

## 第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

Disulfiram ophthalmic solution inhibited macrophage infiltration by suppressing macrophage pseudopodia formation in a rat corneal alkali burn model

ラット角膜アルカリ外傷モデルにおいてジスルフィラム点眼薬は仮足形成を抑制することでマクロファージの浸潤を抑制した

日本医科大学大学院医学研究科 眼科学分野  
大学院生 池袋 東陽

International Journal of Molecular Sciences, Jan 1;24(1):735. 2023  
DOI 10.3390/ijms24010735.

ジスルフィラム(DSF)は従来アルコール依存症治療薬として使われてきたが、近年サイトカインレセプターCCR2/CCR5 とマクロファージ制御に関わる細胞内タンパク FROUNT との相互作用を阻害することで、マクロファージの仮足形成、細胞浸潤を抑制することが明らかになり、その抗炎症効果が注目を集めている。申請者は本研究においてラット角膜アルカリ外傷モデルを用いて、DSF 点眼がマクロファージの細胞浸潤、角膜癒着、血管新生を抑えることを明らかにした。

アルカリ外傷処置直後から一日2回、0.5%DSF 点眼(DSF 群)、もしくは基材点眼を投与し、6 時間後、1 日、4 日、7 日後で免疫組織学的、分子生物学的評価を行った。またマクロファージの仮足の評価のため低真空走査型電子顕微鏡(low-vacuum scanning electron microscope, LV-SEM)を用いて、浸潤マクロファージの長径を計測した。

DSF 群ではマクロファージの浸潤が抑制されており、蛍光多重免疫染色にて浸潤マクロファージ上に FROUNT と FROUNT が惹起する PI3K 経路の産物であるリン酸化 AKT が存在することが確認された。また、マクロファージ関連サイトカインである TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 1、IL-1 $\beta$  の発現が有意に低下していた。角膜癒着に関連する III 型コラーゲン、新生血管の内皮細胞を示す Nestin 染色、および VEGF-A のいずれも発現が有意に抑制されていた。LV-SEM によるマクロファージの観察では基剤群では細長く伸びた細胞が多いのに対し DSF 群では類円形の細胞を多く認めた。また、DSF 群では有意に細胞長径が短く、マクロファージの仮足形成が抑制された可能性が示唆された。以上から、DSF 点眼はマクロファージの仮足形成を抑制することで浸潤を阻害し、結果として角膜癒着と血管新生を抑制していることが明らかとなった。今後、角膜障害における抗炎症点眼の選択肢の一つとなることが期待された。

第二次審査においては、DSF の点眼開始時期の影響、ステロイド併用の問題点、既報における DSF 使用の着眼点との相違、他の炎症性疾患への応用の可能性、III 型コラーゲン増加機序、M1 および M2 マクロファージ分極化への影響、DSF 投与濃度設定の根拠、眼科実臨床応用への観点などについて質疑されいづれも的確に回答した。本研究は角膜癒着の新たな治療方法に繋がる

重要な知見を明らかにしたものであり、本論文は学位論文として価値あるものと認定した。