

論文審査の結果の要旨

氏名 清水 裕子

個体としての老化・寿命は、生物界で幅広く見られる現象であるが、細胞レベルでの老化、それに引き続いて起こる分裂停止は、共通して見られる現象とはいえない。例えば、ヒトと同じ哺乳類に分類されるげっ歯類は、その扱いやすさから、生物学・医学など多分野でヒトに対するモデル実験動物として用いられ、詳しく研究されているが、*in vitro*での細胞の加齢においてはヒトと異なる面をもつ。ヒト細胞の加齢モデルとなり得る動物が現在求められている所以である。また、哺乳類の中ではヒトとげっ歯類以外の種における細胞加齢についての知見は非常に少なく、げっ歯類とヒトの間を補完する生物における研究は重要であり、必要とされている。これらの問題点を解決するために、ヒトと同じ霊長類のマカクを対象とし、*in vitro*での細胞加齢を研究したのが本論文である。

本論文は4章から構成されている。第1章で研究全体の背景の説明と位置づけがなされている。第2章は、さまざまな年齢群のマカク（ニホンザル、カニクイザル、ボンネットザル、アカゲザル）から、肺、腎臓、皮膚を採取、材料とし、あわせて35の付着系細胞系列を分裂停止に至るまで培養し経時的に細胞の特徴を調べている。培養した35の付着系細胞系列はさまざまな長さの分裂寿命を示したが、培養過程でみられた細胞学的・分子生物学的変化により3種類のグループに分類されることが示された。すなわち、ヒト細胞に類似した加齢変化を示したグループ、SV40による延命ヒト細胞に類似した加齢変化を示したグループ、げっ歯類細胞・ヒト腫瘍細胞に類似した特徴を示したグループである。マカク細胞は、2つの分裂限界（M1期、M2期）を示したことから、ヒト細胞に類似した特性を持つことが示唆されるが、一方でヒト細胞に比べ分裂限界を超えやすくまた形質転換を示すものが得られたことから、げっ歯類細胞に類似した特性をもつことが示唆された。この研究により、マカク細胞は総体としてヒト細胞とげっ歯類細胞の中間的性質を有することが判明したことは高く評価される。

第3章では、第2章の成果をもとに、M1期を超え延命したマカク細胞2系列に注目し、M1期を超えるための分子背景について検索している。ヒトの線維芽細胞では、M1期における分裂停止にはp53タンパク質が関係していると考えられている。1系列では、培養途中でp53遺伝子に1塩基置換によるストップコドン導入と、ヘテロ接合性の消失を起こし、p53機能を喪失したことが示唆された。もう一方の系列では、1塩基置換によりスプライス異常が起き4アミノ酸の欠失が起

きたこと、また正常型遺伝子はサイレンシングを受け、細胞の p 5 3 機能が喪失していることを示唆した。M 1 期を超え M 2 期まで至った 2 つの細胞系列において、培養過程での p 5 3 機能喪失の導入がみつかったということは、マカクにおいても、ヒト同様、p 5 3 が M 1 機構へ強く関与していることが示唆され、マカク細胞にはヒト細胞に類似した性質を有するものが存在することを示した。

第 4 章では、他の細胞系列とは異なる様相を示す 1 細胞系列の性質について詳細に検索している。この細胞系列は、接触性成長阻止、足場依存性といった付着系細胞にみられる本来の性質を失っており、形質転換の様相を示し、現在でも分裂を続けている不死化細胞とみなされるものである。これまでに報告されている旧世界ザルの樹立細胞株は、SV 4 0、または SV 4 0 の T 抗原が関与したものであるが、この系列は SV 4 0 の関与が無いことを示した。ヒト細胞の場合、細胞の種類により分裂限界が異なるといわれており、マカクにおいても、細胞の種類により分裂限界が異なるのかを検討するために細胞の種類を同定した。この細胞は上皮細胞の特徴を有し、マカク細胞においてもヒト細胞同様に、上皮細胞は後成的な変化により分裂限界を超えることを示した。

以上より、本論文では、マカク細胞の *in vitro* での加齢パターンをまず把握し、その成果をもとに背景となる分子基盤・細胞特性について詳細な検討を加え多くの知見をもたらした。また、自然発生的に分裂限界を超え、異なる分裂寿命を示す細胞系列を得たことは、マカク細胞が同一生物を用いた分裂限界の比較研究を可能とし、加齢研究、さらには癌研究へ多大な貢献をするものと考えられ、マカク細胞のヒトのモデルとしての有用性を示したことは高く評価できるものである。

本論文の第 2 章は、鈴木樹理・寺尾恵治・石田貴文との、3・4 章は石田貴文との共著であるが、石田は指導教員として、鈴木・寺尾は材料提供者としてであり、本論文の実験・解析は論文提出者が終始主体となっておこないその論文への寄与は十分と判断される。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。