



Master's Lectures – 1

私の研究史

慶應義塾大学 名誉教授

さ さ き し ょ う ご
佐々木 正 五
Shogo SASAKI

I. 小林門下の研究テーマ

私がこれまでやってきた研究は、慶應大学医学部の小林六造先生一門の研究の流れの中のひとつを未だに続けているわけで、全体の流れでは小林先生の枠から余り出ていない。そもそも研究というのは、鎖のようにずっと繋がっているもので、何処で出来上がったという事ではなく、またずっと次へつなげていくものである。私が到達したところもまた次に伝わる一つの輪でしかなく、研究というのはいづれを見てもそうである。

小林先生は明治20年(1888)にお生まれになり82歳まで生きておられた。大正2年(1913)京都大学を卒業、大正3年(1914)に北里研究所に入られ、大正13年(1924)から慶應大学の教授になられて、昭和22年(1947)には予防衛生研究所の初代所長に就任された。

小林先生のご研究は「感染論」で、“Host Parasite Relation”つまり宿主と寄生体との関係についての研究を終始おやりになった。感染論は“局所感染”と“全身感染”に分けて追究され、初めのうちは“Bacterial Hunter (細菌の狩人)”とあって、どの病気にどんな菌がいるか、どういう菌がいたらどんな病気になるかという非常に範囲が広い研究をやっておられた。昭和の初め頃、鼠咬症スピロヘーターと胃の中のスピロヘーターが明らかになってきた。胃の中のスピロヘーターとは、今でいうヘリコバクターの事であるので、ヘリコバクターの一番早い発見は日本という事になる。

さて、小林先生はその二つの問題のどちらを選ぶ

か迷われた結果、当時、胃の中のスピロヘーターをバクテリアだと思わなかった事もあって、鼠咬症スピロヘーターを選ばれた。これが研究方向の別れ途となった。大正6年(1917)頃の事である。

鼠咬症というのは体のなかでは猛烈に菌が増えていても、症状としてはネズミの髭が落ちるぐらいしかない。当時は“感染即ち発症”と考えられていたが、この事から小林先生は、体の中で起きる感染と発症とは別の事だと考えるようになった。

胃の中のスピロヘーターの研究も勿論、放置されていた訳ではなく随分細かくやった。培養が難しいが、動物実験までしていたので、そちらの方向に行けば可成りのところまで追究出来たと思うが、そこをやめて感染と発症と言う根本の問題のほうに入っていた。

身近で一番問題になったのは実験チフス症である。数々の実験を纏めてみると、チフス菌が人に感染すると腸チフスを起こすが、チフス菌をマウスに感染させると腸チフスにはならず、大量にチフス菌を与えるとマウスは死ぬが、それは敗血症であってチフス性疾患とは異なる病気である。しかし腸炎菌(*S. enteritidis*)をマウスに注射するとチフス性の病気が起きる事実をつきとめた。つまり、寄生体と宿主の関係は単純ではなく、そこが大きな分かれ道であった。

伝研(当時の伝染病研究所)の先生方はチフス菌をマウスに注射して、それを対象に「チフスワクチン」を作ったが、敗血症には効いても、チフスには効かなかった。それで、小林先生達は実験チフス症とあって、腸チフスにアナログの病気を動物に作り、それを治療する事を考えた。

その研究が更に進み、生菌の方が、死菌よりも有効だという考えにたどり着くのであるが、結局、宿主と寄生体とは非常に特殊な組み合わせで、宿主が代わったり、動物種が異なると、違った疾病が生ずるという事が大切である。このような事から宿主対生きた細菌の相関性の研究がはじまり、その一つとして、やがて腸粘膜面の感染に目が向いてくるのである。

II. 研究の黎明期

その頃、下痢症の研究は嫌気性菌にも及び、小林門下の岩井千之先生は早くからピフィズス菌の検索をおやりになり、昭和10年(1935)の日本細菌学雑誌に、消化不良児の糞便における嫌気性グラム陽性菌と題して論文を発表されている。

昭和13年(1938)頃には、大林静男先生が大腸菌同士の拮抗作用について非常に細かく調べられ、同じく細菌学雑誌に発表している。当時、大腸菌が他の菌をやっつけるという考えは無く、その上、大腸菌のなかにも強いものと弱いものがある事も知られていなかった。それを非常に系統立てて研究されたのが大林先生で、今日のプロバイオティクスの基を開いた。

東京大学農学部の越智勇一先生は、昭和6年(1931)頃釜山の衛生研究所(朝鮮総督府家畜衛生研究所)におられ、昭和23年(1948)に東京大学農学部の教授、後に日本学術会議の議長を務められ麻布獣医学大学学長の職に就かれた方である。彼は小林六造先生の門下となって勉強し、チフス性疾病の生菌免疫の研究をしておられた。それが東京大学名誉教授の光岡知足先生の恩師であり、光岡君の分類学上の偉業も突然のものではなく、この長い流れの中の一つである。

III. 私の研究

終戦になって2カ月後、母校慶応大学の細菌学教室に戻ったが、最初の仕事は、焼け残った校舎から材木を剥がして薪を作り、コッホ釜を加熱する事であった。しかし将来に希望を持っていた。

1. 抗生物質

A. 初期のペニシリン

昭和22年(1947)戦後の日本の混乱と荒廃は筆舌には尽くせぬものがあった。戦時中に日本で進められていた研究で残っていた物に「碧素」と名付けられた抗生物質があり、その基礎的知識の上に、ペニシリンの研究が始まった。最初の頃は大型の角瓶を横に寝かせて、その表面にペニシリウムを発育させ、その培養濾液を外用薬として使用し、毎日病院の外来に届けた。これは外傷の治療にリバノールしか無かった外科の治療に新しい方向を与えた。その後、タンク培養法が普及し、瓶の表面培養は廃れたのも時の流れである。

B. 投与方法の検討

ペニシリンの供給が円滑に成ったころ、その投与方法は通常4時間間隔で注射するのが一般的であったが、可成り煩雑であった。当時、われわれはペニシリンの体内分布や時間的推移、感染菌の動きが判らなかったので、肺炎菌感染マウスについて実験を行った。まず、マウスに肺炎菌を経鼻感染し、その後ペニシリンを投与し、以後、経時的にマウスを殺し、各臓器のペニシリン量を測定し、同時に感染菌の定量培養を行い、その推移を追究した。その結果から判明した事は、肺炎菌はペニシリンに触れると、それから8時間は増殖が止まるという事を知った。そこで患者に投与する時間間隔を8時間にする方法が生まれ、慶応病院で実施し、薬と時間の節約につながった。

また、これらの研究で判った事は、マウスに肺炎球菌を注射して肺炎を起こさせると、それを治すときにペニシリンは効くが、ペニシリン投与の開始時間が遅れ病気が重くなってくるとペニシリンは効かなくなってくる。そこで肺炎菌の免疫血清を併用してやると非常によく効く。つまり宿主の状況を良くしてやるとペニシリンはもっと効くという事は、ペニシリンの作用機作に宿主因子が絡んでいるという事がおぼろげながら判ってきた。

2. 下痢症

A. 大腸菌

昭和25年(1950)頃、世の中に下痢症が流行した。それも酷い下痢で、乳幼児の下痢が無茶苦茶に多かった。この下痢症で沢山の死者を出した日赤裏の乳児院で調べたところ、牛乳が原因である事が判った。授乳のたびに、温めて与えていたが、牛乳を温めただけで殺菌していないため、そこでまず菌が増える、それを滅菌不十分な哺乳瓶に移して置くとそこでまた増える。大腸菌を大発生させて子供に飲ませていたのである。調査の結果、大腸菌が原因であると結論したが反対の意見も多かった。まだ病原大腸菌という知識はなかったのである。

それらとは反対に、大腸菌の力を利用する事も考えた。前述の如く、大林先生は大腸菌の拮抗性を明らかにしておられる。そこで赤痢の治療目的で大腸菌を経口的に飲んでもらった。患者の中から希望者を募り、培養した大腸菌を飲んでもらったところ、明らかに下痢症状が改善された。それを知った他の患者から、菌の服用の希望が出たが、基礎データが不十分であったので、それ以上の事は行われなかったが、これは今日で言う、プロバイオティクスであろう。

B. コレラ

当時、アジアコレラの流行があった。その防疫作業のために都立駒込病院の小張一峰先生らと共にフィリピンのマニラを訪れた。視察では、驚いた事に患者のベッドに穴が開けてあり、下にバケツが置かれていて、患者は寝たまま排便する。確かに便利だが、そのバケツが溢れて水様便が床に流れていて、われわれはその流れを跨いで診療していた。つまり、コレラでは異常なまでに水分を喪失するので、水を補給すればコレラは治るのではないかと考え、随分水の補給方法を検討し成果を収めた。

C. 赤痢

昭和38年(1963)、カニクイザルを使い赤痢症の実験を始めた。しかしカニクイザルに赤痢菌を飲ま

せてもなかなか感染しない。コレラや赤痢は人間では簡単に広がって自然にはうつるけれど、実験するとなかなかうつらないという悩みがあった。

昭和44年(1969)頃、Loop法といって、ウサギの小腸を10cm程の長さに上下を縛り、そこへコレラ菌や赤痢菌を入れる実験をした。こうすると確かに病気になるので、腸の内容物を停滞させておくと感染しやすくなるのを知り、フローラの停留、攪乱が感染性を高める事の証明が出来た。

D. 胆汁酸

また、昭和54年(1979)頃には胆汁酸代謝の研究をした。これは非常に複雑で実験が難しい。胆汁というのは胆のうから排出されて腸に入り、そこに生棲している嫌気性菌(ウェルシュ菌)により分解されてそれがコール酸になり、デオキシコール酸になり、だんだんと分解されそれがまた腸管から吸収されて肝臓に戻る。これを腸管循環といい、重要な生理現象でこれもフローラの重要な働きである事が判った。

近頃は、ウェルシュ菌は悪玉菌だと言われるが、菌の「悪玉」とは何ぞや、「善玉」とは何ぞや。世の中、善人と悪人しか居ないのかというところではないのと同じで、極端な例を除けばそうではない何でもないのが大部分である。あの菌がいい菌だとかあの菌は悪い菌だとか、そう簡単には決められないものである。

E. 免疫

可成り古い時代から糞便抗体(Copro-antibody)と言う概念があり、腸管内の局所免疫と言う方向の考え方があったが、余り進展がなく、また胆汁中にIgGが沢山に分泌される事も判っていたが、それ以上の追究はなかったが、近時次第に幕が明けられつつある。

3. 常在菌叢

腸内での外来菌の増殖を研究するときにも問題になるのが多種多様に常在する細菌群で常在菌叢と呼ばれる。動物相であればファウナであるが、細菌は植物に分類されているのでBacterial floraと呼

ばれる。

さて、腸中のフローラは色々な条件の時に攪乱される。例えば、実験的飢餓 (Starvation) の状態、あるいは X 線の全身照射、Cobalt⁶⁰ の照射や、4 塩化炭素という薬を飲ませてもフローラが攪乱される。抗生物質を与えると感受性菌は消えて耐性があるものが残るのみならず、全般的にフローラが変わる。

これらの方法でフローラを攪乱しておいて菌を飲ませてやると腸内で菌が容易く増える。しかしフローラが安定している間はなかなか増えない。その変化を人の集団で見ようと考え、或る幼児院を調べた。その対称とした人たちは大体同じ様なフローラを持っていたが、ある日突然、その集団のフローラが自然変動し、人により異なる菌相に変化する事が判った。恐らく何か判らないファクターで集団のフローラが大きく揺れ動き、そういうときにたまたま外から菌が入って来ると、大流行を招くという事が推測された。

この考え方を用いて、小林六造先生が以前から研究されていた *S. enteritidis* 感染と抗生物質との関係を系統的に調べた事がある。*S. enteritidis* をマウスに経口感染させたときに予め抗生物質を使って腸の細菌を抑えておくと、投与菌が非常によく成育して病気が起きる事が判ってきた。

4. 無菌生物学

昭和 30 年 (1970) 頃、無菌生物学の世界では、日本の名古屋大学医学部病理学教室の宮川正澄先生、アメリカ Notre Dame 大学の Dr. M. pollard、ヨーロッパでは、英国の M. E. Coats、ドイツの M. Dietrich、ベルギーの H. Eysen 先生らが活躍しておられた。しかし、世界組織になっていなかったのが、昭和 56 年 (1981)、私が会長のときにこれらを世界組織にまとめ、国際無菌生物学会として無菌動物の実験を大いにやるようになった。

A. 無菌マウス

通常の実験動物を用いる動物実験では、フローラがいると具合が悪い事が多い。そこでフローラの居ない動物—即ち無菌動物が欲しくなる。昭和 39 年 (1964) 夏、私は実験動物中央研究所 (実中研) の野

村達次君と“世界の実験動物の状況”を視察に出かけ、ニューヨークに着いたとき、かつて私が留学した折にお世話になったロックフェラー財団の Dr. McCoy 博士を訪ね、私の研究状況を報告し、今後の研究の継続のために、無菌動物の研究費が欲しい旨を申し出た。博士は早速に承諾し、その上に無菌マウス 40 匹の提供まで申し出られた。本当に嬉しかった。後日、このマウスが空輸され実中研で飼育され、その大量生産に成功し、お陰でその後の研究は内容が豊かになり、諸外国の研究に引けをとらぬようになった。更に昭和 48 年 (1973)、これらの研究成果が評価され、デンマークの仲間からヌードマウスを譲り受ける事が出来た。これら実験動物の開発は医学、生物学の発展に大きく寄与した事は言うまでも無い。具体的に飼育の方法を述べておこう。まずは出産期のマウスを滅菌し、無菌の環境で帝王切開し、小さなマウスを取り出す。それに 1 時間ごとに小さな哺乳瓶で乳を飲ませてやると 100 匹やれば 2-3 匹生き残る。その無菌マウスが大きくなったら、今度は無菌のもの同士でかけあわせると無菌マウスが出来る。これは Dr. P. C. Trexler が開発したビニール製の飼育袋—今日でいうビニール・アイソレーターを用いてその中でマウスを育てた。しかし、親の飼育に用いる飼料は無菌ではあるが、死菌は入っている。その他の抗原物質も入っている。従ってその仔マウスには親の産生する抗体は入って来る。この抗体の作用は無菌とは言っても無視出来ない。

それで今度は死菌体やその他の抗原物質を除去した無抗原飼料を作り、その餌で無菌のネズミを飼って親子三代経ったときによく無菌動物と認めた。このマウスは 4 代目までしか繫代出来なかったので実用されなかった。一方、無菌マウスを使い実験をやってみると、どんな菌を飲ませても簡単に腸管内で菌が殖えた。しかし困った事は、通常は腸管の部位、例えば小腸、大腸には夫々特徴的な菌が生棲しているのに、無菌動物では菌がどこにでも棲みついてしまう事であった。この事から体の中で菌が棲み分けているというのは、菌がやっているのではなく宿主がやっている様に思えるが、しかし体の何がやっているかは未解決である。

B. 無菌マウスを用いた拮抗の解析

菌種間の拮抗と排除を検討するために、大腸菌と赤痢菌、大腸菌とコレラ菌…と色々組み合わせて感染実験を行った。大腸菌と赤痢菌を同時に与えると大腸菌は残り、赤痢菌が排除されるが、大腸菌とコレラ菌を同時に与えると、排除はされず、コレラ菌と大腸菌はずっと一緒にいる。そこへ更に腸球菌 (Enterococcus) を入れると、今度はコレラ菌が排除され、大腸菌と Enterococcus が共存する。つまり拮抗や排除は単独菌の話ではなく複数菌の組み合わせが無いと起きない場合がある。菌の集まりである腸のフローラではそのどれが何をやっているか判らず、本来それを一つ一つ調べるべきなのだがその研究は余りにも複雑で、手がかり、それ以上の解析は行われていないが、複雑系微生物学の幕明けとなった意味は大きい。

C. 連続流動培養法の開発

通常の試験管内の培養では、栄養素は時間と共に減少し、代謝産物は蓄積されてゆく。この欠点を補う目的から連続流動培養 (Continuous flow culture) が案出された。わが国では同僚の小澤敦教授が詳しい。その方法は一定の培養液を詰めたガラス管に、上から栄養素を追加し、代謝産物は下方に出し、極力その条件を一定に保ちながら培養を続ける事に因り、より *in vivo* の実験条件に近づける事を考えた。これは確かに *in vitro* と *in vivo* の中間的な性格を持っていて、宿主因子の影響を除き、生化学的検討を可能にしたが、宿主因子が除去されている事により決定的な成果は得難い難点があった。

5. 寄生体側の要因

このような事から、宿主面からの力で、感染する菌が変わっているのではないかと考え始めた。バクテリアの変異のなかには、L-form (L型菌) といって、バクテリアがウイルスのように小さくなって濾過性になり、それがあある条件になると元の細菌の姿に戻る事がある。私達はたとえば赤痢菌などの病原性菌が突然 L-form に変異をして体の中に入り、元の姿に戻って感染するのではないかと考え、研究の重要性を感じた。私のアメリカ留学は L-form の研究を

目的とし、A.E.Morton に PPLO (Pleuro-pneumonia-like Organism : 現在の Mycoplasma) の研究を学び PPLO の研究に発展した。その知識を *in vitro* で追究したが、不成功であり、更にフィリピンでの野外実験で患者からのコレラ菌の L-form を分離しようとしたが、成果は得られなかった。

6. Virus と細菌の相関

同僚の橋本一男教授の指導した志水恵子氏 (旧梅原) の報告によれば、マウスにアデノウイルス、或いは肺炎桿菌を夫々単独に感染させてもマウスは死なないが、両者を一緒に注射すると死亡するマウスが多くなる事実がある。つまりウイルスと細菌とがなにかで相関をしている事までは判っているのだが、それ以上の詳細な関係がまだまだ調べられていない。

7. 無菌病棟

かつてドイツの Dr.Dietrich が無菌環境で抗体産生能力の欠除した人の子供を育てた事がある。私も無菌動物の知識を臨床面に応用出来ないかと思ひ、世界屈指の大きさの無菌病棟を作りそこで無菌治療を行っていたが、人の腸管内の無菌化は非常に難しく、手間や費用がかかりすぎるため、次第に本来の研究の目的とは離れ骨髄移植等の際に使うようになった。

8. プロバイオティクス

この頃流行のプロバイオティクスは、フローラ構成菌の A なら A、B なら B が欠けているときにそれを補充してやれば元へ戻るだろうという発想—つまり乱れたフローラを修復しようという考えである。この方向はよいのだが、残念ながら人間の便を顕微鏡で見れば判る通り、そこには沢山の菌があり、その中で培養できるものがごくわずかである事を考えると、欠けた種類の菌だけの補充では限界があると感じる。

VNC (Viable but not culturable : 生きてはいるけど培養できない菌) の研究が始まっており、これがコレラの流行と絡んでいるともいわれている。この分野はまだ開発途上であり、逐次進んでいるが、未だ

将来の問題として残されている。

9. 遺伝子追究の限界

遺伝子の研究がだいぶ進んできているが、遺伝子が判ったら、皆判るのかということそうではない。遺伝子はいくらやっても地図が書けただけであり、そこにどんな家があるか、誰が居るのか何をしているのかさっぱり判らない。遺伝子をパチンコの玉に例えるのも申し訳ないが、いま玉がやっと判ったところであり、大切なのは、それを上から転がしたときにコロコロとあっちにいたり、こっちにいたりする流れる道の研究つまり、エピジェネティクスが判ってこないと遺伝子を調べても、成果に限りが出て来る。

10. 野外研究の重要性

自然に菌を持っている動物と無菌動物とを同じ箱に飼っておくとすぐに感染する。ところが人工的に菌を飲ませてもなかなか感染しない。実験感染というのは、われわれが行ったサルの実験でもなかなか感染が成立しないものであったのを見れば、自然感染というのは、ただ単に菌が居たからうつるという事ではないようである。

しかし計画していない事件から、意外な知識を得た事がある。某ホテルに赤痢事件というのがあった。これは東京オリンピックの前の年、赤痢で従業員の1000人近くの患者が出てホテルをクローズせざるを得なくなった。しかしホテル側は、クローズはしたが何日になったら再開出来るか教えて欲しいという問い合わせがあった。

1回目の流行には数百人の患者が出た。2カ月か3カ月くらい経った時に第2回目の流行が起きた。調査の結果、受水槽と汚水槽が近接し、配管の乱れもあって、水系の感染と判明し大改造が行われ、騒ぎは治った。落ち着いて調べてみたら、2回目の流行の患者に1回目の患者は一人も居なかった。この事から、僕らは赤痢には免疫がある事を学び、ワクチンの製作に希望を持った。

11. 将来への期待

A. 脳腸相関

このような事から赤痢に免疫がある事がわかったが、まだまだ判らない事だらけである。判らない事だらけのなかで、今言われているのは腸と脳との相関である。この問題も近年、新しい領域として注目されてきたので、いつの日か答えが出る事であろう。

B. Opioid 産生菌

現在、オピオイド(オピウム(阿片))という薬が麻酔薬の主流となっている。私の調査中にそのオピオイドを作る細菌が腸内にいた。僕らはそれに大きな期待をもったが、残念ながら研究室を離れ、大学の運営に時間をとられている間に菌株を死なせてしまった。腸のなかにこういう菌が入ると、オピオイドを産生し、腸管の易感染性を高め、感染の元になるのではないかという手掛かりになったのだが、これもそのあとの研究が期待される。

C. Quorum sensing

クオラムセンシング(Quorum sensing)は細菌同士が話をするという考えである。クオラムというのは、会議の成立に必要な定数の事を言うが、バクテリアは自分で増えていって、ある病原性を発揮するのに必要な数になったときに一齐に働き始めるという性質がある事が明らかになってきた。

いまは緑膿菌などがはっきり判ってきている。腸のなかにクオラムセンシングという現象が生まれ、何か特定の菌が増えようという環境が出来てくると感染が起きる。しかしそれはどうして起きるかまだ判らない。そういう事が研究の将来像に沢山残されている。

12. 新しい微生物学

僕らがやってきた細菌学はもう古く、言はば古典細菌学である。学問の進展が時代と共に進み、ロベルト・コッホがばい菌を見つけ、培養可能菌の時代を過ぎ、嫌気性菌の解明の時代を過ごしてきた。次の時代には、複雑系の微生物学が生まれ来る必要が

あり、さもないと微生物学に新しい芽は出てこない。

感染が起こり、体はそれに反応してXという反応をする。Xという環境が出来るとその菌はアンチXの反応をする。そしてYを作っていくようになる。すると体はまたアンチYという環境を作るようになる。すると細菌はまたZを作るようになる…そういうやりとりが体中で起きている状況を“正反合”と言い、それを単一の事で理解するのはなかなか難しい事であろう。

「感染とは何ぞや」。大量菌を投与するテクニックも間違いではない。しかし本当に問題なのは、もっと少量菌で起きるデリケートな変化を細かく見る事がますます必要で、金槌でコップを殴って壊し、“やれ病原菌”だと言っている時代はもう過ぎたのである。

「流水 月をうつさず」流れている水にはお月さんはうつらないものだ。