

# アパタイト利用による高度な肝臓器官培養法の試み

Hepatic Organ Culture in Hydroxyapatite Biochamber

西原 克成\*

## 1. ハイブリッド型人工臓器開発の思想

本研究は、Rouxのバイオメカニクス、つまり発生と進化には重力が本質的作用を有するとする学説に基づいている。筆者は系統発生学・比較解剖学と生理学・生化学・分子生物学、およびリモデリングの分子遺伝学の三者をRouxの生体力学に基づいて統合したtrilateral researchを考案した。これに基づいて脊椎動物の進化を、内蔵頭蓋と骨髓造血巣の二点に着目して、思考研究を行った結果、進化が重力をはじめとする力学因子を引き金として、時間の作用で生ずる形態の変容であることを明らかにした<sup>1-5)</sup>。内蔵頭蓋と骨髓造血巣とは、進化を遡ると、前者は変容する生命体の原型にたどり着き、後者は進化のステージで、造血の場が、骨髓腔から内臓腸管系に遡って移動する。この宗族の生命の営みの源となる細胞呼吸系の造血機能が、重力という環境因子によって自動的にその場を変化させる。一方、リモデリングの分子遺伝学を深く考察すると、個体の組織・器官のリモデリングは、局所の遺伝子のコピーで起こることから、時間の作用に依存したものであることが分かる。reproduction(生殖)はgenerationにまたがりリモデリングであるから、やはり時間の作用である。分子進化はこの時間の作用における遺伝子のコピーミスや、コピー上の錯誤によると考えられるから、時間の関数で生ずる変化である。従って分子進化は形態の進化とは全くの別系統の現象ということになる。生体組織は時間の作用でリモデリングするが、このときに重力など力学が作用すると器官の機能の場(造血の場)が変化することを述べたが、形態はどうであろうか。動物はかなりのスピードで移動するため、リモデリングの際に重力という力学作用を受けると生体内において慣性の法則が作動する。生命現

象とは、流れに存在する渦と見ることができる。常に物質が時間の流れに従ってリモデリングして入れ変わりつつエネルギー代謝をする場が生命体である。リモデリングも全て遺伝子の作用、つまり遺伝子のコピーによって起こるから、時間の関数で起こる現象である。スピードで動く生体内でゆっくりと渦がまわるリモデリングでは、始めに作り変えられた部分と、力学作用を受けてじっくりと変化する部分とでは慣性の法則が作動すれば、時間差のために自ずから渦の形が変わる。これが形態の進化である。

この観点から力学を応用して人工生体材を生体内の力学の場に移植し、実験進化学という実験系を組むことができる。これが、新しいハイブリッドタイプの人工器官の開発法である<sup>6-10)</sup>。これは、個体のもっている遺伝子のphysicochemical stimuliによる引き金で作動するリモデリングと機能細胞への誘導分化を利用した新しい人工臓器の開発法ということもできる。個体の遺伝子を利用して、移植免疫の問題が全くなく、最も個体に適合した高次機能を有する細胞を間葉系から人工生体材料製の人工器官の移植によって、個体内で直接誘導する。これによって人工肝臓バイオチャンバー、あるいは人工脾臓バイオチャンバーのハイブリッド化が可能となり、人工骨髓のようなものを容易にチャンバー内に誘導することができる<sup>4,5)</sup>。

## 2. 脊椎動物の特徴と宗族の定義物質の特性

高等生命体の組織や器官には、主要組織適合抗原が存在するから、臓器移植には限界がある。これは高等な脊椎動物の重要な特徴の一つとされている。もしこの種の抗原が無ければ他の個体の器官と移植受容個体とのハイブリッドが可能となる。高等な脊椎動物でも胎生期の個体では、主要組織適合抗原の遺伝子は発現していないから、種を隔てた移植が成立する。これが有名なルドワランのウズラとヒヨコの脳や神経堤

\*Katsunari Nishihara: 東京大学医学部口腔外科  
Department of Oral Surgery, Faculty of Medicine,  
University of Tokyo

の移植術である。これによりウズラの脳を持ったヒヨコが生まれるが、3週間で死んでしまう。神経堤や脳の移植時に同時にウズラの胸腺を移植すると成体になっても生きていたものが出てくる。これらの実験に基づいて今日、胸腺が自己・非自己をコントロールする器官であるとされている。筆者は、自己・非自己の機能の源となる主要組織適合抗原の遺伝子の発現が、胸腺の作用ではなくて、重力にあることを実験進化学手法を用いた人工骨髄造血巣誘導の研究を通して検証した<sup>7)</sup>。免疫システムとは自己・非自己の識別ではなくて、細胞レベルの消化・呼吸・代謝のことである(三木成夫)<sup>8)</sup>。この過程の障害を免疫病と言う。骨髄造血の成立、すなわち造血の場の腸管から骨髄腔への移動とともに抗原性の誘導と胎児蛋白の成体型への変換および、抗体の産生が重力を引き金とした遺伝子の発現による事を、筆者は原始脊椎動物と両生類を用いた系統発生学を応用した実験進化学研究手法により検証し、新しい免疫学の概念を提唱した<sup>7)</sup>。これらのことから胎児の世界と原始脊椎動物の世界とは互いに、代謝から機能、形態はもとより、造血系、免疫系に至るまで共通していることが分かる。

脊椎動物の定義は、骨化の程度は異なるが「骨性の脊柱を持つ脊索動物」であるから、骨か軟骨の脊柱が定義物質という事になる。従って骨か軟骨を人工物質で合成する事が可能ならば、脊椎動物の謎が解明されるとともに、ついでにハイブリッド型の人工器官も開発が可能となる。この宗族の謎とは、進化と免疫と骨髄造血の三つ謎のことである。ハイブリッド型人工器官の開発を合わせれば、四つの大型のテーマが、この定義物質によって開拓できる事になる。人工的に宗族を定義する物質が合成できれば、これを用いて四つの難問のモデル実験が可能となるからである。この宗族を定義する物質を人工合成したものがヒドロキシアパタイト(アパタイト)である。進化の過程でアパタイトは太古の原始脊椎動物の源の段階で、キャラパス(甲皮)としてカニの甲羅のように生命体の体表を覆うアスピディンを形成していた。生命全体を覆っていたのだから、どんな臓器でもこのもののチャンバーでなら*in vivo*で培養が可能ならずである。あらゆる上皮性の器官は、上皮間葉相互作用のもとに機能する。従って肝臓も膵臓も*in vivo*でこのチャンバー内であれば、容易に組織・器官培養が可能となるのである。これはアパタイトが間葉の産物だからである。

### 3. 実験進化学手法によるハイブリッド型臓器の開発法

脾臓の血管構造を参考として、動脈接続型のアパタイトバイオチャンバーを作製し、その中に自家肝臓や膵臓を一部取り出して動脈に接続して培養すると2-3カ月間問題なく器官培養を行うことができる(図1, 2)。この培養では外分泌機能はすぐに廃絶するから解毒作用や内分泌作用が期待される。このチャンバーに成長因子を加えれば、数カ月間で著明に増殖させることができる。アパタイトは間葉の産物であるから、上皮の機能の裏打ちに都合が良いためである。脾臓はコラーゲン製のチャンバーであるが、脊椎動物の第二革命の上陸を機に、造血器官が脾臓から骨髄腔に移動したが、この原因を究明すれば、アパタイトの特性が解明されるのである。筆者は骨髄造血の謎の解明の目的で系統発生学をつぶさに研究し、脾臓に存在していた原始脊椎動物の造血巣が、進化の過程で骨髄腔に移動する原因の究明を試みた<sup>9)</sup>。

進化が生体に作用する重力や生体自身の動きで発する生体力学刺激が原因となって起こると仮定してみよう。そうすると、進化の過程で新たに発生した生体力学刺激を現世の動物に異種性ないし異所性に、生体内において負荷すると、進化で新たに発生した組織や器官を誘導することができるはずである<sup>4)</sup>。この方法が実験進化学手法である。アパタイト多孔焼結体を円筒類、軟骨魚類、両生類、鳥類、哺乳類の筋肉内に移植すると数カ月で骨髄造血巣を伴った造骨組織すなわちハイブリッド型の人工骨髄が容易に誘導される<sup>1)</sup>。皮下組織に移植すると全く反応が見られないが、アパタイトに通電して移植すると皮下でも造血と造骨が起こる(図3)。この現象がstreaming potentialによることを一連の研究で明らかにし、これに基づいてチタン製の電極骨髄チャンバーを作製した<sup>3)</sup>。これを、本来内骨格に骨と骨髄造血巣を持たない軟骨魚類のサメに移植したところ、脊柱軟骨に造血巣の誘導に認められた(図4)。これは、進化をサメにおいて先取りしたもので、サメが陸に上がったときのstreaming potentialに相当する電流で、間葉細胞の遺伝子が発現して造血組織が誘導されたのである<sup>9,10)</sup>。肝臓はホヤの段階では存在しないが、円筒類になると発生する。この発生の原因は頭進という力学作用とそれに従属して発生するリン酸カルシウムの蓄積による。したがって、アパタイトとこれらの力学刺激で人工的

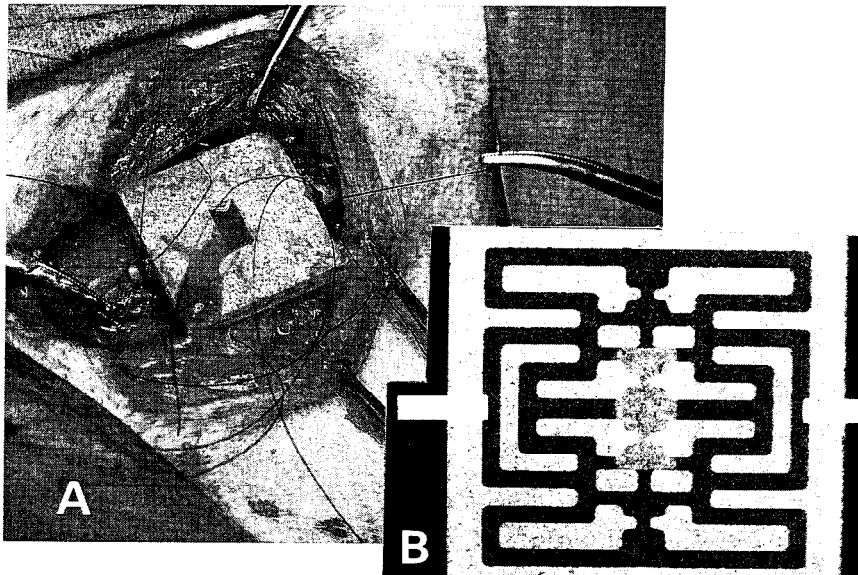


図1-A アパタイトバイオ  
チャンバーのイヌの  
大腿動脈への接続

図1-B アパタイトバイオ  
チャンバーのX線図



図2 バイオチャンバー内の自家肝  
臓培養 (成犬)

移植手術後2ヶ月経過時の培養肝臓  
の組織像 HA: アパタイトバイオ  
チャンバー

に腸管粘膜から肝臓や膵臓を誘導できるはずである。これが21世紀のレシピエントの遺伝子を用いたハイブリッド型人工臓器の開発法となるはずである。図5は成牛から抽出したコラーゲンとアパタイトを40°Cで高圧sinteringした人工骨を成犬の筋肉内に移植した図である。消化管に近似した構造を示す不定形の様々な細胞の誘導を伴った組織反応があり、細胞レベルの消化の病理組織像として認められた。このことから腸管上皮に、ある種の生体力学刺激を加えて人工的に肝臓組織を誘導することが可能であることが分かる。今後この方向に研究を進めたい。

#### 4. 重力の作用と人工臓器の開発

今やネオダーウィニズムを離れてHaeckelとRouxへの回帰がライフサイエンスにとっては焦眉の急と言える。しかし一口に重力と言っても水中では浮力に相殺されて見かけ上1/6Gとなるが、水中の物体にも1Gはかかる。原始脊椎動物のサメと両生類のサンショウウオとでは、1/6Gと1Gを受ける違いがどこにあるのであろうか。この疑問は、骨髓造血巣を一切持たないサメにアパタイト人工骨格を用いて骨髓造血を人為的に誘導する実験進化学手法を実施すればすぐに解明ができる。サメを麻酔して陸上で手術する際に苦し紛れのため大暴れをする。その結果血圧が上昇するが、そうすると鰓で空気呼吸が可能となるのである。つまり重力は、生命体に直接作用する部分と、血圧の上昇とい

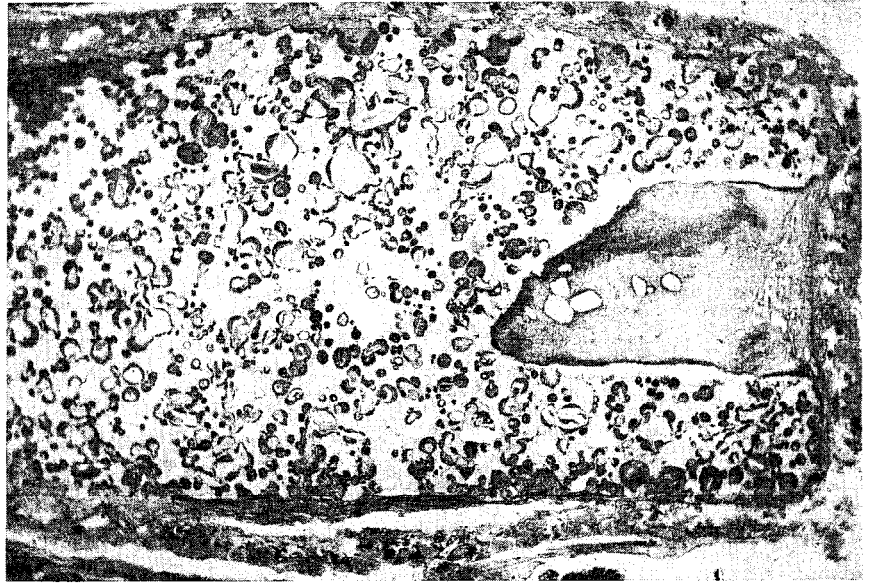


図3 皮下組織に移植した $10\mu\text{A}$  通電のアパタイトバイオチャンバーの4ヶ月経過時の造血と造骨の誘導像

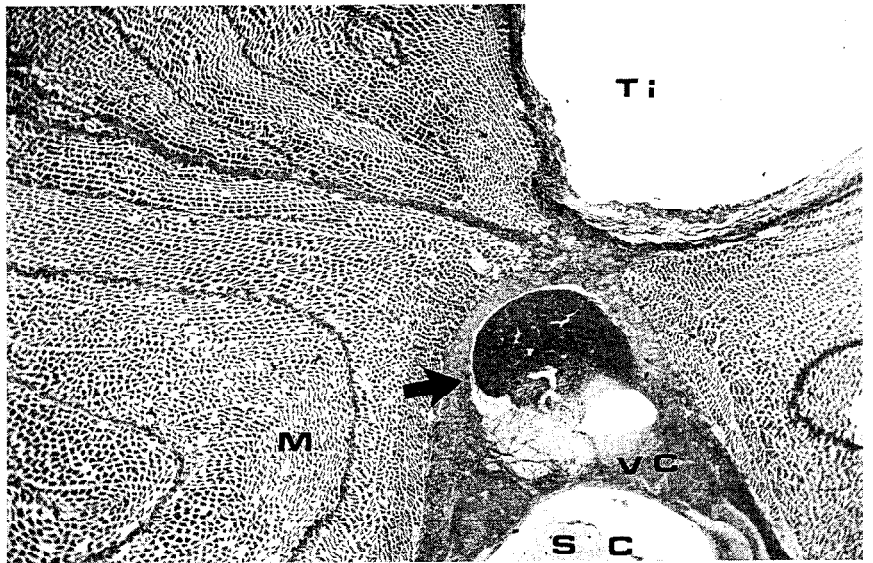


図4 脊椎軟骨に誘導された骨髓造血巢（ドチザメ）

Ti：チタンバイオチャンバー（ $10\mu\text{A}$ ） VC：脊柱軟骨 SC：脊椎 M：筋肉

う別の現象に変換される部分があったのである。サメと原始の陸棲動物の違いは、一義的には血圧だけと言うことができる。しかし、この血圧の違いは、実は呼吸の変換と連鎖した現象でもある。水から空気の変換では、鰓が機能できず、窒息しそうになると苦し紛れに暴れた結果血圧が上昇するのである。すると軟骨を形成していた間葉組織に作用する血流の圧が高まり、流動電位が上昇する。電位が上がると軟骨を形成していた間葉細胞の、遺伝子の造血と造骨の機能が同時に共役して引き金が引かれる。このときリン酸とカルシウムと酸素が存在すると赤血球造血に傾き、その他バクテリア、ポリペプチド、リピド、糖などの存在下では白血球、リンパ球、組織球誘導が起こるのである。

これが血圧の上昇による重力の二次的作用の本質である。それでは重力そのものの生命体に対する作用とはどんなものであろうか。これは二つの同じ条件にある生命個体を、1Gと2Gで育てて比較研究すれば究明できる。じつは従来の研究ですでに二種類の重力に関する実験が、それと気付かずに発表されている。一つは有名なルドワランの胎児期のウズラとヒヨコの神経堤や脳の移植例の研究であり、もう一つが動物（子犬とヒヨコ）を1Gと2Gで育てて比較する研究である。ルドワランの一連の実験では胎生期には6分の1Gが、孵化後に1Gが個体に作用するから、この研究で組織免疫として自己・非自己の概念とともに、この発現が胸腺に依存するという説が提唱された。2Gと1Gの比較では骨

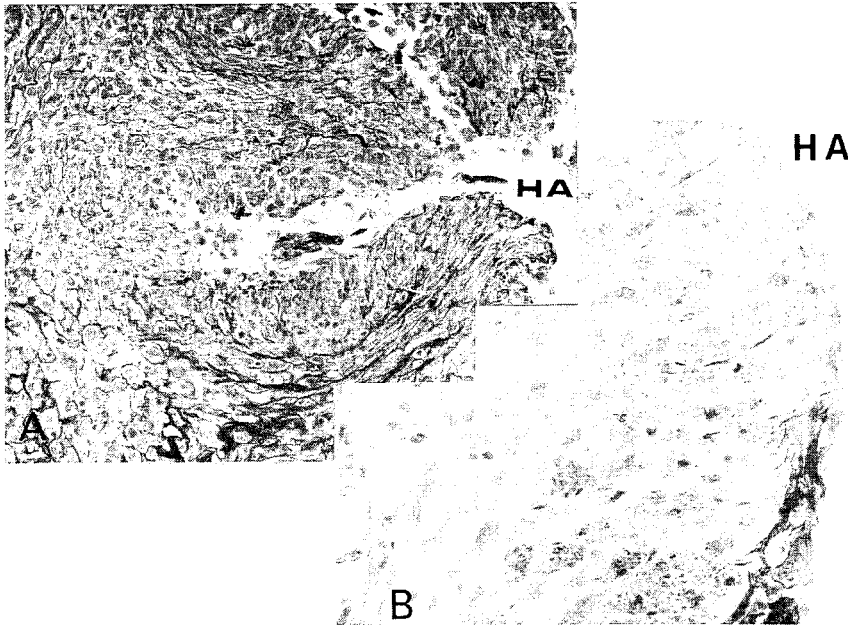


図5 コラーゲンアパタイト複合焼結体の組織反応 (成犬)

移植後10ヶ月経過時の組織像。A：細胞レベルの消化像は消化管の構造に似る (弱拡大)。B：吸収された栄養による細胞分化誘導は遺伝子発現による (強拡大)。

の矮小とともに胎児蛋白の急激な成体型への変換が観察されることから、重力が老化を促すことが示唆されていた。embryoの時期には、十分な羊水中に浮遊しているから、Haeckelが述べたとおりembryoは原始脊椎動物と同じ状態にある。哺乳類が海水を孕んだ族と呼ばれる由縁がここにある。つまりこの時期には、形態のみならず窒素の代謝から主要組織適合抗原に至まで、原始脊椎動物であったころに機能していた遺伝子が発現し、embryo期を脱してfetusに達すると形態・機能・代謝・免疫・リモデリング・遺伝子の六つの進化における変動因子の大部分が成体型に移行する。しかし、fetusの段階では機能面では呼吸が、免疫系では主要組織適合抗原やインムグロブリンGなどの発現がなく、また蛋白質は殆どすべてが胎児型である。実はこれらの変換が出産時の臍循環から体循環への変換に伴う血圧の上昇と、同時に起こる重力と空気呼吸への変換が引き金となった局所体細胞の遺伝子の作動であったことをこれ迄見落として来たのである。どうやら体細胞に重力が作動すると自動的に遺伝子の引き金が引かれるらしい。ゼノプス (アフリカツメガエル) を6カ月間陸で飼育して水中飼育のものと比較すると明らかに骨格が陸棲で小さく、心筋が哺乳類型に変換する。水棲の心筋は胎性蛋白である。このとき陸棲で暴れることもないから、血圧は著変ないと考えられるから、体が縮小して重力に対応していると考えられる。ゼノプスとサメ、

ヌタウナギつまり両生類・軟骨魚類・円口類には主要組織適合抗原がないため、これらの組織を哺乳類に移植しても生着する。従ってこれらの動物と哺乳類の間でハイブリッド型の臓器移植が可能かも知れない。

本研究は文部省科研費総合研究(A) (基盤研究(A)(1)) 07309063 (平成7年—9年) および、同重点領域研究(1)「創発システム」08233102 (平成9年度)、同基盤研究(A)(1) 09309003 (平成9年—12年) の助成による。

#### 文献

- 1)西原克成, 丹下 剛, 松田良一, 他: 人工臓器, 25(3): 753-758, 1996.
- 2)西原克成: 人工臓器, 24(1), 6-12, 1995.
- 3)西原克成: 日本ME学会誌 BME, 90(5): 2-10, 1995.
- 4)西原克成, 田中順三, 広田和士: 日本口腔診断学会雑誌, 9(2): 232-249, 1996.
- 5)西原克成, 丹下 剛, 松田良一, 他: 日本口腔診断学会雑誌, 9(2): 217-231, 1996.
- 6)Nishihara, K., Sato, Y., Morisawa, M.: Journal of Oromaxillofacial Biomechanics, 2(1): 16-18, 1996.
- 7)Nishihara, K., Kabasawa, H.: Journal of Oromaxillofacial Biomechanics, 2(1): 19-22, 1996.
- 8)Nishihara, K., Tange, T., Tokumaru, H. et al.: Bioceramics, 5: 131-138, 1992.
- 9)Nishihara, K., Tanaka, J.: Bioceramics, 9: 69-72, 1996.
- 10)Nishihara, K.: Proceedings of the 1st International Symposium of Tissue Engineering for Therapeutics Use, March 27-28, Kyoto, Japan, 1997. in print