

Title	培養ブタ甲状腺の濾胞の極性逆転および濾胞の形成機転についての微細構造的な研究
Author(s)	北島, 孝一
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/35261">https://hdl.handle.net/11094/35261</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

## 【4】

氏名・(本籍)	北 島 孝 一
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 7643 号
学位授与の日付	昭和62年3月26日
学位授与の要件	医学研究科生理系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	培養ブタ甲状腺の濾胞の極性逆転および濾胞の形成機転についての 微細構造的な研究
論文審査委員	(主査) 教授 藤田 尚男 (副査) 教授 宮井 潔 教授 橋本 一成

## 論文内容の要旨

## [目 的]

甲状腺は、腺細胞が極性をもった上皮性の配列をとる、いわば濾胞構造をとる特殊な内分泌腺である。

- (1) 酵素処理によって濾胞周囲の結合組織を消化すると、頂側を濾胞腔側に、基底側を培養液側に向けた単離濾胞を得ることができる。この単離濾胞を血清濃度10%を含む培養液中で培養すると、やがて濾胞を囲む細胞の極性が逆転し、頂側を培養液側に、基底側を濾胞腔側に向けたinverted follicleになる。この極性逆転の過程を電顕で観察した。
- (2) 甲状腺細胞を単離しコラーゲン・ゲル上で培養すると単層上皮となるが、コラーゲン・ゲルで挟んで培養すると濾胞様構造を再構築する。この形成過程を光顕及び電顕で観察した。これらの結果から細胞の極性に対する細胞外基質の関与について考察した。

## [方法ならびに成績]

- (1) ブタ甲状腺を細切し、0.1%コラーゲナーゼを含むイーグルMEM培養液で2時間処理した後、ステンレス・メッシュ(280 $\mu$ m)を通して単離濾胞を得た。これを10%ウシ胎児血清を含むMEM中で1-5日間浮遊培養し、細胞の極性が逆転する過程を通常の超薄切片法及びフリーズ・フラクチャー法で観察した。単離直後の甲状腺濾胞は、in vivoの場合と同じく、単層の濾胞上皮細胞で囲まれ、濾胞腔内にコロイドを蓄えている。細胞の極性は正常で、微絨毛は濾胞腔に面し、細胞の基底側は結合組織、基底膜を欠き、直接培養液に接している。ゴルジ装置は核上部に位置する。培養3時間後では、微絨毛は依然濾胞腔側に存在するが、密着帯のstrandsは、細胞側面を培養液側へ向かって伸びはじめ、多くの濾胞では24時間後には培養液側に集まる。この時期になると微絨毛も培養液側にむかって突出

する。ゴルジ装置、水解小体等の細胞内小器官の移動はこれよりも遅れ、培養24時間ではまだ移行状態であり、ゴルジ装置は頂側にも、基底側にも見られる。培養4-5日後には濾胞の極性は完全に逆転している。即ち、微絨毛、中心線毛、密着帯は培養液側に位置し、ゴルジ装置は核よりも培養液側に見られるようになる。このような、単離甲状腺濾胞の極性の逆転は、細胞間結合を保ったままで行われると考えられるが、何が逆転濾胞の極性を本質的に決定しているかについては不明である。

- (2) 上述のように単離された甲状腺濾胞を、さらに0.2%トリプシン溶液で処理して単離細胞を得た。まずこれをMEM、血清を含むコラーゲン・ゲル (type I) の上で単層培養した。単層の細胞は明瞭な極性を示し、細胞の基底側はコラーゲンに接し、培養液に面する頂側に微絨毛、密着帯が位置する。このmonolayerの上からさらに同じコラーゲン溶液をかけ、細胞の上下をコラーゲン・ゲルで挟み、1日-3週間培養した。培養1日後には、単層の細胞の一部が増殖、移動し2層の細胞層を形成するが、この場合の細胞の極性は、上下ともにコラーゲンに接する側が常に基底側になり、頂側どうしが対峙する。単層の細胞が増殖して2層になるのには、細胞の分裂、増殖が盛んに起こることが、 $[^3\text{H}]$ -thymidineのオートラジオグラフィーによって示された。2層になった上下の細胞の間、或は単層の部分でも、隣接する2細胞間に頂側細胞膜が現れ、密着帯で囲まれた原始濾胞腔が形成される。コラーゲンで挟んで2日後には、細胞は多くの部分で2層になり、その間に扁平で大きな濾胞様構造が形成される。腔の形成はTSHがなくても起こる。基底側には断片的ながら基底膜が形成されている。腔を囲む細胞には微細管がよく発達し、また頂側および基底側の細胞膜と平行に、微細糸が束をなして走っている。腔の形成にこれらの細胞骨格系が関与することが推測される。原始濾胞腔どうしの融合、細胞の増殖によって日と共に大きい腔を形成するようになる。また培養液中に $10^{-5}\text{M}$ のコルヒチンを加えて培養した場合には、コラーゲン・ゲルで挟んで2日後も、細胞は多くの部分で単層のままであり、濾胞腔の形成はほとんど見られない。このことは、腔形成に微細管が関与することを示唆する。コラーゲンの中で3週間培養したものは、腔内にサイログロブリンが蓄えられていることが、PAS染色及び免疫組織化学によって示された。このことは、コラーゲン中で培養した甲状腺細胞が、サイログロブリン合成能を維持していることを示している。また間接蛍光抗体法で、細胞の基底側には基底膜の成分であるラミニンが直線状に認められた。

#### [総括]

単離された甲状腺濾胞を、コラーゲンを含まない10%の牛胎児血清を含むMEMの中で浮遊培養すると、培養1-3日で頂側が培養液側に向き、極性が逆転する。この際最初に起こる変化は、濾胞腔側にあった密着帯のstrandsが散らばり、ついに培養液側に移動することであり、それよりも遅れてゴルジ装置の移動が起こる。

単離した甲状腺細胞をコラーゲンの上で培養し単層上皮状を作り、ついで上下をコラーゲン (I型) で挟んで培養すると、上下ともにコラーゲンに接する側が細胞の基底側になり、2細胞間に原始濾胞腔が形成される。ついで腔を囲む細胞の増殖や、腔どうしの融合等によって大きな濾胞様構造を形成する。このような腔の形成にTSHは必要でないが、コルヒチンにより抑制される。コラーゲン中で培養した甲状腺細胞は、基底膜形成能やサイログロブリン合成能を維持している。

## 論文の審査結果の要旨

- (1) コラゲナーゼとトリプシンを用い、基底膜と結合組織を消化することによって得た単離甲状腺濾胞を、高濃度（10%）の牛胎児血清を含む培養液中で浮遊培養すると、
- イ. 密着帯のstrandが分散し基底側へ移動し、
  - ロ. ゴルジ装置と核の位置が徐々に逆転し、
  - ハ. 濾胞腔側の微絨毛が消失し、培養液側に出現し、その結果細胞の極性が逆転する。
- (2) 単離細胞を培地の上にまいて単層上皮をつくり、I型コラーゲンを含む培養液で挟むと、単層の細胞が2層となり、上下とも培養液に面する側が細胞の基底側となり、2層の細胞間に原始濾胞腔が出現する。培養液のコラーゲンを除いたり、コルヒチンにより微細管の形成を阻止すると原始濾胞腔の出現は起こらない。
- 細胞の極性の決定に、基底膜、コラーゲン、微細管が大きい役割を演ずることを明らかにしたもので、医学博士の学位に値するものと認める。