

ミクروسコピア

vol. 26 no. 3

microscopia

日本では何故

ピロリ菌を発見できなかったか 多賀須幸男

シナプス刈込みの原動力を探る 渡辺雅彦

成体脳でのニューロン新生
発見者 J. アルトマン

石 龍徳



ラットの腸壁の神経網
甲賀 大輔・牛木 辰男

世界が認めた「夢の切片」

川本 忠文

「夢の切片」は、私のライフワークの一つである。硬い骨や歯を含んだ試料や小実験動物を丸ごと凍らせて、厚さ2ミクロン（1000分の2mm）の切片を、確実に作ることが出来れば、これまで困難（不可能）であった研究が容易に出来るようになる。例えばマウスの全身切片を使うと、カルシウム等の代謝状態や特定遺伝子の発現状態などを全身で検討でき、またノーベル賞受賞で話題となったGFP（蛍光蛋白）を使った研究も全身で検討でき、研究の信頼性が高くなる。私は29年前からそのような「夢の切片」の作製法開発に執念を燃やし、夢は今現実のものとなった。

開発をスタートした当時（1981）、発表されている手法を片っぱしから試みたが、私の目的に合う切片は出来なかった。そこで街中をあるいて色々な材料を買い集め、それで小道具を手作りし、来る日も来る日も冷凍庫の中で凍らせた試料を切り続けた。1986年にリコー製コピー用紙を使う切片作製法にたどりつき、論文発表した¹⁾。

さらに切片の品質を高めるために、ナイフとナイフホルダーの試作と、新しい切片支持材を探し求め、1990年にサララップと粘着剤の組み合わせにたどり着き、それが学位論文となった²⁾。

その後、各研究者からの要望に応じて改良に改良を重ね、今ではこれが「川本法」だと自信をもって言えるレベルに達した。最新の「川本法2008」では、骨や歯の硬い構造を含め、どのような試料からでも、試料採取20分後には詳細な顕微鏡観察にたえる永久切片標本をつくる事が出来るようになり、朝日新聞（2008）の科学欄に取り上げられた（図1）。この「夢の切片」が、顕微鏡に拾い出されてから10年になる。この間、4回の拙稿を掲載して頂いたので（16巻1号、21巻2号、23巻1号、24巻1号）、これまで応援して下さい

顕微鏡 26巻3号（2009）

た読者の皆さんに感謝の気持ちを込めて、最近の成果を報告したい。

「夢の切片」の始まり

今から10年前（1999年）の秋、恩師清水正春先生（鶴見大学歯学部生化学教授）が突然亡くなられ、途方にくれていた私に原稿依頼が舞い込んだことから、顕微鏡との関係が始まった³⁾。きっかけは、脇田稔先生（北海道大学副学長）が毎夏主催されていた「エナメル質比較発生学懇話会」だった。この会は二日間寝食を共にし、時間はお構いなしに自説を述べ合うユニークな勉強会である。1997年の会の世話人は石山巳喜夫先生（日本歯科大学新潟歯学部 第二解剖学教室）（図2）で、東海大学 婦恋高原研修センターを会場として、「緑の高原で歯の進化を考える集い」という粋な副題を掲げて開催された。石山先生が主任教授の藤田恒夫先生をお連れするとのお情報を耳にした私は、数枚の写真を持って出席し、藤田先生と話すチャンスをお二日間狙っていた。そして、ほんの数分間であったが、写真をお見せしながら自説を聞いていただくことが出来た。2年後の1999年、藤田先生の脳裏に私が見せた写真が呼び起こされ、石山先生の強いご推薦もあったようで、「夢の切片」についての寄稿のお誘いを頂いたのだった。

探究人

鶴見大講師 川本忠文さん（54）



「初心者でも、この遺40年のベテランのように簡単にできます」
生物を瞬間凍結、断面に粘着フィルムを張り付け、千分の数という薄い観察切片をつくる技術の普及につとめている。18年かけて開発した「川本法」だ。骨や歯のような硬い組織でも、形や成分を保ったまま切片にして顕微鏡で観察できる。ネズミの全身の切片を作り、組み込んだ遺伝子などの臓器で働いているのか調べたり、カルシウムなどの物質の生体内での移動を追ったりする研究にも

世界が認めた切片製法

「再生医療など新たな分野でも使われたい」と思っている。川本法は、600を超える研究室で利用されている。

（瀬川茂子）

「初心者でも、この遺40年のベテランのように簡単にできます」
生物を瞬間凍結、断面に粘着フィルムを張り付け、千分の数という薄い観察切片をつくる技術の普及につとめている。18年かけて開発した「川本法」だ。骨や歯のような硬い組織でも、形や成分を保ったまま切片にして顕微鏡で観察できる。ネズミの全身の切片を作り、組み込んだ遺伝子などの臓器で働いているのか調べたり、カルシウムなどの物質の生体内での移動を追ったりする研究にも

海外の学会からも講演を頼まれた。緊張して発表すると、盛大な拍手を受けた。「学歴や出身に関係なく、良い仕事は良いと評価してくれた」と感動した。

「再生医療など新たな分野でも使われたい」と思っている。川本法は、600を超える研究室で利用されている。

研究を支えてくれた恩師が川本法の完成直前に死に、途方にくれていた。99年、科学雑誌に研究を発表する機会を与えられた。精密な生物の切片の写真に問い合わせ相次いだ。

研究を支えてくれた恩師が川本法の完成直前に死に、途方にくれていた。99年、科学雑誌に研究を発表する機会を与えられた。精密な生物の切片の写真に問い合わせ相次いだ。

図1. 「川本法2008」の完成直後、朝日新聞に掲載された記事 2008年2月4日

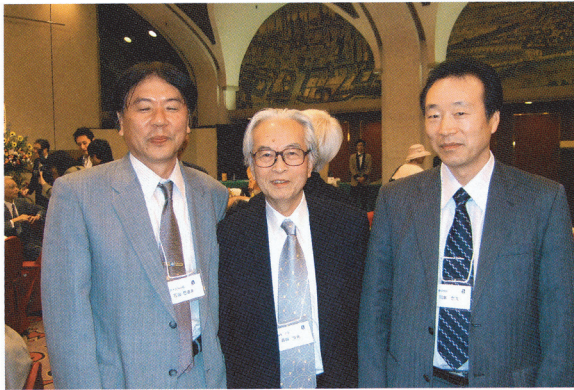


図2. ミクロスコピア創刊25周年パーティで再会した 藤田恒夫先生(中央), 石山巳喜夫先生(左)と筆者

最初原稿依頼は、開発の経過と苦労話を若い研究者がわかるように書いてほしいとのことだったが、己の立場も考えず5回シリーズで書かせて頂きたいとお願いした。あっさりご快諾を得て、4回の報告を掲載していただき、さて5回目の最終報告は、いつにすべきか悩んでいた。昨年12月に台湾での2回目の講演を終えて帰国し、届いていたミクロスコピアを開くと、巻頭に「26巻をもってミクロスコピアを終刊する」との文字が目飛び込んできた。「夢の切片」の最終章を報告できなくなると思い、我を忘れて藤田先生に電話で5回目を寄稿させてほしいとお願いをした。藤田先生は、いつものように快く了解して下さいました。ミクロスコピアが拾い出して下さった「夢の切片」が、間違いでなかったことを報告できるようになり、ホッとしました。


「川本法 2008」をたずさえて

「夢の切片」の作製法は、「1986版」、「1990版」、「1992版」、「2000版」、「2003版」、「2008版」へと改良した。現在の原型は1990年に完成し、1992年から新たに発売されたタングステンカーバイド製ナイフ(盟和商事製 SHK-I2SA)を使用することにより、骨などの硬い試料からも切片を作れるようにした。さらにタングステンカーバイド製替刃(ライカマイクロシステムズ TC-65)が発売になったので、それを導入し作業性を改善し、ライカマイクロシステムズの支援のもとに論文とした⁴⁾。完成と同時に、藤田先生から英文総説の依頼(組織細胞学記録)が届いた。一生に一度のチャ

瞬間凍結で高精度標本

大崎上島出身
鶴見大講師開発

動物観察用の切片



川本忠文さん

鶴見大歯学部(横浜市の講師川本忠文さん(55)は広島県大崎上島町出身。骨や歯を含む動物などを観察用の薄い切片に加工する独自の技術を開発した。標本を瞬間凍結し薬品を使わないことで高精度な切片ができる

「川本法」と呼ばれる手法は、標本を瞬間凍結し、粘着フィルムを断面に張り付けて千分の二にスライス。ガラス板に挟んで約二十分で完成できる。従来の方法は薬品で標本を固定し、カルシウム分を溶かし出す「脱灰」の作業が欠かすなかつた。「川本法」は凍結と粘着フィルムとの採用で、薬品や脱灰の影響による標本の傷みを抑える切片づくりを可能にした。

口腔生化学が専門の川本さんはもとも、骨や歯にカルシウムが運ばれるプロセスを研究していた。満足いく切片がなかったため、一九八一年に自ら開発を始めた。

二〇〇〇年に基礎技術を確認。改良を重ねて昨年六月、カナダの学会で完成版を発表した。今年一月には、独自で完成版を発表した。今年一月には、独自で完成版を発表した。今年一月には、独自で完成版を発表した。

「川本法」は、独自の技術を開発した。独自の技術を開発した。独自の技術を開発した。

クリック

切片、顕微鏡で観察するため、生体組織などを薄く切った標本をスライドグラスに張り付けて染色することが多い。骨や歯は硬いため、カルシウム分を長時間かけて取り除き、軟らかくして加工する一般的な手法だったが、組織中の物質が失われたり、変質したりする欠点がある。

図3. 中国新聞に掲載された記事 2009年3月9日

ンスなので、私の考えていることの全てを書き込みたいと思い、2年かけて書きあげた⁵⁾。それ以後は、日常的に使用できるように、切片支持用粘着フィルム、包埋剤(試料を切り易くするために試料を包む材料)、封入剤(切った切片を長期間保存するための材料)などの改良を行ない、最新の「2008版(川本法2008)」は私の集大成である。この手法は、これまでの概念を突き破るもので、形態と組織情報を正確に保持し、マクロからマイクロまでの研究に利用でき、切片を用いた研究全てに使用できる。しかも試料採取からわずか20分後には永久切片標本が完成しているという理想的な手法である。(従来法だと早くても1日以上、ときに1ヶ月以上かかる。)この手法により、切片作製の経験のない人でも、20年以上の熟練者が従来法で作製した品質以上の切片を、確実に短時間で作製できるようになった。

本年(2009)3月、中国新聞より郷土出身者(広

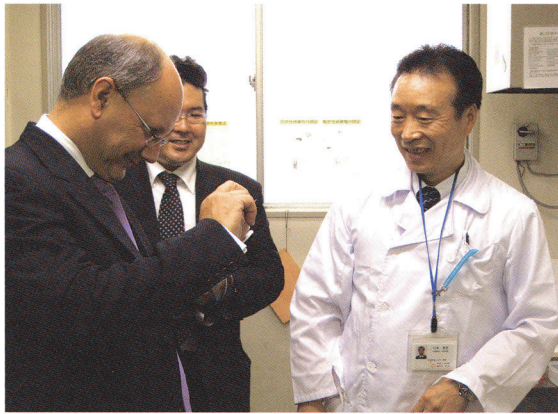


図4. 自ら作製した切片に見入る Dr. Marter (ライカマイクロシステムズ CEO) と筆者

鳥島) が独学で、28年かけて世界的手法を確立した話題として取材があり、立派な記事が掲載された(図3)。小さい時にお世話になった方々や、同級生からお祝いのメッセージを頂き、郷里の方々へ恩返しが出来たと感じた。

世界に向かって

昨年(2008)の2月に、私の活動が朝日新聞科学欄の「探求人」コーナーで取り上げられた(図1)。この記事のタイトルは、私が目指していた目標にピッタリであった。講演回数が80回を越え、演題を決めるのに苦労していたので、これ以後は新聞記事タイトルの「世界が認めた切片製法」に演題名を統一して講演を行なっている。

昨年6月にトロントで開催された国際学会(IADR)総会で、完成版の「川本法2008」を発表した。多くの参加者の注目を集め、常に誰かがポスターの前に立ち、最終的に29グループの人達が立ち寄っていた。

帰国直後の7月には、ライカマイクロシステムズ(切片作製装置の世界トップメーカー)の最高経営責任者(CEO) Dr. Marterが、ドイツから私を訪ねてきた。みずから切片作製を試み、まったく経験がないにも関わらず、一枚目から完璧な切片が作製でき、「川本法2008」が評判通りであることを認識したようである(図4)。

国内では、「川本法」と言えば「夢の切片」を作製する方法として広く用いられるようになった。これからは世界に“Kawamoto's Film Method”として普及させて行きたい。すでに、

ミクロスコピア 26巻3号(2009)

アメリカの幾つかの大学が導入し、「川本法」の成果を出している。韓国、台湾からの講演依頼も多い。メールでの問い合わせ(研究相談など)は急激に増え、昼間は日本と東南アジア、夕方から深夜までヨーロッパ、深夜から朝方までアメリカと、休む時間がなくなってきた。国内の普及経過から考えると、アメリカや諸外国において数年後には多くの大学に導入され、“Kawamoto's Film Method”が生命科学の有効な研究手段として、世界に通用するようになるであろう。

おわりに

「出会い」は、毎日風のごとく私たちの前を通り過ぎていく。しかし、私にはライフワークに結実する素晴らしい出会いがあった。学歴も地位も何もない私であるが、良き師と暖かい支援者にめぐり合ったおかげで、不可能と思われていた手法を完成することが出来た。

最後に、私を拾い上げ薫陶し育てて下さった故清水正春先生に感謝し、長年ご理解と応援を賜ったミクロスコピアの読者の皆様に、改めて心より御礼申し上げたい。

参考文献

- 1) Kawamoto, T and M Shimizu: A method for preparing whole-body sections suitable for autoradiographic, histological and histochemical studies. *Stain Technology* 61: 169-183 (1986)
- 2) Kawamoto, T: Light microscopic autoradiography for study of early changes in the distribution of water-soluble materials. *J Histochem Cytochem* 38: 1805-1814 (1990)
- 3) 川本忠文: 夢の切片 - まるごと2 μm -。ミクロスコピア 16: 11-17 (1999)
- 4) Kawamoto, T and M Shimizu: A method for preparing 2- to 50- μm -thick fresh-frozen sections of large samples and undecalcified hard tissues. *Histochem Cell Biol* 113: 331-339 (2000)
- 5) Kawamoto, T: Use of a new adhesive film for the preparation of multi-purpose fresh-frozen sections from hard tissues, whole-animals, insects and plants. *Arch Histol Cytol* 66: 123-143 (2003)

かわもと ただふみ 1953年 広島県の瀬戸内海の島に生まれる。東京電機大学工学部卒、歯学博士、鶴見大学歯学部RI研究センター講師。