

研究種目：基盤研究 (C)  
研究期間：2007～2008  
課題番号：19591548  
研究課題名 (和文) 抗腫瘍免疫機構からみた消化器癌におけるリンパ節微小転移の動向に関する研究  
研究課題名 (英文) Micrometastases of lymph node in gastrointestinal cancer  
In respect to anti-tumor immune mechanism  
研究代表者  
石神 純也 (ISHIGAMI SUMIYA)  
鹿児島大学・医学部・歯学部附属病院・助教  
研究者番号：90325803

研究成果の概要：

<臨床>

1) 乳がん症例でリンパ節局所の抗腫瘍免疫能を 3 カラーフローサイトメトリーによる Th1/Th2 バランスで評価し、見張りリンパ節で有意に Th2 が優位であること、リンパ節転移症例では差が見られないことを発表、論文にした。

2) 早期胃癌症例においてセンチネルリンパ節同定を数例で臨床的に応用し、部分切除とリンパ節生検を行いえた症例を報告した。症例は粘膜層から粘膜下層に浸潤する早期胃癌であり、いずれも腫瘍長径は小さいものの、潰瘍瘢痕があったり、組織型が未分化であり、内視鏡的な粘膜切除適応外病変であった。これら症例に対して手術前日に腫瘍近傍に RI を局注し、全身麻酔下に腹腔鏡下でリンパ節を同定、これをサンプリングして、術中の迅速組織診に提出する。

3) 胃癌に発現するケモカインの 1 種である CXCL12 の発現を免疫組織学的に観察し、胃癌腫瘍細胞で発現を確認し、発現の見られる症例は陰性症例に比較して深達度の進んだ症例、リンパ節転移の陽性症例で多い傾向にあることを確認した。CXCL12 の発現の陽性症例は陰性症例に比較して有意に予後は不良であった。多変量解析を行った結果、CXCL12 の発現は独立した予後因子の一つであった。

4) 胃癌の癌特異抗原を認識する HLA クラス I 抗原の発現を免疫組織学的に検討した。胃癌 HLA クラス I 発現は胃癌症例の約 70% に発現が見られ、陽性症例では陰性症例に比較して有意に早期、リンパ節転移陰性症例が多かった。5 年生存率では陽性症例が有意に良好な生存を示した。胃癌細胞上の HLA クラス I 発現と癌特異的 CTL の関与が示唆された。

<基礎>

臨床上観察されるリンパ節微小転移病巣の動向を腫瘍と MHC の一致したマウスモデルを用いて検討した。腫瘍細胞は B17F1 (メラノーマ)、マウスは C56BL を使用し、足底に腫瘍を 10<sup>6</sup> 個接種し、14 日後に膝窩にリンパ節転移を形成した。さらに時間の経過とともに単径部、大動脈周囲リンパ節へのリンパ節転移がみられた。リンパ節転移は肉眼的、組織学的にも診断できたが、微小な癌の浸潤を認めるリンパ節での組織学的な判断が困難であった。遠隔臓器への転移は認められず、リンパ節転移のモデルとして妥当と考えられた。

微小転移形成の確認腫瘍マーカーとして GFP 遺伝子を導入し、GFP の発現が見られることを免疫染色で確認した。

この GFP 導入したメラノーマ細胞をマウス C56BL の足底に接種して、微小転移の形成、主病変除去後の残存したリンパ節転移の動向をマウスモデルを使用して検討していきたいと考えている。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2004年度			
2005年度			
2006年度			
2007年度	2,700,000	810,000	3,510,000
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：①消化器癌 ②リンパ節 ③微小転移 ④免疫

1. 研究開始当初の背景

消化器癌リンパ節を免疫組織学的に詳細に検討すると予想以上の微小転移が検出されることがわかってきた。リンパ節郭清を縮小化すると残存した微小転移病変のすべてが臨床的に顕性化するわけではない。

2. 研究の目的

臨床上観察されるリンパ節微小転移病巣の動向を腫瘍とMHCの一致したマウスモデルを用いて検討する。

3. 研究の方法

腫瘍細胞はB17F1(メラノーマ)、マウスはC56BLを使用する。DMEMに10%FBSを混和した培養液で細胞培養を行うとプラスチック底に細胞の増殖が確認できた。培養を継続し、1個体あたりマウス足底に10<sup>6</sup>個接種できるように細胞を調整した。

4. 研究成果

足底に腫瘍を10<sup>6</sup>個接種し、経過を観察したところ、14日後に膝窩にリンパ節転移を形成した。原発巣の除去を目的に肢切断を行い、微小転移残存マウスモデルを作成し、残存リンパ節の動向を観察した。リンパ節内の小さな腫瘍細胞を可視化できないため、腫瘍マーカーとしてGPF遺伝子を導入中である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計13件)

1) Ehi K, Ishigami S, Analysis of T-helper type 1 and 2 cells and T-cytotoxic type 1 and 2 cells of sentinel lymph nodes in breast cancer. Oncol Rep. 2008 ;19(3):601-7  
査読有

2) Ishigami S, Natsugoe S, HLA-class I expression in gastric cancer. J Surg Oncol. 2008;97:605-8  
査読有

3) Ishigami S, Natsugoe S Salvage gastrectomy following a combination of biweekly paclitaxel and S-1 for stage IV gastric cancer. J Gastrointest Surg. 2008 ;12:1370-5  
査読有

4) Ishigami S, Sakamoto A, Carcinoembryonic antigen messenger RNA expression in blood can predict relapse in gastric cancer. J Surg Res. 2008;148:205-9  
査読有

5) Ishigami S, Natsugoe S, Kurahara H, Matsumoto M, Kitazono M, Shinchu H, Ueno S, Aikou T. Superior mesenteric artery syndrome associated with total situs inversus. Medical Journal of Kagoshima University 60:17-19;2008.  
査読有

6) 石神純也、濱田隆博、中条哲浩、上之園芳一、有上貴明、瀬戸山徹郎、内門泰斗、松本正隆、夏越祥次、愛甲孝 隔週 paclitaxel+s-1 併用療法にて完全寛解が得られた肝転移陽性胃癌の1例 癌と化療 35 : 1197-1199;2008.  
査読有

7) 石神純也, 夏越祥次, 上之園芳一, 柳田茂寛, 松本正隆, 奥村 浩, 愛甲 孝  
特集/局所再発癌に対する外科治療-適応とコ  
ツ 2. 高度進行吻合部再発胃癌に対する手術  
消化器外科 31:153-159:2008.

査読有

8) 石神純也, 夏越祥次, 愛甲孝 胃癌取  
扱い規約, RECIST の現況・課題・展望 日  
本臨床 胃癌 66 巻増刊号 38-41,2008

査読有

9) 石神純也, 夏越祥次: 胃癌手術の再建法  
コンセンサス癌治療 2008;7:194 -197

査読有

10) 石神純也, 夏越祥次, 愛甲孝 リンパ節  
郭清の基本手技と注意点 手術 2008;

62:563-566

査読有

11) 石神純也, 新地洋之 愛甲孝. 十二指  
腸腫瘍 消化器癌の外科治療 1 消化管  
こんなときどうする 上西紀夫編 中外医  
学 pp144-146 2008

査読有

12) Ishigami S, Natsugoe S, Usefulness of  
sentinel node biopsy in laparoscopic  
partial gastrectomy for early gastric  
cancer Hepatogastroenterology.

2007;54:2164-6

査読有

13) Ishigami S, Natsugoe S, Clinical  
implication of CXCL12 expression in  
gastric cancer. Ann Surg Oncol.

2007 ;14:3154-8

査読有

[学会発表] (計 12 件)

1. 石神純也, 中条哲浩, 上之園芳一, 有上  
貴明, 柳田茂寛, 長野貴彦, 上木原貴仁, 宮  
菌太志, 有留邦明, 帆北修一, 夏越祥次, 愛  
甲孝 胃癌における組織内 TS、DPD 活性  
および OPRT 測定の臨床的意義 第 70 回日本  
臨床外科学会総会 11 月 29 日 東京 2008

2. 石神純也, 中条哲浩, 上之園芳一, 有上  
貴明, 柳田茂寛, 長野貴彦, 上木原貴仁, 宮  
菌太志, 有留邦明, 帆北修一, 夏越祥次, 愛  
甲孝 高度進行胃癌にたいする化療後の手  
術療法の治療成績について 第 70 回日本臨  
床外科学会総会 11 月 27 日 東京 2008

3. 石神純也, 中条哲浩, 腹水陽性胃癌に対  
する S1 併用隔週 PTX 腹腔内投与の有用性に  
ついて 第 46 回日本癌治療学会総会 10 月  
31 日 名古屋 2008

4. 石神純也, 上之園芳一, 夏越祥次, 愛甲  
孝 早期胃癌 ESD 適応拡大病変に対する胃部  
分切除+センチネルリンパ節生検の妥当性  
第 50 回日本消化器病学会総会 10 月 1 日  
東京 2008

5. Ishigami S Nakajo A, Partial gastrectomy

with sentinel node biopsy for early

gastric cancer. 11th World congress

of endoscopic surgery 9 月 5 日 横浜 2008

6. Ishigami S, Nakajo A, Usefulness of  
staging laparoscopy for advanced gastric  
cancer. 11th World congress of endoscopic  
surgery 9 月 5 日 横浜 2008

7. 石神純也, 中条哲浩, 早期胃癌に対する  
胃部分切除+センチネルリンパ節生検の治  
療成績 第 21 回日本内視鏡外科学会総会  
横浜 9 月 2 日 2008 年

8. 石神純也, 中条哲浩, 高度進行胃癌に対  
する審査腹腔鏡の有用性 第 21 回日本内視  
鏡外科学会総会 横浜 9 月 2 日 2008 年

9. 石神純也, 中条哲浩, パクリタキセル+  
s1 療法を基本とした切除不能・再発胃癌の  
治療戦略 第 63 回日本消化器外科学会総会  
7 月 16 日 札幌 2008

10. 石神純也, 中条哲浩, 上之園芳一, 有上  
貴明, 柳田茂寛, 長野貴彦, 上木原貴仁, 宮  
菌太志, 有留邦明, 帆北修一, 夏越祥次, 愛  
甲孝 ラウンドテーブルディスカッション 8  
セッション名: 胃癌切除後の再建 第 33 回  
日本外科系連合学会学術集会 6 月 12 日 千  
葉 2008

11. 石神純也, 中条哲浩, 上之園芳一, 有上  
貴明, 柳田茂寛, 長野貴彦, 上木原貴仁, 宮  
菌太志, 有留邦明, 帆北修一, 夏越祥次, 愛  
甲孝 胃癌における CD208 陽性樹状細胞の浸  
潤の臨床病理学的意義 第 108 回日本外科学  
会定期学術集会 5 月 15 日 長崎 2008.

12. 石神純也, 中条哲浩, 上之園芳一, 有上  
貴明, 柳田茂寛, 長野貴彦, 上木原貴仁, 宮  
菌太志, 有留邦明, 帆北修一, 夏越祥次, 愛  
甲孝 高度進行胃癌に対する審査腹腔鏡時  
の小切開・触診併用の有用性 第 80 回日本  
胃癌学会総会 2 月 27 日 横浜 2008

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

石神 純也 (ISHIGAMI SUMIYA)

鹿児島大学・医学部・歯学部附属病院・助教  
研究者番号: 90325803

### (2) 研究分担者

上之園 芳一 (UENOSONO YOSHIKAZU)

鹿児島大学・医学部・歯学部附属病院・助教  
研究者番号: 60398279

大脇 哲洋 (OOWAKI TETSUHIRO)

鹿児島大学・医学部・歯学部附属病院・助教  
研究者番号: 50322318

夏越 祥次 (NATSUGOE SHOJI)

鹿児島大学・大学院医歯学総合研究科・教授  
研究者番号：70237577

(3)連携研究者