

239 コラーゲン・ゲル培養法を用いた顆粒膜細胞と夾膜細胞の cellular interactionに関する研究

関西医大

河田 淳, 神谷敬雄, 田中一朗, 堀越順彦,
中島徳郎, 榎木 勇

【目的】卵胞の発育過程において顆粒膜細胞(G)と夾膜細胞(T)の cellular interactionは重要な役割を担っている。そこでこの interaction をコラーゲン・ゲル培養法を用いて、形態学および内分泌学的に検討した。【方法】ブタ卵巣の中卵胞を間質より単離し、更にGとTに、それぞれ分離した。G, T, G+Tのコラーゲン・ゲル付着培養、およびGとTを重層したコラーゲン・ゲル浮遊培養(G/T)にて培養した細胞を位相差倒立顕微鏡、光顕、および透過電顕にて観察した。培養には10% FCS添加 DEM: Ham' F12 1:1 混合液を使用し、培養液中の steroid をそれぞれ RIAにて測定した。【成績】G, G+Tの何れでも、Gはゲル上で単層の繊維芽細胞様増殖を維持した。G/TではGは重層に増殖し、ゲルは急激に収縮した。細胞増殖は、G/T > G+Tであった。超微形態学的には、G/TにおけるGは、細胞質中に電子密度の高い多くの遊離 ribosome, 層板状 cristae を有する大型の桿状糸粒体、核の一侧に発達した Golgi 装置を含み、活発な蛋白合成機能がうかがわれ、隣接細胞間とは gap junctionにて結合し、ゲルとの境界部には、一部基底膜様構造もみられ、明らかに細胞極性を有するものと考えられた。E2産生は、G+T, G/TともにG, T単独に比べて活発で、細胞間相乗作用が認められたが、前者ではG+Tが有意に高値を示した。

【結論】コラーゲン・ゲルを介してGとTを重層化した浮遊培養は、超微形態学的に細胞極性もみられて、より in vivoに近い培養系である事が推察され、内分泌学的にも両者の cellular interactionには、その構築が大きく関与している事が示唆された。

240 培養ブタ顆粒膜細胞の増殖に対するサイトカインおよび細胞増殖因子の相互作用

京都大

福岡正恒, 藤原 浩, 高倉賢二, 岩井正純,
堀江清繁, 泰井俊造, 森 崇英

【目的】われわれは、ブタ顆粒膜細胞(GC) 培養系において、サイトカインの一種 interleukin-1(IL-1)が単独でGCの増殖を促進するとともに、EGFやインスリン (INS)などの細胞増殖因子の作用を相乗的に促進することを報告した。免疫系等においてサイトカイン同志の相互作用が注目されているところから今回、別のサイトカインである tumor necrosis factor (TNF)のGC増殖促進作用について、とくにTNFとIL-1との相互作用に注目し、検討を行った。

【方法】小卵胞由来の未熟なGCを10% FCS添加にて培養し、subcultureの後72時間無血清条件において分裂静止状態とした。ここでサイトカインと³H-thymidine (1 μCi/ml) を添加してさらに48時間培養し、細胞内にとりこまれた³H-thymidine量 (cpm)を測定した。

【成績】IL-1・TNF同時添加(各1 ng/ml)による³H-thymidineとりこみへの影響について検討した結果、IL-1: 2.5 ± 0.5, TNF: 2.4 ± 0.4, IL-1+TNF: 6.8 ± 1.6 (ratio per control; mean ± SE)であった。またTNF(1 ng/ml)とEGF(0.1 ng/ml)またはINS(1 μ)同時添加による影響について検討した結果、TNF: 2.8 ± 0.2, EGF: 9.0 ± 1.2, TNF+EGF: 16.7 ± 1.4, INS: 2.2 ± 0.2, TNF+INS: 7.2 ± 0.6であった。

【結論】ブタGC培養系において、TNFはIL-1同様、単独でGCの増殖を促進するとともに、EGF・インスリンの作用を相乗的に促進した。またTNFはIL-1とも相乗的に作用したことから、in vitroにおいて、サイトカインとサイトカイン、あるいはサイトカインと細胞増殖因子との協調作用によりGCの増殖が著明に促進されることがあきらかとなった。