

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲	第	号
------	---	---	---	---

氏 名 高原紀博

論 文 題 目

Real-Time Imaging of ATP Release Induced by Mechanical Stretch in Human Airway Smooth Muscle Cells

(ヒト気道平滑筋細胞における機械的伸展刺激による ATPリアルタイムイメージング法)

論文審査担当者 名古屋大学教授

主 査 委 員

久場博司 

名古屋大学教授

委 員

山田清文 


名古屋大学教授

委 員

室原豊明 

名古屋大学教授

指導教授

長谷川好規 

論文審査の結果の要旨

本研究でヒト気道平滑筋細胞がストレッチ刺激に応答して ATP を放出することを初めて見出した。更に、ATP リアルタイムイメージング法を使って個々の気道平滑筋細胞から ATP が放出される様子を観察することに成功した。ストレッチ刺激による ATP 放出は vesicular exocytosis 阻害剤により抑制されるものの pannexin hemichannel 阻害剤により抑制されないことより、hemichannel を通じてではなく主に vesicular exocytosis によって放出されることが示唆された。またストレッチ刺激による ATP 放出と $[Ca^{2+}]_i$ の上昇は siTRPV4 の導入に影響されず、いずれにおいても TRPV4 の関与は否定的であった。以上、ヒト気道平滑筋細胞がストレッチ刺激に応答して ATP を放出すること、また、その機序が vesicular exocytosis によることを明らかにした。

本研究に対し、以下の点を議論した。

1. ATP release についてはまだほとんどわかっていないが、リアルタイムイメージで見える限り細長い気道平滑筋細胞のある一部から放出されているようである。そこが特定部位なのかどうかは VNUT (vesicular nucleotide transporter) の抗体で染色したりキナクリン (ATP 含有 vesicle に取り込まれる色素) を取り込ませたり等々で ATP 放出との共局在をみることは興味深い実験であると考えている。
2. 現在の細胞培養系ではチャンバーの底に細胞が密着するため残念ながら気道平滑筋細胞の大きな収縮は見られない。ただ thrombin や ionomycin など筋収縮を起こすはずの $[Ca^{2+}]_i$ 上昇反応を起こさせた場合、量は少ないが ATP 放出が見られる。実際に筋収縮が同時に起こった場合、ATP 放出量が増加する可能性はあると考えられる。
3. まだ詳細に検討していないが、リアルタイムイメージング実験時に見ている限りにおいては特にどちらかの方向にストレッチした方が ATP release が起こりやすいということにはなかった。

以上の理由により、本研究は博士 (医学) の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。

試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※甲第	号	氏名	高原紀博
試験担当者	主査	入場博司	山田清文	室原豊明
	指導教授	長谷川好規		

(試験の結果の要旨)

主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。

1. vesicular releaseの気道平滑筋細胞での発生部位について
2. 気道平滑筋収縮に関わる $[Ca^{2+}]_i$ 上昇のATP放出に対する影響について
3. 伸展の向きによるATP放出量の違いについて

以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、呼吸器内科学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。