



兵庫県

衛研レポート



大阪国際空港

海外旅行と輸入感染症

海外との人的・物的な交流が一方で病原体の移入を招く例は今も昔も変わりはない。ヨーロッパ、中近東はもとより、日本でも古くは遣唐使の往復とほぼ同時期に天然痘や麻疹の流行が報告されている。とにかく、今日国際間の交流は政治的なものも含めてきわめて活発であり、航空輸送力の発達、国民生活の豊かさは所請海外旅行ブームを招乗して止まる処がない。この海外旅行ブームが輸入感染症を頻発させ、特にそれらの感染症を複雑多様に行っている。又、航空機による移動は潜伏期の

うちに感染源が四散する事になり、人権の名のもとに徹底した疫学調査が困難であること等、すぐれた日本の感染症対策をもってしても、感染源を特定することは決して容易でない。

輸入感染症の現況を知る上で空港検疫所のデータは重要であるが、少し古いが1991年1年間に何らかの異常のために空港で病原体の検査を受けた人は、21,677人(うち日本人 5,137人)でその大半は感染性下痢患者である。だが、この検査は自己申告

国内に汚染地域をもつ国（1992年5月8日現在）

コレラ	アフリカ	アンゴラ、ベニン、ブルキナ・ファソ、ブルンディ、カメルーン、チャド、コートジボワール、ガーナ、ギニア、ケニア、リベリア、マラウィ、マリ、モーリタニア、モザンビーク、ニジェール、ナイジェリア、ルワンダ、サントメ・プリンシペ、タンザニア、トーゴ、ウガンダ、ザイール、ザンビア
	アメリカ	アルゼンチン、ベリーズ、ボリビア、ブラジル、チリ、コロンビア、コスタリカ、エクアドル、エルサルバドル、グアテマラ、ホンジュラス、メキシコ、ニカラグア、パナマ、ペルー、スリナム、ベネズエラ
	アジア	ブータン、インド、インドネシア、イラク、マレーシア、ネパール、ベトナム
	ヨーロッパ	ウクライナ
ペスト	アフリカ	マダガスカル、タンザニア、ザイール
	アメリカ	ボリビア、ブラジル、ペルー
	アジア	ベトナム
黄熱	アフリカ	アンゴラ、カメルーン、ガンビア、ギニア、マリ、ナイジェリア、スーダン、ザイール
	アメリカ	ボリビア、ブラジル、コロンビア、エクアドル、ペルー

（WHOの資料をもとに厚生省検疫所労務管理室が作製）

〔苗村光廣：感染症の国際化への対応と動向、「医学のあゆみ」Vol.162,370(1992)より転載〕

であるから、申告しなかった人、潜伏期や自覚症状の無かった人は対象外であるから、感染症の実数はもっと多い事が推測され（厚生省統計部局）、又、年々その数が増加すると考えねばならない

1993年インドやバングラディシュで大流行したベルガン型コレラ患者がその後日本に於ても発見されることはこの検疫の困難さを裏付けるし、又、アフリカ、中南米、東南アジアに広く蔓延しているマラリア、デング熱は勿論、今の処、その頻度は低いと言え、ラッサ熱、エボラ出血熱などのウイルス性出血熱も決して油断はならない。輸入感染症は常に人から感染するとは限らない。その代表経路はペットによるものでマールブルグ病はその一例であるが、予想外の感染ルートから浸入する事を常に念頭において対策を講じておかねばならない。2～3の感染症について、輸入される可能性のある国を示した。

最近問題となっている病原性大腸菌による下痢症やMRSAなども多数の人の移動によ

って起こった輸入感染症である。

今世界はエイズで大騒ぎをしているが、端的に言ってこれはエイズウイルスによる性感染症である。感染症は化学療法の出現で学問としては斜陽になったと言われ、世間は感染症の存在そのものを忘れかけていた。MRSAは化学療法の難しさと反省の教科書であり、エイズは感染症一般に対する病原体からの警鐘である。

今は情報の時代と言われているが、感染症に関する情報はまだまだ充分でなく、ローカルな情報すら体系化されているとは言い難い。輸入感染症を水際で殲滅する為にも、感染症に関する基礎的初歩的な知識をパスポートの発行と同時に教授を義務づけること、病原体の特定の困難さを補完するためにも疫学情報ネットワークシステムの増強が望まれる。

兵庫県立衛生研究所長
兼 公害研究所長
小林 稔

PCR法による病原微生物の検出（その2）

【アニーリング】

熱変性とポリメラーゼ合成反応については前回に説明しました。この2つの反応の間にあるアニーリング(図1)とは一本鎖DNAにプライマーを結合させるステップのことです。一旦94度まで加熱したチューブの温度を徐々に下げていくと、プライマーは鋳型DNA上の相補な配列に結合するようになります。この時の温度を低くすればプライマーの結合が強くなり、塩基配列が多少違っていても鋳型DNAにくっつき、逆に温度が高いと完全に一致しなければくっつきません。この温度はプライマーや、鋳型の状態によって決められます。

【PCRの準備】

以上がDNA複製の概要で、次からは実際にPCRを行う場合の手順や、そこでどのような現象が起きているかについて説明します。

PCRを始めるにあたり最初にするのは、遺伝子のどの部分を増幅するかを決めることです。微生物診断ではここで何を選んだかによって、実験の可否が決まってしまう。これには、診断したい微生物(HIVやコレラ菌など)に固有の塩基配列を、データベースからコンピュータなどを利用して探し出します。増幅する部分が決まったら、その部分の両端の塩基配列に相補な短いDNA(プライマー)を、DNA合成装置で作成します。

次に、検査したいサンプル(血液や便など)から微生物のDNAを取り出しますが、これが鋳型DNAとなります。従って、診断しようとする微生物に感染していなければ鋳型DNAが無いため、DNAも増幅されません。

【PCR】

PCR反応を行うチューブには、一对のプライマー、鋳型DNA、DNAポリメラーゼ、そしてDNAの材料となる4種類のヌクレオチド(A、T、G、C)を混ぜあわせませす。チューブの温度を94 55 72と変化させるとDNAの複製が行われます(図1)。

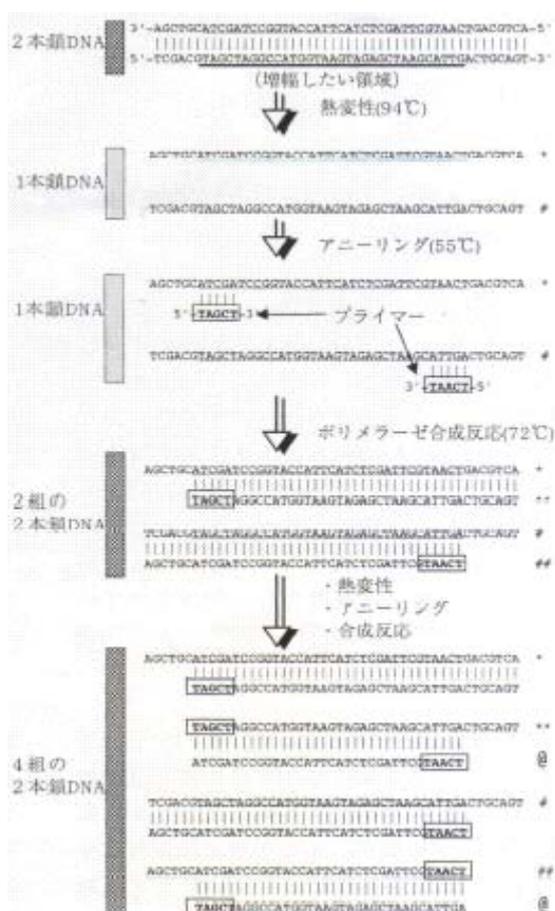


図1 PCRの原理

二本鎖DNAは加熱で一本鎖に分れ(94)、これにそれぞれ相補な配列を持つプライマーが結合し(52)、DNAポリメラーゼがこの3'末端に鋳型DNAに対合するヌクレオチドを次々に結合させる(72)。
この3段階の温度変化を1サイクルとして、n回繰り返すと理論的には、 2^n 個の目的領域のDNAが複製される。

1回のポリメラーゼ反応でDNAは2倍に増えるため、これを20回繰り返すと1対のDNAは $2^{20} = 1,048,576$ 100万倍になります。

また、初回の反応サイクルでは目的領域の断片は出現しませんが、2回目には8本のうち2本(図1の@)、3回目には16本のうち8本と回数を重ねる度に目的断片の比率が増し、20回目には100%近くまでになります。従って、チューブ内容物の電気泳動を行いその分子量を調べることで、目的領域が増幅したかどうかが判定できます。

【DNAの伸張】

ヌクレオチドはその後方に、デオキシリボース(糖-りん酸)と呼ばれる物質が付いており、DNAポリメラーゼはこのデオキシリボースを次々に結合することで、間接的にヌクレオチドを連結します(図2の)

デオキシリボースにはお互いが連結するための2つの手があり、片方を5'他方を3'と呼び、ヌクレオチドが連結してDNAとなってもこの方向付けがなされます。DNAポリメラーゼはプライマー3'末端にヌクレオチドの5'側を連結させますが、その逆の連結はできません。図1で一本鎖DNAに結合したプライマーが片側にしか伸びていないのは(5'から3'方向へ)このような理由によるものです。

【耐熱性DNAポリメラーゼ】

PCRでは熱変性時の温度が94以上になりますが、ヌクレオチドやDNAはこの温度には耐えられます。ところが、DNAポリメラーゼは失活し、反応は1回のサイクルで終わってしまうため、反応を繰り返そうとすると新たに酵素を補給しなければなりません。

また、この酵素が最もよく働く温度(至適温度)は37付近であるため、ここまで温度を下げると不必要なアニーリングなど様々な障害がでてきます。

これを解消するために考え出されたのが、耐熱性DNAポリメラーゼです。これは高温の温泉水中で成長する微生物から見出された酵素で、その至適温度も72と高く、95まで加熱してもその働きが失われることはありません。

本酵素を使用すると、上記のような3段階の温度変化を繰り返すだけでPCRが自動的に進み、この簡略化がPCRの普及に弾みをつけることになりました。

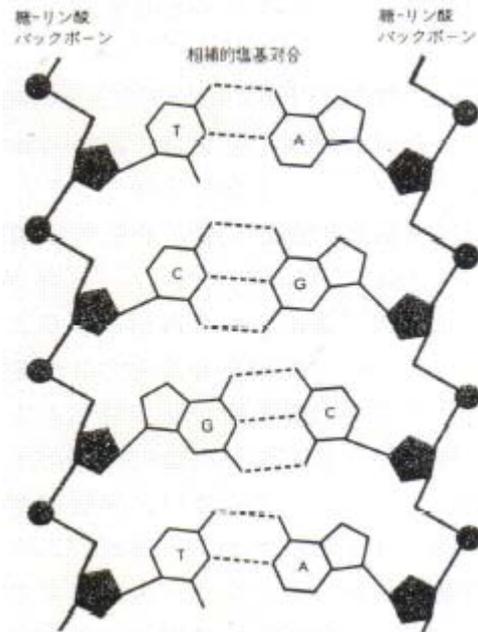


図2 DNAの骨格

4種類のヌクレオチド(A, T, G, C)の後方にはデオキシリボースと呼ばれる物質が結合しており、DNAポリメラーゼはこのデオキシリボースを介してヌクレオチドを連結する。

(J.D.Watson 著、松橋通生 訳、『組換えDNA』より転載。)

(微生物部：近平雅嗣)

本誌に関するお問い合わせは下記にお願いします。

編集発行 兵庫県立衛生研究所 (078) 511-6581(代)
〒652 神戸市兵庫区荒田町2丁目1番29号