

東邦大学学術リポジトリ

Toho University Academic Repository

タイトル	Development of an animal model of onychomycosis in guinea pigs
別タイトル	モルモット爪白癬動物モデルの改良
作成者（著者）	長谷川, 奈海
公開者	東邦大学
発行日	2021.03.17
掲載情報	東邦大学大学院医学研究科 博士論文 内容の要旨及び審査結果の要旨.
資料種別	学位論文
内容記述	主査：石河晃 / タイトル：Development of an animal model of onychomycosis in guinea pigs / 著者：Nami Hasegawa, Kazutoshi Shibuya / 掲載誌：Medical Mycology Journal / 巻号・発行年等：61(4): 55-60, 2020
著者版フラグ	none
報告番号	32661甲第984号
学位記番号	甲第673号
学位授与年月日	2021.03.17
学位授与機関	東邦大学
DOI	10.3314/mmj.20 00011
その他資源識別子	https://www.jstage.jst.go.jp/article/mmj/61/4/61_20_00011/article/char/ja/
メタデータのURL	https://mylibrary.toho-u.ac.jp/webopac/TD84689309

博士學位論文

論文内容の要旨

および

論文審査の結果の要旨

東邦大学

長谷川奈海より学位申請のため提出した論文の要旨

学位番号甲第 673 号

学位申請者 : は せ が わ な み
 長 谷 川 奈 海

学位論文 : Development of an animal model of onychomycosis in guinea pigs

(モルモット爪白癬動物モデルの改良)

著 者 : Nami Hasegawa, Kazutoshi Shibuya

公 表 誌 : Medical Mycology Journal 61(4): 55-60, 2020

論文内容の要旨 :

爪白癬は爪に白癬菌が感染することで生じる疾患であり、全世界で罹患率は 5.5%という報告もある。主な症状は爪の白濁、剥離、肥厚等であり、患者の QOL の低下にも繋がっている。爪白癬は臨床、DLSO (Distal and Lateral Subungual Onychomycosis) 型、PSO (Proximal Subungual Onychomycosis) 型、SWO (Superficial White Onychomycosis) 型、TDO (Totally Dystrophic Onychomycosis) 型の 4 つに分類されているが、DLSO 型が最も多く、爪深部に白癬菌が感染しているため難治性である。既存の治療薬として経口薬および外用薬が用いられているが、経口薬は肝障害等の副作用、外用薬は有効性の低さが課題となっている。更なる新薬開発のために、臨床病態を模した動物モデルが必須である。これまでに、爪白癬動物モデルとして家兎およびモルモットを用いた報告がある。前者は、臨床病態と同様に爪深部への感染が認められているが、中型動物であるため操作が煩雑であり、モデル作成が容易でない。後者は、爪中の感染分布に関する報告がないためヒトへの外挿性が不明である。そこで本研究では、家兎モデルを参考にモルモットに免疫抑制剤を施し、新しいモルモット爪白癬モデルを作成し、経時的な病理組織学的評価を行うことにより、爪中の白癬菌の分布を確認した。

本研究にはモルモット (Hartley 系、雄、入荷時 5 週齢) 18 匹を用い、試験開始時に 3 群 (0 日群、14 日群、および 42 日群) 各 6 匹ずつ群分けした。群分け後、全ての動物にトリアムシノロンアセトニド (30 mg/kg) を 1 日 1 回 28 日間筋肉内投与した。モルモットの指間に *Trichophyton mentagrophytes* TIMM2789 の菌液 (2×10^7 conidia/foot) を染み込ませた paper disc を挟み込み、フォームパッドおよびテープで固定し、14 日間暴露させた。暴露期間終了 0、14 または 42 日後に各群の動物を安楽死させ、爪部 Periodic acid-Schiff (PAS) 染色標本を作成した。その結果、0 日群では Cuticle および Nail Plate の近位に白癬

菌が多く認められ、14日群および42日群ではさらにNail Plateの中位および遠位においても白癬菌の感染が認められた。爪の白癬菌感染率は0日群39%、14日群61%、42日群78%と経時的に増加した。また、全期間においてNail Plateの深部に白癬菌の感染が認められた。肉眼的に爪を観察した結果、0日群では白濁が認められた爪は確認されなかったが、14日群では33%、42日群では78%の爪においてヒト爪白癬と類似した爪の白濁が認められた。全群を通じて、遠位に位置するNail BedおよびHyponichiumの感染は殆ど認められなかった。以上から、当動物モデルはCuticleから白癬菌が侵入し、Nail Plateの近位に白癬菌が感染することによって成立した、PSO型の感染が主であり、爪の伸長と共に感染の拡大が認められたと考えられる。PSO型はHIV（Human Immunodeficiency Virus）感染等の免疫能低下患者に多く認められることが知られており、免疫抑制剤の投与がPSO型の感染に寄与していると考えられた。

さらに、過去に報告された家兎モデルでは、ヒト爪白癬では通常認められない爪甲下膿瘍が42日群で93.3%認められていたが、本モデルでは42日群で44%と大きく低下しており、よりヒトへの外挿性が高いと考えられる。

当モデルは、暴露期間終了から42日後も爪深部への白癬菌の感染が持続して認められること、家兎と比較して扱いが容易であること、家兎モデルと比較して爪甲下膿瘍の発現が低く、よりヒトへの外挿性が高いと考えられることから、薬効評価に有用なモデルである可能性が示唆された。今後は、当モデルを用いた薬効評価試験を検討していきたい。

1. 学位審査の要旨および担当者

学位番号甲第 673 号	氏 名	長 谷 川 奈 海
学位審査担当者	主 査	石 河 晃
	副 査	石 井 良 和
	副 査	樋 口 哲 也
	副 査	高 橋 啓
	副 査	三 上 哲 夫
<p>学位論文の審査結果の要旨：</p> <p>爪真菌症は頻度の高い真菌感染症であり、爪の変形や足白癬の難治化などをきたす疾患で、治療には内服あるいは外用抗真菌薬を長期にわたって使用する必要がある。これまで爪真菌症の動物モデルとして確立されているのは家兎を用いたものしかなかったが、治療薬の開発研究のためにはより小さな動物で、多数例を解析できるモデルが望まれていた。このような背景から本研究では爪白癬動物モデルの確立を目的としてモルモットを用いて白癬菌の爪への感染実験を行い、病理学的手法を用いて病態を解析し、疾患モデルとしての有用性を検討した。</p> <p>本研究にはモルモット 18 匹を用い、免疫抑制を目的としてトリアムシノロンアセトニドを 1 日 1 回 28 日間筋肉内投与した。それと同時にモルモットの指間に代表的な白癬菌である <i>T. mentagrophytes</i> の菌液を染み込ませた paper disc を挟み込み、14 日間固定し暴露させた。暴露期間終了時、14 日後または 42 日後に各群のモルモットの爪の肉眼所見(Fig1)を観察すると共に爪部病理組織標本を作成し、14 か所に分割した部位(Fig2)別に真菌感染の有無を観察した。その結果、大部分の爪検体で肉眼的にヒトの爪白癬の症状と同様な爪の白濁が見られ(Fig3)、白癬菌は 0 日群では爪の甘皮にあたる Cuticle および爪甲の近位の表層に多く、14 日群および 42 日群ではさらに爪甲の遠位、あるいは深層においても白癬菌が認められた(Fig 4)。白癬菌感染率は 0 日群 39%、14 日群 61%、42 日群 78%と経時的に増加した(Table2)。以上から、当動物モデルは Cuticle から白癬菌が侵入し、爪甲の近位に白癬菌が感染し、爪の伸長と共に近位側から遠位側へ、浅層から深層へ感染が拡大し、人の爪白癬の分類では、PS0 型に相当すると考えられたと考えられた。抗真菌薬の有効性検討には暴露後 14 日後から 42 日後の期間が適しており、さらに従来の家兎モデルよりも膿瘍形成が少なく、爪白癬モデルとして有用であることが示された。</p> <p>2020 年 11 月 24 日に審査委員全員の出席のもとで行われた学位審査会において、申請者による研究要旨の発表後に活発な質疑応答がなされた。爪甲下に見られる膿瘍は白癬菌によるものか、ステロイド筋注による免疫抑制は必須なものか、そのタイミングや量は最適か、具体的にこのモデルを用いて薬の治療効果を見る方法は、<i>T. Mentagrophytes</i> 以外の菌種ではどうなのか、部分的に自然治癒が見られる理由は、など多くの質問が審査委員からなされた。申請者は全ての質問に対し的確に回答した。</p> <p>以上より、本論文はモルモットを用いた爪白癬の動物モデルを確立し、今後の創薬に生かされる可能性がある貴重な内容を有し、審査委員全員一致で学位授与に値すると判断し、審査会を終了した。</p>		