

氏名(生年月日)	カメ 亀	ヤマ 山	シン 伸	キチ 吉
本籍				
学位の種類	博士(医学)			
学位授与の番号	乙第 2272 号			
学位授与の日付	平成 16 年 6 月 18 日			
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当(博士の学位論文提出者)			
学位論文題目	<b>Air exposure causes oxidative stress in cultured bovine tracheal epithelial cells and produces a change in cellular glutathione systems</b> (空気に暴露されると培養気管上皮細胞は酸化ストレスにさらされ、細胞のグルタチオンシステムに変化を生じる)			
主論文公表誌	Experimental Lung Research 第 29 巻 第 8 号 567-583 頁 2003 年			
論文審査委員	(主査) 教授 永井 厚志 (副査) 教授 三橋 紀夫, 小田 秀明			

## 論文内容の要旨

### 〔目的〕

Air-liquid interface (AIR) 法では培養細胞は immersed (IM) 法に比較して高濃度の酸素にさらされるため細胞内の活性酸素レベルが上昇すると予測される。今回、AIR 法での細胞内の glutathione (GSH) system について調べ、培養細胞が受ける酸化ストレスと、それに対する細胞の防御反応について考察した。さらに GSH system と細胞増殖との関係についても検討した。

### 〔方法〕

牛気管から分離した気道上皮細胞を IM 法下で培養し、confluent に達した後に AIR 法に移行し、経時的に細胞の GSH system の諸因子を測定した。GSH は dithionitrobenzoic acid (DTNB) recycling 法により測定した。さらに AIR 法下で GSH の前駆体である cystine の培地中の濃度を変化させ、細胞内の GSH レベルと細胞増殖との関係を調べた。

### 〔結果〕

AIR 法に変更後、細胞内の GSH レベルは上昇し、IM 法で測定された 4~5 倍に達した。酸化型 GSH (GSSG)/total GSH は早期から上昇したが、2 日目にプラトーに達した。Glutathione reductase (GR) 活性は時間依存性に上昇したが、glutathione peroxidase (GPx) 活性は 1 日目で低下した。AIR 法変更後、細胞数の増加は GSH レベルの上昇に引き続き生じることがわかった。また、培地中の cystine 濃度を変化させた時、GSH レベルと細胞増殖の間には有意な相関がみられた。

### 〔考察〕

IM 法から AIR 法に移行した後にみられる GSSG/total GSH 上昇は、細胞が酸化ストレスにさらされていることを反映し、防御反応として細胞は GSH system を変化させると考えられる。また、AIR 法における細胞内の GSH レベルと細胞数の変化の関係から、GSH レベルの上昇が細胞増殖を促進させると推測される。

### 〔結論〕

空気に暴露されると培養細胞は酸化ストレスを受け細胞内 GSH system が変化し、これらの変化が細胞増殖に働くと考えられる。

## 論文審査の要旨

本研究から空気の暴露により気道上皮細胞は酸化ストレスを受け、細胞のグルタチオン機構に変化が生じ、細胞増殖することが明らかとなった。細胞増殖の程度と細胞内グルタチオンレベルには密接な正相関がみられることから、直接的な因果関係のあることが推測される。このような空気暴露下で培養された上皮細胞は、より生体に近い環境下に生じる変化を検出するためには有用な研究材料と考えられる。研究のデザイン、対象、方法、いずれも十分な計画のもとに行われており、考察も広い視点から深い内容で論述されている。以上より、本研究は学術的にも臨床的にも価値のあるものと評価できる。