

★★★LYM-1・P3細胞の歴史★★★

初代培養：1982年・発癌剤MNUを接種して大腸癌が発生した純系ラットJAR-2の癌近接リンパ節より培養開始。

培養法：回転培養。培地はFBS・2%+DM-170(ガラクトース培地)。

樹立時：1984年細胞集塊を発見。以後はFBS+DN-160(グルコース培地)で継代。

樹立当初の特徴：ラット肝癌由来細胞系に壊死をもたらす因子を放出していた(1)

P3系へ：1991年血清および蛋白を含まない合成培地DM-201に切り替えた。

血清無添加、閉鎖培養(炭酸ガスフランキは使わない)に問題なく順応して、以後現在(2001年)まで継代を続けている。倍加時間はほぼ60時間。

染色体：樹立当時(1984年)低2倍体であったが、その後1988年の核型検査では、正二倍体を示すものも含まれていた。

LYM-1-P3

Myco (+) B/D

NIH#0359

LYM-1.P3B

JCRB0144.1B

NIH#0360

LYM-1.P3D

JCRB0144.1D (1)

【LYM-1の放出する増殖阻害因子】

《LYM-1の培養経過》

純系JAR-2・F60・生後2週の子ラットにMNU 2mg/5ml水溶液を週3回の間隔で20回注射。

3カ月後に開腹し、大腸癌の発生を確認。

腫瘍部位と周囲のリンパ節を摘出し、回転培養を開始。

培地にはファンギソンを添加した牛血清2%を含むDM-170を使用。

培養開始は1982年10月4日で、その後、腫瘍部は細菌感染のため培養中止、リンパ節は週1~2回培地を更新して培養を続けたところ、約2年後の1984年9月に大きな細胞集塊数個を発見。その細胞集塊を継代。

その後、順調に増殖をつづけたので《LYM-1》と命名した。

《LYM-1細胞の放出する増殖阻害因子》

ラット正常肝由来細胞、及び肝癌細胞由来細胞株8種の培養にLYM-1培養後3~4日の培地を添加し、増殖に対する影響をしらべた。

ラット腹水肝癌AH-7974由来のJTC-16は強い増殖阻害を受け、2.5%以上の濃度で添加すると細胞は死滅した。この現象は、スクリーニング培地の血清濃度が低いほど、その殺細胞効果が強まる。JTC-16以外の細胞系でもその傾向は確認された。即ちスクリーニング培地の血清濃度10%ではJTC-16以外の細胞系には全く増殖阻害はみられなかったが、血清濃度を2%にすると、JTC-1、JTC-15、JTC-27系にそれぞれ増殖阻害がみられた。

血清を全く含まない合成培地順化12系ではL・P3のみに軽度の増殖阻害がみられた。

JTC-16を使ってLYM-1の放出する殺細胞因子の性質を検討した結果、加熱処理により失活、透析すると内液に活性があることがわかった。

16ミリ顕微鏡映画撮影の結果ではJTC-16の無添加対照群は48時間後まで順調な分裂増殖をつづけるが、LYM-1培地添加群は添加12時間後に細胞突起の消失と球形化の傾向がみられ、48時間には大半の細胞の動きがとまり樹化して死に至った。

《腫瘍性》

純系ラットJAR-2・生後3日乳児3匹・背部皮下にLYM-1細胞10⁶を接種。

接種後1週には3匹とも接種部位に腫瘍を認めた。組織像は、ヒトおよびラットの悪性線維性組織球腫との類似が認められた。

Dokkyo Journal of Medical Sciences
Vol. 13, pp. 9-13, 1986

ESTABLISHMENT OF A NEW CELL LINE SECRETING
COLONY STIMULATING FACTOR AND GROWTH
INHIBITING FACTOR FROM METASTATIC
LYMPHNODES OF A RAT

Hideo KURAYAMA, Shinichiro OGATA, Mitsuo NANBA, Shoichi IKEGUCHI,
Toshiko TAKAOKA* and Shigemitsu SHIDA

First Department of Surgery and
*Research Center of Tissue Culture,
Dokkyo University School of Medicine,
Mibu, Tochigi 321-02, Japan

(Received December 21, 1985)

SUMMARY. A new tissue culture cell line (LYM-1) has been established from metastatic lymphnodes of a rat, bearing colon cancer. The cancer was produced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosourea treatment. Morphological appearance of LYM-1 cells suggests that this cell line might consist of a mixed population of fibroblast- and histiocyte-like cells. LYM-1 cells released two kinds of factors; colony stimulating factor and growth inhibiting factor. The colony stimulating factor stimulated the formation of macrophage and granulocyte colonies. The growth inhibiting factor inhibited the growth of JTC-16 cells derived from the rat ascites hepatoma AH-7974.

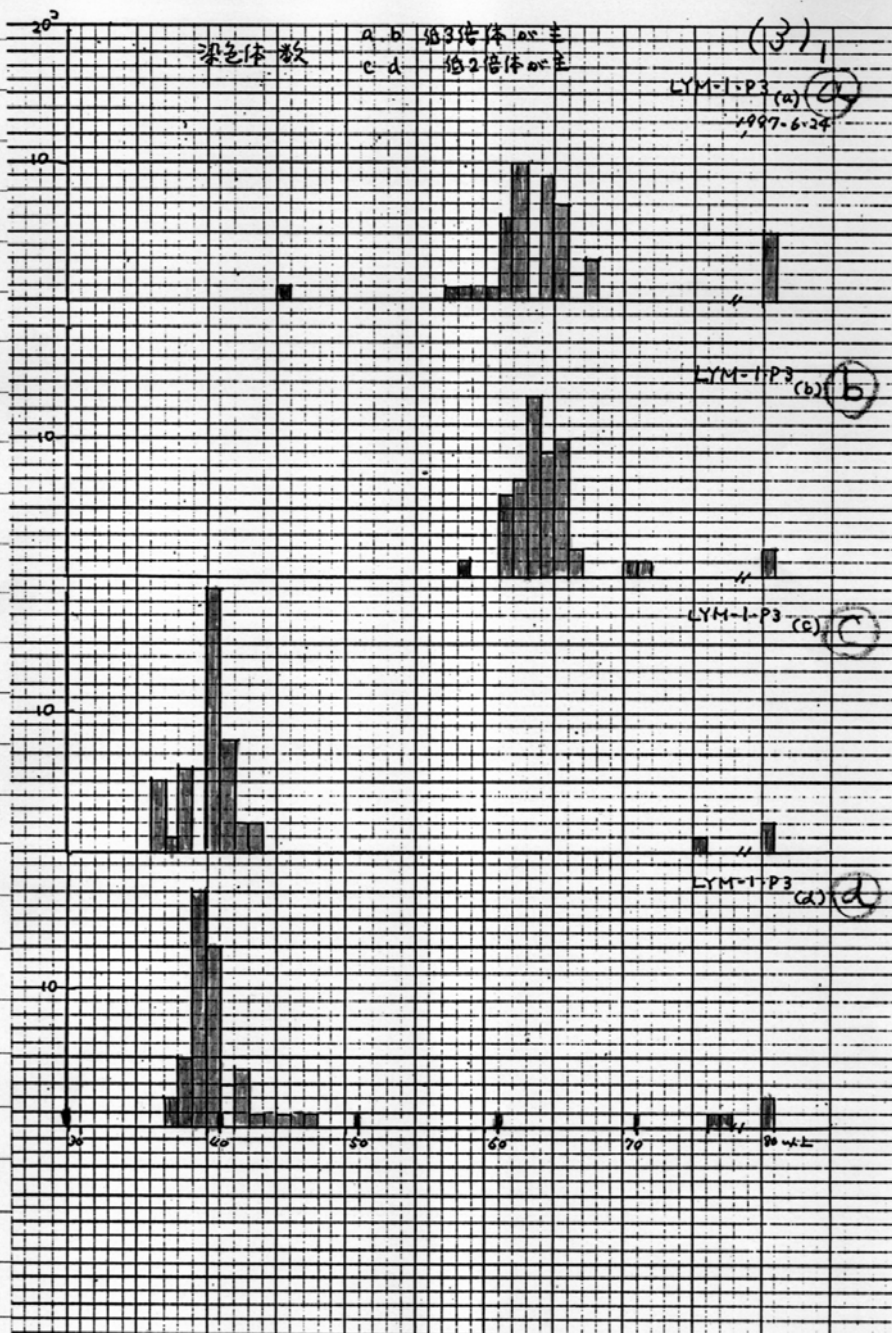
3902, 5016 5537

《接着性の相違による分別》

原株を顕微鏡下に観察すると、接着性の強い繊維芽細胞様の細胞の上に球形の細胞群が常時載っているようであった。分裂期の細胞かと思っていたが、ピペッティングで集めてみると、数回の継代の後に、4つの系(a,b,c,d)に分けることが出来た。

（染色体を調べてみると、a,bは3倍体近辺に染色体数最頻値があり、c,dは低2倍体であった。）(3)

(3)-1



A

B ←

C

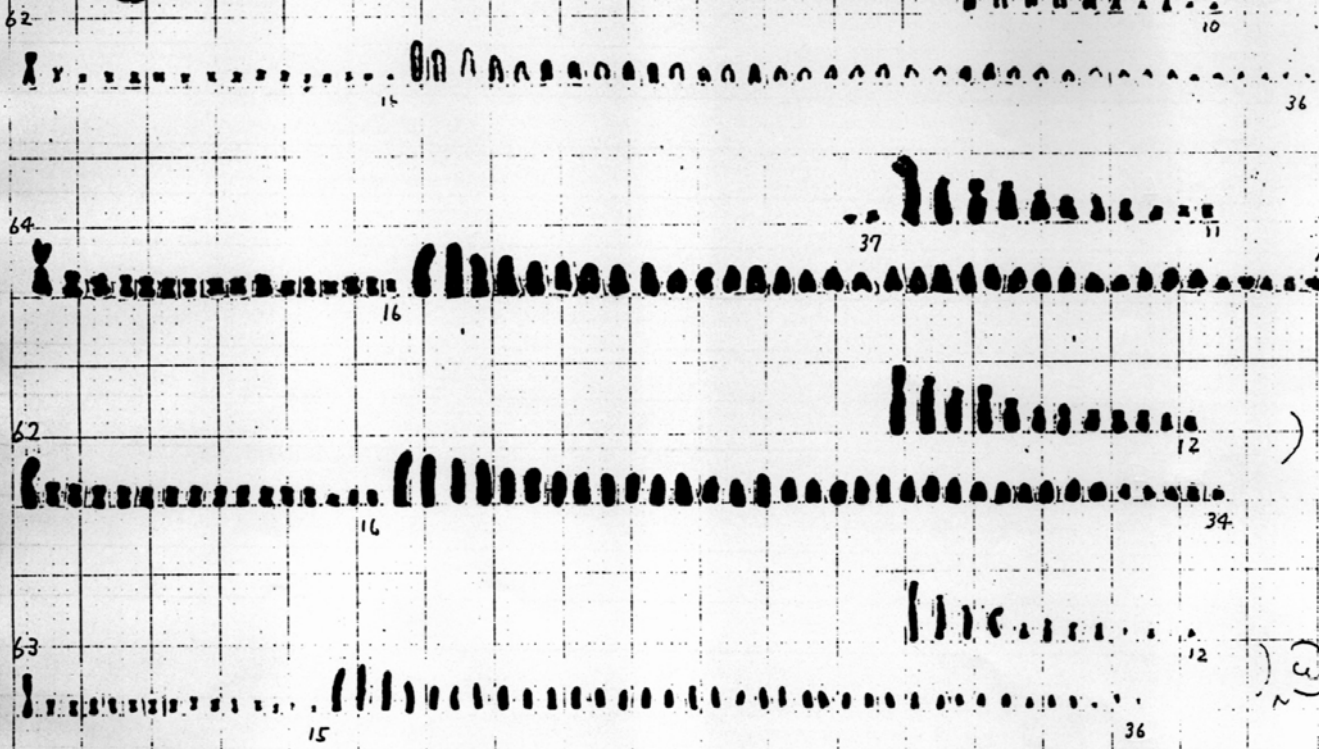
D ←

60年~66年 = 76%

LYM-1.P3 a ㊦

1997-6-24

(a)

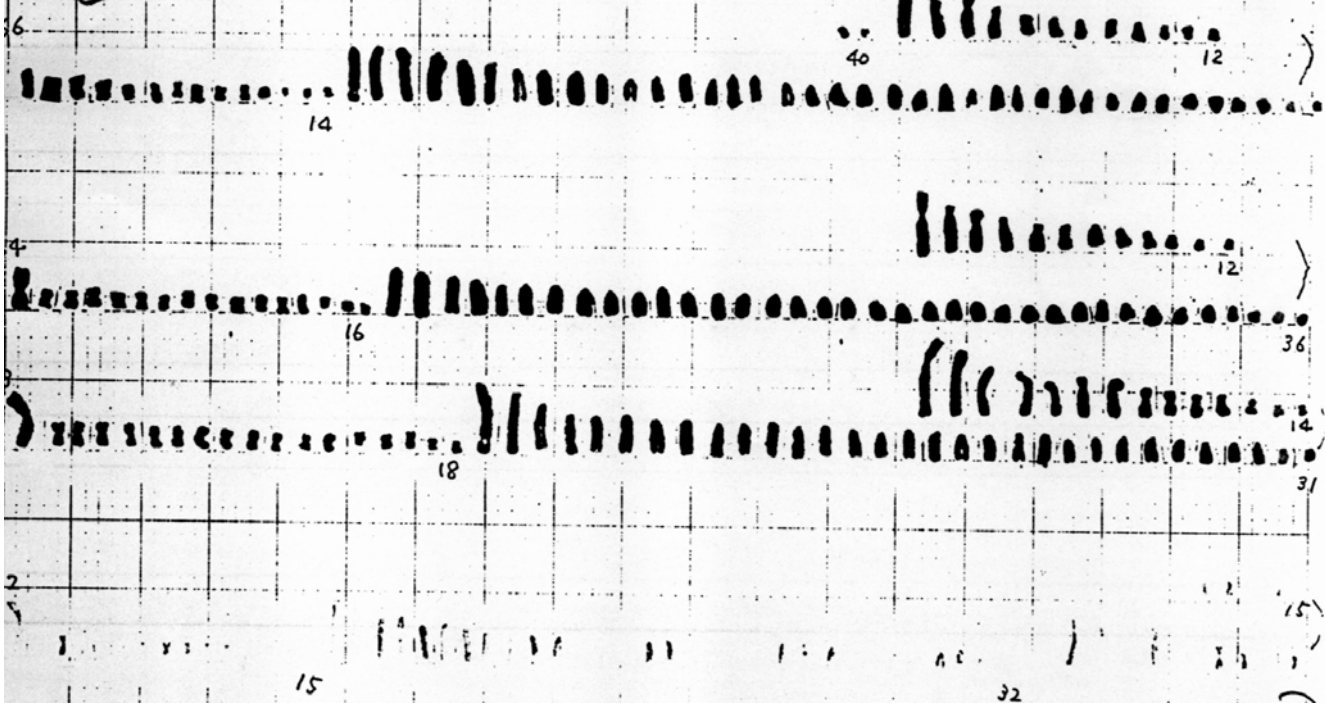


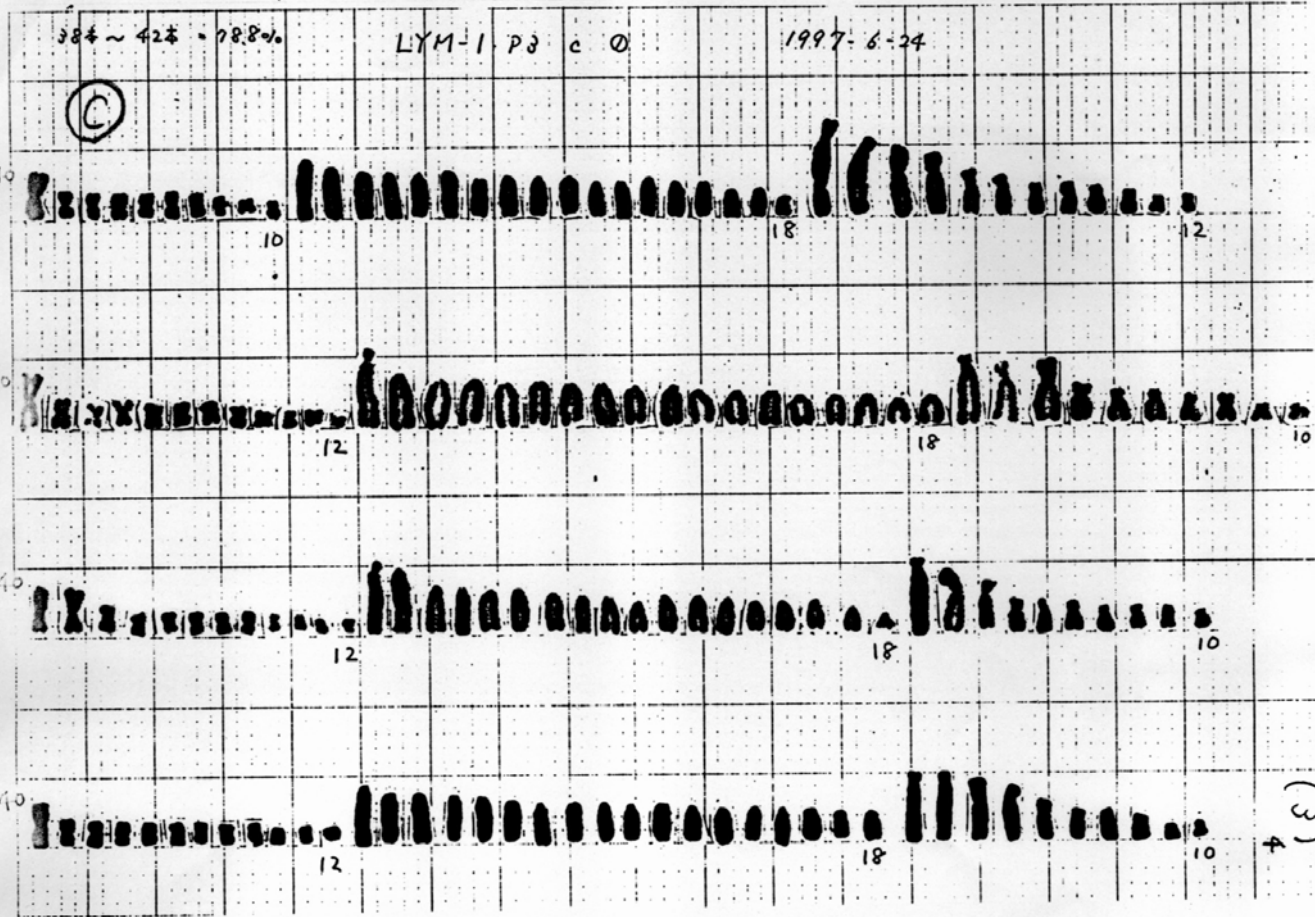
60年~66年 = 90.2%

LYM-1.P3 b ㊦

1997-6-24

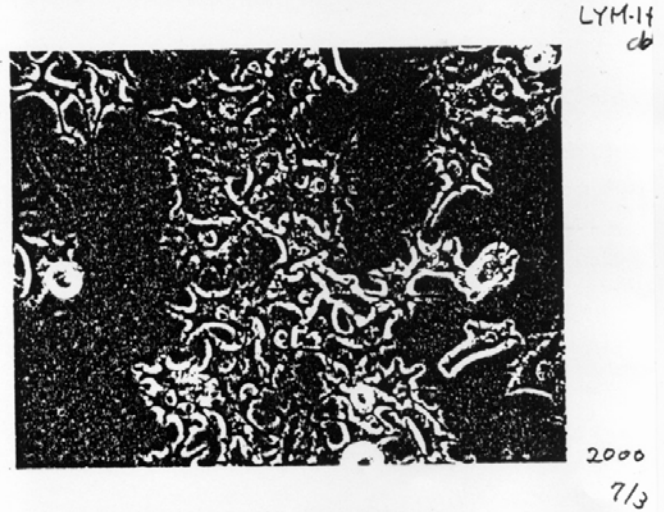
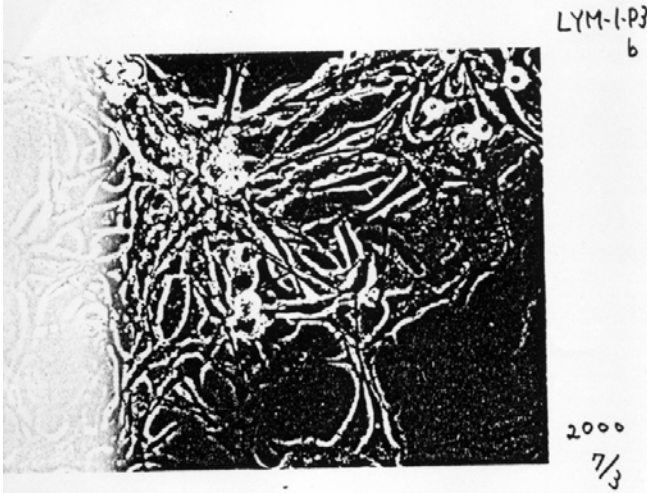
(b)



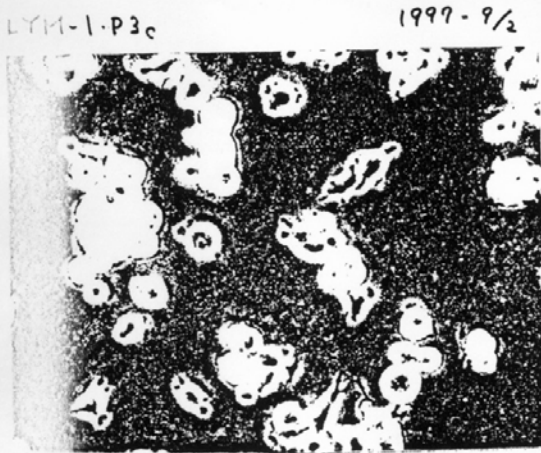


形態はa,bは繊維芽細胞様であり、c,dは突起の多い円形であった。(4)
 その後、この2群(4系)はそれぞれの特徴を失うことなく継代されている。
 a,bは増殖が緩慢であり、c,dは増殖がより早い。

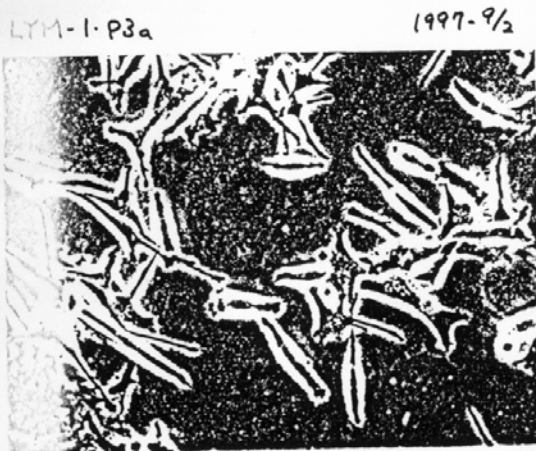
(4) (5)



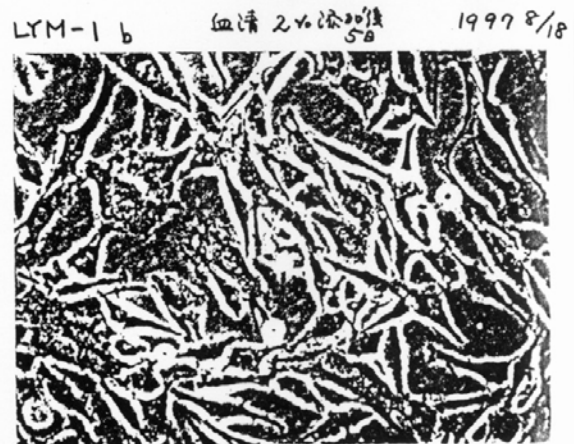
血清を添加(2%)した条件で、両者の形態的な違いはより明瞭になる。即ちa,bは血清添加で形態の変化はみられない。c,dは数石状の配列を示す上皮細胞様に変化する。(5)



→
上皮細胞
様化



→
変わらない

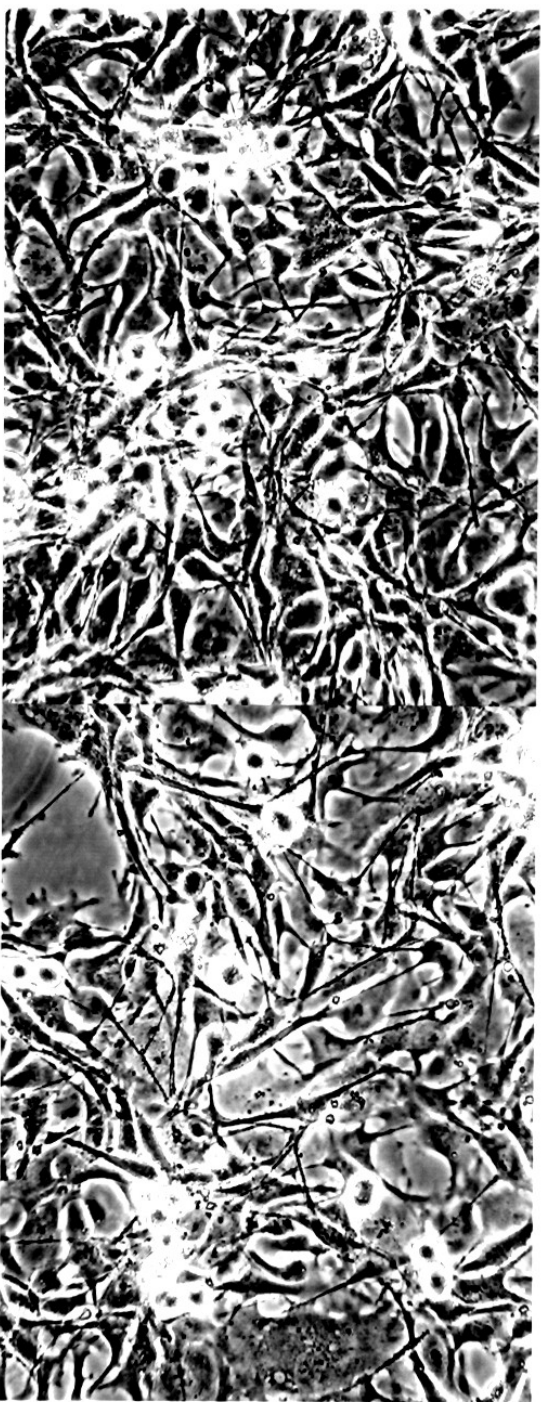


又、合成培地DM-201(グルコース培地)からDM-200(ガラクトース培地)へ移すと、c,dは殆ど変わり無く継代を続けられたが、a,bは長期間の継代が困難であった。

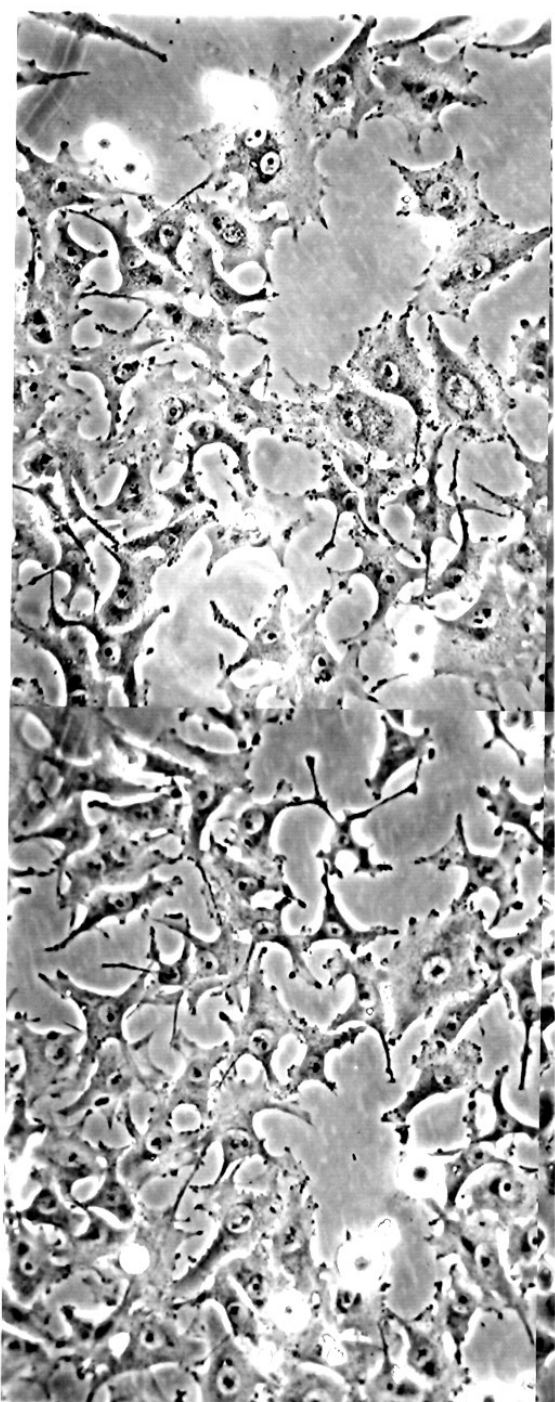
(テロメアとテロメラーゼ)

a,b,c,dに分離しない・P3系としてのデータはテロメラーゼは±~+、テロメア長は2.3キロボースであった。

TC 9A



LYM-1
P3B



LYM-1
P3D