

『技術部年報 Vol.5 平成 16 年度』

目 次

巻頭言；技術部長	2
平成 16 年度年間行事一覧	3
平成 16 年度学内研修会・勉強会次第	4
平成 16 年度学内研修会・勉強会紹介	7
■特集：技術部職員の技術紹介	14
平成 16 年度学外研修会次第	20
平成 16 年度学外研修会紹介	22
平成 16 年度原著・総説・報告等一覧	25
平成 16 年度原著・総説・報告等紹介	27
平成 16 年度学会・研修会等一覧	35
平成 16 年度学会・研修等紹介	36
平成 16 年度科学研究費等助成金研究一覧	40
平成 16 年度科学研究費等助成金研究紹介	40
平成 16 年度学会賞等受賞一覧および紹介	41
平成 16 年度技術部会次第	42
作業部会報告－標準技術作業マニュアル化作業部会－	43
平成 16 年度技術部年次計画と達成状況	44
平成 16 年度技術部職員動向	45
平成 16 年度技術部職員一覧	46
平成 16 年度技術部運営委員会、技術部委員会名簿	47
あとがき；副技術部長	48

 空 海

技術部長（生理学第二教授） 浦 野 哲 盟

今、空海にはまっている。

Sky-diving と Scuba-diving ではなく、密教の体系を確立した空海である。最澄と同時期に唐に渡り、わずか2年の滞在で密教の本質を極め、帰国後これを体系化し真言宗高野山を開いた。語学の天才であり、橘逸勢、嵯峨天皇と共に三筆の一人に数えられ、更に弘法大師として庶民に親しまれて本邦津々浦々にその足跡を残している。

唐に渡る船が暴風に流されはるか南の福州に漂着したとき、海賊ではないかとの嫌疑を晴らしたのは、墨色鮮やかに記された空海の流麗な漢文の上奏文であったという。また20年間の留学予定をわずか2年で切り上げたのは、当時長安に滞在した密教の第七代の祖である大阿闍梨惠果和尚が、わずか半年前に来たばかりの空海を後継者に定めて幾段階もの灌頂（かんじょう：受戒あるいは即位の儀式）を執り行った後、没したからである。外国からの新参者でありながらわずか半年で何百人もの弟子の中から後継者に選ばれるという傑物であったということである。それでもその頃の密教は未だ確立されておらず、多くの教典を持ち帰った空海が日本で体系化したと、インド思想・宗教家の増原良彦（ひろさちや）はいう。大天才なのである。増原氏は空海を日本のレオナルド・ダ・ヴィンチと称している。

では空海は如何にして密教の本質を極め、惠果和尚に短期間で認められたのか？ まず密教とこれ以外の仏教である顕教の違いを考えよう。広辞苑によると「顕教；言語文字で説き示された釈尊の教え」とある。密教は「深遠で、凡夫にうかがいえない秘密の教え」とある。文字通り怪しい教えである。空海も大言壮語があり少しアヤシイ人間であったらしい。これを先の増原氏は、「顕教；（修業を積んで）仏になるための教え。」、「密教；いきなり仏になって、そのまま、仏になり切って生きるための教え。」、また「仏になりきって生きる仏教」としている。これはわかりやすい。増原氏がインド訪問の時の通訳の学生との会話から見出したものである。仏陀（Buddha）はサンスクリット語で「（真理に）目覚めた人」「悟りを開いた人」の意である。通訳の学生の「私は毎朝 Buddha になります。」と言う言葉を理解できず、後に「毎朝覚醒します」というジョークであったことから思いを至らせた。密教とは「毎朝、仏陀になり、そのまま仏陀になり切る」宗教であろうと。空海は仏になるための教えを段階的に学ぶことなく一気に仏になってしまったと考えたわけである。

これはたやすい。我々にもできる。朝目覚めたときに、「私は仏である、空海である」と考える。そのままなり切ろうとするが凡人の悲しさ、すぐに本性が現れる。でもまた気を取り直して「私は仏だ。」とやるわけである。じつに危ない宗教である。で、駄目ならまた翌朝、「私は仏だ。」から開始する。紙一重である。でも実は真似をすることは学習であり、なり切ることはずっと学習を続けることである。先日テレビで永平寺の107歳の黙照天心禅師が「一日の真似は一日のもの、二日の真似は二日のもの、一生の真似は本物だ。」と言っておられた。

聖徳太子は技術の神様としても崇められています。さあ、皆さんも朝起きたら「私は聖徳太子である。」から始めましょう。・・・うむ、実に危ない。

平成 16 年度年間行事一覧

(平成 16 年度技術部事業報告)

<平成 16 年>

- 4 月 8 日 技術部役員会
- 5 月 12 日 技術部役員会
- 5 月 28 日 技術部運営委員会
- 6 月 3 日 技術部役員会
- 6 月 23 日 標準技術作業マニュアル化作業部会
- 6 月 25 日 第 12 回技術部会
- 7 月 2 日 技術部勉強会 (科学技術・研究を発展させる会、第 1 回)
- 7 月 8 日 技術部役員会
- 7 月 21 日 ダイオキシン類業務特別教育講習参加
- 7 月 29 日 第 12 回技術部研修会
- 8 月 11 日 標準技術作業マニュアル化作業部会
- 8 月 27 日 技術部勉強会 (科学技術・研究を発展させる会、第 2 回)
- 9 月 浜松医科大学技術部年報 (平成 15 年度) 発行
- 9 月 1 日 技術部役員会
- 9 月 2 日～ 3 日 衛生管理者能力向上教育 (初任時) 講習参加
- 9 月 10 日 技術部勉強会 (免疫染色勉強会、第 1 回)
- 9 月 13 日 標準技術作業マニュアル化作業部会
- 9 月 21 日 危険物取扱者保安講習参加
- 9 月 28 日 技術部勉強会 (電子顕微鏡技術勉強会、第 1 回)
- 10 月 6 日 技術部役員会
- 10 月 14 日 技術部勉強会 (電子顕微鏡技術勉強会、第 2 回)
- 10 月 22 日 技術部勉強会 (科学技術・研究を発展させる会、第 3 回)
- 10 月 27 日 第 13 回技術部会
- 10 月 29 日 技術部勉強会 (免疫染色勉強会、第 2 回)
- 11 月 8 日 第 13 回技術部研修会
- 11 月 10 日 技術部役員会
- 11 月 11 日 技術部勉強会 (電子顕微鏡技術勉強会、第 3 回)
- 11 月 17 日～19 日 平成 16 年度東海・北陸地区国立大学法人等教室系技術職員合同研修 (生物コース) 参加
- 11 月 26 日～27 日 局所排気装置等定期自主検査者講習参加
- 12 月 1 日 技術部役員会
- 12 月 14 日 第 14 回技術部研修会 (第 4 回診療支援技術講習会)
- 12 月 21 日 技術部勉強会 (電子顕微鏡技術勉強会、第 4 回)
- 12 月 22 日 平成 16 年度静岡大学技術報告会参加
- 12 月 22 日 技術部勉強会 (科学技術・研究を発展させる会、第 4 回)

<平成 17 年>

- 1 月 5 日 技術部役員会
- 1 月 13 日 技術部勉強会 (電子顕微鏡技術勉強会、第 5 回)
- 1 月 27 日 第 14 回技術部会
- 1 月 27 日 技術部勉強会 (科学技術・研究を発展させる会、第 5 回)
- 2 月 2 日 技術部役員会
- 2 月 10 日 技術部勉強会 (電子顕微鏡技術勉強会、第 6 回)
- 2 月 10 日 特定化学物質作業主任者能力向上教育講習参加
- 2 月 14 日 標準技術作業マニュアル化作業部会
- 2 月 22 日 職場巡視・点検セミナー参加
- 3 月 2 日 技術部役員会
- 3 月 3 日 平成 16 年度大阪大学総合技術研究会参加
- 3 月 3 日 有機溶剤作業主任者能力向上教育講習参加
- 3 月 10 日 技術部勉強会 (電子顕微鏡技術勉強会、第 7 回)
- 3 月 23 日 第 15 回技術部研修会

<技術部研修会>

第 12 回技術部研修会

日 時：平成 16 年 7 月 29 日(木) 15:00～17:30 於：講義実習棟 2 階会議室

参加者数：21 名(技術部職員 20 名)

- | | | |
|----------------------|-------------|-------|
| 1. 講演「外科病理から分子病理へ」 | 病理学第一教授 | 梶村春彦 |
| 2. 報告「岐阜大学技術研究会参加報告」 | 第二医学系技術専門職員 | 藤江三千男 |
| 3. 技術部職員の技術紹介 | | |
| (1)「機器開発における技術」 | 第二医学系技術専門職員 | 門畑一久 |
| (2)「画像計測と 3D 再構築」 | 第二医学系技術専門職員 | 熊切葉子 |

第 13 回技術部研修会

日 時：平成 16 年 11 月 8 日(月) 15:00～17:00 於：講義実習棟 2 階会議室

参加者数：19 名(技術部職員 19 名)

- | | |
|--------------------------------|------------------|
| 1. 話題提供「キシレンに変わる溶剤：クリアプラス製品紹介」 | 株式会社ファルマ |
| 2. 技術部職員の技術紹介 | |
| (1)「話し言葉評価技術のエッセンス」 | 第三医学系技術専門職員 小島義次 |

第 14 回技術部研修会(第 4 回診療支援技術講習会)

日 時：平成 16 年 12 月 14 日(火) 17:30～19:00 於：臨床講義棟小講義室

参加者数：60 名(技術部職員 17 名)

- | | |
|---|------------------|
| 1. 講演「感染性廃棄物の取り扱いについてー本学廃棄物処理計画書の改訂よりー」 | 第三医学系技術専門職員 宮澤雄一 |
|---|------------------|

第 15 回技術部研修会

日 時：平成 17 年 3 月 23 日(水) 15:15～17:15 於：講義実習棟 2 階会議室

参加者数：30 名(技術部職員 28 名)

- | | | |
|---|--------------|-------|
| 1. 講演「血栓について」 | 技術部長、生理学第二教授 | 浦野哲盟 |
| 2. 報告「東海・北陸地区国立大学法人等教室系技術職員合同研修(生物コース)参加報告」 | 第三医学系技術専門職員 | 長谷川敏彦 |
| 3. 技術部職員の技術紹介 | | |
| (1)「タンパク質の同定・機能に関する解析技術」 | 第二医学系技術専門職員 | 藤江三千男 |
| (2)「微生物モニタリングと施設の衛生管理」 | 第一医学系技術専門職員 | 刑部光利 |

<技術部勉強会>

第 1 回科学技術・研究を発展させる会

日 時：平成 16 年 7 月 2 日(火) 17:30～22:00 於：基礎・臨床研究棟別館 B1 階共同ゼミ室

参加者数：15 名(技術部職員 8 名)

- (1)参加者による技術・研究紹介

第 2 回科学技術・研究を発展させる会

日 時：平成 16 年 8 月 27 日(金) 15:00～17:00 於：基礎・臨床研究棟別館 B1 階共同ゼミ室

参加者数：17 名(技術部職員 5 名)

- (1)「プロテオミクスに向かう臨床タンパク質検査」
- ー AnaLight(r) Bio 200 を利用した最新蛋白質・糖鎖研究 ー 丸文(株) 中村徳雄

第3回科学技術・研究を進展させる会

日 時：平成16年10月22日（金）

於：基礎・臨床研究棟別館 B1 階共同ゼミ室

参加者数：11名

- (1)「免疫学におけるサイトメトリーの役割について」 微生物学助手 青枝大貴
(2)提言「大学研究をどうするか（研究者と技術職員の関わり方）」

第4回科学技術・研究を進展させる会

日 時：平成16年12月22日（水）16：00～17：00

於：基礎・臨床研究棟2階共同事務室

参加者数：12名

- (1)「細胞極性について」 生化学第二助教授 上里忠良

第5回科学技術・研究を進展させる会

日 時：平成17年1月27日（木）17：30～

於：基礎・臨床研究棟別館 B1 階共同ゼミ室

参加者数：18名

- (1)「CE/MSの原理と応用」 横河アナリティカルシステムズ（株） 川口 修

第1回電子顕微鏡技術勉強会

日 時：平成16年9月28日（火）18：00～19：45

於：基礎・臨床研究棟別館 B1 階共同ゼミ室

参加者数：21名（技術部職員8名）

- (1)技術報告「免疫電子顕微鏡技術」－総論－ 第二医学系技術専門職員 太田 勲
(2)技術報告「超微構造解析のためのCT法による透過電顕像の3D観察」 第二医学系技術専門職員 村中祥悟
(3)次回からの運営方法の検討

第2回電子顕微鏡技術勉強会

日 時：平成16年10月14日（木）18：00～19：45

於：基礎・臨床研究棟別館 B1 階共同ゼミ室

参加者数：20名（技術部職員8名）

- (1)応用報告「腎研究における免疫電顕の実際」－目的別による各種応用例－ 内科学第一助手 藤垣嘉秀
(2)応用報告「LLDの研究で電子顕微鏡が役に立つこと」 微生物学助手 青枝大貴
(3)技術報告「走査電子顕微鏡でできること」 第二医学系技術専門職員 村中祥悟

第3回電子顕微鏡技術勉強会

日 時：平成16年11月11日（木）18：00～19：45

於：基礎・臨床研究棟別館 B1 階共同ゼミ室

参加者数：15名（技術部職員9名）

- (1)応用報告「内耳の超微構造」 耳鼻咽喉科学助教授 水田邦宏
(2)技術報告「浜松医科大学の超微形態のための設備とソフトウェア紹介」 第二医学系技術専門職員 村中祥悟
(3)応用報告「筋肉の超微形態を介して病因を探る」 聖隷浜松病院研修センター 清水貴子
(4)技術報告「透過電子顕微鏡試料作成法」 第二医学系技術専門職員 熊切葉子

第4回電子顕微鏡技術勉強会

日 時：平成16年12月21日（火）18：00～19：45

於：基礎・臨床研究棟別館 B1 階共同ゼミ室

参加者数：20名（技術部職員8名）

- (1)技術報告「生きた細胞をSEMで観察する」－QXカプセルの紹介－ エムエス機器株式会社 今村直宏
(2)応用報告「病理診断における電顕の利用」 病理部長 三浦克敏
(3)応用報告「臨床微生物学分野における電顕技術の利用」 検査部助手 堀井俊伸

第5回電子顕微鏡技術勉強会

日 時：平成17年1月13日（木）18：00～19：45 於：基礎・臨床研究棟別館 B1 階共同ゼミ室

参加者数：20名（技術部職員8名）

- | | | |
|---------------------------------------|-------------|------|
| (1)技術報告「画像処理と画像ファイリング」 | 第二医学系技術専門職員 | 村中祥悟 |
| (2)技術報告「画像解析」 | 第二医学系技術専門職員 | 熊切葉子 |
| (3)応用報告「ウニ発生時の骨形成における阻害剤の影響を走査顕微鏡で観る」 | 本学理事 | 右藤文彦 |

第6回電子顕微鏡技術勉強会

日 時：平成17年2月10日（木）18：00～19：45 於：基礎・臨床研究棟別館 B1 階共同ゼミ室

参加者数：27名（技術部職員10名）

- | | | | |
|---------------------------------------|-----------------------------------|--------|------|
| (1)応用報告「海辺の等脚目フナムシの不思議」 | 一なぜ海から離れられないのか。微細構造から探る
海辺の秘密ー | 生物学教務員 | 堀口弘子 |
| (2)応用報告「ウシ ICSI 卵の初期受精過程の電顕観察」 | 生物学教務員 | 山濱由美 | |
| (3)技術報告「収束イオンビーム（FIB）による走査顕微鏡内超微細解剖法」 | 第二医学系技術専門職員 | 村中祥悟 | |

第7回電子顕微鏡技術勉強会

日 時：平成17年3月10日（木）18：00～19：45 於：基礎・臨床研究棟別館 B1 階共同ゼミ室

参加者数：16名（技術部職員4名）

- | | | | |
|---------------------------------|-------------------|-------------|------|
| (1)応用報告「カメムシの精巧な眼はナビゲーションに使われる」 | 生物学特別研究員（日本学術振興会） | 弘中満太郎 | |
| (2)応用報告「カイコ卵形成過程の免疫電顕観察」 | 生物学教務員 | 山濱由美 | |
| (3)技術報告「臨床材料の電子顕微鏡試料作製法」 | ー光顕から電顕へー | 第二医学系技術専門職員 | 太田 勲 |

第1回免疫染色勉強会

日 時：平成16年9月10日（金）17：15～18：00 於：基礎・臨床研究棟1階カンファレンスルーム

参加者数：5名（技術部職員5名）

- | | | |
|---|-------------|------|
| (1)PAP 法→ABC 法→SAB 法→シンブルステイン MAX-PO 法までの原理、長所、短所、染色過程の注意事項 | 第一医学系技術専門職員 | 金田正昭 |
|---|-------------|------|

第2回免疫染色勉強会（実習）

日 時：平成16年10月29日（金）17：00～20：00 於：基礎・臨床研究棟5階形態系共同実験室

参加者数：6名

- | | | |
|--|-------------|------|
| (1)間接法（HRP 標識、マウス IgG, ウサギポリクロナール抗体）・ENVISION（デキストランポリマー法）と
パラフィン切片（リンパ節）の実習による DAB 法と発色 DAB 基質キット法との優位差の比較 | 第一医学系技術専門職員 | 加茂隆春 |
|--|-------------|------|

備考；

研修委員会

（委員長）村中祥悟

（委 員）藤江三千男、鈴木一成、袴田悦子、五十嵐久喜

診療支援技術講習会世話人 小島義次

科学技術・研究を発展させる会世話人 柴田 清

電子顕微鏡技術勉強会世話人 村中祥悟

免疫染色勉強会世話人 金田正昭

《技術部勉強会》 電子顕微鏡技術勉強会

○総括

電子顕微鏡技術勉強会 世話人

村中祥悟

電子顕微鏡技術勉強会を開催するに当たり、電子顕微鏡を用いる超微形態学の現状把握と勉強会の持つ意味について考えておかねばなりません。

一時期、医学生物学領域の大型予算には、必ずと言っていいほど電子顕微鏡関連項目が上位にランクされていました。しかし、現在は大型予算を必要とする機器が目白押しで、電子顕微鏡関連機器にはめったに予算が廻ってこなくなりました。このような現状の原因として、電子顕微鏡のニーズが減ってきたと捉える向きもありますが、決してそのようなことはありません。超微形態解析の必要性は、最も説得力のある 2 次元、3 次元データとして依然として重要な分野と認知されています。ではこのような現象が生じる原因は何かを考えると、電子顕微鏡を用いた超微形態解析の研究には、高価な装置、高い技術、結果が出るまでの長い時間、多くの人手を必要とするところにあるのではないのでしょうか。現在の日本で最も嫌われている要素である「金と時間と人手」が三拍子も揃ってしまっています。研究が論文の数で評価される風潮も一役買っているかも知れません。現状を克服するにはそれぞれの負の要素を解決しなければなりません。

このような現状に対応するには、分子生物学全盛の折に、超微形態学に於いても試料作製・観察方法全てに対応できる体制創りが必要です。より高度な技術の開発が絶え間なく行われていなければなりません。その意味でも勉強会でより多くの分野から情報を得ることは有意義なことです。しかし、技術が高度になれば、現在でも技術の習得は簡単ではない上に、より困難になります。従って、研究者・臨床医と電子顕微鏡技術者による分業がより明確になる方向になると思われます。よって電子顕微鏡室ではサービスを拡大し、利用者の希望により、技術面の全てのサポートに対応できるようにすることが必要です。しかし弊害もあります。研究者・臨床医の技術離れは、「電子顕微鏡を用いて何ができるか」からも離れてしまうことです。そこで我々に必要なことは、「電子顕微鏡は現在このように活躍している」ことを常に発信することです。それには利用者拡大の活動としてこの勉強会のようなセミナーの開催、学内で機器・新手法のデモ、プロジェクトの推進などが考えられます。特に昨今は解析が複雑かつ多岐に渡り、一分野による研究では行き詰まりを見ますが、分野を超えたチームによる研究が功を奏することが多いといわれています。超微形態解析も大学内外プロジェクトチームに積極的に加わり、効果的な研究の推進に一役買うことが必要と思われます。

このような背景にあって、2004 年 9 月より毎月一回、電子顕微鏡技術勉強会を講演会形式で開催してきました。毎回のプログラムの中に、技術紹介と応用技術を入れ、技術職員と教職員がお互に講演するような形式をとりました。お陰様で、技術職員 14 名、教職員 38 名の計 52 名の参加を得ることができました。平成 17 年 6 月の第 10 回までに延べ参加者は 200 名近くに達することと予想されます。第 10 回まであと 3 回ありますので皆様の御参加をお待ちしています。また今後も機会がありましたら第 2 クールを立ち上げたいと思います。

○「免疫電子顕微鏡技術」－総論－ 《第 1 回勉強会より》

第二医学系技術専門職員

太田 勲

免疫電顕法はある特定の抗原物質の局在を細胞内小器官単位で観察することにより、抗原物質の生理的役割や細胞の機能状態を微細構造との関連で解析する。その基本原理は抗原抗体反応を基盤とし、光顕レベルでの技法と変わらないが、抗体に標識する物質は電子顕微鏡で検知、可視化できるもの(酵素や重金属など)でなければならない。このような免疫電顕法は種々の分類がなされているが、電顕観察のための試料作製法の側面からみた場合 pre-embedding 法(包埋前染色法)と post-embedding 法(包埋後染色法)に大別される。他にも凍結超薄切片法や凍結レプリカ法がある。免疫電顕法は、腫瘍、免疫、内分泌生物学などの研究面での応用はもとより、病理組織診断の領域でも活用され、医学生物学の分野で必要不可欠な技法となっている。

生物試料の透過型電子顕微鏡 (TEM) 像観察法は、超薄切片法による手法が開発されてから、すでに 50 年近くが経過している。この間、TEM の分解能の向上や薄切装置の改良などにつれて TEM 像からは多くの情報を得ることができるようになった。しかし、厚みのある切片中に内包される様々な微細構造が、まとめて平面に投影される方法は基本的に変わっていない。超薄切片の厚みが少なくとも 60 nm 以上あることから、数十 nm 以下の構造体は他の構造と重なって投影されるために正確な形態情報を得るのは困難である。近年の TEM による分子生物学的研究には、超薄切片の中の形態情報を取り出す手法が必要とされる所以である。一方、Computer Tomography (CT) 法による 3D 再構築法の理論は以前から提唱されている。切片内構造を 3D 再構築するためには、構造体の切片内における高さ情報を得る必要があり、そのために切片を何段階にも傾斜させて得た TEM 像をコンピュータで合成する。3D 像再構築の手順は、超薄切片を傾斜角がおよそ $-60^{\circ} \sim +60^{\circ}$ の間を 2° おきに 150,000 倍で撮影し、これら数十枚の TEM 像から CT ソフトにて 3D 再構築像、任意の断面像を作製する。またこれら超薄切片の中に埋もれた超微細構造の情報をビデオ映像に記録する。

新しく開発されたソフトウェアを利用し、試料ホルダの工夫、撮影法の効果等を併せて、汎用の TEM とパーソナルコンピュータを用いた日常的手法としての応用を試みた。その結果、細胞小器官、鳥インフルエンザウイルス、臨床材料などの、3D 再構築像および 3 nm 厚切片の表示などにより超薄切片の中に埋もれた超微細構造の情報を得ることができた。本法の実用化は、切片の厚みに規制される超薄切片法の限界を 50 年目にして打破する手段であることがわかった。

○「走査電子顕微鏡でできること」 《第 2 回勉強会より》

第二医学系技術専門職員

村中祥悟

形態学において肉眼では大きさ 0.2 ~ 0.1 mm の物を識別するのが限界で、それより小さい物を見るには拡大する道具が必要である。物をいかに細かいところまで識別できるかを分解能といい、識別可能な (75% の強度分布) 2 点間の最小距離または角度で表わす。標本の表面を立体的に観察するために分解能をよくするための道具として、最も簡単な虫めがねから実体顕微鏡、光学顕微鏡、走査電子顕微鏡 (Scanning electron microscopy; SEM) がある。

走査電子顕微鏡は細く絞った電子線 (電子プローブ) で試料表面の一部を隙間なく順に照射 (走査) してエネルギーを与え、そこから得られる形態情報を電気信号として画像を CRT (モニタ画面) に表示する装置である。走査電子顕微鏡で得られる画像は、一般的には二次電子像 (secondary electron image) と反射電子像 (backscatter electron image) があり、元素分析の用途で X 線像 (X-ray image) がある。

二次電子像は試料表面像を深い焦点深度で立体的に捉えることができ、反射電子は試料表面からやや内側の物質の電子密度に対応した明暗像を示す。走査電子顕微鏡は 1942 年に Zworykin らによって試作され、その後の性能の向上は目覚しく、特に電界放射型 (field emission type: FE) 電子銃の開発と真空技術の向上によって、分解能が飛躍的に向上した。現在、二次電子像での分解能は普及型で 3 nm、電界放射型電子銃を持った高分解能型で 0.5 nm に達している。また、最近では試料室の真空度を低真空にして、水分を含んだ生に近い試料を観察することのできる低真空走査電子顕微鏡や環境 SEM (ESEM) が開発されている。ここではこれらの機器の原理、構造、特徴、取扱い法について実際の像を見ながら詳しく述べる。

○「浜松医科大学の超微形態のための設備とソフトウェア紹介」 《第 3 回勉強会より》

第二医学系技術専門職員

村中祥悟

浜松医科大学超微形態共同実験室で利用できる機器とソフトウェアについて紹介した。

1. 透過電子顕微鏡と周辺機器

- ・オンライン透過電子顕微鏡システム (JEOL; JSM1220、SSCCD カメラ GatanMulti791)
- ・オンライン 200KV 複合透過電子顕微鏡システム (JEOL; JEM200CX、X線分析装置 Revox7025J)
- ・透過電子顕微鏡 (JEOL; JSM100CXII) ・凍結切断レプリカ作製装置 (JEOL; FD-7000)
- ・イオンビームスパッタリング装置 (ES-1) ・真空蒸着装置 (JEOL; JEE-4B)
- ・硬組織試料作製装置 (BUEHLER; ISOMET、マルトー; スピードラップ)

- ・ウルトラミクロトーム (Leica; UCT、Reichert; OmU4) ・凍結超薄切片作製装置 (Reichert; 4E)
- ・電顕オートプロセッサ (サクラ; REM-20B、サクラ; REM-20C) ・親水化処理装置 (JEOL; HDT-400)

2. 走査電子顕微鏡と周辺機器

- ・オンライン走査像観察システム (HITACHI; S-4800) ・オンライン走査像観察システム (HITACHI; S-800)
- ・アトムビーム照射装置 (ATOMTEC; ワイドアトムビーム 765) ・イオンスパッタリング装置 (JEOL; FC100)
- ・凍結乾燥装置 (JEOL; JFD-300) ・オスミウムコーティング装置 (盟和商事; PMC-5000s)

3. 画像処理装置

- ・ワークステーション (シリコングラフィクス; 02) ・プリンタ (Pictography3000)

4. 画像処理ソフトウェア

- ・画像計測ソフト (IPLab) ・CT-TEM3D 構築ソフト (JEOL)
- ・Volume Rendering ソフト (Boxel View) ・画像処理ソフト (Adobe Photoshop7)

○「透過電子顕微鏡試料作成法」 《第3回勉強会より》

第二医学系技術専門職員

熊切葉子

標準的透過電顕試料作製手順

1. 試料採取

試料の変成と挫滅を最小限にとどめること。処理までの時間を最小限に。

2. 前固定

グルタルアルデヒド固定液もしくはカルノフスキー固定液を用いる。(pH7.4、4℃2時間)

3. 後固定

オスミウム固定液を用いる。(pH7.4、4℃2時間)

4. 脱水

エタノール上昇系列: 50, 70, 80, 90, 95, 99, 100%を用いる。

非水溶性の樹脂を浸透させるため組織を脱水する。脱水不足は、樹脂の重合不良・切片に孔を生ずる。

5. 置換

プロピレンオキサイトもしくはQY-1を用いる。エタノールと包埋樹脂の双方に溶解する液と置換する。

6. 樹脂包埋

エポキシ樹脂主材と DDSA 重合剤 (軟)、MNA 重合剤 (硬)、DMP-30 (重合促進剤) を Luft 法で調合して用いる。

7. 熱重合

40℃24hr、60℃48hr かけて樹脂を硬化させる。

8. 切片作製

ウルトラミクロトームを用いる。ガラスナイフで1~2μm厚の準超薄切片を作製、光顕観察にて超薄切片作製部位の決定。トリミングののち超薄切。

9. 電子染色

酢酸ウラン、タンニン、鉛、タングステン酸などを用いる。

電子線に対して散乱効果の高い重金属で染色する。

10. コーティング

カーボン蒸着装置を用いる。

超薄切片にカーボン膜をコーティングすることにより電子線に対する強度を高める。

11. 電顕観察

○「画像処理と画像ファイリング」 《第5回勉強会より》

第二医学系技術専門職員

村中祥悟

医学生物学で取り扱う画像は、従来のアナログ情報から急速にデジタル化しつつある。カメラ、ビデオの他、光学顕微鏡や電子顕微鏡からもオンラインで画像をデジタル情報としてコンピュータに取り込めるようになったからである。また、パーソナルコンピュータの飛躍的な処理能力の向上により、高品質な画像が容易に得られるようになったこともデジタル化を促進している。技術紹介の内容は「1. デジタルの基礎」のみ記載し、2. 以下はインデックスのみ表示する。

1. デジタル画像の基礎

1) デジタル表示

コンピュータは内部でデジタル処理を2進法で行っている。この0か1である2進数1桁がビット (bit) という最小単位である。ビットを8桁にした8bitの列を1バイト (Byte) といい、コンピュータで情報を扱う上での基本単位である。一般的にビットを小文字のb、バイトを大文字のBで表す。デジタル画像とは、連続した階調で構成される従来の写真やフィルムなどを、網の目のように任意の細かい点 (ドット:dot) に分け、その濃度を強制的に8bit (2の8乗=256) の段階に分けて数値変換した情報を、位置情報とともに電氣的に取り扱えるようにしたものである。光学顕微鏡などからのカラー画像の場合は、フィルターでRGB (赤、緑、青) の成分に分離したものを256段階に数値変換している。RGB各ドットの集合したものをピクセル (pixel) といい、モニター上では光の3原色の原理でフルカラーを表現している。一般的に、ドットやピクセルのことを画素という。

2) ファイルサイズ

デジタル画像は、信号データそのものの大きさ (ファイルサイズ) とモニターやプリンタで表現される視覚的な大きさがある。ファイルサイズは縦画素数×横画素数で示される。例えば、縦横1,024画素のデジタル画像のファイルサイズは1,048,576 Byteである。通常1,000mは1kmと表わすようにキロは1,000であるが、コンピュータでは1KB (キロバイト) =1,024Byte、1MB (メガバイト) =1,024KBで表わす。

一方、視覚的な大きさである画像サイズは、画像の持つ画素をどの程度の密度で視覚できる媒体に展開するかを表す解像度という要素で決定する。表示面積が等しい場合、解像度が画素数に依存する。解像度はdpi (dot per inch) またはppi (pixel per inch) で表す。例えば前述の1MBのデジタル画像を、72dpiのモニターに表示する場合、画像の表示寸法は縦横共に $1,024 \div 72 \times 25.4 \approx 361.2\text{mm}$ となる。また、プリンタで144dpiの解像度で印刷すると $1,024 \div 144 \times 25.4 \approx 180.6\text{mm}$ 四方となる。従って、より大きいファイルサイズの画像は解像力も良く、また画像の持つ情報も豊かであるが、コンピュータの保存領域を圧迫し、処理時間が長くなるなどの影響を及ぼす。これは以下のデジタル画像を取り扱う上で非常に重要なことである。

以下のインデックスについても勉強会の席上で詳しく言及した。

2. オンラインデジタル画像システム 3. オンラインデジタル画像の取り込み 4. オフラインデジタル画像の取り込み 5. デジタル画像のメリット 6. デジタル画像処理 7. まとめ 8. 参考サイト

○「収束イオンビーム (FIB) による走査顕微鏡内超微細解剖法」 《第6回勉強会より》

第二医学系技術専門職員 村中祥悟

走査電子顕微鏡 (SEM) は生体の表面構造の立体的観察に大変有効であるが、表面観察に引き続いて内部の構造も解明したい欲求が生じるのが常である。表面構造と内部構造との関連の解明は長年の課題であったが、従来の方法では試料を任意に微細解剖することはできなかった。一方、イオンや原子が標的物質に衝突すると、物質は注入されたそのエネルギーによるスパッタリングによってエッチング (研磨) される現象がある。イオンエッチングではイオンや原子が数千ボルトで加速され、ビームとなって試料に照射されその部位をエッチングする。Focused ion beam (収束イオンビーム) 照射装置は電子顕微鏡試料の任意の部位を指定して高精度に微細加工 (微細解剖) する装置で、主に半導体の分野への用途で開発利用されている。本装置を生物試料に応用することで、SEM試料の試料表面から内部構造を任意に微細解剖して観察することができる。

FIB照射装置はSEMにFIB照射装置を組み込んだデュアルビーム方式であるfei社のXL830および日立製作所のS-3000FBを用いた。これらの装置では試料の上方にSEMの対物レンズがあり、斜め上方向からFIBが照射される。イオン照射条件はSEM試料、TEM試料共に直径300~500nmのプロープで照射電流が20nAの強度で使用した。この条件のイオンビーム照射では発生する熱が試料の微細構造に与える影響は認められない。

次の試料について効果を示した。

(1) ラット腎系球体 (2) ラット大脳血栓モデル (3) モルモット内耳 (4) 寄生虫卵 (前腸異形吸虫) の段階的断面観察 (5) ショウジョウバエの足端部の断面および化学感覚器の観察 (6) ウニ発生卵 (プルテウス) の骨片観察 (7) フナムシ足端の化学感覚器の内部構造剖出 (8) 魚のウロコ内に寄生したメタセルカリアの剖出

形態学における生物試料の観察では、肉眼的な観察から始まり実体顕微鏡、光学顕微鏡、TEM、SEMなどを用いて、多彩な形態情報から組織の全体像を把握している。光顕と電顕、SEMとTEMの間で、あるいは総ての顕微鏡の間で同一部位を対比観察できれば形態学的に多くの知見が得られるのは必至である。しかし、顕微鏡の種類によって各々異なった試料作製法を必要とし、同一組織の同一部位を機能の異なる顕微鏡で観察するには特殊な方法を必要とする。「戻し電顕法」は同一試料を複数の顕微鏡用に試料を作り替えながら観察する方法を指す。とりわけ光顕用に作製したパラフィン包埋組織を電顕で観察する為の方法、あるいはSEM試料からTEM観察する方法が重要である。一方、「戻し電顕法」は同一試料から細胞レベルで対比ができるメリットがあるが、操作が二重三重に重なることなどで人工産物を生じる問題点がある。「戻し電顕法」においては人工産物を軽減し、再現性のある像が得られるように最善の処理法を模索検討する必要がある。

○電子顕微鏡技術勉強会に参加して

法医学技術補佐員

岡本直子

法医学教室にいる限り、電子顕微鏡を使うことはなかろうと思われる。それなのに電子顕微鏡技術勉強会に参加したのは、まず、専門的な知識のある方々のお話を聞くことが出来るのならその機会を有効に使いたいという考えが第一であった。そして第二には、光ではなく電子で物を見るとはどういうことなのだろうとの興味があったからだ。

さて、実際に参加してみてであるが、みなさん写真をふんだんに盛り込んだPowerPointを使って充実した内容のお話をしてくださった。何回かは時間が押してしまってプログラムの中で次回まわしになる項目も出るほどだった。勉強会の雰囲気は活気に満ちたものであり、質問も活発になされていた。素人の私にも「こういうものが見られるのか」とか「こういうところで苦労があるのだな」など感心することが多かった。

ところで残念なことに、勉強会をひらいていたゼミ室は狭く窮屈だった。あと少し参加者が多ければ収容できなかったはずである。できれば、もうひとまわりで良いから大きな部屋は確保できなかったのだろうか。しかし、私にとって参加して一番よかったことは、今まで存じあげなかった先生方がこの教室のどなたでどんな研究をされているのかを知ることが出来たことだろう。学問的には直接関係はないが、この大学の中で生活していくうえでは大きな収穫であったと思っている。

《技術部勉強会》 科学技術・研究を発展させる会

○総括

科学技術・研究を発展させる会 世話人

柴田 清

サイトメトリの分野においてフローサイトメータは、4チャンネルから7チャンネルへ変貌を遂げリンパ球サブセットに対する多重解析を可能にした。また、発想の転換より生まれたCBAの開発は、ELISA法を非常に簡便化し同時に多種類のサイトカイン量を測定可能にした。また、ソーティング技術においては、一秒当たり1000個程度であったものが、幹細胞取得のために今では、30000個以上に達している。このように技術開発・研究が日々成長を遂げているなか狭い領域の中に身を置いている我々の技術、研究は、他分野の中でどうなのだろうかという疑問が湧いてくる。あなたの今の研究手段では一年以上掛かるけど、私の分野では多分3日で終わりますよ、といったことが実際におこっていると想像できる。そんな不安を解消すべく多分野の専門家を集めて意見を交換する場を作る事にしたのがこの勉強会である。名前はちょっと大げさな科学技術・研究を発展させる会である。一応、勉強会に入るための世話人によるチェックはあるが、たいしたものではない。例えば、年に一度以上の発表ができる方（約1時間）と自分の技術を他の職員に利用してもらいたい方（やる気）などである。平成16年度には5回を数えているが、ほとんどが研究者による発表である。また、新しい機器のセミナーもメーカーにお願いしているので案外ためになる。今後も2ヶ月に一度のペースでありあまり負担にならず、また肩が凝らない場にしていこうと考えている。こう言っている間にも勉強会会員の頭のなかに新しい発想が生まれていることを期待している。さてと、新たな専門家を見つけに行かなくては。

免疫組織化学染色は第1回の講義でも説明したように、現在では病理診断・組織学的研究において不可欠な存在である。この勉強会を通して染色方法の歴史、理論、最新の染色方法、注意点を学び、即実践に対応した勉強会ができたものと考えている。

○免疫染色概論 《第1回勉強会より》

第一医学系技術専門職員

金田正昭

免疫組織化学染色は腫瘍の組織由来、ウイルス抗原等の同定に必須な方法で、病理診断、組織学研究に広く用いられている。

《歴史》1960年代の後半には西洋ワサビペルオキシダーゼ酵素を抗体に標識し、抗原の局在部位を顕微鏡下で観察可能な酵素抗体法の技術を開発した。1970年にはPAP(Peroxidase-Anti-Peroxidase)法が、1979年にはアビジンとビオチンの反応を利用したABCが開発された。その後アビジンに代わり、中性蛋白質であるストレプトアビジンを用いるSAB法が開発された。現在ではシンプルステインMAX-PO法(製品により名称は異なる)で、この方法はアミノ酸ポリマーに酵素と第二抗体が結合している為、従来の二段階から一段階に省略できる方法である。現在使用されている免疫組織化学染色方法の主流で効率的にかつ鋭敏に染色を行うことができる。

《原理》組織、細胞中に局在する特定物質を抗原とし、その抗原に対する抗体を反応させ、その物質の局在を可視化させるのが免疫組織化学染色である。可視化の方法はいろいろあり、酵素を応用した、いわゆる酵素抗体法が最も一般的である。

《免疫組織化学染色の染色(シンプルステインMAX-PO法)手順》

1. 脱パラフィン 2. 内因性ペルオキシダーゼ除去 3. 一次抗体の添加・反応 4. シンプルステインMAX-PO添加・反応 5. 基質溶液の添加・反応 6. 核染色 7. 封入

○免疫染色実習 《第2回勉強会より》

第一医学系技術専門職員

加茂隆春

組織標本を作製している技術職員が集まり、免疫染色勉強会を金田技術長が行った。やはりそのあとは、実際に手を動かすことになり実習の担当を任された。免疫染色の方法は、大きく分けて間接法とENVISION+による感度の違いを比較した。その中で、前処理や発色剤の検討も行った。

《材料と方法》材料は、ヒトのリンパ節組織(染める細胞は正常部で胃付属の腫瘍が混在するもの)、ホルマリン固定のパラフィン切片を用いた。方法は、脱パラのあと◆MW処理(10mMクエン酸Buffer、pH6.0):前処理(+)、前処理(-)2種類を比較◆内因性ペルオキシダーゼ阻止(0.3% H_2O_2 加メタノール)◆10%正常血清(二次抗体と同一動物:ウサギ、間接法のみ行う)◆一次抗体(UCHL1、抗ヒトマウスモノクローナル抗体)◆二次抗体:間接法(HRP標識、抗マウスIgG、ウサギポリクローナル抗体)、ENVISION+(デキストランポリマー法)2種類を比較◆DAB溶液(3,3'-ジアミノベンジジン四塩酸塩):Dotite/和光純薬、DAKO/K34652種類を比較◆核染(マイヤーヘマトキシリン)のあらましである。

《結果とまとめ》ENVISION+>間接法の差は歴然としていた。MW処理はデータシートに従うと必要ないが、過固定の組織は前処理(+)により差が出る人が多いので、固定液の影響を確認するために施した。あえてMW処理の不必要な組織を選んだが、前処理したことで染色低下した2つをDAB溶液の発色度合いを比べた。しかし高感度なDAKOを用いても、前処理なしの切片とは優劣を争うこともなかった。これらの比較検討は、本番に用いる抗体の前実験も兼ねており、出来上がったプレパラートによる選択方法の一例を示したことになる。今回の実習は、幾つかの方法を参加者各自が1種類ずつ受け持って、免疫染色からプレパラートの観察まで行った。

○免疫染色勉強会に参加して

第一医学系技術専門職員

宮崎一夫

病理組織免疫化学染色技術勉強会を金田技術長の世話で、2004年9月10日17:15~18:00と10月29日17:00~19:00の2回行った。実際に免疫染色を行っていない人の参加もあり、染色法のマニュアルを読み、説明するという初歩からの勉強会となった。実技では本に書かれていない細部の手技手法を見ることができ

た。その手技手法を取り入れるかどうかは個々の判断として、今後もその人だけしか行っていないノウハウを公開して欲しいものである。このように勉強会を開いて技術を共有することは、お互いに上達を早める大切なことである。特にこの免疫染色のような歴史が浅く、Methodの確立が半ばであると、出来上がった標本にばらつきが出やすいゆえに、最新の情報をもって作製に当たらなければいけないと思った。今後も新しい染色試薬キットが発売されたら、そのキットについての勉強会を行うことを要望する。またこれらの標本を鏡検している諸先生方も参加して、実際の作成過程を見聞しておくことは、有意義なことだと思われる。

以前は、技術を個人技として干渉しなければ、伝授してもらえる環境になかったが、技術部創設後は、技術を共有しようとする機運が高まってきている。このように技術をお互いに切磋琢磨することが、技術部の目的とする「資質の向上」につながると考える。勉強会の終了後にささやかな茶話会を開いた。そこで食した「たこ焼き」のおいしさが思い出となった。世話人及び教えていただいた皆さまに感謝申し上げる。

《技術部研修会》 第4回診療支援技術講習会

○「感染性廃棄物の取り扱いについて—本学廃棄物処理計画書の改訂より—」

第三医学系技術専門職員

宮澤雄一

研究棟各研究室、病棟各診療科等に掲示されている「廃棄物の分類と梱包容器の区分」なる表（以下、ポスター）は、「本学廃棄物処理計画書（以下、計画書）」を受けて作られている。その計画書の根拠は「廃棄物の処理及び清掃に関する法律」に求められ、特に感染性廃棄物については「廃棄物処理法に基づく感染性廃棄物処理マニュアル（以下、マニュアル）」に詳細が定められている。平成16年3月、マニュアルがおよそ12年ぶりに改訂され、同7月には早速正誤修正がなされたことを受け、「本学廃棄物処理委員会」では計画書の改訂を行った。

筆者の所属する医療廃棄物処理センターでは計画書改訂版の素案を作成すると共にポスター改訂版を作成した。計画書（の作成）は、大規模事業所の行政に対する適正処理のアピールであり、各排出単位の医療従事者がそれを目にすることはまずない。医療従事者にとってはポスターが分別等取扱いの拠り所であり、且つ、それを長きに渡って継続してきたことから、今般の計画書改正を受けてなお、現場における混乱を最小限に抑えるようなるべく従前と相違点のないように工夫してある。そして、その周知のために、技術部診療支援技術研修の場を借りて、本学全ての医療従事者を対象に感染性廃棄物の取扱いについての啓蒙講習会を行った。

講習の切り口としては医療従事者の参加が多いということもあって、感染症の話から始めた。マニュアル改訂のポイントは、旧マニュアルでは「漫然と医師の判断に委ねていた」感染性の有無について「感染症法に従って客観的な感染症・臨床微生物の知識によって行う」と変えたことである。よって、医療機関等では再学習・知識の普及に努めることとなり、感染性廃棄物か否かの判断基準が次のように明確に示された。すなわち、形状の観点、排出場所の観点、感染症の種類の観点、さらに確定まで、について、語順通りの優先順位を持って、客観的に判断できるようになった。血液製剤は従来全て感染性廃棄物であったが、今回、形状の観点を項目から削除された。しかし、それは決して緩和ではなく、全血製剤と血液成分製剤については外見上血液と見分けがつかないとして感染性廃棄物と同等なものとし、血液分画製剤については非感染性であると示したにすぎず、医療現場では分別の手間が増えることになったかも知れない。同じく形状の観点から血液の付いた鋭利なものは当然感染性廃棄物であるが、従来は院内処理（滅菌）することにより非感染性となっていた。改訂では「形状の観点」が最優先されるので、それを院内処理しても感染性廃棄物であることに変わりがなく、滅菌部局では滅菌する価値のあるものと無いものを分別する手間が増えたかも知れない。

感染症の種類の観点では、感染症に用いた輸液点滴セット・透析回路のどの部分が感染性廃棄物なのかが示され、回路中の血液の付いていないエアークン（ついでに未使用針も）は鋭利なものとして感染性廃棄物と同等なものとなった。同じく感染症の観点から紙おむつについては血液の付着の有無の他、感染症別に詳細が示された。全てをここでは紹介できないが、日本医師会の感染性廃棄物安全処理推進者養成講座に対して、紙おむつの感染症別詳細があるなら、留置バッグはどうか？、ディスク製品の包装紙や箱、患者さんの入院生活から生じる一般的なゴミ（湯飲み、歯ブラシ等）、病室のシーツやカーテン、果ては空調のフィルタや調度品は？、というような質問が寄せられているので、講習会ではできるだけ説明を行った。

最後に、本学の感染性廃棄物の取扱い全般に係るコストについて、本学附属病院材料部の石野直己さんに貴重な資料をいただいたことを感謝いたします。私が用意した500床以上の病院について調査した文献資料による2300万円という感染性廃棄物処理のコスト結果とほぼ同額でありましたことを記しておきます。

はじめに

私は、言語聴覚士というのですが、附属病院のリハビリテーション部で言語療法を担当しています。今日は、言語聴覚士の技術の一端を紹介して、若干なりとも皆様のご理解が頂けたらありがたい。

話し言葉というのは、断るまでもなく、音の一種ですから、言語聴覚士としての技術のひとつは、この耳にあるんです。我が耳で言葉、患者さんの言葉の特徴を聞いて、話すという行為のどこに、この行為は一連のプロセスの結果と考えられるんですが、その一連のプロセスのどこに障害があるのか、耳を使ってその聞き分けをすることが技術なんです。

言葉のプロセス

言葉を発するためのプロセスは、どんな段階を踏んで言葉になるかということは、言い出せばいろいろ議論になるのですが、ここでは大きく三つの段階を挙げます。

その第一は、発話の意図ないしは目的、つまり相手にこんなことを言おうという内容を確定する、こんなことを言いたいという意図が作られる段階です。うちのcamiさんに食事を促す時「おい、飯まだか」ということは、言葉も発音もいたって normal ですから、時々無視されることがあるにしても、たぶん支障がないと思いますが、朝の廊下で、例えば、我が部長に行き合がしらに「おい、飯まだか」とやったら意志の疎通はおぼつきません。たとい奥さんに向かって言うにしても 10 分前に食事が済んだばかりだったりしても具合が悪い。状況認識が現実にはそぐわなくなってコミュニケーションがとりにくくなるというのは、認知症（痴呆）患者さんの場合になります。

言葉のプロセスの第二は、発話の意図にそって言葉を配列して文を構成する段階です。必要な単語を選んできて相手に通じる順序に並べる。「おい、まだ飯か」では食事を促すことになりません。また、単語も音の並びを正しくしないといけない、「えつびん」ではない「えんびつ」だ、というわけです。

第三番目のプロセスは、頭の中の文を発音に置き換える、話すというのはのどや顎・舌・唇といった部分を動かすことで実現されるものですから、発音運動を行う段階になります。

第二、第三のプロセスが障害されるのが言語障害ということになります。

プロセスの第二は言葉の要素を正しく選ぶ、一定の規則にそってその要素を配列するというのが課題です。この障害は失語症といえます。

プロセスの第三は運動の問題で、麻痺や協調運動の障害ということに対処しなければならない。運動性構音障害といえます。

失語症と運動性構音障害とは、性質が全く違うものですから、患者さんに取り組んでもらう課題の性質も異なります。ですから、ここは正確に鑑別して、正しい課題に取り組んでもらう必要があるわけです。ここで我が耳、言語聴覚士の技術だと申し上げました耳の登場です。

症例提示

発話サンプルのテープを流します。ー 録音供覧 ー。もう一例あります。ー 録音供覧 ー。

音の条件が悪くて、聞き取りにくいですね。つまりこんな場所では言語療法の技術も発揮しにくいということです。実際は騒音の少ない個室で患者さんと対面で行うわけです。

はじめからもう一度聞いてみます。条件が悪いので、よく聞いて下さい。

第一例目、はじめは、絵を見せて何の絵が書いてあるか言わせて、それからこちらをまねてもう一度言ってもらっています。自分で言った時とまねて言った時とで違いがあるか、それから「靴下」が出てきますが、なんと言っているか、聞き取って下さい。ー 録音供覧 ー。



「靴下」にたいして「つくした」とおっしゃってます。実際に口の中で言ってみてもらおうと分かるんですが、「くつした」というと舌の奥がまず動いて「く」になり、そのあと舌の前が動いて「つ」になります。それが「つくした」ですと逆で、まず舌の前が動いてそのあと舌の奥が動きます。動く場所が違う。いわば親指を動かすべき時に小指が動いているようなことです。「親指動かしてごらん」というときに小指が動くということは麻痺や協調運動障害では起こり得ないものです。むしろ「靴下」の音の並びを組み立てる時に「く」と「つ」が入れ代わっちゃった、そう考える方が説明が付きやすい症状です。

もうひとつの特徴は自発的に言ってもらった時とまねていったもらった時で発音が変わる、発話の状況、自発かまねてかによって「あさち」「まさち」などと発音が変動しています。

次は、氏名を言ってもらっています。－ 録音供覧 －。

これも「ウチダ チヨ」と配列すべきところ「ダ」が落っこちて名字の「チ」と名前の「チ」が融合して「ウチヨ」になっちゃった。言葉の要素の選択と配列の障害です。

次は1から10まで数を数えてもらってます。そのあと会話。－ 録音供覧 －。

割と上手に10まで数えています。それが、会話になると「えーと、えーと」ばかりで言葉になっていません。

系列語というんですが、「12345」とか「日月火水木金土」、「いろはにほ」など、頭の中にひとまとまりになって入っているものですから、いちいち順序を考えて配列するということがいらない、その配列するという負荷が少ないから会話なんかにくらべるとずーっと言いやすい、そういうことと考えられます。

以上のような特徴から、この方の障害は、先に挙げた言葉のプロセスの第二の段階にあるということになります。

さて次は、第二例目です、この方は、口腔顔面領域の麻痺による発音障害です。

－ 録音供覧 －（氏名、絵にあるものの名称を言う、単語を真似て言う）。

この方の特徴は自発的に言ってもらった時とまねて言ってもらった時ともに同じような発音で、発音が大きくは変わらない。手の動きに例えて言えば、麻痺で手がここまでしかあがらない時に、手をこうやってあげるのだと見本を示されてもやっぱりここまでしかあがらないわけです。

次は、1から10まで数を数えてもらってます。ここで1、2の「に」、それから7、8の「ち」の音がどう出てるか、注意して下さい。

－ 録音供覧 －（1から10まで数を数える）。

2の「に」は出せていますが、7、8の「ち」は出ていないことを聞き取っていただけたでしょうか。ここで問題ですが、「に」と「ち」ってどう違うと思いますか。どこが違って一方は「に」になり、もう一方は「ち」になるんでしょう。「に」と「ち」ですよ。

その違いは、ここに、鼻に指をあててもらおうと分かるんです。「に」「ち」「に」「ち」、どうですか。「に」と言うとき鼻に振動がありますが「ち」では鼻に振動が伝わりません。つまり、「に」も「ち」も、舌とかの動きは一緒ですが、「に」では鼻に声が抜けるのに対して「ち」では鼻に声が抜けない。もっぱら口に声が出ているわけです。

日本語では、大半は「ち」の時のように、鼻へは抜けない音です。例外は、「な」行音、「ま」行音、「ん」、それから鼻濁音の「が」行音で、これらの発音では声の一部鼻に抜けるのが特徴の音です。

つまり口の中に、のどの声帯から出た声を鼻に抜けるようにしたり抜けないようにしたりする部分がある。これは軟口蓋という部分です。いわゆる「のどちゃんこ」のあるあたりのことです。大きい口を開けて鏡でのぞきながら「アーッ」と言うとき動くのが分かります。

この軟口蓋の部分がマヒによって動きにくくなると、声が鼻に抜けてはいけない発音の時も抜けてしまっ、結果「ち」が出しにくくなります。ところが、「に」はもともと鼻に抜ける音なので軟口蓋がマヒで動きにくくなって鼻に多く声が漏れていても「に」の様に聞こえるというわけです。

この方の場合、舌とか他にもマヒがあるのですが、軟口蓋のマヒが強い、そうした状態の発話の特徴を良く示していました。ですから発音のための筋群の運動が、この方の訓練課題になります。

まとめ

そんなわけで、患者さんがお話しされるその言葉自体に障害の本質が反映されるのであるということを強調しました。それを耳で的確に聴き取る技術が言語聴覚士にとっては大切になります。それによって障害の質を判定し、障害の性質に沿った対応策をたてることによって、効果的な治療訓練に励んでいただくことが出来るというわけです。

【はじめに】

目的：動物実験施設（以下施設）では 1999 年 12 月にマウス・ラットの全飼育室 37 室で飼育されている動物を対象にモニライザ IV A を用いて微生物検査を実施した。その結果マウス 20 室中 5 室・ラット 17 室中 8 室が *Mouse hepatitis virus* (MHV と略) と *Mycoplasma pulmonis* (Myco と略) にそれぞれ汚染していることが判明した。

以後微生物汚染発生時の対応システムを確立し、定期的に各飼育室の微生物モニタリングを実施している。微生物検査の結果が陽性と判断された飼育室は再検査用動物の提供を受け、追加検査もしくは ICLAS モニタリングセンターに血清を送り検査を依頼した。

【微生物汚染発生時の対応システムの確立と飼育室の清浄化】¹⁾

モニライザ IV A[®]で検査できる 4 項目 (*Sendai virus* (HVJ と略), MHV, Myco, Tyzzer's organism (Tyzzer と略)) について 3 ヶ月に 1 度の自家検査体制を確立した。微生物検査の結果を施設内に掲示し、各飼育室の利用者には文書で通知した。

微生物に汚染していることが確認された飼育室については、実験終了までの期間が短期の場合は利用者の実験の継続性・連続性を優先し当該飼育室で実験を終了した後、当該飼育室を清掃し exspor[®]による消毒を徹底的に行った。実験の中止が可能な場合は直ちに動物を処分したが、実験の終了までの期間が長期にわたる場合、汚染動物専用飼育室へ動物を移動し、施設職員による厳重な管理下で飼育および実験を継続することで汚染拡大を防いだ。

微生物汚染された当該飼育室は清掃・消毒後、約 2 ヶ月間飼育室を閉鎖し、微生物検査用モニター動物を飼育後、ICLAS モニタリングセンターに血清を送り微生物検査を依頼し、清浄化（陰性）の確認を行った後、利用者に飼育室の再使用を許可した。

また系統維持や Tg・K0 動物のような再導入が不可能な系統は、マウスにおいては特別な器具器材・薬品等を必要としない帝王切開術（子宮切断術）を実施した。2001 年 8 月より利用者よりクリーン化の依頼のあった 40 系統について約 1 年半にわたってマウスのクリーン化（SPF 化）を行った。現在も帝王切開術（子宮切断術）を継続している。

【施設における微生物レベルの基準】

Tg・K0 系（近交系）動物の大学間での分与や譲渡件数の増加により、各飼育室の微生物レベルを利用者に把握してもらうためにも微生物モニタリングは必須のものである。施設における微生物レベルの基準はモニライザ IV A[®]で自家検査できる 4 項目をクリアできれば、微生物学的にクリーンであるとした。また寄生虫についての検査は行わなかった。清浄度の高い微生物レベルの基準を設定すると利用者の実験に支障をきたすことになるため、施設のレベルにあったものとし、利用者から自家検査できる 4 項目以外の微生物検査の依頼があった場合は、ICLAS モニタリングセンターに微生物検査を依頼した。

【微生物モニタリングの意義】²⁾

微生物モニタリングとは、設定された動物の微生物学的状態が変化していないこと定期的に確認するための検査で、予め検査の対象とする微生物の種類を決め（施設では HVJ, MHV, Myco., Tyzzer の 4 項目）定期的に検査することである。

近年、実験動物の SPF 化が進み衛生管理が徹底するにつれて、かつてのような発症を伴う激しい感染症は影を潜め症状を示さない、いわゆる不顕性感染を受けた動物が問題になっている。微生物モニタリングの主体はこの不顕性感染の摘発に置かれている。外見上は健康に見える動物ほど微生物モニタリングが必要である。病原体に汚染された動物を、知らずに飼育あるいは実験することは周囲の清浄動物に対する汚染源となり最も危険である。これらの事態を防ぐためにも微生物モニタリングは欠かせないものである。

【マウス・ラットの感染症の発見】³⁾

1. 外観 : 死亡、衰弱、立毛、顔のむくみ、鼻端・眼瞼のよごれ
2. 動作 : うずくまり、あえぎ、旋回
3. 検査値 : 体重・摂取量の減少、白血球の増加
4. 発生状況 : 短期間に集中して発生ケージ、ラック単位の広がり・実験群・対象群ともに発生
5. 剖検 : 肺 肝変化、凹凸・ひきつれ、器官粘液の増加
: 肝 白点散在
: 腎 化膿、結石

【衛生管理および作業動線の徹底】

施設では微生物汚染を除去するため、「飼育室に微生物を持ち込まない・飼育室から微生物を持ち出さない」を目標にして、利用者に衛生管理および作業動線の徹底をさせるため下記の項目を遵守させた。

- 1) ケージ・フタ・給水ビン・床敷等の飼育器具・器材の使用前・使用後のオートクレーブ滅菌を徹底に行った。
- 2) 自動給水による経口感染と漏水事故による汚染事故拡大防止のため、自動給水飼育装置を廃止した。
- 3) 1) で用意された諸物品を各飼育室への運搬や、使用済み飼育器具・器材の運搬の際に布で覆う「袋方式」を採用し利用者に義務付けた。(写真1)
- 4) 衛生管理にかかる諸物品(手袋・マスク・キャップ・消毒薬等)を各階に設置し利用者への便宜を図った。(写真2)

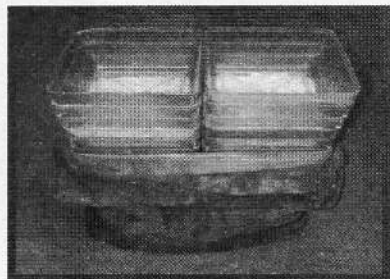


写真1



写真2

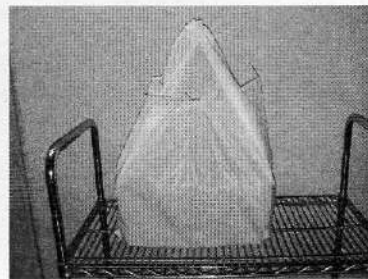


写真3

- 5) 各飼育室の空調フィルター(排気)の定期的な清掃と洗浄を実施した。
- 6) 動物を飼育室から処置室・実験室に搬出・搬入する際に、動物を収容したケージを専用のビニール袋で包み込んで運搬することとした。(写真3)
- 7) 利用者に対し清浄度の高い区域から清浄度の低い区域への移動する作業動線を徹底させた。
例: 滅菌資材室→飼育室→洗浄室
- 8) 複数の飼育室に入室する必要がある場合、バリア区域から非バリア区域への移動を利用者に義務付けた。

【まとめ】

1. 衛生管理にかかる諸物品の手袋・マスク・キャップを各階に設置、「袋方式」の採用、施設職員をはじめ利用者に作業動線を徹底させたことで定期的微生物検査の結果から施設の衛生状態は満足できる状態に達している。
2. 「微生物汚染発生時の対応システムの確立」を確立することで微生物検査の結果が陽性と判断された場合、当該飼育室の利用者に連絡し、再検査用の動物の提供依頼、作業動線の再確認や今後の対応について協議した。また他の利用者に情報を提供することで微生物汚染の拡大を防いだ。
3. 利用者に対し衛生管理の重要性について、理解を得ることもサービスの一環であると考えられた。

参考文献:

- 1) 刑部光利, 鈴木初夫, 西川哲, 加藤秀樹: 浜松医科大学・動物実験施設におけるマウス・ラットの飼育室の微生物汚染への対応 静岡実験動物研究会会報 29 巻 2 号 (2004) P8-10
- 2) (財) 実験動物中央研究所 ICLAS モニタリングセンター・ホームページ: <http://www.iclas.monics.jp>
- 3) (財) 実験動物中央研究所 ICLAS モニタリングセンター パンフレット

画像計測ソフトウェア IP Lab の機能について

このソフトが扱うファイルフォーマットは IPLab, TIFF, PICT, FITS, TEXT の五種類。

データ型は バイト型、単精度整数型、符号なし整数型、倍精度整数型、浮動小数点型、Color24、Color48 をカバーする。

測定項目は 濃度、輝度と粒子面積の和、平均、最小、最大、二乗根平均、標準偏差など。

形状計測では面積、周囲長、半径標準偏差、形状の 2 次モーメント、長軸、短軸、偏角、離心率など。

重心、最小、最大、重み付き重心と 2 次モーメントなどの位置情報も計測できる。

3D 構築ソフトウェアの紹介

LUZEXIII (株式会社 NIRECO)、VoxelView (Vital Images, Inc.), TEM トモグラフ (日本電子システムテクノロジー株式会社)、IRIS Explorer (日本ニューメリカルアルゴリズムグループ株式会社) についてそれぞれの特徴を紹介する。

1. LUZEXIII

連続切片像から必要な輪郭線を抽出する。輪郭線を三次元的に積み上げて隣り合う輪郭線の間を微小三角形で埋めて輪郭面を作る。三次元構築像はひとつの微小三角形ごとにその形と色濃度を計算して表示する。

長所はデータサイズが小さく、輪郭点の間隔を変えることにより解像度をコントロールできること、透過モードにした時の像が見やすく、透過度をかなり上げて表面の形状がよくわかること、隣り合う像どうしの連結を指定できることなど。

短所は連続切片の作り方によっては構築できないものがある、モノの内側と外側の区別が無い、画質が低いことなど。

2. VoxelView

連続切片像を積み上げてボリュームレンダリングによって三次元像を描写する。ひとつひとつのボクセルがそれぞれ色情報を持つ。

長所はダイナミック回転像が作成できること、各断層上で指定した領域の面積や、2 点間の距離を計測できる、ボクセルの濃度別に擬似カラー化表示できることなど。

短所は位置合わせ機能は持たないこと、データサイズが大きい、スライス間隔は一定でなければならない、グレーレベルの同じボクセルに違う色を指定することができない、スライス間の連結をマニュアルで指定することはできないことなど。

3. TEM トモグラフ

透過型電顕のステージを連続的に傾斜させて撮影した一連の画像から、CT 手法に基づいたアルゴリズムを用いて三次元再構成する。

長所は位置補正機能を持つ、ダイナミック回転像が作成できる (アニメーションの動作方法の指定自由度が高い)、ボクセルの濃度別に擬似カラー化表示できることなど。

短所は最大データサイズが $512 \times 512 \times 512$ であること、グレーレベルの同じボクセルに違う色を指定することができない、データの重ね合わせができないことなど。

4. IRIS Explorer

連続切片像を積み上げて三次元データを作り、ボリュームレンダリングによって三次元像を描写する。ひとつひとつのボクセルがそれぞれ色情報を持つ

長所は機能が多く、対応するデータタイプが多い (四次元データ含む)、ダイナミック回転像が作成できる、各断層上で指定した領域の面積や、2 点間の距離を計測できる、ボクセルの濃度別に擬似カラー化表示できることなど。

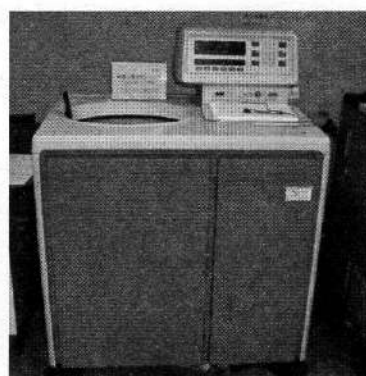
短所はユーザーが自分でモジュールを組み合わせなければならない、位置合わせ機能は持たない、データサイズが大きい、グレーレベルの同じボクセルに違う色を指定することができない、スライス間の連結をマニュアルで指定することはできないことなど。

○「タンパク質の同定・機能に関する解析技術」 第二医学系技術専門職員 藤江三千男

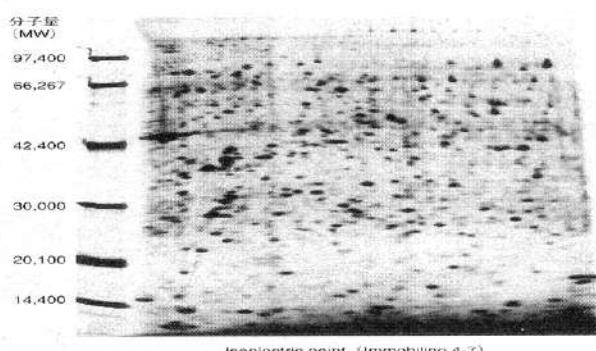
ヒトをはじめ生物の組織や細胞には多種多様なタンパク質があり、その 1 次構造をもとに特有な高次構造を取りながら、生命活動の重要な担い手として機能している。現在、ヒトのタンパク質は 1 万数千個が同定されている。ただ、同定されたタンパク質が持っている全ての機能が解明されてはいない。ある時期には酵素として働くが、ある時点からは特定作用が停止したりその機能自体を失ったりするし、用が済むと素早く分解される。また、他のペプチドやタンパク質との結合や修飾因子により全く別の機能を発揮したりもする。病気や生理作用の究明には、2.2 万くらいあると言われているタンパク質がどの時点で発現し、またその特定タンパク質がどのようなネイティブな高次構造で機能を発揮しているのかを探し出すことが非常に重要である。迅速にかつ網羅的に目的タンパク質を捜し出し、また新規タンパク質を発見し、その機能解析ができたなら、生命現象をひとえに受け持っているのがタンパク質なので、病気や老化の医療に多大なる恩恵をもたらすことができる。

本学機器センターの機器を用いて組織や臓器からタンパク質を精製し同定することができる。組織・細胞をホモジネート後、超遠心機を用いてシヨ糖密度勾配遠心法で器官ごとに分画し、得られた分画サンプルを界面活性剤でタンパク質を可溶性にする。可溶性になれば単離が可能になる。可溶性としたタンパク質は、2 次元電気泳動装置を用いてタンパク自身が持つ等電点と分子量で分離し、右上図のようなペプチド・タンパクマップを作成することができる。このマップからタンパク質を抽出し、プロテインシーケンサや質量分析計で同定できる。この場合、タンパク質の高次構造は崩れて、その機能を見る事は難しい。あくまで 1 次構造を分析することで、データベースにより新規のタンパク質か既知のタンパク質なのかが分かるのである。

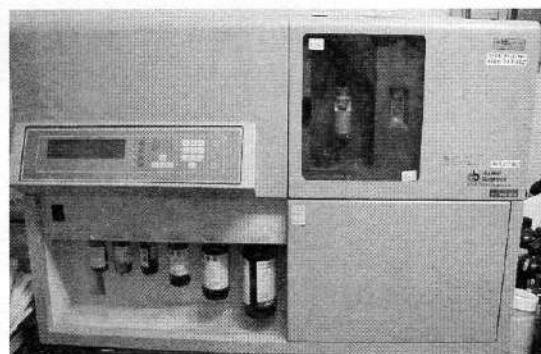
タンパク質の同定はできても、ネイティブな高次構造で機能を保持したまま分取することは容易ではない。液体クロマトグラフィや HPLC を用い、組織や臓器からのタンパク質を可溶性にすれば精製できる。多くはアフィニティーカラムやゲルろ過カラムが使われる。大量のタンパク質がなければ機能作用を調べるのは容易ではない。現在は組織から大量に分取できたタンパク質の機能解析は進んでいるが、極少量しか発現してない神経系や発生・分化や癌化タンパク質及び転写タンパク質のまだ多くの機能は解明されていない。今般、新規タンパク質の発見や機能解析は、プロテオーム（ポストゲノム）に代表されるように最重要視されている。



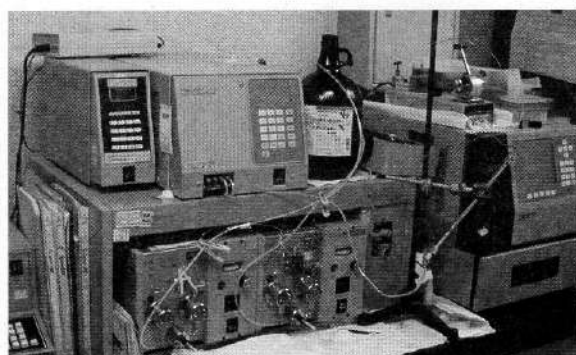
超遠心機



2 次元電気泳動ペプチド・タンパクマップ
(生化学 76 巻 10 号から転載)



プロテインシーケンサ



高速液体クロマトグラフィ (HPLC)

平成 16 年度学外研修会次第

ダイオキシン類業務特別教育講習

日 時：平成 16 年 7 月 21 日（水）10：00～15：30 於：浜松労政会館（浜松市）

参加者数：42 名（技術部職員 1 名）

内 容：ダイオキシン類の有害性、作業の方法及び事故の場合の措置、作業開始時の設備の点検、保護具の使用法、その他ダイオキシン類のばく露の防止に関して必要な事項

衛生管理者能力向上教育（初任時）講習

日 時：平成 16 年 9 月 2 日（木）～3 日（金）9：00～翌 15：00 於：静米会館（静岡市）

参加者数：65 名（技術部職員 1 名）

内 容：衛生管理者の役割等、災害事例及び関係法令、労働衛生教育、労働衛生管理の進め方、作業環境管理、作業管理、健康管理、

危険物取扱者保安講習

日 時：平成 16 年 9 月 21 日（火）9：00～12：00 於：コンgresセンター3 階会議室（浜松市）

参加者数：240 名（技術部職員 1 名）

内 容：規制の要点、過去 3 年間の法令改正事項、危険物の火災予防に関する事項

平成 16 年度東海・北陸地区国立大学法人等教室系技術職員合同研修（生物コース）

日 時：平成 16 年 11 月 17 日（水）～19 日（金） 於：金沢大学 学際科学実験センターなど（金沢市）

参加者数：15 名（技術部職員 1 名）

内 容：実習等の概要 ー生殖工学の基礎ー

遺伝子改変動物の開発などにより、実験動物の系統は年々増加しているが、多くの施設ではスペースが限られているなどの制約があるため、全ての系統を維持することは困難である。そこで、動物を維持する多くの研究者にとって、胚による系統の凍結保存や体外受精による計画的な生産が重要な技術となってきた。本実習では、生殖工学の基本的な技術を学ぶと共に、研究の現場では生殖工学・発生工学を用いて、現在どのような研究が行われているのかを理解する。

局所排気装置等定期自主検査者講習

日 時：平成 16 年 11 月 26 日（金）～27 日（土）9：00～翌 16：30 於：浜松労政会館・（株）アマノ（浜松市）

参加者数：112 名（技術部職員 1 名）

内 容：労働衛生一般、労働衛生関係法令、局所排気装置に関する知識、除じん装置に関する知識、検査に使用する測定器等に関する知識、局所排気装置の定期自主検査指針、フード、ダクトおよび吸排気的能力に関する検査方法（実技）、ファンおよび電動機に関する検査方法（実技）、ろ過式除じん装置に関する検査方法（実技）、その他の除じん装置に関する検査方法（実技）

平成 16 年度静岡大学技術報告会

日 時：平成 16 年 12 月 22 日（水）10：00～16：50 於：静岡大学共通教育 A 棟（静岡市）

参加者数：技術部より 1 名

内 容：発表者は静岡大学技術部職員が主体となるが、学外の発表者も受け付けている。静岡大学技術部職員の日常携わっている教育・研究支援業務や技術開発などによって得られた成果、創意工夫あるいは失敗談等までに及ぶ広範囲な内容を発表する場であり、分野を超えて技術職員が自主的に発表と討論を行なう。

技術部より、第二医学系技術専門職員 熊切葉子が参加し、「医学部の電子顕微鏡室」の発表を行った。

特定化学物質作業主任者能力向上教育講習

日 時：平成17年2月10日（木）9：00～16：00

於：静米会館（静岡市）

参加者数：40名（技術部職員1名）

内 容：関係法令、作業環境管理、健康管理、作業管理、改善提案（グループ討議、発表）

職場巡視・点検セミナー

日 時：平成17年2月22日（火）9：30～17：00

於：中央労働災害防止協会（東京：田町）

参加者数：約90名（技術部職員1名）

内 容：職場巡視・点検は、職場の中の潜在・顕在の危険・有害要因を発見し、これに対して対策を講じ、災害を未然に防ぐことを目的とした重要な安全衛生活動の1つである。ただ漫然と職場を見て回るだけでは不十分であり、実施計画を立て、実施後の結果評価をし、危険ゼロにするための対策を実施するとともに、そのフォローまで適切なステップを踏んで行うことが必要不可欠である。職場巡視・点検の意義（安全衛生管理と職場巡視）、職場巡視・点検のポイント（職場巡視・点検の効果的な進め方）、職場巡視と不安全行動についての講義および職場巡視・点検の進め方の演習をおこなう。（対象：安全衛生スタッフ、ライン管理監督者等）

平成16年度大阪大学総合技術研究会

日 時：平成17年3月3日（木）～4日（金）13：00～翌16：00

於：大阪大学吹田キャンパスコンベンションセンターおよびその周辺施設（大阪：吹田市）

参加者数：技術部より2名

内 容：大学・大学共同利用機関および各高等専門学校の技術者が、日常業務で携わっている実験装置の開発、維持管理から改善、改良などの話題におよぶ広範囲な技術的研究支援活動について発表する研究会である。－開催分野別研究会－ 工作技術研究会、装置技術研究会、回路・計測・制御技術研究会、極低温技術研究会、情報・ネットワーク技術研究会、生物科学技術研究会、分析・評価技術研究会、教育実験・演習・実習指導技術研究会

技術部より、第二医学系技術専門職員 村中祥悟・門畑一久の2名が参加し、「集束イオンビーム照射装置を応用した医動物の微細解剖」の講演および「廃棄電子顕微鏡部品を利用した走査電子顕微鏡マニピュレーターの試作と応用」のポスター発表をした。また技術交流と共に、技術部の現状についての情報交換でも多くの情報を得た。特に、創成期からの技術部を改革している大学が意外に多く、難題を解決しているそれぞれの大学の事情を聞くことが出来た。抄録集はPDFファイルとCD-ROMで配給された。

有機溶剤作業主任者能力向上教育講習

日 時：平成17年3月3日（木）9：00～16：00

於：静米会館（静岡市）

参加者数：55名（技術部職員1名）

内 容：作業環境管理、作業管理、健康管理、事例研究および関係法令

追記《平成15年度分、抜粋》

研削砥石取替等特別教育講習・学科および実技

日 時：（学科）平成16年2月5日（木）9：00～16：00

於：浜松労政会館（浜松市）

（実技）平成16年3月26日（金）14：00～16：00

於：ポリテクカレッジ浜松（浜松市）

参加者数：（学科）48名（技術部職員2名）

（実技）2名（技術部職員2名）

内 容：（学科）自由研削用研削盤、自由研削用砥石、取付け具等に関する知識、自由研削砥石の取付け方法及び試運転の方法に関する知識、関係法令

（実技）学科再履修（VTR）、研削砥石の交換・調整実技、各種研削盤見学

平成 16 年度学外研修会紹介

労働安全衛生関係の資格の取得、継続講習などがにわかに増えています。今回受講の多かった能力向上教育について、以下の通論に於いて基本指針を示しましたので、個々の労安衛法関係の研修紹介ではその旨、割愛させていただきます。

●通論：労働災害の防止のための業務に従事する者に対する能力向上教育に関する指針

(平成元. 5. 22 公示第 1 号)

1. 趣旨

この指針は、労働安全衛生法（昭和 47 年法律第 57 号）第 19 条の 2 第 2 項の規定に基づき事業者が労働災害の動向、技術革新の進展等社会経済情勢の変化に対応しつつ事業場における安全衛生の水準の向上を図るため、安全管理者、衛生管理者、安全衛生推進者、衛生推進者その他労働災害防止のための業務に従事する者（以下「安全衛生業務従事者」という。）に対して行う、当該業務に関する能力の向上を図るための教育、講習等（以下「能力向上教育」という。）について、その内容、時間、方法及び講師並びに教育の推進体制の整備等その適切かつ有効な実施のために必要な事項を定めたものである。

事業者は、安全衛生業務従事者に対する能力向上教育の実施に当たっては、事業場の実態を踏まえつつ本指針に基づき実施するよう努めなければならない。

2. 教育の対象者及び種類

1 対象者

次に掲げる者とする。

- (1) 安全管理者 (2) 衛生管理者 (3) 安全衛生推進者 (4) 衛生推進者 (5) 作業主任者
(6) 元方安全衛生管理者 (7) 店社安全衛生管理者 (8) その他の安全衛生業務従事者

2 種類

1 に掲げる者が初めて当該業務に従事することになった時に実施する能力向上教育（以下「初任時教育」という。）並びに 1 に掲げる者が当該業務に従事することになった後、一定期間ごとに実施する能力向上教育（以下「定期教育」という。）及び当該事業場において機械設備等に大幅な変更があった時に実施する能力向上教育（以下「随時教育」という。）とする。

○衛生管理者能力向上教育（初任時）講習

第三医学系技術専門職員

鈴木一成

ほとんどが講義である。静岡労働局小沢氏「労働衛生の現況」の講義では休業 4 日以上死傷者数は年々減少しているのに化学物質等による職業性疾患は横ばいであると話された。静岡県労働基準協会連合会松浦氏「作業環境管理・作業管理」の講義では、現在は全体に合わせた労働安全衛生法令から個々人に合わせた快適職場の形成が重要であるとの話があった。例えば、室温は法令 $10 \sim 40^{\circ}\text{C} \rightarrow 17 \sim 28^{\circ}\text{C} \rightarrow$ 個々に合わせた至適温度。しかし、大学では個々に合わせた至適温度の形成ができるかどうか疑義がある。すべての講義が終わると、すぐ修了証が手渡しされた。

○有機溶剤作業主任者能力向上教育講習

第三医学系技術専門職員

鈴木一成

講習科目は、(1) 法令改正、(2) 作業環境管理、(3) 作業管理、(4) 健康管理、(5) 事例研究。特に、作業環境測定については、良質な業者に委託すると、細かな評価をし、有害物質が高濃度である第 3 管理区分の場合は丁寧な指導をする。しかしながら全国的には有名でも評価も指導もしない業者もある。実習は「マジック」をビニール袋に入れて、キシレン濃度を検知管で測定した。マジックの芯のあたりは検知管でも計測困難な高濃度である。講習が終わるとすぐ修了証が手渡しされた。この講習は安全衛生水準向上を図るため、3～5 年ごとに受ける必要がある。

講義3題、演習1題である。講師はBSH研究会の菊池氏。講義は、2月現在で厚生労働省が国会に提出している労働安全衛生法改正案のリスクアセスメントのやり方であった。危険の重大性+危険の可能性+危険に近づく頻度の3つで作業を点数評価するやり方である。この労働のリスクアセスメントは、法人内で評価して改善の順序を付けるものである。演習は、6~7人のグループに分け、工場内のイラストを10分間見せられ、その工場内の問題点を指摘し、リスク評価し、対策を練ることをやり、各グループの代表が発表する。このセミナーを通じていえることは、巡視のやり方の標準的なものではなく、各衛生管理者が法令を熟知し、作業者が健康上不適切な作業を行っていないか、見ることであるといえるかもしれない。

○局所排気装置等定期自主検査者講習

第三医学系技術専門職員

鈴木一成

事業者として、年1回以上行う法で定める局所排気装置自主点検の検査者を育成する講習である。1日目が講義、2日目が実習の2日間である。講義は定期点検の実務についてである。実習は参加者を5班に分け、プッシュ・プル装置の点検、静圧測定方法、排気状態の点検等を行う。特に、静圧測定ではダクトに2mm程度の穴をあけ測定するのであるが、ダクトが詰まってくると静圧がその前後で著しく変化してくるため、新設のうちに静圧を把握して定期的に計ると詰まり具合がわかる。また、排気状態の点検では、空気より重い有機溶剤は下方や側方吸込（ドラフト）が有効である。天井から吸引する、上方吸込は10cm離れるとほとんど効果がないと確認された。

○危険物取扱者保安講習

第三医学系技術専門職員

宮澤雄一

実務に携わっている危険物取扱者免状保持者は、3年に一度の危険物保安講習を受講しなければならないと消防法で定められている。保安講習のトピックスはいつの回でも法改正であり、過去3年分を履修することになる。規制強化については、5類にヒドロキシルアミンとその塩類が追加されたこと、移動タンク貯蔵所の要員（タンクローリーの運転手）の確保などがあり、規制緩和については、4類の第4石油類および動植物油類についての引火点の上限を設定したこと、ガソリンスタンドの地下タンクの容量規制を撤廃したこと、2類の一部と4類の第一石油類およびアルコール類を屋外貯蔵できるようになったことなどが挙げられる。また、RDFを指定可燃物に指定し、類似施設の実態調査に乗り出した（消防庁）ことなどがある。

○ダイオキシン類業務特別教育講習

第三医学系技術専門職員

宮澤雄一

本学の有機溶剤焼却炉はダイオキシン類（以下DXN類）特別措置法の指定炉になっている。そこで作業に従事する者に対して事業者はDXN類業務特別教育を受講させる責務を負っている。また、労働基準法に基づく「女子労働基準規則」の第三条に妊産婦以外の女性の就業制限があり、女性は本講習を受講できない。さらに、特筆すべきは有機溶剤や特化物作業主任者講習のように、過去に何らかの労働健康被害が発生しているから啓蒙するのではなく、被害を未然に防ぐという画期的な対応となっていることである。

一つ次のような知見を得た。廃棄物焼却施設内作業におけるDXN類ばく露防止対策要綱によると、運転・点検作業に於いても「作業指揮者」の選任と「DXN類対策委員会」の設置が必要となっていた。実際には、小回りの利く実務者会みたいな想定で良く、現場の関係者だけで委員会を作り、その長を指揮者にしとけば格好は付くようである。

○特定化学物質作業主任者能力向上教育

第三医学系技術専門職員

宮澤雄一

今回の新知見は、作業環境測定結果の良否を判断するための評価基準の一つであり、平成17年4月1日より変更および追加される管理濃度の変更である。現在管理濃度が定められている82物質のうち21物質について強化され、さらに三酸化砒素が新たに対象物質となった。また、平成16年10月1日より石綿製品の一部について、製造・輸入・譲渡・提供・使用が禁止されている。

講義と簡単な実習（検知管、発煙管の取扱い）のあと、1時間40分にわたっての事例研究の実習で、「天蓋型フードの弊害例」と「反応槽等への粉体原料仕込作業」についての改善討論・発表会を行った。班ごと

に決められた課題について、リーダー、書記、発表者を選出し、班中で改善討論し、5 分間の発表を行うものである。もちろん企業の設備投資との絡みもあるので、経費や作業者の負担の増加する改善は受け入れられない。何とか改善策を生み出し、書記が用意された紙に書いて掲示板に貼り、発表者がプレゼンを行う。あとで正答例をもらったが、我々の班が一番近い結果となった。

○平成 16 年度東海・北陸地区国立大学法人等教室系技術職員合同研修（生物コース）

第三医学系技術専門職員

長谷川敏彦

研修期間：平成 16 年 11 月 17 日（水）～ 19 日（金）

研修機関：金沢大学

研修内容について

1. 講義で最も興味深かった内容

体細胞クローン牛作製の現状 山口和男教授

体細胞を利用したクローン動物の作製方法、問題点などについて、世界初の誕生となったクローン牛（のと、かが）の具体例を挙げてわかりやすく解説していただいた。

2. 講義で次に興味深かった内容

遺伝子改変動物と医学研究 浅野雅秀教授

遺伝子改変動物（発生工学技術の進歩）の歴史、トランスジェニック動物、ノックアウト動物、キメラ動物の話、遺伝子改変動物の基礎、医学領域、農学領域への応用の話などを解説していただいた。また、最近では核酸、タンパク質の研究から糖鎖の研究が進んでいることを自身の研究例を挙げて解説していただいた。

3. 実習で最も興味深かった内容

実習のすべて

a キャピラリーの作成 b 採精、凍結保存、融解 c 卵管灌流による 2 細胞期胚の採取、凍結（デモンストレーション） d 採精、培精、採卵、体外受精、培養 e 精管結紮（デモンストレーション）
f 胚の融解、卵管内移植（デモンストレーション） g 子宮内移植 h 体外受精卵の観察

マウスを使用した緻密で細かい作業すべてにおいて講師の技術に感心し、終始興味深く実習することができた。

4. その他興味深かったこと

- a 懇親会の席などで他大学の方々と、さまざまな情報交換ができたこと。
- b 最終日の施設見学で、実際の体細胞クローン牛を見られたこと。

5. 研修の成果と業務とのかかわり

マウスを使用した実験は初めての経験であった。日常の業務と深く関わりがあったとは思えないが、私自身がやっている動物実験とは別の世界の動物実験を体験できたのは、大いに意義があるものと思われた。

追記《平成 15 年度分、抜粋》

○研削砥石取替等特別教育講習・学科および実技

第三医学系技術専門職員

宮澤雄一

第二医学系技術専門職員

門畑一久

研削砥石（切断砥石を含む）はグラインダ等の研削盤に取付けて、その回転運動によって対象物を研削・切断することのできる「刃」である。研削工具は金属加工などの製造業、建設・解体業、メンテナンス業には不可欠な汎用機器であり誰でも操作できるが、一方で、高速回転しているものに直接的な「仕事」をさせるといふ、力の伝達とは違った極めて危険な工具の一つでもある。筆者の所属する医療廃棄物処理センターには電気ディスクグラインダ、ハンドグラインダ、高速切断機、機器開発室にはそれらに加えて床上型両頭電気グラインダなどの自由研削盤が複数ある。操作はともかく、研削砥石の選定、交換、試運転は特別教育を修了した者しかできないと法律に定められている。教育講習は本来、学科と実技から成るものであるが、通常、学科のみの受講案内が来る。今回、実技の受講について、浜松市内の大変親切なポリテクカレッジのお世話になったが、そこにたどりつくまでの経緯がイヤになるくらい長かったことを書き残しておく。

Shinmura K, Tao H, Goto M, Igarashi H, Taniguchi T, Maekawa M, Takezaki T, Sugimura H: Inactivating mutations of the human base excision repair gene NEIL1 in gastric cancer. *Carcinogenesis*, 25(12): 2311-7, 2004.

五十嵐久喜, 北山康彦, 梶村春彦: ホルマリン固定パラフィン切片に対する FISH 法技術と病理診断への応用. *病理技術*, 68(1): 27-31, 2005.

Nakamura R, Kataoka H, Sato N, Kanamori M, Ihara M, Igarashi H, Ravshanov S, Wang YJ, Li ZY, Shimamura T, Kobayashi T, Konno H, Shinmura K, Tanaka M, Sugimura H: EPHA2/EFNA1 expression in human gastric cancer. *Cancer Sci*, 96(1): 42-7, 2005.

松島肇, 宮澤雄一: 感染性廃棄物処理の現状と問題点. *安全工学*, 43(2): 420-426, 2004.

松島肇, 宮澤雄一, 伊藤機一: 感染性廃棄物処理概論 (新訂版医療廃棄物の適正処理マニュアル—感染性廃棄物を中心に—), *臨床病理レビュー*, 133, 116-123, 2005.

鈴木一成: 浜松医科大学における衛生管理者・作業主任者の業務について. 大学等環境安全協議会実務者連絡会会報, 7, 22-25, 2005.

鈴木一成: 国立大学等の法人化による「環境安全施設と労働安全衛生についてのアンケート」結果について, 大学等環境安全協議会実務者連絡会会報, 7, 65-76, 2005.

Ohkura K, Kazui T, Yamamoto S, Yamashita K, Terada H, Washiyama N, Suzuki T, Suzuki K, Fujie M, Ohishi K: Comparison of pH management during antegrade selective cerebral perfusion in canine models with old cerebral infarction. *Journal of Thoracic & Cardiovascular Surgery*, 128(3): 378-85, 2004.

Sasaki T, Kuzuya M, Cheng XW, Nakamura K, Tamaya-Mori N, Maeda K, Kanda S, Koike T, Sato K, Iguchi A: A novel model of occlusive thrombus formation in mice. *Lab. Invest*, 84, 1526-1532, 2004.

Cheng XW, Kuzuya M, Sasaki T, Arakawa K, Kanda S, Sumi D, Koike T, Maeda K, Tamaya-Mori N, Shi GP, Saito N, Iguchi A: Increased expression of elastolytic cysteine proteases, cathepsin S and K in neointima of balloon-injured rat carotid arteries. *Am. J. Pathol*, 164, 243-251, 2004.

Cheng XW, Kuzuya M, Sasaki T, Kanda S, Tamaya-Mori N, Koike T, Maeda K, Nishitani E, Iguchi A: Green tea catechins inhibit neointimal hyperplasia in a rat carotid arterial injury model by TIMP-2 overexpression. *Cardiovasc. Res*, 62, 594-602, 2004.

Kuzuya M, Cheng XW, Sasaki T, Tamaya-Mori N, Iguchi A: Pitavastatin, a 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A Reductase Inhibitor, Blocks Vascular Smooth Muscle Cell Populated-Collagen Lattice Contraction. *J. Cardiovasc. Pharmacol*, 43, 808-814, 2004.

刑部光利, 鈴木初夫, 西川哲, 加藤秀樹: 浜松医科大学・動物実験施設におけるマウス・ラットの飼育室の微生物汚染への対応. *静岡実験動物研究会会報*, 29(2): 8-10, 2004.

村中祥悟: 筋肉の構造と働き. からだの不思議 (健学社, 東京), 1(8): 1-4, 2004.

村中祥悟 : からだを支える骨とその構造. からだの不思議 (健学社, 東京), 1(9) : 1-4, 2004.

Shamsudin N, Hing H L, Muranaka Y, Ambia K M, Sahalan A Z, Yasin M S M, Tsutsui Y : The use of focused ion beam (FIB) on Malaysian pollen spores. Proceedings of 8th Asia Pacific Conference on Electron Microscopy, 304-305, 2004.

Hing H L, Sano K, Wu H, Muranaka Y, Bay B H, Dickson M R, Ambia K M, Sahalan A Z, Tsutsui Y and Yasin M S M : Proposed protocol for immuno gold labelling on focused ion beam milled *Helicobacter pylori*. Proceedings of 8th Asia Pacific Conference on Electron Microscopy, 1330-1331, 2004.

Le Dinh Roan, Binh Gia Nguyen, Yoshinori Muranaka : Morphological study of acute renal failure due to Rhabdomyolysis. Proceedings of 8th Asia Pacific Conference on Electron Microscopy, 1314-1315, 2004.

Nuyen Tuan Anh, Hisasi Gia Takenouti, Yoshinori Muranaka : Using scanning electrochemical microscopy to study the anticorrosion effect of electro-polymerized conducting polymers on iron. Proceedings of 8th Asia Pacific Conference on Electron Microscopy, 1335-1336, 2004.

Yoshinori Muranaka, Yoshihide Fujigaki, Kazuhisa Kadohata, Reiji Aoshima : Application of three dimensional reconstruction from TEM images using computer tomography method. Proceedings of 8th Asia Pacific Conference on Electron Microscopy, 1343-1344, 2004.

Nguyen Tuan Anh, Vu Van Binh, To Duy Phuong, Doan Dung, Yoshinori Muranaka : Using scanning electron microscopy (SEM) and energy dispersive X-ray spectroscopy (EDX) to study the influence of constituent elements on the structure and the chemical resistance of some alloys. Proceedings of 8th Asia Pacific Conference on Electron Microscopy, 578-579, 2004.

Fujigaki Y, Muranaka Y, Sun D, Goto T, Zhou H, Sakakima M, Fukasawa H, Yonemura K, Yamamoto T, Hishida A : Transient myofibroblast differentiation of interstitial fibroblastic cells relevant to tubular dilatation in uranyl acetate-induced acute renal failure in rats. *Virchows Arch.* in press. *Virchows Arch.*, 446, 164-176, 2005.

門畑一久、村中祥悟、堀田康明 : 超小型 SEM 試料用凍結乾燥装置の試作. 医学生物学電子顕微鏡技術学会誌, 18(1) : 39, 2004.

太田 勲、村中祥悟、中野泰克、早川啓史 : パラフィン包埋ブロックからの免疫組織化学法によるクラミジア抗体陽性細胞の TEM 観察. 医学生物学電子顕微鏡技術学会誌, 18(1) : 43-44, 2004.

太田 勲、村中祥悟、中野泰克、早川啓史 : パラフィン包埋ブロックからの免疫組織化学法によるクラミジア抗体陽性細胞の TEM 観察. 生物学生理学合同技術研究会報告, 156-157, 2004

○「Inactivating mutations of the human base excision repair gene NEIL1 in gastric cancer」
Carcinogenesis

第一医学系技術専門職員

五十嵐久喜

Oxidized DNA base lesions, such as thymine glycol (Tg) and 8-hydroxyguanine, are often toxic and mutagenic and have been implicated in carcinogenesis. To clarify whether NEIL1 protein, which exhibits excision repair activity towards such base lesions, is involved in gastric carcinogenesis, we examined 71 primary gastric cancers from Japanese patients and four gastric cancer cell lines for mutations and genetic polymorphisms of the NEIL1 gene. We also examined 20 blood samples from Chinese patients for NEIL1 genetic polymorphisms. Three mutations (c.82_84delGAG:p.Glu28del, c.936G > A and c.1000A > G:p.Arg334Gly) and two genetic polymorphisms were identified. When the excision repair activity towards double-stranded oligonucleotide containing a Tg:A base pair was compared among six types of recombinant NEIL1 proteins, p.Glu28del-type NEIL1, found in a primary case, was found to exhibit an extremely low activity level. Moreover, c.936G > A, located in the last nucleotide of exon 10 and detected in the KATO-III cell line, was shown to be associated with a splicing abnormality using an in vivo splicing assay. An immunofluorescence analysis showed that the wild-type NEIL1 protein, but not the truncated protein encoded by the abnormal transcript arising from the c.936G > A mutation, was localized in the nucleus, suggesting that the truncated protein is unlikely to be capable of repairing nuclear DNA. An expression analysis revealed that NEIL1 mRNA expression was reduced in six of 13 (46%) primary gastric cancer specimens that were examined. These results suggest that low NEIL1 activities arising from mutations and reduced expression may be involved in the pathogenesis in a subset of gastric cancers.

○「ホルマリン固定パラフィン切片に対する FISH 法技術と病理診断への応用」病理技術

第一医学系技術専門職員

五十嵐久喜

ホルマリン固定パラフィン切片における Fluorescence in situ hybridization (FISH) 法は、標的とする核酸分子を蛍光シグナルとして検出し、染色体の数的異常 chromosome instability (CIN) を解析する分子病理学的手法の一つとして多用されており、近年では、HER2 (Human Epidermal Growth Factor Receptor-2) 検査法に代表されるように FISH 法を用いた遺伝子増幅の検出が、がんの予後および治療効果を予測する重要な因子として注目を集めている。われわれは、FISH 法の前処理としてマイクロウェーブ (MW) による煮沸処理と酵素処理を併用し、さらに hybridization 時に MW 間欠照射を行うことで、従来の FISH 法では検出が困難とされていたホルマリンによる長時間固定材料でのシグナル検出を可能にした。また、VYSIS 社製 Spectrum Green プローブを用いた FISH 法を行い、アルカリホスファターゼ標識抗 FITC 抗体を反応させることで FISH 法と一致したシグナルを明視野で観察できるといった方法。これらの手法を応用し、免疫染色 (IHC) 法によるタンパク発現 (膜抗原) と FISH 法による遺伝子増幅の両者を同一細胞で観察する方法。さらには、1 枚のスライド標本を繰り返し hybridization することで、連続的に FISH 法を行う技法等を考案してきた。これら上述の手法を用いることで、パラフィンブロックの retrospective な染色体分析が可能となり、癌の分子生物学的な特性の解明に威力を発揮することが予想され、また病理診断を含む広い範囲での応用が期待される。

○「EPHA2/EFNA1 expression in human gastric cancer」Cancer Sci

第一医学系技術専門職員

五十嵐久喜

The erythropoietin-producing hepatocellular (EPH) A2 receptor, tyrosine kinase, is overexpressed and phosphorylated in several types of human tumors and has been associated with malignant transformation. A recent report, however, indicated that stimulation of the EPHA2 receptor ligand, ephrinA1 (EFNA1), inhibits the growth of EPHA2-expressing breast cancer. The authors examined the expression of EPHA2 and EFNA1 using semiquantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) in four

gastric cancer cell lines and 49 primary gastric cancer samples, as well as in normal gastric tissue. EPHA2 was more highly expressed in tumor tissue than in normal tissue in 27 cases (55%). EFNA1 was overexpressed in tumor tissue in 28 cases (57%). No significant correlation was detected between the expression levels and histologic features such as tumor size, age, vessel invasion, or lymph node involvement. However, EPHA2 overexpression was more prominent in macroscopic type 3 and 4 tumors than in type 1 or 2 advanced gastric cancer. The authors observed EPHA2 expression in three of the four gastric cancer cell lines (AGS, KATO3, and MKN74) that were examined. In one cell line, TMK1, EPHA2 expression was barely detectable using northern blotting, RT-PCR, and western blotting. In contrast, EFNA1 was detected in all cell lines. In the gastric cancer cell lines that endogenously expressed EPHA2, stimulation with ephrinA1-Fc led to decreased EPHA2 protein expression and increased EPHA2 phosphorylation. Finally, the growth of EPHA2-expressing cells was inhibited by repetitive stimulation with soluble ephrinA1-Fc. Taken together, these findings suggest that EPHA2 and EFNA1 expression may influence the behavior of human gastric cancer.

○「感染性廃棄物処理の現状と問題点」安全工学

第三医学系技術専門職員

宮澤雄一

医療関係機関などから排出される医療廃棄物、特に感染症を生ずる可能性のある感染性廃棄物によって B 型肝炎、C 型肝炎、エイズなどに罹患することが報告されており、医療廃棄物処理従事者などは感染の危険性に曝されている。したがって、感染性廃棄物は廃棄物処理法で特別管理廃棄物に指定されている。その中間処理技術として焼却、溶融、高圧蒸気（オートクレーブ）滅菌などが従来から使用されているほか、新処理技術としてガス化溶融処理、マイクロ（高周）波処理など、ならびにプリオン蛋白汚染廃棄物などに適用されている加圧式アルカリ加水分解処理の現状と問題点について述べた。そして、感染性廃棄物の範囲、取扱い、処理計画、マニフェストシステム、排出事業者の責任、抗悪性腫瘍剤の処理、在宅医療廃棄物の処理責任などについても触れた。

○「感染性廃棄物処理概論」臨床病理レビュー

第三医学系技術専門職員

宮澤雄一

感染性廃棄物を含む医療廃棄物に焼却処理を適用することは可能であるが、医療関係機関等で単独に設置するにはダイオキシン類対策等の面で困難な点もある。ガス化溶融処理は、広く医療廃棄物全般について適用できる非常に有望な新処理技術であり、排ガス中のダイオキシン類の低減化に大いに貢献できるものであるが、その設置費用等に課題がある。感染性廃棄物に対してマイクロ波処理、大型の高圧蒸気（オートクレーブ）滅菌処理等を適用することは有望であるが、滅菌後の非感染性廃棄物の処理に課題が残る。加圧式アルカリ加水分解処理（WR2）は、プリオン蛋白汚染廃棄物等に広く適用できる。感染性廃棄物を含む医療廃棄物の処理は、医療関係機関等の施設内で実施することが原則であり、廃棄物が発生した場所で速やかに処理することが理想である。そこで、施設内で焼却処理を使用しなくとも、マイクロ波処理装置のような汎用型の処理技術と加圧式アルカリ加水分解処理技術をあわせて利用することによって、医療廃棄物の処理システムを構築することが可能であるといえる。

○「浜松医科大学における衛生管理者・作業主任者の業務について」大学等環境安全協議会実務者連絡会会報

第三医学系技術専門職員

鈴木一成

浜松医科大学における、安全衛生委員会、衛生管理者・作業主任者の業務を紹介した。しかしながら、現状では労働安全衛生法などの定める体制からはまだ遠く、徐々に進めていきたいと考えている。

○「国立大学等の法人化による「環境安全施設と労働安全衛生についてのアンケート」結果について」大学等環境安全協議会実務者連絡会会報

第三医学系技術専門職員

鈴木一成

国立大学等が法人化され半年近く経過した平成 16 年 8 月から 9 月にかけて、大学等環境安全協議会の団体会員に「環境安全施設と労働安全衛生についてのアンケート」を行った。各大学とも労働安全衛生法に適用させようと苦慮している状況がわかった。また、有機溶剤中毒予防規則第 3 条の適用除外の認定が認められ

た法人も数力所あった。

○「Comparison of pH management during antegrade selective cerebral perfusion in canine models with old cerebral infarction」 Journal of Thoracic & Cardiovascular Surgery

第二医学系技術専門職員

藤江三千男

This experiment suggests that pH-stat management during antegrade selective cerebral perfusion provides more effective protection for a brain with old infarction than alpha-stat management. Neurologic complications after aortic arch operations have remarkably decreased because of the improvements in the operative techniques and methods of cerebral protection. Antegrade selective cerebral perfusion (ASCP) has been found to be the safest method of brain protection with respect to energy metabolism and time limitation. Additionally, clinical practice has indicated that ASCP, compared with other methods for cerebral protection, including deep hypo-thermic circulatory arrest (DHCA) with or without retrograde cerebral perfusion, can reduce cerebral injury during aortic operations more effectively. A history of cerebrovascular disease, however, has been shown to be an independent predictor of postoperative neurologic complications in coronary artery bypass grafting and in the aortic arch operations assisted with DHCA alone. Although our total arch operations assisted with ASCP have shown a lower rate of mortality and morbidity, a multivariable analysis of 220 patients revealed that a history of cerebral infarction should be regarded as an independent predictor of postoperative neurologic dysfunction. Although our hospital has opted for alpha-stat management during aortic arch replacement, it remains controversial which pH management during ASCP with DHCA should be adopted for patients with neurologic diseases because, to our knowledge, no comparative studies of the influence of pH management during ASCP have thus far been reported. Therefore in the present study we seek to determine the effect of pH management during ASCP on brains with or without old cerebral infarction in a canine model.

○「A novel model of occlusive thrombus formation in mice」 Laboratory Investigation

第一医学系技術職員

佐々木健

A novel model to induce occlusive thrombus formation was developed in mice in vivo. Mice were simultaneously treated with ligation and cuff placement at the left carotid artery. At 7 days after the treatment, occlusive thrombus was observed at the intracuff region, but not in the distal and proximal regions of the cuff, and not induced by a single treatment of ligation or cuff placement. The plasma levels of von Willebrand factor (vWF), which represent the endothelial status, were significantly increased in combined treatment of ligation and cuff placement 1 day after the operation. Whereas no significant changes in plasma vWF were observed in either single treatment of ligation or cuff placement. The expression of vWF, considered to be the endothelial marker, was detected on the luminal surface distal and proximal to the cuff and the carotid artery in the single treatment groups treated with either ligation or cuff placement, but was not detected in the intracuff region. Furthermore, the binding of Griffithia Simplicifolia Lectin-I (GSL-I) and endothelial nitric oxide synthase (eNOS) expression indicating the endothelial integrity was not detected in the intracuff region. Intermittent injections of anicrod, which decreases the plasma fibrinogen, inhibited occlusive thrombus formation in the intracuff region. The expression of eNOS was detected at the distal and proximal but not the intracuff region of the carotid artery treated with anicrod. Daily administration of aspirin significantly suppressed the thrombus formation in this model. These results indicate that occlusive thrombus formation accompanied by endothelial damage or dysfunction is induced by the combined application of ligation and cuff placement at the carotid artery, and suggest that this endothelial damage or dysfunction may be one pathogenesis of thrombogenesis in this model.

○「Increased expression of elastolytic cysteine proteases, cathepsins S and K, in the neointima of balloon-injured rat carotid arteries」 American Journal of Pathology

第一医学系技術職員

佐々木健

The matrix-degrading activities of several proteases are involved in the accelerated breakdown of extracellular matrix associated with vascular remodeling during the development of atherosclerosis and vascular injury-induced neointimal formation. Previous studies have shown that the potent elastolytic cysteine proteases, cathepsins S and K, are overexpressed in atherosclerotic lesions in human and animal models. However, the role of these cathepsins in vascular remodeling remains unclear. In the present study, the expressions of cathepsin S and K and their inhibitor cystatin C were examined during arterial remodeling using a rat carotid artery balloon-injury model. The increase in both cathepsin S and K mRNA levels was observed from day 1 and day 3 through day 14 following the induction of balloon injury, respectively. Western blotting analysis revealed that both cathepsin S and K protein levels also increased in the carotid arteries during neointima formation, coinciding with an increase elastolytic activity assayed using Elastin-Congo red, whereas, no significant change in the expressions of cystatin C mRNA and protein was observed during follow-up periods after injury. Immunohistochemistry, Western blot, and in situ hybridization showed that the increase of cathepsins S and K and the decrease of cystatin C occurred preferentially in the developing neointima. These findings suggest that cathepsin S and K may participate in the pathological arterial remodeling associated with restenosis.

○「Green tea catechins inhibit neointimal hyperplasia in a rat carotid arterial injury model by TIMP-2 overexpression」 Cardiovascular Research

第一医学系技術職員

佐々木健

Although it has been demonstrated that the antioxidant properties of tea catechins reduce atherosclerotic lesions in various animal models of hyperlipidemia, it is not yet clear whether these catechins prevent hyperlipidemia-independent arterial remodeling induced by balloon angioplasty. We evaluated the influence of the administration of the tea extract on vascular remodeling in a rat carotid artery balloon-injury model. Male Wistar rats were supplied drinking water with or without green tea extract (1 mg/ml) supplement. Administration of the tea extract reduced the area of the intima (30%) and the ratio of the intimal area to the medial area (36.2%) in injured arteries compared with those of control rats at 14 days after the injury. Real-time RT-PCR, Western blot, and gelatin zymography revealed a significant increase in tissue inhibitor of matrix metalloproteinase (MMP)-2 (TIMP-2) expressions as well as a significant reduction of gelatinolytic net activity and activated MMP-2 levels in the injured arteries as a result of the administration of the tea extract compared with those of control group. Similarly, epigallocatechin-3-gallate, a major constituent of green tea catechins, significantly upregulated TIMP-2 expression in cultured smooth muscle cells. Immunohistochemical analysis showed that the increase of TIMP-2 protein occurred preferentially in the developing neointima. These results indicate that catechins inhibit intimal hyperplasia in a rat balloon-injury model through the upregulation of TIMP-2 expression to modulate MMP activity.

○「Pitavastatin, a 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitor, blocks vascular smooth muscle cell populated-collagen lattice contraction」 Journal of Cardiovascular Pharmacology

第一医学系技術職員

佐々木健

Constrictive arterial remodeling plays a major role in lumen narrowing following angioplasty. We investigated the effect of pitavastatin, a 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA (HMG-CoA) reductase inhibitor, on vascular smooth muscle cell (SMC)-populated collagen lattice contraction, an in vitro model of vascular contraction. Type I collagen gel contraction by SMCs, which are cultured in collagen gel, was used as a model of vascular remodeling. Pitavastatin pretreatment inhibited 10% serum- or

platelet-derived growth factor-BB (PDGF)-induced SMC-mediated collagen lattice contraction in a concentration-dependent manner. The effect of pitavastatin was prevented by mevalonate or geranylgeranyl pyrophosphate, but not by squalene, a precursor of cholesterol, or farnesyl pyrophosphate. The serum- or PDGF-induced SMC-mediated collagen gel contraction was inhibited by GGTI-298, a geranylgeranyltransferase inhibitor, C3 exoenzyme, an inhibitor of Rho, or Y27634, a Rho kinase inhibitor, but not by FTI-277, a farnesyltransferase inhibitor. Serum or PDGF treatment increased the stress fiber organization in SMCs, which was blocked by the pitavastatin pretreatment. Pitavastatin had no effect on the serum- and PDGF-induced lamelliopodia extension of SMC. These results may suggest that pitavastatin attenuates SMC-mediated collagen gel contraction probably via an inhibition of geranylgeranylated Rho protein and a disruption of actin cytoskeletal reorganization.

○「浜松医科大学・動物実験施設におけるマウス・ラットの飼育室の微生物汚染への対応」静岡実験動物研究会会報

第一医学系技術専門職員 刑部光利
第一医学系技術専門職員 鈴木初夫

浜松医科大学医学部附属動物実験施設（以下施設と略）では1999年12月にマウス・ラットの全飼育室37室で飼育されている動物を対象にモニライザIVA®を用いて微生物検査を実施した。その結果マウスの20室中5室・ラットの17室中8室がMouse hepatitis virusとMycoplasma pulmonisにそれぞれ汚染されていることが判明した。そこで施設内の衛生管理の徹底を図った。汚染されたマウスは子宮切断術（帝王切開）によりクリーン化を行った。

《衛生管理の徹底に向けて》 衛生管理の徹底に向けて以下のことを改善した。

- ①飼育器具・器材のオートクレーブ滅菌 ②滅菌袋の採用 ③手袋・マスク・キャップ・消毒薬等の利用促進
- ④自動給水の廃止 ⑤動物を搬出・搬入する際に、運搬専用のビニール袋の採用

《定期的な微生物検査体制の確立》 3ヶ月に1度の自家検査体制を確立した。

《微生物に汚染された飼育室の清浄化》 汚染していることが確認された飼育室については、実験を終了した後、飼育室を清掃しexspor®による消毒を徹底的に行った。

衛生管理にかかる諸物品の手袋・マスク・キャップを各階に設置、「袋方式」の採用や、作業動線を徹底させたことで定期的微生物検査の結果から施設の衛生状態は満足できる状態に達している。

○「The Use of Focused Ion Beam (FIB) on Malaysian Pollen Spores」Proceedings of 8th Asia Pacific Conference on Electron Microscopy

第二医学系技術専門職員 村中祥悟

The focused ion beam (FIB) is a novel technique in electron microscopy that uses high energy gallium ions to precisely and accurately sections or mill Polythia pollen spores irrespective of its place and location. The step by step sectioning processes expose and reveal its internal structures, followed by observation with the FEG-SEM or conventional SEM for morphological comparison between the 3 pollen spores used. The pollen spores need not be deposited first with a 20 nm of layer of platinum to strengthen its outer layer as the spore outer coat was tough. There was no damage on the pollen during the milling process. The period of milling for pollen samples were longer. Enhancement of FIB images for SEM observations of milled pollen samples was accomplished by re-coating the samples with osmium vapor. In conclusion, FIB could be used a micromaching tool to observe the internal structure of the Polythia pollen spores.

○「Proposed protocol for immuno gold labelling on focused ion beam milled Helicobacter pylori」Proceedings of 8th Asia Pacific Conference on Electron Microscopy

第二医学系技術専門職員 村中祥悟

The focused ion beam (FIB) can be used as a microtome to milled H. pylori cells either cross-sectionally or longitudinally to expose the internal structure of the cell before being immunogold-label to locate the location of urease or heat-shock protein in the cells.

Helicobacter pylori distribution of urease molecules in the cell were demonstrated clearly in transmission electron microscopy immunogold-label section. In order to correlate the results obtained with bacteria sample on SEM, it was proposed that FIB be used as a microtome to cut the *H. pylori* cell similar to that of TEM. Silane-coated coverslip were placed on agar plates (bioMerieux) cultured with *H. pylori* at 37 °C for 3 days and left for about 5 minutes. The *H. pylori* smear coverslip was then fixed in 1% glutaraldehyde for 1 hour, before washing and dehydrating in an ascending series of alcohol. This was followed by critical point-drying before mounting on a stub and osmication. The osmium-coated bacteria was then deposited with 20A of tungsten to strengthen the *H. pylori* cell, then FIB milled to obtain the cross-sections or longitudinal sections of the *H. pylori* bacteria. The FIB *H. pylori* were then immunogold-labelled as follows: the samples were treated with 5% normal goat serum to block non specific reactions. The FIB milled samples were then incubated with 100 times diluted rabbit antiserum to urease, washed and reacted with 10 nm colloidal gold-labeled anti-rabbit IgG goat serum, before observation with the FEG-SEM. SEM images of the FIB milled *H. pylori* were first obtained, and to locate the distribution of urease molecule on the bacteria cell, elemental analysis of the 10 nm gold particles was done using EDX. The distribution of gold particles as obtained by EDX was then superimposed on the SEM images of the FIB milled bacteria to ascertain the urease molecules on *H. pylori*. The results obtained are then compared to the TEM micrograph of *H. pylori* for correlation and to reaffirm the localization of proteins of the bacteria. Therefore, in this FIB milled sample preparation technique, the *H. pylori* cells sectioned using FIB need not be contrast enhanced as well as embedded in Lowicryl resin.

○ 「Morphological study of acute renal failure due to Rhabdomyolysis」 Proceedings of 8th Asia Pacific Conference on Electron Microscopy
 第二医学系技術専門職員 村中祥悟

According to the best of our knowledge, there are a few studies on kidney changes in acute renal failure (ARF) due to rhabdomyolysis. The purpose of our study is to determine histological, immuno-histochemical and ultrastructural changes of kidney in this pathological condition.

Histopathology: Glomerular lesions: Different glomerular lesions were observed. The glomerular capillaries may be congestive, dilated and fulfilled with a lot of erythrocytes. In some cases there was mild proliferation of the mesangial cells. In one case there was the diffuse proliferation of mesangial cells and the infiltration of polymorphonuclear leukocytes in the glomeruli. In other cases, the endothelial and epithelial cells were swollen. However in some cases there were no changes of glomeruli.

Tubular lesions: Proximal tubular cells are swollen and degenerative. In severe cases, the epithelial cells of proximal tubules were degenerative, the cell membranes were ruptured and cell necroses were revealed. In some tubules the hyaline casts were stained with the red orange colour. The epithelial cells became lower and flatten. Two types of interstitial lesions were demonstrated: 1) the oedema and dissociation of interstitial cells and 2) the infiltration of inflammatory cells such as polymorphonuclear leukocytes, lymphocytes and histiocytes.

Immuno-histochemistry : The immuno-histochemical study revealed a positive reaction with antimyoglobin antibody. This reaction demonstrated that rhabdomyolysis was certain cause of renal lesions.

Electron microscopy study in Glomeruli: The glomerular basement membrane is normal. In some cases the epithelial cells were swollen and showed segmental fusion of epithelial foot processes. The vacuolisation of endothelial cells could be revealed.

Electron microscopy study in Tubules: Three main lesions were observed: 1) electron-dense material that may be myoglobin were observed in the tubular lumen; 2) the mitochondria of proximal tubular cells were transformed, lengthened and had U or O shapes; 3) In severe cases, the cells membranes were disrupted and the mitochondria were released into renal tubular lumen.

The histopathologic changes and immuno-histochemical staining of kidney were specific of acute renal

failure due to rhabdomyolysis: the hyaline casts showed red-orange color in HE staining and positive reaction in immuno-histochemical staining with monoclonal anti-myoglobin antibody. The ultrastructural changes of mitochondria with elongation and the formation of U or O shapes may be a particular change in acute renal failure due to rhabdomyolysis.

○「Application of three dimensional reconstruction from TEM images using computer tomography method」
Proceedings of 8th Asia Pacific Conference on Electron Microscopy

第二医学系技術専門職員

村中祥悟

第二医学系技術専門職員

門畑一久

As a TEM image is consist of a summation of the internal structures in the ultra-thin section, it is impossible to get precise information on structures of less than 60 nm in size. In order to 3D reconstruct the ultra-structures in the section, the information on the height of the objected structure embedded within the section is required, so that TEM images should be obtained from the section tilted at many angles. For this purpose, Radon transformation- inverse Radon transformation can be applied, and then 3D image can be shown as the computer graphic. Since the reconstructed images can be re-sliced in any thicknesses and directions, images less than a few nm ultra-thin sections can be obtained. To apply the above method for TEM, improved specimen holder of the conventional TEM and personal computer with newly developed soft ware were used. As a result, the information on the ultra-structure embedded within the ultra-thin sections, which could not be seen by conventional TEM method, could be observed by using 3D reconstructed image of 2 nm re-sliced sections in thickness.

○「Transient myofibroblast differentiation of interstitial fibroblastic cells relevant to tubular dilatation in uranyl acetate-induced acute renal failure in rats」 Virchows Arch

第二医学系技術専門職員

村中祥悟

To investigate the mechanisms of myofibroblast differentiation of interstitial fibroblastic cells (FCs) in rats with uranyl acetate-induced acute renal failure (ARF), we examined the relationship between the expression of α -smooth muscle actin (α -SMA), myofibroblast phenotype and tubular dilatation as well as cell shape and adhesion of FCs. Peritubular α -SMA-positive myofibroblasts appeared after induction of ARF and extended along the damaged, dilated proximal tubules and then almost disappeared after proximal tubular recovery. The perimeter of proximal tubules correlated with fractional areas stained for α -SMA ($P<0.001$). Most α -SMA-positive cells did not incorporate [3H]-thymidine, indicating a low proliferative activity. Transmission electron microscopy showed that FCs increasingly attached to the tubular basement membrane by elongated cytoplasm-containing microfilament bundles, which formed abundant adherens and gap junctions from day 4 to day 7. Scanning electron microscopy showed hypertrophic FCs covering large areas of tubules after induction of ARF. Administration of chlorpromazine, which can inhibit cytoskeletal movement, after induction of ARF partially inhibited myofibroblast differentiation of FCs immunohistochemically and morphologically and resulted in more dilated proximal tubules in concert with aggravation of renal dysfunction and inhibition of regenerative repair at day 4 than vehicle-administered rats. Our results indicate that mechanical tension, judged by tubular dilatation, may contribute to the induction of α -SMA phenotype with increased stress fiber formation and intercellular junctions in FCs to support damaged nephron structures by adjusting tensional homeostasis in rats with uranyl acetate-induced ARF.

○「超小型 SEM 試料用凍結乾燥装置の試作」医学生物学電子顕微鏡技術学会誌

第二医学系技術専門職員

門畑一久

第二医学系技術専門職員

村中祥悟

生物試料を走査電子顕微鏡 (SEM) で観察する場合、特に乾燥と金属コーティングの処理には専用の装置が

必要となる。それらは比較的大型かつ高価である。今回、持ち運びできる超小型 SEM 試料用凍結乾燥装置を試作したので報告する。

【開発視点】

- (1) 真空ポンプにダイヤフラム式ドライポンプを用いて携帯可能な程度に小型化する。またロータリーポンプのオイルミストによる汚染とオイル中への t-ブチルアルコール混入問題を同時に解決する。
- (2) 真空チャンバーのサイズを、バイアル瓶が 1 個装着できる程度に小型化する。
- (3) 試料台の冷却に市販のペルチェ素子を用いる。
- (4) t-ブチルアルコール排出ガスは、必要に応じて水フィルタで回収する。
- (5) 製作材料費は 5 万円程度とする。

【乾燥温度】

乾燥時の試料台温度を 5℃以下に設定した。

【試料サイズ】

試作装置に使用したダイヤフラム式ドライポンプの到達真空度が低いために乾燥に長時間を要するので、乾燥条件を下記のように設定した。

- (1) 試料片を小さくし (1mm × 1mm × 0.5mm 以下)、t-ブチルアルコールも最少容量とした。
- (2) ダイヤフラム式ポンプをカスケード連結で使用し、試料サイズは通常の大きさとした。

【乾燥結果】

試作装置と市販の大型の装置を用いて作製した同一標本の SEM 像を比較検討した。その結果ラット気管支、小腸、ヒト血球、腎臓、蚊の各試料ともに試作装置による SEM 像は市販品と遜色のない像を得ることができた。サイズは通常の大きさとした。

乾燥試料の SEM 像では、ラット気管支の線毛は一本一本が独立し、小腸絨毛では上皮細胞および微絨毛が整然と配列し、また、腎臓の凍結断面では上皮・内皮に収縮などの影響がなく、さらにヒト血球や蚊の試料でも試料収縮や変形が認められない。

このように、一般的に SEM 試料の乾燥でアーティファクトの生じやすい種類の試料において正常な SEM 試料を作製できる。

【結語】

今回試作した SEM 試料作製用小型凍結乾燥装置は充分実用的であるので、今後は凍結乾燥に続き、導電処理もできる複合型の装置に発展させたい。

○「パラフィン包埋ブロックからの免疫組織化学法によるクラミジア抗体陽性細胞の TEM 観察」医学生物学電子顕微鏡技術学会誌

第二医学系技術専門職員

太田 勲

第二医学系技術専門職員

村中祥悟

過去に異型肺炎の中でクラミジアが原因と疑わしき症例があり、長期保存していたパラフィン包埋肺組織を病理検査するに至った。クラミジアは増殖過程において基本小体・中間体・網様体などの形態に変化するため、臨床材料からのクラミジア透過型電子顕微鏡 (TEM) 像の検出は容易ではない。今回、長期保存された数件の肺炎患者の肺組織パラフィン包埋ブロックから連続切片を作製し、クラミジア抗体 (major outer membrane protein of *Chlamydia pneumoniae*:RR402, Dako) 陽性反応を示した細胞を光学顕微鏡 (光顕) で検索した。陽性反応を示した細胞には顆粒状構造物が認められたため、隣接切片からの戻し電顕法によって超薄切片を作製し、顆粒状構造物の TEM 観察を試みた。

症状や所見より異型肺炎として扱われていた剖検症例からクラミジア抗体 (RR402) を用いて陽性細胞内の顆粒状の構造物を光顕にて確認、各症例は肺炎クラミジアと断定した。また、光顕で認められた顆粒状の構造物を電顕にて微細構造の対比観察を試み、クラミジアとほぼ同様の大小 0.2~1.8 μm の網状構造物を確認した。各症例の顆粒状構造物の形状が微妙に異なるのは、クラミジアのライフサイクルのステージおよび宿主細胞の破壊の程度によると考えられる。また、ホルマリン固定・パラフィン包埋で長期保存された試料であることも原因の一つと思われる。

平成 16 年度学会・研究会等発表一覧

五十嵐久喜、北山康彦、梶村春彦：免疫染色と Fluorescence in situ hybridization (FISH) 法および Chromosome in situ hybridization (CISH) 法の重染色，第 53 回日本医学検査学会，2004. 5. 14. 富山。

五十嵐久喜、北山康彦、梶村春彦：連続 Fluorescence in situ hybridization (FISH) 法の考案，第 53 回日本医学検査学会，2004. 5. 14. 富山。

五十嵐久喜、北山康彦、梶村春彦：ホルマリン固定パラフィン切片に対する FISH 法技術と病理診断への応用，第 70 回病理技術研究会・シンポジウム，2004. 8. 8. 東京。

外山美奈、植野由佳、弘中満太郎、山浜由美、堀口弘子、塚田修、右藤文彦、針山孝彦：魚類の視物質発色団と生態環境および系統との関連。日本動物学会第 75 回大会，2004. 9. 10-12，神戸。

外山美奈：光情報の入力と情報処理系、そして生態系を学ぶ新たな実習方式の試みー生物の総合的理解の向上をめざしてー，平成 16 年度大阪大学総合技術研究会，2005. 3. 3-4，大阪。

佐々木健、葛谷雅文、成憲武、中村香江、林真由美、森典華、柴田たみ、井口昭久：Apo E 欠損マウスにおける簡便な plaque rupture 誘起モデルの開発。第 36 回日本動脈硬化学会総会，2004. 7. 23-24，福岡。

成憲武、葛谷雅文、佐々木健、中村香江、狄群、柴田たみ、前田恵子、牛山真由美、室原豊明、井口昭久：システインプロテアーゼであるカテプシン S の血管リモデリングへの役割に関する研究。第 36 回日本動脈硬化学会総会，2004. 7. 23-24，福岡。

加茂隆春：医学生教育実習用マイクロ組織標本アレイの作製改良法。第 27 回生理学技術研究，2005. 2. 17-18，岡崎。

Nuyen Tuan Anh, Hisasi Gia Takenouti, Yoshinori Muranaka : Using scanning electrochemical microscopy to study the anticorrosion effect of electro-polymerized conducting polymers on iron. The 8th Asia-Pacific conference on electron microscopy (SAPEM), 2004. 6. 7, Kanazawa.

Yoshinori Muranaka, Yoshihide Fujigaki, Kazuhisa Kadohata, Reiji Aoshima : Application of three dimensional reconstruction from TEM images using computer tomography method. The 8th Asia-Pacific conference on electron microscopy (SAPEM), 2004. 6. 7, Kanazawa.

Normalawati Shamsudin, Hiang Lian Hing, Yoshinori Muranaka, Kaswandi Md. Ambia, Ahmad Zorin Sahalan, Mohd Salleh Mohd Yasin, Yoshihiro Tsutsui : The use of focused ion beam (FIB) on Malaysian pollen spores. The 8th Asia-Pacific conference on electron microscopy (SAPEM), 2004. 6. 7, Kanazawa.

Nguyen Tuan Anh, Vu Van Binh, To Duy Phuong, Doan Dung, Yoshinori Muranaka : Using scanning electron microscopy (SEM) and energy dispersive X-ray spectroscopy (EDX) to study the influence of constituent elements on the structure and the chemical resistance of some alloys. The 8th Asia-Pacific conference on electron microscopy (SAPEM), 2004. 6. 7, Kanazawa.

Hiang Lian Hing, Yoshinori Muranaka, Normalawati Shamsudin, Kaswandi Md Ambia, Ahmad Zorin Sahalanf, Mohd Salleh Mohd Yasin, Yoshihiro. Tsutsui : Ultrastructural observation on effect of sea cucumber extract on Candida albicans using Focused Ion Beam. The 8th Asia-Pacific conference on electron microscopy (SAPEM), 2004. 6. 7, Kanazawa.

Hing H L, Sano K, Wu H, Muranaka Y, Bay B H, Dickson M R, Ambia K M, Sahalan A Z, Tsutsui Y and Yasin M S M: Proposed protocol for immuno gold labelling on focused ion beam milled *Helicobacter pylori*. The 8th Asia-Pacific conference on electron microscopy (SAPEM), 2004. 6. 7, Kanazawa.

熊切葉子, 山浜由美: カイコ卵のTEM試料作製. 医学生物学電子顕微鏡技術学会第20回学術講演会, 2004. 4. 23, 大阪.

門畑一久, 右藤文彦, 村中祥悟: 可動絞りを利用した走査電子顕微鏡マニピレーターの試作. 医学生物学電子顕微鏡技術学会第20回学術講演会, 2004. 4. 23, 大阪.

村中祥悟, 記野秀人: 集束イオンビーム照射装置(FIB)を応用した医動物の微細解剖. 医学生物学電子顕微鏡技術学会第20回学術講演会, 2004. 4. 23, 大阪.

太田 勲, 村中祥悟, 三河須美子: アクラフィルムを加工して使用した厚切り切片の包埋法. 医学生物学電子顕微鏡技術学会第20回学術講演会, 2004. 4. 23, 大阪.

村中祥悟, 記野秀人, 堀口弘子: 集束イオンビーム照射装置を応用した医動物の微細解剖. 大阪大学総合技術研究会, 2005. 3. 3, 大阪.

太田 勲, 村中祥悟, 中野泰克, 早川啓史: パラフィン包埋ブロックからの免疫組織化学法によるクラミジア抗体陽性細胞のTEM観察. 第15回生物学技術研究会・第26回生理学技術研究会, 2004. 2. 19-20, 岡崎.

熊切葉子, 村中祥悟: 医学部の電子顕微鏡室. 静岡大学技術報告会, 2004. 12. 22, 静岡.

平成16年度学会・研究会等発表紹介

○「免疫染色とFluorescence in situ hybridization (FISH) 法およびChromosome in situ hybridization (CISH) 法の重染色」第53回日本医学検査学会

第一医学系技術専門職員

五十嵐久喜

これまでは、がんにおける病理診断の補助手段として、免疫組織化学染色(IHC)法が多く用いられてきたが、近年では、HER2(Human Epidermal Growth Factor Receptor-2)検査法に代表されるようにFluorescence in situ hybridization(FISH)法を用いた遺伝子増幅の検出が、がんの予後および治療効果を予測する重要な因子として注目を集めている。今回われわれは、IHC法によるタンパク発現(膜抗原)とFISH法およびCISH法による遺伝子増幅の両者を同一細胞で観察する方法を考案した。5 μ mのホルマリン固定パラフィン組織切片を脱パラフィン後、クエン酸緩衝液による煮沸処理。E-Cadherin(NOVACAstra)抗体を用いて免疫染色を施行。細胞膜に陽性像(DAB発色)を確認後、マイクロウェーブ照射を用いたFISH法(第49回検査学会にて報告)を施行。この際、前処理の一つである煮沸処理は省き、酵素処理からのスタートとした。プローブはCEP17Green(VYSIS社)を用いた。蛍光観察を行い画像を取り込み、次いでChromosome in situ hybridization(CISH)法(第50回検査学会にて報告)を行った。その結果、蛍光観察(FISH法)・明視野観察(CISH法)ともに、E-Cadherin陽性である細胞膜とCEP17シグナルは同時観察することができ、IHC法およびFISH法単独による結果と一致していた。蛍光観察の場合、DABの色が必ずしも一定でなく画像も取り込む際の条件次第で変化した。この手法は同一細胞でのタンパク発現(膜抗原)と遺伝子増幅を同時に観察できるもので、最初にIHC法を行い細胞膜をDAB発色することで、FISH法操作に必要な酵素処理や熱変性処理においても陽性色素は消失せず、核内染色体シグナルと重なることなく染め分けることができる。現在、乳癌の予後および治療効果を予測する重要な因子にHER2検査法が確立されようとしているが、IHC法は抗体および染色法の徹底的な標準化も難しく、HER2発現状況と予後および治療効果の予測との間にはばらつきが認

められたりする場合もある。米国では、IHC法でのHER2タンパクの過剰発現(2+)を受けFISH法によるsecond screeningを実施しているが、われわれの考案した方法であればそれらが同時に観察できるため、判定結果のばらつきを最小限にすることができ、より確実性の高い指標となると考える。

○「連続Fluorescence in situ hybridization (FISH) 法の考案」第53回日本医学検査学会

第一医学系技術専門職員

五十嵐久喜

Fluorescence in situ hybridization (FISH) 法を行う際、これまでは、例えば1枚しかない切片や捺印細胞標本を用いた同一細胞における多数のプローブ解析はできなかった。われわれは、蛍光シグナルを強制的に退色させた後、繰り返しhybridizationを行うことで連続FISH法が可能であることを見出したので報告する。まず、大腸癌の5μmホルマリン固定パラフィン切片および捺印細胞標本を各々Spectrum Green(SG)・Orange(SO)標識のCEPプローブ(VYSIS社)を用いマイクロウェーブ照射を用いたFISH法(第49回検査学会にて報告)を行った。数枚所画像に取り込んだ後、カバーガラスを外し、DAPIを含む蛍光発色を強制退色させ再び違うプローブを用いてFISH法を施行。前回と同一細胞でシグナルの位置確認を行った後、これを繰り返した。また2回目以降のFISH法は、切片を再び熱変性処理したものと乾燥後すぐアプライしたものとで比較した。なお、同一細胞を探す手段として、エムジェイメカックス社のスキャニングステージシステム(MJ-PBX)を用いた。取り込んだ画像で同一細胞を比較した結果、いずれの方法においても標識プローブは前回のFISH法での標識箇所と別の部位を認識していた。また2回目のFISH法は、再度熱変性処理を行うよりも乾燥後すぐにアプライした方が検出率および蛍光シグナル強度は向上していた。今回の検討の結果、2回目以降連続してFISH法を行う場合、熱変性処理は必要ないことがわかった。これは、最初の熱変性処理により一度変性(Denature)された組織DNAがそのままの状態でも保持されていることを示唆しており、SGおよびSOがアミノ基から外れていないためと考えられる。また今回の実験で、SG・SOはともに自然退色するのに数日の時間を要することがわかった。強制的にSGを落とす手段として(端の水酸基と酸素原子に塩酸塩を結合)、0.1N塩酸で10分間処理を行い、それでも退色しない場合これを繰り返した。SOは構造が複雑らしく塩酸処理では退色しなかったため、時間をかけて自然退色させるしかなかった。今回考案した連続FISH法の場合、切片からカバーガラスを剥がす時に細心の注意をはらう必要があるが、脱蛍光以外、何の前処理も必要とせずhybridizationを繰り返すだけでよいことから、培養細胞や捺印細胞等の同一細胞および1枚しかない切片での解析には大変有意義な方法であると考えられる。

○「魚類の視物質発色団と生態環境および系統との関連」日本動物学会第75回大会

第二医学系技術専門職員

外山美奈

魚類の網膜には2種の発色団、レチナール(A1)、3-デヒドロレチナール(A2)が存在し、A2はA1に比べ吸収スペクトルが長波長シフトする。これら2種の発色団によるスペクトル応答が環境適応しているかを考えるため、発色団と環境の関連を追跡している。前年の分析に加え、さらに分析種を増やし、環境および系統との関係について検討した。その結果、系統的には十分な関連は見られなかったが、生息域との明瞭な関連が観察された。環境光のスペクトルと発色団の関連について考察した。

○「光情報の入力と情報処理系、そして生態系を学ぶ新たな実習方式の試み ―生物の総合的理解の向上をめざして―」平成16年度大阪大学総合技術研究会

第二医学系技術専門職員

外山美奈

学生実習の教育補助を通して、ここ数年で学生の生物材料を扱う能力が特に低下し、自然の中における生物そのものを意識できなくなってきたことを感じている。この問題を解決するために、生物に数多く触れさせる機会を与え、自ら自然の中から採集できる材料を使って、生理学、生化学、形態学などの各論を学ぶという生物全体を見ることのできる実習形式で、なんらかの改善を図ることができるのではないかと考えた。

ヒトは外界の情報の80%ほどを眼から得ているといわれている。そのため、視覚に関する実習テーマは学生が興味を持ちやすい。そこで、学生が自ら入手できる魚類を材料として用い、視物質発色団から生態環境までを広く指導することとした。実習テーマを「魚類を用いた環境要因と視覚情報処理形式の関連」とし、また授業に最近導入されているチュートリアル形式を実習に導入し、学生が自発的に実験を計画し結果を発表する方式を試みたので報告した。

○「Apo E 欠損マウスにおける簡便な plaque rupture 誘起モデルの開発」第 36 回日本動脈硬化学会総会
第一医学系技術職員 佐々木健

粥状動脈硬化巣の plaque rupture (プラーク破綻) は、心筋梗塞などの極めて重篤な疾患の引き金となりえるが、このプラーク破綻のメカニズムは不明な部分が多い。その一因として、適当な疾患モデル動物が見つかっていないことが挙げられる。また、この適当なモデル動物が存在しないことは、各種薬剤のプラーク破綻に対する直接的なスクリーニングを困難にしている。我々は、粥状動脈硬化巣の形成メカニズムを研究中に、偶然にも ApoE KO マウスのプラークが短期間かつ高確率で破綻する、極めて簡便な手技を発見した。また、このプラーク破綻はヒトの病態を部分的に表していることも判明し、この手技を用いたプラーク破綻誘起モデルはヒト病態モデルとして有効である可能性が示唆された。

○「システインプロテアーゼであるカテプシン S の血管リモデリングへの役割に関する研究」第 36 回日本動脈硬化学会総会
第一医学系技術職員 佐々木健

動脈硬化進展時の血管リモデリングには種々のプロテアーゼの関与が示唆されているが、ヒト冠動脈におけるバルーン障害後の内膜肥厚の形成過程において、プロテアーゼの一つであるカテプシン S の役割は不明である。本研究では、ラット頸動脈バルーン擦過モデルを用い、血管リモデリング過程でのカテプシン S の発現を調べた。さらに、内膜肥厚の一因とされる平滑筋細胞の浸潤におけるカテプシン S の役割についても検討した。その結果、バルーン擦過後ラット頸動脈では、その内膜部分にカテプシン S の発現が見られ、バルーン傷害後にそのタンパク量、mRNA 量ともに有意な増加が見られた。また、カテプシン S 特異的な阻害剤は培養平滑筋細胞の浸潤能を有意に抑制した。さらに、活性型カテプシン S はその培養平滑筋細胞の膜表面上に局在していることも明らかとなった。以上のことから、平滑筋細胞の膜表面上に存在するカテプシン S は、血管リモデリングに際してその浸潤を促進的に調節し、その結果、内膜肥厚の進展に関与するということが考えられた。

○「Ultrastructural observation on effect of sea cucumber extract on *Candida albicans* using Focused Ion Beam」The 8th Asia-Pacific Conference on Electron Microscopy
第二医学系技術専門職員 村中祥悟

The focused ion beam (FIB) is a novel technique in electron microscopy that uses high energy gallium ions to precisely and accurately sections or mill yeast cells of minute size irrespective of its place and location. The step by step sectioning process will expose and reveal its internal structures, followed by observation with the FEG-SEM or conventional SEM for morphological or topographical studies. The yeast cell has to be deposited first with a 20 nm layer of platinum to strengthen its outer layer from being damaged during the milling process. Period of milling for fungal samples are also extremely important as longer milling time will destroy the whole yeast cell. Enhancement of FIB images for SEM observations of milled yeast sample was accomplished by recoating the samples with osmium vapour. In conclusion, FIB could be used a micromaching tool to observe the effect of extracts on yeast cells.

The focused ion beam (FIB) is a novel technique in electron microscopy that uses high energy gallium ions to precisely and accurately sections or mill yeast cells of minute size. The step by step sectioning process will expose and reveal its internal structures, followed by observation with the FEG-SEM or conventional SEM for morphological or topographical studies. The FIB also allowed a single yeast cell to be sectioned at any desired position irrespective of its place and location. The yeast *Candida albicans* cultured on M-3 agar treated with sea cucumber extract was used. The samples were fixed with formaldehyde and postfixed with osmium tetroxide, dehydrate in series of ascending alcohol concentration, then t-butyl alcohol before being freeze-dried in overnight. The samples were then transfer to stub and then osmium vapour coated. The sample for FIB was then further deposited with a layer of platinum (20 nm) to strength the cell structure to avoid collapse and destruction of cells when milled. The FIB-milled yeast cell was then scanned with SEM and results obtained. Observation

of FIB milled samples was also done at various angles for maximum results. The extract cause many vesicles formation leading to collapse of cell structure obtained after the cell was milled by FIB. SEM on the outer yeast cell observation showed only collapse of cell and indentation or hole formation. The result obtained further proved that FIB could be used as an ultramicrotome in slicing the yeast cell to observe the interior structure.

○「カイコ卵の TEM 試料作製」医学生物学電子顕微鏡技術学会第 20 回学術講演会

第二医学系技術専門職員

熊切葉子

カイコ卵は、成熟すると外側を硬いコリオンに覆われること、卵黄が特に大量に含む心黄卵であること、脂肪滴やグリコーゲンを細胞質に大量に含むことなどの理由により、透過電顕試料作製が困難な昆虫材料の中でも特に難しい材料である。

昨年度の本大会において、長時間の脱水と置換によって樹脂の重合不良を避けることにより、カイコ卵の透過電顕観察が可能になることを報告した。しかしながらこの方法では細胞内部の脂肪滴が存在していたと予想される場所におびただしい数の空胞が観察されるため、脱水置換作業中に重要な構造も失われているという可能性を否定できない。このことはより詳細な形態学的検討を進める上での障害となりうる。

そこで、私たちはさらに検討を進め、脱水剤と樹脂の種類を検討することによってアーティファクトの軽減を試みたので、以下に報告する。

最も試料作製の困難なコリオン形成期のカイコ卵(stage10~11)を用い、前固定(2% GA in 0.1M cacodylate, pH7.4, 24h, RT) 後固定(1% OsO₄, 4hr, RT) の後、それぞれの方法により試料作製を行った。

- A. アセトン脱水系列・Quetol 812 包埋
- B. Quetol 651 脱水系列・Quetol 651 包埋
- C. アセトン脱水系列・Quetol 651, DDSA, MNA 混合液樹脂置換・Quetol 651 包埋
- D. アセトン脱水系列・Quetol 651, NSA 混合液樹脂置換・Quetol 651 包埋

水溶性樹脂である Quetol 651 で脱水・包埋した試料(方法 B)においては、方法 A の試料と比較し、細胞内の脂肪滴の流出もなく、良好な電顕像が観察されたが、樹脂が軟質で超薄切片が作製しにくい事と、樹脂の重合ムラである顆粒周囲の微細な小穴については完全に解決することができなかった。

さらに、樹脂置換段階における樹脂の粘性や置換条件等の影響について調べるために、組成を変えた低粘性の樹脂で置換段階を多くして比較検討した。最も重合状態が良好であったのは方法 C の試料であるが、一方で卵黄顆粒が卵細胞の片側に集合した像が観察された。これは低粘度樹脂での長時間振盪によるアーティファクトであると思われる。方法 D では、重合不良が強く、超薄切片が得られなかった。

○「アクラフィルムを加工して使用した厚切り切片の包埋法」医学生物学電子顕微鏡技術学会第 20 回学術講演会

第二医学系技術専門職員

太田 勲

第二医学系技術専門職員

村中祥悟

ビブラトームやマイクロスライサーで細切された免疫電子顕微鏡用の試料は、免疫反応させた後に包埋するが、平面性を保ちながら数十 μm の厚さの切片を包埋することは容易ではない。アクラフィルム(日新 EM 社製)は硬化したエポキシ樹脂から容易に剥がすことができ、この特性を利用して包埋する方法が考案されているが、平面保持と気泡の除去に難がある。このアクラフィルムに切片が収まる程度の穴を開けてスライドガラス上に置き、樹脂浸透を終えた切片とエポキシ樹脂であらかじめ作成したスペーサーを入れ、さらにアクラフィルムとスライドガラスを重ねて重合する方法を試みた。

今回行ったアクラフィルムを加工して使用した厚切り切片包埋法では、切片はスライドガラス面に全面で張り付き、気泡も全く入らない状態で硬化できる。倒立包埋の後の超薄切は、面出しが容易となり観察領域は広範囲になる。これにより、マイクロスライサーを用いた包埋前での免疫組織化学法において、広視野での免疫反応部位の検索およびトリミングが容易になり、超薄切片は広範囲に反応部位を得ることができる。

平成 16 年度科学研究費等助成金研究一覧

外山美奈：「チュートリアル形式導入による先端光医療生物学実習法の開発」，文部科学省科学研究費課題番号 16918029.

佐々木健：「Apo E ノックアウトマウスにおけるプラーク破綻モデルの確立とそのメカニズム解明」，浜松医科大学内若手研究プロジェクト経費.

加茂隆春：「医学生の実習用マイクロ組織標本アレイの作製改良法」，文部科学省科学研究費課題番号 16922127.

平成 16 年度科学研究費等助成金研究紹介

○「チュートリアル形式導入による先端光医療生物学実習法の開発」文部科学省科学研究費

第二医学系技術専門職員

外山美奈

学生の生物材料を扱う能力の低下、また、自然の中における生物そのものを意識できなくなっていることを改善するため、一つの生物を総合的な視点から見つめさせ、授業に最近導入されているチュートリアル形式を導入可能であることを検討し、高度な医療技術を理解できるレベルの学生の育成を目指し、新たな実習方式の開発を試みることを目的とした。

医学科 2 年の選択授業の学生を対象に、実習テーマを「魚類を用いた環境要因と視覚情報処理形式の関連」とし、チュートリアル形式を導入し、学生が自発的に実験を計画し発表する方式を試みた。実際には実習課程を 6 つに分け、メダカの眼を材料に進めた。まず予備知識を与えるため、1. 視覚情報処理に関する講義を行った。次に、2. 発色団の光異性化の観察実験を行い、さらに 3. HPLC によるレチナールの定量法を学んだ。そして、4. 光をあてない網膜とあてた網膜のレチナール量の定量を行い、その結果について討論を行った。それをふまえて学生自ら実験を立案し、5. 本実験を行い、その本実験の結果について、6. 総合討論を行った。実験を行ったあとは必ず、結果の整理、考察を行い、それをひとりひとり発表し、その発表について全員で討論を行った。

この実習で、学生たちは積極的に自分の意見を述べ、活発な討論を行うことができた。またその討論をもとに自分たちで疑問点を解決する実験を自ら計画し、実際に実行することができ、その実験結果についても活発に討論し、視覚に関する理解をかなり深めることができた。ただ与えられた実習を行っているだけでは体験できなかった、実習への積極的な取り組みが体験できたと思う。

○「Apo E ノックアウトマウスにおけるプラーク破綻モデルの確立とそのメカニズム解明」浜松医科大学内若手研究プロジェクト経費

第一医学系技術職員

佐々木健

粥状動脈硬化巣のプラーク破綻は、心筋梗塞などの極めて重篤な疾患の引き金となるが、このプラーク破綻のメカニズムは不明な部分が多い。その一因として、プラーク破綻に関する研究を行なう上で適当な病態モデル動物が見つかっていないことが挙げられる。最近、申請者は偶然にも Apolipoprotein E 欠損マウス (ApoE KO マウス) の粥状動脈硬化巣プラークが破綻する非常に簡便な手技 (頸動脈結紮による内膜肥厚誘起後、その直下にカフ留置) を発見した。よって、本研究ではこの手技による ApoE KO マウスにおけるプラーク破綻がヒトの病態を表すモデルとなり得るかどうかを検討し、そのメカニズムにも迫ることを目的とした。

現在までの実験により、このプラーク破綻の現象は非常に短期間 (4 日以内) かつ高率 (85% 以上) で起こることが分かった。さらに、プラーク内にはマクロファージや T 細胞の高度な浸潤が見られ、破綻に際してプラークの線維性被膜が脆弱化すること、平滑筋細胞やマクロファージが急速にアポトーシスを起こすこと、血管内腔内にフィブリン性の血栓を形成すること、線維性被膜脆弱化に関わるとされるプロテアーゼ (MMP-2、

-9)が存在することなど、ヒトの病態と類似の現象が確認された。以上のことから、本手技によるブランク破綻はヒト病態の有効なモデルとなりえることが考えられた。なお、現在この破綻メカニズムについては解析中である。

○「医学生の実習用マイクロ組織標本アレイの作製改良法」文部科学省科学研究費

第一医学系技術専門職員

加茂隆春

Beecher Instruments 社製の組織標本アレイヤーで作製したブロックは、組織芯が整列して埋め込まれているが、テープシステムを併用しないで多数のアレイ切片作製とコストダウンをはかるために、融合アレイブロック {不完全溶解融合法: 0.6mm 組織芯や完全溶解融合法: 2.0mm 組織芯 (1.0mm 以上)} を用いる。教育実習で、実際に医学生が扱うサンプルは、組織芯の径が 2.0mm でアレイブロックを作る或いは観察する。臓器や症例の異なった組織が同一スライド上で観察できるサンプルを作製使用すれば、高度な情報処理が可能になり医学教育の向上が高まる。

完全溶解融合法: 2.0 mm 組織芯 (1.0 mm 以上)

① 組織標本アレイヤーでブロックを作製する ② ブロックを 45℃/15 分 ≤ 温めて、スライドグラスをブロックの表面に押し当てる (ここまでは組織標本アレイヤーテープシステム操作マニュアルと同じ) ③ 出来上がったブロックを組織芯が出るまで荒削りする ④ 余分なパラフィンをトリミングし、ブロック台からはずす ⑤ 荒削りした薄切面に紙両面テープを貼る ⑥ その面を包埋皿に貼り付ける ⑦ 赤外線ランプで加熱する (ランプを当てるとブロックの周りからパラフィンが溶けてくる。組織芯に達してから冷やすが、組織芯が揺れないよう包埋皿を動かさないで冷却する。) ⑧ パラフィンを流し込んでブロック台に付けアレイブロックができる ⑨ アレイブロックを薄切して切片を得る (組織芯と周りのパラフィンが完全溶解融合しているので薄切が容易) ⑩ 切片をスライドグラスに貼付けて未染スライドができあがる

平成 16 年度は病理実習がなく多くの感想を聞けなかった。一部の学生に作製したプレパラートを鏡検していただいたところ、決められた範囲に組織が整列しており観察しやすく、各臓器から得られる情報は予想外に多いとのことであった。ただ、この数の標本を実習教材に使用するなら、レポートに要する時間を配慮していただきたいという意見もあった。今後の参考にしたい。

平成 16 年度学会賞等受賞一覧および紹介

村中祥悟: 医学生物学電子顕微鏡技術学会, 功労賞, 2004. 4

○医学生物学電子顕微鏡技術学会「功労賞」受賞で思うこと

第二医学系技術専門職員

村中祥悟

かつて日本には電子顕微鏡 (電顕) に関する学会が「日本電顕学会」「日本臨床電顕学会」の 2 つがありました。しかし、電顕の技術を中心とした技術者の会は、「関東電顕研究会」「東海電顕勉強会」「静岡電顕談話会」がそれぞれの地区で活動していたに過ぎませんでした。それらが集まって 1985 年に全国規模の「医学生物学電顕技術研究会」を発足させました (<http://emtech.jp/>)。以来 22 年を過ぎ、今や中間法人の学会となり、電顕技術の普及と発展に中心的な存在となりました。学会誌の発行、学術講演会、国際シンポジウム、各種講習会の開催と活躍しております。電顕を中心とした技術の会ですので、特に指導者がいるわけでもなく、先輩の職人が若手を教えるように技術の普及を担っています。発足当初は医学関係が中心でありましたが、徐々に農学、水産、食品など多くの分野に広がり、多種多様な試料と観察目的に対応しています。

電顕の目的は、微細な構造と機能を可視化できるようにすることにあります。したがって、細胞の中の細胞小器官、またその中の蛋白、アミノ酸、原子・・・と微細な構造を求める限り、その果てはないように思われ到達するところのない学問です。私もこの学会の発足から、多くの仲間の技術者たちと学会活動をしてきました。電顕とともに楽しく、わくわくする毎日を過ごしてきただけなのですが、今回「功労賞」を頂いてしまいました。この賞の受賞は、そろそろ若者に道を譲れということかも知れませんが、まだまだわくわくすることがたくさんありますので、まだまだ頑張りたいと思っております。

平成 16 年度技術部会次第

第 12 回技術部会

日 時：平成 16 年 6 月 25 日（金）15：00～17：00 於：講義実習棟 2 階会議室

参加者数：技術部職員 26 名

1. 開会の辞「技術部長就任挨拶（浦野哲盟；生理学第二教授）」

2. 意見交換会

(1) 技術部運営委員会（平成 16 年度第 1 回）の協議内容から

国立大学法人化のもとの運営委員会の性格と役割

一般職本給表下での技術部職員の上位級における事務局との不均衡

改正「技術職員の組織等に関する規程」の問題点

副技術部長の任期制と選出基準ならびに退任後の処遇

効率的な技術部運営のための「規程」再検討の視点

平成 16 年度活動計画 一年次計画初年度の活動一

技術部予算

(2) 学外研修の改善について

出張扱いにできる範囲

第 13 回技術部会

日 時：平成 16 年 10 月 27 日（水）15：00～17：00 於：講義実習棟 2 階会議室

参加者数：技術部職員 25 名、技術部職員外 2 名

1. 開会の辞「技術部長挨拶」

2. 講演「生理研における法人化と技術職員問題」（生理学研究所技術課技術課長 大庭明生氏）

－生理研における法人化の経緯と直面している問題について－

第 14 回技術部会

日 時：平成 17 年 1 月 27 日（木）15：00～17：00 於：講義実習棟 2 階会議室

参加者数：技術部職員 22 名

1. 開会の辞「技術部長挨拶」

2. 意見交換会

(1) 技術部「規程」の改訂案

副部長技術長兼任解消の提案

(2) 技術部への業務依頼についての対応

(3) 技術部活動への参加、出席率を上げるための対応策意見

○平成 16 年度技術部会総括

部会委員会委員長 金田正昭

平成 16 年度は大学としては国立大学法人浜松医科大学として発足した年であり、技術部としては市山 新前技術部長が任期終了され、新たに浦野哲盟技術部長が就任されて新体制で活動を始めた年でした。技術部会では「技術職員の組織等に関する規程」の問題点、学外研修の改善方法、その他について意見交換会で討議し、技術部の存在意義を高める為の活動をしてきました。また、生理学研究所技術課技術課長 大場明生氏を招聘し、「生理研における法人化と技術職員問題」について講演していただき、他機関の情報を入手する場としてきました。今後も技術部職員に取って必要不可欠な技術部会で有り続けることを願い、平成 16 年度部会委員会の総括とさせていただきます。

備考；部会委員会

（委員長）金田正昭

（委員）永嶋千枝子、柴田 清、日野岡國一、長谷川敏彦

○職場安全のための「標準技術作業手順書」の作成について

－本学技術部ウェブサイト掲載－

「作業手順書は、なぜ備え置かなければならないか」

作業手順書とは、個々の作業を、安全に、確実に、能率よく行うために作業の流れと方法を書面にしたものです。労働災害などのトラブルが発生した場合には、その工程の「作業手順書」の有無、内容、作業員の理解度が追求されます。

作業手順書の作成徹底は、静岡労働局における「静岡における第10次労働災害防止推進計画について」にも記載されております。また、多くの大学等での労働災害時の査察でも、作業手順書の有無が問われており、各研究室等で化学薬品を使用する作業には、この手順書で作業手順を十分説明した後でなければ作業を行わせることができません。

作業手順書に記載する項目は、

- 1) 作業順序：安全な作業の順序
- 2) 要 点：仕事がしやすく、安全が確保された作業のやり方のコツや要領
- 3) 危険予知：作業の急所の中で、どんな危険があるかを前もって出しておく
- 4) 安全対策：出てきた危険項目への対応策を立てる

の4項目です。

技術部ウェブサイトに学内で共通する作業について標準作業手順書として掲載しました。この手順書をみなさまの実験・研究室等に合うよう訂正して安全な作業にご利用下さい。

また、みなさまの実験・研究室等で必要な作業手順書作成は技術部がお手伝いしたいと思いますので、技術部までご連絡下さい。

◎洗浄の標準作業手順書

- ◇器材の洗浄：総論および血液・体液の付着したガラス器具の手洗いの洗浄方法
- ◇マンガン・銀が付着したガラス器具の洗浄

◎水銀測定の標準作業手順書

- ◇水銀測定

◎光学顕微鏡標本作製の標準作業手順書

- ◇組織標本作製（固定、脱脂、脱灰、脱水～包埋）作業
- ◇HE染色作業
- ◇免疫染色作業

◎電子顕微鏡標本作製の標準作業手順書

- ◇透過電子顕微鏡用標本作製作業
- ◇走査電子顕微鏡用標本作製作業

◎付記 VDT (Visual Display Terminals) 作業における労働衛生管理のためのガイドライン

(厚生労働省)

備考；標準技術作業マニュアル化作業部会

世話人 金田正昭

委 員 鈴木一成、村中祥悟、小島義次

協力委員 五十嵐久喜、石野直己、加茂隆春、熊切葉子

平成 16 年度技術部年次計画と達成状況

報告： 副技術部長

小島義次

○技術部年次計画 《平成 16 年度》

国立大学法人化後の浜松医科大学の指針となる中期目標・中期計画の中に技術部の整備が盛り込まれたことから、市山技術部長（平成 15 年度当時）の指導のもと中期目標・中期計画を具体化するための技術部年次計画を作成した。

平成 16 年度分については以下のようになっている。

- (1) 技術部が提供できる技術情報を、技術部ウェブサイト、パンフレットなどにより分かりやすく掲示する。
- (2) 専門技術領域別、あるいは業務別にいくつかの勉強会を立ち上げ、それぞれ課題を決めて活動を開始する。課題は固定せず、順次新しい課題に挑戦することにする。なお、所属勉強会の変更は自由とする。
- (3) 労働安全衛生法の下での作業環境の整備や作業方法の改善に積極的に関与する。

○技術部年次計画の達成状況について

平成 16 年度年次計画に対し、実施した具体的な方策は次のとおりである。

(1)について

- ・技術部ウェブページ「スタッフ一覧」を更新し、技術部職員の業務ならびに技術内容を紹介した。
- ・ネット版パンフレット「技術部職員の技術紹介」を作成した。
- ・「技術部年報 Vol. 4」を発行し、技術部の活動や技術の紹介を行った。

(2)について

- ・技術部勉強会を立ち上げ、教員の参加も得て活動した。
- ・「科学技術・研究を発展させる会」第 1 回から 5 回を開催した。
- ・「電子顕微鏡技術勉強会」第 1 回から 7 回を開催した。
- ・「免疫染色勉強会」第 1 回から 2 回を開催した。

(3)について

- ・職場の作業環境の整備や作業方法の改善に努めた。
- ・標準技術作業マニュアル化作業部会を設置し、学内共通作業（洗浄 2 件、水銀測定 1 件、光学顕微鏡標本作製 3 件、電子顕微鏡標本作製 2 件）について標準技術作業手順書を作成して技術部ウェブサイトに掲載し、学内の各部署における作業手順書作成の参考に供した。併せて VDT 作業における労働衛生管理のためのガイドラインも掲載した。
- ・労働安全衛生に関わる講習会に参加し、情報の収集に努めた。
ダイオキシン類特別教育、衛生管理者能力向上教育、危険物取扱者保安講習、局排自主検査者養成講習、特定化学物質能力向上教育、職場巡視・点検セミナー、有機溶剤能力向上教育に各々 1 名が参加した。

上記方策の実施状況を平成 16 年度第 11 回技術部役員会（平成 17 年 3 月 2 日）において検討した結果、平成 16 年度技術部年次計画は全て達成されていることが同役員会に於いて承認された。また、平成 17 年度第 1 回技術部運営委員会（平成 17 年 7 月 8 日）に報告し、同委員会で検討の結果、積極的に活動したとして了承された。

いずれの方策も、大学に対して技術部が貢献するための重要な活動であり、この年度の計画実施の成果を生かして、今後も引き続き活動を継続していきたい。

平成 16 年度技術部職員動向

配属：佐々木 健 （第一医学系技術職員、解剖学第二講座） 平成 16 年 4 月 1 日付

〇ご挨拶

私は 2004 年 4 月 1 日より浜松医科大学解剖学第二講座（現 解剖学講座）に技術職員として着任いたしました佐々木健です。1969 年に愛知県一宮市生れ、一宮高校、名古屋大学農学部、同大学院と進み、そこで学位を取得しました。その後、3 年半ほど名古屋大学医学部の老年科という講座で研究員として過ごし、この浜松にやってきました。

農学部時代は旧畜産系の生理学講座に所属しており、動物生理学を専攻しておりました。研究対象はニワトリ・ウズラなどの家禽で、その抗利尿ホルモン（バソトシン）の分泌メカニズム（神経内分泌学）を調べていました。名大医学部時代になると、今度はテーマ・動物が急転して血管生物学に移行し、マウス、ラットなどを用いて動脈硬化症や血栓症に関する研究を行ないました。そして、現在の浜医解剖学講座、「今度はどんなテーマに変わるのか？、やっぱりヒト！？」と思いきや、ちょっとわがままを言わせてもらって引き続き動脈硬化症関連の研究をしています。さらに研究以外には解剖学教育に携わり献体業務を行なっております（こっちがメイン）。当初はかなり緊張？しましたが、現在ではすっかり慣れて、解剖学教育の必要性和素晴らしさを実感し、同時にとても多くのことを学んでいる日々です。

少し趣味の話をしますと、自転車競技を 10 年強ほどやっています。最初は遊びでしたが途中からのめり込み、小さい実業団チームの一員としても走っています。しかし、2004 年夏の落車で骨盤骨折、仕事を長欠したこともあり、現在は監督業に専念しつつあります。

最後になりましたが、大学も法人化されそこで生きる人間にとっては厳しい時代を迎えることとなるかもしれません。しかしそんな逆境に負けないよう、また時代の波に乗り遅れないよう、一大学人として頑張っていきたいと思っています。よろしくお願いします。

退職：佐藤 友昭 （第一医学系技術専門職員、法医学講座） 平成 16 年 9 月 30 日付

配属：大田原 佳久 （第三医学系技術専門職員、泌尿器科学講座） 平成 17 年 1 月 1 日付

〇ご挨拶

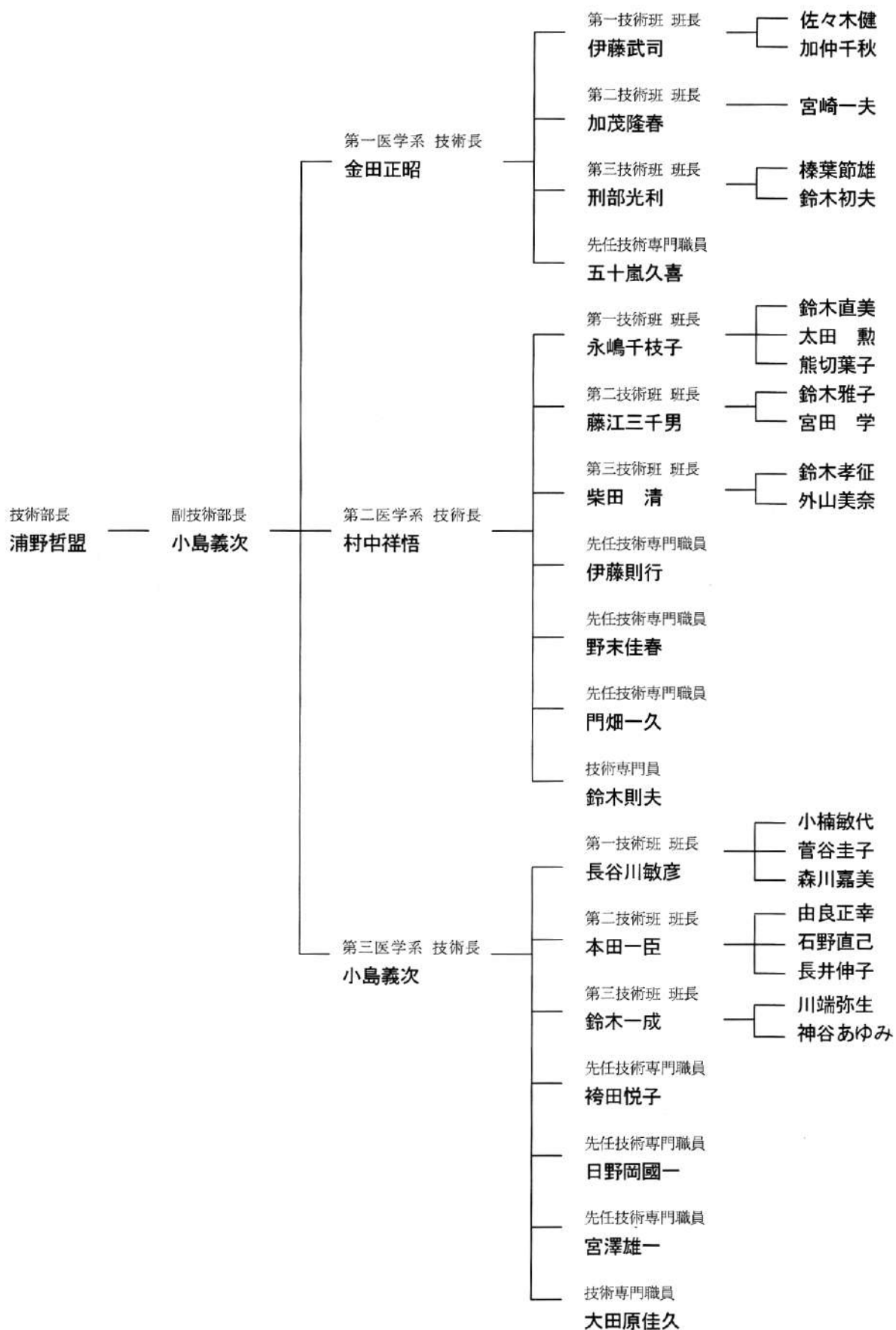
2005 年 1 月より教育職の助手から、一般職の技術職員へと移動したため、技術部に参加し、お世話になることとなりました。その節は歓迎会ありがとうございました。私は大学設立当初は一般の企業から研究生として、2 年間派遣され、そのまま本学職員として、文部技官として、臨床の泌尿器科学講座に配属されました。その後、技官で科研費申請が通ったこともあり、助手として働いてきました。仕事の内容は身分が変わっても、大きく変わることはありませんでした。今回また元にもどった形です。技術部員では新顔ですが、古くから多くの方々を存じ、様々なところで一緒させていただいておりました。

技術部については、役員の方より広報誌など送っていただき、大方の活動内容を把握し、私なりにどういう組織かということ把握した次第です。しかし、まだ浦島太郎状態で、全容は見えていません。その中で、私の感じたことは、それぞれ仕事の内容、上司、所属部局の体制が異なる中でどのような形で、研究、開発、教育などを抱えて職能集団としてまとめ、共に前向きになれるかということです。根本的な職場の環境等の問題もあるかと思います。

現在、私は臓器移植コーディネーター（TCO）として、厚生労働省の研究や、腎移植学会等の関係で県内だけでなく、全国的な展開に参加していますので、特に大学から飛び出すことが多いために、学内では各方面にご迷惑をかけております。独立法人化され、様々な問題が浮上してきていますが、その中で、大学全体としてやっていかなければならないことは多々あるように感じています。このことは技術職においても例外ではないと感じる次第です。技術部には有能な方が多くいらっしゃいますので、私の出る幕はないかと思いますが、私なりに協力できることをしていきたいと思っています。今後ともよろしくお願いいたします。

平成 16 年度技術部職員一覽

《平成 17 年 3 月 31 日現在》



平成 16 年度技術部運営委員会

委員長	浦 野 哲 盟	技術部技術部長 [生理学第二教授]
委 員	小 島 義 次	技術部副技術部長、技術部第三医学系技術長
	金 田 正 昭	技術部第一医学系技術長
	村 中 祥 悟	技術部第二医学系技術長
	針 山 孝 彦	一般教育等 [生物学教授]
	佐 藤 康 二	医学科基礎 [解剖学第一教授]
	今 野 弘 之	医学科臨床 [外科学第二教授]
	宮 本 愛	看護学科 [基礎看護学教授]
	小 出 幸 夫	動物実験施設長 [微生物学教授]
	原 田 建	総務部部长
	青 島 玲 兒	その他委員会が必要と認めた者 [実験実習機器センター助教授]

平成 16 年度技術部委員会

総務委員会	委員長	鈴 木 則 夫 (副技術部長、4 月～5 月)
		小 島 義 次 (副技術部長、5 月～翌 3 月)
	委 員	鈴 木 初 夫 (第一医学系第三技術班班長、4 月～5 月)
		刑 部 光 利 (第一医学系第三技術班班長、5 月～翌 3 月)
		宮 澤 雄 一 (第三医学系前任技術専門職員)
		伊 藤 則 行 (第二医学系前任技術専門職員)
部会委員会		門 畑 一 久 (第二医学系前任技術専門職員)
	委員長	金 田 正 昭 (第一医学系技術長)
	委 員	永 嶋 千枝子 (第二医学系第一技術班班長)
		柴 田 清 (第二医学系第三技術班班長)
		日野岡 國 一 (第三医学系前任技術専門職員)
		長谷川 敏 彦 (第三医学系第一技術班班長)
研修委員会	委員長	村 中 祥 悟 (第二医学系技術長)
	委 員	藤 江 三千男 (第二医学系第二技術班班長)
		鈴 木 一 成 (第三医学系第三技術班班長)
		袴 田 悦 子 (第三医学系前任技術専門職員)
		五十嵐 久 喜 (第一医学系前任技術専門職員)
		小 島 義 次 (第三医学系技術長)
広報委員会	委員長	伊 藤 武 司 (第一医学系第一技術班班長)
	委 員	野 末 佳 春 (第二医学系前任技術専門職員)
		加 茂 隆 春 (第一医学系第二技術班班長)
		本 田 一 臣 (第三医学系第二技術班班長)

あ と が き

技術部の平成16年度を、ここに年報として、目に見えるかたちに留めることができました。原稿をお寄せいただき有り難うございました。

平成16年度は国立大学法人化の第一年でしたが、法人化といっても一年目は様子見といったところが多分にあつて、これまで技術部も表だって変革を迫られるということはありませんでした。

これに気を抜くことなく技術部年次計画平成16年度の実現に努力した技術部職員の皆さまとともに、技術部運営委員会で、「積極的、活発に活動した」という評価があつたことを喜びたいと思います。

これで年度が変わりまして、いよいよ法人化の影響が顕在化してくるものと思います。技術部にどのような影響が来るのか。

そのひとつは、技術職員の評価です。自己目標の設定とその達成度の自己評価とに基づく面談による点検という形になるようです。技術部会でも取り上げて議論して意見を出していただきました。公平な評価ということが望まれますが、技術部組織のあり方と密接に関連するところもあります。これは、検討課題です。

いずれにしても抛り所は、研究・教育、診療支援のための我々の技術ですから、技術の向上と拡充に努めることだと思います。また、技術に関して大学からどのような期待をされるのか、その要請も変化するでしょう。そうした変化に目を向けている必要も有ります。

技術部年次計画平成17年度は、「各勉強会が単独に、あるいは合同して、また必要に応じて教官の参加も求めて活動を行い、かつ、技術部員の学外研修、学内研修、あるいは教官が開催するセミナーや勉強会への積極参加を奨励して、必要な専門技術の理解を深め、その継承を円滑にする。」というものです。技術部の17年度を見越してあつらえたような感がありますね。計画通りの活動をしていけば、「評価」にもゆとりをもって対応することができるでしょう。頑張りましょう。

年報の編集に関しては、広報委員会の皆さま、ことに宮澤雄一委員に労力と時間をいただきました。記して感謝。

平成17年（2005年）夏

副技術部長 小 島 義 次

浜松医科大学技術部年報 Vol.5 平成16年度

編 集 技術部広報委員会（平成17年度）

委員長 小島義次

委 員 加茂隆春、本田一臣、宮澤雄一、鈴木一成

発 行 平成17年9月

浜松医科大学技術部 <http://www.gijutsubu.hama-med.ac.jp/>

〒431-3192 浜松市半田山1-20-1

※表紙

技術部年報 Vol. 5

平成 16 年度



Technical Staff Department

浜松医科大学技術部