

大学院医学研究科シリーズ

医学研究のあり方

宮澤正顯

近畿大学医学部免疫学教室・大学院医学研究科免疫応答制御学

はじめに

近畿大学医学雑誌に「大学院医学研究科」シリーズが掲載されることとなり、東田研究科長より「医学研究のあり方」について執筆をするよう依頼を頂いた。過去4年間にわたって、大学院医学研究科共通必修講義・演習で表記の講義を担当してきたが、そこで繰り返し述べてきたのは「何のために研究をするのか」と、「良い研究とはどのようなものか」の二点である。講義の内容をそのまま印刷原稿とすることは出来ないが、以下筆者が普段から考えている「良い医学研究のありかた」について、大学院生のみならず近畿大学医学雑誌の全ての読者を対象に持論を展開してみよう。

研究とは何か

そもそも研究とは何か。研究はヒトの行う行為であり、研究者無くして研究が行われることはない。他の研究者によって行われた「研究の結果」を知ることが、研究者でなくても出来るが、自ら研究を行って結果を産み出すことが出来るのは、そのための訓練を受け、必要な設備・機器や試料と資金とを与えられた研究者だけ（の特権）である。つまり、「研究とは何か」と考えると、「研究者とは何か」を考えることに他ならない。

「研究者とは何か」について、最も直截で、しかも最も厳しい定義を述べているのは西塚泰章である。読者の中に西塚泰章の名を知る人はむしろ少ないかも知れない。西塚は京都に生まれ、京都帝国大学医学部を卒業した病理学者であり、三重大学医学部教授から愛知県がんセンター研究所病理学部長に転じ、のち愛知県がんセンター研究所長、第48回日本癌学会会長を務めた。近畿大学医学雑誌の読者には、むしろ元神戸大学学長・西塚泰美の実兄と言った方が判り易いかも知れない。平成7年に72歳で世を去ったが、その絶筆の中に、当時の愛知県がんセ

ンターの実情を憂いて認められた『特異な研究所』なる一文があった¹⁾。その中で西塚泰章は、行政官と研究者とを対比させつつ、「研究者とは現在知られ、行われていることの誤りや非を正して、新しい規則やより正しい真実を見つけようと努力する人々のことを言うのである」と述べている。『特異な研究所』は、我が国の実験病理学を終始リードし、門下から多数の医学部教授を輩出した西塚泰章が、病魔と闘いつつ当時の愛知県がんセンター研究所長を痛烈に批判する形で認めた一文であり、ここに述べられた研究者の定義には、彼が門弟たちと一生を捧げた「優れた医学研究」への思いが凝縮されている。

筆者は先に、「自ら研究を行って結果を産み出すことが出来るのは、研究者の特権である」と書いたが、研究という行為を行いうるのは、そのための時間的余裕や経済的余裕を与えられた者のみであり、そこには与えられた時間や資金に対する責任が、当然のこととして伴ってくる。研究者の果たすべき責任とは「世の中の誤りを正し、人々をより正しい途へと導くことである」と指摘したのが西塚の絶筆であり、「これまでのやり方は間違っているから、こうすればより良くなる」とか、「これまでの常識には誤りがあり、正しくはこう考えるべきだ」と言えないようでは、科学研究をしたことにはならないと彼は言っている。

西塚の述べた研究者の定義には、カール・ポパーによる科学理論の定義²⁾に相通じるものがある。カール・ライムント・ポパー（1902-1994）は、ウィーンに生まれニュージーランドとロンドンで活躍した科学哲学者・社会哲学者・数学者であり、ピーター・メダワーなど、ノーベル賞受賞者を含む複数の科学者に絶大な影響を与えた。ポパーは優れた科学的理論の備える条件として「反証可能性」を挙げ、それまでに何度肯定的な結果によって検証され続けて来た仮説であっても、たった一回の否定的結果によって反証され、葬り去られることがあることを指摘し

た。逆に、その仮説を「反証する」方法を自ら指摘しているような理論こそが優れた科学的理論であり、反証され得ない仮説は科学理論ではないとポパーは言う。ポパーがこのような考えに至った過程は彼の知的自伝である「果てしなき探求」³に詳述されており、この本はポパーの科学哲学に関する最良の入門書でもある。

例を挙げよう。「アガリクスはがんに効く」という命題は、もしそれを科学理論であるとするならば反証可能である。「アガリクスががんに効かなかった」という実例を一つ挙げれば反証となる。この場合、科学者であるならば反証を受け容れ、「アガリクスはがんに効く」という仮説を破棄して別の仮説を立て検証する。一方、同じ「アガリクスはがんに効く」という命題に対して、「効果があつた」という実例ばかりを集め、「効かなかった」という実例を無視するのは科学的態度ではない。自らの命題に都合の良い検証結果ばかりを集め、反証を無視するのは宗教の特徴であるとポパーは言う。

西塚の考える科学研究のあり方には、彼の医師としての立場を反映して、「根拠に基づく医療 (EBM)」の考え方を先取りした部分もある。医学の世界では、科学的根拠が殆ど無いか、根拠の疑わしい行為が無批判に行われていることがしばしばある。ある医療行為を行うとき、自分は何故その行為を選択したかと突き詰めて考えると、「大学で教授にそう教わったから」とか、「医局の先輩がそうしていたから」という以外の理由はなく、その行為が患者にとって本当に有益であるという科学的根拠がどこにあるのかは知らないという場合がしばしばあることに愕然とする。これは何も、臨床医学に限ったことではない。西塚は病理学の教授を務め、がんセンターの病理学部長であったが、筆者もまた病理学教室の出身であり、長年にわたって病理診断（剖検・生検）にも従事した。臨床医にとって病理学者の下す診断は「最終診断」であると言われてきたが、実際に顕微鏡下に見る標本に診断を下すとき、病理医の頭の中で科学的思考は行われていない。病理医の下す判断の根拠は、大半の場合「同じような標本を以前に自分の師匠が、先輩が、コンサルテーション先の偉い先生が、このように診断していた」という記憶だけであり、場合によっては「アトラスを見るとそっくりな標本にこのような診断名が付いていた」と言うことでしかない。診断書に書かれる「所見」は、病理学的判断の論理的根拠を示したものではなく、多くの場合、診断名を付けてから書き足される「後付け」の正当化に過ぎない（臨床系出身の後輩と一緒に標本を覗きながら、筆者が診断の根拠としての所見を

述べると、その後輩は「一瞬で診断を付けられない」筆者を蔑むような目で見たとという経験がある）。

病理学の教授として、またがんセンターの病理学部長として、西塚が痛感したのはこのような「病理診断における科学的根拠の欠如」であつたに違いない。そこから西塚は、「病変の生物学的意味を個体レベルで検証する科学」としての実験病理学へと一門の進路を導いて行った。その西塚が、ヒトのがん遺伝子研究が流行するさなかに、「遺伝子異常の検出は研究とは言えず、単なる診断技術である。『がん遺伝子』の生理的機能を、個体レベルで解明することこそが重要である」と喝破していた⁴というのは、当然のことである。

研究における再現可能性

研究が現状の誤りを指摘してより良い考え方を示す行為（西塚）であり、優れた科学理論はそれを反証する方法を明示していなければならない（ポパー）以上、どんなに念入りに研究を行い、注意深く論文を書いたとしても、それが批判の目に曝されるときが必ずやってくる。いや、そもそも厳しい批判の眼に曝されない論文は、読まれていないか読むに値しないと考えられているのであり、そのような仕事は少しでも世の中を良くすることに役立つ筈はない（論文は、他人に読まれて初めて世の中の役に立ちうる）。自分の研究が論文として世に出るとき、そこに書かれた内容が直ちに他の研究者による批判の目に曝され、過ちが厳しく指摘されるであろうことを予測して、身の震える思いがしないようでは、良い研究をしたとはとても言えない。

筆者自身の現在に至るライフワークの出発点となる論文⁵が J. Exp. Med. に掲載されたとき、過剰な程慎重に実験を繰り返し、異なる複数の方法論を用いて得た結論を記載していたにも関わらず、自分自身でその再現性に自信が持てず、夜眠れない程の不安を何度も経験した。これは、ウイルス遺伝子産物に対する免疫応答遺伝子現象の存在を初めて記載したその論文の結論が極めて明確であり、Tリンパ球によって認識されるウイルス抗原エピトープの構造が同定されるか否かによって、明確に反証され得るものだったからである（そして、特定の MHC 分子によって提示されるそのようなエピトープの存在を、筆者自身が論文中で明確に予言していた）。筆者が自分自身の結論に自信を持ったのは、数年後に自ら問題の Tリンパ球認識抗原エピトープ構造を同定し⁶、それが感染防御に直結すること⁷を示してからである。

かつてサプレッサー（抑制性）Tリンパ球と呼ば

れた細胞の表面に発現し、それら細胞から分泌されて免疫応答の抑制因子としても機能するとされた I-J 分子をコードする筈の遺伝子座は、それがマップされていた MHC class II 領域には存在し得ないことが明らかになった。その時、I-J 分子の最初の記述と遺伝子座マッピングの当事者であった多田富雄は、「2000を超える論文でサポートされた I-J が、分子生物学的研究の結果、忽然と消え失せたことは、近年の免疫学の最大のミステリーである」と書いた⁸が、ポパーの述べる通り、科学的仮説は如何に多数のポジティブな検証結果に支えられているように見えようとも、決定的なただ一つの反証によって葬り去られる運命にある。

だからと言って、「仮説はどうせ仮説なのだから、自分の発表した実験結果が間違っていたって、また新しい結果を発表すればそれで良い」と言うことにはならない。科学研究が仮説を検証する（より良い仮説のために反証を試みる）作業である以上、自分の発表した仮説は他の研究者による研究の出発点となる可能性が常にある（そうでないような研究はやる意味がない）。適切な仮説はそれを検証する過程でより良い仮説を導き、「新しい規則やより正しい真実（西塚）」へと進む途を示すが、誤った仮説は人々を混乱へと導き、それを反証するために多大の労力と費用を消費させる。「2000を超える論文でサポートされた」ことは決して誇るべきことではなく、反証されるまで2000もの論文を書かせてしまった過ちの積み重ねが、真摯に反省されるべきではないか。ましてや、もしもそこに何らかの錯誤や、あってはならないデータの改変が関わっていたとしたら、そのことは明確に指摘されなければならないし、そうでないならば、誤った仮説の提示に至った過程が当事者によって明らかにされなければならない。

西塚泰章のグループは、マウスの新生仔から胸腺を摘除すると免疫不全に陥り、通常の飼育環境下では数ヶ月以内に感染症により死亡すること、ところが生後3日目に胸腺摘除を受けたマウスはほぼ正常の発育を示し、正常マウスに匹敵する寿命を全う出来ることを確認した。これ自体が免疫学的に極めて重要な観察であり、マウスでは一生の間に出会う可能性のあるあらゆる感染性微生物の抗原と対応出来る T 細胞抗原受容体のレパトアが、生後3日までに胸腺で形成され、全身に分布すること、生後3日までに胸腺で作られたナイーブな T リンパ球の寿命は、マウスの一生（約2年間）を超えることを明らかに示す。しかし、西塚のグループが傑出していたのは、この生後3日目に胸腺摘除を受けたマウスを更に丹念に観察し、発育に従って卵巣に障害を生じ、

子宮や唾液腺の萎縮を生じることを見出したことである⁹。生後3日で胸腺摘除を行ったマウスに生じる卵巣障害は、同系マウスの胸腺を生後14日目までに移植すれば完全に予防出来、生後20日での移植は予防効果が低下し、40日目での胸腺移植は無効であった。更に、生後7日以降のドナーからリンパ球を移入すると卵巣傷害を防止する効果が見られたが、新生児ドナーからの胸腺細胞や脾細胞の移入は無効であった¹⁰。その後、生後3日目に胸腺摘除を受けたマウスでは、卵巣の組織傷害に伴って卵子細胞質や透明体と反応する自己抗体の産生が見られることが明らかとなり¹¹、生後3日の胸腺摘除で発生する組織傷害病変の本質は自己免疫病であることが明らかとなった。移入によって自己免疫性卵巣炎の発症を阻止した細胞は CD4 陽性 T 細胞であり¹²、マウスでは生後3日目までに胸腺から二次リンパ組織に移行する T リンパ球は感染防御や組織傷害に関与するエフェクター細胞に分化し、一方生後7日目以降の胸腺で分化する T リンパ球には、エフェクター細胞による組織傷害を抑制する機能を持った CD4 陽性 T 細胞が含まれるという概念が確立した¹³。移入により自己免疫性組織傷害の発症を抑制する CD4 陽性 T 細胞は、CD4 陽性・CD25 陽性の制御性 T リンパ球 (Treg) であり¹⁴、転写制御因子 FoxP3 が Treg 細胞の分化を決定すること¹⁵、FoxP3 の遺伝子異常により、ヒトでも X 染色体連鎖免疫調節異常・多発性内分泌障害・腸症候群 (IPEX) が発症することが明らかとなって、Treg 細胞の存在とその生理機能は不動のものとなった。これこそまさに、「遺伝子の生理機能を個体レベルで解明する」という西塚の理想の具体化である。

注意しなければならないのは、多田らの記載していた抑制性 T 細胞は CD8 陽性とされ、その表面に I-J 分子を発現するとされていたことである。CD4 陽性・CD25 陽性の制御性 T リンパ球は、決して抑制性 T リンパ球と混同されてはならない。

科学では真実が勝つ

MHC 領域から I-J 遺伝子座が消えるまで、抑制性 T リンパ球の研究は免疫学の主流であると見なされていたし、だからこそ「2000もの論文」が抑制性 T リンパ球と I-J 分子を採り上げた。一方、西塚グループの研究は、決して華々しい注目的であった訳ではないし、Treg 研究が免疫学の中で大きな潮流を形成するに至ったのは、ここ10年あまりのことである。しかし、40年も前に坂倉と西塚によってなされた胸腺摘除後の卵巣障害の記述は、現在でもそのまま再現可能であり、なればこそ分子レベルに至る

研究の発展の中で、新しい科学理論を生み出す出発点であり続けた。

前項に述べた筆者のライフワークは、アメリカ合衆国留学中に教えを受けたブルース・チーズブロー博士の研究を引き継いだものである。チーズブロー博士が1970年代に、J. Exp. Med. を主な場として発表したマウスレトロウイルスの感染抵抗性に関する遺伝的解析の論文は、40年を経た現在に至ってもその内容に殆ど修正の必要は無く、世界中の複数の研究グループが、彼の記載した宿主遺伝子の分子実体を次々に同定している。

流行に乗って行われた研究は一時期華々しい注目を集めることは出来るが、長年にわたって科学の発展を支え続ける力はない。本当に重要な仕事は、数十年の歳月を経てその価値がますます輝くものである。タンパク質のX線結晶解析という分野を切り拓き、英国医学研究評議会 (MRC) に分子生物学研究所を作らせたマックス・ペルーツのモットーは、“In science, truth always wins.” (科学においては真実が常に勝つ) であった。西塚の言う通り、研究者とは「新しい規則やより正しい真実を見つけようと努力する人々」でなければならない。その努力は必ず報われるというのがペルーツの信念であり、西塚グループの仕事もそれを実証している。そこで最後に、筆者が最近経験した「科学では真実が勝つ」事例を紹介して、この稿を閉じよう。

ブルース・チーズブローが記載した、マウスレトロウイルスに対する宿主免疫応答を制御する遺伝子群のうち、最後までその分子実体が不明であった一つが *Rfv3* 遺伝子であった。*Rfv3* は、MHC とは無関係な単一の常染色体遺伝子座であり、その表現型はレトロウイルス感染後のウイルス血症持続期間として表れる。感染抵抗性の C57BL/6 (B6) マウスでは、ウイルス接種後 4 週間目までには血液中から感染性粒子が消えるが、感受性の BALB/c マウスでは、感染 5 週間後になってもウイルス血症が持続する¹⁶。抵抗性の *Rfv3* 遺伝子型を持つと考えられる系統では、ウイルス感染後の早期から中和抗体の産生が認められ¹⁷、*Rfv3* はレトロウイルス感染時の中和抗体産生を制御する宿主遺伝子であると考えられた。

この遺伝子が一気に注目を集めるようになったのは、*Rfv3* 遺伝子のヒトホモログ(おそらくはオーソログ)が、HIV に頻繁に曝されながら感染の成立しない「HIV 曝露非感染者」の原因遺伝子ではないかと我々が指摘してからである¹⁸。我々の知らないところで熾烈な研究競争が始まり、米国グラッドストーン研究所のワーナー・グリーンらが、我々の発表¹⁹

に 5 日先駆けて、「*Rfv3* 遺伝子は *APOBEC3* 遺伝子座の多型である」とする論文を Science に発表した。我々の仕事を知る国内の友人たちからは、「残念でした」、「先生の内心忸怩たる思いがよくわかります」などと慰められたが、実は筆者自身は少しも「負けた」とは感じていなかった。何故ならば、グリーンらの論文には、我々の観察と相容れない記述が多数あり、発表を急ぐあまり慎重な実験を怠っているのではないかと思われる節がいくつも見られたからである。

案の定、その後 2 年程の間に、*APOBEC3* 遺伝子座の多型に関する分子実体の記述は宮澤らが正しく、グリーンらは誤っているとする論文が米国内の複数のグループから発表され、とうとうグリーンら自身が、「自分たちの最初の論文では遺伝子発現の定量法に初歩的なミスがあった」と認めざるを得なくなった²¹。グリーンらのグループは、CD4 陽性 T リンパ球における HIV 複製の制御機構に関しても、Nature に発表した論文の取り下げ (retraction) に追い込まれている²²。

我々はともすると、研究費を得て教室を維持するため、学会で発表をするため、学位を貰うため研究をするのだと思いがちだ。そうではなく、この世の中を良くするため、より正しい診断法を見つけるため、患者にとってより有益な治療法を提供するため、医学研究をするのだと思ひ定めなければならない。そうすれば、流行に惑わされず、自分自身のデータに対する疑いを忘れず、再現性に心を砕いた研究成果を慎重に発表する習慣が身につく。その結果として、同業者に信頼され、適切な研究費も確保出来、学会等での発表機会も与えられて、複数の「学位授与に値する成果」も挙げられるようになるであろう。「科学では真実が勝つ」という、ペルーツの言葉を信じようではないか。

文 献

1. 西塚泰章先生同門会, 日合 弘 編集, 西塚泰章: 人と学問. 西塚泰章先生同門会, 日合 弘 発行, 1998. p5
2. Karl R Popper. The Logic of Scientific Discovery. Hutchinson & Co., Ltd., London, 1972
3. カール・R・ポパー 著, 森 博 訳. 果てしなき探求—知的自伝. 岩波現代文庫. 岩波書店, 2004
4. 松影昭夫. 「ショウジョウバエを始めてよかったね」—遺されたことば. 西塚泰章: 人と学問. 西塚泰章先生同門会, 日合 弘 発行, 1998. p25
5. Miyazawa M, Nishio J, Chesebro B (1988) Genetic control of T cell responsiveness to the Friend murine leukemia virus envelope antigen: Identification of class II loci of the H-2 as immune response genes. J Exp Med 168: 1587-1605

6. Iwashiro M, Kondo T, Shimizu T, Yamagishi H, Takahashi K, Matsubayashi Y, Masuda T, Otaka A, Fujii N, Ishimoto A, Miyazawa M, Robertson MN, Chesebro B, Kuribayashi K (1993) Multiplicity of virus-encoded helper T-cell epitopes expressed on FBL-3 tumor cells. *J Virol* 67: 4533-4542
7. Miyazawa M, Fujisawa R, Ishihara C, Takei YA, Shimizu T, Uenishi H, Yamagishi H, Kuribayashi K (1995) Immunization with a single T helper cell epitope abrogates Friend virus-induced early erythroid proliferation and prevents late leukemia development. *J Immunol* 155: 748-758
8. 多田富雄(1984)UCLA シンポジウム見聞記. 代謝 21: 1571-1573
9. Nishizuka Y, Sakakura T (1969) Thymus and reproduction: sex-linked dysgenesis of the gonad after neonatal thymectomy in mice. *Science* 166: 753-755
10. Sakakura T, Nishizuka Y (1972) Thymic control mechanism in ovarian development: reconstitution of ovarian dysgenesis in thymectomized mice by replacement with thymic and other lymphoid tissues. *Endocrinology* 90: 431-437
11. Taguchi O, Nishizuka Y, Sakakura T, Kojima A (1980) Autoimmune oophoritis in thymectomized mice: detection of circulating antibodies against oocyte. *Clin Exp Immunol* 40: 540-553
12. Sakaguchi S, Takahashi T, Nishizuka Y (1982) Study on cellular events in postthymectomy autoimmune oophoritis in mice. 2. Lyt-1 cells can prevent the development of autoimmune oophoritis. *J Exp Med* 156: 1577-1586
13. Taguchi O, Takahashi T, Nishizuka Y (1990) Self-tolerance and localized autoimmunity. *Current Opin Immunol* 2: 576-581
14. Sakaguchi S (2000) Regulatory T cells: key controllers of immunologic self-tolerance. *Cell* 101: 455-458
15. Hori S, Nomura T, Sakaguchi S (2003) Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science* 299: 1057-1061
16. Chesebro B, Wehrly K (1979) Identification of a non-H-2 gene (Rfv-3) influencing recovery from viremia and leukemia induced by Friend virus complex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 76: 425-429
17. Doig D, Chesebro B (1979) Anti-Friend virus antibody is associated with recovery from viremia and loss of viral leukemia cell-surface antigens in leukemic mice. Identification of Rfv-3 as a gene locus influencing antibody production. *J Exp Med* 150: 10-19
18. Kanari Y, Clerici M, Abe H, Kawabata H, Trabattini D, Lo Caputo S, Mazzotta F, Fujisawa H, Niwa A, Ishihara C, Takei YA, Miyazawa M (2005) Genotypes at chromosome 22q12-13 are associated with HIV-1-exposed but uninfected status in Italians. *AIDS* 19: 1015-1024
19. Takeda E, Tsuji-Kawahara S, Sakamoto M, Langlois M-A, Neuberger MS, Rada C, Miyazawa M (2008) Mouse APOBEC3 restricts Friend leukemia virus infection and pathogenesis in vivo. *J Virol* 82: 10998-11008
20. Santiago ML, Montano M, Benitez R, Messer RJ, Yonemoto W, Chesebro B, Hasenkrug KJ, Greene WC (2008) Apobec3 encodes Rfv3, a gene influencing neutralizing antibody control of retrovirus infection. *Science* 321: 1343-1346
21. Santiago ML, Smith DS, Barrett BS, Montano M, Benitez RL, Pelanda R, Hasenkrug KJ, Greene WC (2011) Persistent Friend virus replication and disease in Apobec3-deficient mice expressing functional B-cell-activating factor receptor. *J Virol* 85: 189-199
22. Chiu Y-L, Soros VB, Kreisberg JF, Stopak K, Yonemoto W, Green WC (2010) Retraction: Cellular APOBEC3G restricts HIV-1 infection in resting CD4+ T cells. *Nature* 466: 276