

## 1. 人工骨髄チャンバーを用いた実験進化学研究—原始型から哺乳動物まで脊椎動物の進化の各ステージへの移植

- 1) 円口類ヌタウナギにはヒドロキシアパタイトは存在しないが、背筋部にアパタイト人工骨髄チャンバーを移植したところ、移植アパタイト周囲に造血細胞が誘導された像が観察された。3匹に移植し4週間後および8週間後に切片を作成して観察を行った。すべての標本に造血巣の誘導が認められたが、移植期間が短かったため類骨の形成は、認められなかった。
- 2) 軟骨魚類のドチザメ6頭の背筋部にアパタイト人工骨髄チャンバー（焼結体4箇とコラーゲン複合の低温焼結アパタイト2箇）を移植した。また2頭にはチタン電極製（10 $\mu$ A）の人工骨髄を作成して背筋部に移植した。いずれの人工骨髄チャンバーにも周囲組織に造血巣と類骨の形成が認められた。同時にやや遠隔の脊椎の背側部に造血巣の形成が認められた。この造血巣は、ヒヨコのもとの染色性以外は区別が出来ないほどに近似した組織像を示していた。
- 3) 抗原性を有する牛コラーゲンを複合焼結したアパタイト人工骨髄チャンバーを移植したサメの背筋部も無機の焼結アパタイトと同様の造血巣の誘導が認められた。これに対して哺乳動物（大型成犬）の筋肉内に牛コラーゲン複合アパタイト人工骨髄チャンバーを移植した標本では、周囲組織が癌細胞の如くに異型性を示す部位があり、一部では腸粘膜の絨毛上皮の如き像が見られた。このことから、原始型が哺乳動物の胎児と同様に免疫寛容となっている可能性が示唆された。同時に、成犬の筋肉組織の絨毛上皮組織への類似化現象がアパタイト複合焼結によるコラーゲンの除放化で起こる細胞レベルの消化現象に基づく *metaplasia* で発生し、ポリペプチドによる間葉細胞の遺伝子の引き金が引かれたことによると考えられた。これにより用不用の法則の機能発現の分子生物学的遺伝子レベルのメカニズム解明の端緒が得られた。

## 2. 原始脊椎動物の器官を用いた異種移植による組織免疫の発生学的研究

- 1) ヌタウナギの皮膚のラットへの皮膚移植はすべて生着した。ヌタウナギの皮膚がスカフォールドとなってラットの皮膚が延びて行き、ヌタウナギの皮膚で覆われたラット皮膚欠損部は3ヵ月後にはすべて毛根を持つラットの皮膚で修復された。
- 2) ドチザメとネコザメの皮膚の交換移植を各3匹行ってネコザメ1匹は翌日死亡したが、その他のサメはすべて生着した。異なる楯鱗が共存するドチザメの皮膚とネコザメの皮膚のキメラが世界に先がけて得られた。
- 3) ドチザメにゼノプスの皮膚と筋肉を移植して3匹ともすべて生着した。筋肉はサメに同化されている組織像が得られた。生着したゼノプスの皮下組織においてドチザメとゼノプスのキメラの楯鱗が形成された像が得られた。キメラの楯鱗は萌出することが出来なかった。楯鱗の形もドチザメのものとはまったく異なる特異な形態を示した。
- 4) ドチザメの皮膚と筋肉をウズラとマウスとラットに移植する実験を各3匹に行ったところ、すべて生着した。ヌタウナギと同様にサメの皮膚がスカフォールドとなって皮膚が延びてきた。
- 5) ヌタウナギの脊椎を摘出しラットの大腿神経3本を切断し、そのうちの2本を移植した。6匹のラットに移植して、4匹の足の運動が回復し、1匹が麻痺したままで、1匹は神経移植を行なった足を自ら食べてしまった。コントロールとして大腿神経3本の切断を3匹に行なって全く回復が起こらなかった。

- 6) ドチザメの角膜を取り出して、3頭の成犬の角膜に移植したところ、3頭とも成功した。
- 7) ドチザメの脳を6匹のラットの脳に移植した結果、1匹を除いて大成功であった。1匹は手術操作の誤りにより移植術後3日して死亡したものである。ラットの脳の一部を開頭して摘出した後に、サメの脳を移植して生着し、何事もなかったごとくに5匹が3ヶ月間生きていた。その後切片標本を作成して観察したマウスの脳の神経細胞とは形の異なるサメの神経細胞に近似した細胞群の生着した像が観察された。
- 8) ドチザメの大腸を摘出し、2頭の成犬の小腸へ移植して2頭とも生着した。移植したドチザメの腸の漿膜に相当する部にヒドロキシアパタイトの粉を塗布し、この上を大網で覆った。これは血管の豊富な大網から新生血管の造生をうながすためである。サメの腸にはこれを養う栄養血管が存在しないため、血管縫合が不可能な為である。サメの腸は、ゴブレット胚細胞が極めて多く、犬の腸にはこれが少ないが、生着したドチザメの腸は、ゴブレット胚細胞の多い犬の腸として置き換わっていた。

### 3. 実験進化学研究—原始脊椎動物の人為的陸上げ実験研究

- 1) ドチザメとネコザメを各2頭ずつ1日1時間ずつ10日間陸上げ実験を行った後に屠殺し、解剖した結果以下の所見を得た。ドチザメでは、陸上げの空気呼吸で心臓周囲に形成される含気嚢が、囲心腔の両脇に骨盤域にまで細長く形成される解剖所見が見られた。ネコザメでは、囲心腔内の外膜と内膜の間に左が小さくて右が大きい含気嚢が形成される解剖所見が観察された。これによりドチザメ系が、両生類・爬虫類・鳥類となることが明らかとなった。一方、ネコザメの囲心腔底が横隔膜となり、ネコザメ系が哺乳類型爬虫類となることが示された。従来、哺乳動物の横隔膜の発生のメカニズムは全くの謎であったが、本研究で完璧に解明された。囲心腔のヒレにつながる軟骨が哺乳動物では鎖骨となり、爬虫類では心臓を覆う鐙状の骨となることが明らかとなった。
- 2) 3ヶ月かけてアホロートル10匹を陸上げしておびただしい数の切片標本と骨格標本を作製した結果、軟骨性の骨格が、サメと同じ鰓弓軟骨から変容して舌骨が形成され、動かない舌が動くようになるさまが観察された。硬骨の形成とメッセル軟骨の縮小も観察され、骨髓腔の形成と造血巣の誘導も観察された。また心臓をはじめとする他のあらゆる内蔵と脳などの器官には、水棲時代には周囲に毛細血管のみしかなくて栄養動静脈が存在しないが、陸棲とともに動静脈が発生することが検証された。水棲と陸棲のカテコールアミンを測定した結果、意外なことに交感神経系のアドレナリンの分泌の増加は認められなかった。これらのことから、交感神経系の発生学の主要部が書き改められることとなった。すなわち、従来交感神経に分類されていた腸管内臓系を支配するアセチルコリン系の脊髄神経が実は副交感神経だったのである。なんとすれば、交感神経系の存在しないサメにすでにこれらの神経系があるからである。錐体路系の発生が交感神経系すなわち栄養血管の発生に伴うもので、体壁系の交感神経系の筋肉組織の発生と同期を同じくすることが明らかとなった。

### 4. 骨格物質の系統発生学的研究

マイクロアナライザーによる観察の結果、フサコケムシ、ホヤから円口類にいたるまで外骨格の楯鱗や外皮はすべて軟骨であり、軟骨魚類のドチザメでは、歯と楯鱗のみが硬骨で他は軟骨で

あった。ネコザメでは、意外なことに内骨格の一部が硬骨化しており、骨髄造血巣も一部観察された。空気孔は、ドチザメでは、鰓耙が残っているが、ネコザメにはないため、ネコザメが相当長期に空気生活を行って重力にさらされていた可能性が高いことが示された。

## 5. 細胞呼吸と免疫系

### 1) TCA サイクルと骨（軟骨と硬骨）の形成

細胞呼吸の本態であるミトコンドリアの酸化的リン酸化とヒドロキシアパタイト骨の形成の関連性について研究されれば、脊椎動物の特徴的器官である骨と腸管呼吸との関連性により脊椎動物の本態と謎を解明することができる。

研究代表の西原の学位論文が「組織小器官ミトコンドリアの器官形成に関する分子生物学的研究」である。ここでミトコンドリアと軟骨およびアパタイトの形成の関連性について考える思考研究を示す。TCA サイクルの回転には、CoA とサイアミン (V B<sub>1</sub>) が必須である。緩やかにミトコンドリアが機能する段階では、チオールエステルが重要な役割を演じ、身体の動きとともに、力学対応する部位にチオールがコンドロイチン硫酸として集積すると考えられる。原索類のホヤと円口類のメクラウナギには、マイクロアナライザーの分析では、硫黄が多量に蓄積しており、リンはわずかである。動きが急に活発化する棘魚類の段階に至り、水圧や食物の圧力を受ける力学的対応部の表皮と顎の皮歯・楯鱗が硬骨化する。これは動きが飛躍的に活発化して、ミトコンドリアの呼吸運動が活発化し、集積したチオールを使ってカルシウムとリンを集めて TCA サイクルが廻転し、酸化的リン酸化が進行し、高エネルギー物質のピロリン酸エステルが多量に生成されると、リン酸とカルシウムがミトコンドリアから排出され、三リン酸カルシウムの形で細胞外に捨てられる。これがコラーゲン線維束上に結晶化してヒドロキシアパタイトとなる。アパタイトは活発化したミトコンドリアの酸化的リン酸化の材料であると同時に排出物質でもある。

### 2) ミトコンドリアの細胞呼吸と免疫病

ミトコンドリアはバクテリアと同じ核酸と蛋白質合成系と DNA、RNA ポリメラーゼをもつから、プロカリオータの寄生体とされている。これはクロロプラストに近い寄生体であり、光が機能に必須である。なんとなれば、呼吸蛋白酵素は、すべて特定の波長の吸光性を示すからである。

白血球に好気性のバクテリアが取り込まれると、ミトコンドリアとバクテリアが細胞内呼吸の酸素を奪い合い、結果として細胞が弱り、やがてミトコンドリアが変形し、細胞呼吸が障害され細胞が機能障害に陥る。これが従来自己免疫病と呼ばれた疾患群である。口呼吸では、無害とされる好気性の常在菌が扁桃の M 細胞からとめどなく小胞に入ってくる。小胞内では白血球造血が行われ、これらのバクテリアを白血球が消化しインムノグロブリン A (分泌型 IGA) を作る。これは唾液と鼻汁 (涙) に分泌されるが、口呼吸では唾液と涙がともに潤れるのである。分泌されない IGA は血中に吸収され血液をめぐり腎臓の糸球体をアタックすると糸球体がこの蛋白質 IGA で駄目になってしまうのである。これが IGA 腎症である。

M 細胞はワルダイエル扁桃リンパ輪 (鼻腔と咽喉部に 5 種類ある) のみならず、腸扁桃 (GALT) のいたるところにある。腸を体温より 1°C~2°C 冷やすと、ここからとめどなく抗原性のある蛋白質と腸内細菌が体内に入り込んで白血球がこれを抱えて身体中をめぐり、種々

の臓器と器官の不顕性感染を発症するのである。こうして、口呼吸で骨休めを怠りさらに腸を冷やすと難治性の免疫病になるのである。

つまり、冷刺激と重力作用の過剰（骨休め不足）というエネルギーと、口呼吸によるワルグアイエル咽頭輪や腸のリンパ系（GALT）からの白血球内への多量のバクテリアの侵入で白血球が運び屋となって体中をめぐり、種々様々な器官や組織の細胞にバクテリアをうつすのである。風邪のときに喉が痛み、次いで関節部が痛むのは哺乳動物のみに腸扁桃と同じ白血球造血巣が関節頭に移住しているからである。喉で白血球に感染したウイルスや雑菌が関節部の造血巣にたどり着いて、新生している白血球にウイルス等をうつすのである。

### 3) 重力作用がミトコンドリアに及ぼす影響

形態学の経験的法則性として、脊索動物のよく動く部分の呼吸運動が活発化するとその部位の細胞外マトリクスに軟骨が形成される。動きが跳躍して呼吸が飛躍的に活発化すると、今度は軟骨のマトリクスがヒドロキシアパタイトの硬骨に換わる。この時に間葉系の細胞（軟骨細胞や線維細胞、軟骨膜細胞や筋肉細胞）の周囲をめぐる血液や体液が、この部位の動きの活発化により流動性を増し流動電流が増強されるのである。この電流の高まりでまず骨芽細胞が誘導される。電位により遺伝子の引き金が引かれるためである。

こうしてホヤでは波の動きと水圧・流水圧で外壁に軟骨性の三錐歯型の楯鱗が形成される。軟骨はミトコンドリアの呼吸における酸化的リン酸化の TCA サイクルを回転するとき、サイアミン ( $VB_1$ ) や CoA がチオールエステルとして硫酸を排出し、これがコンドロイチンに取り込まれると考えられる。

ホヤが遺伝子重複して一個体ができたと考えられるのが、鎖サルパ型原索動物である。これが頭進して用不用の法則のもとに完成したのが円口類と考えられるが、このものには、最も強く力学対応する口の中にのみ三錐歯型の軟骨性の歯が存在し、ゆるやかにしか動かない皮膚には楯鱗が無く、硫黄を多量に含む皮膚でおおわれている。

次のステージの棘魚類は猛スピードで泳ぐため、強い水圧と流水圧と咬合圧が加われば皮膚と顎にアパタイト化した硬骨の皮歯ができる。アパタイトが形成されるときには、細胞内に多量のミトコンドリアが認められる。ミトコンドリアで細胞呼吸が回転し TCA サイクルがめぐり酸化的リン酸化が進むと、リンとカルシウムがミトコンドリアに集中し、やがて排出される。これが蓄積したのが脊椎動物を決める物質のヒドロキシアパタイトである。

人工骨髄電極チャンバーの研究で骨も軟骨も  $10\mu A$  の（流動）電流で形成されることが明らかであるから、ミトコンドリアの軟骨形成もともに電位による遺伝子の引き金が引かれたことによるサイトカイン BMP (bone morphogenetic protein) の誘導による。研究代表の学位研究の酵母を用いた「細胞小器官ミトコンドリアの器官形成に関する分子生物学的研究」で、ミトコンドリア (Mt) の呼吸蛋白質（カップリングファクター）の合成はミトコンドリアのリボゾームで行われるが Mt DNA と Mt RNA の各ポリメラーゼの合成が酵母細胞の核の遺伝子の支配による蛋白質合成系で行われることが、今から 30 年前に明確に検証された。この Mt DNA と Mt RNA のポリメラーゼを BMP が誘導するのである。この BMP が流動電流によって引き金を引かれるのである。サメやアホロートルの上陸で苦し紛れにのたうち回ると、重力作用に対応して流動電流が上がり、軟骨細胞の硬骨細胞への誘導分化の引き金が引かれることを示した。

ヒトが直立しているとき、脳の血圧が 90 で心臓部が 130mmHg、座位でも脳は 90 で心臓部

が 110、臥位で頭と心臓部と足のすべてが 90mmHg となる。これが休養であり骨休めで、このときにすべての細胞のリモデリングが始まる。骨盤と大腿骨と椎骨に多大な力が作用する立位と座位では、骨髄造血系のリモデリングが止まり、骨の支持機械機能のみとなるのである。骨格系が体重を負担している垂位と座位では、筋肉・骨格系・骨髄造血系細胞内のミトコンドリアは支持機能のみのエネルギーを供給する。造血系細胞のリモデリングにはたすミトコンドリアの機能は、厳密に骨休め中だけなのである。

## 6. 不顕性感染に関する研究

### 1) 呼吸病の動物実験モデル研究

成猫のワルダイエル扁桃リンパ輪に注入する目的で成猫に麻酔をかけて開口し扁桃組織を捜したがまったく不明であり、痕跡程度であったので口腔外から頸部の皮下に 1 万個/ml の S. サリバリウス (ヒトの口腔内より採取) を含む生食水 2ml の注入を 2 回/週 火、木と行い、金曜日に状態を観察した後に採血し血液像を観察した。2 頭とも 2 回目の注射の後にぐったりしたが血液像は著変なかった。その週の終わりには回復したが、4 回目から回復が悪く、5 回 6 回目までぐったりとしてわずかに発熱があったが血液像には変化がなかった。

ワルダイエル輪はヒトのみに極端に発達したもので M 細胞を持ち、この小胞にバクテリア (好気性菌) を取り込むことでインムノグロブリン A を作る。これは第二鰓腺に由来する白血球造血巣である。ヒトのみに発達するのは、ヒトがことばを習得した結果、口で呼吸することが可能になったためである。一般哺乳動物は鼻腔と気管が後鼻孔と舌の後端部で連続している。ワルダイエル扁桃リンパ輪の常習的な常在菌の感染により、人類のみに特有の免疫病が起こると考えられるのはこの故である。本実験で口呼吸病に近似した喉の不顕性の感染を成猫に作ることに成功した。

### 2) 脳血管障害の低体温療法から学ぶこと

脳の出血性血管障害の低体温療法では、処置後に平熱に戻すと死亡する。しかし腸の洗浄を行うことにより低体温から 36.5℃ に戻すと生還する。この事実は体温が 2℃ 低下すると腸内細菌がとめどなく血中に入り込む事を示している。そして低体温下では白血球は細菌やウイルスを血中において消化することが出来ないことをも示している。白血球の消化力は哺乳動物において体温が高まると強くなる。42℃ くらいでは最高度に達し、癌細胞までも消化することができるのである。これが癌の温熱療法である。これに対して、平熱よりも体温が下がると冷血動物と同様に白血球と細菌やウイルスは共存するようになるのである。

冷血動物の手術には、滅菌操作が不必要である。このことは冷血動物が細菌やウイルス等と常に共存しているということを意味しているのである。白血球は交感神経系と副交感神経系の支配を受けていて、その分化が決まる。原始型の冷血動物には交感神経系がない。従って顆粒球が無いのである。哺乳動物の体温が下がると白血球の貪食作用が無くなるのがこれらの事実から明らかである。