

「細胞培養下における幼若家兎硝子体細胞の特性」

慶応義塾大学医学部眼科

植村 恭夫
満尾 京子

研究目的

未熟児網膜症をはじめとする、多くの小児網膜血管性疾患の病態を知るために、われわれは幼若家兎網膜血管の組織片培養を試み、その血管周囲には4種の細胞が存在することを、前回の本研究班会議で述べた。

今回は、その網膜血管と相接する硝子体皮質に、均一に、一層をなして配列している小リンパ球様細胞、いわゆる一般にいわれているところの硝子体細胞、“hyalocyte”の特性を検索する目的で、その分離培養を試み、光顕の検索を施行した。

研究方法

生後10日～12日目の日令の幼若白色家兎（日本白色種）総数71羽を用いた。家兎はネンブタールの胸腔内注射にて屠殺し、その後直ちに眼球を摘出した。ついで、無菌下で眼球の角膜輪部より3mm後方（視神経側）で、輪部に沿って眼球全層切開を行い、硝子体を包み込んだ硝子体皮質を網膜より剝離摘出し、網膜血管およびその周囲の細胞を実体顕微鏡下で除去し、リン酸緩衝液中で充分な細切を行った。これにコアグラゼ、ヒアルロニダーゼを各々1.3mg/mlが入ったリン酸緩衝液を加えて、37℃で15分間、無菌的に放置した。ついでそれを、700回転、5分間の遠心分離を行い、上澄みを捨て、そこに15%牛胎児血清を含む培養液を加え、再度700回転、5分間の遠心分離を行った。前回と同様、上澄みを捨て、MEM+15%F.C.S. 5ccまたはRPMI+15%F.C.S. 5ccを加え、Falcon flaskに移し、37℃ Incubatorに静置した。7日目で $\frac{1}{3}$ のmedium changeを、そして14日目より $\frac{1}{2}$ づつのmedium changeを、週1回づつ施行した。これらの培養細胞に、MEMとRPMIの培養液の比較、細胞化学検査、食作用検査、および16mm映画撮影を

施行した。

研究結果

本実験における培養液の比較として、MEM+15%F.C.S.と、RPMI+15%F.C.S.の2種については、硝子体細胞の培養には、著しい違いはみられなかった。

細胞化学検査においては、HE-PAS染色にて、その原形質は赤紫色に染まった。アルーシャンプルー染色にて、その原形質は青色に染まった。また、コロイド鉄法においても同様の所見を呈した。ヒアルロニダーゼ消化法にては、一部の細胞は陽性所見を呈した。シアリダーゼ消化法にても、ほとんどの細胞は陽性所見を呈した。

食作用検査にては、イースト菌を喰食している所見が得られた。

ついで、これら細胞の培養10日目および82日目の16mm映画撮影を行い、動的形態の変化を観察した。円形、不整形の胞体の明るい細胞は、偽足様の細長い突起物を多数出しながら、培養液中を活発に動き回っていた。10日目では、まだ充分な接着性をフラスコの底面にはみせず、なかば、浮遊している状態であった。82日目の同細胞は、10日目の細胞よりもその胞体は大きく、動きもやや遅い所見が見られた。また、薄い膜状偽足の波状運動が見られ、この目的が、移動なのか、物の取り込みなのか、呼吸代謝であるのか、現在のところ推測の域を出ない。10日目の細胞と比べ、82日目の細胞の方がこの培地の条件に安定してきたこと、またフラスコの面に対し、何らかの接着物質を作用させて、伸展、収縮をくり返していることが明らかとなった。

考 察

硝子体細胞は、1865年 Iwanoff が、硝子体皮質、硝子体底、毛様体部、網膜乳頭付近の皮

質に存在する、胎生期に多くみられる細胞であると報告して以来、Schwalbe はこれらをmacrophage とし、Hamburg はこれらをphagocyte とし、そしてBalaz は Iwanoff と同様、硝子体固有の細胞であり、その名称もhyalocyte とした。これらの細胞は、酸性ムコ多糖類を有し、喰作用を有するとしている。今回のわれわれの実験における幼若家兎のhyalocyte も、彼らの報告とまったく同じ特性を有した。それに加えて、今回新たに、シアル粘液をその細胞質に含んでいることが明らかになった。これからみると、ライソゾーム酵素の一つであるneuraminidase が存在し、シアル酸の α -グルコシル結合を切断し、それに続きexoglycosidase を作用させ、順次複合多糖を分解している一過程が推測される。つまり、硝子体中のhyalocyte が、糖代謝の働きをもっている細胞であることが考えられる。このことが、硝子体、またはそれに接する網膜および網膜血管にいかなる影響を与えているかは明らかでなく、今後の解明すべき課題である。

これら細胞がmacrophage であるという、いままでの報告に加えて、薄い膜状偽足での波状運動を行っていることは、新たにわかったことであるが、この特性についてはまったく不明である。また、これら細胞の長期培養により、接着性、伸展性に富んだ細胞となることが明らかになったが、もしこの硝子体中のhyalocyte、つまりmacrophage が、今日すでに証明されている、胸腔

のmacrophage が有しているファイブロネクチンをもっているとするれば、この16mm映画所見も説明がつく。この高分子粘着性糖蛋白の一つであるファイブロネクチンは、変性collagen分子のclearance、細胞の組織面への定着、spreading に関与しているといわれているからである。しかし、これはまったく推測の域を出ない。

本実験の細胞は、幼若家兎網膜血管の培養の際に、その周囲に増殖出現した4種の細胞、fibroblast like cells, round c., irregular forms c., neural cells,のうちの2種、つまりround cells,irregular forms cellsと同じ細胞であると考えられた。つまり、網膜血管増殖の際には、hyalocyte が何らかの関与をしているのか、または血管あるいは血管内由来の細胞が硝子体細胞となって、何らかの働きを行っているのか、不明である。

要 約

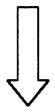
今回われわれは、幼若家兎硝子体皮質に存在するhyalocyte を分離培養し、それらの光顕的検索、および16mm映画撮影を行った。その結果、それらの細胞には、酸性ムコ多糖類を有していることに加えて、シアル粘液を含んでいることが明らかとなった。そしてこれら細胞は長期培養によって、接着性、伸展性に富んだ細胞となることを認めた。また、これら細胞は、幼若家兎網膜血管の培養の際に出現したround cells, irregular forms cellsと同じ細胞であることを明らかにした。

本実験結果と網膜血管の回りに出現増殖した細胞との比較

	hyalocyte	fibroblast like c.	round c.	irregular f. c.	neural c.
HE-PAS(Stain)	(+)	(-)	(+)	(+)	/
Colloid iron(#)	(+)	(-)	(+)	(+)	
Alcian blue(#)	(+)	(-)	(+)	(+)	
Hyaluronidase digestion	(+)	(-)	(+)(-)	(+)(-)	
Sialidase digestion	(+)	/	/	/	
Phagocytosis	(+)	/	(+)	(+)	/
Undulating movement	(+)	/	(+)	(+)	
Membraneous-pseudopodia	(+)	/	(+)	(+)	
Attachment	(+)	/	(+)	(+)	
Adhesion	(+)	/	(+)	(+)	
Elasticity	(++)	/	(+)	(+)	



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



研究目的

未熟児網膜症をはじめとする,多くの小児網膜血管性疾患の病態を知るために,われわれは幼若家兔網膜血管の組織片培養を試み,その血管周囲には4種の細胞が存在することを,前回の本研究班会議で述べた。

今回は,その網膜血管と相接する硝子体皮質に,均一に,一層をなして配列している小リンパ球様細胞,いわゆる一般にいわれているところの硝子体細胞,“hyalocyte”の特性を検索する目的で,その分離培養を試み,光顕的検索を施行した。