

令和 4 年 6 月 2 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2021

課題番号：18K08636

研究課題名（和文）LPSトレランスによる肝切除後再生の促進と大量肝切除後肝不全の予防効果

研究課題名（英文）Preventive effect of postoperative liver failure and promotion of liver regeneration after massive hepatectomy by LPS tolerance

研究代表者

星川 真有美（Hoshikawa, Mayumi）

東京大学・医学部附属病院・届出研究員

研究者番号：30761564

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）：LPSトレランスを誘導したマウスでは、肝のNK細胞及びNKT細胞が活性化し、Perforin/Granzyme系が活性化することで抗腫瘍活性を亢進させていることを明らかにした。LPSトレランスにおいて、NK細胞、NKT細胞の活性化には、IFN- $\gamma$ などの炎症性サイトカインによるシグナルとは異なる経路の関与が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

LPSトレランスを誘導したマウスの肝臓ではNK細胞及びNKT細胞の活性が亢進し、大腸癌株Colon 26に対する細胞傷害活性が増強していることをin vitroで示し、さらにin vivoでも抗腫瘍活性が亢進していることを明らかにした。IFN- $\gamma$ の産生は亢進していなかったことから、本来とは異なる活性化経路によりNK細胞、NKT細胞が活性化しているものと考えられた。LPSトレランスにおいて抗腫瘍活性が亢進していることを初めて明らかにし、LPSトレランスを外科手術の周術期に適切に誘導することができれば、炎症反応を抑制、感染性合併症を予防し、新たな転移形成を抑制できる可能性があると考えられた。

研究成果の概要（英文）：Lipopolysaccharide preconditioning potently augmented antitumor cytotoxicity of liver NK cells and NKT cells, thereby improving mouse survival after intraportal inoculation of Colon26 tumor cells. It may be useful for perioperative care in oncological patients.

研究分野：医学

キーワード：LPSトレランス 肝臓

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

Lipopolysaccharide(LPS)はグラム陰性菌の細胞外膜の構成成分であり、生体に対して様々な生物活性を示す。過量のLPSはエンドトキシンショックと呼ばれる致命的な炎症反応を生体に誘導するが、極微量のLPSによってあらかじめ刺激しておく(priming)と、その後の大量のLPS刺激に対して不応性を生じることが古くから知られており、この現象はLPSトレランスと呼ばれている。通常は、炎症反応が抑制されると菌の排除能は減弱するが、興味深いことにLPSトレランスでは、LPSを始めとする刺激に対して炎症性サイトカインの産生が著明に抑制されるものの、マクロファージの分画が変化して殺菌活性は逆に亢進することが分かってきた。

### 2. 研究の目的

このような特性を利用して、トレランスを外科手術の周術期管理に応用できないかと考えたが、消化器悪性疾患の手術においては、術中操作や術後の免疫能低下に伴う新たな転移形成が問題となってくる。LPSトレランスが抗腫瘍活性や、その中心となるNatural Killer(NK)細胞、NKT細胞の機能にどのような影響を与えるかに関してはこれまでに報告がなかった。本研究では、LPSトレランスを誘導したマウスの抗腫瘍活性について、特に肝のNK細胞及びNKT細胞の機能に注目して検討した。

### 3. 研究の方法

BALB/cマウスを用いて、LPS 5 $\mu$ g/kgを3日間連続で腹腔内投与し、LPSトレランスを誘導した。大腸癌株Colon 26を門脈内投与することにより大腸癌肝転移モデルを作成し、生存期間を観察した。Colon 26にNano-lanternという高輝度発光蛋白質を安定発現させ、IVIS imaging systemを用いて経時的に腫瘍の増大を観察した。LPSトレランスを誘導したマウスの肝及び脾単核球を採取し、フローサイトメトリーで免疫担当細胞の分画をみるとともにPerforin/Granzymeの発現を検討した。また肝脾単核球のColon 26に対する細胞傷害活性をテラスキャンで測定した。

### 4. 研究成果

トレランス群では対照群と比較して肝転移の増大が顕著に抑制されており、生存期間が有意に延長した(図1)。肝単核球をフローサイトメトリーで解析したところ、トレランス群ではNK細胞及びNKT細胞が増加しており、ともにPerforin、Granzyme Bの発現が亢進していた(図2,3)。通常であればNK細胞、NKT細胞の活性化を促す働きを持つIFN- $\gamma$ の産生は、トレランス群で亢進していなかった(図4)。また、トレランス群は肝単核球のColon 26に対する細胞傷害活性が有意に亢進していた(図5)。脾臓の単核球では、これらの変化は肝単核球ほど顕著には見られなかった。

LPSトレランスを誘導したマウスの肝臓では、NK細胞及びNKT細胞が量的、質的に活性化しており、特にPerforin/Granzyme系の活性が亢進していた。これにより大腸癌株Colon 26に対する細胞傷害活性が増強していることをin vitroで示し、さらにin vivoでも大腸癌肝転移モデルの生存期間が延長することを示し、抗腫瘍活性が亢進していることを明らかにした。興味深いことにIFN- $\gamma$ の産生は亢進していなかったことから、本来の活性化経路とは異なる経路の存在によりNK細胞、NKT細胞が活性化しているものと考えられた。本研究ではLPSトレランスにおいて抗腫瘍活性が亢進していることを初めて明らかにした。LPSトレランスを外科手術の周術期に適切、かつ安全に誘導することができれば、炎症反応を抑制しつつ、感染性合併症を予防し、新たな転移形成を抑制できる可能性があると考えられた。

以上より、LPSトレランスを誘導したマウスでは、肝のNK細胞及びNKT細胞が活性化し、Perforin/Granzyme系が活性化することで抗腫瘍活性を亢進させていることを明らかにした。LPSトレランスにおいて、NK細胞、NKT細胞の活性化には、IFN- $\gamma$ などの炎症性サイトカインによるシグナルとは異なる経路の関与が示唆された。

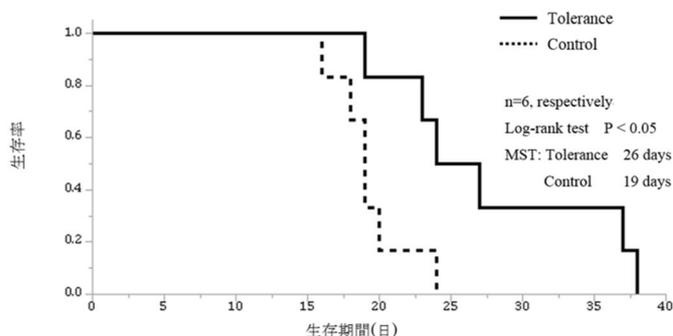


図1: Colon26投与後の生存曲線

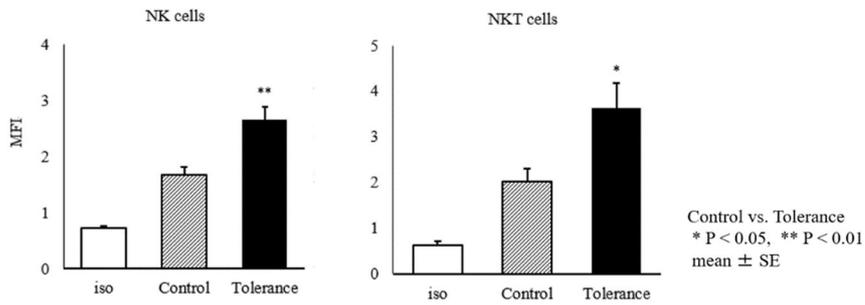


図 2: 肝 NK, NKT 細胞における Perforin 活性

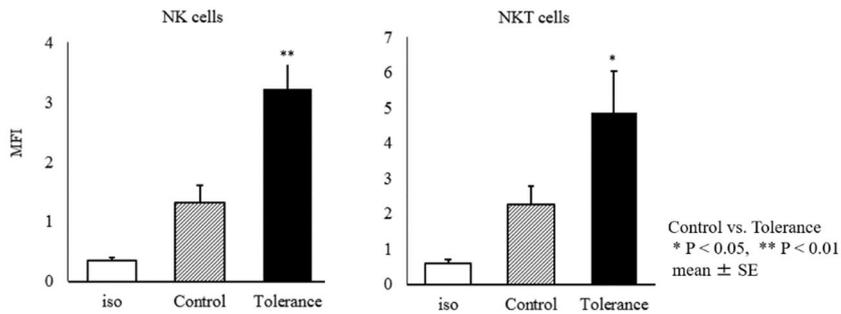


図 3: 肝 NK, NKT 細胞における Granzyme 活性

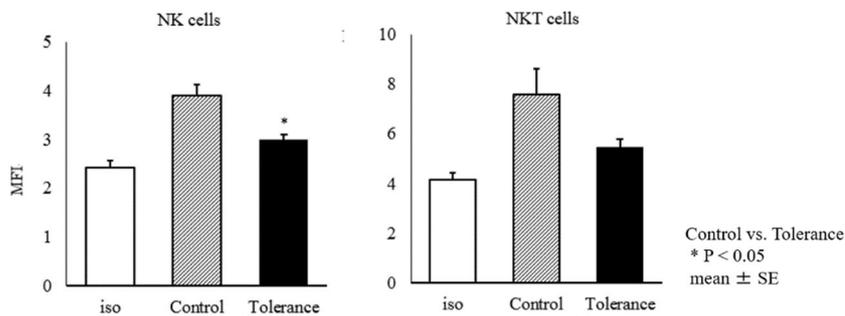
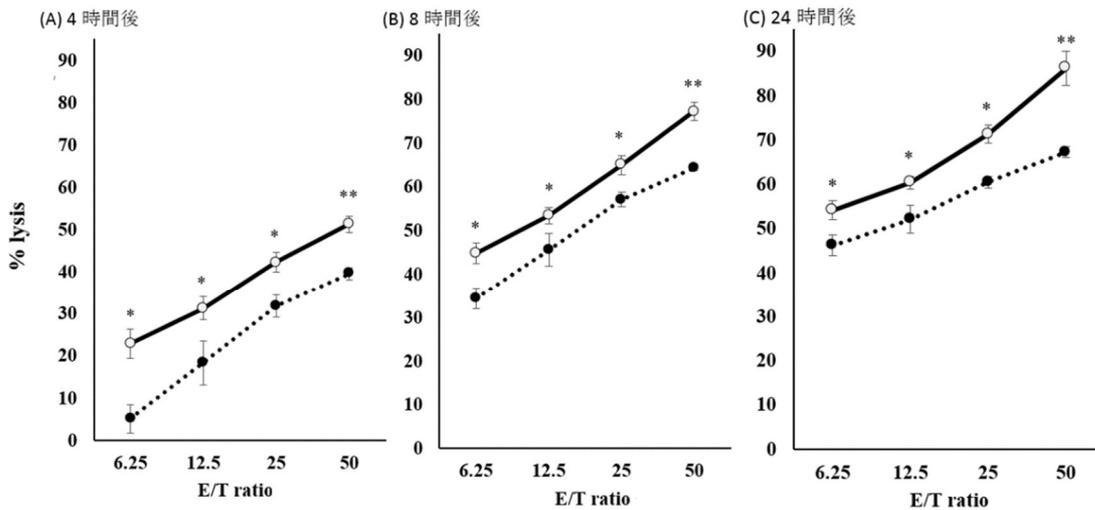


図 4: 肝 NK, NKT 細胞における Interferon- 活性



\* P < 0.05, \*\* P < 0.01, mean ± SE

図 5: 肝単核球の抗腫瘍活性

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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	野呂 拓史  (Noro Takuji)  (10385346)	防衛医科大学校 (医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・外科学・助教   (82406)	
研究分担者	山本 順司  (Yamamoto Junji)  (40342654)	防衛医科大学校 (医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・外科学・教授   (82406)	
研究分担者	青笹 季文  (Aosasa Suefumi)  (40649034)	防衛医科大学校 (医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・外科学・准教授   (82406)	
研究分担者	木下 学  (Kinoshita Manabu)  (70531391)	防衛医科大学校 (医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・免疫・微生物学・教授   (82406)	

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
---------	---------