

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 伊藤 元

論 文 題 目
Proteoglycan from salmon nasal cartilage promotes *in vitro* wound healing of fibroblast monolayers via the CD44 receptor

(サケ軟骨プロテオグリカンの単層線維芽細胞創傷治癒モデルにおける CD44 を介しての効果)

論文審査担当者

主 査

委員

名古屋大学教授

阿部 健江 

委員

名古屋大学教授

藤 本 豊 士 

委員

名古屋大学教授

豊岡 伸哉 

指導教授

名古屋大学教授

久場 博 司 

論文審査の結果の要旨

本研究では、サケ軟骨プロテオグリカン (SNC-PG) が、*in vitro* アッセイ系において低濃度 (0.1~10 $\mu\text{g/ml}$) で創傷治癒促進効果を有すること、そして、その効果は、細胞増殖、細胞遊走の両者の亢進作用によることが示された。さらに、その促進効果は、SNC-PG の側鎖の主成分であるコンドロイチン 6 硫酸 (C-6-S) と細胞膜上の CD44 との相互作用によることが明らかにされた。

今後、*in vivo*での効果検証等が待たれるが、SNC-PG は、サケ頭部を材料として安価に精製し資源有効活用することができることから考えて、創傷治癒促進剤としての有力な開発候補になりうると考えられる。

本研究に対し、以下の点を議論した。

1. SNC-PG の側鎖には、創傷治癒促進効果を有する C-6-S が多く含まれているが、ほ乳類由来軟骨型 PG では C-6-S が少なくコンドロイチン 4 硫酸 (C-4-S) が多い。従って、SNC-PG に見出された創傷治癒促進効果は、ほ乳類由来の軟骨型 PG では、比較的小さいか、ほとんど見られないと予想される。また、C-6-S の鎖長と効果の関係に関しては、検討しておらず今後の課題とする。





2. SNC-PG で刺激した細胞の細胞内シグナル系を Western blotting 解析すると、様々な大きさのタンパク質分子のチロシンリン酸化が誘導され、ERK、Akt のリン酸化も認められた。また、pull down 法により活性化型 Rac 量を解析したところ、SNC-PG 刺激により処理後 10 分以降、活性化 Rac の量が増加していた。従って、SNC-PG が CD44 と相互作用した後、Rac と ERK を含むシグナル系を活性化し、細胞遊走、増殖を亢進している可能性が考えられた。SNC-PG 刺激においては、PKC 活性化時等に報告されている CD44 の細胞内部位分断化は検出されなかった。

3. 高濃度の SNC-PG 処理時には、CD44 以外のレセプターを介して細胞増殖・遊走を抑えるようなシグナル経路が動いている可能性が考えられるが、それらのレセプターや経路の同定には至っていない。アッセイに使用した線維芽細胞において PTP σ の発現はタンパク質レベルでは検出されなかった。

4. アッセイ系に添加した蛍光標識 SNC-PG の大部分は、CD44 依存的に細胞表面へ結合し、30 分以内に細胞内小胞に移行する様子が観察された。一方、SNC-PG の培養基質への吸着はほとんど検出されなかった。従って、SNC-PG の創傷治癒促進効果が CD44 の機能阻害やノックダウンにより抑えられることや、検出された SNC-PG による細胞内シグナル活性化と合わせて考えると、その促進効果は、SNC-PG が細胞の足場として働くということよりは、むしろ、細胞に直接作用して細胞内シグナル系を活性化し増殖や遊走を亢進することによっていると考えられる。

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	伊藤 元
試験担当者	主査 月形 健治  藤本 豊士  豊成 伸哉  指導教授 久場 博司 			
<p>(試験の結果の要旨)</p> <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"> 1. SNC-PG側鎖の組成特徴について 2. SNC-PGに誘導されるCD44より下流の細胞内シグナルについて 3. 高濃度SNC-PGにおける創傷治癒促進効果消失について 4. SNC-PGの創傷治癒効果の発現機構について <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、細胞生物物理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>				