

令和 4 年 5 月 27 日現在

機関番号：11101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2021

課題番号：17K17574

研究課題名(和文) ナノ～マクロレベルにわたる新機軸ヒト胆道系3Dリンパ管システムマップの開発

研究課題名(英文) Development of a novel 3D lymphatic system map of the human biliary system spanning the nano to macro level

研究代表者

鍵谷 卓司 (Kagiya, Takuji)

弘前大学・医学研究科・助教

研究者番号：70772317

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：膵・胆道癌は、きわめて予後不良な悪性腫瘍で微小環境やリンパ行性転移のメカニズムについてはほとんど明らかにされていない。そこで、治療計画を抜本的に見直す新規戦略を提唱するために、分子から肉眼レベルにわたる幅広い解剖学的アプローチを用いて、膵・胆道癌の微小環境とその転移ルートを推測し得る胆道系リンパ管システムマップを開発することとした。その基盤として、ヒト十二指腸乳頭部における微小リンパ管システムおよびその解剖学的な構造を、世界で初めて免疫組織化学、電子顕微鏡を用いた手法により明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果により、十二指腸乳頭部癌におけるリンパ節転移が生じうる際の、最も初期の段階の、初期リンパ管とがん細胞の移行のメカニズムを明らかにするための重要な基盤データが得られた。これにより十二指腸乳頭部においては、リンパ管へのがん転移が生じやすい微小環境にあることが明らかとなった。このことは、十二指腸乳頭部癌に対しての手術治療を含めた至適治療戦略を立てる上で重要な意義をもっている。

研究成果の概要(英文)：Pancreatic and biliary cancers are malignant tumors with extremely poor prognosis, and little is known about the microenvironment and mechanisms of lymphatic metastasis. In order to propose a novel strategy to radically rethink treatment planning, we decided to develop a biliary lymphatic system map that can infer the microenvironment and metastatic routes of pancreatic and biliary tract cancers using a broad anatomical approach from the molecular to the ocular level. As a basis for this study, we clarified the micro lymphatic system and its anatomy in the human duodenal papillary region using immunohistochemistry and electron microscopy for the first time in the world.

研究分野：肝胆膵外科学分野

キーワード：十二指腸乳頭部癌 Vater乳頭部癌 膵・胆道癌 リンパ管システム 転移メカニズム

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

膵・胆道癌は腫瘍細胞が高い増殖・浸潤能をもつだけでなく、高頻度にリンパ行性転移をきたすため、きわめて予後が悪い悪性腫瘍の一つである。これに対してこれまでにいくつかの治療対策が講じられているが、未だ成果を上げるに至っていない。この問題を打開するには確固たるエビデンスに基づいた新規の治療戦略の開発が求められるが、そのためには膵・胆道癌の転移ルートを示し出せるナノ～マクロレベルに至る胆道系を中心としたリンパ管システムのマッピングが不可欠である。これまで胆道系のリンパ管については、ヒトのリンパ節配置に関連した肉眼レベルの大まかな構成が、ミクロレベルでは実験動物における断片的な構造データがわずかに見られるのみであり、がん細胞の最初の転移ステップとなる初期リンパ管ニッチを含めたナノ～ミクロ-マクロレベルまで統合されたヒト胆道系のリンパ管系の地図 (biliary lymphatic system map; BLSMAP) はまったく不明である。

### 2. 研究の目的

本研究では膵・胆道癌に対する外科治療計画を抜本的に見直し、新しい治療戦略を提唱するため、膵・胆道癌転移の微小環境とパスウェイの予測基盤となるナノ～マクロレベルにわたるヒト三次元 BLSMAP を分子形態学的に解明する。

### 3. 研究の方法

#### (1) 解剖体を用いたリンパ管系のミクロ～マクロレベルのマッピング

ヒト解剖体において、リンパ管トレーサー (エバンスブルー、墨汁など) を用いて機能性リンパ管の同定を行う。これを基に BLSMAP のマクロ環境のマッピングを行う。さらに、肝十二指腸間膜に存在する胆管、門脈、動脈それぞれの周囲に存在する初期リンパ管について、走査型電子顕微鏡を用いた解析を行うことで、超微構造についても明らかにする。

#### (2) BLSMAP の免疫組織学的解析

ヒト解剖体から肝十二指腸間膜を摘出し、各種組織切片を作製する。各種 (初期～集合) リンパ管の確実な同定のために複数種のリンパ管内皮マーカー (LYVE-1, podoplanin, Prox1 など) の免疫染色を行い、肝門部から十二指腸乳頭部に至るまでのリンパ管の分布と構成を解析する。得られたデータを基に、BLSMAP の再構築を行う。

#### (3) ヒト組織の en bloc 組織化学解析法を用いた解析

死後早期 (12 時間以内) の新鮮検体より肝臓・膵臓・十二指腸を含む肝胆道系臓器を摘出し、en bloc 組織化学解析法を用いて、BLSMAP の正確な空間的体系を精密に解析する。

#### (4) 手術標本を用いた BLSMAP のナノレベルの解析

膵・胆道の良性腫瘍で手術を受ける患者を対象として、外科的に切除された標本から胆道周囲組織を標本として採取し、走査型および透過型電子顕微鏡を用いて、胆道周囲のリンパ管ニッチの構造を解析する。

#### (5) 担癌症例における癌-リンパ管ニッチおよびリンパ節ニッチの解析

膵・胆道癌で手術を受ける患者を対象として、(4)と同様に標本を採取し、免疫・遺伝子ならびに組織化学について光学および走査型・透過型電子顕微鏡を用いて、癌-リンパ管ニッチおよび癌-リンパ節ニッチの形成と構造変化を (4) で得られたデータと比較解析する。さらに、各ニッチの形成における分子発現に焦点をあてて解析する。

#### (6) BLSMAP の 3D 解析ソフトによる再構築

(1)～(5) で得られたデータを基に、3D 解析ソフト (ZBrush4R7) を用いてモデルマップを作成する。作成にあたっては、実際の臨床解剖との整合性を検証して作成する。

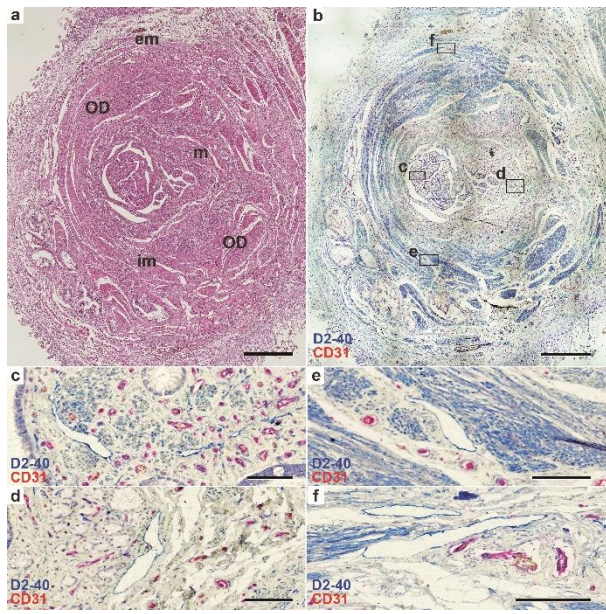
### 4. 研究成果

ヒト十二指腸乳頭部では、毛細リンパ管が粘膜層～Oddi 括約筋内外層へ連続したリンパ管ネットワークを形成しており、血管分布自体もリンパ管分布よりも高頻度に認められていた (図 1)。

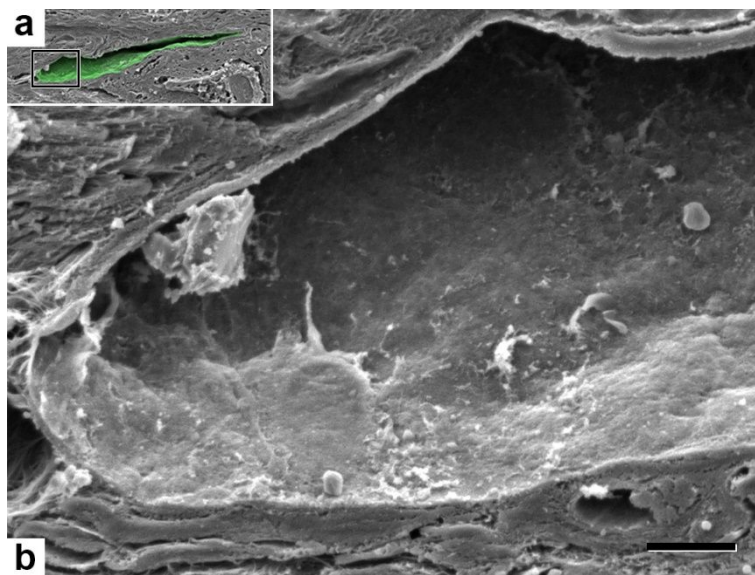
十二指腸乳頭部癌が初期リンパ吸収の段階からリンパ節転移に寄与しており、そのメカニズムに十二指腸乳頭部に特異的なリンパシステムが関係していることを英文論文、短報論文で公表した。この結果により、ヒト十二指腸乳頭部におけるリンパ管システムの複雑なネットワーク形成により、他の主要臓器に比べて膵・胆道癌ががん転移をきたしやすい微小環境にあることを、世界で初めて免疫組織化学と電子顕微鏡を用いて証明した (図 2)。

また、これらの実験手法を用いて、肝十二指腸間膜内や肝内リンパ管系においても、複雑なリンパ管システムが存在し、かつがん転移に寄与しやすい微小環境を持ち合わせていることを発見した。これらの結果により、ヒトにおけるがん転移メカニズムの初期リンパ管ニッチと、統合された肝胆道系リンパ管システムマップの全容解明の端緒をつけることができたと考えられる。

( 1 )



( 2 )



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 鍵谷卓司、袴田健一、下田 浩	4. 巻 41
2. 論文標題 ヒト十二指腸乳頭部におけるリンパ管ネットワークの形態学的プロフィール	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 リンパ学	6. 最初と最後の頁 12-13
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kagiya Takuji, Shimoda Hiroshi, Narita Hirokazu, Odagiri Tadashi, Watanabe Seiji, Ishido Keinosuke, Kudo Daisuke, Kimura Norihisa, Wakiya Taiichi, Hakamada Kenichi	4. 巻 24
2. 論文標題 Microanatomical profiles on the lymphatic system in the human ampulla of Vater (immunohistochemistry and scanning electron microscopy)	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Sciences	6. 最初と最後の頁 570～575
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/jhbp.499	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鍵谷卓司、下田 浩、成田大一、小田切 理、渡邊誠二、石戸圭之輔、工藤大輔、木村憲央、櫻庭伸悟、袴田健一
2. 発表標題 ヒト十二指腸乳頭部におけるリンパ管ネットワークの形態学的解析
3. 学会等名 第118回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鍵谷卓司、小田切 理、渡邊誠二、成田大一、浅野義哉、齊藤絵里奈、岡野大輔、袴田健一、下田 浩
2. 発表標題 ヒトVater乳頭部におけるリンパ管ネットワークの解明
3. 学会等名 第41回日本リンパ学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 鍵谷卓司, 石戸圭之輔, 工藤大輔, 木村憲央, 小田切 理, 渡邊誠二, 成田大一, 浅野義哉, 齊藤絵里奈, 岡野大輔, 下田 浩, 袴田健一
2. 発表標題 ヒト十二指腸乳頭部におけるリンパ管システムの形態学的解析
3. 学会等名 第34回日本胆・膵病態生理研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 鍵谷卓司, 小田切 理, 三橋佑人, 渡邊誠二, 成田大一, 浅野義哉, 齊藤絵里奈, 岡野大輔, 袴田健一, 下田 浩
2. 発表標題 ヒト肝十二指腸間膜におけるリンパシステムの解明
3. 学会等名 第123回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------