

## 【終身会員のご紹介】

### 研究の歩みを振りかえって

金沢大学名誉教授  
多久和 陽



2020年3月末に金沢大学医薬保健研究域医学系血管分子生理学(旧第一生理学)教授を定年退職しました。この度、生理学会終身会員として寄稿のご依頼をいただきましたので、私の40年に亘る研究の歩みをご紹介させていただきます。

私は東京大学医学部卒業(1979年)後、2年間の臨床研修を経て東京大学第四内科に入局し、尾形悦郎教授(当時)のもとで内分泌学を勉強しました。昼は診療、夜は研究の日々の中で、生体内情報伝達への飽くなき興味が膨らみ、幸運にも1985年1月から米国Yale大学のHoward Rasmussen教授のもとに留学する機会を得、本格的な研究生活がスタートしました。Rasmussen教授は、1960-70年代には、副甲状腺ホルモンの精製とこれを用いた作用機序の解明(腎におけるvitamin D<sub>3</sub>活性化)、活性型ビタミンD<sub>3</sub>の作用機序(小腸上皮細胞の核クロマチン分画に局在(実際転写因子を活性化)してCa<sup>2+</sup>・P吸収を促進する)等々、細胞外液のcalcium homeostasisのメカニズム解明に多大な貢献をしましたが、同時に、細胞内Ca<sup>2+</sup>がcAMPとならぶホルモン作用の細胞内セカンド・メッセンジャーであることをいち早く提唱し(Science **170**, 404-412, 1970)、私が研究室に加わった当時は細胞内のcalcium messenger systemが研究のメインテーマとなっていました。私は当時明らかでなかった平滑筋収縮のメカニズムの解明に取り組み、平滑筋収縮を惹起するアゴニスト刺激がホスホリパーゼCを活性化してイノシトール三リン酸(IP<sub>3</sub>)とジアシルグリセロールの2つのセカンドメッセンジャーを産生すること(J Biol

Chem), また、後にノーベル賞受賞となる下村脩先生のaequorinを用いて、細胞内外からのCa<sup>2+</sup>動員により二相性の細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度上昇を引き起こすこと(Am J Physiol; J Clin Invest; J Biol Chem), さらにCa<sup>2+</sup>およびCキナーゼ依存的なタンパクリン酸化と共役すること(FASEB J)を示し、平滑筋収縮の細胞内情報伝達の大枠を明らかにすることが出来ました。

1987年9月、筑波大学からお誘いを受けて帰国すると、ちょうど薬理学の真崎知生教授グループが新規血管作動ペプチドのエンドセリンを発見した直後のタイミングで、私は真崎教授グループの方々とさかんに共同研究をさせていただき、エンドセリンがまさに前述した血管収縮性アゴニストとしての作用機序を有することを見出し(J Clin Invest; J Biol Chem; PNAS)、当時真崎先生の大学院生だった桜井武現筑波大教授とともにエンドセリン受容体を同定し(Nature)、エンドセリンの血管外作用を発見する(J Biol Chem; Am J Physiol)などの成果をあげる幸運に恵まれました。

1991年7月、東大医学部に設置された寄附講座脈管病態生理学に招聘され、研究三昧の日々が再開しました。血管を制御する未知の情報伝達系を見出すことを目的に血管平滑筋cDNAライブラリーから新規G蛋白共役型受容体をいくつかクローニングし、当時新規脂質メディエーターとして注目され始めていたスフィンゴシン-1-リン酸(S1P)の受容体(J Biol Chem; Biochem J; BBRC)ならびに新規プリン受容体(P<sub>2</sub>Y<sub>4</sub>)(J Biol Chem)を見出しました。もう一つの大きな成果は、血管

平滑筋収縮に低分子量Gタンパク Rhoが関わっていることの発見です(FEBS Lett; Am J Physiol). すなわち, Rhoはミオシン脱リン酸化酵素を抑制することによりミオシンのリン酸化レベルを上昇させ, この機序により, 細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度をさらに増加させることなく収縮を増強すること(Ca<sup>2+</sup> sensitization)を発見しました. これ以降, S1PとRhoは研究の2つの大きな柱になりました. その他, 機械力によるリン酸化酵素JNK活性化(J Biol Chem), 血管リモデリングにおけるPDGFの関与(Circ Res; Circulation)などを明らかにしました.

1999年1月, 金沢大学医学部生理学第一講座教授に着任しました. 生理活性脂質S1Pの研究では, 3種類の受容体サブタイプS1P<sub>1</sub>, S1P<sub>2</sub>, S1P<sub>3</sub>を同定し, これらの受容体が異なる情報伝達機構を活性化し(Mol Cell Biol), S1P<sub>1</sub>とS1P<sub>3</sub>は三量体Gタンパク質Giを介して化学遊走を惹起するのに対してS1P<sub>2</sub>はG<sub>12</sub>およびRhoを介して化学遊走の抑制(化学反発)をおこすこと(Mol Cell Biol), さらにS1P受容体や合成酵素の遺伝子改変マウスを作出して, S1P<sub>2</sub>受容体の腫瘍血管新生阻害・血行性転移抑制作用(Cancer Res; Cardiovasc Res)・血管内皮障壁防御作用(J Aller Clin Immunol(芝本金沢医大教授(当時)との共同研究)), S1P合成酵素(スフィンゴシンキナーゼ1)のリソソームを介した抗動脈硬化作用(Sci Rep; Cardiovasc Res)などを明らかにしました.

一方, 血管平滑筋Rho研究では, 細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度上昇がRho活性化をひきおこす新機構を見出しました. すなわち, 平滑筋では他の多くの細胞種で見られるG<sub>12</sub>を介する機構の他にCa<sup>2+</sup>によるRho活性化機構が存在することを明らかにしました(Am J Physiol; Circ Res). さらに, このCa<sup>2+</sup>によるRho活性化に, 当時その機能が不明であったホスファチジルイノシトール(PI) 3-キナーゼのII型αサブタイプ(PI3K-C2α)が関与することを発見しました(Biochem J; Mol Pharmacol; JPET). PI3K-C2αの遺伝子改変マウスを作出し, 全身ホモ欠損マウスおよび血管内皮特異的欠損マウスとともに血管形成の障害から胎生致死であること, さらにこの現象はPI3K-C2αがクラスリン

依存性エンドサイトーシスという細胞の基本機能への関与により血管内皮成長因子やS1P<sub>1</sub>のシグナル伝達を担っているためであることを明らかにしました(Nature Med; J Biol Chem; J Physiol Sci). さらに, PI3K-C2αおよびその類縁酵素II型βサブタイプ(PI3K-C2β)の平滑筋特異的コンディショナルKOマウスを作成し, PI3K-C2αとPI3K-C2βの2種のPI3Kは一部機能が重複しており血圧維持(血管収縮)(J Physiol Sci)および分娩(子宮筋収縮)(Endocrinology)に必要であることを明らかにしました. 大学院生のShahidul Islam君が前者の研究で第14回細胞と分子生理/上皮膜グループJPS優秀論文賞を受賞しました. その他, PI3K-C2αとPI3K-C2βは心筋の正常な機能発現に必要であることを教室の安芸翔助教が中心となって見出し, この内容をもとに同君(現東京大学先端研)が第12回入澤宏・彩記念若手研究奨励賞を受賞しました.

研究の歩みからは少し離れますが, 金沢大学では医学類長(=医学部長)・医学系長を務めさせていただき, 医学部の教育改革にも力を注ぎましたが, その一環として医学部生を対象とするMedical Research Training Program(MRTP)を開始し, 多くの医学部生が基礎研究室での研究に参加するようになりました. 私の研究室では, MRTPの学生が血管内皮の膜結合型リガンドであるNotchの切断にPI3K-C2αが関わっていることを発見しました(Sci Rep).

私がこれまで研究に邁進出来たのは, 多くの優秀な大学院生(博士課程22名, 修士課程14名)を含む教室メンバーや国内外の共同研究者に恵まれたお蔭だと思います. 皆さんに改めて感謝の意を表したいと思います. 苦い経験もありましたが, 11名の留学生も全員学位を取得し, 今でも交流が続いています. Rasmussen教授から与えられた恩恵の何分の一かを次の世代に手渡せたとすれば幸いです.

生理学会では理事(中部地区)や金沢大学加藤聖教授(当時)とともに中部地方会開催を務めさせていただきました. 今後も国際ジャーナル associate editorとしての活動などを通じて生理科学

の発展を追い続けたいと思います。



## 【終身会員のご紹介】

### 光学的膜電位多部位同時測定システムの開発

島根大学名誉教授  
廣田 秋彦



光学的膜電位測定法を用いた生理学的研究内容は原著論文に当たっていただくこととし、ここではその研究を可能とした測定システムのハードウェア・ソフトウェア開発について書かせていただくことにします。

大学院生として入学した東京医科歯科大学第二生理学教室は、伝統的に測定機器は自作の方が市販のものより優れた性能のものが作れるという所でした。ハードウェアについてほとんど何の知識も持たなかった私は、そのような環境の下、アナログ回路、デジタル回路双方についてほぼ独学で学習し、測定システム開発の基礎を固めることが出来ました。Yale 大学留学中は、当初は研究時間の大半を Macro Assembler で書かれた Yale 大学独自の BASIC 言語開発環境ソフトの改良とその上で走るソフトの開発に費やし、実験データの解析を traceable な形でコンピュータに徹夜で行わせることに成功しました。その結果、週2回しか出来なかった実験が毎日出来るようになり、留学先の Knox 先生に感謝されました。この過程でソフトの腕を高めることも出来ました。

帰国後、私にとって光学的膜電位測定システムの第五世代となる 1020ch 同時測定システムの開発に着手しました。まず、作製を依頼した 34 行 34 列フォトダイオードアレイで、チップ上の各素子からの出力線の引き回しをトポロジーの応用問題としてソフトで最善解を解き、開口率（チップ

上に占める光感受性を持つ部分の面積比）を 81% にまで高め、システムの SN 比を高めることが出来ました。1993 年に吸光システムとして光学的に 1020 ヶ所の膜電位を、独自の AD 変換方式により時間分解能約 1msec 18 ビット分解能で、同時測定することに成功しました。SN 比は、加算処理を行うこと無く中枢神経系のシナプス後電位が定量解析可能なもので、AC 増幅部が無い為時間経過が秒単位の膜電位変化も形が歪むことなく記録出来、その後市販された測定システムに今日でもこれらの性能を凌駕するものは無いと自負しております。

島根大学赴任後は、ダイクロイックミラーを無くす等主に光学系を改良し、蛍光システムにおいても加算処理を行うこと無く、吸光システム同様の高い SN 比を得ることに成功しました。連続記録時間も開発当初は 2 秒でしたが、データをハードディスクにリアルタイムで書き込むことに成功し、事実上青天井にしました。現在では連続測定中に数分前の測定結果を、呼吸依存性に interval が変動する心拍動に由来する artefact を自動で取り除いた後、別のコンピュータ画面に表示し、連続測定を続けるべきかの判断を可能としています。

現在この測定システム、後任教授の専門の違いから使われることなく倉庫で眠っており、年単位の長期貸し出しも可能な状況になっているようです。この装置を使って実験してみたい学会の方

は、私までお問い合わせ下さい。これにより、少しでも新しい生理学的知見の発見に繋がれば、長年お世話になった日本生理学会への恩返しになる気もいたします。

最後に、膜電位の光学測定法のPioneersである（日生誌 85 巻第 1 号の拙著：Mourning も御参照下さい）Dr. Amiram Grinvald, 私の恩師・神野耕太郎先生，さらにこの測定法の創始者 Dr. Lawrence B. Cohen がこの 2 年程の間に相次いで逝去されました。この場をお借りして，3 人のご冥福をお祈りさせていただきます。

#### 【略歴】

- 1978 年 山口大学医学部卒業
- 1982 年 東京医科歯科大学大学院博士課程修了
- 1982 年 医学博士
- 1982 年 東京医科歯科大学医学部助手
- 1986 年 10 月から 2 年間  
米国 Yale 大学 W. Knox Chandler 研究室に留学
- 1988 年 東京医科歯科大学医学部講師
- 1989 年 同上助教授
- 1995 年 島根医科大学教授
- 2006 年 島根大学医学部教授
- 2017 年 島根大学定年退職
- 2017 年 島根大学名誉教授