

招請講演

最近に於けるウイルス学の進歩

東京大学教授

吉 野 亀 三 郎

序 論

過去のウイルス学はどちらかというと予防を主体とし、個々の患者の治療よりも大多数の人の予防ということに迫られていた。それは従来の我々の環境がポリオ・狂犬病・痘瘡・日本脳炎のような致命的ウイルス病の恐怖に包まれていた時代の痕跡であつた。ウイルス学の進歩もこれらの対象に焦点を合わせて来たが、過去の主流は(1) 組織培養法の発達による新ウイルス分離とワクチンによるポリオ・はしかなどの撲滅、(2) インフルエンザとくに汎流行の監視システム、さらに鶏卵ワクチンの改良、とくにそのタンパクだけを使うサブユニットワクチンの開発、(3) 乳のみマウスによる昆虫媒介ウイルス、即ちアルボウイルスの分離とその分類、(4) 種痘用ウイルスや狂犬病ウイルスワクチンの改良が軸を成していた。

ところがワクチン対策その他の原因で狂犬病も日本では20年前に無くなり、ポリオも殆んど根絶され、日本脳炎も減り、痘瘡に到つては東南アジアに残つていたが、1974年にバングラデッシュ・インド・ネパール・パキスタンで21万4千人の患者が出たのに翌年の1975年以来少くともインドでは発生数ゼロになつた。こうなるとマスを対象にしての予防というよりも個々の患者の治療という方が浮び上ってくる。

新しいウイルス学の動向

現在のウイルス学は、(1) 新しいウイルス病の発見を心掛けており、コクサッキーウイルス A16型や腸内ウイルス71その他で起きる手足口病、1969年にガーナで発生しその後世界中に広がった急性出血性結膜炎 AHC、また小児の下痢症などのウイルス病が発見されている。AHC は第4のポリオと言われるように足の麻痺を起こしたが、日本では麻痺型は稀である。そのウイルスは日本で甲野が分離し、腸内ウイルス70と名付けられた。

これらのものは往年のポリオや狂犬病や痘瘡に比べると病気としての恐ろしさは無く、放置しても1週間位で

自然治癒する点では水痘・ヘルペス・かぜなどのウイルス病と同じで、伝染病として迫力に欠けるといえる。

(2) このうち小児下痢症はB型胃腸炎ウイルスとも言われ、レオウイルス群のロタウイルスで起こされるが、肝炎ウイルスやいぼ wart のウイルス同様、今だに培養不可能である。昔は培養できなければ一歩も前進しなかつたが、現在は精製法の進歩でそのようなものも充分研究できる。昔のウイルス精製はマウス脳や組織培養液などの粗材料を分別遠心・吸着遊離・等電点沈降・アルコールやポリエチレングリコールやブロタンによる沈澱・フルオロカーボン処理などで不純物のある程度減らすことであつたが、今一番よく使われるのは CsCl 密度勾配遠心である。即ち CsCl の適当濃度液を40時間程超遠心すると遠心管の上から下へ僅かずつ密度のずれが出来、のせた試料中のウイルスがそれに相当する密度の所に集まつてバンドを作る。これで分離したものは殆んど狭雑物を含まない。ロタウイルスも小児の糞便材料から直接この方法で精製濃縮しうる。CsCl 以外に KBr その他いろいろのものが使われるが、ウイルスによつては CsCl で不活化されるために困るものもあり、ヘルペスウイルスはその例だが、最近試料を上に乗せないで下に置いて行くと不活化しないことが判つた。

この方法は超遠心器を物を沈めるためにでなくて、物を浮ばせるために使うようになったということで、肝炎ウイルスも人の血清からこの方法で濃縮して集められ、従つてその免疫血清も作りうる。即ち培養によらないウイルス学の研究が可能になつて来たというわけである。このようにして得たウイルスの同定は又、抗血清で凝集するかどうかを電子顕微鏡で見る所謂免疫電顕法で調べられる。又培養によらないウイルスの1つの成果として肝炎Bのe抗原の発見がある。肝炎Bには surface 抗原 S と core 抗原 C のほか正体不明の e があり、この e 抗原があると輸血事故も多く、逆にそれに対する抗体のある血清では殆ど輸血事故がないという重大な発見である。

致命的なウイルス疾患が減つて来た一方では、従来あまり重要でないと考えられていたウイルスがかなり重要な疾患を起こすことが次第に明らかになった例もある。ヘルペスウイルスはその例である。これはとくに婦人科に関係が深い。その主因は昔は大部分の人がこのウイルスに対する抗体を持っていたのに次第に無抗体者が増えて来たため、成人の初感染例が多くなつて来たためである。ヘルペス脳炎も昔は稀な疾患であつたが現在では無菌性脳炎の10%がそれである。そのほか、ヘルペス瘰癧・顔面神経痛などいろいろあるが、とくに2型ヘルペスウイルスの陰部感染症が増加の一途を辿っている。これが新生児の産道感染から致命的の全身感染に到る率は、全部の分娩の7,000分の1と推定されている。(3) ウイルス学の流れが予防から治療へと方向転換せざるを得なくなると、どうしても化学療法剤の開発が必要になつてくる。しかし今までに作られた化学療法剤はどれも不完全で、細菌に対するペニシリンのようにはいかない。それはウイルスの増殖が宿主細胞に依存することで、どうしても細胞に全く障害のない抗ウイルス剤というものがあり得ないからである。ただ、この中で核酸の部品であるヌクレオチドに拮抗するようなヌクレオシド誘導体はいくつかあるが、そのあるものは選択的にウイルス核酸の方に余計入るものがある。Ara-Aはその例で *in vitro* 合成系では宿主細胞の核酸に入るより約10倍ウイルスの方に入る。その効果はヘルペス脳炎の場合の内科的使用例で著効を示したという報告が昨年新聞記事にもなつたが、造血臓器に対する副作用もあり、まだ絶対に良いとは言ひ切れない。ただこれらの薬は眼や皮膚の病巣に外用薬として使うときにはある程度の効果が期待できる。

外陰部のヘルペス症の際に中性紅その他のアクリジン系色素を塗つてそこに可視光線を照射する所の、いわゆる光学的不活化療法というものがある。2～3年前に流行したが、このウイルスには後で述べるようにハムスターの細胞を発癌させるトランスフォーミング遺伝子があり、中性紅処理でもその遺伝子が残りうるというので強い反対が有つた。事実陰茎のヘルペスに中性紅療法を行なつた後、その部に発癌を見た症例もある。これに対しプソラーレンで処理して紫外線を照射すると核酸は細々に切れるのでその心配はないという。この薬はウイルスタンパク構造には、影響がないことから、この方法で安全な不活化ワクチンを作ろうという試みも行なわれている。しかしながら一般論として、まだウイルスの薬がないとなると、頼りにしたいのはインターフェロン (IF)

である。IF は2つの型が知られている。その1型は培養細胞や動物にウイルスを接種したときなどに生ずるもので、2型の方は免疫で感作された白血球に抗原が働いて生ずる所のいわゆる免疫インターフェロンである。IF には少数の例外以外は同種の細胞でなくては効かないという制約が有るので、人の場合はヒトの細胞で IF を造らなければ臨床にも応用できない。そこで人の末梢血から白血球をとり、それを適当なもので処理して IF をとる試みが行なわれている。

細胞に IF を作らせる刺激物は必ずしもウイルスではなくてもよい訳で、諸種の細菌・プロトゾア・リケッチア・グラム陰性菌の内毒素・かびの産物などがその刺激物 (inducer) になり得るが、天然あるいは人工の二重鎖 RNA も inducer になり得る。最も良く知られているポリ IC は人工的にイノシン酸とシチジン酸を夫々大腸菌ポリエメラーゼで連ねたものをくつつけて人工二重鎖 RNA にしたものである。このほか経口投与出来るクロロンのような inducer も数種工夫されている。

ただこれらの inducer は何れも毒性が有るのでまだ臨床的に使用されない。新しい無毒な inducer の開発は今後の問題である。ただ、非常に良い inducer が出来たとしても、それを実際に臨床的に応用するには可成りの問題があることが予想される。それはマウスやウサギの静脈内接種でも見られる低応答反応ということで、1回の inducer 接種後数時間で血中に IF が現われ、時間とともに消退するが、反覆して inducer を注射してもそのカーブに変化が無いという現象で、この低応答現象の原因は新に血中に生ずる物質に帰し得ることが最近判つた。

それで inducer でなくて既に作られたヒトの IF を患者に応用しようという試みで、ヒト白血球 IF を作っている学者がいるが、これにもいくつかの難問が有る。その1つは本当に有効な程の IF を作るには夥しい材料と濃縮のための労力があるということ、もう1つは IF の持つ副作用である。IF は一般にウイルスの細胞感染を予防するが、その真のメカニズムはまだ判っていない。ただウイルスのタンパク合成の過程の m-RNA 作製即ち転写かそれからポリペプチドが作られる翻訳のどれかに作用するらしい。多少の根拠をもつて想像すると、IF によつて新に細胞内に生ずるタンパクが、ウイルスのタンパク翻訳に必要な initiation factor の働きを阻害するのではないとも言われる。もしそうなら、本来細胞にとって不利益なタンパク合成に阻害的に働くであろうから、癌にも効くかも知れないという考えから、

癌の IF 療法ということが言われるようになった。事実、ある種の動物癌に IF があるいは適当な inducer が実験的に治療効果を示したという報告がある。ただし、IF にはこのほか一般の細胞増殖を抑制するという効果もある。これがたとえば妊婦に与えられた場合、胎児の発育にどのような影響があるかは判っていないので、血清肝炎の胎児に移行するのを予防する目的で IF を使うというような試みは余程慎重でなくてはならない。

また、そのほか IF はその量によつては動物体の免疫機構を障害することがあり、そのような場合は、動物癌の実験でも逆に発癌を促進するようなことも有り得る。従つて IF の実際上の使用は可成り難しいと言える。

次に現在ウイルス学の追求しているのは分子レベルの解析と防禦機構の解明とくに細胞性免疫との関連、及び慢性疾患としてのウイルス病であるが、ここで見逃せないのは妊娠中の母体のウイルス感染の胎児に及ぼす影響である。風疹の影響については既に周知の事であるが、他のウイルスはどうか、とくにサイトメガロ・ヘルペス・おたふく風邪・インフルエンザ・LCM などはどうかいうことは殆ど判っていない。この点は今後の1つの大きな問題を形成し得ると思われる。

突発的に起り得るウイルス病の流行

以上の話の中で強調した事は、致命的なウイルス病の流行が無くなつて来たという事である。しかし、これは必ずしも恐ろしいウイルス病はもう今後絶対に起らない、という意味ではない。その根拠を幾つか示すと次のようである。

1) 現在日本や英国には狂犬病が無いが、森林を持つ米国・ヨーロッパにはまだ森林動物とくにキツネの間で流行環があり、根絶してはいない。そのキツネの大群が1967年突如として中近東から森林を伝わつてヨーロッパ大陸を横断しスペインに迄達した。その間他の動物にも狂犬病を移し、フランスはじめそれに沿つた国々で大恐慌を来した。同じ頃南米でもコウモリによるウツの狂犬病の増加が次第に南下した。

2) 昆虫媒介ウイルスは蚊やダニで運ばれるので特殊な一定地域にだけ限られる例が多い。しかし、黄熱のように昔からアフリカと中南米にあつたものや、チクングニアウイルスのようにアフリカとタイに互がつて存在するものもあつた。最近ではデング熱が1975年に中米に現われて以来、オーストラリアを除く太平洋沿岸の各地に広がっている。

3) インフルエンザウイルスのA型が10~20年ごとに

大きな抗原変異を起こして世界的に広がるが、この次にどんな変異が出来て、それがどの位強い毒力を持つかは予想できない。

4) 1967年にドイツ・ユーゴスラビアで突如としてアフリカミドリザルを扱つていた人達の間で出血熱性の疾患が起り、31人中7人が死亡した。飛んで1975年に同じウイルスの流行がヨハネスブルグで起つた。恐らくこれと同じものらしいエボラウイルスと呼ばれるウイルスの病気がその翌年アフリカのズダン・ザイルで起つた。これは何れも高い死亡率を示した。

また1969年から数年間リベリヤ・ナイジェリヤでラッサ熱という矢張り出血熱性の病気が流行し40%の死亡率を示したが、これは *Mastomys natalensis* という一種のネズミで媒介される。このウイルスはアレナウイルス群に属し、この群の特徴はウイルスと抗体との複合体が病気を起こす例の多いことと、出血熱性の疾患が多いことである。目下朝鮮にある朝鮮出血熱の病原体もアレナウイルス群らしいが、これも実験室でラットから感染したことが昨年新聞種になつた。

このほか同じアレナウイルス群の LCM ウイルスがペットにしていたハムスターから人に移つて脳炎を起こすケースが増加している。人間の出入国には検疫があるがペットの動物には検疫制度は無いので、何時どんなウイルスが入つて来るか判らない。これらを考え合わせると、もうウイルス病は恐らなくなつたなどと安心はしてられない。

ウイルスの慢性疾患と潜伏感染

1) 先ずはしかウイルスと SSPE の関係であるが、始めに SSPE がはしかウイルスで起きると単純に考えた理由は、病変部細胞をはしかウイルスの抗体を蛍光抗体にして染めると染まつたということであつた。しかるにその抽出液にはウイルスは居らず、ただその細胞をそのまま培養するか、或は感受性細胞と共生培養 co-cultivation すると、はしかと瓜二つのウイルスが出て来る。但し、これが全くはしかと同一物らしくないのは、フェレットやハムスターの脳に接種すると SSPE 同様の所見を呈する。ここに従来の criteria がスミースに通用しない面があり、SSPE ウイルスはイコール、はしかウイルスなのか、一種の変異なのか、或は抗原的に近縁なのかはつきりしない。

(2) 同じように従来の criteria の通用しないものに EB ウイルスがある。これは始めパーキットリンパ腫ウイルスと呼ばれた。それはアフリカのパーキットリ

ンパ腫の患者の白血球浮遊培養中に発見されたからである。しかしその後、バーキットリンパ腫はアフリカ以外にも広く見出され、その中アメリカの患者の白血球から浮遊培養系を作つてみると、このウイルスの抗原はおろか遺伝子さえも持つていない系がいくつか得られた。一方病氣と無関係な人の白血球から得られた浮遊培養系の多くにこのウイルスが出てくる。また Henle は伝染性単核症の際血中に EB ウイルスの抗体が必発的に上昇することを見て、このウイルスこそその病原体であると断定した。正にこれは昔の criteria によれば疑う所のない立派な証拠であると思われた。ところが後鼻腔癌・鼻熱・ライ病でも100% EB 抗体の上昇がある。とくに後鼻腔癌は上皮性であつて EB ウイルスの標的と異なり、又伝染性単核症でも病的な大きな白血球を集めてもそれからは EB ウイルスが出ない。こうなると、EB ウイルスは人に常在する雑菌のウイルスで、リンパ節の腫れるような時に活性化され易いとも考えられる。現在しつようにその病原性に固執しているのは、このウイルスを研究している一群の学者だけという感じもしないではない。

(3) 我々の過去に取扱つたウイルスの多くは急激な変性を起こすものが多かつた関係で、ウイルスとその抗体が複合体となつて二次的にそれが病理作用を及ぼすというような場合は余り考えられなかつた。しかし、いわゆる慢性疾患という場合には、ウイルスの直接細胞破壊作用よりも、むしろ生体内の抗原抗体反応という可能性が考えられるし、又事実血清肝炎の場合に血中に抗原抗体複合物が存する。

(4) ヘルペス群ウイルスが他の群のウイルスと異なり、一生宿主と共生すると同時に、又もし宿主の抵抗力が弱まると再発を起こすことは非常に興味ある事で、これも一種の慢性疾患と言えるかも知れない。その病気を起こさない時のウイルスの居場所は単純ヘルペスウイルスの場合、三叉神経または腰椎後根のガングリオンであることは、動物実験でも人でも、それを *in vitro* に1ヶ月程培養するとウイルスが出てくることで判つた。ただ、それが普段プロウイルスという形で染色体に入つているのか否か、又どういう時にどういうメカニズムで回帰性の疱疹を生ずるのかはまだ不明である。

単純ヘルペスウイルスの2型が陰部に病変を起こし易いことと、とくに陰部に回帰性疱疹を生ずるのは殆んど2型であることから、2型ヘルペスウイルスと子宮頸癌の病因関係が疑われたが、今日迄に出された証拠は何れ

も決定的といえない。それは慢性症に於けるウイルス病因論の criteria の難しさということに帰し得ると思われる。

(5) BK ウイルスの場合も同様で、これは始めに進性多巣性白質脳症の患者の脳からサルの SV40 と全く同様なウイルスが2つ取れて PML ウイルスおよび JC ウイルスと呼んだが、その後腎移植患者の尿からも同様なウイルスがとれて BK ウイルスと名付けられた。このほか多発性硬化症の病原として Koprowski がパラインフルエンザを分離して6/94株と名付けたり、或は又動物実験からの類推である種のウイルスが糖尿病を起すとか、コクサツキウイルスが心筋炎を起こすことからの推論で動脈硬化もコクサツキウイルスが原因であるとか、いろいろな説は有るが、慢性症に於けるウイルス原因論の証明は決して容易でないので、万人を納得させるには方法論からの立直しが必要である。

これがスローウイルスとなると尚更複雑であつて、例えば Kreutzfeld-Jakob 病はチンパンジーの脳内接種でうつせるが発病まで1~3年かかる上、電子顕微鏡でも見えない。おまけに感染脳をホルマリンに漬けて室温に7ヶ月置いてはまだチンパンジーに感染力が有るという。羊のスローウイルス scrapie に到つてはモノクロマチック紫外線による不活化分析では普通のウイルスや細菌に致死的な波長でなくて、リボポリサッカリド・タンパク複合体の吸収と同じ率で不活化するほか、諸種の証拠を組合せると、我々の知つているウイルス、即ち核酸とタンパクで形造られたもの、というのと余程違うのではないかと推定される。

分子生物学的解析

冒頭にも述べたように最近のウイルス学の一つの特徴は夥しい数の論文が現れることで、その論文の80%位は分子生物学的解析である。一つには前述のようにウイルスの精製濃縮材料が比較的容易に得られるようになったということがあり、その結果ウイルスの構成成分がかなり綿密に調べられるようになった。その一つの成果はウイルスにもインフルエンザのノイラミニダーゼ以外にもいろいろな酵素が有るということで、ワクチニアウイルスの持つ DNA-RNA ポリメラーゼ、インフルエンザウイルスその他の持つ RNA-RNA ポリメラーゼなどのほか、動物癌ウイルスなどの RNA から DNA を作る逆転写酵素も発見された。

又、アミノ酸にアイソトープラベルして作つた精製ウイルスを detergent でこわし PAGE で分析し、得られ

たポリペプチドの各の実量を分子量で割った数の比が1 : 1 : 1 : : 0.5というような整数比になる事、及びウイルスを壊す前に表側にのみ有るタンパクをアイソトープ沃度 ^{125}I でラベルしてから壊すことで表在タンパクを知り、又或る程度 proteolytic enzyme で処理してから沃度処理する事で次の層のタンパクを知る、といった方法の組合せでウイルス粒子の微細構造が判る。インフルエンザウイルスはそのような解析で一番早くよく解明された。

ウイルス核酸の方は、ヘルペスウイルスのような線状2本鎖 DNA、肝炎Bウイルスのような環状2本鎖 DNA、SV40 のようなよじれ環状2本鎖 DNA、ポリオウイルスのような線状単鎖 RNA、アレナウイルス群のような環状単鎖 RNA、インフルエンザウイルスのような8つの分節に分れた単鎖 RNA の例が知られた。

これらをさらに補充して知識を広げたのが制限酵素の発見である。これでヌクレオチド配列が研究し易くなり、SV40 ではすでにその核酸の中の全部のヌクレオチド配列が判っている。この制限酵素の利用は非常に幅が広い。たとえばアデノ7型のウイルスのたく山の株を集めて、その核酸を数種類の制限酵素で切ると、全部の株の切れ方が同じではなくて、3つのサブタイプに分れる。従来のウイルスの同定は中和反応が最終的で決定的であり、中和的に同一ならば同一とされたが、それより更に決定的なこの方法で細分類が出来るという事である。中和反応が従来の最終的同定と言ったが、その例外はポックス群でワクチニア・痘瘡・牛痘は中和でも分けられなかつた。しかしこの方法では綺麗に識別される。

もう一つの事はアデノウイルスの12型・18型・31型やSV40 がハムスターに発がん力があるが、その発癌を支配する遺伝子がこの解析で判ることで、最近ヘルペスウイルスでも XBaI という制限酵素で切られるFというフラグメントにハムスター細胞をトランスフォームする遺伝子が有ることが判った。

ウイルス核酸の構造も、単に細長いとかよじれているとか言う程度でなく、ヌクレオチド配列順が同一順のくり返し部がどこどこに何箇所あるか、というように微細に互つて検討されるようになって来た。最も面白いのはヘルペスウイルスを始めとするヘルペス群ウイルスの場合で、Lは長鎖Sは短鎖でこれが夫々右向と左向の4つの異なる組合せになつて、1つのウイルス population の中に各が1/4ずつ、即ち均等に混在している。しかもLとSの端の部はヌクレオチド配列の同一順の部が有

り、これを repetitive sequence、これに対しLとSの中の部をunique sequence という。

インフルエンザウイルスのRNAは8つのピースに分れているが、レオウイルスは二重鎖RNAで10のピースに分れ、プニャウイルスでは単鎖RNAの3つのピースがある。このプニャウイルスというのは昔はトガウイルスと共に昆虫媒介アルボウイルスと呼ばれていたものだが、日本脳炎ウイルスのようなトガウイルスとはRNA構造も異り、大きさも稍大きいので別にされた。一方トガウイルスには昆虫媒介でない風疹ウイルスなどが入れられた。今日ではアルボウイルスというのは分類上の名前ではなく、トガ・プニャ・ラブド・ピコルナ・レオ・アレナのウイルス群のうちで昆虫で媒介されるものという意味に変わって来ている。

次によく調べられるのはウイルス遺伝子上にある変異が起るとその部に相当してあるタンパクが高温培養で出来なくなり、従つてウイルス増殖が妨げられる。これをts変異という。いろいろなts変異を比較して、同時に1つの細胞を感染して相補して高温でもウイルスが出来れば同一シストロンのtsではない事が判り、こうして幾つかの群にts変異ウイルスを分類し、さらにそのrecombinationの起る頻度から、その相当するシストロンの位置付けをする結果、ts遺伝子地図が出来る。

このマッピングの仕事はアメリカでCooperがポリオウイルスに就き長年やつているのが一番詳しい解析であるが、地球上からポリオが無くなつてもまだ続けるかどうか、人事作ら心配である。一般に分子レベルの仕事をする人は応用を考えず、どんどん細かく分析する。時には鹿を追う猟師山を見ず、になる。

どのような細かな分子レベルの解析が行なわれているかという例を少し挙げる。ポリオのようなピコルナウイルスでは、ウイルスが細胞に入つてタンパク衣を外され、裸のRNAになると、そのままm-RNAとなり、ポリソームによつてその全長のポリペプチドを作り、それがcleaveされてウイルス構成成分のタンパク及び合成に必要な酵素となる。その開裂のよく調べられたのはポリオと同属のEMCウイルスで、先ず5つに分れ、そのうちのA部は4段階を経て5つの構成タンパクとなり、他の部は酵素になる。その1つ1つの段階の進む速度を半減期で計算してある。

インフルエンザの場合、8つのピースのRNAがウイルスのポリメラーゼで相補RNAを作り、これがm-RNAとなつて夫々ポリメラーゼ1・2・3, HAo, キヤプシ

ッド、ノイラミニダーゼ、マトリックス、非構成タンパクを作る。このうち HAO は開裂して分子量46000と29700の2つの部に分れる。

アデノウイルスではもつと複雑で感染後早期に DNA の一部が転写され、後期に同じ部分又は別の部分が転写されて m-RNA が作られるが、作られた m-RNA は核内に留るものと細胞質に出てタンパク合成系に入るものとある。ある m-RNA はウイルス DNA のとびとびに離れた部の連つたものから出来ており、これを spliced RNA という。中には3末がほぼ同一点で長さの異なる3〜4種の m-RNA が出来ることもある。これらは小さな DNA から成可く多種類のタンパクを作る情報を与えようとするメカニズムらしい。

このほか作られたポリペプチドの1つ1つに就いて細胞内の位置の移動、その速度、細胞内小器官や膜構造との関連、ポリペプチド開裂に使われる酵素の宿主依存性の有無、さらにウイルス DNA あるいは RNA 合成の仕方、とくにその始点、それが単数か複数かということ、核酸複製の速度（たとえばヘルペスウイルスでは1分間に5,000,000ヌクレオチド）、及び各種ウイルス阻害剤の作用点などが詳細に調べられている。しかもこれらのものはウイルスの型が異れば異り、又同一型でも変異株を得れば又変るものが多く、それらを比較しているといくらでも調べる事が増えるばかりである。

これら山のようにある分子レベルの解析データから、医学的に応用のききそうな物を拾つて見ると、ラウス肉腫ウイルスの RNA の末端と相補な oligodeoxynucleotide を作つて細胞に入れるとウイルスの増殖を抑えるという。又酵母や大腸菌の t-RNA の中に EMC ウイルスの RNA と相補的なものが有つて、それをマウスに与えると EMC ウイルスの致死効果を減少させるという事がある。もしオリゴヌクレオチドのような低分子のもので比較的自由に細胞に入つて特異的にあるウイルスの増殖を抑えるというものが有ればそれは一つの新しいウイルス病治療の方法を開くかも知れない。

ウイルス病の自然治癒機構と細胞性免疫

一般にウイルス感染の際 IgM 抗体、つづいて IgG 抗体・IgA 抗体が血中に生ずるが、これらは細胞の中に入らないのでウイルスの増殖を止められない。自然治癒に寄与するのは先づマクロファージによる感染細胞処理、次に感染細胞の表面に並ぶウイルス抗原に対して特異抗体と補体の作用で起きる細胞の破壊、又免疫 T リンパ球による感染細胞破壊、又微量の抗体と Killer リンパ

球あるいはマクロファージ又は多型核白血球による所のいわゆる ADCC 即ち抗体依存性細胞媒介細胞障害さらに又免疫で感作されたリンパ球が感染細胞の表面に接触して生ずる約10種類のリンフォカイン、その中にはマクロファージを局所に引き止める遊走阻子因子やマクロファージ活性化因子のほか、II 型インターフェロンもある。

これらのメカニズムが総合的に働いてウイルスの体内の広がりを防ぐ間に抗体も当然ある役割を演ずる。以上は最近の研究で明かにされた宿主側の防禦機構のサンマリーであるが、しからば或る疾患の時にその患者の特定ウイルスに対する細胞免疫の程度を routine の検査で捉えようという事は難しい。一つにはこれらの何れもまだ一定の術式が定着していない。又、リンパ球の細胞障害だけ取上げて、それを免疫マウスで調べる時 in vitro でリンパ球をウイルス感染細胞に与えて細胞破壊による ^{51}Cr の release を計るが、この場合リンパ球とテストの細胞が組織適合的に同一でなくてはならないという制約があり、これを H-2 restriction という。人の場合も HLA 抗原が違ふときかないという場合が知られている。そのほか、末梢血から分離した白血球は直ぐにテストしないと長い保存が利かないという不便もある。これに反し、同じく細胞性免疫の程度を計る物差しとして、ツベルクリンのような皮内反応が有るが、技術的な問題もあつて余り使われず、僅にヘルペス・おたふく風邪それに最近ではインフルエンザで行つた人がいるという程度である。

これから一番良く使われるようになるだろうと思われるのは、末梢血からとつたリンパ球に不活化ウイルスのような抗原を加えて、リンパ球の幼若化を計る方法、とくに ^3H チミジンを取り込んで DNA 合成する程度が上るのを対照と比較する所のいわゆる lymphoblastic transformation 測定である。しかし、これも培養液中の血清が患者自身の autologous な血清の場合とそうでない場合と著しい差が有るなど、技術的基礎の確立が必要である。臨床的には全血を用いる法、とくに微量で行なうという実際的な方法も工夫されている。

血清診断法の微量システム化

細胞性免疫に比べると液性抗体の測定の方は歴史も古いだけに可成りの進歩がある。その中でも特筆すべきはラジオイムノアッセイである。これは抗原抗体反応物に放射性ヨード抗体をつけて沈降させる RIP の原理から出発し、固相ラジオイムノアッセイがよく使われ

る。例えばポリスチレン管に抗体つづいて抗原をつけ、これに稀釈被検抗体をかけ、後で一定量の ^{125}I 抗体をかけ、その競合阻止で抗体の存在を知る。その感度は10万倍というような高い値が得られる。抗原と抗体を逆にすれば抗原測定にも使えるので、肝炎ウイルスにも応用される。アイソトープの代りにペルオキシダーゼのような酵素を付けた抗体を用いる方法は簡便なので今日よく使われる。

一般にウイルス病の血清診断では、ペアの血清を必要とするという厄介を除く意味の工夫は、IgM 抗体測定で one-sample 診断するという試みで現れたが、それには蛍光抗体法の間接法で、二次染色に抗ヒト IgM (ミュー) 抗体を使うことで果された。

私自身もヘルペス症初感染の早期血清に補体の存在下で働く中和抗体の出現することを発見し、CRN 抗体と名付けたのは15年前であるが、最近その測定の際に 0°C 一夜感作後に補体を加えるという僅かな改変で著しく感度が上昇することを見出した。ある例では従来の方法では極めて低い titer の血清が1万倍の値を示している。

最近のウイルス学の中で明らかに進歩したと思われるものの1つは血清診断システムの簡素簡便化である。これはもとはかぜや脳炎の血清診断で多くの抗原と補体結合あるいは血球凝集抑制反応をする必要から生れた。かぜはライノウイルス以外多種類のウイルスで起き、無菌性髄膜炎ないし脳炎も同様である。それでピペットの代

りに一定量の液を垂らすドロップパーが工夫され、試験管の代りに使い捨て用のプラスチック板が用いられるようになった。さらに HI 用の血球もチアン・フォルマリンで固定され凍結して1年も保存できるようになり、稀釈液その他すべて市販の物で済むようになった。

中和反応でさえプラスチックトレイとトランスファープレートと細胞浮遊液だけで極めて簡単に出来るようになった。ヘルペスウイルスの中和抗体測定に就いて言うならば、トランスファープレート上で8本のサンプルをダイリューターで倍々稀釈し、それをウイルスを入れたプレートに重ねると、混ざつて、 37°C 1時間後一定濃度の Vero 細胞を滴下し CO_2 フランキに4日置いた後染色する。ウイルス陽性の穴は白く抜け、中和陽性の穴は紫に染まり、一見して終末点が判る。

中和が簡単に行く所から、さらにウイルスの分離同定も同じくマイクロ法で行なわれるようになった。昔日のマウスや卵を沢山使つて大変な労力をかけた事が全く夢のようである。

結 語

以上最近のウイルス学の進歩に就いてその概略を話した訳であるが、最後に一言すれば、いくらウイルス学が進歩したと言つても、ウイルス病を治す根本的な方法が見付からない限り、全く進歩が無かつたと言われても反論できないということである。