

意見書(2)

木暮 一啓

目次

- 第1、抗生物質耐性菌からの教訓
- 第2、ディフェンシン耐性菌発生の一般的蓋然性について
- 第3、ディフェンシン耐性菌発生メカニズムについて
- 第4 本実験により危惧される耐性菌のヒト等への危険の具体例 緑膿菌
- 第5、まとめ

抗生物質耐性菌の歴史から学ぶべき教訓について、そして、被告のディフェンシン耐性菌問題に関する認識の誤りについて、最近の科学論文等に基づき、述べたいと思います。

第1、抗生物質耐性菌からの教訓

1. 学ぶべき事例

未来を予測するには、過去に起こったできごとを注意深く分析することが重要であると思います。組換えイネの栽培によって自然界にディフェンシン耐性菌が出現する可能性があるのかどうか、また、あるとしたならそれはヒトや生態系にどのような影響を及ぼすのかといった未来の現象（もしかしたら、昨年の栽培実験が原因ですでに耐性菌が出現しているかもしれませんが）を予測する場合も同様です。

抗菌剤への耐性菌として、現在、問題になっているのが抗生物質耐性菌です。抗生物質耐性菌と一口に言っても、様々な種類のものがあります。もしもその中に、ディフェンシン耐性菌について考える上で参考になりそうな事例が1つでもあれば、それを注意深く検討しないといけません。的外れの事例だけを取り上げて、これとだけ比較して安心していただけのでは、過去の教訓を生かすことができず、過ちを繰り返すことになってしまいます。

今回のディフェンシン耐性菌の諸問題を考える上で、注目しなければならない抗生物質耐性菌の事例の1つに、バンコマイシンの耐性菌があります。

バイコマイシンという抗生物質は、他の抗生物質がつぎつぎと耐性菌の出現により効力を失っていく中で、これなら耐性菌は出ないというわけで「究極の抗生物質」として使用されてきたものです。バイコマイシンに耐性菌は出ないと言われた根拠は、バンコマイシンが病原菌を攻撃するメカニズムが、病原菌の細胞壁の生合成を阻害するというものであったので、病原菌が耐性を獲得するためには、病原菌が自らの細胞壁の構造を変化させることが必要であるという点にありました。それは大きな遺伝的変化を必要とすると予想されたので、そのような変化は起きないであろう、つまり、耐性菌は出現しないであろうと考えられたのです。しかしながら、この予想は見事に覆りました。1986年に

確認された病原菌は、細胞壁の構造を変化させたもので、バンコマイシンがまったく効かない高度の耐性を持った菌でした。それも、興味深いことに、耐性菌がバンコマイシンの使用によって出現したのではなくて、構造が異なる別の抗生物質であるアポパルシンを鶏の生育促進剤として多量に農業利用したことが原因で出現しました。つまり、アポパルシンの濫用で出現した耐性菌が、アポパルシンのみならずバンコマイシンに対しても高度の耐性を示したのです。その理由は、バンコマイシンとアポパルシンとは、病原菌を攻撃するメカニズムに共通点があったために、アポパルシンの攻撃をかわすように細胞壁の構造を変化させた耐性菌は、バンコマイシンの攻撃もかわすことができたのです。このように、1つの薬剤に対する耐性が、他の薬剤に対する耐性にもなることを交差耐性と呼びます。交差耐性は、抗菌剤を使用するとき常に留意しないといけない事項です。アポパルシンの農業利用がバンコマイシン耐性菌を蔓延させる原因になっていることがわかったので、アポパルシンは欧州で禁止され、わが国でも農林水産省が1987年に使用を禁止しました¹。アポパルシンの使用禁止によってバンコマイシン耐性菌の数は劇的に減少しましたが、耐性菌が消え去ったわけではなくて、やがてこの耐性が種を越えて伝播して、恐ろしい病原菌の出現につながりました。当初、バイコマイシンに耐性を示す病原菌はヒトへの影響が少ない腸炎菌でしたが、その後、腸炎菌中の耐性遺伝子が、MRSA（メチシリン耐性黄色ブドウ球菌）に伝達されたことが2002年に確認されました。つまり、どの抗生物質も効かない（多剤耐性の）MRSAが登場し、現在大きな問題になっています。

今回のディフェンシン耐性菌の諸問題を考える上で、以上のバンコマイシン耐性菌の事例から学ぶべきことが3つあります。

第1は、ディフェンシンにおいても、もしもこれを濫用（大量に使用）すれば、耐性を持った様々な種類の病原菌が出現し、これが蔓延して、大きな被害を出すおそれがあるという点です。

今回のディフェンシンの場合、病原菌を攻撃するメカニズムは、病原菌の細胞膜に何等かの作用を及ぼすことであると考えられており、「耐性菌の出現は極めて考えにくい」という説が出ていました。

しかしながら、病原菌は細胞膜のすぐ外側にある細胞壁の構造を変化させることでディフェンシンに対する耐性を獲得することが可能です。実際に、細胞壁の構造を変えることで、ディフェンシンに対する耐性を獲得し、ヒトの皮膚に住み着いてしまっている病原菌がいることがすでに明らかになっています²。その一例が黄色ブドウ球菌³で、普段は害作用をしません、手術などでヒトの

¹ <http://www.maff.go.jp/soshiki/chikusan/eisei/ekouhyou.html>

² のちに9頁の4で紹介する Buckling and Brockhurst の論文（Nature 438 巻、170-171 ページ、2005年）など。

³ 黄色ブドウ球菌の中で、抗生物質のメチシリンに耐性があるのが院内感染で有名なMRSA（メチシリン耐性黄色ブドウ球菌）である。

体力が低下すると、この菌が感染症を起こします。ディフェンシンとバンコマイシンとは、病原菌の耐性獲得の様式が細胞壁の変化という点で共通しています。また、「耐性菌の出現は極めて考えにくい」と思われていた点でも共通しています。ディフェンシンなどの抗菌ペプチドについて「耐性菌の出現は極めて考えにくい」と発言したのは、この分野の権威である Zasloff 教授ですが、最近になって、その説を撤回したことが科学誌の Nature で 2005 年 11 月に報じられました。この点は、のちに第 2、1 (7 頁～) で詳述します。

第 2 は、カラシナ・ディフェンシンにおいても、その耐性菌は、カラシナ・ディフェンシンに対してのみならず、他の生物のディフェンシンに対してもまた耐性を持つこと(交差耐性)が予測されるという点です。

実際のところ、前述の黄色ブドウ球菌の例では、カラシナ・ディフェンシンにもヒト・ディフェンシンにも耐性があります。カラシナ・ディフェンシンもヒト・ディフェンシンもプラスに荷電していて、マイナスに荷電している病原菌表面に付着して殺菌力を発揮するという共通点があるので、黄色ブドウ球菌は、この点を利用して耐性を獲得しています。つまり、細胞の一番外側にある細胞壁にプラスの荷電を増やして、電気的な反発からディフェンシンが付着できないようにしているので、プラスに荷電しているあらゆる種類のディフェンシンに耐性があります。この実例からもわかるとおり、カラシナ・ディフェンシン耐性菌が、ヒト・ディフェンシンにも耐性を示すことが十分に予測されます。このような交差耐性については、新たな抗菌剤の利用を考える場合には、必ず考慮しなければいけない事項です。

第 3 は、ディフェンシン耐性も、耐性遺伝子の種を越えた水平伝達が予想されるという点です。その結果として、もしも最初に出現した耐性菌がヒトへの影響がない病原菌(たとえば、いもち病菌)だとしても、その後、ヒトの病原菌に耐性遺伝子が水平伝達されることがあり得るといえることです。

2、被告の主張に対する論評

(1)、種を超えた水平伝達の有無について

被告は、カラシナ・ディフェンシンへの耐性について、種を超えた水平伝達はあり得ないと主張していますが(準備書面(2)13 頁の一覧表。甲 20 号証の高木意見書下から 2 行目)、この主張には何らの科学的根拠もありません。逆に、バンコマイシン耐性菌の場合には、その細胞壁の構造を変化させる遺伝子が種を超えて伝達されることが実験的に実証されており、現に、腸炎菌から黄色ブドウ球菌へと種を超えて伝達されてしまいましたので、この実例から考えて、細胞壁構造を変化させるという様式のディフェンシン耐性遺伝子が他の菌に伝達される可能性は十分に考えられます。

(2)、増殖性について

被告は、「ディフェンシンの存在下では、影響を受ける菌の種類が極めて限定されている」と主張していますが(準備書面(2)13 頁の一覧表)、これは事実

に反します。すでに被告の北陸センターの職員である川田氏らは、甲3号証の論文中に「抗菌活性を示す植物型ディフェンシンは多様な病原菌に対して増殖抑制効果があり」(230頁右欄の下部、「抗菌活性」の項目の冒頭)と記述しており、今回の組換えイネについては、多様な病原菌に対する増殖抑制効果(いもち病菌にも白葉枯病菌にも効く)を期待してディフェンシンが導入されているのです。なぜ、準備書面にこのような事実と反する主張をされるのか不可解です。

ディフェンシンが、抗生物質の場合と同様に、耐性菌の増殖を助けるものであることは黄色ブドウ球菌の例が知られています(Peschel and Collins, *Peptides*, **22**, 1651-1659 (2001); Nizet and Gallo, *Trends Microbiol.*, **10**, 1-2 (2002))。黄色ブドウ球菌は、競争相手になるような菌がいる環境では優勢になりにくい菌ですが、これがヒトの鼻腔に付着した場合、ヒトはこの菌を排除しようとヒト・ディフェンシンを生産して攻撃します。しかし、この菌は細胞壁がディフェンシンを寄せ付けられない構造で、ディフェンシンでは増殖が抑制されず、逆に、その他の多くの菌は、ディフェンシンで増殖が抑制されてしまいます。したがって、ディフェンシンによる攻撃が、黄色ブドウ球菌の競争相手を排除することになって、黄色ブドウ球菌の増殖を助けることとなります。このため、ヒトの鼻腔は、黄色ブドウ球菌には好適な繁殖場所であり、成人の約30%に住み着いていることが確認されています。

(3)、ヒトに対する脅威について

被告は、「カラシナに対する病原菌がカラシナディフェンシンの耐性を獲得した場合、カラシナにとっては脅威になりうるが、これがヒトに対する脅威となるものではない」と主張していますが(準備書面(2)13頁の一覧表)、これは、抗生物質耐性菌から得た教訓に照らして、正しい予測とは言えません。これは交差耐性という現象を無視する見解です。

カラシナ・ディフェンシン耐性菌について、ヒトに対する脅威については、次の2通りの場合が考えられます。

・最初の耐性菌がヒトの病原菌の場合

のちに第3、5(22頁)で詳述しますが、水田には緑膿菌など多種類のヒトの病原菌が存在するので、ヒトに対する病原菌がカラシナ・ディフェンシンの耐性を獲得することが考えられます。なおかつ、前述した通り、交差耐性という現象で、カラシナ・ディフェンシンに対する耐性が、ヒト・ディフェンシンに対しても耐性である可能性は十分にあります。その場合に、カラシナ・ディフェンシンに対する耐性を持ったヒトの病原菌がヒトに対する大きな脅威になります。

ところが、被告はこれまで、この交差耐性を無視し続けて、ヒトへの脅威を否定し続けています。しかし、抗生物質のバンコマイシンに対する耐性菌の場合は、アボパルシンに対する耐性が、バンコマイシンに対しても耐性を示しました。構造が異なる抗菌剤であっても、病原菌を攻撃するメカニズムに共通点

があれば、1つの抗菌剤に対する耐性の獲得（上記の例ではアポパルシン耐性）で、他の抗菌剤に対する耐性（上記の例ではバンコマイシン耐性）も得ることが可能なのです。ディフェンシンにおいても、黄色ブドウ球菌の場合、細胞壁の変化という様式の耐性であるため、これはヒト・ディフェンシンのみならず、カラシナ・ディフェンシンなどあらゆるディフェンシンに対する耐性になっています。

・最初の耐性菌がヒトの病原菌以外の菌の場合

また、被告の北陸センター職員らの甲3号証の論文（233頁左段中ごろ）にも記載されている通り、イネ病原菌がカラシナ・ディフェンシンの耐性をもつ可能性があります。そして、このイネ病原菌の耐性遺伝子が、ヒト病原菌に伝達される可能性があります。前記のバンコマイシン耐性菌の場合も、最初は、腸炎菌が耐性を獲得して、のちに、これがMRSAに伝達されました。バンコマイシン耐性菌を蔓延させた原因は、アポパルシンの農業利用（鶏の成育促進剤）であり、やがてその耐性遺伝子がMRSAに伝達されて、抗生物質がどれも効かないMRSAが出現してしまいました。カラシナ・ディフェンシン耐性菌の場合も、最初の耐性菌がヒトへの影響の少ない菌であっても、やがてその耐性がヒトへの影響が大きい病原菌へと伝播する可能性があり、さらに、交差耐性によって、この病原菌がヒト・ディフェンシンにも耐性を示して、大きな被害を出す可能性があります。

3、対比一覧表

カラシナ・ディフェンシン耐性菌とバンコマイシン耐性菌の対比を表にして整理すると、次のようになります。

	バンコマイシンの耐性菌	カラシナ・ディフェンシンの耐性菌
発生過程	突然変異により、菌の細胞壁の構造変化で発生し、その耐性菌から他の菌へ耐性が伝播した。	突然変異により、菌の細胞壁の構造変化などで発生し、その耐性菌から他の菌へ耐性が伝播する可能性がある。
発生の蓋然性	発生しないと言われていたが、現に発生した。	発生しないと言われていたが、その説を唱えた本人が説を撤回しており、新たな耐性菌が発生する可能性がある。また、すでに多くの菌でディフェンシンへの耐性遺伝子の存在が確認されており、今回のイネの栽培からそうした耐性菌が選択的に増加する可能性は十分にある。
種を超えた水平伝達の有無	細胞壁の構造を変化させる耐性遺伝子が、腸炎菌から黄色ブドウ球菌への伝達されることが実験室で実証され、その後、自然界でも実際に伝達が起こったことが確認された。このように、種	細胞壁の構造を変化させる耐性遺伝子などが種を超えて水平伝達される可能性が十分にある。

	を超えた水平伝達が確認されている。	
増殖性	抗生物質存在下では、多くの種類の菌が死に絶えるため、耐性菌の繁殖する余地が広くなり、抗生物質の濫用で、耐性菌が爆発的に増殖し、蔓延することとなった（選択の原理）。	ディフェンシン存在下では、多くの種類の菌の増殖が抑制され、もしくは死に絶えるため、耐性菌の繁殖する余地が広く、この点において、爆発的に増殖する可能性がある。現に、この選択の原理にもとづいて、ヒトの皮膚に住み着いている耐性菌（黄色ブドウ球菌など）がいる。
交差耐性	アポパルシンの耐性菌が、バンコマイシンへも耐性を示した。また、アポパルシンの使用で、バンコマイシン耐性菌が蔓延した。	カラシナ・ディフェンシン耐性菌がヒト・ディフェンシンへも耐性を示す可能性がある。カラシナ・ディフェンシンの使用で、ヒト・ディフェンシン耐性菌が蔓延するおそれがある。
ヒトに対する脅威	抗生物質の効き目が失われるという意味において、医療の観点から、現に大きな問題になっている。	ヒト・ディフェンシン耐性菌の出現の可能性は否定できず、その場合、ヒトにとって病原菌から身を守る最初のバリアとして働いているディフェンシンが効かなくなり、ヒトにとって大きな脅威になる。

4、まとめ

以上に述べたとおり、抗生物質バンコマイシンの耐性菌の出現と蔓延の歴史には、農林水産省が深くかかわっておりますが、今回の裁判での論争を見ると、農林水産省およびその管轄下にある被告の北陸研究センターは、この事例を無視してしまっているようです。この歴史を正しく認識するなら、ディフェンシン産生イネの野外栽培がいかに危険な行為であるかが十分に認識できるはずです。

しかも、注意しなければいけないのは、ディフェンシンなどの抗菌タンパク質への耐性菌が抗生物質耐性菌よりもはるかに危険度が高い菌だという点です。抗生物質は微生物が生産する抗菌物質であり、ヒトの病気治療に使うものであって、抗生物質耐性菌は、あくまでも感染症にかかった人や外科手術を受けた人など抗生物質を使用する必要がある人にとっての問題です。

これに対し、ディフェンシンなどの抗菌タンパク質は、動植物が病原菌から身を守るための最初のバリアとして作るものであり、抗菌タンパク質への耐性菌は、そのバリアを打ち崩すもので、いわば病原菌に対する動植物の重要な武器を無効にしてしまうものです。したがって、健康に生活している我々ヒトのみならず動植物全般が、今までの自然の防御機構で対処できなくて、わずかの菌の攻撃にも耐え切れずに感染・発病してしまうという大問題を起こします。だから、大変危険なのです。そのことが最近になって次第に世界的に認識されてきて、昨年末には世界的に有名な科学誌である Nature にも、抗菌タンパク質の濫用を戒める論文が出ています（甲 21。Nature 2005 年 11 月 10 日号）。

第2．ディフェンシン耐性菌発生の一般的蓋然性について

1．はじめに

被告は、準備書面(2)の13頁の一覧表の中で、カラシナ・ディフェンシン耐性菌の「発生の蓋然性」について、「低い」と主張しています。その理由は明らかにしていませんが、昨年からの裁判の中で明らかになった資料を読めば、被告の職員である田中氏、黒田氏、川田氏の共同論文である「抗菌蛋白質ディフェンシンの多様な機能特性」(「化学と生物」2005年NO4、甲3号証)の次の記述に基づくものと思われます。

「作物の病害抵抗性育種を目指す際に常に問題となる大きな問題の一つとして、病原菌の変異による抵抗性崩壊(ブレイクダウン)【木暮注：耐性菌が出るという意味】があげられる。イネ育種の場合でも、特に真性抵抗性遺伝子【木暮注：真性抵抗性とは、作用力の大きい1つまたは少数の主働遺伝子に支配される抵抗性のこと】をもつ系統・品種は、しばしばこの問題に直面することが知られている。ディフェンシン遺伝子を導入した組換えイネもまた、抵抗性崩壊をひき起こすのだろうか。抗生物質などと比較して、抗菌蛋白質は一般的に病原菌に対して“穏やか”に作用すると考えられている。また、抗菌蛋白質が細胞膜に作用するという特性上、病原菌が細胞膜の構造を劇的に変化させることで抗菌蛋白質の攻撃を“解決”するにはあまりに大きな遺伝的变化を必要とするため⁽¹⁾、抗生物質や農薬の主成分である薬剤と比較して、抗菌蛋白質では抵抗性崩壊の懸念は低いと考えられている。筆者らは現在、ディフェンシン、抗生物質および農薬の有効成分を用いて耐性菌の出現頻度の比較解析研究を進めている。」(233頁左21行目以下)

そして、被告職員らが耐性菌出現の蓋然性が「低い」と考える論拠にしている論文が、同じ頁の右段下で参考文献の1)として紹介されているNatureに発表されたZasloffの論文(415巻、389-395ページ、2002年)です。

では、抗菌ペプチド⁴の利用研究のリーダーと目されているZasloffは本当にそのように考えていたのでしょうか。

2．Zasloffは、2002年の時点ではNatureに発表した上記論文の中で、以下をその根拠に、ディフェンシン耐性菌の出現は極めて考えにくい(surprisingly improbable)との見解を示していました。

抗菌ペプチドの標的は細菌の膜成分であるため、細菌が耐性を得るには膜の構造を変えなければならない。これにはかなり“コスト”がかかる。抗菌ペプチドはタンパク質分解酵素により認識されにくく、分解されにくい。

多細胞生物は構造的に異なる複数の抗菌ペプチドによって細菌を攻撃す

⁴ ペプチドとは、分子量の小さなたんぱく質のこと。抗菌ペプチドと抗菌蛋白質は同義語。

るため、仮にある細菌が、一つの抗菌ペプチドを分解したとしても全ての抗菌ペプチドの抗菌性を消滅させるのは困難である。

そして、大腸菌と *Staphylococcus aureus* に対して変異原を作用させても、pexiganan という抗菌ペプチドへの耐性は出てこなかったこと、交差耐性(ある物質に対し耐性をもった場合、他の物質にも耐性を示すこと)があるという証拠も全くないとしていました。

3 . しかし、被告は、上記 Zasloff 論文ののちに、「Proceedings of the Royal Society B」に発表された上記 Zasloff を含む Perron らによる共同論文(Gabriel G. Perron Michael Zasloff and Graham Bell: Experimental evolution of resistance to an antimicrobial peptide. Proceedings of the Royal Society of London. Series B doi:10.1098/rspb. 2005. 3301) について、何ら注意を払っておりません。

この論文は、抗菌ペプチド pexiganan を添加した試験管の中で、緑膿菌の近縁種である *Pseudomonas fluorescens* と大腸菌とを、100日間に渡って植え継ぎながら培養を続けた実験結果を論じたもので、32本の試験管のうち、30本から耐性菌が出現したと報告しています。この高い率での出現は「抗菌ペプチド耐性菌の出現は困難」という見方が正しくないことを示しており、Perron らの共同研究者は、「ある細菌種が何世代にも渡って特定の抗菌ペプチドに曝される場合、このような耐性菌の選択的増加⁵が起こりうること、そして特定の化学物質が恒常的に広く使われる場合、同じことが起こるだろう」と述べ、「これまで耐性菌が出てこなかったのは、一つの動物体内に様々な抗菌ペプチドが混在し使われてきたので、耐性株が選択的に増える条件がなかったためであろう」と考察し、抗菌ペプチドの広い使用は従来の抗生物質と同様の結果となりうることを明確に指摘しています。さらにこうして出現した耐性株の病原性がどの程度であるか、また抗菌ペプチドを人為的に利用しようとする場合、どのような行政的な措置をすべきか等についての検討の必要性についても言及し、耐性菌の出現が引き起こす結果について真剣に考慮すべきであると述べています。

そして、注目すべきは、2002年の論文で「耐性菌は出にくい」と述べた Zasloff 自身がこの共同実験に参加し、この論文の著者に名を連ねていることです。この実験で得られた極めて単純かつ明瞭な結果は、3年前に同氏自身が行なった推測を完全に否定するものであり、このため Zasloff は、2002年の論文で述べた見解を撤回して、この論文では「抗菌ペプチドを意図的に用いる場合には耐性菌の出現について真剣に考えるべき」との警鐘まで発しています。抗菌ペプチドの利用研究のリーダーと目されている Zasloff

⁵ 他の細菌群が死滅することにより、生き残った耐性菌が栄養資源を独占的に利用し、結果的にその数を増やすこと。

がこのように当初の考えを撤回し、それを国際的な科学論文の中に明記するに至った事実は国際的にも注目を集めました。

この経過は、2005年11月2日のNature NewsのOn line版に報じられています(甲72号証)。この記事中で、Zasloffの「もしも何かが試験管の中で起こるなら、それは実際の世界でも起こるでしょう」という発言が紹介されています。被告は、ディフェンシン耐性菌は実験室でしか確認されていないことを弁解の一つにあげていますが、「実験室で起こることは自然界でも起こる」と考える慎重な姿勢が、科学者には要求されます。被告の「ディフェンシンの耐性菌は極めて出にくい」という主張は、このように国際的な論争を通じて既に否定されているものです。

4. この他にも、Natureに発表されたBuckling and Brockhurstの論文(438巻、170-171ページ、2005年)や、Trends in Microbiologyに掲載されたPeschelの論文(10巻、179-186ページ、2002年)によれば、たとえば、黄色ブドウ球菌は、細胞壁にあるテイコ酸にアラニンを結合させるという単純な方法で、あらゆる種類のディフェンシンに対する耐性をすでに獲得していることが判明しています。つまり、ディフェンシン耐性を可能にする遺伝子自体は既に少なくとも黄色ブドウ球菌、緑膿菌、サルモネラなどの中に現に存在しているのであって、これから突然変異を積み重ねることによって初めて創出されるものではありません。

この意味で、被告のカラシナ・ディフェンシン耐性菌の「発生の蓋然性」は「低い」という主張(準備書面(2)13頁)や被告職員らが論文で述べている「あまりに大きな遺伝的变化を必要とするため⁽¹⁾、抗生物質や農薬の主成分である薬剤と比較して、抗菌蛋白質では抵抗性崩壊の懸念は低いと考えられている。」(甲3号証。233頁左)というのは科学的事実からかけ離れた希望的観測でしかないと同時に、今回の組換えイネの野外栽培実験を正当化するための極めて危険な強弁と言わざるを得ません。

5. 現在、この分野の世界は、抗菌ペプチドの使用で新たな抗菌ペプチド耐性菌が出現することを前提に置いた上で、これらの耐性菌が持つ潜在的な脅威の大きさを科学的に明らかにすることが急務という認識に立って動いています。すなわち、我々ヒトが耐性菌に感染した場合、我々に一体どれだけの危険があるかについて、マウスを使った研究がなされようとしているのです。

このような状況下であえてわが国の公的研究機関が率先して抗菌ペプチドの遺伝子を組み込んだ植物の野外試験を行うことは、この分野における世界的な潮流に全く逆行しているばかりか、それらを公然と無視して無謀な試みに挑戦しようとしているとしか言いようがありません。そして、もしこの野外試験を通じて耐性菌が出た場合には、それを進めたわが国の公

的研究機関のあり方、それに歯止めをかけられなかったわが国の学界のあり方に対し、世界から厳しい批判が寄せられることが予想され、これを憂います。

第3．ディフェンシン耐性菌発生のメカニズムについて

1．高木教授は「ディフェンシン耐性は、ディフェンシンに感受性の菌が外部から変異源【木暮注：原文のママ。正しくは変異原または突然変異原】等の作用を受け、分子レベルでの変異を起こすことで生じる。すなわち、ディフェンシンに対する耐性は、外来遺伝子によって獲得されるものではなく、また他の菌に伝達される性質も持たない。MRSA とは異なり、外部から伝達性の耐性遺伝子によって効かなくなっている訳ではない」と述べておられます（乙20号証）。

つまり、ディフェンシン耐性菌の出現について、
．突然変異によってのみ生じ、
．他の耐性菌の耐性遺伝子からの伝達によっては生じない
という結論を述べております。

しかしながら、そもそも細菌のディフェンシン耐性メカニズムについては研究例が少なく、ごく近年その研究が始まったばかりの段階に過ぎませんから、高木教授のような断定的結論を下せる状況にはなく、逆に、最近になって得られた科学的事実と同教授の上記の考え方を否定する方向にあります。つまり、突然変異によって今後新たに耐性菌が生じるということだけでなく、すでに耐性を潜在的に持っている菌がいて、その菌がわずかな変異で耐性を顕在化させたり、また、そこから耐性遺伝子が伝達される可能性もあります。以下に、その論文の幾つかを紹介します。

2．まず、1999年に発表された論文：Robert K. Ernst、Eugene C. Yi、Lin Guo、Kheng B. Lim、Jane L. Burns、Murray Hackett、and Samuel I. Miller (1999) Specific lipopolysaccharide found in cystic fibrosis airway *Pseudomonas aeruginosa*.(Science 286:1561-1565) です。

これは、嚢胞性線維症(Cystic Fibrosis)の患者から分離した緑膿菌を人体内の条件を模した低マグネシウム濃度下に短時間晒したところ、この菌が外膜のリピッド A という構成成分を変えることにより、抗菌ペプチドに対して耐性を示すことが記述されたものですが、この耐性は与える条件に応じて耐性遺伝子を発現することで発揮されるものであり、遺伝子の突然変異を伴うものではありません。

なお、このことをよりしっかりと理解するために次のとおり整理しておきます。

緑膿菌の中にはこのような耐性を示すために必要な遺伝子（耐性遺伝子）を既に持っているものがある。

しかし、この耐性遺伝子は常に発現しているわけではない、つまりある条件下でのみスイッチが入って（すなわち誘導的に発現されて）、その遺伝情報から特定のタンパクが作られて、特定の生物作用を起こす。この場合にはディフェンシンに対する耐性が出てくる。

耐性遺伝子のスイッチが入っていない状況で突然高濃度のディフェンシンに曝されると菌は死滅する。それなら、いつでもスイッチをオンにしておけばよいように思えるが、菌が抗菌ペプチドに出会うのは極めてまれなので、常にスイッチをオンにしておくのは無駄であるから、普段はオンにはしない。

これは丁度、夜間、誰も使わない部屋の電灯のスイッチを入れ放しにするのが無駄であるというのと同じ理屈です。必要な時にだけオンにすれば、無駄な料金を払う必要がなくなり、浮いたお金を他へまわせます。ただし、夜中に突然敵に襲われると、電灯が消えた暗闇では適切に対応できなくて、切り殺されてしまう、ということです。

なお、このように、生物が普段は発現していない遺伝子を数多く持っているのはごく普通のことです。逆に言えば、生物がある瞬間に発現させている遺伝子は全遺伝子のうちのごく一部で、状況に応じて特定の遺伝子を選択的に発現させることにより、初めて無駄がなくなかつ調和の取れた生物活動を行うことができるのです。

3. また、以下の三つの論文は、それぞれ緑膿菌、サルモネラ、ネイセリア（髄膜炎原因菌）が抗菌ペプチドへの耐性を持つことを示すとともに、それに関与する遺伝子について論じたものです。これらの遺伝子はいずれも上記に述べたように、条件に応じて発現して、抗菌ペプチド耐性を示すことが明らかにされています。

McPhee JB Lewenza S and Hancock REW (2003) Cationic antimicrobial peptides activate a two-component regulatory system, PmrA-PmrB, that regulates resistance to polymyxin B and cationic antimicrobial peptides in *Pseudomonas aeruginosa*. *Molecular Microbiology* 50:205-217

Bader MW Navarre WW Shiao W Nikaido H Frye JG McClelland M Fang FC and Miller SI (2003) Regulation of *Salmonella typhimurium* virulence gene expression by cationic antimicrobial peptides. *Molecular Microbiology* 50:219-230

Tzeng YL Ambrose KD Zughaier S, Zhou X Miller YK Shafer WM and Stephens DS (2005) Cationic antimicrobial peptide resistance in *Neisseria meningitidis*. *Journal of Bacteriology* 187:5387-5396

さらに、この中の McPhee らによる緑膿菌に関する論文、Bader らに

よるサルモネラに関する論文 では、いずれの菌でも PhoP/PhoQ という制御系の遺伝子が抗菌ペプチド耐性に関わることが記述されています。PhoQ 遺伝子はセンサの役割を果たし、例えばマグネシウム濃度が低下したりするとリン酸化され、それを PhoP 遺伝子に伝えます。PhoP 遺伝子は一連の遺伝子の転写を制御しており、この制御系が働く結果、抗菌ペプチド耐性の遺伝子が活性化されて、耐性が出てきます。このように、異なる細菌群集の間で共通の遺伝子あるいは遺伝子群がその耐性に使われていることがごく最近明らかになってきました。

上述のとおり、高木教授は、「耐性メカニズムは変異源（原）の作用によりそれぞれの種で独自に生じ、耐性遺伝子の伝播はない」旨も述べておられますが、これまでのところ、少なくとも緑膿菌のほかに大腸菌とペスト菌も PhoP/phoQ 系のシステムを持っていることが知られています。この結果は、これらの菌がいずれも共通の祖先種から派生し、祖先種に存在していたこのシステムがその際に分配されたか、あるいはこのシステム（耐性遺伝子）が異なる種間で水平移動したと考えるのが妥当なものです。逆に言えば、これらのシステムがそれぞれの種が突然変異を通じて独自に耐性を獲得した結果、極めて似たシステムになったという確率は限りなくゼロに近く、科学的には成立し得ない考え方です。さらに、他の菌においても緑膿菌やサルモネラ菌と同様に、これらのシステムがいずれも抗菌ペプチド耐性に関わっているとすれば、抗菌ペプチド耐性遺伝子は既にかかなりの細菌の間に広がっていることとなります。今後、PhoP/PhoQ 系のシステムが耐性遺伝子とどのように関わっているのか、耐性遺伝子の起源がどこにあり、それがどの程度広がっているかなどの詳細を明らかにしていく必要がありますが、いずれにせよ高木教授あるいは被告がこうした耐性遺伝子の存在あるいはその意味を正しく認識されていないことは大変憂慮すべきことです。

4．現在までの科学的事実を総合すれば、ディフェンシン耐性菌問題は、以下のようにまとめることができます。

種を異にする多くの菌は、既に抗菌ペプチドに対する耐性遺伝子をそなえている。

耐性遺伝子をそなえる菌が長時間抗菌ペプチドに接している場合、菌の中から構成的に耐性遺伝子を発現して恒常的に耐性を発揮し、抗菌ペプチドで死滅しない菌（変異株）が出現する。

その結果、恒常的にそれに耐性を示さない正常株は死滅し、耐性を示す変異株だけが増殖し、その状態が継続すれば自然選択の原理により変異株のみが大量に増殖する可能性がある。

もちろん、突然変異によって、新たなディフェンシン耐性菌が出現する可能性も十分にある。

これに対し、被告や高木教授は、「ディフェンシン耐性は、ディフェンシンに感受性の菌が外部から変異原等の作用を受け、分子レベルでの変異を起こすことで生じる。」との立場に立っていますが、上記のとおり、既にそなえている耐性遺伝子がわずかな変異で常時発現するということもあります。また、「ディフェンシン耐性菌は他の耐性菌の耐性遺伝子からの伝達によっては生じない」との立場に立っていますが、そのような考え方は、近時明らかにされつつある科学的知見とは相容れないものです。

第4 本実験により危惧される耐性菌のヒト等への危険の具体例 緑膿菌

1. ここで、本実験により危惧される耐性菌のヒト等への危険について、私の専門分野である緑膿菌を例に考えてみたいと思います。緑膿菌というのは、細菌学において「過去から現在まで終始治療に抵抗し、臨床医を悩まし続けているのは『緑膿菌』において他にないと言っても過言ではない」「世界中の病院内で最も重要な感染症となっているのが現状である」(別紙1。斎藤厚ら編集「緑膿菌の今日的意味」1996年11月医療ジャーナル社刊。序文より)と言われている菌です。また、緑膿菌は水田に無数に存在しますし、以下に述べるような特徴をもつことから、本実験の潜在的な危険性を検討する上で最適のものと考えられるからです。

2. 緑膿菌によって引き起こされる感染症にはいくつかの特徴があげられます。

第1に、健康な人に対しては何ら症状を引き起こさないが、免疫力の低下した人や、手術後、あるいは傷病を負った人などに対して症状を示すことです。さらに、一般に中高年齢者はその年齢に応じて免疫力が低下するため、高齢な農業従事者はその危険により曝されることとなります。

第2に、緑膿菌は土、水田、住居中の水回り、淡水、海洋、動植物など、環境中のあらゆる場に生存しており、この菌との接触を遮断することは不可能なことです。また、特定の抗菌物質に耐性を持った株が天然に出現した場合、それを地域的、空間的に封じ込めることはできませんし、それらを殲滅することも不可能です。

第3に、緑膿菌は多くの病原因子⁶を持ち(下表1参照)それらが複合的に働いており、かつ発症の部位も様々であるため、免疫力が低下した人の発症の可能性がどの程度であるか、またどこからどのように発症するかは必ずしもうまく予測できません。

⁶ 病原因子とは、細菌が病気を発症するのに関わっている構造的特性、分泌物、毒性物質などの総称をいう。多くの場合、病原因子は単独ではなく、相互に複合的に働いて人体中の様々な器官に侵入し、様々な感染症を引き起こすが、緑膿菌ではこれがとりわけ顕著に見られる(表2参照)。

表1 緑膿菌の病原因子		表2 緑膿菌による感染症例	
病原因子	作用機作・阻害	場に応じた症例	
線毛	付着	全身	敗血症、髄膜炎
アルギネート	付着、食細胞機能抑制	呼吸器	肺炎、びまん性汎細気管支炎、気管支拡張症、慢性気管支炎、嚢胞性線維症
エンドトキシン	敗血症性ショック	尿路	複雑性尿路感染症、慢性尿路感染症
エクソトキシンA	EF-2のADP-リボシル化（タンパク合成阻害）、食細胞機能抑制、組織障害	耳、鼻	慢性外耳道炎、慢性中耳炎
エクソエンザイムS	宿主タンパクのADP-リボシル化（タンパク合成阻害）、食細胞機能抑制、組織障害	目	眼瞼膿症、涙嚢炎、結膜炎、角膜潰瘍、全眼球炎、眼窩感染
エラスターゼ	エラスチン、コラーゲン、免疫グロブリン、補体成分などの分解、組織障害	条件に応じた症例	
アルカリ性プロテアーゼ	タンパク分解、組織障害	傷、やけど	熱傷創感染症
ホスホリパーゼC	リン脂質の分解（特に宿主細胞膜）、組織障害	手術後	腹膜炎、胆道感染
ロイコシジンおよびサイトトキシン	組織障害（白血球破壊）	顆粒球*減少時	敗血症
スーパーオキシドジスムターゼ	好中球機能阻害、抗菌薬耐性	高齢者	肺炎、慢性気道感染症、尿路感染症、褥瘡感染症
		院内感染	例多数

*好塩基球、好酸球、好中球からなる顆粒球は感染防御に重要な役割を果たしているが、顆粒球はサルファ剤、ペニシリンなどの投与により減少するため、感染症の可能性が高まる。

第4に、緑膿菌はしばしば院内感染を通じて多数の感染者を生み出し、時に患者を死に至らしめることです。この菌は比較的容易に薬剤耐性、それも多剤耐性⁷を獲得しますが、院内感染はこうした多剤耐性菌によることが殆どです。これらの耐性は、病院で使われている抗生物質の種類と量、および期間に対応しています。すなわち、多種の抗生物質が長時間に渡っ

⁷ 複数の薬剤に対する耐性を併せ持つこと。

て多量に投与され続けられれば、それだけより多くの抗菌剤に耐性をもつ緑膿菌が選択的に増加します。これらの多剤耐性菌が原因で発症した場合、今のところそれを抑えることはできません。つい先日（6月23日・24日）の新聞にも、多剤耐性緑膿菌の院内感染が疑われる埼玉県と東京都下の死亡事故例が大きく報道されていました（別紙2新聞記事参照）。

3．ところで、ヒトやその他の動植物が緑膿菌に対する感染防御メカニズムとして、どの程度ディフェンシンを使っているかは現時点では不明であり、ディフェンシン耐性菌のヒトや生態系に及ぼす影響を断定的に述べることも困難ですが、少なくとも以下のような可能性が指摘できます。

健康な人でもちょっとした切り傷や擦り傷が治らず、青白い膿が出続ける。

多くの人々が慢性的な中耳炎、結膜炎などにかかる。

多くの人々が尿路感染症にかかる。

呼吸器系の弱い人が肺炎、気管支炎にかかる。また、その多くの人々が、これまで遺伝病とされてきた嚢胞性線維症の末期症状と同様の症状を示す。

多くの人々が上記の一つあるいは複数の慢性疾患症状を示すようになり、それが接触感染を経てさらに広がる。

術後の患者、免疫機能の低下した高齢者、免疫機能が十分に発達していない幼児、他の病気に感染した患者などが、緑膿菌に感染し易くなり、緑膿菌のエンドトキシンショック症状あるいは敗血症などを示すに至る。

病院、保育園、老人ホームなどでの集団感染の頻度が増加する。

4．では、耐性緑膿菌によるヒトやその他の動植物の発病までのプロセスについて、以下の順番に予想可能なものを検討します。

(1)、カラシナ・ディフェンシンと微生物との接触

(2)、ディフェンシン耐性菌の出現

(3)、耐性菌の大量増殖

(4)、耐性菌の耐性遺伝子の伝播（水平移動）

(5)、流出

(3)や(4)

(6)、発病

(1)、カラシナ・ディフェンシンと微生物との接触

次の2つの場合に分けます(その理由はのちの(4)で明らかにします)。

ア、カラシナ・ディフェンシンと緑膿菌との接触

接触の場所については、次の3つが考えられます。

- ・ 空气中(イネの葉・茎)
- ・ 水中(イネの茎)
- ・ 土壌中(イネの根)

イ、カラシナ・ディフェンシンと緑膿菌以外の微生物との接触

同じく、上記の3つの接触の場所が考えられます。

(2)、ディフェンシン耐性菌の出現

常時かつ大量に産出されるディフェンシンとの接触により、上記の3つのいずれの場所でも、

ア、ディフェンシン耐性を示す緑膿菌の出現が可能。

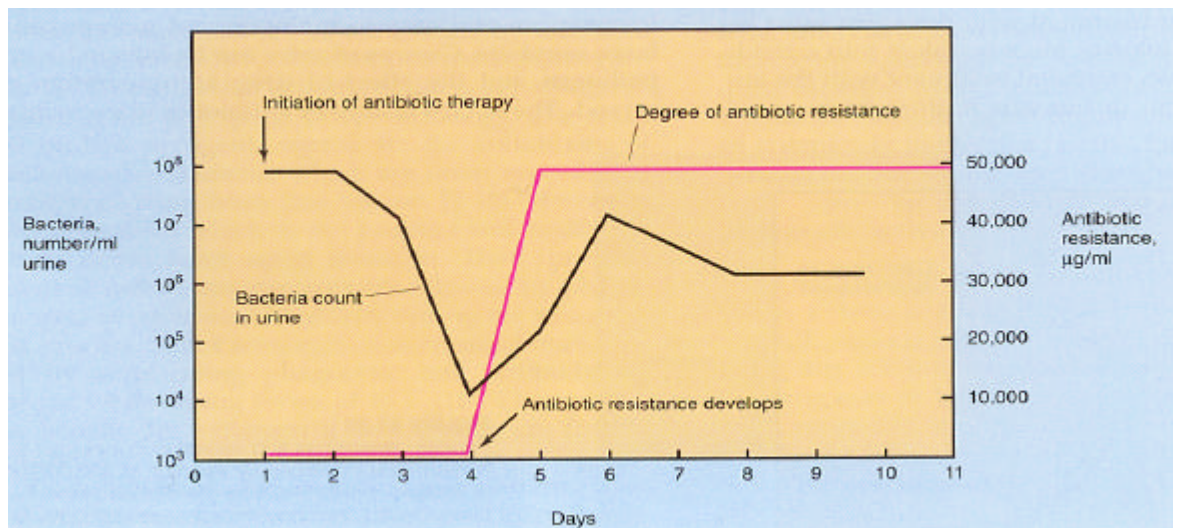
イ、ディフェンシン耐性を示す緑膿菌以外の微生物の出現が可能。

と考えられます。

(3)、耐性菌の大量増殖

耐性菌の大量増殖について6頁の対比一覧表で略述しましたが、下のグラフは、抗生物質の耐性菌の大量増殖のパターンを示しています。

【抗生物質を使うと耐性菌が増えるわけ】



(Brock, Biology of Microorganisms 7th ed.)

- * 抗生物質を入れると、通常の菌(黒線)のかなりが一時死滅し、その後回復する。これは耐性菌による。耐性菌の増加は、耐性の程度(赤線:最小増殖阻害濃度)の急激な増加により分かる。抗生物質投与は耐性菌をどんどん増やす

最初の矢印の時点で抗生物質を入れていますが、黒い線で示されるように、細菌数は一旦急速に減少します。これは抗生物質が効いて感受性のある菌が

死滅するためです。しかし、ある時点から再び菌数が増加し始め、もとの菌数の10分の1程度にまで回復します（左側の目盛りを参照。この目盛りは10倍単位でつけられています）。耐性度⁸を示す赤い線から明らかのように、抗菌剤の使用は、耐性を持たない菌を死滅させ、耐性のある菌のみを選択的に増やすことに繋がります。

ここで、ディフェンシンの場合を考えてみます。ある菌がディフェンシン耐性の遺伝子を持っていたとしても、その遺伝子情報が発現されていなければ、急に高濃度のディフェンシンに曝されると死滅します。またそうした遺伝子を持たない菌も当然のことながら同様に死滅しますから、この図と同様の落ち込みが予想できます。これが実際に多くの生物がディフェンシンを使い続けてきた基本的メカニズムですし、被告が今回の実験で期待している筋書きです。しかし、ここでもし菌が長くディフェンシンに曝されていると、ディフェンシン耐性の遺伝子が発現され、ディフェンシン耐性の菌が次第に増えてきます。さらに、これに8頁の3で紹介した Perron らの2005年の論文の結果を当てはめるならば、そこに恒常的にディフェンシン耐性遺伝子を発現しているような変異株が出現してくると予想されます。この図の後半のような事態です。これらの菌群に対して新たにディフェンシンによる抗菌処理を行っても、この図に見られるような処理開始直後の大きな落ち込みがもはや期待できなくなります。ディフェンシンに耐性を示す菌は、感受性のある菌が死滅した後、利用可能な栄養を独占することができますから、この状態が継続すれば自然選択の原理によりディフェンシン耐性菌のみが大量に増殖することになります。これがカラシナ・ディフェンシンを組み込んだイネの周囲で起こると予想されることです。

くり返しますが、ディフェンシンは多くの生物によって防御作用に用いられますが、いずれも短時間それを使っています。従って、たとえ耐性菌がそこにいたとしても、それらが爆発的に増えるような条件を与えません。ここでもし恒常的にディフェンシン耐性を示す病原菌が環境中に増え、それが人体あるいは生物体に入ると、生物体の持つ重要な防御メカニズムを突破してしまいます。その結果がどうなるかはまだ科学的データがありません。このように、イネに対して人工的に遺伝子改変を行い、恒常的にディフェンシンを作らせることが、様々な生物のディフェンシンによる防御メカニズムを無意味にする可能性があります。また、その周辺域では、耐性遺伝子が異なる菌群の間を伝播し、それまで抵抗性をもたなかった種がそれを持つように変異する可能性もあります。こうなると多くの病原菌にこうした性質が広がる可能性があります。

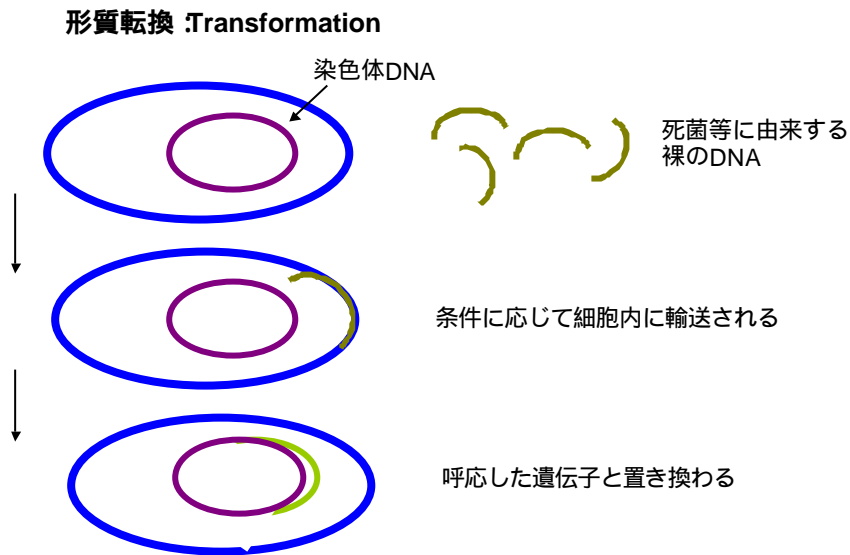
⁸ 耐性度：細菌がどの程度の量の抗菌物質の存在下でも増殖するかを示す数字。低い値の場合には低濃度で増殖が抑えられる、つまり感受性が高いが、高い値であるほど、高い耐性を持つことになる。この図の場合、5日目以後は1mLあたり50mgでも増殖を抑えられない、つまり高い耐性を持つことを示す。

(4)、耐性菌の耐性遺伝子の伝播（水平移動）

一般に、耐性菌の耐性遺伝子は次の方法で他の菌に伝播します。

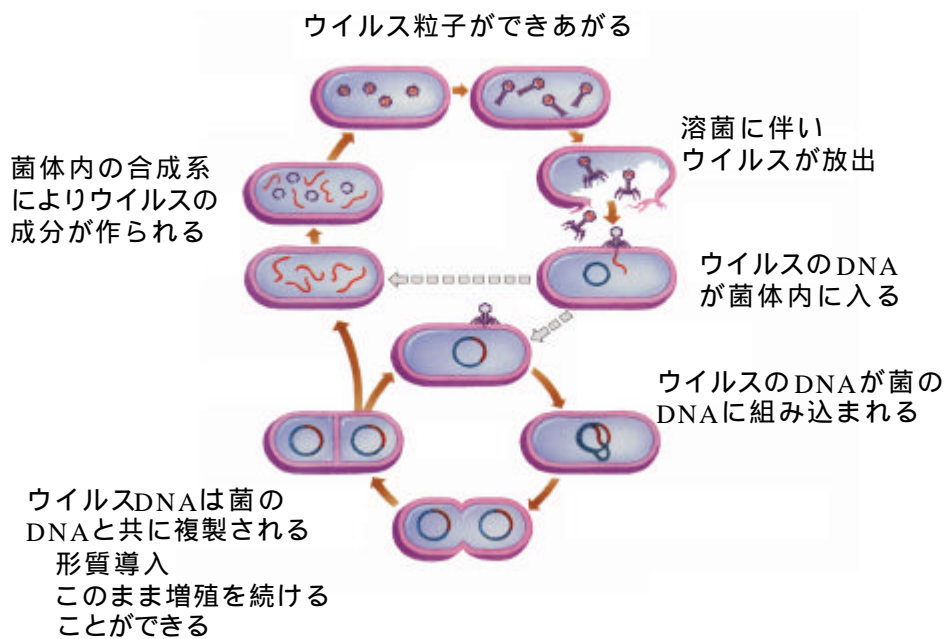
・ 形質転換

下の図のように、いわば裸の DNA 断片が細胞に取り込まれ、その DNA に置き換わる



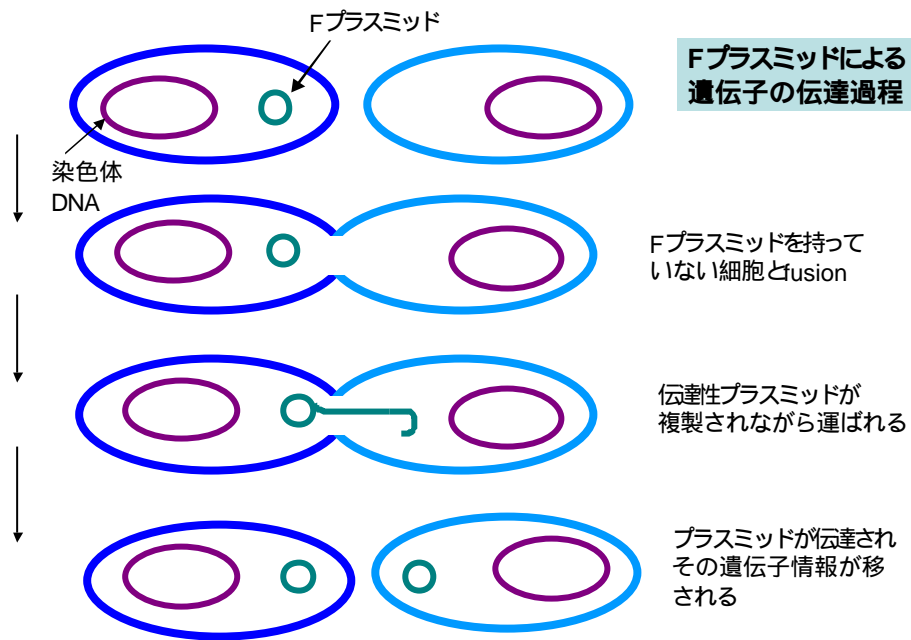
・ 形質導入

下の図のように、ファージがある細胞の遺伝子を切り取り、他の細胞に感染した際、切り取られた遺伝子断片がその染色体の中に組み込まれる

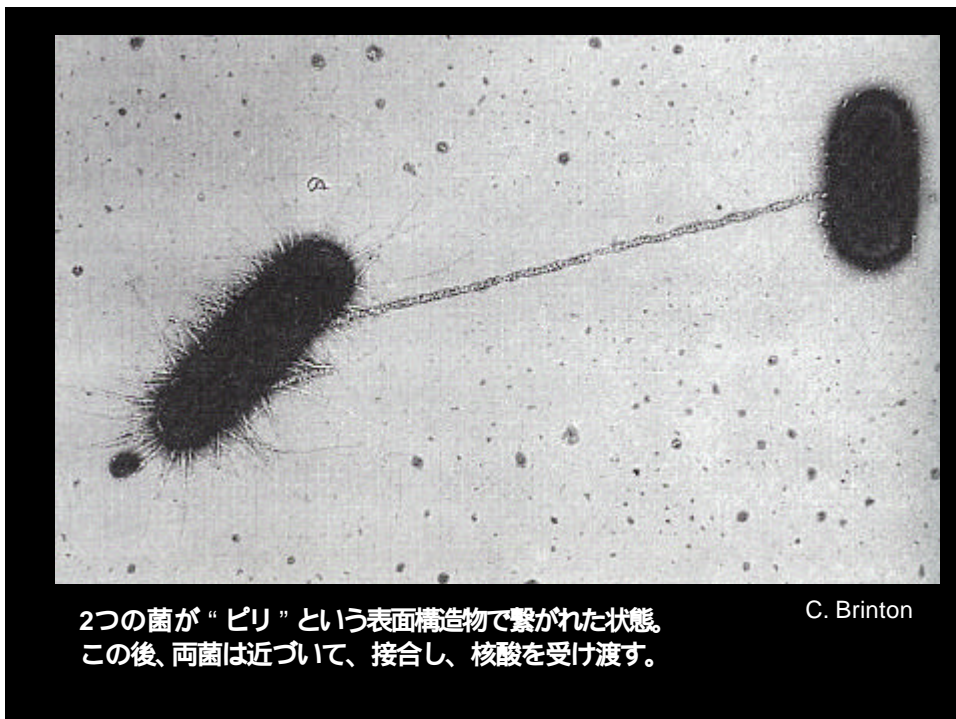


・ 接合伝達

下の図のように、細胞同士が接合し、遺伝子が受け渡され、相手の細胞に組み込まれる。



下の写真は、2つの菌同士が繋がった瞬間の写真です。



これらの遺伝子伝播は、必ずしも特定の種内に限定されるわけではなく、種を越えた伝播もあり得ます。例えば、SN-T というウイルスは、大腸菌、緑膿菌をはじめとする少なくとも5種以上の細菌に対して感染性を示します。また、RK2 というプラスミドはやはり大腸菌、緑膿菌を含む少なくとも9種の細菌の中に入り込むことが知られています。このように種をまたがったウイルスやプラスミドの存在は、ディフェンシン耐性の遺伝子が種を超えて伝播する可能性を示しています。従って、16頁(2)の本実験のイにおいても、ディフェンシンの耐性遺伝子が種を超えて相互に伝播する可能性は否定できません。逆に言えば、この耐性遺伝子が特定の種のみに限定的に存在し続けることを主張するのは細菌学の常識から究めて困難です。このように、まずヒトの病原菌以外の微生物が耐性を獲得した場合でも、耐性遺伝子の水平移動により、種を超えて、ヒトの病原菌が耐性を獲得する可能性があるのです。

(5)、流出

耐性菌が圃場の泥の中に生じた場合、その外部への流出を阻止するのは不可能です。細菌は、泥の細かい粒子の中にも入り込むでしょうし、水の中にも出てくるでしょう。泥や水田の中に生息する小さな動物にもくっつくでしょうし、刈り取られたイネの表面にもくっついているでしょう。また、作業をしている人々の靴や衣服、手足、皮膚などにもくっついているでしょうし、農機具にもくっついているでしょう。風が吹けば埃と一緒に飛ぶでしょうし、大雨になればその水と一緒に流出するでしょう。腸管出血性大腸菌 0157 などが広がっていった経緯をもとに考えると、圃場の外に出た細菌はおそらく5~10年以内には様々なルートをたどって他の大陸にまで伝播すると予想できます。その間にも増殖や伝播をくり返す可能性があります。

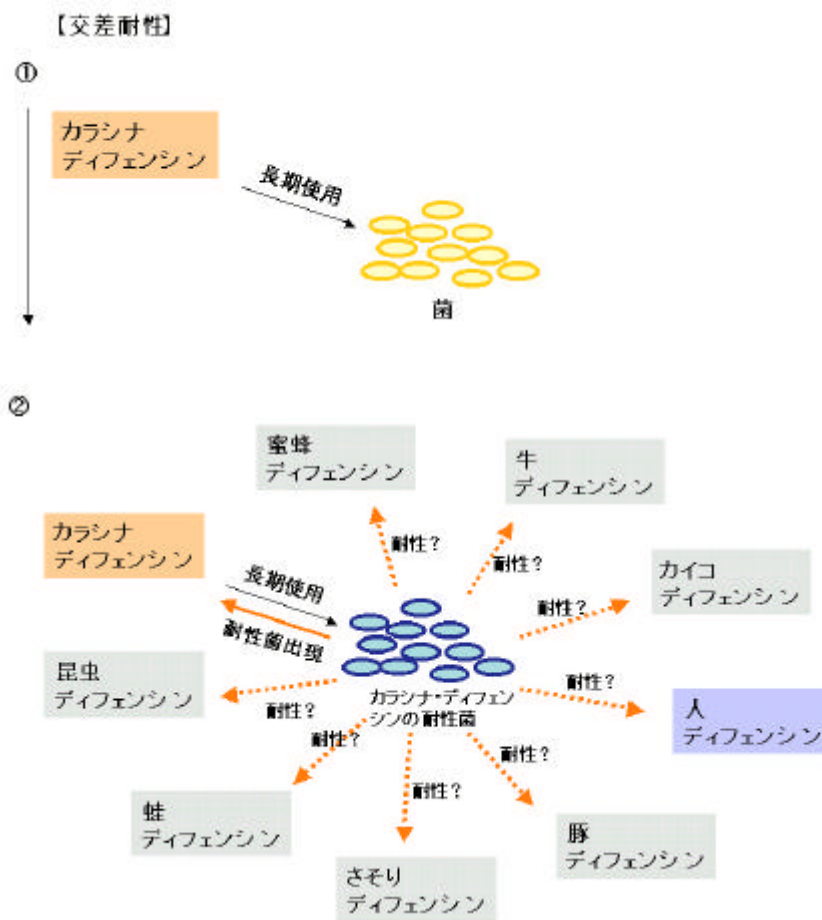
大型動植物ならばその飛散を防ぐ何らかの方法が可能かもしれませんが、このような開放系の野外ではそもそも細菌を隔離しておくことはできません。これは細菌学および微生物生態学の常識であり、そうでないという主張は全く科学性を欠いた陳腐なものです。しかし、被告らの中には細菌学者がいないため、細菌と動植物を同一視してこのように無意味な主張をしている可能性があります。

(6)、発病

カラシナ・ディフェンシン耐性菌に対して、カラシナはカラシナ・ディフェンシンでもって撃退することができず、その結果、カラシナは発病する可能性が大きい。

しかし、発病するのは何もカラシナだけとは限りません。交差耐性を引き起こす場合があるからです。交差耐性とは、下の図のようにカラシナ・ディ

フェンシンに耐性を示す菌が、同時に例えばヒト・ディフェンシンなどに対しても耐性を示すことを言います。ディフェンシンは様々な生物によって作られますが、いずれもプラスに荷電した部位と疎水性の部位を併せ持つ抗菌性ペプチドです。一般に細菌の表面はマイナスに荷電しているため、ディフェンシンのプラスの荷電部位が細菌のマイナスに荷電している表面に吸着することがその抗菌性を示す第一段階と考えられています。そこで、特定のディフェンシンに対し、ある細菌がその表面構造を変え、荷電の状態を変化させることによって耐性を得た場合、多くのディフェンシンに対しても同時に耐性を得る可能性があります。



このように、カラシナ・ディフェンシンに耐性を示す緑膿菌が、同時にヒト・ディフェンシンに対しても耐性を獲得しているならば、ヒトはヒト・ディフェンシンを使ってこの緑膿菌を撃退することができません。その結果、ヒトを発病させる可能性がより大きくなる、とすることができます。問題はこの可能性の程度についての知見が今のところ全くなく、その危険性を科学的に見積もることができない、ということです。例えば、嚢胞性

線維症【Cystic Fibrosis】⁹の患者の多くは最終的に肺をやられ、死亡しますが、そこからディフェンシン耐性の緑膿菌が分離されることが知られます。今のところ、これらの患者のディフェンシンがどのような防御的機能を果たしているかははっきりしません。しかし、もしこれらの緑膿菌がディフェンシン耐性であることが大きな意味を持つとすれば、耐性菌の蔓延と人体への侵入は結果的に嚢胞性線維症と同じような患者を世界中に増やすことに通じる可能性があります。たとえそこまで至らないにせよ、最近しばしば報道されている多剤耐性緑膿菌による院内感染の犠牲者を増やす方向に働くでしょう（別紙2参照）。今のところこれらの問題が必ず起こるといふ明確な実験的根拠はありませんが、逆に、被告がそのような問題はないと結論づける根拠もありません。被告は単に希望的観測に基づいてそのような主張をしている、と指摘できます。そうでないならば、既にそうした実験的事実を提出、あるいは指摘しているはずですが、これまで被告から何も提出・指摘されていないからです。

以上述べた通り、潜在的に大きな問題がある以上、このように科学的データが全く欠落した状況で実験を進めるのは人類にとって、さらに地球上の動植物全てにとって極めて危険です。

5．これまでには緑膿菌を例に具体的な可能性を指摘してきましたが、緑膿菌以外の病原菌についても、それぞれの病原因子、症例などに応じて様々な危険性が考えられます。さらに、複数の病原細菌が抗菌ペプチドに耐性を持ち、感染した場合、その複合的な作用により、これまで見られなかったような症状を引き起こす可能性も否定できません。とくに本実験のように水田中にディフェンシンを多量に溶出させる場合、その危険はとくに高いと考えられます。

なぜならば、表3に示すとおり植物の根圏（根の周辺）には様々な病原菌がいるからです（参考文献：Berg et al. Environmental Microbiology 7:1673-1685 2005）。水田や畑には多種類のヒト病原菌がいると見なすべきで、GMイネの利用もその視点から注意深くなされるべきです。なお、下表中で*印をつけた細菌は、イネの根圏に存在することが報告されており、緑膿菌もその一つです。

表3．植物の根圏に存在するヒトの病原細菌

⁹ 欧米白人種で最もよく知られた遺伝性疾患で、3300人に1人の割合で発症し、25人に1人は保因者がいると考えられている。アメリカでは毎年1000人の病気の子どもが生まれ、約3万人の患者がいる。腸閉塞、発育不良、膵臓機能不全、循環不全など多くの合併症があり、患者の50%以上は肺の障害を発症。肺からは、初期は黄色ブドウ球菌、末期は殆ど緑膿菌。経過は主に肺病変によって決定されるが、通常次第に悪化。生存中央値は31歳。

<i>Acinetobacter baumannii</i>	皮膚常在、時に敗血症、髄膜炎などの起因菌
アシネトバクター バウマニー	
<i>Acinetobacter xylosoxidans</i>	肺炎、敗血症
アシネトバクター キシロソキシダンス	
<i>Aeromonas salmonicida</i>	
エロモナス サルモニシダ	
<i>Aeromonas veronii</i> *	
エロモナス ベロニ	
<i>Alcaligenes faecalis</i>	
アルカリジェネス フェカリス	
<i>Alcaligenes xylosoxidans</i> *	
アルカリジェネス キシロソキシダンス	
<i>Bacillus cereus</i>	菌血症、敗血症、心内膜炎、髄膜炎、気管支肺炎
バチルス セレウス	類鼻疽、
<i>Burkholderia cepacia</i>	
バークホルデルリア セパシア	
<i>Cytophaga jonsonae</i>	
サイトファーガ ジョンソネ	
<i>Enterobacter cloacae</i> *	
エンテロバクター クロアセ	
<i>Enterobacter intermedium</i>	
エンテロバクター インテルミディス	
<i>Flavobacterium johnsonae</i>	
フラボバクテリウムジョンソネ	
<i>Ocrobactrum anthropi</i> *	
オクロバクテリウム アンソロピ	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> *	緑膿菌
シュードモナスエルギノサ	
<i>Pseudomonas syringe</i>	
シュードモナスシリンジ	
<i>Proteus vulgaris</i>	
プロテウス ブルガリス	
<i>Salmonella typhimurium</i>	サルモネラ
サルモネラ タイフィムリウム	
<i>Serratia grimesii</i>	
セラチア グリメシー	
<i>Serratia marcescens</i> *	セラチア
セラチア マルセセンス	
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	
スフィンゴモナス ポーシモビリス	
<i>Staphylococcus aureus</i>	黄色ブドウ球菌
スタフィロコッカス アウレウス	
<i>Staphylococcus epidermis</i>	メチシリン耐性表皮ブドウ球菌
スタフィロコッカス エピデルミス	
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	
ステノトロフォモナス マルトフィラ	

第5、まとめ

1．上記のとおり、植物の根圏には多くの病原菌が生息しており、水田あるいはその周辺の土壌環境中にヒトへの脅威となる可能性のある病原菌は十分に生残し、増殖します。

ここでは8頁に紹介した、2002年の論文で「耐性菌は出にくい」と述べたZasloffも共同研究者であるPerronら(2005)の実験結果をもとに考えてみます。高濃度のディフェンシンが生産されている場では、細菌は死滅するかもしれませんが。しかしその周辺部にはより低濃度のディフェンシンが流出している場が必ず存在します。そこには耐性遺伝子を発現させ、生き延びた耐性株が出てきます。また、これが長時間続くと、恒常的に耐性遺伝子を発現し続ける変異株が出てきます。感受性のある菌が死滅した中で、これらの耐性をもった細菌は選択的に増加を続けます。

この問題は、カラシナ・ディフェンシン組換えイネを栽培する水田中のみならず、同イネ植物体上においても言えることです。しかも、カラシナ・ディフェンシン組換えイネによって選択的に増殖した耐性菌を人為的に殺滅することは今の細菌学の技術では不可能です。また、細菌学の常識からすれば、耐性菌が圃場内に留まり、外に出ないと考えることも不可能です。耐性菌は水を通じて、あるいは圃場に足を踏み入れた人の靴や衣服や体を通じて、あるいは昆虫を通じて、さらには埃を通じて容易に周辺あるいは日本全国、やがては世界中に散らばることが予測されます。

2．細菌学の歴史は、地球上のどこか一箇所である時に生じた変異株が比較的短時間に世界中に広がることを示しています。例えば腸管出血性大腸菌O-157の最初の発症報告は1982年、米国におけるものです。ところが、それから僅か8年後の1990年には埼玉の幼稚園で、さらに6年後の1996年には堺市で大規模な食中毒事件を起こしています。既にこの菌は日本全国および世界に広く定着していると見なされますし、この菌を地球上から消滅させることは不可能です。被告は、「本件圃場の外部にディフェンシン耐性菌が流出することはあり得ない。」と主張していますが、これは上述のとおり細菌学および微生物生態学からは非常識といわざるをえないものです。

3．そもそも、被告がこれまで行ってきた一連の実験では、細菌学的な検討が何も行われていません。例えば実験系における細菌数および群集組成の推移のデータ、個々の細菌を分離し、その耐性能の有無を定量化し、比較したデータなどは極めて基本的なことでありながら、そうしたデータを取るよう努力した形跡が窺えません。耐性菌出現の問題は細菌学および微生物生態に関する専門家の関与なしには解決がつかない問題ですが、被告の主張の大部分が、これら細菌学的な観点から遊離しており、細菌学者であれば危険と感じる事柄への意識が欠けているように思えてなりません。

以上

2006年 7月 10日

新潟地方裁判所高田支部 殿