

# 論文審査の要旨及び担当者

報告番号	(甲) 乙 第	号	氏 名	山 下 和 哉
論文審査担当者	主 査	眼科学	坪 田 一 男	
	病理学	坂 元 亨 宇	解剖学	久保田 義 顕
	薬理学	安 井 正 人		
学力確認担当者：			審査委員長：坂元 亨宇	
			試問日：平成30年12月27日	
(論文審査の要旨)				
論文題名：A Rabbit Corneal Endothelial Dysfunction Model Using Endothelial-Mesenchymal Transformed Cells (内皮間葉転換を用いたウサギ角膜内皮機能不全モデル)				
<p>本研究では、ウサギの角膜内皮細胞はヒトと異なり、創傷治癒の過程で自発的に治癒することが知られているが、内皮間葉転換を用いたウサギ角膜内皮細胞を使用して長期に角膜内皮機能不全モデルを維持する検討を行った。このモデルは、角膜内皮機能不全に対する新しい治療法の開発に有用な可能性がある。</p> <p>審査では、ウサギの角膜内皮細胞がなぜ増殖するか問われた。ウサギに限らず、げっ歯類では角膜内皮細胞が増殖するが、ヒトでは細胞周期停止状態にあり、細胞表面から入ってくるシグナルから細胞周期停止に至る経路は不明な部分が多いと回答された。次に、角膜含水率維持のメカニズムについて問われた。角膜含水率はtight junction、Na, K-ATPase依存性ポンプ機能と炭酸脱水酵素などによって維持されていると回答された。次に、マウスでは動物モデル作成ができないか問われた。マウスの角膜径が小さく、デスメ膜および周辺組織を損傷させないように作成することが困難であると回答された。次に、培養後の細胞が内皮間葉転換をおこしたものか裏付けるものはあるかと問われた。間葉系マーカーの発現上昇および線維芽細胞様形態の変化をみているがsingle cell cultureなどを今後検討する必要があると回答された。次に、細胞移植はどのように行われているか、周囲組織に広がる可能性はあるか問われた。デスメ膜の状態はlaminin染色で確認し、細胞は眼科手術時に用いる粘弾性物質と混ぜて前房内へ移植を行った。移植した細胞は周囲組織に広がる可能性はあるが、移植後、顕微鏡所見及び組織染色所見にて周囲組織に炎症所見などの異常は認めなかったと回答された。次に、角膜内皮細胞だけ外科的に取り除くことができるのか問われた。デスメ膜を全く傷つけない事はないが、角膜実質に影響を及ぼさない程度であると回答された。次に角膜内皮細胞を擦過した際に創傷治癒の課程で内皮間葉転換がおきているか問われた。創傷治癒でみられる線維芽細胞マーカーの発現上昇はみられるがウサギの場合はfibrosisや混濁を残すことなく回復すると回答された。次に培養中どれくらいで内皮間葉転換を起こすか問われた。内皮間葉転換をいつ起こすかについて、個体差があったことから詳細までは検証していないが細胞形態が線維芽様細胞に変化を示した段階で今回の検討を行ったと回答された。次に角膜実質の線維芽細胞様細胞について移植細胞との関与を問われた。角膜実質と移植細胞の間でデスメ膜をこえたTGFβなどシグナル作用の詳細は今回検討していないが、今後、検討する必要があると回答された。</p> <p>以上、本研究には検討すべき課題が残されているものの、内皮間葉転換を用いたウサギ角膜内皮細胞を使用して長期に角膜内皮機能不全を維持し、新たな知見を示した点において、有意義な研究であると評価された。</p>				