

令和 4 年 5 月 10 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K08133

研究課題名(和文) 抗血管リンパ管新生療法は癌微小環境を改善し癌免疫療法の効果を増強する

研究課題名(英文) Anti-angiogenic and lymphangiogenic therapy improves the tumor microenvironment and enhances the effectiveness of immunotherapy

研究代表者

岡崎 達馬 (Okazaki, Tatsuma)

東北大学・大学病院・講師

研究者番号：40396479

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究で我々はこれまで不明だったマウス胸壁や横隔膜を覆う壁側胸膜のリンパ管や血管の正常解剖を同定した。各々のマーカーで胸壁や横隔膜を免疫染色し、その正常解剖を顕微鏡で観察し同定した。リンパ管には毛細リンパ管と集合リンパ管があるが、その分布も確認した。また動脈、静脈、毛細血管等血管ネットワークの分布も確認した。次に胸壁や横隔膜の胸膜に播種性の転移性腫瘍を発生させた。本モデルをリンパ管や血管のマーカーで免疫染色すると一つ一つの腫瘍から流出するリンパ管や流入する血管を明瞭に顕微鏡で観察できた。本モデルでは一つ一つの腫瘍が小さく腫瘍への周囲の脈管からのリンパ管新生や血管新生を観察することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

癌や肺炎等の合併症に胸水貯留がある。胸水は肺を圧排し呼吸苦等を引き起こし患者さんの予後を悪化させる。胸水は胸膜の血管から産生されリンパ管から排出される。しかし、胸膜のリンパ管や血管の正常解剖、及び癌による病理学的変化はこれまで不明だった。本研究はこれらの不明な点を同定し、新規胸水対策の可能性を示した。また、本腫瘍モデルでは明瞭に脈管系を観察できるため、免疫細胞の腫瘍リンパ管や血管への分布を観察できる。癌免疫療法の効果を確認する際に、本モデルは腫瘍と脈管における免疫細胞の分布の確認を可能とした。

研究成果の概要(英文)：In this study, we identified a previously unknown normal anatomy of lymphatics and blood vessels in the pleura covering the mouse chest wall and diaphragm. We immuno-stained the chest wall and diaphragm with markers for lymphatics and blood vessels. We observed and identified their anatomy using a microscope. Lymphatics include initial and collecting lymphatics. We identified their distribution in the pleura. We also confirmed the distribution of blood vessel networks of arteries, veins, and capillaries in the pleura. Next, we developed a disseminated metastatic mouse tumor model on the pleura of the chest wall and diaphragm. We immuno-stained this model with lymphatic and blood vessel markers. We were able to clearly observe the flowing out lymphatics and flowing in blood vessels of each tumor using a microscope. In this model, each tumor was small, and lymphangiogenesis and angiogenesis from the surrounding vasculatures to the tumor could be identified.

研究分野：呼吸器内科学

キーワード：リンパ管 がん免疫療法 血管 癌微小環境

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

これまで腫瘍免疫療法への治療抵抗性の主な原因として、腫瘍攻撃性の免疫細胞が腫瘍内に浸潤しない事が挙げられている。このため腫瘍への細胞浸潤を制御する腫瘍微小環境と腫瘍免疫との関係が注目されている。我々はこれまで腫瘍免疫療法に抗リンパ管新生療法と抗血管新生療法を併用するとその効果が強まる事を発表している。これは抗リンパ管新生療法や抗血管新生療法により、正常に機能していなかった腫瘍血管や腫瘍から流出するリンパ管の機能が改善し、腫瘍の微小環境が免疫抑制性から免疫支持性に改善したためだった。ここで癌や肺炎等の合併症に胸水貯留がある。胸水は肺を圧排し呼吸苦等を引き起こし患者さんの予後を悪化させる。胸水は胸膜の血管から産生されリンパ管から排出される。しかし、胸膜のリンパ管や血管の正常解剖、及び癌による病理学的変化はこれまで不明だった。リンパ管には毛細リンパ管と集合リンパ管があるが、その胸膜での分布も不明だった。胸膜の動脈、静脈、毛細血管等、血管ネットワークの分布も不明な点が多かった。また、血管から腫瘍への免疫細胞の浸潤や腫瘍からリンパ管への免疫細胞の移動等には不明な点が多かった。

2. 研究の目的

- 1) 横隔膜のリンパ管や血管の正常解剖を同定する。
- 2) 横隔膜リンパ管の毛細リンパ管と集合リンパ管の分布を同定する。
- 3) 胸壁を覆う胸膜のリンパ管や血管の正常解剖を同定する。
- 4) 胸膜リンパ管の毛細リンパ管と集合リンパ管の分布を同定する。
- 5) 胸胸膜の動脈、静脈、毛細血管等、血管ネットワークの分布を同定する。
- 6) 腫瘍のマウス胸膜播種モデルを作成し脈管系の病理学的変化を同定する。

3. 研究の方法

BALB/C マウスの胸壁と横隔膜を摘出し、リンパ管のマーカー抗 lymphatic vessel endothelial hyaluronan receptor 1 (LYVE-1) 抗体と血管のマーカー抗 CD31 抗体で免疫染色し各々の正常解剖を同定した。また、毛細リンパ管と集合リンパ管を抗 VE-cadherin 抗体の免疫染色で同定し、それらの分布を同定した。動脈、静脈、毛細血管は血管平滑筋の分布でそれらを同定し、その胸膜上でのネットワークを同定した。血管平滑筋は抗 α -smooth muscle actin (α -SMA) 抗体で免疫染色し同定した。胸腔にマウス乳がん細胞 4T1 を注入し胸膜モデルを作成した。

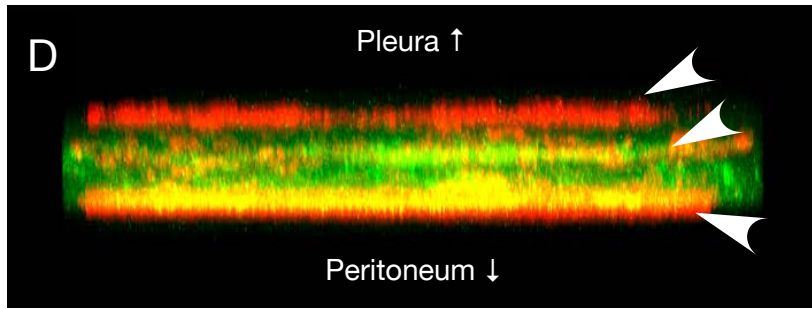
標本は Zeiss 社の confocal microscope で画像を取得した。また Keyence 社の蛍光顕微鏡でも画像を取得した。これらの画像を Image J 画像解析ソフトウェアを用いて定量化等の解析を実施した。

上記は全て東北大学の倫理委員会の承認のもと実施した。マウスは全て苦痛のないよう、全身麻酔をかけて安楽死させた。

4. 研究成果

胸壁を覆う横隔膜や胸膜のリンパ管や血管の正常解剖を同定した。次にこれらの胸膜における毛細リンパ管と集合リンパ管の分布を同定した。また、動脈、静脈、毛細血管等、血管ネットワークの分布を同定した。

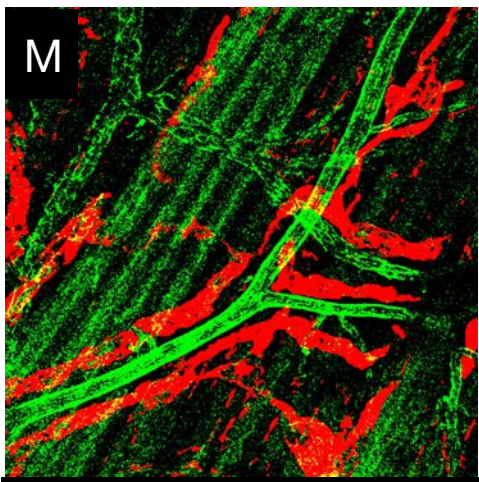
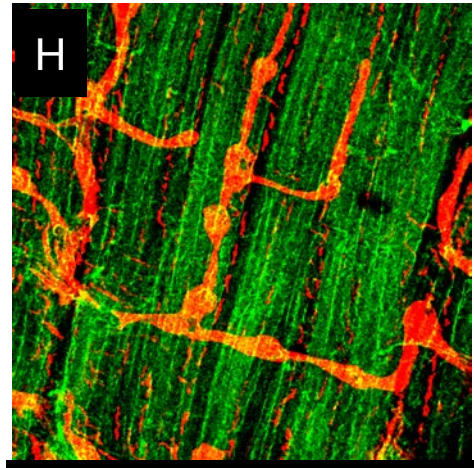
右図は横隔膜の頭側から尾側方向への切断面を示す。図では上側が胸膜、下側が腹膜を示している。赤がリンパ管であり、緑が血管である。横隔膜の脈管構造は右図のごとく胸膜(上



矢頭)、筋層内(真ん中矢頭)、腹膜の(下矢頭)3層構造になっていた。

胸膜と腹膜でリンパ管と血管の層は別々になっておりリンパ管の層が血管層より胸腔や腹腔に近接して存在していた。

右図は横隔膜胸膜を頭側から観察した顕微鏡画像を示す。赤がリンパ管で緑が血管である。リンパ管は整った形で直径もほぼ均一できれいに枝分かれしていた。血管は毛細血管が中心で緻密に並走していた。そして胸腔側からの観察ではリンパ管が血管網の上のように層別化されていた。



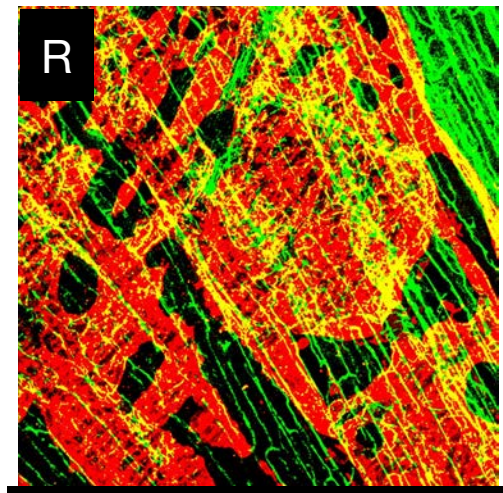
左図は筋肉内のリンパ管と血管である。整った形のリンパ管が静脈と並走していた。

腹膜のリンパ管(赤)と血管(緑)を尾側から観察した画像を下に示す。腹膜では面状に広がるリンパ管が内部に穴等を含みながら分布していた。血管は毛細血管が中心で胸膜と同様、緻密に並走していた。

リンパ管のうち、胸膜上のリンパ管は VE-cadherin による免疫染色から毛細リンパ管が大部分を占めていることが同定された。筋肉内のリンパ管は集合リンパ管が大部分を占めていた。腹膜上のリンパ管は毛細リンパ管と集合リンパ管両者の性質をもっていた。

胸壁では肋骨下の肋間動脈から尾側に毛細血管が枝分かれし、大部分が一つ尾側の肋間静脈に合流していた。リンパ管は肋骨下で集合リンパ管が動静脈と並走していた。肋骨下の集合リンパ管にはその頭側から、かえでの葉状にひらいた毛細リンパ管が合流していた。

マウス乳がん細胞の胸膜播種モデルを作成し、横隔膜や胸壁をリンパ管や血管のマーカーで免疫染色した。すると腫瘍血管やリンパ管を明確に顕微鏡で同定することができた。これまで周囲のリンパ管からどのように腫瘍内にリンパ管新生がおきるか不明だったが、本モデルでは一つ一つの腫瘍が小さいため腫瘍への周囲の脈管からの血管新生やリンパ管新生を観察することができた。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 7件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Okazaki Tatsuma, Suzukamo Yoshimi, Miyatake Midori, Komatsu Riyo, Yaekashiwa Masahiro, Nihei Mayumi, Izumi Shinichi, Ebihara Takae	4. 巻 Feb 23
2. 論文標題 Respiratory Muscle Weakness as a Risk Factor for Pneumonia in Older People	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Gerontology	6. 最初と最後の頁 1~10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000514007	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 Kambayashi Tomonori, Kato Kengo, Ikeda Ryoukichi, Suzuki Jun, Honkura Yohei, Hirano-Kawamoto Ai, Ohta Jun, Kagaya Hitoshi, Inoue Makoto, Hyodo Masamitsu, Omori Koichi, Suehiro Atsushi, Okazaki Tatsuma, Izumi Shin-Ichi, Katori Yukio	4. 巻 Feb14
2. 論文標題 Questionnaire survey on pharyngolaryngeal sensation evaluation regarding dysphagia in Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Auris Nasus Larynx	6. 最初と最後の頁 41-49
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.anl.2021.01.022	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 Takashi Mori, Shinichi Izumi, Y oshimi Suzukamo, Tatsuma Okazaki, Susumu Iketani	4. 巻 10(5)
2. 論文標題 1.Ultrasonography to detect age-related changes in swallowing muscles	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 European Geriatric Medicine	6. 最初と最後の頁 753 - 760
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 オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Okazaki T, Ebihara S, Mori T, Izumi S, Ebihara T.	4. 巻 20(1)
2. 論文標題 2.Association between sarcopenia and pneumonia in older people.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Geriatr Gerontol Int.	6. 最初と最後の頁 7-13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ggi.13839.	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 Yoko Tsukita, Tatsuma Okazaki, Satoru Ebihara, Riyo Komatsu, Mayumi Nihei, Makoto Kobayashi, Taizou Hirano, Hisatoshi Sugiura, Tsutomu Tamada, Nobuyuki Tanaka, Yasufumi Sato, Hideo Yagita, Masakazu Ichinose	4. 巻 8(2)
2. 論文標題 Beneficial effects of sunitinib on tumor microenvironment and immunotherapy targeting death receptor5	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 OncoImmunology.	6. 最初と最後の頁 1543526
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/2162402X.2018.1543526.	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 Riyo Komatsu, Tatsuma Okazaki, Satoru Ebihara, Makoto Kobayashi, Yoko Tsukita, Mayumi Nihei, Hisatoshi Sugiura, Kaijun Niu, Takae Ebihara, Masakazu Ichinose.	4. 巻 9(4)
2. 論文標題 Aspiration pneumonia induces muscle atrophy in the respiratory, skeletal, and swallowing systems.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle.	6. 最初と最後の頁 643 653
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jcsm.12297.	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 該当する

1. 著者名 Rie Tanaka, Hisatoshi Sugiura, Mitsuhiro Yamada, Tomohiro Ichikawa, Akira Koarai, Naoya Fujino, Satoru Yanagisawa, Katsuhiko Onodera, Tadahisa Numakura, Kei Sato, Yorihiro Kyogoku, Hirohito Sano, Shun Yamanaka, Tatsuma Okazaki, Tsutomu Tamada, Motohiko Miura, Tsuneyuki Takahashi, Masakazu Ichinose	4. 巻 13
2. 論文標題 Physical inactivity is associated with decreased growth differentiation factor 11 in chronic obstructive pulmonary disease	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.	6. 最初と最後の頁 1333-1342
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2147/COPD.S157035	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 1.岡崎達馬、出江紳一	4. 巻 56
2. 論文標題 誤嚥性肺炎防止の知恵	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本脳卒中協会会報 JSA News	6. 最初と最後の頁 2
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 無
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 2. 岡崎達馬、黒澤一、出江伸一	4. 巻 35
2. 論文標題 嚔下障害症例における呼吸機能訓練の役割	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 JOHNS	6. 最初と最後の頁 365 367
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 無
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 海老原 寛、 岡崎達馬	4. 巻 107(9)
2. 論文標題 呼吸器疾患とサルコペニア・フレイル	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本内科学会雑誌	6. 最初と最後の頁 1708-1712
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 無
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9件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 岡崎達馬 鈴鴨よしみ 宮武ミドリ 八重柏政宏 二瓶真由美 出江紳一 海老原孝枝
2. 発表標題 呼吸筋のサルコペニアと低栄養は高齢者肺炎発症と再発の危険因子である～横断コホート研究～
3. 学会等名 日本呼吸器学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岡崎達馬 鈴鴨よしみ 森隆行 出江紳一
2. 発表標題 サルコペニアと高齢者肺炎
3. 学会等名 日本臨床医療福祉学会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岡崎達馬
2. 発表標題 炎症とサルコペニア～高齢者肺炎との関係を中心に～
3. 学会等名 日本リハビリテーション栄養学会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岡崎達馬 海老原孝枝 永井久美子 庄司真美 小松理世 八重柏政宏 二瓶真由美 出江伸一
2. 発表標題 1.高齢者誤嚥性肺炎へのサルコペニアの関与
3. 学会等名 日本老年医学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡崎達馬 海老原孝枝 永井久美子 庄司真美 小松理世 八重柏政宏 二瓶真由美 出江伸一
2. 発表標題 誤嚥性肺炎発症へのサルコペニアの関与
3. 学会等名 日本リハビリテーション医学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 出江伸一, 岡崎達馬
2. 発表標題 高齢者筋萎縮、低栄養、嚥下障害の現状と課題 超高齢者社会における医療の取り組みーロコモ・フレイル・サルコペニア
3. 学会等名 日本医学会シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡崎達馬
2. 発表標題 超高齢化社会における sarcopenic dysphasia について ~嚥下関連肺炎との関係~
3. 学会等名 日本摂食嚥下リハビリテーション学会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tatsuma Okazaki, Midori Miyatake, Yoshimi Suzukamo, Shinichi Izumi, Koichi Kozaki, Takae Ebihara
2. 発表標題 Sarcopenia in respiratory muscles and malnutrition induce onset and relapse of pneumonia in aged people
3. 学会等名 International Conference on Frailty and Sarcopenia Research（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岡崎達馬
2. 発表標題 嚥下障害関連肺炎とサルコペニア及びマイオカインの関係
3. 学会等名 日本頭頸部外科学会総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 岡崎達馬他	4. 発行年 2020年
2. 出版社 先端医学社	5. 総ページ数 136
3. 書名 呼吸器系と健康長寿・フレイル対策	

〔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
研究協力者	八木田 秀雄 (YAGITA HIDEO)		

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