今日も晴れ時々スコールの寄港地パラオにて。

謝 辞

なお、言うまでもないが、本航海は水産庁と独立行政法人水産総合研究センターの調査航海であり、水産総合研究センターと宮崎大学の共同研究により乗船させていただいたこ

とに感謝する次第です。また、本航海の詳細については水産庁のホームページ (<http://www.jfa.maff.go.jp/j/press/signen/100930.html>) に記載されているので参考にされたい。最後に、発表の機会を与えていただいた高橋明義先生と小林牧人先生に感謝します。

牛 の 脳 下 垂 体

石 居 進 (早稲田大学名誉教授)
E-mail: ishii-s@msi.biglobe.ne.jp

はじめに

大学院に進学して、竹脇潔先生の指導を仰ぐことになってしばらく立ったある日のことである。ふと自分の本棚を見たら、竹脇先生のお名前が本の背に書いてあるのに気がついてびっくりした。それは先生がお書きになった岩波全書の「脳下垂体」という本であった。まさか、自分が先生の著書をすでに持っていたとは思ってもいなかったのでびっくりした。

実はこの本は、高校の時の同級生の堀内君に勧められて買ったものだったと思い出した。堀内君は「非常に面白い本だよ」と言って勧めてくれたのだが、購入して読んでみると僕にはちっとも面白くなくてそのまま忘れていたのだった。

先生の弟子になったからにはと、慌てて読んでみたが、今度は非常に参考になった。高校生の時の僕は堀内君に比べて幼稚だったのかもしれない。彼は早稲田の理工学部を出て、ソニーの前身の東通工に入ったそうであるが、残念なことに早世されたときいている。

1961年春、竹脇先生のもとで学位を得てから、私は小林英司先生の研究室に入り視床下部の神経分泌系の研究に従事した。そして脳下垂体後葉に電子顕微鏡で存在が認められる神経分泌顆粒と呼ばれる神経末端内の顆粒を超遠心法で分離し、その中に後葉ホルモン

が局在していることを証明しようとした。この研究では同級生で後に早稲田での同僚となった故安増郁夫君が遠心分離法について親身になって協力してくれた。彼の協力なくしてこの研究はできなかったと思う。ちなみに上智大学の安増茂樹教授は彼のご長男である。

その後、1964年に私は早稲田大学に移って、始めて自分の研究室を持った。そのころから、さらに研究を進めて正中隆起部の神経分泌顆粒を単離し、そこにLHRH (当時はまだLHRF、すなわちLH-Releasing Factorと呼ばれていた) が局在することを証明する研究を行った。

牛の脳下垂体

さてこれらの研究には脳下垂体とその柄の部分の新鮮なものを (細胞が生きている状態で) 脊椎動物、しかもなるべく大きな動物から取り出すことが必要であった。そこで、後葉の顆粒の分離の研究には牛の脳下垂体後葉を用い、正中隆起部の顆粒の分離の研究には馬の脳下垂体柄 (正中隆起部) を用いた。

この前半の研究で、新鮮なウシの脳下垂体後葉を入手するのにどのような苦労があったかが今回の話題である。まずは小林英司先生に相談したところ、大先輩のマンネン (萬年?) さんという方を通して、帝国臓器とい

う会社の芝浦出張所所長の千葉さんを紹介してくださった。帝国臓器は芝浦にある東京都の屠場で牛の脳下垂体を採取していて、協力して頂けるということであった。

屠場近くの出張所に伺うと、千葉所長さんは、今朝採取して冷蔵庫に保存しておいたという牛の脳下垂体を出してきてくださった。10個ほどいただいて、そのうちの5個を早速使ってみた。後葉は一頭分で200～250mgあるので、5頭分で十分だった。さっそくそれを等張かやや高張の蔗糖液ホモジェネートにして遠心してみたところ後葉ホルモンはほぼ全量が上澄みに存在していて、沈殿分画には残っていなかった。もしかすると、脳下垂体組織が古くて細胞が死んでしまい、顆粒が壊れて中のホルモンが出てしまっている可能性があると考えた。そこで千葉さんに屠殺から脳下垂体採取までの時間を問い合わせてみると、屠殺と直後に頭を切り離し、皮や筋肉を綺麗に除去し、裸になった頭蓋骨をナタで割ってから脳下垂体を採取しているという。それで屠殺から採取まで5時間以上はたっているという。

その採取方法

屠殺直後に脳下垂体を採取できないかと千葉さんに相談してみた。千葉さんによると二つ問題があるという。一つは、胴体から切り離した頭(幸運にも屠殺直後に頭を胴体から切り離すとのことだった)から、どうやって脳下垂体を素早く取り出すかということ、二番目はもっとやっかいで、そういう作業を屠殺場の中で行う許可を取るという問題であるという。

幸いにも千葉さんは切離した牛の頭から脳下垂体を取り出す方法を昔習ったことがあり、そのために必要な特殊な鋏も持っているとのことだった。もっとも習っただけで以後、やったことはないそうなので、とにかくやってみようとしてさっそく切り離して皮をむいた牛の頭蓋骨を借りてきてやってみてくださった。最初は成功しなかったが2個目か3個目には

にはうまくいって、1gくらいはありそうな見事な脳下垂体が無傷で出てきた。早速僕もやらせていただき、何とかできることを確かめた。

この特殊な鋏は子宮鋏という産婦人科で掻爬の際に用いる鋏を加工したものだった。柄の長さが20cm位で刃渡りも数センチある長い鋏が子宮鋏だが、その歯の先端部分2～3cmを平らな面の方向に直角近くに曲げるという加工をしたものだった。さっそく理化学機械屋さんに注文して同じ形のものを作ってもらい、以後はそれを使って牛の頭蓋骨(中に脳が入っている)を相手になんども練習した。

さて、こうやって採取法の問題は解決できたが、次に作業の許可をどうやって取るかという問題があった。千葉さんのご意見でまずは、都の役人である検査官のところに行ってみたらということで、検査官室に行ってみた。最初に出てきた検査官らしき人に事情をはなしてみたが、にべもなく断られた。途方にくれて立ちすくんでいると、検査官の一人で黒縁のメガネをかけた人が「どうしたの」と声をかけてくださった(後に日大農獣医学部出身でSさんとおっしゃる方だとわかった)。事情を話すと、「いいでしょう、協力してあげます。切り落とした直後の頭の検査の時に作業をさせてあげます。しかし、牛の頭は切り落とした時から“かしら屋”の所有物で、一時的にかしら屋から借りることになるので、彼らの作業が遅れないように1頭につき5分以内で取り出すんですよ」とのことだった。幸いに脳下垂体はかしら屋から帝国臓器が買うことになってるので、脳下垂体を取り出すことは帝国臓器が承認すればよいという。牛の体の各部分はそれぞれをを色々な業者が取るようになっていて、ことはそう簡単ではないのであった。

このようにして、ある日の朝、いよいよ本番が始まった。当時の屠殺方法は野蛮でハンマーで頭を殴り、牛が昏倒したところで、穴をあけた額からワイヤーを通してピス(pith、

脊髄を破壊して動けなくすること)するのであった。その後すぐに、頭蓋骨と第一脊椎骨の間で頭部を胴体から切り離す。その頭部は検査台に運ばれてくる。そこで、切断面と舌や口腔内を検査官が視認で検査する。そのときに、S検査官は頭を持ってきた“かしら屋”の人に、「ちょっとこの頭借りるぞ」と頭ごなしに言って、ぶすぶす文句をいっている“かしら屋”を無視して僕に「さあ持って行って始めなさい」と促してくれた。

なにせ、血だらけになった牛の巨大な生の頭なのである。口から舌がべろりとみ出して、気持ち悪いことおびたしい。しかもかなり重くて10 kgかそれ以上もある。「角をつかんで持つんだよ」とS検査官から教えられて、慌てて持ち上げようとしたら、水と牛の脂とでつるつるになっているタイル張りの床で足を滑らせて、転んでしまった。屠殺場には大勢の作業員がいたが、皆白っぽい作業着にゴム?の大きな前掛けをして、腰にはいろいろな形のナイフ等を下げている。一人だけジャンパーに作業ズボンという場違いな僕は、皆の嘲笑の的となってしまった。悔しかったが、こっちはそれどころではなく、部屋の隅の邪魔にならないところの床に頭をおいて、必死で作業にかかった。緊張と慌てているのとで、5分どころではなく10分近くかかってしまったが、なんとか取り出すことが出来た。心配して見に来てくださったS検査官も喜んでくださって、励ましてくださった。

ここで、その方法の概略を述べよう。頭蓋の後端に後頭窩という穴がある。ここから、脊髄が出ているのである。この穴から頭蓋骨の中にメスを入れて脳硬膜の底部を頭蓋底から引き剥がす。そして、鉗を脳内の突っ込んで脳硬膜にジョキジョキと切れ目を入れていく。切れ目は正中線から両側に2~3cm離して二筋、脳の奥のほうを目指して切り込むのである。指を入れてトルコ鞍の位置を確かめてそのあたりかその少し先まで切れ目を入れる。次に、一方の、例えば左側の切れ目に、例の子宮鉗を加工した鉗を開いたまま一番奥

まで突っ込む。このさい、左の切れ目なら、子宮鉗の直角に曲がった方を右側(正中線側)に向けておく。奥の脳下垂体の先まで入ったら鉗を閉じて脳硬膜を切る。すなわち直角に曲がった鉗の先端で、脳下垂体の奥の脳硬膜を右方向に切断するのである。次にもう一つの(右側の)切れ目に鉗を入れて脳硬膜の右奥で左側に切断する。すると脳下垂体の奥で脳硬膜の左右の切りこみがつながって、脳硬膜が長いリボン状に切り取られる。そこで、この脳硬膜のリボンの後頭窩付近に切り口を入れてそこに指を突っ込んで、リボンを頭蓋から引っ張り出す。そうするとリボン状の脳硬膜が出てきて、その下側(腹側)先端付近に脳下垂体がついている。牛の場合、脳下垂体の柄が脳硬膜を貫いていて、脳下垂体の本体は脳硬膜の外面に付着している。後に使った馬では、脳下垂体は脳硬膜の内側に付着している。すなわち、の下垂体柄は脳硬膜を貫いていないのである。

帝国臓器の作業員に平山さんという器用な人がいた。彼は僕の作業を見守っていたと思ったら、細身のナイフ1丁で僕と同じように牛の脳下垂体を切り出したのであった。成功率は僕よりいくらか劣っていたが、時間的には同じか早いくらいで、暇を見ては手伝いに来てくださり、彼の方法で脳下垂体を採取してくださった。

また、屠殺場は排他的なところがあり、見慣れない僕が働いていると、知らない作業員がやってきて、僕を脅かしにかかるのであった。なにせ、鋭いナイフを何丁も腰にぶら下げ、僕の顔のすぐ前で、その1丁を金属の棒で研ぎながら、「おめー、何してんだよ」「誰の許可得たんだ」「そんなことで脳下垂体が採れるかよ」などと脅しにかかるのだから怖かった。しかし、平山さんがやってきて、「この人は脳下垂体取りの名人なんだから、オメーなんぞが邪魔するんじゃない」と言って追い払ってくださった。何日も通ううちに、平山さんの庇護もあって、だんだんと顔見知りが増え、作業も楽になっていった。なにより

も僕がアット言う間に脳下垂体を取り出すのを見ると、実力の世界の彼らは、すごく感心して、仲間として認めてくれ、尊敬してくれたのだった。

牛の脳下垂体後葉から神経分泌顆粒を分離する

このようにして、屠殺直後の極めて新鮮な牛の後葉を得ることができ、毎回5個から10個くらい採取しては神経分泌顆粒の分離を試みたのだった。

神経分泌顆粒の大きさはミトコンドリアとミクロソームとの間なので、回転数を段階的に上げていって細胞内顆粒を分離していく分別遠心法では、最初に組織の破片など、ついでミトコンドリア、その次に神経分泌顆粒、最後にいわゆるミクロソーム分画が沈殿する。このとき苦労したのが、遠心で得た沈殿を電子顕微鏡で観察して何が沈殿しているかを確かめることだった。後葉の組織の電顕写真は同じ研究室の太田吉彦君（元静岡大学理学部長）に撮って頂いたが、遠心分画は固定するとバラバラに散逸してしまっただけに苦労した。しかし、この問題については日本電子株式会社の田中昭氏の協力をいただいて解決した。田中さんは遠心分別法で分離したミトコンドリアの形態をしらべておいでだったのである。また遠心分画の後葉ホルモン活性（子宮収縮活性）は当時同じ研究室にいた平野哲也君（元東京大学海洋研究所所長）に測っていただいた。

この研究で最初はいくつ、8500xGの遠心でミトコンドリアを沈殿させたあの上澄みを、さらに4000xGで沈殿させた分画に大きさや形態から神経分泌顆粒と思われる顆粒が沈殿していて、後葉ホルモン活性もこの分画に集中していた。

ところが、2度目の実験では、ホルモン活性の半分かそれ以上がミトコンドリア分画あって、神経分泌顆粒の分画のほうは活性がより少なかった。1度目と2度目の違いを検討していて、はたと気がついたのはホモゲナイ

ザーの違いであった。1度目にはすべてがガラス製のホモゲナイザーで後葉組織をホモゲナイズした。ところが2度目は、当時新兵器として現れだしたテフロンロッドのホモゲナイザーを使ったのであった。テフロンロッドの方が細胞内構造を傷めないというのだった。

そこで、まずこのミトコンドリア分画を二つに分けて遠心してみた。すなわち4000xGで遠心した分画を作り、その上澄みを8500xGで遠心してみた。するとホルモン活性は4000xGの沈殿分画にあって、8500xGの沈殿分画にはなかった。さらに、各沈殿分画を神経分泌物質の染色法で染色してみた。すると、4000xG分画には染色された小さな粒が点在していたのに対し、8500xGの分画には染色されるもおおはなく、さらに、4000xGの分画は分画全体がこく染色された。そこで、僕は4000xGの分画には破壊されていない神経末端が入っているのではないかと考えた。しかしこの考えはなかなか、小林先生をはじめ、上記の共同研究者の皆さんの賛同を得られなかったが、この分画を電子顕微鏡で観察したところ、この分画は神経末端だと判定される袋状の構造からなることが明らかとなり、皆さんも納得してくださった。

この研究が完成し、形態学的見地から神経分泌顆粒と名付けられていた構造に神経分泌ホルモンであつた後葉ホルモンが含まれていることが証明できたのだった。ただ残念なことに、同じ年（1962年）に、イギリスのリード大学のHeller and Lederisが同じような研究を発表していた。しかし、我々は、正中隆起の神経分泌顆粒は後葉の神経分泌顆粒とは違う性質のもので、その中にLHRHが含まれていることを証明するのが最終目的だったので、あまり落胆はしなかった。この正中隆起部の顆粒の分離の研究で同じことを試みていたカナダのあるグループに先んじて、我々が最初に成功した。この話は、いずれ別の機会に譲りたい。

研究と実験方法

この研究は今から半世紀近く前のものであり、当時、日本の動物のホルモンの研究者は、実験形態学的手法でしか研究を行っていなかった。そのため、動物学科での研究進行状況の発表会でこの研究の経過の報告をしたときには、保守的なある長老の先生から意地の悪い質問をされたりして虐められたものだった。しかし、この研究を契機に、僕は、薬理学的方法、物理化学的方法、電子顕微鏡による形態学的方法、生物化学的方法、放射線生物学的方法、免疫学的方法(元群馬大学内分泌研究所教授若林克己先生のお世話になって学んだ)などを身につけていき、それが後の研究に大きく役だった。そして分子遺伝学的方法にまでつながっていった(これには後輩の元北海道大学教授浦野明央君の示唆が大きかった)。さらにこのときの薬理学的方法(ことにホルモンの定量をする生物検定法)に必要なことから統計学も身につけていった。僕は高校生の時から化学が嫌いであった。それは記憶しなくてはならないことが多かったことによる。しかし、このころから、高校程度の化学の勉強から始めて生物化学の知識や方法も身につけていった。生物化学的方法については故安増郁夫君にずいぶんと教えていただいたことが多かった。

研究と実験の方法は切っても切り離せないものであるが、方法というのは時代と共に進歩する。この進歩に追いつき、新しい方法を理解し、正しく使用していくには自然科学の各分野の基礎的な知識が不可欠である。その始まりは高校生の時代にあると思う。その点、僕は高校時代からずっと、周りに素晴らしい指導者、先輩、同級生、後輩、さらには優秀な弟子たちがいて、幸いだった。これらの人たちなしには、僕の研究はありえなかった。これらの方々には心から感謝している。

比較内分泌学会の会員には多くの教育に携わる方々がおおいでになるに違いない。比較内

分泌学、あるいは生物学の将来のためには現在の流行にとらわれず、未来の方法にも対応できるように、学生たちに自然科学全体の基礎を身につけるよう指導すべきではないだろうか。あるいは、それが無理でも、新しいことを基本から勉強する前向きな気持を常に持つように、学生さんたちを指導すべきだと思う。

おわりに

この後葉の話には後日譚がある。それから四半世紀以上もたってから、上野動物園で飼育係のSさんと言う人に出会った。もしやと思って訊いてみたら、お父上は日大出身で都の検査官として芝浦の屠場で働いていたという。もっともお父上は昔のことではっきりした記憶はないとおっしゃっていたということだった。しかし、当時、Sと言う名の人は彼一人だったので、飼育係のSさんのお父上はS検査官だったことは間違いないと思う。S検査官のご好意なしではあの一連の研究はできなかったものであり、私の視床下部神経分泌系の研究者としてある程度認められたことはありえなかった。

人様に親切にすると、自分は知らなくても、それがその人にとって大きな意味を持つようになることが往々にしてあるのではなかろうか。

訂正とお詫び

前回の記事の中で、新潟大学理学部の本間義治前教授のお名前をうっかり東京大学農学部の本間運隆前教授のお名前と取り違えて書いてしまいました。本間運隆先生と書いたのは誤りで、正しくは本間義治先生です。ここに訂正すると共に、両先生並びに読者の皆様にお詫び申し上げます。両先生とも長い間親しくご指導を頂いた方々なのにもかかわらず、お名前を取り違えるなどあるまじきことで、非常に申し訳なく存じております。