

学位授与番号	医博甲第1200号
学位授与年月日	平成8年3月25日
氏名	片柳和義
学位論文題目	マウス胆道系上皮細胞の区分別培養法の確立

論文審査委員	主査	教授	中沼安二
	副査	教授	中西功夫
		教授	小林健一

内容の要旨及び審査の結果の要旨

胆道系は解剖学的に総胆管、胆嚢、肝門部胆管、小葉間胆管等に分類され、各々のレベルで、上皮細胞の形態、粘液産生、糖鎖の発現に違いが見られ、また、ヒト胆道系疾患ではいくつかの胆道区分が選択的に障害されることが知られている。例えば原発性胆汁性肝硬変では、小葉間胆管が、また肝内結石症では肝内大型胆管が主に障害される。今回、胆道系の解剖学的区分に応じた上皮細胞の構造や機能、病態の違いを解明する基礎的研究として、Slc/ICRマウスを用いて、同一マウスを用いて解剖学的胆道区分別の上皮細胞の培養法の確立、さらに病態解明への応用を試みた。

まず、経下大静脈性のコラゲナーゼ灌流法により、肝実質を除去し、肝管樹を作製した。胆嚢、総胆管は別に採取した。次に、実体顕微鏡下で各胆道系区分を含む微小組織片を作製し、培養移植片とし、コラーゲンゲル（ゲル）培地上に静置し、初代培養を行った。次に培養移植片より増殖進展した上皮細胞シートを選択的に切り取り、別のゲル培地に移植し、継代培養を行った。3週間毎に継代を繰り返すことにより、胆嚢、肝門部肝管、総胆管由来の上皮細胞の培養は10代まで、また末梢部胆管上皮細胞の培養は6代まで可能であった。形態学上、いずれの培養細胞も円柱状～立方状の形態を示し、ゲル培地上を一層性に増殖進展した。 γ -GTP染色では各培養細胞は胞体がび漫性に陽性で、免疫組織化学的にいずれの培養細胞（初代および継代）もサイトケラチンZ-622、A-575にび漫性に陽性で、胆道上皮の細胞学的性状を示した。透過電顕像では各培養細胞の内腔面に豊富な微絨毛を見、細胞間には接着装置や嵌合ヒダが認められ、生体内の胆道上皮とほぼ同じ形態を示したが、各胆道レベルに特徴的形態像は一部消失した。さらに、レクチンDBA、PNA、SBA染色で、in vivoの胆道系では解剖学的区分による違いが見られたが、培養細胞ではいずれのレベルでも部分的～び漫性に陽性となり、各解剖学的区分による染色性の差異は減少した。次に胆道系の病態解明への応用を試みた。本培養系の培地中にIFN- γ を添加すると、培養胆道上皮細胞（初代及び継代）に主要組織適合抗原（MHC）class I、IIや接着分子のICAM-1の発現が誘導された。ヒトの原発性胆汁性肝硬変でも小葉胆管上皮にMHC class I、IIやICAM-1の発現が異常発現することが知られており、この培養モデルを用いた、ヒト疾患への応用の可能性が示唆された。

以上、本研究は同一マウスで胆道系の解剖学的区分毎に上皮細胞を培養する方法を確立したものであり、さらに胆道上皮の形態、表現型や機能の一部を明らかにし、胆道系の病態解明にも応用可能な方法であることを示した労作であり、胆道病理の解析に寄与する有意義な論文と評価された。