The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	長期器官培養法を用いたIn vitroにおけるラット気管上皮動態の形態学的解析
Author(s)	大鶴, 栄史
Citation	大阪大学, 1983, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33428
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【49】

氏名・(本籍)	大鶴栄史（おおつるよしふみ）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 5931 号
学位授与の日付	昭和58年3月17日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	**長期器官培養法を用いたIn vitroにおけるラット気管上皮動態の形態学的解析**
論文審査委員	(主査) 教授 北村 旦
	(副査) 教授 近藤 宗平　教授 藤田 尚男

論文内容の要旨

〔目　的〕

肺癌発生の課程を解析するためには，気官支粘膜上皮の細胞動態を知ることが重要である。そのモデル実験としてラット気管の器官培養を行い，線毛上皮の線毛の動きを観察することにより粘膜上皮の動態を推測し，電顕・光顕等の標本を作製して粘膜上皮細胞動態の解析を行った。

〔方法ならびに成績〕

方法：Wistar系雄ラット4週令を用いた。気管を摘出，膜様部切開後，高さ0.5～1.5mmで馬蹄形に細切し，Plastic petri dishの底面に垂直に接着して，気管片が浮遊しないように培養液を注ぎCO_2 Incubator内に培養した。培養液には，RPMI-1640に15%牛胎児血清，200γ/mℓカナマイシン，1γ/mℓインシュリン，1γ/mℓハイドロコーチゾンを添加したものを使用した。培養経過はその線毛運動を位相差顕微鏡にて観察し，光顕や電顕の標本を作製した。光顕標本はすべて亜連続切片を作製した。培養開始より3週目に発癌物質を添加した。発癌物質はDHPN，MNNG，BPを各々1γ/mℓ，10γ/mℓの2濃度で使用した。発癌物質の添加は2週間連続で，この後培養液のみの群と培養液2週間後に再度発癌物質を1週間添加する群と10週間ＴＰＡを連続添加する群を作った。また，培養液の交換は週1回行った。

成績：線毛運動は培養開始より1週間の間に減少し，運動自身もやや緩慢となる。その後少しづつ回復をはじめて2週間目末には膜様部の切開部においても観察される。この後発癌物質の添加を行うが，添加群と無添加群において，添加群はその後の線毛運動や線毛の数共に無添加群に比してきわめて良好であった。そして無添加群は徐々に線毛運動の観察が不可能となり，固定標本でも上皮の脱落

等が認められて，多くは８～12週で培養不可能となった。添加群においては最初の２ケ月は位相差顕微鏡でみるかぎりはDHPN10γ/mℓ添加群が線毛の数・運動も一番良好であると思われたが，それをすぎるとほぼ同様の所見であった。即ち三者共に１～３列の上皮細胞よりなり，その最表層に線毛がみられる。これを油浸装置で観察すると，長短差のある線毛群よりなっている。次にこのような所見をより詳細に検討するために走査型及び透過型電子顕微鏡を使用した。走査型ではMicrovilliのみをもつ細胞，長短差の線毛とそのまわりをMicrovilliによって被われた細胞，密集した線毛をもちMicrovilliのみえない細胞の３者がみられる。また，これらを透過型で観察すると，表面に多数のMicrovilliをもつ細胞，少数の線毛とMicrovilli，細胞質内に線毛の根底部であるbasalbodyのみをもち，線毛はみられない細胞等がみられる。これらの所見は村上の報告にみられるラット胎生末期16～20日目の気管上皮細胞の分化状況によく類似した所見である。また，Trumpらがヒト気管支やハムスター気管で認めたと報告している small mucous granule cellは今回の実験ではすべての期間を通じて光顕的・電顕的に認めなかった。

また，例外的にMNNG添加群で限局性の異常増殖，BP添加群で角化巣を認めた。TEMではBP投与群の細胞にfine tonofilamentの出現もあった。

この実験法によりラット気管の長期器官培養は可能であり，多くは８～12ケ月可能である。

最長は１年４ケ月間線毛運動をその壁面に観察でき，胎児型気管上皮の形態に類似した形態をとり生存しているという新しき知見を得た。

〔総　括〕

1．ラット気管の長期器官培養法を考案した。発癌物質添加群では少くとも１年４ケ月維持できた。生着の目安は線毛運動の位相差顕微鏡による観察が適当であった。

2．この方法は発癌物質の添加をIn vitroにおいて行い，その直接作用を観察できる方法であり，結果としては気管片上皮は主として胎生末期の変化を示した。しかし一部の気管片では細胞質内にtonofilament 等が出現し，胎児型上皮から偏移した状態で生存するのが確認された。

3．培養ラット気管片ではTrumpらのいうsmall mucous granule cellの出現は認められなかった。

4．将来この実験法をもちいて直視下において気管片そのものからの発癌の可能性を示唆するものと考える。

論文の審査結果の要旨

ラット気管の長期器官培養は困難とされているが，著者は早期に短期間発癌物質添加培養法を行って８ケ月以上の培養に成功した。また，長期培養した上皮細胞はラット胎生末期の像に類似した形態を示すことが明らかとなった。この長期気管器官培養法の成功により気管粘膜上皮細胞の形態学的動態のin vitroにおける基礎的知見がえられた。