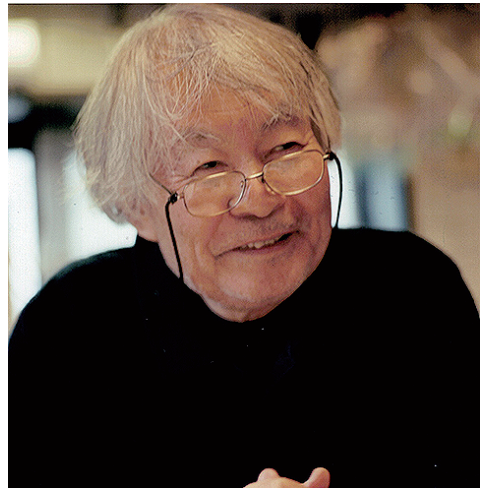


恩師 神野耕太郎先生を偲んで

島根大学名誉教授
廣田 秋彦

東京医科歯科大学名誉教授、^{かみのこうたろう}神野耕太郎先生は、2022年8月8日に逝去されました。東京市ヶ谷に生まれた神野先生は幼少期に鹿児島県に引っ越され、加世田高校卒業まで鹿児島で育ちました。曲がったことは大嫌い、権威にへいこらするのはお嫌いだったのは、鹿児島人気質が備わったことが大きいように思われます。

神野先生は、京都大学医学部を卒業後、井上章先生の門下に入られ、主としてシナプトゾームの体積変化を光散乱で捉える測定方法により、シナプトゾーム膜の性質についての研究に従事しました。しかし、研究を進めるうちに、自分が生涯をかけて研究したいのは、一つの細胞の膜の諸処のメカニズムを解明することではなく、多細胞体のシステムティックな繋がりを調べることなのではないか、という思いが強くなり、悩み始めていらっしやったようです。そのような時、蛍光色素で染色したイカの巨大軸索の膜電位を電位固定法で変化させた時に見られる光学シグナルの由来を巡る論争が起こりました。最終的に、光学シグナルは膜興奮に関連した膜構造に由来するものではなく、膜電位変化に由来する二次的なものにすぎないことがL. B. Cohen (Yale 大学、以下 Larry と略す) らによって証明されました。Larry の卓越したところは、「それなら光で膜電位が測れるのではないか」、さらに「非常に多くの部位から膜電位の同時測定が可能なのではないか」と発想を転換したことで、神野先生はこれに感銘を受け、直接 Larry と交渉し、1976年8月にLarryの元に留学されました。神野先生が遺された「教室の歩み」



と題した教室の歴史を記録したノートには、

1976年(42歳)、7月31日 Yale, Woods Hole へ、これが「新しい人生」のスタートとなった、と記載してあるとのことでした。

留学期間は短期間ではあったものの、この時期はまさにLarry研で、膜電位の光学的測定法の最終段階の研究が行われ、測定法が確立された時期でした。共同研究に携わったのがB. M. Salzberg, A. Grinvald, W. N. Rossという超豪華メンバーであったことも相まって、生理学史上記念すべき研究が行われたと云っても決して過言ではないでしょう。Larryの採った研究方法は、市販されていたほぼ全て、2000種類以上の色素を試し、網羅的に良い膜電位感受性色素を探索していくという、神野先生の弁によれば「イギリス経験論的手法」でした。それは、まずメカニズムを解明し、

それに基づいて優れた色素を探索して行くような、それまで神野先生が叩き込まれてきた考え方とは180度異なるもので、「新鮮かつ感銘を受けた研究方法であった」とよくお話しになられていたのが印象に残っています。この結果、高い膜電位感受性を持つ色素として Merocyanine 540 が選ばれました。続いて、この色素の光学的毒性を弱め、より膜電位感受性を高めることなどを目的として、新しい色素を試行錯誤的にデザインして合成し、イカの巨大軸索神経を用いてテストする実験が行われました。神野先生は Carnegie Mellon 大学に行かれて、有機化学が専門の A. S. Waggoner の指導の下、今日 Merocyanine 系に分類されるいくつかの色素を合成されています。この姿勢は帰国後も変わらず、1981 年の Nature 誌発表以降我々が用いてきた膜電位感受性色素 NK2761 は、神野先生がデザインされたものです。

神野先生は1977年秋、東京医科歯科大学に第二生理学講座助教授として帰国されました。科学研究費は大型顕微鏡購入で使い果たし、その他は教室で使っていないものをかき集めて光学測定装置を組み立てていきました。第一生理学講座の古河太郎教授がデジタル式のオシロスコープを貸して下さったお陰で、リアルタイムでの測定結果の観察が可能となり、1978年初秋から膜電位の光学測定の実験が始まりました。神野先生は、測定対象として発生初期鶏胚の心臓を選ばれましたが、それは、「ほぼ確立した成果の追試のような実験をして、光でやってもやはりそうでしたか、みたいなことはしたくない」という信念に沿ったものでした。この発生段階の心筋細胞は極めて微小かつ脆弱であるため、微小電極が刺入出来ないことが知られており、正に「光で実験して初めて新しいことがわかる」テーマでした。テーマを決めた背景にはもう一つ、幼少時に生卵の黄身についた赤い点が動いているのに気づき、もしかしたら心臓ではないかと思った体験があるようです。後に、アリストテレスが同じものを見て同じように考えたことを知り、感動したとのことでした。発生初期鶏胚心臓の膜電位変化を光学的に捉える実験を続

けて約4ヶ月後の1978年12月20日、世界で初めて、初期鶏胚心臓から自発性活動電位を光学的に記録することに成功しました。この成功は splanchnopleure (心臓原基などを包む薄い膜) に穴を開け、染色液が直接心筋細胞に触れるようにして染色する方法に辿りついた結果ですが、成功の背景には今になって思うと、Merocyanine 系の膜電位感受性色素を用いたこと、掃引速度が遅かった為記録系により周波数の高い成分が大きくカットされたことなどの幸運も重なったと思われます。運も実力の内、とはまさにこのことのような気がします。神野先生は、周期の早い oscillation のような膜電位変化が見られるのではないかとお考えのようでしたが、それに固執せず、1掃引10秒での記録も確かめた結果、室温では7-8秒に1回しか起こらない心筋の自発興奮を捕まえることが出来たことも特筆すべきことです。この画期的なデータはわずか1個のフォトダイオードによる記録ですが、神野先生は常々「膜電位の光学的測定」というと、膜電位のイメージングと同意のように考えている研究者が多いように思えるが、微小電極が刺入出来ない系で、ディテクター1個の光学的膜電位測定でも新しいことを見つけることが出来ることにも、もっと眼を向けるべきだ」とおっしゃっていました。

その日以降、研究は飛躍的に進み、1979年の Jpn. J. Physiol. を皮切りに、それから3年の間に J. Physiol. 3 報と Nature に paper が accept され、生理学と発生学を結びつけた、「機能発生学」(“*functiogenesis*”)と名付けた新しい研究領域を切り拓きました。その後、多素子フォトダイオードマトリクスアレイを用いた測定システムの開発も進め、128ヶ所からの同時測定が可能となり、空間分解能のより高い測定が出来るようになったことも相まって、鶏胚やラット胎仔でそれまで未解決であった、発生初期段階における「心電活動の個体発生的起源」の問題を次々に解決されました。この時期の主たる成果として、未融合の心臓原基にリズムカルな電氣的自発興奮が収縮に先立って発現すること、さらに、心臓全体のリズムを支配する「ペースメーカー領域」が機能的に形成され

て行く初期過程では、発生段階の進行に伴い、場所による内在性のリズム勾配が増加し、個々の内在性のリズムの「ゆらぎ」が小さくなって行くことが重要な因子となっていることを示したことが挙げられます。一方、心筋の電氣的なリズム形成に少し遅れて発生する心収縮との関連については、色素による吸光シグナルと、収縮由来の光散乱シグナルを巧みに組み合わせて測定し、見事な成果を引き出されています。これらの発生初期胚の心臓に関する研究成果は最終的に、57歳の時(1991年)に、執筆依頼が無いと執筆出来ない生理学で最も権威ある国際的総説誌、Physiological Reviews 誌への総説発表により結実し、国際的評価を定着させました。

1987年からは、個体発生に伴う循環中枢、呼吸中枢の機能構築の解析という視点から、鶏胚やラット胎仔の脳幹・延髄に向かって研究を展開しました。まず、鶏胚の迷走神経-脳幹標本を使って、迷走神経を電気刺激してその膜電位応答を光学測定することに成功しました。それは、膜電位の光学的測定法を、国内で初めて脳機能の解析に適用した研究でした。この研究を進める中で、まず、活動電位および electrotonic potential の発現をマッピングし、活動電位発生能発現の空間的パターンとその発達段階にともなう形成過程を明らかにしました。さらに、幼若な時期での中枢神経系のシナプス活動を世界で初めて光学的に記録することに成功しました。

この時期のシナプス活動は非常に容易に疲労し、回復に長時間待つ必要があることが明らかになり、測定部位を変えて測定して行くのも困難な為、より多くの部位から同時記録するシステムの開発が必要になりました。システムの開発を私(廣田)が中心になって始めるにあたって、神野先生は私に、「同時記録可能な素子数は、S/N比が十分大きく、これまでと同様に、加算処理することなく定量解析が可能な範囲内に留めるように」という要望だけされました。検討の結果、時間分解能1ミリ秒では1020ヶ所がこの条件を満たす最大の素子数との結論になり、まず1020素子フォトダ

イオードマトリクスアレイを浜松ホトニクスに依頼して作製することからシステムの開発が始まりました。画素から電流を素子の外に取り出す配線の工夫で、光を受容出来る部分の素子上の面積比(開口数)を同社市販品の256素子と同じにまで高めることに成功し、神野先生に、「配線をトポロジーの問題としてコンピュータで解いた結果です」と報告した処、先生はそのソフトウェアのアルゴリズムに興味を持たれていました。

1993年から1020ヶ所同時計測システムを使っでの測定が始まりました。その結果、シナプス活動が非常に長い時間経過を持つことやそのEPSP関連の受容体やmediatorの詳細な解析に加え、新たに発見した迷走神経の電気刺激によって脱分極が脳から脊髄にいたる中枢神経系全体にwave状に広がる現象(これを“depolarization wave”と名づけた)についても詳細な解析が進みました。さらに、測定システムを改良し、長時間連続記録が可能となったことで、depolarization waveが自発性にも起こることがわかりました。

これらの研究は、形態形成を中心としたものであったこれまでの発生神経生物学に対し、脳神経系のダイナミックな機能形成を解明しようとする「発生脳神経生理学」と呼ぶべきユニークな研究であり、その成果はJ. Neurosci. や J. Physiol. などに発表され、また、Prog. Neurobiol. や光学計測の英文総説集にもまとめられています。

一方、神野先生の研究は基礎的研究にとどまらず、侵襲性がほとんど無い「内因性光学イメージング法」もいち早く導入し、脳神経外科のチームと共同で、脳外科手術中の患者脳から神経活動を光学的にモニタリングすることにも成功し、光学計測の臨床応用の可能性も示されました。

以上のように、神野先生の研究は、自らの手で「光学的計測方法」を開発・改良しながらそれを駆使して、それまで誰もができなかった個体発生における心臓の機能発生・機能形成の過程を明らかにしたことに加え、神経科学領域において新しく「発生脳神経生理学」というジャンルを切り拓いたという点でもユニークであり、独創性の極め

て高いものであると云えます。さらに、これらは、生体（生理）機能発現における分子・細胞レベルとシステムレベルをつなぐアプローチ/ストラテジーとしても大きな意義をもっており、従来の生理学に新しいパラダイムを築いたものと云えます。

2000年2月に退職記念を兼ねて開催された「生理機能の光学的計測」の国際シンポジウム（International Conference on Optical Approaches to Physiological Functions）には、海外からも、1976年頃にLarry 研と一緒に光学的膜電位測定法を立ち上げた仲間達に加え、W. K. Chandler (Yale 大), R. L. DeHaan (Emory 大), S. W. Zhang (Australia 国立大), A. L. Obaid (Pennsylvania 大), M. Cattarelli (CNRS) が駆けつけてくださり、光学的膜電位測定法を使った研究を中心に講演をして下さいました。

神野先生が切り拓かれた領域の研究は、若い世代のメンバーに引き継がれて大きく展開されつつあります。計測システムも光学系の改良等により、Adult ラット脳からの蛍光測定においても、単一掃引で定量解析が可能な S/N 比を持つ記録が出来、連続測定中に、心拍動に由来する artefact を自動で取り除いた数分前の測定結果を表示することが可能な装置へ改良されています。

心から、先生のご冥福をお祈りいたします。

謝辞 本追悼文を書くにあたり、当時の情報提供や文章の書き方についての相談に乗っていただきました、私と同期（1978年）に大学院入学の藤井志郎先生、酒井哲郎先生、1983年同入学の小室仁先生、1989年同入学の佐藤容子先生、1991年同入学の佐藤勝重先生に感謝の意を表します。



2000年2月退職記念シンポジウムにて
左から、Drs. A. Grinvald, L. B. Cohen, K. Kamino, B. M. Salzberg, W. N. Ross

神野耕太郎先生 ご略歴

1934年6月30日 東京市ヶ谷に生まれる
1966年3月 京都大学医学部卒業
1967年4月 京都大学大学院博士課程
（医学研究科生理学専攻）入学
井上章先生の門下生となる
1974年1月 医学博士（京都大学）取得
1976年8月～1977年9月 米国 Yale 大学 Lawrence B. Cohen 研究室に留学
1977年10月 東京医科歯科大学医学部助教授（第二生理学講座・渡辺昭教授）
1982年3月 東京医科歯科大学医学部教授（第二生理学講座）
1997年3月 日本生理学会入澤賞受賞
2000年3月 東京医科歯科大学定年退職
2000年4月 東京医科歯科大学名誉教授
2022年8月8日 逝去
2022年8月 瑞宝小綬章 受章