シンポジウム I: 老化とホルモン

1. 内分泌機能の老化

——ラットの視床下部—下垂体—生殖腺系について——

東京大学理学部動物学教室

川 島 誠一郎

Senescence of Endocrine Function with Special
Reference to the Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis in the Rat

Seichiro KAWASHIMA

Zoological Institute, Faculty of Science
University of Tokyo
Tokyo

In the control theories, aging is under genetic and environmental control. Endocrine function plays an important role in this control system by mediating between the environmental influence and the presumptive "aging gene". Therefore, the intrinsic aging of the hypothalamus, such as the changes in sensitivity to feedback suppression or stimulation, may lead to homeostatic failure and then age-related pathology.

As the subject of study we have selected the senile changes in the hypothalamic-pituitary-ovarian axis in the rat of the Wistar strain. The cessation of estrous cycle and the onset of persistent estrus or repetitive pseudopregnancy usually take place as early as at the end of the first half of life in rats.

In this paper the results of the following experiments are briefly dealt with: (i) reciprocal transplantation of ovaries between young and old rats (the term "old" designates here "incapable of reproduction"), (ii) comparison of LH and FSH binding abilities in the ovarian preparations, (iii) comparison of serum and pituitary concentrations of LH, FSH and prolactin and the modifications after ovariectomy or by the administration of pharmacological drugs, and (iv) the difference between young and old rats in intensity of dopamine fluorescence in the hypothalamus.

The results of these experiments seem to point to the hypothalamic-pituitary part rather than more peripheral organs (ovaries) as being primarily responsible for the outcome of the senile changes in the female rat.

1. 老化論におけるホルモン

個々の細胞が固有のプログラムをもっているとする老化のプログラム説にしたがえば、個体レベルでの老

化も第一義的には遺伝的な支配のもとにあることになる。この際、その細胞を取り巻く生体調節機構のはたらきの変化によってプログラムの進行が影響を受けるが、個体レベルでも老化の進行が影響を受けないわけにはいかない。したがって、生体調節機能の変化は環境に対する適応力の変化をもたらすのだから個体の老化にとって重要であるとする説は根拠のある主張である。それらを列挙すると、

(i) Strehler (1972) の遺伝子説。エイジングを支配する遺伝子 (エイジング・ジーン) を仮定して、その情報発現がホルモンや代謝産物により調節される。

(ii) Pearl (1928) のショウジョウバエを用いた研究より提唱された、寿命はエネルギー消費の速度に反比例するという rate of living 説。

(iii) Everitt (1973) の、視床下部一下垂体ホルモン説、外部環境が内分泌系を仲介としてエイジング・ジーンに作用する。たとえば、寒冷曝露—甲状腺ホルモン分泌増加—エネルギー消費増加—老化促進となる。

(iv) Dilman (1971) の視床下部閾値上昇説。視床下部自体の老化が他の器官に見られる老化現象の原因であるというもので、視床下部は老化するとフィードバック抑制に対して鈍感になることを重要視した考え。

(v) Frolkis (1976) が述べている視床下部不調和説。視床下部の各部分の老化が等しい速度で進行しないために、個体内のさまざまな機能の調節が調和を失ない、病理的变化が生じ死の原因となる。

これらの説によれば、いずれをとっても視床下部ニューロンの機能変化が、下位の内分泌系を介するか否かは別として、個体の老化と深く関わりをもつと考えることができる。いま、研究対象を内分泌系だけに限った場合、生殖腺のように個体の寿命に比してきわめて早期に老化現象の認められる器官がある。これは個体の老化のしくみを研究する実験モデルとして有用である。その上、視床下部一下垂体—生殖腺系というフィードバックシステムを構成しているメンバーの個々に実験処理を施しながら調べるのが容易なのも利点である。ここではラットを用いたこのフィードバックシステムの老化について簡単に述べ、詳細は他に譲りたい (川島, 1977)。

老令動物の内分泌機能の研究は、世界的に盛んになる傾向があり、単行本もいく種類が出版されている (たとえば, Gitman, 1967; Timiras, 1972; Everitt and Burgess, 1976; 吉川・江上・山田, 1977)。わが国でも、本稿執筆の機会をお与え下さった井林博会長による第50回日本内分泌学会総会 (九州, 1977) でのシンポジウム企画をはじめ各種研究グループによるシンポジウムやワークショップの開催、脳下垂体機能の老化についての総説 (たとえば, 井村ほか, 1976; 川島, 1972, 1976)、雑誌の老化特集号などにその一端を窺うことができる。老化研究の実験動物としてはラットやマウスが最もポピュラーで、雑誌 *Experimental Gerontology* の例をあげると、vol. 1 (1964) から vol. 11 (1976) までの13年間の掲載論文中、ラットまたはマウスを用いた論文が全体の約65%に達している。2位が節足動物 (ショウジョウバエが主) の約22%であった。

2. 卵巣の機能

卵巣ではエイジングの明瞭な指標として、卵母細胞の減少がある。卵母細胞の減少は下垂体除去により抑えられることを、マウスでは Jones and Krohn (1961) が、ラットでは Ingram (1953) が見出した。正常の CBA 系マウスでは 430日令に卵母細胞は完全に消失しているのに、脳下垂体を除去しておいた個体の卵巣には残っていた。この卵巣を若令マウスに移植すると、妊娠・出産させることができたという。したがって、卵母細胞数の減少は下垂体ホルモンにより促がされることが明らかになった。

一般に、ホルモンにより標的器官を刺激し続けるとその器官は疲弊する。こうして生理的エイジを進めるホルモンを Everitt (1976) は加令ホルモン (またはエイジングホルモン, aging hormone) とよんだ。

ウィスター系雌ラットは15月令以降、連続発情または断続的偽妊娠状態を示す個体が過半数を占めるようになり、20月令以後に周期的な発情周期を示したのは Aschheim (1976) のデータ (表1) によると約8%に過ぎな

かった。偽妊娠ラットには刺激を受けていることが明瞭な黄体がある。このラットの子宮に糸を通すと脱落膜腫が形成されることから、プロゲステロンが分泌されていることがわかる。連続発情を示すラットの卵巢は小さく、成熟濾胞はあるが黄体を欠いている。多くの雌ラットで乳腺が発達しているが、これは後に述べるようにプロラクチン分泌の増加が原因である。連続発情ラットではLHの低下を示す形態学的特徴である“wheel cells またはdeficiency cells”がしばしば認められる。これにLHを投与すると、黄体様細胞となる(Arias and Aschheim, 1974)。また、18月令ラットで下垂体を電気刺激すると膣スミアに周期性を回復し、交尾・出産した。しかし、22月令となると膣スミアにも変化が認められなかった。下垂体—卵巢系の全体に不可逆的な老化が進行していたことになる。ヒトでは卵巢のステロイド分泌は減少し、かわりにゴナドトロピン分泌が上昇する。そこで、卵巢のゴナドトロピン受容体の低下をまず考慮する必要がある。最近われわれは、老若のラット(16~19月令と3月令)を用いて、卵巢のゴナドトロピン受容体を調べた(川島・石居・安達、未発表)。卵巢をホモゲナイズして調整した標品を受容体として用いると、老令ラットから得た標品は若令ラットからのものに比し、FSHの結合能力が明らかに劣っていた。FSHとの結合の解離恒数には有意差がなかった。おそらく細胞膜の単位面積あたりの結合部位数が減少していると思われる。LH結合能力については、実験的に長期間ゴナドトロピン処理を受けた卵巢(脾臓内移植卵巢)ではLH結合能力が有意に低下していた(Saiga-Narumi and Kawashima, 1977)。また、外部からのゴナドトロピンに対する反応性を形態学的に調べた場合にも鈍感であった(Saiga-Narumi, 1975)。

受容体の減少は、あるホルモンの受容体が同種のホルモンを前もって与えておくことで減少するという、卵巢または精巣においてConti et al. (1976), Sharpe (1976), Zor et al. (1976)により発見された現象と同様のことが、内因性ゴナドトロピンによって誘起されたためであると考えられる。

表1 ウィスター系ラットにおける膣スミアのパターンとエイジ

月 令	6	10	12	15	20	23	27
周期的(%)	89	72	60	40	8	8	8
連続発情(%)	7	9	20	40	64	52	20
断続的偽妊娠(%)	4	19	20	20	28	40	72

Aschheim (1976) より。

表2 老若ラット間の卵巢交換移植

提供者	提供時の組織像	宿 主	35日後の組織像
4月令	CL, F, f	12月令	CL, F, fまたはF, f
4月令	CL, F, f	18月令	F, f
12月令	F, f, 間質組織	4月令	CL, (F), f
18月令	(F), f, 間質組織, 結締組織	4月令	(CL), (F), f 結締組織

(川島・若林、未発表)
CL: 黄体, F: 大濾胞, f: 小濾胞,
カッコはごく少数しかないことを示す。

3. ギナドトロピン分泌

老令ラットに見られる非周期的膣スミアの原因が中枢または末梢器官のいずれにあるかを確かめるため老若ラット間で卵巣の交換移植を行なった。若令個体の腹皮内に移植した卵巣に黄体形成の認められたのは、12月令ラットの卵巣を用いた時には全例、18月令の卵巣の場合には $\frac{1}{6}$ であった(表2)。12月令ラットの卵巣はギナドトロピンに対する反応性がほぼ正常であることを示すから、12月令では視床下部一下垂体系の老化が先行しているように思われる。これについてはAschheim(1974/5, 1976)も同様の結果を得ているし、Peng and Huang(1972)も老令ラットの小型卵巣がギナドトロピン反応性を維持していることを報告した。しかし、表2から18月令には卵巣自身にも老化が進行していることがわかる。前に述べたように、Arias and Aschheim(1974)は18月令は正常に近く、22月令で老化が認められたというが、ラットの亜系、飼育条件などの違いがあるのでエイジの絶対値の比較はあまり意味がない。

若令で卵巣を除去しておくで視床下部一下垂体系を若い状態に保てる。また、少量のエストロゲンを連日投与すると老令ラットにおける連続発情が早期に誘導されること(Kawashima, 1960)も合わせ考えると、エストロゲンがいわば加齢ホルモンであるということができよう。

18月令の雌ラットの下垂体前葉には多数の去勢細胞が認められるが、卵巣はごく小型である。こうした関係は閉経期後の婦人に見られるものに類似しているが、ラットではギナドトロピンの血中濃度はあまり増加しない。18月令ラットでは血中LH濃度が2.67ng/mlで、4月令ラットの発情期のレベルよりは高いが、発情前期のLH surgeのレベルにはとうてい達さない(川島・若林, 未発表)。去勢後のLHおよびFSHの濃度変化を老若間で比較すると、老令ラットでは上昇が鈍かった。したがって、老令ラットの下垂体前葉はフィードバック抑制の解除に対して鈍感なことが推察される。これはMeites and Huang(1976)と一致し、その結果の示す限りにおいてDilman(1971)の説を支持する。

表3 下垂体前葉中のプロラクチン量

群	月 令	下垂体前葉 重量 (mg)	プロラクチン	
			下垂体あたり	mgあたり
正常雌 ^{a)}	3	5.7±0.7 (4) ^{d)}	145±36	29±10
正常雌	12または18	15.3±1.6 (7)	701±289	52±23
正常雌 ^{b)}	12または18	15.8±0.7 (7)	1886±376	117±22
去勢雌 ^{c)}	12	10.9±0.5 (5)	81±9	7.5±0.9
正常雄	3	7.9±0.1 (5)	66±5	8.3±0.7
正常雄	18	10.7±0.4 (5)	88±5	8.3±0.4

a) 正常ラットの発情間期第1日

b) 乳腺が発達しミルク分泌

c) 3月令で卵巣除去

d) 平均値±標準誤差, カッコ内は個体数

Kawashima et al. (1974) による。

4. プロラクチン分泌

ウイスター系の雌ラットで自発的に連続発情を示す個体ではプロラクチン細胞が非常に増加していたし、血中プロラクチン濃度も高かった(Kawashima, 1974, Kawashima et al., 1974)。脳にあるプロラクチン抑制因子(PIF)の分泌が若令ラットと異なるのが原因のひとつと考えられる。若い時期に卵巣除去をした雌ラットや老令雄ラットではプロラクチン分泌上昇が認められないが、ここでも、卵巣のエストロゲンの存在が重要であると結論できる。これに加えて下垂体自身にもPIF作用をもつドーパミンや、放出因子としての作用をもっているTRHに対する感受性低下があると思われる。

ドーパミンは弓状核—正中隆起部に存在し、下垂体門脈血中に検出されている上、下垂体のドーパミン受容体も確認されているので、生理的に作用しているPIFである可能性が高い。カテコールアミンの蛍光組織化学法を用いて弓状核を調べたところ、若令ラット（3月令）では細胞体に明らかな蛍光を認めたが、老令ラット（22月令）では弱く、検出できないほどであった。老令ラットにはリポフスチン顆粒の自家蛍光が増加していた。蛍光の比較のため観察している中脳黒質のドーパミンニューロンにはきわめて明瞭にこのことが認められるので例として図示しておいた。

図1, 2 老若ラット脳のカテコールアミン蛍光組織化学

Falck-Hillarp 法による。中脳黒質 (substantia nigra, zona compacta) のニューロンにも老若差があり、若令ラット (図1) は老令ラット (図2) よりも強い蛍光が認められる。老令ラットの蛍光は紫外線による褪色がゆるやかで、リポフスチンによる。×160

リボフスチンの蓄積を低下させる手段としてはクロルプロマジン投与 (Samorajski and Rolsten, 1976) などがあるが、この時にカテコールアミンも若令時のレベルを維持しているかどうかについてはまだ報告がない。代謝もエイジングの影響を受けていて、DOPA からカテコールアミンへの転換は、28月令マウスは10—12月令マウスに比べて20—50%も低かったという (Finch, 1976)。

カテコールアミンの内、ドーパミンはPIF活性のほかにゴナドトロピンの定常的分泌に、ノルエピネフリンを含むニューロンは周期的機構に関与していると考えられている。老化にともないこれらに変化すれば、下位内分泌器官の機能に影響を与えるという点から、その系の老化のペースメーカー的役割を負っている可能性がある。脳内アミンの変化が発情周期の消失やプロラクチン分泌上昇とどう関係しているか、その機構の詳細については将来の研究にまたねばならない。

5. おわりに

視床下部—下垂体—生殖腺系という相互に関連をもったひとつの環の各メンバーの老化について述べてきたが、どれが先でどれが後かという問題に対する明確な答えはまだない。ここでは対象としなかったが、生命維持に不可欠な内分泌器官である副腎皮質や甲状腺・副甲状腺などの機能は、老令に達しても著しい変化は示さないとされる。これらと比べて生殖腺系は生命維持に必須のものではないからこそ明瞭な老化現象が現われ得るのであり、研究対象になりやすいのである。

(一連の研究は、群馬大・内分泌研・若林克巳、早稲田大・教育・石居進・安達透、岡山大・理・山本雅道、東大・理・西駕鷹子の諸氏との協同でなされたものである。)

文 献

- 1) Arias, M. and P. Aschheim (1974) *Experientia* 30: 213.
- 2) Aschheim, P. (1964/5) *Gerontologia* 10: 65—75.
- 3) Aschheim, P. (1976) *Hypothalamus, Pituitary and Aging*. (ed. by A.V. Everitt and J.A. Burgess), C.C. Thomas Publ. Illinois. pp. 376—418.
- 4) Conti, M., J.P. Harwood, A.J.W. Hsueh, M.L. Dufau, and K.J. Catt (1976) *J. Biol. Chem.* 251: 7729—7731.
- 5) Dilman, V.M. (1971) *Lancet* II: 1211—1219.
- 6) Everitt, A.V. (1973) *Exp. Gerontol.* 8: 265—277.
- 7) Everitt, A.V. (1976) *Hypothalamus, Pituitary and Aging*. 以下略 pp. 676—701.
- 8) Everitt, A.V. and J.A. Burgess (eds.) (1976) *Hypothalamus, Pituitary and Aging*. C.C. Thomas Publ. Illinois.
- 9) Finch, C.E. (1976) *Neurobiology of Aging*. (ed. by R.D. Terry and S. Gershon), Raven, New York. pp. 335—338.
- 10) Frolkis, V.V. (1976) *Hypothalamus, Pituitary and Aging*. 以下略 pp. 614—633.
- 11) Gitman, L. (ed.) (1967) *Endocrines and Aging*. C.C. Thomas Publ. Illinois.
- 12) 井村裕夫, 加藤 譲, 吉本祥生, 阪本 登, 千原和夫, 吉見輝也: (1976) *医学のあゆみ*, 97: 552—560.
- 13) Ingram, D.L. (1953) *J. Endocrinol.* 9: 307—311.
- 14) Jones, E.C. and P.L. Krohn (1961) *J. Endocrinol.* 21: 469—496.
- 15) Kawashima, S. (1960) *Annot. Zool. Japon.* 33: 226—233.
- 16) Kawashima, S. (1974) *Gunma Symp. Endocrinol.* 11: 129—141.
- 17) Kawashima, S., T. Asai and K. Wakabayashi (1974) *Psychoneuroendocrinology* (ed. by N. Hatotani) S. Karger AG, Basel. pp. 128—135.
- 18) 川島誠一郎: (1972) *エイジングの生物学*, 岩波書店, 東京, pp. 148—162.
- 19) 川島誠一郎:

- (1976)代謝, 13: 1195-1202. 20) 川島誠一郎: (1977) 動物学雑誌, 86: 153-167.
- 21) Meites, J. and H. Huang (1976) Neuroendocrine Regulation of Fertility (ed. by T.C. Amand Kumar) S. Karger Basel. pp. 246-258. 22) Pearl, R. (1928) The rate of living. Univ. London Press, London. 23) Peng, M.T. and H. Huang (1972) Fertil. Steril. 23: 535-542. 24) Saiga-Narumi, T. (1975) J. Fac. Sci. Univ. Tokyo IV 3: 265-271. 25) Saiga-Narumi, T. and S. Kawashima (1977) Proc. Japan Acad. 53: 156-160. 26) Samorajski, T. and C. Rolsten (1976) Exp. Gerontol. 11: 141-147. 27) Sharpe, R.M. (1976) Nature 264: 644-646. 28) Strehler, B. (1972) Reports 9th Intern. Congress Gerontology, Kiev. 2:33. 29) Timiras, P.S. (1972) Developmental Physiology and Aging, Macmillan, New York. 30) 吉川敏巳, 江上信雄, 山田正篤: (編集)(1977) 老化制御, 朝倉書店. 東京 31) Zor, U., S.A. Lamprecht, Z. Misulovin, Y. Koch and H.R. Lindner (1976) Bioch. Biophys. Acta. 428: 761-765.