイルス RNA のゲル電気泳動) c : 酵素抗体法
d : ラテックス凝集法 e : multiplex RT-PCR 法 f : イムノクロマト法 (2 ウイルス抗原の検出) g : 遺伝子
解析法

と新しい成果を報告するのにその必要が求められます。

ロタウイルスのみならずノロウイルスの分子疫学も重要です。近年 GII.4 のノロウイルスの変異株の流行が世界的に起きています。ノロウイルスの特徴から突然変異のみならず株間、ゲノタイプ間、ゲノグループ間の組換えが生じております²⁶⁾。以上、日本の小児科クリニックのみならずアジアの国々から検体で解析をしました。

研究以外に母子保健の立場から、東京大学の5月祭に和洋女子大学の鈴木みゆき先生の紹介で「やなせたかし」氏をお呼びして講演をしていただいたこと、さらに医学部のセミナーに服部公一氏に講演をしていただき、ともにご自分のお仕事と

生き方について話をさせていただいたことが記憶に残ります。第二次世界大戦とその後の悲惨な状況から、何を私たちが子どもたちのためにすべきか話されました。

60 歳定年およびその延長が話題になっていました。同期の教授すべてが 60 歳定年かその前に去ることになりました。

VIII. ポスト東京大学時代 (2007～)

赴任中の東京大学で非常勤講師としてお手伝いいただいた、また社会学の方面での研究のアドバイスをいただいた高山忠雄先生の所属されている鹿児島国際大学福祉社会学研究科の大学院博士課程の立ち上げに赴任しました。鹿児島での期間は

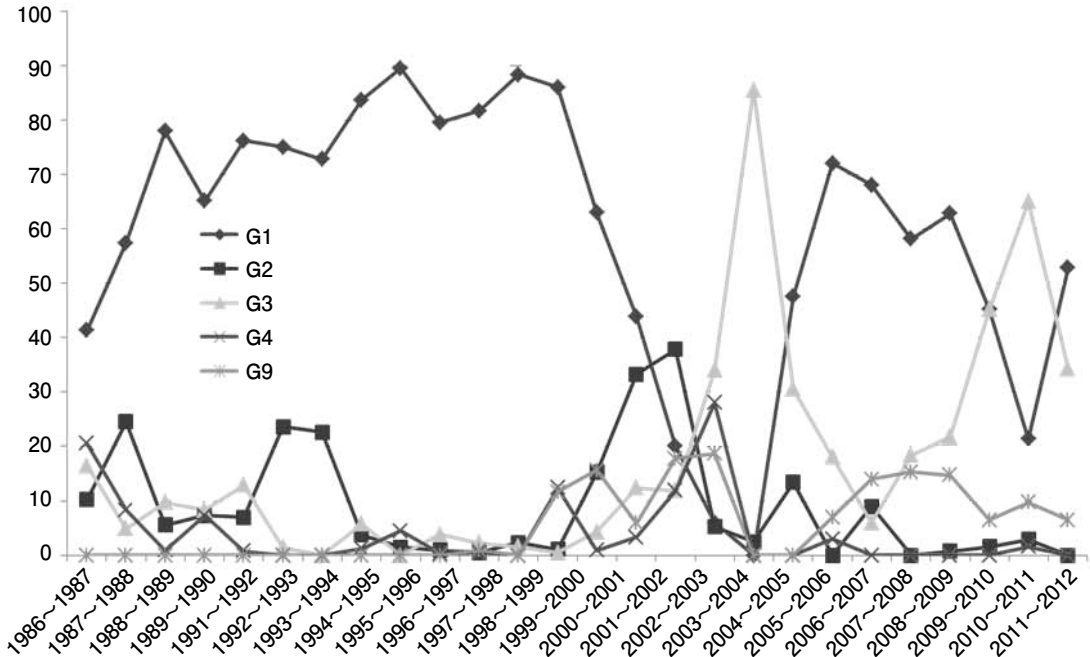


図 4 25年にわたるわが国のロタウイルス G 遺伝子型の変化

短かったが温かく迎えていただいたことと、鹿児島をわずかながら知ることができ感謝しています。幸いにも東京大学での仕事を藍野大学健康科学センター（東京）の場を借りて行うことができ、またその後藍野大学に特任教授として転職しました。

水口雅教授のご理解の下で、引き続き東大に来ている大学院留学生のお世話を続けさせていただきました。しかし藍野大学はある事情から東京のセンターを閉鎖することとなり、急ではありましたが日本大学医学部病態病理学系微生物学分野の早川智教授の下に客員教授としてお世話になりました。移動が続き、ともに続けて移動してくれた方々には迷惑をかけましたが、現在は落ち着いた研究の日々を続けています。

研究面では、①引き続き国内の小児科クリニックを中心としたウイルス性下痢症の分子疫学です。ロタウイルスのワクチン導入によって今後ロタウイルス感染者の減少や遺伝子型が変化する可能性があります。現在、東京大学の高梨さやか先生が中心に続けてくれています。ノロウイルスのワクチンの開発が海外でなされています。ロタウ

イルスワクチンの開発について、ヒトロタウイルスの細胞培養が日本でなされたにもかかわらずわが国での開発が不成功に終わりましたが、同様なことがノロウイルスについても進んでいます。しかし細々ながらもロタウイルスとノロウイルスの混合ワクチンを目指してマウスでの実験を行っています。埼玉医科大学の町田早苗先生、イムノプロ社と一緒に進めています。また、ヒトのノロウイルスの培養は世界的には成功していません。ウイルス様粒子を用いた種々の研究や病態研究がわれわれを含めて行われています。組織血液型抗原との関係については、群馬大学の矢澤伸先生とともに進めています。ヒトノロウイルスの培養は根気のいることであるが進めていきたいと思っています。サポウイルスについても同様です。培養については国立・地方衛生研究所の研究者の方が日々、しかも長年にわたって行っておられるためプロフェッショナルであり、共同研究体制をつくれれば幸いです。②ウイルス性下痢症研究を中心としていますが、現在小児科臨床もしていることから細菌性下痢症や呼吸器のウイルス感染症やウイルス性脳炎・脳症の遺伝子検査、できれば迅速診

断も含めて検査を行う体制を進めて行き、地域病院や大学病院、そして海外、特にアジアの国々の臨床に役立つように努力しております。③東大時代の研究者、特に若い研究者との交流を続けお互いにサポート体制を続けたいと思います。

おわりに

私が20年以上住んでいる小平市は東京の西のほうになります。自然豊かなところです。感染症研究所の職員になり村山庁舎と戸山庁舎の途中で両方に便利なところとして帝京大学の付近から移りました。その後、ふとしたきっかけで東京大学に勤め、そこを退職してからも研究を主として東京大学当時の方々と大学院留学生と行っています。また、多くの研究者、医療従事者と一緒に仕事をさせていただきました。本文中にはない方として、清水優子、佐藤京子、玉木太郎、早川有子氏などの教室の方、国立感染症研究所の西條政幸、清水博之、藤本嗣人先生など、地方衛生研究所では清水英明先生など、海外では Müller, Maneekarn, Khamrin, Nguyen, Phan, Fang, Li Y, Li L 先生などに深謝します。すべての方々のお名前を盛り込むことはできませんでしたが、感謝いたします。また、大学卒業後、職場を何回も移りましたが、この道を長く続けることに協力いただいた家族にありがたいと思っています。趣味として旅行中や通勤の途中に撮った国内外の「巷の子どもの像」を機会あればまとめて紹介したいと思っています。子どもの像が巷にみられるのにはその国が平和であり、気持ちのゆとり、子どもを尊重する国民性がないと生まれえないと思いました。

小平に平櫛田中という彫刻家の方がおられました。「六十七は はなたれ小僧 おとござかりは 百から百から わしもこれからこれから」。確かに芸術家の道はそうかもしれませんが。しかし現在の研究者にも通じるところがあるかと思えます。一方、「川の流れるように」の曲のように「おだやかにこの身をまかせていたい」とこれからの研究を進めたいとの気持ちがあります。最後に大学院生によくまとめとしてスライドに出した、「夢、目的意識」「情熱、挑戦」「継続は力なり、千

里の道も一歩から」「ハングリー精神」「健康、安全」「共生、協力」のスローガンを共有したいと思います。

文 献

本文中の筆者の名前が連名となっている論文にのみ限らせていただいた。筆者関連の英文論文は PubMed で ushijima h で検索可能です。

- 1) 牛島廣治, 他: ビリルビンの細胞毒性について—中枢神経細胞と末梢白血球の形態, 機能の変化の相関について—. 新生児誌 13: 139-144, 1977
- 2) Ushijima H, et al: Characterization of the viral ribonucleic acids and structural polypeptides of anopheles A, Bunyamwera, group C, California, Capim, Guama, Patois, and Simbu bunyaviruses. Amer J Trop Med Hyg 29: 1441-1452, 1980
- 3) Ushijima H, et al: Analyses of Patois Group Bunyaviruses: Evidence for naturally occurring recombinant viruses and existence of immune precipitable and nonprecipitable nonvirion proteins included in Bunyavirus infected cells. Virol 110: 318-332, 1981
- 4) Ushijima H, et al: Epidemiology of rotavirus infection in Tokyo during two winter seasons, as revealed by analyses of recovered viral RNA. Eur J Pediatr 142: 71-72, 1984
- 5) Tajima T, et al: Isolation of murine rotavirus in cell culture. Arch Virol 82: 119-123, 1984
- 6) Ushijima H, et al: Characterization of human immunodeficiency virus-1-infected cells of myeloid-monocytic lineage (ML-1, HL-60, THP-1, U-937). J AIDS 5: 1001-1004, 1992
- 7) Ushijima H, et al: Detection and sequencing of rotavirus VP7 gene from human materials (stools, sera, cerebrospinal fluids, and throat swabs) by reverse transcription and PCR. J Clin Microbiology 32: 2893-2897, 1994
- 8) Saito K, et al: Detection of astroviruses from stool samples in Japan using reverse transcription and polymerase chain reaction amplification. Microbiology and Immunology 39: 825-828, 1995
- 9) Ushijima H: Foreword. Mother and child health in Asia and Africa. Pediatr Int 49: 258-259, 2007
- 10) Li L, et al: Moderate-vigorous physical activity and body fatness in Chinese urban school children. Pediatr Int 49: 280-285, 2007

- 11) Li Y, et al : Malnutrition improvement for infants and young children under 18 months old of Dai Minority in Luxi, China. *Pediatr Int* 49 : 280-285, 2007
- 12) Ushijima H : Rotavirus infection in Asia. *Pediatr Int* 42 : 392-394, 2000
- 13) Maneekarn N, et al : Detection of rare G3P[19] porcine rotavirus strains in Chiang Mai, Thailand provides evidence for the origin of VP4 genes of Mc323 and Mc345 human rotaviruses. *J Clin Microbiol* 44 : 4113-4119, 2006
- 14) Nguyen TA, et al : Subtyping and env C2/V3 sequence analysis of HIV-1 isolated from HIV-infected children hospitalized in Children Hospital 1, Vietnam during 2004-2005. *J Trop Pediatr* 55 : 399-401, 2009
- 15) Huy TT, et al : High prevalence of hepatitis B virus pre-S mutant in countries where it is endemic and its relationship with genotype and chronicity. *J Clin Microbiol* 41 : 5449-5455, 2003
- 16) Tani H, et al : Characterization of cell-surface determinants important for baculovirus infection. *Virology* 279 : 343-353, 2001
- 17) Yan H, et al : Detection of norovirus (G I , G II), sapovirus and astrovirus in fecal samples using reverse transcription single-round multiplex PCR. *J Virol Methods* 114 : 37-44, 2003
- 18) Khamrin P, et al : Saffold cardiocoroviruses in children with diarrhea, Thailand. *Emerg Infect Dis* 17 : 1150-1152, 2011
- 19) Okame M, et al : Evaluation of a newly developed immunochromatographic method for detection of norovirus. *Kansenshogaku Zasshi* 77 : 637-639, 2003
- 20) Shiota T, et al : Characterization of a broadly reactive monoclonal antibody against norovirus genotype I and II : recognition of a novel conformational epitope. *J Virol* 81 : 12298-12306, 2007
- 21) Nguyen TA, et al : Diversity of viruses associated with acute gastroenteritis in children hospitalized with diarrhea in Ho Chi Minh city, Vietnam. *J Med Virol* 79 : 582-590, 2007
- 22) Nguyen TA, et al : Use of sequence analysis of the VP4 gene to classify recent Vietnamese rotavirus isolates. *Clin Microbiol Infect* 14 : 235-241, 2008
- 23) Matsushima Y, et al : Genome sequence of an unusual human G10P[8] rotavirus detected in Vietnam. *J Virol* 86 : 10236-10237, 2012
- 24) Matsushima Y, et al : Genome sequence of a novel virus of the species human adenovirus d associated with acute gastroenteritis. *Genome Announc* 2003 : 1.pii : e00068-12.
- 25) Dey SK, et al : Seasonal trend and serotype distribution of rotavirus infection in Japan, 1981-2008. *Pediatr Infect Dis* 29 : 166-167, 2010
- 26) Thongprachum A, et al : Emergence of norovirus G II /4 2006a and 2006b variants in hospitalized children with acute gastroenteritis in Thailand. *Clin Lab* 59 : 271-276, 2013

* * *