

第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

Trimebutine Prevents Corneal Inflammation in a Rat Alkali Burn Model

トリメブチン点眼はラット角膜アルカリ熱傷モデルにおいて炎症を抑制する

日本医科大学大学院医学研究科 眼科学分野

大学院生 後藤 均

Scientific Reports. 2024 May 27;14(1):12111.掲載

DOI: 10.1038/s41598-024-61112-4

角膜アルカリ外傷は、重篤な炎症や新生血管の発生により角膜が混濁し、視機能が損なわれる重篤な疾患である。High mobility group box-1 (HMGB1) は炎症や免疫反応、創傷治癒に関与するダメージ関連分子パターンであり、眼疾患の治療標的となり得る可能性がある。既存の消化管運動調律薬であるトリメブチンマレイン酸（トリメブチン）は、HMGB1 - receptor for advanced glycation end products (RAGE) シグナル伝達経路を阻害するが、眼科領域の疾患において検討された報告はない。そこで申請者はトリメブチン点眼液を作成し、ラット角膜アルカリ外傷モデルを用いて、その創傷治癒効果を検証した。角膜アルカリ外傷作成後のラット (n=8) を、1日2回のトリメブチン点眼または基剤のみの点眼を行う2群に分け、1、4、7日後に角膜を摘出し、マクロ像、病理学的および分子生物学的に比較検討した。その結果、トリメブチン点眼群は、各エンドポイントにおいて非使用群と比較し角膜の混濁が軽度であり、HE染色における炎症細胞の浸潤が有意に減少していた。またトリメブチン点眼群は非使用群と比較し、7日目に好中球の浸潤が有意に減少し(MPO染色)、1、4日目でマクロファージの浸潤が有意に減少した(ED-1染色)。HMGB1とRAGEの角膜創傷治癒への関与を検証するため、免疫染色にて正常角膜との比較を行ったところ、正常角膜ではHMGB1陽性細胞、RAGE陽性細胞は共に角膜上皮層に発現していた。一方アルカリ外傷後の角膜では実質層に両陽性細胞が広範に発現しており、共に4日目にピークがあった。トリメブチン点眼群では両陽性細胞が共に減少し、HMGB1陽性細胞は4、7日目に、RAGE陽性細胞は4日目に有意に減少していた。新生血管の抑制効果を調べるためNestin染色を行ったところ、アルカリ外傷後の角膜では4日目よりNestin陽性内皮細胞の発現が観察されたが、トリメブチン点眼群では4、7日目にNestin陽性内皮細胞が減少した。創傷治癒過程における角膜実質層の線維性変化を調べるため、 α SMAとIII型コラーゲン染色を行ったところ、アルカリ外傷後の角膜では7日目に α SMA陽性筋線維芽細胞とIII型コラーゲンの集積が検出されたが、トリメブチン点眼群では共に集積が減少した。逆転写ポリメラーゼ連鎖反応では、IL-1 β のmRNA発現レベルがトリメブチン点眼群で4日目に有意に減少した。TNF- α 、IL-6、CCL2の発現は非使用群と比較し有意差はなかった。また正常角膜に対するトリメブチン点眼の病理学的な傷害性は認めなかった。以上よりトリメブチン点眼はHMGB1-RAGEシグナル伝達経路を阻害し、角膜創傷時の癒痕形成を予防する新しい治療薬剤となる可能性が示唆された。

第二次審査では、トリメブチン点眼の濃度設定や各エンドポイント設定の根拠、その他の眼疾患における臨床応用の可能性、トリメブチンはステロイド点眼の代替治療となり得るか、HMGB1とRAGEの陽性細胞の起源についての質問に対し、的確な回答を得た。

本論文はトリメブチンという既存の薬剤を点眼化し、角膜化学外傷での創傷治癒効果を示した論文である。これらの結果より、トリメブチン点眼は角膜化学外傷のみならず、その他の角膜疾患にも臨床応用できる可能性があり、意義深い論文と考えられる。以上より本論文は学位論文として価値あるものと認定した。