

シンポジウム

老化の基礎的研究 (第4回)

講演記録

文部省科研費特定研究「生体老化の基礎的機構」班

(代表者 田内 久)

昭和52年2月2日

於 東京都千代田区平河町 日本都市センター

(正誤)

頁 行

49

10

52

7

57

Fから2~3行  
の間は脱字

正

誤

年代別

→

年代例

→

腹の大きさ

→

は 個体の維持

シンポジウム

老化の基礎的研究（第4回）

老化の基礎的機構をめぐって

—— 研究の現状と展望 ——

目 次

開会あいさつ	研究班代表者 田内 久	1
司会 太田邦夫・菅原 努・田内 久		
1. 分子水準における研究	鈴木 肇之	2
2. 細胞水準における研究	田内 久	9
a. 生体内細胞を中心として	佐藤 秩子	9
b. 培養細胞を中心として	黒田 行昭	17
3. 細胞間物質における研究	鶴藤 丞	25
4. 個体水準における研究		
a. 生体防御を中心として	永井 克孝	30
b. 生体調節を中心として	井村 裕夫	39
5. 集団水準における研究	能村 哲郎	48
総合討論		59
閉会		61



## 開 会 あ い さ つ

名大・医・病理

田 内 久

予定の時間になりましたので、この班の第2回のシンポジウムを始めさせていただきますたく存じます。

このシンポジウムは班としては2回目ですが、老化の基礎的研究としては前の総合Bの太田班からひきつづいて4回目に当たります。

本研究班の目的は、しばしば申上げているように研究それ自身というよりは、むしろいろいろの分野の老化の基礎研究者の間の研究交流ないし連絡が中心であります。そんなわけでこの研究班をかりに5つのグループ、すなわち分子、細胞、細胞間物質、個体および集団の水準にわけ、適宜サブグループを作って、それぞれ10～20名程度の研究協力者の参加を得て、各々グループの間でご連絡ご協議いただいたわけです。

本日は各々グループ、サブグループ毎にその世話人からそれぞれのグループ内での討論内容をご報告いただいて、ご参会の先生方に十分ご討議いただき、老化の基礎的研究の今後の推進に役立たせていただきたいと思います。

以上のような趣旨をおくみとりいただき、時間の許す限りご協力いただきますようお願いいたします。

# 1. 分子水準における研究

東海大・医  
鈴木 學之

この経過報告は、初期に設定した老化の分子的機序についての作業仮説の模型をもとにして、グループ各メンバーの報告書に示された内容の位置づけを行い、さらに近い将来の研究計画を明らかにするものである。

## 作業仮説と現状 (図1)

物事をもっとも単純に考えるため、DNAを中心とした考え方を採用した。DNAには経時的に脱プリンや鎖切断が起こることが *in vitro* の系で確められている。同じようなことは *in vivo* でも起こるのではないかと考えられている。いっぽうDNAが複製し、また転写でRNAを作ったりして機能したために「すり切れ」が起こるかもしれない。

こうしてできた損傷の一部は修復されるであろうが未修復の損傷も残るであろう。また修復の際

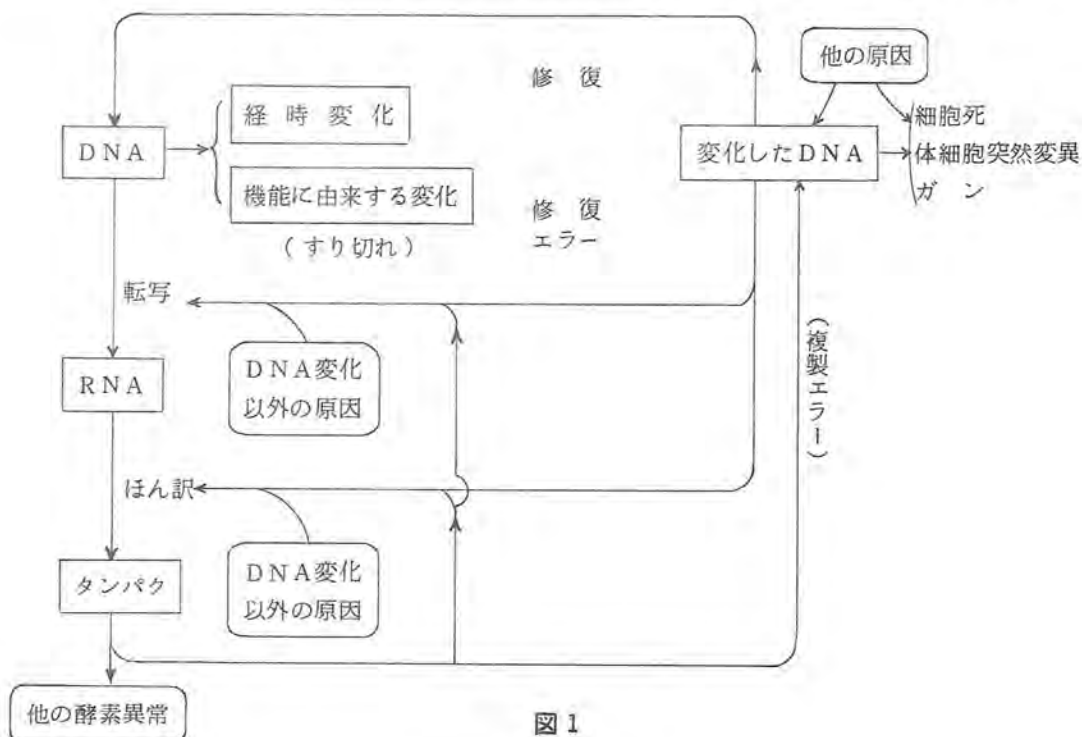


図1

してエラーを伴うかもしれない。このことは最近突然変異の研究で確められている。このようにしてDNAにエラーがたまると、種々の形でその影響が現われるものと予想される。これを老化の本質的な機序と考えることは可能である。

DNAはあらゆる細胞で機能する分子であるから、広汎に起こる老化現象の説明には好都合でずっと早いかもしれないが、いくつかの問題点があるように思われる。

### 作業仮説に対する問題点

第一は、Price、Modak、Makinodanら(1971)が動物の非分裂系組織のDNAに、老化すると鎖切断が起こるであろうということをラジオオートグラフィでえられた結果から推定したが、小野と岡田らがマウスの肝、脳、脾などについて沈降測定で調べた結果、肝以外ではDNAの鎖切断が見られず、また放射線で生じた切断の修復能も老化してはいないことを確めた。さらに森田らは技術的な見地からPriceらの結果はそのままDNAの鎖切断を反映していないことを示した。

すなわち、現時点では老化に伴ってDNAに損傷が蓄積するという証拠は何も得られていない。

第二は、動物の種による老化過程の相異を説明するのが困難である。哺乳動物を考えた時、細胞内におけるDNA分子周辺の環境はどれも大差があるとは思われず、したがって自然的損傷が生じる速度も動物により大きく異るとは考えにくい。もしそうだとすると、ヒトとマウスのようにひと桁も寿命の異なる動物の老化をDNA損傷で説明するには、修復効率が異なるか、あるいは動物によりDNA損傷に対する耐性が異なるか(たとえば動物の大きさが影響して)でなくてはならない。後者の問題はひどく生物学的なもので当面分子水準の話にはならない。前者に関しては動物の寿命の長さから除去修復との間に一義的な相関々係があるというHartとSetlowらのデータがあるが、鎖切断などの損傷に関しては何もわかっていない。

要するにこの問題は天文学的時計と生物時計との関係であり、Szilardはこれを数量的なファクターをおくことで逃けている。

第三は、老化がプログラムされた現象であるという考え方とは相容れない。生命にとりもっとも重要なことは種を保存することすなわち生殖であると思うが、そこまでは当然何らかのプログラムに入っている、生殖を過ぎた個体の寿命をのばしたり老化で縮めたりする必然性はどこにもないのでなかろうか。

第四は、早老病といわれている遺伝病のWerner症候群のヒトから採った線維芽細胞に関する研究によると(嶋田、藤原)、紫外線に対しても電離放射線に対してもそれは抵抗性を示し、修復能力は十分に具えていることが分かった。この細胞の特色はむしろDNAの伸長速度がおそいことにあるらしい。類似した遺伝性の疾患にprogeria症候群があるが、EpsteinらとSetlowらが修

**Table 1. LEVELS in the INFIDELITY of P-I ENZYME (DNA-POLYMERASE)  
on VARIOUS TEMPLATE-PRIMER**

template-primer		poly d(AT)		poly dA-dT <sub>10</sub>		poly dC-poly dG	
misincorporated dXMP		dCMP	dGMP	dCMP	dGMP	dAMP	dTMP
<u>age of rat</u>	EXP. NO.						
2 mon.	3	<1/100,000	1/76,500	1/69,800	<1/100,000	<1/100,000	<1/100,000
11 mon.	2	<1/100,000	<1/100,000	<1/100,000	<1/100,000	<1/100,000	1/58,000
14 mon.	3	<1/100,000	<1/100,000	1/68,200	<1/100,000	1/67,500	1/68,400
17 mon.	3	1/63,900	1/69,100	<1/100,000	<1/100,000	1/77,800	1/71,100
20 mon.	3	<1/100,000	1/70,400	<1/100,000	<1/100,000	1/36,000	1/70,200
23 mon.	3	1/3,800	1/2,600	1/2,100	1/6,300	1/35,200	1/3,900
26 mon.	3	1/7,400	1/9,000	1/1,400	1/3,500	1/35,200	1/13,800

復能力に関しまったく異なる結果を発表しており、いまだに結着がついていない。

第五に、老化動物に広汎にタンパク質の異常が見出されているが、そのていどはいわゆる体細胞突然変異などという生やさしいものではなく、DNAの情報エラーに由来するとは考えられない。たとえば大橋によるとラット再生肝のDNAポリメラーゼがテンプレートを読む忠実度は、老化動物では若い動物の100倍にも及び(表1)、HollidayらはWernerの細胞で継代が進むとG6PDに熱に不安定な部分が約20%も生じることを観ているし(図2)、GoldsteinらはやはりWernerの細胞でG6PDとHGPR Tに熱に不安定な分画ができることを示している(表2)。最近ネマトーダについてもエノラーゼで同様の現象が明らかにされ、また嶋田は $^{125}\text{I}$ -インシュリンを用いて老化動物にそのリセプターが減少することを見出した。

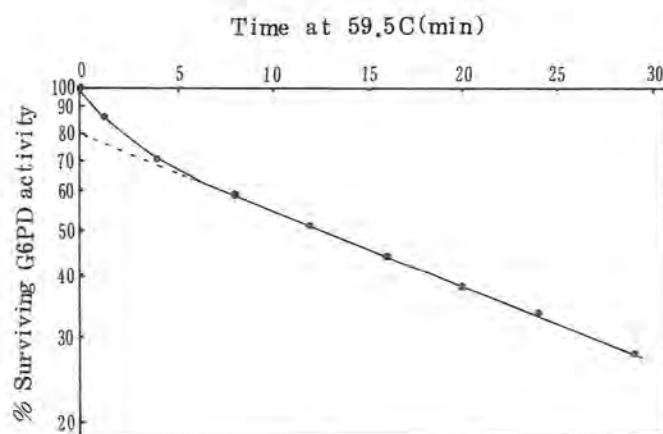


FIG.2 The inactivation by heat of G6PD in a cell-free extract from passage 11 skin fibroblasts, derived from a patient with Werner's syndrome. The methods for the preparation of extracts and the assay of the enzyme are as previously described.



**Table 2.** Heat-labile fraction of enzymes in cultured fibroblasts from a subject with Werner's syndrome and controls

	% Heat-labile enzyme	
	6-Phosphogluconate dehydrogenase	Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase
Werner's syndrome		
Experiment 1	14	50
Experiment 2	24	36
Experiment 3	—	40
Controls		
Early passage	0.80 ± 0.43 (n = 10, range 0-4)	7.66 ± 1.70 (n = 9, range 0-14)
	4.89 ± 1.16 (n = 12, range 0-9)	24.43 ± 2.84 (n = 7, range 15-32)

### 将来計画

第一は、DNA損傷に未知なものがないかどうか？ もしあればその修復は？ S1ヌクレアーゼという酵素があり、DNAの鎖の一方に異常が起こった時反対側の鎖を切る活性を持っている。この酵素を適用してみることを松平が計画している。（放射線生物学の研究者は今まであまりにも放射線によるDNA損傷にこだわり過ぎてはいなかっただろうか。）またDNAに損傷が起こるとどうなるかという研究に乏しい。

第二に、今まで調べられたタンパクの異常は、ほとんど酵素活性に限られていたので、その実体をアミノ酸分析などで明らかにする必要がある。ただしこのためには大量のタンパクが要るので、この点を考えると勝沼がラット肝から精製したアルギノスクシネート合成酵素（一匹のラットから10mgあるいはそれ以上の精製酵素ができる）は重要で、その分析を考えている。そのほかにヒストンやリボソームのタンパクなども考えられるであろう。広汎にタンパクの異常をもたらす原因がDNAにはないとすると、他には転写か翻訳のエラーが考えられ、膜が問題になるかもしれない。水野らはとくにこれらの点に注目し研究している。

第三に老化に関する比較系を確立する。老化現象を解くためにいくつかの系が考えられる。同じ動物で老若の比較を行うのはもっとも普通であるが、その他に寿命の異なる動物の比較、同種動物における異なる系統の比較（堀川はマウスのC57BLとCF、との比較研究を行っている）、in vitro

での細胞の寿命による比較なども可能である。

このほか突然変異体を用いる方法がある。Werner は明らかにヒトの変異体でその研究が重要であるが、樋渡はゾウリムシに寿命の短い変異体を見付けた。また若い成熟したゾウリムシに未熟な個体の細胞質を導入すると未熟化するという面白い結果を得ている。鈴木はネマトーダを新しい系として用いることを試みている。これはことに非分裂系の組織老化のモデルとして有用なのではないかと考えている。

## 討 論

○鶴藤丞(東北大)：種の違いという事をおっしゃったわけだが、われわれの一番の問題はやはり人間あるいは人間に近い高等動物が目的である。今迄に科学的によくわかっている事柄の中にも種差の example があって、たとえばバクテリアで示された蛋白合成の gene control の形式がそのままでは高等動物にはあてはまらないことがわかってきたが、最初の頃にはそれにもとづいて高等動物の事も説明していた。ゾウリムシの老化から、どれ位人間の老化が類推出来るか、かなり問題があるのではないか。

□鈴木：種の違うものを比べるとき、異質のものを目安として比べても意味がないが、同じとどうか、同じ水準で色々な種で比べなければ、ナンセンスであろうと思う。現実の問題としては中々むづかしいであろうと思います。おっしゃっている事はよくわかります。

○田内久(名大)：DNAに色々な変化がある、ということですが、DNAの変化によって、がんにもなりまた老化もおきるという話が出ましたが、がんというのはすべての人におきるわけではない。老化はすべての人におきる。それが同じようなDNAの変化でおきるという事に対して何か考えるような事はございませんか。

□鈴木：いえ、DNAから癌に直行するというような事は考えていません。ちょっと余計な事を書いたのですが、そういう事もあり得るだろうというくらいの事です。

○太田邦夫(老人研)：一番問題なのは、どうしてがんが老化しないかという事です。それが一つの鍵になるのではないかという事位しか考えていません。

□鈴木：ガンのことは、全然わかりませんので。

○山中太木(大阪医大微生物)：素晴らしいお話に敬意を表します。そして今のDNAの理論

をふまえて、私にも意見があります。それは蛋白合成系の場における immunological な biological response の変化——これは本質的には生化学的に系統化されると思いますが、今の、いや従来の生化学のセンスでは immunology には到底達し得ない。そういう意味でもう少し、そういう意味の蛋白合成系の問題を——さっきのシェーマの中にも一応加えて下さってお話を進めていたきたい。結果的には同じ事になると思うが、生化学的に色々 detect されるよりは免疫学的な detection と云うことが極めて敏感であると云う点から、このようなことを強調したいのです。

□鈴木： 全くその通りです。

○松村外志張（東大医科研）： がん細胞と正常細胞との違いについて、分裂限界のあるものがないものでどういふ事がその本質な差であるかはまだ正確にはされていないと思いますが非常に違う点は、癌細胞の方は分裂することにより多様なものに変化して行く。そのために、どんな時にも生き残るものがある。それに対して正常細胞の方は、まっ正面だけを向くように運命づけられた細胞であって、変異はおきるが少いという点だと思うのですが、それをどういう風に攻めて行っていくのか。もう一つ、われわれのもっている分子生物学的な考えでみている動物というのは、老化というように高等動物の問題に関しては、鈍刀みたいなものでありましょ。その鈍刀をもってネズミというような一つの種の中での差を区別出来るかという気がします。天然の中にあって、われわれが一番寿命の違いを感じる動物と植物との違いについてはどうでしょうか。植物の方は何千年という間、体細胞の分裂が出来るわけです。しかも正常であるその2つの違いがどうかという点お教えいただきたい。

□鈴木： 癌の事については知識が乏しいのでお答え出来ないのですが、植物は動物とは体制が異なるのではないだろうか。ひと言でいうと植物体全部の情報が個々の細胞にあり発現するため、極端な場合は細胞1ヶからでも個体を生み出せる。この点植物の細胞は動物の生殖細胞のようなものと宥えられる。もちろん一枚の葉からでも、一本の根だけからでも植物が再生する。したがって、つきつめれば植物は全部の細胞が死ななければ死なないのかもしれない。こういう植物の生態を考えると、その寿命というものは何であろうか。

## 2. 細胞水準における研究

名大・医・病理  
田内 久

私が細胞水準のグループのお世話をしているわけですが、細胞水準のグループでは、8月と12月に夫々、検討会を開き、8月に協力者にお出で願って現状の分析をやっていただき、それによった報告について、又12月に検討していただいたわけです。内容が *in vivo* と *in vitro* にわかれております。 *in vivo* の方は、佐藤君にお願いします。

### 2a. 生体内細胞を中心として

愛知がんセンター  
佐藤 秩子

ヒトをはじめ多細胞生物は Cowdry, Leblond などのいうように、いろいろの細胞から構成されている。生後分裂しない細胞— *fixed postmitotics*、老化消失し、分裂再生を繰り返す細胞 *intermitotics*、その中間的な細胞— *reverting postmitotics* などであり、若い個体でも老細胞が、また老個体にも若い細胞がみられ、個体の老化は単純に細胞の老化の総和というわけには行かない。しかしながら分裂増殖再生をいとなんでいるグループの細胞においても当然個体の年齢に伴う変化が生じて来る。このような点も含めて多細胞生物における細胞の老化を問題にするには、組織の差が十分考慮されなければならない。

このような生体内における細胞レベルからみた老化の研究は現象的な面からまず進められて来た。この面から、今日の研究の概況と最近の私共のグループ 討議を経て出された明日への展望を簡単にまとめて申しのべてみたい。

田内らが古くからヒトを中心とした多細胞生物において細胞レベルでもっとも顕著な、加齢による変化として認めて来たのは、実質細胞の減数である。中枢神経系、骨格筋、肝、腎、脾、甲状腺、下垂体、副腎、睪丸、子宮、皮膚など、いろいろな組織について、組織学的、微計測的に検索し、



表 1 生体内細胞レベルにおける老化の研究内容

組織細胞の種類	核	細胞質	研究者(国内)
fixed postmitotics 中枢神経、末梢神経 筋、		老人斑(アミロイド) リポフスチン沈着	石井、平井 長嶋・太田 朝長、田内ら
reverting postmitotics 肝 腎、膵、副腎 その他の腺上皮	<b>実質細胞の減数</b> 増容 2核化 萎縮 polyploid化	小器官の量的質的变化 ミトコンドリア 減数・増容	田内・佐藤 田中、田内ら 藤田、嶋、江上 土山
intermitotics 胃・腸上皮 子宮内膜 造血・免疫担当組織 表皮			田内ら  山口 能村
	分裂抑制因子(田内), 'chalone,		
↓	<div style="border: 1px dashed black; padding: 5px; display: inline-block;">                 環境 各種ストレス 放射線 crosslinkage agent                  Fabricius (ニフトリ) parabiosis             </div>		
↓	←	培養細胞	

それぞれの実質細胞の加齢による減数をたしかめて来たが、減数の程度とその経過様相は組織の種類によって種々様々であり、一般的にはいわゆる細胞の分化度と減数の程度とが比例的であるという点がたしかめられて居る。中枢神経における細胞の減数については国内よりもむしろ海外における報告が古くから多くみられ、Rocksteinなどは、ヒト以外の各種の動物についても報告して居るが、脳の部位による減数度の違い、とくに皮質にはつよく脳幹部にはごく軽度で、皮質においても部位による差のある事が、Brodyらによって報告されている。又神経細胞の軸索の加齢に伴う一方向における短縮について、或いは我が国において長嶋、太田らの脊髄神経節における細胞減数の報告もみられている。

ヒトにおいて神経細胞以外の加齢による減数を形態学的に指摘した報告は殆んど田内らによってなされている。同じ肝臓においてもこの逐齡的減数の様相が、人種により、あるいは又環境により若干異ってくる点も指摘して居る。

造血ならびに免疫担当細胞の減数その他については省く。

同じreverting postmitoticsに属している細胞でも、たとえば肝、膵、腎、それぞれに老性減数の様相を異にし、又副腎皮質の各々の細胞、胃粘膜腺細胞の各種の細胞にも、逐齡的減数に差がみられ、細胞の微妙な分化度、機能の差を反映しつつ一定のルールに従ってこれらの減数がコン

トロールされている事が推定されたのであった。

次に田内らは、これらの細胞の数のほかに細胞の大きさについても比較検索して居る。中枢神経では小脳のプルキンエ細胞、肝細胞、腎尿管上皮、内分泌細胞などでは原則的には細胞の老性萎縮をみず、むしろ容積の増大の傾向をみとめた。土山は、加齢と共に、副腎の束状帯を足場とする小結節の形成の目立つ事を報告している。

骨格筋に関する田内、吉岡のシロネズミでの成績により赤筋線維では減数を主として容積の変化はほとんどみないのに対して、白筋線維では減数よりむしろ容積の萎縮がみとめられている。田内、丸山による子宮内膜の腺細胞の加齢に伴う容積の萎縮をみた点から、加齢に伴って容積を萎縮する細胞と、増容の傾向を示すものとが考えられ、後者には生命維持に直結した細胞が属していると考えたのであった。

細胞核の加齢に伴う変化についての報告は数多くみられる。老個体で組織細胞の核の形態、大きさの不規則ないし、大小不同性、細胞内における偏在、染色性低下(神経細胞など)、核質の塩基好性の上昇など多くの報告があり、古く Clara の微計測による肝細胞核 ploidy の加齢による増加、Munnell, Getty のイヌの心筋における核の分葉、2核細胞の加齢に伴う増加、ヒト心筋における核の多形化、奇怪化についても記載されて来ている。田内、佐藤は日本人の肝細胞についての微計測的検索により加齢に伴う肝細胞核の大小不同性をみとめ、肝細胞数の減少する頃から2核肝細胞数が増加し、60歳代で頂点に達し、のち減少を示す点を見とめた。一方核の大きさは、60歳代から増加し70歳以後では明らかな容積増大を見とめた。細胞の減数と2核の発現、核の増容の関連性は、減数開始時期の異なる米白人、在ハワイ日本人においても減数のパターンにならって現れて来たのは興味ある事実であった。細胞、核の加齢に伴う変化については最近田中らが、ヒト肝における微計測的研究を自動映像分析装置を用いて追試してほぼ変らない成績を得ている。ここで注目すべきは、老年群においても増容した核と共に若年群と同様に、増容しない核をもみとめる点であろうか。

田内らも核の加齢に伴う増容に対しては、核のDNAの増加ないし polyploidy 化を見とめているが、Epstein, Hoffmann らは白ネズミ、マウスなどの肝細胞核について、顕微分光光度法による測定によって年齢と共に ploidy が増加する事を見とめている。最近の嶋および菅原らのハツカネズミの成績においてもこの点はたしかめられて居り、加齢に伴って aneuploidy の増加する点についても報告がある。DNAに関しては生化学的、分子レベルでの多くの報告があるが割愛する。

最近藤田は、この加齢に伴う核の polyploidy の増加という変化を定量的に把握するためにオートラジオグラフィと Feulgen による DNA 定量を併用できる落射顕微鏡蛍光測定法を用いて polyploidy の進むメカニズムを検討し、体細胞の染色体中で二重鎖DNAの間に interstrandal

cross linkが年齢と共に集積してくることが潜在的な要因となり、これに加えてこの細胞が増殖しようとする要因が加わると sister chromatidsが分離出来ないため、核のくっついた2核や、完全に融合した倍数体細胞をつくるのではないかと推論した。

細胞内小器官についても、佐藤、田内らはDNAをもち、自己増殖器官と考えられているミトコンドリアの年齢変化について、ヒトの肝細胞を対象として検討し、細胞の減数にやや先んじて始まるミトコンドリアの減数とこれに伴う増容とを指摘したが、他の小器官についてはとくに年齢に伴う量的変化をみとめていない。加齢に伴うミトコンドリアの変化については白ネズミの造骨細胞、イエバエの飛翔筋でも逐齡的な減数をみとめる報告があり、江上らは老化メダカの肝ミトコンドリアは膨大化し、肝細胞の減数および2核性細胞の増加がみられる事をみ、生物の種によらない一般的な変化が肝細胞にはみられるとしている。

心筋、肝のミトコンドリア数に関しては、逐齡的減数をみとめない報告もある。

細胞質における加齢変化として古くからStrehlerらの報告で有名な lipofuscin沈着の増加という現象があり、神経細胞における lipofuscin沈着、老人斑としてしられるアミロイド物質の沈着について我が国でも、石井、平井の報告がある。神経細胞における lipofuscin沈着について、必ずしも細胞によって一様でない点から、朝長らは、lipofuscin沈着は神経細胞の機能分化と深い関連を持つと考え、Brodyらは、この色素沈着と細胞の減数との間に直接関係がないとしている。lipofuscinは神経細胞、心筋線維、肝、副腎皮質などのほか、比較的寿命の短い実験動物、あるいは骨髄の線維細胞などにもみられる点や各種の病的状態での発現をみる点から果して老化の本質とどれほどの関連を有するか、今後の問題として残されて居る。

佐藤、田内はヒトの肝について日本人の生検、剖検例、在ハワイ日本人、米国白人の夫々の年齢群における lipofuscin沈着様相を検討し、細胞減数との関連に重点をおいて間もなく報告する予定である。

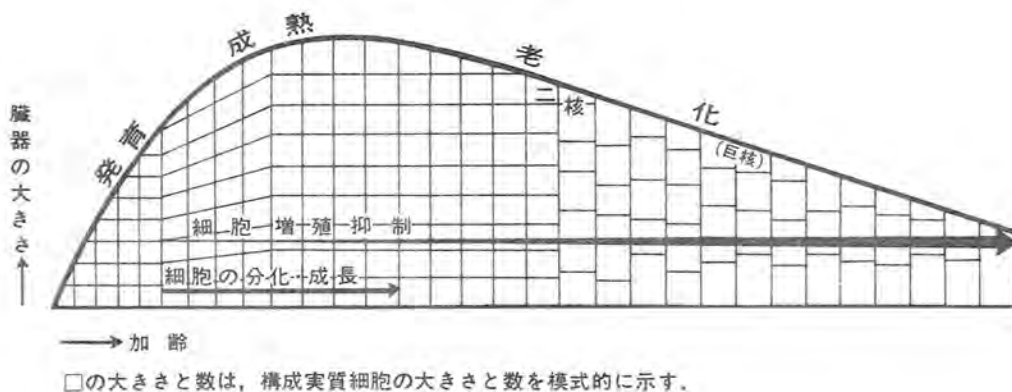
何れにしても、田内らは、老個体にみられる特徴として、まず自己増殖系である細胞と、ミトコンドリアの減数と、増殖抑制状態におけるそれらの成長、増容とをあげている。それらの増容には減数に対する代償性機能亢進としての意義をみとめ予備力の低下を推定して居る。

老個体の細胞ないし小器官レベルにおいて、若干のものにある種の activeな状態ありと考えざるを得ない点から、老個体にみられる個体ないし臓器としての各種の生理学的、生化学的機能の消長と、細胞ないし小器官の個々の変化とは必ずしも平行的ではないであろう点が当然考えられる。

細胞ないし細胞内小器官の老性減数は、それら生命単位の老化崩壊消失を意味し、再生機能の機序の究明が当然要請されこれに関連して、種々の老化に関する仮説が出されている。

田内は作業仮説として、分裂抑制因子の存在を想定した(図1)。田内のいう分裂抑制因子は細

図1 加齢による実質細胞数と大きさの消長模式



胞から分泌されるもので、それは細胞の分化、生長、老成に伴って増加し、その細胞と同種の細胞に特異的に作用すると考えた。臓器組織は細胞の分裂増殖とその成長によって発育成長するが、ある大きさすなわち細胞数がある数に達すると細胞の分裂増殖は一応停止する。これは細胞の増数により分裂抑制因子の分泌も増加した故と考えられる。

分裂後の細胞は分化成長とともに抑制因子の分泌も増加するが、比較的高分化の組織では抑制因子の増加は顕著であり、生理的再生も一層低下し細胞の老性減数が成り立つと考えられる。fixed postmitotics である神経細胞などは、すでに出生時にこの抑制因子のつよい支配をうけるような分化の時期にあるとも考えたのであった。

単一の細胞が抑制のない環境たとえば *in vitro* では増殖するが *in vivo* では増殖が抑制されている点もこの因子を仮定する事でうなづけるのではなかろうか。前にも述べたように加齢に伴って、肝細胞数の減少と共に2核肝細胞がましピークに達したのち再び減少し、これに代って核の増容すなわち polyploid 化がみられるが、これらを私どもは細胞の分裂を抑制された条件下における核のみの分裂、核の分裂を抑制された DNA の合成のみの形態学的表現と考えた事があった。2核化や polyploid 化についてはすでに述べたように核 DNA の cross linkage その他の 障 碍 も 問題になっている。これら加齢に伴う増殖抑制の機構が細胞自己の内にあるか、あるいは又体液中に増加する何らかの抑制因子によるものかは今後に検討を残された問題であるが、多細胞生物では細胞分裂能の潜在と分裂抑制との平衡状態の持続が、細胞内の各種の分子レベルにおける障 碍 の 要 因 にもつながる点が考えられる。

このような体内の分裂抑制因子は、古くからの概念である分裂促進物質に対する抑制物質とも、



Bullough、Laurence らの "chalone" も概念的には軌を一にするものである。

このような分裂抑制因子の存在を細胞レベルでとらえるという目的で田内らは老若動物の parabiosis による研究をつづけて来ており、細胞分裂促進・抑制についての体液的要因の有無、老若動物間の免疫学的差異による老化の自己免疫説に対する考察なども進められている。

この分裂抑制因子と同様の観点に立ち、表皮において存在がたしかめられているといわれる "chalone" について、山口は皮膚を用いて表皮～間葉系の増殖と分化との年齢に伴う変化を解析し、増殖、分化の調節機構と老化との関連について追求しており、"chalone" の加齢における役割について、結合織、毛細血管内皮について調べる予定であり、この面から老化の機構解明を把握しようとしている。現象的な面から得られた細胞の減数、これに伴う細胞質、核の変化についてのこれ迄の成績をふまえて、今後は焦点をしぼり、老化の mechanism そのものの究明へと当然発展して行く段階に来ていると考えられる。

さきの chalone と老化との関係、parabiosis の研究を一方において進めると共に、放射線や cross linking agent を用いて 2 核や倍数体細胞の増加を招来させる実験、lipofuscin の沈着を求す薬剤、これを除去する薬剤を用いる試み、アミロイド沈着と、免疫現象との関連、神経細胞の線維系の変化と核 DNA との関連性の検討が私どものグループにおいて進められつつある。

これら細胞レベルでの主として形態学的な検討は当然機能面、生化学面との関連において検討を進めるべきで、分子レベルでの検討とも相互に連絡し合うものであろう。超微形態学的検討、酵素組織化学的検討との接点でも緊密に連絡を得たいと考えている。更に、生体内での細胞の増殖、加齢と、培養細胞の行動を比較検討する目的で能村にはわとりの Fabricius 嚢の構成細胞の加齢にともなう動態の解析を行いつつあり、培養細胞と、生体内細胞との増殖、加齢の検討を旨としている。

## 討 論

○金子 仁(日本医大老研)： fixed postmitotics のグループで、これはすべて分裂終了群という意味だと思いますが、筋肉がはいっていますが、骨格筋と、あるいは心筋ですね、私は心筋と骨格筋では違うと思うのですが。

□佐藤： 骨格筋、滑平筋、心筋の 3 つにおいて差があるのではないかという意味でしょうか？

○金子： そうです。

□佐藤： 話の中でも触れましたように、同じ fixed postmitotics, 同じ reverting postmitotics の中でもそれぞれ微妙な違いがある、それぞれが分化、機能の段階が違うように、

私達が老化の現象と考えている事項も夫々少し宛微妙に違うというように、現象的に把握していません。

○金子： 心筋と異なり骨格筋は再生するんでしょう？

□佐藤： 芽出はございましょうが、いわゆる karyokinesis がおき、細胞が分裂して、再生増殖することは恐らくないであろうと考えています。

○金子： 中枢神経では神経細胞だけについてですね。

□佐藤： はい。

○黒田行昭（遺伝研）： 生物の発育をみますと、まず卵ができ細胞が分裂してふえてきます。成熟して、そして加齢、老化という過程をたどるわけですが、臓器の大きさという点からみますと、最初からだんだん成熟に達する迄は分裂してだんだん大きくなる。さきほどスライドでお示しになりましたように、後半老化しますとだんだん小さくなるという事がありました。細胞のレベルからみますと、たとえば細胞の大きさ、あるいは核の大きさは、成熟、分化ということと、老化ということが連続した一つの過程として、みなしていいかどうかという点についておうかがいします。たとえば、核の大きさ、細胞の大きさの観点からみましたとき、卵から死ぬまで一連の過程と考えてよろしいかどうか。

□田内： さきほど佐藤君が出しましたスライドで発育成長成熟老化という言葉が使っていますが、あれは臓器として、だんだん大きくなり、しまいにはだんだん小さくなるというところを老化というコトバで現しただけです。

Aging という言葉と老化、或いは加齢という言葉の意味から考えて行かなければならない。一応私が申ししたのは、細胞は、はじめ増殖してそのために臓器は大きくなる、そのうちに増殖がある程度とまると、今度は細胞の大きさが大きくなって臓器として大きくなる。そのうちに老化すればだんだん臓器は小さくなる。小さくなるときは、細胞が小さくなるのではなくて、数が減って細胞はむしろ一つ一つは大きい傾向になりながら数が減って臓器は小さくなるというプロセスをおみせただけであって、そのコトバをそのまま細胞の老化とかいう風にうけとられますと困ります。

○藤沢（東京都神経研）： 私は病理のものですが、神経系の加齢の事を興味もっておりますが、細胞レベルでの神経細胞の加齢という変化はすべての神経細胞に一樣に同じ grade で develop して行くものか、細胞、細胞でそれぞれ異なるのかどうか。機能から考えれば、肝細胞とか、心臓の

細胞のような意味で中枢神経系の細胞は同一ではないと思われます、健康な細胞と、年とった細胞と細胞レベルで色々違った点があると思われますので、細胞質とか核とかの変化について御意見があればいかがですか。

□佐藤： 私自身は神経系に関してはデータを持っておりませんが、文献的には、場所により細胞の種類により、まことに様々である。違いが様々であるというのが review のようである。肝においては、細胞自身の年齢のいろいろなものがあるわけですが、神経細胞では一応それら個々細胞の年齢は同じだと考えられるが変化は極めてまちまちであるとされています。我々がみている神経細胞における lipofuscin 沈着とか amyloid 沈着が果して本質的な加齢による変化としてよいかどうか問題であろうという事をちょっと、つけ加えておきたい。

## 2b. 培養細胞を中心として

国立遺伝研

黒田行昭

培養細胞は、組成のわかった培養基の中で非常に制御された条件の下で細胞を培養することができる。また、単一細胞から由来した遺伝的に均一な細胞のクローンを使用することができ、顕微鏡下で、生きた細胞の動態をそのまま観察できるという利点がある。このような培養細胞を使って老化の研究をすることは、Hayflickが1961年に人間の胎児2倍体細胞を使って、細胞培養し約50回細胞分裂すると細胞の寿命が来ること。そして-70℃で細胞を保存するとその間加齢がストップし、また37℃に戻すと、分裂を再開して総計50回位分裂したところで細胞は死ぬ、という実験を行い培養系の細胞が老化や加齢研究のモデルとして使えるということを提案し、それ以来多くの研究が行われてきた。

その後の世界各国での研究の現状と、われわれのグループで今後どのような研究をやるかについて概要をお話してみたい。私どもの研究室で培養しているのは主として人間の正常胎児からとった肺の細胞である。これは繊維芽性の細胞で増殖すると規則正しい一つの方向に並んだ状態で増殖してくる。Hayflickの行った研究のあとで、多くの人が、果して、培養細胞で老化現象があるということが正しいかどうか、つまり、培養細胞そのものに寿命があるのかどうかということについて再検討し、その説そのものの妥当性について種々の研究が行われた。

第1表の上段はHayflickの結果を支持する研究で、日本では東大の山田博士が、1964年にヒト胎児の2倍体細胞を使って、寿命があるという報告をされている。HayおよびStrehler(1967)がニワトリの胚細胞を使って、寿命があるとしている。また、Goldsteinその他(1969)がヒト2倍体細胞を使って、さらにPonten(1970)が、ニワトリの繊維芽細胞でやはり同じような報告をしている。Martinその他(1970)もヒト2倍体細胞を使って同じような結果を出しているが、とくにこの場合は年とった人、或いは若い人など異った年齢の人々から細胞をとって、培養した場合の寿命と、それをとり出した人の年齢との相関関係をしらべている。その結果年齢が1年増加することに培養細胞の分裂回数が平均0.2回ずつ減るというような結果を統計学的に出している。Cristofalo(1972)は、ヒト胎児の肺細胞WI-38で、Goldstein(1974)が、後述のガラパゴス島産のカメの細胞を培養し、この細胞の寿命と、そのカメの年齢の相関関係を報告している。また老人研の三井博士(1976)が、NIHのSchneiderのところヒト2倍体細胞の



Table 1 SUPPORTING AND CONTRARY REPORTS ON  
HAYFLICK'S HYPOTHESIS

I. Supporting Reports

- Yamada, M. (1964) Human diploid cells  
 Hay, R. J. & Strehler, B. L. (1967) Chick embryonic cells  
 Goldstein, S. et al. (1969) Human diploid cells  
 Ponten, J. (1970) Chick fibroblasts  
 Martin, G. M. et al. (1970) Human diploid cells  
 Cristofalo, V. J. (1972) Human diploid cells  
 Goldstein, S. (1974) Galapagos tortoise  
 Schneider, E. L. & Mitsui, Y. (1976) Human diploid cells

II. Contrary Reports

- Cristofalo, V. J. (1972) Hydrocortisone  
 Thompson, K. V. A. & Holliday, R. (1973) High temperature  
 Packer, L. & Smith, J. R. (1974) Vitamin E  
 Stanley, J. F. et al. (1975) Various mammalian cells

培養を行ない、いずれも Hayflick の考えを支持する結果を得ている。これに対して、反対の立場に立つ研究 (第 I 表下段) もいくつか報告されている。Cristofalo (1972) は、反対の立場というよりも、考え方によっては Hayflick の説を支持する研究になるわけであるが、培養液にハイドロコーチゾンを入れると、ヒト 2 倍体細胞の寿命が約 40 % のびる、つまり 50 回分裂すると寿命がくるという細胞が、約 6 ~ 70 回も分裂が可能であるという寿命をのばす効果があることを見出した。同様に培養細胞の寿命を延ばす研究では、1974 年 Packer および Smith が Vitamin E を使ってヒト 2 倍体細胞の寿命が約 2 倍にのびるということを報告している。Thompson および Holliday (1973) が、やはり、培養条件をいろいろ変えて、寿命を変化させる試みをやっており、ヒト 2 倍体細胞を 40 °C の高い培養温度で培養すると、増殖度は 37 °C のときとほとんど変わらないにもかかわらず寿命が早くきて、約半分の短い寿命で細胞が死滅してしまうという報告をしている。Stanley その他の 1975 年の報告では、色々な違った種類の動物を使って、その動物の寿命と培養細胞の寿命の相関関係をしらべていて、動物の種の寿命と培養細胞の寿命とは必ずしも相関しないという結果を出している。

細胞の加齢や寿命の機構については、前回のシンポジウムにおいて大橋博士が述べられたよ

うに研究者の数と同じ数ほど種々の説があるが、その中でも、有力な説としては「プログラム説」と「過誤蓄積説」がある。「プログラム説」は細胞の中にあらかじめその細胞の寿命が組みこまれているという考え方である。カエルのおたまじゃくしの尻尾がなくなったり（ある時期になると）、昆虫の幼虫の組織がさなぎになると、組織分解をおこし、新しい成虫の組織が別に増殖、分化してくる場合や、あるいは人間でWolf管とかMüller管が発生のある時期に、片方が退化してしまうことや、前腎とか中腎とかの組織が個体発生の初期にはあるけれども、一定の時期に退化してなくなってしまう場合、さらには鳥や両生類の翼や肢の一部が退化して、水かきのような「ゆび」が形成される、というような、ある一つの個体の中である特定の細胞が発生のある時期に死んでしまうということがあるが、どうしてその細胞の死が起るかということ、おそらくその細胞の中に細胞死というのがプログラムとして組みこまれているという考え方である。これは細胞分裂の回数を細胞自体が算定しているとかDNAの複製の回数を細胞自体が算定しているという立場に立たないと説明がむずかしい。どのようにして算定するかということについては、たとえばDNAを複製する場合に5'の末端で岡崎断片ができないという考え(Olovnikov)や、DNAの塩基配列を認識する特殊な修飾酵素によって反復DNAのある塩基につきつぎに修飾による置換を起すという考えがあり、後者は1971年にScaranoという人が提唱している。このようにDNAの複製とか細胞分裂の回数を、算定する機構が細胞自体にあるという考え方が「プログラム説」として考えられる。「過誤蓄積説」の方はさきほど鈴木博士が述べられたような、体細胞突然変異の考え方、これにはDNAのレベルあるいは遺伝子突然変異、染色体異常を含めているいろいろな説がある。

タンパク合成の欠損、これはそのタンパクを作る遺伝子DNAの欠損が先か、タンパクの欠損が先か、というニワトリが先か、卵が先かという関係がある。けれどもこういう「過誤蓄積説」も寿命の機構を説明する説としては有力である。最近の培養細胞を使った、寿命に関する2、3の研究を紹介する。

さきにも述べたガラパゴス島産のカメは、第2表に示したように、個体として175年の寿命があるといわれている。その皮膚から取った細胞を培養し、人間、ミンク、ニワトリ、マウスなどの培養細胞と比較すると、細胞集団倍加の回数、これは集団を構成している細胞数が何回倍加するかという回数であるが、これが人間の2倍位長い寿命をもっていて、これはそれぞれの個体の寿命に相関しているという結果である。一方ではStanley(1975)がHayflickの説に反対する結果を報告しているが、種々の動物、たとえばヒト、ウマ、サル、ネコ、カンガルーなどを使いこれらそれぞれの個体の寿命と各動物の個体からとった細胞の培養した場合の細胞数倍加の回数(細胞の寿命がくるまでの)を比較すると、必ずしも寿命の短い動物からとった細胞が長い寿命をもっているとは限らないという結果を得ている。この結果については種々の批判もあって、それぞれの個体について

Table 2 THE FINITE LIFETIME OF CULTURED NORMAL EMBRYONIC HUMAN AND ANIMAL FIBROBLASTS

Species	Range of population doublings for cultured normal embryo fibroblasts	Mean maximum life-span in year
Galapagos tortoise	90 - 125	175(?)
Man	40 - 60	110
Mink	30 - 34	10
Chicken	15 - 35	30
Mouse	14 - 28	3.5

( Hayflick, 1975 )

1例ずつしか実験成績がないので、Hayflickの場合のように数十例も繰返し実験を行って統計処理をしたならば、これらの成績が果して統計的に有意であるかどうか疑問も持たれている。

よく知られているのはPackerおよびSmith(1974)が行ったビタミンEが培養条件下で、細胞寿命を延長させる効果があるという実験である。ビタミンEは100 $\mu$ g/mlあるいは10 $\mu$ g/mlを培養液に加えるとこれを加えないときには、60回位細胞数倍加を行なうと死んでしまうヒト2倍体細胞が、ビタミンEを加えることによって100回以上も細胞数倍加を行うことができる。

またWrightおよびHayflick(1975)が発表した細胞雑種形成の報告も興味深い。培養細胞ではよく知られているように、HVJウィルスを使うと細胞融合を起すことができる。そして異なった細胞の雑種細胞を作ることが出来る。たとえば若い細胞をサイトカラシンBで処理すると脱核して細胞質だけの細胞になる。それと別の年とった細胞とを細胞融合させて年とった細胞の核をもち若い細胞と年とった細胞の細胞質とをもった融合雑種細胞ができる。この細胞の寿命がどうなるかということをしらべた結果が報告されている。対照の非処理細胞は大体35回位以上細胞数倍加が起る。年とった細胞は40代から60代までのほとんど死ぬ前の細胞を使い、若い細胞は大体20代位の細胞を使って雑種細胞を作る。年とった細胞どうしの融合したものは細胞数倍加が5回位で大へん短い寿命で細胞が死滅する。若い細胞の細胞質と年とった細胞の核を融合させた雑種細胞では、寿命が非常に短い。逆に年とった細胞の細胞質と若い細胞の核との組み合わせのときは、寿命が非常に長くなる。もちろん若い細胞どうしの組み合わせでは、寿命は非常に長い。培養細胞の融合による雑種細胞での実験結果では、鈴木博士の述べられたゾウリムシの場合とは異なって、細胞融合で核と細胞質との組合せでしらべた結果では、細胞の年齢を決めるものは細胞質ではなくて核にあ

るということを示唆している。

われわれの培養細胞を扱っているグループでは、このような人間の胎児を主として用い正常の2倍体細胞を使って老化の研究を行っている。そこで、これらの細胞を使って行なう研究計画としては(第8表)、まず第1にHayflickのやったin vitroでの細胞の寿命があるという仮説が正しいかどうか。したがってヒト2倍体の培養細胞系が寿命、老化の研究のモデルとなるかどうかというそのこと自体の検討がある。

### Table 3 STUDIES ON AGING IN CULTURED HUMAN DIPLOID CELLS

#### I. Studies on Experimental System

1. Cell kinetics in non-dividing cell population  
Mitsui, Y., Tokyo Metropolitan Inst. Geront.
2. Confirmation of Hayflick's hypothesis  
Nunba, M., Kawasaki Med. Coll.

#### II. Studies on Mechanism of Aging

1. Studies on mutability in senescent cells  
Kuroda, Y., Nat. Inst. Genet.
2. Studies on reparability of DNA damages in senescent cells  
Namba, M., Kawasaki Med. Coll.
3. Studies on isozyme patterns in senescent cells  
Ohashi, M., Tokyo Metropolitan Inst. Geront.
4. Studies on lipid saturation in senescent cells  
Yamane, I., Tohoku Univ.

#### III. Studies on Control of Aging

1. Effect of vitamin E on extension of cell lifespan  
Yamada, M., Univ. Tokyo.

これについては、老人研の三井博士を中心にして老化の過程における細胞の変化についてしらべている。培養後期になると、細胞がしだいに分裂しなくなってくる。細胞の核あるいは、細胞の大きさが増大してくる。この点はさきほどのin vivoでの田内博士の結果とだいたい対応した現象である。

また川崎医大の難波博士は、Hayflickの研究室にもしばらく行っていたが、やはりHayflickの仮説の正否について検討を行っている。これらの研究の問題点としては、年とった細胞は増殖がと

まったあとも、かなり長期間細胞が生存を続けていることである。顕微鏡下で観察するとかなり活発に細胞は動きまわっていて長期間細胞は生き続ける。また臓器の種類による細胞の寿命の相違ということも1つの問題点である。ヒト2倍体細胞として、いままで主として繊維芽細胞が培養されているが、種々の臓器の実質細胞が老化や寿命の研究に果してどのように使うことができるか、という問題や組織の違いによる相違、これはさきほども *in vivo* の場合にも述べられたように実際の生体には *mitotic* な細胞のほかに *postmitotics* の細胞があり、こういう細胞の分裂活性を加味した臓器の違いによる細胞の寿命の相違というような *in vitro* の細胞系の研究が1つの課題として考えられる。

第2のグループとしては老化の機構そのものについての研究がある。これは先に述べた「プログラム説」と「過誤蓄積説」のようにいろいろある老化の要因に関する研究で、1つは私の研究室でやっている研究で *in vitro* での加齢にもなって細胞の種々の化学物質による突然変異の起し易さがどう変わってくるか、という研究である。川崎医大の難波博士は、4NQOのような化学発癌剤、あるいは化学突然変異原を使ってDNAに損傷を与えて、その損傷回復のための不定期DNA合成の能力を若い細胞と年をとった細胞とで比較している。老人研の大橋博士は、酵素タンパクのアイソザイムを使いそのパターンが年をとった細胞と若い細胞とでどう変わってくるかを研究している。東北大の山根博士は、やはり培養細胞で脂質の飽和度がどう変わってくるかをしらべている。脂質の飽和度は東大の山田博士がビタミンEの添加が果して細胞の寿命の延長に効果があるかどうかと関連して、研究が進められる。ビタミンEは、脂肪酸の酸化や飽和度に関連するといわれているからである。

以上の研究の中で現在までに得られつつある成果の一端を述べると、三井博士の研究では、老人（63～92才）からとった細胞と若い人（21～36才）からとった細胞とで、寿命（細胞死）のくる時期が相違すること、若い人の細胞は平均45回細胞数を倍加するのに、老人の細胞は平均30回しか細胞数を倍加しないことを示している。また、ヒト胎児の細胞を用いて19代目、30代目、45代目の種々の継代数の細胞の集団の中で細胞の大きさ、核の大きさを比較するとだんだん継代を重ねるに従って、大きな細胞の比率が増加してH<sup>3</sup>-サイミジンを24時間とりこませて、実際にDNA合成をしている細胞をしらべてみると、小さい細胞にだけDNAへのとりこみがあり、これは継代後期の細胞にも比率は少ないけれども含まれている。さらに継代後期の細胞を5～30%の種類の濃度の血清をかえて、密度勾配遠心を行ない大きい細胞から小さい細胞まで7つの分画にわけ、DNA合成をしている細胞の比率をしらべると小さな細胞ではDNA合成している細胞の比率が高く大きい細胞ではDNA合成をしている細胞の比率が低いことが分った。

川崎医大の難波博士の研究では4NQOによるDNA損傷の回復の違いをしらべている。若い細胞



(phase IIの増殖している細胞)と年とった細胞(phase IIIの細胞)では、4NQO( $10^{-5}$ M)処理後に受けたDNA損傷を<sup>3</sup>H-チミジンの取り込みによって修復する能力がほとんど相違がないことが明らかにされた。私の研究室ではヒト2倍体細胞を使って、化学物質による遺伝子突然変異の起り易さが、細胞の寿命(培養での継代数)によってどう変化するかをしらべている。これにはシャーレに一定数の細胞をまいてコロニーを作らせ8-アザグアニン抵抗性をマーカーにして、抵抗性細胞の出現率を比較する。

これまでヒト2倍体細胞を使って食品添加物であるAF-2や赤色104号などを細胞に作用させ、8-アザグアニン耐性細胞の突然変異の出現率が非常に増大することを明らかにしているが、これが若い細胞と年とった細胞でどう違って来るかを比較する。

以上のように培養細胞での研究というのは、始めに述べた種々の有利な条件を十分に生かして、老化の機構を研究するのに今後多くの期待がかけられているが、ここにその研究の現状と展望について、私どもが考えていることの一部を報告した次第である。

## 討 論

○永井克孝(老人研)：細胞に老化、寿命があるということは、たいへん重要な1つのテーゼであると思うが、培養をやられる方は、一般に培養しやすい細胞をどちらかというを使う傾向がある。たとえば、その意味でhuman diploid cellを使っておられる。他のものではたいへんmutationが多いとか、扱いにくいということできける。しかし、平凡なことではあるが、実際に個体レベルでみると、たとえばマウスとか、chickenでは、その寿命はヒトにくらべてたいへん短い。培養細胞レベルでの寿命を問題にしてゆくと、動物種のレベルでのこのような違いをどのように考えていったらよいか。実験としてはたいへんやりにくいとは思いますが。

□黒田：正常2倍体の性格をもっている限り、ヒトの細胞では寿命があります。途中で染色体異常のようなものが起って、たとえば株化しますと限定した寿命がなくなってしまいます。このように寿命がなくなって無限に増殖する細胞になってしまったものについては癌細胞と対比して考えられますが(それはそれとしてまた別の問題として興味があるわけですが)、しかし老化の研究には正常2倍体を維持しているところに一つの重要な点があるわけです。マウスは、培養の初期に染色体異常をおこして、正常2倍体から外れてしまう細胞が非常に多いわけであり、そうしますともう固有の寿命がなくなります。問題はハムスターの細胞でこれはかなり正常2倍体の核型が長くつづいて何十年と継代を続けても、しかも寿命がありません。DNAのレベルでの突然変異はおこっているであろうとは考えられます。このように正常2倍体の細胞を使うことが1つのポイン

トであり、そしてできるだけ安定であり条件を制御できるもので定量的に結果の処理ができるものが好ましいのです。またわれわれはやはりできるだけ人間に近い細胞、できれば人間の細胞を使いたいということでヒト2倍体細胞を使っているのです。もちろん、おっしゃるように種々の動物の細胞との対比ということはつねに考えてやらねばならないと思います。

○永井： 私が申し上げたかったのは、マウスのときは本当にmutation rateだけが高いのか。それはマウスの何に由来するのか。それをはっきりさせることが細胞レベルでの老化の研究にとって一つの大きな問題ではないかということで、人の場合と比べるときでも同じような問題がおきてくる。要は、human diploid cellならそのcellの寿命にのみ焦点をあてて研究をすすめるほかに、比較細胞寿命学とでもいってよい面にも照明をあててみるべきではないか、ということを通じておきたい。

□黒田： たしかにそうで、mutationをおこす場合はmutationをおこし易い性格と、おこしたあと回復にくいという性質と、両方が重ならないとmutationということはおこらないわけで、その点4NQO処置のときの損傷回復能力とか、mutationのおこし易さ、というような点をつめて行かないとその辺のところはわからないと思います。

### 3. 細胞間物質における研究

東北大・薬

鶴 藤 丞

細胞間物質というのは細胞によって作られたものであり、又細胞の生活環境にもなっている。細胞をぬきにして細胞間物質だけを取り扱えばよいというものでもないと思われる。細胞間物質は、結合組織に多く結合組織の機能と密接につながっている。細胞間物質乃至は結合組織系の組織というものが、割合老化の影響を受け易い。或いは老化の index としてはっきりしたものを持っているという事も一つの特徴として考えてもよいのではないかと思う。私共は、協力者の方々の御意見をとり入れながら研究の現状と、問題点が何処にあるかをまとめてみたい。

細胞間物質は物質レベルで見ると、collagen とか elastin とか或いは glycosaminoglycan、proteoglycan それから骨その他の calcium を中心としたミネラルなどがある。体液自身も考えようによっては、細胞間物質という事になるかも知れない。さきほどの話のように testosterone の結合蛋白がふえているとか、抗体の蛋白レベルがどうなるかという事もその中にはいってくるかも知れないが、私共は直接的には、これは他の分野で扱われるものとして意識の上でのせる程度にした。物質レベルで見ると、こういう色々なものが存在するわけである。こういうものが組織のレベルでどのようなになっているかという、線維性の組織、腱、皮膚、真皮、粗性結合織というようなものである。或いは血管壁、基底膜、軟骨、骨というような事になる。すべての細胞は、少なくとも高等動物では、血管によって養われているわけであるから全身の生活環境をつくっているという事は納得しえる問題と思う。あとで個々に説明するがそこに出て来ないものをまずとり上げてみたいと思う。それは glycosaminoglycan で、このものは色々な種類があるが、そのうち代表的な hyaluron 酸をとり上げると、これは年をとるに従いだんだん減って来る。hyaluron 酸は組織の中で水分を保持している非常に含水性、抱水性の高い物質である。単に現象論的に、このものが減ってくるという事だけでなく生体、機能の上でどのような意味をもつかという捉え方がもっとなされるべきである。hyaluron 酸のみならず collagen を見ると、加齢と共に collagen の量がふえて来るという現象があるが、それが一体、個体の或いは組織の機能の上に、どのような意義を持つかという解析が意外に成されていない。これは細胞間物質に限った事ではないが、今後の課題として全要である。又別の形で述べてみると、物質レベル或いは分子レベルの問題においては、量的に細胞間物質がふえるとか減るとかという問題と、質的な、すなわち分子構造の上に aging に伴って、ある変化が出て

くるという問題とはわけて考えられなければならない。一方組織のレベル、細胞のレベルでは、形態学的な構造の変化の問題とそれから、細胞間物質の生合成とか、生体内での分解とかいうような代謝活性の加齢変化とがある。そして最終的には個体レベル或いは組織レベルでの機能の変化をそれらがおこなっているのかという事について考えなければならないであろう。

機能の変化に関連づけながら考えて行くと、まず collagen、elastin のような生体繊維の aging であるが、これは、chemical level で分子構造の変化がかなりよくわかっている。それは elastin、collagen においては crosslinkage の増加として認識されている。cross-linkage とは elastin 或いは collagen という蛋白質の polypeptide の chain と chain の間を結びつけるような橋渡し結合というものである。aging によってこれがふえる事は知られているが機能的な意義づけは何であるか、という、elastin においては弾力性がそれによって獲得される。collagen においては抗張力を負担しているといわれている。crosslinkage の増加という事は collagen の線維の抗張力を強めるという事で理解する。ところで aging を老化、と解すると、collagen や elastin の crosslinkage がふえるという事が、年をとってだんだん駄目になるという老化のモデルとなるかという事については、私個人の見解ではあるが否定的に考えたい。しかし、crosslinkage がふえてくるという事をもって、憂げられている collagen の aging という事が個体の chronological な age ではなくて生理的な age の index となるという根強い考え方がある。これは経験的な立場からいわれている事であり、充分解析されているわけではないが、一応これを考慮する価値は認められよう。また elastin については、アミノ酸組成が変ってくるという事が知られている。極性のある anionic なアミノ酸の構成比がだんだんふえてくるという。これには elastin が石灰化をおこなうときの核となる(動脈壁などで)、という解釈がある。胎児性 collagen というのは hemoglobin の胎児性 hemoglobin、成人性の hemoglobin というような違いに似た対応であって胎児の collagen と、生まれて来てからのちの collagen では、collagen の polypeptide chain の構造が違うという事がかなり最近になってわかって来た。また collagen の分子には糖がついているがその量が age の進行と共に変ってくる。これはかなり複雑な変化のようで、比較的若いときでは、その程度が少いが 40 歳以後になると、レベルが高くなって来る事が京大の村井先生によってたしかめられている。

組織の中の collagen の含量は、組織レベルでは線維化に対応すると考えられる。肺、心、腎、など、加齢に伴い組織の collagen の量は着実に増えて行く。もっともふえるといっても weight あたりの量でふえているという事であり、これが機能としてどのように寄与しているかについての考察は今後の問題である。肺、肝、などで collagen の量がふえるが大動脈ではこの化学分析の結果を見るとふえないようである。大津先生のデータによれば、股動脈、外腸骨動脈において、若



い人から年とった人迄の膠原化をみると、かなり顕著にふえるという事を発表されている。腹腔動脈の筋型の起始部など、総体的にふえている。さきほどの大動脈壁の化学分析の結果と、一致していないようであるが、これらの動脈と比べても大動脈のみが異っているように見える。ところで大動脈の伸展性は加齢と共に悪くなる。collagenがふえないとすると、一体何故であろうか。

これについては人の大動脈の elastin の量を年齢を追って調べられた慶応の細田先生の化学分析による data がある。これとは別に組織形態学的にもいわれている事であるが生まれたときから 10 歳位迄かなり急に中膜の弾力板がふえ、その後減って行く。弾力繊維の減少という事が人の大動脈の伸展性に責任をもっていると考えた方がよいようである。動脈壁の aging をまとめてみると伸展性の低下がたしかめられているが、それを説明する根拠としては、elastin の減少が主で、collagen はあまり変化しないと思われる。つぎに elastin の mineralization 石灰化の問題がある。これについては人の動脈の elastin を精製し、これを石灰塩を含む溶液の中に入れて incubate すると elastin が hydroxyapatite (石灰化が生体内でおこるときはカルシウムは hydroxyapatite の形で析出してくる) この elastin の hydroxyapatite の結晶が elastin を核として、析出してくる。この析出の速度が、年をとった人の elastin では大きい。これは動脈壁石灰化 mechanism を考えるとき大きな問題となる。

次は基底膜の問題であるが、網膜の毛細血管の厚みを、ラットについて age を追いながら計った人がおり、それによると月齢の進行と共に厚味が大きくなって行く。この点についても今後の問題である。

さらに骨についてみると、年をとると osteoporosis になるといわれるが、もろくなる点についての具体的データとして次のようなものがある。緻密骨の量をはかると 40 歳位がピークで男も女もそれから先は、だんだん減って行く。男と女には差があつて、女の方がより osteoporosis になりやすい点が知られている。cortical bone 海綿状骨では男女の差がより強くおこる。何れにしても aging と共に、osteoporotic になるのはどうしてか、というと、骨は成人に達してしまい骨全体の大きさは変わらないとしても、常に骨の一部は破骨細胞の働きによって吸収される一方、osteoblast の働きにより造られることによって、バランスを保っている。このバランスの破綻が osteoporosis の原因である。バランスのくずれは何によっておこるか、それは今後に残された問題である。

## 討 論

○黒田(遺伝研): 細胞間物質の増減は、一つは細胞の、そういう物質の産生能が上ってくるということが考えられ、逆にそういう物質の分解能が下るということも考えられます。細胞間物質の turnover の面からとらえた若い組織と年とった組織の細胞間物質の変化、ダイナミックな面



からのとらえ方というのがあると思うのですが、その点についての今までの知見についておうかがいします。

□鶴藤： 一口に言って細胞間物質がだんだんたまっていく、という事があるわけですが、さきほど申しましたようにヒアルロン酸は減ってしまう。たまっていく主体をなしていくものはやはりコラーゲン線維でありまして、コラーゲン線維の場合には年をとって来ますと作られる速度は当然下がってくるわけですが、それを上まわって分解される速度が減ります。それと非常に分解されにくい蛋白でありますから、年にとって急にふえるのではなく、若いときから一生を通じてかなり継続的にふえつつけていると思われまふ。骨のときは吸収はおとろえないが新しい骨のつくられる anabolic なプロセスが下ってしまい osteoporosis になるのもものによってメカニズムがちがう。

○金子仁(日医大老研)： collagen や elastin の crosslinkage の問題ですが年齢とともにふえるわけですね。crosslinkage というのは弾力性をましたり、抗張力がましたりしますから年をとると組織の弾力性がふえるんですか。

□鶴藤： 年をとると crosslinkage がますという事は、弾力線維の場合は年と共にどんどんふえていく事ではないのです。弾力線維としてとらえてみたときに、作られたばかりの弾力線維は割合に crosslinkage が少いわけですが、短い期間の内に、分子レベルでみますと crosslinkage がふえて、弾力性が獲得されると考えられます。年をとりますと、弾力線維の単位重量あたりの弾力性というのは変らないかも知れませんが、弾力線維全体の量が減りますから、組織としては弾力性を失っていることとなります。collagen 線維の場合は年をとっても別に減りはしませぬ。むしろふえますから組織がかたくなるという事の、一般の場合の責任は collagen が負っていると考えてよいかと思ひます。

○青山喬(滋賀医大)： 年と共に組織の collagen が増えるということが老化のモデルとして考へにくいとおっしゃったと思ひますが、さきほどの、佐藤さんの御講演にありましたように、年と共に実質細胞が減って来たとき、その穴うめをする、というようには考へられませぬでしょうか。

□鶴藤： たしかに細胞がなくなつて真空でいるわけには行きませぬから、そのような意義はあるとは思ひますが senescence というような形で aging をとらえたとき collagen がふえるという事にどの程度の機能的意義をもたせてよいかかわらない。

○佐々木紀典(国立多摩研究所)： collagen が増えると思ひましても老化で増えるものは、若いものとは違つて何か質的には差があるのではないのでしょうか。老人の皮膚で結合織の増殖の際フィ

プリノイド様の変化を伴っているのをみます。これは aging によって量的には増えるかも知れませんが、質的には何か異なっているのではないかという感が深いと思います。

□鶴藤： fibrinoid はかなり pathological な変化ではないかと思えます。病的なものを考えないわけではないのですが、老化を考えると fibrinoid までは collagen が量的のみならず加齢と共にある程度変るとい事は考えられます。分子レベルで変るかは別として、分子が aggregate して線維になっているわけですから量として変らなくても、線維の構築という意味での変化はあると考えられます。

○田内： collagen のふえるという事と形態学的な fibrosis などについて実は 20 年前にいろいろ問題にしまして、光顕レベルでのび慢性の fibrosis は腎髄質、心、子宮などではみられるが、肝、腎皮質などでは殆ど問題にならない点をあげて、fibrosis は本質的な老性変化というよりもむしろ過去の何らかの病変の痕跡ないし蓄積であるというような報告をしました。細胞がなくなったために結合織がふえて fibrosis がおこるのは相当広範囲の細胞が血管を伴った結合織とともに失われた時の不完全修復としての場合であって、個々の細胞が失われた程度では fibrosis はおきなくてもよいと思います。

しかし生化学的に collagen の加齢に伴う増加がみられるということになると今一度十分検討する必要が出てきます。私は質的の変化（たとえば cross-linking など）はあっても量的変化は病的なものかと一時思っていました。ネズミでは fibrosis は殆ど問題にならないと思いましたが、只今の成績では collagen がかなりふえているようです。

一方 collagen の増加が加齢の指標となり得ても本質的な老化と考えてよいかどうかの問題もあります。ただ collagen の増加が私どものいう本質的な老性変化としての実質細胞の減数に対してどの程度要因として作用するかが問題と思えます。

## 4a. 個体水準における研究 — 生体防衛を中心として —

東京都老人研・生化学

永井 克孝

### 1. 老化研究における免疫学の意義

免疫が老化にとってどのような位置を占めているのかという事を問題としてとりあげてみよう。これは Walford からの引用であるが(図1)ここに、2つの個体を parabiosis したときにどのようなことがおこるかをみてみる。すると、単純な体重の変化という点からみても、実に劇的な変動が起って来て結局は死に到る。これは個体間の response というものが如何に大きな影響を及ぼすかということを示しており、その中で恐らく免疫というものが、大きな意味をもっているという事が当然予想されるわけである。

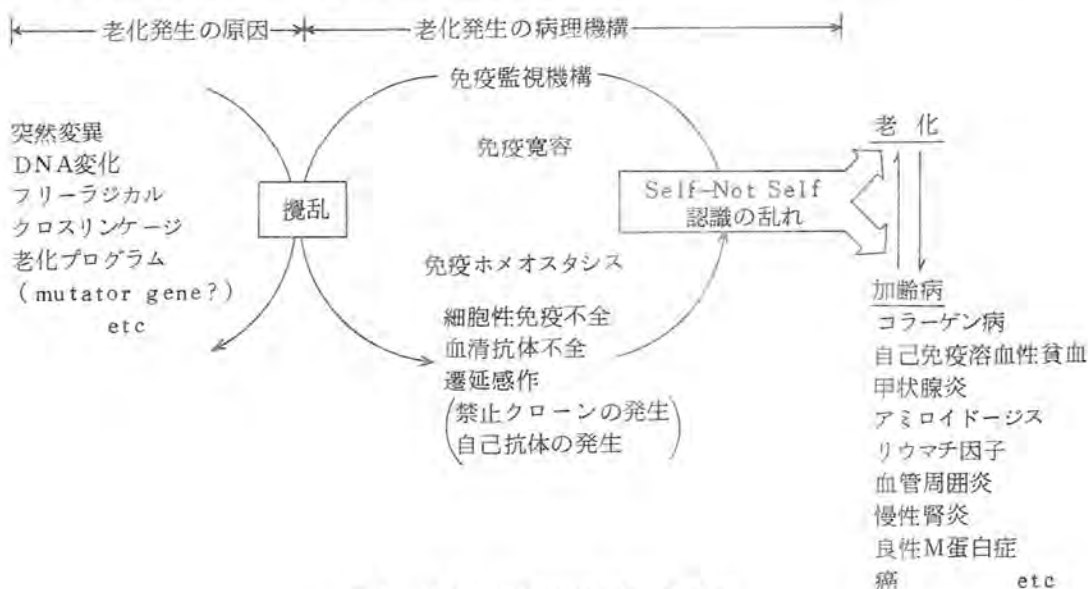


図1 老化の免疫学的視点(永井)

免疫系を老化のパラメーターに用いる利点は何か。実際に加齢に伴って免疫系が変動して行くという事がいろいろな点から云われている。

液性免疫の response が、一つのピークに達する時点は平均寿命の  $\frac{1}{7}$  の時点であるといわれる。しかもその maximum peak response が  $\frac{1}{2}$  になる時点は平均寿命の  $\frac{1}{2}$  にあたり、平均寿命迄生きたときには、最初のピークの 5% の免疫能しか残っていないという。すなわち免疫系は加齢と

密接な動きをもっているといつてよい。殊に最近の免疫学は、液性免疫学の面のみならず細胞免疫学の研究分野においても大きな進歩をみせている。従つて免疫系の活動の上昇と下降、その衰退を、cellular level, molecular level 遺伝子レベル、或いは developmental level の各方面から総括的に見て行く事が出来るという利点がある。又こういった系をうまく実験的に干渉、操作することによって老化に対してどのような影響が及ぶかを cellular ならびに molecular level で解析してゆくことが可能になってくるであろう。つまり、何らかの意味で免疫の応答の仕方を modulation することによって老化の modulation の問題にもふみ入ることが出来るかもしれないと予想されるわけである。

免疫が老化にとってどのような意味をもっているのか。老化に伴つて抵抗力が落ちてゆくという事はたしかに我々の観察するところであるが、これが実際には、単なる二次的な現象に過ぎないのか、或いは primary な、本質的な問題なのか、これをやはりはっきりさせる事がひとつの大きな課題であろう。ここではまた、免疫現象は initiator なのかあるいは、promotor なのかということが問題になってくるであろう。なお、このほかに、事柄をもつて practical にみて、老化に伴つて起つてくる疾患を問題として取り上げ、これを免疫学的角度からどのように解釈していったらよいかという事も大きな課題の一つである。

## 2. 老化への免疫学的アプローチ

### a) 老化と胸腺

免疫系は cell biology の立場からすると、よく知られているように3種の系から成り立っている。つまり、胸腺に由来する細胞(T細胞)系、bone marrow 由来のB細胞系、それに、A細胞すなわち、アクセサリ細胞(monocytes macrophage を主とするもの)から成っている。(図2)免疫系が老化にとって本質的な役割を演じているのかどうかをとり上げようとするとき、一番に問題になってくるのは胸腺である。胸腺が思春期を境にして急速に退縮してくる事はよく知られている。胸腺細胞はT細胞の供給源であるから、胸腺におけるこのような大きな変動が免疫系に対して深甚な影響を及ぼすことは誰も考えるところであるが、これがひいては老化ということにも関係してゆくのではないかと推量されてゆくわけである。そこで、胸腺の老化に対する関係を明らかにしようということが第一の課題となる。

ここに示したのは加齢による胸腺の急速な退縮で、実際老年になると大部分は fat 組織に変わってしまう。(図3)

さて、胸腺の aging における役割を明らかにしようとする場合、ホルモンとの関係が大きな意義をもつてくるであろう事が予想される。実際に、thymus の development を支えているような

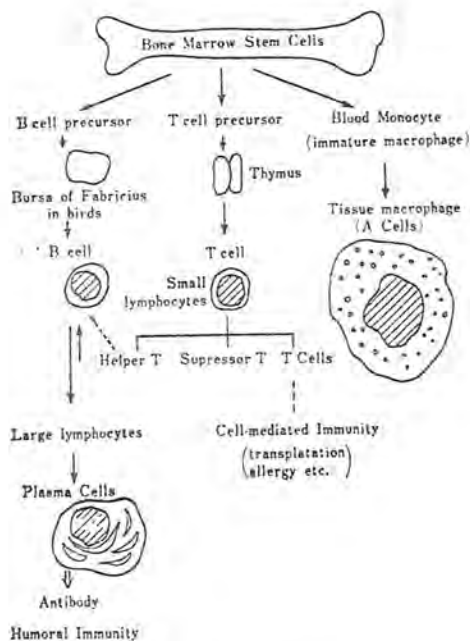


図2 大免疫担当細胞系 (Ersen, 1974)

のではないかと予想されている。ある研究者によると、T-cell dependentの、抗体産成系が、思春期前の castration によって増強されるともいわれている。それらの相互関係が果して fixされたものかどうかとも問題であり、色々な角度から研究すべきであるという意見が出ている。また、若い動物の胸腺を年をとった動物に transplant してみる。或いは、逆をやってみるというかたちで内的環境が胸腺にどのような影響を及ぼすかをはっきりさせてゆくという試みも提案されている。

次に、大きな問題としてヌードマウスの問題がある。これは胸腺を先天的に欠如しているマウスであり、T-cell 系を欠如しているマウスであるから、このマウスの寿命がどうかを研究することは、胸腺が本質的に、老化の過程にどのような意味をもっているかという問題を解決する一つの有力なアプローチであるといえる。ヌードマウスを完全に無菌の状態で飼育すると、寿命は殆んど変わらないというデータが出ているという。それが果して本当かどうかを明らかにしたい。すなわち、ヌードマウスを中心として、飼育条件を中心にした外的条件と免疫系との関係を再検討し、明確にするのが課題となる。

#### b) 細胞レベルでの問題

これとは別に、実際問題として、現在免疫学の分野で老化の問題が一般にどのように取りくまれ

#### Role of Thymus in Aging

- a) Rise  $\xrightarrow{\text{Hormone adrenal gonad, etc.}}$  Fall  
Other factors
- b) Transplantation  
Young  $\leftrightarrow$  Old
- c) Nude mouse

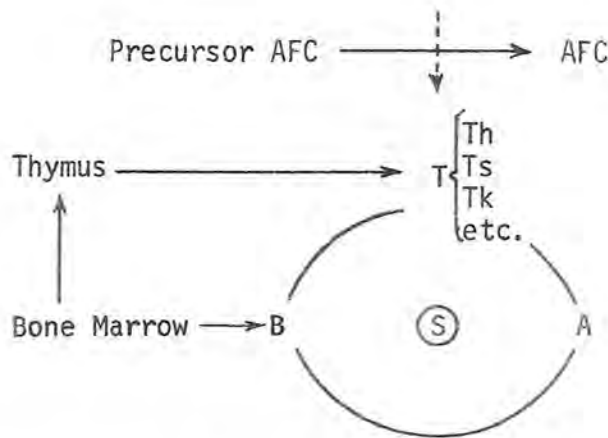
図3

factor が生殖腺から分泌されていると考えられており、そして生殖腺の完成の時期には却って negative feed back 式に胸腺に対して老化を促進するような、つまり、胸腺の機能を退縮させるように性腺が働く



ているのかをみても、老化に伴って免疫系を構成しているいろいろな要素の何がどう変わっていくのかを一つ一つ確認しているというのが現状である。実際に色々な人々の見解を集めてみても互に矛盾するような見解が出て居る現状であるから、我々としては、関与する各々の factor が、aging にしたがって、どのように変化してくるかという事を、確実にとらえてゆく必要があると考えている。つまり、T-cell, B-cell, A-cell の3大細胞群の動きをつかみたい。T-cell にしても、ヘルパーT, サプレッサーT, キラーTといった subpopulation があるから、その一つ一つにも立ち入って、はっきりさせてゆく必要がある。

humoral な面としては antibody production, tolerance の問題、cellular な面としては、遅延型アレルギー反応、GVH反応あるいは細胞媒介性の cytotoxic lymphocytes がどうなるかといった問題、癌に対する問題、それから allograft rejection 或は、mixed lymphocytes



- Humoral : a) Antibody Production  
b) Tolerance
- Cellular : a) DTH  
b) GVH  
c) Cell-Mediated Cytotoxic Lymphocytes  
d) Antitumor Activity  
e) Allograft Rejection  
f) MLC  
etc.

図 4

culture といった問題など、をとりあげて行きたいと考えている。実際、老化に伴って antibody production が低下してくる事がわかっている。antibody forming cell に変動があるらしい、という事がわかっているが、antibody production と B-cell の共同作用によるわけだからということで、B-cell の数を数えてみると、これが全くといってよいほど変化していない。

更に、antibody forming cell の precursor になるもの、この数も変化していない。ということで、プレカーサー AFC から AFC へと分化してゆく過程の何処かに何か障害があるのではないかと思われる。しかし、他方また、問題はこうしたことになく、むしろ T-cell 側に問題があって、サブレッサー T というような、免疫応答を抑制するような T-cell が老化に伴ってその数を増してくるのではないか、という事も考えられている。このようなわけで、従来よりも詳細な subpopulation レベルでの解析が必要であろう、という事で意見の一致をみている。たとえば、サブレッサー T、にしても、遅延型反応に関係するようなサブレッサー T、については、老化にしたがって却って減少するというような見解もあって、混乱があるので、よく連絡し合ってこれらの問題を解決して行こうというわけである。

macrophage の問題については、その貪食能力は老化に伴って殆んど変わらないが、それを刺戟するには、老化とともに、より大きな抗原量を必要とする、という事ははっきりしているようである。とすると、老化時に抗原を macrophage はどのように処理しているのかという点にまで問題は関係して来て、これも今後の研究の焦点の一つである。又以上述べてきた免疫系の活動の根底とでもいってよいものを支えている胸腺との関係も改めて問題になったわけである。

次に soluble factor の問題を取り上げなければならない。これは免疫担当細胞の夫々から分泌され、T, B, A の呼応的關係を支えている多様な活性物質群の事で、これが変動すると、一見細胞は正常にみえていても実際の機能としてはうまくゆかないことになる。その原因としては、これら物質の分泌能が落ちているかも知れないし、あるいは、その代謝系に問題が生じているということも考えられるかもしれない。こうした点もはっきりさせたいと考えている。

#### c) 抗原レベルでの問題

もう一つの問題は抗原の問題である。(図5) humoral 免疫については、老化に伴って自己抗体がどうなるかというような事はこれまでよくやられてきている。しかし、これ以外にも、もっと特殊な血漿成分はどうか、たとえば、妊娠時に出現してくるような  $\alpha_2$  グロブリンはどうか。このように、これまで問題として取り上げられた以外の血漿成分について、そのもうちょっと量的な面、質的な面での変化を解析していく必要がある。

次に、免疫担当細胞自体の実質的な性格変化が老化に伴って細胞レベルで生じてくるのかどうかということが問題になる。この問題になると、免疫細胞の反応性を支えている基盤について、生

## Antigens ( Immunochemistry )

Humoral :

a) Plasma Components

Ig.  
 $\alpha_2$  globulin  
autoantibody  
etc.

Quantitative }  
Qualitative } Changes  
Functional }

Cellular :

a) Biochemistry of Plasma Membranes

somatic cells  
immunocompetent cells  
PM - microfilaments, microtubules

b) Antigenic Properties of Cell Surfaces

somatic cells  
immunocompetent cells  
stimulants : Ag  
lectins - receptors  
H-2  
Ia

図 5

化学的レベル、あるいは、分子生物学的レベルからの考察も必要になってくるであろう。実際に同一系統内で、若い動物と、年とった動物のリンパ球をまぜて、mixed lymphocytes reactionを行なわせてやると、応答がみられるようで、年とった動物のリンパ球と若い動物のリンパ球の間に何かその細胞表面抗原について変化が生じているらしいという事が徐々に問題になってきている。non-specificなstimulantであるレクチンがリンパ球に作用するときそのreceptorがH-2或いはIa抗原と関係していると云われているが、この角度からも老化とリンパ球の関係を追求する必要がある。マウスの場合はgeneticなback groundの解析がかなり進んでいることは、大きな強味である。H-2 systemを問題にしたときこれと老化との関係がどうなるか、という事をマウスレベルでしらべる事は、genetic system、免疫、老化、この3者の相互関係を解析してゆくことに連なってゆくかもしれない。

もう一つの課題として、免疫に干渉したとき動物の寿命は果してどうなるかという事も問題である。若年期にチャレンジがあつて成立した免疫学的memoryがどの程度迄つづくものか。(図6)



は、その全経過に互って点をとらえないとおかしな結論を導いてしまうことになりかねない。かりに、A、Bの2時点で結果を得るとするなら、この動物の免疫応答は加齢に伴って上昇するという結論を下してしまうことになりかねない。このように、観察時点のとり方で矛盾したような結果が出る。とすれば、一体いつからが老化、senescenceが始まるのかということ

Relative Primary Antibody Response of BC3F<sub>1</sub> Mice as a Function of Age  
(Makinodan & Peterson, 1966)

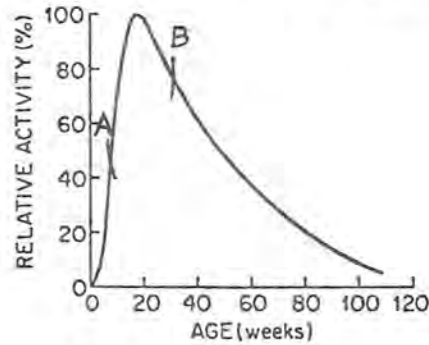


図 8

は極めて重大である。Walfordによれば、50%生存率のところから senescence がはじまるとしたらどうか、また、生存曲線の落下のはじまるところから aging がはじまるとするとしたら、どうであろうか、という(図9)。このようにオペレーショナルに規定してしまうのも一法かと考えられる。いずれにせよ、動物を老化研究に使用するときには、その動物の strain に特有な生存曲線を描いておかなければならないと Walford は提案している。このような観点からするとき、現在までに免疫学の雑誌に載せられた老化の研究と称する論文の  $\frac{1}{3}$  は、殆んど老化に関係しない論文である、という。これも亦問題である。50% survival をとってみても strain によって違って来ることは、我々とし

Survival Curve of C57BL/6J Male Mice  
(Based on 60 animals, Walford, 1976)

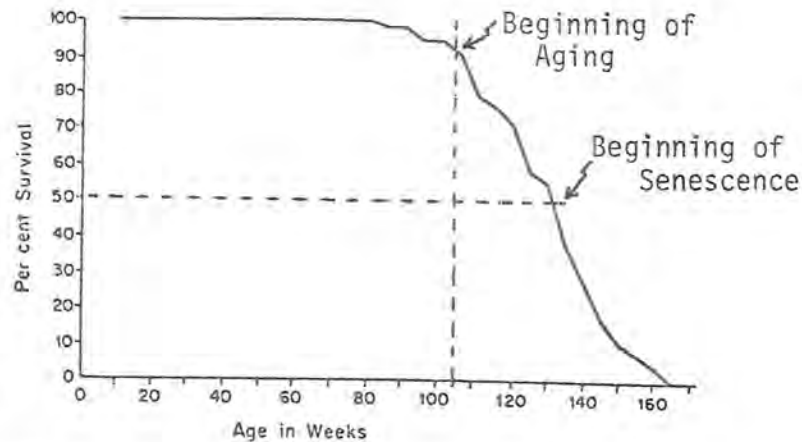


図 9

てもあらためて問題にしてゆかねばならないところである。その意味でも、実験的にマウスを取り上げることは一つの利点があると云えよう。また、マウスの生存曲線のわかった系統のいくつかについて、健康な動物を供給出来る中央的なシステ



ムが必要と云わなければならない。同様に、免疫学的同定に用い得る血清の中央的供給化、各年代のヒトの血清の中央的保存とその供給システムの確立が要望される。

#### 4. 老化の免疫学的モデル

次に、免疫を中心とした種々の老化動物モデルについても考察してみた。たとえば、ヌードマウスは T-cell 機能欠如動物であるが、B-cell 機能や macrophage 機能の低下をきたしたマウスをヌード化してみることも可能になるであろう。このような事で immunological model を、広範囲に作って行くことが考えられる。ヒトと脂質代謝が似ているミニブタ、とくにピグミーミニブタやサルなどについて、ヌード化を試みたらどうか、などいろいろな提案が本グループで為された。

### 討 論

○山中太木(大阪医大): environmental に ecological な系の中に我々は発生して来たものでしょうから microbiology も physiology の中に加えなければならない。

さきほどの培養細胞のところでも血清を幾分か加えたといわれましたが、medium の中にはかなり大量の serum が加えられてあって、既にそこに immunological な問題がからんでいるのである。また時間の parameter の上に Immunology はあると考えるべきであります。

我々の生理的環境が色々な雑菌感染系の中にあって我々は健康としているのであるから、この問題をとりあげないと老化の問題は片手落ちになると思う。

○吉田: スライドで、aging があるところで急に落ちてくる、というところがあった。ところで、内分泌系の免疫の系自体は non linear であることが本質であるが(反応系である故に)、もし、linear であれば gradual な aging がおきるわけだが、あそこで catastroph が起きて aging が加速されるとき、免疫系が本質的には反応系であり、non linear であるということをとらえるのでなければ、微細なものとみているだけでは意味がないものと思う。そこをアプローチしている人々があるのか伺いたい。

□永井: 現在そのような理論的観点から問題を取り上げている人はいないと思うが、今後そのような問題を総合班で取り上げてゆくことになるし、そこでは老化と免疫の問題を一応全体的な視点から捉えてゆく予定である。

## 4b. 生体調節を中心として

—ことに内分泌の立場から—

神戸大・医・三内

井村裕夫

個体水準での老化を生体調節とくに生化学的調節から研究するにはいくつかのアプローチがある。その一つは酵素、細胞膜成分、核酸など物質のレベルで研究する方法である。いま一つは個体における内分泌調節、代謝調節の立場から老化における研究を追求していく方法がある。以下加齢に伴って起こる内分泌系の変化について述べ、その成因について考察するとともに、将来の研究方向についても若干触れてみたい。

### 1. 内分泌系の調節

内分泌系の調節を考える上に基本となるものはネガティブ・フィードバック機構である。図1に示すように内分泌腺(EG)ホルモンを分泌する。このホルモンは標的細胞(C)に働いてある効果を発揮し、それによって血中のある物質が変化する。この物質は内分泌腺に作用してホルモンの分泌を変化させる。これがネガティブ・フィードバック機構でありこれによって生体のホメオスタシスが維持される。副甲状腺ホルモンと骨との関係がこれに相当し、血清カルシウムが副甲状腺ホルモンの分泌を調節する。

加齢に伴う変化は内分泌腺にも標的細胞にも起こる。しかしネガティブ・フィードバックによって代償されるため、ある範囲内ではホメオスタシスが維持される。そのためにホルモンの分泌が変化し、これが種々の効果をもたらしてくる。

多くの内分泌腺は、実際には図1のように単純で

はない。たとえば甲状腺ホルモンの分泌は、下垂体のTSHによって調節されており、TSHの分泌はさらに視床下部のTRFにより調節されている。視床下部はさらに脳の他の部位からの影響を受けている。甲状腺ホルモンは末梢標的細胞に作用する。この系においてはネガティブ・フィードバックに関与するのは、甲状腺ホルモン自身である。この系においては加齢に伴う変化は脳、視床下部、下垂体、甲状腺、標的細胞など種々のレベルで作用する。また甲状腺ホルモン自身の代謝も

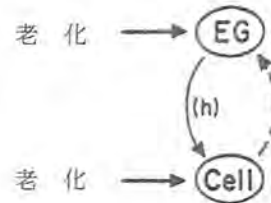


図1 ネガティブ・フィードバック機構  
EG(内分泌腺) Cell(標的細胞)  
h(ホルモン)

加齢に伴って変化する。このように加齢に伴う変化は図1に示した単純な系に比して遙かに複雑となる。以下に述べる視床下部-下垂体-性腺系も、こうした複雑な系の一つである。

## 2. 内分泌系の加齢に伴う変化の型

内分泌腺のホルモンのうちには加齢に伴ってその分泌があまり変化しないものと、著明な変化をするものがある。生命の維持に必要不可欠なホルモン、たとえば、アルドステロン、コルチゾール、甲状腺ホルモンなどは加齢に伴った変化が極めて少ない。一方加齢に伴って変化するホルモンは成長、生殖に関係したホルモンである。たとえば以下に述べる性ホルモンや性腺刺激ホルモン、成長ホルモンなどは加齢に伴う変化の顕著なものである。またその生理的意義がなお明らかでないが、加齢とともに、著明な変化を示すものに副腎皮質から分泌される dehydroepiandrosterone (DHEA) sulfate 及び DHEA がある。DHEA sulfate は思春期前には低値であるが思春期になると急に上昇して高値となり20才以降は年齢とともに低下する。しかしこのような変化がどうして起こるか明らかでない。

以下加齢とともに起こる下垂体性腺系の変化について述べる。

## 3. 男子下垂体性腺系の調節

男子性腺ホルモンであるテストステロンは睪丸の Leydig 細胞より分泌されるが、このテストステロンの分泌は下垂体ホルモンである LH により促進される。いま一つの下垂体ホルモン FSH は精細管に作用して造精機能に与っている。LH および FSH の分泌は、視床下部ホルモンである LH-RH により調節されている。テストステロンは男子副性器や精細管などの標的細胞に作用するが、また血流を介して視床下部、下垂体に作用し、LH、FSH の分泌を抑制する。これがネガティブフィードバックである(図2)。FSH の分泌は、インヒビンによって調節されているとの説があるが、インヒビンの本態はなお明らかでない。

## 4. 血中 LH、FSH、テストステロンの年齢に伴う変化

思春期前、思春期、若年成人、高年成人男子における血中 LH、FSH、テストステロンの測定成績は図3に示すごとくである。思春期前には LH、FSH、テストステロンとも低値である。思春期になると LH、FSH とも軽度ではあるが明らかに増加する。これによってテストステロンの著明な増加が起こる。若年成人ではテストステロンが最も高値となる。高齢になると血漿テストステロンのバラツキが大きくなり、一部の症例では明らかに低値となる。それとともに血漿 LH、FSH は上昇する。

若年および高年の成人での血漿 LH を縦軸に、血漿テストステロンを横軸にとってプロットすると、両者の間にある程度の逆相関の関係が認められる。このことはテストステロンと LH の間にネガティブ・フィードバックが存在することを示すものであり、高齢者で血漿 LH が上昇するのは、

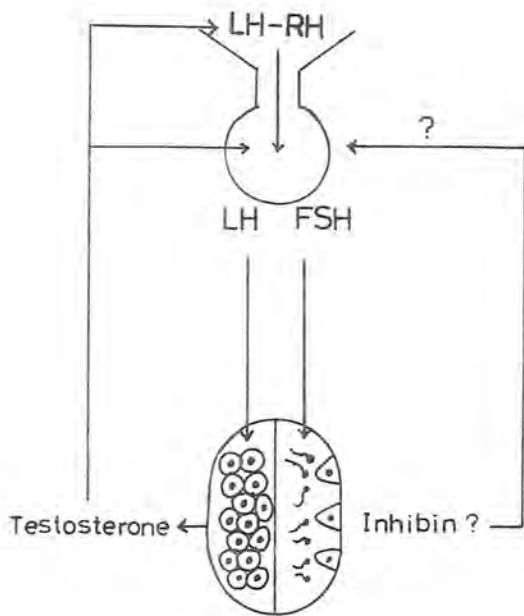


図2 男子下垂体性腺系の調節機構

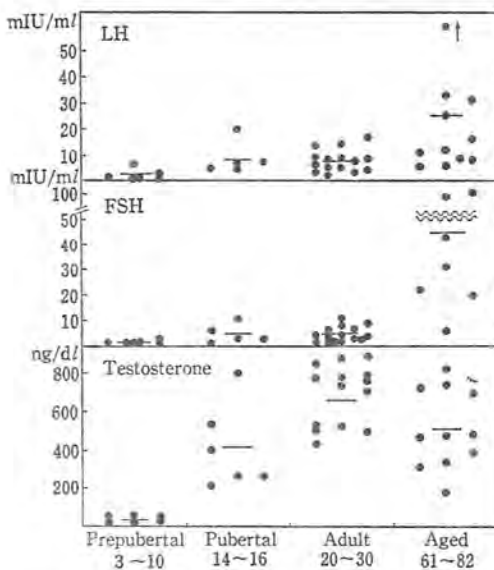


図3 種々の年齢の男子における血漿LH、FSH、テストステロンの基礎値

テストステロンによるネガティブフィードバックが減少するためと考えられる。

思春期前では、LH、テストステロンともに低値で、ネガティブフィードバックが存在するか否かは、血中レベルのみでは明らかでない。しかしこの時期にも、ネガティブフィードバックは存在するものと考えられる。その証拠としては、(1) 原発性性腺不全、とくに gonadal dysgenesis の症例では血漿 LH、FSH が高値である。(2) こうした症例に少量のテストステロンを投与すると LH、FSH は減少する、などである。こうした事実から、小児期にもテストステロンによる LH、FSH 分泌のネガティブ・フィードバックは存在するが、視床下部、下垂体系のテストステロンに対する感受性が極めて高く、少量の性ステロイドによって LH、FSH 分泌が抑制されるものと理解される。

思春期前の症例でも、LH-RH を投与すると血漿 LH、FSH はともに上昇するが、上昇の程度は少ない。思春期以後になると、LH-RH に対する LH、FSH の反応は著明となる。こうした事実も、思春期前下垂体が LH-RH

RHに対して反応する性質を有していることを示すものである(図4)。

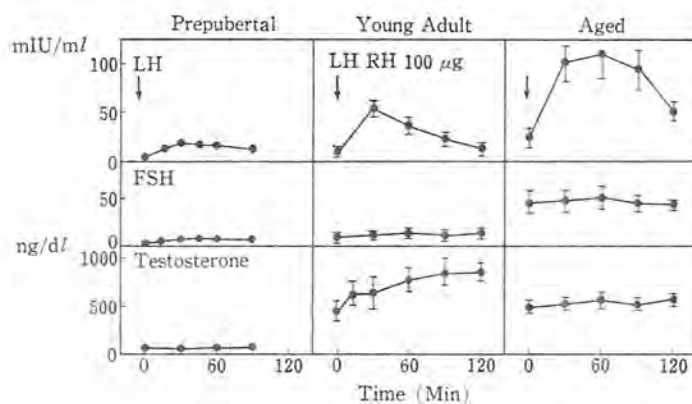


図4 種々の年齢の男子におけるLH-RH(100 $\mu$ g)静注に対する血漿LH、FSH、テストステロンの反応

#### 5. 思春期の成因をめぐって

思春期は、加齢に伴う男子下垂体-性腺系の最初の著明な変化の時期である。小児期にあっては先にも述べたように、少量の、性ステロイドでLH分泌は抑制される。しかし思春期になると、より大量の性ステロイドを投与しないとLH分泌は抑制されなくなり、視床下部、下垂体系の性ステロイドに対する感受性が低下してくる。このため血中性ステロイドが次第に上昇し、これによって性成熟が起こる。しかしこのような性ステロイドに対する感受性の低下が何によってもたらされるかは明らかでない。

思春期の発現機構を理解する上で大変興味深い事実が最近知られている。それは思春期になると睡眠中は血漿LHが上昇し、覚醒すると低下する。こうしたLHの上昇は、睡眠に依存しており、断眠すると増加が見られず、昼間の睡眠でも増加する。この睡眠中のLHの増加は思春期前には見られず、また成人に達すると覚醒時のLHが上昇するため、睡眠中の上昇が見られなくなる。思春期前半には血漿LHの増加のみで、テストステロンの増加はほとんど見られないが、思春期後半になると、テストステロンも著明に増加するようになる(図5)。これが性成熟を起こすものと考えられる。

思春期の睡眠によるLHの増加は、正常人のみでなく、種々の病的状態でも認められる。とくに興味深いのは性腺を欠いているgonadal dysgenesisの症例でも、思春期の年齢に達すると睡眠中に著明なLH、FSHの増加が見られることである。このことは思春期のプログラムは、あらかじめ



脳の中に存在していて、一定の年齢に達すると、睡眠と同期してLHの分泌が促進されるようになるものと考えられる。性腺を欠く症例でも、こうしたプログラムが発動することは、上記の事実から明らかである。

#### 6. 高齢者における下垂体性腺系の変化

成人における血中テストステロンの変動を年齢別に観察すると、40歳台まではほぼ不変であるが、50歳を越えると一部の例で低下が始まり、70歳以上になると低下例がさらに増加してくる。しかしバラツキが多く、70歳以上でも若年男子と変わらない値を示すものも少なくない。

若年成人と高齢成人でLH-RHに対する血漿LH、FSH、テストステロンの反応を観察すると、若年成人ではLHの上昇に反応して血漿テストステロンも増加するが、高齢成人ではLH-RHに対する血漿LHの反応は、極めて著明であるにもかかわらず、血漿テストステロンの反応は見られなくなる(図5)。すなわち内因性LHに対するLeydig細胞の反応性が低下していることは明らかである。

このことをより、明瞭に明らかにするため、LHと同じ作用を有するヒト絨毛性ゴナドトロピン(HCG)に対する、血漿テストステロンの反応を観察した。HCG 5000Uを連続3日間投与すると、血漿テストステロンの著明な増加がみられた。しかし70歳以上の高齢者ではほとんど反応しないか、反応しても若年成人の域には達しなかった。このことから外因性のHCGに対するLeydig細胞の反応性は、高齢者で低下していることは明らかである。

それでは、Leydig細胞の反応性が低下するにもかかわらず、なぜ血漿テストステロンは比較的若年者と変わらない値に維持されるのであろうか。その理由としては高齢者におけるテストステロン代謝の遅延が考えられる、血漿テストステロンのおよそ半分は結合タンパクに結合して存在する。もし結合テストステロンが増加すれば当然テストステロンの代謝は緩徐となり、分泌量は少なくともも比較的高い血中レベルが維持できることとなる。

そこで $^3\text{H}$ -テストステロンの結合を

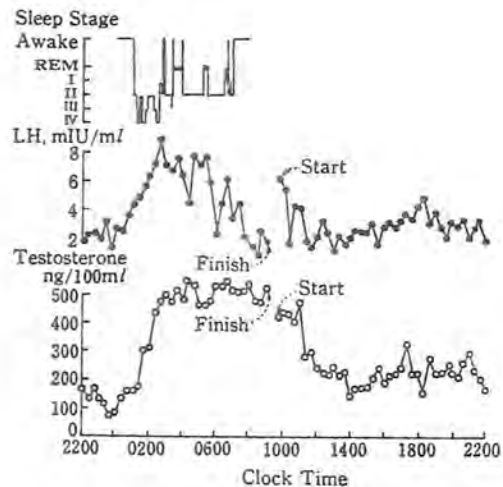


図5 思春期男子の1例における24時間の血漿LHおよびテストステロンの変動

指標として、遊離テストステロン指数を求めてみると、若年者に比し高齢者では遊離テストステロンの有意の減少が認められた(図6)。一方テストステロン結合タンパクの結合能は、高齢者では明らかに増加していることが報じられている。従って結合タンパクの増加によって、遊離テストステロンが増加するものと

考えられる。結合タンパクの増加する機序は恐らくエストロゲンの増加によるものと考えられる。

以上の事実をまとめて、高齢者における、下垂体性腺系の調節機構を若年者のそれと対比して示すと図7のごとくである。

高齢者では Leydig 細胞

の反応性は低下し、若年者より大量の LH によって初めて反応して、ある程度のテストステロンを分泌する。一方テストステロン結合タンパクは増加しているので、総テストステロン値は若年者と変わらなくても、遊離テストステロンは低値となる。従ってテストステロンの代謝は緩徐となる。一方視床下部・下垂体系へのフィードバックは減少して、LH の分泌は増加する。結合タンパクの増加は、睾丸よりのエストロゲンの分泌増加、または末梢における前駆体よりのエストロゲンへの転換の増加によって、血中エストロゲンが増加するため招来されるものと考えられる。

### 7. 考察とまとめ

以上述べた、男子における小児期から老人までの加齢に伴う、下垂体・性腺系の変化が、どのような機構で起こるかについて、若干考察してみた。下垂体・性腺系は、

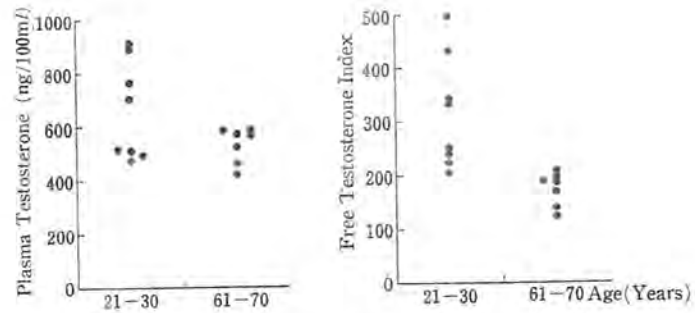


図6 若年成人と高齢成人の血漿テストステロン(左)と遊離テストステロン指数(右)

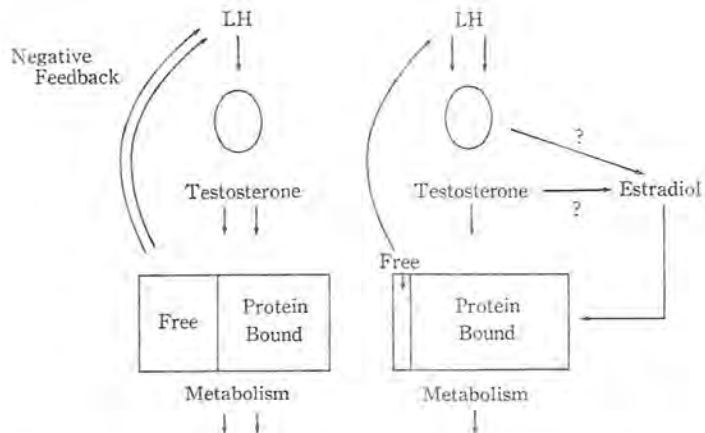


図7 若年成人および高齢者における下垂体性腺系の機能の模式図

中枢神経系の関与した系であるので、加齢に伴う変化の起こる部位としては、① 中枢神経系 ② 下垂体 ③ 性腺 ④ 末梢における代謝や標的臓器 の4つが考えられる。思春期の変化には①が中心的な役割を果たしているものと考えられる。これに反し、高齢者に起こる変化は③にまず始まる可能性が大である。こうした加齢に伴う変化の発生機序としては次のいくつかの可能性が考えられる。

(a) プログラムされた変化：下垂体・性腺系に加齢とともに起こる変化の一部は、あらかじめ遺伝的にプログラムされている可能性がある。とくに思春期の発現機構はその代表であって、中枢神経系にプログラムされた機構が、一定の年齢になると作動するものと考えられる。女子性腺にみられる更年期もほぼ一定の年齢に起こることからプログラムされたものである可能性が大きい。一方男子性腺の変化は個人差が大で、緩徐に起こることから、それ以外の機序を考える必要がある。

(b) その他の機序：加齢とともにDNAやRNAの合成にエラーを生じ、これが蓄積することによって次第にその細胞の機能が失われる可能性がある。また過酸化脂質などの老廃物の蓄積によって、酵素活性の障害が起こったり、酵素合成に異常を生ずる可能性がある。副腎には lipofuscin が年齢とともに増加するが、井林らはこれと DHEA sulfate の減少とを結びつけた仮説を発表している。いま一つの可能性としてホルモン・レセプターの変化も考えねばならない。たとえば Leydig 細胞における LHレセプターは加齢とともに減少し、これがテストステロン合成を低下させている可能性はあり、この点今後の検討が必要であろう。

内分泌系は生体の細胞間調節系であり、生体諸機能に重要な影響を及ぼしている。従って加齢に伴って起こる変化の全貌を把握することは、老化制御の立場からも必要であろう。加齢に伴う変化の機序の研究はなお今後の問題であり、分子レベル、細胞レベルでの研究の知識を導入し、あるいはこれらのレベルの研究者との協同研究のもとに解明していく必要がある。

## 討 論

○土山秀夫(長崎大)：加齢に伴ってプラスマコーチゾールの変化は軽いのに、dehydro-epiandrosterone ないしその sulfate が低下するという事ですが、さきほど、佐藤先生が私共のグループの御紹介をされましたときふれられましたが副腎をみて居りますと、老化と共に束状帯の方は、しばしば結節化という事が起こって来ますが、恐らくこれでかなり function の代償が出来るのではないかと思います。しかし網状帯の方になりますと lipoperoxide と関係のあるらしい lipofuscin の沈着は増し易いのに、あそこには結節化という事がふつう起こって来ません。したがって何故そのように zone の違いによって代償的な結節化が起こったりおこらなかつたりするの



かというのは大きな問題なのですが、そういう点についての討議はなかったのでしょうか。

□井村： それはよく解らない。井林氏の仮説の一つの根拠は、加齢と共に lipofuscin がふえることである。したがってコーチゾールは束状帯で dehydrogenandrosterone は網状帯で産生されると一応理解し、lipofuscin の沈着という点から考えると lipoperoxide の蓄積が酵素活性を阻害するのではないかと仮説が考えられる。しかし本当に網状帯が dehydrogenandrosterone をつくり、束状帯が cortisol を作ると割り切ってよいかどうかの問題はまだ未解決である。第 2 の問題は dehydrogenandrosterone sulfate が何をしているのか、生理的にどういう意味をもっているかは、現時点では全くわからない。思春期に急速にふえてくるのは、ACTH では説明出来ず性ステロイド、乃至はゴナドトロピンを考える必要がある。したがって何故加齢と共に変化するかという事を今のところ clear cut に説明する事は困難である。

○山中太木： young の年齢はもう少し具体的にどのようでしょうか。

□井村： 思春期の徴候の全くないものである。年齢で分けなくて思春期の徴候で分けている。アメリカではこういう研究が進んでいて年齢と共にゴナドトロピンや性ステロイドが有意に変化することが知られている。6 歳位は gonadotropin が一番低く、視床下部の感受性は一番高い。2 歳以前は、感受性が低く血中の testosterone が高い。

○小倉 一（神戸大二内）： 井村先生はさきほど老人では free のテストステロンが減って、蛋白と結合したテストステロンが増えてくるといわれました。即ち高齢になると血中のホルモンは、その存在様式として protein と bound した型のもが増えてくることを示唆されましたが、私も、甲状腺ホルモンを測定しておりまして、老人では TBP (Thyroxine binding protein) の有意の増加があることを報告してまいりました。一方 TBP の増加は、常識的にはエストロゲンによって増すわけですが先生がいわれた加齢によって、テストステロンからエストラジオールへの転換についての実証はなされておるのでしょうか？ もしそうでしたら非常に私の実験結果をうらづけることになるのですが、この点おききいたします。

□井村： 血中エストラジオールをはかってみると、若年より高年に高い、これは一つはテストステロンからの転換が考えられるが、もう一つは性腺におけるテストステロン合成機構が加齢によって変化し、そのためにエストロジエンの分泌がふえるとも考えられる。これに関しては、まだ定説はない。いずれにせよこのエストラジオールの増加が結合蛋白をふやす原因であろうと考えられる。

○鈴木： ワーナーが老化のモデルになるかどうかという事があったそうですが、どういう結論だったでしょうか？

□井村： ワーナー症候群は正常の老人とは違うという意見が大勢でした。一つの意見としてこれは中胚葉組織に限局した疾患であって、すべての胚葉系に変化がおこるのではないではないという考え方もありました。たしかに臨床病状も中胚葉系の障害で説明出来るので、直ちに老化のモデルとして使うには臨床の立場からは適当でないのではないかと考えられる。



## 5. 集団水準における研究

東京都老人研・生物

能村哲郎

生命系の維持という現象は、生物個体の維持という面でもとらえられがちであるが、同時に種属の維持という大きな目的もかかえていることを忘れてはならない。下等な動物では、個体の維持を犠牲にして種属の生命の維持を優先させているが、動物が高等になるにしたがって、個体の生命や安全を十分に保持しながら種属の維持もはかる方向にむかっている。したがって個体の生活史の一過程としての老化をとりあげるときも、常に種属の維持との関係を考えておく必要がある。

### 生存曲線：

ある動物集団の現状と将来とを決定するものは、出生と死亡との相対的な割合である。動物の種類によって、海岸に棲む魚類のように1回に数十万個の卵を産むものから、大型の哺乳類のように生涯に数匹の仔しか産まないものまである。おおざっぱにみると、生理的寿命をまっとうした雌一匹あたりの出生率は系統的な進化の度合とは逆に減少しているといつてよい。動物は進化の過程において、海から陸水へ、それから地上へ、さらに地面から樹上や空中へと、仔にとっては困難な環境へ進んできている。このことは、親による仔の保護の進化を促す結果につながった。

生物が集団を維持してゆくためには、産れる個体数と死亡する個体数とが常に平衡している必要がある。一世代あたりの出生率は、生理的に可能な繁殖回数と同時に、出生した個体が時間経過にしたがって減少する様子を知る必要がある。これを記載したものが生命表である。Deeveyは野生動物の死亡率のデータを集成し、年齢を相対時間で、生存率を対数にとって、動物の生存曲線を3型に分類した(図-1)。Aは人類を含む大型の哺乳類や仔を保護する昆虫などにみられるもので、平均寿命近くまではあまり死亡がなく、その後

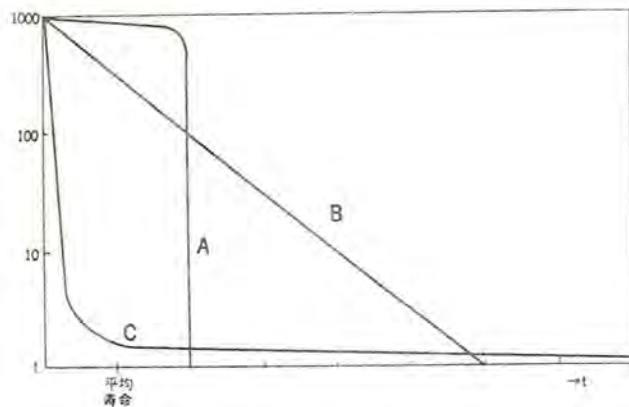


図1 動物の生存曲線の型

に急速に死滅するため「型を示す型、Bは単位時間の死亡率が一定しているので、個体数が直線的に減少する、鳥などに代表される型、Cは初期死亡率の高い海産の魚類や無脊椎動物などにみられる「形」の減少を示す型である。どの場合も、野生動物の生育初期の死亡が無視されているのが問題で、伊藤によって、修正された生存曲線法が提案されている。

一般に、C→B→A型への寿命および生存率の進化は、発育の初期に死亡する割合が減少し、生理的寿命と生態的寿命との差が近づいて、寿命分布の偏差が減少する方向に進むようにみえることと、一对の配偶者を得るために産まれる仔の数が次第に減少することである。伊藤は、動物の生活様式と生存曲線型との連関を試み、動物の生存曲線の型の移行は、動物がその進化を通じて貧栄養の環境へ進出してゆくさいに生じた社会化、ないしは家族化、つまり親による次の世代の保護様式の発達と関係するとした。ヒトの場合にみる、社会の違いや年代別の生存曲線が、これを支持している。昆虫では、多くの生活形の分化がみられるため、すべての型の生存曲線が存在する。

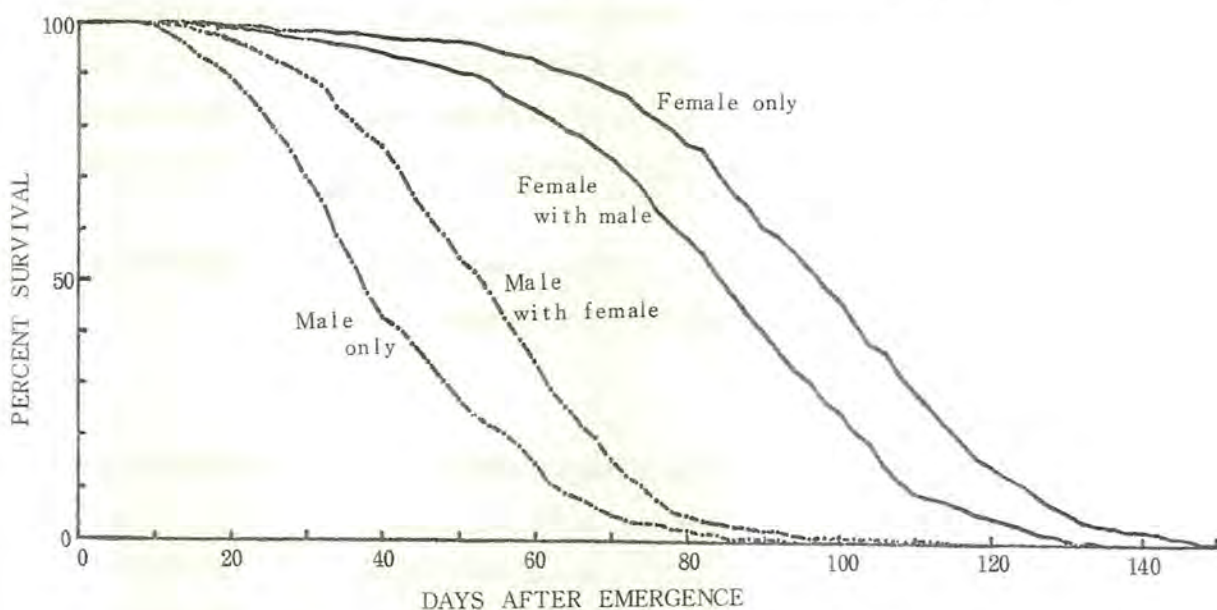


図2 羽化後のクロショウジョウバエの生存曲線（大羽）

このように、生存曲線は環境、遺伝、社会などを極めて鋭敏に反映する。大羽によると、羽化後のクロショウジョウバエの生存率に性差があり、雌のみで飼育すると雄のみで飼育した場合より平均寿命が2倍も長い、雄と一緒に飼育すると雌の寿命が短くなるのに、雄の場合は逆に延命効果があるという（図-2）。ショウジョウバエでも、遺伝的形質や採集地によって、これらの関係はまた変わってくる。

## 環境：

生物とそれを取りまく環境との間には絶えず相互作用が存在し、それによって生物の生活が形づくられている。80億年もの長い歴史のあいだに、生物は環境の変動に応じて変化し、調節し、適応してきたし、また環境を作りかえもして、絶えず生存への努力が推し進められてきた。ある場合には、環境を巧みに利用し、また環境に抵抗する能力を獲得して、種属に特有の個体の生存様式と生殖様式を発達させて、種属の維持をはかってきたと思われる。しかし、生命を維持する機構が発達し、複雑化するにともなって、それらを協調させていくしくみも複雑で、また高度になってくると、僅かな歯車の組合せの悪さが大きな破綻の原因になることも心にとめておくべきである。

生命をとりまく環境には、生物的環境と非生物的環境とがあって、そのおのおのに対する生物の対応のしかたも、決して同じではない。生物的環境からくるものには、大別して競合と協同という生物相互の作用があり、これらはさらに、同種間に生じる個体群を調節する密度依存の関係などと、異種間に生じる食物連鎖などの関係に分けられる。これらは、ある限られた期間内の生物集団の動態として表現されるだけでなく、また生物種の変遷の問題にも大きな役割を果たしている。同様なことは、非生物的環境でもいえるが、この方は生物の側で調節や適応という形で対応する面が強く、長い時間をかけた生物の進化や種の生長という面でのかかわりあいを示すことも多いようである。

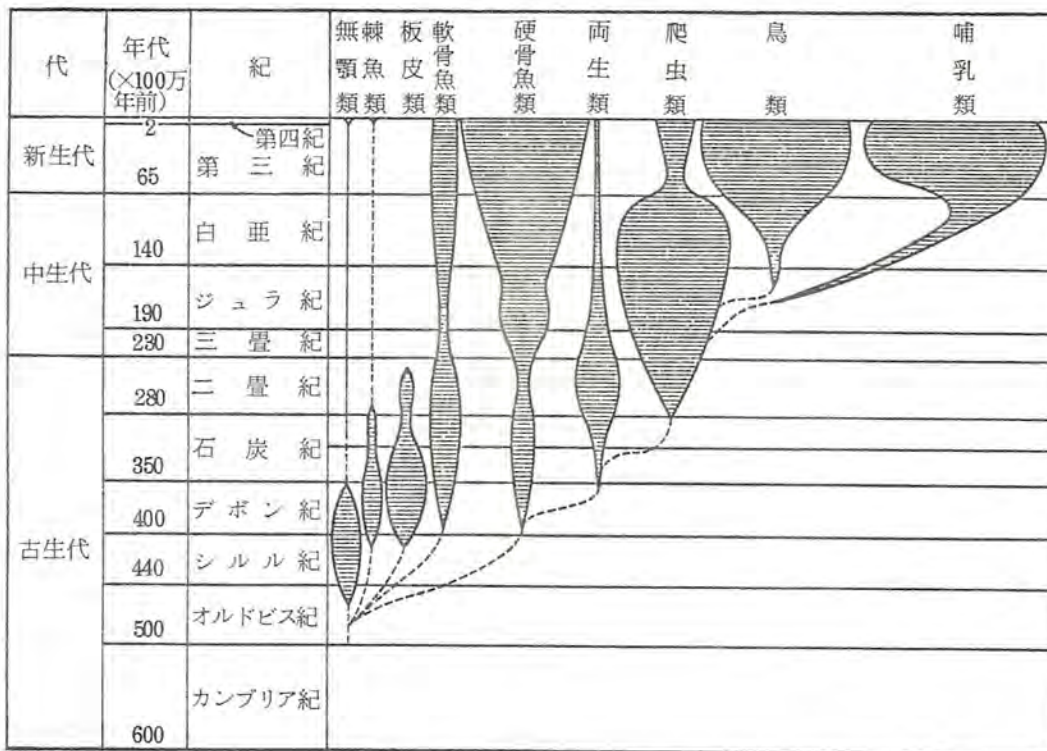
生物の集団レベルの老化を考える場合に、上に述べたように、個体群の調節や生物種属群の調節の問題から、生命保持機能の進化の問題までが、その研究対象になってくる。

## 種属の老化：

生物の歴史は、各生物群の化石の量や化石の種類の数の変化から、それらの栄枯盛衰の過程を推測することができる(図-8)。それによると、動物の種や属の寿命にも長短があって、たとえば、二枚貝の属の生存期間は平均7,800万年であるのに対し、陸生の肉食哺乳類の属は平均810万年と約10分の1程度である。種の寿命となると更に短かく、50-100万年程度で、体制の単純なものほど、その種属の寿命が長く、また、水生とか陸生とかの棲息環境によっても差があることが知られている。しかし、種属の寿命とそれに属する個体の寿命とが、必ずしも相関しない点は重要である。

恐龍の絶滅にみるように、生物の種属の老化、絶滅の原因については多くの説があり、外因としては(1)物理的環境、つまり、地殻変動による水陸分布の変動や、気候の変化による温度変化などと、(2)生物的環境、つまり、食物源や病源などを含めた生態系の変化、あるいは生存競争などが、また内因としては、身体の巨大化や、器官の構造や機能の特殊化などによる適応能力の低下などがあり、これらの要因が組み合わさって生じたと推定されている。しかし、種属の誕生、繁栄、衰退、滅亡





3 図 脊椎動物の化石の消長

といった消長経過は地質学的時間を要するので、さらに今後の古生物学的研究の成果にまたねばならない。

### 生存 —— 個体の維持：

生命が地球上に誕生して以来、生物はその生存と生殖を維持し続けられるように、環境に対して、ある時はそれに適合し、ある時はそれを利用して発展し続けてきた。たとえば、太陽光の紫外線に対しての生命の保持のしかたを見ても、すでに前核生物の段階で生存方法の工夫の進化がみられており、水中に生活して被害を避けることにはじまり、泳いで離れる負の走光性の獲得といった逃避段階から、積み重なって成長し、内側の個体を保護する群体性の獲得や紫外線を吸収する硝酸塩液の利用へと進み、更に核酸に生じた放射線障害を酵素により修復する可視光による光回復や暗回復機構を獲得し、また、抵抗性を有する変異種にまで発展して、棲息環境、行動、生理、遺伝的に抵抗機構が確立し、これらの性質が真核性生物の生存方法にも遺産として受け継がれている。

また、動物についてみるならば、動物の特徴の一つは、摂食者としての捕食という行為を有する

ことである。したがって、生存に必要な量の食物を得るためには、食物のあるところへ動くことや、さらに食物を探索する工夫が生存を有利に導く。移動に要するエネルギーを食物の探索に有効に使用するためには、獲物を認識する機構の発達が有利になってくる。それらのための感覚器官、運動器官、捕獲・摂食器官がその環境に適するように発達し、これらが協調して作用するような選択が神経系の発達を促すことになり、動物が環境の中で定位し、獲物を探索して捕食する傾向が進むと、これらの機能を備えた頭が体の前方に形成されて、その発達が生存を一層有利に導くことになる。このようにして、生活様式に応じて生物の生存の保証が発達してきた。哺乳類でみる、腹の大きさと寿命との関係も、一部はこれと関連していると思われる。

生物の生存能力は、体制の類似した同じ系統の動物の中でも非常に開きがある。たとえば、哺乳類の中でもヒトの属する霊長類をとり上げてみても、最大潜在寿命は、最も原始的なツバイの 5.5 年から、ヒトの 95 年まで 20 倍近い差がみられる。

#### 生殖 — 種属の維持：

生物にとって最も重要な性質は、自己と同じものを作り出す能力である。現在の生物の生活環境にはその体制のいずれかのレベルで、無性生殖と有性生殖の方式が組み込まれている。単細胞生物では、新個体を作るのに無性生殖が大きな部分を占めている。この生殖の方式は、すべての個体が直接増殖に関与し、良い環境を効果的に利用して、性質の同一性の個体を急速に増殖するのに適しているが、個体群が均一に変異がないことは適応性に限界があることを意味し、環境が悪化した場合、適当な防御機構が発達していないと絶滅の危険をとまなう。これに対して、有性生殖は接合と減数分裂を両軸としており、個体群内での遺伝子の混ぜ合せと組換えによって性質の異なる個体を作り出すので、環境への適応性に拮抗をもたせ、種属の維持に役立つので、多細胞動物ではこの方式の進化が際立ってくる。

したがって、生物の体制の進化が飛躍的にみられる過程、つまり、多細胞生物への単細胞生物の段階や、無脊椎動物から脊椎動物へ移る原索動物の段階での生存や生殖などの生活様式の多様性の存在は、その安定化のための多方向への模索のあとと、それに要した時間の長さを感じさせる。

有性生殖はまた、種属の維持の保証手段として、下等な動物で雌雄同体という形態をもちこんでいることが知られている。また、脊椎動物の中でも魚類では、単為生殖や性転換で種属を維持するものがある。ギンブナを例にとれば、宮崎付近で産するものには雌雄が存在し、100本前後の染色体をもっているが、霞ヶ浦や琵琶湖でとれるものは雌のみで、染色体も156乃至は206で、ゲンゴロウブナ、ヤリタナゴ、ドジョウなどの雄と交配して、雌個体のみを作り出す。また、自然状態で、ハタ、キダイ、ベラ、タウナギなどのように雌先熟性の性転換をするもの、クロダイやコチ



のように雄先熟性の性転換をするものがある。これは棲息環境中の餌の量と産卵のための栄養蓄積の関係や、集団社会で占める位置などによるらしい。前者の例が深海の中層部に棲む、ヨコエソの雄から雌への成長にともなう性転換である。後者の例では、オーストラリア東岸に棲む、ホンソメフケベラは、一匹の雄に3～6匹の雌と未熟魚とで一群を構成しており、雌の中の一匹は大きく、群の中心部に雄と共にいるが、雄を失うと80分位で攻撃的になり、数日で形態的にも雄化し、2週間で放精するようになるといった具合に集団の維持を保っている。

このように、生物の生存や生殖の様式は、その生物の集団の老化と密接に関係しているにも拘らず、明らかにされていない部分が多く、今後の研究を待って整理されねばならない。

#### 個体群の調節——密度効果：

生物を集団としてながめると、どの種属でも、生態系の中で一定の秩序を保つように、ある程度の個体数の増減を繰り返えて、個体数の調節を行っている。ところがなかには、何らかの原因で

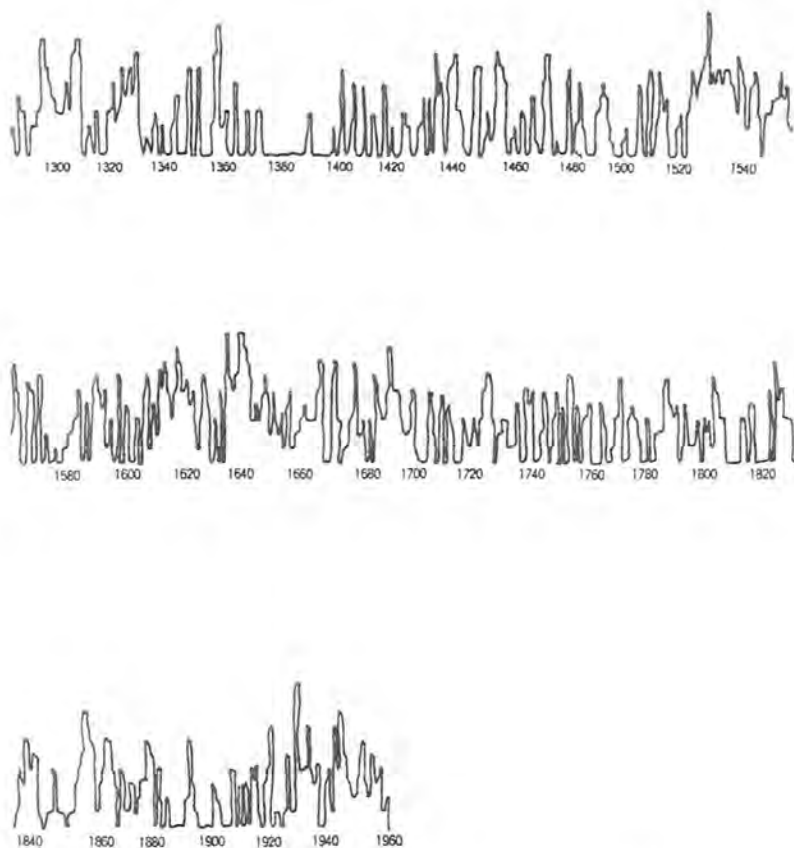


図4 中国におけるアジアワタリバットの発生消長

急激に大発生するものや、個体数の変動の幅がきわめて大きいために、一時的に大発生の様相を呈するものがある。古くから良く知られている、ネズミやバツタの大発生はその例である(図-4)。自然においては、特に恒温動物で、その個体群の変動とその調節は、食うものと食われるものとの関係に依存した周期性を示している。

18世紀に北極圏で毛皮産業が発生し、毛皮獣の捕獲量に消長があることが認められた。Eltonは、寒帯の哺乳類に周期的変動が存在するが、これは太陽の黒点周期と関係した気温変動が原因であると考へた。後にこの説は否定されて、食うものと食われるものとの関係によって生じることが明

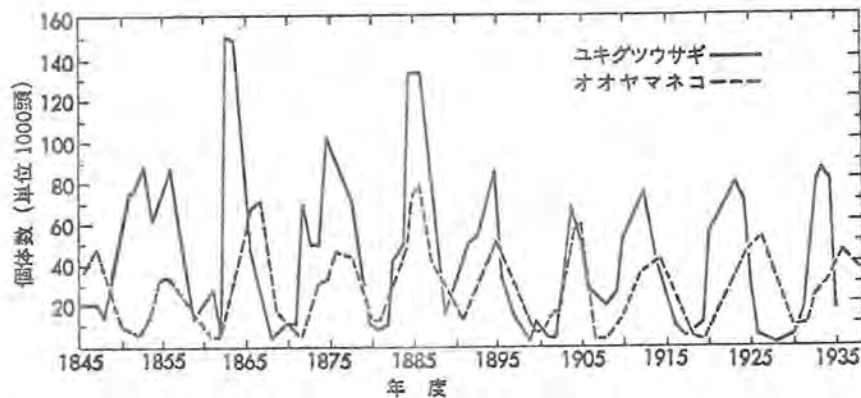


図5 オオヤマネコとユキグツウサギの個体数の変動

らかになっている。たとえば、ウサギの大発生があると捕食者であるヤマネコがそれを食べて繁殖し、翌年増加するが、ヤマネコが増加すると被食者のウサギが喰われて減少する。餌が減るとヤマネコも減るといった具合に、周期的な増減が繰返えされるわけである(図-5)。

よく知られているように、自然界には被食者と捕食者との間にエネルギーの転移してゆく食物連鎖があって、その生態系を安定に保っている。つまり、太陽光線の輻射エネルギーを緑色植物(生産者)がとりこんで栄養物を合成し、これを草食動物が消費し、更にこの動物を肉食動物が消費する。これらの排泄物や死んだ生物体を微生物などの分解者が処理し、分解物の一部が植物に再び吸収されるというものである。したがって、捕食者と被食者との関係は、相互に依存したものである。

Leopoldの研究した例では、アリゾナのカイバブ平原のシカは最初4,000頭いたが、その捕食者である、ピューマ、コヨーテ、オオカミを取り除いた結果、20年間に10万頭に増大し、そのために平原が著しく荒廃し、ふた冬の間食糧難で飢死するものが急増して、本来3万頭の収容力があるにも拘らず、捕食者がいないために1万頭に減ってしまった(図-6)。つまり、被食者と捕食者との間に適度な抑制が存在してはじめて、両者とも生存の最適条件をうることができるので、その相互調節作用を乱されると破滅を導くことになる。この、捕食者と被食者の関係は生物の社会では最も重

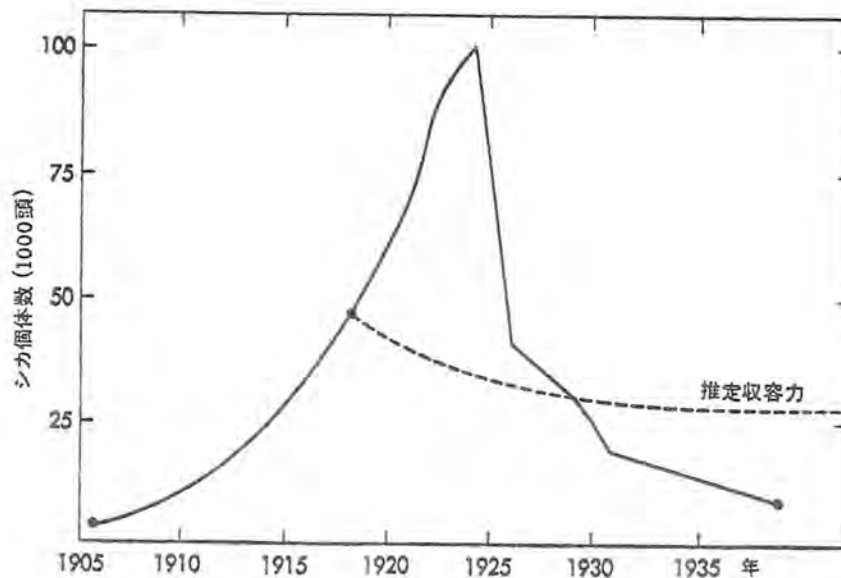


図6 捕食獣を除去した時のシカ個体数に対する影響

要なもので、被食者は逃がれるために可能なかぎりの適応方策を工夫するし、捕食者も追跡して食うために可能な限りの適応を行うので、進化の原動力になっている。

上述のシカの例や、ネズミの大発生時の異常行動や集団の崩壊が、食物供給不足との関係によるとされてきたが、最近では、集団内の個体数の密度の高まりにより生じた生理的、精神的な変調のためであろうと考えられるようになってきている。

町田らは、床面積 1,500 cm<sup>2</sup> の閉鎖空間の中での 2 対の ICG 系ハツカネズミに由来する自然増殖集団で、集団の老化と過密が個体の加齢や老化に及ぼす影響を研究し、集団に増大期、定常期、衰退期が存在して、やがて集団が消滅すること、年齢構成、繁殖率、分娩率のいずれをみても集団としての加齢が進行していることを認めている（図-7）。集団の衰退期には新生仔の死亡率が異常に高いこと、雌の方が雄より圧力を受け難く、増大期に出生した動物の寿命が最も長く、また、各時期からの 60 日齢の雄の行動や情動を比較すると、集団の加齢が進むにつれて低下する。これは、この加齢集団の構成員は暦年齢以上に老化が進行していることを示している。

生物はそれぞれ自己の生命の存在を主張する性質をもっているので、個体、群、種、属などの生命段階の間で生存の争い（努力）がおり、その間になんらかの社会的な調節機構 — 社会秩序が生じる。食物連鎖の他に、共通の生活の場をもつものによる「棲み分け」や、同じ種の他の個体や群れの間みする「なわばり」、順位制などの強弱により生ずる秩序があり、また、社会性昆虫の示

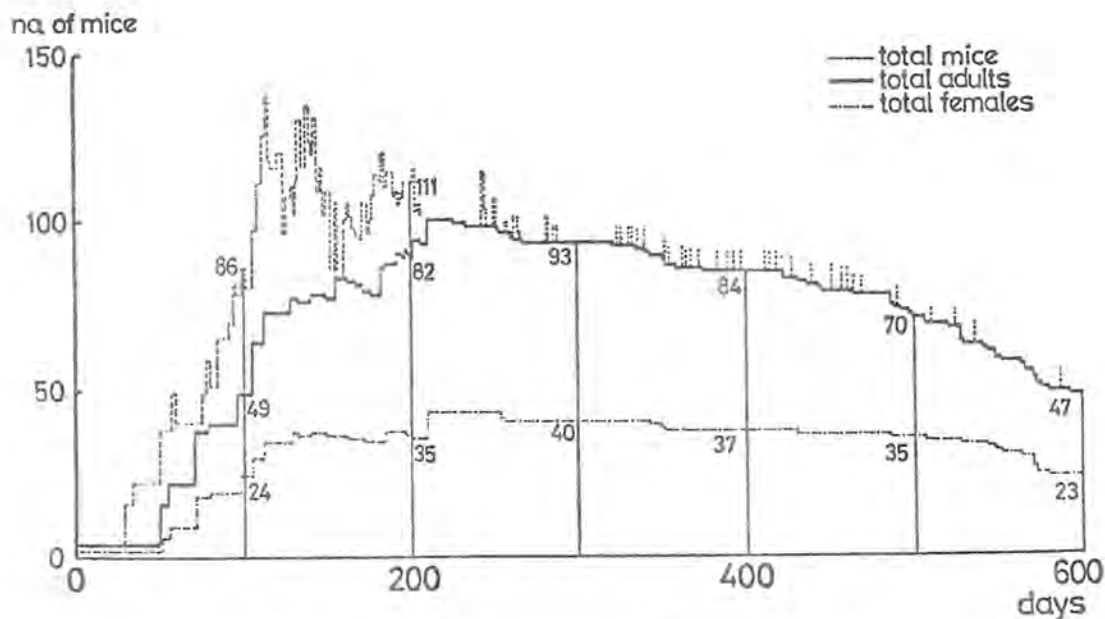


図7 ICR系ハツカネズミの自然増殖集団における  
個体数の変化（町田）

す個体の職能分業による秩序がある。このように、動物の攻撃性にも抑制機構が存在するので、同種の動物の間では殺しあいまで発展することはまれであるが、個体密度の増加という特定の状況下におかれると、雄の攻撃性が増し、さらに進んで、性行動や巣造り、社会行動や生理的障害にまで行動のゆがみが及ぶことを Calhoun は明らかにした。

Christian は、シカやネズミなどの野外や実験室内での観察から、哺乳類の個体群の種内での自己調節と病気を関連づけた。集団の密度が高くなると、雄の間で闘争行為が増加し、外部からの刺激に対する抵抗性が低下し、免疫能力が減少し、生殖能力が減退し、増殖率の低下をもたらす。このときの動物には、低血糖症、副腎重量の増加、リンパ組織の退化、生殖器官の抑制がみられた。この変化は集団の中で社会的順位が低く、絶えず他の個体の攻撃をうけているものほど顕著であった。これによって、集団密度が高まると個体間のストレスを増し、これが中枢神経一下垂体-副腎皮質系を刺激すると同時に、生殖腺系を抑制して、これらの内分泌機構を介して集団の恒常性の崩壊 - 集団の老化が促されるという、ストレス説を提唱した。

これに対して、Chitty や Krebs は、個体数が増すと互いに闘争するものがふえて相互干渉が強くなり、そのために別の場所へ移動したり、繁殖率が低下したり、死亡する個体が増えて、個体群内に闘争性の強い系統が生き残って、ますます相互干渉が強化されて絶滅・崩壊するという遺伝

的学説を提示している。

昆虫でも同様な現象がみられている。バッタの例がそれで、環境条件に恵まれて、産卵や産仔数が多くなり、死亡率が低下し、発育速度がはやまって世代の繰返しが早くなると、自然状態でも過密を生じる。数が少なくて、おとなしいとき（孤独相）は、体色も緑色で、千鳥足的な歩き方をしているが、数が増すにしたがって接触や視覚などの感覚刺激が密度効果として数世代に累積的に、内分泌系を介して作用し、体色が黒ずんできて集合性が高まり、興奮状態を示して行進風の歩き方となり、飛ぶのに適した群棲相への形態、生理、行動の変化を示すようになり、群飛して移動する。アブラムシなども、密度が高くなると他の株へ移動分散しはじめるが、また、有翅移住型の成虫も出現するようになる。この他に昆虫では、過密よりの脱却に、休眠によって社会干渉をなくしたり、アリやハチのように社会性を高めて回避する手段としている。

一定の環境条件下では、動物の個体数はS字形を描いて増加して、ある飽和点に達する。この、所謂、ロジスチック曲線は環境条件によって変化するが、その存在は個体群の密度の上昇にともなう増殖を阻害する何らかの要因が存在することを示している。

Allée は、動物の集団を分析して、動物が生活するのに、増殖率、成長速度、死亡率、寿命などに、それぞれに最も適った最適棲息密度が存在することを示し、密度が少し高まるとすぐ生存条件が悪くなる右下り曲線の型から、ある一定の密度までは密度の増加とともに生存条件が良くなり、その密度を越えると悪化する、つまり、山型のものまであって、最適密度が右寄りになるほど、つまり、集団としての生存性の高いほど、動物の社会進化度が高いとした。内田がアズキノゾウムシの実験で示しているように、個体維持のための最適密度と、増殖率などの種属維持のための最適密度

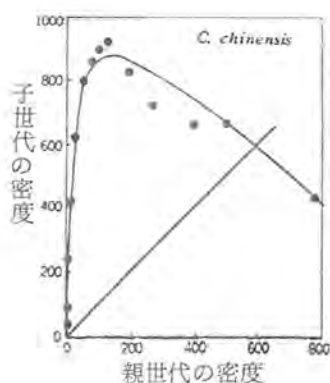


図8 アズキノゾウムシの親世代と産卵数との関係（内田）

とは別のものであって、しばしば、最適条件が相反していることが知られている（図-8）。このことは、生物がもつ、この2つの基本的属性の調節機構が異なることを示唆しており、今後、検討すべき重要な問題である。

現状では、集団レベルで独自になされた老化の研究はきわめて少ない。ここで述べた多くは、個体群生態学などの知見に頼っている。生物の生命の維持と種属の維持という2面性をもっていて、しかも、それぞれの利害が反することが多い。集団の問題は



種属の維持との関連から、古生物学や集団遺伝学からの知見や、生物社会の発達や、生活史、生殖様式、さらに、集団がその属する個体へ与える影響の生理学的乃至は心理学的研究など、多くの問題をかかえている。

## 討 論

○山中太木(大阪医大)： 私共バクテリアを取扱ってしまして、これほど大きな集団はないと思います。genetic controlな面でも色々な材料になると思います。普通寒天培地上できれいな紫色のコロニーを作る *Chromobacter violaceum* の如きは普通寒天培地では数日中に死滅するが、これに glucose, cystine と僅かな Yeast extract を加えると1ヶ月～2ヶ月の生存をつづけます。環境生理学の面から大切なことであると思います。また平板培地に沢山の菌数を移植しますと個々の菌同志は互に制約をうけてあまりよく成育をしないが、一定範囲内で数を少く移植してまばらに発育させると数十倍の大きさのコロニーを作ります。個体と集団との factor は目に見えないものとしてまだまだ沢山の問題があると思います。

## 総 合 討 論

○鈴木 肇之(東海大)： collagenとか elastinとかは化学的に割合よくわかっている蛋白です。そこであかいたいのですが、単なる量の増減から少しひろげて、コラーゲンがふえるということは、コラーゲンを産生する分化した細胞がふえるのか或いは減るといのはそういう細胞が減少するのか。それからコラーゲンに crosslinkができるというのがコラーゲンのアミノ酸とどういうアミノ酸の間に出来るか。これらの点について cellular levelや tissue levelの方々と一しょに、discussionしたい。

○鶴藤 丞(東北大)： 同じ細胞間物質のグループに班員としていらっしゃる、永井先生の御意見を。

○永井 裕(東京医歯大)： 逆に鈴木先生に質問をもどすことにもなるのですが、細胞外の成分、たとえばコラーゲンについてみると fibroblastの場合細胞の ageと共に geneの expressionが変って行くという事実が知られています。ですから同じコラーゲンをながめていまして ageと共にコラーゲンのタイプがだんだん変って行くとしますと、細胞培養のもとである特定の何かを目安に ageをへたものと、へないものを比較して多い少いを論ずることはあまり意味がないこととなります。老化の仕事をする場合には、細胞の広い範囲の geneの老化というか順々に変っていくものを測定する手段を持たないと、本当の細胞の老化との関係がわからないのではないかと考えます。コラーゲンの場合、軟骨では Type II ( $[\alpha_1(\text{II})]_3$ )からできておりますが、最近の Ted Millerらの培養細胞を用いた報告によりますと経代培養とともに Type II  $\rightarrow$  Type I ( $[\alpha_1(\text{I})]_2 \alpha_2$ )と変化し分裂能がなくなる時期になると  $[\alpha_1(\text{I})]_3$  という abnormalな typeのコラーゲンを産生するようになるとのこと。同様の現象はある種の関節疾患でも観察されています。又コラーゲンが組織に沈着していくについては沈着を促進するような酸性ムコ多糖の polymorphismというかムコ多糖の合成系の酵素活性に変動がおこってヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸、次いで dermatan硫酸、と変化していきます。これらのムコ多糖産生はいずれも関連していて dinucleotide-sugar レベルでの酵素系のどこが活性化されるかによりヒアルロン酸からコンドロイチン硫酸というように形質発現が変ってきます。従って現象として matrixのある特定の成分のみに注目して ageと共にふえる、へるという議論をしているだけでは細胞の老化を正確に把握する事は出来ないこととなります。つまりある望ましいと思われる細胞を使って DNAのレベルで、またある単一の酵素活性を目

安に、多かった、減った、あるいは耐熱性があった、なかったという議論をしているだけでは、十分老化を理解することはできないように思います。

○田内 久(名大)： 老化の研究というのはまだ非常に幼稚な段階で、まだいろいろ御意見をいただかなければならないと思っています。

○高井克治(京大医化学)： 好奇心からですが“chalone”という概念は現在どの程度具体的になって来たのですか。

□山口武雄(放医研)： 実際に chalone を扱って居りますが、私の扱っているのは表皮系の chalone で、皮膚を組織培養しまして、(器官培養)それに、細胞週期上の G<sub>2</sub> から、M 期にはいるところを押える chalone と、G<sub>1</sub> から S 期即ち DNA 合成期にはいるところを押さえる chalone を夫々 cephadex G-100 で分離し、それらが夫々実際にアドレナリンを co-factor として必要とする(必要とする度合が違います)ということも迄押さえて居ります。今までしらべられた全ての組織について、文献的には chalone の存在が示唆されて居りますが、これがすべて同じような実験的精度をもって、確認されているわけではありません。これらのものは monograph としていろいろな本が出て居りまして、一応存在が support されているというのが現状でありますけれども、その本態については epidermal chalone が一番よくしらべられて居ります。あとは血球系の chalone、たとえば granulocyte chalone といったものが良くしらべられているというのが現状であります。ある種のものについては分子量も同定されて居ります。

○高井： それはおのおの多様なものなのですか。明確なある物質のことでしょうか。

□山口： 実際に抽出された物質として存在するという事です。定義としましては従って、組織特異性で、しかも内因性の増殖抑制物質をさしているのです。

○田内： まだ中には、具体的にはっきりしたものではないと考えている人もあります。将来このような考えが具体的な事実としてはっきり出来るかどうかは問題でもありましょう。

○松村外志張(東大医科研)： 黒田先生におうかがいしたいのですが試験管内の培養細胞の分裂増殖に限界がある、という事が臓器組織の老化の研究の一つのモデルである。人細胞の場合分裂増殖に限界があるということと human diploid cell という言葉とほとんど同意義に使っているわけですが、分子、あるいは細胞遺伝学的立場から、正 2 倍体であるということ、それからその分

裂増殖に限界があるというその2つの事がどのように対応しているのか、その基礎はどのように確立しているのか、をうかがいたい。

□黒田行昭（遺伝研）： ヒト2倍体細胞で寿命がある細胞というのは、種々の臓器由来の細胞をとって、染色体のレベルでいわゆる核型分析を行ない、染色体の数、形の検索がやられて居りその限りでは、もとの正常の2倍体の細胞と同じものをもっているといえます。ただしハムスターの細胞ですと2倍体の核型をもちながら、寿命がない、つまり無限に増殖するという例もありまして、核型の上で正常2倍体を維持しているということと、寿命があるということは、動物の種類によっては必ずしも対応しません。

目にみえないDNAの分子レベルでの変化ということもあるわけでその点がさらに検討しなければならないことだと思います。

○松村： そうしますと、可能性としてはDNAの量に誤差が蓄積して行くという事ではなくて、gene expressor の control として細胞の分裂が停止するという可能性を考える余地も残されているわけですね。

□黒田： そうですね。

○田内： 今日のシンポジウムの題目は、研究の現状と今後への展望という事でございますが、これをまとめて、皆さまの御批判を得なければと存じますが、時間もございませんし、この前の8月18日のシンポジウムでは各レベルでの専門の方々にお話をさせていただきました、そのあとに総合討論をもちましたがそのときに、老化の研究というのは群盲象をなでる如しであるという御意見もございました。あれから半年近くたちまして、今日の話を受けて居りますと群盲が少し薄目をひらいたところで、ここで結論を出しますと又大きな間違いを仕出かす恐れもあると存じます。もう少しパッチリとしたところで最後の結論を出しますのをたのしみに本日はこの辺で終らせていただきます。

長時間のご協力ありがとうございました。



## 「老化の基礎的研究」班のあゆみ

1. 昭和49年度文部省科研費、総合研究 B「老化の基礎的研究の問題点とその研究体制」（代表者：菅原 努）
  - 49年10月11日：「老化研究班通信」 No.1 発行
  - 50年1月16日：「老化研究班通信」 No.2 発行
  - 50年3月10日：「老化研究班通信」 No.3 発行
  - 50年7月25日：「老化研究班通信」 No.4 発行
2. 昭和50年度文部省科研費・総合研究 B「老化の基礎的研究の問題点と研究推進の方策」（代表者：太田邦夫）
  - 50年11月2日：シンポジウム「老化の基礎的研究」 第1回 記録
  - 51年3月6日：シンポジウム「老化の基礎的研究」 第2回 記録
3. 昭和51年度文部省科研費・特定研究「生体老化の基礎的機構」（代表者：田内 久）
  - 51年8月18日：シンポジウム「老化の基礎的研究」 第3回 記録
  - 52年2月2日：シンポジウム「老化の基礎的研究」 第4回 記録