

## 私の歩んだ研究の道とそこからの教訓⑬

## まがりくねった道

喜多村 勇\*

## I. 青春時代の迷走

第6高等学校理科乙類(医系コース)に入学したその日に校長室に向き、文科への転科を願い出た。「文科は一生かけて学ぶこと、理科は在学中の tool を用いて頭の訓練をするところ。今そのチャンスを逃したら生涯に悔いを残すが、覚悟はよいか」の一言で踏み止まった。卓越した教育者、黒正巖校長のお蔭で、19歳の最初の躓きは乗り越えた。

昭和20年6月29日深夜、岡山大空襲にあい、母と中学生の弟は焼夷弾の直撃で焼死した。勤労動員の過労と栄養失調で脚気傷心状態のため床についていた私も、重度火傷を負いながら辛うじて生き延びた。精神的ショックでその夏は登校拒否に陥り、旭川河原で終日を過ごした。そして留年となった。それは卒業の際、詩集“明滅する光”となった。跋文を書ってくれた秀才の上代淑人君は、平成23年この世を去った。いま振り返ってみると、青春の誰にでもある苦悩が、たまたま亡き母の遺品を質屋にもち込み、その和服と帯が化けて詩集になっただけのことであった。ただ“明滅する”とは、当時の私そのものを的確に表していたと思う。

青春時代の迷走は医師になってから、あるいは研究生生活でも尾を引いていくことになった。

## II. ギランバレー症候群、ウイルス分離の苦闘

昭和28年以降、瀬戸内海沿岸地帯から続々と入院が続いたので、ギランバレー症候群の今回の流行は単一病原体による疾患であるという仮説の

証明が、恩師 浜本英次先生の宿題報告であった。昭和29年入局と同時に、患者のリコール、便からのウイルス分離が始まった。Suckling mouse (s. m.) と組織培養 (t. c.) の両方が用いられた。ローラードラムを孵卵器内に設置しての日曜・祭日なしの毎日であった。医局長から「高い研究費を使って分離が陰性とはなさない」と催促されたが、単一病原体は分離できなかった。ただ日本では、未分離のCox-A10とECHOウイルス(吉本辰雄)が分離された。マウス小屋で突然頭から背中にかけて強い痒みが走った。「南京虫ですよ。天井から落ちてきます」と、虫体をみせられてからは小屋に入るのを躊躇するようになった。

HeLa細胞が国立予防衛生研究所を通じて入手できたのはこの頃で、北岡正見、多ヶ谷勇、甲野礼作先生たちのお蔭であった。

## III. 愛媛県・友情のめばえ

愛媛県周桑郡一帯に髄膜炎が流行しているとのことで、便とリコール、採血をして回っていると、「東京・大阪からも検査班が来ていますよ」という住民の声。東京は平山宗宏先生、大阪は川上勝朗先生のグループであることがわかり、直ちに話し合いがもたれた。能率よく調査を行うため、各グループの集めた検体を3等分して交換し合うというものであった。s. m., t. c. 両方を用いた結果はCOX B-5を分離、抗体上昇も確認して「昭和35年5~7月にかけて下肢の弛緩性麻痺2名を含む76名の漿液性髄膜炎」と断定した(小児科, 1961)。

このときの話し合いあるいは協同研究が平山・

\* 高知医科大学名誉教授

川上両先生との友情の芽になったように思われる。現在では各地の衛生研究所が分離同定を手広く実施されているが、当時は京都大学ウイルス研の甲野礼作先生から分与いただいた COX B-5 抗血清を得て、やっと同定できたというのが実情であった。千葉衛研の芦原義守先生たちのご努力が、衛研の守備範囲の拡大を後押ししたのであった。

#### IV. 組織培養学会の記

岡山大学耳鼻科の高原滋夫教授がアカタラセミアを発見されて、患者の皮膚培養を依頼され、試みたところ成功して、管内の培養細胞にオキシフルを加えても泡の出ないことを写真にとり Proc Japan Acad (1961) に発表した。この細胞の line 化をわれわれウイルス研の稲葉眞先生に委ね、後髪をひかれる思いで渡米した。彼は line 化に向けて悪戦苦闘を続けて培養学会に発表した。遂に成功しなかった。当時の培養学会では *in vitro* で継代可能な細胞株を作ることが課題の一つであり、Japan Tissue Culture (JTC) の No. 1 と No. 2 は勝田甫先生のネズミからの細胞であった。

われわれはヒトの羊膜細胞から JTC-3 を樹立した (名生美喜雄)。

ウイルス感受性など、この学会で発表するたびに「ウイルスは他の学会で喋れ」と厳しく抵抗されたが、それほど勝田先生は純粋に組織培養そのものを愛されていた。「培養は妾を囲うくらい、金のかかるものだ」と酒席ではよく拝聴した。JTC の株細胞の成立に関して、細胞内に潜伏する癌ウイルスの関与が疑われ、JTC-3 を動物に接種すると癌を発生させたこと (GANN, 1959) から、培養による細胞の分裂成長、未分化、癌化から癌ウイルスへの興味を抱くようになった。

胎児胸腺細胞に *in vitro* で骨髄性白血病細胞を加えると、前者の cytoplasm のなかに後者が入り込み、自由に走り回り、前者の核を半分に割って動き回る姿 (emperipolesis) と同時に胸腺細胞の増殖が高まったことを発表したことがある。勝田先生からある日電話で、「君のいつやら発表したエンペリポレシスね、あれは英語でどう綴るんだっけ？」と、あれこれ 10 分ばかり話したあと「また学会に顔みせろヨ」との声が、彼との最後の

別れとなった。学会欠席数年間のあとの電話であったが、孤高の淋しげなお声であった。

昭和 35 (1960) 年頃、リンパ肉腫の腹水液を培養したところ、数日後、数十～数百の核をもつ多核巨細胞が出現、癌ウイルスによる syncytia ではないかと思うほどであったが、その現象の面白さに夢中になり、科学的追求の意欲をもたなかったことが悔やまれる。

慢性リウマチ症の患者の関節貯留液をマウス腹腔内に注入すると巨大な腫瘤を生じたことがあり、小倉英郎先生や、ブラジルから留学して来られていた山本美穂子先生たちと、この腫瘍をマウス-マウスあるいは t. c. を経てマウスに腫瘍を作らせることに成功したが、協同研究者には申しわけなかったが、この研究は中断した。病理学者との研究テーマの折り合いがうまくいかなかったからであったが、炎症と腫瘍への興味をわかせる経験であった。

#### V. ポリオの時代

昭和 30 (1955) 年頃、夏になると感染病棟の一角からは独特の泣き声をあげる乳児たちの何名かが入院していた。脊髄性小児麻痺の児たちである。ソークの不活化ワクチンかセビンの生ワクチンかの論争が始まったが、流行阻止には生ワクチンが有効との結論が出て、一斉投与となった。ところが、生ワクチン投与後に 200 万に 1~2 名のワクチン麻痺が出るということが知られた。その頃の日本ウイルス学会では「この未曾有の大流行中のこと、ワクチンによるごく少数の麻痺患者は止むを得ないのではないか」との見解が大勢を占めかけていた際、千葉大学の川喜田愛郎先生が、「ごく少数であろうとも、そのような副作用の出るものは人間のワクチンとはいえません」と一言発言されるや、会場は水を打ったように静まり返った。

生ワクチンから不活化に今、返りつつあるが、ワクチンには効果と副作用のせめぎ合いのなかで、個か社会か、複合か単味か、などなど、解決すべき多くの問題がある。

日本小児科学会のワクチン研究を担ってリードされ続けた平山宗宏先生を筆頭に木村三生夫先生、神谷齊先生たちのご努力には心から敬服する。

ポリオが下火になった頃、恩師浜本教授が「君、ブラックホールとは何か知っていますか?」「ハイ、あらゆる天体を吸い込む強力な引力をもつ天体のことです」「では、その周辺には何がありますか?」「??」「君はそれを調べにそこに行ってみようとする勇気をもっていませんか!？」といわれた。「勇気」の一言で、天体から地球のエコロジーへの興味がわき、「中国四国兵庫地区臨床ウイルス談話会」が始まった。患者発生の報告は各定点の先生方の切手もち、年1回、岡山での総合討論会は、各自の切符・弁当もちであったが、熱気のこもった数時間であった。

現在は行政主導になったが、形式化・マンネリ化は避けられず、ブラックホールの強力が期待される。

## VI. 留学とアデノウイルス発癌

ニューヨークから China Medical Board (CMB) の試験官がやって来た。学部長の決めた順序で試験を受け、最初の受験者がその年に留学することが慣習となっていた。4番目に面接を受けた私は、4年後と腹に決めていたが、面接官に“How do you do?”とあれほど練習していたのに“How are you?”とやってしまった。あわてて相手のいうことが何一つわからぬ状態となった。仕方ないので学会報告した下書きを10数枚勝手に喋ったら、最後に“We will meet again in NY.”といったように終わった。数カ月後、私にその年の留学生通知が届いた。因みに1~3番の受験者は一言も喋らなかったらしい。

CMBは中国からの留学生を選ぶ制度だったが、red Chinaになってからは東洋全体を対象を広げたもので、希望する大学、研究所に研究費を、留学生には滞在費を250ドル/月(後に値上げ)支払うことになっていた。

癌とウイルスの研究を希望していたので、「NYのローズウエルパーク研究所」を願い出たが、「アフリカで最近発見されたリンパ腫がウイルス性であろう、ということで米国のウイルス学者のほとんどはいません。TexasのBaylor大学で、日本人がヒトアデノウイルスの発癌という立派な研究をしていますのでTexasはいかが?」とアドバイス

された。その日本人とは、実は私の同級生の矢部芳郎君で、岡山大学微生物教室からBaylor大学に留学していたので、彼の古いFordを100ドルでゆずってもらうことになったのが1962年のことであった。

アデノウイルスで一躍有名になったボスのTrentin博士の希望で、picornaウイルス33種、パラミキソ7種、reo3種、herpes1種を新生仔ハムスターに接種したが、ECHO17型で17%の腫瘍を認めた。ごく低率に陽性を示したものはECHO12, 22以外で、23, 29, RSV, reo3型のみであった(Proc Soc, 1969)。

この間に、得意とする*in vitro*のアデノウイルス12型によるtransformationに精を出した。

同室にいたカンザス大学出身の女性技士は、バランスもとらずに遠沈器を回し、大音を発すると“noisy”と大靴で踏みつけ「私は500ドル貰っているけど、ドクターは?」と聞かれ答えられなかったこと、器具洗いの黒人の女性に“ピペット60本”と予約していても、勝手に他に用立ててしまったり、と仕事はスムーズにはかどらなかった。

それが一変したのは、留学前から現在までの私の業績をセミナーで1時間にわたって発表したあとでのこと。Noisyの女性もピペットの女性も、実に協力的となり、噂には聞いていた主張する国アメリカ、沈黙は敗北、を身をもって体感した。

アデノウイルスにより*in vitro*でtransformした細胞は、ウマ血清で培養すると管壁から離れてボール状の塊になり浮遊細胞になるが、ウシ血清に戻すと、再び壁に付着して増殖する性質をもつこと、アデノウイルスはtransformした細胞からはrescueできぬことなどが判明した(Proc Soc, 1964)。

この実験中でいまだ忘れがたいのは、ハムスター新生仔の組織を細切して培養5カ月ほど経た頃、顕微鏡下でピクピクと鼓動に似た規則正しく動く細胞のあったことで、あれは心筋細胞であったろうか、毎日の鏡頭が楽しみであった。

この当時の米国ではDNAの二重らせん説でもち切りであったが、アデノウイルスを扱っている身にとってはtransformした細胞からウイルスが出なくなるメカニズムに興味集中していた。そ

こに Rapp らのアデノウイルスと PARA (particle aiding replication of adenovirus) の発表, ウイルス間の transcapsidation の概念, SV40 ウイルスの共存による発癌過程での感染症ウイルスと腫瘍抗原の発現, さらには 2 年前の Rubin によるラウス肉腫ウイルス (RSV) とラウス関連ウイルス (RAV), さらに VSV で発見された DI 粒子 (defective interfering) などが衝撃的な記憶である。これらの内容については, EBV を含めて「腫瘍ウイルス学, 現代小児科学体系 1973, 小児医学」(1968, 1969 など) に詳述した。

帰国後, 下條寛人先生を中心としたアデノウイルスの発癌性に関する研究班で集中的に議論されたが, この頃から日本ウイルス学会は分子生物学を中心とするようになり, 臨床生物学的な研究は下火となり, 私のアデノウイルス発癌の研究は終わった。渡米までは polio, Coxsackie などの分離, 抗体検査による小児臨床ウイルス学に終始してきた身にとって, 癌ウイルス研究の奥と幅の広がりや垣間みせてくれたこの時期は, 楽しい一時代であったように思われる。

## VII. ウイルス対ウイルス

ヒト胎児細胞のアデノウイルス 12 型による transformed cell からアデノウイルスを rescue する目的で, ヒト胎児腎細胞と混合培養し, polio ウイルスを感染させる実験を行っていた際, 当然のことながら強い CPE のため, ほとんどの細胞が脱落したあと, コロニー状に新生細胞が出現して勢いよく増殖, 継代培養を続けたが, この line は常に  $10^{6-7}/\text{ml}$  程度の polio を産生し続けたので, polio の永続感染株となった。この新生細胞増殖開始前に emperipolesis を認めたので, 細胞-細胞の直接情報伝達に意味があるのではないかと思った。

2 種ウイルスの相関関係では, ECHO 11 型の示す *in vitro* の CPE を風疹ウイルスが干渉することはよく知られているが, coxsackie, parainfluenza, 麻疹などのウイルスは, 同じ風疹ウイルスでも, 風疹患者から分離した株と, 風疹罹妊婦の胎児から分離した株に対する干渉あるいは増幅の態度が異なっていたことは興味深かった。

## VIII. *in vitro* の白血球から学んだこと

感染症での液性と細胞性免疫の重要性は広く認識されてはいたが, 実際には深く検討されていなかったもので, リンパ球の培養を始めた。PHA (phytohaemagglutinin) なる, 豆の抽出物で, 赤血球を凝集する性質は古くから知られていたが, これが実はリンパ球を強烈に分裂させることがわかってから利用されるようになったものである。面白いことに, この分裂作用は白血球への凝集力と平衡し, 何回も凝集させた結果, 凝集力を失うと分裂促進力も失わせることがわかっている。「凝集と分裂」に着目して, アデノウイルスの白血球凝集力を検討した。アデノウイルス 1~12 型までテストしたが, 1 型と 5 型は PHA に匹敵するほどの lucoagglutination を示した。このウイルスには型が 42 種以上あるが, 咽頭・アデノイドに常在するタイプで頻度の高いものは 1, 2, および 5 型であることを考えると, アデノイド内のリンパ球分裂増殖にアデノウイルスが寄与しているのではないかと想像したが, 定量的な検討はいまだ行っていない。

麻疹患者のウイルス血症を検出するのは比較的困難とされていたが, 白血球内ウイルスは白血球分裂とともに増幅する可能性が考えられたので, 患者末梢血に PHA を加えて培養細胞に接種したところ, 面白いほど分離率が高まったので驚いた。ところで, PHA を用いないでも末梢血を *in vitro* に導くと, リンパ球の blast (芽球) 化する case は多い。この spontaneous transformation (sp. tr.) を起こす最たるものは, 臍帯血球であった。臍帯血中のリンパ球と, その母の産妊時のリンパ球が PHA に対して同じ反応を示すのか, また妊娠・分娩時の各種の条件がどのように影響するのか, などをみる目的で, 約 50 くらいのペアを検査したことがある。厳冬の深夜の作業であったが, ポリオ時代の酷暑のなか, 倉繁, 脇口, 国富, 平井, 西林, 林君らと HaLa 細胞を一度に 1,000 本近い tube にばらまいていた頃の忍耐力があったればこそその仕事であった。結果は, 臍帯中のリンパ球は PHA を加えなくても, 実によく sp. tr. を起こすことが特徴であったが, 当時は骨髄の代わりに

利用して移植，などとは考えなかった。それよりも，胎児が仮死状態で生まれたり，母への各種薬剤投与あるいは悪阻のあった場合は，臍帯リンパ球の sp. tr. も PHA 反応も不良であったことから，臍帯血利用にも細心の注意が必要であろうと考えた（日本新生児学会誌，1971）。

新生仔動物に腫瘍ウイルスを接種すると腫瘍の発生率が高いことと，臍帯血には sp. tr. が多いこととの間には相関があると考えている。PHA 高反応を示すマウスの系には白血病の自然発生が高いことは知られている。ちなみに sp. tr. を起こしやすい疾患は，白血病，川崎病，RA，ネフローゼ，溶連菌症と麻疹発症 1 カ月後頃（ツ反陰転が回復する頃）であった（医学のあゆみ，1971）。

ヒト末梢リンパ球はストレプトリジン（SLO）に反応して *in vitro* で blast 化する。この反応は 6 歳以下の小児では無～弱反応であるが，それ以上の小児・成人では強い反応を示す。ところが川崎

病児では，6 歳以下でも強い反応を示し，しかも正常小児あるいは成人の血漿中にある SLO 反応抑制因子（ $\gamma$  および  $\beta$  グロブリン）が川崎病児には欠損していた（倉光ら，Acta Med Okayama, 1980）。

麻疹ワクチン接種小児で，抗体上昇度と，白血球のワクチンウイルスに反応する *in vitro* の blast 化を対比したことがある。多くの場合，両者併行して獲得するが，それぞれが無関係な動きをする児もいた（小児科臨床，1970）。

10～20 年後をフォローアップしてみなければ，この液性と細胞性免疫の乖離の意味は解析できまいと，接種児の住所録を大切に保管していたが，いかんせん，加齢による脳の萎縮の隙間から消失してしまった。その代わり，整理していた戸棚から，ひょっこり 1 冊の画集がでてきた。

手にするとずっしり重く，甲野礼作画集と金文字が入っていた（臨床と微生物，2003）。

\* \* \*