

氏名(本籍地) 服部宗太郎(佐賀県)  
 学位記および番号 博士(歯学), 甲 第362号  
 学位授与の日付 平成30年3月10日  
 学位論文題名 「*Candida albicans*の定着に及ぼすサイトカインの影響—カンジダ血症のマウスモデル開発の試み—」  
 論文審査委員 (主査) 伊東博司教授  
 (副査) 鈴木恵子教授  
 清浦有祐教授

### 論文の内容および審査の要旨

【研究目的】口腔常在真菌の代表である*Candida albicans* (*C. albicans*) が, 病原性を発揮することは少ない。しかし, *C. albicans*が血流を介した感染を起こした場合は, カンジダ血症を惹起する。カンジダ血症の死亡率は極めて高く, 患者数は増加傾向にある。

カンジダ血症の発症メカニズムの解明と治療方法の確立には, 動物モデルが必要となる。口腔カンジダ症のマウスモデルはすでに開発され, 広く利用されているので, このマウスモデルを基本として, カンジダ血症のマウスモデルを開発することを試みた。本研究では, 第一段階として口腔内で増殖した*C. albicans*が腸管内に移行し, 定着するための最適な条件を探索した。

【研究方法】ICR雌性マウスに0.2mgのプレドニゾロンを皮下注射した。同時にマウスの飲料水を水道水から4mg/mlのテトラサイクリン含有水道水に変更した。その24時間後に0.1mgのクロルプロマジン塩酸塩を後肢大腿部に筋肉注射し, その20分後に鎮静したマウスの口腔内に調製した*C. albicans*の菌液を接種した。

接種後, 任意の日数を経過させたマウスを頸椎脱臼で安楽死させて舌を採取し, 舌組織中の*C. albicans*数を測定すると共に舌組織のパラフィン切片を作製し, PAS染色を行うことで, *C. albicans*の舌組織への侵入の有無を明らかにした。さらに, *C. albicans*を感染させたマウスの糞を経日的に採取して, 糞中の*C. albicans*数を測定することで, 腸管内への移行を調べた。

【研究結果】口腔から腸管内に移行した*C. albicans*の検出を糞中から試みると, 感染42日後でも多数が検出された。検出された*C. albicans*が, マウスの腸管内に元々常在していた可能性が考えられた。しかし, プレドニゾロンを皮下注射し, テトラサイクリン含有水道水を飲水させただけでは, 糞中から*C. albicans*は検出されなかった。

腸管内に定着した*C. albicans*の菌数をさらに増

加させる手段として, 炎症性サイトカインに対する抗体を*C. albicans*感染マウスの腹腔に投与した。抗IL-1 $\alpha$ 抗体を投与した場合, コントロールに比較して糞中の*C. albicans*の数は有意に増加した。一方, 同じ炎症性サイトカインであるIL-6に対する抗体を投与した場合, 糞中の*C. albicans*数は抗IL-1 $\alpha$ 抗体を投与した場合に比べ有意に低い値を示した。

【考察】上記の結果から, 抗IL-1 $\alpha$ 抗体の投与は腸管内への*C. albicans*の定着を高めるが, 抗IL-6抗体の投与では, そのような定着促進効果は認められなかった。したがって, *C. albicans*の感染に際して産生されるIL-1 $\alpha$ は, 感染防御に極めて重要なサイトカインであり, *C. albicans*の定着を妨げるサイトカインであると考えられる。

【結論】口腔カンジダ症のマウスモデルにおいて, 炎症性サイトカインであるIL-1 $\alpha$ に対する抗体投与は, 腸管内における*C. albicans*の定着を促進することが示された。しかし, IL-6に対する抗体の投与では, そのような促進効果は認められなかった。

【審査の経過と結果】本論文に関する一次審査委員会は, 3名の審査委員によって平成30年1月24日午後1時から開催された。

論文記載の順に従って, 各審査委員が論文の学術的価値を審査するため申請者に対して質問を行った。主なものを次に示す。1) 今回の研究の基礎になった口腔カンジダ症のマウスモデルの実験条件について。2) 舌組織の病理組織染色について。3) 使用した動物種とその性別の理由について。4) 糞中の*C. albicans*数の測定方法について。5) 抗菌薬の投与がマウスの腸内細菌叢にどのような影響を与えているのか。6) 腸内細菌叢を形成する細菌種が変化することで, 腸管内の*C. albicans*数は増加, もしくは減少を示すのか。

質問に対する申請者の回答は, 適切なものであった。その回答から申請者が学位論文の作成に際しては, 実験結果を十分に検討しながら, 指導教員との討論を重ねて進めたことが推察できた。

その他, 審査委員からは論文中の文言及び図表の修正と用語の統一に関する求めがあった。申請者はそれらの求めに応じて, 直ちに論文の修正を行った。

本研究は, 致死率の高いカンジダ血症のマウスモデル作成の実験条件を明らかにするために行われた。その結果, 口腔カンジダ症のマウスモデルに抗IL-1 $\alpha$ 抗体を投与することで, 腸管内への*C. albicans*の定着が促進されることが示された。

この結果は, カンジダ血症のマウスモデル開発に極めて有用な知見を提供するものと評価できる。よって, 本審査委員会は全員一致で一次審査の判定を合格とした。

### 掲載雑誌

奥羽大学歯学誌, 第45巻第1号, 13-23, 2018.