

# 日本組織培養学会

昭和57年2月20日発行

## 会員通信

第46号

発行責任者

三井洋司・山本清高（老人研）  
小山秀機（癌研）  
常盤孝義（岡山大・医）  
菅 幹雄（東北大・抗研）  
東京都板橋区栄町35-2（〒173）  
東京都老人研究所  
電話 03-964-1131

### § 昭和57～60年度会長、57・58年度幹事選挙の実施について

先回の幹事会および総会の議にもとづき、会長および幹事の選挙を行いますので、会員諸氏（名誉会員、外国会員、賛助会員は除く）は投票をお願いします。

- (1) 今回の選挙は、新会則第4章第7条、新細則第3章第4条（会員通信第44号をご参照下さい）にもとづく第1回の選挙となるため、幹事経験者、現幹事を含め、すべての正会員が被選挙権を有します。
- (2) 被選挙人名簿としては、同封の会員名簿をご使用下さい。会員名簿作成には、加納良男会員（神戸大）を始めとする諸氏のご努力により、万全を期してはおりますが、原簿等のミス等までは避け得ないことがあります。選挙に直接関わりのある問題点があれば、3月23日午後5時までに、選挙管理委員会までご連絡下さい。
- (3) 同封の投票用紙および投票用封筒をご使用下さい。
- (4) 投票締切日： 昭和57年3月23日（必着）
- (5) 送付先： 大野忠夫 選挙管理委員長宛  
〒260 千葉市穴川4-9-1  
放射線医学総合研究所
- (6) 開票に際しては、今回選挙の特例措置として、被選挙権のない賛助会員に立ち会っていただくことにします。  
(会長・幹事選挙管理委員会)

### § 日本組織培養学会第53回研究会のご案内

第53回研究会は名古屋で開催されます。どうという特徴のないところで皆様も通過されることが多いと存じますが、それだけ東西からの距離も適当なところですし、会場も名古屋駅より徒歩5分のところにいたしましたので、どうぞふるってご参加下さい。

#### 記

1. 会場：名古屋市中村区名駅4-316  
ホテルキャスプルプラザ（Tel）052-582-2121 東京営業所 03-593-0391
2. 会期：昭和57年5月20（木）～21日（金）
3. 参加および講演申し込み締切： 昭和57年3月10日（水）

参加および講演希望者は別葉の申し込み票に記入のうえ、下記の申し込み先にお送り下さい。

4. 抄録原稿締切：昭和 57 年 4 月 5 日（月）

5. 申し込み先および連絡先：名古屋保健衛生大学医学部精神神経科学教室

〒470-11 豊明市省掛町田楽ケ窪 1-98

（Tel）（0562）93-2172（直通）

（世話人）中沢恒幸（なかざわつねゆき）

秘書：斉藤世里子（月・水・金勤務）

0488-32-4951  
3

中沢恒幸

研.神  
37

6. プログラム

1) 特別講演：Dr. Renato Baserga

Chairman of Dept. of Pathology, Temple Univ., Schl. of Med.,  
Philadelphia, PA 19140, U.S.A.

“Gene transfer in cultured mammalian cells”

2) 一般演題（口演および示説）：公募

3) シンポジウム

(1) 筋細胞の分化

司会：五島喜与太（名大・理・分子生物）

☆ 骨格筋培養系を用いた myotube 形成をコントロールする外液因子の研究

小沢鉄二郎（国立神経センター）

☆ myoblast から myotube への分化過程における膜興奮性の変化

加瀬 正明（北里大・医・生理）

☆ myoblast から myotube への分化過程における筋蛋白の性状の変化

大日方 昂（千大・理・生物）

☆ 筋細胞における筋蛋白合成と分化，ならびに神経筋シナプス形成

嶋田 裕（千大・医・解剖）

☆ 神経・筋シナプス形成の特異性

東田 陽博（金大・がん研）

(2) 神経細胞の分化

司会：中沢 恒幸（保健衛生大・医）

☆ 神経系クローン細胞の分化

天野 武彦（三菱生命研）

☆ 神経成長因子 NGF による副腎髄質細胞の神経細胞化——とくにシナプス形成について

小川 正晴（高知医大・生理）

☆ 神経ペプチドと培養神経細胞

塩坂 貞夫（阪大・高次研解剖）

☆ 髄鞘形成とグリアの分化

長池 一博（慶大・医・生理）

☆ 蛋白合成と神経細胞分化

福田 潤（東大・医・生理）

シンポジウム(1)は 20 日，(2)は 21 日に予定しております。

7. 研究会参加費：会員 4,000 円，非会員 4,500 円

8. 懇親会参加費：4,000 円

9. 交通：国鉄名古屋駅（近鉄・名鉄も同じ）東口下車

徒歩 5 分（桜通り）

10. 宿泊：各自で手配して下さい（会場のホテルは約 250 室ありシングルは 6,000 円からあります）。

（第 53 回研究会世話人 中 沢 恒 幸）

## § 第3回国際細胞生物学会 (ICCB) に向けて (4)

ICCBでとりあげて欲しいテーマ名などについて、会員からの希望を募ったところ、会員通信45号に報告したように、6題のテーマが寄せられた。そこでICCBへの連絡委員の立場から、岡田善雄プログラム委員長に対し、1月25日付の書状をもって、培養学会員の希望を報告いたしました。また、関連後援学会からの意見聴取の機会があれば、申し上げる意志のあることも伝えました。

なお、今回、以下の希望テーマ名を伝えました。

1. Specific cell function in vitro.
2. Cell division aging, immortalization and differentiation in vitro.
3. Growth factors.
4. Automated cytology.
5. Somatic cell genetics.
6. Cell mutant

会員の方で、これ以外にも希望テーマがありましたら、引き続き意見反映の機会を持ちたいと思いますので、ご意見をお寄せ下さい。

連絡先： 三井洋司，老人研，TEL. 964-1131，内線 3080

## § 細胞科学センターの活動と組織培養学会

老人研 三井洋司

ニューヨークは西北のLake placid, Adirondack公園の中にあるW. Alton Jones Cell Science Centerに、4月から4ヶ月間、Visiting Scientistとして滞在し、Dr. J.R. Smithと共同研究を行った。培養学会の研究、教育活動を担う場としてユニークな研究所である(あった)ので、培養学会員として興味ある方も多かろうと思ひ、報告することにした。

### 1. W. ALTON JONES 細胞科学センターの研究、教育活動

本研究所は、W. Alton Jones 財団とアメリカ組織培養学会の支援で、1971年に設立された法人研究所である。ヒト、動物、植物に由来する培養細胞を用いて、分子、細胞レベルで、増殖、分化、エイジングおよび癌化の機序を明らかにし、かつ、培養細胞を用いた最先端の技術を研究者に広める、という教育機能を備えたユニークな研究所である。また、学会により、教育研究活動の場として運営されていた唯一のセンターでもある。

#### 1) 研究活動

総スタッフ数：約80人、Ph.Dが約18人と、研究所の規模としてはこじんまりとしているが、すべて細胞に焦点を絞っている為、施設用品の使用だけでなく、研究者間の討論の効率が高い点で充実感があった。教育部門に加えて、五つの研究部門があるので、簡単にそのトピックスを紹介する。

<Dr. Churchのグループ>： ヒト細胞とマウス細胞による多数のhybrid cloneを活用して、タイプIコラーゲン遺伝子が、ヒト染色体の門番にあることを最近示した。さらに、タイプIIIのコラーゲン遺伝子は、ヒト胎児の時は4番のクロモソームで発現しているが、成人になると18番のクロモソーム

に「Switching」するのではないかと、解析を進めている。また、ヒトレンズ細胞とマウス細胞との hybrid を用いて、crystalline 合成の遺伝子調節の研究も同様に進めており、白内障にも関心を示している。

<Dr. Gabridge のグループ>： 呼吸器疾患を細胞レベルで解析しようとしている。例えば、肺気管の細胞が培養中でも多数の繊毛を持ちそれを激しく動かしているが、カドミウム等重金属公害物質はそれを阻害することを見出し、ATP 産生系に作用点があるのではないかと解析している。また、ヒト肺細胞にマイコプラズマという微生物の感染する現象を調べ、細胞表面にある Sialoglycoprotein がその特異受容体であろうと考え、特性を明らかにしようとしている。

<Dr. McKeehan のグループ>： 細胞増殖に必要な栄養要求性を詳しく調べている。例えば、2-oxocarboxylic acid が、細胞の分裂増殖に必要であることを見出し、それは細胞内の酸化還元系における水素受容体であると共に、アミノ基の受容体として働くことと仮定している。血清の増殖因子は、その細胞外要求濃度を低下させるように作用しており、細胞の分化やガン化は一般に、細胞の特定栄養素に対する km 値の変化として説明しようとして解析を進めている。

<Dr. Dougall らのグループ>： 植物由来の培養細胞を用いて、有効な医薬品を生産しようとしている。例えば、ニンジンの細胞からアントシアニン、タバコの細胞からニコチン、キナノ木の細胞からキニンといったものを、高い収率で定常的に生産できるように、基礎条件の検討を行っている。

<Dr. Smith のグループ>： 細胞レベルの老化を解析するなかで、分化や癌化との関連も追求しようとしている。ヒト正常細胞は分裂加齢をもっているが、ウイルス (SV 40) で形質転換した細胞は分裂寿命を持たない、といわれている。そこで分裂加齢末期の老化細胞 (Oua<sup>+</sup>, HGPRT<sup>-</sup> の変異株) と形質転換した細胞とを融合させ、その Hybrid 一個ずつについて分裂寿命を検討したところ、70% のクローンは数回分裂しただけで分裂停止し、15% は、16~60 回の分裂寿命となり、残りの 15% のクローンは、内部に 10 万個に 1 個以下の割合で分裂寿命を持たない細胞が出現することを見出した。すなわち、細胞融合した場合、癌化の形質よりも、エイジングの形質の方が圧倒的に優性であり、無限寿命化は極めて希であると結論した。老化細胞において、DNA 合成を阻害する物質の産生されることを想定し、老化細胞由来の Cytoplasm と若い細胞とを融合し、DNA 合成の阻害を調べる予定でいる。そうした阻害物質の同定、単離を進めようとしている。一方、血管内皮細胞については、Angiotensin Converting Enzyme が膜表面にあって、特異機能を発揮しているところから、同酵素の単離精製を進め、抗体を得たところである。老化細胞において、変異酵素が出現するか否かを検索しようとして解析中である。

後に述べるように、私はこの研究室で、以前から続いている共同研究を進展させた。

## 2) 教育活動

この研究所を最もユニークなものとしているのは、研究内容もさることながら、培養細胞を用いた最新技術の講習である。外部から著名な専門家を招き、一週間位の、講義と実習から成るプログラムを組んで、全国から来る研究者に特定技術を習得してもらう。その実例をいくつかあげると、

- (1) ヒト上皮細胞の単離、培養と発癌剤
- (2) 染色体分染法の進歩と遺伝地図解析法
- (3) 細胞レベルのホルモン研究法

#### (4) 細胞融合法とモノクローナル抗体産生

#### (5) 染色体、DNAの細胞内移入と形質転換

である。1つが約3,000ドルと、費用はかなり高いが、効率よく実際の技術を習得できる。私は滞在中、クロモゾームの各種分染法、KaryoplastやCytoplastの作製法、細胞融合法などを、Visiting Scientistとして無料で習得し、仕事に活用できた。

### 2. 共同研究

滞在中、ワシントンでの組織培養学会、ハンプルクでの国際老年学会、シアトル等での招待講演などに出席したので、正味の研究期間は約3ヶ月間であった。短期間ではあったが、事前準備を充分整えてあったので、かなり効率的に仕事を進められた。以下二つの課題に分けて報告する。

#### 1) 終末老化細胞は分裂再開できるか

分裂寿命の限界に達した終末老化細胞は、細胞環境としての栄養素、増殖因子、ホルモン等を如何に理想的に整えようとしても、その分裂を再開させることは不可能であった。分裂加齢の機序として、例えば、エラー破綻説、突然変異説、DNAすり切れ説などを考えた場合、簡単な処理で短時間にDNA合成が誘導され、分裂が再開するとは考えにくい。ところが、広義のプログラム説や分化説に立って、もし特殊な手段でDNA合成や分裂を誘導できるなら、その機序を解析することによって、老化機構を解明できるにちがいない。以上の戦略に立って始めた我々の最近の成果によると、SV40、HCMVなど、DNAウイルスを感染させると、終末老化細胞でもDNA合成が誘導されるのである。ポリアミンの増量に続くこのDNAの合成は、修復合成でなく、S期複製であることも確認できた。しかしこの系では、まだ分裂の再開を確認できていない。一方、Dr. SmithのLab.では、前記したように、老化細胞と形質転換細胞との融合によるHybridが一時分裂することを示した。しかしそのHybridに、老化細胞の染色体が全部入っていて細胞分裂したのか、あるいはクロモゾームがsegregationなどによって欠落しているのか不明であった。私の滞在中、その問題を明らかにするため実験を工夫した。すなわち、形質転換細胞のDNAをあらかじめ、BUdRで充分標識した後、老化細胞と融合し、BUdR存在下選択培地中で培養して、経時的にMetaphaseのHybrid細胞におけるクロモゾームを得、蛍光染色することにより、同じヒト由来の染色体ながら、形質転換細胞に由来するものと、老化細胞に由来するものとを区別できるはずである。<sup>3</sup>H-TdRによる別の標識実験も完了し、現在、両研究室でデータをとっているとところである。

#### 2) 血管内皮細胞の分裂加齢と機能

我々は、大動脈由来の内皮細胞も分裂加齢(分裂寿命)のあることを確認し、細胞加齢が、血管病変、ひいては動脈硬化など老人病の基盤になっている可能性に注目している。また、細胞加齢の終末分化説がある中で、内皮細胞は、その特異機能が、分裂加齢と共に上昇するのか、あるいは、低下するのかを証明するのに好適な系である。

Dr. Smithとは、数年来、この内皮細胞の実験系開発で協力しあっている。今回、内皮細胞の特異機能のうち、プロスタサイクリンの産生能と、アンジオテンシンⅡ産生能に注目した。検討の結果、まず、両活性とも、細胞の増殖期では極めて低く、分裂停止期で活性の表われることがはっきりした。さらに、preliminaryではあるが、分裂加齢の異なる細胞を分裂停止期にそろえて、両活性を測ると、プロスタサイクリンの産生は、寿命限界の終末期になって初めて低下するのに対し、Angiotensin変換酵

素活性は、分裂加齢の初期から急激に低下することがほぼ明らかとなった。少くとも、分裂加齢が分化の一過程であるという説は、根拠のうすいことと考えられる。現在、分化機能低下の原因を探ろうと共同研究を続けている。

### 3. 組織培養学会との関係

本研究所設立当初は、その研究方向、運営方針に関しても、学会の Board が深く関与していたのであるが、その後、学会側の実質的な貢献度に疑問が生じ、センター側は、学会から自立した活動を強く希望し、最近（1981年？）、運営組織上は、切り離されたと聞く。しかし、研究所の建物など財産は、学会に寄贈されたままなので、その所有権は、依然学会側にある。また、新しい研究所長は、アメリカ培養学会長をつとめるなど、その緊密な関係は続いている。培養細胞の顕微鏡フィルム、培養器具などの展示のある他、培養関係の書物の出版援助、さらに、前記した最新培養技術の講習会開催など、細胞培養研究の発展に大きく貢献しているといえる。

この機会に、日本の組織培養学会の教育活動として、技術講習会の開催を提案したいものである。私自身、センターに滞在して、最先端の技術を信頼できる研究者から習得し、その後も互いに研究交流を続けられるという経験を、非常に貴重なものと感じているからである。

## § もうお読みでしょうか？ — 文献紹介 —

### ☆ ヒト二倍体線維芽細胞の無血清培養

東北大抗酸菌病研 星 宏 良

ヒト正常線維芽細胞を培養する際、血清を培地に添加することが常法として用いられている。この血清は In Vitro の細胞の生存と増殖に重要な役割を果し、さらに血清中に含まれる生理活性物質は In Vivo の細胞の機能の発現と密接な関係のあることが知られている。

近年、Ham と彼の共同研究者達 (Hamilton, W. G. & Ham, R. G., *In Vitro*, 13, 537, 1977; McKeehan, W. L., et al., *In Vitro*, 13, 399, 1977) は、非必須アミノ酸、微量金属、緩衝系などの組合せを考慮し、微量血清添加で細胞分裂を誘導する新たな培地の開発に成功した。

一方、G. Sato ら (Bottenstein, J., et al., *Methods in enzymology*, Vol. 58, p. 94, 1979; Sato, G., *Biochemical action of hormones*, Vol. III, p. 391, 1975) は、血液や脳、内分泌組織から抽出・単離した一連のポリペプチド分子を基礎培地に添加することにより、いくつかの細胞の無血清培養に成功している。

ヒト二倍体線維芽細胞の無血清培養における増殖因子やホルモンの重要性を指摘した報告として、MCDB 104 培地 (McKeehan, W. L., et al., *In Vitro*, 13, 399, 1977) に、PDGF, EGF, インシュリン, トランスフェリン, デキサメサゾンを添加することにより 10% 胎児牛血清培地と同様の増殖率、細胞密度になることを示したもの (Phillips, D. P. & Cristofalo, J. V., *Exp. Cell Res.*, 134, 297, 1981) や、MCDB 108 培地に、EGF, インシュリン, デキサメサゾンを添加すると、増殖率は幾分血清培地より低い、コロニー形成は良好で、10 PDL 内外の継代培養が可能であること (Walthall, J. B. & Ham, G. R., *Exp. Cell Res.*, 134, 303, 1981) などがある。

これらの培地では、初代培養や長期継代培養がうまくいかなかったが、Yamaneらは、血清因子であるフィブロネクチンと牛血清アルブミン(BSA)に着目し、この両因子を用いて初代培養ならびに長期継代培養に成功すると共に、BSAの生理的作用としては、脂質の担体タンパク質として働くことを報告した(Yamane, I, et al., Exp. Cell Res., 134, 470, 1981)。同様に、脂質の重要性については、リポソーム状脂質添加培地では、コロニー形成の向上、継代回数の増加することがわかった(Bettger, J.W., et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 78, 5588, 1981), などの報告がある。

今後ヒト二倍体線維芽細胞の無血清培養法の確立は、細胞分裂促進物質(mitogen)の作用機序、細胞老化の解明、生理活性物質の大量生産などに多大の貢献を提供するであろう。

## § 北から南から — 研究室だより —

### ☆ 北海道大学理学部附属動物染色体研究施設

当施設は、昭和44年に発足以来今年で13年目になります。動物の染色体研究は、当施設の発足母体となった理学部動物形態学講座で古くから小熊 捍(故人)、牧野佐二郎両教授によって行われておりました。初代施設長をつとめられた牧野先生(現在北大名誉教授)は、戦後いち早く組織培養技術を染色体研究にとり入れ、ヒトの染色体数の確定をはじめ人癌、ネズミの自然発生および実験癌の染色体研究に多くの成果を挙げられました。この様な背景のもとに、我国初の染色体研究の専門機関として当施設が設立されたわけです。

現在当施設の人員は、施設長の佐々木本道教授以下吉田迪弘助教授、高木信夫、阿部周一両助手の教育研究スタッフの他、牧野名誉教授、事務員1名、技術補佐員2名、大学院生5名、研究生2名を含め総勢15名です。主な研究内容としては、動物一般にわたる染色体形態学をはじめ、核型と生物進化に関する研究、細胞雑種形成法による染色体地図作成、発生初期における染色体特にX染色体の機能分化、癌の細胞遺伝学的研究などが行われています。人類の細胞遺伝学的研究としては、先天異常における表現型と染色体異常との関係、高発癌性遺伝病の遺伝的相補性の分析などが行われています。また、染色体異常や姉妹染色体交換を指標とする環境異変原性物質(突然変異原、発癌物質など)の検索に関する研究や、染色体の切断と修復の機構についての研究もなされています。なお、当施設は学内の共同利用施設である実験用動物研究室の管理運営にあたっており、実験用ネズミ類の系統保存と育成に関連して染色体多型などを調べ、各系統の遺伝的特徴づけなども行っています。

当施設はこの様に、染色体に関する基礎的研究と教育を専門に行う機関であり、国内外から多くの研究者が訪れ、共同研究や技術修得の場としても活発に利用されています。

(阿部周一)

## ☆ 重井医学研究所細胞生物部門

山陽本線岡山駅と倉敷駅のはば中間、瀬戸内海と吉備高原を南北に見はるかす松林に囲まれて、私たちの信楽焼の赤い研究所と白亜の附属病院がある。研究所の立地条件としてこれに勝る所は少ないであろう。研究所はわずか3年前に設立され、従ってスタッフも海外からの帰国組3名を含めていわば新人の集りである。妹尾左知丸所長（日本細胞生物学会の事実上の生みの親）の、既存の教科書を否定する若々しい思潮が何といっても研究の中軸をなしている。地上4階の研究設備は、わが国の平均的研究施設のそれをはるかにしのぎ、今年は海外からの留学生を引きうけることになった。研究は免疫・生化学、病理・超微形態、細胞生物などの部門に拘泥せず、プロジェクトを単位としたグループ制で進めている。

細胞生物部門には、準備室、それぞれ2台のクリーンベンチとCO<sub>2</sub>インキュベータを持つ培養室、実験室、ゼミ室があり、他に共同利用のRI棟、動物室、恒温室、電顕室、光顕室がある。スタッフは、米国とカナダに久しい沖垣副所長が全体を統括し、山田研究員を中心に無血清培養に関わる諸条件の分析、池上助手が培養基質と細胞増殖の相関、秋田助手が鉄代謝との関連においての腓ラ氏鳥細胞の長期培養のテーマに取り組んでいる。

日本では私立の小規模な研究所は育たないといわれ、それは歴史的事実でもある。私達は、それを十二分に承知で集った者達の集団で、すべてに保守的行動を排し、いわば理づめにGo for brokeでありたいと念じている。

昨年5月には、光栄にも第51回日本組織培養学会研究会のお世話を引きうけ、多数の参加を頂いて責任の一端を無事果たした。今年からは、来る1984年東京での第3回国際細胞生物学会議の事務局を拝命し、かつて日本の細胞生物学研究室が経験しない大役に立ち向かって歩き始めたところである。

（沖垣 達）

## § 編集後記

○原稿料は出ないけど：

本号は、研究会案内と選挙が重なり別業が多くなりましたが、大切なものばかりです。どうぞ見落さないように願います。また、いずれも時間的にあまり余裕がありませんのでご注意下さい。何か培養学会が新しい衣で出発する息吹きを感じます。ところで、会員の皆様には、原稿依頼に対して大変気持ちよい協力をいただいておりますが、ここで二点、おわび申し上げ、ご了解いただきたいことがあります。一つは、原稿を受領したとの返事をそのつど出してないことです。……受領しなかったら何度も催促いたしますので……。もう一点気がひけることは、貴重な記事を書いていただいても原稿料をさしあげられないことです。……これはごめんなさいと謝る他ありません。学会をより良くするためには、みんなが手弁当どころか持ち出しでやっているわけですから……と。

また、次号を楽しみに期待されるような会員通信にしたいと思えます。原稿依頼とびこみますが宜しく。

（Y.M. & K.Y.）