（第３号様式）

学　位　論　文　要　旨

氏　　名　　岡　奈央子

論　文　名　　緑膿菌角膜炎における緑膿菌病原因子と臨床像の関係について

学位論文要旨

（緒言）

緑膿菌は重症角膜感染症の主要原因菌の一つで、契機としてコンタクトレンズ（以下 CL）装用、外傷が挙げられる。また、緑膿菌角膜炎の主な臨床所見として角膜に輪状膿瘍を呈するとされているが、実際は病巣が拡大する重症例から病巣が小さな軽症例まで様々である。臨床所見を決定する因子についていまだ明らかになっていないが、緑膿菌の病原性が関わっている可能性が考えられる。緑膿菌の病原因子としては、プロテアーゼ、エキソトキシン A、バイオフィルムに加え、TypeⅢ secretion system (TTSS)が重要である。TTSS は毒素を宿主の細胞に注入する機構であり、角膜炎の病原性に関与していることが報告されている。TTSS の effector protein には、invasive 株から分泌される ExoS と、細胞毒性株から分泌される ExoU があるが、実際の臨床での角膜炎におけるそれぞれの effector protein の役割についての検討は少ない。さらに、緑膿菌の運動能に関わる鞭毛は角膜上皮への接着と侵入に関与しており、鞭毛構成成分であるタンパクも免疫賦活を行う。特に液体培地での鞭毛の動きは Swimming 運動能、半流動性培地での動きは Swarming 運動能として知られている。Swarming 運動能は抗菌薬への抵抗性において重要な因子と考えられており、さらにバイオフィルムの前段階の動きとしての報告もある。しかしながら、角膜炎臨床例における鞭毛の関与も明らかではなかった。そこで我々は角膜炎の臨床像の決定に関与する病原因子を明らかにするために、CL 装用者や非 CL 装用者での角膜炎症例から分離された緑膿菌株を用いて、緑膿菌角膜炎の臨床所見と病原因子の関係の解明を試みた。

（方法）愛媛大学医学部附属病院眼科で 2003 年から 2014 年までに集積された緑膿菌角膜炎 25 例を用いた。患者プロファイル（年齢、性別、誘因、症状出現から受診までの日数）、臨床所見

（病巣の大きさ、形、角膜浸潤の位置、前房蓄膿の有無、棘状病変の有無、輪状膿瘍の有無）を後ろ向きに調査した。病巣の大きさを評価するために、画像処理ソフト（ImageJ）を用いて病巣占拠率（FOR）（病巣の面積/角膜全体の面積）を算出した。緑膿菌株は角膜病巣から擦過し分離培養された25株に対して、プロテアーゼ活性、エラスターゼ活性、バイオフィルム、運動能（Swarming、Swimming）、細胞疎水性、TTSSのeffector protein遺伝子について検討を行った。

（結果）緑膿菌角膜炎25例を、CL装用群CL(+)群と非CL装用群CL(-)群の2群に分類した。CL(+)群はCL(-)群と比べ年齢が有意に若く、輪状膿瘍や棘状病変も多く認めた。また、CL(+)群は輪状膿瘍を認めるものと、病巣の小さいものとに分かれたことから、CL(+)群を輪状膿瘍の有無でさらに2群【CL(+)ring(+)とCL(+)ring(-)】に分類し、CL(-)を加えた3群において、臨床所見、FOR、病原因子の関係について統計学的に比較検討した。

病巣の大きさを示すFORは、CL(+)ring(-)群が他の2群と比べ有意に小さく、病原因子では、CL(+)ring(+)群とCL(-)群において、CL(+)ring(-)群と比較してSwimming運動能が有意に高かった。一方、Swarming運動能ではCL(+)ring(+)群がCL(+)ring(-)群やCL(-)群より有意に高かった。重症であるCL(+)ring(+)群やCL(-)群でのexoS遺伝子保有率は、軽症であるCL(+)ring(-)群と比べ有意に高かった。

CL(-)群では、受診までの日数が他の2群に比べて長く、患者背景も様々であり、病原因子以外の要素も含まれるため、CL装用例（18例）のみにおいて、病原因子とFORの関係についてSpearmanの相関係数を用いて検討したところ、プロテアーゼ活性とSwarming運動能がFORと有意に相関していた。また、exoS遺伝子保有群におけるFORは、exoU遺伝子保有群のものより有意に高い結果となった。さらに、それぞれの臨床所見や病原因子が、互いにどのような関係にあるかについて多変量解析を用いて検討を行った。FORと相関する因子としては、年齢、輪状膿瘍、前房蓄膿、エラスターゼ活性、Swarming運動能が挙げられた。また、Swarming運動能とexoS遺伝子保有は輪状膿瘍と有意に相関していた。Swarming運動能はFOR、輪状膿瘍、前房蓄膿の全ての臨床所見と相関を認めた。病原因子間では、Swarming 運動能はプロテアーゼ活性、細胞疎水性、Swimming運動能とそれぞれ相関を示した。

（考察）緑膿菌の臨床所見の分類についての報告はほとんどない。本研究の結果より、CL関連角膜炎と非CL装用角膜炎では臨床所見が異なることが明らかとなった。非CL関連角膜炎では、患者の平均年齢が高いことや、発症因子が外傷や角膜移植など多岐に渡り、臨床所見が進行しやすい可能性がある。一方、CL関連角膜炎では、輪状膿瘍を持つ症例や病巣が小さい症例など様々な臨床所見が認められた。さらに、緑膿菌角膜炎の臨床所見を決定する病原因子ついて、今回の結果より、Swarming運動能、プロテアーゼ活性、exoS遺伝子保有、エラスターゼ活性が関与している可能性が示唆された。特に運動能を決定する鞭毛は病巣の拡大や角膜上皮の免疫を賦活化させ、炎症を惹起している可能性も考えられる。また、これらの病原因子は相互作用している可能性も考えられた。今回の結果は緑膿菌角膜炎の病態解明に重要な情報を与えると思われる。

キーワード（３～５）	緑膿菌角膜炎 鞭毛 病原因子