

光量子医学研究センター

細胞イメージング研究分野

1 構 成 員

	平成 14 年 3 月 31 日現在
教授	1 人
助教授	1 人
講師（うち病院籍）	0 人 （ 人）
助手（うち病院籍）	1 人 （ 0 人）
医員	0 人
研修医	0 人
特別研究員	1 人
大学院学生（うち他講座から）	0 人 （ 人）
研究生	0 人
外国人客員研究員	1 人
技官（教務職員を含む）	0 人
その他（技術補佐員等）	3 人
合 計	8 人

2 教官の異動状況

寺川 進（教授）（期間中現職）
 山本 清二（助教授）（期間中現職）
 櫻井 孝司（助手）（期間中現職）

3 研究業績

数字は小数 2 位まで。

	平成 13 年度
(1) 原著論文数（うち邦文のもの）	5 編 （0 編）
そのインパクトファクターの合計	19.41
(2) 論文形式のプロシーディングズ数	10 編
(3) 総説数（うち邦文のもの）	5 編 （5 編）
そのインパクトファクターの合計	0
(4) 著書数（うち邦文のもの）	3 編 （2 編）
(5) 症例報告数（うち邦文のもの）	0 編 （0 編）
そのインパクトファクターの合計	0
(6) 国際学会発表数	15 編

(1) 原著論文 (当該教室所属の者に下線)

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. Tsuboi T, Kikuta T, Warashina A, Terakawa S (2001) Supply of secretory granule enhanced by protein kinase C in the bovine chromaffin cell. *Biochem Biophys Res Commun* 282:621-628.
2. Tsuboi T, Terakawa S, Scalletar, B, Fantus C, Roder J, Jeromin A (2002) Sweeping model of dynamin activity. Visualization of coupling between exocytosis and endocytosis under an evanescent wave microscope with green fluorescent proteins. *J Biol Chem* 277:15957-15961.
インパクトファクターの小計 [10.424]

B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの (学内の共同研究)

1. Nagai N, Yamamoto S, Tsuboi T, Ihara T, Urano T, Takada Y, Terakawa S, Takada A (2001) Tissue-type plasminogen activator is involved in the process of neuronal death induced by oxygen-glucose deprivation in culture. *J Cereb Blood Flow Metab* 21 : 631-634.
2. Ryu H, Yamamoto S (2001) Neurovascular decompression of the eighth cranial nerve for intractable vertigo and tinnitus. *Operative Techniques in Neurosurg* 4 : 142-152.
3. Washiyama N, Kazui T, Takinami M, Yamashita K, Fujita S, Terada H, Suzuki K, Muhammad BAH, Fujie M, Yamamoto S (2001) Experimental study of the effect of antegrade cerebral perfusion on brains with old cerebral infarction. *J Thorac Cardiovasc Surg* 122 : 734-740.
インパクトファクターの小計 [8.983]

C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの

(2) 論文形式のプロシーディングズ

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. Hunanian A, Tsuboi T, Sakurai T, Yamamoto S, Terakawa S (2001) Release of catecholamine from the growth cone and soma in PC12 cells. *Jpn J Physiol* 51 (Suppl): S109.
2. Sakurai T, Sugiyama N, Wakazono Y, Terakawa S (2001) Non-NMDA receptor-mediated Ca signals in hippocampal neurons studied by FLIP microscopy. *Jpn J Physiol* 51 (Suppl): S191.
3. Terakawa S, Tsuboi T, Sakurai T, Jeromin A, Wakazono Y, Yamamoto S, Abe K (2001) Fluorescence micro-imaging of living cells and biomolecules with ultra high NA objectives. *Proc SPIE* 4597 : 121-127.
4. Terakawa S (2001) Fluorescence Imaging of the single ion channel. *Jpn J Physiol* 51 (Suppl): S5.
5. Tsuboi T, Nagai N, Yamamoto S, Ihara T, Urano T, Takada Y, Terakawa S, Takada A (2001) Tissue-type plasminogen activator enhances neuronal death induced by oxygen-glucose-

deprivation in cultured mouse neurons. J Cereb Blood Flow Metab 21 (Suppl 1): S399.

6. Tsuboi T, Zhao C, Terakawa S, Rutter GA (2001) Dual color evanescent wave imaging of insulin vesicle membrane and cargo during a single exocytotic event. Jpn J Physiol 51 (Suppl): S111.
7. Yamamoto S, Tsuboi T, Terakawa S (2000) Rapid nuclear change requires an increase in intranuclear Ca^{2+} during acute glutamate neurotoxicity. Neurotrauma Res 12 : 10-13.
8. Yamamoto S, Tsuboi T, Sakurai T, Terakawa S (2001) DNA fragmentation requires a rapid increase in intranuclear Ca^{2+} concentration during acute glutamate excitotoxicity. J Cereb Blood Flow Metab 21 (suppl 1): S7.
9. Yamamoto S, Tsuboi T, Terakawa S (2001) IP_3 plays an important role in the process of DNA fragmentation in acute glutamate excitotoxicity. Jpn J Physiol 51 (Suppl): S281.

B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの（学内の共同研究）

1. Matsumoto Y, Yamamoto S, Suzuki T, Tsuboi T, Kondo S, Terakawa S, Ohashi N, Umemura K (2001) Roles of Na^+/H^+ exchanger in glutamate excitotoxicity in rat cultured cortical neurons. J Cereb Blood Flow Metab 21 (Suppl 1): S55.

C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの

(3) 総 説

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. 寺川 進 (2001) 光マイクロイメージング法 - 医学生物学への応用展開 - Otol Jpn 1 : 1-5.
2. 寺川 進 (2001) ビデオコントラスト増強法による生細胞観察 Surgery Frontier 分子生物学実験講座 2 pp.36-41. メディカルレビュー社.
3. 寺川 進 (2001) エバネッセンス顕微鏡の開発と開口放出における quantal 仮説の検証科学研究費補助金基盤研究 (B) 報告書 (No.10557003)
4. 山本清二 : 最新医療技術①, 光を使って脳の神経を知る. 静岡新聞 2001.12.8 「生命科学の最先端」
5. 山本清二 : 最新医療技術②, 蛍光で腫瘍診断 光増感剤も. 静岡新聞 2001.12.15 「生命科学の最先端」

B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの（学内の共同研究）

C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し、共著者が当該教室に所属していたもの

(4) 著 書

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

1. Inoue S and Spring K 著, 寺川進, 市江更治, 渡辺昭 訳 (2001) ビデオ顕微鏡－その基礎と活用法 共立出版 pp.1- 776.
2. 寺川進 宮川厚夫 (2001) 蛍光プローブを用いた神経活動の可視化 脳の動態をみる 記憶とその障害の分子機構 高田明和, 加藤武, 中原大一郎, 野村正彦 医学書院 pp.95-104.
3. Terakawa S (2001) Differential interference contrast microscopy: characteristics and application in studies of living cells. In: Modern Problems of Cellular and Molecular Biophysics. ed. by Sinerik N. Ayrapetyan, and Anthony C. T. North, Noyan Tapan, Yerevan, pp 155-166.

B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し, 共著者が当該教室に所属していたもの (学内の共同研究)

C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し, 共著者が当該教室に所属していたもの

(5) 症例報告

A. 筆頭著者が浜松医科大学の当該教室に所属していたもの

B. 筆頭著者が浜松医科大学の他教室に所属し, 共著者が当該教室に所属していたもの (学内の共同研究)

C. 筆頭著者が浜松医科大学以外の教室に所属し, 共著者が当該教室に所属していたもの

(6) 国際学会発表

1. Matsumoto Y, Yamamoto S, Suzuki T, Tsuboi T, Kondo S, Terakawa S, Ohashi N, Umemura K : Roles of Na⁺/H⁺ exchanger in glutamate excitotoxicity in rat cultured cortical neurons. XXth International Symposium on Cerebral Blood Flow, Metabolism and Function, 2001 6.9-13, Taipei, Taiwan
2. Sakurai T, Aono Y, Tamura K, Wakazono Y, Yamamoto S, Terakawa S : Development of a bilateral objective lens microscope for multiple applications and visualization of functional molecules in a microdomain in the neuron. The 9th International Conference: Peace through Mind/Brain Science 2002, 1.30-2.1, Hamamatsu
3. Terakawa S, Tsuboi T, Sakurai T, Yamamoto S : Evanescent field microscopy with ultra high NA lenses. Asian SPIE Congress. 2001.11.25-30, Singapore (Invited Talk)
4. Terakawa S : VEC-DIC microscopy. Lecture at German Cancer Research Center (DKFZ) 2001.10.6-12, Heidelberg
5. Terakawa S : Evanescent wave microscopy. Lecture at German Cancer Research Center (DKFZ) 2001.10.6-12, Heidelberg

6. Terakawa S : Advanced fluorescence microscopy. Seminar at Institute of Life Science, Chinese Academy of Science, 2001.10.19, Shanghai
7. Terakawa S : Frontiers in light microscopy. Plenary lecture at Institute of Biophysics, Chinese Academy of Science 2001.10.21, Beijing
8. Terakawa S: Studies on single molecules and living cells under an evanescent wave microscope. Seminar at Rockefeller University 2001.12.22, New York
9. Tsuboi T, Nagai N, Yamamoto S, Ihara T, Urano T, Takada Y, Terakawa S, Takada A : Tissue-type plasminogen activator enhances neuronal death induced by oxygen-glucose-deprivation in cultured mouse neurons. XXth International Symposium on Cerebral Blood Flow, Metabolism and Function, 2001 6.9-13, Taipei, Taiwan
10. Yamamoto S, Tsuboi T, Sakurai T, Terakawa S : DNA fragmentation requires a rapid increase in intranuclear Ca^{2+} concentration during acute glutamate excitotoxicity. XXth International Symposium on Cerebral Blood Flow, Metabolism and Function, 2001 6.9-13, Taipei, Taiwan
11. Yamamoto S, Tsuboi T, Terakawa S : Inositol trisphosphate plays a crucial role in nuclear DNA fragmentation of neurons in acute glutamate excitotoxicity. 31st Annual Meeting of Society for Neuroscience, 2001.11.10-15, San Diego, California, USA
12. Yamamoto S, Tsuboi T, Sakurai T, Wakazono Y, Terakawa S: Inositol triphosphate plays a key role to induce nuclear DNA fragmentation of neurons in acute glutamate excitotoxicity. The 9th International Conference : Peace through Mind/Brain Science 2002, 1.30-2.1, Hamamatsu
13. Yoshida T : et al. Real-time image analysis of PDT cell-death in vitro with a cooled color CCD camera under a confocal laser video-microscope. IPA 8th World Congress of Photodynamic Medicine 2001.6.5-9, Vancouver
14. Yoshida TO, Sakurai T, Kohno E, Hirano T, Terakawa S: Real-time image analysis of PDT on HeLa cells in vitro and HeLa cell tumors in nude mice. 4th International Symposium on Photodynamic Diagnosis and Therapy in Clinical Practice 2001.10.10-13, Brixen
15. Yoshida TO, Sakurai T, Kohno E, Hirano T, Terakawa S : Image analysis of photodynamic effects on HeLa cells. 12th International YAG Laser Symposium, Beijing International Congress on Laser Surgery and Medicine. Topics 8. Photodynamic Therapy and Tumors. 2001.10.26-29, Beijing (Invited Talk)

4 特許等の出願状況

	平成 13 年度
特許取得数 (出願中含む)	0 件

5 医学研究費取得状況

	平成 13 年度
(1) 文部科学省科学研究費	4 件 (870 万円)
(2) 厚生科学研究費	0 件 (0 万円)
(3) 他政府機関による研究助成	0 件 (0 万円)
(4) 財団助成金	0 件 (0 万円)
(5) 受託研究または共同研究	2 件 (262 万円)
(6) 奨学寄附金その他 (民間より)	2 件 (98 万円)

(1) 文部科学省科学研究費

山本清二 (代表者) 基盤研究 (B) (2) 脳ミトコンドリア障害の PET による in vivo 評価法とトレーサーの開発 370 万円 (新規)

櫻井孝司 (代表者) 奨励研究 (A) 単一グルタミン酸受容体チャネルにおけるカルシウムイオン流入過程の画像化 150 万円 (新規)

山本清二 (分担者) 基盤研究 (C) (2) 線溶系因子による細胞運動調節機構の細胞表面分子間反応の可視化による解析 230 万円 (新規)

山本清二 (分担者) 萌芽的研究 光テクノロジーを利用した血中微量物質の連続的定量法の開発 120 万円 (新規)

(5) 受託研究または共同研究

共同研究 (浜松ホトニクス (株)) 細胞内蛋白と遺伝子分布の光イメージングによる解析
共同研究費 170 万円

共同研究 ((株) メディカル・アプライアンス) 微弱電磁波の生体効果の研究
共同研究費 92 万円

(6) 奨学寄附金その他 (民間より)

光量子医学研究助成 50 万円

光量子医学研究助成 48 万円

6 特定研究などの大型プロジェクトの代表, 総括

1. 寺川 進 (代表者) 地域連携推進研究費 平成 11 年度～13 年度 1 分子測定法による生体機能の解析 総額 6,400 万円

7 学会活動

	平成 13 年度
(1) 特別講演・招待講演回数	5 件
(2) 国際・国内シンポジウム発表数	7 件
(3) 学会座長回数	2 件
(4) 学会開催回数	1 件

(5) 学会役員等回数	3件
-------------	----

(1) 学会における特別講演・招待講演

1. Terakawa S, Tsuboi T, Sakurai T, Yamamoto S : Evanescent field microscopy with ultra high NA lenses. Asian SPIE Congress. 2001.11.25-30, Singapore (Invited Talk)
2. 寺川 進 : 光量子医学研究におけるイメージング科学. 第11回 国際光線力学学会日本支部大会 (JCIPA) 教育講演. 浜松, 2001.5.19
3. 山本清二 : 脳梗塞におけるフリーラジカルの二面性. 第1回浜松脳神経障害とフリーラジカル研究会. 浜松, 2001.6.21
4. 山本清二 : 神経細胞死のマイクロイメージング解析, 第10回浜松医科大学メディカルホトニクス・コース 講演会. 浜松, 2001.8.31
5. Yoshida TO, Sakurai T, Kohno E, Hirano T, Terakawa S : Image analysis of photodynamic effects on HeLa cells. 12th International YAG Laser Symposium, Beijing International Congress on Laser Surgery and Medicine. Topics 8. Photodynamic Therapy and Tumors. 2001.10.26-29, Beijing (Invited Talk)

(2) 国際・国内シンポジウム発表

1. 櫻井孝司, 寺川 進 : ケイジド神経伝達物質の局所レーザー光分解による神経細胞機能解析. 第54回日本細胞生物学会大会. 岐阜, 2001.5.29-6.1
2. 櫻井孝司, 寺川 進 : レーザーフォトリシス顕微鏡を用いた単一海馬神経細胞の Ca 応答の高速イメージング. ランチョンセミナー. 第24回日本神経科学・第44回日本神経化学合同大会. 京都, 2001.9.26-28
3. 坪井貴司, Rutter GA, 寺川 進 : インスリン顆粒の開口放出における顆粒膜と顆粒内物質の全反射顕微鏡による解析 第74回日本生化学会大会 シンポジウム. 京都, 2001.10.26
4. 坪井貴司, 山本清二, 寺川 進 : DNA1 分子イメージング -細胞病態解明へ向けて- 第10回日本バイオイメージング学会. 東京, 2001.10.10-12
5. 寺川 進 : 対物レンズ照射式エバネッセンス顕微鏡法の応用. 生理学研究所シンポジウム「神経科学の新しい解析法とその応用」. 岡崎, 2001.11.1-3
6. 寺川 進 : TIRF 顕微鏡による DNA と生細胞の観察 第54回日本細胞生物学会 ランチョン・シンポジウム. 岐阜, 2001.5.31
7. 山本清二, 坪井貴司, 若園佳彦, 櫻井孝司, 寺川 進 : 急性興奮性神経細胞死の核 DNA 断片化の原因となるイノシトール三リン酸. 第13回神経損傷の基礎シンポジウム. 東京, 2001.12.1

(3) 座長をした学会名

寺川 進 第79回日本生理学会 (広島)

寺川 進 第10回浜松医科大学メディカルホトニクス講演会

(4) 主催する学会名

寺川 進 第10回浜松医科大学メディカルホトニクス・コース

(5) 役職についている学会名とその役割

寺川 進 日本生理学会 評議員

寺川 進 日本バイオイメーキング学会 理事

山本清二 日本脳神経外科学会 評議員

8 学術雑誌の編集への貢献

	平成13年度
学術雑誌編集数	0件

9 共同研究の実施状況

	平成13年度
(1) 国際共同研究	6件
(2) 国内共同研究	1件
(3) 学内共同研究	7件

(1) 国際共同研究

1. Dr. Andreas Jeromin : Samuel Runenfeld research Institute, Mount Sinai Hospital, University of Toronto, Toronto, Canada. "Molecular mechanism of exocytosis and endocytosis studied by GFP and its analogues."
2. Dr. Bethe A. Scalatter : Department of Physics, Lewis & Clark College, Portland, OR. USA. "Localization of tPA in neuronal cells."
3. Dr. Guy Rutter : Department of Biochemistry, University of Bristol, Bristol, UK. "Application of TIRFM on protein dynamics in the cell membrane."
4. Dr. Michael Duchen : Department of Physiology, University College London, London, UK. "Video microscopic study of the cell death in hippocampal neurons."
5. Dr. Michael Trendelenburg and Dr. Helmut Troester : Structural Analysis Group, German Cancer Research Center, Heidelberg, Germany. "Metal binding to DNA in necrotic neurons studied by electron microscopy."
6. Dr. Ehud Isacoff : Department of Cell and Molecular Biology, University of California, Berkeley, USA. "Structural rearrangements in single ion channels detected optically in living cells."

(2) 国内共同研究

1. 井端啓二, 福田光則 (理化学研究所) 「GFP アナログによる Synaptotagmin-IV の細胞内動態観察」

(3) 学内共同研究

1. 松本佑直, 梅村和夫 (薬理学)「ナトリウム-プロトン交換体阻害薬の神経細胞死に対する抑制効果」
2. 浦野哲盟 (第二生理学), 梅村和夫 (薬理学)「tPA の神経細胞死に果たす役割の検討」
3. 土井松幸, 佐藤重仁 (麻醉蘇生学)「光テクノロジーを利用した血中微量物質の連続的定量法の開発」
4. 中島芳樹, 佐藤重仁 (麻醉蘇生学)「Intravital videomicroscopy による腸微小循環の検討」
5. 小出昌代, 難波宏樹 (脳神経外科学)「脳血管内皮細胞の拡張性因子に及ぼすニコチンの影響 - DAF による検討」
6. 永房鉄之, 長野 昭 (整形外科学)「破骨細胞の骨吸収能解析」
7. 酒井丈夫, 星野知之 (耳鼻咽喉科)「K 脱分極とコルチ器の機械的変形」

10 産学共同研究

	平成 13 年度
産学共同研究	2 件

1. 共同研究 (浜松ホトニクス (株)) 細胞内蛋白と遺伝子分布の光イメージングによる解析
2. 共同研究 ((株) メディカル・アプライアンス) 微弱電磁波の生体効果の研究

11 受賞 (学会賞等)

12 研究プロジェクト及びこの期間中の研究成果概要

「エバネッセンス顕微鏡による細胞膜タンパクの動態解析」のテーマの下に, 学内研究プロジェクトを進めた。また, 文部科学省研究補助金による地域連携研究「1 分子測定法による生体機能の解析」の最終年 (第 3 年目) の研究をおこなった。これらの研究と研究室で従来から継続している研究の内容を項目別に下記に記す。

1. ダイナミンの細胞膜上活動の可視化

ダイナミン I と GFP の融合タンパクを PC12 細胞に発現させ, 細胞膜上の動態を, 細胞膜の蛍光を選択的観察できるエバネッセンス (全反射蛍光) 顕微鏡によって調べた。ダイナミンは天候刺激直後 0.4 ミクロンほどの大きさの多数の点状の輝点として細胞膜に現れた。それらが初めに出現した位置の 30% は, 開口放出の起きた位置と一致したが, 残りは一致しなかった。ダイナミンは出現後ゆっくりとしたブラウン運動を示したり, 点が集まってリボン状になったり環状になったりして, 数ミクロンの距離を数分で移動し, 細胞膜の広い領域を走査するような運動を示し, 2, 3 分後に消失した。ミュータント型のダイナミンでは, 10 分以上消失せず, エンドサイトーシスの欠如と相関していた。この観察から, ダイナミンは細胞膜上を移動して広い範囲に広がっている呑み込み顆粒を掃除するように細胞膜から切り取るものと考えられた。

2. 高感度・高分解能画像での高速度撮影装置の開発

1 分子に由来する蛍光像のような微小な微弱発光体の高速の化学状態の変化を記録するために、このカメラによって、テトラメチルロダミンや Rhod-2 の 1 分子蛍光像を 5 ms のフレームレートで捉えることができた。Rhod-2 の 1 分子蛍光像は Ca イオン濃度に応じて蛍光強度を大きく変えるのが観察できた。また、海馬神経細胞に Rhod-2 を負荷して、エバネッセンス顕微鏡下にこれをグルタミン酸刺激したところ、細胞膜近傍に発生する高速の Ca 反応に空間的なむらがあるのが観察できた。局所的な Ca チャネルの密度の違いを反映するものと考えられた。

3. エバネッセンス顕微鏡による細胞内信号の可視化

PK-C や IP₃ のような細胞内信号系をなす分子の活性化は、細胞の活動を知るのに重要な物である。PK-C を GFP 化したもの、また、PH ドメインの GFP 化したものを用い、これらを発現させた細胞 (HeLa 細胞) をエバネッセンス顕微鏡下に観察した。フォルボールエステルやアゴニスト刺激によって、PK-C は細胞膜へ転移し、PH ドメインは細胞膜から消失するのが観察できた。反応は一様なものではなく、細胞により、個性の強いパターンとなることが分かった。

4. DNA の 1 分子イメージングによる興奮性神経細胞死における核 DNA 断片化の評価

興奮性神経毒であるグルタミン酸により微分干渉顕微鏡を用いて核内微細構造の変化が観察でき、変化した神経細胞を採取しその核 DNA を抽出しエバネッセンス顕微鏡下に蛍光染色して観察した。その結果、グルタミン酸により核内微細構造が変化した神経細胞の DNA は様々な長さの断片として観察され、急性壊死の初期過程でランダムな DNA 断片化が起こっていることを明らかにした。

5. ミトコンドリア障害による細胞死のメカニズムの解析

興奮性神経細胞死の過程でミトコンドリア機能も障害されるが、ミトコンドリア毒による一次的なミトコンドリア障害でも細胞内のイノシトール三リン酸 (IP₃) の遊離反応を引き起こし急性神経細胞死にいたることを明らかにした。グルタミン酸による興奮性神経細胞死の過程で IP₃ が細胞死への主たる信号系であることを我々は前年度に明らかにしたが、さらにミトコンドリア障害そのものもこの信号系を介して神経細胞死助長することが判った。また、Hela 細胞でもミトコンドリア毒により IP₃ 信号系により急性細胞死に至ることを明らかにした。

6. ミトコンドリア機能障害の新規 PET トレーサーによる評価

培養海馬神経細胞にミトコンドリア毒を投与し ¹¹C-Pyruvate の培養細胞への取り込みをイメージングプレートでイメージ化し評価した。ミトコンドリア膜電位の傷害がおこるミトコンドリア毒の投与では、¹¹C-Pyruvate の取り込みが低下していることを明らかにした。すなわち、¹¹C-Pyruvate によりグルコースよりさらに下流のレベルでミトコンドリアのエネルギー産生能を評価できる可能性を示した。

7. ビデオ強化微分干渉顕微鏡法による微細な細胞活動の観察

VEC-DIC 顕微鏡法により、嗅覚細胞の線毛運動と破骨細胞の微細活動を調べた。細胞膜のディタージェント処理をした嗅覚細胞では、線毛運動は、Ca イオン濃度、および、溶液浸透圧に依存しなかったが、正常な細胞膜を持つ細胞では、溶液浸透圧の30%増加によって著明に運動が抑えられることが分かった。破骨細胞では、細胞辺縁の1回の波状活動に伴って1個の呑み込み顆粒が形成される過程が初めて観察できた。

13 この期間中の特筆すべき業績、新技術の開発

1. 微弱光での高速イメージングを目的とする2次元検出器を2つの方法で実現した。新しく登場した高量子効率を持つカメラの改造を行い、空間分解能を犠牲にして時間分解能を上げることがを試み、実際に5msのフレームレートで動作するCCDカメラを実現した。また、マルチアノード型光電子像倍管を用い64チャンネルの微弱光検出ができるような信号処理装置を開発した(企業との共同開発)。これらによって、分子1個に由来する蛍光を5msの時間分解能で観察することができ、また、細胞の生理反応を同じ分解能で観察することが可能になった。

14 研究の独創性、国際性、継続性、応用性

1. 我々の超高開口数対物レンズの開発により、エバネセンス(全反射蛍光)顕微鏡法は、誰でも容易に使える形に進化し実用化した。昨年に増して、世界的にもこれを使用した研究発表が増加しており、国内での使用例も増えている。本学内での研究にも本法を使用するものが増えており、異なる代表者による5つ以上のグループが文部科学省等の外部からの研究補助金を受けた研究を進めている。我々の研究室への海外からの共同研究の申し込みもある。実際、この顕微鏡を使用して、細胞内の機能性タンパクの活動の解析がこれまでのどの方法よりも詳細にそして動的にできることが色々なタンパク例で分かってきている。機能性タンパクの種類は多く、この研究法の継続性は高い。また、タンパクだけでなくDNAの観察にも使える。我々自身も、神経細胞死の反応をDNAレベルで解析するのに用いることができたように、その応用性は広い。

2. 神経細胞死の研究には多くのグループが携わっているが、細胞の微細な形態を動的に解析することによりこれを研究するグループは他にないという点で、我々の研究法とその結果は独特である。特に興奮性神経細胞死については、細胞内の反応が複雑であり、多くの因子が絡んでいるので、その解析は進みにくい。我々は、核内CaがIP3によって遊離される機構が直接的に関与していることを示した点で、国際的にも価値の高い研究結果を得たと考えている。この研究テーマに対する光学的マイクロイメージングの手法の継続性と応用性には広いものがある。

15 新聞、雑誌等による報道