



Title	外科的リンパ系再構築法を目指したリンパドレナージパターンおよびリンパ節局所免疫能に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	前田, 拓
Citation	北海道大学. 博士(医学) 甲第13029号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/70316
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Note	配架番号 : 2408
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Taku_Maeda_abstract.pdf (論文内容の要旨)



[Instructions for use](#)

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士(医学) 氏名 前田 拓

学位論文題名

外科的リンパ系再構築法を目指したリンパドレナージパターン
およびリンパ節局所免疫能に関する研究

(Studies on the lymph drainage patterns and local immune-mediated effect of a lymph node for
the surgical lymphatic regeneration)

【背景と目的】

近年、リンパ組織の破綻に対する外科的治療法の開発がすすみ、リンパ系の再構築法として、リンパ浮腫に対するリンパ節移植の有用性が、基礎及び臨床研究で報告されている。また臨床では、皮膚悪性腫瘍の治療において、リンパ流の概念の重要性が増している。リンパ流に基づいた必要十分なリンパ組織の郭清が、病気の根治を目指すために重要である。皮膚癌がリンパにのって流れていく最初のリンパ節である、センチネルリンパ節(Sentinel lymph node: SLN)の大多数は腋窩、鼠径で確認されるが、特に頭頸部領域ではリンパの流れが十分に解明されていない。今後、リンパ節郭清後のリンパ系再構築法を応用するにあたり、生体でのリンパ流の十分な把握が必要であることから、まずは頭頸部領域原発皮膚癌のリンパ流のドレナージパターンについて分析を行った。そして、リンパ流ドレナージパターンの分析で得られた知見を踏まえ、マウス動物モデルを用いて、外科的リンパ系再構築法としてのリンパ節移植による、循環系および免疫系の回復について検証した。

【材料と方法】

頭頂部・後頭部原発皮膚癌を有する患者8症例で、センチネルリンパ節生検またはリンパ節郭清を施行された後のリンパドレナージパターンを後ろ向きに研究し、分析した。また、予後改善をもたらす因子についても解析した。次に、C57BL/6Nマウスに膝窩リンパ節切除、リンパ節移植などの外科的処置を行ない、実験モデルを作成した。ICG 蛍光造影検査、蛍光標識デキストラン、免疫組織化学染色、Spectrophotometryを行い、リンパ流の変化、リンパの機能回復、リンパ節そのものの構造について評価した。モデル作成後28日目にはすでにリンパ系再構築が確認された。そこで、リンパ系再構築後の免疫系の機能を評価するために、マウスのfoot padにメラノーマ細胞を移植し、腫瘍免疫という観点から膝窩リンパ節および移植リンパ節を採取し、SLNとしての機能について評価した。また局所免疫以外に全身免疫を評価するために脾臓も採取した。In vivo optical imaging, ルシフェラーゼアッセイ, リアルタイムPCR, フローサイトメトリー, ELISpot アッセイ, 細胞傷害性アッセイ, Western blot analysis, ELISAを用いて、移植リンパ節がもたらす効果について検証した。

【結果】

頭頂部・後頭部原発皮膚癌のリンパドレナージパターンは、主に後頭リンパ節からLevel Vへと流れるパターンと、後耳介リンパ節からLevel II, III, IVへと流れるパターンが存在した。後頭リンパ節は、そのほかのリンパ節に比べるとサイズが小さかった。そして頭頂部・後頭部原発皮膚癌で後頭リンパ節に転移陽性を認めた症例は予後が悪かった。次に、マウスを用いた循環系の回復についての評価では、膝窩リンパ節の切除によって、膝窩から坐骨へのリンパ流が、鼠径から腋窩へのリンパ流に変化した。移植リンパ節はこのリンパ流の変化を正常化し、通常のリンパ流のパターンに戻した。移植リンパ節は通常の膝窩リンパ節と同様に、リンパ管内皮, T細胞, B細胞をそれぞれ

の解剖学的領域に有しており、輸入リンパ管と移植リンパ節の連続性を有した。メラノーマ細胞移植後、膝窩リンパ節切除群では肺転移、リンパ節転移が増悪した。しかし、リンパ節移植を行うことで、肺転移、リンパ節転移は抑制された。移植リンパ節で expansion したリンパ球は、各種サイトカインを分泌し、CD4 陽性 T リンパ球、CD8 陽性 T リンパ球として、獲得免疫の観点から機能していた。膝窩への移植リンパ節(Tumor draining transplanted lymph node:TDTLN)は通常の腫瘍が流れていくリンパ節である Tumor draining popliteal lymph node(TDPLN)と比較すると抗腫瘍効果を有するものの、機能は劣っていた。また TDTLN を有する群の脾臓の抗腫瘍効果も、TDPLN を有する群と比較すると、リンパ球分布の割合が異なり、B 細胞の増加が少なかった。TDTLN と TDPLN の構造評価として、リンパ球が血液からリンパ系に流入するリンパ球トラフィッキングに関わる高内皮静脈(High Endothelial Venule:HEV)に着目したところ、TDTLN は TDPLN よりもその量が少なかった。

【考察】

今後、リンパ節移植は臨床においてますます研究が必要となるものではあるが、少なくともその術式を適応するには、リンパ流の理解が非常に重要である。リンパ流を回復してこそその循環系の回復と言える。そこでまず、解明の進んでいない頭頸部領域の生体のリンパ流の解明に取り組んだ。頭頂部・後頭部のリンパ流は主に後頭リンパ節から Level V へと流れた。一方で、後耳介リンパ節から Level II への流れも確認できた。これらの流れを念頭において、SLNB やリンパ節郭清を施行することが重要であるが、比較的サイズの小さな後頭リンパ節の同定には通常の triple technique(色素法、リンパシンチグラフィ、ガンマプローベ法)に加え、ICG を用いた蛍光リンパ管造影検査が有用であった。そしてリンパドレナージパターンについての知見を十分に得た上で、動物実験を開始した。

リンパ流は腫瘍の転移ルートとしての側面を持つ。本研究の結果、リンパ流の変化によって腫瘍が増悪する可能性が示唆された。一方で、このリンパ流を正常化することで腫瘍増悪が抑制される可能性も示唆され、そのためにはリンパ系の再構築が重要であり、リンパ節移植術はその方法の一つとしてその可能性がある。現在臨床においては、循環系の回復という観点からリンパ節移植が論じられることがほとんどであるが、免疫系の回復・賦活化という効果を有することもまた本術式のもたらす効果として重要であることを認識する必要がある。

リンパ節移植は、リンパ節郭清などによってもたらされるリンパ流の変化を、リンパ流が変化する前に、リンパ節へリンパ管を繋ぎ止め正常化する働きを有していると思われた。そして、移植リンパ節自体も IL-2, IL-4, IFN- γ などのサイトカインを分泌するリンパ球の expansion を促す土台として機能し、腫瘍に抗う免疫系として機能していた。Tumor draining lymph node は腫瘍免疫において重要な役割を担うが、この機能の低下により全身の免疫に関わる他の 2 次リンパ組織である脾臓へも影響を与え、腫瘍を捉えるための SLN の重要性が確認された。

【結論】

生体においてリンパ流は基本的なシステムであるが、非常に重要であり、その正確な解明が必要である。郭清などのリンパ系への侵襲を伴う外科的行為は、このリンパ流の変化を引き起こし、腫瘍の転移増悪を招く可能性がある。その一方で、リンパ節移植などによってもたらされるリンパ系再構築法は腫瘍を抑制する効果が期待できる。正確なリンパ流の把握、外科的行為によるその変化、リンパ節移植などによるリンパ流の回復が腫瘍免疫を論じる上で、欠かすことのできない概念として理解する必要がある。