

My Thesis(私の学位論文)

医歯薬学研究部 顕微解剖学分野教授 鶴尾 吉宏

Tsuruo Y, Hisano S, Okamura Y, Tsukamoto N and Daikoku S

Hypothalamic substance P-containing neurons. Sex-dependent topographical differences and ultrastructural transformations associated with stages of the estrous cycle.

(視床下部サブスタンス P 含有ニューロン. 性依存的な局在の差異と性周期に伴う細胞内超微細構造の変化)

Brain Research 305: 331-341, 1984 [抄録へのリンク](#) ※冊子体は蔵本分館に所蔵あり

1982年徳島大学医学部を卒業後は臨床科に進むことを考えていたが、郷里の洲本高等学校の先輩である解剖学第2講座の大黒成夫教授から、卒業後直ぐに臨床科に進むことも選択枝の1つであるが、若いうちに基礎研究を行ってしてから臨床科に進むことももう一つの選択枝であることを伺い、顕微鏡を使って形態学的に研究することに興味を持っていたこともあり、思い切って卒業後に解剖学教室で研究を始めることを決断した。本来は大学院博士課程の試験を卒業前に受けて大学院生として研究を開始するのがよいと思われたが、決断する時期が年明けで卒業前であり遅かったため、大学院の入学試験に間に合わずに、卒業後の一年間は、当時附属病院の検査部の責任者であった齋藤史郎教授(後に第1内科教授、徳島大学長を歴任)のご厚意で、徳島大学医学部附属病院(検査部)基礎系医員(研修医)として採用していただき、専ら解剖学第2講座にて形態学的な研究に励んだ。大学院には翌年入学試験を受けて正式に大学院生として研究を進めることになった。

解剖学第2講座では、大黒教授の研究テーマである視床下部-下垂体系による標的器官への調節機構について免疫組織化学的手法を用いた解析が行われていた。今の医学生とは違い、私の学生時代には学部の中に研究室に積極的に出入りするということがなければ、研究というものに接する機会はほとんどない状況であり、私の場合も研究してみたいという漠然とした目標はあったが実際に何をすべきかについては全くの白紙の状態であった。当時の教室には、本学医学部を卒業した西山徹先生(現かつが整形外科クリニック院長)と、第1外科から大塚雅文先生(現大塚外科・内科院長)が大学院生として研究をされて、教室のスタッフとして、久野節二助手(後に筑波大学基礎医学系教授)、川野仁助手(後に東京都医学総合研究所副参事研究員、現帝京平成大学健康メディカル学部教授)、安達透助手の3名が実験を進められており、他に由利さん、福西さん、岡村住人さん(現先端医療研究部門技術専門員)の3名が実験の補助などを行い、少人数でこじんまりとしていたが神経内分泌というテーマで一所懸命に研究を行っているという雰囲気であった。

まずは、教室スタッフがやっている実験を見ながらそれを真似て覚えていった。教室スタッフの先生に付いて実験の一通りの全課程のある部分を見習っていくうちに、全体像が分かるように自分で考えながら手技を覚えていくというふうの実験の手ほどきを最初に受けたように記憶している。本来であれば、実験の全体像を概観できるように頭に入れてから、その課程の部分を順序よく重要なポイントを押さえながら進めていくのが、効率的で円滑に実験を覚えて行うことができると思うが、実験手技を覚えるのも1つの修練と思ってやればそれなりに身に付くものであると感じている。何事もその重要さについては、容易に与えられている時には気付き難いものであるが、苦勞して分かった場合や修得できたことでその大切さが分かることも多い。最近では、蛍光色素で標識した標本を共焦点顕微鏡によってデジタル画像で観察しデータ保存して進めることが多くなり、手間と時間がかかる電子顕微鏡を用いた超微細構造レ

ベルの解析は敬遠されることが多いように思えるが、電顕的に超微細構造レベルで見ないと確実に分らないことも多く、電子顕微鏡を用いての解析は依然重要である。電子顕微鏡を正確に使えて整備もできる人は限られるので、電顕観察に使う試料の作製方法も含めて最初の頃は多くの技術的な内容についても修得する必要があった。幸いにも、教室には電子顕微鏡が設置されており、電子顕微鏡を使つての実験も初期の実験項目に含まれており、電顕標本のどの作製過程も最終の電顕写真の出来映えに影響するので、試料作製の段階も、ウルトラマイクロームを用いての超薄切片の作製も上手にできるようになるまでに熟練が必要であった。

今では総合研究支援センター動物資源研究部門が動物を一括管理して動物実験施設にて動物を飼育管理しているが、当時は教室単位で動物を飼育繁殖できる部屋を持っており、解剖学第2講座においても Sprague-Dawley ラットを繁殖させており、毎週2回早朝、教室スタッフが全員でラットケージの清掃・洗浄と床替えを行っていた。また、電顕室の掃除も同時に行っていた。これらのことは、実験内容と直接には関係しないが、このようなことを決められた時間にきっちりに行っていたことで、実験を始める前のお作法のようなことを自然と教わつたような気がする。

私が解剖学教室に入った頃は、新しい神経ペプチドが次々と発見されていた時期でもあり、新規に発見された神経ペプチドについてその局在や機能に関する研究が、世界的にも、また国内の多くの研究室でもこの分野に注目して研究が進められていた。研究テーマについては、教授から脳腸ペプチドの1つであるサブスタンス P についてやってみなさいということで、私は、それまで教室のスタッフの先生から教わつたことを基に、ラット視床下部におけるサブスタンス P の発現について免疫組織化学的にとりあえず切片を作製して染色してみた。神経ペプチドを産生するニューロンは、何も処置をしない正常な条件下では軸索や樹状突起などの神経線維は通常見られるが、細胞体は通常の状態では見られないことがほとんどであり、その当時細胞体を見るには、コルヒチンという微小管の形成を妨げて軸索輸送を止める作用のある薬物を脳室内に投与するのが普通であった。偶然にも最初に作製した切片をよく観察すると、視床下部の弓状核という部位に細胞体が確認できた。それまでの報告では、この部位に細胞体はないと記載されていた。最初に観察に使用した動物がメスであり、報告のあつた論文で使用した動物はオスであったことから、ひよつとすると雌雄によって弓状核にあるサブスタンス P を産生する細胞の発現が異なるかもしれないと考え、この考えを教授に話したが、最初この内容を報告した時には、全く取り合ってもらえなかつた。ということで、自分でパイロット的にメスとオスを使って調べてみたところ、発現に性差がありそうな結果を得た。この当時は、神経ペプチドを産生するニューロンの発現に性差があるというような報告は全くなく、しかも、痛覚の伝達に関係することが主要な機能と考えられていたサブスタンス P に脳内でオスとメスでその発現に性差があると考える人は誰もいなかつた。その当時日照時間をコントロールできる施設は学内にほとんどなかつたので、正確に実験を行うために産婦人科の実験施設をお借りして、昼夜逆転した日照時間の飼育施設で毎日真夜中に膻スメアーをとつて性周期を確認し、明確に性周期を複数回確認できたラットのみを実験に使用した。結果的に、ラット視床下部の弓状核に存在するサブスタンス P ニューロンの発現には、オスとメスで性差があり、オスでは少なく、メスでは性周期に伴つて弓状核の特に漏斗後部で細胞数が変動することを見出した。細胞内の超微細構造も性周期に伴つて変化することも、電子顕微鏡を用いて形態学的に明らかにした。

この時の教訓は今でも自分の中に息づいている。その時々の一般的に考えられている学術的通念というものは時間が経過すれば変わるということである。実験結果をよく観察することが大切であり、実験結果をそれまでの通念に当てはめるのではなく、逆に、自分が確認した実験結果を基にして、それまでの通念を再考するという姿勢で研究を進めていくことが大切であると考えようになつた。これ以後、これとは別に得たいいくつかの実験結果の観察からも、実験結果がその時々の一般的な考え方とは違う結果の場合、全てではないが、自分の実験結果が結局正しかつたこと

を経験している。だから、若い人には、自分の目で結果をよく観察し、自分の頭で自分が見た結果を基にして考えることによって、新しい考え方や結果に繋がるかもしれないということを知ってもらい、実験を進めてほしいと思っている。それと、得られた結果は、必ず、そしてできる限り早く論文にまとめて学術雑誌に掲載することが重要だと考えている。そして、新しい結果と考え方をきれいにまとめて学術雑誌に発表してその知見を世界に広めてほしい。

この論文の結果を示す模式図であり、左が図1で、右が図2である。当時は、全て手書きによる模式図であった。

