
総 説

コラーゲン線維の配向性が生体組織の運動機能を決める — マイクロ波による新しい測定法の適用 —

奈良県立医科大学化学教室

大 崎 茂 芳

FIBER ORIENTATION OF COLLAGENS DETERMINES THE MOTIONAL FUNCTIONS IN BIOLOGICAL TISSUES — APPLICATION OF A NEW METHOD USING MICROWAVES —

SHIGEYOSHI OSAKI

Department of Chemistry, Nara Medical University

Received September 20, 2005

Abstract : 最近注目を浴びているコラーゲン線維は、細胞外マトリックスの主要な構成要素であり、その配向性は生体組織の機能に大きく影響することが考えられる。ところが、生体組織におけるコラーゲン線維の配向性はほとんど注目されておらず、また、その配向性を測定する適切な方法もなかった。著者は、コラーゲン線維の配向性を 25 秒以内という迅速さで測定できる世界的に新しいマイクロ波方式 (Osaki's microwave method) を見出した。その原理は、プローブとしてのマイクロ波とコラーゲン分子鎖の局所運動 (β 緩和)部の双極子との相互作用から、コラーゲン線維の配向性を検知するというものである。コラーゲンの分子構造とマクロの生体機能を繋ぐツールとして、マイクロ波方式を皮膚、骨、肺などの生体組織に適用した。その結果、コラーゲン線維の配向分布は生体組織における伸び縮みなどの運動機能をきわめて合理的に反映していることがわかってきた。そして、コラーゲン線維の配向分布に基づいた皮膚移植法も提案することができた。今後、様々な生体組織におけるコラーゲン線維の配向性と機能の関係を生活システムの観点からアプローチしたい。

Key words : collagen, biological tissues, fiber orientation, functions, microwaves, new method

はじめに

最近、美容のための化粧品や健康食品でのコマーシャルでコラーゲンという言葉を目にする事が多い。いつまでも若さを維持したいという人間の願いは、秦の始皇帝を持ち出すまでもなく、人間の永遠の課題でもある。コラーゲンは当然のことながら、皮膚、骨、腱などの動物の支持組織を構成するのに重要なタンパク質である。

地球上に誕生した初期の生命は一つの細胞からなる原始的なシステムをもっていたものと思われる。しかし、このシステムでは高度な機能をもった生物にはなりえなかった。ところが、初期の生命は進化の過程で、複雑な機能をもった生物体を構築するために画期的な多細胞システムをつくることに成功した。そして、動物は多細胞システムの恩恵を受けるとともに、コラーゲン分子という便利なものを作り出した結果、大型化できるようにな

ったのである。

コラーゲンに関する研究は、20世紀後半は、遺伝子、特に華やかなDNA研究¹⁻³⁾の陰に隠れた存在であった。もちろん、膠原病と呼ばれる疾患などのように細胞外マトリックスが重要な役割を担うケースがたくさんある。ところが、細胞外マトリックスを構成する主要なコラーゲンの集合体の取り扱い方が容易でないために、コラーゲンに関する研究は非常に少なかった。

1990年代の後半になって、それまでDNAの脇役的な存在とみなされていた細胞外マトリックスが様々な機能を発揮することがわかり、コラーゲンに関する研究が少しではあるが増えてきた⁴⁾。特に、21世紀になってポストゲノムという認識の中で、遺伝子が作るコラーゲンを含むタンパク質の研究が注目を浴びてきた。

コラーゲンはDNAとは違って、我々がその集合体である生体組織のマクロな性質の一端を直接認識できるという点で、非常に身近に感じられる。もし、生体の運動機能をコラーゲン線維の配向性という観点から理解できれば素晴らしいことである。しかしながら、そのようなコラーゲン線維の研究はほとんど見られない。それは、コラーゲン線維の配向性の意味が十分に認識されていなかったことや、その配向性を測定する適切な方法が無かったことが挙げられる。このような状況の中で、著者は分子や繊維(線維)の配向性を迅速に測定するマイクロ波方式を見出し⁵⁾、それをフィルムや繊維シート^{6, 23)}のみならず生体組織にも適用し^{24, 32)}、生体組織におけるコラーゲン線維の配向性と運動機能との関係を明らかにする突破口を開くことができた。

本報告では、生体組織の機能を分子レベルから理解するために、動物の支持組織を構成するコラーゲン線維を取り扱ってみたい。まずは、コラーゲン線維の生成過程や分子構造について触れたい。次に、著者の見出したマイクロ波方式⁵⁾というコラーゲン線維の新しい配向測定法の特徴について、開発の経緯を含めて述べたい。そして、マイクロ波方式を皮膚、骨、肺などの生体組織に適用して得られた数々の新しい知見について述べたい。最後に、生体におけるコラーゲン線維レベルの配向性と力学的性質との関係を明らかにするという観点から、研究の方向性を探ってみたい。

コラーゲン分子とは？

コラーゲンにおける研究の歴史

コラーゲンの研究は、X線小角散乱による長周期の観測や電子顕微鏡による組織の観察に始まっている。1940年代の初めにコラーゲン線維が約70 nmの周期構造を持

つことが示された。1955年にはドーティがコラーゲンの分子量が約30万で形は球状で、長さが310 nmという結果を得た。1956年には、ホールが電子顕微鏡にてコラーゲンの一つの分子を観察することに成功し、長さが282 nm、直径が1.5 nmであることを示した。その後、1960年にホッジとシュミットがコラーゲン線維の1/4ずれモデルを、1961年にリッチとクリックはコラーゲンが3重らせん構造をとるモデルを提出している³³⁾。同年に、ピーズは分子量が約30万のコラーゲンは分子量が約10万の3本のポリペプチド鎖から構成されていることを報告した。コラーゲンの α 鎖の全アミノ酸配列が決定されたのは1983年のことである³⁴⁾。

コラーゲンの研究の歴史は古いですが、何よりも、コラーゲンの結晶構造が未だに決定しきれていないところにDNAの研究との間に大きな差があると思われる。一方、1987年に著者はマイクロ波方式による分子や繊維の配向測定法を見出し^{6, 7)}、コラーゲン線維の配向に関する研究成果を報告し始めた^{24, 32)}。1990年代に入るとコラーゲンの研究、特に細胞外マトリックスの研究が増えてきた⁴⁾。

コラーゲンの分子構造

人体には分子構造の異なる約2万数千のタンパク質が存在し、その担う機能においても酵素、構造タンパク質、調節タンパク質などがある。ほとんどの生命現象は、これらのタンパク質の多彩な機能によって成り立っている。その中の構造タンパク質であるコラーゲンは、体の中にもっとも大量(20~30%)に存在するタンパク質で、皮膚、骨、歯、腱、軟骨、血管などの結合組織(支持組織)を構成する。コラーゲン分子が通常タンパク質と大きく違うところは、構成アミノ酸の中で、水酸化したプロリンおよびリシンが存在するところにある。

ところで、コラーゲンの名称は見つけられた順番にI型、II型、III型と名づけられてきた。全部で20種類が見つけられたが、V型とXI型は同種といわれていることもあり、正確には19種類の分子種である。I型は皮、骨、歯、腱などに、II型は軟骨に見られる。III型は皮膚や血管の壁などにあり、細網線維を作る。IV型は上皮細胞と結合組織と間にある基底膜に存在している。V型コラーゲンは胎盤に存在している。これらのI型からV型までは1980年ごろまでに分子生物学の力を借りずに発見されている。しかし、それ以外の多くのコラーゲンは分子生物学の助けを借りている。これらのコラーゲンは遺伝子のエクソン構造とタンパク質のドメインの配置によって、細胞外マトリックスでいくつかのファミリーに分類

されるのである³⁵⁾。

遺伝子 DNA の塩基配列順序の解析から、ヒト I 型コラーゲン鎖の一本のペプチド鎖は 1000 残基以上のアミノ酸からなっていることがわかっている。約 1000 残基のうち、両端の十数個から二十数個の残基を除いて、アミノ酸残基は Gly—X—Y のトリペプチドの繰り返しである。グリシンは必ず 3 残基ごとに現れ、コラーゲン鎖の約 96 % が (Gly—X—Y)_n の型をしている。つまり、グリシンの割合は 1/3 であり、また、X と Y を合わせてプロリンが約 1/3 を占める³⁶⁾。遺伝子配列の解析からプロリンやリシンが水酸化されているのかどうかはわからない。天然コラーゲンでは X はしばしばプロリンである。しかし、Y がプロリンである場合、プロリルヒドロキシラーゼという酵素によって、そのプロリンは 4-ヒドロキシプロリンに変換されている。とにかく、プロリンと 4-ヒドロキシプロリンの和が全アミノ酸の約 1/3 を占めている。このヒドロキシプロリンはコラーゲンの 3 重ラセン構造の安定化に重要な役割を担っている。約 1000 残基のうち、両端の十数個から二十数個の残基の部分は水酸化されずにプロリンのままであることから、ラセン構造をとっていない。ここで、1042 残基のポリペプチドからなるウシコラーゲン α₁(I 型)における C 末端部のアミノ酸配列を示す(図 1)³⁶⁾。

コラーゲン分子の特徴は、分子量が約 10 万の 3 本のポ

リペプチド鎖から成る 3 重ラセン構造を持つところにある。そのうち、2 本は同じ(α₁)で、もう 1 本は異なる(α₂)構造をもつ。この 3 本のポリペプチド鎖(α 鎖)のそれぞれが天然繊維では珍しい左巻きのラセン構造で、各鎖は互いにゆるく右巻きラセンをつくっている。ただし、コラーゲン分子鎖の両末端領域では、隣り合ったコラーゲン分子の間に二つのリシン残基によるアルドール結合の架橋が形成される。この架橋は、引張りに対して非常に強い構造であると考えられる。

3 重ラセンのコラーゲン分子には架橋があるため、そのままでは水に溶けにくく、生理的条件下で会合して、容易にコラーゲン線維となる。プロリンの水酸化はコラーゲンの細胞内通過および細胞外への分泌をも促進する。コラーゲン分子の 3 重ラセン構造は熱に不安定であり、約 40℃ で 3 重ラセンがほどけて、一本一本のポリペプチド鎖が溶け出してくる。溶け出したポリペプチド鎖は冷やすとゼラチンになる。したがって、コラーゲン分子の分子内および分子間における架橋は、われわれが発熱したときに人体内で最も大量にあるこのタンパク質が無定形のゼラチンに変化してしまうのを防ぐ役割をしている。

コラーゲンはかなりまっすぐ延びたポリペプチド鎖であるために、軸方向の力学的な引張りに対して強い。それは、分子鎖の主軸の共有結合が伸びにくいからである。このコラーゲンの分子レベルの構造は、後半で述べるよ

958

- Gly - Pro - Arg - Gly - Pro - Hyp - Gly - Ser - Ala -

967

- Gly - Ser - Hyp - Gly - Lys - Asp - Gly - Leu - Asn -

976

- Gly - Leu - Hyp - Gly - Pro - Ile - Gly - Hyp* - Hyp -

985

- Gly - Pro - Arg - Gly - Arg - Thr - Gly - Asp - Ala -

994

- Gly - Pro - Ala - Gly - Pro - Hyp - Gly - Pro - Hyp -

1003

- Gly - Pro - Hyp - Gly - Pro - Hyp - Gly - Pro - Pro -

図 1. ウシ α₁(I)コラーゲン鎖の三本ラセン領域 C 末端部のアミノ酸配列。Gly-X-Y という三連配列の X は Pro. Y は Hyp(4-ヒドロキシプロリン)のことが多い。Hyp*は 3-ヒドロキシプロリン。1042 残基のポリペプチド鎖のうち、1011 残基が Gly-X-Y という単純な繰り返しである。(Bornstein, P. and Traub, W.: The Proteins, 3rd Ed. (Neurath, H. and Hill, R. L. eds.), vol.4, p.483. Academic Press (1979))

うに生体組織の様々な性質を反映するものと考えられる。

コラーゲンの結晶構造

天然コラーゲンは良い結晶が得られないために、結晶構造を解析するにふさわしいX線回折写真は得られていない。そのため、合成したモデルペプチド結晶の構造解析により得た構造が、コラーゲンのX線解析像を矛盾なく説明できるかどうかという視点で、コラーゲンの結晶構造を決定する研究が行われている。

ワトソンとクリックがDNAの2重らせん構造を提案³⁵⁾した1950年代に、クリックはDNAの2重らせんの提案に続いてコラーゲンでも3重らせん構造を提案している³⁶⁾。その後、奥山らはリッチとクリックとは異なるらせん対称の構造を提案した³⁷⁾。ところが、現在ではほとんどの生化学の教科書にはリッチとクリックのモデルが掲載されている。その後、モデルペプチドのX線結晶解析やエネルギー計算などでは、奥山らのモデルが支持されるようになってきている³⁸⁾。

そもそも、良い結晶によるコラーゲンのX線回折像が得られさえすれば、構造解析はもっとすっきりするはずである。本来、クモの糸のように柔軟性が要求される物質には非晶性であることが要求される。同様に、コラーゲン線維もかなりの柔軟性が要求される。とすれば、非晶性であることが生体組織でのコラーゲン線維の特徴なのかもしれない。

もし、コラーゲンの構造がはっきりすれば、他分子との相互作用などに関係した機能的なことが明らかになってくる可能性がある。たとえば、血小板は傷害血管のコラーゲンを認識して血管を作ることが知られているが、天然コラーゲンよりも(Pro-Hyp-Gly)₁₀やその重合の方が100倍近く血小板の活性が高いことも知られている³⁹⁾。このように、コラーゲンの構造は周囲と関係した様々な機能に影響を及ぼすと考えられるのである。

コラーゲン分子・線維は体内でどのようにして作られるのか？

動物の組織は、細胞と細胞外基質からなっている。細胞外基質とは、細胞が作り出したものを細胞外に放出した高分子物質の集合体である。最も一般的な結合組織である疎性結合組織の細胞外基質は、水分に富んだゲル状の基質のなかに線維が埋まったものである。そのため、基質はクッションとして働くとともに、線維は引っ張りに対して強いのである。細胞外基質の代表的な分子であるコラーゲンは細胞内で合成されたあと細胞外へと搬出され、集合して線維状になる。

まずは、細胞内の粗面小胞体でプロコラーゲンが合成される。プロコラーゲンの主要部分は3本のヘリックス構造をとるポリペプチドが互いに絡み合った三重らせん構造をしている。プロコラーゲン分子は両端のアミノ末端とカルボキシル末端にプロペプチドと呼ばれる別のペプチドがあり、その部分は非らせん構造をとっている。そのプロペプチド部分は、プロコラーゲン分子を水に溶けやすくする機能をそなえている。

プロコラーゲンは粗面小胞体に入って、修飾を受ける。最初に、プロコラーゲンを粗面小胞体に誘導してきたシグナルペプチドが除去される。次に、プロリン残基とリシン残基のいくつかが酵素によって、それぞれ水酸化プロリンと水酸化リシンになる。次に、水酸化リシンのあるものは、グルコースとガラクトースの糖付加を受ける⁴⁰⁾。

プロコラーゲンのプロペプチド部分は細胞外へ出てから酵素によって切断される。この切断されてできた分子(長さ280 nm)はトロポコラーゲン(単にコラーゲン)と呼ばれ、ほぼ三重らせんのみからなる。トロポコラーゲン分子は細胞外において長軸方向に集まって、規則正しい互い違いの配列の繊維構造をとり、67 nmの模様を呈する。I、II、III、V、VI型コラーゲンになる⁴⁰⁾。なお、このような線維構造の形成は、細胞内では細胞を破壊することになるため起こらない。

コラーゲン細線維とコラーゲン線維束の並び方は、それらを合成する細胞によって決まる。プロコラーゲンは細胞膜のヒダや溝に放出される。そのヒダや溝が、細線維を適当な方向に並べる鋳型として機能する。さらに、細胞が細線維を引っ張ったり引きずったりして、適切に並びかえる。IV型コラーゲンは線維構造をとらず、プロコラーゲン分子はフェルト状の網目を作り、基底膜として働く。

プロリン残基の水酸化には、ビタミンC(アスコルビン酸)が必要である。ビタミンCが欠乏している人では、トロポコラーゲン分子は安定な3重らせんを作れないので、凝集してコラーゲン細線維を作ることができない。水酸化されなかったトロポコラーゲンは細胞内において分解されてしまうのである。そのため、形成された線維の引張り強度が極端に低下してしまうというわけである。このような状態では、皮膚や血管のコラーゲン組織も力学的に弱くなり、血圧のために血液は血管から漏れ出してしまうようになる。これが壊血病の原因である。

リシン水酸化酵素が欠損すると、エーラーズ・ダンロス症候群という遺伝病を引き起こす。この疾患では、トロポコラーゲン分子間に異常な結合が見られる。この病

気になると、異常なコラーゲン線維が産生され、そのために関節の可動域の拡大や皮膚の過伸展が起こる。また、皮膚は傷つきやすくなり、関節の脱臼が起こりやすくなる⁴⁰⁾。

コラーゲン線維の配向性を測定する新しい方法の発見 分子・線維の配向性とは何か？

配向性とは分子や線維(繊維)の並ぶ方向とその並ぶ度合いの両方の因子でもって表わされる。プラスチックの分野では、古くから配向性の評価法とその制御は品質の向上のために極めて重要なものである。たとえば、工場です数メートル幅のフィルムを製造する際に、マシンの中央部と両端部とでは温度や力の加わり方などの条件が異なっているため、フィルムの全幅方向にわたって分子を均一に配向させることは非常に難しい。分子がフィルムの幅方向に不均一に配向しておれば、箇所によって歪の方向や大きさが異なり、最終的に製品の寸法安定性に影響してくる。たとえば、不均一に分子配向している磁気テープ用のポリエステルフィルムでは、長い間に温度や湿度の影響でフィルムの歪が緩和してしまう。このため、フィルム面に塗布された磁気もずれる結果、音声や画像が変わってしまうというトラブルを起こす。また、ラーメン容器や弁当箱に使用する発泡ポリスチレンなどでも、分子配向の不均一性から歪みが生ずるなど、製品の積み重ねが出来ないというトラブルも起こっている。また、紙おむつなどの不織布における繊維の配向性を制御しないと、一部が力学的に弱くなり汚物が漏れ出してしまうという問題が起る。一方、延伸して分子を特定の方向に配向させたポリプロピレンは、荷造り用の紐として利用される。このように、化学製品の品質を向上させるには分子や繊維の配向性の制御が重要であり、『配向性の制御は永遠の課題』とも言われてきた。

生体ではコラーゲン分子は、コラーゲン線維となり、さらにコラーゲン束となって皮膚、骨、腱などの支持組織としての機能性を発揮する。これらの生体組織におけるコラーゲン線維の配向性を機能の観点から考えることは重要なことと思われる。ところが、古くから、生体組織の配向性にほとんど関心が持たれていなかった。それは、配向性の重要性が良く理解されていなかったためと思われる。それまでは、たとえば、皮膚では配向性がないことが特徴とされ、そのために様々な方向に伸び縮みしやすいと認識されていたぐらいである。

もちろん、X線回折や電子顕微鏡観察は用いられたが、あくまでも微細領域の配向性が触れられる程度で、配向性とマクロな性質との関連という視点は全く無かった。

著者は1987年に透明体のフィルムの配向測定用に便利な光学方式も見出したが^{41,42)}、この方式は不透明体である生体組織には適さないものであった。また、古くから牛革において力学強度の測定はされていた。しかしながら、この破壊測定方法はコラーゲン線維の配向分布を議論する程度のもではなかった。

このように、古くから生体組織におけるコラーゲン線維の配向性を測定する適切な方法はなかったために、配向分布をイメージすることが出来なかったものと思われる。生体組織におけるコラーゲン線維の配向性は力学強度と関係した組織の運動機能と密接に関係することから、後で述べるように、コラーゲン線維の配向性を知ることは重要なことなのである。

マイクロ波方式の着想

著者は大阪大学の大学院時代には、1 Hz ~ 1 MHz (10^6 Hz)の周波数帯の電磁波を用いた誘電測定で機能性高分子のミクロレベルの分子運動を調べていた^{43,44)}。当時の著者らの分野における世界的に大きな関心事は、高分子の超電導体かまたは強誘電体を作るか発見するかにあった。無機物質の超電導体は珍しくもないが、高分子で高温超電導体ができれば、エネルギー的にはもちろんのこと、成型可能という点から技術のブレークスルーが期待される。その発端は、Littleによる有機超電導体の理論が提出されたことであったが、研究者はそのモデル物質をいかに作成するかに躍起になっていた。しかし、現実的に超電導体を合成することは極めて困難であった。そのためか、多くの研究者は次第に高電導体の研究へと関心が移っていった。ちなみに、白川英樹教授は高電導体でノーベル化学賞を受賞されている。一方、高分子強誘電体に関しても、代表的な機能性物質として世界的に多くの研究者が血眼になって探し当てるべく研究に勤しんでいた。大学院時代の著者もその一人であった。その頃、著者はポリフッ化ビニリデンⅡ型結晶の融点以上に保つと、不思議なことにその温度域でポリフッ化ビニリデンⅢ型の結晶が生成することを見出した⁴⁵⁾。しかもそのⅢ型結晶が強誘電体的性質を持つことを世界で初めて見出した^{45,46)}。このとき、研究室のメンバーも最初は信用しなかった。裏話であるが、この発見は長い間学界で無視され続けていた。発見後、4~5年経って、同じ分野で活躍している理化学研究所の古川猛夫先生(現東京理科大学教授)が米国での国際学会で外国の学者らが、「世界中で多くの研究者が高分子強誘電体を見出すことに血眼になっているが、日本の大崎らがすでに見つけているではないか」と言っていたと著者に話してくれたことがある。そ

して、私を人に紹介するとき、その話を持ち出してくれたことが何度となくあった。それでも、著者の発見は学会では無視され続け、20年後の最近になって、やっと世界のハンドブックに著者らの名前が記載されるようになった。

高分子強誘電体を発見した頃、著者は、結晶構造が既知の機能性高分子を特定方向に配列させ、同一のサンプルで分子運動を反映する誘電的異方性が測定できれば、構造と物性の関係を明らかにできる有力な手段になりえると考えていた。ところが、従来の誘電測定法では、その測定原理から、同一サンプルを用いては誘電的異方性を測定することは不可能であった。

高分子強誘電体を発見して5年ぐらい経った頃、企業に勤めていた著者は今まで扱ったこともないマイクロ波領域(109Hz ~ 1010Hz 帯)の電磁波のことを考えていた。それまでは、マイクロ波領域での誘電測定は円筒軸の中にサンプルを閉じ込めるという方法であった。その測定方法では温度変動によるデータのばらつきが大きい、信頼性に欠ける。そのために、マイクロ波領域でのデータはあまりなかった。あるとすれば、タイムドメイン法というのがあったが、どんな方法にせよ、非接触でマイクロ波領域での異方性測定などは原理的に無理な話であった。しかしながら、著者は導波管を用いるならば、その内部にマイクロ波の偏波がでていくことから、同一のサンプルで異方性測定ができるかもしれないと旅行中の新幹線の中で考えていた。

マイクロ波域には、極性を持った高分子の局所運動に基づく β 緩和の存在することが1MHz以下の周波数帯でのデータから推定されている。局所運動をする箇所の双極子の位置は分子鎖によって決まっているので、分子鎖の並びによって双極子の方向が規定される。それで、マイクロ波偏波を照射すれば、マイクロ波の電界ベクトルと双極子ベクトルとの相互作用は、分子鎖の並ぶ方向によって異なることが予想される。つまり、相互作用を反映する透過マイクロ波強度の角度依存性を調べれば、分子鎖の並んでいる方向と並び具合を知ることが出来ると考えたのである。

具体的には、導波管内で発生させたマイクロ波偏波をシート状サンプル面に垂直に照射する。そして、サンプル面の中心を軸として回転させれば、回転角度によって分子運動している分子鎖における双極子とマイクロ波領域での電界との相互作用が異なるので、サンプル内の分子鎖の異方性が測定できるはずであると考えたのである。また、それまで用いられていた接触方式での誘電法は、同じサンプルで異方性測定は原理的に無理であった。そ

の上に、サンプル表面に金属蒸着が必要であるため、繊維質の物質や生体組織などの空隙の多い物質には適していなかった。しかし、著者の考えているマイクロ波方式が実現すればサンプル表面に金属蒸着を必要としない非接触測定法であり、しかも測定の簡便さと迅速さという観点から極めて大きな利点があると考えられた。もちろん、このようなマイクロ波測定法は今までに全く考えられていなかった。従来の接触測定法での誘電的異方性測定の限界を感じていた著者は、頭に浮かんできたマイクロ波方式はフィルムの分析に画期的な変革をもたらすかもしれないと興奮し、旅行から帰ってきてから自分の頭の中で測定法の開発の計画を練ることになる。

ところが、現実には多くの試練が待ちうけていた。配向測定法は私のアイデアだけで何の裏づけもなく、上司はあまり反応を示さなかった。もちろん、開発費は優に数千万円はかかると予想できるものであった。そのため、仕方なしに私は特許だけを出願することにした。その後、最終的に50を越える特許を出願し、大部分は登録されたが、当初は勤務先の企業で、著者のアイデアは一年間ぐらい無視されていた。確かに、アイデアだけでは無理もないことであつたし、アイデアの内容もかなり電磁気的な専門知識が必要で誰にでも理解できるようなものでもなかった。また、いくら良い特許と思っても、採算に合わないものや、事業化する見込みのないものに企業が興味を示さないのは当然であることも体験的に感じとっていた。ところが、ある役員が取締役会議で私の出した特許は面白そうだと目を付けてくれたことをきっかけに、マイクロ波方式の開発が本格的にスタートすることになったのである。

配向測定装置の開発

マイクロ波偏波は導波管内で発生させることができる。サンプルにマイクロ波を照射するには、導波管に間隙を設け、そこに挿入しなければならない。ところが、導波管に間隙を設けると電波は間隙から漏れてしまい、本来サンプルに当てるべきマイクロ波強度は小さくなってしまふという矛盾が発生した。工学部のマイクロ波工学の専門家を何人も訪ねてみたが、どの学者も導波管に間隙を設けてはならないのが常識であると言う。もともと、導波管内面は電力を移送する役割を担うもので、導波管を切り裂いて間隙を作ると、その隙間から電波が逃げってしまうのは当然で、間隙を開けることは邪道であると自信を持って言う。ただ、著者の出身の研究室で高分子物理学を専門とし、装置開発も手がけておられた植村振作先生一人だけが、「その分野の相談相手なんかどこにもい

ないよ、君が理論を作ればよいのではないか」と言われたので、著者ははっとしたのであった。

とにかく、ほとんどというよりすべての専門家が著者の考えた方法での測定は不可能であるという指摘をしていたので、著者はそれらの指摘をなんとか覆そうと思っていた。測定器を開発する現実のプロセスで、確かに専門家があらかじめ指摘していた多くの問題点にぶち当たり、その都度立ち止まることになった。世の中に受け入れられていない今までに全くない発想であったが、電磁気学の基本は十分に理解していると思っていた著者は原理的にはマイクロ波による配向測定が可能であると信じていた。そのため、それらの多くの指摘された問題点にも順次対処することにした。

最終的には、電気、機械、コンピューター、測定に関して専任のメンバーで一つのグループを組織し、著者はグループリーダーとして、約2年かけて新しい測定原理に基づいた測定装置を作りあげることになった(図2)。スタートした頃、他の部署の人々も新しい開発に関心を持ってきて協力的であった。ところが、開発過程で技術的な問題も次から次へと発生した。そのため、途方にくれたこともあった。その結果、周りの協力者が減ったこともある。悪戦苦闘の末、著者のグループでプロトタイプを作るまでに漕ぎ着けて、開発が軌道に乗ってきた。面白いことに、開発の峠を越えたころに、協力者が突然

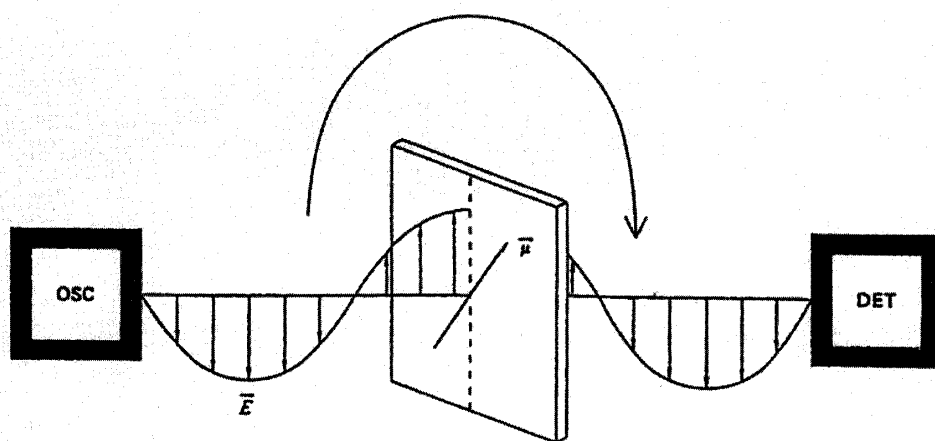
増えたのには驚いた。その後、多くの製品を製作するまでになり、最初の一台目の商品を日本の大手家電メーカーに納めることができた。商品の価格も著者が決めることになった。世界で類の無い装置なので世界的に化学・電気工業にニーズが大きく、ライバル商品もないこともあって、売価の7割以上の利益を生むことになった。

ところで、化学・電気工業用に開発した装置は、そのまま生体組織に適用することはほとんど不可能であった。そのため、後年になって著者は数年以上の歳月をかけて生体組織用の装置に開発しなおすことになった。

マイクロ波方式の特徴

導波管から構成される空洞共振器系の間隙部にシート状サンプルを挿入すると、マイクロ波偏波がシート面に垂直に当たる。この状態で、シートを6秒で一回転させる。すると、偏波はシートが回転する角度1度ごとに透過マイクロ波強度が計測できる。分子や繊維の配向性は、分子や繊維がどの方向に並んでいるのか(配向角度)、また、どの程度並んでいるのか(配向度合)によって規定される。計測した透過マイクロ波強度の角度依存性から配向角度および配向度の両者を求めることができる。また、マイクロ波域での誘電率および誘電損失率も精度よく測定でき、非接触で厚さ測定も可能である。さらに、マイクロ波方式によって非晶域の配向性が求まるのは、他の

マイクロ波測定法



マイクロ波偏波を回転するシートに垂直に照射

図2. マイクロ波方式による配向性の測定原理。回転させているサンプルにマイクロ波偏波を照射し、回転角度ごとにマイクロ波偏波と分子の双極子との相互作用を、透過マイクロ波強度として検知し、その角度依存性から配向性を調べる方法。

方法で見られない特徴でもある。

マイクロ波方式はわずかの分子の配向性が検出できることから、フィルム、紙、不織布などに非常に有益な非接触・非破壊測定法である(図2)。もちろん、マイクロ波方式で得られたデータの正当性は、従来の方式によるデータとの比較検討によって確かめられた。

分子や繊維がランダムに配向しておれば、透過マイクロ波強度の角度依存性はほとんど円となる。ところが、分子や繊維が平均として一定方向に配向しておれば、透

過マイクロ波強度の角度依存性は細長いマユ状のパターンとなる。また、平均としてほんの少ししか配向していない場合でも、少し傾いた楕円状のパターンが得られる(図3)。

古くからの配向測定方式として、X線回折、赤外線二色性、複屈折率、力学測定法などが知られ、それらが世界的な科学分析の基準になっている。ところが、X線回折では1mmサイズ以下でしかも微小な結晶部分の配向しか反映しない。しかも、一回の測定で数時間もかかる。

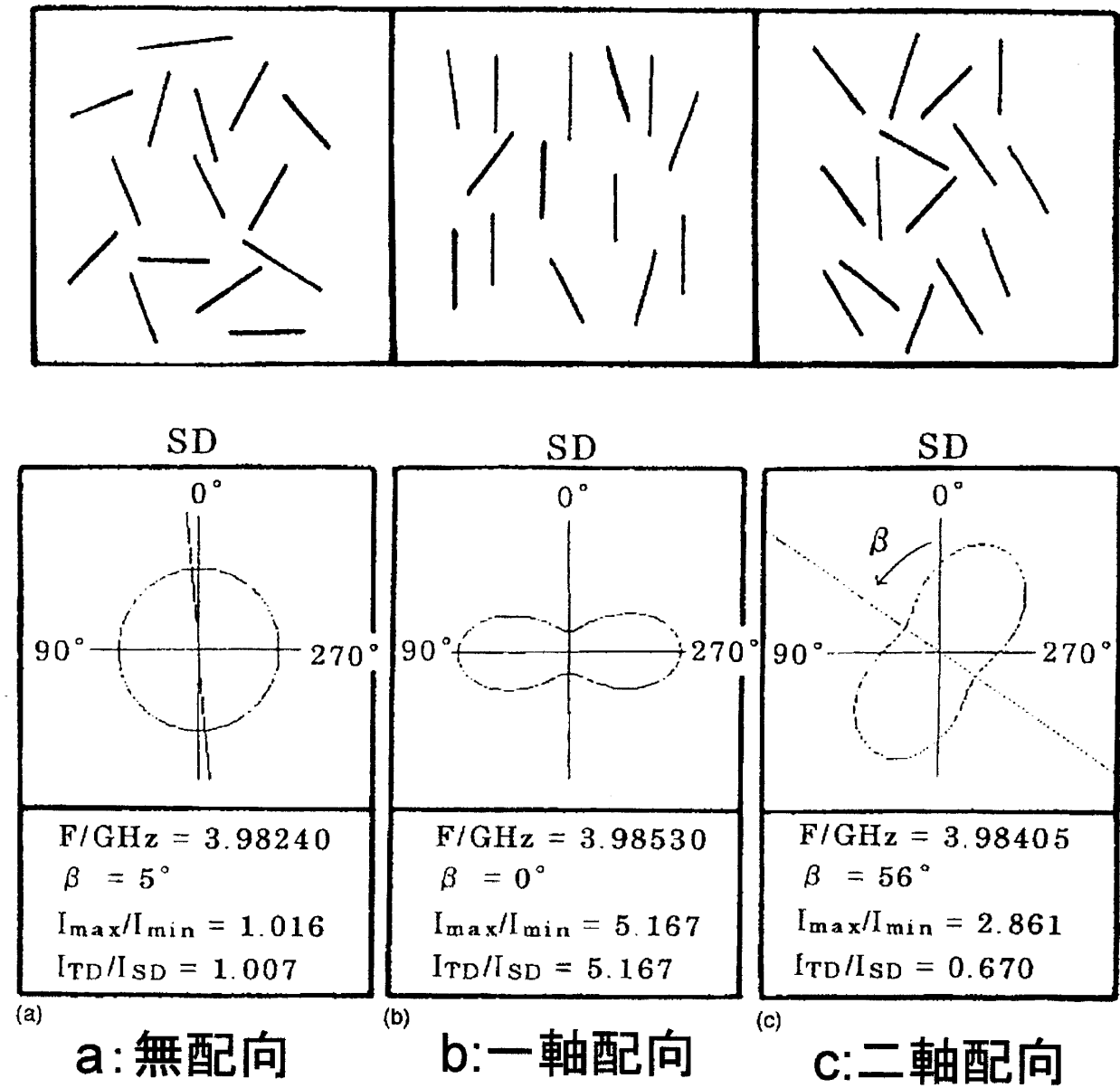


図3. マイクロ波方式で測定した配向パターン. 棒の向きは分子あるいは繊維の配向している方向を表す. Fは測定周波数. β は配向角度. $I_{\text{max}}/I_{\text{min}}$ は透過マイクロ波強度Iの最大値(max)と最小(min)値の比. $I_{\text{TD}}/I_{\text{SD}}$ はTD(基準方向と垂直な方向)およびSD(標準方向)方向における透過マイクロ波強度の比²³⁾. a: 無配向, b: 一軸配向, c: 二軸配向

力学測定は最も容易に利用できる測定法である。しかし、異なった角度の方向でストリップ状サンプルを調製するとなると、かなり大きな領域の試料が必要である。また、限られた領域だけの測定とそれらのデータの解析ともなると一日仕事となる。赤外線二色性は透明性のある薄いサンプルでなければならない。複屈折率も、可視光を用いるために透明なサンプルであることが前提とされる。このように、古くから一般に用いられている配向測定法は、どれも測定に時間がかかりすぎる。また、サンプルが小さすぎたり、大きすぎたりする。もちろん、生体組織などの不透明なサンプルには、従来の測定法を適用することは極めて難しいのである。

著者は今までにない新しい分析法であるマイクロ波方式の考え方およびそれをフィルム、紙、不織布などに適用した結果を米国や英国などの高分子学や物理学の専門誌に発表した⁵⁻²¹⁾。最初の頃は、投稿しても新しい方式を疑ってかかるというレフリーが多かったが、Nature 誌⁵⁾に掲載されてからかなり理解してくれるようになった。しかし、とにかく、測定できたという結果だけではなく、詳細な配向測定理論を提出しないと新しい分析法として世界的に認知されないと思い、著者はマイクロ波方式の配向理論と測定装置の詳細を米国の物理学会誌に別々に分けて出すことにした^{22, 23)}。その結果、このマイクロ波方式は、Osaki's microwave method として知られるようになった。

なぜコラーゲン線維の配向なのか？

著者の見出したマイクロ波方式の配向測定は、フィルム、紙、繊維、セラミックスなどの工業製品に適用できることがわかり、日本の大手メーカーはもちろん、海外の大手企業でも品質評価に使用されるようになった。ところが、著者にとっては工業用素材よりもやはり神秘的な生体組織への適用が大きな課題であった。フィルムや繊維の機能が配向性と関係する。同様に、生体組織でも配向性が観測されれば、その配向性が生体組織の機能と関係しているはずであると思うようになっていた。

生体組織においても、Langer 割線のような走行性(配向性?)はよく知られていた。しかし、医学書でも本来は皮膚でも配向性が無いために様々な方向に伸び縮みするというような考えが一般的であった。化学工業界で昔から、プラスチックの商品では配向性は極めて重要で、前述のような『配向性の制御は永遠の課題である』といわれているような認識は、医学の分野には見られなかった。

それまでのコラーゲンにおいては、前述のように、分子レベルの構造がどのような疾患と関係あるのかについ

て、生物化学的手法での研究が主流であった。しかし、分子構造と疾患との関係が一次方程式のようにすっきりと答えが出るものばかりではない。著者はミクロなコラーゲン線維の集合体である生体組織の性質を、コラーゲン線維の配向という観点から調べることにした。その原理は、マイクロ波という電磁波と局所運動している分子の双極子との相互作用を検知することによって、配向性を調べることである。その結果が、ミクロな分子レベルと生体組織におけるマクロな性質を結びつけるきっかけになると考えたのである。

コラーゲン線維の配向から分かってきた 生体組織の機能

牛革におけるコラーゲン線維の配向性

マイクロ波方式で昆布、すめ、薄い木板などの配向測定を行ったところ、明瞭な配向性が見られた。次に、靴やジャンパーなどに用いられている牛革におけるコラーゲン線維の配向性がどうなっているのかは興味深いものであった。まずは、最初は 20 cm × 20 cm 程度の大きさの牛革の切れ端や車を拭くための鹿革を買ってきた。そのころ、4 GHz 帯の導波管から発生させたマイクロ波を用いていたため、サンプルサイズは 10 cm × 10 cm と大きなものであった。配向測定を行ったところ、牛革や鹿革で明らかに異方性が検出された。

もちろん、牛革を手で軽く引張ると、引張る方向によって伸びが少し違っている。定性的には異方性の存在が認められる。それで、15° おきの角度で切り取ったサンプルに対して弾性率の角度依存性を求めてみたところ、明らかに異方性を示した。また、電子顕微鏡で組織を観察してみたところ、弾性率の大きい方向にコラーゲン線維が並んでいることがわかった。そして、マイクロ波の吸収が最も大きい方向がコラーゲン線維の配向している方向であることがわかった。このように、マイクロ波方式で得られた結果は従来の弾性率や電子顕微鏡による組織観察で裏付けられるものであった(図4)。

限られた領域から異なった方向(角度)で多くの矩形サンプルを切り取って、その張力-伸び曲線の測定から弾性率の角度依存性を求めるのに1日は必要であった。それに対して、非接触測定法であるマイクロ波方式で配向性を求める時間はわずか25秒なのである。

マイクロ波方式が生体組織にも適用できることがわかったので、一度 Nature 誌に投稿してみようと思い立った。投稿して10日ぐらい経って、Editor から「直ぐに掲載したいので、短くして欲しい」との内容の返事が返ってき

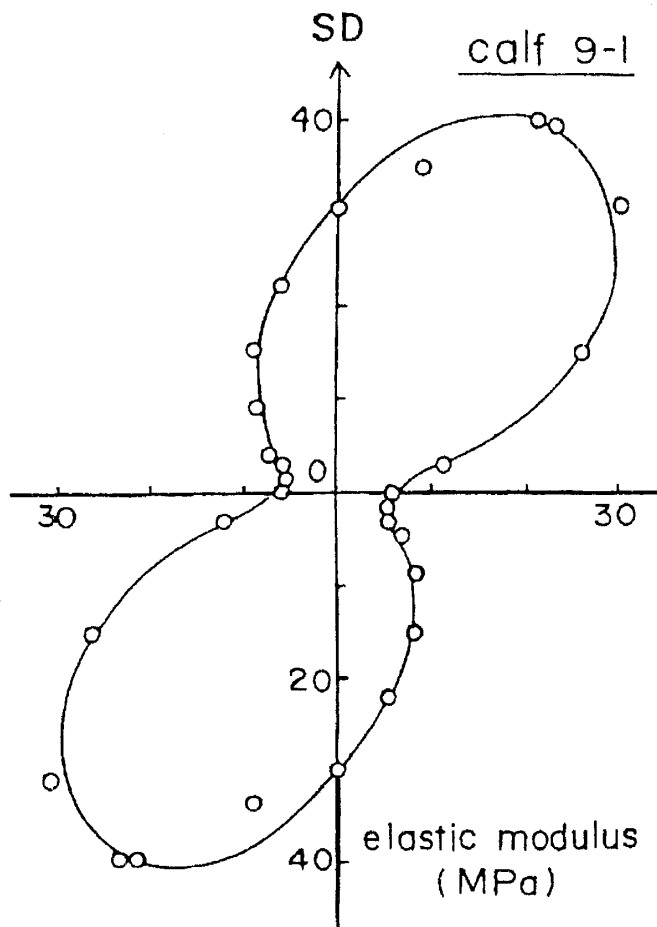
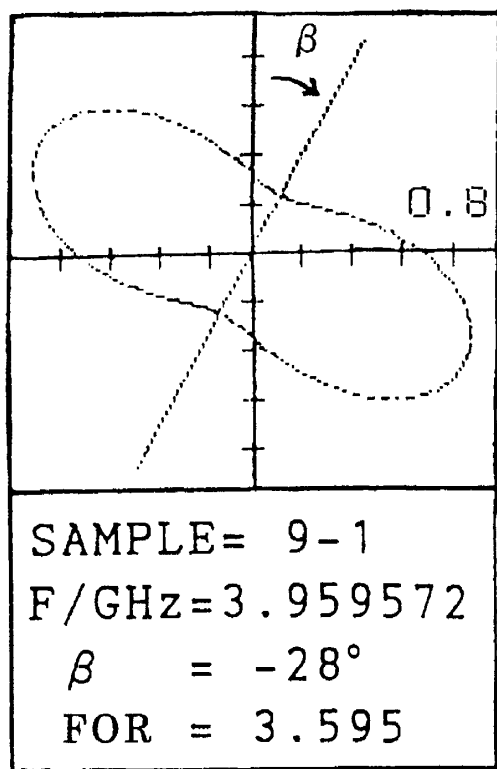


図4. マイクロ波方式で得られた牛革の透過マイクロ波強度(配向パターン)と牛革における弾性率の角度依存性. F は測定周波数, β は配向角度, FOR は配向度. マイクロ波とコラーゲン線維の双極子との相互作用の大きい方向に線維が配向している²⁵⁾.

た. 短いのも嫌であると思っていたが, 多くの論文も短いものであることから, 著者もしぶしぶ同意し, 一週間以内に送り返したのである. 牛革におけるコラーゲン線維の配向測定法は“Orientation test”として投稿日から3ヶ月後に Nature 誌に掲載された²⁵⁾. 直後に, 各国からいろいろな手紙を頂くことが出来た.

その後, 面積の少しだけ大きな牛革を入手して測定したが, 体のどの部分の革なのか分からない. とにかく, その実験結果は Cellular & Molecular Biology に掲載された²⁶⁾. さらなる興味は, 牛一頭分の牛革の配向分布はどうなっているのかにあった.

子牛の革におけるコラーゲン線維の配向分布と運動機能

成牛の革は大きいけれど, 体全体の半分のみしか得られない. それで, 牛全体の大きさが得られる子牛の革で, コラーゲン線維の配向分布を調べることにした. 子牛革のサイズは 130 cm × 130 cm 程度であった. 4 GHz 導波管用に全体の革から 10 cm × 10 cm の大きさ

のサンプルに順次切り取った. そして, マイクロ波方式で配向測定を済ませたサンプルから, 5 mm × 30 mm サイズのストリップ状サンプルを 15° おきに切り取った. 次に, それらの張力-伸び曲線を測定し, 破断強度の角度依存性を求めた(図5)²⁶⁾.

子牛の革の配向分布を測定し終わって, 全体を眺めてみたところ, 非常に奇妙なことに気づいた. それは, 背中部や腹部では背骨に平行にコラーゲン線維が配向していることであった. しかも, 背中でのコラーゲン線維の配向度は小さいが, 腹部では大きい(図5)²⁶⁾. また, 脚の部分を見ると, コラーゲン線維は足の骨の長軸方向に並んでいた. このことから, 背骨近くはあまり動きがなく, 皮膚の伸び縮みもないために, 配向度は小さいと考えられる. 一方, 腹部は食事をしたり, 妊娠をしたりすると伸びる. 一般に, 荷造り紐に使うポリプロピレンフィルムは, 一軸延伸のプラスチックで, 延伸方向に分子が配向している. そのため, 分子が配向している方向には引っ張ってもなかなか伸びない. しかし, それと垂直

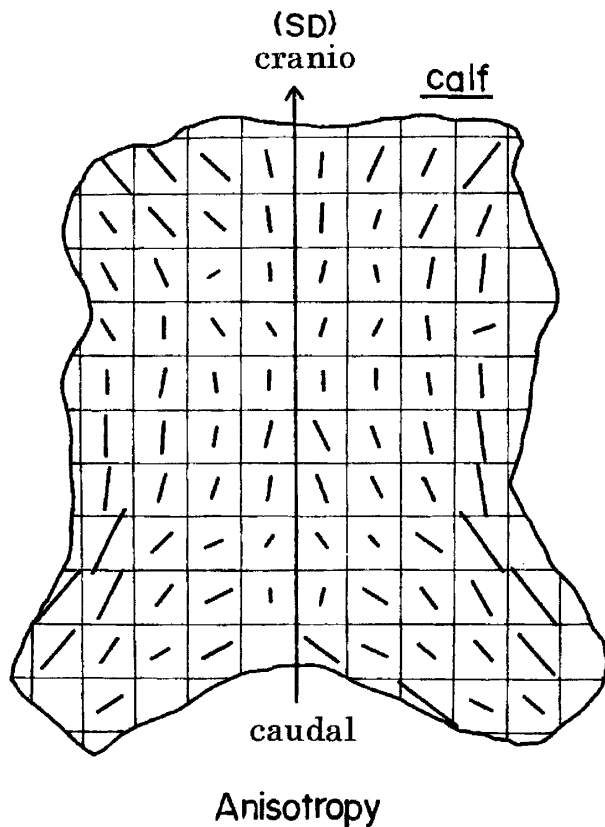


図5. マイクロ波方式による子牛の革におけるコラーゲン線維の配向分布。棒の長さはコラーゲン線維の配向度を表し、方向はコラーゲン線維の向きを表す²⁶⁾。

な方向には簡単に伸びる。場合によってはすぐに引き裂けて、ばらばらになってしまう。このように、分子鎖が配向している方向は共有結合のため伸びにくい、分子鎖と垂直方向は分子間結合のために伸びやすい。分子と同じ繊維の場合でも同様である。このため、妊娠すると腹部が膨らむのは、コラーゲン線維の並びと垂直方向であることがわかる。つまり、コラーゲン線維が配向している方向と垂直の方向には伸び縮みが著しいのである。脚の部位でも、骨の長さ方向に沿ってコラーゲン線維が並んでいる。これは、身長は急速には伸びないが、太ももが太ることはしばしばあることと矛盾しない。

もし、腹部でコラーゲン線維が皮膚の胴回りに配向していると、食べ過ぎても太りすぎることは考えられない。なぜならば、胴回りには伸びないからである。しかし、現実には、上下方向へのコラーゲン線維の配向のため、胴回りが太ることはしばしばある。このように、現実の伸び縮みはやはりコラーゲン線維の配向分布に密接に対応していると考えられる。

ヒト血管における配向性から見てきた老化の問題

著者の開発したマイクロ波方式を生体組織に適用するために、鳴門教育大学の山下伸介教授(後に兵庫教育大学教授)と徳島大学の山田正興教授(元奈良県立医科大学教授)に適当なサンプルがないものかとの相談を持ちかけた。何ヶ月か経ったときのこと、人間の動脈や静脈の血管の配向性を測定してみてもどうかということになった。著者は牛革で配向性を確認していたこともあって、もしかしたら、血管でも配向性が認められるかもしれないとかすかな望みを抱いていた。また、その結果が老化と関係あれば嬉しいことであった。まずは、マイクロ波方式で血管の配向測定が可能かどうかをチェックすることが最優先であった。

共同研究者である高知医科大学の山本恵三教授から、ガラス瓶に入ったヒトの血管が送られてきた。ヒトの動脈はその外形が35ミリもある大きなバウムクーヘンのようなものであったため、マイクロ波方式による配向性を測定するためのサンプルをいかに調製するかが一番頭の痛い課題であった。とにかく、血管を切り開かねばならない。まずは、ホルマリン液から取り出した円筒状血管を円筒軸に沿って切ることにした。長方形のシートが得られたが、血管は元の円筒の記憶を残しており、カールしてしまう。それで、血管のカールを取り除くことと脱水するために、血管シートを両側から腰のある透明のポリカーボネートのシートで挟んで、クリップで留めた。それをデシケーターの中に入れ、アスピレーターで一ヶ月以上減圧したのである。さらに、40℃で5時間乾燥して、マイクロ波測定用サンプルとした。

ところが、このサンプルはサイズが小さく、しかも数ミリと厚いため、フィルム用に作り上げていた測定機器に全く適用できなかった。そこで厚くてサイズの小さなサンプルでも測定できるように、従来の装置を作り変えた。小さな12GHz帯の導波管を加工して、導波管の間隙部をさらに広げたのである。ところが、間隙をさらに開けるとなると、今度はマイクロ波強度が低下してしまい、配向測定ができなくなるという問題に出会うことになった。この間隙の問題は当初から考えていたことではあるが、ここにきて実に深刻な問題となった。また、当然のことながら、発信器の出力には上限があった。しかも、検波出力が低いと、ノイズと重なって配向はうまく計測できない。このような問題をかかえ、悪戦苦闘の末、検波出力を下げないようにしつつ、透過マイクロ波強度におけるノイズを減少させる工夫を凝らした結果、血管の配向測定が可能になった。

このようなプロセスによって、40歳以上から100歳ま

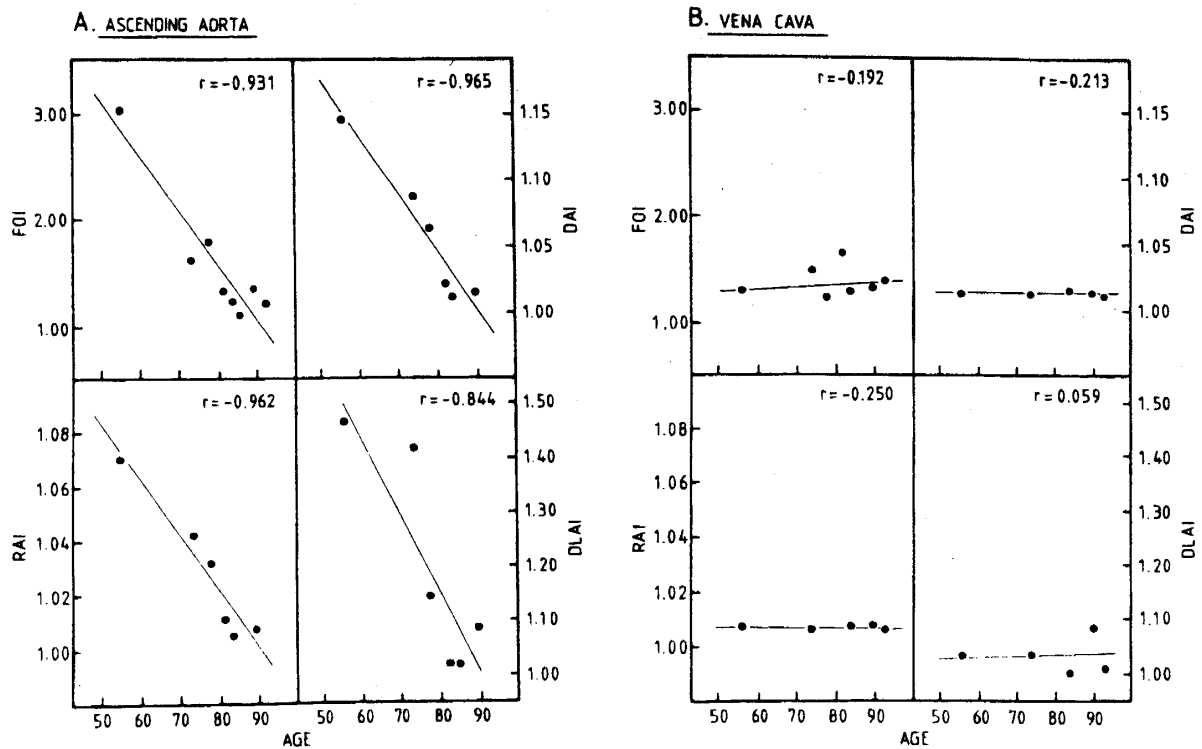


図6. ヒト血管におけるマイクロ波方式による配向性と年齢との関係. 縦軸は配向度(FOIは透過マイクロ波強度, RAIは屈折率, DAIは誘電率, DLAIは誘電損失率)で横軸は年齢(AGE). r は相関係数.
A: 動脈, B: 静脈²⁴⁾.

でのヒトの動脈サンプルを順次調製し、マイクロ波方式で配向測定してみた。すると、配向度は年齢とともに低下することがわかった。若い人のデータがほしかったが、遺体の年齢層が高齢で、若い遺体は少ないので仕方がなかった。ところが、動脈と比べて厚さの薄い静脈では、年齢によって配向度合いは変化しなかった(図6)²⁴⁾。これらのデータから、動脈は老化とともにコラーゲン線維の配向度は崩れてくることがわかった。つまり、心臓が全身に血液を送るべき動脈には、かなりの伸縮が要求されるので、配向性のあることが必要であろう。一方、静脈は血液が心臓に戻る役割を果たすので、それほど伸縮性は必要ない。そのために配向度は低くても問題ないと思われる。また、高齢になると動脈の機能が低下するとともに架橋が起こるために、配向性が低下するものと思われる。若いときの動脈は配向性があるゆえに、ポンプとしての役割機能を十分果しているであろう。

コブラにおけるコラーゲン線維の配向分布から分かる動作

著者の趣味的研究のひとつはクモの糸である。世界で一、二位の大きな巣を張るオオジョロウグモというクモ

がいる。沖縄南部にある玉泉堂(現在は沖縄ワールド)のようなテーマパークであればハブもないので、安心してオオジョロウグモを探せるであろうと思っていた。幸いにも、そこでオオジョロウグモを数多く見つけることができた。帰りにハブ公園の出口にきたところ、偶然にもそこでコブラ革が目に入った。これが、著者とコブラ革との初めての出会いだった。

コブラ革は1.5 mと細長い、幅が8 cmぐらいしかない、マイクロ波測定用のサンプル35 mm x 35 mmは幅方向に2個ぐらいしかとれない。それで、幅方向の配向性をもう少し調べるために、中央部、腹部など少しずつ位置を変えて35 mm x 35 mmサイズで切り取った。このときは、もちろん、長軸方向に少しずつずらせて切り取らねばならなかった。最初に切り取ったサンプルを用いて、マイクロ波方式の配向測定を行なってみたところ、明らかに著しい配向性を示すことがわかった。

コブラ革の配向性のパターンが得られたとはいえないものの、力学測定による結果と比較しないと、信用されない。そのため、まずは、コブラの背骨部近くに焦点を当て、様々な角度方向に40 mm x 5 mmのストリップ状サンプルを切り取ることにした。力学測定から得られる配向

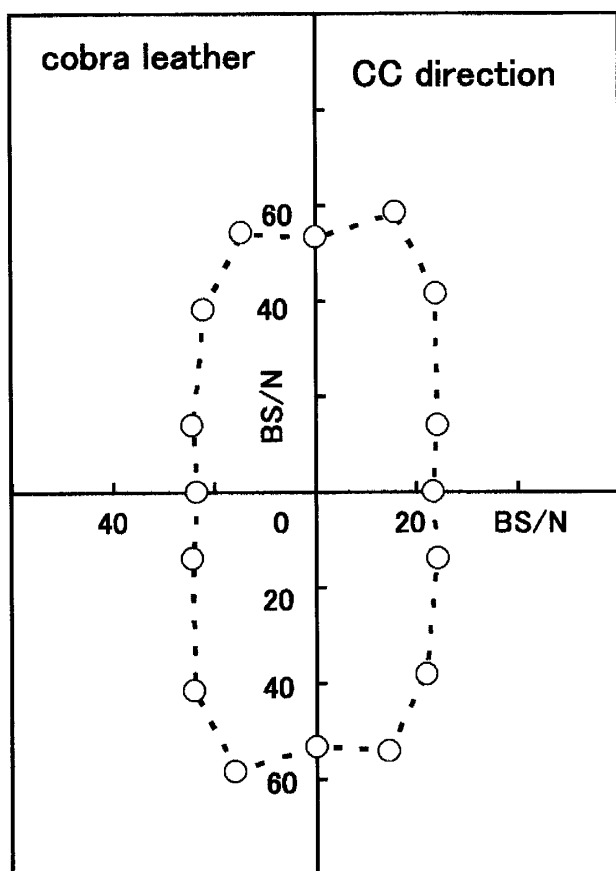


図7. コブラ革の背部における力学破断強度(BS)の角度依存性. CC: 尻部から頭部への方向³⁰⁾.

性は広範囲から多くのサンプルを切り取っているの、あくまでも平均的な値しか得られない。力学強度の角度依存性では、明らかに背骨に平行な方向に力学強度が高かった。一方、それと垂直方向での破断強度は最も小さかった。このことから、背部で背骨に沿った方向は外的からの防衛に関して力学的に強いことが理解できる(図7)。

一方、コブラが獲物を飲み込んで腹部が膨れたり、凸凹した地面を乗り越えて移動する際には、腹部の柔軟性が要求される。しかも、腹部はあまり防衛する必要がないので、柔らかくてどの方向も同じように伸びやすいと考えられる。コブラの腹部で切り開いているため、腹部の革が両方に分かれている。そのため、腹部の力学強度の角度依存性を測るほどの面積は得られない。それで、コブラの長軸とそれと垂直な方向の二方向だけの力学強度を測ったところ、力学的異方性は小さいものであった。本来、広範囲でもっと連続的に配向変化を知る必要があった。しかし、マイクロ波方式では 35 mm × 35 mm と大きなサンプルサイズであるため、マイクロ波方式での

連続的な配向測定は半ば諦めていた。ところが、学生の大橋朋史君の単純な疑問をきっかけに、マイクロ波方式で連続的計測を試みることにした。その結果、小さなコブラ革でもコラーゲン線維の連続的な配向パターンを知ることができるようになった(図8)²⁹⁾。

その後、大学院生の新妻克宜医師がコブラ革についてさらに詳しく研究することになった。コブラ革において背部から腹部まで連続的に場所を変えてマイクロ波および力学測定を行ってみた。また、力学測定も念入りに行った。その結果、背部が胴回り方向に伸びやすいのに対し、腹部ではどの方向にも伸びやすいこともわかってきた³¹⁾。

コラーゲン線維の配向分布からわかってきたことは、コブラが何かを飲みこんだときは、背部が胴回りの方向に大きく伸びる。一方、腹部では、どの方向にも伸びやすい。ということは、何かを飲み込んだとき、腹部が丸く膨れるということである。また、かなり、屈曲性を持って移動することができるということである。それに対して、胴回り全体で考えてみると、背部ではそれほど屈曲性はない。また、頭部の近くでの異方性は小さい。このことは、頭部も頭を曲げたり、動かしたりで様々な動きが考えられるために異方性は少ないのであろう。このように、コラーゲン線維の配向分布はコブラの運動機能と密接に関係していることがわかってきたのである。

骨におけるコラーゲン線維の配向分布の不思議

骨は脊椎動物の骨格を構成する個々の部分であり、結合組織の一種でハイドロキシアパタイトとコラーゲン線維とから成っている。著者が鳥根大学に赴任しているときに、奈良県立医科大学の解剖学教室の東野義之教授が私の研究室を訪ねてこられた。マイクロ波方式でヒト踵骨の配向性を測定してみようというのである。最初の課題は、踵骨からマイクロ波方式で測定用サンプルをいかに調製するかであった。つまり、1～2mm ぐらいの均一な厚さのシート状サンプルをうまく作れるかどうかであった。東野教授のいろいろな苦労があつて、やっと配向測定用のサンプルができるようになった。右足の踵骨を長軸に垂直な方向でかつ、脚の上下方向に切断してシート状サンプルを多く調製した。骨については初めてのケースであったので、間違いがないようにと著者はその後さらにサンプルと装置の軸あわせや、厚み補正などをやり直した。しかし、測定した値が、本当にコラーゲン線維の配向性を反映しているのかどうかを確認するのに時間がかかった。とにかく、踵骨シートを何回も測定しながら、測定データの解釈を再検討し、その結果の信頼

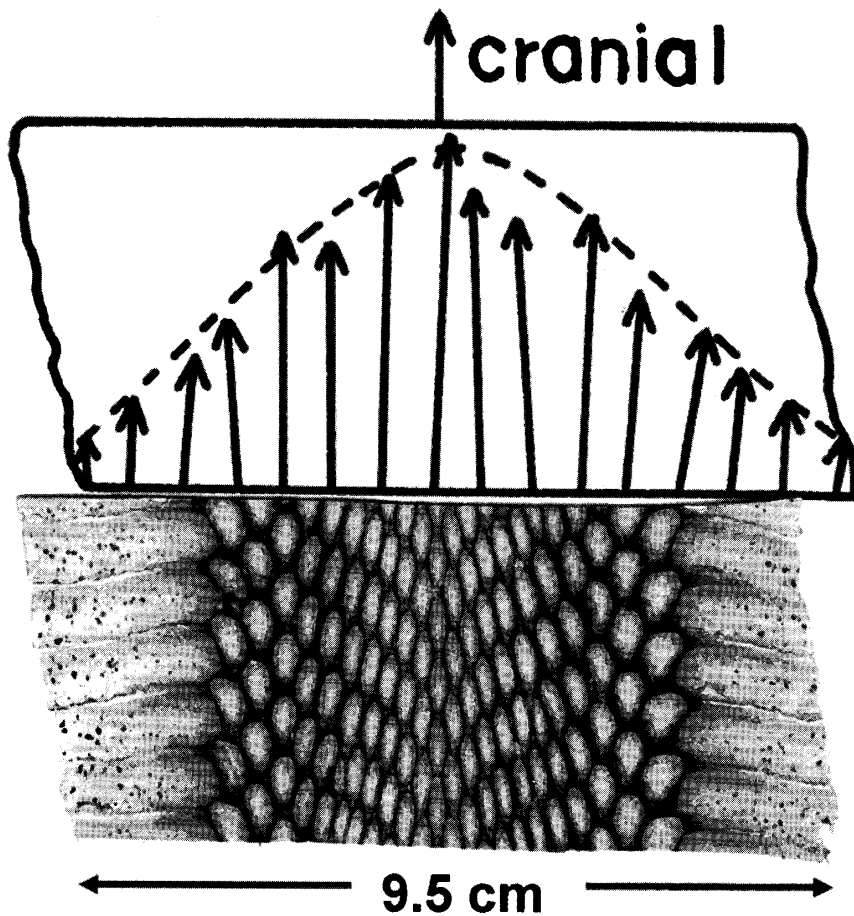


図8. マイクロ波方式によって得られたコブラ革におけるコラーゲン線維の配向分布。矢印の方向はコラーゲン線維の配向方向で、矢印の長さはコラーゲン線維の配向度を表す³⁰⁾。

性を確認した。

シート状サンプルを踵部(後部)からつま先部の方向(前部)まで順次測定したところ、上に距骨が乗る場所の中心を境界として、その前部と後部でのコラーゲン線維の配向は、それぞれ異なった方向になっていることがわかった。つまり、コラーゲン線維は後部から中心部までの配向方向と、前部での配向方向はまったく異なっていることがわかる。この方向性は、踵骨に加わる方向を反映しているものと考えられる。牛革で見えてきたと同様に、コラーゲンが配向している方向に力学強度が大きいことが示唆される²⁷⁾。

その後、踵骨の三次元方向におけるコラーゲン線維の配向の測定は、整形外科の高倉義典教授の医局の大内一夫先生(現福島県立医科大学助手)がその後の研究を引き継いでくれた。その結果、非常に面白いことがわかってきた。それは、踵骨におけるコラーゲンの配向度合いは後部では大きい、前部になると小さかった。このこ

とは、後部にはかなり大きな力が加わっており、前部は力の加わり方が小さいことを意味していた。

次に、踵骨の上下方向でかつ長軸に平行な方向に切断したシート状サンプルで配向測定を行った。その結果、コラーゲン線維は、脚の上下方向を基準として、後部では -60 度方向に配向し、前部では $+60$ 度方向に配向していることがわかった。つまり、コラーゲン線維は踵骨の上にある距骨の方向に向いていた(図9)²⁹⁾。このことは、足に加わる力が、中心部で $+60$ 度と -60 度方向に分散していることが推定される。これは、体を支える大きな力が、踵骨の上下方向に直接加わらないように、ベクトルのうまく分散されるシステムになっていることがわかった。つまり、大きな力が加わっても踵骨が壊れないようなシステムになっているのである。このように、動物の組織構築の中で、長年の進化の間に運動機能にふさわしい構造になっているのには驚かされる。

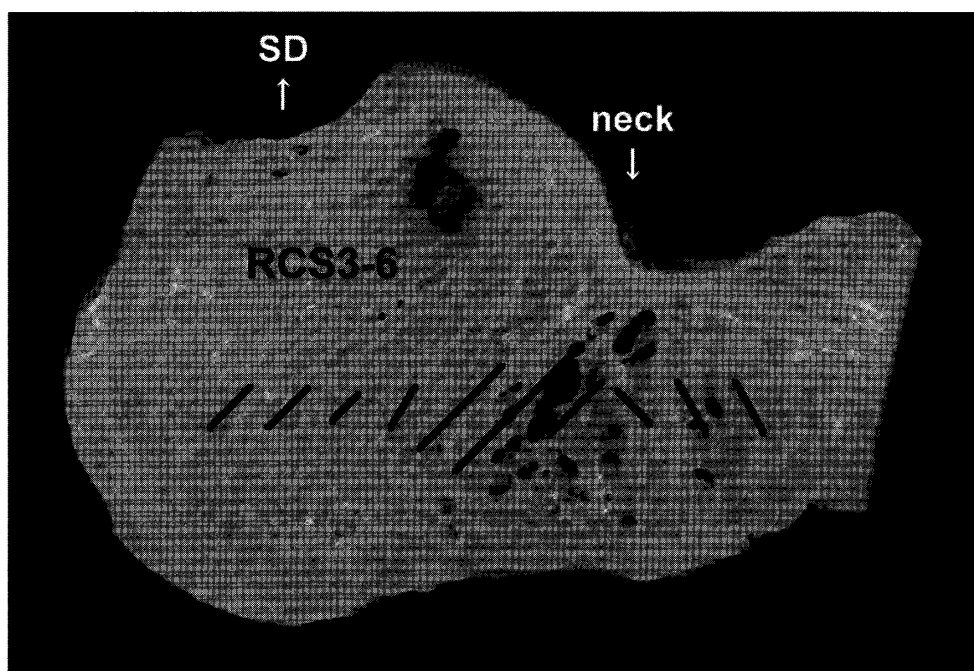


図9. マイクロ波方式による踵骨におけるコラーゲン線維の配向分布. 棒の長さはコラーゲン線維の配向度, 棒の方向はコラーゲン線維の配向方向を表す. SD: 標準方向²⁹⁾.

肺におけるコラーゲン線維の配向分布が反映する現実

内科医の友田恒一先生(現奈良県立医科大学助手)が私の部屋を訪ねてきて, 肺におけるコラーゲン線維の配向測定ができないかという話であった. その後, 何回か話しあっているうちに, 「肺を測定用サンプルとしてやってみようか」ということになった.ところが, 当初はマイクロ波方式を用いて肺におけるコラーゲン線維の配向測定ができるかどうかは確信がもてなかった. 測定用のサンプルが作れるのかどうかは全くの未知数であった. そのため, 測定用の肺サンプルをいかに調製するのが大きな課題であった.

病気の人の肺と健康な人の肺とはコラーゲン線維の向きがかなり異なるのではないかと考えからスタートした話であった. 当然, 肺は空気を出し入れするから, 正常であろうとなかろうとコラーゲン線維の配向分布があるのかもしれない. また, 病気となれば, 弾力性が低下することから肺におけるコラーゲン線維の配向性に違いが出るのかもしれないと考えていた. 友田先生の努力の甲斐あって, やっと測定用の肺サンプルの調製に成功したのである(図10)²⁹⁾. 現在, マイクロ波方式によって, 肺の機能とコラーゲン線維の配向分布との関係を明らかにしつつある状況である.

皮膚移植法の提案

皮膚の毛穴から分かる配向性

マイクロ波方式でシート状の牛革でのコラーゲン線維の配向測定が可能になった. 当時著者は, 企業の本社で経営企画室の部長をしており, 中期経営計画策定の他にグループ企業の一つであった最大手のスポーツクラブにおける新規事業の方向づけをする任務もあった. スポーツやトレーニングで鍛えた後のレベル上昇の評価をどうするのが課題であった. そこで, 生きている人の皮膚のコラーゲン線維の配向性が評価できれば, 最もありがたいことがわかってきた. その数量化ができれば健康増進への努力のしがいがある. スポーツクラブでは, 体を鍛えるべくトレーニングをしている. 筋力等に関してレベルアップの客観的評価は容易にできる. しかし, たとえば, 皮膚の若返りとまではいかないが, 皮膚のレベルアップの評価方法はなかなか難しい.ところが, 人間は外見から, 健康かどうかは皮膚の様子を見れば分かる. たとえば, 夜更かしをするとすぐの顔に表れる. 生き生きしているときも, その様子が表れる. 人の眼で直感的に判ることを数量化するのにはなかなか難しいのである. いくら健康増進と称して, スポーツに邁進しても, 皮膚がレベルアップしたという数量的な評価はなかなか難しく, スポーツトレーニングの評価は, こと外見の健康度

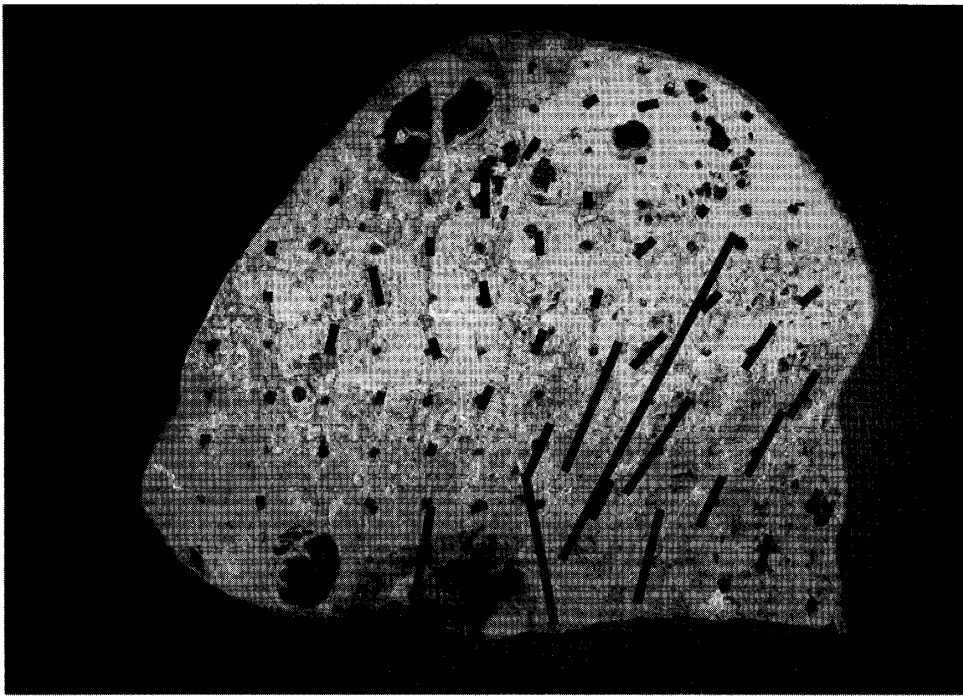


図 10. マイクロ波方式による肺におけるコラーゲン線維の配向分布. 棒の長さはコラーゲン線維の配向度, 棒の方向はコラーゲン線維の配向方向を表す³²⁾.

に関しては自己満足のレベルでしかないことになる. そこで, 何とか生きた皮膚の状態を計測できれば, 皮膚の若さのレベルが評価できるかもしれないと思いながらそのまま時間が過ぎていった.

人間やその他の動物の皮膚において, マイクロ波方式を使うとなると一旦皮膚を剥がして, シート状にしなければならない. このようなことは, 現実的ではない. そこで, 皮膚を剥がさない状態で皮膚の性質を計測できないかという課題が著者の頭に浮かんできたのであった. あるとき, 牛革の断面の電子顕微鏡写真を眺めていた. コラーゲン線維束がどのように並んでいるのかを調べるためのものであった. 理想的な状態で表面に垂直に巧く切断された断面ならば, 革の表面は見えないはずである. しかし, その写真は切り面が少し傾いていたため断面と表面の両方とが写っていたのである. そこには毛穴もあった. それをじっと眺めていると, どうも, 毛穴とコラーゲン線維束の向きとの間に関係があるらしいことが直感的にわかった. もしかしたら, 毛穴から配向がわかるかもしれない. 何も剥がしてシート状にする必要もないのかもしれない. 少し, 興奮していた. それで, 毛穴とマイクロ波方式による配向との関係を詳しく調べてみようと思った.

シート表面の毛穴を光学顕微鏡で観察してみたところ, 毛穴の影から毛穴の形状を認識することができた. 次に,

毛穴の形状とマイクロ波方式で得た配向パターンと比較検討した. すると, 毛穴の長軸方向とマイクロ波から求めた配向方向とが一致することがわかった. また, 毛穴の影の最大長とそれと垂直な方向との比とマイクロ波方式で得られた配向度は比例することが分かった. このようにして, 牛革表面の毛穴の形からコラーゲン線維の配向性が計測できることがわかった(図 11)²⁷⁾. このことは, マイクロ波方式のように皮膚を剥がさなくても, 生きている動物の毛を剃れば, 皮膚の配向性がわかるという希望を持たせてくれた.

配向性を考慮した新しい皮膚移植法

世界的に, 戦争や交通事故, 火災や爆発によるやけどなどで多くの人々の皮膚移植が必要とされている. 現在のところ, 救急的な観点からの皮膚移植のケースが多い. ところが, 時代とともに, 最近では機能とともにいかに見栄えが良く巧く皮膚移植するかの課題が重要になってきた. しかし, 現在まで, 皮膚移植に関して科学的な方法すら確立しておらず, 長年にわたって形成外科医の経験に頼ってきたのが実情である.

このような状況の下で, 皮膚におけるコラーゲン線維の配向が測定できることがわかるようになったのである. コラーゲン線維の配向性は力学特性を反映するために, 皮膚の伸び縮みにも関係する. このため, 皮膚移植には

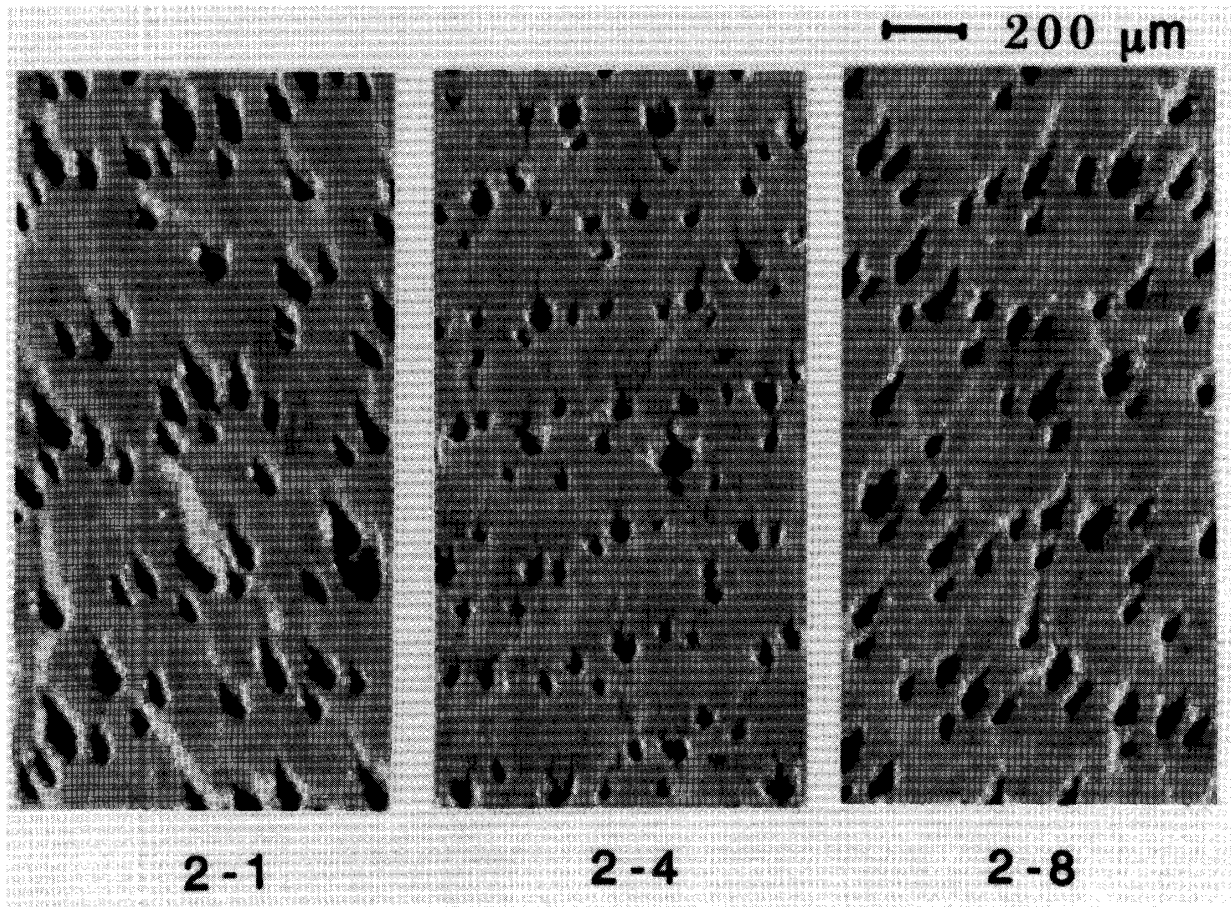


図 11. 皮膚における毛穴の分布. 毛穴の方向(長軸方向)と異方性(長軸と短軸の比)が場所によって異なる²⁷⁾.

コラーゲン線維の配向性を調べるのが大切であると考えた。それは、移植後における移植皮膚の周辺との間の伸び縮みが対応していなければ、笑っているときに皮膚の伸びが対応しないなど、ひきつれが起こりうるからである。つまり、移植皮膚の配向度は出来るだけ周辺の皮膚の配向方向に似ていなければならないという考えである。とはいっても、現在のところ、医療現場での配向性の測定方法すらないのである。

しかし、移植片および移植周辺の皮膚におけるコラーゲン線維の配向方向があらかじめ分かれば、適切な皮膚移植ができるはずであるというのが私の考えである(図 12)²⁷⁾。現在、著者らはこの点について研究を行っているところである。近い将来、医療現場で配向性を科学的に評価しようものと考えている。

おわりに

生命のしくみを明らかにすべく、20 世紀の後半は細胞内の中核である DNA の研究に焦点が向けられたが、細胞外マトリックスを構成するコラーゲンは、あまり注目

を浴びなかった。ところが、20 世紀も終わり頃になって、細胞外マトリックスとしてのコラーゲンの構造は、個体の発生を止めたり、病気に関係することが分かり、コラーゲンの重要性が見直されてきた。それに先立って、著者の見出したマイクロ波方式(Osaki's microwave method)が生体組織におけるコラーゲン線維の配向性を迅速に計測できることも分かってきた。コラーゲン線維の配向性は生体組織の機能を考える上で非常に重要なことである。実際に、コラーゲン線維の配向分布は動物の運動機能とも密接に関係していることがわかってきた。この配向測定法は、電磁波を用いて分子レベルの局所運動からマクロの生体組織の性質を議論するという点で、ミクロとマクロを繋ぐひとつの手段を示している。

研究を進めていくうちに、生体におけるコラーゲン線維の配向性は、生き物が長年の間に生活進化の中で作りあげたものであることが理解されてきた。コラーゲン線維の配向性が明らかになると、動物の結合組織の機能が極めてうまく作り上げられていることに感動する。誰がそのような配向分布を考えついたのか分からないが、

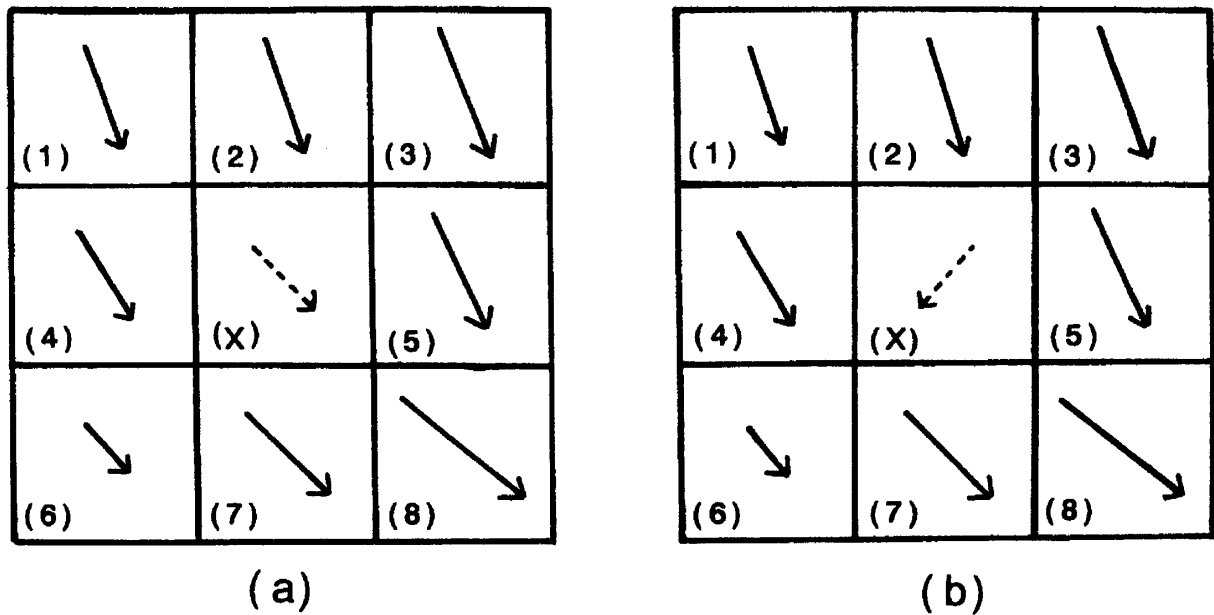


図 12. 皮膚移植法の提案. 矢印の方向と長さはそれぞれコラーゲン線維の向きと配向度.
(X)は移植片で(1)~(8)は移植周辺.
(a) : 良い例. (b) : 悪い例²⁷⁾.

自然は効率的で安全で信頼できる生活システムを含む生体のしくみを構築してきたのであろう。

今後、著者は、ヒトや動物の本質的な運動機能を理解すべく、コラーゲン線維の配向性を様々な器官において明らかにしていきたい。一方、著者の長年の研究対象にあるクモの糸から最高に効率的な安全則が見つかり、また信頼性の原則が見つかっている⁴⁸⁻⁵⁶⁾。このクモの糸から得られた危機管理と信頼性の基本的な概念を生体組織に適用し、生体の不思議なしくみを解き明かしていきたいと考えている。

科学の新しい基本的概念というものが、医学の進歩に役立ち、しかも、それから得られる結果が医療現場に少しでも役に立つことを夢見ている。

文 献

- 1) **Watson, J. D. and Crick, F. H. C.** : A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature* **171** : 737-738, 1953.
- 2) **Sanger, F. and Coulsonm A. R.** : A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. *J. Mol. Biol.* **94** : 441-448, 1975.
- 3) **Saiki, R. K., Gelfand, D. H., Stoffel, S., Scharf, S.J., Higuchi, R., Horn, G. T., Mullis, K. B. and Erlich, H. A.** : Prime-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* **239** : 487-491, 1988.
- 4) **関口清俊, 鈴木信太郎編** : 多細胞体の構築と細胞接着システム. 共立出版, 東京, 2002.
- 5) **Osaki, S.** : Orientation test. *Nature* **347** : 132, 1990.
- 6) **Osaki, S.** : A new method for quick determination of molecular orientation in poly(ethylene terephthalate) films by use of polarized microwaves. *Polym. J.* **19** : 821-828, 1987.
- 7) **Osaki, S.** : Microwaves quickly determine the fiber orientation of paper. *Tappi J.* **70** : 105-108, 1987.
- 8) **Osaki, S.** : Dielectric anisotropy of stretched poly(ethylene terephthalate) at microwave frequencies. *J. Appl. Phys.* **64** : 4181-4186, 1988.
- 9) **Osaki, S.** : Quick determination of dielectric anisotropy of paper sheets by means of microwaves. *J. Appl. Polym. Sci.* **37** : 527-540, 1988.
- 10) **Osaki, S.** : Dielectric anisotropy of nonwoven fabrics by using the microwave method. *Tappi J.* **72** : 171-175, 1989.
- 11) **Osaki, S.** : Density dependence of complex dielectric constant of paper sheet at microwave

- frequencies. *Sen-i Gakkaishi* **46** : 64-68, 1990.
- 12) **Osaki, S.** : Frequency dependence of dielectric constant and dielectric loss for poly(vinylidene fluoride) films at microwave frequencies. *J. Polym. Sci. Part C* **28** : 147-153, 1990.
 - 13) **Osaki, S.** and **Uranishi, K.** : Determination of the refractive index and birefringence for biaxially stretched poly(ethylene terephthalate) at microwave frequencies. *Polymer* **31** : 33-35, 1990.
 - 14) **Osaki, S.** : High temperature dielectric loss of poly(ethylene terephthalate) film at microwave frequencies. *Polymer* **35** : 47-49, 1993.
 - 15) **Osaki, S.** : Dielectric anisotropy of strip polymer films at microwave frequencies. *Polym. J.* **25** : 1311-1314, 1993.
 - 16) **Osaki, S.** : Microwave frequency dielectric properties of poly(vinylidene fluoride) films. *J. Appl. Polym. Sci.* **33** : 685-690, 1995.
 - 17) **Osaki, S.** : Refractive index of uniaxially stretched poly(ethylene terephthalate) film at microwave frequencies. *Polym. J.* **28** : 131-133, 1996.
 - 18) **Osaki, S.** : High temperature dielectric anisotropy of poly(vinylidene fluoride) films at microwave frequencies. *Polym. J.* **28** : 323-325, 1996.
 - 19) **Osaki, S.** : Effects of annealing upon molecular orientation and microwave dielectric anisotropy in polymer films. *Polym. J.* **29** : 807-810, 1997.
 - 20) **Renyan, Q., Qingrong, F., Choy, C.** and **Osaki, S.** : Amorphous poly(ethylene terephthalate) films in the state of high global chain orientation but nearly random segmental orientation. *Chinese J. Polym. Sci.* **15** : 199-204, 1997.
 - 21) **Osaki, S.** and **Tashiro, K.** : Molecular orientation and dielectric anisotropy in polyimide films as determined by the microwave method. *Macromolecules* **31** : 1661-1664, 1998.
 - 22) **Osaki, S.** : Explanation of orientation patterns determined for sheet materials by means of microwaves. *J. Appl. Phys.* **67** : 6513-6519, 1990.
 - 23) **Osaki, S.** : A new microwave cavity resonator for determining molecular orientation and dielectric anisotropy of sheet materials. *Rev. Sci. Instrum.* **68** : 2518-2523, 1999.
 - 24) **Yamamoto, K., Osaki, S., Yamashita, S.** and **Yamada, M-o.** : Age-related anisotropic changes in the fiber orientation of the human blood vessel. An attempt at the application of the molecular orientation analyzer for the measurement of human tissue. *Cell. Mol. Bio.* **34** : 571-579, 1988.
 - 25) **Osaki, S., Yamada, M-o., Takakusu, A.** and **Murakami, K.** : A new approach to collagen fiber orientation in cow skin by the microwave method. *Cell. Mol. Bio.* **39** : 673-680, 1993.
 - 26) **Osaki, S.** : Distribution map of collagen fiber orientation in a whole calf leather. *Ana. Rec.* **254** : 147-152, 1999.
 - 27) **Osaki, S.** : The use of hair pores to determine the orientation of collagen fibers in skin. *Ana. Rec.* **263** : 161-166, 2001.
 - 28) **Osaki, S., Tohno, T., Tohno, Y., Ohuchi, K.** and **Takakura, Y.** : Determination of the orientation of collagen fibers in human bone. *Ana. Rec.* **266** : 103-107, 2002.
 - 29) **Ohuchi, K., Osaki, S., Tohno, S., Tohno, Y., Takakura, Y.,** and **Kikuchi, S.-I.** : Orientation and distribution of collagen fibers in the sagittal plane of the human adult calcaneus. *Cell. Mol. Bio.* **49** : 425-433, 2003.
 - 30) **Osaki, S.** and **Ohashi, T.** : Orientational Distribution of collagen fibers in cobra skin. *Cell. Mol. Bio.* **50** : 559-564, 2004.
 - 31) **Niitsuma, K., Miyagawa, S.** and **Osaki, S.** : Collagen-fiber orientation in cobra skin. *Polym. Prep., Japan*, **54**, No.1, 2373, 2005.
 - 32) **Tomoda, K., Kimura, H., Niitsuma, K.** and **Osaki, S.** : Determination of collagen-fiber orientation in human lung. *Polym. Prep., Japan*, **54**, No.1, 2374, 2005.
 - 33) **Rich, A.** and **Crick, F.H.C.** : Molecular structure of collagen. *J. Mol. Biol.* **3** : 483-506, 1961.
 - 34) **藤本大三郎** : コラーゲン物語 . 東京化学同人 , 東京, P1-161 2003.
 - 35) **Olsen, B. R.** and **Ninomiya, Y.** : Collagens, guide book to extracellular matrix and adhesion proteins (Kreis, T. and Vale, R. eds.), p380-408, CRC Press (1999).
 - 36) **Bornstein, P.** and **Traub, W.** : The Proteins, 3rd Ed. (Neurath, H. and Hill, R. L. eds.), vol.4, p.483. Academic Press (1979).

- 37) **Okuyama, K., Tanaka, N., Ashida, T., Kakudo, M., Sakakibara, S. and Kishida, Y.** : An X-ray study of the synthetic polypeptide (Pro-Pro-Gly)₁₀. *J. Mol. Biol.* **72** : 571-576, 1972.
- 38) **奥山健二** : モデルペプチドを用いたコラーゲンの構造研究. *日本結晶学会誌* **42** : 346-353, 2000.
- 39) **Morton, L. F., Hargreaves, P. G., Farndale, R. W., Young, R. D. and Barnes, M. J.** : Integrin alpha 2 beta 1-independent activation of platelets by simple collagen-like peptides : collagen tertiary (triple-helical) and quaternary (polymeric) structures are sufficient alone for alpha 2 beta 1-independent platelet reactivity. *Biochem. J.* **306** : 337-344, 1995
- 40) **Gartner, L. P. and Hiatt, J. L.** (石村和敬, 井上貴央 監訳) : *Color Textbook of Histology* (最新カラー組織学), Elsevier Science (西村書店), p69-70, 2001.
- 41) **Osaki, S.** : A new method for the determination of polymer optical anisotropy. *J. Appl. Phys.* **76** : 4323-4326, 1994.
- 42) **Osaki, S. and Mori, M.** : A new method for determining polymer optical anisotropy using two wavelengths. *Rev. Sci. Instrum.* **70** : 1794-1797, 1999.
- 43) **Osaki, S., Uemura, S. and Ishida, Y.** : Effects of a static electric field upon dielectric properties of poly(vinylidene fluoride) and poly(vinyl fluoride). *J. Polym. Sci.* **9** : 585-594, 1971.
- 44) **Osaki, S., Uemura, S. and Ishida, Y.** : Dielectric behavior of poly(vinylidene fluoride) in the melt and in the solution grown crystal mat. *J. Polym. Sci.* **12** : 1727-1731, 1974.
- 45) **Osaki, S. and Ishida, Y.** : Effects of annealing and isothermal crystallization upon crystalline form of poly(vinylidene fluoride). *J. Polym. Sci.* **13** : 1071-1083, 1975.
- 46) **Osaki, S., Ishida, Y. and Kaoru, Y.** : High temperature relaxation of form III poly(vinylidene fluoride). *Polym. J.* **12** : 171-176, 1980.
- 47) **Osaki, S. and Kotaka, T.** : Electrical properties of form III poly(vinylidene fluoride). *Ferroelectrics* **32** : 1-11, 1981.
- 48) **Osaki, S.** : Spider silk as mechanical lifeline. *Nature* **384** : 419, 1996.
- 49) **Osaki, S.** : Is the mechanical strength of dragline reasonable as a lifeline ? *Int. J. Biol. Macro.* **24** : 283-287, 1999.
- 50) **大崎茂芳** : クモの糸のミステリー (中公新書). 中央公論新社, 東京, p1-186, 2000.
- 51) **Osaki, S. and Ishikawa, R.** : Determination of elastic modulus of spider's silks. *Polym. J.* **34** : 25-29, 2002.
- 52) **Osaki, S.** : Safety coefficient of the mechanical lifeline of spiders. *Polym. J.* **35** : 261-265, 2003.
- 53) **大崎茂芳** : なぜクモは糸から落ちないのか (PHP新書). PHP 研究所, 東京, p1-211, 2004.
- 54) **Osaki, S., Yamamoto, K., Kajiwara, A. and Murata, M.** : Evaluation of the resistance of spider silk to ultraviolet irradiation. *Polym. J.* **36** : 623-627, 2004.
- 55) **Osaki, S.** : Ultraviolet rays mechanically strengthen spider's silks. *Polym. J.* **36** : 657-660, 2004.
- 56) **Osaki, S.** : Physico-chemical properties of spider silk - An approach to nanostructure, in *Macromolecular nanostructure materials* edited by Ueyama, N. and Harada, A. KODANSHA Springer, London, p297-320, 2004.