

第 32 回日本人工臓器学会 Original 賞講評

第 32 回日本人工臓器学会大会長 瀬在 幸安
Original 賞選考委員長 三井 利夫

選考委員会として選考結果をご報告致します。

本選考の基準の第 1 は独創的であること、第 2 は人工臓器に関する基礎的臨床的研究であること、第 3 は未発表の研究であることであります。最も重要な点は研究の idea と結果に brilliancy・輝きを感じる点を重視いたしました。

その結果第 1 位は

ハイブリッドタイプの免疫器官——人工骨髓造血巢の誘導——

東京大学 西原 克成氏

本研究は、脊椎動物の進化の過程で、骨髓造血系が生体力学的要因により発生したことに注目し、系統発生的過程を生体内で再現することに挑戦しました。ヒドロキシアパタイトからなる人工骨髓チャンパーを筋肉内に埋入し、これにより微小造血環境を作り、間葉組織から造血巢と骨組織とを誘導することに成功しました。人工的な臓器誘導という概念を提出すると同時に画期的な成果をあげている点は Original 賞にふさわしいと思いました。

第 2 位は

骨髓組織を自家移植した人工血管の有用性

横浜市立大学第 1 外科 野一色泰晴氏 他 6 名

発表者らはこれまでも人工血管の治癒過程内皮化を促進するために、静脈片・大網片・脂肪組織片をダクロングラフトに播種したのち移植する方法で優れた研究成果を発表されてきました。今回は自家骨髓組織を PTFE グラフトに播種し、それまでの人工血管設計コンセプトを飛躍的に高めることに成功しました。活性が高く、いろいろなサイトカインを産生し分化機能発現が期待される骨髓に着目したことにより、Autocrine (オートクリン) 型人工血管の誘導を成功させた研究はコンセプトならびに研究の進め方、結果等、その独創性と brilliancy において高く評価されるものです。

以上の 2 題のみを選ばせていただきましたが、その理由は、他のご研究もどれも優れたものでありましたが、受賞された 2 題に較べ今一步の感があり、その中から 1 題を選ぶことが不適當と考えられたからであります。

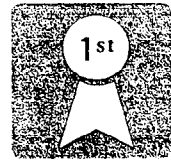
昨年の investigators award と較べ今回の採択演題は idea の質において格段の進歩がみられ、どの演題に対しても白熱した討論がたたかわされました。これこそ本学会の main session に成長するであろうことを予感させるに十分でありました。

本年残念ながら受賞にもれた方も、他の方々もどうか一層の研鑽をつまれ、次回も是非奮って応募されることを期待致します。

95
循環系

第32回
日本人工臓器学会大会

Original 賞



ハイブリッドタイプの免疫器官

—人工骨髄造血巢の誘導—

西原 克成

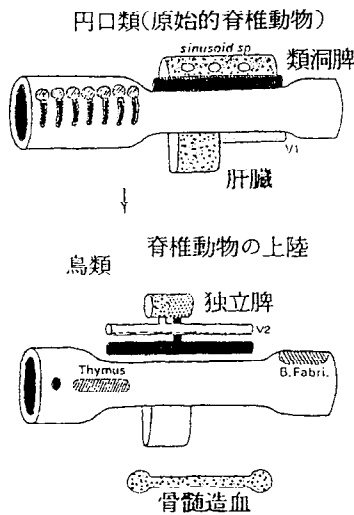
(東京大学医学部口腔外科学教室)

目的 本研究は、骨髄造血系が脊椎動物の水棲から陸棲への進化の過程で、重力対応による生体力学要因に依存して生じたことに着目し、系統発生的過程を生体内で再現することにより、人工骨を用いて間葉系細胞から造血巢を誘導することを目的としたものである。

方法 ヒドロキシアパタイトの人工骨を筋肉内に埋入し、生体組織とのハイブリッドによりこれに微小造血環境を付与し、間葉組織から造血巢と骨組織を誘導することを試みた。

結果・考察 従来アパタイトの移植では、異所性に造血と造骨を誘導することはできないとされていたが、本研究の成功により多種能力を有する機能細胞への未分化間葉細胞の分化、すなわち遺伝子の発現が生体力学作用とアパタイトの物性に依存することが示された。

研究の独創性 本研究は、系統発生学と生体力学と分子遺伝学の三者を統合した点にあり、人工的に多能性間葉系臓器を誘導する概念を示し、画期的な成功を収めた。これにより実験進化学(Experimental Evolutionary Study)への端緒が拓かれた。



(三木成夫原図)

図1 系統発生における造血・免疫器官の変遷と新しい免疫学概念(三木成夫)。脊椎動物の特徴とされる免疫系は、腸管呼吸とともに成立する。水棲から陸棲への進化と並行して肝・脾臓から骨髄へ造血巢が移動する。図は、新しい免疫学概念として「免疫系の中心が造血系にあり、 $O_2 \cdot CO_2$ を含めた消化管からのあらゆる吸収物質の細胞レベルの消化として把握され、赤血球と白血球がその中軸を担う」ことを示す。

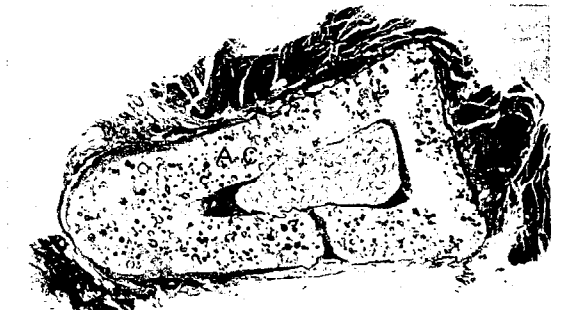


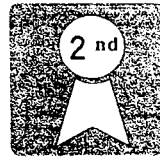
図2 成猿の大腿筋(M)に移植後12か月経過時のアパタイトチャンバー(AC)。著明な造血と造骨が認められる。



図3 同標本の強拡大写真。造血巢(HN)には骨髄構造が形成され、脂肪細胞も認められる。アパタイト(HA)が一部溶解し(矢印)、筋組織(M)は外形を保った状態で筋膜・骨膜(PO)に化生し、骨組織と造血巢に移行している。

195
循環系

第32回
日本人工臓器学会大会
Original 賞



骨髄組織を自家移植した人工血管の有用性

野一色泰晴 高橋 和裕 山本 賢二 孟 真 井元 清隆 近藤 治郎 松本 昭彦
(横浜市立大学医学部外科学第一講座)

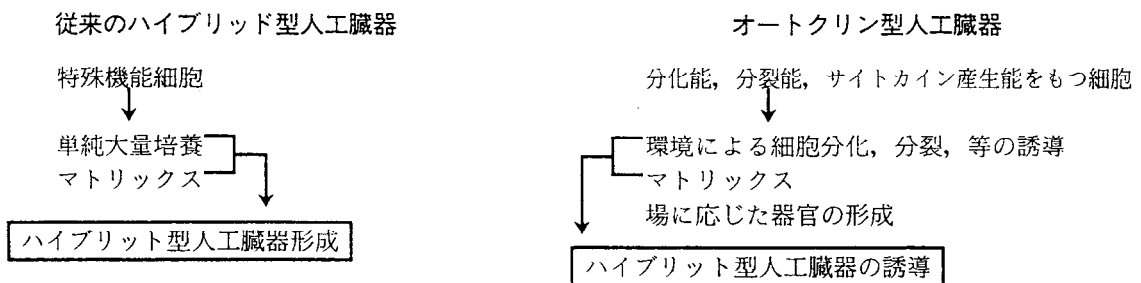
目的 オートクリン型人工臓器を創造する。その実例として人工血管を研究の場を選び、その枠組みの中に特殊機能を発揮する細胞、それを支援する細胞、それらの増殖を促す細胞成長因子、治癒促進のためのサイトカインなどを内蔵した一体型人工臓器を設計する。

方法 フィブリン長、平均 90 ミクロンの e-PTFE graft 内径 6 mm、長さ 6~8 cm に骨髄組織を自家移植した。これを成犬腹部大動脈に植え込み、試料を採取して経時的に形態学的、免疫組織化学的に観察した。

結果・考察 e-PTFE graft 壁内に移植された骨髄細胞は生着するとともに強力な細胞成長因子であり血管誘導因子でもある b-FGF を多量に、かつ継続的に産生した。また同時に骨髄細胞は赤芽球島を形成し造血活動を維持した、そして植え込み 18 日目には人工血管内面は完全に内皮細胞に覆われて、以後 6 か月にいたるまでの観察期間中、新生内膜を維持した。

骨髄細胞は原始的な細胞であるため生着しやすいという利点を持つとともに、生着、生存に要する栄養補給のための毛細血管侵入を要求する。また造血用の素材補給のための毛細血管および造血産物である血球を送り出すための経路としての毛細血管侵入を要求する。これらの要求は b-FGF のような成長因子、サイトカインが行う。また一方、骨髄には線維芽細胞、内皮細胞、脂肪細胞のほか、未分化の間葉系細胞が多量に含まれており、環境に応じて分化、分裂、そしてサイトカイン産生を行うため、血管壁に移植されると、その場に応じた器官を共同で造りあげる。

以上の結果、細胞の分化能、分裂能、サイトカイン産生能を生かし、環境によってそれを制御することのできるオートクリン型人工臓器の一つの型を創造することに成功したと思われる。



ハイブリッド型人工骨髓造血巣誘導へのアプローチ

西原 克成

骨組織の持つ造血能は、栄養系と免疫系の中心的役割を担当する。今日、骨髓造血機構の解明は、臨床医学上の緊急課題である。

本研究は、脊椎動物の進化の過程で、骨髓造血系が生体力学的要因により発生したことを、系統発生的に明らかにし、この過程を生体内で再現することにより人工骨髓チャンパー内に微小造血環境を作り、間葉組織から造血巣と骨組織とを誘導することを目的とする。人工骨髓チャンパーを合成ヒドロキシアパタイト（以下アパタイトと略す）とTCPで作製し成犬と成猿の筋肉内に移植した結果、著明な造血巣と骨組織の形成が認められ、画期的成果が得られた。一方、輸入管と輸出管を有するアパタイトチャンパーを作り大腿動脈に移植した結果、細網内皮系構造を有する間葉組織の形成が観察された。研究の結果、異所性の骨髓組織の誘導に成功し、系統発生の過程における生体力学的要因による器官の誘導現象が、脊椎動物に特有のアパタイトの物性と特定の生体力学的環境下によって再現されることが明示された。

Nishihara, K. APPROACH FOR HYBRID-TYPE ARTIFICIAL BONE MARROW INDUCEMENT. Artificial inducement of bone marrow tissue with hematopoietic inductive microenvironment (HIM) in sintered hydroxyapatite (apatite) chamber *in vivo* was carried out. This research is important to disclose mechanisms of hematopoiesis and clinical application for bone marrow maladies. From a phylogenetic standpoint, it is known that HIM definitely existed in the organ nearest the digestive tract, i.e., spleen, in an early stage of evolution. In the second revolution of vertebrates, the internal skeleton changed into bone tissue from cartilage. From this fact of phylogenesis, hematopoietic nests should be able to be induced in an apatite chamber in place of bone, if optimal structural conditions can be found in artificial bone. Artificial inducement of hematopoietic fields was tried in muscles of dogs and monkeys using sintered porous tubular hydroxyapatite chambers. Then, the development of an artificial bone marrow chamber made of sintered apatite was carried out, which was connected to the iliac artery of a dog. Not only in the pore sites of tubular apatite artificial bone chambers but at the inside of the chamber, differentiation of bone marrow cell clusters of the hematopoietic field as well as osseous tissue formation could be observed. The implanted artificial bone marrow chamber connected with the artery was also examined histopathologically.

Keywords: Hydroxyapatite, Artificial bone marrow chamber, Phylogeny, Hematopoiesis

Jpn J Artif Organs 24(1), 6-12 (1995)

1. 緒言

本研究は、系統発生物学における造血の場の変遷が、脊椎動物の水生から陸生への進化による重力の影響という生体力学的因子に起因するとする考え（三木成夫）に基づいている^{1) 10)}。原初の脊椎動物の造血系は、栄養系として腸管周辺に局限して存在しており、内骨格はすべて軟骨で形成されていた^{1) 10)}。栄養系の造血臓器が骨髓腔内に移動するのは、脊椎動物の上陸と期を一にする。水中で浮力に相殺されていた体重が、陸上において軟骨に作用した結果骨組織が誘導され内骨格が化骨し、骨髓腔が形成されると、造血巣が肝臓・脾臓から骨髓腔へと移住してきた^{1) 10)}。

従来人工骨の研究は、骨の支持機械的機能のみに着目して行われていたが、本研究は骨組織の持つもう一方の本質的に重要な機能である骨髓造血に関するものである。骨の代替生体材の移植術では、従来、セラミックスのブロック等が単純に移植されていたが、著者は長管骨で代表される骨格系臓器の形態、すなわち管腔および骨梁構造の形成と力学的ならびに生物学的機能との深い関連性に着目し、三者を統合した観点から骨組織を研究した。本研究は従来の手法に生体力学的観点を加えて骨髓腔における造血機能を解明することを目的とするものである。予備実験の後、人工長管骨の内腔に骨髄組織を誘導することを目的として、中空の人工骨を作製し、これを成犬の大腿骨内腔に移植した。骨は荷重の負荷がないと生体力学に対応した構造が得られないため、創外固定を行ない成犬を歩行させた。一定期間経過後に摘出し、電子顕微鏡および光学顕微鏡にて観察を行った。

東京大学医学部口腔外科学教室
(〒113 東京都文京区本郷7-3-1)
Department of Oral Surgery, Faculty of
Medicine, University of Tokyo
7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo, Japan

人工臓器 24 卷 1 号 1995 年

一方、生体内における組織の誘導能には、アパタイトの物性が大きく関与すると考えられることから、高圧低温焼結法により成形された、より生体に近いアパタイト焼結体^{11) 13)}を用いて移植実験を行なった。次いで、これらの結果を参考としてハイブリッドタイプ人工骨髄チャンバーの開発研究を行った。アパタイトおよびTCPの多孔体による中空の三角柱状、円筒状の人工骨髄チャンバーを作製して筋肉内に埋入し、間葉系細胞からの骨髄造血組織の誘導条件をさぐった¹⁴⁾。これらの実験結果を基にして、骨髄造血と骨組織の誘導に関する生体力学的要因を考察した。また脾臓の構造を参考としてアパタイト焼結体の動脈接続用チャンバーを作り、成犬の大腿動脈に結合させ¹⁴⁾、内腔で誘導される可能性のある骨髄組織を観察した。

II. 実験材料および方法

1. 予備実験

厚さ1mm、幅1.8mm、長さ5mmの合成アパタイト多孔焼結体(気孔率20%、旭光学社製)を作製し成犬の肋骨骨髄腔内に埋入し、1週間、1か月、3か月、12か月経過時に標本作製し、アパタイトの変化と骨髄への影響を観察した。

2. 円筒状アパタイト人工骨の成犬の大腿骨への移植実験

7mmの内径を持つ直系14mm、長さ25mmの円筒形の合成アパタイト多孔焼結体(気孔率40%、旭光学社製)の人工長管骨を作製した。これを、成犬の赤色骨髄の存在する大腿骨に移植し、創外固定法により移植した人工骨に適度な応力が生ずるよう工夫した(Fig. 1)。

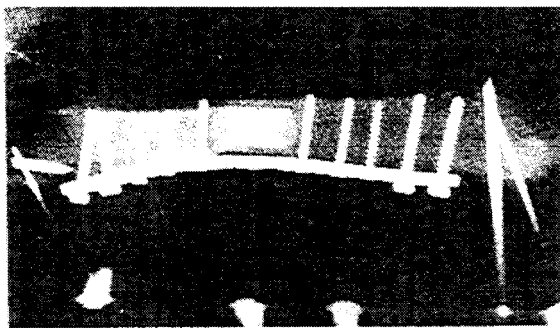


Fig. 1 Tubular apatite artificial bone implanted in femur, radiograph with AO-plate and extra-bone fixation, 6 weeks postop.

術後2か月経過時に、成犬に瀉血を行って貧血状態を作り、造血能を亢進させてから摘出し、皮質骨と骨髄組織に相当する部分の非脱灰標本と脱灰標本作製した。これらの脱灰標本に各種の染色を施し、光学顕微鏡を用いて骨髄組織に相当する部分の観察を行った。また、骨髄に相当する組織の透過型電子顕微鏡像を撮影した。

3. 高圧低温焼結法によるアパタイト緻密焼結体の成犬の筋肉内移植実験

高圧低温アパタイトの緻密焼結体(600MPa、300-400°C : 科技厅無機材研製)の筋肉内の移植実験を行い、2か月経過時に標本作製し観察を行った。

4. ハイブリッドタイプ人工骨髄チャンバーの筋肉内移植実験

合成アパタイト焼結体の一辺20mm、底辺5mm、長さ20mmの三角柱状の骨髄チャンバー(気孔率40%、旭光学社製)を作り、前述の円筒状のものと共に死腔の形成を防止する目的で内腔にアパセラム顆粒S(旭光学社製)とアパタイト顆粒(科技厅製、直径20 μ m)を填入し、ヘパリン添加の移植当該犬の静脈血に浸した後に、人工骨髄チャンバーとして成犬の筋肉内に移植した。2か月経過時に摘出し、標本作製し病理組織学的観察を行った。長期例として3頭の日本猿の筋肉内に、骨髄組織誘導能の優れている三角柱チャンバーを埋入し、移植後12か月経過時に標本作製し観察した。

5. 輸入管と輸出管を持つ人工骨髄チャンバーの移植実験

直径2mmの輸入管と輸出管(チタン製)を有する一辺31mm、厚さ5.6mmからなる正方形の人工骨髄チャンバーを、脾臓の構造を参考としてアパタイト多孔体(気孔率40%、旭光学社製)を用いて作製し(Fig. 2)、成犬の大腿動脈に移植後、2か月経過時に摘出し組織学的観察を行った。

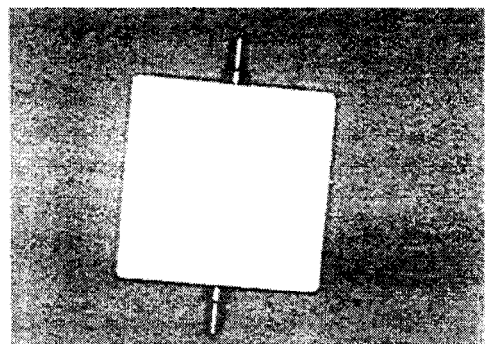


Fig. 2 Artificial bone marrow chamber of apatite with spleen-resembling structure inside, having afferent and efferent titanium duct.

III. 実験結果

1. 予備実験結果

肋骨骨髄に移植したアパタイトの経時的観察では、骨髄組織への明らかな影響は認められなかった。1年経過

時の標本では、著明な軟骨の増生とアパタイトの溶融、周囲の化骨像が観察されたが、骨髓組織の明らかな変化は認められなかった(Fig. 3)。

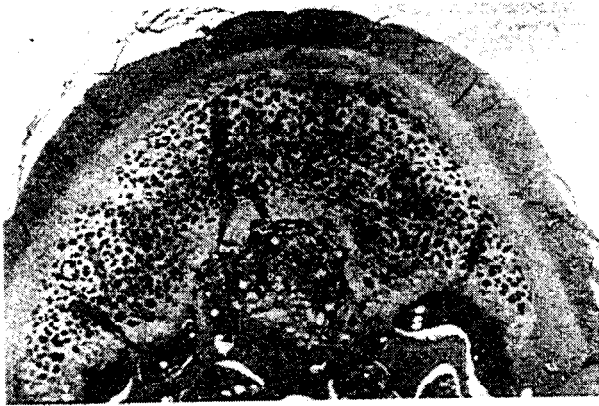


Fig.3 Dissolved and calcified apatite in lib marrow, 12 months after implantation.
C: cartilage HA: Apatite

2. 円筒状アパタイト人工骨の成犬大腿骨への移植実験結果

2か月経過時の標本で、人工長管骨の内腔には移植時に採取した骨髓組織と同様の骨髓造血巣がTEMで観察された。移植部の皮質骨の表層の骨膜と筋膜との間隙の一部に造血巣の細胞群が骨髓腔とは異なる所見で認められた。また、骨膜と筋膜の移行部に組織の移行型が認められ一部筋組織が直接骨に接する像も認められた。移植部周囲のAOプレート周辺部では、軟骨性化骨、線維性化骨等が観察されたが、内腔では円筒外側のアパタイトと皮質骨との癒着はほとんど認められず、線維組織内に造血巣が散在する像が観察された。またアパタイト多孔部に細網内皮系構造を伴う造血巣の形成が認められた。

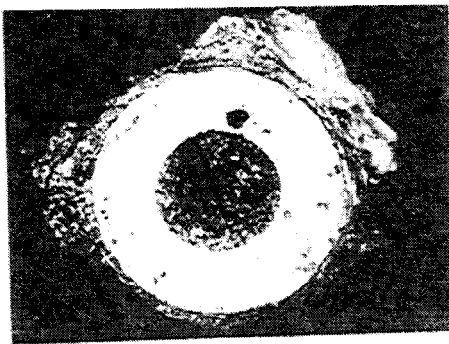


Fig.4 Cross section of recovered artificial bone marrow chamber with marrow tissue, 2 months postop.

3. 高圧低温焼結法によるアパタイト緻密焼結体の成犬筋肉内への移植実験結果

2か月経過時の標本で、non-stoichiometric、stoichiometricを問わず高圧低温焼結アパタイト緻密体に接して形成された線維性組織と、筋肉側に形成された筋膜・疏松性結合組織との間隙に骨の新生を伴わない状態で、明らかな造血巣の形成が認められた。これらは円筒形長管骨を移植した大腿骨の表層の骨膜と筋膜の間隙に認められた造血巣に近似していた。標本周囲には炎症所見は全く認められなかった。

4. ハイブリッドタイプ人工骨髓チャンバーの筋肉内移植実験結果

a. 2か月経過時の摘出に際して筋肉内のチャンバー周囲には著明な血管の新生が認められ、大量の動脈性出血が見られた。成犬の背筋部に移植したチャンバー(6個)はいずれもアパタイト、TCPの多孔部を中心として孔の周囲に沿って造血巣と骨の新生が観察された(Fig. 4)。円筒形より三角柱チャンバーの方が造血巣、化骨ともに良好であったが、これはアパタイトの大きさと厚さのためと考えられた。アパタイトとTCPでは差は殆ど認められなかった。

b. 12か月経過時の3頭の成猿の大腿部に埋入した三角柱状のアパタイトチャンバー(3個)の組織所見では、ともに内腔にまで及ぶ著明な異所性の造血巣と骨の形成が認められた(Fig. 5)。造血巣には脂肪細胞も認められ、正常の骨髓組織像と異なるところがなかった。またチャンバー周囲の骨膜様と筋膜様組織には移行形が認められた。チャンバーの外壁と内壁には表面に皮質様の薄い骨組織が認められたが、内腔のアパタイト顆粒を填入した部には多孔体の孔部と同様に流体の通路に沿って形成されたと考えられる骨形成像と造血巣が見られた(Fig. 6,7)。

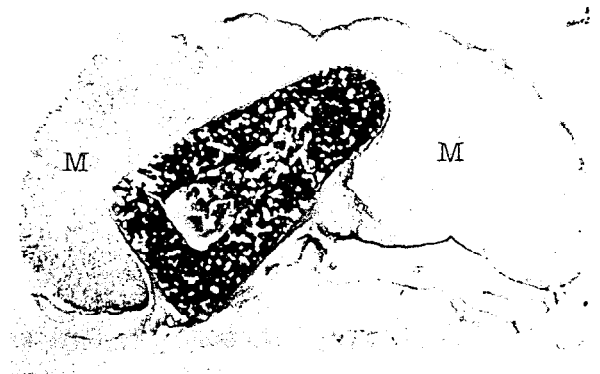


Fig.5 Recovered artificial bone chamber implanted in monkey thigh muscle 12 months postop, undecalcified section, Masson trichrome stain. M: muscle



Fig.6 Apatite artificial bone marrow chamber with hematopoiesis and osseous tissues, implanted in monkey, 12 months postop, Masson trichrome stain.

M:Muscle OT:Bone L:Lumen of chamber HA:Sintered hydroxyapatite
 HAC:Sintered hydroxyapatite granules
 BM:Hematopoietic bone marrow with adipocytes

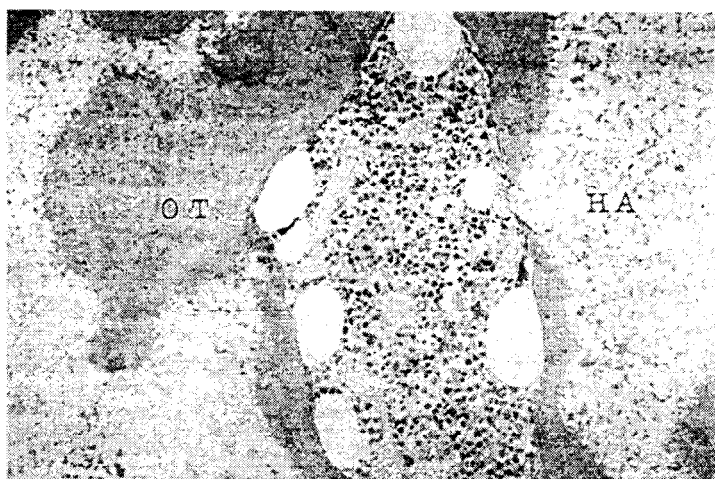


Fig.7 Hematopoietic nest with adipocytes in a pore of sintered apatite bone marrow chamber with osseous tissue formation. Decalcified section, implanted in monkey, 12 months postop, H-E stain.

5. 輸入管と輸出管を持つ人工骨髄チャンバーの移植 実験結果

アパタイト人工骨髄チャンバーの摘出時に、遠心部の輸出管につらなる動脈に刺入した注射針より動脈血の著明な流出が認められ、2か月間チャンバーの血行が維持されていたことが明らかであった。チャンバーは厚さ約2~8mmの結合組織で覆われていた。チャンバー内部の組織所見 (Fig. 8) では内腔に線維性結合組織が観察され、随所に細網内皮様の構造が認められ、一部多孔部に筋肉内のチャンバーに見られた、造血巣に類似した組織の形成が認められたがこの段階では造骨は認められなかった。

IV. 考案

脊椎動物は「骨化の程度は異なるが、骨性の脊柱を持った脊索動物をさす」と定義されているから、骨組織が脊椎動物の特徴を示す本質的物質であることがわかる。造血器官は、元來栄養系臓器であるから脊椎動物の出発点では、腸管に由来する器官に局限して存在していた。脊椎動物進化の第二革命といわれる上陸に伴って、この骨組織の内腔に、造血巣が肝臓・脾臓の腸管系臓器から移動してきたのである^{1, 7, 15)}。造血には静脈性の濃みが必要とされるが^{1, 7, 15)}、collagen chamberと考えられる脾臓より、ヒドロキシアパタイト-コラーゲン複合体のチャンバーと考えられる骨髄腔の方が、微小造血環

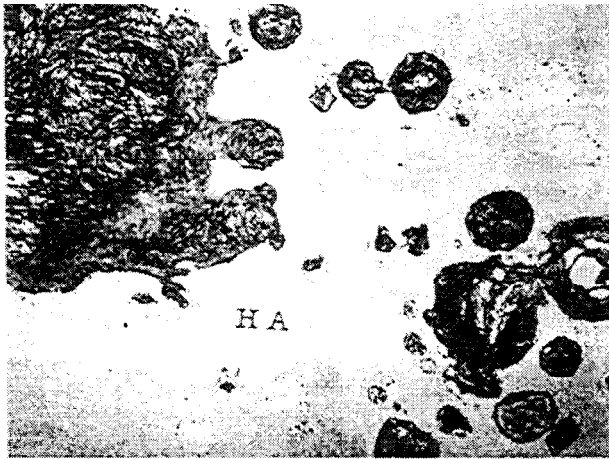


Fig.8 Reticulo-endothelial system with initiating hematopoiesis observed in artery bone marrow chamber, 2 months postop, decalcified section. HA:apatite

境が優れていたために、系統発生の過程で造血の場が移動したと考えられる。それでは、上陸以前には効率の悪い腸管系のcollagen chamberで何故無理をして造血していたかと言えば骨髓腔が無かったからである。第二革命以前には、骨組織はアスピディンという外骨格を形成する甲皮にのみ存在していた¹⁶⁾。水中では浮力で相殺されて重力の作用が少ないため、脊椎動物の内骨格は軟骨で形成されていた。この軟骨が上陸に伴う重力への対応として骨組織を誘導し、骨の生体力学的性質に従って髓腔を形成することとなったのである¹¹⁰⁾。進化における造血臓器の変遷を図に示す(Fig. 9)⁷⁾。

(三木成夫原図)

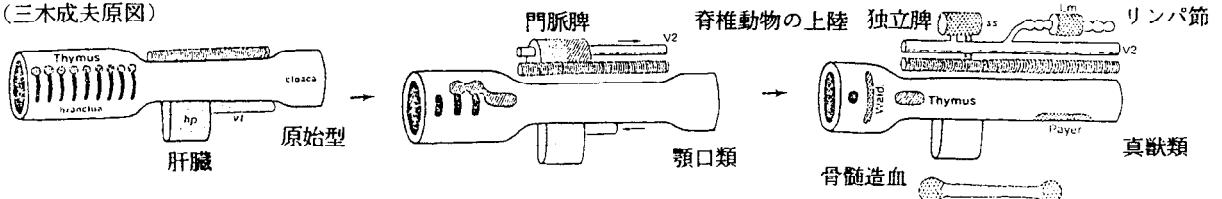


Fig.9 Polarization of hematopoietic organ (S.Miki).

この図から、脊椎動物に特有とされる免疫機構が造血と共軌関係にあることがわかる。腸管呼吸の成立と期を一にする免疫系は、酸素・炭酸ガスを含めた栄養系の細胞レベルの消化として理解される⁷⁾。従って細胞呼吸も免疫も共に共軌関係にあり、赤血球が利用可能な栄養と呼吸系に関係し、白血球が抗原や微生物、有害物質に対応すると考えられる。以上のことから、高等生命体にとって何故骨組織が造血という栄養-免疫系の重要な機構を担当するに至ったかの成り立ちが明らかとなる。つまり、造骨と骨髓造血現象とは共軌関係にあると考えられ、骨髓造血は進化の過程で生体力学対応により生じたことと言える。従ってこの生体力学的条件を現生の動物の間葉

系組織において再現すれば、免疫工学的にセラミクス内に生体とのハイブリッドで造血巣を作ることが可能と考えられる。

従来から皮下組織に移植したアパタイトには異所性に骨髓組織の誘導が見られず、従って骨の形成も起こらないとされていた^{17, 20)}。一方、アパタイト多孔体と他家の骨髓細胞を同時に皮下に移植すると骨組織が異所性に形成されることが報告されている^{17, 20)}。またBMPとアパタイト多孔体を同時に移植しても同様に骨と骨髓組織の形成が皮下組織において認められることも知られている²¹⁾。一方腹腔内のdiffusion chamberによる軟骨の化骨の実験では、フィルターに孔を開けると骨化が生じ、孔がないと軟骨の化骨が得られず、骨髓細胞が共存すると孔がなくても化骨することから、軟骨の骨化には骨髓細胞が必須との見解がある²²⁾。しかしこの場合フィルターの孔からの液性の流動という生体力学要因については考慮されていない。

以上述べたように皮下組織におけるアパタイトの化骨には、骨髓細胞かBMPの存在が必須とされることから、造血細胞が血液の流れに乗って造血の場(アパタイト)に着床し、造血組織と骨を形成するという考えは事実合わないで、アパタイトの接する未分化間葉系細胞から直接造血巣と骨とが力学要因で誘導されると考える方がより合理的と思われる。

造血器官の進化における変遷の過程を再度詳しく見ると(Fig. 10)、造血機能が骨内の脈管構造に依存していることが分かる⁸⁾。今日の哺乳類の成体においては、筋肉内の奥深くに存在する骨の髓腔にのみ造血機能が存在する。従って、アパタイトに脈管のでき易い構造を付与して間葉系細胞の豊富な筋肉内に移植すれば、人工的に

in vivoで造血組織の誘導が可能と考えられる。

本研究ではこの考えのもとに成犬の背筋部と成猿の大腿筋にアパタイトチャンバーと、TCPチャンバーを移植した。また、脾臓の構造を参考としてアパタイトチャンバーを作り大腿動脈に連結した。これらの実験を通して、アパタイトチャンバー内に間葉系組織から骨髓組織、骨組織、細網内皮系組織などを異所性に誘導することが可能であることが明かとなった。

皮下組織と筋肉内の違いは、体液の流動の大きさの違いと考えられる。骨はstreaming potentialで形成されるとする考えがあるが^{23, 24)}、背筋肉内では呼吸運動や心臓の鼓動などに伴う流動が常時存在するためチャンバ

ー内の造血や化骨に有利に作用すると考えられる。

脊椎動物の体を構成する体細胞は内胚葉、外胚葉、中胚葉を問わずすべて等しい遺伝子を保持する。内・外胚葉系の器官には、個体発生の早期に分化が行われるが、神経堤ないし中胚葉由来の間葉系細胞は、終生種々の多様な組織に分化する多能性を持つと考えられる。

未分化間葉系細胞は細網内皮系はもとより、線維芽細胞、線維組織、筋膜、骨膜、毛細血管、血管内皮細胞、リンパ管、造血細胞をはじめとして、骨、軟骨、腱、筋肉等を作り出す多能性を有する。これは、共通した遺伝子を持つ未分化間葉細胞が、ある条件により分化の方向性を定めるものと考えられる。太古の時代に体表の間葉組織は、上皮間葉相互作用でアスピディンという甲皮を作っていた。生物の上陸に伴う体重の作用で、今度は体の外層上皮から遠く離れた場において内骨格の軟骨を形成していた同じ間葉細胞が、アスピディンの骨に相当する組織に分化することになったと考えられるのであが、これはこの劇的変化が生体力学的要因で生じていることを示している。

本研究ではアパタイまたはTCPの存在下で筋肉内の未分化間葉細胞から造血細胞と骨組織を誘導することができたが、これは、BMPなどの活性物質サイトカインの誘導が生体力学的要因によって行われ、その結果造血細胞や骨芽細胞が誘導されるものと考えられることができる。サイトカインの誘導は、初期のinitiation factorが遺伝子の発現によると考えられるから、つまり間葉系細胞の遺伝子の発現は、カルシウムとリン酸を主体とした鉱物質アパタイトの特性と、生体力学との複合作用に依存すると見ることができる。これは、系統発生にみられる器官の進化様式が、個体発生においても生体力学的に再現されることを示すものである。従って、進化における骨髓造血器官の発生の過程を、間葉系において人工的に実験で再現することが可能と考えられる。進化の原理を生体力学的要因と考えれば、本研究を進展させることにより実験進化学(Experimental Evolutionary Study)の手法が拓かれる可能性がある。

本研究は、進化の過程には重力が本質的に重要な因子となっているとするRouxの生体力学²⁵⁾とHaeckel・三木成夫の系統・個体発生学とDelbrück^{26, 27)}の分子遺伝学の三者を組み合わせたものである。つまり重力に対抗して体重を支えるようになった骨組織に、空洞が形成されると、そこに栄養・免疫系の造血系が誘導され、造血が開始された。この体制は遺伝現象に取り込まれると考えられるから、骨格臓器の物性が進化において極めて重要な役割を果たしたことがこれで分かる。

地球上には大略次の5種類の骨格をもった生物が存在する^{23, 29)}。

1. ケイ酸系(珪藻)
2. セルロース系(植物)
3. 炭酸カルシウム系(珊瑚、貝類)
4. キチン系(カニ、昆虫)
5. アパタイト-コラーゲン系(脊椎動物)

これらの骨格で有効に力学対応できる物性を持つものはキチン系とアパタイト-コラーゲン系であるが、キチンは外骨格であるため、成長・増大に対するリモデリングに限界がある。これに対して本来アスピディンという甲冑(外骨格)を原器とした象牙質・骨組織複合体は、成長・増大の有効なリモデリングシステムを有したと考えられる。

個体発生の過程で、頭蓋骨と鎖骨は直接皮骨に由来し、他の骨は総て軟骨から誘導されるが^{7, 15)}、これも系統発生の短い反復と見られる。脊椎動物の進化はほぼ完全に生命体の外的ならびに内的要因に対する生体力学的対応として把握され、その結果が遺伝現象に取り込まれていることから、他の骨格系の生物とは遺伝様式が異なる可能性が考えられる²⁹⁾。この種族のみが地球上で多様にかつ大型化できたのは、このアパタイト-コラーゲン複合体の生体力学的特性とカルシウムという生命に必須のイオンと、リン酸という核酸の代謝と細胞呼吸およびエネルギー代謝を担う物質との複合体であるアパタイトの物性に依存すると考えられる。

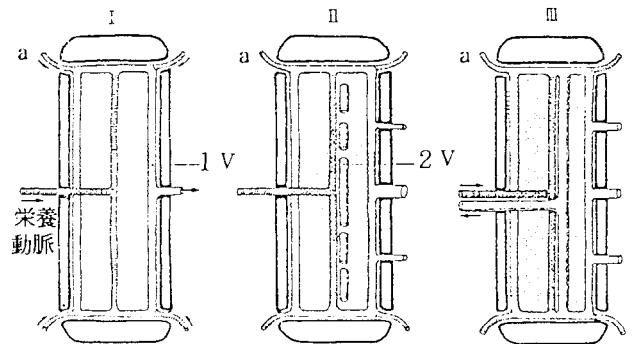


Fig.10 Evolution of bone marrow circulation and hematopoiesis⁸⁾
 I : Xenopus (Primeval frog)
 II : Rana (Frog) III : Rattus (Rat)
 1v: Subcortical venous sinusoid
 2v: Central venous sinusoid
 a : Arteria Dots : Myelocytes

生体力学的対応でできた偶然の産物である骨髓腔における造血は、アパタイト-コラーゲンからなるチャンバーの物性と構造によると考えられるから、人工的にアパタイトチャンバーを作れば、生体内ではコラーゲンで覆われるので、構造的条件を種々に変化させることにより造血が起こるはずである。造血巣の環境は、本来静脈性の淀みを必要とするので、動脈に接続したアパタイトチャンバーでは減圧が充分でないため2か月では、一部に筋肉内のチャンバーに認められたものと同様の造血様組織が誘導され、細網内皮系の形成が主として認められたのみで、骨組織の新生は認められなかった。しかし2か月間動脈チャンバーは閉塞することなく、器官として機能していから、このチャンバーを用いて、エリスロポエチン、BMPまたは通電を応用することにより化骨と造血巣の誘導の可能性がある。また、チャンバーを応用して生体内で肝臓や脾臓・膵臓などの組織培養も可能と考えられる。本研究を進展させることにより今後脊椎動物に特有の免疫

現象の解明の端緒が得られることが期待される^{28, 30)}。

V. 結語

系統発生学における造血臓器の変遷過程、すなわち本来消化管に由来した栄養系の造血器官が骨髓腔に移動した事象を生体力学の観点から考察し、ヒドロキシアパタイトおよびTCPを用いて、ハイブリッドタイプの人工骨髓チャンバーを作製し、成犬と成猿の筋肉内に移植実験を行った。その結果、従来アパタイトとTCPは異所性に造血巣や造骨を生じないとされていたが、本研究では著明な造血巣にともなう骨の新生をアパタイト、TCP多孔部の辺縁より誘導することができた。一方動脈に連結したアパタイトチャンバーでは2か月間充分な流路が保たれ、一部に造血様組織が形成され、主に細網内皮系と見られる線維性組織の形成が認められたが、新生骨の誘導は認められなかった。

以上のことから、脊椎動物に固有のアパタイトやTCPの存在下で筋肉などの反復性の体液の流動など生体力学要因により間葉系細胞からBMPが誘導され、その結果骨髓造血巣と骨組織が誘導される考えられた。

本研究にあたって、高圧低温焼結法によるアパタイトを作製して頂きました科学技術庁主席研究官広田和士先生ならびに、実験手法と免疫学方面で終始ご指導を頂きました東京大学医学部病理学講師丹下剛先生、獣医師川瀬清先生に感謝申し上げます。

本研究は文部省科学研究費補助金試験研究B1(課題番号:03557107)ならびに重点領域研究1(課題番号:06213102)によるものである。

本研究は、第32回日本人工臓器学会(1994年10月、東京)においてオリジナル賞候補演題として発表し、第一位を授与されたものである。

文献

1. 三木成夫: サンショウオに於ける脾臓と胃の血管 - とくに二次静脈との発生学的関係について. *Acta Anat Nipp* 38: 140-155, 1963
2. 三木成夫: 脾の起源 - 胃腸循環のいかなる場に発生したものか? - *医学の歩み* 47: 469-477, 1963
3. Miki S: Genesis of the splenic vein. *Vascular Neuroeffector*, ed by John A Bevan, Raven Press New York 1983, 195-201
4. 三木成夫: 脾臓と腸管二次静脈との関係 - ニワトリの場合 - *解剖学雑誌* 40: 329-391, 1965
5. 三木成夫: 胃の血管系のGeneseについて. *日消化器外科誌* 6: 2-4, 1973
6. 三木成夫: 胎児の世界. 第3版 中央公論社 東京 1987
7. 三木成夫: 生命形態学序説 - 根源形象とメタモルフォーゼ. シュエーア原図 29 うぶすな書院 東京 1993
8. 田中康一: 造血と静脈 - 造血機構の本態についての考察 - *最新医学* 33: 1186-1201, 1957
9. Torrey TW: Morphogenesis of the vertebrates. 2nd ed John Wiley & Sons Inc New York 1967, 144-210
10. Nelsen OE: Comparative embryology of the vertebrates. 1st ed The Blakiston Company Inc New York 1953, 733-736.
11. Kim SR, Hirota K, Okumura PF, Hasegawa Y, Park SJ: Densification of calcium-deficient hydroxyapatite by hot isostatic pressing. *J Ceram Soc Japan* 98: 265-263, 1990
12. Hirota K, Hasegawa Y: Preparation of calcium-deficient hydroxyapatite-metal composites. ed by Vincenzini P *Ceramics in Substitutive and Reconstructive Surgery* Elsevier Science Publishers B V England 1991, 137-145
13. Nishihara K, Hirota K: Successful pressure sintering hydroxyapatite-collagen composite. *Proceeding of the 8th CIMTEC-World Ceramics Congress and Forum on New Materials* ed by Vincenzini P Florence, 1994 in print
14. 西原克成: 人工骨髓の開発に関する研究. 文部省科研費試験研究試験研究(B1)研究成果報告書(課題番号:03557107), 1994
15. 三木成夫: 生命形態の自然誌. うぶすな書院 東京 1993
16. Halsteas LB, 田隅本生 監訳: 脊椎動物の進化様式. 第1版 法政大学出版局 東京 1984, 46, 61
17. Mori M, Miwa A, Mori S: Regeneration of bone marrow in grafted decalcified femur of C3H mice; The role of bone and bone matrix. *Recent Adv RES Res* 25: 36, 1985
18. Friedenstein A J: Precursor cells of mechanocytes. *In Rev Cytol* 47:327-355, 1976
19. Owen M: Lineage of osteogenic cells and their relationship to the stromal system. ed by Peck WA *Bone and Mineral Research* 3 Elsevier Science Publishers BV England 1985, 1-25
20. Ohgushi H, Goldberg VM, Caplan A: Heterotopic osteogenesis in porous ceramics induced by marrow cells. *J Orthop Res* 7: 568-578, 1989.
21. Nagai N, Kuboki Y, Murata M, Takeshita N, Hina M: Histological studies of heterotopic osteogenesis induced by bone morphogenetic protein binding hydroxyapatite. *Apatite I Proceedings of the first international symposium on Apatite* ed by Aoki H, Akao M, Nagai N, Tsuji T Takayama Press System 1991, 321-334
22. 須田立雄, 小沢英浩, 高橋栄明: 骨の科学. 医歯薬出版 東京 1987, 23-26
23. Pollack SR, Salzstein R, Pienkowski D: The electric double layer in bone and its influence on stress-generated potentials. *Calcif Tissue Int* 36:S77-S81, 1984
24. Pollack SR, Petrove N, Salzstein R, Brankov G, Blagoeve R: An anatomical model for streaming potentials in osteons. *J Biomechanics* 17(8): 627-636, 1984
25. Roux W: *Gesammelte Abhandlungen ber Entwicklungsmechanik der Organismus.* Leipzig 1895
26. E. シュレーディングー著, 岡 小天ほか訳: 生命とは何か. 岩波書店 東京 1969
27. Delbrück M: A physicist looks at biology. *Transactions of Conneticaut Academy of Arts and Science* 38: 173-190, 1948
28. 西原克成: 口腔科臨床医学の新しい体系を考える 5. 骨格系器官の進化と顔面・口腔の医学. *歯界展望* 84(1): 174-188, 1994
29. 西原克成: 骨格系器官の進化と代替生体材の医学応用 - 系統発生学に学ぶ形態学的機能適応システム -. *生体材料* 11(5): 292-301, 1993
30. 西原克成, 丹下 剛: 免疫系疾患と口呼吸習癖との関連 - 人類特有の疾患と新しい免疫学の概念. *日口誌* 7(2):243-262, 1994