

培養血管内皮細胞の貪食能に関する研究

坊 垣 美也子

血管内皮細胞は血管の内腔を覆う単層の上皮様細胞であり、近年粥状動脈硬化の発生への関わりについて盛んに研究が行われている。これらの研究には生体から取り出して培養した細胞が供されることも多い。しかし、一般的な培養方法ではコンフルエント後マクロファージ様あるいは線維芽細胞様の細胞が現れ、本来の単層を維持することが難しい。また、生体内では非特異的な物質の取込である、貪食能を持たないかごく弱い細胞であるにもかかわらず、PKH26やラテックス粒子などを取り込むようになる。一方、これまでに開発したアルブミンを添加する新しい培養方法では、安定したコンフルエントの血管内皮細胞はこれらをほとんど取込まず、貪食能は非常に弱い。今回のテーマ別研究では新しい培養法による血管内皮細胞がどのような条件下で貪食能を発現するのか、またそのメカニズムについて検討を行った。

今回の検討の結果、培養血管内皮細胞における貪食能の発現は次の1～3の条件で見られた。

1 細胞が増殖している状態

初代血管内皮細胞を継代しアルブミン添加培地で培養を行い、経時的にラテックス粒子の取込を確認したところ、細胞が盛んに増殖している段階では強い貪食能が見られた。しかし、細胞がコンフルエントに近づくにつれて貪食能は弱くなり、安定したコンフルエントになると、貪食能はほとんど見られなくなった。

コンフルエントになった細胞を物理的に剥がすと、剥がれた周辺の細胞が増殖し、もとのコンフルエントに戻る。このとき増殖した細胞はラテックス粒子を強く取り込んでいたが、剥がれた部分から離れた、増殖していないと考えられる細胞は、ほとんどラテックス粒子を取り込んでいなかった。

2. 細胞の増殖因子であるFGFまたはEGFを添加した場合

細胞が安定したコンフルエントの状態であっても、増殖因子の α -FGFまたはEGF各10ng/mlを添加した場合には強い貪食能が見られた。しかし、VEGF、PDGF各10ng/mlでは貪食能の増強は見られなかった。

3. アルブミン無添加培養液で培養した場合

アルブミンを添加していない培養方法の下では、コンフルエント後でもアルブミン添加の条件に比較してラテックス粒子の強い取込が見られた。またアルブミン無添加の条件ではコンフルエント後、細胞の重層化が起こり単層の上皮様形態が失われた。

1及び2の結果から血管内皮細胞のこのような貪食能の発現は、細胞増殖と関係があると考えられたので、増殖の段階にある細胞に増殖阻害剤を添加して、増殖と貪食能に対する影響を観察した。阻害剤としてgenistein、TGF- β およびマイトマイシンCを用いて検討を行ったが、増殖を阻害することによって貪食能が阻害されるという明らかな結果は得られなかった。

今回の検討により血管内皮細胞は増殖の段階にある場合、増殖因子による増殖の刺激を受けている場合およびアルブミン無添加の場合に貪食能が発現することが明らかになったが、そのメカニズムは不明である。今後さらに検討を加えたい。