

平成 19 年 12 月

石井章雄 学位論文審査要旨

主 査 佐 藤 建 三
副主査 箸 本 英 吉
同 押 村 光 雄

主論文

Telomere shortening with aging in the human pancreas

(ヒト膵臓の加齢に伴うテロメア長の短縮)

(著者：石井章雄、仲村賢一、岸本宏志、本間尚子、相田順子、沢辺元司、新井富生、
藤原睦憲、竹内二士夫、加藤基伸、押村光雄、泉山七生貴、田久保海誉)

平成18年9月 Experimental Gerontology 41巻 882頁～886頁

学 位 論 文 要 旨

Telomere shortening with aging in the human pancreas

(ヒト膵臓の加齢に伴うテロメア長の短縮)

ヒト正常培養細胞は有限寿命であることがHayflickらによって見出されたが、この現象は培養系における老化のモデルと考えられる。これは、染色体末端のテロメアが一定の長さ以下になった結果細胞周期が停止するためである。テロメアはヒト線維芽細胞やリンパ球では細胞分裂ごとに33-120 bp短縮することが報告されている。これまで全身の臓器・組織あるいは培養細胞株のテロメア長が測定され、テロメア動態について報告がなされているが、膵臓については未実施であり、世界的にも他研究室からの報告がない。本研究では、ヒト膵臓のテロメア長について、サザンブロット法を用いて測定し、テロメア短縮動態について考察した。またこれまでの臓器データとの比較検討を行った。

方 法

新生児16例、百寿者2例を含む0歳から100歳までの剖検72例（男性35、女性37）を対象とした。炎症、病変部位を除いた、正常なヒト膵臓頭部からSDS・プロテアーゼK法で可溶化し、フェノールクロロフォルム法を用いてDNAを抽出した。ジェノフィールド電気泳動により未消化DNAのサイズを検討し、100 kbp以上のものを実験に用いた。DNA 5 μ gを制限酵素で切断し、それぞれDNAが完全消化されたことを確認した後、サザンブロット法を行い、転写したメンブレンを $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ でラベルした $(\text{TTAGGG})_4$ プローブでハイブリダイゼーションを行った。ついでBAS-2500Macを用いて画像を解析した。Terminal Restriction Fragment (TRF) シグナルのピーク値を同時に泳動したサイズマーカーの移動距離から算出してテロメア長 (modal value) とした。実験の再現性を検討するため、*Hinf* I及び*Rsa* Iを用いたテロメア長の測定値を比較した。平均値の差の検定にはStudent's *t* test を、相関分析にはFisherのZ検定を用いた。

結 果 と 考 察

未消化DNA72例のパルスフィールド電気泳動の結果は3例が100 kbp以下であり、この3例を除いた69例を以後のテロメア長の測定に用いた。制限酵素*Hinf* Iと*Rsa* Iで消化したテロメア長測定の結果は極めて類似し、よく再現されていた。

*Hinf*I消化における0歳から100歳までのテロメア分布は17.1から6.2 kbpであり、年間短縮率は36 bp [$Y = 13.709 - 0.036 \times \text{年齢}$ ($r = -0.6068$, $p < 0.0001$)]であった。新生児16例のテロメア長の分布みても、17.1-12.1 kbpと生後直後においても幅があり、個体特有の長さを持っていることが示唆された。

次に年間短縮率と細胞回転との関係について考察すると、ヒトではデータがないがマウスの膵臓の腺房細胞の細胞更新に要する時間は70日と報告されている。一方、細胞回転時間の速い胃腸粘膜上皮では約一週間、細胞更新の遅い腎臓、肝臓では150~350日とされている。いままでに我々がテロメア長を測定したヒトの臓器・組織のデータは、表皮(36 bp)、舌上皮(30 bp)、食道上皮(60 bp)、胃粘膜(47 bp)、大腸粘膜(59 bp)、腎皮質(46 bp)、肝組織(55 bp/60 bp)、脾臓(29 bp)、甲状腺(90 bp)、副甲状腺(94 bp)、灰白質(有意減少無)心筋(有意減少無)であった。以上のデータは、細胞分裂停止した細胞からなる大脳灰白質や心臓を除き、テロメアの年間短縮率はほぼ100 bpの範囲に収まっており、年間短縮率は必ずしも細胞回転の速度を直接には反映していないことが推測される。

テロメア短縮の年齢変化についてFrenckらは、テロメアは生涯一定の割合で短縮するのではなく、若年で急激に減少しその後プラトーの時期を経て老年になると穏やかに再度減少すると報告している。今回のデータはこれを一部支持する結果となった。

Cawthonら(2003)はテロメア長と生存率を比較し、短いテロメア長を持つ個体は加齢に伴う疾病に罹りやすく死亡率が高いと報告している。またテロメア長が個体毎に特有の長さを持っていると考えると、膵臓のテロメアの長い個体は他の臓器組織も長いことが予想された。テロメア長は病疾への罹患のしやすさと寿命を予知している可能性があり、今後さらに研究すべき課題である。

結 論

これまで報告のなかったヒト膵臓におけるテロメア長を0から100歳までの剖検69例について測定したところ、17.1 kbpから6.2 kbpの分布をもち、加齢に伴い減少すること、その年間短縮率は36 bpであることが明らかになった。出生直後の新生児16例において既に17.1~12.1 kbpと幅があることから、個体には特有のテロメア長があることが示唆された。これらの知見は、膵臓疾患とテロメア長との関連を明らかにする上での重要な基礎データになることが期待される。