

令和 2 年 5 月 20 日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10606

研究課題名(和文) 腹膜播種の成立における術後腹腔内好中球細胞外トラップ(NET)の意義解明

研究課題名(英文) Neutrophil extracellular traps in the development of peritoneal metastasis

研究代表者

細谷 好則 (Hosoya, Yoshinori)

自治医科大学・医学部・教授

研究者番号：30275698

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：術後腹腔内には多量の成熟型のLDNが存在し、in vitro培養で多量のNETsを形成し、癌細胞の接着とその後の増殖を誘導した。In vivoの実験で、このLDNの共投与で胃癌細胞MKN45による播種形成が増強されたが、DNase Iにより抑制されたことから、LDNが腹膜表面でNETsを形成することで、腹腔内遊離癌細胞の着床を促進し、播種の成立を促進していることが明らかとなった。また、開腹術後のヒト大網表面にもNETs様構造が観察されたことから、ヒトにおいても開腹術後の腹腔内滲出LDNはNETsを介して播種再発を促進している可能性があることが強く示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腹膜播種の成立における腹腔内滲出好中球とNETsの役割を明らかにすると共に、DNase1投与によるNETsの分解が播種再発の予防につながる可能性があることを見出した。今後の腹膜播種治療における新たな方法論を導く糸口になる成果を得た。

研究成果の概要(英文)：The number of CD66b (+) low density neutrophils (LDN) with mature phenotype was markedly elevated in postoperative as compared with preoperative lavages in patients who underwent laparotomy due to gastric cancer. Short term culture of the purified LDN produced many threadlike structures positive for SYTOX, suggesting the NETs formation. Human gastric cancer cells, MKN45, OCUM-1 and NUGC-4, were selectively attached on the NETs, which was abolished by DNase I. Intraperitoneal co-transfer of the LDN with MKN45 in nude mice strongly augments the metastasis formation on peritoneum, which was strongly suppressed by the following IP administration of DNase I. Many NETs-like structures were detected on the surface of human omental tissue resected by gastrectomy. NETs on peritoneal surface can assist the clustering and growth of free tumor cells disseminated in abdomen. Disruption of the NETs by DNase might be useful to prevent the peritoneal recurrence after abdominal surgery.

研究分野：消化器外科学

キーワード：好中球細胞外トラップ 腹膜播種 胃癌 接着 DNase 1 低比重好中球

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

開腹手術直後の腹腔内には、出血や滲出液などの液体成分に浮遊した多量の白血球が存在し、その大多数が好中球である。好中球は炎症性サイトカインや細菌・真菌類の成分に対し遊走性を示し、異物の貪食・分解を行い、感染に対する生体防御の最前線で働く。従来、好中球は細菌などを貪食後、活性酸素や殺菌性酵素を用いて、殺菌・分解することで、感染の拡大を防止すると考えられてきた。しかし、2004年に好中球が一定の条件下で核内のクロマチンを細胞外に網状に放出する現象が発見され、neutrophil extracellular traps(NET)と命名された (Brinkmann et al, Science, 2004)。さらに、NET上には好中球の顆粒内の殺菌性物質が多量に存在しているため、好中球は単独で、ちょうど「漁師が網で魚を捕る」ように、その近傍に存在する多数の細菌を捉え、殺菌できることから、NETが感染防御に大きく貢献していることが明らかとなってきた。また、NETは血小板を捕獲、活性化し、血栓形成に重要な働きをしていること (Fuchs et al, PNAS, 2010)、多量の double strand DNA を自己の免疫系に暴露させることにより全身性エリテマトーデス (SLE) などの自己免疫疾患の発症に関連していること (Knight et al, J Clin Invest. 2013) さらに、血中を循環する癌細胞を捕獲することにより血行性転移の成立に重要な役割を果たしていること、などが次々と報告され (Cools-Lartigue et al, J Clin Invest, 2013)、NETが感染防御以外の様々な病態の発生と密接に関与していることが次々と判明し、近年、臨床医の観点からも大きな注目を集めている。

外科的処置を終了した後の閉腹時の腹腔内環境が、術後の様々な病態と深く関わっていると考えている。近年、進行胃癌において、腹膜再発の頻度が術中出血量と有意な相関を示すこと (Kamei et al, Wor J Surg, 2009, Arita et al, Ann Surg Oncol, 2015)、術後に大量の生理食塩水で腹腔内を洗浄することにより腹膜再発が有意に低下すること (Kuramoto et al, Ann Surg, 2009)、などの臨床的知見が報告されている。これらの事実から、腹腔内に貯留した血液成分が、何らかの機序で、手術操作中に腹腔内にこぼれ落ちたがん細胞の生育を助長する作用を持つことが想像される。

2. 研究の目的

術後の腹腔内に存在する好中球は末梢血中の循環好中球と比べ極めて多量の NET を形成し、癌細胞を捕捉すること、さらには、切除標本にて、開腹術後の腹膜表面には実際に多量の NET 様構造物が存在することを確認できている。しかし、術後の腹腔内に存在する好中球の NETs 産生能に関するデータは乏しく、腹膜播種に及ぼす影響については不明である。そこで、ヌードマウスにヒト胃癌細胞 MKN45 を腹腔内投与する実験系でヒト腹腔内滲出好中球由来の NET を共投与することで腹膜播種の成立はどう変化するか？を検討するとともに、その機序を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 胃癌手術患者の術中腹腔内洗浄液の回収、NDN と LDN の分離

事前に同意を得た胃癌患者から、開腹胃切除術中、開腹時、閉腹時に生理食塩水を 250ml で腹腔内を洗浄して得た溶液を 200ml 回収したものを研究に用いた。この洗浄液を、100 μ m メッシュフィルターに通し 50ml チューブに移し、270G \times 7min で遠心分離し、上清を破棄後、沈殿した細胞を EDTA0.02% (nacalaitesque, Kyoto, Japan) 入りの PBS (Dulbecco's Phosphate Buffered Saline, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) に浮遊させ、Ficoll-Paque PLUS (GE, Healthcare, Sweden) 上に添加し、1710G \times 15min で遠心分離後、中間層 (PBM 層) と最下層 (PMN 層) に含まれる細胞を回収し、中間層を 620G \times 7min、最下層を 270G \times 7min で再度遠心した。細胞に赤血球の混在を認める場合は、RBC lysis buffer (BioLegend) を用いて溶血処理することで、PBM 層、PMN 層を回収し、細胞数をカウントした。また、PBM 層中の細胞を MACS buffer 溶液 (Miltenyi Biotec, MACS) 60 μ l に浮遊させ、Fc block で 4 $^{\circ}$ C, 10min で処理後、Anti-human CD66b Micro beads (Miltenyi Biotec, MACS) を 1 \times 10⁷ 個細胞数当たり 20 μ l 添加、4 $^{\circ}$ C, 10min で結合させ、MACS buffer 溶液で洗浄後、再度 buffer 溶液 500 μ l 溶液にして、分離用磁石セパレーターに取り付けた LS column (Miltenyi Biotec, MACS) に注入した。カラムを 3ml の MACS buffer で 3 回洗浄し、CD66(-)細胞を除去した後、カラムを磁石から外し、カラムに結合した CD66b(+)細胞を回収した (positive selection)

(2) NETs の形態的定量と DNase I 処理

2.5 \times 10⁶ 個の LDN を 1ml RPMI1640 培地 (血清なし) にて poly-L-lysine coated 6 well plate (IWAKI) 上で 37 $^{\circ}$ C, 5%CO₂ 下のインキュベーター内で 3 時間培養した後、膜非透過性の死細胞の DNA と特異的に結合する SYTOX Green (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) を終濃度 5 μ M で投与し、1 分後、蛍光顕微鏡 (BZ-X710, KEYENCE, Japan) で NETs 形成の有無を観察した。1 視野における NETs 様構造の数をカウントし、その面積を Image J (NIH) で計測した。また、3 時間培養後に DNase I (終濃度 100U/ml, Worthington, Lakewood NJ) を添加し、5 分後に、SYTOX Green を添加し、同様の方法で NETs を定量した。

(3) NETs と胃癌細胞株との adhesion assay

MKN45, NUGC-4, OCUM-1 を PKH26 Red Fluorescent Cell Linker Kit for General Cell

Membrane Labeling (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) を用いて染色した。腹腔内洗浄液由来 LDN を、上記の方法で 2 時間培養後、プレートを DMEM 培地で 1 回洗浄し、 1×10^6 個/ml に DMEM 培地で調整した癌細胞を加え、5 分間共培養後、PBS でプレートを 3 回洗浄し、残った癌細胞を蛍光顕微鏡で観察しカウントした。一部の実験では、LDN に DNase I を (終濃度 100U/ml) 添加した後、癌細胞との共培養を行った。NETs の同定には SYTOX Green を用いた。PKH26、SYTOX Green をそれぞれ 551nm、488nm フィルター下で観察し、それぞれの撮影画像を merge 処理した。

(4) NETs に捕捉後の胃癌細胞株のタイムラプス観察

(3) の実験系と同様にして、LDN を 2 時間培養、SYTOX Green 添加の上、NETs 形成の有無を蛍光顕微鏡で確認後、PBS で 1 回洗浄後、MKN45 を添加し、5 分間共培養後、PBS で 2 回洗浄後、培地を血清入り 10% FBS+DMEM 培地に変更して、Biostudio system (Nikon Engineering, Kanagawa, Japan) を用いてタイムラプス動画を作成し、接着後の MKN45 の動態を観察した。

(5) Nude mouse の腹膜播種実験

ヒト胃癌手術中の閉腹時腹腔内洗浄液から LDN を分離し、RPMI1640 培地 (血清なし) で 2×10^7 個/ml に調整した。また、ヒト胃癌細胞株 MKN45 を同様に 2×10^5 個/ml に調整した。また、DNase I 100U/ μ l を用意した。ヌードマウス (Balb/c, nu/nu, female, 4weeks, CLEA JAPAN) の腹腔内に MKN45 1×10^5 個を 1ml にして投与した群 (MKN45 単独投与群) と MKN45 1×10^5 個と LDN 1×10^7 個を 1ml にして投与した群 (MKN45+LDN 共投与群) に分け、4 週間後、頸椎脱臼による安楽死させ、開腹し、腸間膜の腹膜播種形成数を評価した。また、同様の実験系で、MKN45+LDN 共投与群に DNase I を終濃度 1000U/ml になるように調節して腹腔内投与し、MKN45+LDN+DNase I 共投与群として 4 週間後の播種形成状態を観察した。この実験は、自治医科大学の動物実験委員会 17040-1 の承認を得て行った。

4. 研究成果

(1) 開腹時および閉腹時の洗浄腹水中の LDN の割合

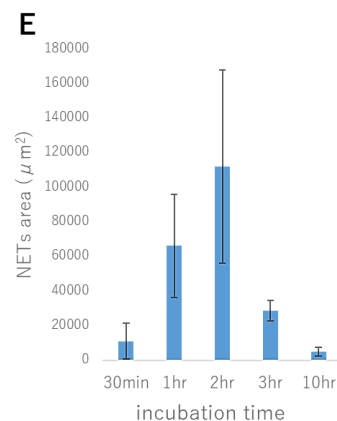
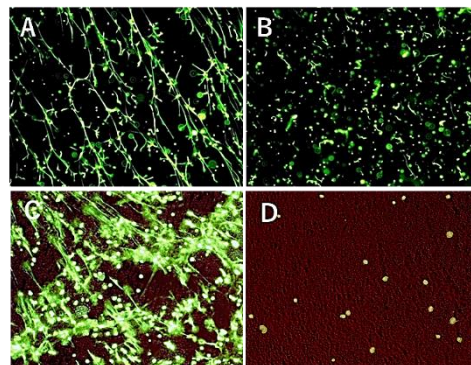
開腹手術を受けた 39 例の胃癌患者において、開腹直後と手術操作を終えた閉腹直前に腹腔洗浄液を回収し、Ficoll 比重遠心法で PBMC 層に含まれる CD66b(+)CD45(+)LDN の割合を、CD45(+)白血球総数に対する比率で定量した。39 例の結果を見ると、開腹時では LDN の割合は中央値 1.14% (最小値 0.06%~最大値 8.96%) であったのに対し、閉腹時には中央値 62.6% (最小値 18.2%~最大値 86.7%) と著明に増加していた ($p < 0.001$)。以上の事実から、開腹術後の腹腔内には多量の LDN が滲出してきていることが判明した。

(2) LDN による NETs 形成と DNase I による分解

閉腹時洗浄腹水を Ficoll 比重遠心法で分離し、LDN を多く含む PBMC 層を回収し、poly-L-lysine coated plate 上で 3 時間培養後、SYTOX Green 試薬を添加 (終濃度 5 μ M) し、蛍光顕微鏡で観察すると、細胞外に多数の糸状構造の DNA 成分が放出されている像が観察された (図 1A)。しかし、DNase I (100U/ml) を加えると、この糸状構造はほぼ完全に分解された (図 1B)。

CD66b 抗体で標識した磁気ビーズを用いて PBMC 層から分離すると、約 99%以上 CD66b(+)LDN を含む細胞集団が得られた。この LDN を同様の条件で培養後、SYTOX Green 存在下で蛍光顕微鏡で観察すると、その糸状構造の細胞外 DNA 成分が図 2A より明瞭になった (図 1C)。一方、磁気カラムを通過した CD66b(-)細胞を同様に培養しても、糸状構造は全く観察されなかった (図 1D)。したがって、糸状 DNA 成分は CD66b(+)LDN に由来していることがわかった。

また、ImageJ システムを用いて、蛍光顕微鏡で 1 視野辺りに占める SYTOX Green(+)の DNA 成分の面積の時間的推移を定量すると、培養開始後 30 分から徐々に増加し、2 時間でピークとなり、10 時間後にはほぼ消失する傾向を認めた (図 1E)。

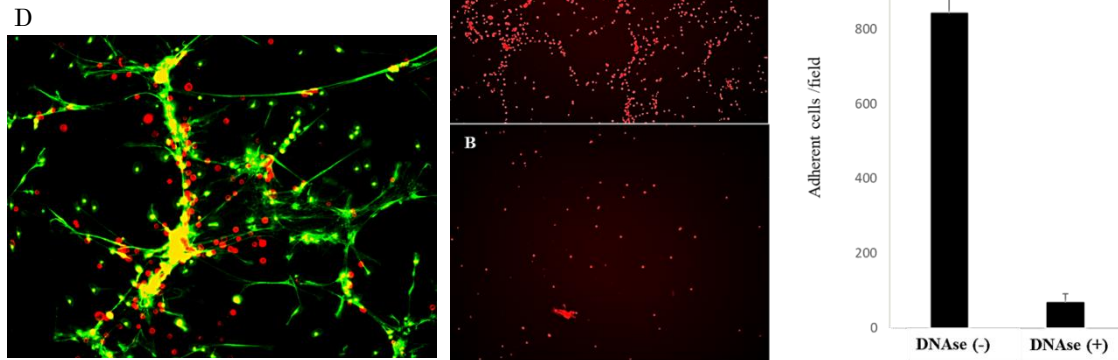


(図 1)

(3) NETs と胃癌細胞株 (MKN45, NUGC-4, OCUM) との adhesion assay

閉腹時洗浄腹水由来のLDN上に、PKH26で赤く蛍光染色した胃癌細胞株MKN45を加え、5分後に洗浄し、プレート上に残った癌細胞を蛍光顕微鏡で観察すると、多数の癌細胞が接着していた(図2A)。しかし、LDNにDNase I(終濃度100U/ml)を加えて10分後洗浄し、その後にMKN45を加えて同様の処理を行うと、残存する癌細胞は激減した(図2B)。一視野辺りの接着細胞数は、DNase Iによって有意に低下していた(DNase 処理なし: 810 ± 124 vs あり: 98 ± 21 , $p < 0.001$, 図2c)。更に、接着後の状態にSYTOX Greenを添加し蛍光顕微鏡で観察すると、ほとんどすべての癌細胞はNETsに接着していることが分かった(図2D)。NUGC-4, OCUM-1でも同様の接着形態が観察された。これらのことから、閉腹時腹水LDNはNETsを形成し、効率的に癌細胞を接着させるが、DNase I投与によりNETsが分解されると、癌細胞の接着が強く抑制されることがわかった。

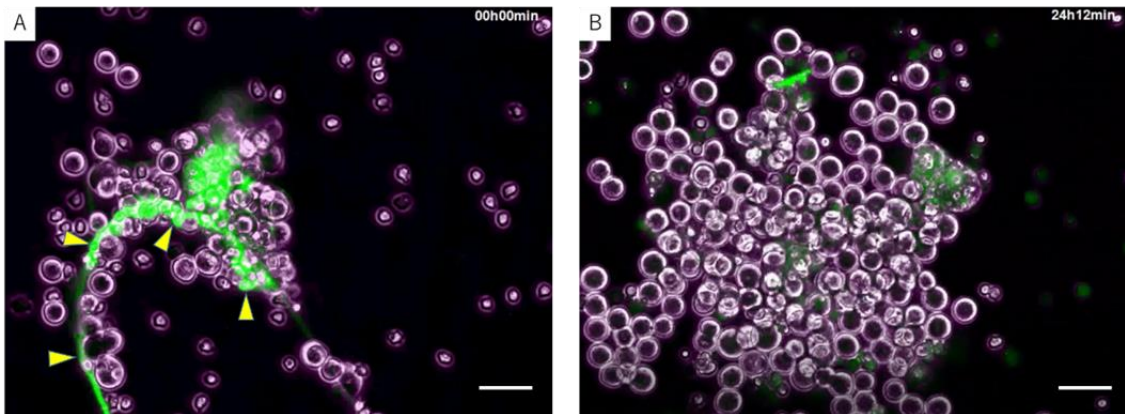
(図2)



(4) NETs に捕捉後の MKN45 の増殖 (タイムラプス観察)

次に、NETs に捕捉された後の MKN45 の動態をタイムラプス動画で確認した。図 3A にタイムラプスにセットアップ直後の状態を示す。緑色の糸状の構造物 (黄色矢印) が SYTOX Green で染色された NETs であり、癌細胞が多数捕捉されていた。その後、数時間内で NETs は分解され、24 時間後にはほぼ完全に分解されていた。これに対し、癌細胞は活発に増殖している像が観察された (図 3B)。(白色スケールバー: 50 μ m)

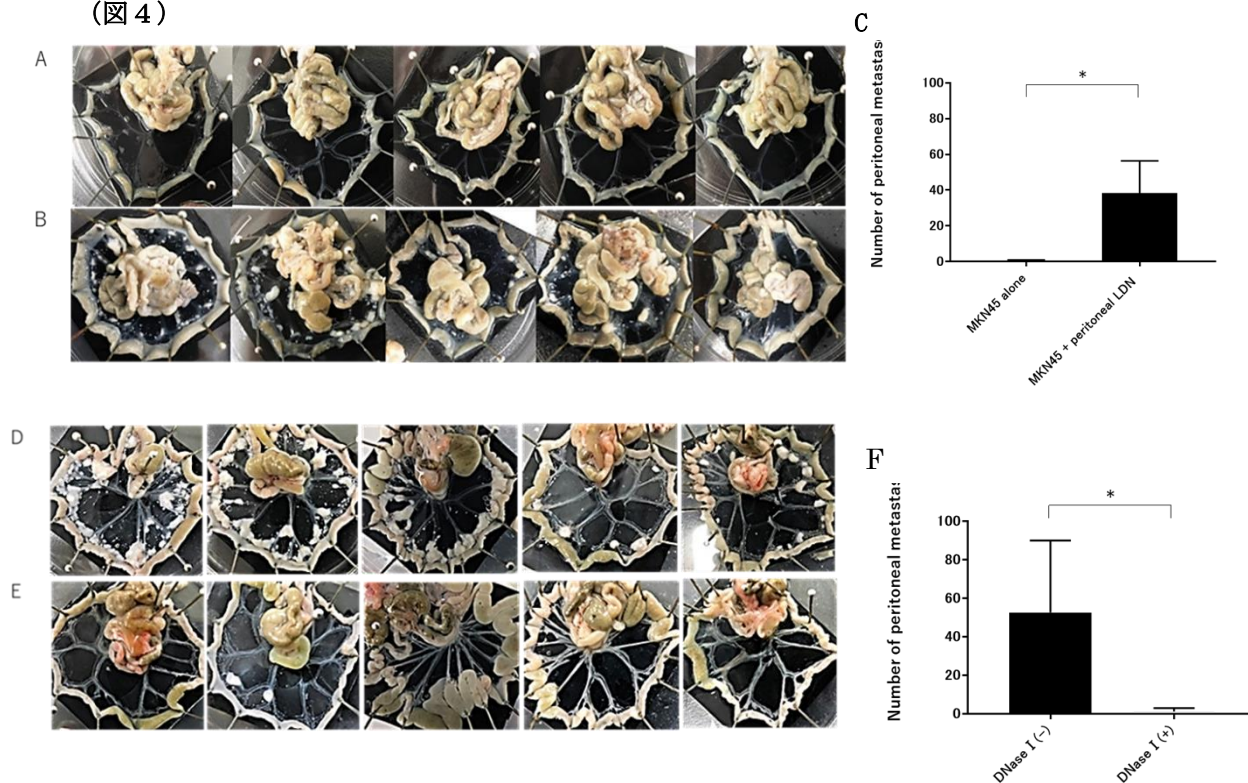
(図3)



(5) ノードマウス腹膜播種モデルにおける LDN の播種増強と DNase I の播種抑制効果

ヒト胃癌細胞株 MKN45 をノードマウスの腹腔内に投与し、その播種形成能を検討した。MKN45 を 1×10^5 個で単独投与した群では播種はほとんど認めなかったが (図 4A)、 1×10^7 個のヒト腹腔内 LDN を共投与した群 (図 4B) ではすべての個体で明らかに播種結節が認められ、その数は有意に増加していた。(図 4C, LDN-: 0 (0-1) vs LDN+: 46 (14-54), $p < 0.01$)。しかし、MKN45+LDN 共投与群に対し、DNase I を同時投与すると、播種の数が大きく減少した (図 4D-F, DNase-: 74 (15-85) vs DNase+: 0 (0-4), $p < 0.01$)。

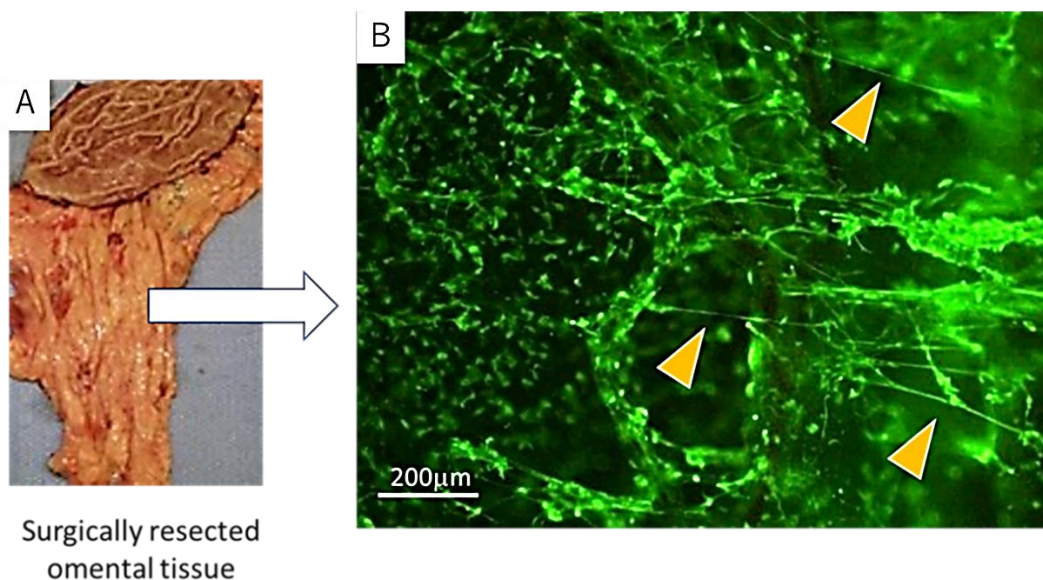
(図4)



(6) 手術摘出標本（大網）表面の NETs 様構造の付着

次に、開腹後のヒト腹膜上に NETs が存在するかを明らかにする目的で、胃癌手術時の摘出標本の大網の一部に、SYTOX Green を添加し、蛍光実体顕微鏡で観察した。図 5B に示すように、大網表面 (図 5A) に、In vitro で見られたような SYTOX Green (+) の糸状構造 (図 5B, 黄色矢印) が多数付着しているのが観察された。

(図5)



(7) まとめ

術後腹腔内には LDN が多量に存在し、NETs を形成することで、遊離癌細胞の腹膜への接着を亢進し、術後腹膜播種再発を促進していることが示唆された。したがって、DNase I の腹腔内投与による NETs の分解が術後の腹膜播種再発を予防する実用的治療法になりうると考えられる。

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 2件）

1. 著者名 Kanamaru Rihito, Ohzawa Hideyuki, Miyato Hideyo, Matsumoto Shiro, Haruta Hidenori, Kurashina Kentaro, Saito Shin, Hosoya Yoshinori, Yamaguchi Hironori, Yamashita Hiroharu, Seto Yasuyuki, Lefor Alan Kawarai, Sata Naohiro, Kitayama Joji	4. 巻 8
2. 論文標題 Low density neutrophils (LDN) in postoperative abdominal cavity assist the peritoneal recurrence through the production of neutrophil extracellular traps (NETs)	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 632
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-017-19091-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kanamaru Rihito, Ohzawa Hideyuki, Miyato Hideyo, Yamaguchi Hironori, Hosoya Yoshinori, Lefor Alan Kawarai, Sata Naohiro, Kitayama Joji	4. 巻 138
2. 論文標題 Neutrophil Extracellular Traps Generated by Low Density Neutrophils Obtained from Peritoneal Lavage Fluid Mediate Tumor Cell Growth and Attachment	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Visualized Experiments	6. 最初と最後の頁 0
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3791/58201	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計17件（うち招待講演 0件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Rihito Kanamaru., Hideyuki Ohzawa., Kazuya Takahashi., Shiro Matsumoto., Takashi Ui., Hidenori Haruta., Kentaro Kurashina., Shin Saito., Hironori Yamaguchi., Yoshinori Hosoya., Naohiro Sata., Joji Kitayama
2. 発表標題 Neutrophil Extracellular Traps(NETs) on Peritoneal Surface After Abdominal Surgery may enhance peritoneal recurrence
3. 学会等名 14th International Symposium on Regional Cancer Therapies (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 金丸 理人, 大澤 英之, 高橋 和也, 松本 志郎, 春田 英律, 倉科 憲太郎, 山口 博紀, 佐久間 康成, 堀江 久永, 細谷 好則, 北山 丈二, 佐田 尚宏
2. 発表標題 開腹手術後の腹腔内滲出好中球細胞外トラップの意義
3. 学会等名 第91回日本胃癌学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 金丸 理人, 大澤 英之, 高橋 和也, 松本 志郎, 春田 英律, 倉科 健太郎, 山口 博紀, 細谷 好則, 佐田 尚宏, 北山 丈二
2. 発表標題 開腹術後腹腔内滲出好中球上のPD-L1発現
3. 学会等名 第74回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 熊谷祐子, 金丸理人, 大澤英之, 山口博紀, 佐久間康成, 堀江久永, 細谷好則, 佐田尚宏, 北山丈二
2. 発表標題 消化器癌手術患者の末梢血中低比重好中球と術後転移再発との関連について(Low density neutrophils(LDN) in postoperative peripheral blood may assist the recurrence of gastrointestinal cancer.)
3. 学会等名 第77回日本癌学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yuko Kumagai, Rihito Kanamaru, Hidenori Tsukui, Satomi Shiba, Hiromi Hatakeyama, Junko Shinohara, Hideyuki Ohzawa, Hisanaga Horie, Yoshinori Hosoya, Naohiro Sata and Joji Kitayama
2. 発表標題 Low density neutrophils(LDN) in surgical patients may assist the recurrence of distant organ in gastrointestinal cancer
3. 学会等名 第17回自治医科大学シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kanamaru Rihito, Hideyuki Ohzawa, Kazuya Takahashi, Shiro Matsumoto, Hidenori Haruta, Kentaro Kurashina, Hironori Yamaguchi, Yasunaru Sakuma, Hisanaga Horie, Yoshinori Hosoya, Joji Kitayama and Naohiro Sata
2. 発表標題 Neutrophil extracellular traps(NETs) on peritoneal surface after open abdominal surgery
3. 学会等名 第17回自治医科大学シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 金丸理人, 大澤英之, 高橋和也, 松本志郎, 春田英律, 倉科憲太郎, 山口博紀, 佐久間康成, 堀江久永, 細谷好則, 佐田尚宏, 北山丈二
2. 発表標題 好中球細胞外トラップ (NET's) による開腹術後腹膜再発促進機構 (Neutrophil extracellular traps (NETs) on postoperative peritoneal surface may support the tumor recurrence on peritoneum.)
3. 学会等名 第77回日本癌学会総会記事
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 金丸理人, 大澤英之, 松本志郎, 春田英律, 倉科憲太郎, 宮戸秀世, 山口博紀, 細谷好則, 佐田尚宏, 北山丈二
2. 発表標題 開腹手術後の腹腔内滲出好中球由来細胞外トラップ (NETs) の臨床的意義
3. 学会等名 第73回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 金丸理人, 大澤英之, 松本志郎, 宇井崇, 春田英律, 宮戸秀世, 倉科憲太郎, 斉藤心, 山口博紀, 佐久間康成, 堀江久永, 細谷好則, 佐田尚宏, 北山 丈二
2. 発表標題 開腹手術後の腹腔内滲出好中球由来細胞外トラップ (NETs) の臨床的意義
3. 学会等名 第39回癌免疫外科研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 熊谷祐子, 大澤英之, 津久井秀則, 金丸理人, 芝聡美, 堀江久永, 細谷好則, 佐久間康成, 佐田尚宏, 北山丈二
2. 発表標題 治癒切除を受けた消化器癌術後患者へのメトホルミン内服による生存率改善について
3. 学会等名 第73回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 熊谷祐子, 金丸理人, 津久井秀則, 大澤英之, 倉科憲太郎, 鯉沼広治, 佐久間康成, 堀江久永, 細谷好則, 佐田尚宏, 北山丈二
2. 発表標題 消化器癌手術患者における末梢血中低比重好中球(Low Density Granulocyte)の術中推移
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 金丸理人, 大澤英之, 高橋和也, 松本志郎, 宇井崇, 春田英律, 倉科憲太郎, 宮戸秀世, 齋藤心, 山口博紀, 佐久間康成, 堀江久永, 細谷好則, 佐田尚宏, 北山丈二
2. 発表標題 当院における漿膜浸潤胃癌R0切除症例における術中出血量と生命予後の関係
3. 学会等名 第90回日本胃癌学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Rihito Kanamaru, Hidenori Tsukui, Shin Saito, Kentaro Kurashina, Takashi Ui, Shiro Matsumoto, Hironori Yamaguchi, Yasunaru Sakuma, Hisanaga Horie, Yoshinori Hosoya, Naohiro Sata, Joji Kitayama
2. 発表標題 Neutrophil extracellular traps (NETs) in abdominal cavity have supportive roles on postoperative development of peritoneal metastasis
3. 学会等名 AACR 2017 Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kumagai Yuko, Kanamaru Rihito, Ohzawa Hideyuki, Horie Hisanaga, Hosoya Yoshinori, Sata Naohiro, Kitayama Joji
2. 発表標題 Low-density neutrophils(LDN) in circulating blood of postoperative patients may participate in the development of distant recurrence through the production of neutrophil extracellular traps(NETs)
3. 学会等名 AACR Tumor Immunology and immunotherapy (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 金丸 理人, 津久井 秀則, 斉藤 心, 倉科 憲太郎, 宇井 崇, 春田 英律, 松本 志郎, 安部 望, 高橋 和也, 山口 博紀, 佐久間 康成, 堀江 久永, 細谷 好則, 佐田 尚宏, 北山 丈二
2. 発表標題 胃癌腹膜再発における開腹術後の腹腔内滲出液中low density granulocytes (LDG) の意義
3. 学会等名 第117回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 北山丈二, 金丸理人, 津久井秀則, 大澤英之, 山口博紀, 松本志郎, 倉科健太郎, 宮戸秀世, 細谷好則, 佐田尚宏
2. 発表標題 Exudative low density granulocytes assist peritoneal recurrence via the production of neutrophil extracellular traps
3. 学会等名 第76回日本癌学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 北山丈二, 金丸理人, 大澤英之, 宮戸秀世, 山口博紀, 松本志郎, 春田英律, 倉科憲太郎, 細谷好則, 佐田尚宏
2. 発表標題 Neutrophil Extracellular Traps(NETs)on postoperative peritoneum may assist peritoneal recurrence after curative gastrectomy(消化器癌腹膜再発における開腹術後の腹腔内微小環境の検討)
3. 学会等名 第28回日本消化器癌発生学会総会
4. 発表年 2017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
研究分担者	北山 丈二 (Kitayama Joji) (20251308)	自治医科大学・医学部・教授 (32202)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	山口 博紀 (Yamaguchi Hironori) (20376445)	自治医科大学・医学部・教授 (32202)	
研究 分担者	大澤 英之 (Ohzawa Hideyuki) (60458271)	自治医科大学・医学部・講師 (32202)	
研究 分担者	倉科 憲太郎 (Kurashina Kentaro) (70382900)	自治医科大学・医学部・講師 (32202)	