

鶏胚の軟骨と骨の成長に及ぼす無重力の影響

PI: 須田 立雄 (昭和大学)

CI: 阿部 悦子, 新木 敏正, 片桐 岳信, 吉木 周作, 山口 朗,
横瀬 敏志, 柴崎 好伸, 榎 宏太郎, 三河 雅敏, 浜崎 泰代 (昭和大学)
堀河 博 (伊藤忠飼料 (株) 研究所)
永井 裕 (東京医科歯科大学)
新井 克彦 (東京農工大学)
鈴木不二男, 岩本 容泰, 岩本 資己 (大阪大学)
遠藤 浩良, 川島 光太郎 (帝京大学)
丸山 工作 (千葉大学)
高橋 周七, 五十嵐 真, 佐藤 常男, 北 史男, 小池 勝也,
日鳥 幸一 (日本大学)
石橋 晃, 楠原 征治 (新潟大学)
渡辺 恵美子 (東京テクニカルカレッジ)
野地 澄晴 (徳島大学)
鹿島 勇, 西村 光輔 (神奈川歯科大学)
八杉 貞雄 (都立大学)
内藤 充 (農林省)
Cohen, G. M. (Florida Institute of Technology)
Conrad, G. W. (Kansas State University)
Tuan, R. S. (Thomas Jefferson University)

[実験目的]

長期の宇宙飛行では宇宙飛行士の骨密度が著明に減少し、尿中へのカルシウムの排泄が増加することが報告されている。これは、無重量の宇宙空間ではカルシウム代謝が負のバランスに傾くためと考えられている。これに似た現象は地上でも観察される。例えば、老人性骨粗鬆症や寝たきり老人で代表される不動性骨萎縮である。今回、我々は発生段階の異なる30個の鶏胚(0, 7, 10日齢, 各10個)をスペースシャトルエンデバーに搭載して、鶏胚の初期発生(0日齢胚)とカルシウム代謝(7, 10日齢胚)に及ぼす無重力の影響を調べる実験を計画した。0日齢の鶏胚の初期発生に関する実験は、1989年にアメリカのVellinger⁽¹⁾が行った実験結果にもとづいて新たに追加した実験であるが、既に報告⁽²⁾されている成熟動物(ラット、ヒト)に対する無重力の影響とは異なる実験結果が予想され、宇宙医学、発生学、内分泌学、細胞生物学の面から興味を持たれた。

[実験方法と結果の概要]

本宇宙実験では、0, 7, 10日齢の鶏胚を10個ずつ卵コンテナに収納して宇宙空間で孵卵を続け、8日後にKSC(ケネディースペースセンター)にて回収した。8日間の飛行中、無重力状態の宇宙空間で孵卵した時間は7日と3時間であった。生存して回収された鶏胚の約半数は組織を採取するために回収後直ちに実験に供し、残りの半数は地上(KSC)で孵卵を続け、孵化後同様に実験に供した。また、Flight(F)群とは別に、Ground Control(GC)群、Control(C)群を設けて、地上対照実験とした。Ground Control群はFlight群と同型の卵コンテナと孵卵器を使用した。Control群は卵コンテナを使用せず、孵卵器も市販の通常孵卵器を使用した。尚、3群とも受精卵の包装、設置法、室温放置時間、転卵法、孵卵のスケジュールは全て同様に行った。

(1) 飛行直後の鶏胚の生存率と孵卵を続けた時の孵化率

発生段階の異なる3種の鶏胚をスペースシャトルに搭載して8日間宇宙飛行を続けた。飛行後、地上(KSC)で回収された時点でのFlight群の鶏胚の生存率は、1/10(0日齢)、10/10(7日齢)、9/10(10日齢)であった(表1)。尚、Flight群0日齢10個の鶏卵のうち2個は無精卵であった。同様の実験は、Ground Control群及びControl群についても行われ、3群の生存率の結果を表1に比較した。Ground control, Control群においてはいずれの日齢の鶏胚もほぼ全例が生存して回収された。Control群10日齢の鶏胚の4個の死亡例は発生を進めることなく10日齢の発育段階のまま死亡していた。これは、24時間の室温放置による温度変化のためと思われる。

3群とも生存して回収された鶏胚の内から半数を選び、組織を採取するため直ちに解剖に供した。残りは地上で孵卵を続けて、孵化後に同様の処理を行った。表2は孵化時の成績を示しているが、Flight群0日齢、Ground Control群10日齢の鶏胚の1例づつが途中死亡したのみで、いずれの群も正常に孵化した(図1)。尚、各個体の孵化日は孵卵開始後21~22日目に相当し、孵卵開始から孵化日までの遅延は特に認められなかった。

表1 8日間の宇宙飛行後の鶏胚の生存率*

生存率 (生存した鶏胚数/全鶏胚数)			
グループ	Flight 群 (F)	Ground control 群 (GC)	Control 群 (C)
0日齢	1/10 (2)	7/10 (1)	10/10
7日齢	10/10	10/10	10/10
10日齢	9/10	10/10	6/10
生存率	20/30	27/30	26/30

* 鶏胚の生死はスペースシャトルエンデバーの着陸3時間後の検卵によった。
() 内は無精卵の数を示す

表2 8日間の宇宙飛行後、地上で更に孵卵を続けた鶏胚の孵化率

孵化率 (孵化した鶏胚数/全鶏胚数)			
グループ	Flight 群 (F)	Ground control 群 (GC)	Control 群 (C)
0日齢	0/1	3/3	5/5
7日齢	5/5	5/5	5/5
10日齢	4/4	4/5	3/3
生存率	9/10	12/13	13/13



図1 Flight群7日齢の鶏胚は9月26日から27日にかけて全例孵化した。孵卵開始から孵化までの日数は約21日で、7日齢鶏胚の無重力下での発育速度は地上とまったく同じであったことがわかる。

(2) Flight 群 0 日齢の死亡の原因について

Flight 群 0 日齢 10 個のうち有精卵は 8 個で、その内 1 個は K S C 着陸後も生存していた (表 1)。しかし、他の 7 個は 1 ~ 5 日齢の発育段階⁽³⁾で死亡していることが確認された (表 3)。図 1 は死亡して回収された個体の 1 例と、生存して回収された鶏胚を示した。続いて死亡した各個体の組織切片を作製し、形態形成異常が認められるか否かを詳細に検討した。その結果、各個体の形態形成 (神経管、脳、血液、目、耳など) には特に大きな異常は認められなかった。

また、生存して回収された 1 例 (図 2 d, 孵卵開始 24 日目に孵化を待たず死亡) について、ソフト X 線像、頭部足部のマクロ写真、骨の組織像を age-matched Control の鶏胚と比較したが、下のくちばしが短いこと、頭部がやや小さいなどの点が指摘されたのみで、特筆すべき大きな異常や欠陥は見い出せなかった。

表 3 Flight 群、Ground control 群、Control 群 0 日齢鶏胚の発生状況

Flight 群	Ground control 群	Control 群
F-0- 1 (死亡, 2 日齢)	GC-0- 1 (生存, 6.5-7 日齢)	C-0- 1 (生存, 5.5-6 日齢)
2 (死亡, 5 日齢)	2 (無精卵)	2 (生存, 6 日齢)
3 (死亡, 5 日齢)	3 (生存, 7.5 日齢)	3 (生存, 5 日齢)
4 (死亡, 1-2 日齢)	4 (生存, 7.5 日齢)	4 (生存, 5.5-6 日齢)
5 (無精卵)	5 (生存, 6.5-7 日齢)	5 (生存, 5.5-6 日齢)
6 (死亡, 1-2 日齢)	6 (死亡, 6 日齢)	6 (生存, その後孵化)
7 (無精卵)	7 (死亡, 6 日齢)	7 (生存, その後孵化)
8 (死亡, 2-3 日齢)	8 (生存, その後孵化)	8 (生存, その後孵化)
9 (生存, その後死亡)	9 (生存, その後孵化)	9 (生存, その後孵化)
10 (死亡, 2-3 日齢)	10 (生存, その後孵化)	10 (生存, その後孵化)

() 内の "死亡" あるいは "生存" は飛行直後の生死を表わす。また、地上で孵卵を続けた鶏胚の運命については、"生存, その後孵化"、または "生存, その後死亡" と記した。

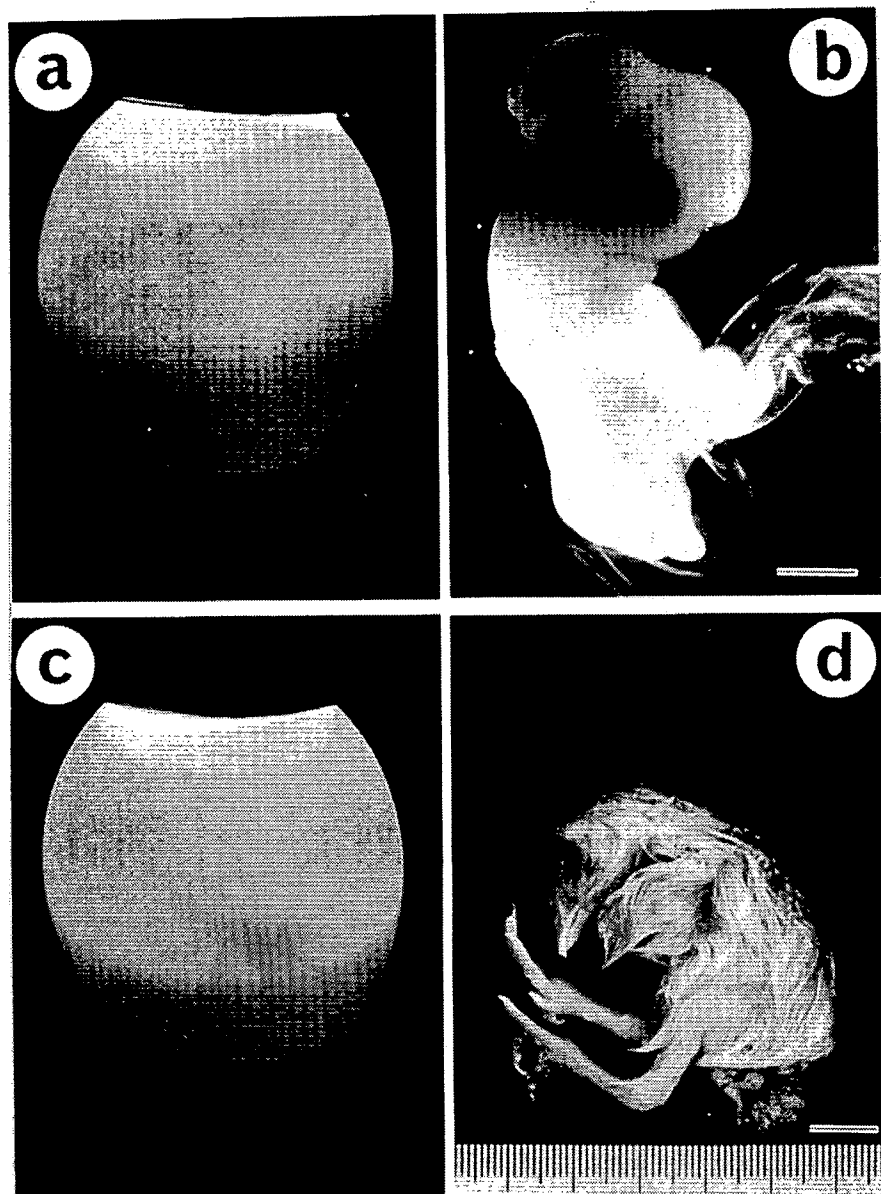


図2 Flight群0日齢鶏胚の飛行直後の検卵写真(a,c)と解剖写真(b,d)
 飛行直後の検卵で死亡(a)および生存(c)が確認された鶏胚について、直ちに解剖(b)、あるいは地上で孵卵を続けて24日目に死亡した例(d)を示す。(b)は5日齢；(d)は16日齢のステージまで発生していた。

ところで、鶏の受精は排卵後15分以内に輸卵管の漏斗部 (infundibulum) で行われるが、その後約24時間かけて輸卵管 {膨大部 (magnum)、峡部 (isthmus)、子宮部 (uterus)} でそれぞれ卵白形成、卵殻膜形成、卵殻形成を行う。また、鶏胚

原基は胚盤葉 (blastoderm) と呼ばれ、産卵時には増殖した細胞が 6×10^4 個にも達する⁽⁴⁾。地上で受精卵を横にして孵卵を始めると、胚盤葉は卵白中に浮遊して卵殻近くに移動し、胚発生 の進行につれて卵殻膜の内側に血管に富む漿尿膜 (chorioallantoic membrane) を形成する (6~7日齢以降)。漿尿膜は、卵殻外から酸素を補給するためと卵殻からカルシウムを溶解して鶏胚に供給する重要な組織である。胚盤葉は常に卵黄の頂点付近に位置する。胚盤葉が正常に胚発生をおこなうためには、卵黄と卵白の比重の差が重要である (卵黄の比重:1.029、卵白の比重:1.040)。従って、今回の宇宙実験のように無重力下で受精卵を孵卵した場合には卵白と卵黄の比重の差が意味をなさなくなり、胚盤葉が卵白内に沈んでしまって、鶏胚の発生と漿尿膜の形成が影響を受けたのではないかと考えられた。0日齢1個の有精卵が16日齢まで発生したのは、転卵操作等により偶然に胚盤葉が卵殻近くに位置するようになり、漿尿膜形成が起きたためであろうと考えられた。

そこで、初期胚 (0日齢) の発生には卵白と卵黄の比重の差が重要であることを証明するため、卵白の比重をいろいろに変えた実験モデルを作製し、地上で実験を行なった。実験は、まず産卵直後の受精卵の卵黄と卵白をとり出し、特殊なシステム内で再び卵黄と人工的に作製した卵白 (卵白と塩類溶液を混合し比重を下げたもの) を卵殻内へ戻して孵卵⁽⁵⁻⁷⁾した。この体外培養装置では、外部から卵黄の浮遊状態や胚発生 の状況を観察することができた。

実験には数種類の人工卵白を作製し (表4、100/0~50/50)、最終的に人工卵白液の比重を卵黄に近い (1.029) 値とした。3日間の孵卵実験中、卵白中の卵黄の位置を毎日チェックし、実験最終日の3日目に鶏胚の生死を観察した。その結果、3日間の培養期間中、2日間以上卵黄が卵白中に沈んでいたグループ4と5においては鶏胚はほぼ全例死亡していた (卵黄が人工卵白中に沈んでいた日数と3日間の鶏胚の生存率; 0日/100%, 0~1日/98%, 1~2日/85%, 2~3日間/11%, 3日/0%)。

表4 種々の人工卵白を用いて鶏胚を孵卵 (3日間) した際の鶏胚の生死について

グループ	卵黄の位置 (培養日数) 0 1 2 3	培養液 鶏胚数	卵白 (%) / 塩類溶液 (%)							生存率	
			100 0	70 30	65 35	60 40	55 45	52.5 47.5	50 50	合計	%
1	浮遊	生存	10	2	5	1				18	100
	沈下	死亡	0	0	0	0			0		
2	浮遊	生存		1	5	9	14	11	4	44	98
	沈下	死亡		0	0	0	1	0	0	1	
3	浮遊	生存					5	4	2	11	85
	沈下	死亡					0	0	2	2	
4	浮遊	生存					0	1		1	11
	沈下	死亡					2	6		8	
5	浮遊	生存					0	0	0	0	0
	沈下	死亡					1	1	3	5	

3日間の孵卵期間中、卵黄の位置を毎日観察し、3日目に鶏胚の生死を確認した。

(3) 7日齢及び10日齢の鶏胚に対する無重力の影響

7日齢及び10日齢の鶏胚については、シャトル到着後直ちに、あるいはKSCで更に孵卵を続け孵化したヒナについて組織を採取し、生化学的あるいは形態学的に無重力の影響を観察した。実験内容と実験結果を表5、表6に記載した(HF群、HGC群は孵化直後のFlight群及びGround control群のヒナを意味する)。一部の結果については詳細な結果を後半に図(図3~図12)で示した。

表5は骨、軟骨等の硬組織を主体にした実験、表6は軟組織についての実験結果である。表5の結果からF-7群はGC-7群やC-7群に比較して軽度の骨形成不全(骨密度の低下、骨梁の石灰化遅延、軟骨基質の形成不全)の傾向がみられた。しかしながら、これらの変化は既に報告されているヒトや成熟ラットを用いた無重力下での著明な骨密度低下に比較すると、極めて小さいと考えられた。

表5 骨・軟骨への無重力の影響

実験内容	結果
1. 軟X線による骨レ線像	上腕骨, 大腿骨, 脛骨, 橈骨, 足根骨の長さ及び頸骨の骨化度は3グループ間で差なし。
2. 骨吸収と骨形成 (in vitro実験)	3群で差なし (図3)
大腿骨の長さ	3群で差なし (図4)
大腿骨のCa, P含量	3群で差なし (図5)
3. 脊椎の骨密度と形態 (DEXAによる観察)	脊椎骨の骨密度はGC-7群に比較してF-7群でやや減少(有意差あり)。
4. 上腕骨と頸椎の骨密度 (Image analyzerによる観察)	上腕骨の骨密度はGC-7群に比較してF-7群でやや減少(有意差あり図6)。海綿骨部位の骨梁の石灰化の遅延が示唆された。
5. 上腕骨の骨強度	F-7群の骨強度はやや弱い傾向あり。
6. 骨組織切片の形態	3群で差なし (図7)
7. 胸骨のプロテオグリカン合成	3群で差なし (図8)
8. 上腕骨, 頭蓋骨, 血液のオステオカルシン濃度	3グループ間で有意差なし。
9. 脛骨フォスファターゼ活性	脛骨を3部位に分けて測定したが、グループ間で差なし。
10. 軟骨のコラーゲン合成 (免疫染色)	F-7群において、type XI コラーゲンの沈着の減少及び、type II コラーゲンの異常な形成あり。
11. 肢葉のFGFレセプター (in situ実験)	3群で差なし

表6 軟組織への無重力の影響

実験内容	結果
12. 筋肉中の蛋白質パターン	アクチン、ミオシン、コネクチン、ネブリン等の筋タンパクの電気泳動パターンは3グループ間で差なし(図9)。
13. 筋肉蛋白質の代謝	アクチン、ミオシンの分解物である3-メチルヒスチジンの漿尿液への排泄量を調べた。GC-7, GC-10群に比較してF-7, F-10群では排泄が抑制される傾向にあった。
14. 卵殻の微細構造	卵殻からのCaの溶出量(乳頭層の空胞から推定)は、GC-7, GC-10群に比較してF-7, F-10群では低い傾向にあった(図10)。
15. 耳石器の形成	耳石の大きさ、形態は3グループ間で差なし(図11)。
16. 軟組織の蛋白合成と形態	肝臓の蛋白量、RNA/湿重量はGC-10群に比較してF-10群で低値を示し、無重力下での蛋白合成低下を示唆。 肝、心、筋の形態はGC-10群とF-10群では繊維の走行や小胞体の状態が僅かに異なっていた(図12)。甲状腺上皮組織の小胞体の分布状態にも差異がみられた。
17. 小腸の細胞の増殖と分化	増殖と分化の指標であるポリアミン代謝の律速酵素(ODC)及びポリアミン量を測定したが、3グループ間で差なし。組織切片の観察についても3グループ間で差なし。

[各組織についての結果のまとめ]

骨格系への影響(組織学的検索)

試料をKSCで回収後、直ちに軟X線により鶏胚の全身像を観察した。その結果、長管骨の長さ、骨化度はコントロール群に比較して特に異常は認められず、解剖後に測定した大腿骨の長さ、湿重量(図4)とも3グループ間でまったく相違を認めなかった。しかし、頸椎、脊椎、上腕骨の局所(海綿骨)の骨密度をDEXA、あるいはImage analyzerを用いて詳細に観察すると、F-7群において有意の石灰化度の低下がみられた(図6)。この低下はF-10群においては観察されなかった。地上で孵卵を続けて孵化したヒナについても違いが観察されなかったことから、無重力下における骨格形成は、孵卵後期においては無重力下でも正常に发育するのではないかと考えられた。尚、F-7群の骨は機械的刺激に対しても弱い傾向が認められた。

発生途上の骨組織について切片を作製し、組織学的にCaの存在や種々の細胞（骨芽細胞、破骨細胞、骨細胞）を染色して比較したが、顕著な差異は認められなかった（図7）。しかし、軟骨基質を構成する蛋白質の代表であるコラーゲンについて組織切片上で免疫染色を施して観察すると、F-7, F-10群においてはコラーゲン繊維の発現量の低下 (Type XI)、および繊維の配列の異常 (Type II)が観察された。一方、発生途上に発現するFGFレセプターについて、肢芽 (limb bud) を用いて in situ 法で観察したが、3グループの間で特に異常は認められなかった。

骨格系への影響（生化学的検索）

骨代謝を生化学的に観察するためには、ある程度の組織重量を必要とすることから、鶏胚などの長管骨においては1本をそのままあるいは、粉碎して使用することになる。大腿骨に⁴⁵Caを取り込ませて骨吸収と骨形成の割合（図3）を、また、骨中のCa, P含量を測定（図5）したが、特にF群において差が認められなかった。

また、骨組織に特異的に存在し骨形成マーカーとなるオステオカルシンおよびアルカリホスファターゼ活性を測定したが、3群の間で差異は認められなかった。その原因として、生化学的手法によっては骨の局所の活性を反映できなかったことが考えられた。同様に軟骨中の基質糖蛋白の合成量を³H-グルコサミンの取り込みにより検討したが、3群の間で差は認められなかった（図8）。

筋肉系への影響

筋肉に対する無重力の影響を組織学的・生化学的に観察した。光顕・電顕レベルで筋肉組織は間質が広く疎な傾向がみられ、筋繊維も増加傾向にあり、細胞内小器官の発達の抑制傾向が認められた（図11）。しかし、筋肉に特異的に存在する種々の蛋白質を電気泳動上で比較したが、3群の間で差異は認められなかった。すなわち、無重力下での筋線維形成は、蛋白質の合成異常というよりむしろ合成した蛋白質のオーガニゼーションに異常が起こったのかもしれない。一方、筋肉蛋白質の分解物である3-メチルヒスチジンの漿尿膜への排出量はF群でやや低い傾向にあった。この点は、組織学的検索とも一致し、無重力下における筋線維が機能抑制の結果であることが確認された。

他の軟組織への影響

筋肉の組織学的所見と同様に肝臓、腎臓においても、F群において小空胞の存在、疎面小胞体の減少などが若干見られ、機能低下が推察された。

しかし、小腸において細胞増殖・分化のマーカーとなるポリアミン、およびその代謝酵素の測定、アルカリフォスファターゼ酵素活性を測定したが、3群の間に有意の差は認められなかった。

耳石は平衡感覚を司る重要な器官である。走査電顕レベルで耳石の大きさ、形態、Ca含量を比較（図11）したが、3群の間で差はみられなかった。

卵殻への影響

卵殻の成分は炭酸カルシウムであり、鶏胚の発生のために必要なカルシウムの大部分を供給する組織である。卵殻内部の乳頭層を組織学的に観察することにより吸収したカルシウムの痕跡を観察することができる。図10に組織学的所見を比較し、空胞の大きさ、数を比較したが、3群の間に差異が認められなかった。

[考察および結論]

“スペースシャトル” “エンデバー” を用いた宇宙実験において、我々は0、7、10日齢の鶏胚を用いて実験に臨んだ。すなわち鶏胚の初期発生については0日齢を、骨、軟骨に対する無重力の影響については7日齢と10日齢の鶏胚を用いた。1989年、アメリカの Vellinger 等の硬組織は2日齢と9日齢の鶏胚を用いて同様の実験を行い、初期胚（2日齢）発生は無重力下で著しい影響を受け、全例が死亡したと報告している。我々の実験においても彼らの結果が再現され、0日齢胚は1例 (space embryo) 以外の全例が死亡したのに対し、7、10日齢の鶏胚はほぼ全例が正常に発生して地上で回収された。

アフリカツメガエル (*Xenopus laevis*) の受精卵を用いて行った初期発生に対する多くの実験結果は、頭尾軸、背腹軸、左右軸の3軸、特に背腹軸の決定に重力が重要な因子となる事が示唆⁽⁸⁾されている。我々が今回実験に使用した0日齢の鶏胚（受精卵）は産卵直後の受精卵を用いているので、鶏の輸卵管の漏斗部で受精した卵は産卵時には既に 6×10^4 個の細胞に増殖した状態にある。従って、我々の0日齢の鶏胚は発生軸の決定をすでに終えた胚が種々の組織に分化してゆく段階に重力が必要であるか否かを検討する事になる。結果は1例を残して全例が1-5日齢のステージで死亡していることが確認された。組織学的検索の結果から、無重力が胚の発生・分化に直接影響を与えたというよりも、むしろ、鶏の発生・分化に付随して起こる血管系（漿尿膜）の形成が無重力下で阻害されたために胚が死に至ったのではないかと想像された。生存して回収された1例は偶然にも血管系の形成が正常に起こったケースであるが、検卵の結果から想像すると宇宙空間に滞在した7日間の間に行われた発生のスピードは1Gのコントロール群と比較して著しく遅延していると考えられた。事実、生きて回収された0日齢の鶏胚 (space embryo) を地上で孵卵を続けたが、通算24日間孵卵したにも拘らず16日齢のステージで死亡が確認された。

1G下においては、胚（胚盤葉）は卵黄の上部に位置し、また卵黄は常に卵白上に浮いている。この位置関係は卵黄の比重が1.040、卵白の比重が1.029であるためである。しかし、無重力下では、卵黄と卵白の比重が意味をなさなくなり、卵黄および胚は卵白中に沈んだ状態となり、無重力下では胚を取り巻く漿尿膜の形成が阻害されたのではないかと考えられた。この作業仮説を証明するために地上で無重力状態と同様の状態（卵白に塩類溶液を混ぜて人工的に卵白の比重を卵黄に近づける）を作り、模擬実験を行ったところ、卵黄が2日間以上卵白中に沈んだ状態では胚は決定的な損傷を受けることが証明された。一方、7日齢と10日齢胚はほぼ全例が正常に発生したが、これは打ち上げ時に既に血管系の発生が十分に行われ（卵殻内部に漿尿膜の形成が観察された）て、胚の位置が固定されていたために無重力の影響を受けなかったのではないかと想像された。

我々が今回の宇宙実験計画を NASDA に提案したのは1979年のことで

ある。当初の計画は後期の鶏胚の発生（7および10日齢）を用いて骨・軟骨形成に対する無重力の影響を調べることであった。既にソ連・アメリカの共同研究によって、22日間の宇宙旅行で成熟ラットの骨形成は顕著に抑制されたが、1Gの状態（26日間）に戻すことによりその抑制は解除されたと報告されている。7日齢と10日齢の鶏胚を用いた今回の我々の実験では彼らの実験結果と異なって、無重力下にあった実験グループにおいても、コントロール群とほぼ同様の骨形成と骨吸収がおこなわれていること、組織学的並びに生化学的に観察された。他の軟組織においてもコントロール群と比較して大きな差異は認められなかった。その原因として、①7、10日齢の鶏胚は骨吸収よりむしろ骨形成の盛んなモデリングの状態にあり、骨吸収と骨形成を行う成熟動物のリモデリングの状態とは異なること、②7、10日齢の鶏胚は卵の中で浮遊した状態にあり、骨組織に対してメカニカルストレスが全くない状態にあること、③今回の我々の実験期間は7日間であり、ソ連・アメリカの合同研究の22日間より短いこと、などの理由が考えられた。

[参考文献]

1. J. Vellinger & M. Deuser, *ASGSB Newsletter* 6, 4 (1990)
2. E.R. Morey & D.J. Baylink, *Science* 201 1138 (1978)
3. V. Hamburger & H.L. Hamilton, *J. Morph.* 88, 49 (1951)
4. K. Rowlett & K. Simkiss, *Br. Poult. Sci.* 28, 91 (1987)
5. M.M. Perry, *Nature* 331, 70 (1988)
6. M. Naito & M.M. Perry, *Br. Poult. Sci.* 30, 251 (1989)
7. M. Naito, K. Nirasawa & T. Oishi, *J. Exp. Zool.* 254, 322 (1990)
8. J. Gerhart, M. Danilchik, T. Doniach, S. Roberts, B. Rowning & R. Stewart, *Development*, suppl. 37 (1989)

[謝辞]

本実験は、宇宙開発事業団 (NASDA), 米国航空宇宙局 (NASA), 三菱重工 (MHI), 日本電気 (NEC), 三菱化成, 日本シェーバー, バイオシステムインターナショナル, Bionetics の多大なる援助のもとに遂行することができた。ここに感謝の意を表します。また、本研究のために宇宙科学研究所並びに日本私学振興財団から研究費を頂いたことに深く感謝します。

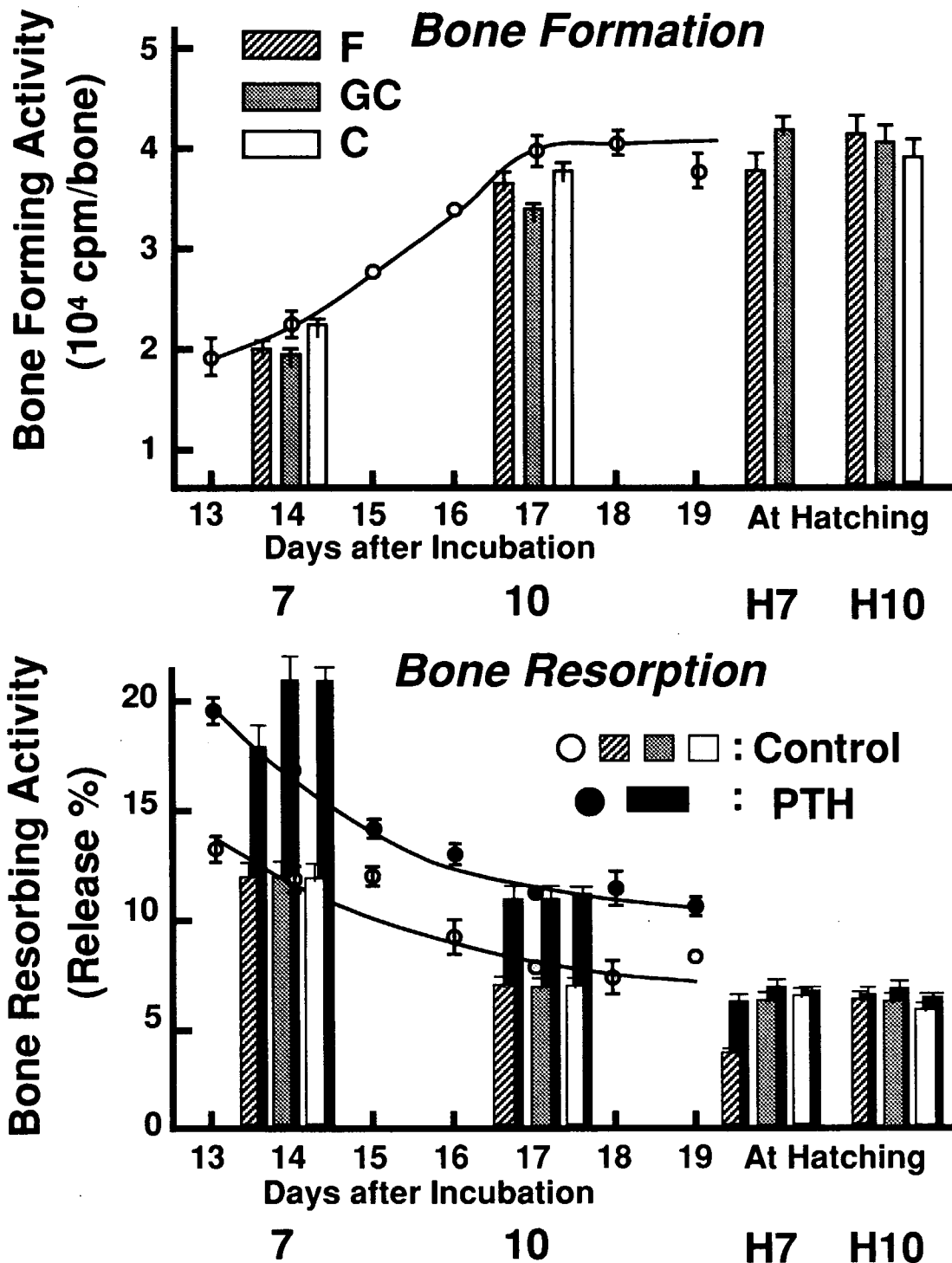


図3. 7日齢と10日齢鶏胚の飛行直後、及び孵化後の骨形成能と骨吸収能
 採取した鶏胚大腿骨を⁴⁵Caで24時間プレラベルした後、PTH (0.4 μM) の存在下、非存在下
 で更に48時間インキュベートした。インキュベーション終了後、培養液及び骨中のアイソト
 プ量をカウントした。骨吸収能は⁴⁵Caの%release (骨から遊離したアイソトープ量/骨に取り
 込まれた全アイソトープ量) で、骨形成能は骨中に取り込んだアイソトープ量を0時に外挿し
 て求めた。図中の折れ線グラフは13~19日齢胚の平均値を示す。7, 10はそれぞれ7日
 間の無重力空間での孵卵直後、H7, H10はそれぞれ孵化後のデータをカラムで表わしたも
 のである。

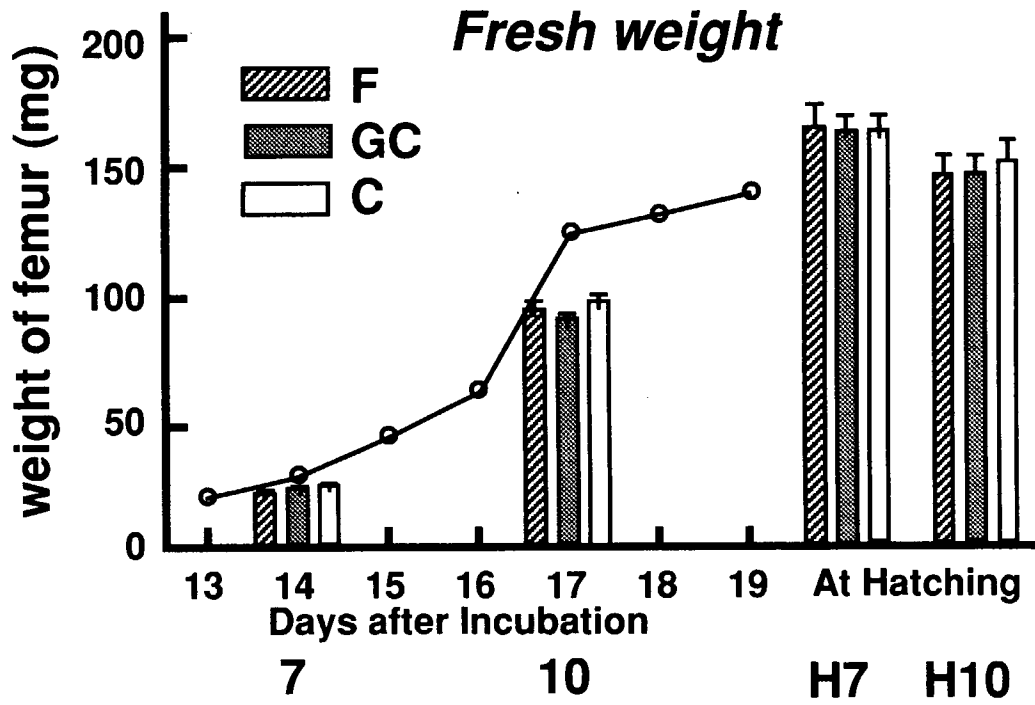
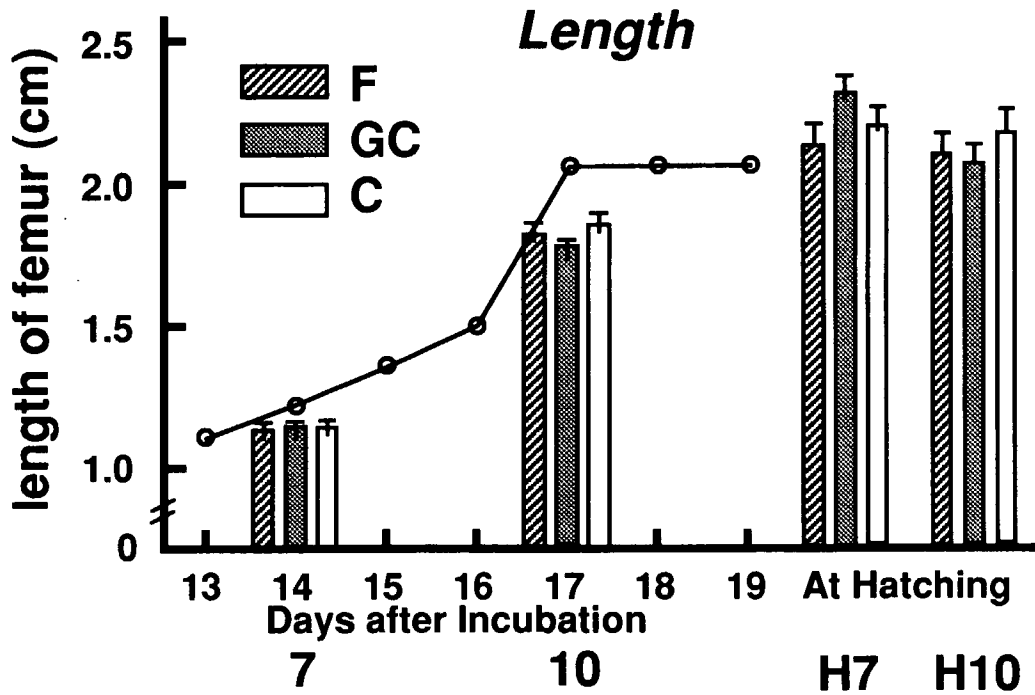


図4. 7日齢と10日齢鶏胚の飛行直後、及び孵化後の大腿骨の長さ重量
 図中の折れ線グラフは13~19日齢胚の平均値を示す。7, 10はそれぞれ7日間の
 無重力空間での孵卵直後、H7, H10はそれぞれ孵化後のデータをカラムで表わした
 ものである。

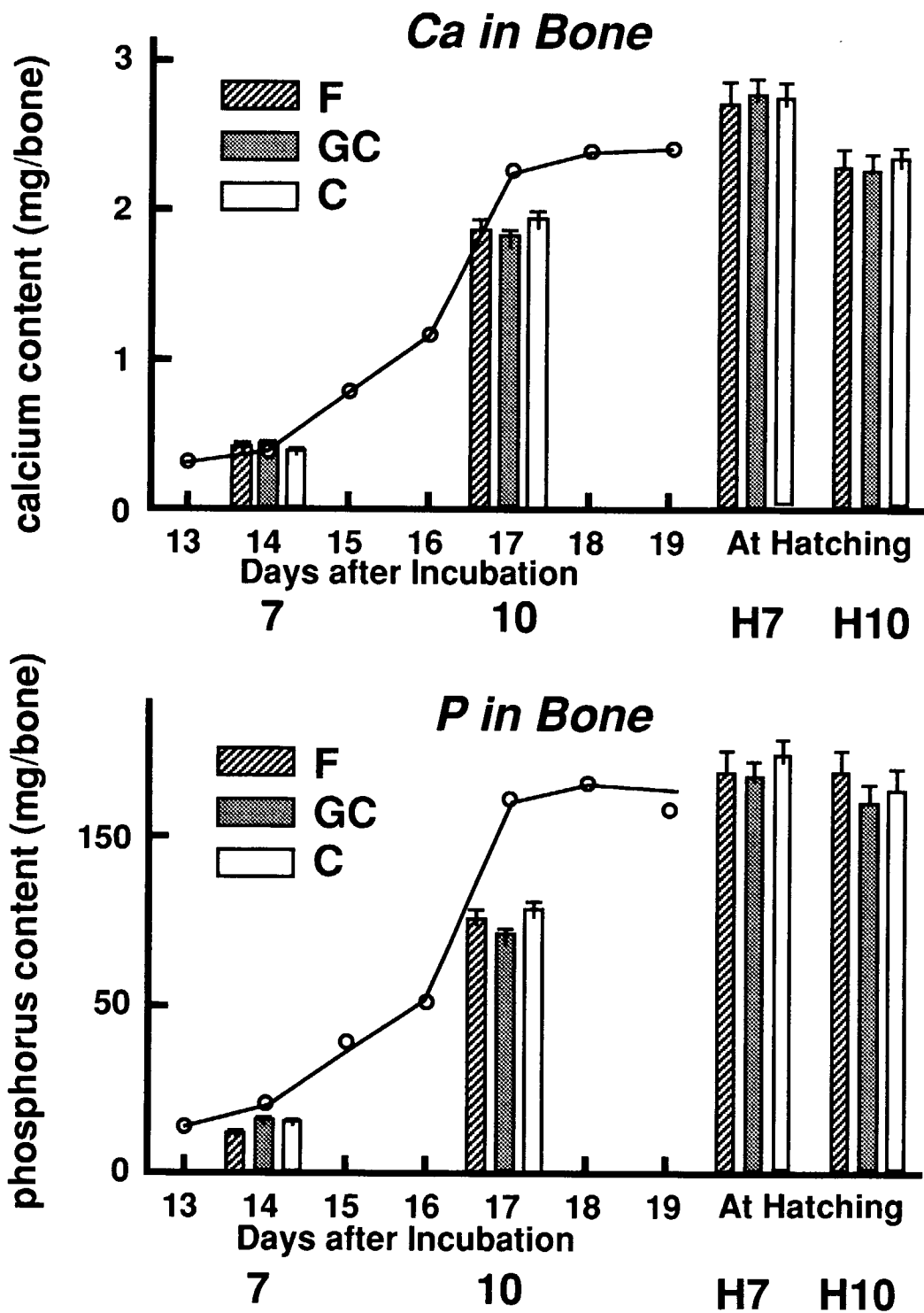


図5. 7日齢と10日齢鶏胚の飛行直後、及び孵化後の大腿骨中のCa, P含量
 図中の折れ線グラフは13~19日齢胚の平均値を示す。7, 10はそれぞれ7日間の
 無重力空間での孵卵直後、H7, H10はそれぞれ孵化後のデータをカラムで表わしたも
 のである。

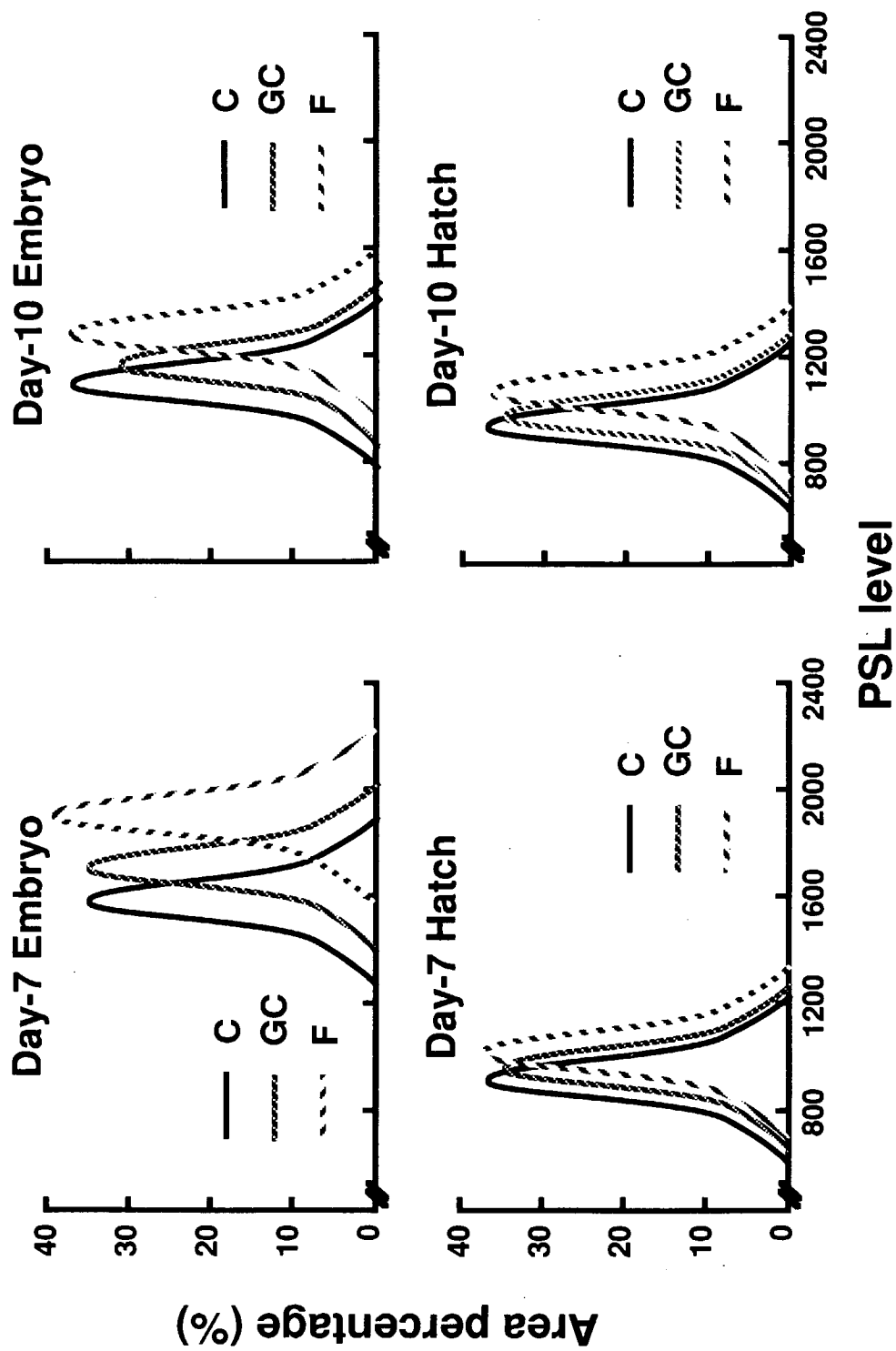


図6. 7日齢と10日齢鶏胚の飛行直後、及び孵化後の骨密度の分析

頰椎の海綿骨部位のX線写真をImage analyzer [Bas2000, フジフィルム]にて画像処理し、骨密度をPSL (透過光量) レベルで表わした。図中の横軸の右方向への移動は骨密度の低下を意味する。

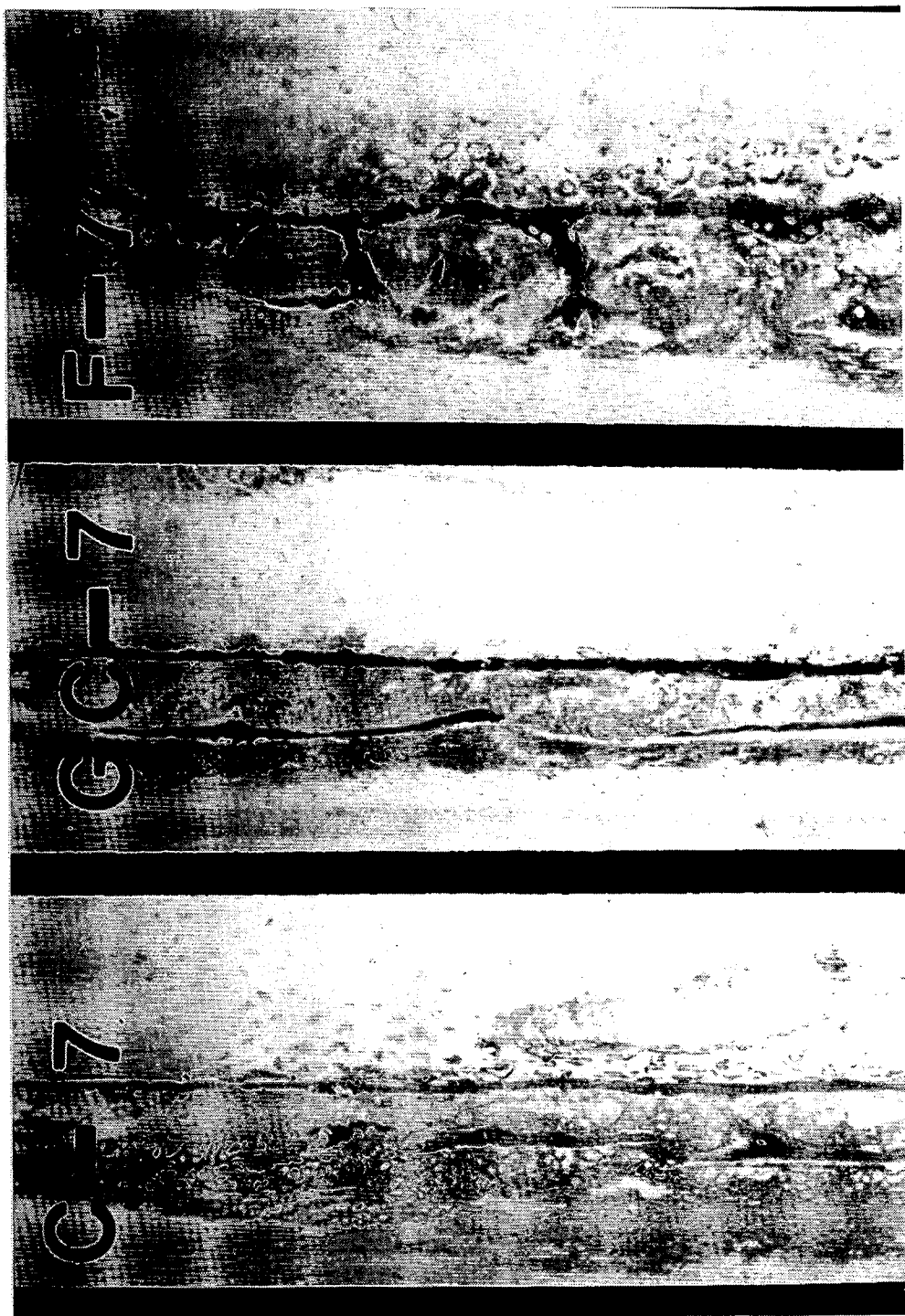


図 7. 7 日齢鶏胚の脛骨の飛行直後の組織像

アルカリホスファターゼ活性はナフトール A-MX リン酸を基質として染色を施し (紫色)、リン酸カルシウムは von Kossa 法により染色 (茶色) した。

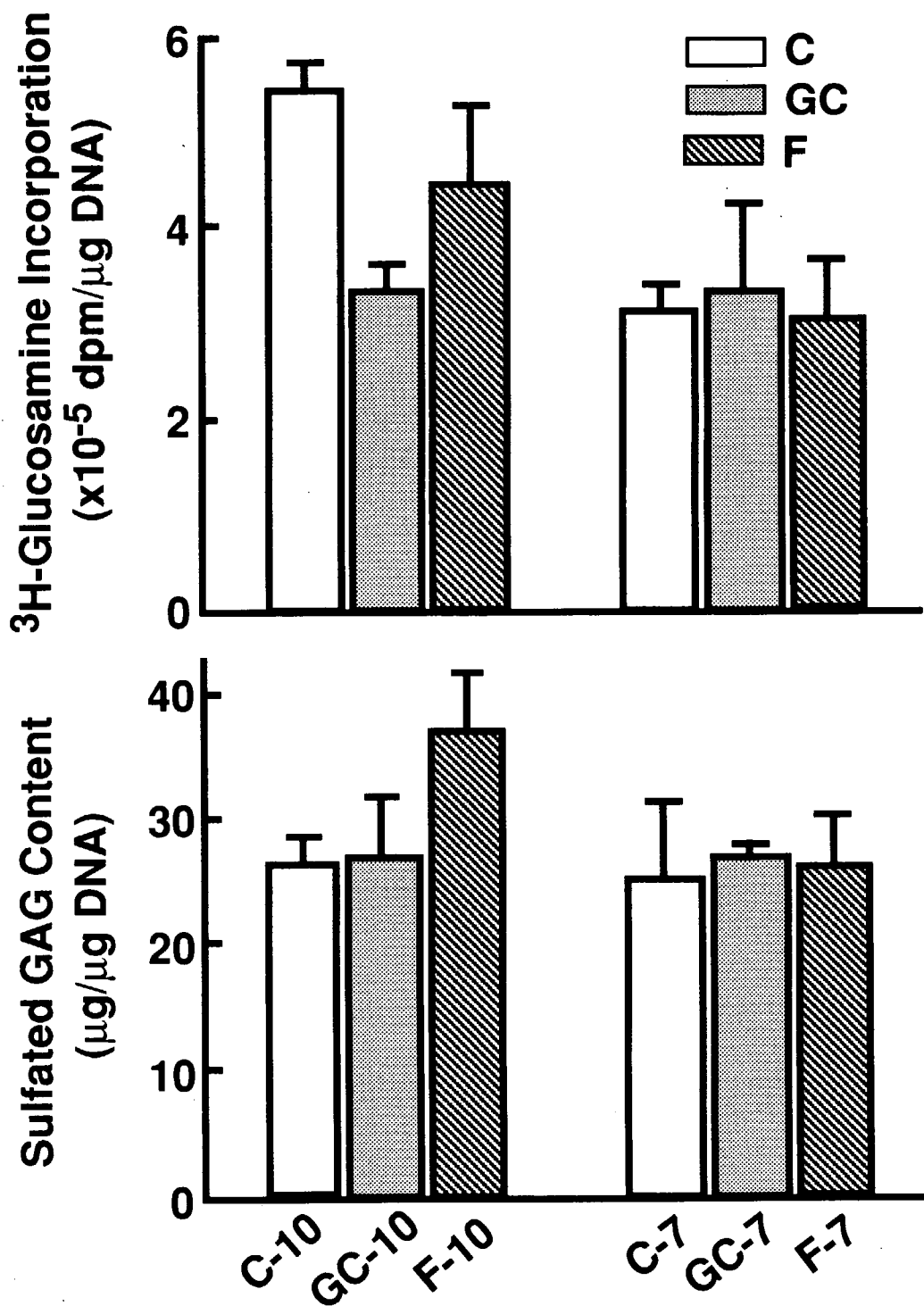


図 8. 軟骨のプロテオグリカン合成能と含有量

胸骨に ^3H -グルコサミンを加えて 21 時間インキュベートし、骨中へのアイソトープの取り込み量 (上段) および骨中の硫酸化グルコサミノグリカンの含有量 (下段) を測定した。

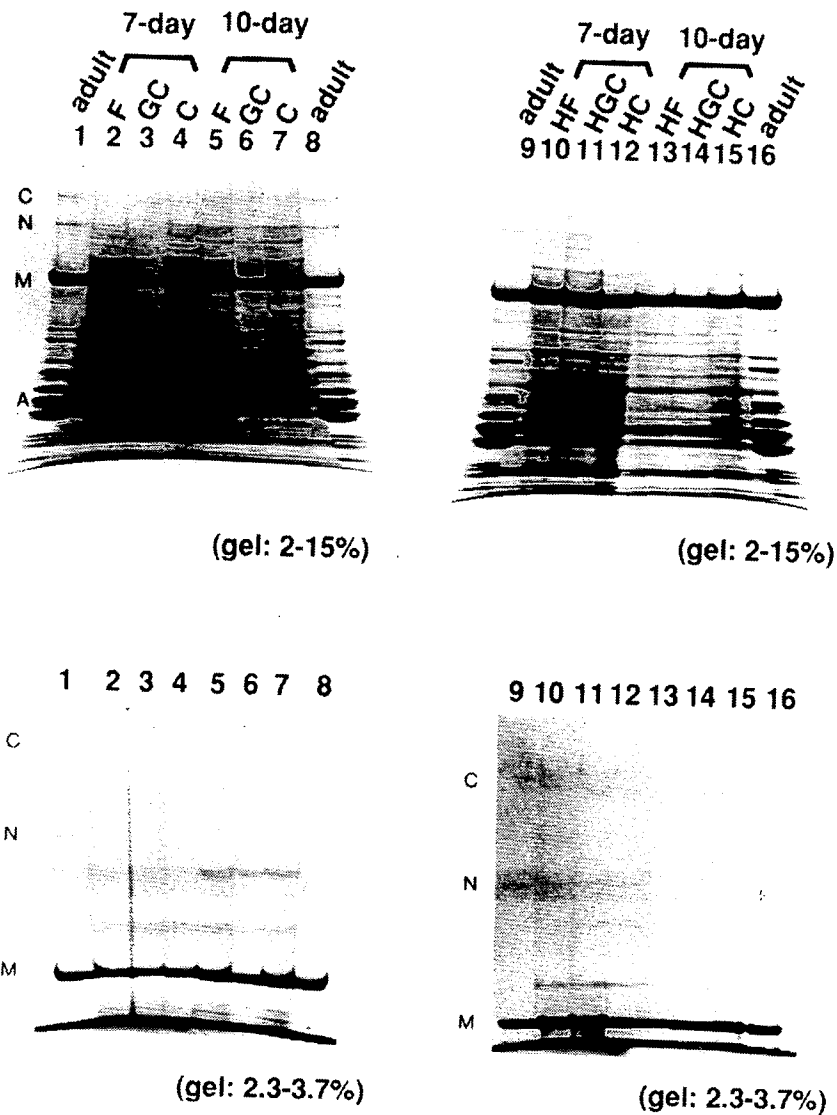
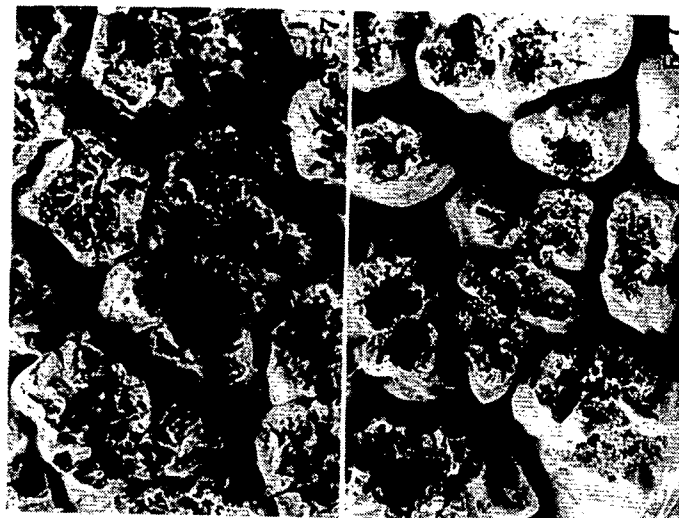


図 9. 筋蛋白質のゲル電気泳動パターン

試料および標準試料 (young adult chick から調製) は 2 種のグラディエントゲル (上段および下段) を用いて分析した。標準の蛋白質はコネクチン (C)、ネブリン (N)、ミオシン (M)、アクチン (A) である。

7-day-old



GC

F

10-day-old

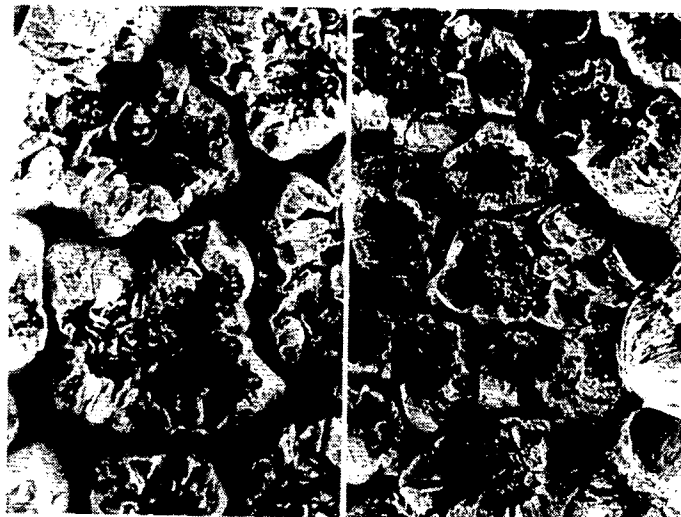


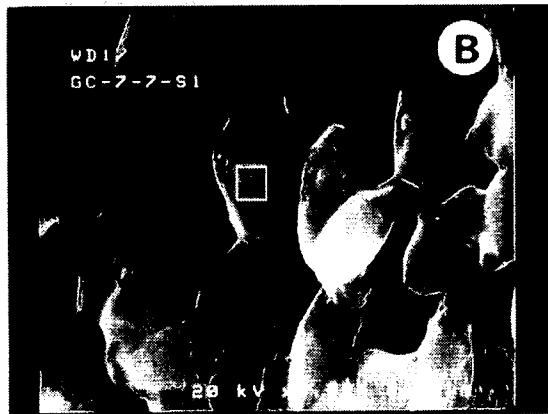
図10. 7日齢と10日齢鶏胚の卵殻の走査電顕

電顕像で示された火山様構造は卵殻から炭酸カルシウムが遊離された痕跡を示す。

F-7



GC-7



C-7

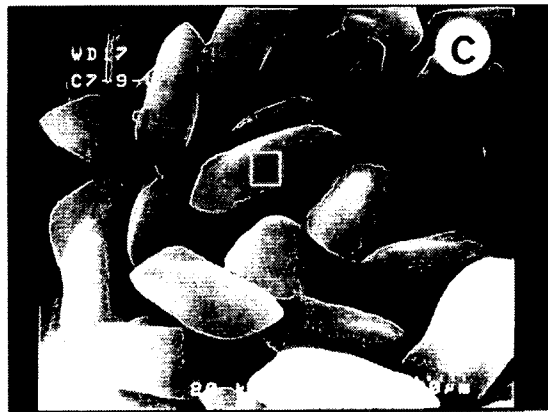
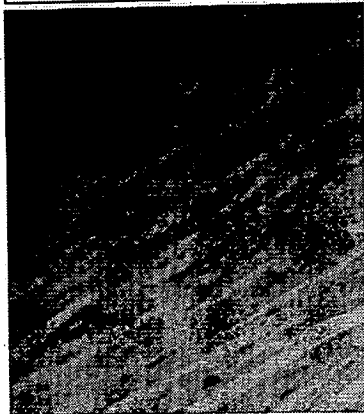


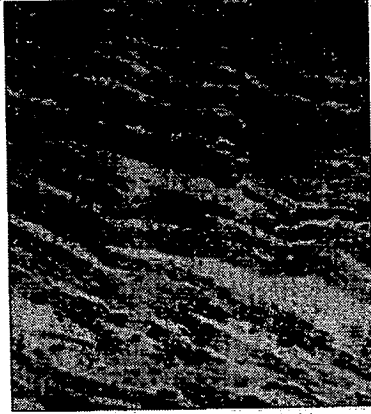
図 11. 7 日齢鶏胚の耳石の構造

耳石の結晶構造を走査電顕で観察し、その大きさと形態を 3 群で比較した。

GC-7



F-7



GC-7



F-7



図12. 7日齢鶏胚の心筋組織の光顕像と電顕像

光顕像はヘマトキシリン・エオジンで染色し（上段，x 300）、電顕像は酢酸ウラニル一鉛法で染色して、それぞれ検索（下段，x 15,000）した。