

血管内皮細胞の間充組織様細胞への分化についての研究

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る。これまでの研究でヒト臍帯から採取した血管内皮細胞をⅣ型またはⅠ型コラーゲン上で、アルブミンを添加した培地を用いて培養すると、安定した単層の上皮様形態を長期にわたって維持することが可能となった。さらに、この方法で培養した血管内皮細胞と、末梢血から採取し、蛍光色素等で標識した単球を共培養すると、一部の単球は次第に形態を血管内皮細胞様に変化させることが分かった。また、形態変化した単球は、単球が本来持つ特異的なタンパク質（マーカー）であるMHC class II、CD68および貪食能を失い、その機能も変化させることが分かった。これらの現象は単球が血管内皮細胞に分化する可能性を有することを示唆している。

2003年度のテーマ別研究では単球が血管内皮細胞様に変化するのとは逆の現象、即ち血管内皮細胞が単球あるいは単球を起源として分化するマクロファージ様、あるいは間充組織様細胞に変化する現象について、その条件を検索し、形態変化した細胞における単球／マクロファージのマーカーの発現の有無を確認した。

方 法

ヒト臍帯血管内皮細胞（HUVEC）を採取し以下の①～⑤の条件下で培養し、その形態変化を観察した。

①酸性線維芽細胞増殖因子（a-FGF 10ng/ml）添加、②Ⅳ型コラーゲンコーティングなし、③アルブミン無添加培地、④機械的に細胞をはがして重層させる、⑤コラーゲンビーズを細胞上に重層させる

①～⑤それぞれの条件下での形態変化を確認した後、4.0%パラホルムアルデヒドで固定し、単球／マクロファージのマーカーであるMHC class IIおよびCD68に対する抗体、FITC標識二次抗体を用いて、免疫染色を行い、蛍光顕微鏡下で観察を行った。

結果および考察

①酸性線維芽細胞増殖因子を添加した細胞ではマクロファージ様の形態をした細胞が多数現れた。また間充組織細胞様細胞の重層も見られた。マクロファージ様の細胞は主に血管内皮細胞の単層の下で、底面に接着した状態で存在していた。この細胞の蛍光染色の結果、マクロファージ様の細胞のみ単球／マクロファージのマーカーであるMHC class IIおよびCD68を発現していることが確認された。②、④、⑤の条件では間充組織細胞様細胞の重層は見られたものの、マクロファージ様の形態をした細胞は少なかった。また、抗MHC class IIおよびCD68抗体では染色されなかった。

血管内皮細胞は上皮様形態を持つ細胞であり、このような上皮細胞は細胞のbasal（基底膜）側とapical側（血管内皮細胞では血液に接する）の極性を維持している。②の条件は基底膜成分を除いたもの、④、⑤の条件は細胞や、基底膜成分のコラーゲンで出来たビーズをapical側に重層することで、細胞の極性を乱すことを意図して行ったが、これらの条件では単球／マクロファージのマーカーを有した細胞は現れなかった。①のa-FGFは血管内皮細胞の増殖を強く刺激する増殖因子であるが、今回の結果により血管内皮細胞をマクロファージ様に変化させる因子として働く可能性があるものと考えられた。