

胆道系上皮細胞のコラーゲン・ゲル内初代培養の試み

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-06 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Kawamura, Yasuhito メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/14831

学位授与番号	医博乙第 1077 号
学位授与年月日	平成 2 年 1 月 17 日
氏名	河村 泰仁
学位論文題目	胆道系上皮細胞のコラーゲン・ゲル内初代培養の試み

論文審査委員	主査	中 沼 安 二
	副査	中 西 功 夫
		宮 崎 逸 夫

内容の要旨および審査の結果の要旨

胆道系の病態解明に *in vitro* の培養系を用いた研究が重要である。今回、著者は胆道系上皮細胞のコラーゲン・ゲル内での初代培養法を確立し、培養上皮細胞の性状について検討した。なお、コラーゲン・ゲル内培養法は、培養細胞の性状を立体的に生体に近い状態で観察できる特徴がある。用いた材料は家兎の胆嚢、肝内外胆管およびヒトの胆嚢であり、それぞれを 0.25% トリプシンと 0.02% ethylenediamine-tetraacetic acid (EDTA) の混合液を使用し、粘膜上皮細胞を分離し、コラーゲン・ゲル内での初代培養を試みた。なお、コラーゲン・ゲルは、0.3% 酸可溶性コラーゲン・ゲル + 牛胎児血清 + 10 倍濃度の William's E 培地を混合し、これに EGF を 10ng/ml になるように添加したものをを用いた。家兎肝内、肝外胆管上皮細胞では 3 週間まで、家兎胆嚢上皮細胞では 6 週間まで、ヒト胆嚢上皮細胞では 1 週間まで培養を行い、位相差顕微鏡で経時的に観察し、さらに定期的に多糖類染色、蛍光抗体法及び電子顕微鏡により観察した。得られた成績は以下の如くである。

培養上皮細胞は経過と共に増殖し、多細胞による嚢胞を形成した。培養 1 週間後に BrdU を用いた S 期細胞標識法で、培養細胞の 9.6% が BrdU を取り込んでおり、増殖していることを確認した。嚢胞は経過とともに大きくなり、培養上皮は粘液を産生し、嚢胞内腔には粘液が充満した。嚢胞を形成する上皮細胞は立方～円柱上皮で、電顕的には嚢胞内腔面に多数の微絨毛がみられ、微絨毛基部と基底部には被覆小窩、細胞間には発達した接着装置、細胞質内には小型のミトコンドリアが認められ、蛍光抗体法でサイトケラチンが培養上皮細胞に証明された。これらの所見は、家兎肝内胆管、肝外胆管、胆嚢上皮細胞及びヒト胆嚢上皮細胞と同様であり、経過と共に *in vivo* の胆道系上皮細胞の性状により類似する様になった。胆道系疾患の病態解明応用への予備的実験として、マイトマイシン C を用いた毒性実験で、嚢胞を形成していたコラーゲン・ゲル内培養上皮細胞に壊死や脱落などの病的変化を起こすことが出来た。

以上、本論文は、家兎およびヒト胆道系上皮細胞の単離方法とコラーゲン・ゲル内初代培養法を確立したオリジナリティに高い論文であり、今後の胆道系疾患の病態解明のために役立つ有用な方法と評価された。