




学位論文審査の結果の要旨

審査区分 (課)・論	第640号	氏名	原 貴生
審査委員会委員		主査氏名	北野 敬明 
		副査氏名	檜原 久司 
		副査氏名	木許 賢一 
<p>論文題目 Intraperitoneal phototherapy suppresses inflammatory reactions in a surgical model of peritonitis (腹腔内光線療法は腹膜炎手術モデルにおいて炎症反応を抑制する)</p> <p>論文掲載雑誌名 Journal of Surgical Research</p> <p>論文要旨 【背景・目的】大腸穿孔による腹膜炎・敗血症は致命的疾患であり、現在の外科手術を含めた集学的治療でも救命率は十分とは言えない。人工太陽光の体表面照射により腹膜炎による炎症を抑制し新規治療法となる可能性を報告してきた。今回はマウス腹膜炎手術モデルによる人工太陽光の腹腔内への照射による抗炎症効果を検討した。 【対象・方法】ICR マウスを、無処置群、手術単独群 (NT 群)、手術+光線療法群 (PT 群) に分けた。NT 群と PT 群は、lipopolysaccharide (LPS) の腹腔内投与により腹膜炎を惹起した後に開腹して腹腔内洗浄を行い、その後に PT 群は腹腔に人工太陽光の照射を行った。3 群間で、局所の炎症反応 (腹水中の細胞数、腹水中の interleukin-6 (IL-6) 及び tumor necrotizing factor-α (TNF-α) 濃度、腹膜の厚さ) 及び全身の炎症反応 (血中の白血球数、血清中のサイトカイン及びケモカイン計 23 種の濃度) の経時的推移を比較した。次に、LPS 刺激を加えたマクロファージ細胞株 (RAW264.7) を用い、人工太陽光照射の有無による細胞活性及び TNF-α 産生の変化を評価した。 【結果】局所の炎症反応として、PT 群は NT 群に比べ、腹水中の細胞数、腹水中の IL-6 及び TNF-α 濃度が低下し、腹膜の厚さが短縮した。全身の炎症反応として、PT 群は NT 群に比べ、血中の TNF-α 濃度、顆粒球単球コロニー刺激因子、monocyte chemotactic protein-1, macrophage inflammatory protein (MIP)-1α, MIP-1β の濃度が低下した。更に、LPS 刺激後のマクロファージ細胞株において、人工太陽光照射により細胞活性は変化せず TNF-α 産生は低下した。 【考察】本研究から、LPS 誘発性腹膜炎手術モデルマウスにおいて、人工太陽光の腹腔照射が局所及び全身の抗炎症効果をもたらす事が示された。光線療法による抗炎症効果についての既報と比べ、腹腔内に光線を照射し、太陽光に似たフルスペクトラム光を光源に用い、外科的治療と比較して抗炎症効果を示した点で、本研究は特異である。また、単球/マクロファージの活性化や遊走に関わるケモカインの発現が PT 群で抑制され、LPS 刺激を行ったマクロファージ細胞株に人工太陽光照射を行った場合に TNF-α の産生が抑制されたことから、この抗炎症効果の機序にはマクロファージの活性化抑制が関与していると考えられた。 【結語】LPS 誘発性腹膜炎手術モデルマウスにおいて、人工太陽光の腹腔照射は抗炎症効果を示し、この機序として光線照射によるマクロファージの活性化抑制の関与が考えられた。本研究により、将来、人工太陽光を搭載した光源のもとで手術を行うことにより、穿孔性腹膜炎の炎症を制御する臨床応用の可能性が示された。このため、審査員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した。</p>			

最終試験
の結果の要旨
学力の確認

審査区分 ① 課 ・ 論	第 640 号	氏 名	原 貴生
審 査 委 員 会 委 員	主査氏名	北 野 敬 明	
	副査氏名	檜 原 久 司	
	副査氏名	木 許 賢 一	

学位申請者は本論文の公開発表を行い、各審査委員から研究の目的、結果、考察について次の質疑を受けた。

1. Lipopolysaccharide (LPS) の腹腔内投与量をどのようにして決めたのか。
2. 光照射の照度量はどのようにして決めたのか。各照度毎の予備実験等は行ったのか。
3. 動物実験群にいわゆるシャム手術の群を設けていないのはなぜか。
4. 使用した人工太陽光 (VITA-LITE) と通常の内視鏡光源の波長のスペクトラムの違いは。
5. 体温に変化はなかったが、光照射を30分行うことで照射野の臓器は熱を帯びないのか。
6. 腹膜組織所見を検討する際の盲検化をどのように行ったのかを説明せよ。
7. In-vitro の実験で、培養液が high-glucose や phenol red free の理由は何か。
8. 統計処理は Mann-Whitney U test と記載されているが、無処置群、手術単独群 (NT 群)、手術 + 光線療法群 (PT 群) の3群ある実験系にどのように処理したのか。
9. 腹腔内の白血球は3時間で増加しているが、これをもたらした原因はどう考えるか。この原因として IL-8 など好中球のケモカイン増加が考えられるが可能性はどうか。
10. 腹腔内の白血球数を測定しているが、単球はどの程度含まれていたのか。
11. 光遺伝子に影響を与える実験なので、手術等の操作する時刻を統一したのか。
12. LPS 投与後3時間の白血球数は PT 群で有意に低下しているが、IL-6, TNF- α 等のサイトカイン濃度は3時間では NT 群と差がない理由をどう考えるか。
13. 光照射群で抗炎症性サイトカイン IL-10 の上昇が抑制されている結果をどう解釈するか。
14. in vitro でのマクロファージ細胞実験で、人工太陽照射量を増加させると、Viability が有意に増加している機序は。
15. どの波長の光に効果があると考えられるか。
16. この効果 (腹腔内光照射) をどの様に考えるか。マクロファージには光受容体があるのか。
17. 作用機序の解明に向けて P2X7 受容体の関与を調べてみてはどうか。
18. 将来的に、腹膜の関与を調べてみるとよいと考えられるがどうか。
19. 臨床にこの実験結果をどのように応用していくのか。

これらの質疑に対し、申請者は概ね適切に回答した。よって審査委員の合議の結果、申請者は学位取得有資格者であると認定した。

(注) 不要の文字は2本線で抹消すること。

学 位 論 文 要 旨

氏名 原 貴生

論 文 題 目

Intraperitoneal phototherapy suppresses inflammatory reactions in a surgical model
of peritonitis

(腹腔内光線療法は腹膜炎手術モデルにおいて炎症反応を抑制する)

要 旨

【緒言】

大腸穿孔による腹膜炎は、患者に菌血症と極度の炎症状態（敗血症）をもたらす致命的疾患である。標準治療は手術による汚染物質の除去と薬物療法を主とした集学的治療だが、術後も炎症が遷延し患者が死に至ることもある。我々がこれまで報告してきた人工太陽光の体表面への照射による抗炎症効果は、腹膜炎の炎症を抑制する新規治療法開発に繋がる可能性がある。しかし、腹膜炎手術に対する光線療法の先行研究は無く、腹腔への光線照射が抗炎症効果をもたらすかも不明である。そこで、腹膜炎手術モデルを作成し、人工太陽光の腹腔照射による抗炎症効果を検討した。

【研究対象および方法】

ICR マウスを、無処置群、手術単独群（NT 群）、手術＋光線療法群（PT 群）に分けた。NT 群と PT 群は、lipopolysaccharide (LPS) の腹腔内投与により腹膜炎を惹起した後に開腹して腹腔内洗浄を行い、その後に PT 群は腹腔に人工太陽光の照射を行った。3 群間で、局所の炎症反応（腹水中の細胞数、腹

水中の interleukin-6 (IL-6) 及び tumor necrotizing factor- α (TNF- α) 濃度、腹膜の厚さ) 及び全身の炎症反応 (血中の白血球数、血清中のサイトカイン及びケモカイン計 23 種の濃度) の経時的推移を比較した。次に、LPS 刺激を加えたマクロファージ細胞株 (RAW264.7) を用い、人工太陽光照射の有無による細胞活性及び TNF- α 産生の変化を評価した。

【結果】

局所の炎症反応として、PT 群は NT 群に比べ、腹水中の細胞数、腹水中の IL-6 及び TNF- α 濃度が低下し、腹膜の厚さが短縮した。全身の炎症反応として、PT 群は NT 群に比べ、血中の TNF- α 濃度、顆粒球単球コロニー刺激因子、monocyte chemotactic protein-1、macrophage inflammatory protein (MIP)-1 α 、MIP-1 β の濃度が低下した。更に、LPS 刺激後のマクロファージ細胞株において、人工太陽光照射により細胞活性は変化せず TNF- α 産生は低下した。

【考察】

本研究から、LPS 誘発性腹膜炎手術モデルマウスにおいて、人工太陽光の腹腔照射が局所及び全身の抗炎症効果をもたらす事が示された。光線療法による抗炎症効果についての既報と比べ、腹腔内に光線を照射し、太陽光に似たフルスペクトラム光を光源に用い、外科的治療と比較して抗炎症効果を示した点で、本研究は特異である。また、単球/マクロファージの活性化や遊走に関わるケモカインの発現が PT 群で抑制され、LPS 刺激を行ったマクロファージ細胞株に人工太陽光照射を行った場合に TNF- α の産生が抑制されたことから、この抗炎症効果の機序にはマクロファージの活性化抑制が関与していると考えられた。

【結語】

LPS 誘発性腹膜炎手術モデルマウスにおいて、人工太陽光の腹腔照射は抗炎症効果を示し、この機序として光線照射によるマクロファージの活性化抑制の関与が考えられた。将来、人工太陽光を搭載した光源のもとで手術を行うことにより、穿孔性腹膜炎の炎症を制御する臨床応用の可能性が示された。