

[学会発表]

合成培地 HFDM-1 を用いた培養ヒト肺線維芽細胞の産生する PAI-1 の 検討

三井雅子、高橋君子、小林克行、松岡健

日付：2007年5月14日、15日

主催：日本組織培養学会第80回大会

会場：千里ライフサイエンスセンター

【背景】肺胞壁には線維芽細胞が点在しており、傷害が起こると傷害部位へ遊走増殖する。この間肺線維芽細胞が産生する plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1)量が肺傷害からの修復に大きく関わり、デキサメタゾンの使用も PAI-1 産生に影響することが知られている。【方法】そこで線維芽細胞無血清培養用に開発された合成培地 HFDM-1 のデキサメタゾンを不含とし、これを用いてヒト肺組織から単離した線維芽細胞の PAI-1 産生を線維芽細胞単離時に用いた 10% FCS 添加 M199 での培養時と比較した。【結果】まずヒト肺線維芽細胞の増殖を比較すると、10% FCS 添加 M199 よりも 0.5% FCS 添加 HFDM-1 を用いた場合では 2 日、無血清 HFDM-1 を用いた場合は 4 日間のヒト肺線維芽細胞の増殖は有意に低かったが、それぞれの培地での培養開始から 0.5% FCS 添加 HFDM-1 では 4 日で、無血清 HFDM-1 では 6 日で 10% FCS 添加 M199 で培養している線維芽細胞数と同等に達した。PAI-1 mRNA は 0.5% FCS 添加 HFDM-1 で培養した場合に高発現したが、HFDM-1 に含まれ、線溶系に影響すると考えられる EGF のシグナル伝達阻害剤ゲフィチニブを添加すると PAI-1 mRNA の発現は 10% FCS 添加 M199 および無血清 HFDM-1 と同等になった。ヒト肺線維芽細胞内あるいは細胞表面に存在する PAI-1 量の変化は認められなかったが、線維芽細胞が分泌する PAI-1 活性は、血清の有無に関わらず HFDM-1 で培養した細胞で 10% FCS 添加 M199 で培養した線維芽細胞よりも PAI-1 活性は抑制された。また、細胞表面でのウロキナーゼ活性も同様に血清の有無に関わらず HFDM-1 で 10% FCS 添加 M199 で培養した細胞表面活性のほぼ半量であった。さらに、分泌 PAI-1 活性あるいは線維芽細胞表面ウロキナーゼ活性にゲフィチニブの影響は認められなかった。【考察】これらの結果はデキサメタゾン不含 HFDM-1 が分泌 PAI-1 活性および線維芽細胞表面ウロキナーゼ活性で低値を示したことから、肺病変の修復に大きな影響を持つ肺線維芽細胞の PAI-1 検討に HFDM-1 が有効であることが示唆された。

[論文]

HUMAN LUNG FIBROBLASTS CULTIVATED WITH HFDM-1 REDUCED BOTH THE SECRETED PAI-1 AND THE SURFACE UPA ACTIVITIES.

Mitsui, M., Takahashi, K., Kobayashi, K., Matsuoka, T.

Tiss. Cult. Res. Commun. 28: 133-142, 2007.

HFDM-1 is a serum-free culture medium for fibroblasts. The amount of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) production from lung fibroblasts is closely related to the severity of the lung diseases. The growth rate of newly isolated human lung fibroblast and the amounts of PAI-1 of the cells were examined. Although the growth of fibroblasts cultured in HFDM-1, with or without 0.5% FCS, was slower than that in M199 containing 10% FCS during the first two or four days, respectively, the cells reached comparable numbers after six days. The expression of PAI-1 mRNA in fibroblasts cultured with 0.5% FCS HFDM-1 was higher than in the cells cultured with 10% FCS M199. This effect was suppressed by the addition of gefitinib, the EGF signal blocker. There were no significant differences in the cellular PAI-1 expression among all three media. The PAI-1 activity in the culture medium and the fibroblasts' surface uPA activity were suppressed when the cells were cultured in HFDM-1, with or without 0.5% serum, irrespective of the presence of gefitinib. These results suggested that HFDM-1 reduced the effects of serum on the fibroblasts' PAI-1 production and activity, and would be a useful tool for the investigation of the lung fibroblasts' roles in the pulmonary diseases.