

第14群 妊娠・分娩・産褥 I (胎盤) (90~95)

90. 培養Cytotrophoblastと多核巨細胞とのfusion:
位相差顕微鏡映画による観察

(京都大)

木下 幹久, 富永 敏朗, 曾根 春男
小笹 宏, 西村 敏雄

ヒト syncytiotrophoblast (S) の起源については、古くから論議の的となっていたが、多くの超微形態学的研究から cytotrophoblast (c) の fusion によるとする考えが支配的である。また autoradiography を利用した2~3の研究は、この考えを強く支持すると共に、in vitro でもCのSへの transformation が起こり得ることを示唆するものである。しかし、その現象を動的に観察した報告はこれまでにない。我々は、Sが組織培養では多核巨細胞(M)の形で観察されることから、CのMへの fusion 現象を映画撮影により観察し、Cの fusion によるS形成の可能性を動的に証明した。培養方法：妊娠6~13週位のヒト胎盤絨毛を細切し、固定ゼラチン膜で coating した cover slip 上に、細切した絨毛組織片を植え、37°C閉鎖系で静置培養した。培養液は Hanks 液を BSS とする199液に、牛胎児血清30%、及び penicillin 100iu/ml, streptomycin 100µg/ml を添加したものを使用した。記録は位相差顕微鏡映画で15秒間隔で撮影した。

成績：妊娠6週絨毛の培養で、培養7~9日目にかけて記録観察した例でCがMと fuse する現象を捉えた。即ち、Mの周囲にはCの集塊が存在し、その中からCが単独で、或は2~3個が列をなしてMの表面上に遊走し、横断してゆく。しかし、その中の一部のCは横断し終らない内に突然その遊走を停止し、それまで遊走方向にのみ伸縮していた原形質は ruffling 様の運動をしながら四方に伸展し、やがて原形質の辺縁は消失し、Cは単核細胞としての形態を失い、Mに完全に fuse する。やがて核周囲顆粒も次第に消失し、Mの他の核と全く区別出来なくなる。[なお、我々の培養系で観察した単核細胞及びMが各々C及びS由来であることは、vertical section で光顕、電顕的に確認している。

質問 (愛知) 片平 智行

培養液の HCG などを測定してありましたら御教え下さい。

回答 (京都大) 木下 幹久

culture medium の HCG 測定は現在のところ行っておりません。

質問 (日本医大) 畑 俊夫
両細胞が癒合し始めてから、どの位の時間を経過して合胞化しますか。回答 (京都大) 木下 幹久
最初にお示した例は、約5時間二番に示した例は、約3時間 (cyto 1)、約2時間 (cyto 2) 位で fusion は完成しております。

fusion は先生の仰る“溶ける様な感じの fusion”様式ではないかと思います。

(核周囲の原形質の不明瞭化が原形質輪廓の不明瞭化に遅れている。

explant の Langhans layer にも先生の仰る“溶ける感じの fusion”を示唆する所見を得ている。一以上の2点を根拠としております。)

質問 (福島県立医大) 本田 任

1. C→Sへの fusion は、何日ぐらいかかりましたか? (Autoradiography では、3~4日)

2. Sへ移行しないCの増殖状態はどうでしたか。

回答 (京都大) 木下 幹久

① 少なくとも私達の培養系では、必ずしも原形質の syncytium 様の変化が fusion に先行するものではないかもしれませんが。(explbut の Langhans layer の所見)。

しかし、本日お示ししました fusion の像はあくまで光顕レベルの観察ですので原形質の変化が先行しているのか否かは不明であります。

② fusion を control する条件は不明です。

(cytotrophoblast の migration を速かに起こさせることがあるいは、in vitro で fusion を起こさせる1つの要因になり得るかもしれません。)

質問 (神奈川総合病院) 鈴木 健治

① fusion を起こす場合に原形質のS型への変化が先行するかどうか。

② fusion を control する条件は何か、たとえば促進する因子、抑制する因子について何かお考えがありますか。

回答 (京都大) 木下 幹久

① に対する御答えは、畑先生への御答えと同じであります。autoradiography によるCのSへの transforma-

tion の時間と私達の得た結果の時間との“ずれ”は、明らかではありませんが explant 内と monolayer 状態にある細胞環境の相違が原因ではないかとも考えております。

② Sへ fuse しないCの増殖状態に関しては定量的な検討を行っておりません。

91. Freeze-etching 法によるヒト胎盤絨毛膜構造の超微形態学的研究

(神奈川・警友総合病院)

鈴木 健治, 大村 澁, 市川 敏明
甘 彰華, 雨宮 清, 松垣 敬二

目的: ヒトの胎盤絨毛上皮細胞の微細構造は透過型および走査型電顕により観察されてきたが, われわれは近時発展しつつある Freeze-etching 法を用い, 複雑な機能をにた胎盤絨毛細胞の基本的構成単位である小器官, 細胞膜の立体的微細構造の検索を行った。

材料と方法: 材料はヒト各期正常胎盤および胎状奇胎を用いた。組織細切後, 2.5%グルタルアルデヒド (pH 7.4) にて1~2時間固定後, 磷酸緩衝液で洗浄, 30%グリセロールで浸漬し液体窒素で凍結する。この試料を Freeze-etching 装置で -100~-130°C中で割断, エッチングを行なったのち白金パラジウムおよびカーボン蒸着を行ないブリーチを用いて得たレプリカ膜を電顕観察した。

成績: レプリカ上で観察される割断面は内外二重層の間の疎水部分で破断され, それぞれの内表面すなわち PE 面, EF 面が観察され, 膜面には膜内粒子がみられ, 特に外界を背にする EF 面に多く分布する。

Syncytium 細胞の母体面を覆う microvilli には比較的粗な細目状の構造をもつ fuzzy-coat が観察された。細胞質には種々の大きさの空胞状の構造がみられるが, それらの間には膜構造上の差異は認めなかつた。Lipid granule は膜粒子をもたず層状構造を有し内部はそれがうずまき状を呈している。核は核膜孔に富み全体的には皺壁を形成している。

ゴルジ体の層状配列をなす内部は平滑で特殊な構造は認めなかつた。

隣接する細胞の接合形態は適当な割断面を得ることが困難であるが, desmosome に関連する tonofilament の横断面が観察された。

結語: Freeze-etching 法による胎盤絨毛の観察により細胞小器官とそれを構成する細胞膜の超微立体構造の特徴ある所見を得, 従来の超薄切片法のそれとの対比によ

り新たな角度からアプローチへの可能性を認めた。

92. Foeto-Maternal Junctional Zone (FMJZ) における胎児物質吸収に関する超微形態学的ならびに免疫電顕的解析

(日本医大) 畑 俊夫, 天野 国秀

川田 晃, 大川 公康

(国立横須賀病院) 内田 勝次

(日本医大・第1病理) 相原 薫, 矢島 権八

目的: 妊卵の着床に際し, 絨毛組織が脱落膜組織に侵入し, 物質吸収をなしているか未だ明白でない。演者らは既に FMJZ の上記両組織の間に giant trophoblast layer が形成され, その細胞内に多量の glycogen を認め, 絨毛間腔からの物質吸収の他, 脱落膜間質からの吸収系路も重要である事を明らかにした。今回演者らは更に歩を進めて, 一般超微構造的検索の他, 電子密度の高い鉄粒子ならびに peroxidase を標識した抗ヒト IgG ウサギ IgG (PLAHR IgG) を標識物質として FMJZ における胎児母体関門としての両系路の選択的透過性につき検索した。

方法: 妊娠初期妊婦に含糖鉄80mg を静注し, 60分後に絨毛を採取し, 直に電顕観察すると同時に, energy dispersive analysis of Xray (EDAX) を使用し, 定量分析を行った。一方妊婦子宮摘出材料に PLAHR IgG を使用して FMJZ の細胞間質の血漿成分の流れについて観察した。

成績: EDAX により定量された微小鉄粒子は, syncytium 細胞の microvilli および pinocytotic vesicle により取り込まれ, Langhans 細胞の vesicle, 間質細胞の vesicle, 毛細血管内皮細胞の pinocytotic vesicle や perinuclear space, 血小板, 赤血球内に各々取り込まれており, 母体血管内注入後速やかに絨毛間腔から胎児血行中に移行している事を立証した。一方脱落膜血管内皮細胞には強い ATPase 活性を認め, その周囲の間質に多量の蛋白性渗出物, giant trophoblast layer の間質に蛋白性渗出物, fibrin 様細胞線維物質および斑点状の IgG を認めた。また cytotrophoblast 内に多量の fibrin 様細胞線維物質を貧食している像を認めた。これらの事実は, 脱落膜血管の透過性亢進により, 間質内に母体血漿成分が多量に滲出し, それを giant trophoblast が吸収し, 栄養となしている可能性を示唆していると考えられる。

独創点: FMJZ における物質交換に関し, 2つの系路に別け, 各々につき分子生物学的立場より検索し, その選択的透過性の存在を立証した。