

第49回総会特別講演

結核病学の未来

2. 化学の立場から

山村 雄 一

大阪大学第3内科

受付 昭和49年7月9日

The 49th Annual Meeting Symposium
PROSPECT OF TUBERCULOSIS RESEARCH

—In Reference to Chemistry—

Yuichi YAMAMURA*

(Received for publication July 9, 1974)

Several important problems in biochemical and immunochemical standpoint of view were reviewed.

It was emphasized that Mycobacterium and related micro-organisms will become one of the most important materials for the study of immunological problems, such as adjuvanticity, stimulation of T-cell activity, delayed type hypersensitivity and tumor immunotherapy in the future.

Researchers in tuberculosis should have their interests not only for the disease due to tubercle bacilli but also for broad field of immunology.

結核病学には結核病という研究のプロジェクトはあるが、解剖学や生化学に比較すべき方法論はない。結核病という多彩な症状を呈する感染症を、あるいは細菌学的、あるいは生化学的、免疫学的方法を用いて探究する学問が結核病学である。

したがって学会の量的な盛衰は、プロジェクトとなる結核病という伝染病のまん延の程度によつて規定されることが多い。実際に戦後の約10年間の結核病学会はおびただしい数の会員で溢れていた。有効な抗生物質や化学療法剤のなかつた時代のことである。逆に結核の治療法が確立するとともに、そして国民の結核症に対する関心—恐怖心をまじえた—が薄れるとともに、学会員として活躍する人達の数も減少してきた。

学問を支え、これを推進するものは、学会でもなければ、設備でもないことはいうまでもない。その主役は優れた研究者とその集団である。学会を構成する人の数量ではなく、その質の高さである。この観点からみると、

現在の結核病学は隆盛を誇つた大学の当時にひき比べて決して劣つていとは思われぬ。数は少なくとも、結核病の研究者はベテラン、もしくはプロと呼んでいい程度に達したものが多く、質的な面から眺めると、むしろ国際的に評価される研究の数は増加してきているとさえいえる。むしろ問題はその後継者であり、研究を支える研究費をいかに獲得するかということである。残念なことに、後の2者は世の動きに敏感であつて、しばしば学会の会員数と比例して動揺するからである。

このような結核病学の歴史のなかで、私は化学—生化学や免疫化学—の立場から結核病学の将来について論じてみたい。

およそ将来を論ずるためには、過去から現在までの歴史的な過程、さらに現状に対する分析と批判を基にしなければならない。そこでまず結核病学において化学の果たした役割について考えてみよう。

結核病に関する生化学的研究は一般の生化学の進歩に

* From the Department of Internal Medicine, Osaka University, School of Medicine, Osaka 530 Japan.

相伴つて、とくに最近の20年間ばかりに急速に進歩した。その研究の内容は患者や宿主となる動物の病態生化学的研究もあるが、主な研究は感染源となる結核菌に集中している。

菌の生化学的研究は静的 (static) な菌体構成成分に関する研究と、動的 (dynamic) な菌の物質代謝や酵素系に関する研究とに大別される。まず後者について述べる。

1. 菌の代謝

戦後の生化学が酵素化学に裏打ちされたいわゆる動的生化学 (dynamic biochemistry) によつて多くの研究者の関心をひいたことは記憶に新しい。そしてその研究の方法は、微生物を材料として急速に進歩した。したがつて微生物の1つとして結核菌に対しても応用された。その結果、どのような成果が得られたことであろうか。以下、種々の立場から結核菌を含むミコバクテリアの代謝について考えてみる。

(1) ミコバクテリアを材料としなければ明らかにならなかつた微生物の代謝が存在するか。このことは逆にいうと、ミコバクテリア独特の代謝がどれだけ明らかにされたか、ということである。

これまでの研究では、ミコバクテリア独特の代謝は証明されていない。しいて独自性の高いものをあげると、乳酸を酸化的に脱炭酸する一種の酸素添加酵素の単離と結晶化、炭化水素の酸化や脂肪酸の ω 酸化を行う酵素、superoxide dismutaseなどがあげられ、またミコール酸のような α -アルキル- β -ヒドロキシ超高級脂肪酸の合成にあずかる酵素系などであろう。

(2) ミコバクテリアの代謝の研究が、ミコバクテリアとその類縁菌の分類に役立つことがある。たとえば、今野らによる結核菌の分類におけるナイアシンテストである。

(3) 結核菌の特異な代謝をとらえ、この代謝を特異的に阻害する物質を探すことによつて、結核の治療剤を発見しようという努力が行われたことがある。これまで発見されている数多くの微生物に対する抗生物質や化学療法剤は、多大な努力を積み重ねたスクリーニングによつてなかば偶発的に見出されているものが多いのであるが、結核菌の化学療法剤であるパラミノサリチル酸 (パス) は興味深い実験を基として見出された。

スウェーデンのGöteborg 大学病院の中央研究室のレーマン教授はまず結核菌の行う代謝のなかで、安息香酸やサリチル酸によつて呼吸が促進されるという報告に注目した。そこでこれらの化合物を、一種の antimetabolite を探すような着想で探し出そうとした。

しかし、それは第2次世界大戦のあと、あまり日を経っていないときで、スウェーデンといえども研究資料の欠

乏に悩んでおり、ワールブルグ検圧計もこわれて用をなさなかつた。そこでやむなく、いきなり種々の安息香酸やサリチル酸誘導体について結核菌の培養実験を行つて増殖阻止能力の有無をしらべ、その第1回目の実験でパスを見出したというのである。

このことは、私が1956年、彼の研究室を訪れたとき直接彼から聞いた話である。安息香酸やサリチル酸の菌の呼吸促進は結核菌に限られたものではなく、また、その後彼が修理されたワールブルグ検圧計によつてパスの菌に対する呼吸抑制をしらべたところ、全く抑制作用が認められなかつた。しかしとにかくパスは発見されたのである。

結核菌の化学療法剤や抗生物質に対する耐性のメカニズムも代謝の面から詳しく研究されており、最近 *M. smegmatis* を用いて興味深い成績が得られている (山田ら)。もちろん、これらの薬剤がどのような機作によつて作用を発揮するかという問題についても、代謝の面から研究が進められてきている。それなりに興味深い成績が得られているが、それらの成績をもとに、菌の耐性化をどのようにして防ぐか、メカニズムを基に新しい治療剤を発見できるか。というような応用問題は今後の重要な問題である。

2. 菌体成分

ミコバクテリアとその類縁の微生物を構成する化学的成分を単離し、その生物活性をしらべ結核症の病態を明らかにするという研究は古い歴史をもっている。

結核結節、とくに結核症の肉芽性炎症の起炎性物質については1920年代にSabinらの燐脂質やフチオン酸に関する研究があり、その後ミコール酸やその誘導体に関する研究がある。

しかし、BlochやNollらによつて行われた、毒性物質コード・ファクターの分離とその構造がtrehalose-6, 6'-dimycolateであることが決定されたことは画期的なことであつた。このような低分子の糖脂質で、構造が定められ、しかも菌体内に存在している毒性物質が見出されたことはまことにまれなケースではないだろう。

しかし、なんといつても結核菌菌体成分の研究のうちで最も詳しく研究され、将来にも大きく問題を提起しているのは、免疫学的な活性と関連する分野である。すなわち菌体成分に関する免疫化学的研究である。

菌体成分には大きく分けて、結核症における体液性抗体と細胞性抗体とに対応する抗原性物質があり、それぞれ結核症の診断や予防を目的として研究が進められている。

結核患者の血清中に出現する体液性抗体には主として菌の多糖体に対するものと、燐脂質に対するものがある。Middlebrook-Dubosの反応や高橋反応の抗原に当

たるものである。

磷脂質の抗原として構造が決定されているものとしては phosphatidyl inositol mannosides がある。抗原抗体反応としては、赤血球凝集反応、溶血反応、補体結合反応などさまざまな反応が使用されており、疾患の軽重、進展、予後の判定などにかつて使われたり、一部は現在も使用されている。

細胞性抗体の検出法としてはマクロファージ遊走阻止試験、細胞のプラスト化、チミジンの取り込み試験、cytotoxicity test など、種々の新しい方法があり、結核菌で感作した動物を材料として数多くの実験が行われているが、肝心の結核症については明快な研究が行われておらず、むしろ皮内反応を中心とするアレルギー反応が広く研究されている。

皮内反応でも体液性抗体が関与する即時型の反応と、細胞性抗体の関与する遅延型のアレルギー反応とがある。モルモットやウサギを使用して加熱死菌で免疫するというような場合には、いずれの抗体も大量に動物につくられ、容易に検出される。このとき、体液性抗体に対して抗原として働くのはアラビノガラクトサンやアラビノマンナンなどの多糖体であり、窒素を検出できないほど高度に精製した多糖体は感作動物の血清抗体と沈降反応や補体結合反応を行い、また皮内に注射すると即時型のアルサス反応を引き起こすが、遅延型アレルギー反応を全く引き起こさない。

これに反し遅延型アレルギーの抗原はツベルクリン反応活性物質として古くから最も注目され数多くの研究が行われてきた。そのパイオニアであり、しかもその研究の方向が正しかつたのは F. Seibert であつた。彼女のツベルクリン蛋白質に関する研究は古く 1920 年代にさかのぼるのであるが、当時の新しい技術である電気泳動法などを使用し、終始一貫蛋白質を抗原として追いつめていた。彼女の結核菌培養液から分離した PPD は化学的には不純な蛋白質であるが、国際的にツベルクリン反応の抗原として広く用いられていることは衆知の事実である。

これまで、どれだけ数多くの人が、ツベルクリン活性蛋白質の研究に情熱をもやし、その一生を捧げ、浮身をやつたことであろう。私達もその 1 人で、結核菌体からツベルクリン活性をもつペプチド (TAP) を分離し、分子量も 4,000 以下というペプチドまで精製してきているが、最終的に精製する段階にまでいたっていない。しかしながら、ツベルクリン反応という遅延型アレルギーの抗原が蛋白質またはペプチドであるという事実は疑いをいれない。また人間の結核症のように生菌の感染によつて引き起こされた疾患では遅延型アレルギーのみが著明に出現し、即時型アレルギーが現れることはほとんどない。たとえば窒素を完全に除いた多糖体の 100 μ g と

いう大量をツベルクリン反応陽性の患者に皮内注射してもほとんど反応を示さないのである。

したがつて、ツベルクリン活性物質に関する大まかな物質的位置づけは蛋白質またはペプチドであるということと終つたと思われるが、残された問題はツベルクリン活性をもつ活性中心ペプチドの単離とそのアミノ酸配列の決定、その合成などである。

しかし実用的には PPD または私共の分離した TAP で大体において十分であろう。培養液または菌からの精製法がきわめて簡単であり、収量も高いからである。ただし PPD は繰り返して注射することによるブーストの危険性はわずかであるが残っている。

結核性空洞の形成の引き金は蛋白質を抗原とする遅延型アレルギーが主役を演ずることは十数年前私共の研究によつて明らかにされた。脱感作によつてツベルクリン反応やマクロファージ遊走阻止試験を陰性化させると、空洞の形成は阻止されるが、このとき蛋白質は脱感作の抗原として役立つが、多糖体にはそのような作用がない。

イムランのような免疫抑制剤によつて細胞性抗体の産生を阻止しても、空洞形成が阻止されるが、動物実験にとどまつている。

空洞は結核症を慢性化させ、結核の感染源の最も主なものである。化学的にも、病理学的にも、臨床的にもその発生の予防と有効な治療法の確立を急ぐべきであり、最近見出されている肺結核症の新鮮例の多くに空洞が証明されていることを考えれば当然のことであろう。

3. 細胞壁をめぐる

結核菌は結核症を引き起こすのみではなく、免疫学的にさまざまな興味深い活性をもっている。ツベルクリン反応に代表される遅延型アレルギーの誘起、その背景に存在する細胞性抗体の産生に対する強い刺激作用、他の微生物にはみられないような強力なアジュバント活性、一見ヒトの rheumatoid arthritis に似たラットのアジュバント関節炎の誘起作用などである。

これらの生物学的作用は結核菌のみならず、ノカルジヤ、コリネバクテリアなどにも存在しているが、ミコバクテリアに最も著明である。その意味でミコバクテリアは免疫学的研究の素材として優れた材料を提供している。

そして面白いことにはこの活性はすべて結核菌の細胞壁に局在していることである。

結核菌の細胞壁およびその主要な構成成分であるロウ D (または精製ロウ) に関する研究はアメリカ合衆国の生化学の草分けの 1 人といわれる Yale 大学の Anderson 教授の研究に始まつて、Stanford 大学の Raffel、パリの天然物化学研究所の Lederer 一門、アメリカ合衆国

国立衛生研究所の Ribi 一門、わが国では阪大産研の三崎、刀根山病院の金網、私共の教室の東らによつて続けられてきた。そして化学的性質や生物活性に関して著しい進歩を示してきている。

ミコバクテリアの細胞壁はミコール酸とアラビノガラクタンとムコペチドの3種の主な構成成分から成っている。このほか蛋白質やTAPのようなペプチド、若干の脂質成分を含んでいるが、主要成分は以上の3つの成分である。その化学的構成の概要はほぼ明らかにされているといつてよい。

菌体から分離された細胞壁は、材料として使用した全菌体よりも、アジュバント活性に関しても、アジュバント関節炎誘起作用に関しても、はるかに強力であり、活性の強さも投与した量に比例するという dose response が成立する。

ここに注目したいのはそのアジュバント活性である。細胞壁のアジュバント活性は血中の抗体産生を促進するのみではなく、細胞性抗体の産生を著しく促進する。そのメカニズムとしてはB細胞に対する抗体産生促進作用のみならず、きわめて強いT細胞の抗体産生促進作用つまり細胞性抗体産生促進作用をもつことが明らかにされている。

細胞壁はその化学構造と生物活性との関係を追求してゆく場合に優れた材料となるが、その生物活性のなかでもT細胞に対する作用は最も興味深い。その理由は、細胞性抗体の産生とその機序という近年の免疫生物学の中心課題と関連しているからである。つまり結核菌の細胞壁や peptide-glycolipid の研究は単に『結核』という1つの医学上のプロジェクトの研究に重要な意義をもつのみではなく、免疫学という基礎医学または生物科学の1つの領域の、中心課題に切り込むための最も適した材料となり、最も大きな手がかりを与えてくれる可能性があるからである。

免疫学は自己 self と非自己 not-self とを認識し、その情報を抗体産生細胞に伝え、抗体がその情報に基づいてつくられるという、生物の基本反応を攻究する学問である。この免疫応答の過程においてT細胞の演ずる役目はきわめて大きく、しかも十分に解明されていない。

B細胞によるグロブリン産生機構の調節、移植における拒絶反応、遅延型アレルギー、さらに癌の免疫にもT細胞による免疫応答が重要な役割を果たすことが知られている。

最近、BCG およびその菌体成分による癌の免疫療法が脚光を浴びている。ヒトの癌—白血病やメラノーマ—に対して効果が認められたこともその原因の1つであるが、その背景となる免疫学が進歩したことも大きく影響を与えている。

これらの例の示すようにミコバクテリアの細胞壁の研究は、結核症の病態や予防の解明に役立つが、他方では結核の問題を離れて広く免疫学の研究とかかわりあいをもつようになってきている。そして次の段階では進歩した免疫学を基に元に戻つて結核症の解明に役立つと思われる。

結核症というプロジェクトの研究→免疫学への一般化→再び結核症の解明というふうに往復運動を繰り返しながら学問は進歩してゆく。また結核症の感染発病をめぐる宿主の役割も重要であり、その意味で宿主の遺伝子の性状をめぐる研究においても同様な往復運動が期待される。

結核を攻究するものが、単に結核というプロジェクトの専門家となることにとどまらず、免疫学、生化学、遺伝学、微生物学などのプロとなることが要請されるのはこの点にある。

アジア、アフリカその他世界の各地における状況を考えると、結核病はまだまきわめて重要な人類の疾患である。わが国の結核研究者の質から考えると、現在では広く世界的に指導的立場にたつという配慮が行われてよいであろう。私達は優れた後継者を育てるために、学問の動向を十分に見きわめ、研究環境を整備し、そのために必要な研究費を確保しなければならない。そのためには研究所と病院とをもつ、国際的規模の国立の結核センターの設立を考えてもよい。

しかし、学問の進展は所詮は研究者というプロの集団に依存していることは最初に強調して述べたところである。結核病学会はこのようなプロを育て、国際的に評価される優れた研究を展開させる場として役立つ必要がある。そのための反省と努力に欠けるところがないといえるだろうか。

このようなプロの集団が少数なりとも残り、結核というプロジェクトと、自らのプロ意識に恥ずることのない方法論とをあわせ持つて研究を進めるならば、結核病学の将来は明るい。はなやかな大学会は不必要で、数少なくとも真摯な優れた研究者の集団こそ必要である。