

## 5. 研究の成果と評価

平成6年度に行った実験では、結晶粒径が $0.5\ \mu\text{m}$ 以下のアパタイト粉末とコラーゲンおよびヒアルロン酸を含有する組成物粉体に、50vol%の水分を含有せしめ、 $40^\circ\text{C}$ の温度下で、200MPaの圧力を8時間加えることにより、成型体を形成することに成功した。また6年度に完成した天然型の二種類の人工骨（コラーゲン、ヒアルロン酸との複合体）を成犬の筋肉内に移植試験を行って組織所見を観察した。成犬の筋肉内への移植実験で、コラーゲンを含有しない、高圧低温緻密焼結アパタイト（ $300^\circ\text{C}$ 、200MPa）では、従来のアパタイト焼結体では全く認められなかった白血球の造血巣が移植部周囲に認められ、本研究開発で得られた天然型人工骨の有用性が強く示された。また、本研究が一部を構成するヒドロキシアパタイトチャンバーを用いた「人工骨髄の開発に関する研究」（平成3～5年度文部省科研費試験研究(B)(1)03557107）を日本人工臓器学会において発表し、オリジナル賞第一位を受賞した（1994年10月、東京）。また the 8th CIMETEC World Ceramics Congress（1994年6月-7月、フィレンツェ）“Successful Pressure Sintering of Hydroxyapatite-Collagen Composite”および日本口腔外科学会総会（1994年4月、大分）において「常温加圧法による collagen-apatite 天然型人工歯根の開発」と題して発表し、出席者一同に衝撃を与えた。

平成6年度に計画した天然型人工骨の高圧低温焼結の法開発はほぼ達成され、成犬への移植実験の評価も完了した。低温焼結されたコラーゲン-アパタイト複合体は、従来のアパタイトのように破壊試験で破断することなく、円柱が太く変形するのみであり、またカミソリで切ることもできるものであった。本複合体は、今日緻密体が完成しており、生体内で実用とするための多孔体化のための新たな技術が必要とされる。現在、機械的手法により多孔化を試み、これを成犬に移植する実験を行った。また、実験進化学として内骨格に軟骨のみしか持たないサメとメクラウナギに本研究で開発した天然型のアパタイトを移植して内骨格の進化と骨髄造血の発生を観察した。これらに成功した結果、進化の原動力が生体力学であることが検証されつつあり、生物学上の意味は極めて大であった。

平成7年度には、6年度で得られた成果（第32回日本人工臓器学会、東京 オリジナル賞1位受賞）を踏まえて、コラーゲンおよびヒアルロン酸を複合した高圧低温ヒドロキシアパタイト焼結体を、従来型の $1200^\circ\text{C}$ で焼結したアパタイトを対照として、成犬の筋肉内に移植し、3か月および6か月经過時にこれらを摘出した。標本作製した後に、組織反応の観察を行った結果、有機物複合アパタイトと、従来型の無機質アパタイトの周囲に著明な白血球誘導が認められ、筋肉内において消化管の一部のごとくの細胞配列状態と細胞の分化誘導現象が見られた。この所見から、「細胞レベルの消化」という概念が導入され

た。一方、アパタイトは脊椎動物を定義する唯一の物質であり、この宗族の進化の各ステージを画然と分け隔てる臓器もまた、アパタイトがその構成の主体を成す器官（骨髄造血臓器と釘植歯）である。この観点から実験進化学として、このコラーゲン・アパタイト複合体を、進化の各ステージを代表する動物（哺乳類－イヌ、鳥類－ニワトリ、両棲類－アフリカツメガエル、軟骨魚類－サメ）の筋肉内に移植した。1, 2, 3, 6か月経過時に摘出し、標本を作製してこれらの比較観察を行った。これらの結果を、従来型のアパタイトの筋肉内における組織反応と比較した結果、すべての例で著明な造血巣の誘導が観察された。

この事実は、進化が重力など力学現象を主導として起こっていることを示すもので、人工の生体材料を用いた基礎的生命科学研究において、画期的成果が得られた。

本研究は、分担者の広田のヒドロキシアパタイトの高圧低温焼結法の開発に基礎を置いている。これを応用して、アパタイトと牛由来のコラーゲンおよびヒアルロン酸(製品)とを低温で焼結する方法を開発することを目的として、世界に先駆けてこれに成功した(1994)。

これは水の存在下で 40°C 200MP で sintering に成功したもので、化石の生成と同様の機序と考えられる。このものは剃刀で切ることができ、円柱状の緻密体は圧縮にて太くなり、免荷で元に戻る天然型の弾力のある人工骨である。この人工骨を科研費基盤研究(A)(1)(07309003)「人工骨髄の開発と実用化」研究に応用し、系統発生学における脊椎動物の謎と言われる骨髄造血成立の解明の研究を行った。哺乳類においても胎児期は、造血は原始脊椎動物と同様に腸管に附属する肝臓、脾臓で行われる。そこでこの新型の人工骨を成犬に埋入し組織反応の観察を行った。さらにこの人工骨を、水棲の原始脊椎動物の軟骨魚類のサメと無顎類のヌタウナギに移植した。その結果、成犬では消化管粘膜のごとき著明な細胞レベルの消化の像が観察された。一方サメとヌタウナギでは、共に内骨格に骨髄組織を持たないにもかかわらず、類骨と造血巣の著明な形成が観察され、消化管粘膜に似た細胞レベルの消化を示す組織像は観察されなかった。この事実は重大な組織免疫学上の発見につながるもので、原始脊椎動物は、すべて哺乳類の胎児蛋白に相当する組織で構成されていることを意味するものである。つまり主要組織適合抗原を持ってないのである。従ってコラーゲンの生物素材としては牛ではなく軟骨魚類と無顎類を用いるのが、抗原性のない人工骨作製の鍵となる。現在コラーゲンをサメから抽出する方法を研究中である。牛由来のコラーゲンは、今日世界中で用いられているが、蛋白質プリオンが病原体と考えられるクロイツェフェルト・ヤコブ病の対策が無い現在、早晩法的に使用できなくなると考えられるためである。本生体材料の研究で世界に誇るこのことのできる成果が得られた。