

別紙1-1

## 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 坂口 健史

論 文 題 目

Promethazine downregulates Wnt/ $\beta$ -catenin signaling and increases biomechanical forces of injured Achilles tendon

(プロメタジンは損傷アキレス腱のWnt/ $\beta$ -cateninを抑制し生体力学的特性を改善する)

論文審査担当者 名古屋大学教授

主 査 委員 平田 仁  
名古屋大学教授

委員 亀井 譲  
名古屋大学教授

委員 門松 健治  
名古屋大学教授

指導教授 今釜 史郎

## 論文審査の結果の要旨

別紙 1 - 2

今回、ラットアキレス腱損傷モデルを作成し、アキレス腱損傷後の Wnt/ $\beta$ -catenin シグナルの上昇を経時的に観察した。腱由来細胞を用いて、Wnt/ $\beta$ -catenin シグナルを抑制する既知薬の探索と抑制が腱関連遺伝子の発現に与える影響を確認した。その結果、抗アレルギー薬である Promethazine は腱由来細胞において、Wnt/ $\beta$ -catenin シグナルを抑制し、腱関連遺伝子の発現を部分的に亢進させた。さらに、Wnt/ $\beta$ -catenin シグナルの特異的な阻害薬である IWR-1 と Promethazine をアキレス腱損傷モデルに投与した。どちらの薬剤も、腱損傷後に上昇していた Wnt/ $\beta$ -catenin シグナルを抑制した。IWR-1 投与では組織学的な改善が、Promethazine 投与では生体力学的特性の改善が確認された。この結果、Promethazine は腱損傷後の腱修復を促進する薬剤として有用である可能性が示唆された。

1. Promethazine は腱由来細胞において、Wnt/ $\beta$ -catenin シグナルを抑制するとともに、腱関連遺伝子の発現を亢進させた。ラットアキレス腱損傷後、術後 1~14 日に Promethazine を筋肉内投与した。受傷後 2 週の時点でアキレス腱採取を行った。その結果、損傷後に亢進した Wnt/ $\beta$ -catenin シグナルを抑制するとともに、腱生体力学的特性である Peak force と Stiffness を改善させ、損傷腱の断面積も増加させた。

2. ラットアキレス腱損傷後、Promethazine の 2 週間投与で、受傷後 2 週間の生体力学的特性が改善することが示された。一方で、Promethazine の 2 週間投与のあと、受傷後 8 週の時点で、アキレス腱の採取を行った。受傷後 2 週でみられた、Peak force・Stiffness・腱断面積の有意差は消失していた。このことから、Promethazine の投与後時間が経つと効果が減弱してくると考えられ、さらなる投与期間の検討が必要と考えられた。

3. Wnt/ $\beta$ -catenin シグナルは腱の発生や修復時に、TGF- $\beta$  と関連しているとされている。先行研究でも、腱由来細胞において Wnt/ $\beta$ -catenin シグナルは TGF- $\beta$  を介して腱関連遺伝子である Scx の発現をコントロールしていた。今回の研究でも、TGF- $\beta$  に関する解析を行った。Promethazine を腱由来細胞に投与した時、Scx 以外の腱関連遺伝子には影響を与えたが、Scx には影響を及ぼさなかった。また、TGF- $\beta$  下流の遺伝子である、Id-1 の発現量も変化が無かった。さらに、Promethazine を投与した腱由来細胞内の、TGF- $\beta$  下流の SMAD の発現量や SMAD のリン酸化にも差を認めなかった。以上の結果より、Promethazine の腱由来細胞に対する効果は TGF- $\beta$  を介さない作用である可能性が示唆された。

本研究は、腱損傷に対する薬物治療の道を拓く、重要な知見を提供した。

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	坂 口 健 史
試験担当者	主査 平田 仁		副査 <sub>1</sub> 亀井 譲	
	副査 <sub>2</sub> 門松 健治		指導教授 今釜 史郎	
(試験の結果の要旨)				
<p>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。</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. Promethazineをラットアキレス腱損傷モデルに投与した影響について</li><li>2. 8週間薬剤投与の影響について</li><li>3. 薬剤投与によるWnt/<math>\beta</math>-cateninシグナルとTGF-<math>\beta</math>の関連について</li></ol>				
<p>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、整形外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。</p>				