

学位論文審査結果の要旨

氏名	岡 奈央子
審査委員	主査 鳥居 本美 副査 石井 榮一 副査 羽藤 高明 副査 西川 典子 副査 池宗 啓蔵

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

審査結果の要旨

緑膿菌は重症角膜感染症の主要な原因菌の1つであり、発症の契機としてコンタクトレンズの不適切な装用が挙げられている。本研究はコンタクトレンズ装用および非装用の角膜炎患者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菌の病原因子との関連性を解明することを目的として実施された。

本研究は、コンタクトレンズ装用の18症例および非装用の7症例の合計25症例を対象として実施した。各症例の臨床所見（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）と各患者から分離培養した緑膿菌の病原因子（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 motility、Swimming motility）、細胞表面疎水性、type III secretion system (TTSS) 関連 effector タンパク質遺伝子の *exoS* と *exoU*）との関連性について検討を行い、以下の結果を得た。

はじめに臨床像の検討を行なって以下の点を明らかにした。コンタクトレンズ装用群は輪状膿瘍の有無で2分され、輪状膿瘍(+)では病巣が角膜の1/4以上であるのに対し、輪状膿瘍(-)では病巣が角膜の1/4以下であった。他方、非装用群では輪状膿瘍(-)であるが、病巣は角膜の1/4以上であった。そこで、コンタクトレンズ装用群を輪状膿瘍の有無により2群に分け、コンタクトレンズ非装用群（輪状膿瘍は-）を加えた3群を対象に、各群間における緑膿菌病原因子の比較検討を行なった。その結果、コンタクトレンズ装用群では輪状膿瘍(+)

が輪状膿瘍 (-) に比較して、運動能を示す Swimming motility と Swarming motility、および *exoS* 遺伝子保有率が有意に高いことを明らかにした。次に、病巣の大きさの指標として病巣占有率 (focus occupied ratio: FOR) を定め、この値と緑膿菌の各病原因子との関連性を検定したところ、FOR がプロテアーゼ活性および Swarming motility と有意の相関を示すことが明らかになった、また、*exoS* 遺伝子保有群が *exoU* 遺伝子保有群よりも有意に高い FOR を示すことが判明した。さらに臨床所見と病原因子の多変量解析を行った結果、FOR は年齢、輪状膿瘍、前房蓄膿、エラスターゼ活性、Swarming motility と、輪状膿瘍は Swarming motility、*exoS* 遺伝子保有と有意に関連し、Swarming motility は FOR、輪状膿瘍、前房蓄膿の臨床所見と有意な関連性を有することが認められた。また、病原因子間では、Swarming motility がプロテアーゼ活性、細胞表面疎水性、Swimming motility と有意の関連性を有していた。

以上の結果から申請者は、緑膿菌の病原因子とされる Swimming motility、Swarming motility、*exoS* 遺伝子保有が、緑膿菌角膜炎の病態に関与することを明らかにした。

本論文に対する公開審査会は平成28年1月15日に開催された。申請者から申請論文および関連する研究内容について英語による口頭発表がなされた後に、審査委員から本研究に関連する以下の質問がなされた。

1) 緑膿菌は一般的には日和見感染の原因であるため、一般感染症の起炎菌としては少ないが、角膜炎の起炎菌として緑膿菌が非常に多い理由は何か。2) コンタクトレンズの装用が緑膿菌角膜炎に関わるとすると、どのような機序が考えられるのか。3) コンタクトレンズ非装用者の角膜炎の背景因子として、糖尿病、悪性腫瘍、免疫抑制状態などの関与があるのではないか。4) 輪状膿瘍の有無によって症例を2群に分けた理由は何か。5) 輪状病変の有無によって生ずる病態の差異について簡潔に説明して欲しい。6) FORを菌の浸潤範囲を表す指標として使っているが、膿瘍形成などの宿主側の炎症反応を含んでいるとすれば、FORは炎症反応の広がりによっても影響を受けるのではないか。7) コンタクトレンズ非装用者では輪状膿瘍の形成が全くないにも拘らず全例でFORが大きい。このような特徴にはどのような背景が関与していると考えられるのか。8) コンタクトレンズ装用による角膜炎では、病原因子としてSwarming よりSwimmingの方が重要ではないのか。9) TTSSとFORの関連について、用いた解析法によって異なる結果がでていますが、どう解釈するのか。10) *ExoS*、*ExoU* を数値化しているが、その方法と意味を説明して欲しい。11) 緑膿菌のSwarming motilityやTTSSが重篤な感染となる要因とすると、その制御が新規治療ターゲットになりうると考えられるが、Swarming motilityやTTSSを抑制する物質があるのか。また、それを応用した治療の展望はどうか。12) 感染を予防できるコンタクトレンズ開発の可能性はどうか。

これらに対して申請者は、質問の意図を十分に理解した上で、的確に応答した。本論文は、緑膿菌角膜炎の病態に関する知見が限られていることに着目して実施したもので、緑膿菌角膜炎の病態解明の基礎研究として重要な結果を含んでおり、治療薬剤の開発など今後の研究の展開が期待される。審査委員は一致して本論文を高く評価し、博士(医学)の学位論文に値するものと結論した。