

ヒト急性単球白血病細胞株の樹立とその性状

今 野 多 助
土 屋 滋
(東北大学医学部小児科)

序 論

従来ヒト単球には、貪食能、マイトゲンによるリンパ球芽球化反応補助能、抗体依存性細胞障害能、免疫グロブリン産生補助能などといった多彩な機能が認められているが、純粋かつ大量にヒト単球を得る事の著しい困難性より、これら免疫機能の精細な研究の進展は遅滞しているといつて良い。一方ヒト単球の一次的機能欠損に帰因すると思われる免疫疾患はほとんど知られていず、この事の一因にはヒト単球の、数の点からも純度の点からも試験管内で扱にくい側面が関与しているものと思われる。このような観点から現在最も必要とされている事の1つは、試験管内で機能を保持した単球を増殖させ、単球機能検索の材料とする事である。われわれは最近急性単球性白血病患者より単球性白血病細胞株 (THP-1) を試験管内で樹立する事に成功した。今回の報告ではこの細胞株の単球としての性状について主に述べたい。

材 料 と 方 法

細胞株樹立および細胞培養

急性単球性白血病の1才男児の末梢血よりファイコール・コンレイ比重遠沈法にて単核球分画を得、 6×10^5 /well になるように Falcon 社製 No. 3040 のマイクロプレートに分注、20% 牛胎児血清加 RPMI-1640 培地にて CO₂ ふらん器内で培養を開始した。培地は1週間に2度交換した。

組織化学的検査

樹立細胞の通常染色は Wright-Giemsa 法によった。その他必要に応じてナフトール ASD クロロアセテートエステラーゼ、 α ナフチルプチレートエステラーゼ、PAS、ズダンブラック B、アルカリフォスファターゼおよびペルオキシダーゼ染色を用いた。

免疫学的検査

Fc レセプター (EAox) および C₃b (EAC^{bu})、C₃d (EAC^{mo}) レセプター保有細胞、羊赤血球 (EN) とのロゼット形成細胞は橘らの微量ロゼット形成法により求めた。細胞表層および細胞質内免疫グロブリンの同定は蛍光抗体直接法によった。EB ウイルス関連核抗原 (EBNA) は Reedman と Klein の方法に従った。

リゾチーム活性は、マイクロコカスリゾディクティクスを用いた比濁法により行った。

食 食 能

ラテックス粒子 ($0.81 \mu\text{m}$), 羊赤血球 (SRBC) および IgG 感作 SRBC について検討した。食食能の評価は, 食食を行わせた後塗沫標本を作製し, 全細胞数あたりの食食細胞の比率を求める事によって行った。

コロニー刺激性 (CSA) に対する反応性

35 mm 径のプラスチックディッシュを用い, 10^6 ヒト臍帯血単核球分画を feeder 細胞とし, 軟寒天コロニー形成法により行った。ディッシュあたり 10^2 から 10^3 の THP-1 細胞を播き, コロニー数は4週間後に算定した。

Tリンパ球芽球化反応の補助能

ニューラミニダーズ処理 SRBC とヒト末梢単核球とのロゼット形成法により得た細胞を, Tリンパ球分画として用いた。Falcon 社製 No. 3040のマイクロプレートを用い, 10^5 のTリンパ球に種々の濃度のマイトマイシンC (MMC) 処理 THP-1 細胞を添加し, $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で Con A を添加, 37°C 72時間培養し, 培養終了前4時間の ^3H -チミジンのパルスを行い, そのとりこみを液体シンチレーションカウンターを用いて計測した。

結 果

THP-1 細胞樹立の経過

試験管内培養系に移した直後より, 単球性白血病細胞は活発な増殖を開始し, 以後その増殖は安定していた。培養開始直後の最大細胞密度は, 1週1度の半量培地交換で $1\sim 2 \times 10^5/\text{ml}$ であったが, 2年半経過した現在1週2度の半量培地交換で, $7\sim 10 \times 10^5/\text{ml}$ と上昇しているが, 単球としての性状に大きな変化は認められていない。

THP-1 細胞の細胞学的, 細胞化学的特徴

THP-1 細胞の Wright-Giemsa 染色像を図1に示した。細胞直径は $12\sim 14 \mu\text{m}$ であり, く

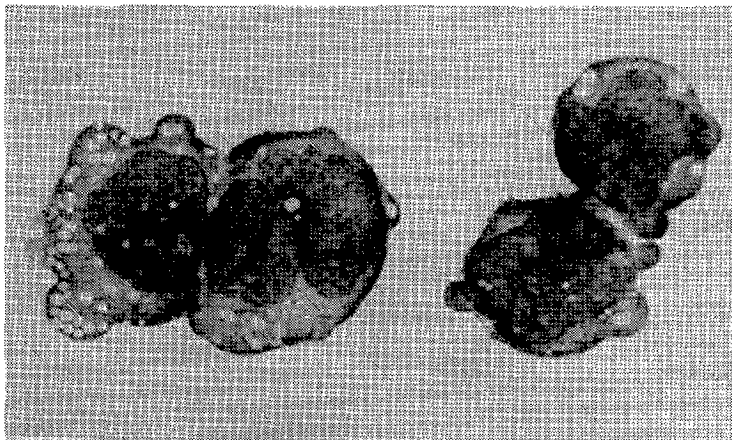


図1 Monoblasts stained with Wright-Giemsa ($\times 1,000$).

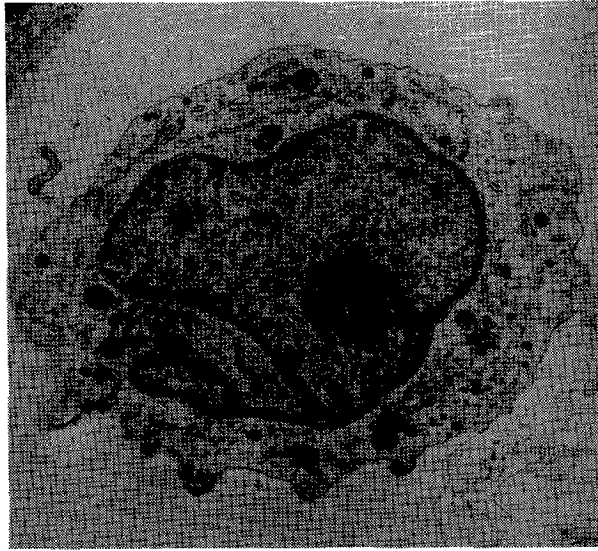


図2 Ultrastructural appearance of a THP-1 cell.
Note a deep-folded nucleus with well-defined nucleolus
and a number of cored vesicles ($\times 10,000$).

びれた核を有する比較的細胞質に富んだ細胞である。THP-1 細胞の電顕像を図2に示す。くびれた核には明瞭な核小体が認められ、細胞質内には cored vesicle が目立つのが特徴である。

細胞化学的には、 α ナフチルブチレートエステラーゼ染色陽性であったが、この陽性像は NaF 添加により阻害された。PAS 染色も陽性であった。その他ナフトール ASD クロロアセテートエステラーゼ、ズダンブラック B、アルカリフォスファターゼ、ペルオキシダーゼ染色は陰性であった。

核型分析では THP-1 細胞は正常 2 倍体を示した。

THP-1 細胞の表面マーカー

THP-1 細胞の表面マーカーについて表1にまとめた。98.7%とほとんどすべての細胞に Fc レセプターが認められるのが特徴で、他に C_3b レセプター 69.4%、 C_3d レセプター 2% であり、E ロゼット形成細胞は認められなかった。また細胞表面および細胞質内免疫グロブリン

表1 Surface Receptors on THP-1 Cells

	C ₃ receptor		Fc receptor	Receptor	Surface immunoglobulins
	EAC ^{hu}	EAC ^{mo}	EAox	for EN	
Percent of positive THP-1 Cells	69.4	2	98.7	0	0

ンは検出できなかった。HLA タイピングでは、HLA-A2, -A9, -B5, -DRW1 および-DRW2 であり、HLA-DR 抗原も保有している事がわかった。EBNA は陰性であった。

リゾチーム産生

$5 \times 10^4/ml$ の細胞濃度で培養を開始, 1週間後の培養上清には $2.25 \mu g/ml$ のリゾチーム活性が認められた。同様の条件下での細胞内のリゾチーム活性は $6.07 \mu g/10^6$ cells であった。

THP-1 細胞の貪食能

THP-1 細胞はラテックス粒子, SRBC および IgG 感作 SRBC を貪食した。これらの貪食の中では IgG 感作 SRBC の貪食能が極だっており, Fc レセプターを介した積極的な貪食機構が保持されている事が示された。SRBC および IgG 感作 SRBC の貪食の時間経過を図3

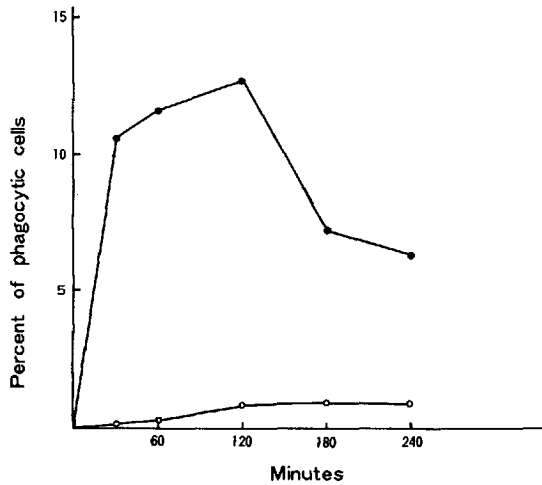


図3 Time course of phagocytosis of sheep red blood cells by THP-1 cells. ○—○, Phagocytosis of unsensitized SRBC; ●—●, Phagocytosis of anti-SRBC-IgG antibody coated SRBC.

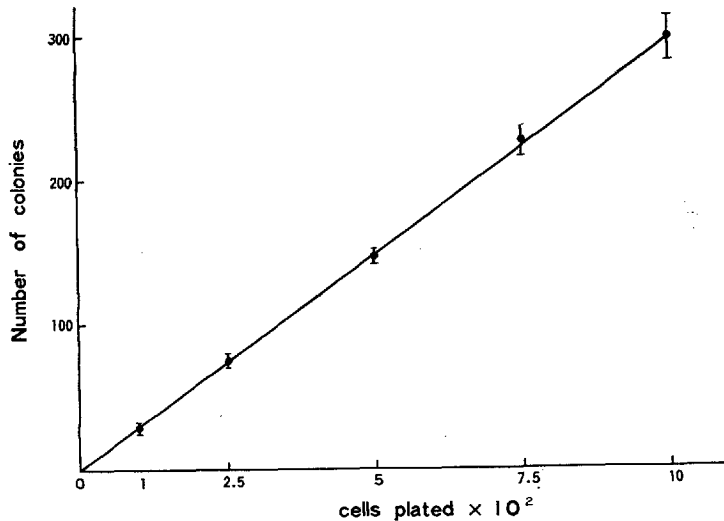


図4 Colony formation of THP-1 cells in agar responds to CSA from human cord leukocytes. Each point represents the mean \pm standard error of an experiment done in quadruplicate.

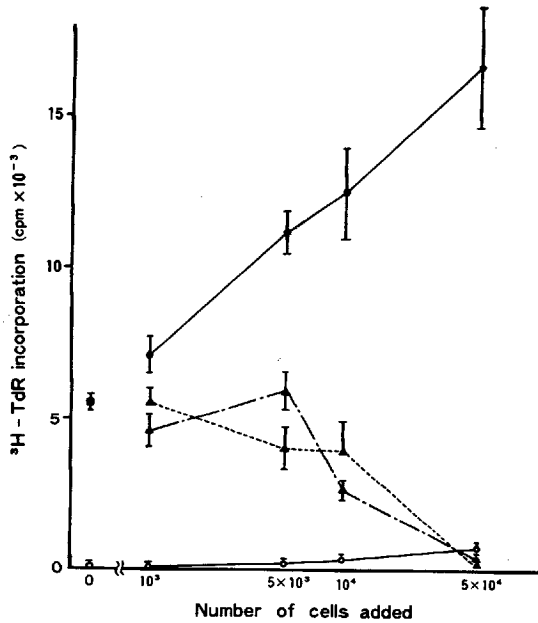


図5 Restoration of T lymphocyte mitogenic responsiveness with THP-1 cells. Each point represents the mean \pm standard error of an experiment done in triplicate. 5×10^4 MMC treated THP-1 cells incorporated 221 ± 47 cpm of $^3\text{H-TdR}$. \square , T-lymphocytes without Con A; \blacksquare , T-lymphocytes with Con A; \circ — \circ , T-lymphocytes plus THP-1 cells without Con A; \bullet — \bullet , T-lymphocytes plus THP-1 cells with Con A; \blacktriangle — \blacktriangle and \blacktriangle — \blacktriangle , T-lymphocytes plus 2 strains of fibroblasts with Con A. $^3\text{H-TdR}$ incorporation of mixed cultures of T-lymphocytes and fibroblasts without Con A was below 270 cpm and is not shown in the figure.

に示した。

CSA に対する THP-1 の反応

臍帯血単核球分画を feeder 細胞として添加しない場合には、プレーティング効率 6% で小さなクラスターを形成した。一方臍帯血単核球分画を feeder 細胞として用いた場合には、プレーティング効率が 30% に増加し、50 個以上の細胞より為るコロニーを形成した。形成されるコロニー数は、寒天に播いた細胞数と直線関係にある事が示された (図 4)。

THP-1 細胞の T リンパ球芽球化反応補助能

MMC 処理 THP-1 細胞添加, あるいは非添加時の T リンパ球の Con A による芽球化反応を図 5 に示した。THP-1 細胞非添加群についてはほとんど芽球化反応は認められなかった。一方 THP-1 細胞添加群では、 10^5 の T リンパ球に 5×10^4 MMC 処理 THP-1 細胞を添加した系を頂点とする dose response curve がられた。

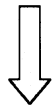
考 察

急性単球性白血病患児より樹立した白血病細胞株の性状について述べた。この白血病細胞株は以下の点より、単球の性状を保持した細胞株である事が示された。(1) α ナフチルプチレートエステラーゼ染色陽性であり、これは NaF により阻害された。(2) リゾチーム産生能を有していた。(3) ラテックス粒子および感作赤血球の貪食能を有していた。(4) Con A による T リンパ球の芽球化反応を補助し得た。

現在までに組織球、単球の性状を有するヒト細胞株は 4 株報告されており、うち 3 株は histiocytic lymphoma cell line, 1 株は myelomonocytic leukemia cell line とされている。今回われわれはそれらと類似の性状を有する 5 株目の、しかし単球性白血病因来の細胞株を樹立した事になる。本細胞株はヒト単球の貪食能の免疫生物学的、生化学的研究のモデルとなり得るものと思われた。さらにリンパ球芽球化反応と単球の関わり、その系における、Lymphocyte activating factor の役割、そして免疫グロブリン産生系における単球の有する機能などの精細な解析をすすめて行く上での格好の材料となる可能性があり、本細胞株の単球としての機能についてはさらに解析をすすめている所である。

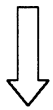
文 献

- 1) Sundström, C. and Nilson, K. : Int. J. Cancer, **17** : 565~577, 1976.
- 2) Epstein, A.L. et al. : Cancer, **42** : 2379~2391, 1978.
- 3) Karpas, A. et al. : Brit. J. Cancer, **37** : 308~315, 1978.
- 4) Tsuchiya, S. et al. : Int. J. Cancer, **26** : 171~176, 1980.



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



序論

従来ヒト単球には、貧食能、マイトゲンによるリンパ球芽球化反応補助能、抗体依存性細胞障害能、免疫グロブリン産生補助能などといった多彩な機能が認められていながら、純粹かつ大量にヒト単球を得る事の著しい困難性より、これら免疫機能の精細な研究の進展は遅滞しているといつて良い。一方ヒト単球の一次的機能欠損に帰因すると思われる免疫疾患はほとんど知られていず、この事の一因にはヒト単球の、数の点からも純度の点からも試験管内で扱いにくい側面が関与しているものと思われる。このような観点から現在最も必要とされている事の1つは、試験管内で機能を保持した単球を増殖させ、単球機能検索の材料とする事である。われわれは最近急性単球性白血病患者より単球性白血病細胞株(THP-1)を試験管内で樹立する事に成功した。今回の報告ではこの細胞株の単球としての性状について主に述べたい。