

## 論 文 審 査 の 要 旨

筆頭著者（学位申請者）氏名

内藤 善介

主論文の題目  
および  
掲載・審査委員

題 目 : Deterioration of Myofibrils Affected by Experimental Partial Immobilization in a Septic Rat Model  
(敗血症ラットモデルにおける下肢固定化による筋原線維の破壊)

掲載誌 Journal of St. Marianna University (in press)

主査 藤谷 茂樹  
副査 池森 敦子  
副査 柳澤 信之

[論文の要旨・価値][要旨] Lipopolysaccharide(LPS) を持続的にラットに静脈内に注入し、重症敗血症モデルを新たに確立し、持続的敗血症状態と下肢ギプス固定の組み合わせによるヒラメ筋への病理学的影響を検証した。[方法]本研究は、二段階構成となっている。実験 1 では、LPS の投与量と投与期間の確認を行った。24 匹のラットを無作為に 4 群に分け、それぞれ 6 匹ずつ、対照群、L1 群、L2 群、L3 群とした。それぞれ LPS 1、2 および 3mg/kg/日量を、対照群では同量の生理的食塩水を 120 時間まで持続投与した。実験 2 では、24 匹のラットを無作為に対照群 (C 群)、下肢ギプス固定群 (CC 群)、LPS 投与群 (L 群)、LPS 投与に下肢ギプス固定を加えた LPS・下肢ギプス固定群 (LC 群) の 4 群 (各 6 匹) に分けた。持続投与終了の後に、両ヒラメ筋を下肢から慎重に分離した。各ヒラメ筋の湿重量を測定し、相対湿重量比を計算した。筋組織は、光学顕微鏡および透過型電子顕微鏡を用いて病理学的観点から分析した。本実験は聖マリアンナ医科大学動物実験委員会 (承認番号 : 1902027、1904009) により承認を得ている。[結果] 実験 1 では対照群の全てのラットは 120 時間の観察期間中、正常な活動を示した。L3 群のラットは全例、72 時間以内に死亡、または呼吸パターンの異常と重度の体重減少を示したため、実験より除外した。LPS 投与量の規定では L1、L2 では、LPS 投与後に血小板数が劇的に減少し、L1 および L2 群では 24 時間後に最低値となるもその後回復をした。LPS 投与 120 時間後では L1 群の体重は対照群との有意差を認めず、また、L2 群では血小板数の急激な回復を認めた。この結果から、実験 2 の LPS 投与量を 2mg/kg/日、LPS 投与期間を 96 時間と規定した。実験 2 の結果より、CC、L、LC 群ともにヒラメ筋湿重量およびヒラメ筋相対体重比の有意な低下 (各群  $p=0.021$ ) が認められ、特に LC 群では著明に見られた。光学顕微鏡像では、LC 群では他の全ての群と比較して CSA の有意な増加と平均筋線維数の減少が観察され、筋断面積画像分析の結果、大小の筋線維の混在が確認された。また、筋線維内の平均空胞数は CC 群と LC 群で有意に増加していた。電子顕微鏡像では、縦断面でサルコメアの歪み、Z バンド破壊を認め、アクチン・ミオシンフィラメント消失を認めた。一方、ミトコンドリア変性、グリコーゲン顆粒、空胞様構造物は有意差を認めず変性に至っていないことが判明した。[結論] 今回の研究では LC 群では筋量や筋線維数の減少がより激しく、筋原線維の破壊がより極端になることが観察され、不動化された敗血症ラットモデルが最も筋線維に深刻な影響を及ぼすことが示された。[価値] 今回の研究では、観察された筋組織の破壊にもかかわらず、細胞小器官への有意な影響は認めず、筋変性を示唆する所見は認めなかった。このことは、不動化と敗血症を標的とした早期介入は治療戦略により可逆性の変化を示す可能性を示唆した。

[審査概要]審査は、主査、副査および 2 名の陪席のもと行われた。PC によるプレゼンテーションの後、質疑応答が行われた。申請者による約 20 分間のプレゼンテーションの後、審査員により研究の背景や目的、実験方法、結果の解釈、考察の妥当性、臨床的意義や今後の展望について約 40 分質疑応答が行われた。以下のような質問がなされた。①実験 1 のラットモデルでの 96 時間の時間設定、②敗血症モデルで筋変性が来される病態生理、③筋組織の変性の可逆性の可能性、④この論文の示す臨床的意義に対する質問に、申請者は、概ね適切に回答することができた。

## 最 終 試 験 結 果 の 要 旨

[研究能力・専門的学識・外国語 (英語) 試験等の評価] パワーポイントを用いて大変分かりやすい発表であった。申請者は、本研究に関する知識を有しており、専門的知識を有すると判断した。質疑応答も専門領域だけでなく周辺領域についても概ね的確に回答し発表能力も問題がないものと判断した。英語は、申請者が引用文献に用いた論文について、その場で指定箇所を日本語訳してもらうことで評価し、十分な語学力を有すると判断した。研究発表、質疑応答を通じて真摯な態度に終始し、誠実で礼儀正しく、学位授与に値する人物であると判断した。