

細胞培養研究会抄録

東京都共済青山病院 大和田潔

われわれは今回、ヒトバリアー内皮細胞の培養を試みた。ヒトバリアー内皮細胞が培養できるようになれば、血液脳関門の重要なプラットフォームになると考えられたからである。

既に、神田隆（現山口大学教授）グループは、ウシバリアー内皮細胞の培養に成功しており、当初、同様の方法をヒト剖検脳に応用すれば良いと考えた。ところが、preliminary なラットでの実験では、培養メディウムを変更しなければ、培養が困難であった。最終的に、三光純薬の EGM2 ブレッドキットを用いる事で、ウシ以外の種での内皮細胞の培養が可能となった。

そこで、ヒト剖検脳での実験に着手する事にした。

まず、倫理委員会を開催し、倫理上の問題をクリアしなければならなかった。倫理委員会の許可が下りた後、1年6ヶ月の間に最終的に4例の剖検脳から、内皮細胞の培養を試みる事が可能となった。

その経験から、幾つかの結果を得た。ヒト剖検脳から微小血管の内皮細胞の培養は可能となったが、バリアー内皮細胞か否かはまだ検定されていない。

培養条件としては、死亡後の時間および酵素処理時間が大切であった。紡錘型の細胞や、コブルストーン状の細胞など、幾つかの形態が観察された。必要な細胞のクローニングも可能であった。そのまま継代を続けると、大型の老齢細胞へ変化してしまった。細胞系列を作成するためには、不死化させる手順の追加やメディウムの改良が必要だろう。最初にまず、倫理委員会を開催し、倫理的な許可をいただく必要がある。

われわれは、培養した内皮細胞の一部を東北大学寺崎教授の元へお送りし、ウイルスベクターを用いた不死化遺伝子の導入を試みたが、完成には至っていない。不死化させるためには、先方により良い細胞の供給を行わなくてはならない。今後、常に潤沢に、シート状のバリアー内皮細胞を供給していくためには、この不死化のステップが重要になると考えられる。