



Tinkiti Toyama Memorial Award  
for Food and Environmental Sciences

# 遠山椿吉記念 第4回 食と環境の科学賞

授賞式・受賞記念講演会・レセプション  
プログラム

平成27年2月17日(火)

於 ホテル メトロポリタンエドモント

一般財団法人 東京顕微鏡院  
医療法人社団 ころとからだの元氣プラザ

# 遠山椿吉記念 第4回 食と環境の科学賞

## 授賞式 式次第

平成27年2月17日(火)  
ホテル メトロポリタンエドモント

### ◎ 授賞式 (本館2階 波光)

午後5時30分

開 式 一般財団法人 東京顕微鏡院 副理事長  
医療法人社団 ころとからだの元氣プラザ 理事 高橋 利之

選考委員長講評・  
受賞者紹介 東京大学名誉教授 柳沢 幸雄

表 彰

選考委員紹介

祝 辞 一般財団法人 東京顕微鏡院 および  
医療法人社団 ころとからだの元氣プラザ 理事長 山田 匡通

来賓祝辞 中井 里史  
(横浜国立大学大学院環境情報研究院 教授 一般社団法人 室内環境学会 理事長)

那須 正夫  
(大阪大学大学院薬学研究科 衛生・微生物学分野 教授)

受賞者挨拶 新田 裕史  
(独立行政法人 国立環境研究所 環境健康研究センター センター長)

山口 進康  
(大阪大学大学院薬学研究科 衛生・微生物学分野 准教授)

閉 式

### ◎ 受賞記念講演会 (本館2階 波光)

午後6時20分

座 長：一般財団法人 東京顕微鏡院 理事 伊藤 武

講 演 新田 裕史

山口 進康

閉 会

### ◎ 受賞記念レセプション (本館2階 薫風)

午後7時40分

開 会

挨 拶 一般財団法人 東京顕微鏡院 食と環境の科学センター 統括所長 塩見 幸博

乾 杯 一般財団法人 東京顕微鏡院 理事 安田和男

(懇 親)

閉 会

(午後8時40分)

## ごあいさつ

みなさま、一般財団法人東京顕微鏡院および、当財団の保健医療部門をルーツとする医療法人社団こころとからだの元氣プラザ両法人を代表し、遠山椿吉賞受賞に際して、お祝いのご挨拶を申し上げます。

このたび、グローバルに拡大しつつある大気汚染の課題に対し、環境疫学の手法によるPM2.5等の大気汚染物質の健康影響の評価に関するご功績が高く評価され、新田裕史先生が「遠山椿吉記念 第4回 食と環境の科学賞」を受賞されました。先生のご業績は、国際的な学術誌に掲載されただけでなく、わが国の大気汚染防止対策の立案や環境基準設定などに大きく貢献しています。また、奨励賞として、生菌を迅速に(real-time)、その場で(on-site)検出できるという新たな微生物モニタリングを幅広い分野に実用化された研究成果ならびに、既成の微生物培養法に代わる今後の発展に期待し、山口進康先生が選ばれました。こころより、お祝い申し上げます。

さて、伝染病が最大の脅威とされていた明治時代、遠山椿吉博士は公衆衛生の研究者として人が着目しなかった飲料水の水質に着目して行政にも強く関わり、「水道水質試験方法」の統一を主唱して「上水試験方法統一のための協議会」を開催したのが今日の日本水道協会の始まりです。また、白米中心の食生活であった当時、毎年約1万人以上もの死者を出す「脚気」は社会的な疾患の一つでした。国内の殆どの研究者が脚気の伝染病説を支持し、脚気菌探しに精力が注がれていたなか、博士は広範な疫学調査や動物実験による栄養試験成績など、長年の研究からこの考えを勇気を持って否定し、脚気の原因を「米糠中の特主成分の欠乏」と提唱して米糠から治療薬「うりひん」を抽出し、その薬を治療へと応用しました。

このたびの「第4回 食と環境の科学賞」は、一世紀以上のときを経て、健康ないのちを目指して邁進する、今日の研究者と、その優れた功績に光をあてたものと思います。

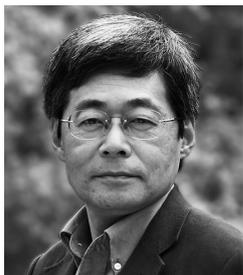
遠山椿吉賞は、当財団創業者で医学博士、遠山椿吉の公衆衛生向上と予防医療の分野における業績を記念し、その生誕150年、没後80年である平成20年度に創設した顕彰制度です。その生き方を尊重し、『公衆衛生向上をはかる創造性』、臨床現場での『予防医療の実践』、『これからの人の育成』につながることを、本賞における本質的なポイントと考えており、日本の公衆衛生において、人びとの危険を除き、いのちを守るために、先駆的かつグローバルな視点で優れた業績をあげた個人または研究グループを顕彰するものと位置づけています。

当財団並びに共通のルーツを持つ医療法人は、平成23年4月に創立120周年を迎えましたが、今後とも医事衛生の進歩を図り、公衆衛生の向上に資するよう取り組んでまいり所存です。このたびの授賞にあたり、新田裕史先生、山口進康先生のますますのご活躍と、わが国の公衆衛生、予防医療分野の発展と、皆様のご健康、お幸せを心より祈念し、結びの言葉とさせていただきます。

平成27年2月17日

一般財団法人東京顕微鏡院  
医療法人社団 こころとからだの元氣プラザ  
理事長 山田匡通

## 遠山椿吉記念 第4回 食と環境の科学賞



受賞者

**新田 裕史** (にいた ひろし)

(独立行政法人国立環境研究所環境健康研究センター センター長)

テーマ名

「環境疫学手法によるPM2.5等の大気汚染物質の健康影響の評価に関する研究」

### ■ 背景

環境疫学は大気汚染物質や各種環境汚染物質の健康影響について、その有害性の同定や曝露量－反応関係の推定などに関する科学的知見を提示することによって、環境と健康の関連性を明らかにするだけでなく、環境基準設定等の根拠となるなど、規制科学としての役割を果たしてきた。

受賞者は、環境疫学における最も大きな課題である曝露量の定量評価や多種多様な環境要因を解析するための統計手法を適用など、実施上ならびに解析上の多くの困難を内包する環境疫学研究に長年取り組んできた。

### ■ 調査・研究のねらい

大気汚染物質の種類や発生源は多様であるとともに、大気汚染物質の健康影響を疫学研究によって評価するためにはさまざまな交絡要因を考慮する必要がある。そのため、研究デザインは大気汚染度の異なる多数の地域を選び、曝露量評価の精度を上げるための環境疫学手法を検討することや交絡要因を考慮して、多様な大気汚染物質の中から目標とする大気汚染物質の健康リスクを推定できるような統計解析モデルを選択する必要がある。

### ■ 調査・研究の成果

これまで、二酸化窒素をはじめとする大気汚染物質に関する疫学研究を進めてきたが、近年は幹線道路沿道住民における自動車排ガス曝露に関わる疫学研究とPM2.5及び黄砂等の越境大気汚染による健康影響に関する疫学研究を実施して、それらの知見を公表してきた。これらの研究の多くは複数の研究機関の研究者との共同研究であるが、受賞者は各研究課題で企画・解析の中心的な役割を担った。

環境省が実施した「そらプロジェクト」と呼ばれる自動車排ガス曝露に関わる疫学研究では幹線道路沿道住民における自動車排ガスへの曝露量推計モデルを開発するとともに、それらの推計値を用いて学童の喘息発症等との関連性に関する解析を行った。PM2.5及び黄砂等の越境大気汚染の短期曝露による呼吸系や循環器系への健康影響に関する疫学研究では、死亡、入院、救急搬送、呼吸機能などさまざまな指標について、主として大気汚染物質の日平均との関連性について、さまざまな統計モデルを援用して解析を行い、成果を公表した。さらに、

PM2.5の長期曝露による健康影響については、疫学研究として高い評価を得ている国内のいくつかの代表的コホート研究のデータを用いて、肺がんや循環器疾患との関連性を検討した。

#### ◇ 授賞対象業績の概要説明

特に、生活環境衛生に対する独創性、将来性、有効性、経済性、貢献度等について

受賞者の研究業績は、国際的な学術誌に掲載されただけでなく、いずれも日本の大気汚染防止対策の立案や環境基準設定などに大きく貢献したものである。

「そらプロジェクト」は1988年の公害健康被害補償法の第一種指定地域解除において課題とされた幹線道路沿道住民の健康被害に関する調査研究として企画されたものであり、その成果は環境省における環境保健行政施策立案に貢献するものである。

PM2.5の健康影響に関する成果は、2009年の微小粒子状物質の環境基準設定の際に数少ない日本における知見として参照されるとともに、環境基準の妥当性を確認するために実施すべき調査研究として位置づけられている。また、今般の中国大陸からの越境大気汚染に関わるPM2.5問題に関連して環境省が示した「注意喚起のための暫定的な指針」づくりにあたっても、大きく貢献したものである。

略 歴：東京大学大学院医学系研究科保健学専門課程博士課程修了(保健学博士取得)('82年)、国立公害研究所環境保健部環境疫学研究室研究員('82年)、東京大学医学部保健学科疫学講座助手('84年)、米国ハーバード大学公衆衛生学部環境科学・生理学科客員研究員('86～87年)、国立公害研究所環境保健部環境疫学研究室主任研究員('90年)、国立環境研究所地域環境研究グループ都市環境影響評価研究チーム総合研究官('96年)、独立行政法人国立環境研究所PM2.5・DEP研究プロジェクトグループ疫学・曝露評価研究チーム総合研究官('01年)、同研究所環境健康研究領域環境疫学研究室長('06年)、同研究所環境健康研究センター次長('10年)、同研究所環境健康研究センター長('11年)、現在に至る。

委員等：東京大学医学部非常勤講師、中央環境審議会臨時委員(環境保健部会)、環境省環境保健サーベイランス・局地的大気汚染健康影響検討会委員。

学会等：日本疫学会理事、大気環境学会理事、日本衛生学会評議員、室内環境学会評議員

## 遠山椿吉記念 第4回 食と環境の科学賞 奨励賞



受賞者

**山口 進康** (やまぐち のぶやす)

(大阪大学 大学院薬学研究科 衛生・微生物学分野 准教授)

テーマ名

「real-time on-site モニタリングによる  
生活環境における衛生微生物学的安全の確保」

### ■ 背景

感染症は依然として我々の生存にとって大きな脅威である。途上国では水系感染症によって子どもをはじめとする多くの命が失われており、衛生状況の改善、特に安全な水や食物の供給が必要とされている。また、環境や我々の生活様式の変化とともに、様々な感染症が新たな問題となっている。国際的な交通の発展により、多くの人と物が世界中を移動しており、コレラ等の旅行者感染症(輸入感染症)の拡大が懸念されている。

一方、身近な生活環境では、水の循環使用にともなうレジオネラ症のアウトブレイクや、大腸菌O157等による集団食中毒の発生などが社会問題となっている。生活環境における衛生微生物学的な安全の確保は、途上国のみならず先進国においても重要となっており、環境や飲食品の衛生微生物学的評価を迅速に(real-time) その場で(on-site) 行なうための手法が切望されている。

### ■ 調査・研究のねらい

ここ20数年の環境微生物学分野における研究の進展により、自然環境中の細菌の90%以上が通常の条件下では培養困難であることが明らかになっている。また培養法ではその検出に数日を要することから、国内外において、研究分野のみならず、産業分野や臨床分野、さらには行政分野において、培養に依存しない新手法を用いた微生物モニタリングが重要であることが認識されてきている。そこで、受賞者は「蛍光活性染色法」を着想し、様々な分野における衛生微生物学的な問題の解決のために、検討を行ってきた。

### ■ 調査・研究の成果

蛍光活性染色法は生きている微生物を培養することなく蛍光顕微鏡下で数分間で検出できるバイオイメーキング法であり、微生物細胞内のエステラーゼ活性を指標とする。

受賞者は本手法を1997年に開発し、水環境中の細菌を主な対象として研究を進め、基本を確立した。過去5年以内では、飲用水中の大腸菌の高精度検出やRO水調製工程における細菌モニタリングのほか、茶系飲料やミルク中の危害微生物の迅速検出に応用している。また、結核菌等の抗酸菌の迅速検出のために、二重染色法の検討を行った。

さらにその迅速性・簡便性から、日本薬局方第十五改正第二追補に参考情報「蛍光染色による細菌数の迅速測定法」として記載され(平成21年9月)、再生医療用製品の無菌試験への

応用についても検討されている。また、本手法を広く普及させるにはその自動化が重要であると考え、幅・深さ数十 $\mu\text{m}$ の微小流路を刻んだ数cm四方の樹脂性デバイス上で微生物の検出を行うマイクロ流路システムを独自に作製した。本システムは携行できることから、微生物モニタリングを迅速に(real-time)その場で(on-site)行うことを可能にした。

#### ◇ 授賞対象業績の概要説明

特に食品の安全、感染症、生活環境衛生に対する独創性、将来性、有効性、経済性、貢献度等について

蛍光活性染色法は、環境や飲食品中の生きている微生物量を数分から数十分以内に測定でき、簡便性と迅速性を特長とする。本手法の自動化を可能とするマイクロ流路システムで使用するデバイスは安価に作製でき、使用後すぐに滅菌できることから、安全性も高い。

さらに本システムは屋外での使用も可能であることから、これまでの国際共同研究を通じて連携を深めている海外研究者の協力のもと、東南アジアの水環境における危害微生物モニタリングに関する共同研究を計画している。

また、現在NASAやESA、JAXA等の宇宙機関においては、今後の月面基地や火星の有人探査を実現するため、超長期宇宙居住における衛生微生物学的安全性の確保を重視しており、各機関のロードマップにもその旨が明記されている。そこで、JAXAとの共同研究において、国際宇宙ステーション内で微生物モニタリングを実施するための検討を続けている。

略歴：大阪大学薬学部薬学科卒業（'91年）、同大学大学院薬学研究科博士前期課程修了（'93年）、同大学助手薬学部（衛生化学講座）（'93年）、同大学助手 大学院薬学研究科（遺伝情報解析学分野）（'98年）、大阪大学博士（薬学）取得（'99年）、同大学助教授 大学院薬学研究科（遺伝情報解析学分野）（'06年）、同大学准教授 大学院薬学研究科（衛生・微生物学分野）（'07年）、現在に至る。

受賞歴等：日本微生物生態学会論文賞（日本微生物生態学会）（'00年）、International Society for Microbial Ecology-Best Poster Award（'04年）、Best Poster of the 30th Annual Congress of the European Society of Mycobacteriology（'07年）、第61回日本薬学会近畿支部大会ポスター賞（'11年）、第63回日本薬学会近畿支部大会ポスター賞（'13年）、大阪大学総長奨励賞（'14年）

## ■ 東京顕微鏡院および、こころとからだの元氣プラザの歴史と公益事業 ■

### 3つの世紀にわたる歩み

1891(明治24)年に創立された東京顕微鏡院の歴史は、公衆衛生の向上によって命を救いたいと願う、遠山椿吉の熱い『人間愛』から始まりました。創業以来、東京顕微鏡院は政府などからの助成を一切受けることなく、自主的な経済活動によって公衆衛生の向上や学会誌発行、予防医療・健康診断など先見的な事業を展開すると同時に、伝染病予防に対する普及啓発など様々な形で社会に貢献してきました。1927(昭和2)年、財団設立を果たした翌年椿吉は他界しますが、脚気の無料巡回診療、小笠原健康な村づくり事業、先駆的なシンポジウム・セミナーの開催など、時代に則した公益事業活動は続き、その「スピリット」は、東京顕微鏡院の保健医療部門を統合・拡充し2003(平成15)年に設立された医療法人社団こころとからだの元氣プラザにおいても、時代を超えて今に受け継がれています。私たちの百二十余年の歩みは、「すべての人びとのいのちと環境のために」取り組んできた歴史であるといえます。

**遠山椿吉の功績:** 遠山椿吉は、ロベルト・コッホ博士がツベルクリンを発表した翌1891(明治24)年、顕微鏡による肺病早期診断の必要性を痛感し、1台の顕微鏡から東京顕微鏡院を立ち上げました。椿吉は臨床検査、飲料水の検査、顕微鏡技術者養成、顕微鏡検定、学会誌発行など事業を展開するとともに、当時最大の脅威であった伝染病予防のため一般大衆への啓発活動に努めたのです。また、1903(明治36)年東京市衛生試験所初代所長を兼任し、細菌学者として行政に深くかかわり、東京にいち早く安全な水道水の供給を実現して、日本の公衆衛生の発展に寄与しました。当時、全国レベルの「水道水質試験方法」統一を主唱していた遠山椿吉東京市衛生試験所所長が、翌1904(明治37)年「上水試験方法統一のための協議会」を開催したのが、現在の社団法人日本水道協会の始まりです。さらに、欧州先進国の予防医療の概念を紹介して1907(明治40)年には健康診査を提唱、実践し、研究者としては、当時毎年数千名を超える死者もあった脚気病原因の研究と治療薬開発を遂げました。36年間かけて事業基盤を築いた後、東京顕微鏡院を財団法人と成した翌年他界しますが、その創業の精神は今日に受け継がれています。



遠山 椿吉(とおやま ちんきち) 1857.10.1～1928.10.1 医学博士・細菌学者

遠山椿吉は、1857(安政4)年山形県に生まれ、東京大学において別課医学を修め、山形県医学校で教頭を務めた後、再び上京し、東京医科大学撰科で衛生学と細菌学を研究し、帝国医科大学国家医学科を卒業しました。1891(明治24)年東京顕微鏡院を設立し、二千余名に及ぶ医療技術者の養成、医学検査の実践普及、細菌学や脚気の研究、学会誌発行、健康診査、衛生思想普及活動などを推進。そのかわり、東京慈恵医院医学校講師、東京市衛生試験所所長などの職を兼ね、公衆衛生の発展に寄与しました。医事衛生分野における多数の著書がありますが、最晩年には、「さちのために」「人生の意義と道徳の淵源」など思想書を著し、華道や朝顔作りなど多彩な趣味を持ち、和歌に数多くの作を遺しています。

### ◆ 遠山椿吉賞について

本賞は、創業者遠山椿吉の公衆衛生向上と予防医療の分野における業績を記念し、一般財団法人東京顕微鏡院および医療法人社団こころとからだの元氣プラザが、日本の公衆衛生において、人びとの危険を除き、命を守るために、先駆的かつグローバルな視点で優れた業績をあげた個人または研究グループに対し、賞状、記念品および副賞として100万円を贈呈するものです。創業者生誕150年没後80年を記念して、平成20年度に創設されました。賞は、「遠山椿吉記念 食と環境の科学賞」と、「遠山椿吉記念 健康予防医療賞」の2部門あり、隔年で選考顕彰いたします。

### ◆ 遠山椿吉記念 食と環境の科学賞

公衆衛生の領域において、ひとびとの危険を除き、命を守るために、先駆的かつグローバルな視点で優秀な業績をあげた個人または研究グループを表彰します。平成26年度は、食品の安全と感染症、生活環境衛生を重点課題としました。  
食品の安全：たとえば、食品やヒト媒介微生物、残留化学物質、天然有毒・有害物質、食品添加物、食物アレルギー、器具・容器包装などに関する調査研究やこれらの分析法の開発、食品中の放射能汚染など、食品の安全に関わるものです。  
生活環境衛生：たとえば、シックハウス、アスベストやダニ、カビなど室内環境、大気汚染、ビル衛生、飲料水の安全性、水と感染症の問題などです。

◎「遠山椿吉記念 第5回 食と環境の科学賞」の応募期間は、平成28年4月1日より6月30日です。奮ってご応募ください。

### ◆ 遠山椿吉記念 健康予防医療賞

予防医療の領域において、ひとびとの危険を除き、命を守るために、先駆的かつグローバルな視点で優秀な業績をあげた個人または研究グループを表彰します。平成27年度は、将来の予防医療のテーマに先見的に着手したものを重点課題とします。たとえば、「近い将来の健康診査の方法論を変えるようなもの」、「健康診査の受診の機会を高め、医療経済面での効果がみられ、健康診査の精度向上に資するもの」、「認知症の予防と進行の遅延に関する研究など、超高齢社会構造における予防医療に関するもの」、「公衆衛生の発展、疫学研究に資するもの」、「こころの健康づくりにおける研究」、「性差医療に関するもの」などです。病を早期に発見し、発見したものを治療へつなげるという予防医療の基本目標について、地道に社会への貢献を追求する研究者を顕彰する賞と位置づけています。

◎「遠山椿吉記念 第4回 健康予防医療賞」の応募期間は、平成27年4月1日より6月30日です。

\* 遠山椿吉賞に関する詳細は、当法人ホームページをご覧ください。 <http://www.kenko-kenbi.or.jp/>

〈問い合わせ先〉 〒102-8288 東京都千代田区九段南4-8-32

一般財団法人東京顕微鏡院 公益事業室 「遠山椿吉賞運営事務局」宛

Tel.03-5210-6651 Fax.03-5210-6671

## 授賞式

「遠山椿吉記念 第4回 食と環境の科学賞」の授賞式・記念講演会・レセプションは、2015(平成27)年2月17日(火)にホテルメトロポリタン エドモント(東京・飯田橋)にて開催されました。授賞式には、選考委員の先生方をはじめ、研究者、報道関係者ほか当法人関係者など、100名近い参列者が祝福に集まりました。



山田匡通理事長は、まず、学識経験豊富な一流の選考委員の先生方が、厳正な審査に携わっていただいていることに感謝を述べ、選考委員各位をご紹介し、心からの敬意を表しました。

続いて、新田裕史氏の長年にわたる大気汚染のご研究成果について、「国際的に高い評価を得たとともに、わが国の大気汚染防止対策の立案や環境基準設定などに大きく貢献された」と、深い敬意とともに祝辞を述べました。また、山口進康氏のご研究については、「微生物のモニタリングに、非常に新しい手法を開発された」と感銘の意を表するとともに、一般に知られることが少ない、公衆衛生向上にまい進される研究者のご貢献に光を当てることができる喜びを語り、創業者である遠山椿吉博士に感謝を捧げました。そして、「新田先生、山口先生、ご臨席の皆様のみますご活躍・ご健康を心より祈念申し上げまして、お祝いの言葉とさせていただきます」と結びました。

### 記念 第4回 食と環境の科学賞



山田匡通理事長より新田裕史氏(左)に遠山椿吉賞を授与

### 記念 第4回 食と環境の科学賞



山口進康氏(左)に遠山椿吉賞奨励賞を授与

## 新田裕史先生 受賞コメント

すべての仕事において、同僚や仕事相手なしには何事も成し遂げることができないと同様に、研究においても職場の先輩、同僚等の支援、多くの共同研究者の協力がなければ、研究成果を得てそれを世に発信することはできないわけです。学術の世界でも、スポーツの世界でも、このような晴れがましい場で、受賞者は仲間や家族に対する感謝を述べるということが通例でございますけれども、環境疫学の場合にはまさしくすべてが共同作業、チームとしての研究であります。私の業績とされましたすべてが共同作業の賜物であります。共同作業に関わった多くの研究者を代表して、この賞をいただいたものと考えております。

私は大学院時代からほぼ一貫して、大気汚染の健康影響に関する疫学研究に従事してまいりました。ただ、私の研究業績には、誰も気が付かないような大気汚染物質の健康影響を発見したというような、華々しいものはまったくないといつてもよいかもしれません。一般的に健康影響が疑われているような大気汚染物質につきまして、現実の人々を対象としてその影響の程度、具体的な内容を明らかにしたというものです。自分自身では、有意義な面白い研究分野であると思っておりますが、ある意味非常に地味な研究分野でございます。このような環境疫学の分野に注目していただいたことにつきまして、重ねて感謝を申し上げ、私の受賞が環境疫学を目指す若い研究者の励みになれば、これ以上の喜びはございません。



## 環境疫学の役割と展望～大気汚染の疫学～

独立行政法人国立環境研究所  
環境健康研究センター センター長  
新田 裕史

### 1 環境疫学の要素

環境疫学という分野が対象とする「環境」とは、人びとが自らの意志ではその曝露を制御できない、もしくは制御することが困難な環境要因のことを指します。たとえば、大気汚染の曝露を個人が完全に避けるのは非常に困難なことです。そのため、大気汚染は環境疫学の対象となります。あるいは、喫煙も環境疫学の対象として取り上げられることがありますが、「能動喫煙」は喫煙をする個人が自らの意思で喫煙をやめることが可能なので、疫学の対象ではありませんが環境疫学の対象とはなりません。一方、「受動喫煙」は個人が避けるのはなかなか困難なので、環境疫学の対象となります。

「個人が曝露を制御するのが困難である」ということは、言い換えると「個人個人に曝露量を聞いてもわからない」ということです。喫煙を例にあげる

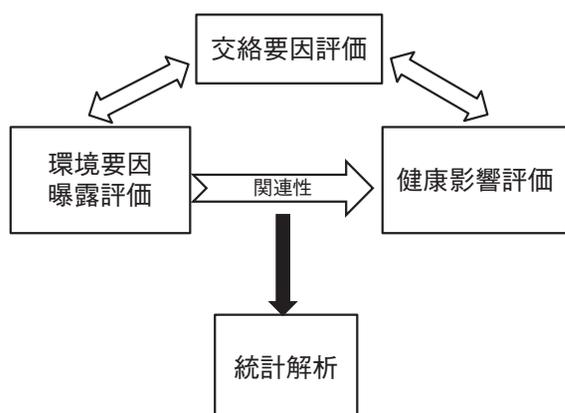


図1 環境疫学の要素

と、能動喫煙による曝露の程度は、喫煙者に喫煙量を尋ねれば、ある程度は推測可能です。しかし、受動喫煙の程度について、「あなたが受動喫煙によって曝露される汚染物質の量はどの程度ですか」と尋ねても、なかなか明確な回答は得られないでしょう。こうした点は、環境疫学の研究を進める際の「困難さ」となります（大気汚染の環境疫学の困難さについては後述します）。

環境疫学の要素を図1に示しました。多数の複雑な環境要因（交絡要因を含めた要因）の中から健康影響との関連を見出し、その統計解析を行うことが、環境疫学においては非常に重要な要素となります。

### 2 大気汚染物質の環境疫学

人間は、絶えず呼吸をして、酸素を取り入れなければなりません。そのため、「空気の質」は非常に重要なことです。よく「空気のような存在」という表現を使いますが、これは「普段は意識していないけれども、きわめて大事な、欠くことができない存在」という意味です。それくらい空気とは、われわれにとって身近なものです。

ただし、空気中には、ヒトの健康に害のある成分も含まれています。もしくは、含まれていることがあります。そして、その成分を認識して避けることは、不可能ではありませんが、困難さがともないます。ですから、大気汚染の健康影響評価は環境疫学の対象となっています。

図2に示すように、大気汚染物質の発生にはさまざま

まな種類があり、その動態は複雑です。これらの総体として、われわれは大気汚染物質の曝露を受け、その結果として健康影響が現れることとなります。

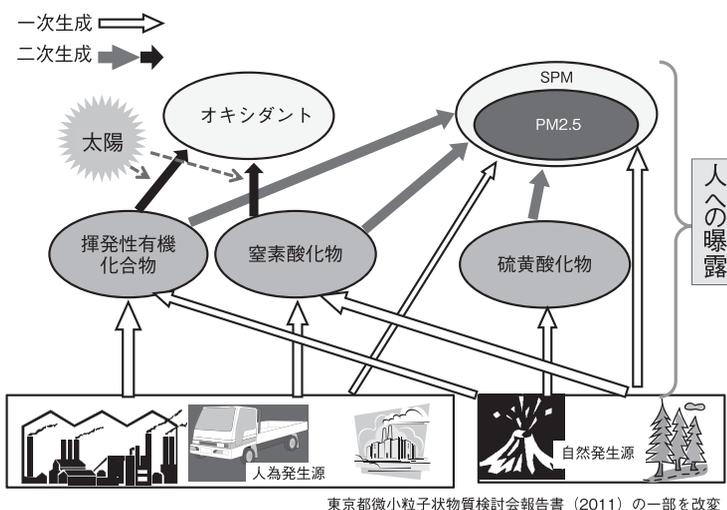
### 3 大気汚染の疫学の困難さ

大気汚染の疫学には困難さがともないます。先ほど示した図1のうち、大気汚染の環境疫学ではとくに「曝露評価」と「健康影響評価」の部分に困難さがあるからです。

曝露評価が困難な理由としては、「大気汚染物質は時間変動が大きい」という点があげられます。昨日と今日、今日と明日では、大気汚染物質は大きく変動していることでしょう。また、屋内にも発生源が存在する汚染物質もあります。PM 2.5（微小粒子状物質）はその一例です。そのため、「人それぞれがPM 2.5にどの程度曝露されているか？」を調べることは、非常に困難です。

一方、健康影響評価が困難な理由としては、「アウトカムに汚染物質特異性が乏しい」という点があげられます。たとえば、仮に「PM 2.5だけでしか起きないような疾病や健康状態の変化がある」というのであれば、容易に因果関係が把握できるでしょう。しかしながら、そうした明確な因果関係は、大気汚染物質ではあまり見られません。たとえば、「PM 2.5とぜん息の因果関係」について調べようとしても、ぜん息の原因はPM 2.5だけではありません。その他の大気汚染物質、大気汚染物質以外の他の要因も関わっています。

また、環境中には、種々の交絡因子が同時に存在しています。PM 2.5の健康影響評価であれば、さまざまに変化する要因の中から、PM 2.5だけを評価しなければなりません。単純に「PM 2.5と何らかのアウトカムの関係が認められた」というだけでは、ほとんど意味がありません。それ以外にも同時に説明できる因子がないかを検証していかなければなりません。そのため、疫学研究では、交絡因子を考慮できる統計的な手法も必要です。



東京都微小粒子状物質検討会報告書（2011）の一部を改変

図2 大気汚染物質の発生・動態

### 4 自動車排ガスの健康影響研究

では、私が関与した「自動車排ガスの健康影響」に関する研究成果を2つご紹介します。

一つは、東京都が主体となって昭和53年に開始した「複合大気汚染に係る健康影響調査」で、これが私の研究者生活のスタートになりました。もう一つは、環境省が平成17～23年にかけて実施した局地的大気汚染に関する疫学調査（通称「そらプロジェクト」）です。いずれも、道路沿道の住民を対象とした自動車排ガスの健康影響に関する疫学研究です。

#### 1) 複合大気汚染に係る健康影響調査

東京都の事業として行われた「複合大気汚染に係る健康影響調査」は、東京の環七通り<sup>\*</sup>と甲州街道沿いで成人女性を対象とした調査で、アウトカムは呼吸器症状の有症率でした。この調査では、質問票を用いて、「せきが続きますか？」「たんが続きたりしますか？」などの自記式調査を行いました。自動車排ガスへの曝露評価については、この調査では「道路からの距離」としました。つまり、「道路の近くに住む人は自動車排ガスの曝露量が高く、離れて住む人は曝露量が低い」という仮説の下で検討しまし

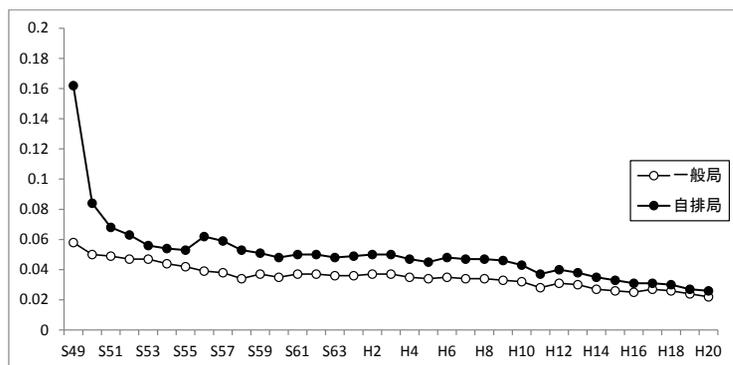
た。

この種の調査は、当時も各地で行われていましたが、われわれはこの調査を実施するに当たって「きちんと設計（デザイン）された疫学調査を行う」という点を重視しました。その一環として、標準化された呼吸器症状質問票を使用しました（ここでいう「標準化」とは、国際的に使われていた質問票を、日本に適用できるように妥当性・信頼性の検討を行ったもの、という意味です）。さらに、個人曝露の妥当性検証を行うために、個人サンプラーを使用しました。

このときの環七通りの調査対象地域は、板橋区、練馬区および中野区の3区にわたりました。当時使用した地図の一部を写真1に紹介します。写真1の左側は、当時使用した板橋区の辺りの住宅地図です。切り貼りしてつないだ地図の中央に、白っぽい線状の箇所がありますが、これが「環七通り」と呼ばれる道路です。写真の右側は、左写真の一部を拡大し



写真1 複合大気汚染に係る健康影響調査で使用した住宅地図



出典：環境省資料

図3 浮遊粒子状物質（SPM）濃度の年平均値の推移

たものです。われわれは、環七通りから約20mの範囲を「沿道」と称して、沿道、および沿道から少し近いところ（われわれは「後背地」と呼んでいました）から調査対象者を抽出して、数週間にわたり東京都の職員の方と一軒一軒の家庭を訪問して質問票の内容を確認の上で回収しました。この調査による成果として、道路からの距離によって呼吸器症状の有症率が異なることを明らかにしました。調査結果は、海外の学術誌に投稿しましたが、当時としては国際的にも非常に先駆的な研究であったと思います。

しかしながら、この調査ではいくつかの課題も残りました。たとえば「曝露評価が『道路からの距離』というのは、ラフな指標ではないか」といった批判がありました。個人サンプラーを使用したことは先駆的ではありましたが、それゆえに測定はほんの一部の対象者に限定されたものでした。また、この調査は、たった1回の断面調査であり、原因と結果の経時的な関係を示したものではありません。結果についても、「発症率」ではなく、「有症率」（調査時に症状があるかないか）を調査したものでした。こうした点は、「断面調査の限界」として指摘できると思います。

ちなみに、図3は浮遊粒子状物質（SPM；Suspended Particulate Matter）濃度の年平均値の推移を示しています。この調査は昭和50年の前半～中盤にかけて実施しましたが、当時は、現在と比較してSPM濃度が数倍ほど高い時代でした。私自身、この調査のときは朝から夕方までの家庭訪問を終えて帰宅すると、顔中すすだらけで、耳の中までまっ黒という状況でした。それが昭和50年代の東京の空気だったのです。

※環七（かんな）通り：東京都道318号環状七号線の通称。東京都大田区平和島を基点に、練馬区、北区、足立区、葛飾区などを経由して江戸川区に至る主要道路。

## 2) そらプロジェクト

環境省の事業として行われたそらプロジェクトは、上記のような断面調査の限界を乗り越えるべく、国内外の疫学研究の動向を踏まえて調査手法をデザインしました。自動車排出ガスによる健康影響を高感度で検出するため、関東・中京・関西の3大都市圏の主要幹線道路（約10路線）の沿道を対象に、多数の協力者による大規模な調査研究を行いました。

このプロジェクトでは、学童コホート調査、幼児症例対照調査、成人調査を行いました。そのうち、学童コホート調査では5年間で約1万6000人を追跡しました。断面調査ではなく追跡調査なので、「調査開始時にぜん息でなかった学童が、5年間でどの程度、ぜん息を発症したか」など、「発症と曝露の関係」を調査することができました。

ぜん息の発症は、性別、年齢、地域により変動するため、既知のぜん息発症のリスクを勘案して、対象世代を「学童」「幼児」「成人」に分けて調査を実施しました。また、自動車排出ガスへの曝露量については、交通量や道路構

造、道路周辺の地形、気象などの諸条件が、幹線道路ごとに複雑に変化することを勘案し、調査対象者一人ひとりに対して曝露量の推計を行いました。まず、コンピュータによる数値解析モデルによって屋外濃度推計を行いました。写真2に示すように対象地域の立体模型を作成して風洞実験を行い、数値解析モデルの検証を行うとともに、実測値との比較検討も行いました。一方、図4のように地理情報システムを用いて、調査対象者の住所の位置情報（緯度経度、地図座標）を取り、その位置情報と先ほどのモデルで推計したデータを突きあわせて、この地点の自動車排ガスの濃度を推計しました。また、対

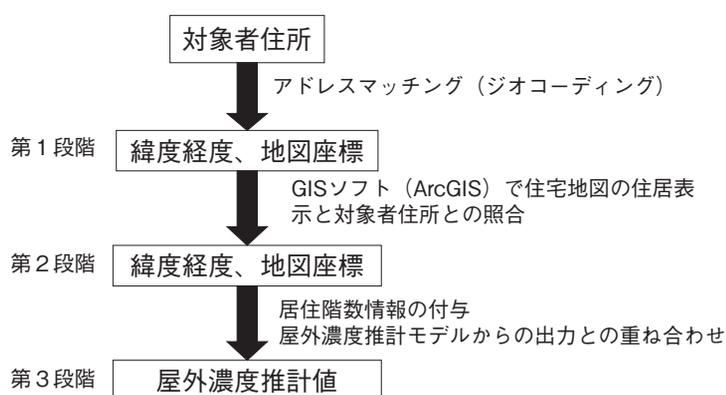


図4 地理情報システムを用いた屋外濃度の推計

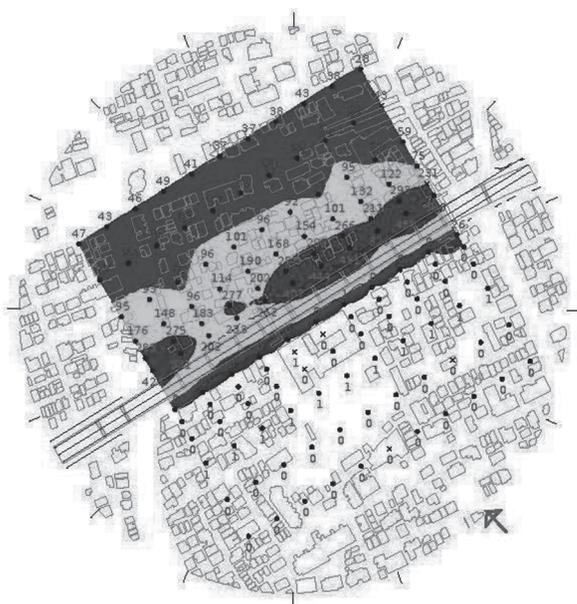


写真2 数値解析モデルによる屋外濃度推計と風洞実験のための立体模型

象幹線道路周辺でかなり綿密な環境測定も行い、さらには屋内および屋外の濃度の関連性などについても評価しました。

このように、あらかじめ十分に精査された適切なデザインによる、十分な対象数を確保した疫学調査で収集されたデータにもとづく解析を実施した結果、EC (elemental carbon、たとえばディーゼルによる黒煙やすすなど) およびNO<sub>x</sub> (窒素酸化物)の推計曝露量を指標とした自動車排出ガスへの曝露とぜん息発症との間に関連性が認められました。

## 5 PM 2.5 による健康影響研究の近況

ここ数年、中国からのPM 2.5が騒動となっておりますが、PM 2.5自体は20年以上前からアメリカで研究が始まっており、われわれも長年にわたり研究対象としてきました。

PM 2.5は、低濃度であっても長期間曝露されると、人体(とくに循環器系)への影響があると考えられています。しかしながら、最近の騒動のように「短期間、非常に高濃度で曝露された場合にどの程度の影響が現れるか?」というデータは、必ずしも多くはありません。日本にはPM 2.5の疫学知見(とくに循環器系への影響)に関する知見が乏しく、PM 2.5と循環器系への影響については、はっきりとしたデータは示されていません。そこで、既存の疫学研究のデータを再解析して、PM 2.5との関係について検討しましたが、今のところは「結果のバラつきが大きく、明確な関係性があるかどうかははっきりしない」という状況です。現在、疫学調査としてのデザイン設計も含めて検討をしています。私としても「まだまだやるべきことが残っている」と思っているところです。

## 6 おわりに

環境疫学は、さまざまな研究分野の総合科学であり、さまざまな共同研究の賜物(たまもの)ともいえる分野です。研究者は1人では何もできません。

調査方法をデザインする人、曝露評価する人、解析する人など、さまざまな研究者の協力が不可欠です。すべてを1人でできればよいのかもしれませんが、最近はそのぞれの研究分野の進歩が目覚ましく、専門性も高くなっているため、各専門分野の研究者が共同で作業を進める必要があります。また、研究者だけではなく、調査対象者の方々にも協力していただかなければ疫学調査はできません。データマネージャーや分析担当者といった研究職以外の関係者の協力も必要です。さまざまな職種や分野の共同によって、環境疫学という領域は成り立っていると思っています。

最後に、本来であればこのたびの受賞に当たり、これまでの共同研究者の名前をあげて感謝を申し上げるべきところですが、非常に多くの方のご協力をいただいていますので、省略させていただくことをご容赦いただければと思います。

## 山口進康先生 受賞コメント

私は現在、環境微生物分野で、見えない微生物を可視化する、バイオイメーjingの研究に携わっております。私が実際にミクロの世界に出会ったのは小学生の頃です。両親に簡単な顕微鏡を買ってもらい、水槽の中の水草を観察したとき、目に見えない世界があることを知りました。それ以来、顕微鏡観察にのめり込み、ミクロの世界を知る喜びを実感いたしました。

大学では微生物を研究対象とする現在の研究室に所属し、大学生・大学院生時代を通じて、顕微鏡を用いる研究に携わってきました。当時はまだ珍しかった蛍光顕微鏡で、蛍光染色した細菌を眺めてみると、真っ暗な中に細菌がきらきらと光る粒子として見え、宇宙を眺めているようで、とても感動したことを覚えております。宇宙と同じような光景が、ミクロの世界にもあり、ミクロの顕微鏡の世界とマクロの宇宙のつながりを感じました。

私は子どもの頃より星空を眺めることも好きで、夜空を見ては宇宙の広さを実感し、宇宙に関係する仕事に就きたいと考えておりました。蛍光顕微鏡との出会いから、環境微生物学分野に進みましたが、縁あって現在、国際宇宙ステーションの微生物モニタリングに関する研究に従事しております。

そのため、私は自分の経験から、学生には常々「夢を持つことを大事に」と伝えており、「夢を持ち続けていれば、いつかかなえるチャンスが来る」という話をしております。近頃の学生はゆとり世代、さとり世代ともいわれ、一心不乱に研究を進めるといふより、周りを見ながら協調して物事を進めることを好む学生もおります。しかし、個人個人と話をしますと、非常に熱い夢を語ってくれる学生もおり、彼らの夢がかなうように役立ちたいという思いで接しています。

今回の業績につきましては、私個人の力では決してありません。ご指導いただきました先生方、先輩方、一緒に研究を進めてくれた後輩、すべての方々のご協力の賜物と実感し、改めて感謝しております。



## real-time on-site モニタリングによる 生活環境における衛生微生物学的安全の確保

大阪大学大学院薬学研究科  
衛生・微生物学分野 准教授  
山口 進康

### 微生物の迅速モニタリングの必要性

感染症は古来よりヒトを苦しめてきましたが、現代においても依然として大きな脅威となっています。とくに、途上国においては不十分な衛生状態が問題となっており、水系感染症をはじめとした感染症によって多くの命が失われています。また、環境の変化、あるいはわれわれの生活様式の変化により、新たな感染症の問題が顕在化してきています。たとえば、気候の変化により、温帯における熱帯性感染症の発生が懸念されています。また、熱帯雨林の開発などにより、これまで人類が接触したことのなかった病原体と接触し、新興感染症が発生していることも報告されています。さらに、そうして人間と接触した病原体が、現代の活発な交通や物流に乗って速やかに地域を移動し、越境移動して広がっていくことにも注意が必要です。さらに、人口の急増や人口密度の増加にともなうヒト - ヒト感染リスクの増加、あるいは高齢化や先進医療の進展にともなう日和見感染症の増加なども懸念されています。ペットブームなどによる人獣共通感染症のリスクも顕在化してきています。国内の身近な生活環境に目を向けると、水の循環使用に伴うレジオネラ症のアウトブレイク、腸管出血性大腸菌O157などによる集団食中毒の発生なども社会問題となってきています。

以上のように、途上国のみならず先進国においても、生活環境における衛生微生物学的安全・安心の確保が重要となっています。とくに感染症対策においては、「治療」も重要ですが、それと同等以上に「予

防」が重要です。そして、こうした感染症の予防に際しては、「環境中のどこに病原体がいるのか」「その病原体はどのようにして増えるのか」など、危害微生物の環境内での動態を明らかにする必要があります。そこで、研究分野のみならず産業分野や臨床分野、さらには行政の分野などにおいて、微生物を迅速にモニタリングするための手法が切望されています。

### 蛍光染色法を応用した 迅速な微生物モニタリング

#### (1) 蛍光染色法による研究

ロベルト・コッホ (1843 ~ 1910 年) やルイ・パスツール (1822 年 ~ 95 年) の時代から、微生物検出においては、培養法がゴールドスタンダードとして位置づけられてきました。そして、長い歴史の中で、さまざまな病原微生物に対する選択培養の条件や方法などが確立されてきました。

その後、1980 年代になると、微生物を培養することなく捉えるための手法が、さまざまに開発されるようになってきました。そのうちの 하나가「蛍光染色法」です。蛍光染色法の原理は図 1 に示す通りです。試料中に蛍光染色剤を添加すると、数分で試料中の微生物が染色されるので、これをフィルター上に捕集し、蛍光顕微鏡下で観察します。図 1 の写真は、地下水中の細菌を DAPI (diamidino-2-phenylindole、細菌の DNA に結合する蛍光性物質) を用いて染色した結果です。DAPI により染色さ

れた細菌は、蛍光顕微鏡下では青白い粒子のように見えます。

新しい検出方法が開発されたことで、新たな知見が得ることができました。それは、「自然環境中の細菌の多くは、通常の培養条件ではコロニーを形成しない」ということです。たとえば、病原細菌を検出するためにさまざまな選択培養法が開発されていますが、環境中の細菌を対象とした場合、従来の培養条件ではなかなかそれを捉えることができません。すなわち、「培養法のみでは microbial world (微生物の世界) を十分に理解できない」ということが明らかになってきたのです。

一例として、医薬品製造用水(イオン交換水)中の細菌数を、培養法と蛍光染色法(DAPI染色法)で測定した結果を紹介します(図2)。図2の左側はDAPI染色、右側は培養法によって得られた結果です。なお、この実験において、希釈していない培地(通常の培地)ではコロニーは検出されませんでした。これは、イオン交換水中の有機物は非常に少ないので、そのような環境中に生息する細菌は富栄養な培地ではなかなか増殖することができない(栄養分が多すぎる)

ということです。そこで、100倍希釈したところ、 $10^2$ 個前後のコロニーを検出できるようになりました。一方、同じ試料をDAPI染色法で測定したところ、 $10^5 \sim 10^6$ の細菌が検出されました。

私は、この「2本のグラフのギャップ」に興味を持ちました。すなわち、「培養法でコロニーを形成しなかったが、蛍光染色法では検出された細菌は、生理活性を持っているのか(生きているのか)?」という疑問です。

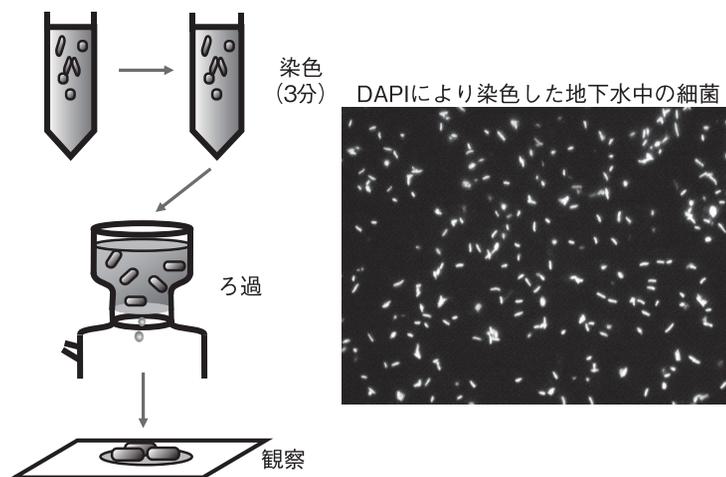


図1 培養に依存しない方法を用いて細菌を捉える(蛍光顕微鏡を用いた細菌数直接測定法、1980年に開発された)

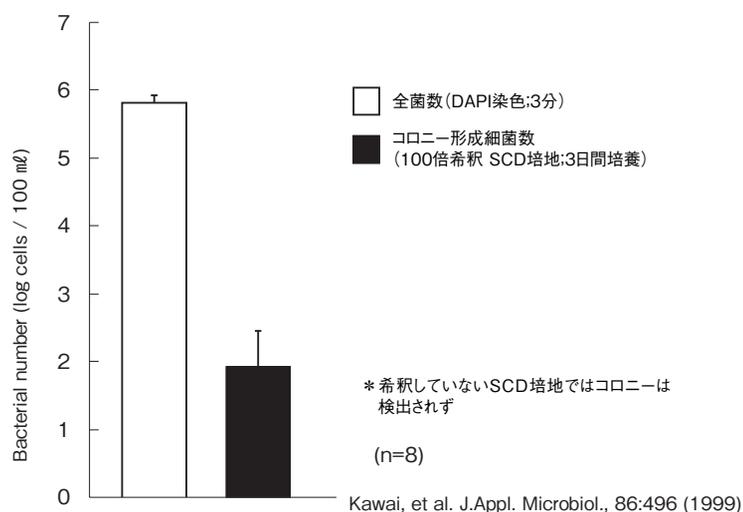


図2 医薬品製造用水(イオン交換水)中の細菌数

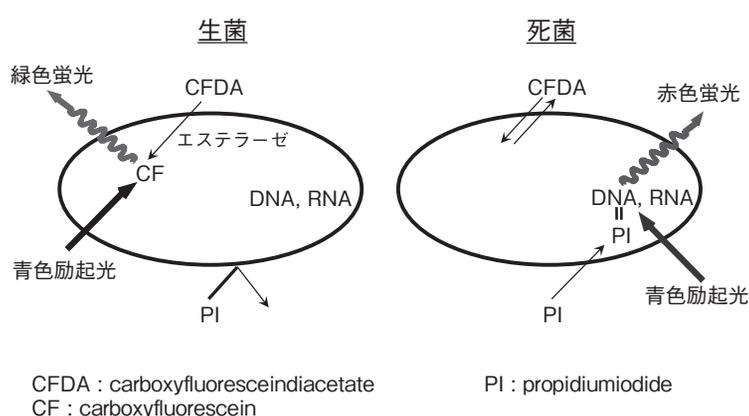
## (2)CFDA - PI二重染色法による研究

そこで、この疑問を解明するために、「CFDA - PI二重染色法」という蛍光活性染色法を検討しました。この原理は図3に示す通りです。CFDA (carboxyfluorescein diacetate) は無色透明な試薬です。生菌では、CFDAが細胞内の酵素(エステラーゼ)によって加水分解され、CF (carboxyfluorescein、青色励起光下で緑色蛍光を発する蛍光物質)に変化します。一方、死菌では、酵素が活性を失っているため、CFDAは細胞内で加

水分解されず、青色励起光下で蛍光を發しません。さらに、PI (propidium iodide、核酸結合性の蛍光染色剤)で対比染色すると、生菌では (PIが細胞内に取り込まれないので) 青色励起光下で青色蛍光、死菌では (PIが細胞内に取り込まれて核酸と結合するので) 青色励起光下で赤色蛍光を發します。このように、色調の違いで生菌と死菌を明瞭に區別できます。しかも、染色時間は5分であり、迅速に細菌の生理活性を評価できます。

芽胞形成菌でCFDA - PI二重染色法を適用した場合、発芽期の芽胞は (エステラーゼを持っているので) 綠色蛍光を發します。対数増殖期では、生きている菌は綠色蛍光、活性を失った菌は (PI由来の) 赤色蛍光を發するので、生菌と死菌を明瞭に區別できます。

この方法を用いて、図2の医薬品製造用水 (イオン交換水) の細菌数を測定したところ、図4のように全細菌の30~50%が生理活性を持っていることがわかりました。すなわち、このイオン交換水には、「培養法では捉えることができない生菌」が存在すること、そして「場合によっては、そのリスク



Yamaguchi, et al. J. Antibact. Antifung. Agents, 22:65 (1994)

図3 蛍光活性染色法 (CFDA - PI 二重染色法)

を考える必要があること」を明らかにしました。

この研究をもう少し進めて、医薬品製造用水の調製プロセスにおいて、細菌数がどのように変化しているのかを調べました。イオン交換水の調製プロセスは、まず常水を活性炭処理し、ろ過して、いったん貯水します。貯水後、精製水に処理し、さらに高度精製水へと処理していきます。この研究では、常水 (試料A)、活性炭処理後の水 (試料B)、貯水タンクの水 (試料C) および精製水 (試料D) を試料とし、CFDA染色法でエステラーゼ活性を持つ細菌数、培養法でコロニーを形成する細菌数を測定したところ、図5に示すように、CFDA染色法と培養法で同じようなトレンドを把握することができ

ました。ただし、CFDA染色法は5分で測定でき、かつ培養法より高い菌数が得られました。つまり、この結果から「蛍光染色法は培養法に比べて、迅速かつ高精度に医薬品製造用水中の細菌数を捉えることができる」ということを明らかにしました。この研究成果をもとに、現在、蛍光染色法は日本薬局方に参考情報として記載されています (第十五改正第二追補、平成21年10月、参考情報「蛍光染色による細菌数の迅速測定法」)。また、この方法は、「再生医療用製品の迅速微生物検査法と

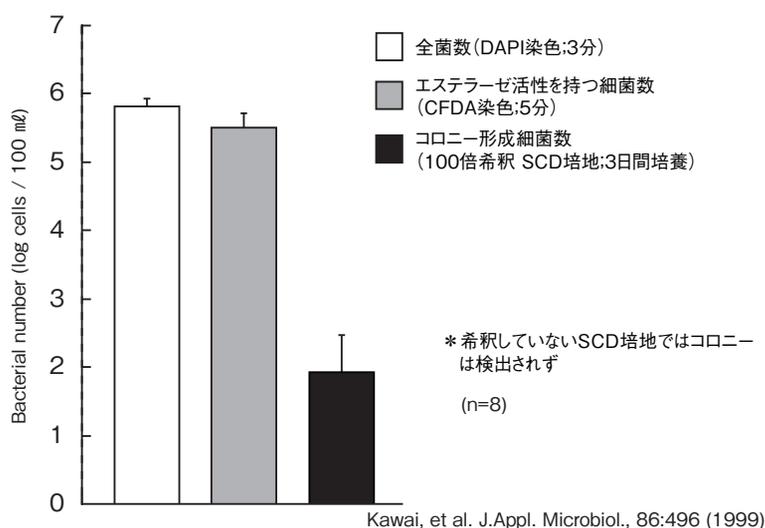


図4 医薬品製造用水 (イオン交換水) 中の細菌数

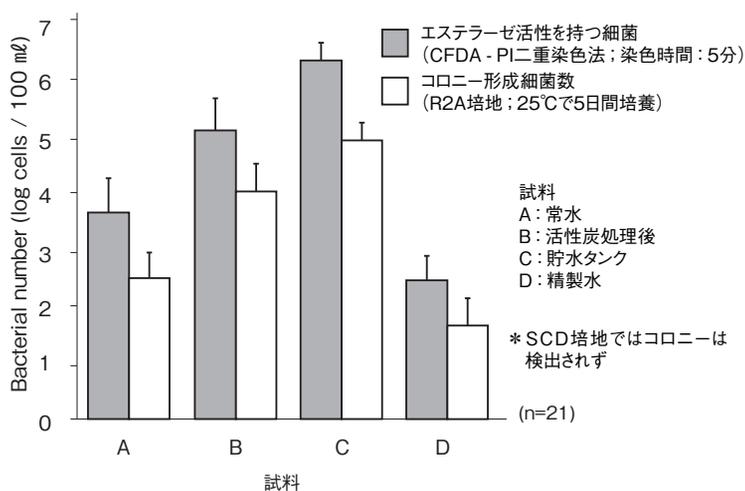
して用いることができるのではないかと着目されており、今後の展開に期待が持たれています。

### (3) CTC 染色法による研究

さらに、呼吸活性を指標として生菌を特異的に染色する「CTC 染色法」も検討しました。生きている細菌（呼吸活性を持つ細菌）は、呼吸活性の指示薬である CTC (5-cyano-2,3-ditolyl tetrazolium chloride) によって、青色励起光下で赤色蛍光を発することから、生きている危害微生物の特異的な検出が可能になります。

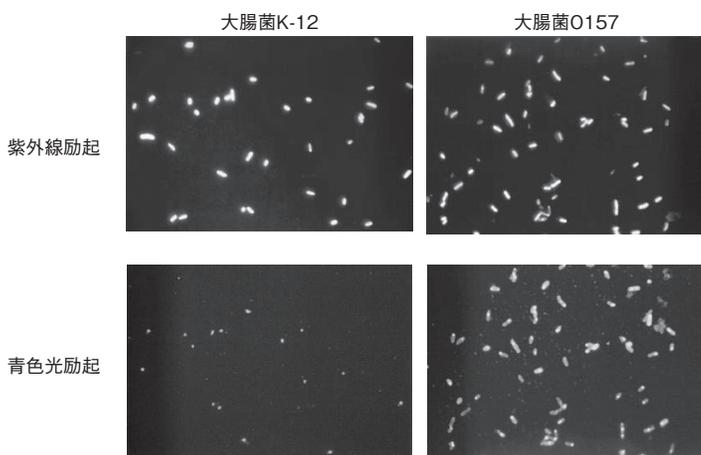
結核菌などの抗酸菌を対象とした「オーラミンO - CTC二重染色」では、呼吸している抗酸菌を特異的に検出できます。オーラミンOは、抗酸菌の細胞壁のミコール酸を染色する物質で、染色された抗酸菌は緑色蛍光を發します。一方、CTCは呼吸活性のインジケーターとなるので、結果として、呼吸している抗酸菌は緑色と赤色が混じったオレンジ色の蛍光を發します。

また、危害微生物を特異的に検出する手法として、蛍光抗体法と CTC 染色法を併用した「蛍光抗体 - CTC二重染色法」も挙げられます。この方法を、大腸菌 O 157 の特異的検出に用いた例が図 6 です（対照として非病原性の大腸菌 K-12 を用いています）。生きている（呼吸している）大腸菌 O 157 は蛍光抗体由来の緑色蛍光、および CTC 由来の赤色蛍光を發するので、オレンジ色に見えます。一方、呼吸していない大腸菌 O 157 は蛍光抗体の蛍光のみを發するので、緑色蛍光を發します。対照の大腸菌 K-12 は蛍光抗体と反応しないので、呼吸していれば赤色蛍光を發し、呼吸していなければ蛍光を發しません。こうした色調のパターンによって、呼吸し



Kawai, et al. J.Appl. Microbiol., 97:1123 (2004)

図 5 医薬品製造用水の調製プロセスにおける細菌数の変化



Yamaguchi, et al. Cytometry, 54A:27 (2003)

図 6 蛍光抗体 - CTC 二重染色法による生きている大腸菌 O157 の特異的検出

ている大腸菌 O 157 を特異的に検出することができます。

### 蛍光染色法の簡便化の検討

#### (1) 蛍光染色法およびフローサイトメトリーを用いた微生物数測定法

蛍光染色した細菌の観察には、蛍光顕微鏡が広く用いられています。これは非常に有用な方法ですが、プレパラートの作製など、操作がやや煩雑な部分が

あります。そこで、操作の簡便化のために、まずフローサイトメトリーに着目しました。フローサイトメトリーは、流体中に微生物を流し、個々の微生物にレーザー光を照射し、得られるシグナルを解析する方法です。

蛍光抗体 - CTC二重染色法およびフローサイトメトリーによって、大腸菌 O 157 と大腸菌 K-12 を解析した結果の一例を図 7 に示します。グラフの横軸は蛍光抗体に由来する緑色蛍光の強度、縦軸は呼吸活性に由来する赤色蛍光の強度です。フローサイトメトリーで解析すると、呼吸している大腸菌 O 157 (左上のグラフ) は緑色と赤色の蛍光を持つ

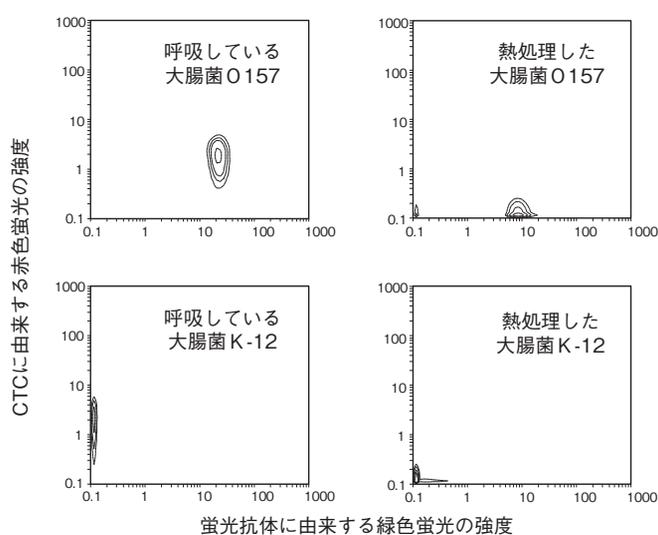
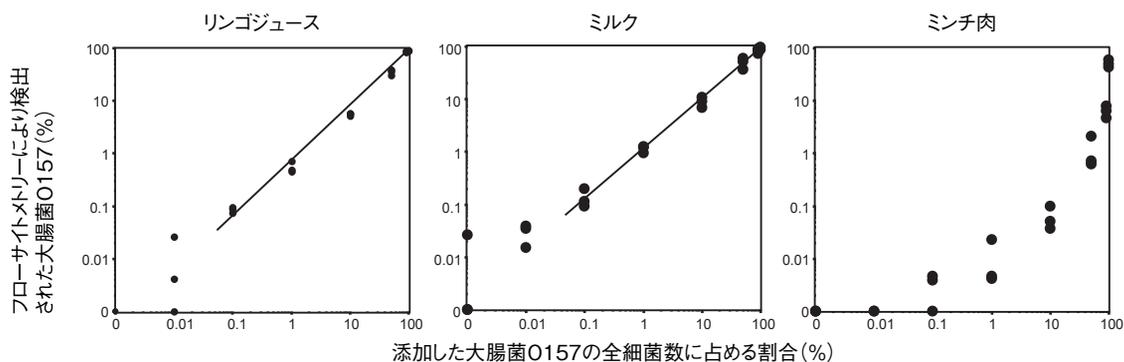


図 7 蛍光抗体 - CTC 二重染色法およびフローサイトメトリーを用いた、生きている大腸菌 O157 の特異的検出

ので、グラフ内で示したような位置 (縦軸とも横軸とも接しない位置) にシグナルが現れます。熱処理した大腸菌 O 157 (右上のグラフ) は、呼吸活性を失っているため、CTC由来の赤色蛍光がなくなり、グラフ内の横軸上にシグナルが現れます。一方、呼吸している大腸菌 K-12 の場合 (左下のグラフ)、CTC由来の赤色蛍光は発しますが、蛍光抗体とは反応しないので、縦軸上にシグナルが現れます。さらに、この大腸菌 K-12 が活性を失うと、右下のグラフのような位置 (縦軸と横軸の交点付近) にシグナルが現れます。

この方法を用いて、飲食品中に添加した大腸菌 O 157 の特異的検出を試みた結果が図 8 です。生きている大腸菌 O 157 ( $10^2 \sim 10^8$  cells/ml) と大腸菌 K-12 ( $10^6$  cells/ml) を試料に添加後、蛍光抗体 - CTC二重染色を行い、フローサイトメーターで解析しました。試料には、大腸菌 O 157 による食中毒が報告されている食材として、リンゴジュース、ミルク、ミンチ肉などを選びました。結果として、図 8 に示すように全菌数のうち約 0.1% (すなわち  $10^3$  cells) の大腸菌 O 157 が存在すれば、この方法による検出が可能であることを明らかにしました。この結果をもとに、「蛍光活性染色法は、飲食品をはじめとする食品衛生の分野にも応用できる」ということを報告しています。



生きている大腸菌 O157 ( $10^2 \sim 10^8$  cells/ml) と大腸菌 K-12 ( $10^6$  cells/ml) を各飲食品に添加後、蛍光抗体-CTC二重染色を行い、フローサイトメーターで解析

図 8 蛍光抗体 - CTC 二重染色法およびフローサイトメトリーによる飲食品中に添加した大腸菌 O157 の特異的検出

## (2) 飲食品中の真菌の特異的かつ迅速な検出

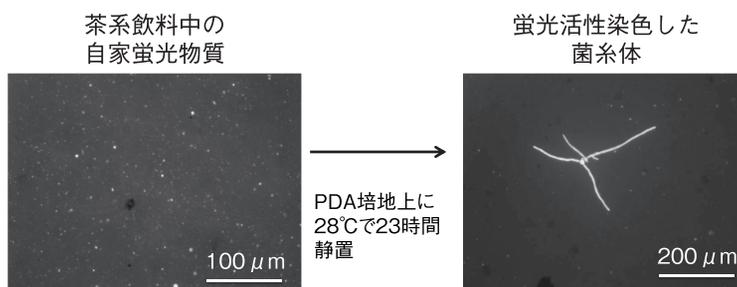
また、茶系飲料中に混入した微量の真菌が問題になっており、100ml中に1個の真菌の胞子を検出する必要があります。そこで、蛍光活性染色法を適用することで、茶系飲料に混入した微量の真菌を特異的に検出できないか、研究を進めました。

茶系飲料を蛍光顕微鏡下で観察すると、写真1の左側の写真のように、多数の自家蛍光物質が見られました。この中から真菌の胞子を特異的に検出するのは非常に困難です。そこで、真菌の胞子を培地上で少し発芽させ、蛍光活性染色を施したところ、右側の写真のようになりました。すなわち、「真菌は菌糸体にする事で、特異的かつ簡便に検出できる（自家蛍光物質との区別ができる）」ということを確認しました。

また、マイクロコロニーの自動計数システム（MGS-10LD、写真2）を併用して茶系飲料中の真菌の胞子を検出した結果を図9に示します。横軸が培養法（72時間培養）により求めた真菌のコロニー数、縦軸が自動計数システムにより求めた菌糸体数（23時間静置）で求めた真菌の菌糸体数です。両者の間に高い相関性が認められ、「100 ml中に1個程度の真菌の胞子についても検出ができる」ということを報告しています。

## (3) マイクロ流路デバイスを用いた real-time on-site 微生物モニタリング法の開発

ただし、こうした蛍光染色では、まだまだ操作の簡便化が重要な課題です。とくに染色操作の自動化を目的として、マイクロ流路デバイス（写真3）を用いた研究を進めています。マイクロ流路デバイスは、手のひらサイズの樹脂製のデバイスに幅や深さが数十 $\mu\text{m}$ の微小な流路を刻んだもので、ソフトリソグラフィーにより自作可能です。特徴としては、①



Tanaka, et al. Int. J. Food. Microbiol., 145:365 (2011)

写真1 蛍光活性染色法による茶系飲料に混入した微量の真菌の特異的検出

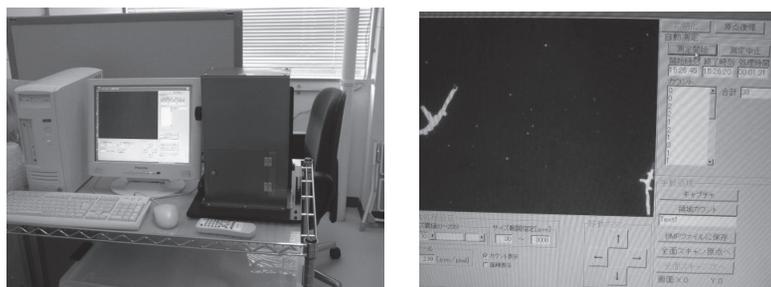
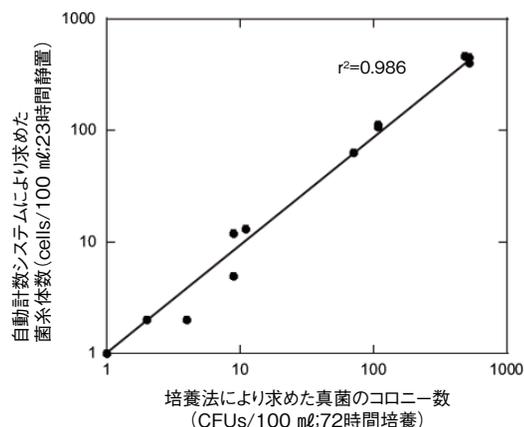


写真2 自動計数システム（MGS-10LD）



Tanaka, et al. Int. J. Food. Microbiol., 145: 365 (2011)

図9 蛍光活性染色法による茶系飲料に混入した微量の真菌の特異的検出

②迅速に結果を得ることができる、③消費する試薬や試料の量が少ない、④低価格で作製できる、⑤操作の自動化あるいは解析システムの小型化がしやすい、⑥使用後すぐに滅菌ができる（バイオハザードのリスクを低減できる）などの点が挙げられます。

蛍光染色操作の自動化を目指して、図10のようなマイクロ流路デバイスを用いた real-time on-site 微生物モニタリング法を検討しました。検出部では、

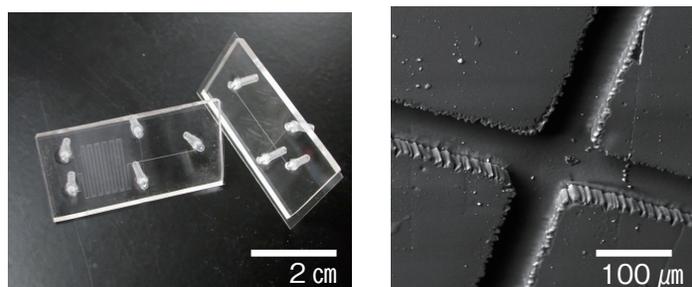
高速で流れる細菌（蛍光染色された試料中の細菌）をCCDカメラなどで検出・解析し、細菌数を測定します。写真4のような持ち運び可能なシステム（以下、ポータブル・マイクロ流路システム）も試作しました。

このシステムを用いて危害微生物を特異的に検

出する研究も進めています。ここではレジオネラ菌を対象とした研究成果を紹介します。菌量を変えた *Legionella pneumophila* を試料として、「従来の蛍光顕微鏡による測定」と「ポータブル・マイクロ流路システムによる測定」を行いました。結果は表1に示す通りで、両者の間には高い相関性が認められました。また、環境中では *L. pneumophila* 数は非常に少ない場合があります。そうした場合は、いったん濃縮することで、10～1,000cells/ml程度の細菌量であってもポータブル・マイクロ流路システムで測定できることを確認しています。

現時点での研究成果は以上のような段階であり、今後、環境中のレジオネラのモニタリングに応用できるよう、研究を進めていきたいと考えています。また、本法は、

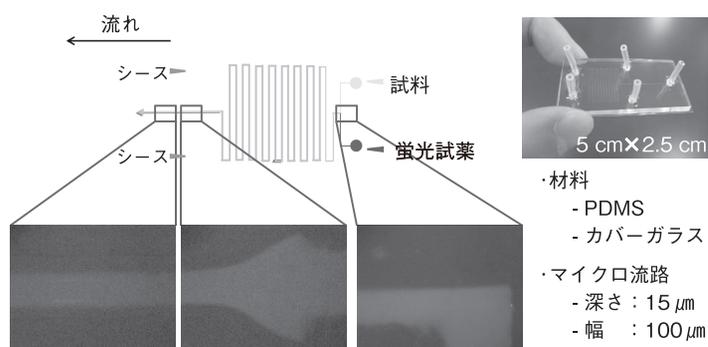
海外の共同研究者との協力の下、東南アジアにおける水環境の細菌モニタリングに応用するための準備を進めているところです。



マイクロ流路デバイス

マイクロ流路

写真3 マイクロ流路デバイス



試料: *E. coli* W3110

蛍光試薬: SYBR Green (菌体内の核酸を染色)

Yamaguchi, et al. AEM, 77: 1536 (2011)

### 宇宙居住環境における微生物モニタリングの可能性

ポータブル・マイクロ流路システムについては、宇宙居住環境中の微生物モニタリングにも応用できるのではないかと考え、研究を進めているところです。

ヒトの活動範囲は、すでに宇宙空間にまで拡大しています。国際宇宙ステーションでは、すでに6人の宇宙飛行士が生活をしています。しかしながら、宇宙ステーションでは生態系を構成する生物はヒトと微生物に限られ、また微小重力や宇宙放射線などの影響があるため、地上とはまったく異なる環境になり

図10 マイクロ流路デバイスを用いた real-time on-site 微生物モニタリング



写真4 on-site 微生物モニタリング用に作製したポータブル・マイクロ流路システム

ます。このような環境においては、微生物はヒトに対してさまざまな影響を与えることが懸念されます。

これまでの宇宙実験でも、多くのことが明らかになっています。たとえば、宇宙居住環境ではヒトの免疫能が低下します。これは、閉鎖居住に伴うストレスが影響していると考えられています（免疫能が低下すると、日和見感染のリスクが上昇することが懸念されます）。あるいは、一部の細菌では、病原性が上がる（あるいは、殺菌されにくくなる）

などの報告もあります。以上のようなことを背景に、「宇宙居住環境では、地上以上にその微生物学的な安全性評価（あるいは対策）が必要となる」ということが認識されるようになってきました。また、宇宙ステーション・ミールのコミュニケーションケーブルで真菌が発生して、システム障害の原因になったという報告もあります。すなわち、宇宙居住環境においては、微生物は「ヒトに対する病原性」と「システムに対する有害性」という点でリスクとなり得ます。

また、ヒトは常在細菌とともに暮らしています。ヒトが存在する限り、その環境（空間）を無菌にすることはできません。また、細菌や真菌は、ヒトからいったん離れても、さまざまな物質を栄養源として増殖し、環境中に定着していきます。その過程において、薬剤耐性を獲得・発現したり、遺伝子伝播により新たな病原性を獲得したりします。このようなことは、宇宙環境でも起こり得ると考えられます。

そこで、現在、JAXA（独法）宇宙航空研究開発機構、Japan Aerospace Exploration Agency）と共同で、宇宙ステーション内の微生物モニタリングに関する研究を進めています（「Microbe」という研究課題名が付いています）。その一環として、国

表1 ポータブル・マイクロ流路システムによる微量の *Legionella pneumophila* 数の測定

元試料における <i>L. pneumophila</i> 数	蛍光顕微鏡による測定値	ポータブル・マイクロ流路システムによる測定値
$1.4 \times 10^3$	$1.1 \times 10^6$	$1.2 \times 10^6$
$2.1 \times 10^2$	$1.1 \times 10^5$	$1.3 \times 10^5$
$2.3 \times 10^1$	$2.3 \times 10^4$	$1.7 \times 10^4$

(cells/ml)  
試料: *L. pneumophila* JCM 7571 (1,000倍濃縮; n = 3)  
抗体: 抗 *L. pneumophila* 蛍光抗体

Yamaguchi, et al., submitted.

表2 国際宇宙ステーション「きぼう」における微生物の現存量

サンプリングポイント	全細菌数 (cells/cm <sup>2</sup> )	
	蛍光顕微鏡 <sup>a</sup>	定量的PCR <sup>b</sup>
培養装置表面	- (< $2 \times 10^4$ )	- (< $2 \times 10^4$ )
手すり	± ( $3 \times 10^4$ )	± ( $7 \times 10^3$ )
パソコン	± ( $3 \times 10^4$ )	± ( $1 \times 10^4$ )
空調機吸気部	Not countable	+ ( $2 \times 10^7$ )

+ : 定量限界以上  
± : 定量限界と同等  
- : 定量限界以下

サンプリング: 粘着集菌シート

<sup>a</sup> 蛍光試薬: SYBR Green II

<sup>b</sup> 標的: 16SrRNA 遺伝子 (4copies/cell)

プライマー: EUB f933, EUBr1387

Ichijo, et al. *Microbes Environ.* 28: 264 (2013)

際宇宙ステーションの日本実験棟「きぼう」内においてサンプリングを行いました（表2）。サンプリングは、宇宙飛行士の方々に実施してもらいました。このサンプルを地上に持ち帰ってもらい、さまざまな分析を行っています。細菌数については、「きぼう」内の培養装置表面、手すり、パソコンなどでは、地上の一般的な環境の表面とほぼ同等、あるいはそれ以下の細菌数であることがわかっています。ただし、一部では細菌数が1,000倍以上の値になっている箇所もあり、微生物の定着が認められつつあります。

また、遺伝子を対象とした群集構造解析を実施したところ、ヒトの常在細菌が数多く検出されました。今後は、宇宙居住での滞在期間が長くなった場合に、こうした細菌群集構造がどのように変化していくのかを明らかにしていきたいと考えています。

国際宇宙ステーションは地上400km上空を周回しているため、サンプルを地上に持ち帰って分析することが可能ですが、現在計画が進んでいる月面基地や有人火星探査では、サンプルを地上に持ち帰ることが困難になります。また、宇宙居住環境内で培養する場合は、微生物の増殖にともなうリスクも考慮に入れなければなりません。したがって、宇宙居住環境においては、宇宙飛行士自身が実施できる

real-time on-site 微生物モニタリング法、その場で結果を得ることができる微生物モニタリング法が必須になってくると考えられます。前出のポータブル・マイクロ流路システムなどは、そうした環境下で活用できるモニタリング方法の一つとして期待されており、現在、研究を進めているところです。

## おわりに

微生物学分野が100年にわたって構築してきた「常識」が変化してきています。たとえば、「環境中の微生物の多くは、通常の条件下では培養が困難である」ということが明らかになってきています。また、微生物モニタリングの方法も変化してきています。従来の培養法では、結果を得るまでに数日かかりましたが、新しい検出法では、ほぼリアルタイムで、しかも結果を（研究室内ではなく）現場で得られるようになってきました。さらに、インターネットなど通信技術の発達も目覚ましく、迅速かつ広範囲での情報共有が可能になっています。

以上、これまでの研究の一部を紹介しました。今後も、ますます研究に励み、食と環境の安全・安心の確保に貢献していきたいと考えています。