

シンポジウム

老化の基礎的研究 (第5回)

講演記録

文部省科研費特定研究「生体老化の基礎的研究」班

(代表者 田 内 久)

日本学術会議癌研連老化分科会

(委員長 山 形 徹 一)

昭和52年8月7日

於 東京都千代田区霞ヶ関ビル 東海大学校友会館

シンポジウム

老化の基礎的研究（第5回）

老化の基礎研究と早老症および修復欠損症

— 現 状 と 意 義 —

目 次

代表者あいさつ .....	研究班代表者 田 内 久 .....	1
	分科会委員長 山 形 敏 一 .....	1
座 長 菅 原 努 ・ 武 部 啓		
歴史と展望 — オーガナイザーとして — .....	鈴木 肇 之 .....	3
1. 早老症および修復欠損症の種類と特徴 .....	佐々木正夫 .....	5
2 a. Werner 症候群における老化現象の臨床的研究 .....	中尾 実 信 .....	11
b. Werner 症候群における皮膚所見について .....	大城戸宗男 .....	32
3 a. Progeria 及び Werner 症候群の病理形態学 .....	細 田 泰 弘 ・ 石 井 壽 晴 .....	36
b. 早老症及び修復欠損症の細胞増殖能 .....	嶋 田 裕 之 .....	43
4 a. Werner 症候群培養細胞における老化の細胞・ 分子機構 .....	藤 原 美 定 ・ 東 川 俊 昭 ・ 巽 真 理 子 .....	52
b. Werner 症候群患者組織の DNA ポリメラーゼ .....	吉 田 松 年 ・ 山 田 真 千 子 藤 原 美 定 ・ 森 田 敏 照 .....	55
〔追加〕 Werner 症候群患者皮膚 fibroblast の コラーゲン産生能について .....	田 島 知 行 .....	62
総 合 討 論 .....		67
閉 会 .....		67



## 代表者あいさつ

愛知医大

田内 久

只今からシンポジウム「老化の基礎的研究」を始めます。このシンポジウムは特定研究「老化の基礎」班と学術会議癌研連老化分科会との共催でございます。最初に老化分科会の山形委員長からも御挨拶をいただくわけですが、御都合が悪く、メッセージを送っていただきました。

それをよませていただきます。

挨拶

山形 敬一

日本学術会議は日本学術会議法に基づき、「わが国の科学者の内外に対する代表機関」として設置された国の機関で、「科学の向上発達を図り、行政、産業および国民生活に科学を反映浸透させる」という目的を達成するために、①「科学に関する重要事項を審議し、実現を図る」、②「科学に関する研究の連絡を図り、その能率を向上させる」という職務を行っています。①の職務のために6常任委員会、10特別委員会があり、②の職務のために58研究連絡委員会があります。研究連絡委員会（研連と略称される）の会員は1,215名ですが、総定員法の枠のために、会員数の増加がなかなか認められず、②の職務の達成がきわめて困難な状況になったので、既存の研連のほかに、分科会や研究連絡会を置くことになり、医学、歯学、薬学の会員から構成されている第7部の世話担当の研連は6研連であったが、第10期においては4分科会と4研究連絡会を新設することになり、太田邦夫博士が委員長となっている癌研究連絡委員会のなかに老化分科会が設けられ、第7部長である私が委員長となりました。

研連というのは、(1)国際学術団体に対応するなどの国際研究連絡、(2)国内の学協会、研究者等との連絡、(3)その分野の研究将来計画（研究プロジェクト、研究所等）の策定、の仕事にあたる常置の委員会であるから、老化分科会としても、これらの仕事を行うべきであるが、ことに後二者が最も重要と考えます。これらの目的達成のため、老化分科会としては日本学術会議を通して文部省科研費特定研究「老化の基礎的研究」を推進し、また、シンポジウムを開催して学者間の意見の交換、調整を行っております。

本日開かれました第5回シンポジウムもそういった趣旨によって行われるものであります。本日のシンポジウムが老化研究の進歩に役立つことを堅く信じ、さらに新しい知見の開発を希望いたし

ます。

一言挨拶の言葉とさせて頂きました。

つづいて、特定研究班の代表者として御挨拶をさせていただきます。

今日のシンポジウムは本年度としては第1回でございますが、太田班のときからひきつづいて第5回となっております。本日は特別に早老症候群を中心としまして鈴木先生にorganizeしていただきました。この内容につきましては十分御理解をいただいていると思いますが、老化の基礎的研究と致しましては大へん示唆にとむ内容が次から次へと出てくると思います。どうか活発に御討論いただきまして、本会の目的に御協力下さいますようお願い申し上げます御挨拶といたします。

## 歴史と展望

— オーガナイザーとして —

東海大・医

鈴木 撃 之

大腸菌 B 株は古来生物学や生化学の領域で広く世界中で実験材料として使用されてきている。放射線生物学においても例外ではなく、「放射線によって細胞はなぜ死ぬか？」という命題に解答を与えるべく多くの研究者がこれを用いて研究を行ったが長い間その答はでてこなかった。しかし解決へのひき金が 1958 年 Hill によりまずひかれた。彼女は B 株から放射線に高感受性の突然変異体を見つけたのである。すなわち、放射線に対する感受性が遺伝子支配を受けていることがわかった。第二弾は 1964 年の Setlow らの研究である。彼らは紫外線照射により DNA に生成したピリミジン・ダイマーが、親の B 株では培養中に低分子量物質として DNA から遊離するのに対し、Hill が見つけた高感受性変異体ではいつまでも DNA に留まっていることが明らかになった。彼らの言葉で言えば抵抗性の高い親株では DNA に生じたエラーすなわちダイマーが修復されるが、突然変異体はこの機構を欠くために傷が残留し細胞の増殖を阻害する。

このいわゆる「除去修復」の発見以来約 10 年の間に修復への関心は急速に高まり研究も進歩した。とくに大きな問題はバクテリアで見付かった事実が高等動物ことにヒトの場合どうだろうかということであった。これに関し二つの大きな発見があった。第一は 1968 年に Cleaver が Xeroderma pigmentosum というまれな遺伝病患者の細胞は、正常人の細胞と異なりピリミジン・ダイマーを除去し得ないことを見付けたことである。第二は Epstein らの研究で、Hutchinson - Gilford progeria syndrome というごく珍しい遺伝疾患患者の細胞は、X 線照射で生じた DNA 鎖の切断を再結合できないことを見出したことである。この結果に対しては反論もあるが、この疾患が幼若にして老人の性格を示すことで知られているだけに、老化と修復との関係でにわか注目されるようになった。

いっぽう老化についてはその原因が染色体への「aging hit」に由来するという考え方が 1959 年に Szilard により提出されており、さらに 1963 年から 1971 年ごろにかけて加齢に伴い染色体異常や DNA の鎖切断が起こるという事実が Curtis らや Makinodan らにより見出された。かくて老化現象が DNA の変化、すなわち損傷の蓄積によるのではないかという説が浮びあがりそれを実証しようという試みがなされてきた。現在まだ aging hit が何であり、どういう DNA の変化であるか、またほんとうに aging hit があるのか、何も証明されていない。しかし人間の長い—

生の間には、神経や心筋などの非分裂組織の細胞においてはDNAに経時的に何らかの変化が起こることは予想され、またその変化が通常の場合修復されるであろうことも想像される。いずれにしても修復を通じて老化と放射線が関連を持つようになり、そこに修復異常を伴うと思われる遺伝疾患および早老症が注目されるようになった。

前にあげた *X. pigmentosum* の患者は紫外線に対して感受性が高いだけでなく発癌の傾向が強い点に問題がある。progeria と Werner 症候群は発症の時期が異なるがいずれもいわゆる早老症である。しかしDNA損傷の修復欠損に関してはまだよくわからない点が多く今後の問題である。

放射線の晩発効果の一つに寿命短縮の現象が知られている。寿命短縮はすなわち加齢の促進で、加齢がDNA損傷の蓄積によるならば損傷の修復は加齢を遅らせるはずである。このように概念的には修復と老化の因果関係がクローズアップされてはいるが実験的証拠には乏しい。その乏しい中でとくに注目されているのが progeria と Werner syndrome である。臨床的には早老症であってもこれがほんとうにDNA損傷の修復欠損に由来するかどうか、これが当面の大きな課題である。マウスやラットのような実験動物には、最長寿命の異なる系統はあっても突然変異体は知られていない。人の患者さんに対する所見が珍重されるゆえんである。

## 1 早老症および修復欠損症の種類と特徴

東医歯大・難研

佐々木正夫

ヒトにおいて老化に伴う現象は別として、老化の機構の研究は必ずしも容易でない。老化の機構に関しては多くの仮説が提唱されているが、中でも老化の体細胞突然変異説は、最近ヒトの中にも突然変異生成に関する変異体としての遺伝疾患が急速に注目されだしており、実際にヒトで検討することが可能となった魅力的な仮説である。老化という現象を突然変異によってもたらされるゲノム制御下にある機能的統一からの逸脱による機能不全と考えると、同様に体細胞突然変異説が有力である癌化という現象と極めて類似しているといえよう。現に、癌の発生率と年齢との関係には密接な関係があること、培養細胞系で crisis period と細胞の transformation が時期を同じくしていること、X線照射による寿命の短縮など老化と癌化が表裏をなす現象であることを思わせ興味深い。ヒトにおける error-proneあるいはDNA修復欠損による遺伝疾患の研究は最近急速に発展しつつある。発癌の体細胞突然変異説に従えば、そのような疾患は高発癌性として知られる遺伝疾患が有力な候補であり、1968年に Cleaver により色素性乾皮症でDNA修復欠損が証明されて以来、多くの癌関連遺伝疾患についてDNA修復能や高発癌性の遺伝素因に関する研究が行われている。発癌の要因は多岐にわたり、これらの試みから果してどれだけの疾患がDNAの複製・修復・組み換えなど突然変異生成に直接関係するDNAの基本代謝に関連したものとして明らかとなるかは不明であるが、既に多くの疾患でその可能性が示唆されていることは注目に値する。DNAの複製・修復異常は突然変異生成に密接に関連しており、ヒトにおける突然変異(その指標としての発癌)の遺伝素因の解明は、体細胞突然変異としての老化の研究に重要な資料を提供するものと思われる。

遺伝疾患の中にあつて、仮にそれがヒトにおける老化の単純な縮図ではないとしても、progeria, Werner 症候群は老化の原型として、その病因の解明は重要な課題である。また、Cockayne 症候群、Rothmund-Thomson 症候群も類似疾患として老化の機構の解明に重要な示唆を与えるであろう。しかもこれらの疾患が単純劣性遺伝によるものであるということは老化現象発現に関する或る種の key enzymes を想像させるものである。現在その遺伝子が何の酵素に関係したものであるか不明であるが、それが解明されれば老化の機構の研究は大きな飛躍をするであろう。

他の一群の疾患は自然状態で癌の発生率が異常に高い疾患である。これはヒトにおける体細胞突然変異と関連してその病因の解明が俟たれる。現在では主としてDNAの複製・修復能の面から検



討が進められているが、老化研究におけるこの種の研究の重要性は、特に老化とDNA複製・修復能の直接的関係を想定することにおいてではなく、体細胞突然変異としての老化に関する基礎的研究の面からである。突然変異の蓄積、あるいは stem cell での key enzyme の変異、それに関係する mutable gene の係り合いなどヒトにおける老化の体細胞突然変異説を検討する上で恰好の素材を提供するであろう。ヒトにおいてそのような高突然変異に関する遺伝要因に関して最もよく知られているものに色素性乾皮症がある。この疾患はDNAの除去修復能の欠損によるということが既に明らかとなっている。現在では他の疾患に対してもDNAの複製・修復の面から検討が進められており、複製・修復に異常が示唆されている疾患が次第に多くなってきた。例えば、Bloom 症候群、Fanconi 貧血症、ataxia telangiectasia、Cockayne 症候群、progeria、第13染色体の長腕欠失による retinoblastoma などがそれである。私どもは、DNAの複製・修復欠損によるDNA上の構造変化は染色体に反映されるということ、並びに染色体の構造変化は突然変異と並行した現象であるという考えから、高発癌性で知られる遺伝疾患患者の細胞で自然状態での染色体変異および各種のDNA損傷に対する染色体の反応（特に感受性）を調べている。現在までの結果を表1に要約して紹介する。染色体がある特定の損傷を与えた場合にのみ特異な反応（+++ 高感受性、- 正常の感受性）を示す疾患があり、既に知られている色素性乾皮症以外にも修復欠損による遺伝疾患が存在することを強く示唆している。表1には同時に未だ検討する機会を得ない疾患も併せて挙げてあるが、今後更に多くの疾患について検討することにより、ヒトにおけるDNA複製修復欠損ならびにそれと体細胞突然変異の関係を解明する手掛りが見つかるものと期待している。勿論、DNA複製・修復欠損自体が直接に老化現象と関係するものではないにしても、ヒトの癌化の機構の解明にそれが重要な役割を果しているように、体細胞突然変異としての老化を検討する上にも重要な資料を提出するものと思われるし、またヒトの老化の機構をバクテリアで研究するための重要な橋渡しとなり、老化の分子機構を突然変異の面から検討する場合の重要な足がかりとなるであろう。

## 討 論

○鈴木孝之（東海大・医）： 只今染色体にいろいろ変化の来る場合をみせていただいたわけですが、どれかの染色体に、特に変化がきやすいという事があるのでしょうか？

□佐々木正夫（医歯大 難治研）： sisterchromatid exchange に関しては、一応長さに比例するといわれています。特異的に何番目におこるとい事はないようです。



TABLE 1. SOME CYTOGENETIC CHARACTERISTICS OF RARE HEREDITARY DISORDERS PREDISPOSING TO CANCER

Hereditary disorders	Heridity	Microsomy	Sun-sensitivity	Cancer	Spontaneous chrom. SCE aberr.	Chromosomal sensitivity to γ-ray UV MMC MMS 4NQO	Cases studied
Xeroderma pigmentosum (De Sanctis-Cacchione syndrome)	a.rec.	±	+	+	±	- +++ - - +++	3
Xeroderma pigmentosum (Variant)	a.rec.	-	+	+	-	- - - -	2
Bloom syndrome	a.rec.	+	+	+	+++	- - - -	1
Louis-Bar syndrome	a.rec.	+	-	+	++	+++ - - -	2
Fanconi syndrome of pancytopenia	a.rec.	+	-	+	+++	- - +++ -	9
Cockayne syndrome	a.rec.	±	+	?	(-)	- - - -	0
Rothmund-Thomson syndrome	a.rec.	+	+	+	-	- - - -	0
Hutchinson-Gilford syndrome (Progeria)	a.rec.?	+	-	?	-	- - - -	1
Werner syndrome	a.rec.	+	-	+	-	- - - -	1
Chediak-Higashi syndrome	a.rec.	-	+	+	-	- - - -	0
Cole-Engman syndrome (Dyskeratosis congenita)	X.rec.	-	-	+	-	- - - -	1
Wiscott-Aldrich syndrome	X.rec.	-	-	+	-	- - - -	0
Recklinghausen disease (Neurofibromatosis)	a.dom.	-	-	+	-	- - - -	1
Familial polyposis coli	a.dom.	-	-	+	-	- - - -	14
Peutz-Jeghers syndrome	a.dom.	-	-	+	-	- - - -	6
Gardner syndrome	a.dom.	-	-	+	-	- - - -	3
Acanthosis nigricans	a.dom.?	-	-	+	-	- - - -	1
Maffucci syndrome	a.dom.?	-	-	+	-	- - - -	0
Basal cell nevus (carcinoma) syndrome	a.dom.	-	-	+	-	- - - -	0
Bourneville-Pringle syndrome (Tuberosus sclerosis)	a.dom.	-	-	+	-	- - - -	0
Retinoblastoma (hereditary)	a.dom.	-	-	+	-	- - - -	0
Incontinentia pigmenti	X.dom.	-	-	?	+	- - - ?+	3

○菅原 努(京大・医)： chromatid break のときはどうでしょうか。

□佐々木： これも一般的にいうと長さに比例します。しかし部分的にいうと heterochromatin のところに多いという不均一性が知られております。

○大橋望彦(都老人研)： 早老症が、決った遺伝的な原因によっておこるといようなお話でしたが、Werner とか progeria の場合には発癌率が高いといわれていますが……。

□佐々木： progeria では発癌率が高いという事はわかっていません。

○大橋： 例えばいま Werner, progeria と発癌とを考えると、同じ遺伝的な機構であるという事になるとおかしくなる progeria はこうだ、発癌はこうだというはっきりしたものがあるといいのですが、今の話で、Xeroderma pigmentosum のとき、これは早老症の方に関係しているという事と、これは発癌と関係しているという事が、はっきりわけて suggest 出来るものでしょうか。

□佐々木： 私が話したのは老化に対する一つの仮説としての somatic mutation という現象をここに置いて、一方のあらわれは癌である、一方の現れは老化である。ある突然変異によって起った形質に対し Dr. Burnet のいっている細胞レベルにおける Downism のようなものがあるとか、あるいは clonal selection とか forbidden clone とかそういう機構も考えられるでしょう。その発現という、それは又別だと思います。私が Werner, progeria で興味があるのは、それらが劣性遺伝疾患であり、one gene— one enzyme system を考えると、やはり何か “key—enzyme” というものが関係してくる、それがどのように動いてくるかはわからないが、何が総合的に進むという事はなくてもいいように思われる。

○大橋： Werner の場合、細胞の培養継代が、in vitro で悪いようですね、それは発癌という事のような基盤となるような事はそのときの状態ではおこっていなかったとするのでしょうか。

□佐々木： わかりません。これから研究することです。

○武部 啓(京大・放生研センター)： XP の場合と、Werner との間で、一つの大きな違いがあると思いますのは、XP のときは、生まれて来たときに、たしかに repair enzyme がないのですが、それ以外に関しては全く正常で、それ以後の症状の変化というのは、外から紫外線があたるといふ外的要因があってはじめて出てくる。普通の人間でおこっていることがよりつよくおこってくる。

私の印象では、今問題になっている、老化に関係しているという病気は、別に紫外線にあたらな

くても本質的に病気は進むと考えられます。そこで、御指摘の色素性乾皮症で発癌率が高いということと Werner で高いという事は、本質的には別だと思えます。XP では外的要因が加わってから  
の事で生まれたときは同じであったと思えます。

□佐々木： 発癌の原因にはいろいろありますが Werner の場合は、別の方から考える必要も当然あるでしょう。

○大城戸宗男（東海大・医）： リストにのせられたものはすべて早老病とか修復病とかにはいるものですか？

□佐々木： そうでなくて、いわゆる修復欠損という事と mutation というのは非常に関連が深いのではないかという一つの仮定と、mutation というもので我々が pick up 出来るのは癌であるという考えにしたがって、遺伝的に癌が非常に発生し易い疾患をまず洗う、そして、逆に、その修復欠損を検討しようという事で癌の発生率の高いものをあげたのです。

○大城戸： 臨床的に、今あげられた病気は、早期には非常に診断しにくい病気許りだと思うのです。XP や Werner は診断が簡単だと思うのですが、報告が少いというのは見落としがあると思えますか。

□佐々木： 大へん稀であるということも一因かと思えます。

○大城戸： のりかえ現象とか、chromosome をしらべていただいて、ataxia teleangiectasia の可能性があるとか返事をいただくことができますか。少くともどの疾患か見当はずづつのですか。

□佐々木： いろんな面から検討して、spontaneous に chromosome に breackage があるかどうか、特異的な染色体異常が存在するかなどといった事もみるのであります。または、薬物とか放射線に関して、その疾患特有の反応を示すかどうか、他の病気と比べてどうであるか、というような事を調べるわけです。それによりある程度の事はわかります。

○大城戸： Incontinentia pigmenti は珍しくもない病気で、chromosome を時々しらべるのですが異常がない。この chromosome の変化は spontaneous にみられるのですか。

□佐々木： やや高いというだけです。Fanconi というように殆どすべての細胞にもっているというのではないのです。常に正常の人より高い、10才以上になると色素は消えてしまう。遺伝子は母親ももっている筈であって実際にお母さんの chromosome にも spontaneous breakage



の頻度が高いというフランスの報告があります。

○大城戸： 何故それを早老病に入れられるのですか。

□佐々木： そういう意味であげたのではなくて、いわゆる spontaneous breakage が高いという意味で何か DNA の metabolism に関係した疾患ではないかという意味であげたのです。

○黒田行昭（遺伝研）： 今のいろんな疾患の場合は、細胞学的に chromosome の異常が、spontaneous に、あるいは薬物、放射線によっておこりやすい特徴があるのですが、enzyme とくに repair enzyme に関連する事が多い。正常細胞ですと、臓器によって色々 enzyme の違いがあります。今培養なさっているのは skin とか血液細胞ですが embryo からとった場合、色々な臓器によって repair enzyme の違いというのがあるはずで、細胞の種類によって薬物や放射線に対する response の違いが出てきますか。

□佐々木： 実際には細胞のタイプによる違いは十分考えられることと思います。

今のデータは、染色体は血液細胞、細胞の感受性は fibroblast でみえています。

○太田邦夫（都老人研）： 老化現象について、どの水準でパラメーターをとるかという事はむずかしいと思いますが、今のような遺伝学的な研究から、つまり臓器特異的な senescence というものをマーカーにする事が出来るのかどうか、という事をうかがいたい。

片方ではどうして死ぬのか、機構のわからない死の時点を parameter にして life span をみている、臓器特異的な senescence というものを各々 syndrome 毎に決めて行く事がよいかどうか？ 又可能かどうか？

□佐々木： 形質の発現というものは分化に関係している。どういう遺伝子のどのような defect といったようなものに関連したものであって、全細胞は同じ遺伝子をもっているけれども、ある部分に疾患としての変化が現れるということなどは、いわゆるその細胞の分化と関係がある。その遺伝子の部位が depress されるような臓器あるいは組織であれば効果は出て来ない。

もう一つは、人間の場合 hetero の人というのは重要である。一人当たり2個以上の悪質の遺伝子に対して hetero になっている。また、体の中の細胞には、体細胞組みかえ現象というチャンスがあり、体細胞組みかえによって homo になると、degenerative な変化にむすびつく可能性もあると思われる。

## 2a. Werner 症候群における老化現象の臨床的研究

神戸大・医

中尾実信

### はじめに

いわゆる早期老化症候群 (premature aging syndrome) と呼ばれる遺伝性の疾患群がある (表1)。これらの疾患は今日老化研究のモデル疾患として注目されているにもかかわらず、原著における記載はきわめて客観的で白内障や皮膚の scleroderma 様病変を中心としたものであった。歴史的に観ると、1868年に Rothmund により報告された<sup>1)</sup>白内障と皮膚の斑紋様硬化を認める5歳の少年例が最も古いものとされている。1936年 Thomson<sup>2)</sup>により Poikiloderma congenitale として総説され Rothmund-Thomson 症候群と命名されている。しかし、老化様病変が顕著なのは Hutchinson (1888年)<sup>3)</sup> および Gilford (1904年)<sup>4)</sup>により記載された progeria (Hutchinson-Gilford 症候群) と Werner (1904年) に報告され<sup>5)</sup>、Thannhauser<sup>6)</sup>により独立した疾患として明確化された Werner 症候群が代表的な疾患といえよう。この他にも皮膚の老人様変化を来す疾患として Gottron (1940年)により報告され<sup>7)</sup>た acrogeria や Gilkes ら (1974年)<sup>8)</sup>による metageria をふくめることもある。いずれにせよ、早期老化症候群という病名は誤解を生じやすく、正常の老化現象が単純に加速短縮された疾患ではない。Werner 自身、老人様顔貌について記載しているが、すでに外胚葉由来組織の病的異常に起因するものと考えていたようである<sup>5)</sup>。病像より受ける主観的な印象によるのではなくして、正常の老化と遺伝性疾患としての早期老化症候群で観察される“老化様現象”との相違を客観的に検索していくことが重要であろう。すなわち、Werner 症候群における“老化様現象”の病因を解明することにより、老化の本態に迫る手がかりが得られるものと考えられる。

1868	Rothmund	Rothmund's Syndrome
1888	Hutchinson	Hutchinson's Syndrome
1904	Gilford	Hutchinson-Gilford Syndrome (Progeria)
1904	Werner	Werner's Syndrome
1923	Thomson	Rothmund-Thomson Syndrome (Congenital Poikiloderma)
1945	Thannhauser	delinated three syndromes
1974	Gilkes et al	Metageria

Table 1 早期老化症候群報告の歴史

### 症候群の臨床像

progeria から Werner 症候群を独立疾患として明確化した Thannhauser の診断基準(表 2) と鑑別診断表(表 3)を示すことにより、Werner 症候群の臨床像の概略を理解いただけると思う。Epstein ら<sup>9)</sup>がこの病像に合致する 125 例の本症について詳細に総説しているので原著を参照していただきたい。この中で Epstein も正常の老化現象と Werner 症候群における老化様症状との相違を対比させている。類似する所見として;(1) atherosclerosis および arteriosclerosis を来すこと(2)白髪化および脱毛(3)皮膚付属組織の萎縮(4)メラニン色素沈着(5)睪丸の硝子様変性と萎縮(6)骨粗鬆症(7)大脳皮質の萎縮(8)心弁膜の石灰化(9)大脳皮質の萎縮(10)リンパ組織の萎縮などを列挙している。老化と異なる所見として;(1)白内障の性質が dystrophic type であること(2)四肢の萎縮や皮膚の潰瘍が頻発し、重症である。(3)低身長であること(4)喉頭の萎縮などにより音声に独特な変化を来すこと(5)肉腫や meningioma が好発する(6)軟部組織の石灰化が好発することなどを指摘している。著者はこれに(7)アミロイドの沈着あるいは amyloidosis の合併がない(8)免疫機能は比較的保たれていることなどを追加してみたい。根拠については後述する。

我々は表 4 に示すように三例の本症を経験した。症例報告は別に報告する予定であるので<sup>10)</sup>、臨床検査成績(表 5)と内分泌機能および免疫機能に関する臨床研究についてのみ報告しておきたい。

- 1) shortness of stature with a characteristic habitus
- 2) canities (premature graying of the hair)
- 3) premature baldness
- 4) scleropoikiloderma
- 5) trophic ulcers of the legs
- 6) juvenile cataracts
- 7) hypogonadism
- 8) tendency to diabetes
- 9) calcification of the blood vessels
- 10) osteoporosis
- 11) metastatic calcifications
- 12) tendency to occur in brothers and sisters

Table 2 Principal Characteristics of Werner's Syndrome



Symptoms	Werner's Syndrome	Rothmund's Syndrome	Cataracts Dermatoses with Neurodermitis	Progeria of Children with Nanism	Myotonic Dystrophy	Ectodermal Dysplasia with Dystrophy of Hair and Nails
Heredofamilial occurrence	+++	+++	±	0	++	+++
Age at the beginning of disorder	20-30 y	3 mo.-3 y	8-20 y	2-5 mo.	20-30 y	shortly after birth
Shortness of stature	+++	+	0	++++	±	0
Skin changes	++++	++++	++++	+	+	++
a) Tightly drawn over underlying tissue	++++ 20-30 y	0	0 1-20 y	+	± 20-30 y	0 shortly after birth
b) Atrophic and thin skin	++++	++	++	++	++	+
c) Telangiectases	+	+++ 3 mo.	0	0	0	0
d) Scaling	++	++++	++++	+	0	0
e) Pigmentation and depigmentation	+	+++	++	+	+	0
f) Ulcers	++++	0	0	0	+	0
Candities of scalp hairs	++++	±	0	++++	+++	Bald
Age	20-30 y	40 y		2-5 mo.	20-30 y	
Sparse sex hairs	+++	++	0	+++	+++	0
Muscular atrophy on distal Parts of extremities	+++	±	0	+++	+++	0
Atrophy of the subcutaneous fat tissue	+++	±	0	+++	+++	0
Bilateral cataracts	++++ 20-30 y	++++ 3-4 y	±	0	+++ 20-30 y	0
Diffuse arteriosclerosis	+++	±	0	++++	++	0
Osteoporosis	+++	0	0	++	+	0
Joint deformities	+++	+	0	+++	+	0
Thyroid	+	0	0	0	+	0
Proptosis	+++	0	0	+++	0	0
Sexual underdevelopment	+++	++	0	+++	+++	0
Myotonic reaction	0	0	0	0	++	0

Table 3 早期老化様症候群の鑑別診断

	Case 1 (40,F)	Case 2 (38,M)	Case 3 (30,M)
Heredity	Intermarriage	Intermarriage	N. P.
Age of Onset	21-30	11-20	21-30
Growth and Stature			
Shortness	+	+	-
Weight loss	+	+	+
Skin			
Hyperkeratosis	+	+	+
Soft tissue atrophy	+	+	+
Ulceration	-	-	+
Eyes			
Cataracts	+	+	+
Hair			
loss and graying	+	+	+
Voice			
thin, high-pitched	+	+	+
Bone			
Osteoporosis	+	+	-
Calcification	-	-	-
Reproductive Organs			
Hypogonadism	+	+	+
Diabetes mellitus	-	-	-
Neoplasia	Thyroid adenoma	Meningioma	-
Infection	Hepatitis Cystitis	Hepatitis Cystitis	Hepatitis

Table 4 Werner 症候群自験例の臨床像

## 臨床研究の方法

### 1. 内分泌機能検査

#### (a) 下垂体機能検査

##### 1) 成長ホルモン (HGH) 分泌機能

(1) インスリン負荷試験: regular-insulin 0.1U/kg を静注し、0, 30, 45, 60, 90, 120 分の血漿 HGH 値を Schalch and Parker の二抗体 radioimmunoassay 法<sup>1)</sup>で測定した。同時に血糖値を測定し、十分な低血糖が得られたことを確認した。

(2) アルギニン負荷試験: 塩酸アルギニン 0.5g/kg を 30 分間かけて点滴静注し、0, 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120 分の HGH 値を測定した。

(3) propranolol-insulin 負荷試験: propranolol を 0.2mg/kg 500ml の生理食塩水に溶解し、2 時間にわたり点滴静注した。propranolol 点滴開始後 30 分に regular insulin 0.1U/kg を静注した。採血は 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120 分で行い、HGH 値を測定した。

2) 黄体ホルモン (LH: Lutenizing hormone) および卵胞刺激ホルモン (FSH: Follicule stimulating hormone) 分泌試験: LH-RH 100 µg を静注し、0, 15, 30, 60, 90, 120 分の血漿 LH および FSH 値を二抗体 radioimmunoassay で測定した。

3) 甲状腺刺激ホルモン (TSH: Thyroid stimulating hormone) 分泌試験: TRH 500 µg を静注し、0, 15, 30, 60, 90, 120 分の血清 TSH 値を二抗体 radioimmunoassay 法で測定した。

#### (b) 甲状腺機能検査

<sup>131</sup>I-T<sub>3</sub> レジン摂取と T<sub>4</sub> 値はトリオソルブおよびテトラソルブキット (Abott Labs.) を使用した。

#### (c) 副腎皮質ホルモン分泌試験

(1) dexamethasone 抑制-rapid ACTH 試験: 1mg の dexamethasone を夜 11 時に投与し、翌日 250 µg の α-1-24 ACTH を静注し、0, 30, 60 分の血漿 cortisol 値を Murphy の方法<sup>2)</sup> に準じて測定した。

(2) インスリン負荷試験: 0.1U/kg の regular insulin を静注し、0, 30, 60 分の血漿 cortisol 値を測定した。

#### (d) テストステロン分泌試験

5,000 IU/day のヒト絨毛性ゴナドトロピン (HCG) を三日間連続筋注し、0, 1, 2, 3, 4 日目の血漿テストステロン値を radioimmunoassay で測定した。

#### (e) インスリン分泌試験

(1) ブドウ糖負荷試験: ブドウ糖 50g を経口投与し、0, 30, 60, 90, 120, 150 分の血糖値と

血漿の immuno-reactive insulin (IRI) を radioimmunoassay (第一アイソトープ) で測定した。

(2) アルギニン負荷試験：塩酸アルギニン  $0.5g/kg$  を静注し、0, 10, 20, 30, 45, 60, 90, 120 分の IRI を同様に測定した。

## 2. 免疫機能検査

### a) 皮内反応 (遅延型過敏反応)

PPD (Park-Davis Co.), streptokinase-streptodornase (SK·SD:  $50U/ml$ , Lederle Labs.), *Candida albicans* 抗原 (1:100, Hollister Stier Labs.) を  $0.1ml$  ずつ皮内に注射し、対照の PBS  $0.1ml$  注射部位と比較し、径  $5mm$  以上を陽性とした。

### b) 血清免疫グロブリンの定量

血清免疫グロブリン Ig G, Ig M, Ig A 量を一元免疫拡散法 (Tripartigen plates: Behring Co.) で測定した。

### c) 末梢血リンパ球 subpopulation の測定

T-リンパ球は Wybran の変法<sup>13)</sup> で  $4^{\circ}C$  におけるヒツジ赤血球ロゼット形成法により、Bリンパ球は Chao および Yokoyama の方法<sup>14)</sup> により膜表面に免疫グロブリンを保有する細胞に対して抗 Ig を被覆した Immunobeads を反応させロゼット形成を指標として算定した。

### d) mitogen 刺激によるリンパ球幼若化反応<sup>15)</sup>

#### 1) PHA-P による T 細胞の幼若化反応

T 細胞特異刺激 mitogen として PHA-P (DIFCO Labs.) を最終濃度が  $0.25, 0.5, 1.0\mu g/ml$  になるよう容量反応としてリンパ球培養系 ( $5 \times 10^5/ml$  RPMI-1640 培地) に加え、 $37^{\circ}C$  で 72 時間  $CO_2$  incubator (5%  $CO_2$  in air) 中で反応させ、48-72 時間の 24 時間にリンパ球中の 5% TCA 不溶性分画に摂取される [ $^3H$ ]-thymidine ( $2Ci/mM$ : New England Nuclear) の量を液体シンチレーションカウンターで計測した。

#### 2) staphylococcal protein A-CL-sepharose-4B (SPA-S4B: Pharmacia Co.) による B 細胞の幼若化反応

主として B 細胞を活性化する mitogen として SPA-S4B を最終濃度が protein A 量として  $1, 5, 10\mu g/ml$  になるようにリンパ球培養系に加え、同様に活性化されたリンパ球に摂取される  $^3H$ -thymidine の放射活性を液体シンチレーションカウンターで測定した。

### e) One-way mixed lymphocyte culture (MLC)

MLC 反応は刺激細胞としてマイトマイシン処理 ( $50\mu g/0.1ml$  per  $15 \times 10^6$  cells/ $0.5ml$



RPMI, 37°C 30 分間) したヒトリンパ球および C3H/He 脾細胞を用い、 $5 \times 10^5$  のリンパ球と混合し 5 日間反応させた。反応細胞活性化は培養終了前 24 時間の  $[^3\text{H}]$ -thymidine の de Novo の DNA への摂取を指標とした。

f) Leukocyte migration inhibition test (LMIT)

Clausen の方法<sup>16)</sup>に準じアガロース平板を用い LMIT を行った。使用した抗原は PPD, SK-SD, candida albicans である。

g) HLA タイピング

リンパ球の HLA タイピングは NIH 標準抗血清および Behring-Berke 抗血清を用い Terasaki らの方法<sup>17)</sup>に準じて行った。培養線維芽細胞の HLA タイピングは Singal および Goldstein の方法<sup>18)</sup>に従った。

h)  $\beta_2$ -microglobulin ( $\beta_2$ - $\mu$  と略す) のラジオイムノアッセイ

正常健康人および Werner 症候群の皮膚生検組織より得られた線維芽細胞を Lab-Tek 組織培養 chamber (Lab-Tek Products) で 5 日間培養し培養上清を Amicon filter で 10 倍に濃縮し、 $\beta_2$ - $\mu$  の産生量を Fadevas 社のラジオイムノアッセイ法で測定した。同時に Lowery 法<sup>19)</sup>により蛋白濃度を測定し、単位蛋白量あたりの  $\beta_2$ - $\mu$  量を算出した。

Table 5 臨床検査成績

	Case 1, 40 F	Case 2, 38 M	Case 3, 30 M
Urinarysis			
Protein	(-)	(-)	(-)
Glucose	(-)	(-)	(-)
Urobilinogen	normal	normal	normal
Hematological Findings			
RBC count (x10/mm)	374	431	455
WBC count ( /mm )	4,600	6,200	6,000
Neutrophile (%)	59	58	55
Eosinophile (%)	1	4	1
Basophile (%)	0	0	0
Monocyte (%)	9	5	5
Lymphocyte (%)	31	33	39
Platelet count (x10/mm)	21.2	16.3	17.6
Partial thromboplastin time	41.6 sec	44.4 sec	38.9 sec
Prothrombin time (sec)	11.0	11.6	11.3
s-Prothrombin (%)	16	N.T.	N.T.

	Case 1, 40 F	Case 2, 38 M	Case 3, 30 M
Fibrinogen (mg/dl)	315	153	219
s-Fe (r/dl)	100	134	126
s-Cu (r/dl)	111	98	90
TIBC	284	424	N.T.
Serological Findings			
Wasserman reaction (TPHA)	(-)	(-)	(-)
ASLO (todo unit)	12	12	12
CRP	(-)	(-)	(-)
Coombs test (indirect)	(-)	(-)	(-)
Biochemical Findings			
Total protein (g/dl)	7.2	6.9	6.9
Albumin (%)	58.3	62.5	62.6
$\gamma$ -globulin (%)	3.4	3.5	3.3
$\gamma$ -globulin (%)	6.6	6.2	6.7
$\gamma$ -globulin (%)	14.3	13.9	13.9
$\gamma$ -globulin (%)	17.1	13.6	13.4
cholesterol (mg/dl)	232	267	219
$\beta$ -lipoprotein (mg/dl)	600	1,000	500
Triglyceride (mg/dl)	301	91	50
Free fatty acid (mg/dl)	248	1,184	466
Total bilirubin (mg/dl)	0.38	0.35	0.49
GOT (Karmen U.)	148	33	73
GPT (Karmen U.)	160	95	142
AlPase (mMU.)	4.3	2.2	1.4
Cholinesterase ( $\Delta$ pH)	0.24	0.88	0.78
LAP (mU/ml)	45.5	24.7	18.7
LDH (W.U/ml)	410	510	430
Isozyme I (%)	48.8	N.T.	35.2
II (%)	33.1	N.T.	44.4
III (%)	11.7	N.T.	14.4
IV (%)	3.0	N.T.	4.3
V (%)	2.2	N.T.	5.7
CPK (mU/ml)	32	44	65
$\gamma$ -GTP (mU/ml)	84	N.T.	N.T.
Acid phosphatase (mMU)	N.T.	N.T.	0.5
Amylase (Somogyi U.)	115	55	113
BUN (mg/dl)	15	16	14

	Case 1, 40 F	Case 2, 38 M	Case 3, 30 M
Uric acid (mg/dl)	4.3	4.4	
Na (mEq/dl)	138	133	136
K (mEq/dl)	4.6	4.4	4.5
Cl (mEq/dl)	101	101	103
Ca (mg/dl)	9.5	9.5	
P (mg/dl)	4.1	3.7	
Renal Function Tests			
Creatinine clearance (l/day)	117	90	118
PSP test	normal	normal	normal
Renal clearance test (ml/min)			
GFR (ml/min)	50.5	N. T.	N. T.
GPF (ml/min)	519.3	N. T.	N. T.
RBF (ml/min)	774.3	N. T.	N. T.
Renogram (R and L)	normal	N. T.	N. T.
I. V. P.	normal	N. T.	N. T.
Endocrinological Findings			
Triosorb (%)	31.2	38.4	26.7
Tetrasorb ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ )	9.5	7.6	8.3
BMR (%)	+10	-14	-27
Scintigram of thyroid gland	cold nodule	N. T.	N. T.
Echogram of thyroid gland	homogenous mass	N. T.	N. T.
Histopathology of thyroid gland	adenomatous goiter	N. T.	N. T.
Plasma cortisol ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ )			
circadian rhythm 9°	19.4	N. T.	3.5
16°	8.5	N. T.	2.0
23°	N. T.	N. T.	3.0
Plasma deoxycortisol			
Metyrapone test 8°	14.1	N. T.	N. T.
10°	15.6	N. T.	N. T.
u-17-OHCS (mg/day)	4.6	4.5	6.6
u-17-KS (mg/day)	3.9	0.7	3.4
Plasma renin (ng/ml/hr)	4.7	N. T.	5.5
X-ray Findings			
Chest	normal	normal	normal
Skull			



	Case 1, 40 F	Case 2, 38 M	Case 3, 30 M
Cephalogram	retarded growth	retarded growth	slightly retarded growth
Sera trucica	normal	normal	normal
Bones Osteoporosis	(-)	(-)	(-)
Electro-cardiogram	normal	normal	normal
Pulmonary Function Test			
Vital capacity (ml)	1,680	N. T.	N. T.
% vital capacity (%)	62	N. T.	N. T.
Resting volume/Total lung capacity (%)	50	N. T.	N. T.
% M. V. W (%)	73.5	N. T.	N. T.
EEV 1.0/FVC x 100 (%) (FEV 1.0)	70.5	N. T.	N. T.
Miscellaneous			
Regitin test	normal	N. T.	N. T.
Gastric juice	anacidity	N. T.	N. T.
Electromyography	N. T.	N. T.	normal NMU

## 結 果

I) 臨床検査の結果は表5に示した。この他にも audiogram で症例2・3では高音部の難聴を認めた。また喉頭鏡による検査で、症例1・2で粘膜の充血、症例3では声帯の萎縮性変化が観察された。胸部単純撮影で症例1・2では胸郭の発育が正常人より悪いが大動脈弓部の石灰化象などは認めなかった。心電図では動脈硬化性変化や不整脈などは認められなかった。

## II) 内分泌機能検査

### a) 下垂体機能

#### 1) 成長ホルモン分泌機能(図1)

insulin 負荷による GHG 分泌は症例1および症例2では正常域にあったが、症例3では十分な低血糖が得られたにもかかわらず低反応であった。

塩酸アルギニン負荷による GHG 分泌は症例1では実施されず、症例2では正常反応、症例3では低反応性を示した。

症例3では propranolol-insulin 負荷試験によってのみ GHG 分泌反応が観察された。

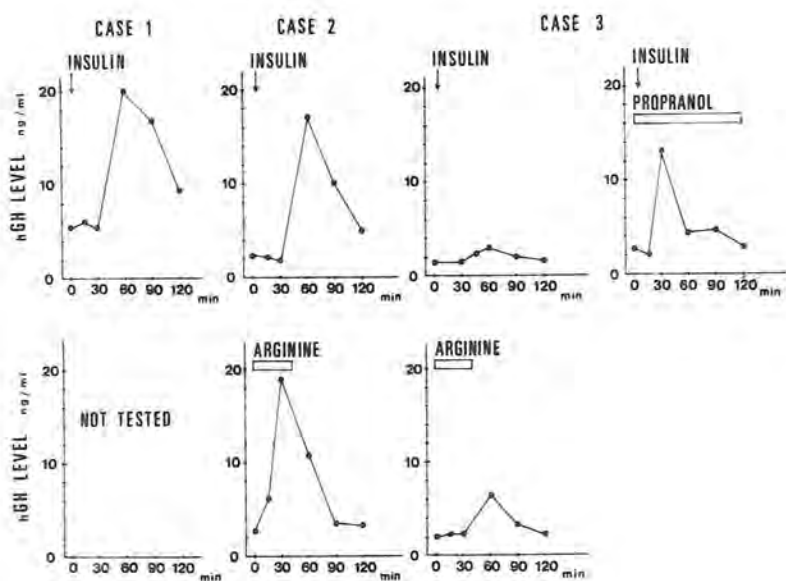


図1 成長ホルモン分泌試験

2) LHおよびFSH分泌機能(図2)

LH-RH試験で症例1ではLH, FSHとも前値が高くLH-RHに対するLHの反応性が亢進していた。

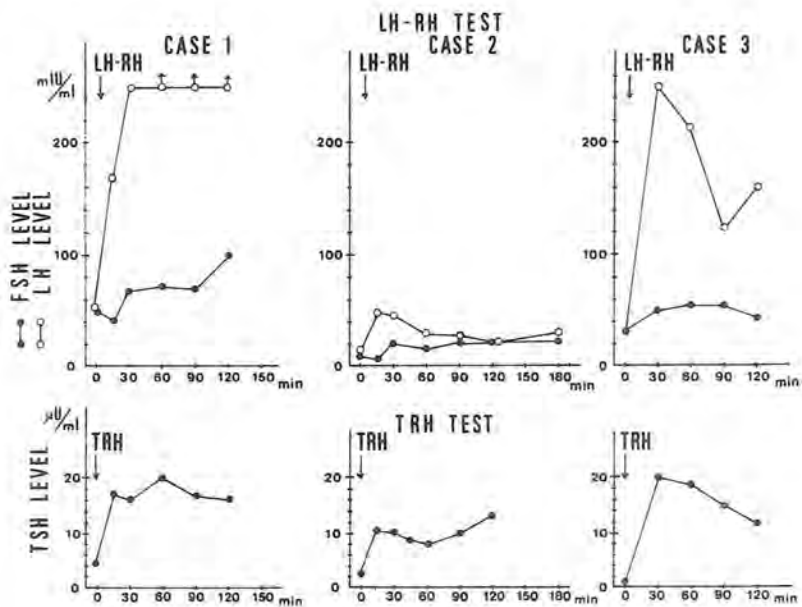


図2 LH-RH試験およびTRH試験

### 3) TSH 分泌機能 (図2)

TRH 負荷による TSH 分泌能 3 症例とも正常であった。

b) 甲状腺機能は 3 例とも euthyroid であったが症例 1 では甲状腺シンチグラムで cold nodule が見つかり、生検により甲状腺腫と診断された。

### c) 副腎皮質ホルモン分泌試験 (図3)

1) dexamethasone 抑制 - rapid ACTH 試験では症例 1, 症例 3 とも dexamethasone による抑制は正常に認められ、ACTH 負荷による血漿 cortisol 値の上昇は正常域にあった。

2) 症例 1 では insulin による cortisol の分泌も正常で、前値も正常値を示した。

### d) testosterone 分泌試験

(図4)

h CG 負荷による testosterone の分泌は症例 2, 症例 3 とも低反応で、前値も低値を示した。

### e) insulin 分泌試験 (図5)

ブドウ糖負荷による insulin 分泌反応は 3 症例とも著しく亢進していた。アルギニン負荷による insulin 分泌は症例 1 で亢進していたが症例 2 および症例 3 では正常域にあった。

### Ⅲ) 免疫機能検査 (表6)

a) PPD, SK・SD, candida 抗原に対する皮内反応は 3 例とも陽性で遅延型過敏反応の異常は認められなかった。

b) 血清免疫グロブリン値は症例 1 で IgG が高値を示した以外はすべて正常域にあった。

### c) リンパ球 subpopulation の検出

4℃における sRBC ロゼット形式 T-リンパ球の比率は 3 症例とも正常下限にあり、膜表面免

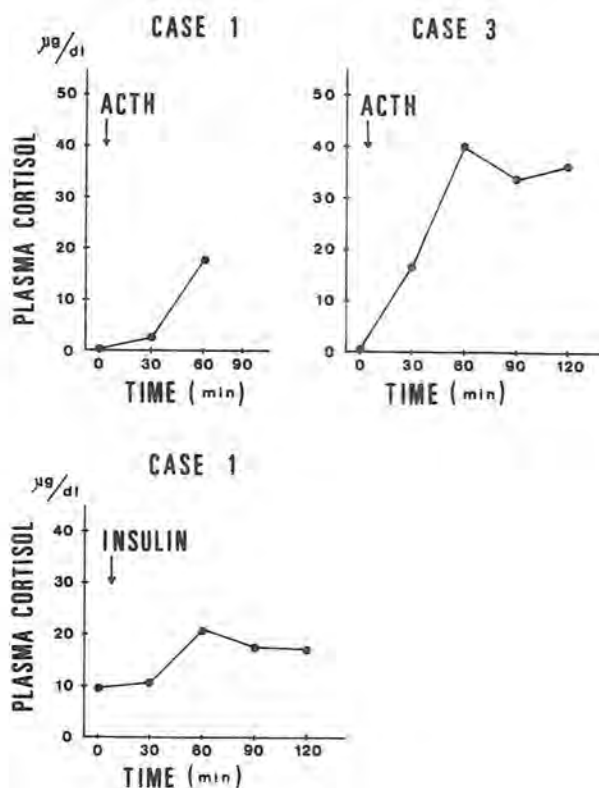


図3 副腎皮質ホルモン分泌試験

疫グロブリン保有B細胞の比率は3例とも正常域にあった。

d) PHA-P および SPA-S4B による T および B-リンパ球の mitogen 反応は正常対照に比べて有意の差を認めなかった (図6参照)。

e) リンパ球混合培養試験 (図7)

Werner 症候群患者リンパ球は MLC 反応における stimulating cell としての同種抗原性は正常人対照と変化なかった。一方、正常人リンパ球を stimulating cell として one-way MLC 反応を行ってみると正常対照よりやや低い反応性を示す場合もあるが、マウス C3H/He 脾細胞に対する xenogenic MLC 反応では正常反応を示した。

f) LMIT は症例1および症例3で実施され、PPD, SK-SD, candida 抗原に対して Tリンパ球が Leukocyte migration inhibition (LMI) 因子を正常に分泌することが可能なことを示す結果を得た。(表6)

g) HLA タイピング

Werner 症候群の HLA 抗原 phenotype を表6に示した。一定した傾向を認めず、HLA 抗原に関しては heterozygous であった。症例1では線維芽細胞の HLA 抗原も検討しているが、同一患者のリンパ球と比較して抗原の陽生率が低い傾向を認めた。

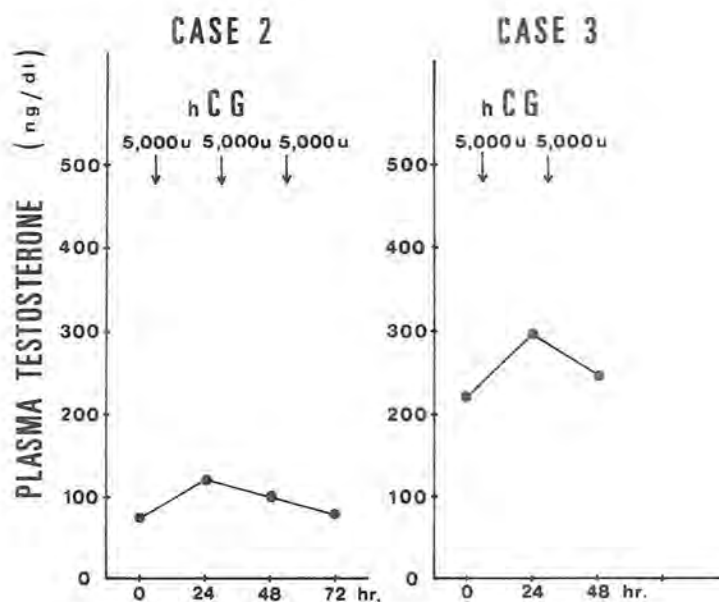


図4 テストステロン分泌試験



h) 培養線維芽細胞からの  $\beta_2 - \mu$  分泌

症例 1 および症例 2 の皮膚線維芽細胞培養上清中の  $\beta_2 - \mu$  濃度は有意に低下していた。

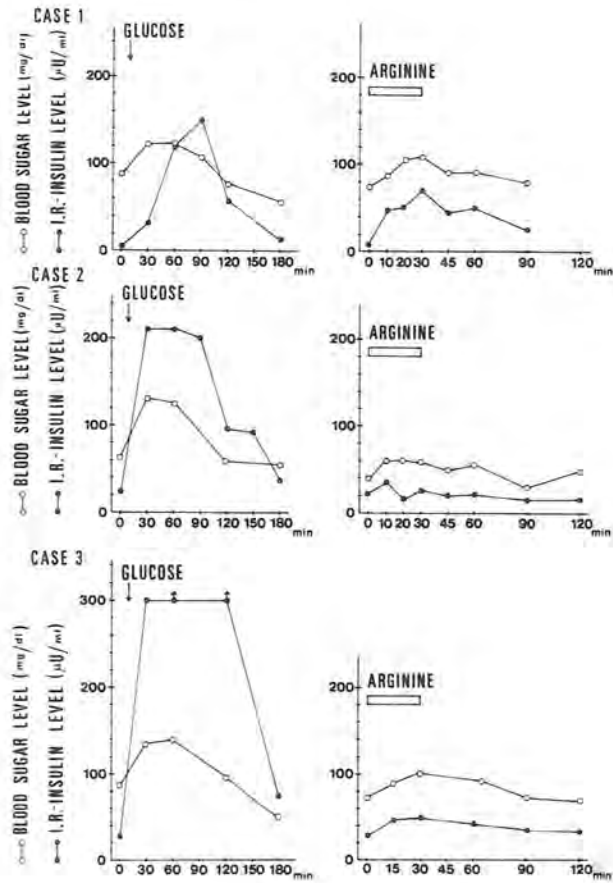
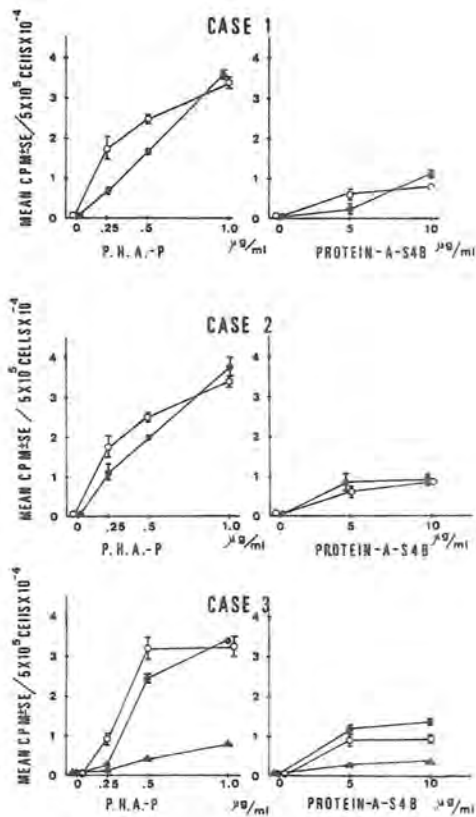


図 5 インスリン分泌試験



6 MITOGENIC RESPONSE OF LYMPHOCYTES

○ Control    ● Werner's Syndrome    ▲ C.L.L.

		CASE 1	CASE 2	CASE 3
SKIN TEST ( PPD, MUMPS, SK-SD CANDIDA ALBICANS)		POSITIVE	POSITIVE	POSITIVE
LEUKOCYTE MIGRATION INHIBITION TEST	PBS (%)	100	N.D.	100
	PPD (%)	75	N.D.	73
	SK-SD (%)	84	N.D.	73
	CANDIDA (%)	64	N.D.	69
IMMUNOGLOBULIN	Ig A mg/dl	296	212	217
	Ig G mg/dl	2352	1260	1029
	Ig M mg/dl	198	100	209
AUTOANTIBODY	RA	(-)	(-)	(-)
	MICROSOME	(-)	(-)	(-)
	THYROGLOBULIN	(-)	(-)	(-)
	DNA	(-)	(-)	(-)
SUBPOPULATION OF LYMPHOCYTES				
	T CELL (%)	62	58	68
	B CELL (%)	14	18	17
H L A TYPING		A11, Aw 26 B 7, Bw 16	A2, A11 B 5, Bw 40	A2, (-) Bw 2 J1, (-)

Table 6 免疫学的検査所見

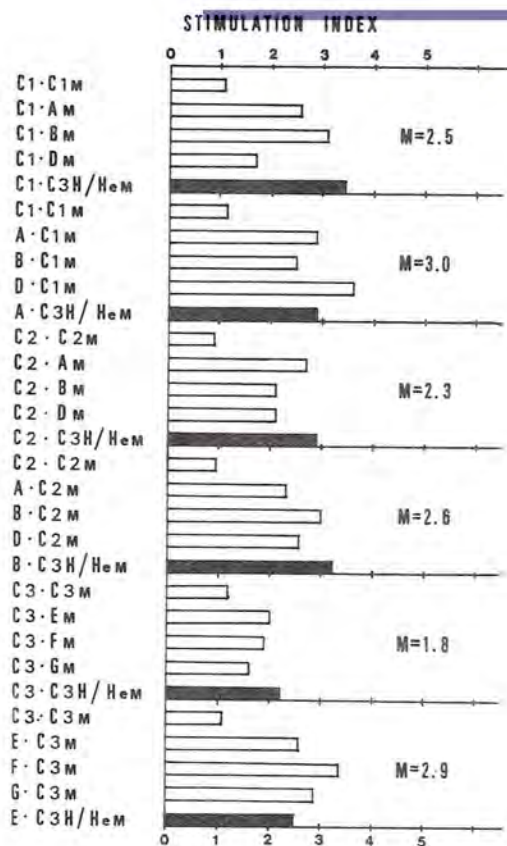


図 7 ONE-WAY MLC IN PATIENTS WITH WERNER'S SYNDROME

C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub> は症例 1, 2, 3 それぞれのリンパ球を示す。

A, B, D, E …… は健康人対照のリンパ球を示す。

C3H/He : C3H/He マウス脾細胞

M : マイトマイシンC処理の stimulating cell

## 考 察

いわゆる早期老化症候群における老化様現象の病態生理学的研究を通じて老化の機構を明らかにしていくことは重要である。ことにこれらの疾患は常染色体劣性遺伝で酵素異常を伴う可能性が高く、もしその本態が明らかになれば老化現象を分子レベルで解明するのに貴重な手がかりを与えてくれるはずである。その前提には詳細に Werner 症候群の臨床像あるいは臨床検査成績の検討を行い考察を加えていくことが必要である。Werner 症候群の臨床所見には確かに老化研究の主要課題に関連する問題を包含している。

1) 発病年齢は多くの症例が思春期以降に症状が発現し、10代の前半までは特記すべき異常もなく経過している。これに対して progeria および Rothmund-Thomson 症候群では生後間もなく発病している(表3参照)。この発病年齢の差は programmed-aging の機構を考える上で興味がある。遺伝的に組みこまれた生命現象の biorhythm には個体維持に必要な日差変動や季節による周期性と種属の秩序ある維持に必要な生殖に関する周期性とがある。老化現象も広い意味での自然界の biorhythm の一環として捉えることが出来る。この biorhythm を制御している因子として神経-内分泌系の意義が次第に明らかにされつつある。たとえば Werner 症候群でもコーチゾールの日内変動が検討されている。自験例では特記すべき異常は認めていないが、宮本ら<sup>20)</sup>は3例中2例に日内リズムの乱れを認めている。しかし、老化にともない性腺機能の低下と胸腺の萎縮は普遍的な現象であり、両者とも生体の biorhythm を規定する主要な因子である。観点を変えるならば programmed aging の主要な指標とも考えられ、胸腺に関しては "thymus clock" という言葉さえ使用されている。Werner 症候群が内分泌環境の変動する思春期以降に遺伝子の異常が臨床症状として発現してくる過程には重要な問題があると思われる。もし、老化の機構を error catastrophe 説に立脚して説明する立場に立てば思春期以降に急激に出現する臨床症状の発病様式は示唆に富むものであろう。

2) 主要な臨床症状としては皮膚および附属組織の萎縮性変化と hyperkeratosis, メラニン色素沈着の異常、白内障、骨粗鬆症、結合組織および脂肪組織の萎縮、動脈硬化症などが知られている。Werner は自身の記載した症候群を外胚葉由来組織の異常と考えた<sup>5)</sup>。後述するように Werner 症候群には肉腫や meningioma が好発する。これらの所見を図8に示す外胚葉系の分化図<sup>20)</sup>と照合してみると Werner の考察が必ずしも標的をはずれているとは言えない。内分泌学的にみると、neural crest 由来の APUD 系細胞から図9に示すように多数のホルモンが分泌され、外胚葉系異常説は興味深い。しかし我々の検索からはこれらのホルモンの分泌異常を示唆する成績は得られていない。また APUD 系細胞による腫瘍の合併例もこれまでのところ報告がない。剖検例においては内分泌組織の一定した変化はなく<sup>5)</sup>、萎縮性変化、増殖性変化、腺腫形成など種々であり、やは



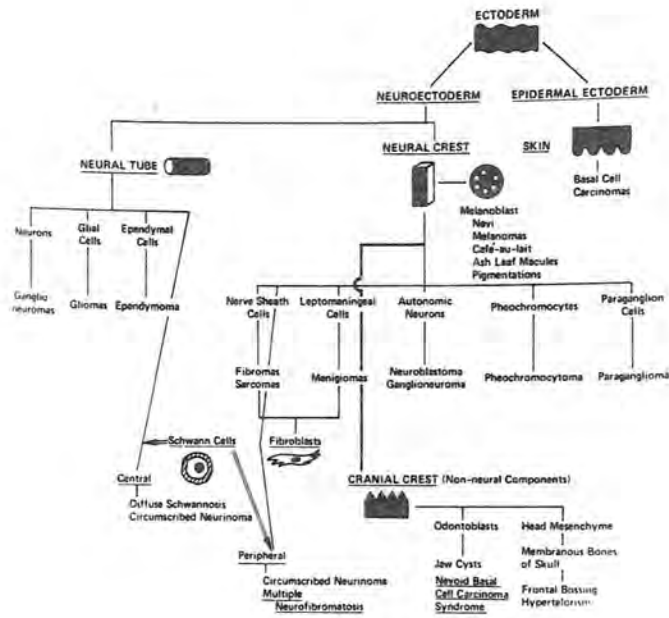


図 8 外胚葉系の分化と腫瘍発生<sup>(2)</sup>

Organ	Cell	Secretory product
Pituitary	Corticotroph	ACTH
	Melanotroph	MSH
Thyroid	Parafollicular	Calcitonin
Pancreas	$\beta$	Insulin
	$\alpha_1$	Glucagon
	$\alpha_2$	Gastrin
	$\delta$	HGH-release-inhibiting hormone
Adrenal medulla	A	Epinephrine
	NA	Norepinephrine
Stomach	Argyrophilic	Gastrin
	Enterochromaffin	Enteroglucagon
Intestine	S	Secretin
	D	Gastric inhibitory polypeptide
	Argyrophilic	Cholecystokinin-pancreozymin
	E	Enteroglucagon
	Argentaffin	Serotonin

図 9 Neural Crest 由来の APUD 系細胞とホルモン産生

り生前に経時的な内分泌機能検査が重要と考えられる。主要症状の一つである短身長は老化と Werner 症候群の異なる所見であり、成長ホルモンや甲状腺ホルモンが注目される。しかし、報告例における内分泌機能検査では正常値を示すものが多く<sup>5)</sup>、自験例では短身長を伴った症例 1 および 2 で HGH の分泌は正常で、身長 160cm であるが症状が発現して間もない症例 3 において HGH の分泌反応が低下していた。最近宮本ら<sup>21)</sup>は、下垂体ホルモンのうち HGH, ACTH, LH, FSH の反応性が低下し、TSH が高反応を示した 3 例の Werner 症候群について報告している。このように症例で異なる成績が得られるのは異なる病期の問題があると考えられる。

性腺機能低下と内外性器の発育不全がほとんどの症例で認められる。症例 2 で、睪丸の生検を行なっているが組織像としては精細管の萎縮や硝子様変性が認められる。間質細胞は増生を示すこともある。症例 2、症例 3 とも hCG 負荷による testosterone 分泌障害があり、基礎値は正常の  $\frac{1}{10}$  ~  $\frac{1}{2}$  に低下していた。したがって原発性の睪丸組織の異常が存在するものと考えられ、この病態を明らかにすることは老化における性腺機能低下の機構を明確にするためにも重要である。

Werner 症候群における糖尿病は軽度のものが多い。また耐糖能が正常な症例でも insulin の過敏分泌反応を示す症例が自験例をふくめて多く、Goldstein ら<sup>22)</sup>は培養線維細胞における insulin 受容体が減少していることを観察している。tolubutamide の負荷による膵 Langerhans 島  $\beta$  細胞からの insulin 分泌は正常であり、やはり末梢組織での受容機構に異常があることが強く示唆される。

Goldstein らは老化にともない頻度を増す成人型糖尿病の発現機序との類似性を注目しているようである。培養線維芽細胞における老化現象とホルモン受容体構造物質の産生機構の障害が同一線上の問題として論じられる日も遠くはないと考えられる。

軟部組織の石灰化と骨粗鬆症は本症と老化に共通した所見であるが、原因に関しては不明であり、副甲状腺機能異常が証明された症例はほとんどなく、むしろ骨細胞あるいは間質の細胞の代謝や腎機能について検討すべきかもしれない。

Werner 症候群の他の主要症状として皮膚の萎縮性変化や難治性潰瘍があげられる。患者の線維芽細胞を培養してみるとこの症状が裏付けられる。すなわち、線維芽細胞の増殖率が正常対照の細胞に比べて極めて低い。これは細胞に原発性の異常があることを示しているが、生体中ではさらに多数の growth factor の影響下にあることは明らかである。たとえば epidermal growth factor によって Werner 症候群の線維芽細胞がどのような影響を受けるのか極めて重要な問題である。これは治療につながるからである。

Werner 症候群の致死因子として動脈硬化性病変があげられる。糖尿病を合併しない症例でも動脈硬化を来すことがしばしば報告されている。Goldstein ら<sup>23)</sup>は凝固系の異常と自己免疫機序を

脂質代謝異常にもまして重視している。自験例では著明な動脈硬化所見は認めず病期によるものと考えられる。表5に示した範囲内での凝固因子の検査では異常を認めなかった。

3) 老化に伴い悪性腫瘍の発生率が増加し、両者の間に分子生物学レベルでの問題としても密接な関連性があることは周知の事実であるが詳細はなお不明である。表7に示すようにWerner症候群でも腫瘍の発生率が高いが、異なる点として癌腫に比較して肉腫や meningioma が好発することが注目されている。Werner症候群も表8に示すような腫瘍が好発する Genodermatose の中にふくめることも出来る。本症は Bloom 症候群や Fanconi 貧血などと異なり染色体の異常は認めない。しかし、近年 DNA 修復機序の異常が progeria や Werner 症候群でも存在する可能性が示されてきており<sup>24)</sup>、自験例については神戸大藤原教授により別に報告されている。老化に伴う発癌機構の他の有力な仮説として免疫監視機構の機能低下があげられている。Werner症候群における免疫学的検索はほとんど行われていない。Epstein は胸腺およびリンパ節の involution を老化と共通した所見として提示している<sup>5)</sup> がこれを裏付けている症例数は数例にすぎず今後の検討にまたなければならない。もし、性腺萎縮とともに胸腺の involution が本症の本質的な変化であれば、老化のモデル疾患として極めて重要な意味を持つだけに軽率な結論づけは慎まねばならない。自験例における免疫学的検討では液体免疫も細胞性免疫機能も正常域にあった。さらに、老化に伴い出現することのある自己抗体も全例陰性であった。リンパ球のアロ抗原性と正常リンパ球のアロ抗原を認識する機能も MLC 反応で判定する限り有意差を認めなかった。

- 1) Sarcomas (7 cases)
  - fibroliposarcoma
  - osteogenic sarcoma
  - sarcoma of nerve sheath origin
  - melanotic sarcoma
  - hemangiolipoma with occasional mitosis
  - spindle cell sarcoma
  - uterine myosarcoma
- 2) Carcinomas (4 cases)
  - adenocarcinoma of hepatic duct origin
  - carcinoma of the liver
  - carcinoma of the breast
  - papillary adenocarcinoma of the thyroid
- 3) Meningioma (3 cases)
- 4) Adenomas of thyroid or adrenals in several patients
- 5) Myoma uteri (1 case)

Table 7 125例のWerner症候群に合併した腫瘍<sup>5)</sup>

Walford,<sup>25)</sup> Burnetら<sup>26)</sup>は老化の免疫説を提示している。事実、動物実験に裏付けられ、thymus clockの退縮現象とともに老化の過程に免疫機序が少なからず関与していることが明らかにされつつある。免疫監視機構には非自己の抗原物質に対するもの他、自己に対するものがある。この自己と非自己を規定する因子として重要なのが組織適合抗原系である。Goldsteinら<sup>18), 22)</sup>は progeriaの培養線維芽細胞ではヒトの主要組織適合抗原である HLA 抗原の出現率が極めて低いことを発見した。これは免疫学的に重要な意味を持ち、もし線維芽細胞の自己に属する膜抗原性に対する寛容状態が破綻するような変化であれば G-V-H

反応を惹起する可能性があり、Walfordら<sup>25)</sup>のいう progeria の免疫病因説に一つの根拠を与えるものであろう。我々は症例1において線維芽細胞の HLA 抗原陽生率がリンパ球に比べて若干低いことを確かめるとともに、線維芽細胞の培養上清中へ出現する  $\beta_2$ - $\mu$  量を測定し、症例1および症例2で明らかに低値であることを確めた。 $\beta_2$ - $\mu$ は HLA 抗原二重鎖構造の light chain を構成しているため、あるいは Goldstein らの成績に合致している所見かも知れない。しかし、リンパ球におけるアロ抗原には明らかな異常は認められず、詳細な意義づけには今後の検討が必要と考えられる。自験例による現時点での免疫学的検討では Werner 症候群では他の老人様病変に比べて免疫機能はむしろ正常に保たれていて老化とは若干異なる印象を得ている。さらに老化には amyloidosis を伴うことが多いが本症に amyloidosis を合併した報告例はない。amyloid は免疫グロブリンの light chain のみでなく、ACTH, insulin, glucagon, calcitonin などからも産生されることが明らかにされていて、一種の代謝中間産物と考えられるが、老化や病的な amyloidosis ではこれを処理する酵素系に異常があると推定され、Werner 症候群ではその機能は侵されていないのであろう。

- 1) Autosomal recessive genodermatoses in which sunlight causes cancer.
  - (1) Xeroderma pigmentosum
  - (2) Albinism
- 2) Autosomal recessive genodermatoses in which the wart virus may cause squamous cell carcinoma.
  - (1) Epidermodysplasia Verruciformis
- 3) Genodermatoses with chromosomal instability.
  - (1) Ataxia-Telangiectasia
  - (2) Bloom's Syndrome
  - (3) Fanconi's Anemia
- 4) Neurocristopathies
  - (1) Nevroid Basal Cell Carcinoma Syndrome
  - (2) Neurofibromatosis (von Recklinghausen's Syndrome)
  - (3) Tuberous Sclerosis (Pringle's Disease, Epiloia, and Adenoma sebaceum)
- 5) Genodermatoses with premature aging.
  - (1) Progeria (Hutchinson-Gilford Syndrome)
  - (2) Werner's Syndrome
  - (3) Rothmund-Thomson Syndrome
- 6) Genodermatoses with abnormal keratinization.
  - (1) Porokeratosis
  - (2) Tylosis
- 7) Polyosis associated with genodermatoses.
  - (1) Gardner's Syndrome
  - (2) Peutz-Jeghers' Syndrome
  - (3) Cowden's Syndrome (Multiple Hamartoma Syndrome)
  - (4) Blue Rubber Bleb Nevus Syndrome
- 8) Epidermolysis Bullosa
- 9) Congenital abnormalities of the skin associated with neoplasia.
  - (1) Giant Pigmented Nevus (Garment or Bathing-Suit Nevus)
  - (2) Nevus Sebaceous of Jadassohn
  - (3) Nevus of Ota (Oculodermal Melanosis or Melanocytosis)

Table 8 悪性新生物が多発する遺伝性皮膚疾患  
(progeriaにおける発生例は未報告)

4) 老化の主要所見として senile dementiaがある。Werner 症候群の剖検例では大脳皮質の萎縮性変化が記載されているが、動脈硬化に由来するものと考えられている。Epstein の集計<sup>5)</sup>では125例中19例に知能に関する記載があり、9例において知能が低下していたという。自験例では特に知能の低下を認めなかった。神経精神症状の発見頻度はWerner 症候群では低い。高齢者の脳血管病変として amyloid angiopathy が特徴的であるがWerner 症候群における報告例はまだない。

5) 培養線維芽細胞の老化現象にともなって heat-labile enzymesが増加し、progeria や Werner 線維芽細胞でも同様の現象が報告され、注目されている。臨床的に測定し得る血清酵素に関しては表5に示した。3例ともGOT, GPTの増加を認めたが肝炎によるものと考えられる。またLDH isozyme は正常の分布型を示した。しかし、漠然と血清酵素を測定するのみでは手がかりは得られず、細胞レベルでの検討が必要と考えられる。

#### おわりに

Werner 症候群の3例について臨床的な検討を行い、老化との対比の上で、その老化様症状の病態について考察を加えた。Werner 症候群における老化様病態を細胞分子生物学の立場から解析することにより老化の機構を解明する手がかりが得られるものと考えられ、今後の研究が期待される。

#### 文 献

- 1) Rothmund, A. Arch. f. Opthal. 14 : 158, 1868
- 2) Thomson, M. S. Brit. J. Dermat. 48 : 221, 1936
- 3) Hutchinson, J. Medico-Chirurgical Transaction 69 : 473, 1888
- 4) Gilford, H. Practitioner 73 : 188, 1904
- 5) Werner, O. Doctoral dissertation, Kiel University, 1904
- 6) Thannhauser, S. J. Ann. Intern. Med. 23 : 559, 1945
- 7) Gottron, H. Arch. f. Dermat. Syph. 181 : 571, 1940
- 8) Gilkes, J. J. H. et al. Brit. J. Dermat. 91 : 243, 1974
- 9) Epstein, C. J. et al. Medicine 45 : 177, 1966
- 10) Nakao, Y. et al. in preparation
- 11) Schalach, D. S. and Parker, M. L. Nature 203 : 1141, 1964
- 12) Murphy, B. E. P. J. Clin. Endocrinol. Metab. 27 : 973, 1967



- 13) Wybran, J. and Fudenberg, H. H. J. Clin. Invest. 52 : 1026, 1973
- 14) Chao, W. and Yokoyama, M. M. Clin. Chem. Acta. 78 : 74, 1973
- 15) Koda, S. et al. J. exp. Med. 136 : 1461, 1972
- 16) Clausen, J. E. J. Immunol. 110 : 546, 1973
- 17) Mittal, K. K. et al. Transpl. 6 : 913, 1968
- 18) Singal, D. P. and Goldstein, S. J. Clin. Invest. 52 : 2259, 1973
- 19) Lowery, O. H. et al. J. Biol. Chem. 193 : 265, 1951
- 20) Lutzner, M. A. in Genetics of Human Cancer  
Mulvihill, J. J. et al. ed p 145, 1977  
Raven Press, New York
- 21) 宮本正治他 日本老年医学会雑誌 14 : 178, 1977
- 22) Goldstein, S. et al. Fed. Proc. 34 : 56, 1975
- 23) Goldstein, S. et al. Nature 260 : 711, 1976
- 24) Epstein, J. et al. Proc. Natl. Acad. Sci., USA 70 : 977, 1973
- 25) Walford, R. L. Lancet ii : 1226, 1970
- 26) Burnet, F. M. Lancet ii : 358, 1970

## 2 b. Werner 症候群における皮膚所見について

東海大・医

大 城 戸 宗 男

Werner 症候群が最近注目されだしたのは、本症がいわゆる早老病の範疇に含められ、老化の研究の手がかりになる可能性があるからであろう。また、色素性乾皮症の原因発見に実績を示した分子生物学的手法が、本症研究にも応用されてきて、老化現象が分子単位で解明されるのではないかと期待もでてきた為であろう。

Werner 症候群の症状に老徴が促進された結果と考えられる症状が多いことから、本症を早老病のなかに位置づけることには異論がないとしても、はたしてすべての症状が早老なのであろうか。皮膚症状のみをとりあげても、それだけでは説明のつかない事が多い。

そこで、本会ではわれわれが過去1年間に経験した本症の3例を供覧し、その皮膚症状について若干解析してみた。

## 症 例

症例は39歳男性、44歳男性ならびに54歳男性の3例である（第41回日皮学会東日本連合地方会、1977年9月で発表）。それぞれの皮膚症状は典型的であり、共通したものをまとめると次の通りである。

- 1) 毛髪のごましお毛、びまん性脱毛。
- 2) 本症独特の顔付き、すなわち日焼けをしていて、色素沈着多く、目のまわりにシワがあり、鼻の線が細く、鼻翼めだたず、口唇うすい。耳が癩痕性(?)萎縮。
- 3) 四肢は、うすく乾燥した皮膚におおわれ、皮下脂肪がすくなく、骨も細いので、細長い感じがする。体幹とくに腹部の皮膚は一見正常で、皮下脂肪も多い。子供に人気のあるロボコン人形を思わす体型となっている。
- 4) 露出部に多い色素沈着と色素脱失。足底のタコ。1例は下肢のえ疽。

なお、多くの文献でみられる足背の scleropoikiloderma 様変化、皮下の石灰沈着、爪の萎縮、発汗低下、悪性腫瘍の併発は全例に見られていない。

5) 皮膚の病理組織学的所見では、表皮の萎縮、真皮も厚さが減少し、皮下脂肪が上層にまで入り込んでいる。また毛包皮脂腺、エックリン汗腺はごく少数みられるが、標本によっては全く消失している。図1に鞏皮症様皮膚所見<sup>1)</sup>も加えて示す。

## 考 察

1966年、Epsteinら<sup>2)</sup>はWerner症候群の皮膚症状を老化(老徴)としてとらえ、両者の共通点が多い事を指摘した。すなわち、両者ともに同様変化を示すのが、ごましお毛と老人性色素沈着である。さらに程度の異なるだけの同様変化として、皮膚付属器の萎縮(Werner高度)と脱毛(Werner全身性)を挙げている。いっぽう、本症に特徴的な症状として、四肢の潰瘍、悪性腫瘍の高頻度の併発、軟組織の石灰化があるという。

さて、皮膚の老徴は表皮で keratinocyte と melanocyte の symbiosis の乱れを表現したも

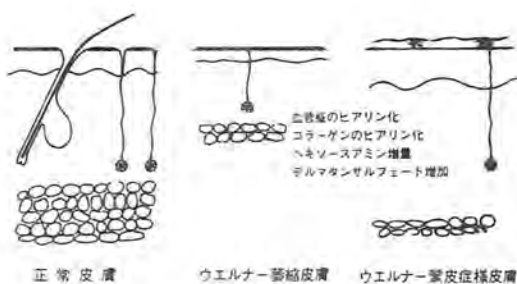


図1 正常皮膚とWerner症候群皮膚

のである<sup>3)</sup>。また真皮では線維成分 (fibrosis) と基質 (減少) のバランスの乱れが結果としておこる。これは fibroblast の変化によるものであろう (図 2)。しかし、これらの症状である色素沈着、actinic elastosis などは、日光光線の影響を長期間受けた結果といっても差しつかえないであろう。どこまでが老徴によるか、光線によるかを区別できない。

毛髪の変化を除いて、図 2 に示す症状を日光光線の影響によることが大であるとするならば、これら以外の症状も老徴と結びつけなくても説明できるのではないか (表 1)。下腿潰瘍、肢端のえ疽などは血管障害によるのであるし、糖尿病によって促進されるのであろう。そのもとになる動脈硬化は、はたして老化が促進した為だけであろうか。

老人様顔付きと表現されている症状だけが本症独特ではないか。この誰でもが直ちに認識できる顔付きは、皮膚、皮下組織、筋肉、骨などを含む一連の変化の結果によるものであろう。これは正常な人が、どれだけ高齢に達しても得ることができない顔付きである。

### まとめ

Werner 症候群の皮膚症状は老徴の結果だけでなく、日光光線、血管結合織の変化などによる影響が大であろう。また合併症 (糖尿病など) による表現も含まれている。本症の皮膚症状のすべてが老徴の促進された結果と考えるのは一考を要しよう。

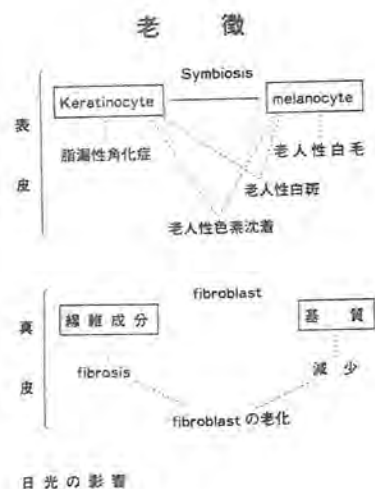


図 2 皮膚の老徴発症に、日光光線の関与は大である。

### Werner 皮膚症状

- 老 徴：毛髪の変化  
皮膚の変化  
うすい乾燥した皮膚 (皮筋欠症もある)  
色素沈着～色素脱失、脂漏性角化症
- 日光の影響：色素沈着～色素脱失、actinic elastosis
- 血管障害：潰瘍、え疽、萎縮、結合織の変化
- 結合織の変化：sclero-poikiloderma 様変化
- 糖尿病：かゆみ(?)
- 悪性腫瘍：
- その他の萎縮：皮下脂肪、筋肉その他(血管性?)

Table 1 Werner 症候群の皮膚症状をすべて老徴によると考える必要はない。

## 文 献

- 1) Fleischmajer, R. et al. : Werner's syndrome, Amer. J. Med., 54 : 111-118, 1973
- 2) Epstein, C. J. et al. : Werner's syndrome, Medicine, 45 : 177-221, 1966
- 3) 小堀辰治 : 皮膚の老化, あすへの皮膚科展望 '75, 旗野倫他編, 金原出版, 東京, 65-77, 1975

## 討 論

○武部 啓(京大・放生研センター) : さきほど100万人に一人という事でしたが根拠がありますか。

□中尾実信(神大・医) : 発表している人が少ないのですがSwift (M. Swift : Malignant Neoplasms in Heterozygous Carriers of Genes for Certain Autosomal Recessive Syndromes in J. J. Mulvihill et al. ed, Genetics of Human Cancer, Raven Press, N. Y. 1977) & Epsteinの集計をもとに計算すると homozygotes の Werner 症候群は  $\frac{1}{1,000,000}$  くらい稀れで, heterozygotes は 0.2% 程度だと報告しています。私にはこの数字を判断する能力がありませんので, 先生はいかがお考えでしょうか。

□武部 : 血族結婚で, 両親のいとこ結婚率が 80% 以上でないと 100万人に一人とならないのですから, 両親の近親婚率が低ければ現実にはもっと多いのではないのでしょうか。

○太田邦夫(都老人研) : Werner の場合 Alzheimer 病のような現象が中枢神経におこりますか。

□中尾 : Epstein の review ではそういう報告はございません。時間の都合で Werner's syndrome と正常老化との関係について, まとめる機会がございましたが, 明確にまとめていって系統的にどこが違うかをはっきり検討してみる必要があると思います。出来たらそういう登録システムを作って, Werner とか progeria を検討したいと思う。

□吉川政己(東大・医) : 臨床的に感じたことは, Dystrophia myotonica と Werner とは臨床像が似ているように思います。前者も aetiological には, わかっていないのですが興味深いことだと思っています。

### 3 a. Progeria 及び Werner 症候群の病理形態学

慶応大・医

細田泰弘・石井壽晴

“早期老化症候群”に含まれる progeria 及び Werner 症候群について、自験例を加えて、既剖検例と共に、両症候群の異同、病変の主座、ヒト老化モデルとしての妥当性を病理形態学的に検討した。

#### 1. Progeria の病理 (表 1)

progeria は、剖検例としては、現在まで、11 例が数えられており<sup>1)~10)</sup>、その病理形態像としては、成長遅延、特異顔貌などの外見的特徴に加えて、皮膚硬化、動脈硬化症、心肥大、心筋梗塞性変化、心血管系石灰沈着などが知られている。

皮膚については、殆どすべての例で、強皮症様皮膚硬化が胸腹部に発生をみており、特に組織学的所見のある例では、表皮萎縮、真皮から皮下結合織に亘る線維化がみられている。更に、1 例の臨床例では<sup>11)</sup>、胸腹部皮膚に真皮膠原線維の elastotic degeneration を示した例も報告されている。本症候群を外見的に特徴づける禿頭に関して、その皮膚病変が、注目されるが、外観上、皮膚の菲薄化がみられるという記載にとどまっており、一部では、頭髪の正常に保たれた progeria の臨床例も報告されている<sup>12), 13)</sup>。この様に皮膚病変の分布や症候群に属せしめられている個々の症例の間の違いは、今後更に追求されるべき問題と考える。

① 皮膚	7/11 例
表皮の萎縮	
真皮の線維化・硝子化	
附属器の萎縮	
皮下脂肪織の減少	
② 心臓	
左室または両室肥大	5/11
心筋梗塞	7/11
冠状動脈硬化	5/11
僧帽弁石灰沈着	(4/4)
大動脈弁石灰沈着	(3/4)
③ 血管	
動脈硬化	8/11
石灰沈着	6/11
④ 骨	
萎縮	(2/5)

※括弧は、少なくとも記載のあった例についてのみの集計である。

Table 1 Progeria の病理



皮膚病変に次いで、特徴的であり、本症候群の予後に最も重大である心血管系病変については、Makous<sup>8)</sup>が、臨床例 82 例中 12 例に、冠状動脈硬化症による続発性病変にて、死亡したと報じている如く、剖検例に関しても、11 例中 5 例に、左室肥大或いは両室肥大、7 例に心筋梗塞性病変の記載をみることができる。その他、心臓には、僧帽弁、大動脈弁の石灰沈着の記載が注目される。血管系に関しては、動脈硬化症の記載が多く、冠状動脈以外にも、大動脈、その他の内臓諸動脈に分布している。同時に、大動脈、冠状、脳動脈などに石灰沈着の記載をみる。

骨病変については、5 例について、組織学的検討がなされているにすぎず、長管骨及び扁平骨の萎縮が記載されているのみで、特異的な骨病変に乏しい。Reichel<sup>14)</sup>らのレ線学的検討では、特異顔貌は、顔面骨の低形成をもとに表現されるものと考えられよう。

## 2. Progeria の 1 自験例<sup>15)</sup>

症例：20 歳、女学生。36 週にて 47 cm、2,025 g にて出生。2～3 歳頃から成長遅延、鳥様顔貌、胸腹部皮膚硬化に気付き、8 歳時に外反股を指摘された。小、中学校でも、これらの症候が続いたが、知能は正常であった。14 歳時には殆ど成長が停止し、初潮もみだが、月経周期は不規則であった。15 歳時に、成長遅延、易疲労感により、某病院にて、入院精査したが、内分泌学的検討も加え、心基部収縮期雑音以外に著変をみなかった。この時 145 cm、31 kg であった。20 歳時に、虫垂炎により手術を受けたが、術後 7 日目に、術創癒合不全による急性腹膜炎により死亡した（図 1）。

剖検成績：外見所見としては、鳥様顔貌はみられたが、頭髮は保たれ、僅かに白髪を混じるのみであった。胸腹部皮膚は硬化性で、右腋窩、臍窩左側には、黄白色、軟の半球状の直径 0.5 cm の皮膚隆起を認めた。性毛は疎であった。

心血管系では、心臓は 160 g で、冠動脈の内膜線維性肥厚と、大動脈の軽度の脂質沈着と線維化が、全長に亘って、散在していた。その他、腎、脾、脾動脈に著変をみなかった。内分泌臓器に関しては、下垂体 0.4 g、副腎各々 5 g、甲状腺 10 g、膵 55 g と萎縮傾向をみだが、顕微鏡的に著変をみなかった。その他、卵巣には白体が形成されており、子宮は増殖期内膜を示していた。

胸部の皮膚では、表皮萎縮、真皮の著明なびまん性線維化がみられた（図 2）。腋窩と臍窩周辺部の隆起性皮膚には、真皮膠原線維の著明な elastotic degeneration（図 3）をみた。

## 3. Werner 症候群の病理（表 2）

剖検例は、本邦例 3 例を含め、16 例の記載がなされている<sup>16)~27)</sup>。病理所見は、progeria のそれと極めて類似しており、短軀、低体重、禿頭或いは早期白髪化を伴う鳥様特異顔貌などの外見上の

特徴の他に、下腿、下肢を主とする強皮症様皮膚硬化、動脈硬化症、心肥大、心筋梗塞、内臓諸臓器の萎縮、骨梁萎縮を主とする骨変化などの記載が目立つが、progeria と異なり、悪性腫瘍合併が目立っている。

皮膚に関しては、Werner 症候群では、下腿、下肢を中心に、表皮萎縮、真皮線維化、皮膚付属器の萎縮、皮下脂肪織の減少がみられる。

心血管系病変では、16 例中 8 例に、左室或いは、両室性肥大がみられ、これらの症例中には、心筋梗塞性変化が 3 例に認められる。一方、心筋褐色萎縮の記載も 3 例にみられるが、このうち 2 例は悪性腫瘍を合併しており、これによる栄養障害のためと思われる。血管系病変では、16 例中 16 例に大動脈及び冠、腎、腹部諸動脈などの動脈系に、中等度乃至高度の動脈硬化症が認められ、1 例の Mönckeberg 型動脈硬化症の他、2 例の細小動脈硬化症の記載がみられる。

骨病変に関して、記載は乏しく、2 例にのみみられるが、骨梁の萎縮傾向がみられるのみである。

その他、内臓諸臓器、殊に内分泌臓器の萎縮傾向が散発的に記載されており、Boyd は<sup>20)</sup>、"microsplanchnia"として強調している。生殖器には、明らかな萎縮傾向があると考えられ、精巢

① 皮膚 (9/9)

表皮の萎縮  
真皮の線維化・硝子化  
付属器の萎縮  
皮下脂肪織の減少

② 心臓

左室または両室肥大 8/16  
心筋梗塞・線維化 2/16  
心筋褐色萎縮 3/16  
心筋石灰沈着 (1/1)

③ 血管

動脈硬化 6/16  
細小動脈硬化 (2/2)  
中膜石灰化 (1/1)

④ 内分泌臓器

下垂体萎縮 (3/12)  
甲状腺萎縮 (5/12) 腺腫性病変 2  
副腎萎縮 (3/8) 結節性病変 3  
膵萎縮 (2/9)

⑤ 生殖器

精巢萎縮 (7/12)  
子宮萎縮 (2/3)  
前立腺萎縮 (3/6)  
前立腺肥大 (1/6)

⑥ 悪性腫瘍の合併 (4/16)

肝癌、総胆管癌  
線維肉腫、平滑筋肉腫

Table 2 Werner 症候群の病理

萎縮が12例中7例、子宮萎縮が3例中2例に記載されている。前立腺に関しては、萎縮性の記載が目立つ。なお、これら剖検例中、4例に悪性腫瘍の合併がみられている。

Werner症候群では、悪性腫瘍が、10%にみられ、しかも肉腫の発生が目立つといわれている。著者らの文献検索の限りでも、肉腫5例に対し、癌腫3例の報告が確かめられた。

#### 4. Werner症候群の1自験例<sup>29)</sup>

症例：29歳、男性、会社員。現病歴：14歳時頃から嗄声、18歳時に身体発育停止、脱毛、白髪化、19歳時に左眼白内障などを漸次きたしてきたが、高血圧症の合併もみている。その後28歳時に、頭痛、鼻出血により、入院精査、血圧は200/130～210/140。腎症状もあり、強心、利尿剤の投与などで一時軽快したが、29歳時に心不全にて死亡した。

家族歴：両親はいと同志である。同胞に同様の者はいない。

剖検成績：161 cm、41 kg。頭部は殆ど禿頭化し、顔面皮膚は萎縮性であった(図4)。両側下腿、下肢にかけ、色素沈着を伴う皮膚萎縮、足趾拘縮がみられた。下腿皮膚は、真皮上層の軽度の線維化、乳頭萎縮がみられた。心血管系では、心は450 gで左室肥大を示していたが、心筋には著変をみなかった。血管系では、年齢に比して、高度のアテローム硬化症が、大動脈にみられ、肝、脾、脳、副腎などの細小動脈には高度の硝子様内膜肥厚をみた。腎の血管変化が最も著明で、細小動脈硬化性萎縮腎に加え、悪性腎硬化症も加味しており、糸球体溢血、類線維素壊死もみられた(図5)。その他、脳、肝、前立腺には、小動脈壁の石灰化も認めた。内分泌臓器は、下垂体0.5 g、甲状腺8 g、精巣左8 g、右9 gと萎縮傾向を認めた。上皮小体には、相対的な主細胞の増加をみた。なお副腎は各々6 gで、皮質結節形成を認めた。その他、声帯の粘膜萎縮と粘膜下線維化、骨の骨梁細小化傾向を認めた。

#### 5. 両症候群の異同と病変の主座

両症候群の病変は、前項までに記載した如く、皮膚硬化、動脈硬化症、心肥大及び心筋梗塞を主とする共通な病理形態像を指摘できるが、その各々について詳細に吟味してみると、病変の分布及び程度或いは合併病変の分布などに若干の差異があることに気付く。即ち、皮膚硬化に関してみると、progeriaが主として胸腹部に生ずるのに比し、Werner症候群では、主として、下腿、下肢に発生する傾向があり、更に皮膚合併病変についてみても、Werner症候群では、下腿潰瘍、限局性角質増生などの通常の老人にもみられる如くの病変が認められるのに比し、progeriaでは、記載されていない。

又、剖検例に限っていえば、心血管系病変では、心筋梗塞性変化がprogeriaに11例中7例ある



图 1



图 2

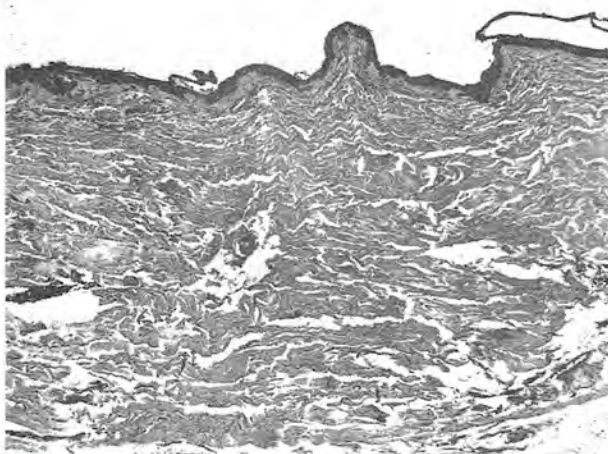


图 3

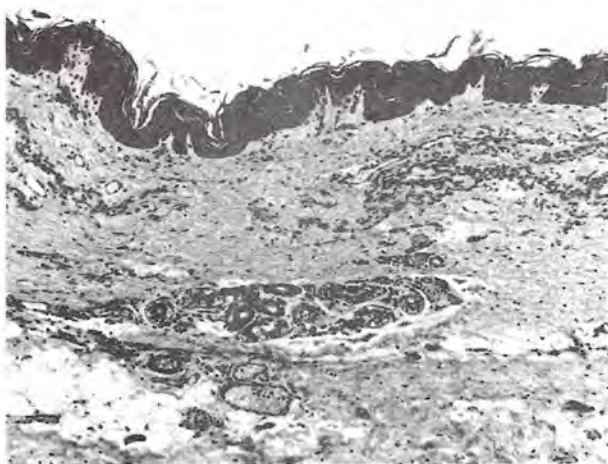
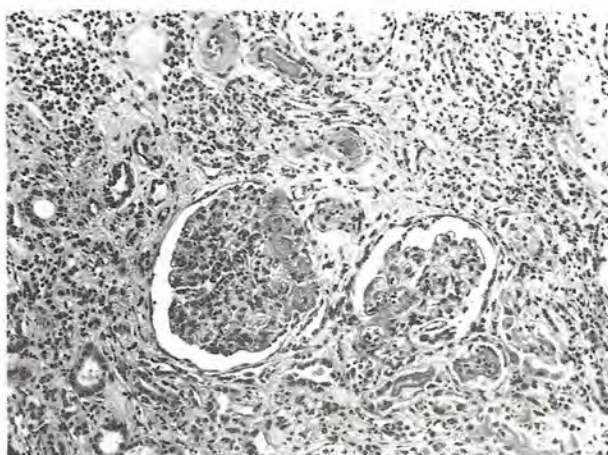


图 4



图 5



のに対し、Werner症候群では、16例中3例にのみ記載されている点を考慮すると、progeriaの動脈硬化の方が、高度である可能性が推察される。又、同時にprogeriaの心血管系には石灰沈着傾向のあることにも気付く。

その他、Werner症候群には、内分泌臓器の萎縮傾向や、高齢者の剖検時にしばしば見出される甲状腺の腺腫性病変、副腎の結節性病変がみられ、更に、悪性腫瘍の合併をみるのに対し、progeriaでは、これらの副病変、或いは、合併病変に乏しいことが挙げられる。

このように、両症候群の個々の病変に、分布や程度の相違、或いは、合併病変の有無があるものの、主要病変に関しては、極立った質的病変を見出す事は困難であるが、Werner症候群は、progeriaに比して、一応多彩であるといえよう。

一方、病変の主座に関しては、両症候群とも、主要病変は、皮膚、心血管系臓器、骨などに出現していることは明らかで、実質系臓器には、これらの症候群の本態を示す本質的病変はなく、皮膚、心血管系、骨を構成する主たる要素であり、更に実質系臓器と共に広く分布する結合組織成分に着目する必要があることを強調したい。殊に、近年の培養皮膚線維芽細胞や尿中ヒアルロン酸の増量などの知見から、何らかの形での異常結合組織代謝の存在が想像される。

## 6. 両症候群のヒト老化モデルとしての妥当性と限界

前項5に述べた如く、Werner症候群にみられる主病変並びに副病変を総体とする1個体を俯瞰的に想定した場合、日常病理解剖に従事する者にとり、Werner症候群は、老人に極めて類似した形態表現を具備しているように感じられ、本症候群を1つのヒト老化モデルとして見做す事に関しては、抵抗は少ないと思われるが、progeriaに関しては、Werner症候群と対比すると、その病変発現において、やや限局している感を免れ得ないものであり、ヒト老化モデルとしての妥当性についての判断は現段階では、下し得ないものと考え度い。

更に、ここで、いわば“自然な形”で老化したと考えられる100才老人の病理と1つのヒト老化モデルとして考えられるWerner症候群を対比してみることは、老化モデルとしての妥当性と限界を知る点で重要であろう。

即ち、100才老人には、主要なものだけでも、短軀、低体重、合併病変を伴う全身の高度の動脈硬化症、心筋線維化、心筋アミロイド沈着、肺気腫性傾向、結腸憩室症、腎皮質萎縮、内分泌臓器の腺腫性、結節性病変、前立腺肥大症、骨粗鬆症などが高頻度に認められ、病変の質、量は共に、更に多彩である<sup>29)~31)</sup>。

Werner症候群では、心アミロイド沈着、肺気腫性変化、結腸憩室症などの記載がなく、又、前立腺に関しては、肥大性というより、むしろ萎縮性の記載が目立つなど、100才老人の病理に比し、



その病変の質に関しても、違いがある。一般に心アミロイドは85才、肺気腫性病変は70～80才、結腸憩室症は40才台から漸増してくるといわれており、100才老人の病理所見とこれらの一般病理の事実から判断してみると、Werner 症候群をヒト老化モデルとして考えることは、魅力的ではあるが、これにも一定の限界があるように考えられ、そのモデルとしての適用範囲と対照の選択は、慎重に判断されるべきであろう。むしろ、progeria 及びWerner 症候群に関しては、前項5、で述べた如く、間葉系障害による「疾病」として評価すべきものとも思われる。

## 文 献

- 1) Gilford H, Practitioner 73 : 188, 1904
- 2) Orrico J et al, Arch Méd Enfants 30 : 385, 1927
- 3) Talbot N et al, Am J Dis Child 69 : 267, 1945
- 4) Manschot WA, Acta Paediat 39 : 158, 1950
- 5) Atkins L, New England J Med 250 : 1065, 1954
- 6) Rosenthal I M et al, Pediatrics 18 : 565, 1956
- 7) Gabr M et al, J Pediat 57 : 70, 1960
- 8) Makous N et al, Am Heart J 64 : 384, 1962
- 9) Reichel W et al, Am J Clin Pathol 53 : 243, 1970
- 10) Macnamara BGP et al, Arch Dis Child 45 : 553, 1970
- 11) Fitch N et al, Am J Dis Child 120 : 260, 1970
- 12) Apert E et al, Presse Méd 35 : 433, 1927
- 13) Lehmann GW, Kinderärztl Praxis 7 : 293, 1971
- 14) Reichel W et al : J Am Geriatrics Soc 19 : 657, 1971
- 15) Ishii T, J Am Geriatrics Soc 24 : 193, 1976
- 16) Oppenheimer BS et al, Am J Med Sci 202 : 629, 1941
- 17) Hamada Y, Dermatol et Urol (Tokyo) 20 : 1321, 1966
- 18) Nakagawa S et al, Tr Soc Path Jap 61 : 243, 1972
- 19) Asano G et al, Nippon Ika Daig Z 37 : 162, 1970
- 20) Boyd MWJ et al, Brit Med J 2 : 920, 1950
- 21) Perloft et al, Ann Int Med 48 : 1205, 1958
- 22) Rogers AS, J Florida Med A 46 : 436, 1958

- 23) Valero A et al, Brit Med J 2 : 351, 1960
- 24) Jacobson HG et al, Radiology 74 : 373, 1960
- 25) Laugier P et al, Bull Soc Franc Derm Syph 74 : 38, 1967
- 26) Zucker-Franklin D et al, Geriatrics 23 : 128, 1968
- 27) Pavlik F et al, Wien Med Wschr 121 : 87, 1971
- 28) Ishii T et al, J Am Geriatrics Soc 23 : 145, 1975
- 29) Ishii T, J Am Geriatrics (in press)
- 30) ibid
- 31) ibid

### 3 b. 早老症及び修復欠損症の細胞増殖能

都養育院

嶋田裕之

Progeria は常染色体性の劣性遺伝であり、その培養細胞の寿命は大変短かく、極端な例では、48歳女子の Werner 症候群皮膚線維芽細胞は継代数わずか2代、9歳男子の Hutchinson-Gilford 症候群細胞でもやはり継代数2歳という報告があるが一般には、age-sex matched の対照群に比し、極端に制限された細胞寿命を有することが生物学的な素因である。演者の成績では、42歳女性の Werner 症候群は継代数13、同年齢の男性 Werner 症候群では、9代という成績を得ている。成長速度は正常ヒト高齢者よりもはるかに遅延し、細胞増殖能は、正常個体からの細胞培養では、細胞数は、ある期間定期的に増加し、monolayer の full sheet に至るが、progeria ホモ細胞では、徐々に細胞数は増すが、その速度は遅く、confluent monolayer に至る point は DNA 合成のモニターを必要とした。DNA 合成は、継代後12時間で  $^3\text{H-TdR}$  を加え、24時間毎のパルスラベルで、培養細胞へのとり込みをみているが、Hutchinson-Gilford 症候群では、ホモでは対照に比し、 $\frac{1}{8} \sim \frac{1}{10}$  近くにまで減少しているという。しかも両群に於ける最高の uptake 率は、細胞が non-confluent のとき出現し、confluency に達すると減少する点では共通であるが、それでもホモは  $0.87^{\text{cpm}} \times 10^{-2} / \text{cell}$ 、対照は  $3.90^{\text{cpm}} \times 10^{-2} / \text{cell}$  と大差があった。

Werner 症候群に於ける DNA 合成は、progeria 程でなく、演者の測定によると、 $^3\text{H-TdR}$  加後、24 時間、48 時間後で、いずれも対照群のとり込み率には達しないが、同一培養条件下でも、約束された時間点に於ける細胞数が異なり、各実験群、対照群とも  $0.3 \text{ dpm} \times 10^{-2}/\text{cell}$  近傍で有為の差は確認し得なかった。以上、Werner 症候群の細胞増殖能と DNA 合成は、図-1、図-2、表-1 に示してある。

Spec. act. of $^3\text{H}$ -thymidine	Label time in hours	$^3\text{H}$ -incorporation in $\text{dpm} \times 10^2$ TCA insoluble fraction.		
		Werner's syndrome		Control
		42yrs. F.	39yrs. M.	40yrs. F.
5Ci/mmol	24	615	645	1140
	48	780	920	1198

4th subcultivation

Werner's cell : sparse  
Control cell : full sheet

Table 1

一方、Werner 症候群の細胞周期をオートラジオグラフで追跡してみると、対照群に較べ遅延がみられ、その原因は G1 期の延長にあるらしい。(図-3, 表-2)

Analysis of the Cell Division Cycle

	T-G <sub>1</sub>	T-G <sub>2</sub>	T-G <sub>1</sub> +G <sub>2</sub>	T-G <sub>s</sub>	
Control	30.8	4.2	19.0	11.8	(hrs)
Werner	40.0	5.0	27.0	13.0	

Table 2

以上のことから、progeria 及び Werner 症候群の培養上の限られた寿命は、1. generation time の増加、2. 核分裂像の漸減ないし停止、3. 細胞破壊物の蓄積、4. 培養の全面的変質として、Hayflick の phase III の培養上の特質にあてはめて考えた場合、progeria 及び Werner 症候群のホモ線維芽細胞がどのような特性づけを受けるであろうか？ 依然不明の点が残る。

① 早老症で、細胞増殖能が減ずることをみたが、この判定には、早老症が、正常に比し経時毎の総細胞数が少ないことを示しているに過ぎず、generation time が増大するには、継代数が 4 代と低すぎる。つまり、培養に於ける寿命を通じて、分裂しない細胞或いは seed cell を数の上で反映している可能性を否定し得ない。② 細胞増殖能や核分裂像の差異をもってのみ、一概に progeria の寿命の短縮を説明し得ないとすれば、DNA 損傷の修復が悪くなっているはいまいかと

の疑問が湧いてくる。

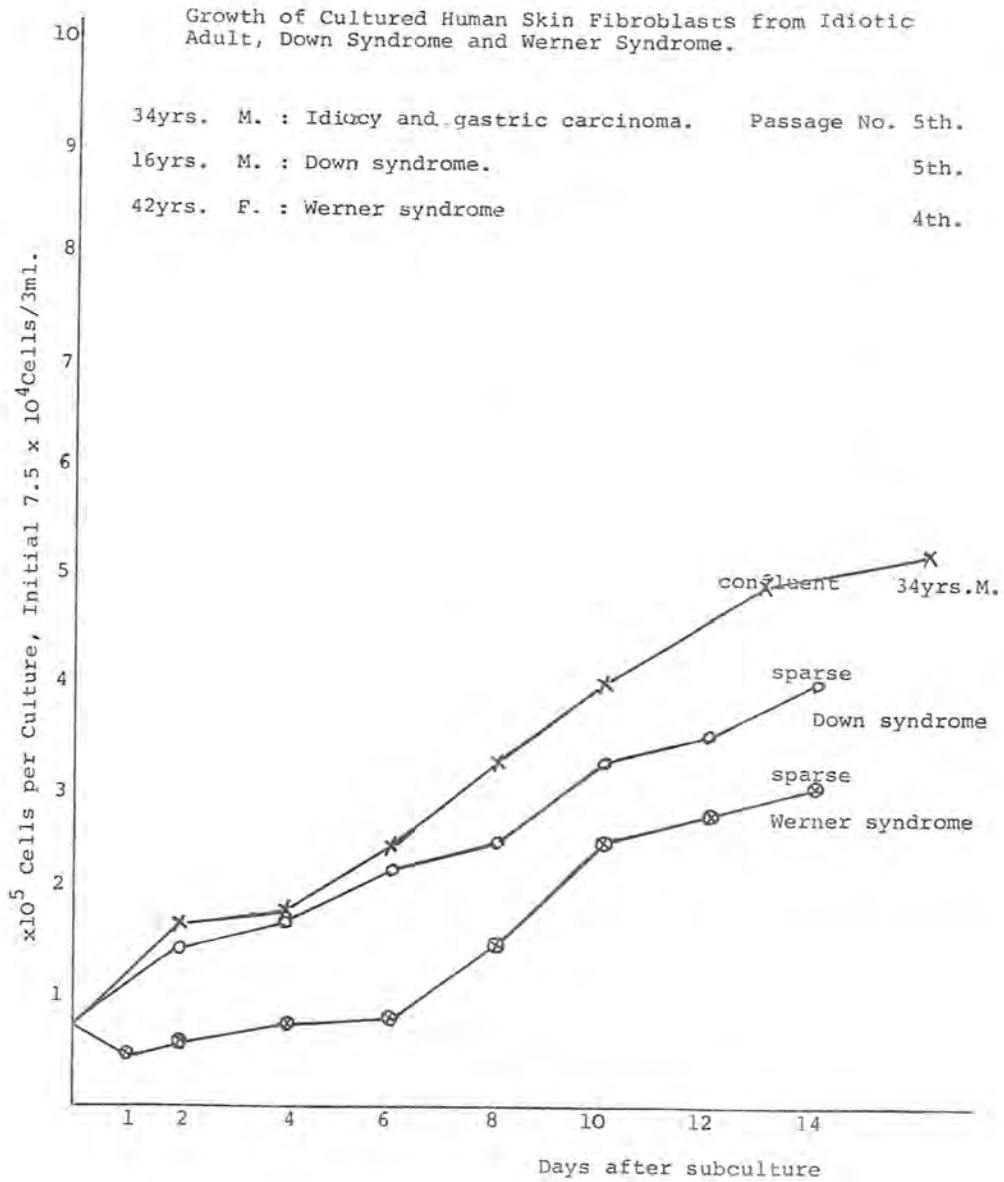
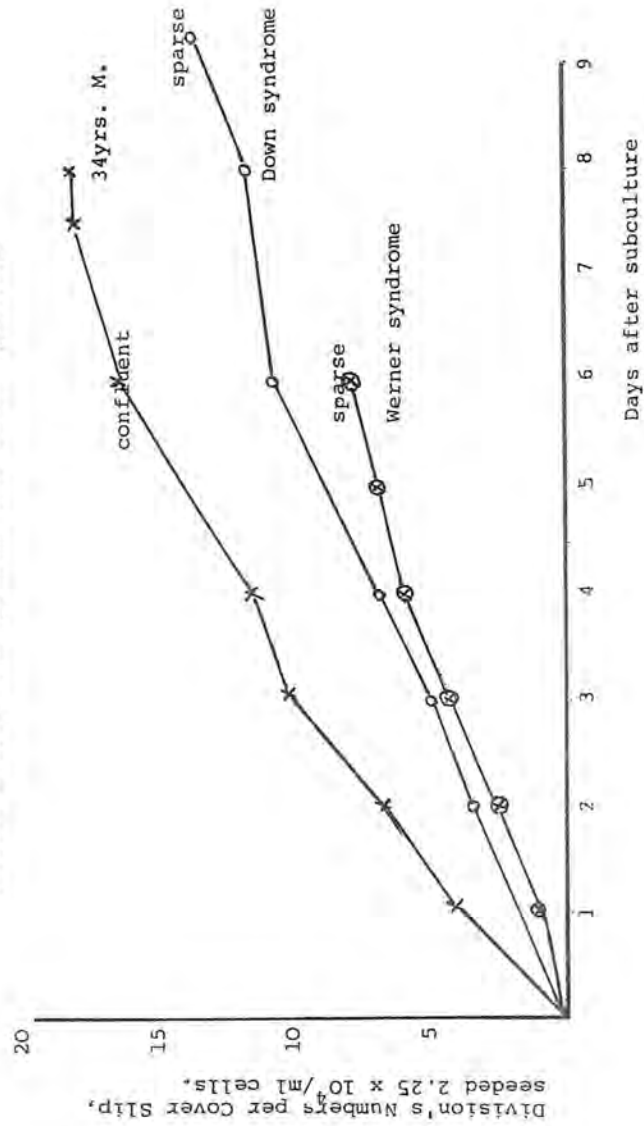


図 1

Mitotic Activity of Cultured Human Skin Fibroblasts from Idiomatic Adult, Down Syndrome and Werner Syndrome.



2



Analysis of Cell Cycle.   
 ○ — ○ : Fibroblasts derived from Werner's syndrome.   
 x — x : Fibroblasts derived from sex-age matched subject.

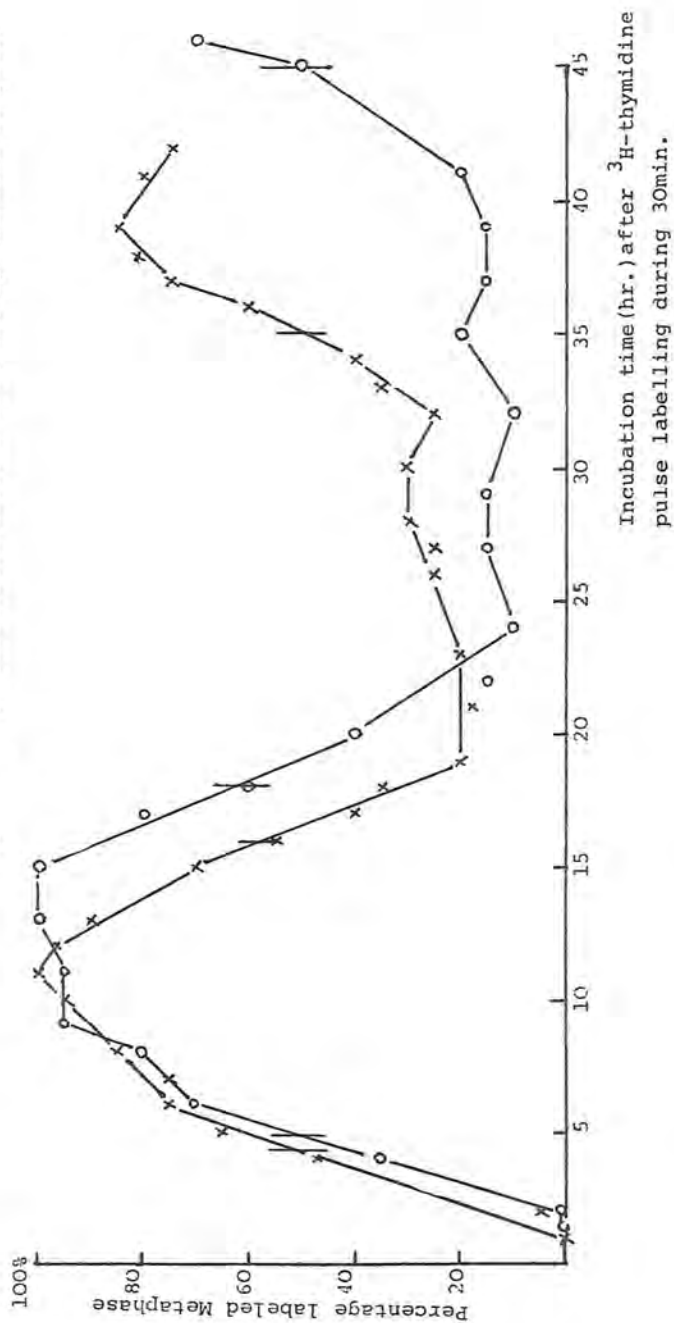


Figure 3

従来、加齢に伴って DNA 損傷の不完全修復がとり沙汰されてきているが、早老症の細胞では、放射線照射により、DNA 鎖に 1 本鎖切断の修復欠損のあることが Epstein らによって報告され、更に数人の progeria 症候群患者について程度の差こそあれ、いずれも  $\gamma$  線照射後の DNA 修復能が老化細胞と同様に不完全であることを観察し、この細胞が培養に移したときに寿命の短いことと関連させている。しかし Regan と Setlow は 1 本鎖切断の rejoining そのものは、正常ヒト細胞と異ならず、「トリプシン」や「振とう」の条件の感受性の違いで差が出たのではないかと反論し、之に対し再び Epstein が反論するといった具合で、現状は白紙還元の状態である。演者の成績でも、アルカリ蔗糖密度勾配法による  $Co^{60}$  10Krad 照射後 90 分修復後の DNA 分子沈降 profile では、Werner 症候群で、有意の差は、言及できない。又紫外線照射後の unscheduled DNA 合成は、全く正常細胞と同じである。

又、興味あることには、Segal、大橋の指摘にある如く、Down 症候群患者由来の線維芽細胞の分裂速度や培養上の寿命短縮が、近時、progeria の性質とみなす事を主張し、Down 症候群患者の早死を遺伝的素因と結びつけて考えられるようになって来た。演者も観察に供せられた患者の皮膚線維芽細胞を用い、47,XY,+21 のトリソミーを karyogramm で確認の上、その分裂能を追ってみた(図-1, 図-2)。示唆に富むデータを提供してくれていると、将来に期待している。

以上、概略であるが、ヒト遺伝病、とりわけ早老症を中心に in vitro に於ける replication と repair の点につき触れて来たが、Werner に関する限り、replication の不全、特に G1 期の延長を確認できたが repair system に関してはその synthesis の不全を認識出来なかった。

その意味で、最近、ヒト遺伝病の中で、修復欠損との関係が注目されている色素性乾皮症(Xeroderma pigmentosum, XP)という光線過敏症の in vitro に於ける transformation についての自実験について触れて、御教示を頂きたい。本症は、多くの場合、皮膚癌を生じて若年死する疾患で、常染色体の劣性遺伝である。Cleaver により、日光曝露中、紫外線によって DNA 上にできたピリミジンダイマーが、紫外線照射に特異的な DNA エンドヌクレアーゼ欠損のため、切り出し不能であることが判明した。本疾患は in vitro の DNA 複製に関しては正常細胞と全く同様であり、又大腸菌の uvr 変異株と同様 X 線には抵抗性である。ちなみに Werner 症候群や Down 症候群もその 10% 内外に悪性腫瘍を併発する。

演者の用いた XP 細胞は 11 才の米国人少女及び 32 才日本人男性の皮膚線維芽細胞であるが、定常増殖下で N-methyl-N'-nitro-N-nitroso guanidine  $1 \times 10^{-5}$  M, 60 分作用させ、トリプシンで剥離、遠沈後、一定数の細胞数を培養(10% FBS, Eagle MEM)し、26 日後、1:1 の transfer を行い、その後 2 回に亘って 7 日後の 1:2 transfer 後、70 日前後の観察の結果、培養線維芽細胞の multilayer, piled up foci, 細胞の上皮様変化に成功し、70 日後に於

いては、実験群では一切の contact inhibition 下でない事をつきとめた(図-4)。しかし、ここまでの実験の repeating は可能でも、あくまで形態学的な形質転換に留まり、ヌードマウスへの移植は3回とも take していない。また、一見トランスフォーム化した細胞の UV 照射後の不定期 DNA 合成は、10% 内外の快復度を示しているに過ぎない。

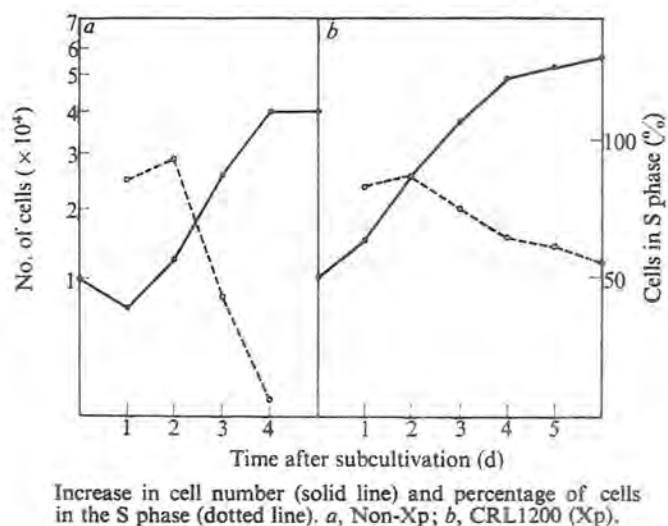


図 4

以上、修復欠損症の一つである XP の修復機構の解析が、哺乳動物細胞での分子遺伝学的手法に非常に有用である以上、Epstein の報告の妥当性の有無は別として、DNA 損傷の修復が「老化の制御」或いは「老化と癌化」という、genetic, epigenetic な現象理解に役立つ基礎的な研究であろうと思われる。

## 文 献

- 1) Hutchinson, J : Medico-chirurgical Trans. Roy Med. Chir. Soc. London , 69, (1886)
- 2) Gilford, H : Practitioner, 73, 188 (1904)
- 3) Werner, O : Über Katarakt in Verbindung mit Sklerodermie, Schmidt und Klaunig, Kiel (1904)
- 4) Strecker, E, and Gardner, H. A. : Lancet II, 1317 (1970)
- 5) Goldstein, S. : Lifespan of cultured cells in progeria, Lancet, I, 424 (1969)

- 6) Danes, B. S. : Progeria. The Journal of Clin. Invest. 50, 2000~2003 (1971)
- 7) Epstein, J., Williams, J. R. and Little, J. B. : Proc. Nat. Acad. Sci., 70, 977~981, (1973)
- 8) Epstein, J., Williams, J. R. and Little, J. B. : Biochem. Biophys. Res. Commun., 59, 850~857, (1974)
- 9) Regan, J. D. and Setlow, R. B. : Biochem. Biophys. Res. Commun., 59, 858~864 (1974)
- 10) Shimada, H. et al. : Nature, Vol. 264, No. 5586, 547~548, (1976)
- 11) 嶋田裕之、井藤英喜 : 文部省科学研究費特定研究 生体老化の基礎的機構 P.38~46, (昭和51年度研究報告 研究代表者 田内 久)
- 12) 大橋望彦 : 培養細胞の老化 老化制御 朝倉書店 P. 68~69

## 討 論

○金子 仁(日本医大) : Werner, あるいは progeria の皮膚の変化について伺いたい。皮膚で、我々が basophilic degeneration と呼んでいる変化がある。elastic fiber はどうなっていましたか? 私は elastic fiber が減っているようにみえたが。血管はどうか。文献には soft part の calcification があると報告されているが、それはどうであったか。

脳の senile plaque とか、原線維変化が神経細胞にあったかどうか。リポフスチンの沈着が心筋、肝、神経細胞にあったかどうか。autopsy をしたとき耳下腺の組織像は如何であったか?

□石井壽晴(慶大・医) : 皮膚の elastic fiber については、おみせした以外の elastic fiber、血管の弾力線維などに特に変化はございません。ルチンの H-E 染色、Mallory, EVG 染色などでも特にあげるべきものはございません。soft part の calcification は、とくに臨床の先生に X-ray でしらべられたかを尋ねた限りみられなかったようである。

脳に関しては異常所見に乏しく、リポフスチン沈着は、我々の症例ではあまり多くありませんでした。外国の文献では 1 例に多いという報告が出ている parotis には変化をみませんでした。

○金子 : 皮膚の変化は scleroderma によく似ているようにみえましたが、scleroderma のときは、最初に mucopolysaccharide がみえて来、そしてあとで fibrosis がくるといいますが。

□石井 : 文献的検索によりましても、Werner 症候群では、edema の記載は明らかではなく

病初期から fibrosis が来るようです。

○大城戸宗男（東海大・医）： 皮膚科の方からしますと、単純にいうと Werner の被覆部位、すなわち体乾部分は正常もしくはやや萎縮、四肢では萎縮する。足背には scleroderma 様の変化が来るという事で発生場所によって異なるといえます。scleroderma 様の変化については、文献的に皮膚科からは報告があります。私の見たところでは scleroderma にそっくりです。

prestige のが少ない。mucopolysaccharide に関しては同じようにふえてくるという事です。

□細田泰弘（慶大・医）： 臨床的には、presclerotic stage というべき病期が scleroderma には通常はありますが、Werner 症候群にもあるのでしょうか？

○大城戸： 皮膚はふつう萎縮して結合織はそんなに多くない筈だが、細田先生の出されました標本は、例外的ではないかと思う。すなわちあの像は scleroderma 様のところで、それは足背にみられるので通常の部位では見られない変化ではないか。

○細田： もちろん、全身性皮膚疾患では病期により、また部位によって皮膚の所見には非常に違いがあります。しかし scleroderma の皮膚の所見と全く同一であるという点に関しては疑問があります。たとえば skin appendage の変化は進行期の scleroderma では一般にもっとつよいと思います。それに対して Werner 症候群では意外によく保存されています。初期に酸性ムコ多糖が増加するという報告もありますが、増加があったとしても果して両者をイコールのものとしてよいかどうか、やはり Werner と scleroderma は現象的に似たところが部分的にあるとしてもいろいろな段階で異なると思うのです。



## 4 a. Werner 症候群培養細胞における老化の細胞・分子機構

神戸大・医

藤原美定・東川俊昭・巽真理子

培養ヒト2倍体細胞は供与者年齢と逆相関する有限増殖性 life span を有することは Hayflick 以来数多い研究から明らかである。この *in vitro* 細胞系は培養条件下ではあるが生理的老化や自然細胞死の分子機構研究モデルとして広範に適用されるようになった。線維芽細胞老化はタンパクや DNA 準位でのエラーの生成と蓄積（それぞれ、error catastrophe と DNA 突然変異に対応）を經由する細胞代謝の調節の“乱れ制御”によると仮説されている。

細胞老化（個体老化の基本としても老化の prototype としても）の基本機構を explore するために、ヒト早老遺伝病細胞を正常と対比して研究することが、現在では最良策と考えられる。

Hutchinson-Gilford progeria の典型例は現在まで入手不可能であったが、成人後発症する常染色体劣性早老遺伝病 Werner 症候群（WS）が神戸を中心として現在まで 8 例蒐集可能であり、皮膚細胞培養に 7 例成功した。われわれがかなり解析を進めることができた 5 WS 例について、*in vitro* 細胞老化と DNA 複製と DNA 修復との基礎的関係の実験成績を次の 4 点でまとめてみた。

1. replicative life span, population doubling level (PDL)。
2. cloning 効率。
3. DNA 修復 - 1 本鎖 DNA 切断 (SSB) 修復と不定期 DNA 合成 (LIDS)。
4. DNA 複製。

その上で、(a)修復欠損が老化促進と関連しているかもしれないという仮説を WS 遺伝病細胞で試す、(b)細胞老化の分子・細胞機構の基本的 parameters を遺伝病を背景として抽出する、(c) WS が腫瘍高発特性をもつことから、老化と腫瘍生成とのつながりを修復と複製の両面から検討する。

### 実験方法

WS の培養及び生化学的分析方法は Fujiwara ら (J. Mol. Biol. 113, 635 1977, J. Cell Physiol, in press) によった。培養に供した skin biopsies は上腕外側のほぼ一定部位から採取された。

## 実験成果

### 1. Life span (PDL) と cloning 効率

皮膚培養細胞の集団倍加能力 (PDL) は同一培養条件 (同一メジウム、血清、インキュベーターの同一のトレイ、温度) 下で、各 WS 細胞 (患者年齢ほぼ 40 歳) で著減し、ヒト正常の約 50 PDL に比して WS の PDL は約  $\frac{1}{2}$  ~  $\frac{1}{5}$  で、in vitro senescence の異常な促進が典型的に認められた。この遺伝病での “decreased growth potential” という指標から PDL は細胞老化のよい指標となる。

life span との平行実験としてコロニー形成性 replicative potential (cloning 効率) の検出を行った。結果を PDL の関数としてプロットすると各 WS では早期 (early passages) より低く、即ち正常細胞 (10 - 25 % PE) の  $\frac{1}{2}$  以下で、最高 PDL 即ち完全老化で 0 % となった。この cloning 効率の PDL 依存性減少度は PDL 減少度と臨床症状の強さ (個体老化度) とよく平行していた。

### 2. DNA 修復能 - SSB repair と UDS

190KVP X線の 20 krad 照射による誘発 SSB の生成と続く 37°C 培養による SSB repair を WS's と正常とでアルカリ蔗糖遠心法で比較分析した。結果は WS 細胞は正常レベルの SSB repair を示し、修復は残存傷の半減期約 10 分の first-order kinetics であった。一方、各 WS 系における紫外線誘発 UDS は線量 (0 - 40 J/m<sup>2</sup>) - 効果関係においても、20 J/m<sup>2</sup> 後の時間 (0 - 19h) - UDS 量関係においても正常反応を示した。さらに、early passage 及び enhanced senescent phase での WS の UDS response も正常レベルと解析された。従って WS での除去修復系の各酵素段階の作動はよいと思われる。これを裏づけるように、UV と X 線の生存曲線も正常抵抗を示した。

### 3. DNA 複製速度

WS 細胞の DNA 複製 (<sup>3</sup>H) thymidine のとりこみ) はわるい。正常及び WS 細胞を 3min - 4h 連続的に 37°C で [<sup>14</sup>C] thymidine で label し、新しく合成している DNA の分子量をアルカリ蔗糖遠心法で分析した。Hayflick phase II の正常細胞の DNA 沈降速度即ち分子量は 3min (≤ 4S) から 1h ラベル (~ 230 × 10<sup>6</sup> Mw) へと急速に増加する。しかし老化度の最も強い WS 1 KO の early passage DNA は 2h と 4h の連続ラベルによっても沈降速度は最も遅く、分子量 Mw ≈ 100 - 120 × 10<sup>6</sup> で最小であった。その他の数 WS 株は正常と WS 1 KO との中間の分子量増加のパターンを示した。1h ラベル分子量 (重量平均分子量 Mw) 値の正常細胞 (Mw ≈ 230 - 280 × 10<sup>6</sup>) との比率を DNA 複製速度の簡易尺度とすると WS 系の early passage (2 - 3 代) で 3KO; 0.6, 4KO; 0.4, 6KO; 0.3, 1KO; 0.2 で異常に複製速度が減弱していた。またこ

の順に臨床症状も重かった。

#### 考察とまとめ

1. 培養遺伝病細胞で *in vitro senescence* の基本機構を知ることができた。遺伝的に促進された個体老化 (*meso-ectodermal* 系が主因といわれる) を成人後発症する WS では臨床症状の強さと培養皮膚由来の *fibroblasts* の *aging* の促進とはかなりよく平行した。典型 WS 細胞の *in vitro senescence* は PDL の初期からの劣化と進行性減少と、PDL 依存性の *cloning* 効率の特長的早期劣化とで特徴づけられることが明らかとなった。即ち細胞老化の基本的性格を *cell replicative potential* の遺伝的劣化で WS は表象しているものと見られ、老化モデルの *prototype* とすることができる。遺伝病細胞を老化研究に持込んだ成果である。

2. われわれの研究で得た成果の新局面のもう一つは WS の細胞老化の基本的分子機構は少なくとも SSB や *dimer* のような DNA 損傷の除去修復の欠損又は減弱による *pathway* が根拠とならず (子供の早老症 *progeria* では *repair defect* が関与しているともいわれる)、むしろ DNA 複製能力の顕著な *defect* であった。DNA 分子量増加の減少度は 1h label で 40-80% で PDL 減少度と症状度とよく平行している。正常 2 倍体 MRC-5 の DNA chain growth の老化 (*passage 58*) による減弱度は約 30% であるから、WS 特異な老化の主因は DNA *replicative catastrophe* と仮想することも当を得ていないとも云えない。しかしその原因の究明 (DNA *polymerase* か、他の細胞要因か) は今後の課題となろう。

以上(1)と(2)で述べたことは老化のよいパラメーターとなろう。

3. 神戸での 8 WS 例中 3 症例が腫瘍 (*fibrosarcoma, meningioma, thyroid adenoma*) を担っており、*in vivo* DNA *polymerase* 活性異常は老化と腫瘍生成との相関に重要な因子となろう。

4. 老化のような *diverse* な現象の説明には多元論がもてはやされるが、過去歴史上重要な生物現象の原因として多元原因説はあまり成功をみていないようである。WS でも多くの遺伝子産物 (酵素) の易熱変性分画の高いこと等多くの酵素の異常が示されており、今回は *in vivo* DNA *polymerase* 活性の欠損が暗示できた。したがって、*diverse protein defects (error catastrophe)* を *unify* する一元的常染色体の老化突然変異 (単純劣性遺伝をするようなので *polygenic* とは考えられない?) でやがて説明できるようになろう。

これら WS の一部の臨床研究は本シンポジウムで中尾実信氏 (神戸大医) と DNA *polymerase* 研究は吉田松年氏 (愛知コロニー) によって報告された。本研究は文部省研究費、内藤記念、理研ライフサイエンス等からの補助によった。WS 皮膚供与は患者の貴重な理解と同意を得て神戸大内

科Ⅱ、Ⅲ及び皮膚科、兵庫リハビリセンター、近畿大医皮膚科、東海大医皮膚科に負うところが  
大で、関係諸氏に感謝する。

## 4b Werner 症候群患者組織の DNA ポリメラーゼ

愛知県コロニー・神戸大医・愛知県がんセンター

吉田松年・山田真千子  
藤原美定・森田敏照

### 要 旨

Werner 症候群患者の皮膚および膝部に生じた線維肉腫 (fibrosarcoma) より DNA ポリメラーゼ  $\alpha$  および  $\beta$  を分離、精製した。対照として、Hela 細胞、Burkit リンパ腫培養細胞およびヒト甲状腺から同様にポリメラーゼを精製し、諸性質を比較検討した。

Werner 症候群由来の酵素と対照のそれとが、本質的に異なるかどうか未だ結論は得られていないが、以下に述べる如く酵素学的性質が 2、8 異なっているのも、Werner 症候群における異なる DNA ポリメラーゼの存在の可能性に関して今後も追求したい。

### 序 論

異常に早期に老化することで知られる遺伝性疾患、Werner 症候群 (以下 WS と略す)、においては DNA 複製に異常が存在することが知られている。Fujiwara ら<sup>1)</sup>は WS の線維芽細胞において DNA 鎖の伸長速度が正常由来のそれに比し著しく遅いことを見出し、DNA 合成酵素系に異常があることを示唆している。

DNA の鎖伸長の遅延は、50 代以上継代培養した正常の線維芽細胞においても見出されており<sup>2)</sup>、老化の一般的な特徴と考えられる。一方、50~60 代継代培養した正常細胞および WS 由来の細胞内にはともに熱に不安定な酵素又は不活性な酵素タンパクの割合が増加することが知られている<sup>3,4)</sup>。これは DNA → DNA → RNA → タンパクと云う遺伝情報の流れがどこかの段階で乱されて異常なタンパク分子が生産されていることを意味する。われわれは DNA 合成系の中心的な酵素である DNA ポリメラーゼを WS 患者組織から分離、精製し対照との比較、検討を試みた。

## 方 法

1) DNA ポリメラーゼの精製。少量の材量から収率よく精製する必要上、図1に示す方法を開発した。これにより Hela 細胞約 0.2～0.5 g (細胞数 $\sim 10^8$ ) から DNA ポリメラーゼ  $\alpha$  および  $\beta$  (以後 pol.  $\alpha$  および pol.  $\beta$  と略す) を分離できる。分離、精製した pol.  $\alpha$  および pol.  $\beta$  の各

### Separation of DNA polymerase- $\alpha$ and - $\beta$ from tissues.

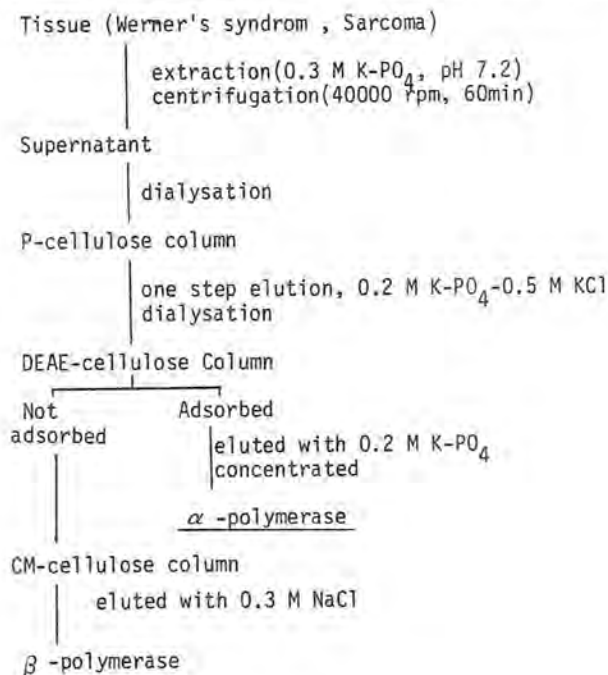


図 1

分画は、その鑄型特異性、至適 pH、2 価陽イオン要求性、および塩に対する感受性など表1に示した結果から、それぞれ主として pol.  $\alpha$  および pol.  $\beta$  を含み、相互の cross-contamination はわずかであると思われる<sup>5,6,7)</sup>。SH-阻害剤の影響(表2)も、上記の結論を支持する。この方法に従って約 4g の WS 患者の皮膚および約 8g の線維肉腫から pol.  $\alpha$  および pol.  $\beta$  を精製した。対照として Hela 細胞、Burkit リンパ腫培養細胞およびヒト甲状腺(機能亢進症で切除)から酵素をそれぞれ精製した。

DNA ポリメラーゼ  $\gamma$  は、その量がわずかであるため検出できなかったが、この分画法では  $\alpha$  分画に混在すると思われる<sup>8,9)</sup>。

2) 活性測定法。pol.  $\alpha$  および pol.  $\beta$  は報告した方法<sup>5,9)</sup>により活性を測定した。表3および表4に反応液の組成を示した。

Templates, pH, metal, and salts.

$\alpha$  -Polymerase

Templates	pH	Metal	Activity(cpm)
Activated DNA	7.5	Mg <sup>++</sup>	630
		Mn <sup>++</sup>	103
	9.0	Mg <sup>++</sup>	274
		Mn <sup>++</sup>	142
(rA) <sub>n</sub> ·(dT) <sub>10</sub>	7.5	Mg <sup>++</sup>	0
		Mn <sup>++</sup>	0
	9.0	Mg <sup>++</sup>	23
		Mn <sup>++</sup>	7

$\beta$  -Polymerase

Template	pH	Metal	Activity(cpm)
Activated DNA	7.5	Mg <sup>++</sup>	1435
		Mn <sup>++</sup>	257
	9.0	Mg <sup>++</sup>	1592
		Mn <sup>++</sup>	158
(rA) <sub>n</sub> ·(dT) <sub>10</sub>	7.5	Mg <sup>++</sup>	60
		Mn <sup>++</sup>	3892
	9.0	Mg <sup>++</sup>	102
		Mn <sup>++</sup>	4655

(rA)<sub>n</sub>·(dT)<sub>10</sub> assay: 80 mM NaCl

Table 1

N-ethylmaleimide inhibition

NEM(mM)	HeLa $\alpha$	HeLa $\beta$
0 mM	874 (100 <sup>0/0</sup> )	1051 (100 <sup>0/0</sup> )
2	119 ( 14 )	920 ( 84 )
4	142 ( 16 )	844 ( 76 )

Table 2



$\alpha$  -Assay (62.5  $\mu$ l)

1)	Activated DNA	200 $\mu$ g/ml	
	[ <sup>3</sup> H]4dXTPs	0.1 mM each	
	MgCl <sub>2</sub>	8 mM	
	2-mercaptoethanol	4 mM	
	BSA	80 $\mu$ g/ml	
	K-PO <sub>4</sub> (pH,7.2)	40 mM	
	Enzyme		Incubation, 37 <sup>o</sup> ,60'
2)	(dA) <sub>n</sub> .(dT) <sub>10</sub> (A/T=10)	20 $\mu$ g/ml	
	[ <sup>3</sup> H]dTTP	0.1 mM	
	MnCl <sub>2</sub>	0.5 mM	
	2-mercaptoethanol	4 mM	
	BSA	80 $\mu$ g/ml	
	Tris.HCl (pH,7.5)	40 mM	
	Enzyme		Incubation, 37 <sup>o</sup> ,60'

Table 3

$\beta$  -Assay (62.5  $\mu$ l)

1)	(dA) <sub>n</sub> .(dT) <sub>10</sub> (A/T=10)	20 $\mu$ g/ml	
	or (rA) <sub>n</sub> .(dT) <sub>10</sub> ( " )		
	[ <sup>3</sup> H]dTTP(40000cpm/nmol)	0.1 mM	
	MnCl <sub>2</sub>	0.5 mM	
	NaCl <sub>2</sub>	80 mM	
	BSA	80 $\mu$ g/ml	
	Tris.HCl (pH,9.0)	40 mM	
	Enzyme		Incubation, 26 <sup>o</sup> ,60'
2)	Activated DNA	200 $\mu$ g/ml	
	[ <sup>3</sup> H]4dXTP	0.1 mM each	
	MgCl <sub>2</sub>	8 mM	
	NaCl <sub>2</sub>	80 mM	
	BSA	80 $\mu$ g/ml	
	Tris.HCl (pH, 9.0)	40 mM	
	Enzyme		Incubation, 37 <sup>o</sup> ,60'

Table 4

## 結果および考察

1) 熱安定性。WS 肉腫および HeLa 細胞から精製した pol.  $\alpha$  および pol.  $\beta$  の分画を  $43^{\circ}$  に一定時間保ち、冷却後活性を測定して得られた熱失活曲線を比較してみると、WS と HeLa との間に差異は認められなかった(図 2)。これは G-6-P 脱水素酵素<sup>3)</sup>あるいは H-GPT<sup>4)</sup> において観察された結果とは異なる。なお、pol.  $\beta$  の方が pol.  $\alpha$  に比して熱に不安定である。

2) pol.  $\alpha$  の鑄型特異性。WS の肉腫および皮膚から分離した pol.  $\alpha$  は、合成ポリマーであるポリ(dA)·(dT)<sub>10</sub> (A : T = 10 : 1) を鑄型とした場合の活性を基準として比較した場合、活性化 DNA を鑄型とする活性が、比較的に低い。しかしながらこの特徴は必ずしも WS に特有な性質ではなく、ヒト甲状腺から精製した pol.  $\alpha$  にも認められた(表 5)。WS pol.  $\alpha$  のこの性質が、夾雑物による活性化 DNA 依存反応の阻害でないことは、WS pol.  $\alpha$  と HeLa pol.  $\alpha$  と混合して活性を測定して阻害を示さないことから確認された。これらの結果は、pol.  $\alpha$  は、増殖が極めて盛んな組織と、増殖を停止しているかまたは遅い組織とで、存在状態に違いがあることを示唆する。今後の一課題である。ちなみに仔牛胸腺 pol.  $\alpha$  の 3 つの活性型の一つ( $\alpha_c$ )も WS 又は甲状腺 pol.  $\alpha$  と同様の性質を示した。

3) pol.  $\beta$  の鑄型特異性。表 6 に WS pol.  $\beta$  と HeLa pol.  $\beta$  の鑄型特異性を示す。両者を比較して特に大きな相異点は、HeLa pol.  $\beta$  はポリ(rA)·オリゴ(dT) を鑄型としてよく利用するが、

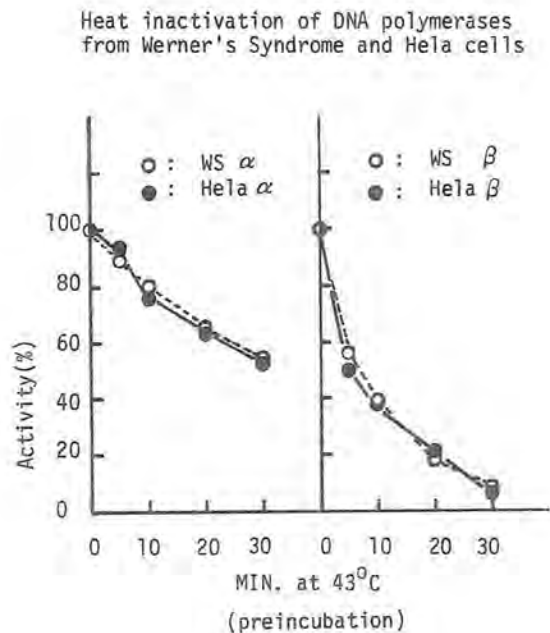


図 2

Ratio of the activity of DNA polymerase- $\alpha$  with  $(dA)_n \cdot (dT)_{10}$   
and activated DNA

Tissue or cells	Template-primers		b/a
	$(dA)_n \cdot (dT)_{10}^a$	Activated DNA b)	
Burkit lymphoma	1500	8512	5.7
Hela cells	2960	23474	7.9
Thyroid	2134	1078	0.51
Calf Thymus( $\alpha$ c)	64281	36335	0.56
Werner's syndrome sarcoma	2372	2502	1.05

Table 5

Template preference of DNA polymerase- $\beta$  from Werner's syndrome

Template-primers	Temp.	Werner's s. sarcoma pol. $\beta$	Hela cell pol. $\beta$
$(dA)_n \cdot (dT)_{10}$	26 <sup>0</sup> C 37	738 (100) 96	930 (100) 612
$(dA)_n \cdot (dT)_{12-18}$	26 37	770 762	1414 1720
$(rA)_n \cdot (dT)_{10}$	26 37	146 (20) 8	3374 (363) 46
$(rA)_n \cdot (dT)_{12-18}$	26 37	764 (51) 268	3480 (374) 852
$(dC)_n \cdot (dC)_{10}$	26 37	22 78	530 926
Activated DNA	26 37	70 194	290 670

Table 6

Fidelity of DNA polymerase-alpha from Werner's syndrome

Template:  $(dA)_n \cdot (dT)_{12-18}$  (5:1)  
 Complementary deoxynucleotide : dTTP  
 Mismatched deoxynucleotides : dCTP, dGTP  
 Divalent cation :  $Mn^{++}$   
 Incubation : 37<sup>0</sup>, 120'

Misincorporation (dCTP, mol) / 10<sup>5</sup> mol dTTP synthesis

	WS sarcoma $\alpha$	Hela $\alpha$	Thyroid $\alpha$	Calf thymus $\alpha$
exp.1	37.2	11.7	12.6	—
exp.2	45.5	2.2	—	7.3
exp.3	38.1	0.6	7.6	—

TdT activity was not detected.

Table 7

WS pol.  $\beta$ はこの鋳型上での活性が低いことである。この違いが、酵素の差異によるものか、あるいは夾雑物(例えばRNase)の違いによるものかを知るためWSおよびHelaのpol.  $\beta$ を混合して、ポリ(rA)を鋳型として活性を測定してみるとHela pol.  $\beta$ 単独の場合に比し約50%活性が低下した。この場合には従ってWS pol.  $\beta$ 標品中に阻害物質が存在し、ポリ(rA)・オリゴ(dT)依存活性を妨げている可能性があり、WS pol.  $\beta$ 特有の性質かどうか未定である。

4) DNA合成の正確度(fidelity)。ポリ(dA)を鋳型としてポリ(dT)を合成する反応において、非相補的なデオキシヌクレオチドを誤ってとりこむ頻度を測定した(表7)。WS pol.  $\alpha$ は対照群のそれに比して誤ってdCMPをとりこむ確率が数倍高いと云う結果を得た。この結果はヒト線維芽細胞のDNAポリメラーゼのfidelityが、長期継代培養によって低下するとの報告<sup>10)</sup>、およびラット肝のDNAポリメラーゼのfidelityが加齢により低下するとの報告<sup>11)</sup>と考え合わせ興味深い。

## 文 献

- 1) Fujiwara, Y., Tatsumi, M. and Higashikawa, T. (1977) *J. Cell Physiol.*, in press.
- 2) Petes, T. D., Farber, R. A., Tarrant, G. M. and Holliday, R. (1974) *Nature*, 251, 434-436
- 3) Holliday, R., Porterfield, J. S. and Gibbs, D. D. (1974) *Nature* 248, 762-763
- 4) Goldstein, S. and Moerman, E. J. (1975) *Nature*, 255, 159
- 5) Yoshida, S., Masaki, S. and Ando, T. (1976) *J. Biochem.*, 79, 895-901
- 6) Yoshida, S., and Cavalieri, L. (1977) *Biochim. Biophys. Acta*, 475, 42-53
- 7) Weissbach, A. (1975) *Cell*, 5, 101-108
- 8) Yoshida, S., Ando, T., and Kondo, T. (1974) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 60, 1193-1201
- 9) Yoshida, S., Yamada, M. and Masaki, S. (1977) *Biochim. Biophys. Acta*, 477, 144-150
- 10) Linn, S., Kairis, M. and Holliday, R. (1976) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 73, 2818-2822
- 11) 田口隆彦, 大橋望彦(1976) *生化学* 48, No 7, 534

## 〔追加〕 Werner 症候群患者皮膚 fibroblast の コラーゲン産生能について

東海大・医

田 島 知 行

我々は、東海大学医学部皮膚科より、52歳及び37歳のWerner氏症候群患者の皮膚を提供された。我々はそれらの皮膚より、fibroblastを培養し、fibroblastの一機能と考えられているcollagen産生能を、正常人皮膚由来fibroblast及びヒト胎児肺由来fibroblastのそれを比較した。

### 方 法

collagen量の測定はProkopf等の方法に従い、medium中及び細胞層のhydroxy proline量を測定した。各細胞のサンプリングは、2～3日の間隔で行ない、培養開始後、表に示す日数で行なった。

### 結 果

WF 52は52歳の患者皮膚fibroblastで9代で増殖が停止した。WF 37は37歳の患者皮膚fibroblastで、15代で増殖が停止した。

collagen産生に関しては、表に示す通り、産生総量(T欄)に於いて、WF 52ではearly passage(4代)late passage(8代)の各点で、NAS 47(47歳正常人皮膚由来)FLT 21(21W胎児肺由来)等の正常群及びWF 37より高いcollagen産生量が観察された。

又、細胞層に沈着したinsoluble collagen産生量(C欄)を比較して見ると、正常又はWF 52では、培養日数の増加に従って産生量の増加が認められるが、WF 37ではearly passage中の2点、すなわち、4代と7代に於いては、培養日数が増えるにつれ、産生量の減少が認められた。

### 考察及びまとめ

2例の年齢の異なるWerner氏症候群患者皮膚fibroblastのcollagen産生能をしらべた。2例に共通して異常と認められる現象はわからなかったが、どちらも正常群と異なり、WF 52では、



総産生量が正常群より高値を示し、WF 37 では、産生総量は正常群とほぼ同等であるが、細胞層に沈着した insoluble collagen の産生量の変化に正常群と異なる傾向が認められた。このように Werner 症候群患者皮膚 fibroblast は collagen 産生の動態に於いて正常と異なる事がわかった。

### 各種細胞のコラーゲン産生能の比較

単位  $\mu\text{g} / 10^6 \text{ cells}$

days		WF 52		WF 37		NAS 47	FLT 121
		P 4	P 8	P 4	P 7	P 7	P 15
1	C			0.0		0.4	0.8
	T			7.3		1.4	5.5
2	C	1.8			1.1		
	T	44.2			1.1		
3	C			0.6		0.4	0.1
	T		30.4	9.7		9.7	1.1
4	C				1.2		
	T				5.7		
5	C	3.9		0.1		1.0	0.4
	T	63.3		6.1		5.5	2.7
6	C		0.9		0.4		
	T		20.5		3.6		
7	C						1.4
	T						3.1
8	C	7.4			0.4		
	T	65.0			5.4		
9	C		2.6				
	T		21.2				

## 討 論

○大橋望彦(都老人研)：吉田氏に対して；先生の用いられた材料は、Werner であるのと同様に sarcoma である。sarcoma であるという点が問題である。原発腫瘍というのは、どうしても fidelity が悪い、使われた sarcoma は継代して普遍化されているのなら又別であるが、sarcoma の fidelity の反映なのか、Werner 特有の反映なのかが問題になると思いますが如何。

□吉田松年(愛知県コロニー)：おっしゃる通りです。白血病の DNA ポリメラーゼの fidelity が低いと言う報告があります。今後、その意味で癌でないところの皮膚などをやるべきなのですが、活性が非常に低いのでなかなか困難です。

○山田正篤(東大・薬)：polymerase について、性格に差があるとお考えですね。

□吉田：現在の段階では、control として、何をもってくるかが問題です。Werner のポリメラーゼと Hela cell のそれと比べればあきらかに鋳型特異性等に差があります。しかし、他の臓器と比べると、それほどはっきり差異がでない。現在のところ、まだ全部チェックしてないが fidelity に関してはかなり一般的な違いがあると考えております。

それ以外の鋳型特異性など調べました性格については、どうも Werner という事で違うのではなくて、細胞の存在状態、例えば増殖が盛んであるかどうかとか、または contamination の差によって違ってくるのではないかと考えておりますが、まだ結論を出していません。

□山田：温度によっては、かわって来ないのですね。

○吉田：バクテリアの TS 変異株のような意味での温度感受性はないようです。

なお、Werner は、polymerase 活性がひくいのです。何と比べて低いかという、Hela と比べればあきらかに低いのです。また、thyroid tissue はかなり低いのですが、それに比べても尚低いのです。量的な問題と質的な問題と、もう少し、きっちりつめてやらなければならないと思って居ます。

□山田：量が多ければ specific activity もわかってくるのではないかと思いますね。

○吉田：量の少いというのが neck です。

□武部 啓(京大・放生研センター)：比較は同じように精製されたものを使っていらっしゃるわけですね。

□吉田： はい、同じ精製段階のものを用いました。

○嶋 昭祐（滋医大）： 藤原先生に、WS（Werner syndrome）では、対照（NH5F6）にくらべて growth potential が低下しているということでしたが、それぞれの donor の age は、どうだったでしょうか。WSにも growth potential の違いがみられたと思いますが、これは donor の age の違いと無関係かどうか、また正常対照として用いられたNH5F6の donor の age と、age-matched でしたでしょうか。

□藤原美定（神大・医）： WS donors は大体40歳位です。Wernerでは $\frac{1}{2}$ ～ $\frac{1}{5}$ 位 population doublings がおちています。40歳位と70歳位では growth potential の差は一回の実験からは殆んど何も云えません。

○黒田行昭（遺伝研）： 藤原氏に、さっきのDNAの修復のアルカリ蔗糖 gradient の pattern ですが、5時間後の continuous labeling で、まだ大きな fraction には行っていないが、大体どの位の時間で、大きな fraction には入りますか？

□藤原： 正常のですと大体1時間では入ります。WSIKOではcompleteに大きくなるのに72時間も例外的にかかりました。他のWSは4～8時間です。

○黒田： そういうの cell cycle の S は、もっと長いですね。

□藤原： WS は incorporation が大へん悪くて、S期は厳密には測定出来ませんが大へんのびていると思われれます。G<sub>1</sub>が明らかに長い。

○大城戸宗男（東海大・医）： Wernerは藤原先生の研究によるとUV-repairの障害はない病気とされていますが、自然界にはUV以外には障害をおこすものはないのでしょうか。

□藤原： 体の中にフラビン系がありまして直接作用とさらに photodynamic にも出来る可能性はあります。

○武部： ピリジンダイマーは365nm位迄出来るとされていますからUVBとよばれている波長ではたしかに出来るでしょう。XPの実験では253.7nmと310nmとで実験結果に平行関係が出来ていて本質的に同じです。それ以外に酵素レベルでの障害などDNA以外の障害は、もっと上廻るかも知れない。とくに紅斑現象がなぜXPで強くおこるか、というような事などはよくわからない、それには当然近紫外光がからんでいるかも知れない。

□藤原： 私どもは、あく迄も実験波長でみたのみです。X線の時きでも、1本鎖切断以外の障害への resistanse はみていません。人の老化した細胞で、即ち normal で senescent な細胞でピリミジンの環飽和γ線産物、俗称 t' といっているが、その excision が悪いという報告はあります。これは一つのグループからだけ報告されている。

○鈴木擘之(東海大・医)： 吉田さん、control には、何がいいのでしょうか。

□吉田： normal fibroblast です。

0.2 μ から 0.5 μ 位の Hela cell があればとれます。Hela のように normal fibroblast はみえないので normal の fibroblast を沢山集めるという事が大切になります。

○黒田： Werner の方も sarcoma でない正常細胞でないといけないわけですね。

□武部： Werner で fibrosarcoma しか材料として手に入らないのなら normal の fibrosarcoma を探さなければならない事になりますね。

## 総 合 討 論

○太田邦夫（都老人研）： お話しをうかがってきまして、何をどんな方法で、何と比べるか、といういわば技術的な問題、つまり老化研究の project としては具体的な問題に関しては、かなり討論がなされてきて問題が浮かび上がって来たと思われまして。

このシンポジウムの目的としては、また、老化研究の戦略として progeria または Werner をとり上げる意義の検討、戦力を投入するとすればどの程度の重要性があるかの判断という問題があると思います。御自由に活発な討論のおこることを期待いたします。

○中尾実信（神大・医）： 老化の問題を考えると program された aging の問題と error theory などに代表される後天的に加わる因子の問題とがあると思うのですが。細田先生におうかがいしたい。Epstein の case の 1 例のみに thymus に involution があったのが報告されていますが、thymus の involution と生殖能力の衰退は program された aging を考えるには重要だと思うのです。20 歳で死亡した先生の症例でそういう変化はありましたでしょうか？ 我々は色々内分泌学的にしらべているのですが、生前にしらべた限りでは、分泌機能の方はあまり侵されて居らず target の方が問題になると思われる所見をむしろ得ています。たとえばブドウ糖負荷にともなう IRI の過剰反応がそうですし、Werner では tolbutamide 負荷による膵β細胞からの insulin の分泌は正常であるといわれています。病理解剖ではむしろ焼け跡的な像しかないように思われますが、いかがお考えでしょうか。

□細田泰弘（慶大・医）： まさにその通りです。私が今日お目にかけたように、例えば progeria-like syndrome 表現形として、胸腺の萎縮ないし involution があるわけですが、それは飢餓萎縮も加わった一種の summation であって、このような変化のみから直ちに全身の変化を thymus dependent とか免疫反応の異常と云ってしまう事は大へん危険な事であると思います。形態学もまたまさに一つの断面でして、形態学の側から提出出来る点は、個体を全体として眺め、臓器・組織・細胞の相関性を観察しその病気を疾患論的にどう位置付けるかという事が主体ではないかと思えます。内分泌学的な target の問題などはむしろ receptor を研究対象とされている側の方、あるいは生化学や免疫学をやっている方にゆだねた方がよいのではないかと思っています。

○中尾： thymus の involution が Werner 症候群で実際に、本当に沢山あるのでしょうか。T-cell の変化でもあまり落ちていないようで、老化の場合とは異り、年齢に不相应な thymus の involution があるようには思えないのですが。



□細田： 30歳をすぎたヒトにおいては thymus は生理的退縮をおこしているのがふつうです。栄養状態の障害があれば尚つよいことになります。むしろ残っている方が異常であるわけです。もう一つ、最初に申し上げたように剖検例というものが疾患の全体を正しく反映しているかどうか問題であるとは思いますが。

○太田： 細田先生の第一例、20歳の人の胸腺やリンパ組織の所見は？

□石井壽晴（慶大・医）： thymus には involutionが見られました。又リンパ節には目立った atrophy は目立ちませんでした。

○藤沢浩四郎（都神経研）： 老化の細胞病理について考えてみますと、今日の主題は Werner とか progeria とか皮膚の病気でございましたが、皮膚が萎縮するという事について、今日のスライドからだけではどうしてああいう皮膚の所見になるのか、自分にはイメージがはっきりしなかった。これは恐らく解剖時に採った組織の光顕的検索だけでは駄目であって、やはり biopsy をやり、電顕でみてみなければ、いろいろな討論の基礎は得られないと思う。皮膚は好きな時、好きな所を biopsy しようと思うので、皮膚科の臨床の方にぜひとっていただきたい。

□嶋田裕之（都老人研）： turn over に関して、形態学的にわからないものでもないが、我々はむしろ fibroblast の培養を問題にしています。我々は、こういう病気は全身病と思っている。皮膚所見にこだわっているわけではない。progeria といっているものの本態が genetic なものなのか、epigenetic なものなのか、それが問題です。私はむしろ xeroderma は一見老化と無関係であるが、UV照射後の修復は悪い。Werner や progeria は修復は問題ないが replication に遅れがある。この辺りはわかって来たと思います。しかしあらゆるものが、program の中に組み込まれた genetic なものなのか、epigenetic なもののかは未だ判然としない。私は、修復欠損症と progeria と両方細胞をみていると、両方がどこかでからみあっているように思われるのです。少くとも in vitro では、老化と発癌という点を genetic cord の error から考える時、両者には共通した base をもっているのではないかという夢はもっています。

○永井克孝（都老人研）： これまでのところ皮膚の事が主な問題になって、皮膚以外の他の臓器の細胞については、何も聞けなかったように思えます。そこで、この点について、今少し知りたいのですが？ 今まで述べられたことは皮膚の fibroblast だけに特異的といったものではないのでしょうかね。

□田内 久（愛知医大）： まず、としよりの変化というのは大へん個人差がつよいということ

です。さきほどの Werner とか progeria が老化のモデルになるかどうかという話ですが、としよりにこういう変化があるからそのような変化をもった人は直ちにとしよりであるというのは、大へん危険であると思って居ります。皮膚の事に関しては詳しい — といってあれだけでは不十分ですが — ましてや、他の内臓の変化でもあの位しかわかっていないのですね、人間の老化現象を細胞レベルでみてみても、非常に沢山の症例をみて、やっとこんなものかなと思う位でして、老化モデルというには多数例をみて検討すべきもので、一例だけみて、動脈硬化があるからすぐもうこれは老化にむすびつくというのはどうも。私は、これは病気だと思って居ります。さきほど slide で肝をちらりを見せていただきましたが、あれはとしよりの肝ではないと思いました。

○太田： それを私、田内先生に云っていただきたかったです……。

○渡辺慶一（東海大・医）： 藤原先生のお話で DNA replication の retardation がおこるという事でしたが、retardation をおこすものは何か？ 放射線障害の場合に primary に核酸だけがやられるのではなくて、細胞膜の lipid なんかが primary に変化を受けてそれが色々な影響を及ぼすのではないかと考えた事があります。そういう意味で、DNA replication の retardation をおこすものが他にないでしょうか？ speculation でも結構ですから。

□藤原美定（神大・医）： 大へんむづかしい問題だと思います。たとえば皮膚細胞を使う場合、修復に関しては曾て xeroderma がそうであったように、また Fanconi でもそうであったように、今度は老化というある一つの現象を適確につかむために、遺伝病を使えば、目指すものの prototype と本質をちゃんとつかむことができる。その prototype にみられる現象を考える事が出来る。そこに出て来た現象を parameter として用いる事が出来る。

たまたま、単純劣性遺伝で ecto-mesodermal 系の異常な senescence が際立っているという点で Werner の皮膚細胞を使う事がこの場合当を得ていると思うのですが。そこから得たデータが先ほど述べたようであった、という事です。

他の臓器はどうかと云いますと、それはやはりよくわかっていない。置かれている場所によって変化は勿論違うと思われませんが、あるいは他の臓器に老様の変化のある別の遺伝病をもってくれば或いは共通のものが得られるかも知れません。progeria のたしかな例は日本にはなかなかないようですが、今の段階ではこういうものを集めて行って別の臓器に変化のある遺伝病はこうだというように、すべてに共通なものを抽出する事が必要だと思います。人の遺伝病は、人でなければ出て来ないものがあるので、診断が適確に下されればまちがいないので、遺伝病を使うのは一つの手だと思います。簡単に得られる皮膚細胞の実験所見から prototype として老化の基本現象を得る事が出来るであろうと信じています。

□武部 啓(京大・放生研センター)： 私も同意見であります。私共は、決して皮膚でみた所見をもって全身もそうであると云っているのではありません。遺伝に関するものであれば、すなわち DNA に関係するものであれば、人間は一個の卵から分かれた筈ですから、そこに共通しているものがあるという考えから始っています。次に xeroderma の場合には大腸菌と人間において共通なものがある。これも遺伝学の原則から予測できることが実証されたといえるものでありまして、その方法論をもってどこ迄行けるかまずやってみよう、という事につきると思います。

○犬橋望彦(都老人研)： 藤原先生か嶋田先生にお伺いしたい。

遺伝病という事でお話があったのですが、遺伝病で我々がびんと来るのは、まず栄養要求の問題です。introduction の鈴木先生のお話で E. coli の事が出ましたが、遺伝病のときに栄養要求が変ってくるという事で、培養している細胞について、栄養要求はどの程度調べられているのでしょうか。

□藤原： むづかしい事と思う。Werner では栄養要求で、どのときにはどう変るかという事を見るよりも、まず最初から growth が悪いものですから。しいていえば Eagle の MEM と Dulbecco の MEM を使いますと、後者の方が少しよろしいという位です。培養というのはちょっと血清が悪いと、どうにもなくなるという点があります。私が実験をやりましたのは、同じ lot の medium で、同じ lot の血清ですべて最後までやりましたので比較しました。血清をかえるとすぐに狂って来ました。こんな具合で、栄養要求をみるというのは大へんな仕事だと思います。

佐々木先生の遺伝病の話の中で、お話になった ataxia teleangiectasia というのは修復欠損の外に immunodeficiency がありますし、小脳にも変化があり、老化が早いという事ですし、よい材料ではないかと思っています。

○鈴木堅之(東海大・医)： 私ならば私に類する人は、Werner 症候群とか progeria という病気の全体を理解しようなどという気は少しもなく、欠けているものは何だという事さえ知ればよろしいのでありまして、お医者さん或いは臨床の先生、病理の先生に、我々生化学畑のものがこれを老化モデルとして、これからますます一生懸命に熱を注いで果していいものかどうか、そちらで判定を下していただかないと大へんせつないのですが。

□田内： 老化モデルと direct に結びつかなくても、老化の研究に大へん役に立つデータが出てくると思います。

○吉川政己(東大・医)： 本日大へん勉強になりました。よく老年者を診察してありまして、臨

床の疾患の分類というのは主として organ 別によく整理されて居ります。しかし遺伝の問題は、小児科に比べて、40歳以後のヒトについては不鮮明でございましたが、遺伝学が geriatrics に深くかかわってきているという点を本日深く思いを致した次第です。

□乾 直通(生物実験センター)：大橋先生の培養細胞の栄養要求の質問に対して、お答えになるかどうか、私たちのデータで Zupaia という猿の培養があります。培養を Dulbecco's MEM (DMEM) と MEM と F12 培地でやってみました。すると、F12 を使いますと何回くり返しましても passage 1620 まで行くと、cell doubling がなくなり、population が平衡に達します。しかし DMEM と MEM で培養しますと今迄 70 歳すぎても増殖をつづけます。両 medium の大きな違いは F<sub>2</sub> エルグにはチミジンはチミジンヒポキサンチンが入っていることです。核酸の precursor の中に、培養での aging を規制する factor を追求することが或いは出来るかも知れません。只データ、だけです。

○中尾：Walford が aging の免疫説を云っていますが Copenhagen, Munksgaard, 1970 (Walford, R. L. The Immunologic Theory of Aging) その中に progeria が自己免疫疾患の一つではないかという事を云っています (Lancet II : 1226, 1970)。武部先生に教えていただきたいのですが、Burnet が色々な抗体が沢山出来る diversity があるという事について、有名な clonal selection theory を出し、その基礎として mutation の重要性を述べていると思います。今日は fibroblast 中心の話になってしまった感があるのですが、免疫学的に考えて、老化にともなう自己抗体検出率の増加とか或いは悪性腫瘍の多発とかいう意味で免疫監視機構の低下が問題にされていると思います。したがって今日報告された fibroblast の研究成果とリンパ球における変化の類似性というのを考えて行かなければならないと思うのですが、リンパ球におけるエラーの蓄積とか、突然変異というものが免疫監視機構におよぼす影響と fibroblast における変化とを同じように考えてよいものかどうか？

□武部：免疫学については不勉強でわからないのですが、人間の遺伝病は、人間がつくった mutant ではないという事が大事です。遺伝学の研究のためショウジョウバエを用いますが、多くの場合研究者は一番研究に都合のよい mutant を選んでいるわけです。ある酵素の正常なものが、100 とすると 0 かせいぜい 10 から 15 位迄の mutant を選び 20 とか 80 とかいうのはもう面倒くさいから捨ててしまっているわけです。こういう基準は人間の遺伝病にはぜんぜん通じない。

Werner についてみるとおそらく 100 に対して 80, 85, 95 というものの話でそれがどうなっているかという事になる。そういったところの 5 とか 10 の変化の原因としては、やはり免疫も問

題になってくると思います。免疫といっても最近問題になっている、たとえば HLA にしても実にいろいろのタイプがある。そのどのものがどうなっているかという事になると大へんだと思います。HLA 遺伝子は 6 番目の染色体にずっと並んでいるのですが、それが一体順序よく並んでいるのか、ちょっと狂っているのかという問題。そういった問題をつきつめてからでないとな今の話の答は出ないように思われる。

skin の fibroblast と、リンパ球との関係などについても fibroblast の data と chromosome の変化との関係はさきほどの佐々木さんのお話で、あるレベルに関してはよくわかっていますが、先ほどどなたかもおっしゃいましたように、他の臓器組織のレベルでどうかというと、又 hormonal のレベルではどうかといわれると、私共が現在やっている細胞レベルでの検討では全く無力でございます。

○渡辺： 今日の Werner syndrome のシンポジウムの一つのテーマとして、この Werner syndrome が老化のモデルであるかどうかの問題となりました。ところが老化かどうかという点で、どれを老化といったらよいか、という規準がはっきりしていないと、これが老化モデルかどうかいえない。話を一つ細胞レベルにとってみますと、細胞レベルでどういう風になったら老化といえるか、今迄増殖能が落ちるという事が Hayflick らによって云われて来ました。これが一つのパラメータでないかといわれて来ました。増殖しない細胞でも老化はあるわけです。規準として、生きてる細胞を考えると、色々な意味での turn over のスピードが落ちるのが老化と考えたい。生きていれば、広い意味での細胞膜のどこかで絶えず turn over がおこっている。turn over の rate がおちると老廃物もたまって来ます。これもパラメータとして大事ではないか。膜の lipid の代謝はこの意味でやはり見逃せない、脂質と老化の関係は不可欠である。私どもは膜の lipid の過酸化脂質をもとに戻す酵素、glutathione peroxidase の活性が老化の過程でどう変化するかを、Werner syndrome の患者から得られた皮膚の細胞についてもやっています。そのうちまとまった御報告が出来ると思います。

○高井克治(京大・医)： Werner 症候群に cataracta が発生する事は大変面白いと思う。cataracta は aging に伴い起る、糖尿病でも起るが、Werner の場合 cataracta は必発であっても、糖尿病は必発でない。cataracta はレンズ蛋白(crystalline)よりの high molecular weight aggregate 生成による濁度増加に由来する。眼の黄色着色、或は、眼の紫外線ランプ照射により観察されるブルー蛍光も、aging に伴う所見とされるが、これらは、蓄積したトリプトファンよりの代謝産物に由来すると考えられている。孰れにせよ、上記の現象は、aging が着実に化合物



つまり物質として生体に刻印されているという点で、既知の collagen の架橋度問題などと同様、着実な研究に値すると思われる。

Werner の場合の cataracta 研究の現状を、専門の方々にお伺いしたい。

□大城戸宗男(東海大・医)： cataracta はいろいろな原因で発生する。ですから cataracta というのは syndrome である。しかし Werner の cataracta の発生病理は、結局なにもわかっていない。その原因は眼の手術をして培養のためとれる細胞の数はあまりに少ないためであろう。

□石井： 細田先生がお話になりましたが、Werner の皮膚とか動脈の所見はさておき progeria や Werner 症候群を老人と対応させて考える時に副所見を大切にしたいと考えます。内分泌臓器に出てくる adenomatous な変化 (thyroid の adenoma とか副腎の cortical nodular formation など) や sarcoma が多くて癌が少ないのはちょっと残念ですが、悪性腫瘍は、老人にはよくみられます。これらの所見を具備している 1 個体を想定した時、Werner 症候群は老化のモデルとして肯定的に考えたいと現段階では思っています。

progeria をモデルとして考える副所見は乏しいので、これについては躊躇したい。又一方超高齢者と Werner とを比べますと、この間にはかなりのへだたりがみられます。(アミロイドの沈着とか肺の気腫性変化など。) 従って、Werner を老化のモデルとして肯定的には考えていますが、それでも尚一定の限界があると思います。あくまで、限界をふまえた上で、Werner 症候群を老化モデルとして考えるべきではないでしょうか。

○太田： 老化の研究の特徴は時間がかかることです。早くすすめるために老化の部分的な expression が適当なもの、しかもその場合その出現が accelerate されていると便利だと思ってしまう。他方、人の純粋な老化を超高齢者で見ようとすると、100 年待たねばならず、しかもいわば select されたエリートで見た老化を一般化することにも問題がある。accelerate された老化が同じものかという事も大きな問題だと思います。超高齢者の老化の側からみると、progeria での現象はかなり早く似たものが進んでいるが、基本的に一致しない怪しいところもある。しかし研究にはたしかに役立つであろうということになりますか？

今日は progeria-like animal model の話が出なかったのですが、これまでの animal model といわれるものについて、いろいろな方面から御発言がいただけないでしょうか？

□中尾： hypopituitary dwarf mouse があって下垂体の機能がおちて、侏儒的になるマウスがあります。このマウスでは老化様変化が認められ早く死んでしまうようです。(Fabris N : Relation of lymphoid system and hormones to aging, in Immunodeficiency in Man and Animals, D. Bergsman et al ed, New York, Plenum Press 1975, p553)

他に免疫と老化を考える上で興味あるのはラント病に似たような所見が progeria にあるのではないかとされている点です。

○石井： セリエが progeria-like syndrome が出来たとして発表しましたが、又、一昨年 of 日本老年医学会で、養育院からの御発表で PLS の皮膚線維芽細胞の寿命短縮は Vitamin D によるものと十分考えられる、というようなお話でしたが、私どもの病理学的検索では、progeria-like syndrome は malnutrition と、hypercalcemia に基く個体の萎縮と石灰沈着の 2 つの問題から成っていて、その他からも progeria-like syndrome をそのまま progeria の model とするには不適當だと思っています。

○太田： animal model にはまだ満足なものがなくて、類似は partial にとどまっている。もう少し簡単な操作でこの位の類似現象はおこせるかも知れないという事ですか？ genetic な面からしますと、immunologically 或いは endocrinologically に deficient な model が多いように思われますね。この点は別に討議しなければならぬ問題が残っていますが、本日は時間がありません。本日の話は progeria, Werner を中心とし、もっと広い意味での genetic な hereditary diseases をまじえて、お話を伺いまして、常に control に帰ってこれを比較するという操作が行われた結果、今のところすべてが、重っているわけではないが将来 senescence の研究にはこういう方面も一生懸命やらねばならぬという皆様の印象であったかと思います。

この機会に提案したいのは、こういう稀な病気では細胞を採り、生やして、凍らせた状態で永くとっておき、比較する必要があるとすれば、登録とか、センターとか、研究材料中心の構想をお練りいただくことです。このシンポジウムを通じて、senescence の研究につながる一つの価値ある発達がみられたと確信いたします。

ありがとうございました。

○田内： 太田先生のご発言で十分にしめくられたと思いますので特に何も申し上げる必要はないと思います。

皆様のご協力でこのシンポジウムを有意義に終ることが出来ました。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
  - 52年3月 : 「昭和51年度研究報告」 発行
4. 昭和52年度文部省科研費・特定研究「生体老化の基礎的研究」（代表者：田内 久）
  - 52年8月7日：シンポジウム「老化の基礎的研究」 第5回 記録