

最終講義

形から細胞の機能を考える

村田 長 芳

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科運動機能修復学講座
細胞生物構造学研究分野
(原稿受付 平成17年8月4日)

1. はじめに

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科関係の皆さん、鹿児島大学の他学部の皆さん、名誉教授の皆さん、医学部、歯学部の学生の皆さん、職員の皆さん、同窓会、同門会の皆さん等をお迎えして最終講義が出来ます事を大変嬉しく存じますし、またこのような最終講義の機会をお作り頂いた関係者の皆さんにお礼申し上げます。

2. 講義の構成

今日の最終講義の構成を①光学顕微鏡から電子顕微鏡まで、②複合糖質組織化学との出会い、③形としてのゴルジ装置とゴルジ装置の機能、④凍結標本を中心に壁細胞の形と機能を考える、⑤最終講義の締めくくりに別けてお話ししたいと思います。

3. 光学顕微鏡から電子顕微鏡まで

今日は学部の学生さんもこの最終講義を聞きにたくさん来てれています。私自身これまで光学顕微鏡と電子



顕微鏡を使って研究をして来ました。特に電子顕微鏡に関しては医学部共同利用研の形態部門の室長を任せられ、小生のみならず、教室の共同研究者が皆電子顕微鏡を用いて研究して参りました。

まず、最初に光学顕微鏡、電子顕微鏡が形態学の研究機器として出現せねばならなかった必然性からお話したいと思います。この講義の導入のスライドには当時の医学部の予算と鶴陵会のご援助も得て購入し、現在も共同

筆者のプロフィール



- ◆昭和14年7月 長野県北佐久郡北御牧村（現東御市）に生まれる
- ◆昭和34年3月 信州大学医学部医学科入学（昭和40年3月卒業）
- ◆昭和41年4月 信州大学大学院医学研究科入学（解剖学専攻）、単位取得退学（昭和45年3月）
- ◆昭和45年4月 信州大学医学部助手に採用（医学科解剖学第一講座）
- ◆昭和49年1月 信州大学医学部講師に昇任（解剖学第一講座）
- ◆昭和49年5月 信州大学医学部助教授に昇任（解剖学第一講座）
- ◆昭和53年10月 鹿児島大学医学部教授に昇任（医学科解剖学第二講座）
- ◆平成3年7月 鹿児島大学評議員（～平成5年6月）
- ◆平成13年4月 鹿児島大学機器分析センター長（～平成15年3月）
- ◆平成15年8月 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科教授に配置換（細胞生物構造学分野）
- ◆平成17年3月 鹿児島大学を定年退職
- ◆平成17年4月 鹿児島大学名誉教授

利用研で稼働中の日立の電子顕微鏡をお示ししています。この後医学部概算要求でもう一台の電子顕微鏡を購入出来、電子顕微鏡研究の新人とベテランが同じ電子顕微鏡を使うという事を避ける事が出来るようになりました。嘗て、鶴陵会報で電子顕微鏡購入での鶴陵会からの支援には謝辞を申し上げましたが、改めてこの場での事をご紹介し謝意を表したいと思います。

ところで、近代解剖学は1543年にA. VesaliusがFabricaを出版した時に始まると云ってよいと思います。この年に地動説を唱えたNicolaus Copernicusは死亡しましたが、彼の『天体の回転について』がこの年に出版されています。日本では種子島に鉄砲が伝来した年に当たります。九州大学医学部にはかつて医史学について大変詳しい先生がたくさんおられました。それで九州大学の図書館には初版本ではありませんがFabricaの二版か三版のものが残っています。VesaliusのFabricaは中世の解剖学を全否定したのではなく、中世の解剖学をもとに、Vesalius自身が解剖して見つけ出した新しい所見を200以上加えたもので、画家の助けを借り16世紀の本ではありますがたいへん素晴らしい本です。私も拝見しその素晴らしさに驚嘆しました。皆さんにも是非一度ご覧になって頂きたいと思います。

近代解剖学は、16世紀に肉眼解剖学で始まったわけですが、肉眼で見えるものには当然限界があります。肉眼では解像出来る限界はほぼ80μmです。これより小さなものは見えません。

Fabrica (1543) & A. Vesalius (1514-1564)



肉眼で見える限界

- 1) 動物細胞は直径10-20μm、つまり、肉眼で見ることのできる最小の粒子の約5分の1である。(Cell: 第4章)
- 2) 肉眼で解像できる限界は0.1mm=100μmよりやや狭い80μmである。
- 3) もっと小さな構造を見ることへの欲求、器械の開発→光学顕微鏡の開発。

VesaliusのFabrica出版から約一世紀を経て、解剖学は顕微解剖学(組織学)へと発展します。ここに二人の人物、オランダのA. van LeeuwenhoekとイギリスのR. Hookeが登場して来ます。前者は研究者ではなくオランダの織物業者でしたが、単式顕微鏡を用いて色々なものを観察し、その結果をイギリス王立協会に送っています。こんな簡単な顕微鏡で原生動物、細菌、赤血球を観察し、骨格筋の横紋まで観察しているのにはびっくりさせられます。もうひとり、イギリスのR. Hookeは複式顕微鏡でものを観察しています。Hookeは「ニュートンに消された男」として有名ですが、組織学の分野ではコルクの断面に蜂巣状の構造を観察してそれに「cell」という名前を付けました。Hookeが呼んだ「cell」と現在の細胞とは同じものではありませんが、言葉自身は今も生き残り、将来ともこの言葉は身体の基本構成単位を表す言葉として受け継がれて行くでしょう。



図10 Antoni van Leeuwenhoek (1632-1723) の肖像画



図11 Leeuwenhoekの単式顕微鏡



図12 Robert Hookeの複式顕微鏡



A. van Leeuwenhoek (1632-1723) R. Hooke (1635-1703)

ところで、顕微鏡の改良はその後も鏡体、レンズ、集光装置等を中心に進み、19世紀末から20世紀初頭にはほぼ完成の域に達します。ここで光学顕微鏡の解像力を考えてみたいと思います。光学顕微鏡の解像力はスライドのようなE. Abbeの式で与えられます。簡単には光学顕微鏡の解像力を規定するのは可視光の波長によると云ってよいわけです。そして光学顕微鏡の場合その性能のいかにかわらず、可視光を用いる限り200nm (0.2μm)以下の距離の識別は不可能であると云う事になります。

光頭での最小二点間の識別距離の一例
波長: 546nm
N.A: 最大は1.4
 $d = 546 / 2 \times 1.4 = 200\text{nm}$



可視光を用いる限り 200nm (0.2μm)以下の距離の識別は顕微鏡の性能にかかわらず、不可能である。

この限界を解決すべく新しい試みが始まりました。それは可視光に比してより短い波長の光源を用いる事でした。二つの候補、紫外線とX線がまず試みられました。前者は紫外線顕微鏡になりますが、レンズ材質に石英を用いるなどの工夫はしても期待したほどの解像力の向上に繋がりませんでした。波長も可視光に近く、理論的にもそう高い解像力が期待できない事は自明の理でした。一方、X線の方はエネルギーが高いため焦点合わせが難しく、磁石で曲げる事が出来ないなどの理由でそれ以上の進展はありませんでした。

第三の候補として、電子線（陰極線）が登場して来ました。この線は電荷を帯びているために、磁場、静電界で焦点合わせが出来る利点を有していました。しかし、透過力が極めて弱い事、真空中でないと直進出来ないなどの欠点を持っています。

短い波長の光源

- 1) 紫外線
Koelerの努力で分解能100nmまでは達した→使用法が面倒
- 2) X線→エネルギーが高いため、焦点合わせが難しく、磁石で曲げることができない
- 3) 電子線（陰極線）→電荷を帯びているため、磁場、静電界により焦点合わせが出来る

ここで理論的に電子顕微鏡では光学顕微鏡に比してどのくらい優れた解像力が得られるかを波長の比較で見えます。電子線の波長は一般に100Kvくらいまでの加速電圧ではスライドの如くDe Broglieの式で求められます。可視光のひとつを546nmとし、加速電圧を50Kv, 100Kvの電子線と比較して見ます。50Kvの加速電圧ではその波長は0.0054nm, 100 Kvではその波長は0.0038nmとなります。理論的には加速電圧50Kvでは光顕の101,100倍, 100Kvでは144,000倍の優れた解像力が得られる事になります。しかし、実際には硬い鋼材に非常に細い真直ぐな孔を開けなければならない等の機械的制約のため、実際の得られる電子顕微鏡の分解能は光学顕微鏡に比して約2,000倍というところですが。しかし電子顕微鏡は光学顕微鏡では解像できない細胞膜などをちゃんと見る事が出来ますし、光顕の時代にその存在の知られていたミトコンドリア, ゴルジ装置, 中心小体などにより詳細な形態的情報を提供するようになりました。刷子緑, ライソゾーム, 小さな内分泌細胞の顆粒等もちゃんと見えるようになりました。

この項の最後のスライドにE. Luska教授の写真を入れました。Luska教授は世界で最初に電子顕微鏡をつくったグループの一人で、電子顕微鏡の開発は1930年初めに始まりました。日本で学術振興会に電子顕微鏡小委員会

が作られたのは1939年の事です。この年ドイツのSiemens社はもう電子顕微鏡の市販を開始していました。日本に限らず、医学・生物学者の多くは電子線による高温で試料の破壊をおそれ、電子顕微鏡の利用には消極的でした。日本の電子顕微鏡小委員会にも医学・生物学の研究者の参加は最初ありませんでした。『電子顕微鏡, あれはスルメを見て烏賊を想像せよと云うようなものだ』という風な例えが云われ、私も病理学の講義で教授からまったく同じ話を聞かされました。従って、院生になった当初は、電子顕微鏡の研究はやるまいと思っていました。しかし、技術は進み、上述の問題は解決の方向にあり、電子顕微鏡の研究には優れた長所が多々ある事が電子顕微鏡を使った研究を開始して間もなくわかりました。食わず嫌いは学問の分野でもいけなと思います。

電子線の波長は De Broglie の式

可視光: 546nm $\lambda = \frac{12.2}{\sqrt{V}} \text{ \AA}$ (V: 加速電圧)

電子線

加速電圧50kv	: 0.0054nm
加速電圧100kv	: 0.0038nm
546nm/0.0038nm	= 143,684

実際: 光顕の2000倍の解像力

光顕	: 200nm
電顕	: 0.1nm

**ルスカ教授: 1986年
Nobel prize laureate**



西ドイツ、マックス・プランク研究所教授。
1906年12月、西ドイツのハイデルベルクに生まれる。ミュンヘン工科大学卒業後、1933年にベルリン工科大学で博士号を取得。1936年、ジーメンス社に入社。1939年から同社は電子顕微鏡を売り出した。1955年マックス・プランク研究所のフリッツ・ハーバー研究所にある電子顕微鏡施設長に就任し、1959年からはマックス・プランク研究所教授となる。



4. 複合糖質組織化学との出会い

Histochemistry of Connective Tissue
Mucopolysaccharides
SAMUEL S. SPICER, ROBERT G. HORN AND T. JOHN LEPP

4. 複合糖質組織化学との出会い

大学院では塩基好性白血球の電顕的、酵素組織化学的を行いこれで学位を頂きました。研究を行っているうちに、この細胞が肥満細胞同様ヒスタミンとヘパリンを顆粒に含有し臨床的にも大事な細胞である事がわかりました。しかし、当時の技術ではヒスタミンは低分子で形態的にこれを捕捉する事は出来ませんでした。一方ヘパリンの方は高分子でこれが顆粒の異染性にも関係し、ポリアニオンゆえにカチオンの塩基性色素で染める一般的染色法は多数存在していました。³⁵Sを用いればradioautographyでその存在を確かめ得るところまで来ました。ここで院を終了し、アメリカに留学する機会を得ました。最初のボスは心筋梗塞でお亡くなりになり、次にご指導頂いたのがS. S. Spicer教授でした。

日本の院生時代にもSpicer教授のグループの論文はいくつか読んでいましたが、Spicer教授が複合糖質組織学の権威者であるとは知りませんでした。タイトルのバックはSpicer教授の書かれた複合糖質の総説の本を使っています。次のスライドはSpicer教授の書かれた複合糖質証明法の総説から最初の部分の引用です。詳しく見るとこれらの証明法の殆どが一般的証明法である事が解ります。わずかに、最後の部分に複合糖質に対する抗体を用いる特異性の高い蛍光抗体法の事が書かれているに過ぎません。そんな研究レベルにがっかりしていたかと言うと、一般的証明法のすべてを私は熟知していたわけではなく、一般的証明法を用いての研究は楽しく、得るところも多く、この一般的証明法を用いての研究に熱中して新しい所見が出る事に喜んでおりました。

Histochemical methods for mucosubstances

TABLE 46. OUTLINE OF HISTOCHEMICAL METHODS FOR MUCOSUBSTANCES

I. Autoradiography with $\text{Na}_2^{35}\text{SO}_4$
II. Visualizing acid groups with basic dyes: thiazins (azure A), azin (safranin O), copper phthalocyanines (alcian blue), colloidal iron, aldehyde fuchsin, acridine orange, mixed diamines, iron diamine
A. Metachromasia versus orthochromasia
B. Differentiation of mucosubstances according to acidity, e.g., with thiazins or alcian blue at controlled pH
C. Differentiation with basic dyes at controlled ionic strength with or without prior cetyltrimethylammonium chloride
III. Sequence of basic dyes: aldehyde fuchsin-alcian blue (or dialyzed iron), iron diamine-alcian blue (or dialyzed iron), alcian blue-alcian yellow, alcian blue-safranin
IV. Oxidation-chromogen sequence to demonstrate <i>vic</i> -glycols: HIO, followed by Schiff reagent (PAS), a <i>p</i> -diamine, phenylhydrazine and diazonium salt (formazan), naphthoic acid hydrazide and diazonium salt or salicyloyl hydrazide. Pb(Ac) ₂ -Schiff, K ₂ Cr ₂ O ₇ -Schiff, KMnO ₄ -Schiff
V. Sequence of basic dye and <i>vic</i> -glycol methods: alcian blue-PAS, colloidal iron-PAS
VI. Chemical modification of reactive components: methylation or CPC blockage of acid groups, phenylhydrazine blockage of aldehydes, acetylation blockage of <i>vic</i> -glycols, acid and alkaline hydrolysis
VII. Enzymatic removal of reactive components: diastase, hyaluronidase, sialidase
VIII. Sulfation followed by staining of artificially introduced sulfates with basic dyes
IX. Staining with fluorescent labeled antibodies

1971年の10月頃と思いますが、Spicer教授の部屋でSpicer教授と講師のB. J. Martinが一枚の電顕写真を前に盛んに議論しているところに出くわしました。その時、

初めてレクチンのConcanavalin Aという言葉を目にし、早速B. J. Martinの部屋へ行き、論文を教えてもらいました。それは、その前年二人のフランス人研究者W. Bernhard とS. AvameasによってExp. Cell Res.に発表された論文でした。Concanavalin Aという言葉もレクチンという言葉もその時私は始めて耳にしました。この方法の証明原理は大変スマートで、二つの結合部位を持つConcanavalin Aが一方で細胞膜の糖鎖に結合し、もう一方で西洋ワサビペルオキシダーゼの中にある糖鎖に結合する、その後ペルオキシダーゼをdiaminobenzidine反応で具現化する事でした。この方法は光顕、電顕両レベルで用いる方法ですが論文には光顕写真はなく、電顕写真だけが掲載されていました。この論文はレクチンを用いた、特異的複合糖質証明法のはしりであり、この時点でConcanavalin Aを知り、レクチンを知りこの様な自分が研究している状況を航空便で日本に知らせましたが、日本の所属教室からの反応は鈍かったです。当時、日本では複合糖質の組織化学的研究をしている研究者は少なく、レベルも高くありませんでした。

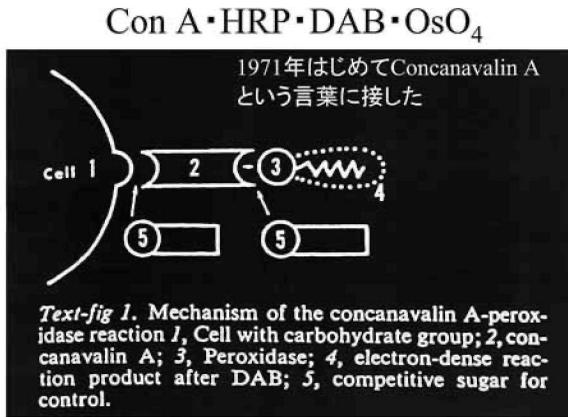
糖質の特異的組織化学の研究を開始してJ. B. Sumner教授を知り、野口英世博士にレクチン研究のある事を知り、レクチンなる言葉も知りました。それまではレクチンとは云わず、phytohemagglutinin (植物血球凝集素)と呼んでいました。二人の頑張り屋の研究者、その人となりのスライドを供覧します。また自分たちが染めたConcanavalin A染色の電顕写真を示します。この写真は高温多湿の鹿児島でカビも生えず保存されていたものです。ところで、抗原と抗体、糖鎖とレクチンの関係はその特異的結合の点ではまったく同じですが、抗体とレクチンには本質的に異なる部分がいくつかあります。スライドにはその相違を略記してあります。この複合糖質の発展として鹿児島で開催された複合糖質の国際シンポに來られたSpicer教授夫妻、これも腎臓の複合糖質の研究ではよい仕事をしており、シンポジウムには母国フィンランドからではなく、Spicer教授の研究室から参加されたH. Holthofer博士夫妻の写真をスライドで示します。

糖鎖の電顕的証明法

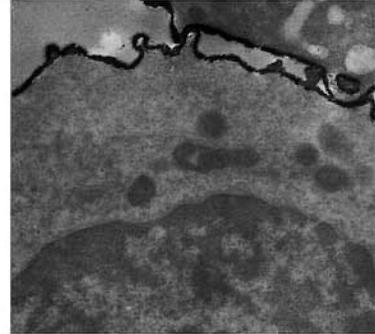
Bernhard W. & Avrameas S.

Ultrastructural visualization of cellular carbohydrate components by means of Concanavalin A.

Exp. Cell Res. 64 : 232-236 (1970)



ConA • HRP • DAB • OsO₄ staining



Prof. J.B. Sumner

Cornell大学教授
 1916年ノーベル化学賞受賞
 1919年
 タチナタマメ (*Canavalia ensiformis*) から蛋白質を単離、結晶化に成功
 Concanavalin A と名付ける
 1926年
 豆科植物から酵素の urease を初めて結晶として取り出す
 1936年
 レクチンの糖に対する特異的反応の発見、Con A による赤血球凝集作用が蔗糖により阻害される事から赤血球凝集反応は凝集素の蛋白質と赤血球細胞膜表面上の糖質の反応で起こる

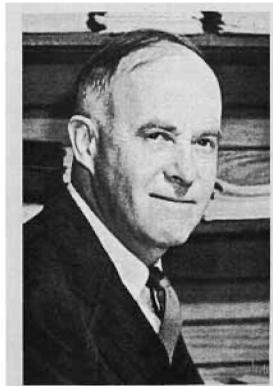


Fig. 2.3 James B. Sumner (1887-1955).

The term "Lectin"
Phytohemagglutinin

Specific Precipitating Activity of Plant Agglutinins (Lectins)

Blood group specific agglutinin have been detected in the seeds and other parts of certain plants (1-7). They promise to have theoretical and practical importance, and we are engaged in a study of their immunochemical properties. One of us has proposed the term "lectin" (from the Latin lego, to choose or pick out) for these and other antibody-like substances. We have recently.....

Science 119 : 419 (1954)

William C. Boyd
 Elizabeth Shapleigh

アメリカのてんぼう
James Batscheller Sumner
(1887年-1955年)

コーネル大学教授、1946年ノーベル化学賞受賞
 17才の時、友達の誤射した弾丸が左腕に命中、サムナーは左利きであった。
 五体満足の人間にひけをとらない事、それがサムナーの心に秘めたモットーとなった。
 野口英世との比較
 負けず嫌い
 執念深い
 几帳面で正義感が強い
 両者とも癡癡気質である (中井久夫教授)

抗原と抗体
糖鎖とレクチン

1. 両者は特異的結合を来たす点でよく似ている。
2. 抗体は高等動物において、抗原刺激の結果作られるものであるが、レクチンは植物、動物、細菌などに生来内在している。
3. 抗体の分子構造には一定の類似性があるが、レクチン分子は分子量一つをとってもきわめてまちまちである。

野口英世
博士



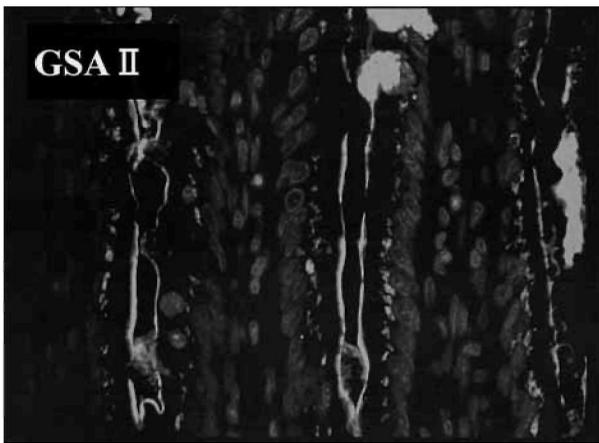
Noguchi H (1902)
 Univ. Pa. Med. Bull. 15 : 295-301
 Noguchi H (1903)
 Zentralbl. Bakteriol., Parasitenkd.,
 Infektionskr. Hyg. Abt. 1 : Orig.
 34, 286

Prof. & Mrs.
S.S. Spicer
1971年秋



5. 形としてのゴルジ装置とゴルジ装置の機能

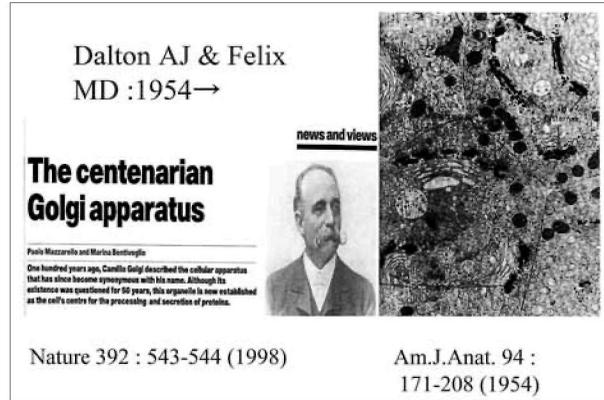
一枚GSAIIで染色したラットの小腸の写真を示します。このレクチンによって杯細胞が染まり、円柱上皮・杯細胞の糖衣が染まっているのが解ります。同時にもう一箇所、円柱上皮も杯細胞もその核上部が染まっているのが解ります。これこそはこのレクチンによるゴルジ装置の染色であります。しかし、光顕の解像力ではゴルジ装置の構成成分のどこが染色されているかは解りません。



組織学、細胞生物学の研究に携わる者にとって、ゴルジ装置は大変魅力的な小器官です。この細胞小器官は1898年にイタリアのC. Golgiによりフロウの小脳のプルキンエ細胞に於いて初めて見いだされました。その後、この細胞小器官の存在に関して、これが真に存在する細胞小器官か、人工産物かについて延々議論が続きましました。ひとつに光顕の解像力が、もう一つは不安定な染色法である鍍銀法がこの解決を長引かせたと云えます。この問題は1954年A. J. Dalton & M. D. Felixによって、オスミウム鍍銀法を用いた研究で、この細胞小器官は細胞に恒常的に存在する細胞小器官であり、決して人工産物ではないとの結論に達しました。1998年はこの細胞小器官発見100年に当たり、シンポジウムや出版が相次ぎましました。

ゴルジ装置の発見

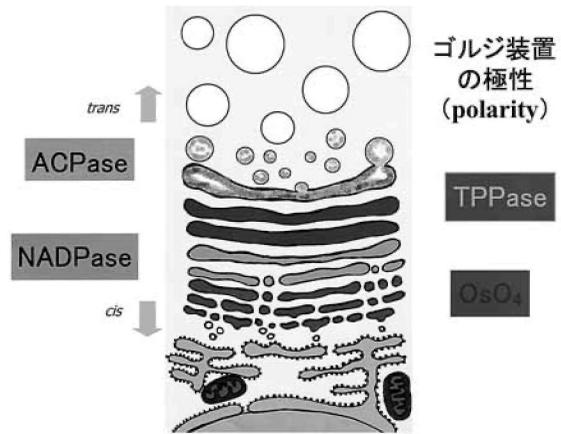
1898年、伊、Camillo Golgi (1843-1926)
 1906年 Nobel prize laureate
 フロウの小脳のプルキンエ細胞体に硝酸銀によって黒染する網状構造を発見、これにゴルジ装置(Apparato reticolare interno)の名を冠す。その後、この構造が真に存在する構造か、人工産物かをめぐって延々議論が続いた。光顕の解像力がこの結論を長引かせた。



ゴルジ装置の機能をまとめて見るとスライドの如くなります。この中の②, ③を中心に話をさらに進めます。次のスライドはゴルジ装置の極性を示したものです。ゴルジの構成要素をcis, medial, transに別けてその各々の部分を見てみると, cisからtransmostに向かってOsO₄, NADPase, TPPase, ACPaseにより染まる事が解っています。これら四つの染色はゴルジ装置に極性がある事を示しています。

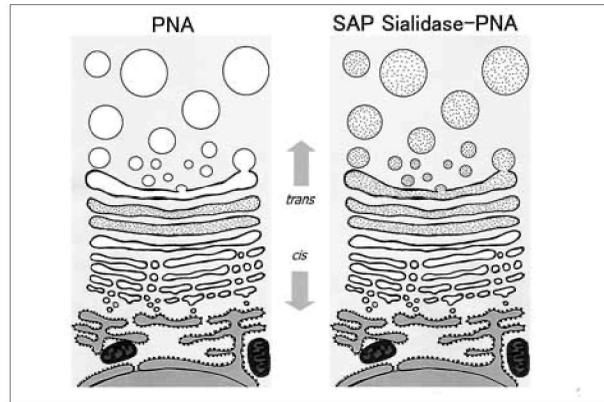
ゴルジ装置の主な機能

- ①腺細胞における分泌物の形成
- ②糖結合部位としてのゴルジ装置
- ③糖衣形成への関与
- ④水解小体の形成
- ⑤細胞内プロセッシングの場所
- ⑥その他、脂肪の吸収



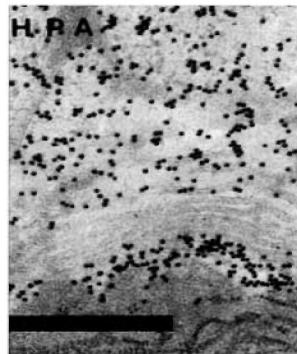
私達はこのようなゴルジ装置の極性をいくつかのレクチン染色との関係で見ました。スライドでまずカタツムリレクチン (HPA) の染色を示します、このレクチンはゴルジ装置のcisとtrans両領域を染めますが、medialは染めない事が解ります。次のスライドはレクチン研究初期の私達の傑作写真ですが、ピーナッツレクチン (PNA) による染色です。左はコロイド金とレクチンで

直接コンジュゲートしたものによる染色，右側はPNAレクチンに対する抗体を用いた染色ですが，最近私達は後者の方法を用いています。それは前者よりレクチンの標識密度が高いからですが，このピーナッツレクチンではゴルジ装置のmedialの部分に染色されている事が解ります。次のスライドは立体障害の結果PNAレクチン染色がどう変化するかを見たものです。左側の写真は前のものと同じですが，右側の写真は鹼化→酵素処理→PNA染色をしたものです。鹼化後，シアリダーゼによりシアル酸が切断され，ガラクトース残基が暴露され，ゴルジ装置のmedialのみならずゴルジ装置の広い領域，さらに無処理では染まらなかった顆粒が染まっているのが観察されます。組織化学にあまりお詳しくない方に両者の染色性の違いをスキーマで示したのが次のスライドです。

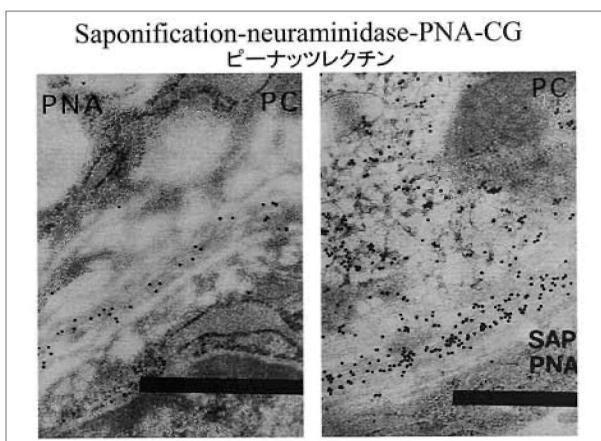
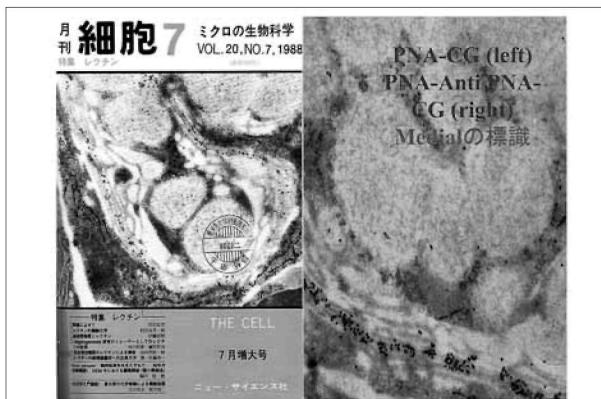
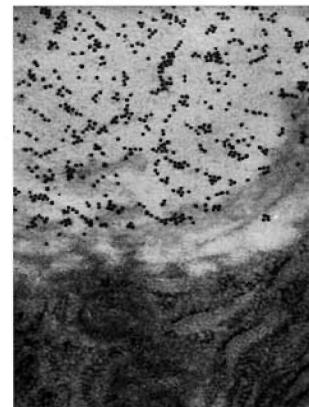


次のスライドはコウラナメクジレクチン (LFA) で染色されたゴルジ装置の写真です。このレクチンはシアル酸残基を認識しますが，ゴルジ装置のtrans, transmost領域並びに顆粒が染色されています。以上，いくつかのレクチン染色の実例をお示しましたが，我々が行ったたくさんのレクチンによるのゴルジ装置におけるレクチンの結合部位を示したのが次のスライドです。

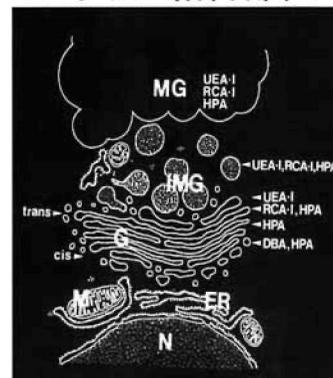
HPA-CG
近位結腸
カタツムリ
レクチン
cisとtransの
標識



Prox.colon
LFA-CG
コウラナメクジ
レクチン
NANA結合レクチン
transmost Golgi の
標識



レクチン結合部位



ゴルジ装置に関して，その染色に関して，追加事項を申し述べます。次のスライドはレクチン染色ではありません，PA-TCH-SP染色です。この染色原理は光顕のPAS染色と同じで糖の中の近接グリコール基を証明する糖の一般的染色法ですが，この写真では十数層に及ぶゴ

ルジ装置の層板が染まっています、その染色はcisからtransに向かつて強くなっている事が解ります。こんなに層板の多いゴルジ装置は滅多に見られない事です。また、今までコロイド金で標識したたくさんの写真をお見せして来ましたが、次のスライドは薩摩切子の写真です。この薩摩切子のうち赤薩摩の作り方は二つあります。その一つがコロイド金を用いる方法です。私は国内外のシンポジウム、ワークショップでは研究スライドの中に一枚この赤薩摩のスライドを加え赤薩摩がコロイド金利用の別の例である事、この赤薩摩が明治維新期に鹿児島で作られていた事をいつも話しています。



薩摩切子:赤薩摩:もう一つの コロイド金の応用



次のスライドでは、複合糖質の研究の難しさをお示ししたいと思います。ペプチドの場合、三つの異なるアミノ酸から出来るペプチドは6種類、四つの異なるアミノ酸から出来るペプチドは24種となります。一方三つの異なる単糖から出来る糖質は1,056種類、四つの異なる単糖から出来る糖質はなんと3,500種にも及びます。この事は複合糖質研究の難しさの一端を示す証左になると思います。これだけの複雑さがあると得られた結果の解釈がたいへん難しくなります。

ところで、これまではレクチンを用いたゴルジ装置における糖鎖の局在について話して参りましたが、ゴルジ装置に糖鎖が存在するなら、ゴルジ装置ヘドナーから糖

鎖を移す役割を演じるものがなければなりません。これが糖転移酵素です。私たちは旧生化学第二講座の村松喬教授、小澤政之助教授の御指導協力を得て、この仕事に挑戦しました。

N-Acetylglucosaminide β 1-4 galactosyltransferase の局在

J.Biochem. 102 : 665 (1987)

J.Histochem.Cytochem. 39 :
299(1991)

Galactosyltransferase from F9 cell

TABLE I. Purification of the galactosyltransferase from F9 cells.

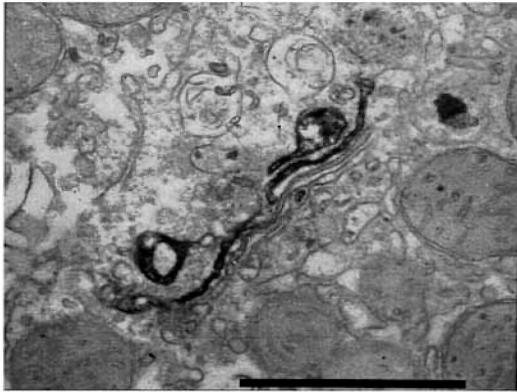
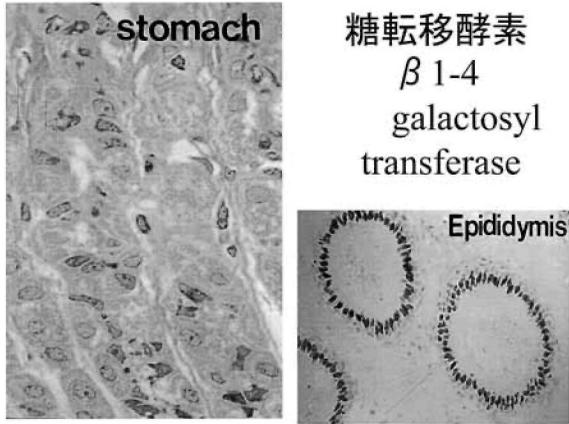
Step	Volume (ml)	Total protein (mg)	Incorporation of [³⁵ S]-methionine ^a (cpm)	Total activity (units × 10 ³)	Specific activity (units/mg protein × 10 ³)
1. Homogenate	15.6	51.0	1.78 × 10 ⁶	42.2	0.00827
2. Triton extract	15.0	11.0	3.61 × 10 ⁷	29.6	0.00267
3. SP-Sephadex	30.0	3.02	8.00 × 10 ⁶	19.7	0.00652
4. DEAE-Sephadex	45.0	1.44	3.82 × 10 ⁶	17.3	0.0120
5. RCA-agarose	50.0	0.908	2.41 × 10 ⁶	11.3	0.0124
6. GlcNAc-Sepharose, I	80.0	0.0311 ^b	8.25 × 10 ⁶	7.27	0.229
7a. GlcNAc-Sepharose, II ^c	100	0.00196 ^b	5.24 × 10 ⁶	2.84	1.45
7b. α -Lactalbumin-Sepharose ^c	100	0.00272 ^b	7.22 × 10 ⁶	3.06	1.13

^a The enzyme was purified simultaneously from the ³⁵S-labeled cells. ^b Protein content was calculated from the amount of [³⁵S]methionine incorporated, based on the protein content and [³⁵S]methionine incorporation at Step 5. ^c One half of the Step 6 material was applied to GlcNAc-Sepharose and the remaining half to α -lactalbumin-Sepharose.

我々が選んだのはN-Acetylglucosaminide β 1-4 galactosyltransferaseで、この仕事は菅沼龍夫助教授が熱心にやってくれました。現在と違って当時は目的とする酵素のある特定の部分のポリペプチドを抗原にして、これに対する抗体を作る方法はまだ一般には行われておりませんでした。F9 cellからこの酵素を抽出精製して、これに対する抗体を作成する方法を用いましたが次のスライドは我々の生成結果です。これで染色したラット胃底腺と精巢上体の免疫染色の結果を示します。胃底腺では副細胞のゴルジ装置が染色されている事が解ります。精巢上体の細胞は最も大きなゴルジ装置を持つ細胞として有名ですが、この写真で核上部、ゴルジ装置相当域がたいへん強く均質に染まっているのが解ります。

次のスライドは肝臓におけるこの酵素の局在を示します。当初、私達はこの酵素の局在を超薄片染色法(包埋後染色法)で染めれば結果は一ヶ月くらいで出るであろうと考え、この方法を試みたのですが、期待した結果はなかなか得られませんでした。国内外の報告を見ても包埋後染色法で成功しているものはない、包埋前染色法でやらねば駄目であろうとの結論に達するのに一年以上も掛かりました。スライドは包埋前染色法でマーカーとして西洋ワサビペルオキシダーゼを用いて染めた結果ですが、ゴルジ装置のmedialの領域が染まっている事が解り、ここにこの転移酵素が存在する事が解ります。これ

はガラクトース結合レクチンを用いて染めた、ゴルジ装置に於けるガラクトース残基の存在場所との関係で矛盾なく理解出来る結果であると思います。

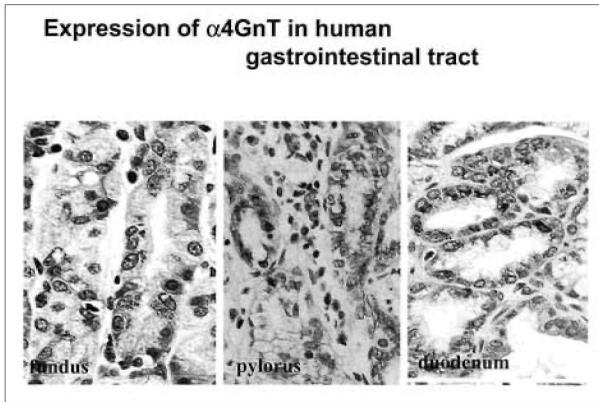


私たちは信州大学臨床検査医学講座勝山努教授，病理学講座中山淳教授との共同研究で最近糖転移酵素のうち α 1,4-N-Acetyl glucosaminyl transferaseの局在に付きその局在を今度はこの酵素のペプチド部分を抗原にする新しい方法で抗体を作り染色しました。この酵素が働いた結果出来る糖鎖を認識する抗体も既に作られております。この方法でもこの糖転移酵素がゴルジ装置に存在する事がはっきり示されました。

α 1,4-N-Acetylglucosaminyl-transferase (α 1-4GnT) forms

GlcNAc α 1-4Gal β -R structure

Paradoxical Con A staining, type 111 HIK 1083 antibody



6. 凍結標本を中心に壁細胞の形と機能を考える

細胞，組織の構成細胞を形態的に観察する時，私達は普通には化学固定を用いるのは普通です。固定の仕方にはもう一つ凍結固定と云う方法があります。

理想的固定とはどんなものか，化学固定が極端に行われた時にその形態はどう変化するかを次の二つのスライドに示しました。

Ideal Fixation

Preserve the natural state by instantaneously capturing and fixing in place every atom and molecule in a sample.

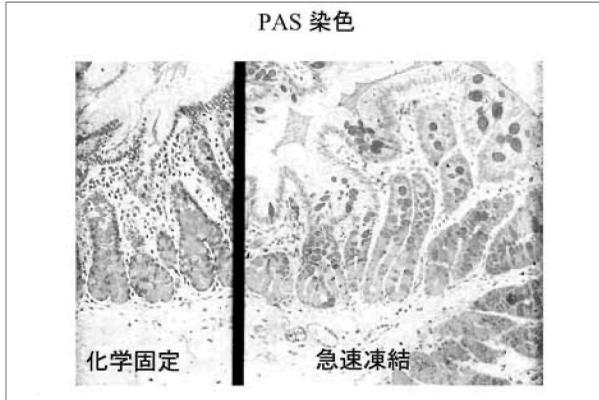
1) Chemical fixation
Immersion fixation
Perfusion fixation

2) Freezing fixation
Rapid fixation
High Pressure Freezing

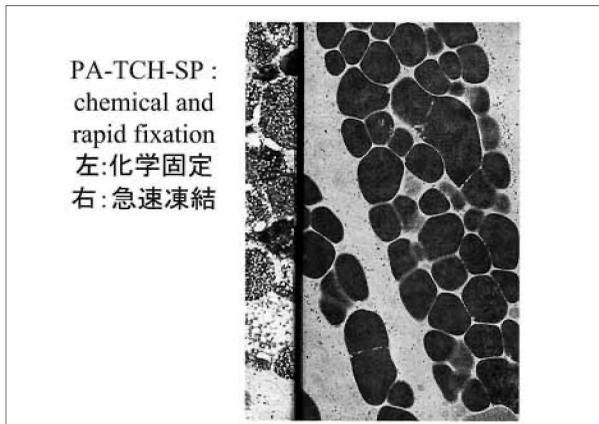
Fig. 2a-e. Typical biological ground planes before and after transfer into organic liquids or after fixation. a: A plain network of globular and rod filament macromolecules. b: A network of filaments and globular elements. The network or fixation-induced aggregations are shown below with different degrees of coarseness. The number of globular macromolecules in the same before and after aggregation. The dots in c' show crosslinks necessary for freezing in gel.

私は院生の時，可溶性物質の組織化学的研究の目的で凍結乾燥の形態標本作成に参加したことがあり，それ以来凍結固定には常に興味を持って来ました。私が参加した電顕レベルでの凍結乾燥標本作成は形態観察の究極の方法ですが，細胞には水が多量に含まれ氷晶を形成し，細胞に大きな穴を開け形態を壊しこの克服は大変難しい方法です。しかし，凍結固定には化学固定の及ばない優れた面がある事を次のスライドで示します。これはラッ

トの近位結腸を左は化学固定，右は凍結固定し，PAS染色したものです。明らかに，凍結固定に基づく標本の方が優れた標本になっている事が解ります。



鹿児島大学医学部に着任してしばらく経った1980年代，電子顕微鏡の研究では急速凍結技法が導入され，これで観察された素晴らしい電顕像が学会で発表され，論文にもなりました。我々もこの急速凍結の技法に挑戦しました。スライドは教室にある，二つの急速凍結装置を示します。左は冷却に液体窒素を用いる装置，右は液体プロパンを用いる装置です。私達は左の装置は主に電顕標本作成に，右の装置は光顕標本作成に使って来ました。電子顕微鏡レベルでも，凍結固定が明らかに優れている事はPAS反応の電顕レベルでの染色PA-TCH-SP染色でも解ります。左は化学固定，右は凍結固定を行ったラット結腸杯細胞の写真です。



急速凍結の方法は今でも使われておりますが，常圧で行われてよい方法ですが，この方法の欠点は理想的な凍結状態（それを硝子様凍結と呼んでいます）の得られる範囲が極めて狭い事です。冷却に液体窒素を用いようが，液体ヘリウムを用いようが硝子様凍結が得られるのは僅か10から15ミクロンに過ぎない事です。細胞にはその直径が15ミクロンを超える細胞はたくさんあるわけで，その極端な例は卵細胞や神経細胞ですが，これらの細胞では細胞のごく一部しか理想的状態では固定されない事になります。胃底腺や結腸のように全長数百ミクロンもある組織では，とてもその構成細胞のすべてを硝子様凍結の状態を観察する事は出来ません。常圧の凍結では凍結に非常に早い冷却速度が要求され，これを満たす事は出来ずこれが急速固定の理論的・物理的制約となります。

この問題を解決する目的で高圧凍結が登場して参りました。この技法は約40年の歴史を持っていますが，現在二種類の高圧凍結装置が市販され段々一般的になって来ました。世界には現在約80台ほどの高圧凍結装置が稼動していますが，その8割強ほどは日米の研究機関にあり，その比率はほぼ一対一です。

**The limit of rapid freezing
(急速凍結の限界)**

Attempts to freeze wet objects for electron microscopy revealed that at normal atmospheric pressure and the favorable condition only an approximately 10-15 micron meter border zone can be perfectly frozen.
Sitte H et al.1987

**Rapid freezing (急速凍結)
vs.High pressure freezing
(高圧凍結)**

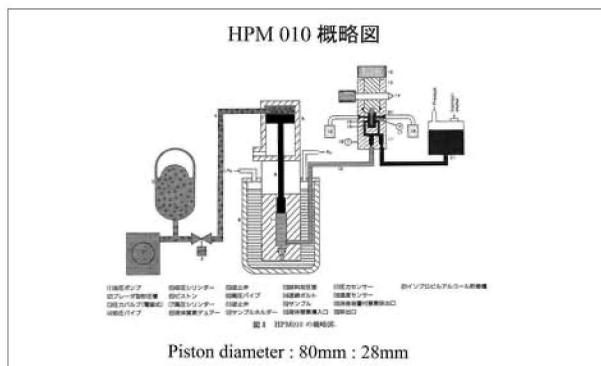
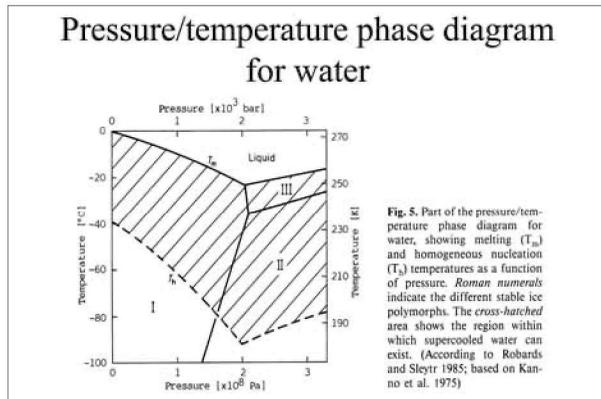
	RF	HPF
Freezing speed	10,000°C/sec	200°C/sec
Optimal vitrification depth	10-15 μm	150-600 μm
Cooling material	liquid nitrogen liquid helium	liquid nitrogen
Price	1 ~3,000,000 yen	25,000,000 yen

この装置ではスライドの如く，急速凍結に比し，約十倍の硝子様凍結の深さないし幅，厚さが得られます。こ



これは、前述の胃底腺、結腸を丸ごと硝子様凍結に出来る事になります。ただ、この装置の唯一の欠点は、値段が非常に高価な事です。

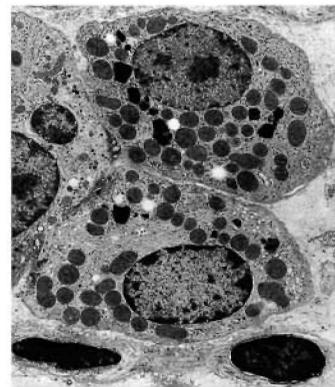
この問題はこの装置の有用性が認識され、もっとたくさんの研究者がこの装置を使用する事で価格対使用効果の問題も解決されると思います。私達は鹿児島大学医学部の御理解の下、日本で最初にこの装置を購入する事が出来ました。スライドにはその実物の写真と急速凍結、高圧凍結の比較を示しています。次のスライド二枚は高圧凍結に於ける水の動態と装置の概略を示しています。2,100気圧の高圧凍結状態では水の氷点が下がり、水の粘度も上昇し、急速凍結で要求されるような非常に早い凍結速度を要求されません。この事が厚い硝子様凍結標本の作製を可能にします。装置は油圧装置を使って最初300



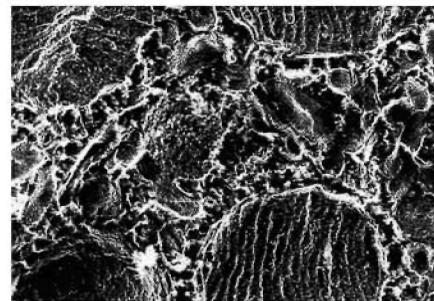
気圧位に圧を上げ、この後はさらに7倍程圧を上げるのには一次加圧の管と二次加圧の管の直径を80mmと28mmすればよいわけです。

この高圧凍結装置で行った壁細胞研究結果についてお話しします。次のスライドは高圧凍結しオスミウムで凍結置換を行った壁細胞の電顕写真です。たいへん優れた微細構造を持つ壁細胞が示されています。次のスライドは高圧凍結を行い、ディープエッチングを行った壁細胞の電顕写真です。既述の如く、優れた像が得られ、急速凍結凍結に比し大きなディープエッチング標本が得られる利点があります。

Parietal cells
HPF/FS
(高圧凍結・凍結置換)



Parietal cell, HPF・DE
高圧凍結・ディープエッチング



ところで、壁細胞は食事との関係でその形態を大きく変える事が知られています。その様子をスライドで示します。給食、絶食でこんなに著明な形態的な変化をする細胞は他にはちょっと見当たりません。それはスライドに示された如く、給食時にはこの細胞は盛んに塩酸を分泌する関係から大きな細胞内分泌細管を持ち、その分泌細管内は微絨毛で充たされる事になります。一方、絶食時には細胞内分泌細管は極めて小さく、その中の微絨毛の発達も極めて悪く、その代わりに細胞質には小管小胞が極めて発達して見られるという特徴があります。この小管小胞構造は細胞内分泌細管中の微絨毛が細胞質の中に取り込まれた構造と考えられます。次のスライドは高圧凍結・凍結置換で観察した壁細胞の小管小胞構造です。この構造が極めてよく発達している事、それがこの

技法で構造的にきちんと保存されている事が解ります。

Parietal cell (壁細胞)

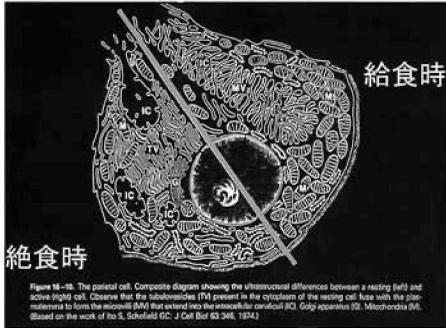
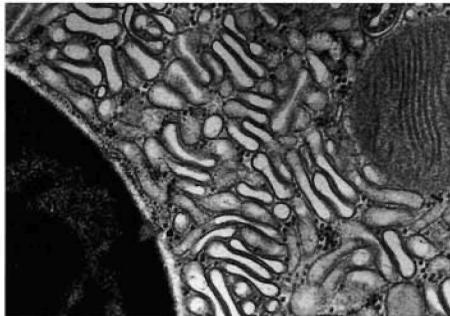


Figure 14-18. The parietal cell. Composite diagram showing the ultrastructural differences between a resting (left) and active (right) cell. Observe that the tubulovesicles (TV) present in the cytoplasm of the resting cell fuse with the planar membrane to form the microvilli (MV) that extend into the stomach for parietal HCl. Golgi apparatus (G), Mitochondria (M). (Based on the work of Ito S, Scheffald GC. J Cell Biol 63:348, 1994.)

Parietal cell: HPF・FS (高圧凍結・凍結置換)

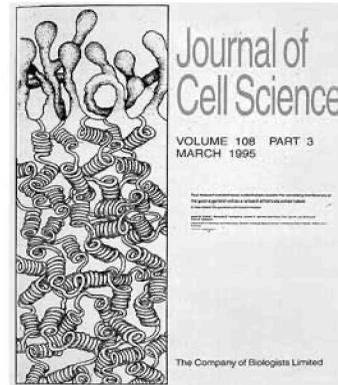


この小管小胞の個体発生を電顕レベルで調べて見ますと、この構造は胎仔には見られず、生後約2週間目から出現してくる事が解ります。生後2週間ではラットはまだ母乳を飲んでます。大体生後3週で離乳の時期を迎えますが、その少し前からこの構造が出現する事は壁細胞の塩酸分泌の機能と併せて考えると矛盾しない結果と云えます。この小管小胞について、オーストラリアの研究者の提案しているスキーマを次のスライドでお示しします。これらのスキーマは螺旋構造を示す小管小胞が非常によく発達し、それは細胞内分泌細管に連絡している事が示されています。基本的にこの小管小胞と細胞内分泌細管との連絡は塩酸の分泌を考える時矛盾のない考え方ではないかと思えます。

Tubulovesicleの個体発生

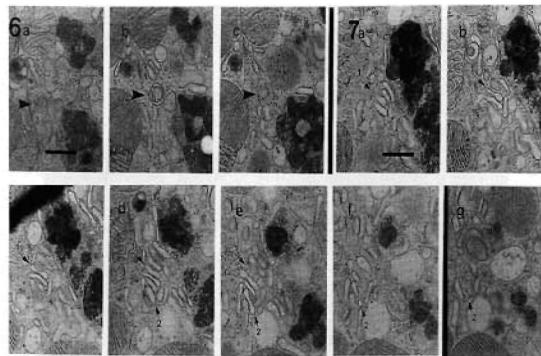
1. Tubulovesicleは胎仔、新生児には見られない。
2. この時期、壁細胞細胞質にはライソゾーム、グリコーゲンが多い。
3. 生後10-12日になって tubulovesicleは出現して来る。
4. 壁細胞の機能的成熟には生後4週を要する。

TV(小管小胞構造)の new schema



この小管小胞は極めて細い構造ですが、共同研究者の津山新一郎助教授が高圧凍結・オスミウム凍結置換した壁細胞の連続切片を作ってくれました。光顕の連続切片を作る事も大変ですが、電顕の連続切片を作る事は極めて難しい事で、このような技術を持っている人は日本広しと云えども多くはありません。上段は3枚、上段から下段に掛けて7枚の電顕連続切片を切られています。小管小胞は二枚の超薄切片にも出て来ないほどの細い管ですが、連続切片をパソコンに取り込んで三次元構築をしたものが次のスライドです。前にお示したオーストラリアの研究者達のスキーマを支持する像が得られたと思っています。

Tubulovesicles 連続切片



Tubulovesicles 小管小胞構造 3D

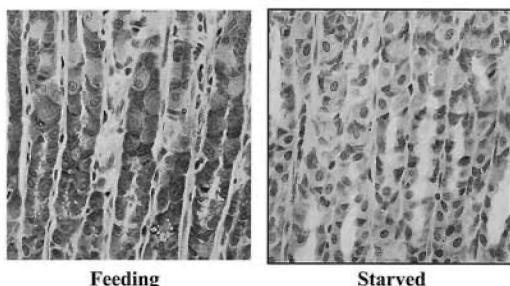


ところで、壁細胞は塩酸と内因子を作っていますが、

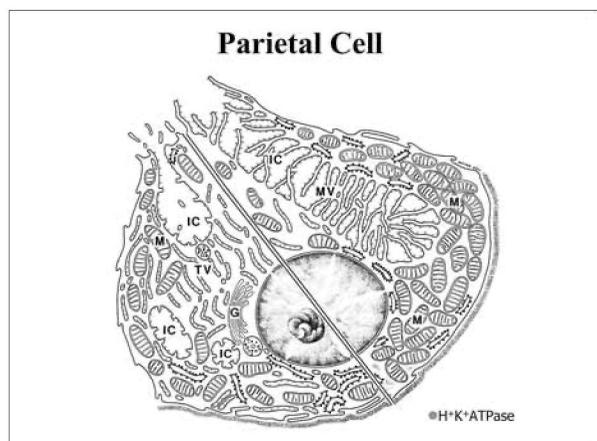
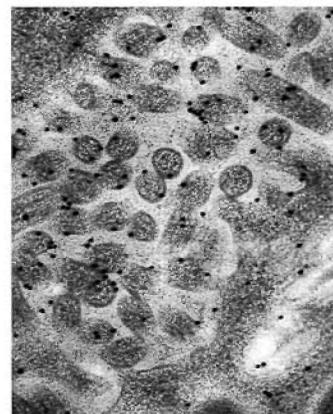
今回は塩酸分泌に絞って話を進めたいと思います。次のスライドは壁細胞のレセプターとプロトンポンプを示していますが、この中で塩酸産生に関わっている酵素は二つあります。一つは炭酸脱水酵素であり、もう一つはH⁺K⁺-ATPaseです。前者により壁細胞内で炭酸からH⁺イオンが作られます。後者により細胞内のK⁺イオンはH⁺イオンに膜表面で置き換わります。塩素イオンは壁細胞の基底膜側から入って、そのまま腔側へ抜けて来ます。次のスライドは給食時、絶食時の胃底腺のクロライドチャンネルを抗体を用いて染めた結果を示しています。塩酸に関しては、小管小胞の膜面及び細胞内分泌細管の微絨毛表面で塩酸が作られる事になります。次のスライドは光顕の急速凍結・凍結置換したラット胃底腺をH⁺K⁺ATPaseのαサブユニットで染めたものです。既述した如く、凍結で優れた標本が出来、ラット胃底腺の非常に広い範囲に本抗体で染まる壁細胞が存在している事が解ります。

次の写真は電顕レベルで本酵素の局在を見たものです。我々の研究では、この抗体で染まる酵素は給食時には細胞内分泌細管の微絨毛の膜に、そして絶食時には小管小胞構造に主に存在する事が解りました。しかし、給食時に小管小胞に、絶食時に微絨毛に本酵素が全く存在しないわけではないとの観察結果を得ております。局在を示すスキーマを一枚加えてお示しします。

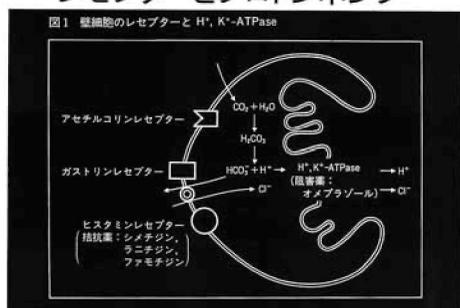
Chloride channel



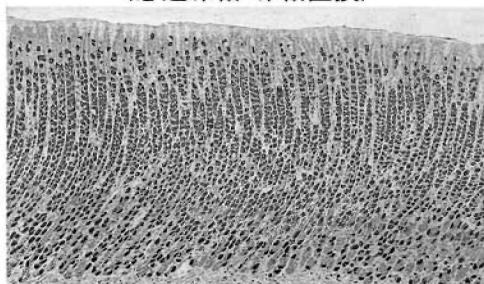
H⁺-K⁺-ATPase



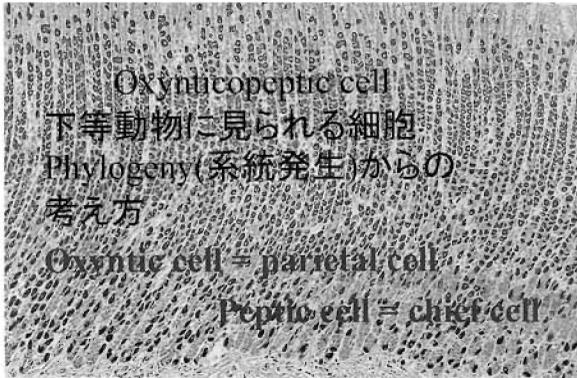
レセプターとプロトンポンプ



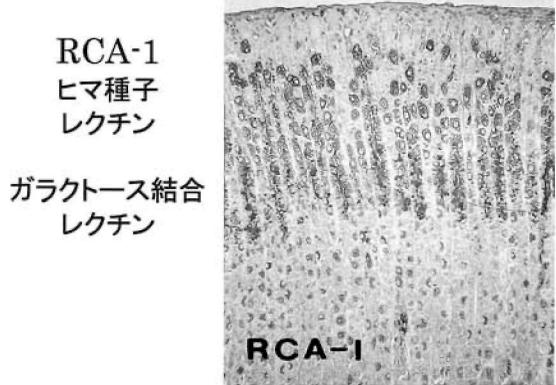
H⁺-K⁺-ATPase : RF·FS (急速凍結・凍結置換)



こんなに胃底腺の中の広い範囲に存在する壁細胞，その壁細胞の全てが活発な塩酸分泌をしているわけではありません。胃底腺の頸部付近の壁細胞が一番活発に塩酸分泌を行っていると思われます。ならば、何故こんなに広い範囲に壁細胞が存在するかが問題になります。この問題に関して、壁細胞研究の権威、カルフォルニア大学バークレー校のForte教授は特に主細胞域の壁細胞に関して、この域の壁細胞は塩酸分泌に関与するというよりも、主細胞の分化に関係する機能を果たしていると考えられています。その物質の解明が急がれるところです。もうひとつ、系統発生的に考えれば、もともと壁細胞と主細胞は一つの細胞でoxynticopeptic cellと呼ばれていました。一つの細胞で塩酸も蛋白分解酵素を出す細胞であったわけです。それが、二つの細胞に分かれたわけですから、この深い胃底腺底部、そこは主細胞域ですが、ここに壁細胞が存在する事も説明が付くと思います。



ところでこのスライドはレクチン研究を始めて二・三年目頃撮った写真です。ガラクトース結合レクチンであるRCA-1レクチンで胃底腺を染めてみました。驚く事に壁細胞が大変強く染まって来ました。スライド下部にある小型の陽性細胞も壁細胞です。我々は粘液を産生する細胞である表層粘液細胞や副細胞に焦点を合わせて研究を行っており、壁細胞には当初あまり興味はありませんでした。PAS染色やその電顕レベルでの染色であるPA-TCH-SP染色をはじめ、たくさんのレクチン染色もこれらの粘液細胞に焦点を合わせて観察しておりました。従って壁細胞がこのガラクトース結合レクチンであるRCA-1はじめいくつかのレクチンで染まった時にはその染色が偽の陽性染色でない事は確認しつつも、その染色意義を説明出来ませんでした。



研究を続けていくうちの、既述のH⁺K⁺ATPaseのβサブユニットがこの酵素のモジュレーターであり、糖蛋白質であり、更にその糖鎖にはガラクトースとマンノースが多い事が解りました。早速マンノース結合レクチンであるConcanavalin Aで染色して見たところ、このレクチンでも壁細胞細胞が染まりました。壁細胞のもう一つの産生物質である内因子も糖蛋白質です。従って、レクチンによる染色はこれら両物質の糖鎖を染めていると考えれば説明が付くと思います。

次のスライドにあらためてPAS染色の電顕レベルでの染色であるPA-TCH-SP染色を行った壁細胞が示してあ

Beta subunit of H⁺K⁺ATPase is a transmembrane glycoprotein rich in galactose and mannose residues.

Beta subunit of H⁺-K⁺-ATPase

Biochemistry 1996, 35, 3238-3246

The β-Subunit of the Rabbit H,K-ATPase: A Glycoprotein with All Terminal Lactosamine Units Capped with α-Linked Galactose Residues*

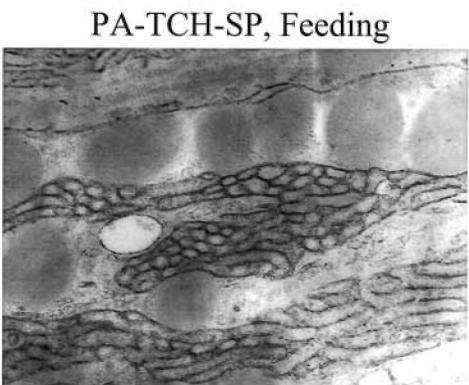
Kamala Tyagarajan,¹ R. Reid Townsend,² and John G. Forte^{2,3}

¹Department of Molecular and Cell Biology, University of California, Berkeley, California 94720-3202, and ²Department of Pharmaceutical Chemistry, University of California, San Francisco, California 94143-0446

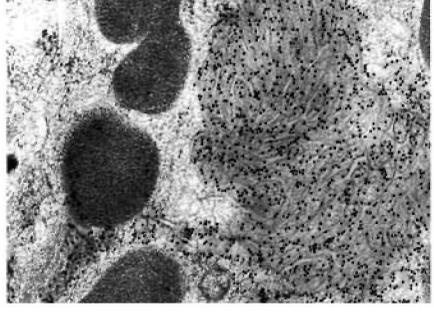
observed (M + Na) ⁺	theoretical (M + Na) ⁺	composition	proposed structure
1173.5	1172.1	Hex ₂ HexNAc	Hex ₂ HexNAc
1334.9	1333.2	Hex ₂ HexNAc	Hex ₂ HexNAc
1497.7	1496.6	Hex ₂ HexNAc	Hex ₂ HexNAc
1658.9	1658.5	Hex ₂ HexNAc	Hex ₂ HexNAc
2253.2	2252.2	Hex ₂ HexNAc ₂ HexNAcHex	Hex ₂ HexNAc ₂ HexNAcHex
2615.9	2615.0	Hex ₂ HexNAc ₂ HexNAcHex	Hex ₂ HexNAc ₂ HexNAcHex
2778.8	2779.6	Hex ₂ HexNAc ₂ HexNAcHex	Hex ₂ HexNAc ₂ HexNAcHex
2940.7	2942.8	Hex ₂ HexNAc ₂ HexNAcHex	Hex ₂ HexNAc ₂ HexNAcHex
3143.9	3143.0	Hex ₂ HexNAc ₂ HexNAcHex	Hex ₂ HexNAc ₂ HexNAcHex
3305.5	3307.1	Hex ₂ HexNAc ₂ HexNAcHex	Hex ₂ HexNAc ₂ HexNAcHex
3508.1	3510.2	Hex ₂ HexNAc ₂ HexNAcHex	Hex ₂ HexNAc ₂ HexNAcHex
3671.3	3672.5	Hex ₂ HexNAc ₂ HexNAcHex	Hex ₂ HexNAc ₂ HexNAcHex
4036.4	4037.6	Hex ₂ HexNAc ₂ HexNAcHex	Hex ₂ HexNAc ₂ HexNAcHex
4198.6	4200.1	Hex ₂ HexNAc ₂ HexNAcHex	Hex ₂ HexNAc ₂ HexNAcHex
4564.2	4565.4	Hex ₂ HexNAc ₂ HexNAcHex	Hex ₂ HexNAc ₂ HexNAcHex

*The β-subunit oligosaccharides were labeled with 2-AB and subjected to MALDI-TOF mass spectrometric analysis. The signals in Figure 1 were assigned by a mass comparison using the average masses of monosaccharides found in the rabbit β-subunit. All signals corresponded to signals of the 2-AB derivatives. *The masses indicate that of the 2-AB label.

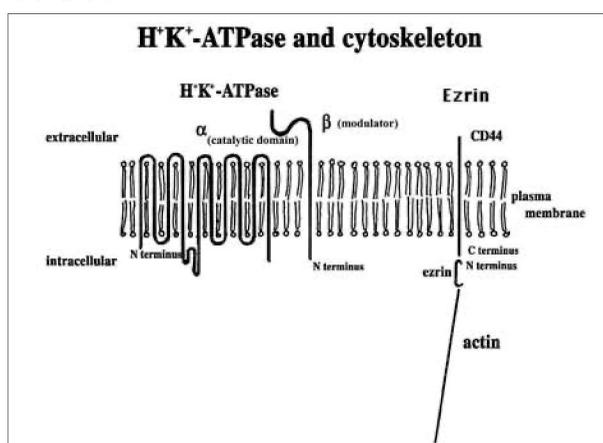
ります。壁細胞の細胞内分泌細管の細胞膜がこの染色で陽性に染まっているのが解ります。そこで、あらためて高圧凍結・凍結置換を行った壁細胞に際してGSA 1-B₄の抗体を用いる方法で染色をして見ました。これは給食時の壁細胞ですが、非常によく発達した細胞内分泌細管の微絨毛表面が特異的に標識され、それに加え小管小胞の内腔が染色されている事が解ります。これは我々が誇る電顕写真です。



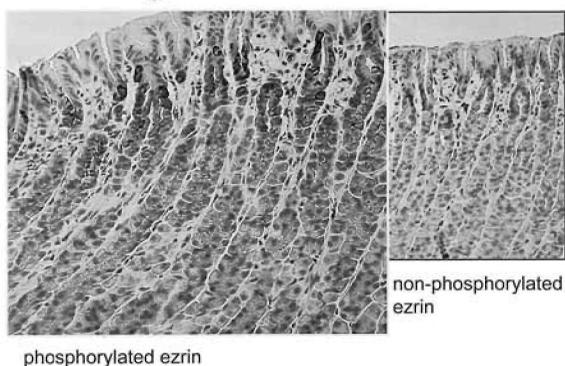
GSA1B₄ : Feeding rat : HPF・FS (高圧凍結・凍結置換)



最後に給食時、絶食時に壁細胞が著明に形を変える事について始めたばかりの細胞骨格の仕事を紹介します。スライドはH⁺K⁺ATPaseとCD44, ezrin, アクチンの関係を示すスライドです。CD44とアクチンを結ぶ中間にあるezrinの機能がこの際注目されます。次のスライドはリン酸化したezrinとリン酸化しないezrinの抗体を用いて染色した壁細胞の染色です。両者の間に明らかな差が見られます。この事は細胞の機能に伴う形の変化を説明するのに極めて大切な所見である事が胃底腺に於ける殆どのアクチンが壁細胞にある事を相俟って鍵を握っていると考えられます。



Feeding



7. 最終講義の締めくくり

持ち時間は残り少ないと思います。講義の締めくくりをしたいと思います。1978年10月に鹿児島大学医学部第二解剖学教室を主宰するようになって、来月の2005年3月まで26年5ヶ月を鹿児島大学にお世話になる事になります。この間、学部教育、大学院の教育に関わって参りました。学部教育では当初組織学、発生学を担当しておりましたが、途中から肉眼解剖学実習の半分をも分担する事になりました。学務係を煩わせてお調べ頂いた1982年からの現在までの学生動向です。1982年からの卒業生

は2256名（うち女子420名）、在学生は574名（うち女子195名）で、このいずれの皆さんとも一緒に勉強した事になります。ただ、1982年の卒業生の何人かは一緒に勉強した事のない学生さんが含まれていますが、最終的には2800名を越える皆さんと一緒に勉強したことになります。これ以前、教官として信州大学で約500名の学生の皆さんと勉強する機会がありましたので、総計3300名を越す学生の皆さんと一緒に勉強する機会を持った事はたいへん幸せでした。院生、研究生は当教室のそれに加え国内外のたくさん講座、研究機関の方と共同研究が出来ました。また共同研究を通じ、研究費のご配慮を頂いたケースもたいへん多く、改めてお礼申したいと思えます。

研究姿勢のひとつとして、イギリスの詩人 J. Keatsが云った『Beauty is truth, truth beauty』を掲げて参りました。Keatsは詩人で、医学で名を成そうという気持ちはなかったようですが、16才から5年間ほど医学と薬学の修業をしました。スライドはJ. Keatsが最晩年に医学と薬学の修練を受けたロンドンのGuy Hospitalを示しています。



Beauty is truth,
Truth beauty.
美は真なり
真は美なり



J. Keats (1795-1821)
「ギリシャの古甕に
寄する詩」

サイエンスとしての医学に劣ることなく、アートとしての医学も重要であり、そこにも科学の真実があると常に考えています。また、『備えある心にも、チャンスは微笑む』という事も教室員に常に云って参りました。

私の生まれた1939年は9月にドイツがポーランドに侵攻して第二次世界大戦が始まりました。実はこの年、私の専門とする組織化学では大変有名な二つの論文が発表されました。ひとつはシカゴ大学内科のG. Gomoriによる酸性フォスファターゼの証明法の発表であり、もうひとつは当時の満州医大病理学教室の高松英雄先生によるアルカリフォスファターゼの証明法の発表であります。これらの証明法は電子顕微鏡時代になってもライソゾームのマーカーとして生き残り、またその証明法の原理はその他の証明法の前になって生き続けて来ました。1939年はまた、ドイツのSiemens社が初めて電子顕微鏡を市販した年でもあります。



G. Gomori
 (Dept. Med, Univ. Chicago)
**Microchemical demonstration of
 phosphatase in tissue sections.**

Proc. Soc. Exp. Biol. Med.
42 :23-26 (1939)

高松英雄

フォスファターゼの組織学的並びに生化学的研究(第一報):フォスファターゼの組織化学的研究方法並びに該酵素の諸臓器に於ける分布

Histologische und biochemische Studien Ueber die Phosphatase. (I. Mitteilung).
 Histochemische Untersuchungsmethodik der Phosphatase und Geweben.
 Hideo Takamatsu
 Trans Soc. Pathol. Japan 29 : 492-498 (1939)

1939年

**独逸、ジューメンス社
 電子顕微鏡の市販を開始**

日本の研究に目を向けてみますと、1939年5月6日、日本学術振興会に第37小委員会(電顕小委員会)が東大工学部の瀬藤象二教授を中心に作られました。日本電子顕微鏡学会(現日本顕微鏡学会)はその最高賞を瀬藤賞と名付け毎年優れた研究を表彰していますが、2002年に村田は計らずもこの賞を受賞する光栄に浴しました。

最後にMacArthur元帥の書いた回顧録のスライドを示します。私が小学校5年生の1950年6月、朝鮮戦争が始まりました。MacArthur元帥は当時連合軍の最高司令官でした。後で元帥がWestpointの陸軍士官学校を開闢以

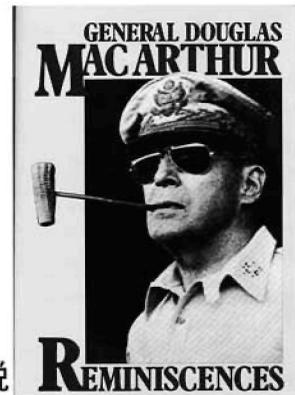
瀬藤象二先生
 1939年5月6日
 日本学術振興会第37小委員会(電顕小委員会)設立
 瀬藤賞
 2002年
 村田受賞



図 4-1 文化勲章を受賞した当時の瀬藤象二

来の成績で卒業した事、第二次世界大戦の初期、日本軍が優勢でオーストラリアへの撤退を余儀なくされた時に元帥が云った有名な言葉『I shall return』などの名句も知りましたが、元帥は朝鮮戦争の膠着状態を打開するためには原爆の使用をも辞せずとして時のトルーマン大統領と対立し、連合軍総司令官の職を解任され1956年春に離日しました。同年秋、トルーマン大統領の計らいで与えられた両院議員総会、そこで行った演説での有名な言葉、『老兵は死なず、ただ消え去るのみ』それを私も修飾して使わせて頂き最終講義を終わらせて頂きます。

General Douglas MacArthur (1880-1964)



Reminiscences
 回想録
 1951年9月
 両院総会での演説

