

論文の内容の要旨

論文題名；迷走神経切離が腸管リンパ装置に及ぼす影響に関する基礎的研究

氏名；三ツ井 崇司

迷走神経の働きに関する新しい知見：抗炎症性経路

迷走神経は近年、炎症性サイトカイン伝達シグナルにおいて重要な役割を果たしていることが明らかになっている。侵襲時の炎症性サイトカイン分泌を抑制、加えて抗炎症性サイトカイン分泌を促進することにより、迷走神経は極めて重要な抗炎症性経路として働いている。

粘膜免疫における腸管リンパ装置 (GALT: Gut-Associated Lymphoid Tissue) の役割

感染を制御する生体防御機構の一つとして粘膜免疫があり、その中で腸管リンパ装置 (GALT) は中心的な役割を果たしている。GALT は主にパイエル板 (Peyer's patches; PP)、粘膜上皮間リンパ球 (intra-epithelial lymphocyte; IEL)、粘膜固有層リンパ球 (lamina propria lymphocyte; LPL) によって構成される。消化管内腔より送られる抗原刺激は PP でリンパ球に提示され、感作されたリンパ球は全身をめぐった後、腸管の IEL や LPL、さらには肺胞や鼻腔粘膜に再分布され、全身で免疫学的バリアーを形成する。特に LPL は様々なサイトカインを産生し、免疫グロブリン A (immunoglobulin A; IgA) の産生も促進する。この GALT のサイズ・機能の保持が全身の感染性疾患の予防につながると考えられており、外科的侵襲をうけた患者ではより重要である。

迷走神経切離と術後の易感染性の関連の可能性

一方、食道癌・胃癌の手術においては、迷走神経は全て切離されることが多い。従来、癌切除根治性が優先されており、迷走神経切離 (迷切) の生体に及ぼす影響については全く明らかになっていないと言っても過言ではない。迷切によって抗炎症性経路が離断され炎症が優位となり、GALT の機能が低下し、それにより感染性合併症が発生しやすくなることが推測されるが、これまで迷切と GALT の関係を詳細に検討した報告はない。そこで本研究は、迷切と粘膜免疫、その中心をなす GALT との関連に焦点をあてて検討することを目的とした。

実験 1. 迷切モデルによる GALT 評価の妥当性に関する予備実験：摂食量と体重変化の評価

ICR マウス (5 週齢) に、横隔膜下での迷切あるいは sham 手術をおこないその後の摂食量と体重変化を経時的に評価した。栄養状態に差があれば粘膜免疫に影響を及ぼす可能性があるが、2 群間に食餌摂取量・体重に有意差を認めず、迷切は全身の栄養状態に対し著明な変化を及ぼしていないと考えられた。

実験 2. 迷切後の GALT 評価のタイミング決定に関する予備実験

予備実験として、迷切群、sham 群を各 n=5~8 作成して POD (post operative day) 14, POD20, POD30, POD50 に PP, IEL, LPL のリンパ球数をそれぞれ測定した。その結果、POD14 には sham 群に比べ迷切群で細胞数が減少する傾向が見られたが、20 日以降では両群間に明らかな差は見られなかった。また部位別には、PP や IEL に大きな群間の違いが見られず、LPL のリンパ球数に影響が大きいと推察された。よって以下の本実験では POD14, 20 での評価をおこなうこととした。

実験 3. 迷切が腸管のサイトカイン環境におよぼす影響

既報では、迷切の有無によって侵襲直後の血漿中のサイトカイン値に著明な差が出ることは知られている。一方、迷走神経末端は小腸の粘膜下層まで末梢枝を伸ばしていることから、迷切によって腸管局所においてもサイトカイン値に変化が生じる可能性がある。腸管局所のサイトカインは、GALT における T 細胞・B 細胞の分化や分泌型 IgA の分泌を制御し、局所の炎症・抗炎症性反応のバランスを担う重要なメディエーターである事が知られている。そのため、迷切により腸管のサイトカイン環境が変化し、それにより IgA 値などに影響を与える可能性があると考えた。

しかしこれまで、腸管局所のサイトカイン環境が迷切によってどのような影響を受けるか検討した報告は無い。今回、まずは迷切の有無が腸管サイトカイン値に及ぼす影響を検討した。迷切群と sham 群を作成し、POD14 (sham: vagotomy, n=9: 11) と POD20 (n=9: 10) に犠死せしめた。

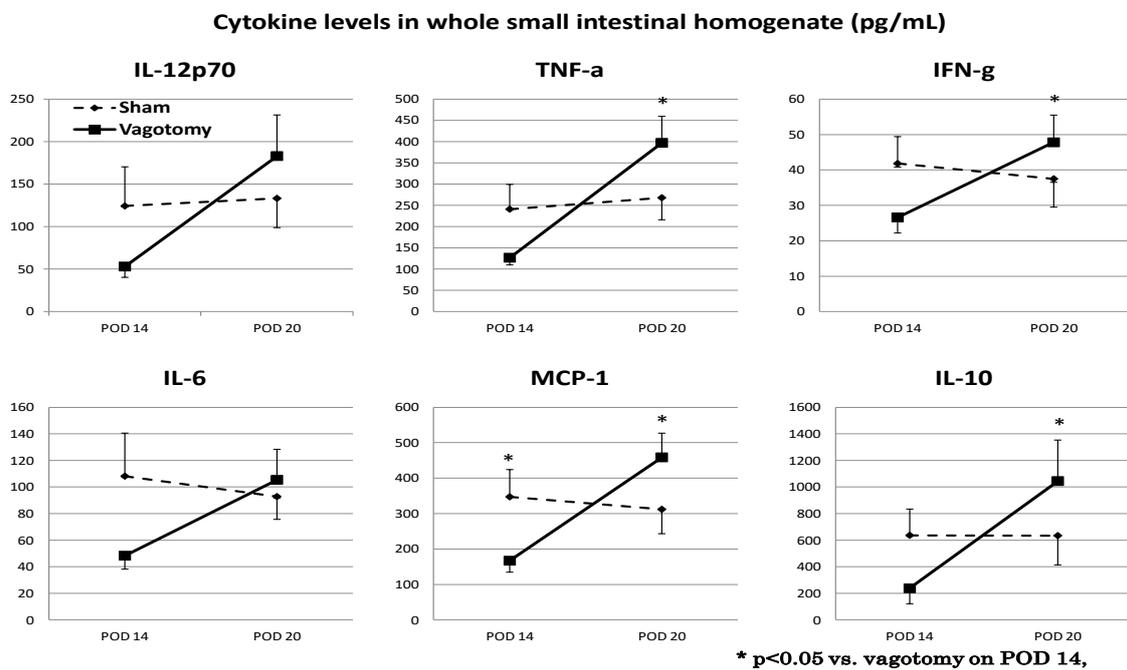


図 1 ; 全小腸ホモジネート液のサイトカインレベル

腸管サイトカイン値は、sham 群で経時的な変化が無かった一方、迷切群の炎症性・抗炎症性サイトカインは共に、POD14 と POD20 の間で有意差を認めた (図 1)。血漿中サイトカイン値はいずれの群間でも有意差を認めなかった。炎症性サイトカインのみならず抗炎症性サイトカインも同様の変化を示した事から、迷切によりサイトカイン産生が全般的に低下する生体反応低下状態となる可能性が示唆された。したがって以下の実験で、サイトカイン環境によって制御を受ける GALT の細胞数や粘膜より分泌される IgA 値を測定して、腸管免疫バリアー機能が迷切によって実際に影響を受けるのか検討することとした。

実験 4. 迷切が GALT および粘膜の分泌型 IgA 値に及ぼす影響

感作リンパ球は腸管、肺胞や鼻腔粘膜に再分布され、IgA を分泌する。IgA 分泌は多数のサイトカインによって複合的にコントロールされている。迷切後のサイトカイン値の変化が腸管免疫にどのような影響を及ぼすか検討することを目的に、GALT リンパ球数、腸管、鼻腔、肺胞洗浄

液 IgA 値、を測定した。その結果、迷切群において、LPL 細胞数は POD14 には低値を示したが POD20 には sham 群と同じレベルに増加した。腸管、鼻腔、肺胞洗浄液中の IgA 値も同様に POD14 には低値であったが POD20 には上昇し、LPL 細胞数と同様の変化を示した。このように腸管において IgA 分泌を担う LPL 細胞数と、腸管 IgA 値が関連した動きを示していた。

実験 3 において、迷切によって POD14 の腸管の炎症性・抗炎症性サイトカインが共に低下することから、迷切後早期の“免疫不応答”状態が推察されたが、実際に GALT リンパ球数と粘膜各所の IgA 値も POD14 には低下しており、迷切による粘膜免疫低下が示唆された。一方、POD20 には腸管サイトカイン値、GALT リンパ球数、粘膜 IgA 値はいずれも sham 群と同等のレベルに復しており、迷切に伴う粘膜免疫低下状態は一時的であると考えられた。Sham 群ではいずれの群間においても有意差を認めなかった。

GALT のリンパ球数・分泌型 IgA 値の低下が実際に感染に対する抵抗力減弱につながるか否かについては、今後さらなる検討を加える必要がある。

実験 5. 迷切が lipopolysaccharide (LPS) 刺激下の GALT 及び粘膜の分泌型 IgA 値に及ぼす影響

高度の外科侵襲やエンドトキシン投与は、全身性に高度の炎症反応を引き起こすのと同時に GALT に影響を及ぼし腸管免疫を低下させることが知られている。迷走神経は重要な抗炎症性経路であるため、侵襲モデルでは炎症反応が sham 群に比べ迷切群でより増悪する可能性があると考えた。

本実験では、迷切後の手術侵襲から回復した POD5 に LPS 50 μ g/body を腹腔内に投与し、POD8 に GALT 細胞数と分泌型 IgA 値の測定を行った。

その結果、Sham 群では既報の通り LPS 投与によって PP・IE リンパ球数が有意に低下したが、迷切群では LPS 投与による GALT リンパ球数減少が認められなかった。腸管、鼻腔、肺胞の洗浄液中 IgA レベルは、sham 群も迷切群も LPS 投与による変化はみられなかった。

仮説とは逆に、迷切を行うと、LPS 投与を行ってもリンパ球数が低下しなかった。その原因は今回の研究では明らかではないが、実験 3 で明らかになったように、迷切後の一時的なサイトカイン反応低下が一つの機序となっている可能性がある。本実験の結果から、POD8 では迷切群と sham 群の間で GALT 細胞数、IgA 値の差が見られない事も明らかになった。

結語

本研究結果をまとめると、迷走神経切離の影響として

- 1) POD14 に比較して POD20 は、腸管サイトカイン値、GALT 細胞数、IgA 値、いずれも有意に上昇し、sham 群と同じレベルに復する。
- 2) POD20 以降は、腸管サイトカイン値、GALT 細胞数、IgA 値、いずれも sham 群と同じレベルとなる。
- 3) 迷切後の術後早期 (POD8) には、GALT 細胞数や IgA 値に影響を及ぼさないが、sham 群でみられる LPS 投与後の GALT 細胞数減少がみられなくなる。

以上のことが判明した。

POD8～14の時期におけるGALTの異常が迷切の特徴の一つと考えられる。この時期の一時的な腸管粘膜免疫能の低下、サイトカイン反応性の低下が示され、術後早期は“免疫不応答”の状態となっている可能性が示唆される。

本研究にて、迷走神経切離が腸管免疫へ変化をもたらす事が初めて明らかになった。迷切のみで既に腸管免疫に変化が起きている時期があることを示したのは本研究が初めてであり、機序として免疫不応答の可能性を初めて示した。

本研究で示された迷切後の粘膜免疫の変化は、今後迷切を標準術式としている食道癌・胃癌手術の術後管理の在り方に影響を及ぼす可能性がある。POD8におけるLPSに対するGALTの不応性が生体に有利に作用するかあるいは不利に作用するかは、残念ながら本研究では明らかにできなかったが、POD14における腸管サイトカイン値の全般的な低下とそれに伴うGALTリンパ球数・粘膜IgA値低下は、粘膜防御システムの破綻を示唆する。迷切を伴う上部消化管手術後に生じる感染性合併症発生と何らかの関連を有している可能性がある。