<速 報>

培養肝細胞の cell-cell communication ;
microinjection を用いた検討

渡辺 純夫 浪久 利彦* M. James Phillips**

Time-lapse movie を用いて初代培養肝細胞を長時間観察すると、2 個の肝細胞が付着結合している細胞間の毛細胆管に、能動的な収縮運動のあることが報告されている(1)。この成績は、2 個の細胞間に何らかの交通路が存在し、協働運動を行なっていることを強く示唆するものであるが、これら培養肝細胞について cell-cell communication を観察した報告はない。microinjection は、細胞膜の透過性に影響をうけることなく、直接細胞内に物質を注入しうる有力な手段であるが、培養肝細胞に応用した報告はない。今回われわれは、培養肝細胞に蛍光物質 (Na-Fluorescein) を microinjection し、培養肝細胞の cell-cell communication について検討した。

方法：初代培養肝細胞は、すでに報告した方法で分離・培養し(1, 2)、viability が90%以上で、2 個の肝細胞が分離されずに付着しているものを用いた。5 匹の Wistar 系ラットより各々10組の細胞群を採取し、合計50組の細胞群について観察した。microinjection は成茂製作所製の micromanipulator と microinjector を使用し、Nikon 倒立顕微鏡下で操作を行なった。注入液としては0.05%Na-Fluorescein を用い、注入後1分毎に蛍光顕微鏡下で肉眼観察し、蛍光色素の移動によって cell-cell communication の有無 (dye coupling) を観察した。

結果：50組の細胞群のうち48組に dye-coupling (Fig.) が認められ、経時的観察ではほとんどが1分以内に dye-coupling がみられた。

結論：Cell-cell communication について、種々な培養細胞を用いた実験結果(3)では、分子量1,200以下の物質は細胞間に存在する gap junction を通過し、他

Fig. Almost all cell-cell communication become positive within 1 min after the microinjection of Na-Fluorescein. Inset: Phase contrast micrograph of doublet cultured hepatocytes (upper) and fluorescent micrograph of microinjected doublet cells showing positive cell-cell communication (lower). The arrow shows the target cell of the microinjection.

細胞に移動することが知られている。本実験で使用した Na-Fluorescein は分子量376で、gap junction を通過しうる物質であり、cell-cell communication を観察するのに適当である。培養肝細胞にみられる毛細胆管の収縮は、細胞群を形成する細胞の協働により起こるもので、両細胞間に何らかの communication があるものと考えられるが、今回の成績から毛細胆管を形成する2細胞間に明らかな cell-cell communication の存在することが示された。

索引用語：培養肝細胞, cell-cell communication, microinjection

文献：1) Oshio C et al.: Science 212: 1041, 1981 2) Watanabe S et al.: Gastroenterology 85: 245, 1983 3) Lowenstein WR: Physiol Rev 61: 829, 1981

* 順天堂大学消化器内科

** トロント大学病理

<受付日59年8月2日>