



Title	外傷後敗血症病態に關与する好中球フェノタイプの研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	水柿, 明日美
Citation	北海道大学. 博士(医学) 甲第15650号
Issue Date	2023-09-25
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/90963
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Note	配架番号 :
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	MIZUGAKI_Asumi_review.pdf (審査の要旨)



[Instructions for use](#)

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 水柿 明日美

主査 外丸 詩野 准教授
審査担当者 副査 和田 はるか 准教授
副査 大場 雄介 教授

学 位 論 文 題 名

外傷後敗血症病態に関与する好中球フェノタイプの研究

(Neutrophil phenotypes implicated in the pathophysiology of post-traumatic sepsis)

外傷直急性期の死亡には免疫恒常性の破綻が関与することが知られており、この免疫不均衡に介入することで外傷直急性期の予後が改善すると考えられる。外傷後の好中球に着目した研究は少ないが、好中球は外傷後の免疫応答において重要な役割を担う。好中球はその機能に違いがあるとされ、外傷後敗血症病態における好中球フェノタイプの関与を明らかにし予後と関連する因子について検討することを目的として本研究を行った。外傷後敗血症マウスモデルと非外傷後敗血症マウスモデルを作製し生存率・腹水生菌数・病理組織を比較し、サイトカイン測定・マスサイトメトリー(cytometry by time-of-flight: CyTOF)を行った。外傷は25%3度熱傷モデルを用い、敗血症は盲腸結紮穿孔による腹膜炎モデルを用いた。外傷後敗血症群は非外傷後敗血症群と比較して生存率が低下し、病理組織学的評価では脾臓のマクロファージ出現像が減少し、臓器障害が進行していた。腹水生菌数は外傷後敗血症群と非外傷後敗血症群に差がなかった。外傷後敗血症群では血中 TGF- β 1 が上昇し他のサイトカインは概して低下した。好中球上の CD11b、SIRP α 、Siglec-F、CD68 の発現が両群で異なっていた。血中 TGF- β 1 濃度や好中球フェノタイプの偏在と予後との関係を証明することで、外傷後免疫抑制状態への治療介入の可能性が拡がると考えられた。

審査に当たり、主査の外丸詩野准教授から、好中球数測定の有無について質問があった。申請者は、CyTOF の検体処理の工程で生細胞のカウントは行っているが全白血球のカウントで好中球数測定はしていないこと、CyTOF の解析工程での CD45 細胞に占める好中球とマクロファージの割合の検討は行っていることを回答した。また、主査より好中球の NETosis などの働きに好中球フェノタイプの働きは関与しているのか質問があり、申請者は CXCR2 や Siglec-F の発現は好中球の NETs 形成や活性酸素発生などの能力に違いがあるとされることを回答した。副査 和田准教授より、外傷後に感染症で亡くなる患者は本当に免疫抑制状

態なのか質問があり、申請者は免疫が活性化されるとされる頭部単独外傷は別だが外傷後に感染症を繰り返し治療に難渋することは多く、正常な免疫状態では起こらないようなサイトメガロウイルス感染症などを来すことがあり免疫抑制状態であると考えたと回答した。また、抗好中球抗体の使用は検討しなかったのか質問があり、申請者は好中球が関与しているとしても炎症性好中球と抗炎症性好中球のバランスの問題である可能性を考えていたため抗好中球抗体を使用することは考えていなかったと回答した。さらに和田准教授より創部保護の有無について質問があり、申請者は既報に則り背部の保護はしていないことを回答した。和田准教授より盲腸結紮穿孔手技は複雑であり糞便の腹腔内投与が簡便であることの指摘があり、申請者の所属する研究室で希釈糞便腹腔内投与モデルと盲腸結紮穿孔モデルと比較した研究もあるが、本研究施行時に敗血症の標準モデルであった盲腸結紮穿孔を行ったと返答した。また和田准教授および副査の大場教授より、今回の研究には熱傷/Sham モデルが必要と指摘があった。申請者は、外傷モデルのみでの死亡率が既報では5%以下で当研究室でも0%であり、今回は外傷後に起こる免疫不均衡に二次性感染症が生じたときの反応を見るべく非外傷後敗血症モデルとの比較を行ったことを回答した。大場教授より、生存率と免疫反応は異なるため、熱傷/Sham モデルは必要であり、また熱傷モデルの生存率の検討をしたのであれば予備実験として学位論文に記載すべきであると指摘があった。和田准教授よりマクロファージは脾臓に常に存在しているため、脾臓へのマクロファージ『出現・浸潤』という文言が不適切であると指摘があった。続いて、リンパ球に対するマクロファージの割合で論じるとむしろリンパ球の増加と解釈できてしまうと指摘があった。和田准教授より、臨床応用についてどのように考えているか質問があり、申請者は免疫チェックポイント阻害薬の新規ターゲットとして臨床試験段階であるCD47-SIRP α は、外傷後敗血症病態への関与が証明されれば外傷亜急性期の免疫抑制状態への治療標的となり得ると回答した。また、和田准教授よりSingle cell RNA sequencyでも同様の解析ができるがなぜCyTOFかと質問があり、申請者は研究室での施行経験があったためCyTOFを行ったと回答した。大場教授より『フェノタイプ』ではなく『サブセット』が適切であると指摘があり、申請者は中間審査時に『好中球の異質性』と表記したところ『好中球フェノタイプ』の方が適切と指摘を受け修正したと回答した。

この論文は、外傷後敗血症病態に関与する好中球フェノタイプの変化を明らかにした点で高く評価され、今後の臨床応用を目指した研究発展が期待される。

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十分な資格を有するものと判定した。