

## 1. 研究概要

- 課題名 「炭疽菌等生物テロに使用される可能性のある病原体の検出法および滅菌法並びに疾病の治療法の実用化に関する緊急調査研究」
- 研究代表者 山田 章雄（国立感染症研究所）
- 実施期間 平成13年度・平成13年度予算額 78百万円

### 研究の目標・概要

#### 1 目標

炭疽菌等生物兵器に応用される可能性の高い病原体の存在を、極めて短時間で検出する方法を開発する。また、これら病原体の放射線による滅菌法を確立するとともに新規治療法を開発する。

#### 本課題終了後の目標

- 生物テロに使用される可能性のある病原体遺伝子の超迅速検出法の開発と実用化
- 郵便物の放射線照射滅菌の条件確立とその実用化
- 炭疽菌症の新規治療法の開発

#### 2 内容

病原微生物の核酸を試験管内で効率よく増幅する幾つかの方法(real time PCR, NASBA 法, TMA 法, PCR-Pyrosequencing 法など)を検証し、最も迅速で、精度の高い方法を見出し、実用化に導く。また、炭疽菌芽胞に汚染された郵便物等の放射線による滅菌法について、ガンマ一線、電子線照射の条件及び効果を検討し、滅菌法の実用化へ導く。さらに、芽胞形成メカニズムを解明し、芽胞根治を目指した治療法を確立する。

#### 3 新規性

生物テロの可能性が極めて高くなつたことと、模倣犯が後を絶たないことに対する緊急研究である。

### 諸外国の現状等

#### 1 現状

米国では軍関係、国内でも経済産業省関係で同様の研究が行われている。しかし個別 の方法に関する研究が主で、いくつかの方法を比較検討することはあまり行われていない。一方、米国では郵便局に放射線滅菌装置の導入が図られたが国内では照射条件に関する有効性について確立されておらず緊急に対応する必要がある。炭疽菌外毒素の作用機構の解析に基づき新規治療薬を開発しようとする研究が海外では行われているが芽胞そのものを破壊する新規治療法の開発は報告がない。

#### 2 我が国の水準

炭疽菌によるテロに備えて、各地方自治体の衛生研究所等で通常の PCR による検出体制が整備された。

### 研究進展・成果がもたらす利点

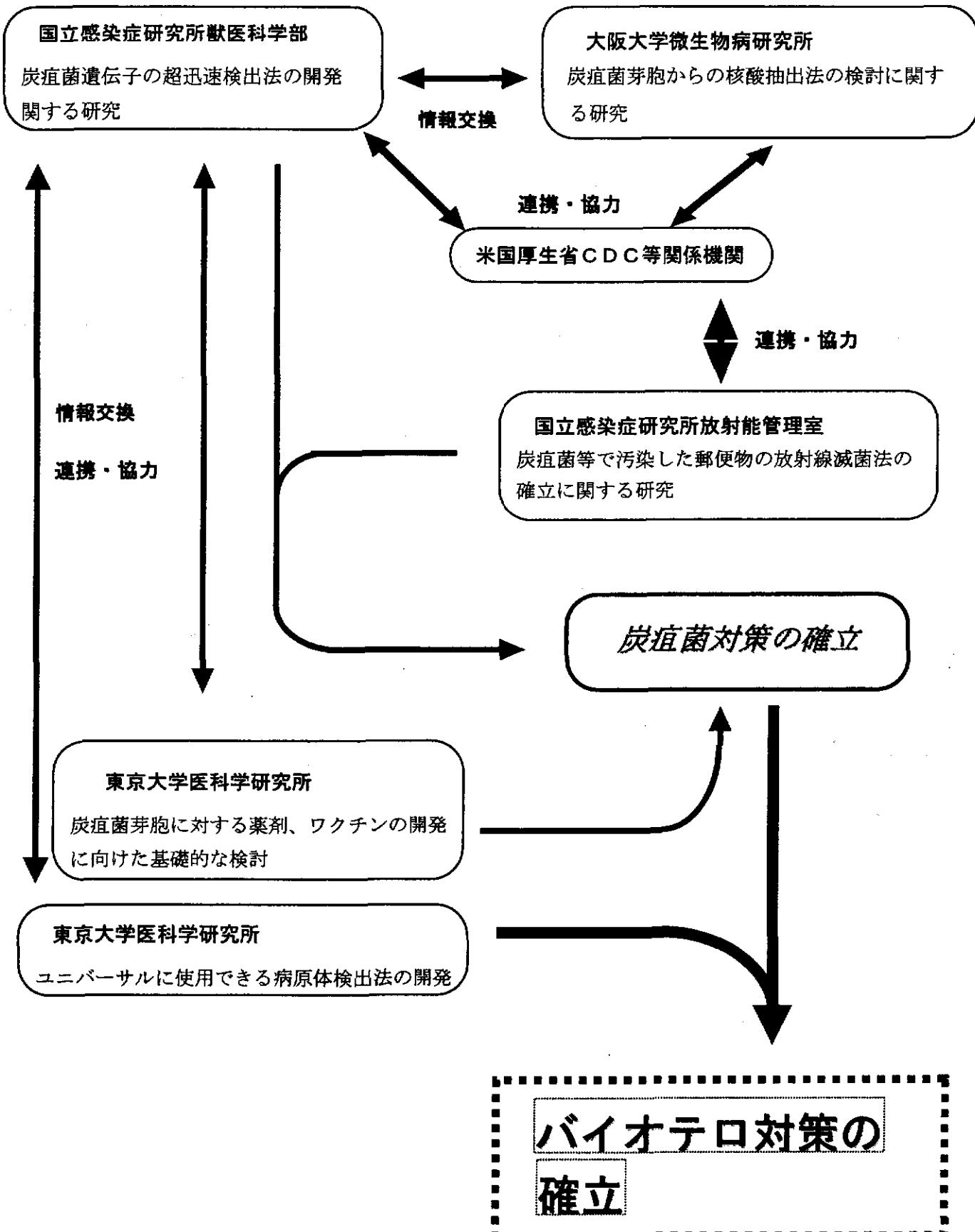
#### 1 世界との水準の関係

たとえば炭疽菌の検出では培養および通常の PCR が標準的に用いられており、本研究の成果は世界的な水準を上回ると考えられる。またゲノム情報から芽胞形成メカニズムにアプローチする試みはユニークなものである。

#### 2 波及効果

本研究の成果は国民の生物テロに対する不安を軽減することに大きく寄与するのみならずバイオテロに対する抑止効果も期待できると考えられる。

「炭疽菌等生物テロに使用される可能性のある病原体の検出法及び滅菌法  
並びに疾病の治療法の実用化に関する緊急調査研究」の研究体制



## 2. 所要経費

研究項目	担当機関	研究担当者	所用経費
1. 炭疽菌等生物テロに使用される可能性のある病原体の検出法および滅菌法並びに疾病の治療法の実用化に関する緊急調査研究 (1) 生物テロに使用される可能性のある病原体の超迅速検出法の開発に関する研究 ① 炭疽菌の核酸増幅法による迅速検出法の開発 ② 炭疽菌以外の病原体にユニバーサルに使用できる検出法の開発	国立感染症研究所 獣医学部 東京大学医科学研究所	神山恒夫（室長） 岩本愛吉（教授）	30,069 30,082
(2) 炭疽菌芽胞からの核酸抽出法の検討に関する研究	大阪大学微生物病研究所	森石恒司（助教授）	5,928
(3) 炭疽菌等で汚染した郵便物の放射線滅菌法の確立に関する研究	国立感染症研究所 放射能管理室	前川秀彰（室長）	5,909
(4) 炭疽菌芽胞に対する薬剤、ワクチンの開発に向けた基礎的な検討	東京大学医科学研究所	井ノ上逸郎（助教授）	5,911
(5) 研究進捗管理	国立感染症研究所 (中核機関)	山田 章雄（部長）	659

### 3. 研究成果の概要

課題名（研究代表者）：炭疽菌等生物テロに使用される可能性のある病原体の検出法および滅菌法ならびに疾病の治療法の実用化に関する緊急研究（山田章雄）

#### 【研究目標の概要】

##### 1. 生物テロに使用される可能性のある病原体の超迅速検出法の開発に関する研究

###### (1)炭疽菌の核酸増幅法による迅速検出法の開発

炭疽菌に焦点を絞り当該菌の遺伝子を効率よく検出する方法を確立する。これまでに報告されている通常のPCRおよびその他の核酸増幅法を用いた炭疽菌検出法を確立し、それらを相互比較し、最も優れた方法を実用化する。

###### (2)炭疽菌以外の病原体にユニバーサルに使用できる検出法の開発

原因微生物が全く予想できない場合も含め、炭疽菌以外の広範なバイオテロに対応するためPCR-Pyrosequencing法に基づいた微生物検出法を確立する。具体的には微量な試料から全ゲノムを直接DOP-PCR法等により増幅し、得られた産物を特異的なPCR反応により再増幅し、化学発光を用いたPyrosequencing法で10塩基ほどの塩基配列決定を行い、病原体を同定する。

##### 2. 炭疽菌芽胞からの核酸抽出法の検討に関する研究

炭疽菌芽胞からこれまで2時間ほどの発芽工程の後ボイリング法で核酸を抽出していたが、更に短時間で、核酸増幅法の鑄型として用い得る品質の核酸を抽出する方法を開発する。本研究により、サンプル調整に要する時間の短縮を図り、全体としてより一層炭疽菌等の検出の迅速化を目指す。

##### 3. 炭疽菌等で汚染した郵便物の放射線滅菌法の確立に関する研究

炭疽菌等の芽胞形成菌を放射線滅菌する最適な条件をガンマ線及び電子線について明らかにする。可能であれば郵便物への影響を極力抑えた、効率のよい滅菌条件を確立する。弱毒炭疽菌あるいはバイオインジケーターとしてのセレウス菌、枯草菌などの芽胞に線量の異なる電子線あるいはガンマ線を照射し、その効果をコロニー形成率立の比較により明らかにする。一方、郵便内容物などへの照射の影響を強度などの点から明らかにする。

##### 4. 炭疽菌芽胞に対する薬剤、ワクチンの開発に向けた基礎的な検討

ゲノム情報から芽胞形成に関与する遺伝子の網羅的な同定を試みる。炭疽菌、枯草菌、破傷風菌などの芽胞形成菌、および芽胞を形成しない菌とのゲノム情報比較から、遺伝子の機能クラスター解析をおこない芽胞形成に関与する遺伝子を同定する。得られた遺伝子情報を

基に、機能予測により芽胞形成メカニズムを解明する。これら成果をもとに、芽胞形成を抑制する薬剤、ワクチンなど、芽胞根治法確立を目指す。

#### 【研究成果の概要】

リアルタイム PCR の迅速診断法としての有効性を確認できたが、他の方法も、高価な機器を要しない、手技が煩雑でないなどの理由で一般的の検査施設に普及させる可能性が示されたので、今後もこれらの方法について検討を継続する必要がある。炭疽菌以外の病原体を迅速に検出する方法としての DOP-PCR 並びに Pyrosequencing を用いた方法は非病原性微生物を用いたシミュレーションで有用性を示すことができた。今後は実際に病原性を有する微生物での検証が必要である。炭疽菌の芽胞から核酸を抽出する方法に関してはこれまでよりも迅速な方法を開発できた。一方、郵便物の滅菌法に関してはアメリカ合衆国へ研究者を派遣し、その内容に関する情報を入手すると同時に原子力研究所の協力を得て、枯草菌をモデルとした実験系を確立した。また、ゲノム情報比較から芽胞形成に関する遺伝子の同定を試みたところ、新たに 53 個の遺伝子が芽胞形成に関与する可能性を示した。

## 4. 研究成果の発表状況

### (1) 研究発表件数

なし

### (2) 特許等出願件数

なし

### (3) 受賞等

なし

### (4) 主要雑誌への研究成果発表

なし