

生する可能性があるのではないか。

ヒト正常細胞はその正常性の特質として、細胞寿命を持っている。またヒトを対象とする研究である制約から、トランスジェニックの技術を導入することが不可能である。それに代わるものとして、若いPDLの細胞に遺伝子を導入することを試み始めている。レトロウイルスをベクターにし遺伝子をのせ、ヒト由来のフェニックス細胞によりパッケージングする。このウイルスを内皮細胞に感染させる。この結果内皮細胞は染色体に新規の遺伝子がDNAとして導入される。またそれがアンチセンスであれば、目的とする遺伝子の発現を阻止することができる。この形質転換細胞も細胞寿命を持つが、標的遺伝子の発現のコントロールが可能である。今後この形質転換内皮細胞を作出する予定である。

E. 結論

ヒト血管内皮細胞を容易に安価に培養する方法が確立された。この方法を用いることにより血管の機能の解析と血管に伴う老化の研究の進展が期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

Toda, T., Kaji, K. and Kimura, N., TMIG-2DPAGE: A new concept of two-dimensional gel protein database for research on aging. Electrophoresis, 19: 344-348, 1998

2. 学会発表

伊倉宏一、太田敏郎、加治和彦, 血管内皮細胞の老化に及ぼす酸素分圧の影響. 第71回日本生化学

会大会 (名古屋) 1998年10月

表図の題と説明

表1 ヒト臍帯血管細胞の細胞寿命

細胞を 1×10^3 cells/cm²の密度でまきこむ。毎週継代する。K6A1のみ動脈由来、ほかは静脈由来である。

図1 ヒト臍帯静脈内皮細胞の初代培養の方法(本文参照)

aの右端を静脈に挿入する。左端はチューブを介して注射筒に取り付ける(b)。

図2 ヒト内皮細胞の培養条件

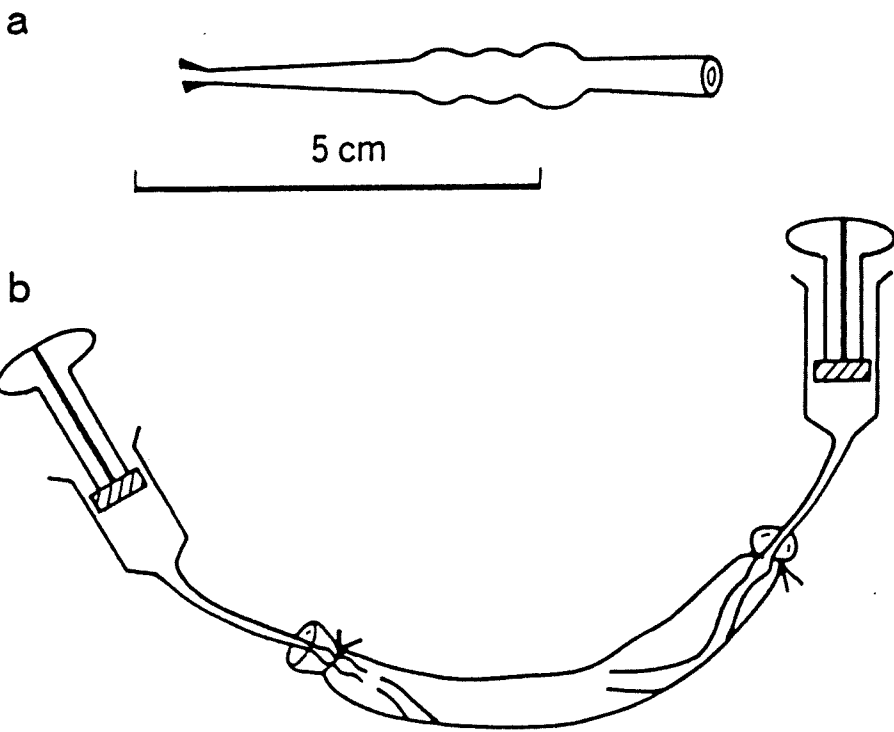
図3 ECGFの精製過程(本文参照)

図4 ヒト内皮細胞の細胞老化に至るまでのPDLの進行

表1の細胞株 a: K1T5, b: K2T1, c: K4T1, d: K6T1, e: K6A1. a, b, c, e では細胞老化の途中で一時的な増殖能の回復が見られる。

表 1

cell line	PDL at the start	life time (days)	finite PDL
K1T5	5.3	233	94.8
K2T1	4.3	247	125.2
K4T1	5.3	233	107.6
K6T1	6.5	121	54.6
K6A1	6.5	184	72.7



MCDB-104 (basal medium)

FBS (10%)

ECGF (69ng/ml)

EGF (10ng/ml)

heparin (100 μ g/ml)

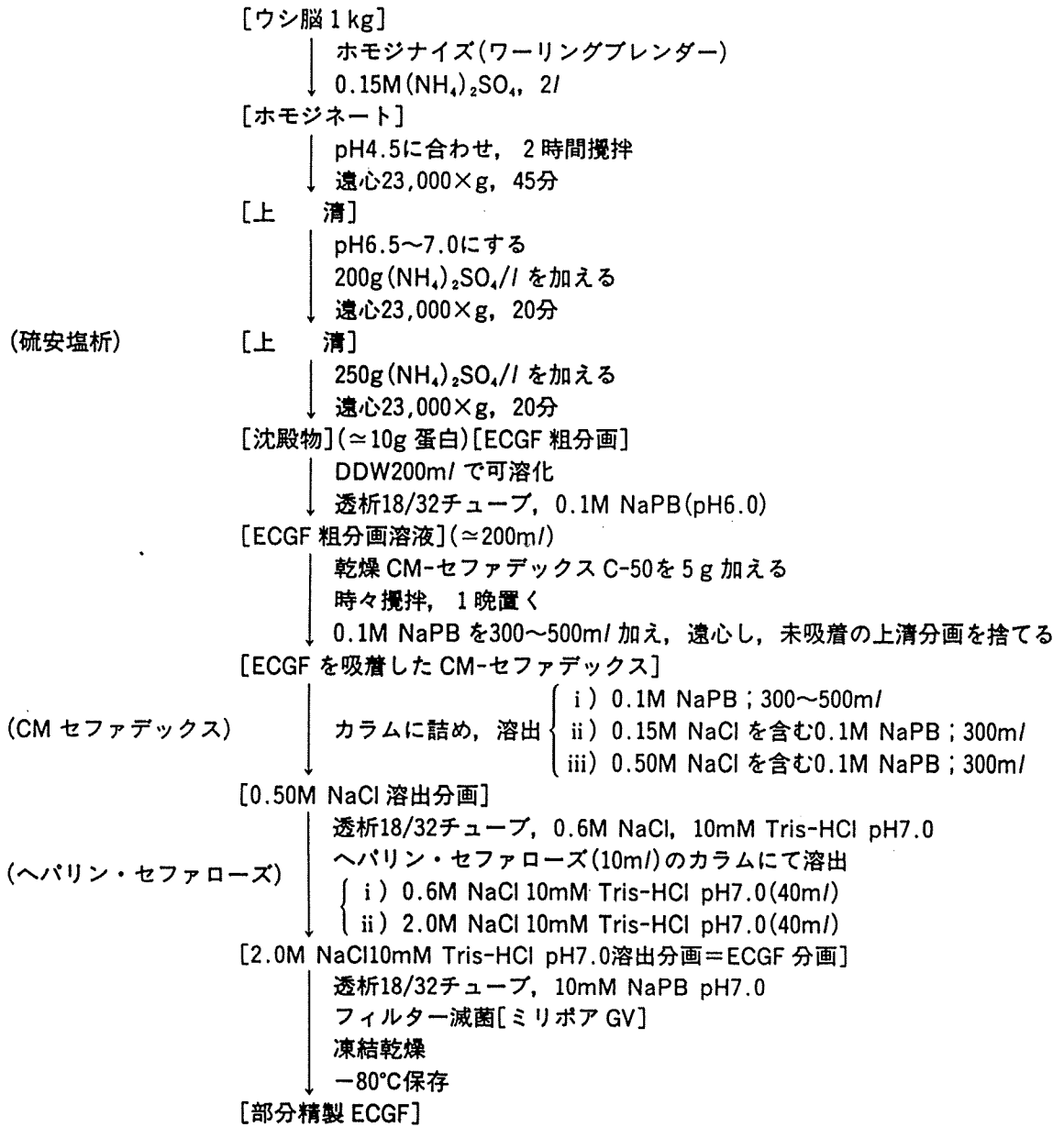
gelatin coated dish

subculture

trypsinization ; 0.025% trypsin, at room temp. for 3 min.

interval ; weekly

split ratio ; 1 : 8 or 1×10^3 cells/cm²



全行程 ; 7~10日間

