

3. 研究の方法

【実験の実際】

動物実験を、東京大学医学部動物センターにて行った。流動電位の装置と計測を、科学技術庁にて行った。病理学的観察は、東京大学医学部病理学教室にて行った。骨髓造血チャンバーの開発と作製は科技庁の設備を用いて行った。また動脈接続チャンバーの試作を科技庁にて行った。病理標本の作製は、科研費試験研究(B)(1)03557107にて購入したライツ社製のものを使用した。

本研究は、間葉系細胞から造血機能を有する高次多能細胞を人工的に *in vivo* ないし *in vitro* で誘導し、これを臨床応用することにあるので、本研究目的の達成のため研究計画を次の3系統に分けた。すべての研究統括を西原が行った。

- (1) 間葉系細胞からの造血系高次多能細胞への分化が、アパタイトや TCP の物性と生体力学因子との複合による間葉細胞遺伝子の発現と考えられるため、この遺伝子発現の引き金となる生体力学因子の特定を行った(西原, 広田, 田中, 末次).
- (2) 筋肉内チャンバーの有効な構造の開発(広田, 西原, 松田)
- (3) 動脈接続チャンバーの開発(田中, 西原, 丹下)

平成7年度

1) 間葉細胞の遺伝子の発現の引き金となる生体力学因子が、streaming potential(Pollack)である可能性が大である(西原 1994)ので、実験によりこれを確認するための *in vivo* で実験を行った。

(1) 2頭の大型成犬(30kg)を用いて、皮下に埋入したアパタイトチャンバーに10mVの直流を通電し、1か月、2か月経過時の造血巣の有無を対照と比較して観察した。コントロールとして通電しないアパタイトとチタン多孔体および通電したチタン多孔体チャンバーを移植した(西原, 丹下, 松田)。

(2) 埋入するアパタイトチャンバーに相当する円筒状の模型を作製し、リン酸バッファーおよび代用血漿に圧力を加えて流動させ、アパタイトとそれぞれの流体との間に生ずる streaming potential を測定した(広田, 田中, 末次)。チャンバーの模型作製は広田が統括した。

(3) 動物実験で既に得られている筋肉内造血巣の形成能と皮下における通電アパタイトチャンバーでの造血巣誘導能とを、骨の形成量で比較した。さらにこれらと模型により測定される電位とを比較し、streaming potential と造血多能細胞誘導能との関連性を究明した(西原, 松田)。

2) 1) と並行して、長期間を要する動物実験を行った。

(1) 筋肉内チャンバーの有効な構造の開発と移植実験

パイロット試験で用いたチャンバーは、単なる中腔の三角柱と円筒の多孔質

アパタイトまたは TCP であったので、有効に造血巣の誘導された三角柱のものと、実際の脊椎や造血能の著明な長管骨の内部構造を参考として、より効率のよいチャンバー構造を作った(広田, 西原). 大型の成犬 2 頭に各 8 個を移植した(西原, 丹下, 松田). 経時的にチャンバーを摘出し, 病理標本を作製, 観察し有効な構造を探求し, 新たなチャンバーを考案した(丹下, 西原, 広田). 病理組織の観察を丹下が統括した.

(2)動脈接続チャンバーの設計を行った(田中, 西原). 総合的に各専門分野の視点から独自の設計を行い, 田中と西原がこれをまとめ, 末次が作図した.

平成 8 年度

動脈接続チャンバーの作製を行ない, 引き続き病理組織標本の作製と観察を行った. (株)EHI に発注した. これを用いて成犬 2 頭の大腿動脈へ移植した(西原, 末次).

1) 筋肉内チャンバーの改良と成犬 3 頭による移植実験(西原, 広田, 松田)
移植後 3 か月間経過時に摘出し, 標本を作製し, 観察を行った.

2) in vitro チャンバーの改良と成犬 3 頭による移植実験(広田, 田中, 丹下, 西原)

移植後 3 か月間経過時に摘出し, 標本を作製し, 観察を行った.

3) 動脈チャンバーの改良と成犬 3 頭による移植実験
移植後 3 か月間経過時に摘出し, 標本を作製し, 観察を行った.

【実験法の開発】

1) Trilateral Research

本研究の方法は代表の西原の考案した Trilateral research の方法による. これは, リンネ・ゲーテ・ヘッケルの創始した形態学(個体発生・系統発生学)とベルナールの生理・生化学とリモデリングの分子遺伝学の三者を Roux の創始したバイオメカニクスと生命発生機構学を軸として統合した新しい研究手法である.

この方法は, 生命体の持つ殆どすべての機能が究極では個体を構成する組織の遺伝子の発現に負っている事実に基づくものである. 生命現象の本質はリモデリングに共役した代謝であり, これを担うシステムが局所細胞の遺伝子だからである. あらゆる物理的, 科学的刺激は究極では生命体の論理に翻訳されて局所の遺伝子発現の引き金が引かれて作動する. 遺伝現象は代を隔てた生命体のコピーであり, 遺伝子のコピーによるからリモデリングの一樣態にすぎない. こうして見ると従来の基礎医学や生命科学としての形態学・解剖学・病理学・生理学や生化学・薬理学等の分子生物学などの分科は同じ現象系の異なる側面

を観察していたことになる。

本研究の主要テーマである人工骨髄の実用化は、白血病や血液疾患への治療用バイオチャンバーの開発応用である。この目的のためにまず造血臓器の機能とは何かを思考研究する必要がある。思考研究の結果として、生命体の本質的営みの機能が造血のジェネレーターであることが明らかとなった。骨髄造血の謎は、脊椎動物の謎でもあり、これが解明されると、この宗族の進化学が確立され、同時に免疫学がリストラクションされるのである。

今日の医学で解決できない人類の医学史上の最大の課題に免疫病がある。腫瘍・白血病、膠原病、リウマチ、喘息、糖尿病、心疾患、脳血管障害、潰瘍性腸炎等は免疫病と考えられるが、今日の免疫学ではこれらの疾患の成立から治療に至るまでの殆ど一切を説明することができない。現在、免疫現象とは、自己非自己の識別と言われている。これは、ルドワランの行った胎生期のウズラとひよこの神経堤の移植例の成功に端を発している。この実験は、自然界に全く起こり得ない人為的現象である。これらの結果に基づいて自然に発症する免疫病を治す体系としての免疫学の概念を作ってはならない。自己非自己の概念が有効なのは、生体臓器移植時の組織免疫のみである。その他の免疫系、つまり免疫病の95%は全く説明不能である。従って、このような誤った免疫学を早急に正すことが必要である。生命現象の本質から考えて、組織レベルの消化、代謝・呼吸が生命の営みの中心でありこれが障害された状態を従来免疫病と呼んでいたのである。これで毒物中毒からアトピー、アレルギー、リュウマチ、白血病、心筋梗塞に至るまですべて説明できるようになる。

骨髄造血巣は、組織呼吸のジェネレーターであるが、この生の営み（機能）の進化が何を原因として起こっているかをつぶさに系統発生学に基づいて研究した結果、代表者は、重力が引き金となっていることを発見した（1990）。これは既に三木成夫の脾臓の論文に示唆されていたことである（1965）。つまり、原始脊椎動物の脾臓のよる腸管造血系が、上陸を境として骨髄腔に移動するのである。

骨髄造血巣を異所性に筋肉内に誘導することは既に哺乳類で1992年に成功したが、本研究では骨髄造血の発生機序の解明の目的で、これが元来骨髄腔を持たない原始脊椎動物で発生するかどうかの実験を行った。この結果脊椎動物の進化には、機能の進化が形態進化とは個別のシステムで存在することが明らかとなった。この機能の進化と遺伝子の分子進化との関係を思考研究した。

2) 医学応用のための実験系

実地臨床医学研究を通して免疫病の特徴をつぶさに観察した結果、従来免疫病と呼ばれていた一群の疾患は、脈管のリンパ血液系が中心となって機能していた細胞レベルの消化（三木成夫）・吸収・代謝・細胞呼吸・異化・同化・貯

蔵・排出の過程に生じた異常を指すことが明らかとなった。従来の自己非自己の免疫学は、移植術という人為的生命操作の際に起こる他の生命体の組織が細胞レベルの消化を受けるときの問題のみを扱うことができる。多くのバクテリアもウィルスも毒物も薬物も非自己であることは自明であるが、生体内で細胞レベルの消化を受けた時に、消化できないほど多量の場合や、薬物を消化・解毒できないときは細胞死に至るのである。寄生虫も非自己であるが、多細胞系では主要組織適合抗原を持たない生物は、高等生命体は消化できないため共存を許すことになる。主要組織適合抗原を持つ組織を移植した場合でも、これが微量であれば消化してしまう。大量の時には消化に際して大量の毒性物質を生じ、それで死んでしまうのである。白血球の貪食作用や液性免疫による抗原抗体反応のすべては、細胞レベルの消化の一様態というこのになる。こう考えるとアレルギーからアナキラキシー、自己抗体による自己免疫疾患、に至るまですべてシンプルに説明が可能となる。

本研究を通して新しい免疫学の概念が樹立されたが、ここで免疫という言葉があまりにも不適當であることが解る。免疫学とは細胞レベルの消化・代謝・細胞呼吸のことで、この一連の系が障害された時に免疫病が発症する。こうしてみると従来の心臓、肝臓、血管系の障害も脳血管障害もすべて免疫病であり、白血病、悪性リンパ腫から悪性腫瘍（ガン、肉腫）から良性腫瘍に至るまで免疫病である。炎症性疾患もまた歴然とした免疫病と言える。従来の器質系疾患の分類で、免疫病から除外されるのは、奇形と外傷のみとなる。その他感染症、炎症、嚢胞、腫瘍、ほか機能器官の疾患のすべてが免疫病と見られる。この原因は *physicochemical stimuli* であり、栄養、酸素、炭酸ガス、有毒ガス、無毒ガス、圧力、重力、湿度、温度、寒冷・温熱刺激、香り、匂い、音、色、光、映像、思想から力学刺激、電磁波、電流、放射線から時間、空間に至るまで物質のすべてが細胞レベルの代謝に影響するのである。振り返れば、20世紀の生命科学にはアインシュタインレベルの物理学が全く入っていなかったのである。Rouxの生体力学の導入により生命科学の統一理論がここに完成した。これで病気を再度、総点検すると、従来の免疫病と言われる多様な疫病の原因は思いもよらない所にあることが解る。人類特有とされるこれらの大半の疾患は人類特有の構造欠陥によって、人類のみしか発症しない。この人類特有の疾患が口呼吸によって起こることが明らかになったのも本研究の最大の成果である。

骨髓造血の系統発生学の研究は、骨の系統発生学の研究につながるものである。骨と歯が一体となったものがアスピディンである。棘魚類の甲皮はアスピディンに由来する。このものは、海中で呼吸とともに入ってくるカルシウムの排出のシステムの産物である。脊椎動物の前段階の腸管呼吸を行う原索類のホヤでは、まだリン酸の集積が少なく、硫黄が集積して多糖類となり、皮膚の体

表に排出する。このものは軟骨様の染色性を有している。これが円甲類では皮膚に多糖類を排出し、内骨格が軟骨となり、歯も軟骨様物質の染色性を有する。この甲皮がキトサン系の多糖類となった宗族が皮膚呼吸を続ける節足動物の道を歩む。原索類のホヤの成体は固着性で根を生やしており、この根はセルロースでできている。栄養呼吸系が体腔の外に向いていて根や骨格系物質をセルロースのみとしている固着性の生物が植物となる。軟骨系物質やキチン系は力学対応して形を変えられるが、セルロースはそのシステムに乏しい。一連の研究で脊椎動物の皮膚は消化吸収された腸管栄養系の物質が細胞レベルの消化を受けて体表面の外に排出する終着ルートの1つであることが判明した。もう一方が腸管粘膜である。脊椎動物は空間的外界とは表皮と腸管の二面でのみ接しており、この両者の間の物質のやり取りで生命の営み（リモデリングに共軛した物質の代謝・呼吸・排出システム）を司る。アレルギー性の皮膚病や、膠原病、皮膚筋炎などの免疫病は腸管や表皮・体腔内の細菌やウイルスその他の微生物、寄生虫の感染や寄生によって傷害された細胞レベルの代謝・呼吸で皮膚に排出される未消化の毒性物質や微生物であることがこれで解る。本研究で脊椎動物の謎といわれた免疫系の本体の大筋が解明された。

人類特有の疾患の免疫病が人類のみに生じた構造欠陥呼吸習癖で生ずるとなれば、他の哺乳動物にも免疫病のモデルを作ることが可能となる。本研究でその試みを行ったが膨大な費用を要するため現在研究は途上にある。免疫病が成立する直前の段階まで予算の関係上中断している。

本研究で骨髓造血の謎がほぼ解明された。これにより混迷の免疫学を新しい概念に書き改めることができた。同時に「機能と代謝の進化」という進化学の新しい概念が樹立され、分子進化と形態進化とも全く別のシステムであることが解明された。これによりネオダーウィニズムを完全に否定できる新しい脊椎動物の進化学の樹立の端緒が得られた。本研究代表著の「顔面形態の医学」

（文部省、科研費一般研究B）による形態進化の謎の解明の成果と本研究の成果を統合することにより脊椎動物の進化様式がほぼ完全に解明された意義は大きい。人工骨髓バイオチャンバーの白血病等への応用は免疫病の成立した実験動物が完成すれば極めて容易かつ確実に可能となろう。