HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	新規敗血症モデルの開発に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	土田, 拓見
Citation	北海道大学. 博士(医学) 甲第15205号
Issue Date	2022-09-26
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/87665
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Note	配架番号：2736
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	TSUCHIDA_Takumi_review.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　博士（医 学）　氏 名　土 田　拓 見

審査担当者
主査　教授　清 野 研一郎
副査　准教授　橋 本 大 吾
副査　教授　橋 野 聡

学 位 論 文 題 名

新規敗血症モデルの開発に関する研究
(Research on the development of a new sepsis model)

現在の敗血症の基礎研究に用いられているモデルマウスはCLP（Cecal Ligation and Puncture）モデルである。CLPモデルは、結紮した盲腸の遠位部を穿刺して腸管穿孔させ便が漏れ出る状態にして腹膜炎を誘発するモデルであるが、研究者間の技術差異、手術侵襲、炎症の限局化（膿瘍形成）などの問題点があり、敗血症研究が進歩しない原因となっている可能性があった。申請者は、排泄されたマウスの新鮮便から作成された糞便懸濁液を腹腔内に投与して敗血症を誘発する新規の敗血症モデルマウス（Fecal Suspension Intraperitoneal Injection Model：FSIモデル）の作成プロトコルを確立し、その妥当性を免疫学、細菌学、病理学、生理学的視点から多角的に評価した。FSIモデルはCLPモデルと同様に敗血症の病態を反映した変化が認められただけでなく、FSIモデルの個体間のばらつきはCLPモデルよりも小さいことが証明された。FSIモデルの敗血症重症度は糞便懸濁液の濃度により容易に調整可能であり、手術侵襲がなく作成が簡便なFSIモデルは今後の敗血症研究の質を向上させる可能性がある。

審査にあたり、まず副査の橋野教授から腹膜炎以外にも敗血症の原因となりうる感染症があるが、本研究ではなぜ腹膜炎モデルが選択されたかについて質問があり、申請者は、腹膜炎以外の敗血症モデルとして肺炎や尿路感染症などのモデルも存在するが、今回は敗血症研究において汎用されているにもかかわらず改善の余地が多く残されていると思われた腹膜炎モデルを選択したと回答した。同副査は次の質問として、マウスの糞便は自己由来のもののみを用いたのかとの質問があり、申請者は次のように回答した。従来のモデルでは、自己由来の腸内細菌のみが抗原となっていたため、免疫応答に影響を及ぼしている可能性が問題視されていた。したがって、今回は同じケージ内の複数匹の糞便から懸濁液を作成し、自己の腸内細菌以外の抗原を含むことにより既存の懸念が解消された。

次に副査の橋本准教授からCLPモデルとFSIモデルでの腹水培養の結果の差異についての考察について問われた。申請者は、Stenotrophomonas maltophilia がFSIモデルからのみ優勢に検出された理由について、FSIモデルでは腸管穿孔がないため新鮮な便漏出がなく、多剤耐性菌であるStenotrophomonas maltophilia が残存した可能性があることに言及し、便培養検査では多数の菌が存在するため今回の測定系では菌種の検出に限界があり結果に影響した可能性もあると回答した。橋本准教授からは、血液培養の採取や、細菌の同定にリボソームRNAを用いた培養以外の測定系を用いることでより深い細菌学的な考察が可能となるとの助言があった。次にサイトカイン・ケモカインの測定結果から、今後の研究の標的となる分子があるか質問があった。申請者は次のように回答した。本研究ではFSIモデルが敗血症病態であるかどうかの検証が主体であり、今回のサイトカイン・ケモカインの単回測定から標的分子についての検討はしていない。FSIモデルでは多量の抗原を一期的に投入するモデルでありCLPモデルとは敗血症病態の時相が異なる可能性がある。したがって標的分子の選定には敗血症病態の時相に応じたサイトカイン・ケモカインの挙動を明らかにする必要があると考えており、今後複数回の測定を行った結果からキー分子を同定してく予定である。最後に同副査から、FSIモデル作成における実験間誤差についての質問があり、申請者は、複数回のモデル作成により、同一の研究者における実験間誤差は生じないことが確認されていると回答した。最後に中間審査から申請者の主査を務めた清野教授から、中間審査で予定されていたマスサイトメトリーの予定と敗血症において生じる凝固障害についての考察があるか問われた。申請者は次のように回答した。中間審査での議論で、FSIモデルの細胞機能を網羅的に探求するよりは、既存の敗血症モデルとの比較を的を絞って詳細に行うべきではないかとの指摘を受けたため、本研究における検証実験ではサイトメトリーは行わずに免疫学、細菌学、病理学、生理学の複数の視点から敗血症モデルとしての妥当性を評価する方針となった。凝固線溶反応は、救急医学研究のメインテーマの一つであるものの詳細な機序は未知であるため、今後、本研究で確立された均質なモデルを用いて病態解明を進めていく予定で現在凝固線溶反応の解明に向けた研究が進行中である。審査を通して申請者は質問に対しその主旨を的確に理解し、文献的考察を混じえて適切に回答した。

この論文は、既存の敗血症モデルの問題点を鋭く指摘し、その問題点を克服した新規の敗血症モデルマウスの作成プロトコルを確立させるとともに同モデルの妥当性を多角的に証明した論文として高く評価された。この論文により確立された均質な敗血症モデルマウスを用いることで今後の質の高い敗血症研究が可能となり、敗血症の病態解明および有効な治療法の開発に資することが期待される。

審査員一同は，これらの成果を高く評価し，大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに充分な資格を有するものと判定した。