

ヒト皮膚繊維芽細胞へのヒドロコルチゾンの効果と特異的結合 (donor age と *in vitro* age)

近藤 昊, 春日博子 (都老人研・生物), 能村哲郎 (埼玉大・理・生体制御)

Effects of hydrocortisone on human skin fibroblasts and its specific binding : Donor age and *in vitro* age

HIROSHI KONDO, HIROKO KASUGA, TETSUO NOUMURA

ヒト胎児肺繊維芽細胞は、培養下で分裂寿命をもつことから、細胞老化のモデルとして用いられている。その寿命をヒドロコルチゾン (HC) が延長することから、HC の効果が注目された。最近、細胞あたりのグルココルチコイドレセプターが、*in vitro* の老化で減少することが WI-38 細胞で報告された。我々は、ヒトの年齢変化を皮膚繊維芽細胞を用いて、HC の増殖への効果と細胞への特異的結合から検討した。分裂寿命は、胎児の TIG-3S は 69 回、成人由来の ASF-5 (21 歳) は 66 回、ASF-4 (36 歳) は 74 回、そして老人由来の ASF-2 (66 歳) は 54 回、ASF-3 (77 歳) は 43 回であった。老人の細胞は成人のものより分裂寿命が短く、今までの報告と略一致する。HC の増殖効果は成人と老人の細胞はどちらも 20~35% 増加し、差が観察されない。TIG-3S では HC で増殖抑制がおこり、HC の効果は年齢差より個体差が大きい。次に、細胞への dexamethasone (DEX) 特異的結合を調べると、成人由来の ASF-4 は mg 蛋白でも細胞あたりでも老人由来の 2 細胞より結合部位数は多い。しかし、ASF-5 では、どちらの基準でも老人の細胞と変わらない。胎児細胞 (TIG-3S) はどちらの基準でも低く、先ほどの結果とあわせて特異的な細胞である。*in vitro* の老化で、DEX の結合部位数を測定すると、mg 蛋白あたりでは継代早期の細胞 (877 fmol) は後期の細胞 (493 fmol) より有意に高いが、 10^6 細胞あたりではそれぞれ 348 fmol と 313 fmol で有意ではない。Kd はすべてで変化ない (4.4~6.5 nM)。以上、予報的研究では例数が少なく、donor age と *in vitro* age の進行で DEX 結合部位数の有意の低下は認められなかったが、さらに検討する必要がある。

ハムスター真皮線維芽細胞および軟骨細胞に対する fibroblast growth factor の働き

加藤洋一, 高山昭三 (癌研・実験病理)

Characterization of the growth responses of hamster fibroblastic and chondrogenic cells to FGF

YOICHI KATO, SHOZO TAKAYAMA

最近、培養細胞の増殖を促進させる各種の増殖因子が、血清その他から分離精製されている。Gospodarowicz によって牛の脳もしくは下垂体から抽出された fibroblast growth factor (FGF) もその一つで、名称が示す様に特に線維芽細胞の増殖を促進する増殖因子として知られている。今回、我々は同じ中胚葉由来の細胞である線維芽細胞と軟骨細胞に対する増殖促進作用、細胞形態の変化および軟寒天培地中でのコロニー形成を指標として FGF の働きを比較検討した。

血小板由来増殖因子を含まない血漿由来血清を加えた培地中では、線維芽細胞は全く増殖しないが、軟骨細胞は活発に増殖する。この培地中に FGF を 10~200 ng/ml の濃度で加えると、線維芽細胞はその濃度に応じて増殖し、また細胞の形態も FGF を加えることにより扁平型から紡錘型へと変化した。一方、軟骨細胞は FGF を加えることにより、より紡錘型の形態を示したが、FGF は軟骨細胞の増殖にはほとんど影響を与えなかった。

線維芽細胞、軟骨細胞とも軟寒天培地 (0.33% 寒天使用) 中ではコロニー形成を示さないが、培地中に FGF を加えると両細胞ともにコロニーの形成が認められた。また、これらのコロニーの数と大きさは 10~200 ng/ml の濃度では、FGF の濃度に依存的であった。

以上のことから、FGF の単層培養細胞増殖促進作用と、細胞の形態に及ぼす変化および軟寒天培地中でのコロニー形成誘導作用とは一致しないことが明らかとなり、別種の機構が働いている可能性が示唆される。