

My Thesis (私の学位論文)

医歯薬学研究部 口腔顎顔面形態学分野 馬場麻人

馬場麻人

「グリコーゲンを認識するモノクローナル抗体の作製と免疫組織学的観察」

口腔病学会雑誌 60(2): 264-287, 1993. [本文へのリンク](#)

私は、東京医科歯科大学歯学部歯学科に昭和 58 年 4 月に入学しました。そもそも歯学部を志望した動機は、よい歯科医師になって同時に自分もよい暮らしがしたいというものであったのですが、3 年生の組織学実習、4 年生の病理学実習と進んでいくうちに、顕微鏡の世界を覗くことが大変楽しくなってしまったのです。当時私は、躰道部という空手系の部活動に所属しており、部活の先輩である柴田俊一先生(現東京医科歯科大学大学院顎顔面解剖分野教授)が、解剖学教室の助手になったばかりで、そこに顔を出して柴田先生の実験の手伝いをしながら、組織標本の作製法を教えてもらうことにしました。そのように過ごしていれば当然なのですが、6 年生にもなると主任教授であった一條尚先生には当然、解剖の大学院に進むものと思われ、自分でも案外と簡単に、これもまた自分の人生と、思うことが出来、平成元年 4 月に解剖学教室に大学院生として参加することになりました。しかしこのタイミングで、本来面倒を見てくれるはずだった柴田先生は 2 年間の予定で、NIDR (NIH) へ留学し、一時的に私は、オーベンのいない状況に陥ります。

さて、当時の一條研究室は、電子顕微鏡観察を中心にした硬組織形成の研究が主であったのですが、私の入学時には硬組織研究で獲得した大型の研究費があり、その中には柴田先生が分担することになっていた、軟骨細胞特異的なモノクローナル抗体の作成というプロジェクトがありました。というわけで、大学院入学後にこのプロジェクト担当になります。

もちろん抗体作成などは考えもしなかったことで、助教授であった寺島達夫先生の指導のもと、抗原である下顎頭軟骨組織の収集、抗原の摂取、脾細胞の回収、ミエローマとの融合によるハイブリドーマの作成と順々に手順を進め、クローニングを行い、取りあえず抗体を作成するクローンを得ることが出来、数種類の抗体を得ることが出来ました。

ところが、何せ抗原は下顎頭軟骨であり、一体全体何が抗原になっているか見当もつきません(時間も予算もタイトになっている現在ではきっとこのような方法は誰も取らないでしょう)。抗原の探索のため、まずはこの抗体を使用して免疫組織化学を軟骨組織で行います。すると軟骨細胞に免疫陽性細胞に陽性反応があり、手応えを感じることになります。そして、軟骨細胞に特異的な反応であることを確認するためにも、他の組織をも用いて免疫組織化学を行いました。ところでここで大きな落とし穴が待ち受けていたのです。

当時、一條研究室では、研究だけでなく将来はきちっとした教育もできるように、という観点から、大学院時代は肉眼解剖学と組織学(解剖は 2 講座ありましたが、両方一緒に活動していたのです)の全ての講義を聴講し、全ての実習にインストラクター見習いとして出なければなりません。ご存知のように医学部歯学部の第 2 もしくは第 3 学年はこれらの講義で 1 週間の大半を占めています。この状況だと実験は講義・実習が終わった後、夜の時間に行うことになります。一方、免疫組織化学に使う組織採取用のラットは、日中に運搬されて来ます。この時、間もなくサンプルのために殺してしまうので、取りあえず水だけ与えておけば、と考えたのが間違いでした。

話が長くなるので結論から述べると、抗原は軟骨細胞内に貯蔵されているグリコーゲンだったのですが、他の臓器で、特に肝臓において免疫陽性反応を観察することがなかったので、グリコーゲンに思いが至りませんでした。しか

しながら、初期の実験において肝細胞において免疫陽性反応が得られなかったのは、ラットが昼から夜まで、半日以上餌を与えられず、空腹だったせいだったのです。後に実験して判ったのですが、ラットの場合およそ 12 時間で肝臓のグリコーゲン検出不能になります。

この初期の結果から、もちろん再度組織を採取して免疫組織化学をやり直すこともしましたが、ある時には肝臓でも陽性反応が出ることもあり、ということで 1 年ほどの間、かなり迷走しました。最終的には、グリコーゲンそのものに陽性反応を確認することが出来たので、本当に大学院 4 年の最後の最後で、和文ではありますが、まとめることができ学位を頂くことが出来ました。最後の方では 1 週間の睡眠時間が 10 時間程度ということになり、今となつては、よい思い出です。

さて、平成 5 年に大学院修了後も、さらに抗体のキャラクタライゼーションを行っていたのですが、ある程度目途が立ったことと、それ以上の分析機器を持っていなかったため、この仕事に関しては一時的に中断してしまいました。しかしながら、平成 11~12 年ごろスペインのグループから抗体を使った共同研究の申し出があり（論文が和文であったのですが、英文抄録があり Pub-Med で検索できたため）、英文論文（Garcia-Rocha M, et.al, Biochem J. 357: 17-24, 2001.）が発表され、そこから 50 以上の研究グループに抗体を供与するとともに、今も幾つかの共同研究を行っています。

紆余曲折ありましたが、四半世紀も生き残っている抗体を持って、今となつては運がよかったと思える仕事です。