

**【目的】** 本研究は、未熟児網膜症 (Retinopathy of prematurity : ROP) に対する点眼治療薬創製を目的とする。ROP は早産児虚血網膜に生じる血管増殖性疾患である。既存治療である網膜光凝固と抗血管内皮増殖因子抗体硝子体注射 (抗 VEGF 治療) は、侵襲性が高く非可逆的神経合併症に関する懸念も大きい。我々はこれまでに、ROP 疾患モデル (Oxygen-induced retinopathy : OIR) マウス網膜の網羅的解析から、Rho キナーゼ (ROCK) の ROP 病態への関与を明らかにした。ROCK 阻害剤であるリパスジル点眼により ROP 病態の根幹である異常網膜血管新生、網膜虚血が減少したことから、点眼という世界初の ROP 低侵襲治療法開発に着手した。リパスジル点眼はグラナテック®点眼液として上市されている。そこでリパスジル点眼の ROP への適応拡大を目指し、リパスジルの薬効機序解明を行った。

**【方法】** 我々は過去に OIR 網膜血管新生への M1-like、M2-like マクロファージ (MΦ) の関与を明らかにしている。本研究前に行った検証において、リパスジルにより OIR 網膜内炎症性サイトカインの発現が減少したことから、1. OIR 網膜における M1-like、M2-like MΦ の局在と定量、2. 塩化ガドリニウム (GdCl<sub>3</sub>) およびクロドロン酸リポソーム (Cl<sub>2</sub>MDP-LIP) 投与後の、OIR 表現型の変化、3. リパスジル点眼投与後の OIR 網膜における MΦ の population・局在変化と OIR 表現型の変化、以上を免疫染色、FACS、PCR にて検証した。4. OIR 網膜 MΦ の遺伝子発現解析および M1-like、M2-like MΦ への分化経路推定を目的とし、OIR マウス網膜から CD11b 陽性細胞を抽出し、シングルセル RNA シークエンスを行った。

**【結果】** 1. OIR 網膜において、虚血領域では M1-like MΦ が、異常血管新生周囲では M2-like MΦ が増加した。2. GdCl<sub>3</sub> (M1-like MΦ 消去) および Cl<sub>2</sub>MDP-LIP (M2-like MΦ 消去) 投与どちらにおいても、網膜虚血、異常血管新生領域はコントロールと比較して有意に減少したが、虚血抑制効果は GdCl<sub>3</sub> の方が高く、異常血管新生抑制効果は Cl<sub>2</sub>MDP-LIP の方が高かった。3. リパスジル点眼により、OIR 網膜における M1-like、M2-like MΦ はともに減少した。同時に OIR 網膜における単球走化因子 MCP-1 の発現も有意に減少した。そこで CCR2、F4/80、CD11b 共陽性細胞の定量を行ったところ、リパスジルにより有意に減少していた。OIR 網膜での同細胞の局在を確認したところ、虚血領域に存在していた。OIR に対して抗 MCP-1 抗体硝子体投与を行ったところ、リパスジルと同様に異常血管新生および網膜虚血が有意に減少した。解析の結果、CD11b 陽性細胞は九つのクラスターに分類された。今後 M1-like、M2-like MΦ への分化経路推定を行う予定である。

本研究で解明されたリパスジルの薬効機序

