

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 鈴木 望人

論 文 題 目


Hyaluronan suppresses enhanced cathepsin K expression via activation of NF- $\kappa$ B with mechanical stress loading in a human chondrocytic HCS-2/8 cells

(軟骨様細胞株(HCS2/8)において、メカニカルストレスによるカテプシン K の発現亢進は高分子ヒアルロン酸により抑制する)

論文審査担当者

名古屋大学教授

主 査 委員

阿松 健治 

名古屋大学教授

委員

岡島 徹也 

名古屋大学教授

委員

葛谷 雅文 

名古屋大学教授

指導教授

石黒 直樹 

## 論文審査の結果の要旨

今回、ヒト軟骨様細胞株において、過剰な機械的ストレス負荷は NF- $\kappa$ B 活性化を介してカテプシン K の発現を誘導したことを確認した。高分子ヒアルロン酸前処理は、機械的ストレス負荷下で NF- $\kappa$ B 活性化とカテプシン K 発現の両方を効果的に抑制した。これらの結果は変形性関節症 (OA) につながる過剰な機械的ストレス負荷の異化作用を裏付けるメカニズムを説明し、OA 治療のための関節内ヒアルロン酸注射の有効性を支持する新しいエビデンスを示した。

本研究に対し、以下の点を議論した。

1. システインプロテアーゼであるカテプシン K は、I 型/II 型コラーゲンの骨・軟骨に関与している。この酵素は骨リモデリング・関節軟骨分解に関与することが報告されている。ヒト線維芽細胞を用いてリポ多糖によって誘導されるカテプシン K 発現の亢進をヒアルロン酸によって抑制した報告がある。しかし機械的ストレス負荷によるカテプシン K 発現の変化、また軟骨細胞でのカテプシン K 発現に対するヒアルロン酸の効果についての報告はなく、軟骨変性におけるヒアルロン酸作用のメカニズムを解明するため、軟骨細胞におけるカテプシン K 発現を調べる必要があると考えられる。
2. 伸展ストレスによる NF- $\kappa$ B の核内移行について、蛍光免疫染色によって評価を行った。30 分伸展ストレスでは細胞質の染色が認められているが、60 分伸展ストレスでは核内染色がしっかりと描出されている。つまり伸展ストレスが直接 NF- $\kappa$ B に作用に関与しており、伸展ストレスがカテプシン K 発現につながる NF- $\kappa$ B 活性化を誘導したことを実証した。
3. 使用した伸展刺激装置は実際生体内(膝関節内)で軟骨細胞が受ける圧縮力を再現できていない。しかし過去の報告で蛋白分解酵素発現を評価する伸展刺激装置の有効性が実証されている。monolayer による伸展ストレスだけではなく、より生体内環境に近い 3D 培養による伸展ストレスで同様結果を示すことで、生体内に近い条件で実証することができた。機械的応力負荷の生理学的強度である 0.5Hz および 10% 下のストレス負荷ではカテプシン K 発現に有意差を認めず、この実験は 1Hz および 20% の強度はいわゆる過剰な機械的応力負荷によって得られた結果である。今後の研究課題としては圧縮、せん断力、静水圧などの様々な種類の機械的応力を調べる必要があると考えられる。

本研究は、変形性関節症治療のための関節内ヒアルロン酸注射の有効性を確立する上で、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	鈴 木 望 人
試験担当者	主査	阿松 健治	副査 <sub>1</sub>	岡島 徹也
	副査 <sub>2</sub>	葛谷 雅文	指導教授	石黒 直樹

(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. 今回の研究に至った経緯について
2. NF-kBの核内移行について
3. 膝関節内での機械的ストレスと本研究の同一性について

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、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。