シンポジウム I-2

骨髓静脈洞内皮およびその周囲の細胞の構造と機能

— 細網細胞間のギャップ結合と自律神経終末の分布を含む “神経細網細胞複合体 (neuro-reticular complex)” 概念の提唱 —

山崎 一人

慶應義塾大学医学部病理学教室

Structure and function of bone marrow stromal cells around venous sinus
— the recognition of a novel anatomical unit: the “neuro-reticular complex” which involved the distribution of gap junctions and efferent autonomic nerve terminals.

Kazuto Yamazaki

Department of Pathology, School of Medicine Keio University

Hematopoiesis occurs mainly in the bone marrow tissue in adult mammalian species. In bone marrow, stromal tissue and parenchymal hematopoietic tissue could be discerned. In stromal tissue, three types of fibroblastic cells could be identified, which could be assumed to have a special hematopoietic inductive microenvironmental role—1) periarterial adventitial (PAA) cells, 2) intersinusoidal reticular (ISR) cells, 3) sinus adventitial reticular (SAR) cells.

SAR cells covered the adventitial surface of venous sinus wall and formed a blood-marrow barrier with the collaboration of endothelial cells. ISR cells and SAR cells had well-developed thin cytoplasmic processes and formed a reticular cellular network within the hematopoietic parenchyma, which divided it into many incomplete compartments. Within the adventitia of bone marrow arterioles, PAA cell is characterized by a thin veil-like cytoplasm which concentrically surrounds both nerves and arterioles. Nerve fibers containing unmyelinated axons and nerve terminals are distributed mainly between the layers of PAA cells, but rarely on the sinus walls or within the hematopoietic parenchyma. In this case, efferent (autonomic) nerves and bone marrow stromal cells which are connected by gap junctions (SAR cells, ISR cells, and PAA cells) appear to constitute a potential functional unit for signal conduction. We would like to propose a new term for this anatomical unit in marrow, the “neuro-reticular complex”.

The cellular relationship between the cancellous bone and the hematopoietic bone marrow was also suggested. Gap junctions were observed between osteocytes (within the trabeculae) and osteoblasts (at the trabecular surface) and between osteoblasts and

marrow reticular cells. These data emphasise the intimate relationship of the various mesenchymal cells based on processes and intercellular junctions, and point to an anatomical and probably functional integration of trabeculae and marrow.

Key words: gap junctions, bone marrow stroma, neuro-reticular complex, nerve terminals, hematopoietic inductive microenvironment

はじめに

本稿では、まず、骨髓静脈洞内皮およびその周囲の細胞の構造と機能ということで、主として、骨髓間質組織の超微形態学的特徴とその機能について、概説を試みる。さらに、最近明らかになった骨髓細胞間に分布するギャップ結合や、それらの骨髓間質細胞に終わる自律神経と思われる神経終末、そして、神経細胞複合体 (neuro-reticular complex) の概念の紹介を簡単にする¹⁾。また、ギャップ結合は骨髓内の細胞間にも分布していることも報告する²⁾。

造血微小環境概念について—骨髓における造血現象では、多分化能造血幹細胞が“種”、骨髓間質組織が“畑”の役割を果たす

ヒトをはじめ哺乳類の正常成熟個体では、造血現象は主に骨髓で起こっている^{3)~6)}。その骨髓組織は、大きく分けて造血細胞 (造血実質) と骨髓間質という二つの解剖学的な構成要素から成り立っている。造血細胞については、赤血球系、顆粒球系、巨核球系、血小板、リンパ球、単球、マスト細胞系等の各成熟段階の細胞が含まれるが、そのおおもとなる細胞、幹細胞が存在すると考えられている。その概念に従えば、多分化能造血幹細胞は骨髓に着床し自己再生、増殖、分化する。そして末梢血中におけるある一定の血液細胞数を保ち、また様々な機能を有する血液細胞を産み出し最終的には細胞死を迎える。その間、骨髓間質組織は産生される血球数を巧妙に調節し、恒常性を保つために重要な機能を果たしていると考えられている。すなわち、造血幹細胞のいわば“種子”としての役割に対し、骨髓間質組織の“畑”の役割が造血微小環境概念と呼ばれるものである^{7)~9)}。

造血微小環境概念についての作業仮説

現在までのところ、造血微小環境概念については、作業仮説として以下のようなことが考えられている。(図1)⁸⁾⁹⁾。つまり、骨髓間質細胞 (ストローマ細胞) は、造血調節因子を産生し標的細胞に呈示する。その際、造血因子は、細胞表面のヘパラン硫酸プロテオグリカンに付着し、固定された状態で標的造血細胞に作用する。一方標的造血細胞は、間質細胞の表面のリガンドを自己の細胞表面のリセプターで認識しその表面に接着する。このことにより、初めて標的細胞は造血因子に対して有効に反応することができるようになる⁸⁾⁹⁾。

実験データが蓄積されるに従い段々とこの仮説のナイーブ過ぎる点が明らかになってきたが、造血因子が glycosaminoglycan により補足されているために、その局所濃度が増大するメリットがこのモデルにはある。また、adhesive ligand-receptor の系を介することにより、標的造血細胞が固定され造血因子の局所濃度の増大に役立つばかりでなく、接着刺激により骨髓間質細胞 (ストローマ細胞) の造血調節因子産生を switch on する可能性もある。さらに、造血因子とそのリセプターの系そのものが細胞同士を接着させる機能を持つ場合もある。もちろん、造血調節因子の産生には、骨髓間質細胞 (ストローマ細胞) 以外の細胞、たとえば T 細胞やマクロファージなども一役買っている。ストローマ細胞間にはギャップ結合による接着が多く存在するが、これらギャップ結合の機能的意義も重要である。

この作業仮説に対応するような骨髓間質細胞 (ストローマ細胞) の subpopulation¹⁰⁾, heterogeneity, さらに、数々の造血増殖因子、あるいは抑制因子つまり、IL-1, IL-2, GM-CSF, G-CSF, M-CSF, SCF, エリスロポエチン, TNF, PDGF, TGF- β の存在、それらの分子、遺伝子、および機能的な詳細なども最近では明らかになって来ている。また、それらの分子の

図1 造血微小環境概念についての作業仮説

骨髄間質細胞 (stroma cell: ストローマ細胞) は、造血調節因子 (growth factor) を産生し標的細胞 (target hematopoietic cell) に呈示する。その際、造血因子 (growth factor) は、細胞表面のヘパラン硫酸プロテオグリカン (HSPG) に付着し、固定された状態で標的造血細胞に作用する。一方標的造血細胞は、間質細胞の表面のリガンド (adhesive ligand) を自己の細胞表面のレセプターで認識しその表面に接着する。このことにより、初めて標的細胞は造血因子に対して有効に反応することができるようになる。造血調節因子の産生には、骨髄間質細胞 (ストローマ細胞) 以外の細胞、たとえばT細胞やマクロファージなども一役買っている。ストローマ細胞間にはギャップ結合 (gap junction) による接着が多く存在する。

レセプターもつぎつぎに、あきらかにされ、さらには、その細胞内のシグナル伝達機構の詳細も明らかにされつつある⁷⁾。

また、この作業仮説に対応するような細胞接着因子、例えば immunoglobulin gene superfamily, インテグリン, セレクチン: LEC-CAMs, CD44/PgP-1, レクチン: CAMs, LFA-1, Mac-1 など、あるいは、細胞外基質, コラーゲン I, III, IV, ファイブロネクチン, ラミニン, トロンボスポンジン, ヘモネクチン, コンドロイチン硫酸, ヘパラン硫酸, ヒアルロン酸などの、細胞表面の糖鎖構造などの関連分子の同定、解明が次々となされてきた。つまり、造血微小環境機能と構造の相関の全貌が物質的な基盤をもって詳細に明らかにされつつある。また、仮説そのものも常に、challenge され、新しいものによって代わられる運命にあることになる⁷⁾。

造血微小環境機能に対応する、生体中の骨髄間質組織の形態学的な特徴とその機能的意義

造血微小環境機能に対応する、生体中の骨髄間質組織の解剖学的な基本構造すなわち形態学的な特徴とその機能的意義についてのべる。骨髄間質組織の解剖学的構造は、簡単に言えば、静脈洞を主体とする血管と、その周囲の細網細胞を主体とする細網組織から構成されている。もうすこし詳細に言うと、骨髄間質とは、それらに加え、神経、血管、脂肪細胞等の種々の要素を含んでいると考えられている¹¹⁾。

マウス大腿骨の骨幹部骨髄を一例として説明すると、通常この部には、骨梁や脂肪細胞はほとんど見られない。骨髄には骨皮質の栄養孔を通して神経と栄養動脈が侵入する。動脈は分枝し骨髄の中心部を

図2 洞間細網細胞(intersinusoidal reticular cell)の細胞質突起が、隣接する他の細網細胞と連結しギャップ結合を形成している。

透過型電子顕微鏡像。通常のグルタルアルデヒドと OsO_4 の二重固定法による。単位膜の外葉間の2nmのギャップが明瞭。倍率100,000倍。
scale bar: 0.1 micrometer

図3 フリーズフラクチャー法による骨髄間質細胞間のギャップ結合

倍率50,000倍。scale bar: 0.1 micrometer

縦走する大きな腔である中心静脈に沿ってしばらく走行する。その後、骨皮質の側に向かって分枝を繰り返す。骨皮質に接して存在する毛細血管網と吻合する。さらに、血流は、毛細血管、骨髄中のユニークな機能性毛細血管である静脈洞を経て互いに吻合を繰り返し中心静脈に合流し、骨髄外に出る。

静脈洞は、その内腔を1層の連続性の内皮細胞の薄い細胞質とその下の不連続性の基底膜により被覆されている。基底膜の外周側には後で詳しく述べる洞周囲細網細胞の細胞質突起による被覆をみとめる。隣り合う内皮細胞間にはtight junctionの形成を認めるが、ときに、open junctionというべき、tight junctionの形成を欠くleakyな接合部もみとめられる。

核より離れた内皮細胞の細胞質の一部では血球細胞の静脈洞壁の通過像も観察される。細胞接着部よりやや離れた細胞質を貫通する小孔を形成し通過するとされている。静脈洞壁は連続性の内皮細胞と不

連続性の基底膜および洞周囲細網細胞の細胞質突起によるサンドイッチ構造を示している。内腔側より見ると表面にpinocytic vesicleによる小陥凹や内皮細胞の細胞質が非常に薄くなったdiaphragmaの形成を認める。走査型の電子顕微鏡による内皮細胞の表面構造でも、microvilliの発達やdiaphragma構造に相当する小円形の陥凹構造が観察される¹²⁾¹³⁾。

造血微小環境機能の直接の担当者としての骨髄細網細胞

造血微小環境機能の解析には、in vitroの系が多く用いられてきたが、ストローマ細胞などと呼ばれる壁付着細胞に対応するin vivoの骨髄間質細胞は、かつては、静脈洞内皮あるいは、細網細胞だとの議論があったが、今では、おそらく細網細胞であろうと考えられている。細網細胞には、骨髄内の機能性毛細血管である静脈洞間の造血巣内に存在す

る洞間細網細胞 (intersinusoidal reticular cell) と静脈洞周囲を被覆する洞周囲細網細胞 (adventitial reticular cell) がある¹¹⁾¹⁴⁾¹⁵⁾。

洞間細網細胞 (intersinusoidal reticular cell) は扁平でひろい細胞質突起で、隣接する他の細網細胞と連結し複雑な網工 (細網構造) を形成している。細網細胞の細胞質突起で囲まれた空間は不完全ながらコンパートメントを形成し、骨髓造血巣を区画している。この小さく区切られた空間が、それぞれ独特かつ多様な機能的環境を成立させているようである。また細網細胞の広い細胞質突起は造血細胞が接触するのに有利な広い表面積を提供していると考えられる。

一方洞周囲細網細胞 (adventitial reticular cell) は、足突起を広く広げたアメーバのように扁平な細胞質突起で静脈洞およびそれらが合流する中心静脈の外周壁を被覆している。その被覆状態を変化させることにより細胞あるいは機能物質の洞壁通過性を制御し、静脈洞内皮細胞とともに、一種の組織血液関門 (blood-marrow barrier) を形成している。成熟した赤血球や好中球が骨髓から末梢血に遊走するのを調節するのもこの機構によるとされている。

細網細胞間にはマクロファージも多く見られ、旺盛な貪食機能やサイトカイン、造血因子 (例えば、IL-1, 6, TNF α , G-CSF, INF α など) の産生を行っている。骨髓内のマクロファージの機能的意義についても多くの研究がなされている¹⁶⁾。

さらに、骨髓の小動脈外膜内には、特有な形態を有する線維芽細胞様細胞 (動脈周囲外膜細胞) の発達がみられる。動脈周囲外膜細胞は多数の細胞がより集まり、全体として動脈を鞘のように被覆している。これらの細胞は、血管壁の構成要素として、壁を強化し、血液と組織との間の関門となることや、コラーゲン線維形成に関与する機能が推測されている。動脈周囲外膜細胞は特殊な骨髓間質細胞の一種と考えられるが、多数の細胞がより集まり、全体としてその薄い veil の様な細胞質突起で、動脈を鞘のように被覆している。周囲の造血巣より洞間細網細胞の細胞質突起が動脈周囲外膜細胞の表面に多数延びて接着している像もしばしば、観察される¹¹⁾¹⁴⁾¹⁵⁾。

骨髓細網細胞や、小動脈外膜内の線維芽細胞様細胞 (動脈周囲外膜細胞, periarterial adventitial cell) の間には、高頻度でギャップ結合が分布する

これらの3種類の骨髓間質細胞について、1985年

渡辺は興味深い発見をした¹⁴⁾。骨髓細網細胞や小動脈外膜内の線維芽細胞様細胞 (動脈周囲外膜細胞, periarterial adventitial cell) の間に高頻度でギャップ結合が分布することを発見し (図2, 3), ギャップ結合で連結される骨髓間質細胞集団に対して共同的な機能を想定し、外膜細網細胞装置と呼んだ¹⁴⁾。骨髓細網細胞同士、また、動脈周囲外膜細胞同士にもギャップ結合は存在するが、骨髓細網細胞と動脈周囲外膜細胞の間にも高頻度にギャップ結合が観察される¹¹⁾¹⁴⁾¹⁵⁾。しかし、骨髓間質細胞の細胞質突起は細かく複雑で時にどの細胞に由来するのか同定することが困難な場合もある。電子顕微鏡の連続切片像のコンピュータによる3次元再構築法なども用い骨髓細網細胞と動脈周囲外膜細胞の間にもたしかにギャップ結合が存在することも確かめた。

ギャップ結合と言う細胞接着装置は、隣り合う細胞間に形成された細胞膜を貫通する一種のチャンネルで、それぞれの細胞膜内に存在する互いに向き合った6個の connexin タンパクにより構成されている¹⁷⁾¹⁸⁾。分子量 2000dalton 以下の分子を比較的に非選択的に通過させると考えられている。ギャップ結合は、これにより連結される細胞相互間の生理機能を調節するために重要な構造と考えられており、機能的な heterogeneity の存在が予測される骨髓間質細胞相互の機能相関を考えるうえで重要である。

ギャップ結合は通常の超薄切片でその存在は十分に指摘できるものであるが、骨髓間質細胞間のギャップ結合の存在は今では、多くの研究者により数々の方法で証明されその存在については現在ほぼ疑う余地の無いところである。単位膜の構造を明瞭にする、とくに薄い超薄切片法による骨髓間質細胞間のギャップ結合の証明法には、通常のグルタルアルデヒド、オスミウムによる固定や (図2)、固定液にタンニン酸を混ぜ細胞膜の外葉間の2nmのギャップを明瞭にする方法、さらに、細胞膜の外葉間の2nmのギャップにトレーサーとして硝酸ランタンを impregnation する方法がある。マウス大腿骨の骨髓組織を用いたフリーズフラクチャー法でも、ギャップ結合は、骨髓間質細胞の細長く延びた細胞質突起の先端に特徴的な直径約9nm 弱の膜内粒子の集合として観察される (図3)。この場合、近傍には、tight junction などの特徴的な膜内粒子の配列は観察されない。

そのほかにも、世界中の多くの研究者によりギャップ結合の存在は色々な方法で証明されている。培

図4 骨髓内の間質細胞の細胞質突起に終わる神経終末 (arrow heads) 動脈, 静脈洞の構造から離れた洞間の細網細胞(R)の細胞質突起に終わる神経終末。Sch: シュワン細胞。倍率32,000倍。scale bar: 1 micrometer

養骨髓間質細胞に蛍光色素を微小注入してその色素がギャップ結合を介して隣り合う細胞に移行する dye transfer 法による証明¹⁹⁾。また、微小な電極を介してギャップ結合により連結される隣り合う細胞が, electrical coupling することによる証明も近年なされている²⁰⁾。さらに、培養骨髓間質細胞について、ギャップ結合を構成するタンパクである、Cx43 タンパクに対する抗体を用い共焦点レーザー顕微鏡で観察する免疫蛍光細胞化学²¹⁾あるいは、Northern blot 法による Cx43 タンパクの mRNA の検出も成功しすでに報告されている²⁰⁾。

また、イギリスの研究者による共焦点レーザー顕微鏡と Cx43 タンパクに対する抗体を用いた in situ の状態の骨髓組織の免疫蛍光組織化学では、ギャップ結合の粒子状の陽性像が造血巣内ばかりでなく、骨髓内の骨梁部、さらに非常に多くの陽性像を、Bone-Marrow-interface つまり osteoblast の多い領域に証明している²²⁾。我々もパラフィン切片と抗 Cx43 タンパクに対する抗体を用いた免疫組織化学により、同様な陽性像をみとめている。はたしてこれらのギャップ結合の生理学的あるいは、病理学的意義は何なのであろうか。

“神経細網細胞複合体 (neuro-reticular complex)” 概念の提唱—自律神経終末と、ギャップ結合で連結された骨髓間質細胞は、中枢神経から骨髓内へのシグナル伝達のために一種の回路網を形成し、機能単位として働いている

この問題に関連して、我々は、電子顕微鏡による観察の結果興味深い観察所見を得ている。すなわち、多くの自律神経終末がこれらのギャップ結合で連結された骨髓間質細胞集団の細胞質突起に終わることが発見されたのである (図4)¹⁾。骨髓内の神経終末は、多くのものは synaptic vesicle をふくむ axonal swelling として、若干の間隙をはさみ動脈壁の平滑筋細胞に対向して終わるものだが、少数の神経終末は静脈洞周囲細網細胞の細胞質突起に終わるものが観察される。さらには、動脈周囲外膜細胞の細胞質突起、さらには、動脈、静脈洞の構造から離れた洞間の細網細胞の細胞質突起に終わる神経終末も観察された。これらの自律神経終末は、ギャップ結合で連結された骨髓間質細胞と共に中枢神経から骨髓内へのシグナル伝達のために一種の回路網を形成し、機能単位として働いているようである。従って、我々は、この解剖学的構造単位に対して、“神経細網細胞複合体 (neuro-reticular complex)” の名前を提唱して注目をしている (図5)¹⁾。

図5 Neuro reticular complex (神経細網細胞複合体) についての schematic diagram

自律神経 (Autonomic nerve) に由来すると考えられる synaptic vesicle を含む神経終末が、骨髓内の細網細胞や動脈周囲外膜細胞の細胞質突起に分布している。骨髓内の間質細胞成分である洞間および洞周囲細網細胞、動脈周囲外膜細胞成分がギャップ結合 (gap junction) を介して cellular network を形成している様子も図内にまとめてある。さらに最近の研究によれば、骨細胞成分である骨梁に関連した骨細胞、骨芽細胞、あるいは bone lining cells (preosteoblast) と骨髓細網細胞の間にもギャップ結合が存在する。これらの細胞の細胞質突起間には、良く発達した gap junction ならびに zonula adherens 様の細胞接着装置が観察される。それらの分布を図中に、Arrow head にて示してある。

この回路網の機能的意義は、何らかの間質細胞機能の自律神経を経由した骨髓外からの制御に役立つことが考えられるが、1) 造血能の調節、修飾、2) 成熟血液細胞の骨髓から末梢血への動員、静脈洞壁の通過性の制御、3) 細網細胞が運動することによる造血巣内での造血細胞の移動、ふるいわけに役立っているかも知れない。neuro-reticular complex に類似した構造は、骨髓ばかりでなく、他の細網組織、例えば、脾臓やリンパ節にもあることがわかっ

ている²¹⁾²³⁾。

脾臓では、細網細胞の自律神経支配が斉藤ら²⁴⁾²⁵⁾により報告されており、最近では、共焦点レーザー顕微鏡と Cx43 タンパクに対する抗体を用いた in situ の状態の免疫蛍光組織化学で、脾臓でのギャップ結合の分布も明らかにされている²¹⁾²³⁾。一方リンパ節では、間質細胞間のギャップ結合の存在²¹⁾²³⁾と、細網細胞に終わる神経終末^{26)~28)}が報告されている。これらの臓器では、神経終末と免疫細胞との間の直

接的な接着も強調されている²⁹⁾。

また、腸管の粘膜固有層内の fibroblast による細胞構造の形成と、ギャップ結合の分布、また、それらに分布する神経終末の存在も neuro-reticular complex に類似した構造といえるかも知れない³⁰⁾³¹⁾。また、われわれは、ヒト顎下腺の小葉内の fibroblast についても同様な構造を見だしている³²⁾。局所の免疫防御機構、最近の mucosal-associated lymphoid tissue (MALT) 概念との関連も含め興味もたれる。

さらに、神経細胞複合体 (neuro-reticular complex) の機能に関連して Rameshwar and Gascon³³⁾³⁴⁾の最近の実験的な研究によれば、Substance P による骨髄間質細胞の機能制御の機構も報告されている。さらに最近、我々は骨髄細胞と骨髄内の骨細胞成分、(骨梁に関連した、骨細胞、骨芽細胞、あるいは bone lining cells 等、)との間にもギャップ結合を発見した²⁾(図5)。

つまり、骨髄内の骨細胞成分である骨梁に関連した；骨細胞、骨芽細胞、あるいは bone lining cells と骨髄間質細胞成分である洞間および洞周囲細胞、動脈周囲間質細胞成分がギャップ結合を形成して cellular network を形成している様である²⁾。もちろん、以前よりこれらの骨細胞間には、Cx43 からなるギャップ結合を介した cellular network の存在は知られていた^{35)~37)}。しかしながら、骨髄の細胞とこの骨側の cellular network とのギャップ結合を介しての連絡は今回の発見が初めてのものである²⁾。このことより、造血制御あるいは免疫担当細胞産生を主たる機能とする骨髄間質細胞と骨の改変を主たる機能とする骨細胞成分との間にはギャップ結合を介した機能相関の機構の存在を予測している(図5)²⁾³⁸⁾³⁹⁾。

文

- 1) Yamazaki, K., Allen, T. D.: An ultrastructural morphometric study of efferent nerve terminals on murine bone marrow stromal cells, and the recognition of a novel anatomical unit: the "neuro-reticular complex". *Am J Anat* 187: 261-276 1990
- 2) Yamazaki, K., Eyden, B. P.: A study of intercel-

む す び

今回のシンポジウムでとりあげられた、骨髄、肝臓、脾臓、リンパ節などは、特徴的な機能性毛細血管である静脈洞、類洞の構造を認め、それを中心とした細胞内皮系の構造が発達した臓器、組織として理解されてきた。この細胞内皮系の概念は、以来、多くの疾患、病態の理解、解析に、大きな貢献をしてきたと言えよう。今回、我々の提唱している骨髄における神経細胞複合体 (neuro-reticular complex) の構造は、とくに、自律神経終末と、ギャップ結合で連結された reticular cell network から構成されるユニークな cellular communication network である。そして、同様な構造は、骨髄ばかりでなく脾臓、リンパ節をはじめ細胞構造の発達した臓器、組織には普遍的と言っても良いかも知れないほど、その分布、存在が予測されている。

この神経細胞複合体 (neuro-reticular complex) の概念が、未だ未知の領域の多い、多くの疾患、病態の理解、生理現象の解析に、多少でも貢献することがあれば幸甚である。

謝 辞

第36回日本網内系学会のシンポジウム(1996年5月、於、名古屋)にこの論文の内容の発表の機会を与えていただいた事を浅井淳平会長、司会の、円山英昭先生、内藤眞先生、そして学会会員の皆様により御礼を申し上げます。また、現在までこの研究について、懇切にご指導、御協力、御示唆、御援助を頂いた恩師渡辺陽之輔先生をはじめ、慶應義塾大学病理学教室の諸先生、技術職員の皆様、千葉大学第一病理学教室張ヶ谷先生、英国マンチェスター市バターソン癌研究所の皆様、そして多くの discussion を賜った諸先生にも心より御礼を申し上げます。

献

- lular relationships between trabecular bone and marrow stromal cells in the murine femoral metaphysis. *Anat Embryol* 19: 9-20 1995
- 3) 円山英昭：ヒトの胎生期造血 現代病理学大系18A 一骨髄(飯島宗一 編) 中山書店 東京 pp.16-37 1989
- 4) Eazan, H., Hara, H., Izumi, T., Ohkita, T.: Morphologic and radiological observations on the

- earliest bone marrow formation in human embryos and fetuses. *Acta Pathol Jpn* 33:439-446 1983
- 5) 神山隆一, 島峰徹郎: 骨髓の構造および造血 現代病理学大系18A—骨髓(飯島宗一 編)中山書店 東京 pp.3-15 1989
 - 6) 島峰徹郎, 毛利 昇, 神山隆一, 丹下 剛, 松谷章司: 骨髓 新版日本血液学全書2 造血臓器の構造と組織反応(新版日本血液学全書刊行委員会 編)丸善 東京 pp.1-176 1990
 - 7) Abboud, C., Lichtman, M. A.: Structure of the marrow Williams Hematology (Beutler, E., Lichtman, M. A., Coller, B. S., Kipps, T. J., Editor) McGraw-Hill, Inc. New York. pp.25-38 1995
 - 8) Yamazaki, K., Roberts, R. A., Spooncer, E., Dexter, T. M., Allen, T. D.: Cellular interactions between 3T3 cells and IL-3 dependent multipotent haemopoietic cells: A model system for stromal cell mediated haemopoiesis. *J Cell Physiol* 139:301-312 1989
 - 9) Roberts, R., Gallagher, J., Spooncer, E., Allen, T. D., Bloomfield, F., Dexter, T. M.: Heparan sulphate bound growth factors: A mechanism for stromal cell mediated haemopoiesis. *Nature* 332:376-378 1988
 - 10) Harigaya, K., Cronkite, E. P., Miller, M. E., Shaddock, R. K.: Murine bone marrow cell line, producing colony-stimulating factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 78:6963-6966 1981
 - 11) Lichtman, M.: The ultrastructure of the hemopoietic environment of the marrow: a review. *Exp Hematol* 9:391-400 1981
 - 12) 坂井英隆: 骨髓静脈洞への血球流出機序に関する電子顕微鏡的検索. 九州血液研究同好会誌 29:49-82 1981
 - 13) Sakai, H., Hashimoto, N.: The hematopoietic microenvironment of bone marrow. *Recent Adv RES Rs* 25:17-35 1985
 - 14) Watanabe, Y.: Fine structure of bone marrow stroma. *Acta Haematologica Japonica* 48:1688-1700 1985
 - 15) 山崎一人: 放射線全身照射後のマウス大腿骨骨髓支持組織の微細構造, 慶応医学 62:469-498 1985
 - 16) Naito, M., Hayashi, S.-I., Yoshida, H., Nishikawa, S.-I., Shultz, L. D., Takahashi, K.: Abnormal differentiation of tissue macrophage populations in 'osteoporosis'(op) mice defective in the production of macrophage colony-stimulating factor. *Am J Pathol* 139:657-667 1991
 - 17) Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Watson, J. D.: cell junction Molecular Biology of the Cell (Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Watson, J. D., Editor.) Garland New York. pp.949-1009 1994
 - 18) Loewenstein, W.: Junctional intercellular communication: the cell-to-cell membrane channel. *Physiol Rev* 61:829-913 1981
 - 19) Rosendaal, M., Gregan, A., Green, C. R.: Direct cell-cell communication in the blood-forming system. *Tissue and Cell* 23:457-470 1991
 - 20) Dorshkind, K., Green, L., Gorwin, A., Fletcher, W. H.: Connexin-43-type gap junctions mediate communication between bone marrow stromal cells. *Blood* 82:38-45 1993
 - 21) Krenacs, T., Rosendaal, M.: Immunohistological detection of gap junctions in human lymphoid tissue: Connexin 43 in follicular dendritic and lymphoendothelial cells. *J Histochem Cytochem* 43:1125-1137 1995
 - 22) Rosendaal, M., Green, C. R., Rahman, A., Morgan, D.: Up-regulation of the connexin43+gap junction network in haemopoietic tissue before the growth of stem cells. *J Cell Science* 107:29-37 1994
 - 23) Rosendaal, M.: Gap junctions in blood forming tissues. *Microscopy Research and Technique* 31:396-407 1995
 - 24) Saito, H., Yokoi, Y., Watanabe, S., Tajima, J., Kuroda, H., Namishima, T.: Reticular meshwork of the spleen in rats studied by electron microscopy. *Am J Anat* 181:235-252 1988
 - 25) Saito, H.: Innervation of the guinea pig spleen studied by electron microscopy. *Am J Anat* 189:213-235 1990
 - 26) Novotny, G., Heuer, T., Schottelndreier, A., Fleisgarten, C.: Plasticity of innervation of the medulla of axillary lymph nodes in the rat after antigenic stimulation. *Anat Rec* 238:213-224 1994
 - 27) Novotny, G., Heuer, T., Schottelndreier, A., Fleisgarten, C.: Ultrastructural quantitative

- analysis of the innervation of axillary lymph nodes of the rat after antigenic stimulation. *Anat Rec* 243:208-222 1995
- 28) Novotny, G., Schottelndreier, A., Heuer, T.: Ultrastructural quantitative analysis of the innervation of axillary lymph nodes in juvenile and old rats. *Anat Rec* 243:223-233 1995
 - 29) Felten, D., Felten, S. Y., Bellinger, D. L., Carlson, S. L., Ackerman, K. D., Madden, K. S., Olshchowski, J. A., Livnat, S.: Noradrenergic sympathetic neural interactions with immune system: Structure and Function, *Immunological reviews* No.100:225-260 1987
 - 30) Komuro, T.: Three-dimensional observation of the fibroblast-like cells associated with rat myenteric plexus, with special reference to the interstitial cells of Cajal. *Cell Tissue Res* 255:343-351 1989
 - 31) Komuro, T.: Re-evaluation of fibroblasts and fibroblast-like cells. *Anat Embryol* 182:103-112 1990
 - 32) Yamazaki, K., Eyden, B. P.: Ultrastructural and immunohistochemical studies of intralobular fibroblasts in human submandibular gland: the recognition of a "CD34 positive reticular network" connected by gap junctions. *Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology* 28(4): 1996 (in press)
 - 33) Rameshwar, P., Ganea, D., Gascon, P.: Induction of IL-3 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor by substance P in bone marrow cells in partially mediated through the release of IL-1 and IL-6, *J Immunol* 152:4044-4054 1994
 - 34) Rameshwar, P., Gascon, P.: Substance P(SP) mediates production of stem cell factor and interleukin-1 in bone marrow stroma: Potential autoregulatory role for these cytokine in SP receptor expression and induction. *Blood* 86:482-490 1995
 - 35) Civitelli, R., Beyer, E. C., Warlow, P. M., Robertson A. J., Geist, S. T., Steinberg, T. H.: Connexin43 mediates direct intercellular communication in human osteoblastic cell networks. *J. Clin. Invest.* 91:1888-1896 1993
 - 36) Schirrmacher, K., Schmitz, I., Winterhager, E., Traub, O., Brummer, F., Jones, D., Bingmann, D.: Characterization of gap junctions between osteoblast-like cells in culture. *Calcified Tissue Int* 51:285-290 1992
 - 37) Schirrmacher, K., Brummer, F., Dusing, R., Bingmann, D.: Dye and electric coupling between osteoblast-like cells in culture. *Calcif Tissue Int* 53:53-60 1993
 - 38) Yamazaki, K., Ichimura, S., Allen, T. D., Nakagawa, T.: Cell mediated calcification in collagen gel cultures of fetal rat calvaria cells. *Journal of Bone & Mineral Metabolism* 7:136-147 1989
 - 39) Taichman, R., Reilly, M. J., Emerson, S. G.: Human osteoblasts support human hematopoietic progenitor cells in vitro bone marrow cultures. *Blood* 87:518-524 1996