

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08740

研究課題名(和文) 上部消化管癌根治手術における迷走神経切除の意義 腫瘍免疫学的観点からの検討

研究課題名(英文) Oncological significance of vagotomy in upper gastrointestinal surgery

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) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：マウスにおいて横隔膜下で迷走神経を切離後3週目に腹腔内に胃癌細胞YTN16を投与すると、対象群と比べて腹膜播種が有意に増加した。迷走神経切離群では、腫瘍細胞の投与直後から、腹腔内および全身の免疫細胞が増加する傾向を認めた。また、大網のMilky spotはYTN16P投与1日目において著明に拡大しており、多数のF4/80陽性マクロファージが認められるとともに有意に多くの癌細胞が生着している事実を認めた。以上から、迷走神経切離は、投与後早期のMilky spotにおける炎症反応を惹起し、癌細胞の生着を促進することで腹膜播種の増強に寄与している可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

迷走神経シグナルは腹腔内の局所免疫を介して腹膜播種の成立に抑制的な作用を有しており、進行胃癌の根治手術に伴う横隔膜下での迷走神経切除は術後の播種再発を促進する可能性があることが示唆された。今回の研究結果から、進行胃癌に対する根治手術において、腹膜播種再発のハイリスク症例に対しては迷走神経を温存することで患者予後の改善につながる可能性があることが示唆され、進行胃癌の手術術式についての新たな示唆を与えることができた。

研究成果の概要(英文)：When gastric cancer cells YTN16 were administered intraperitoneally to mice three weeks after vagus nerve transection under the diaphragm, peritoneal dissemination was significantly increased compared to the control group. In the vagotomy group, immune cells in the peritoneal cavity and throughout the body tended to increase immediately after tumor cell administration. In addition, the milky spot in the omentum was significantly enlarged on the first day of YTN16P administration, and a large number of F4/80-positive macrophages were observed, as well as a significantly large number of cancer cells engrafting. These results suggest that vagotomy may contribute to the enhancement of peritoneal dissemination by inducing an inflammatory response in the milky spot early after administration and promoting the engraftment of cancer cells.

研究分野：消化器外科学

キーワード：迷走神経 コリン作動性シグナル 胃癌 腹膜播種 大腸乳斑 腹腔免疫 マクロファージ T細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

迷走神経は腹腔内へ通じる唯一の副交感神経経路であり、脾臓など腹腔内臓器においてコリン作動性抗炎症経路(CAIP)を通じて抗炎症作用をもたらす。進行胃癌や食道癌に対する根治切除術の際には、系統的リンパ節郭清とともに腹部臓器に至る迷走神経はほぼ完全に切除される。近年の研究で、早期胃癌に対する縮小手術における迷走神経肝枝(前幹)、腹腔枝(後幹)の温存が術後胆石症発生の減少、下痢の頻度の軽減、術後体重減少の早期回復などのQOLが改善されることが報告されているが、癌の再発や患者予後についてオンコロジカルな観点から検討した臨床的研究は少ない。しかし、自律神経系の支配状態の解剖学的変化が、腹腔内の局所免疫、特にストレスに対する応答性において、何らかの質的变化を与え、結果としてがんの進行に無視できない影響を与える。進行胃癌患者において手術後の腹膜播種再発は最多であり、予後不良因子であるが、迷走神経切離と播種再発に関する詳細な検討はない。

2. 研究の目的

食道裂孔部で迷走神経を完全切除するマウスモデルを用いて、腹膜再発に及ぼす迷走神経切除の影響を検証するとともにその免疫学的機序を解明することを直接の目的とする。また、腹腔内局所における免疫応答に対する迷走神経シグナルの生物学的役割を解明し、上部消化管癌に対する根治切除術における迷走神経切除の真の意義を明らかにすることを最終目標とする。

3. 研究の方法

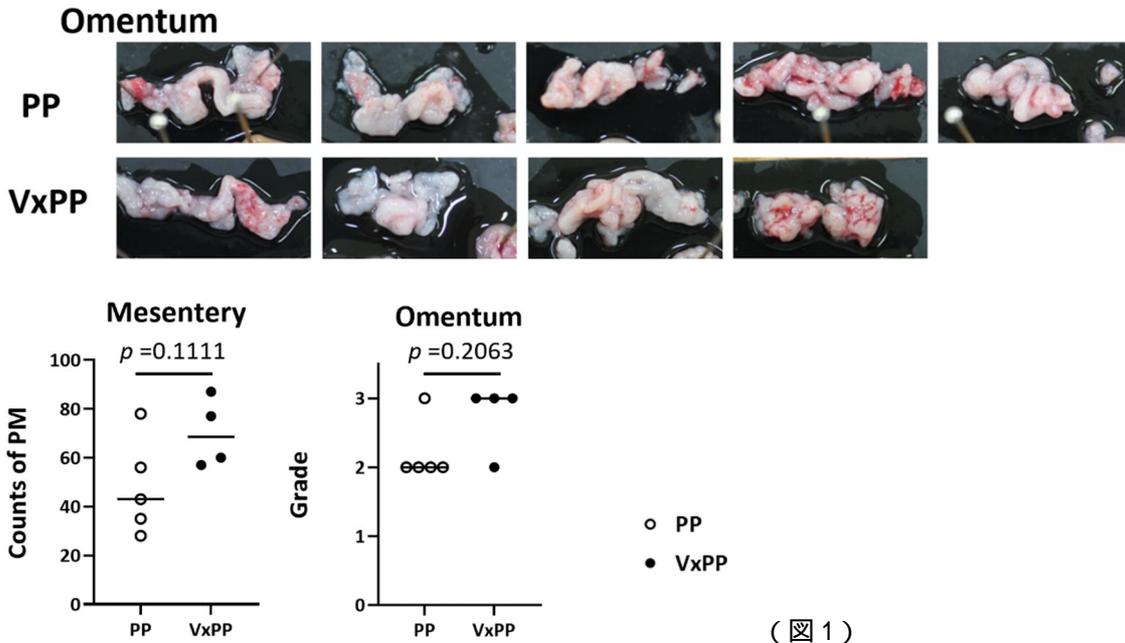
C57BL/6 マウスに横隔膜下での迷走神経切離および幽門形成術を施行(VxPP 群)し、その3週間後に同系マウス胃癌腹膜高転移株であるYTN16Pを腹腔内に投与し、腸間膜および大網上の腹膜播種の数および程度を迷走神経温存対照手術(PP 群)マウスと比較した。また、迷走神経切離が腹膜播種形成過程における免疫状態に与える影響について検討するため、同系胃癌細胞YTN16P投与後の腹腔内洗浄液、脾臓内、血液中の免疫細胞のフェノタイプの推移をフローサイトメトリーを用いて検討した。また、その動態と密接に関わっていると考えられる大網内のMilky spotに存在する免疫細胞と腫瘍細胞を免疫組織化学染色(IHC)を用いて分析した。

4. 研究成果

(1) YTN16Pの腹腔内投与によりVxPP群の腸間膜上の腹膜播種結節数は対照手術(PP)群と比較して有意に増加し(PP:中央値(M)=35(3-69) vs VxPP:中央値(M)=90(82-115), p=0.0079, n=5)、大網の腹膜播種の程度を示すGradeも高い傾向にあった。(図1)

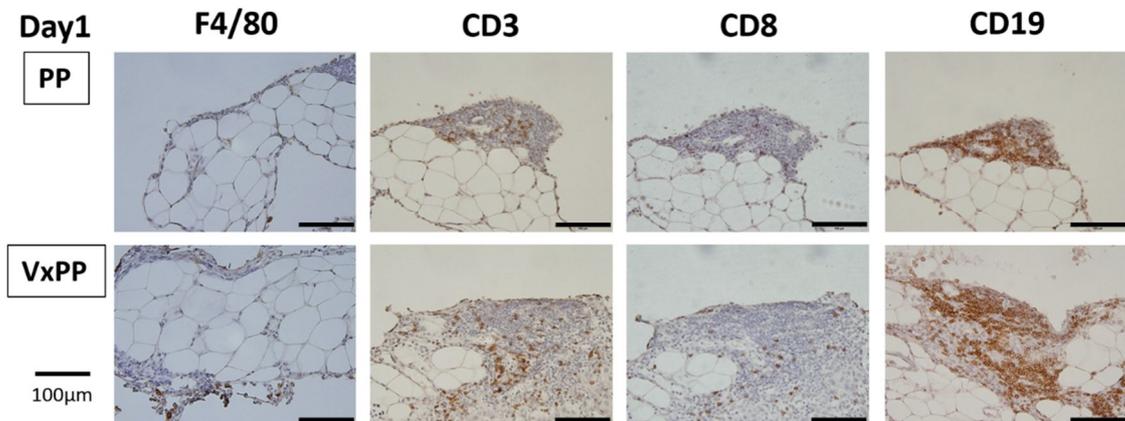
Mesentery

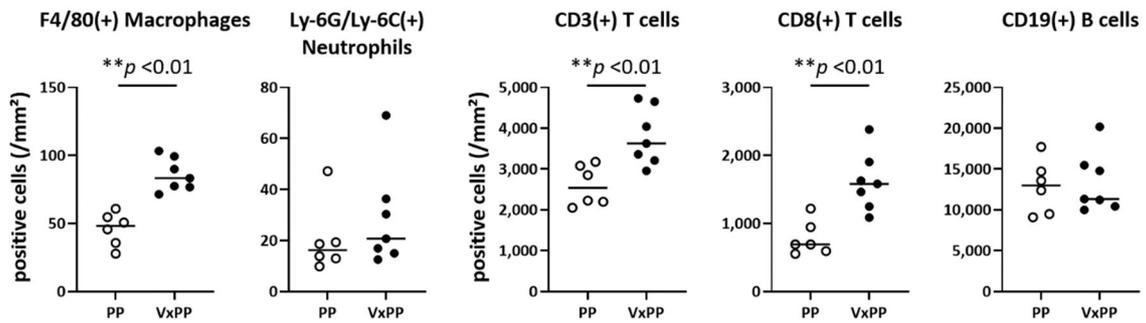




(2) YTN16P 投与後 1 日目の腹腔内洗浄液中の免疫細胞数では VxPP 群においてマクロファージが有意に多くみられた (PP: $M=1.19(0.73-2.32) \times 10^6$ vs VxPP: $M=2.12(1.04-3.36) \times 10^6$, $p=0.03$, $n=10, 12$) ほかは有意な差はみられなかった。脾臓内の CD45 陽性細胞に対する免疫細胞の割合は VxPP 群においてリンパ球が減少傾向を示し、マクロファージは有意に増加した (PP: $M=0.90(0.80-1.13)\%$ vs VxPP: $M=1.01(0.98-1.33)\%$, $p=0.0278$, $n=5, 7$)。血液中の免疫細胞数 ($/\mu\text{L}$) は CD45 陽性の免疫細胞、T 細胞や NK 細胞、好中球、好酸球をはじめとする骨髄系細胞が VxPP 群において有意に増加していた。

(3) YTN16P 投与後 1 日目の大網の Milky spot の領域 (μm^2) は VxPP 群において有意に拡大し (PP: $M=5.38(4.64-6.69) \times 10^3$ vs VxPP: $M=14.5(6.84-20.9) \times 10^3$, $p=0.0012$, $n=6, 7$)、pan-Cytokeratin 陽性腫瘍細胞の Milky spot への生着 ($/\text{mm}^2$) も有意に多く認められた (PP: $M=321(159-787)$ vs VxPP: $M=719(394-858)$, $p=0.014$, $n=6, 7$)。また、Milky spot 辺縁では F4/80 陽性マクロファージの細胞密度 ($/\text{mm}^2$) が VxPP 群において有意に多く存在しており (PP: $M=48.2(27.8-60.8)$ vs VxPP: $M=83.4(71.4-103)$, $p=0.0012$)、Milky spot 内の CD3 陽性および CD8 陽性 T 細胞の細胞密度 ($/\text{mm}^2$) も VxPP 群において有意に高かった [CD3 陽性 T 細胞 (PP: $M=2.54(2.05-3.18) \times 10^3$ vs VxPP: $M=3.63(2.96-4.73) \times 10^3$, $p=0.0047$)、CD8 陽性 T 細胞 (PP: $M=6.91(5.54-12.2) \times 10^2$ vs VxPP: $M=15.8(10.9-23.8) \times 10^2$, $p=0.0023$)]。(図 2)





(図2)

(4) 同系マウスモデルを用いて、迷走神経切離後3週目に腹腔内に癌細胞を投与すると、腹膜播種は増加することが確認できた。この結果は、迷走神経切離は腫瘍の発癌の促進や転移の増加、腫瘍内での TNF- α を産生する腫瘍関連マクロファージの増加による腫瘍の進行を促進するという過去の報告と合致し、迷走神経シグナルが腹膜播種の形成に対しても抑制的に働いていることが示唆された。迷走神経シグナルはコリン作動性抗炎症経路(CAIP)を介して、抗炎症効果をもたらす作用が知られている。手術後のマウスにおいて、腫瘍細胞の投与直後から、腹腔内および全身(脾臓内、血液中)において VxPP 群においてマクロファージをはじめとする免疫細胞の増加を認めた。この結果は、迷走神経切離後のマウスは、腫瘍細胞投与の刺激を受けて対照群と比べて過剰な免疫反応が誘発されたと考えられた。大網の Milky spot は YTN16P 投与1日目に VxPP 群において著明に拡大しており、腫瘍細胞の生着が有意に多く認められた。過去の文献において、腹腔内に散布された腫瘍細胞は Milky spot に生着することで、周囲の脂肪組織からエネルギー供給を受け、転移形成に必要な能力を獲得することが報告されている。本研究でも、大網の Milky spot 周囲には VxPP 群においてより多くの F4/80 陽性マクロファージが認められたことから、これらのマクロファージから産生される TNF- α やサイトカインなどの作用により、腫瘍細胞の悪性度がより高まり、播種を増強した可能性が考えられた。したがって、迷走神経切離は、投与後早期の Milky spot における腫瘍細胞の生着を促進することで腹膜播種の増強に寄与している可能性が考えられた。以上の事実から、迷走神経シグナルは腹腔内の局所免疫を介して腹膜播種の成立に抑制的な作用を有しており、進行胃癌の根治手術に伴う横隔膜下での迷走神経切除は術後の播種再発を促進する可能性があることが示唆された。以上の結果から、横隔膜下での迷走神経切離術により迷走神経シグナルが遮断されると、大網の Milky spot での免疫反応の変化を介して Milky spot への癌細胞の生着が促進され、腹膜播種の増加をきたすことが考えられる。今回の研究結果から、進行胃癌に対する根治手術において、腹膜播種再発のハイリスク症例に対しては迷走神経を温存することで患者予後の改善につながる可能性があることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Futoh Yurie, Miyato Hideyo, Yamaguchi Hironori, Matsumiya Misaki, Takahashi Rei, Kaneko Yuki, Kimura Yuki, Ohzawa Hideyuki, Sata Naohiro, Kitayama Joji, Hosoya Yoshinori	4. 巻 14
2. 論文標題 Vagus nerve signal has an inhibitory influence on the development of peritoneal metastasis in murine gastric cancer	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 7832
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-024-58440-w	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 Kimura Yuki, Ohzawa Hideyuki, Miyato Hideyo, Kaneko Yuki, Saito Akira, Takahashi Kazuya, Tojo Mineyuki, Yamaguchi Hironori, Kurashina Kentaro, Saito Shin, Hosoya Yoshinori, Lefor Alan Kawarai, Sata Naohiro, Kitayama Joji	4. 巻 12
2. 論文標題 MiR-29b may suppresses peritoneal metastases through inhibition of the mesothelial?mesenchymal transition (MMT) of human peritoneal mesothelial cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-04065-2	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 Takahashi Kazuya, Kurashina Kentaro, Yamaguchi Hironori, Kanamaru Rihito, Ohzawa Hideyuki, Miyato Hideyo, Saito Shin, Hosoya Yoshinori, Lefor Alan Kawarai, Sata Naohiro, Kitayama Joji	4. 巻 13
2. 論文標題 Altered intraperitoneal immune microenvironment in patients with peritoneal metastases from gastric cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fimmu.2022.969468	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7件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yurie Futoh, Hideyo Miyato, Misaki Matsumiya, Rei Takahashi, Yuki Kaneko, Kazuya Takahashi, Yuki Kimura, Hiroko Hayakawa, Hideyuki Ohzawa, Naohiro Sata, Joji Kitayama.
2. 発表標題 Effects of vagus nerve signals on the development of peritoneal metastasis of murine gasutric cancer.
3. 学会等名 AACR Annual meeting（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yurie Futoh, Hiedyo Miyato, Misaki Matsumiya, Rei Takahashi, Yuki Kaneko, Kohei Tamura, Hiedyuki Ohzawa, Naohiro Sata, Joji Kitayama.
2. 発表標題 Effects of Vagus nerve signales on the development of peritoneal metastasis in murine gastric cancer.
3. 学会等名 第21回自治医科大学シンポジウム
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 風堂 ゆりえ, 宮戸 秀世, 松宮 美沙希, 高橋 礼, 金子 勇貴, 高橋 和也, 木村 有希, 大澤 英之, 佐田 尚宏, 北山 丈二.
2. 発表標題 マウス胃がん細胞株腹膜播種進展における迷走神経シグナルの影響
3. 学会等名 第82回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 齋藤 心, 春田 英律, 千葉 蒔七, 千葉 小夜, 小池 瑛, 細谷 好則, 倉科 憲太郎, 岡田 健太, 北山 丈二, 佐田 尚宏
2. 発表標題 高度肥満症に対する減量・代謝改善手術の治療成績
3. 学会等名 第55回日本成人病（生活習慣病）学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高橋和也, 大澤英之, 金丸理人, 倉科憲太郎, 齋藤心, 山口博紀, 細谷好則, 北山丈二, 佐田尚宏
2. 発表標題 Flow cytometryを用いた胃癌患者腹腔内免疫細胞の解析
3. 学会等名 第77回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yurie Futoh, Hideyo Miyato, Yuki Kaneko, Kohei Tamura, Kazuya Takahashi, Yuki Kimura, Akira Saito, Mineyuki Tojo, Yuko Kumagai, Hiedyuki Ohzawa, Yoshinori Hosoya, Joji Kitayama, Naohiro Sata
2. 発表標題 The mechanistic analysis of peritoneal dissemination using mouse syngenic gastric cancer cells.
3. 学会等名 自治医科大学シンポジウム2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 風堂 ゆりえ, 宮戸 秀世, 金子 勇貴, 高橋 和也, 木村 有希, 齋藤 晶, 東條 峰之, 大澤 英之, 細谷好則, 北山 丈二, 佐田 尚宏
2. 発表標題 マウス同種胃癌細胞を用いた腹膜播種の成立機序の検討
3. 学会等名 第76回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

特になし

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 (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	堀江 久永 (Horie Hisanaga) (20316532)	自治医科大学・医学部・教授 (32202)	
研究分担者	佐田友 藍 (Sadatomo Ai) (40528585)	自治医科大学・医学部・助教 (32202)	
研究分担者	齋藤 心 (Saito Shin) (60382909)	自治医科大学・医学部・准教授 (32202)	
研究分担者	倉科 憲太郎 (Kurashina Kentaro) (70382900)	自治医科大学・医学部・准教授 (32202)	
研究分担者	宮戸 秀世 (Miyato Hideyo) (90813163)	自治医科大学・医学部・准教授 (32202)	

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