

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 村田直彦

論 文 題 目


Ca²⁺ influx and ATP release mediated by
mechanical stretch in human lung fibroblasts

(ヒト肺線維芽細胞における機械的伸展刺激を
介した Ca²⁺流入と ATP 放出)

論文審査担当者


名古屋大学教授

主 査 委 員

高橋 雅真 

名古屋大学教授

委 員

石黒 洋 


名古屋大学教授

委 員

久場 博司 

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

本研究では、肺線維芽細胞は機械的伸展刺激に反応して細胞内 Ca^{2+} 濃度 ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) 上昇を引き起こし、ATP を放出することが初めて示された。この $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇は、細胞外液の Ca^{2+} 非存在下ではほぼ完全に抑制されたことから、細胞外からの Ca^{2+} 流入により引き起こされると考えられた。しかし、既知の伸展活性型イオンチャネル阻害薬、 Ca^{2+} チャネル阻害薬では、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇を抑制することはできず、またアクチン細胞骨格による制御は受けていないと考えられた。さらに ATP の autocrine/paracrine 作用も検討したが、 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇には関与していないようだった。 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇は肺線維芽細胞の活性化を促進し、組織間隙の ATP 濃度上昇は肺線維化の関連が示唆されていることから、伸展刺激により生じる肺線維芽細胞の $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 上昇と ATP 放出は肺線維化の病態機序に関わっている可能性が示唆された。

本研究に対し、以下の点を議論した。

1. 肺は常に呼吸運動により、伸展収縮をくりかえしているが、線維化をきたした肺と正常肺の境界部分は、局所的に強い伸展を受けやすいと推測される。肺線維症の病理像では、正常領域と線維化領域の境界が明瞭であり、abrupt change と言われる特徴が認められる。さらに、一般的に肺線維症では、肺底部から次第に頭側へと経時的に病変が拡大していく。そのため、正常と異常の境界部分で組織の伸展が病態進行に関与している可能性は高いと考えられる。
2. 肺線維芽細胞は活性化すると筋線維芽細胞と呼ばれ、alpha smooth muscle actin (α SMA) を発現する。伸展刺激による α SMA の発現は他の研究で最近報告されており、その研究でも Ca^{2+} の関与が示された。
3. 低浸透圧実験は、一般的に細胞生理学実験において細胞膜伸展として使用される方法である。生体内では、肺胞表面では 50% 低浸透圧は起こりうると思われ、組織内部では、50% まで浸透圧が低下することは考えにくいと思われた。
4. 肺線維芽細胞には、論文には示していないが、TRP canonical (特に C3、C6)、TRP vanilloid (V2、V4) は発現が RT-PCR 法にて確認されている。他に、Piezo1/2 の発現の報告されている。本研究でも、結果は示していないが TRPV2、V4、C6 のほか、STIM/Orai についても検討している。
5. 伸展実験の前日にシリコンゴムの薄膜上に播種された細胞は、互いに接触しない程度の密度に調整されており、組織として伸展されるというよりは、単離した細胞の伸展を検討している実験系である。
6. 細胞伸展を加えた後の形態変化は、 Ca^{2+} イメージングの実験では、偏光顕微鏡などで正確な形態を確認したわけではなく正確に把握はできない。

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	村田直彦
試験担当者	主査	高橋雅夫	石黒洋	入場博司
	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. 肺線維症の形成と伸展刺激の関係について
2. 伸展刺激によるalpha smooth muscle actinの発現に関係があるか
3. 低浸透圧刺激の実験のような低浸透圧が生体内でおこるか
4. 肺線維芽細胞に発現しているCa²⁺チャネルはどのようなものがあるか
5. 伸展チャンバー上で細胞同士は接触しているか
6. 細胞内Ca²⁺濃度上昇が起こった後の形態はどうなっているか

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。