

平成 17 年 ( 三 ) 第 9、10 号 遺伝子組換え稲の作付禁止等仮処分命令申立事件

債権者 山田稔外 11 名、保坂一彦

債務者 独立行政法人農業・生物系特定産業技術研究機構

金川貴博氏陳述書に関する

## 報告書

平成 17 年 8 月 5 日

新潟地方裁判所高田支部 御中

(住所) 新潟県新潟市東島 2 6 5 番地 1

(所属機関) 新潟薬科大学

(肩書) 応用生命科学部 学部長

(氏名) 高木正道 (印)

### 第 1 報告者略歴

#### 学歴及び卒業年月日

昭和 3 2 年 3 月 新潟県立新潟高校卒業  
昭和 3 7 年 3 月 東京大学農学部農芸化学科卒業  
昭和 4 2 年 3 月 東京大学大学院農学研究科農芸化学専門課程  
博士課程修了 ( 応用微生物研究所第 5 研究部 )  
農学博士

#### 職 歴

昭和 4 2 年 4 月 新潟大学医学部助手  
昭和 4 4 年 4 月 東京大学農学部助手 ( 放射線遺伝学講座 )  
昭和 4 7 年 1 月 文部省長期在外研究員 ( 昭和 4 9 年 1 月まで )  
ウースター実験生物学研究所  
昭和 5 5 年 5 月 東京大学農学部助教授 ( 放射線微生物学講座 )

平成 2年 6月 東京大学農学部教授、農芸化学科細胞遺伝学講座を担当  
平成 9年 4月 東京大学大学院農学生命科学研究科教授（機構改革のため）  
応用生命工学専攻細胞遺伝学専門分野を担当  
平成11年 3月 停年により退官  
平成11年 4月 東京農業大学客員教授  
平成13年 4月～現在  
放送大学客員教授  
平成13年10月～現在  
新潟薬科大学教授  
平成14年 4月～現在  
新潟薬科大学応用生命科学部学部長

## 第2 ヒトディフェンシンとカラシナディフェンシンは違う

「ディフェンシン」とは分子量が小さく、陽イオンを帯び、システイン残基に富み、抗菌活性を示す蛋白質の総称であることはよく知られている。上記の要件を満たしていればディフェンシンと呼ばれるが、アミノ酸の一次構造や高次構造、あるいは抗菌作用の活性スペクトラム（作用の対象となる微生物の種類）、さらには抗菌活性の強度などについて非常に多様であることもよく知られている。またカラシナディフェンシンを含む植物型ディフェンシンとヒトディフェンシンを比較すると、ディフェンシンのもっとも大きな構造的特徴の一要素である SS 結合（蛋白質中に含まれるイオウ原子同士の結合のこと。これによって蛋白質の立体構造が強化される）の数が異なることもよく知られている。すなわち、ヒトディフェンシンをはじめ多くのディフェンシンタイプの蛋白質の多くは3個の SS 結合を持つ一方で、4個の SS 結合を持つという構造上の特徴から、植物型ディフェンシンは他のディフェンシンと区別される。

甲第19号証陳述書では、北陸研究センターが遺伝子操作によりイネに導入したカラシナディフェンシンに対する耐性菌が出現することにより、ヒトに対する重大な影響が出る可能性を指摘している。しかし、ヒトディフェンシンとカラシナディフェンシンは構造も機能も全く異なる蛋白質であって、似ているのは名前のみである。更に言えば、ヒトは免疫系、インターフェロン系、蛋白

性の防御系など多重の自己防御系を有しており、ヒトの生体防御系の根幹を成すのは免疫システムである。現在医療現場で問題になっている抗生物質耐性菌問題も、何らかの事情で免疫機能が低下している場合に問題として顕在化するものである。構造も機能も全く異なる植物ディフェンシンの一つにすぎないカラシナディフェンシン耐性の菌が仮にどこかに出現したとしても、それにより、ヒトが何らかの影響を受けることは到底考えられない。

ちなみに、パン酵母(*S. cerevisiae*)などもカラシナディフェンシンに対して非感受性(抵抗性)であることが知られている。甲第19号証陳述書の指摘に従うと、パン酵母が、この非感受性(抵抗性)であるという性質の故に人類に悪影響をもたらすという問題を生じる可能性があるということになる。ところがパン酵母は有用な菌類として利用されてきており、4千年以上人類と共存して人類に悪影響を与えた事実はない。

### 第3 甲第19号証陳述書が指摘する「ディフェンシン耐性菌の出現と周囲への拡散の危険性について」

本組換えイネが登場しなくても、ディフェンシンは自然界に存在するのである。すなわちディフェンシンは、本組換えイネ系統の作出以前から、植物や動物を問わず自然界に広く生物種に分布する天然の抗菌蛋白質である。したがって、甲第19号証陳述書に述べられているようなディフェンシン耐性菌の出現の恐れについては、組換えイネ系統が登場しなくても、長い人類の歴史のなかで、常にその危険性に晒され続けていることになる。ところが、現在のところこのようなディフェンシン耐性菌の出現による何らかの負の影響について報告は一切ないし、その危険性を指摘する科学的な論議も持ち上がっていない。今回実験に用いたディフェンシンは、食経験のある野菜(カラシナ)に含まれている植物型であり、人類が長い期間食糧として利用してきたものであるため、予め危険性が予想されるものではない。

甲第19号証陳述書で「2. ディフェンシン耐性菌が出現するとどうなるか」で、耐性菌の問題に唐突に言及しているが、言及する前に必要な耐性菌出現に対する組換えイネの関与が述べられていない。カラシナディフェンシン耐性菌の出現の可能性は本組換えイネの栽培とは基本的に関連せず、関連するという仮説の構築に甲第19号証陳述書は全く触れていない。

抗菌蛋白質研究の権威である米国のペンシルベニア大学医学部(University of

Pennsylvania School of Medicine)の Zasloff 博士は、科学雑誌「ネイチャー」誌において、近年明らかにされてきた多様な抗菌蛋白質は、多細胞生物（動植物やヒト）と微生物が協調的に存在するかたちで作り上げられてきた防御機構である、と結論している。この文献では、「多細胞生物のもつ抗菌蛋白質」の一つとして、アブラナ科作物の持つディフェンシンもリストアップされている。植物はその進化の過程で多様な抗菌蛋白質をずっと保持し続けてきている。現在でもその抗菌活性の多様な病原菌に対する有効性は持続されている。このことは、自然界では抗菌蛋白質が多細胞生物と微生物が協調的に存在するかたちで、多細胞生物が獲得してきた防御機構としての抗菌蛋白質の特性を示している。さらに本論文では抗生物質に対する耐性菌の出現頻度と比較して、抗菌蛋白質に対する出現頻度が驚くほど低いことにも言及している。

#### 第4 何か起きるのであれば、既にカラシナ畑で起こっている

ディフェンシンは蛋白質であるという事実、またディフェンシンを消化する蛋白質分解酵素が存在する（人工胃液、人工腸液で分解されることが一例）という事実がある。その一方で、生物が産生したディフェンシンが全く分解されずに地球上に蓄積が続けられ、環境に壊滅的な被害を及ぼしているという科学的事実がない。すなわち、ディフェンシンを分解する菌が自然界に存在することは自明である。

カラシナのディフェンシンは既に、歴史的に栽培されてきているカラシナが産生していることから、耐性菌が出現する可能性がある場合には既に出現しているはずであるし、可能性がない場合にはないことになる。すなわち、本組換えイネがある以前に、そのような可能性は歴史上既にあったはずであり、本組換えイネを栽培することによって耐性菌出現の可能性が特段に増大するとは考えられない。

本件の組換えイネの生産するディフェンシンは、カラシナディフェンシンであり、この組換えイネに固有のものではない。甲第19号証陳述書の通り、カラシナのディフェンシンに耐性の菌が出現して、それがヒトに対して重大な影響を及ぼすとすれば、すでに危惧される現象が発生している可能性は高いが、現実には人類への影響は認められていないし、かつネガティブな影響をもつ事故ないしその発生リスクすら報告がないし、言及されたことはないのである。

同じく甲第19号証陳述書では植物界への影響について様々に述べている。

しかし、これも植物の持つ、多様な生体防御機構を無視した、単なる机上の空論である。植物も様々な生体防御機構を有しており、カラシナディフェンシンのような抗菌蛋白質も多くのタイプのもをそれぞれの植物種が有しているため、植物はこれまで病原菌の感染に際して、ディフェンシンのみならず様々な抗菌物質を産生し続けてきたはずだが、抗菌蛋白質に対する耐性菌の出現によってある植物種が壊滅に至った例を知らない。ディフェンシンに耐性菌ができて、生物（植物）の防御機構は多様であり、他の機構で対応可能である。

植物の防御機構は、これまでに知られているだけでも、抗菌蛋白質遺伝子を含む多様なPR遺伝子群(pathogen-related gene)に関わる防御機構（ディフェンシン、キチナーゼ、グルカナーゼなど）、局所的な植物側の細胞死により病斑の拡大を阻止する機構、ウイルスなどの病原体の遺伝子発現や遺伝子複製を阻止する機構などがあり、特定の抗菌蛋白質（ディフェンシン）の耐性菌の出現により、防御機構全体が完全に破綻するほど、植物の防御機構は単純ではない。

#### 第5 作用機作について

甲第19号証陳述書では、「化学と生物」に掲載された総説論文「抗菌ディフェンシンの多様な機能特性」の記述の一部のみを強調し、ディフェンシンの作用機作が全く不明であるといった主旨のことが論じられているが、それは科学的知見と異なる。

「化学と生物」に掲載された総説論文「抗菌ディフェンシンの多様な機能特性」のなかの「作用機作」の項を正しく読めば、以下のような科学的事実が述べられている。

変異株の解析による最近の報告では、酵母(*S. cerevisiae*)における特定のスフィンゴリピッド(M(IP)<sub>2</sub>C)に関わる合成系の酵素遺伝子である IPT1 が、ダリア由来のディフェンシン(Dm-AMP1) に対する感受性を決定する遺伝子として特定された。スフィンゴリピッドは細胞膜に存在し、セラミドを骨格とする脂質である。この場合、酵母の(M(IP)<sub>2</sub>C)と Dm-AMP1 との間の何らかの相互作用によって酵母が Dm-AMP1 の効果を受けるようである。また、ダイコン由来のディフェンシン(Rs-AFP2)を用いた解析により、特定の真菌(*P.pastris* および *C.albicans*)のグルコシルセラミド(GlcCer)の合成系酵素遺伝子(GCS)が Rs-AFP2 に対する感受性を決定する遺伝子として特定された。GlcCer が細胞膜に存在しない変異株では Rs-AFP2 に対して抵抗性を示す。

また、スフィンゴリピッドの骨格形成に関与し、幅広い生物種の細胞膜に存在する GlcCer に注目してみると、Dm-AMP1 や Rs-AFP2 は糸状菌が持つ GlcCer と相互作用を示すが、ヒトやダイズの GlcCer に対しては作用を示さない。糸状菌と高等生物の GlcCer を比較すると、脂肪酸鎖の長さや脂肪酸の飽和レベルが異なるといった構造的な違いがあり、Dm-AMP1 や Rs-AFP2 が植物や動物に対して細胞毒性を示さない原因と考えられる。これらの解析例から、ある種の糸状菌や酵母等の細胞膜に存在するスフィンゴリピッドがディフェンシンの活性標的に関わっていることは確かである。さらに植物型ディフェンシンに対するアカバカビ (*Neurospora crassa*) の抵抗性変異株の解析により、幅広く生物種の細胞膜に存在し、スフィンゴリピッドとは別タイプの脂質であるステロールの一種 (ステリルグルコシド) の高発現によりディフェンシンに対する抵抗性を獲得する例が示されている。

このように植物型ディフェンシンの作用機作については、ある種の糸状菌や酵母等について細胞膜の特定の脂質にポイントがあるようだ、ということが明らかにされつつある。

さらにベルギーのレーベン大学の Thevissen 博士は、科学雑誌「ペプチド」誌において、Dm-AMP1 (ダリア由来)、Rs-AFP2 (ダイコン由来)、Ah-AMP1 (ヨウシュトキノキ由来)、Ct-AMP1 (チョウマメ由来) 等の植物型ディフェンシンの作用機作について、特にディフェンシンの抗菌活性の発揮とある種の糸状菌や酵母等についての細胞膜の構造的特徴が密接に関連していること、の科学的データを詳細に解説している。また、植物型ディフェンシンが植物に影響を及ぼさず、病原菌に抗菌活性を示すことの科学的理由を、細胞膜の構造的特徴が異なることにある、と結論づけている。

このように、植物型ディフェンシンの抗菌作用に関するもっとも重要な段階、すなわち、植物型ディフェンシンとその標的となる病原菌が接触したときの作用機作については科学的に解明が進んでいる。

なお、植物型ディフェンシンの抗菌活性発揮に対して、糸状菌や酵母等の細胞内でどのような情報伝達が起きるのかについて不明の点が残ってはいる。しかし植物型ディフェンシンについてみれば、一般的に特定の蛋白質の作用機作の解析が難しいなかで、その機能と標的生物の構造的特徴との関連が明解に解析されている代表的な例と言える。

## 第6 土壤微生物相について

土壤微生物等への影響等についても、現実にカラシナが長年にわたって圃場で栽培されていることから、カラシナ由来のディフェンシンは土壤、雨水中に流れ出している。にもかかわらず、甲第19号証陳述書で陳述されている強力な耐性菌は知られていないし、他の動植物への影響は認められていない。

さらに、甲第19号証陳述書では、本組換えイネ系統が、抗菌蛋白質を作り続け、土壤微生物への影響は今まで以上に大きいと指摘しているが、今回実験に用いたディフェンシンは、カラシナに含まれているものであって、カラシナ類は広く栽培されており、ディフェンシンの土壤微生物への影響を問題にするのであれば、カラシナ類の栽培そのものを問題にしなければならなくなる。また、ディフェンシン蛋白質は、土壤に埋没されれば、蛋白質分解酵素をもつ微生物群によって分解され、ある種の有機塩素系加工物や重金属のように土壤中に蓄積されたり、水中に移行し広い範囲の微生物に影響を与えることはない。また、土壤微生物の計測手段についても、甲第19号証陳述書は論評しているが、甲第19号証陳述書の指摘のような土壤微生物が抗菌蛋白質の影響を受けている状態であれば、カルタヘナ法で定められた試験法で十分その傾向をつかめることは、土壤微生物学の常識である。

甲第19号証陳述書によると土壤微生物相についての室内実験が不十分とのことだが、カルタヘナ法で定められている項目を確認した実験データをもって、農林水産大臣および環境大臣より隔離圃場栽培実験の承認を受けている。また、こうしたことも含めて検討することこそが本屋外実験の目的と考える。

## 第7 最後に

なお金川氏は、別添資料に示したとおり、廃水処理技術（下水処理）の専門家であり、当該資料（ウェブサイトに掲載した略歴）を見る限り、ディフェンシンのみならずバイオ作物一般の分野において今回の甲第19号証陳述書が初めての論文であり、報告書としてはその信用性におのずと限界がありうべきことを付記しておく。