

Title	異所性に誘導された骨組織内にみられる骨髄細胞の起源について
Author(s)	津山, 研一郎
Citation	大阪大学, 1984, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33960
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・(本籍)	津 山 研 一 郎
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 6 3 9 7 号
学位授与の日付	昭 和 59 年 3 月 24 日
学位授与の要件	医学研究科 外科系専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	異所性に誘導された骨組織内にみられる骨髄細胞の起源について
論文審査委員	(主査) 教 授 小野 啓郎 (副査) 教 授 松本 圭史 教 授 北村 幸彦

論 文 内 容 の 要 旨

(目 的)

実験動物に異所性の骨組織を誘導する方法はいくつか知られている。たとえば移行上皮，脱灰骨基質，不活化した骨肉腫細胞の移植によるものなどである。異所性に誘導された骨組織内には，造血骨髄も同時に形成されるが，骨誘導現象に関する報告は数多くみられるのに反して，同時にみられる骨髄についての報告は驚く程少ない。とりわけ，骨髄細胞の起源について，明確な証拠をもって記載された報告は見当たらない。骨髄細胞の起源としては，二つの可能性が考えられる。第一は，局所の未分化間葉細胞から新たに誘導される可能性。第二は，流血中を循環しているであろう造血幹細胞が，異所性骨組織内に定着・分化・増殖した可能性である。いずれであるかを知る目的で，以下の実験を行った。

(方法ならびに成績)

異所性骨組織の誘導には，Dunn 骨肉腫を用いた。Dunn 骨肉腫は，1955年Dunn により発見された野性マウスに自然発生した骨肉腫であり，CBA マウスで継代移植している。長年にわたる継代にもかかわらず，類骨形成能を失っていないのが特徴である。最近我々の研究室で，Dunn 骨肉腫より骨誘導因子を一旦可溶化し濃縮することに成功しているので，この方法を用いれば十分量の異所性骨を確実に誘導できるという利点がある。すなわち，Dunn 骨肉腫をホモゲナイズし，遠沈して得られた沈渣をアセトンで脱脂乾燥し，4Mグアニジン塩酸で48時間処理すると，骨誘導因子は一旦可溶化される。遠沈して上清のみを得，脱イオン水に対して透析すると，再び沈澱画分に骨誘導因子が回収される。これを遠沈し沈渣を凍結乾燥して作製したペレットを，マウスに移植すると，骨組織をほぼ確実に誘導することができる。

骨髓細胞の起源を同定するためには、ベージュマウス(C 57 BL/6- bg^J/bg^J , Chediak-Higashi 症候群)の持つ細胞質内巨大顆粒を、細胞の標識として利用した。正常 C 57 BL/6 マウスに 800R の放射線照射を行い、ベージュ C 57 BL/6 マウスの骨髓細胞 10^7 個を尾静脈より静注することにより、骨髓移植を施行する($bg^J/bg^J \rightarrow +/+$ キメラ)。キメリズムが完全に成立したことを確認できた放射線キメラマウスに、前述の方法で作製した骨誘導因子を含むペレットを、背部筋膜下に移植した。比較のため正常対照マウスも、ペレット移植の宿主として用いた。4 週後ペレットを回収して 2 分し、一方は組織学的に骨と骨髓の形成を確認するために用い、他方は骨髓の塗抹標本を作製し、ホルマリン蒸気で固定した後 Sudan Black B と Giemsa 液で染色し、骨髓細胞がベージュマウス由来のものか、正常マウス由来のものか調べた。ベージュマウス由来の、顆粒球系細胞の細胞質内に存在する Sudan 好性顆粒は、異常に大きく、数が極端に少ないので正常マウス由来の顆粒球系細胞とは、顕微鏡レベルで容易に区別することができるのである。

$bg^J/bg^J \rightarrow +/+$ 放射線キメラマウス 8 匹にそれぞれ 1 ないし 2 個、合計 13 個のペレットを移植したが、全ペレットに異所性骨組織とその内部に造血骨髓の形成がみられた。骨髓の塗抹標本をみると、顆粒球系細胞はほぼすべてベージュ型であった。すなわち異所性骨組織内の骨髓細胞は、放射線キメラマウスの Donor 由来であることがわかる。正常対照マウスにも同様の実験を行ったが、ベージュ型の骨髓細胞は全く出現しなかった。

(総括)

$bg^J/bg^J \rightarrow +/+$ キメラマウスに異所性に誘導された骨組織内にみられる骨髓細胞は、ベージュ型であった。このことから、骨髓細胞の起源はキメラマウスの流血中を循環しているベージュ型の造血幹細胞が、異所性骨組織内に定着・分化・増殖したものであり、局所の未分化間葉細胞から新たに誘導されたものではないことがわかる。造血幹細胞が流血中にも存在すること、および適した環境が与えられれば定着・分化・増殖するという報告は、既に多くみられる。しかし、これらの報告は、骨髓の移植実験、胎児肢芽の移植実験、骨髓の搔爬実験などであり、移植組織中の生きた細胞の関与を無視できないし、また造血幹細胞が定着しやすい環境が既に与えられているともいえる。今回の筆者の報告のように、生きた細胞を含まず、また正常の組織構築をもたない材料(骨誘導因子)を用いて、新たに異所性に骨誘導を引き起こしたときに同時にみられる骨髓細胞の起源について、言及した報告はみられない。骨誘導現象において、骨細胞に分化するのは局所の未分化間葉細胞であるといわれている。骨髓も同様に未分化間葉細胞から新たに誘導されるのではないかという仮説も提唱されていたが、否定的である。

論文の審査結果の要旨

骨組織と造血細胞とは、非常に密接な関わりあいをもっている。成体において造血の行われている場所は骨の内、すなわち骨髄組織のみであるし、また異所性に骨組織が形成されると、その中に造血骨髄も同時に形成される。両者の機能的関連は、極めて密接なものではあるが、両者がその起源も同じくす

るものか否かについては、いまだ不明確である。

本研究は、ベージュマウスのもつ細胞質内巨大顆粒を、細胞の起源を知るための標識として利用することによって、異所性骨組織内にみられる骨髄細胞は、流血中を循環している造血幹細胞が定着・分化・増殖したものであることを実証し、骨と骨髄組織は異なる起源からなることを証明し得たものであり、学位論文として適当である。