

# 交感神経制御による肥満起因性膵癌の発生抑制

岡山大学病院 消化器・肝臓内科学

赤穂 宗一郎

## I 要 旨

日本における膵臓癌の新規患者は年間 4 万人に上る。さらに、膵癌の予後は 5 年生存率が 10% と不良であり、膵癌の予防・治療の両面で早急な進展が望まれている。その状況下、近年になり、膵臓に分布する交感神経が正常な膵腺房細胞を前がん病変である腺管類似細胞に変化させ、膵癌発生を促進することが明らかとなった。

膵癌の発生に関しては①肥満がリスク因子である、②肥満では交感神経が亢進する、③交感神経はマクロファージを炎症性マクロファージとする、④炎症性マクロファージは膵癌発生に寄与するなどの報告があるが、それぞれは個別の報告である。申請者はこれらが一貫性を持った機序であると考え、本研究では遺伝子改変膵癌モデルマウスを用いて、腹腔神経叢を外科的に切除することで膵臓への交感神経刺激を制御し、膵癌発生を抑制することを目的としている。

本研究は継続中であるが、現段階で膵臓の腺房細胞に交感神経が分布していることを確認し、Tyrosine hydroxylase 抗体によりマウスの腹腔神経叢の同定を行っている。また、遺伝子改変膵癌モデルマウス (LSL:Kras<sup>G12D</sup>;Pdx1-CRE) を用いて腹腔神経叢切除後に高脂肪食を給餌しており、現在は体重変化の観察を行っている。

## II 背景・目的

日本では、現在 BMI 25kg/mm<sup>2</sup> 以上の肥満は男性の約 33%、女性の約 22% を占めている。現在までに膵癌・腎細胞癌・悪性黒色腫など 13 種類の癌腫において肥満がリスクファクターであることが分かっている。膵癌においては、複数のコホート研究より肥満が膵癌発生のリスクファクターであると同時に膵癌の予後を悪化させることが分かっており、肥満は生活習慣病のみならず膵癌に関しても重要課題となっている。肥満と発癌のメカニズムには、脂肪細胞からのアディポネクチン分泌、サイトカインによる炎症、腸内細菌叢、脂肪酸の代謝異常を中心に報告されており、申請者は肥満と膵癌の関係においてマクロファージを中心とした炎症性サイトカインが膵癌発生に重要であることを報告している。

一方、近年になり、交感神経と発癌に関連する研究が報告されはじめており、新たな発癌抑制のターゲットとして注目されている。膵癌に関しては交感神経から分泌されるノルアドレナリンの作用により、膵腺房細胞を前がん病変である膵腺管類似細胞に変化させることが明らかとなっている。この膵腺管類似細胞は Kras などの遺伝子変異が付加することで癌化することが分かっており、膵臓内の交感神経が膵癌発生の起点として非常に注目されている。さらに、マウスにおいてストレスを与えることで交感神経活動を亢進すると膵癌発生を促進することが分かりその重要性を増している。

このように、肥満と交感神経のそれぞれは膵癌の発症に寄与していることが分かっているが、膵癌発症の過程で両者がどのように相互的関連を有しているかは分かっていない。

以前より、肥満では脂肪細胞から分泌されるレプチンにより交感神経活動が上昇することが分かっており、上記の背景を含めると、肥満での膵癌発症の機序として、①肥満によりレプチンの分泌が促進し、交感神経活動が亢進 ②交感神経活動により膵腺房細胞が前がん病変である膵腺管類似細胞に変化 ③ Kras 等の Driver mutation が加わり膵癌へ発展 というメカニズムが考えられる。

本研究では、肥満における膵癌発症メカニズムに交感神経が重要な役割を担っていることを証明し、さらに交感神経を制御することで肥満における膵癌発症が抑制されることを証明する。これらは膵癌発症予防における新規分野であり将来的に臨床応用が期待できる。

### III 方法

**小目的① 膵臓内における交感神経走行の同定ならびに交感神経受容体の有無確認**

野生型マウスより膵組織を摘出し、ホルマリン固定パラフィン包埋ブロック (FFPE) を作成。15  $\mu\text{m}$  に薄切し Throsine Hydroxylase 抗体で染色の後、共焦点顕微鏡にて交感神経走行を観察。膵組織における交感神経受容体の有無を確認するために膵組織を採取後、RNA を抽出しリアルタイム PCR を用いて、交感神経受容体 ARDB1・ARDB2・ARDB3 の存在を確認する。また、免疫蛍光染色にて交感神経受容体の分布を確認する。

**小目的② 食餌性肥満 / 膵癌モデルマウスを用いた交感神経による膵癌発生抑制 (In Vivo)**

遺伝子改変膵癌モデルマウス (KC マウス: LSL:Kras<sup>G12D</sup>;Pdx1-CRE) を生育し、6-8 週齢

時にイソフルランで麻酔下に膵臓を支配する交感神経節である腹腔神経節を外科的に切除する。閉腹後、高脂肪食 (脂肪由来カロリー 60% 含有) もしくは通常食を給餌する。36 週齢まで生育した後に、膵癌のサイズ・転移巣の有無を評価し腹腔神経叢切除群での膵癌予防効果について検証を行う。また、腫瘍組織や膵臓での交感神経密度やアドレナリン受容体量の評価を行う。

**小目的③ 交感神経制御による膵癌の前がん病変形成の抑制 (In vitro)**

膵臓に Kras 変異を有したマウスから膵腺房細胞を単離し、交感神経分泌物質を添加する。膵腺房細胞が前がん病変である膵腺管類似細胞に変化することを確認し、その遺伝子発現変化を評価する。

## IV 結果

1). 膵臓内交感神経の確認

15 週齢の野生型マウスにて Throsine Hydroxylase 抗体を用いて膵臓内に走行する交感神経の同定を行った。膵頭部～膵尾部全域にわたり交感神経の走行が確認可能であった、さらに交感神経の機能の一つとして膵ランゲルハンス島への刺激によるグルカゴン分泌であるが、交感神経は膵ランゲルハンス島に集中はしておらず、膵腺房細胞部分にも広く分布していることを確認した (図 1)。一方で、マウス膵臓から抽出した RNA を解析すると、膵腺房細胞には交感神経受容体である ADRB1・ADRB2・ADRB3 のうち、ADRB1 と ADRB2 が発現しており、ADRB3 は発現がないことが分かった (データ提示はなし)。同様に野生型マウスの膵組織を、ARDB2 抗体を用いて染色すると、図 2 の如く膵腺房細胞に均一に交感神経受容体が発現していることが明らかとなった。

## 2). 腹腔神経叢の確認及び切除

野生型マウスを開腹下に下行大動脈、腹腔動脈および上腸間膜動脈を同定し、その周囲組織とともに摘出し Throsine Hydroxylase 抗体により腹腔神経叢の所在を同定した。その結果を元に、野生型マウスをイソフルラン麻酔下に開

腹し腹腔神経叢の切除を行い、下行大動脈、腹腔動脈および上腸間膜動脈を摘出し、病理組織で腹腔神経叢が切除できていることを確認した。(図 3 に腹腔神経叢切除前後の写真及び同部位の病理写真を提示)

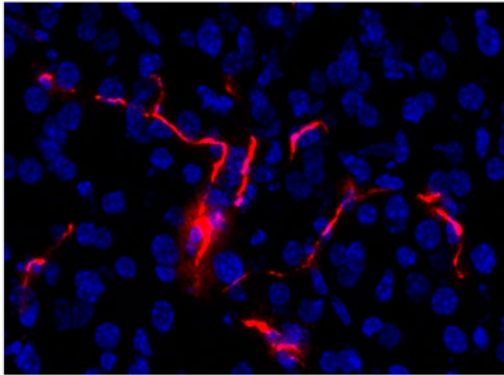


図 1 膵臓内を走行する交感神経

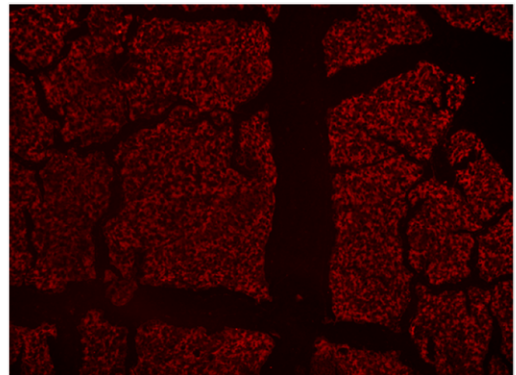


図 2 マウス膵組織でのARDB2発現

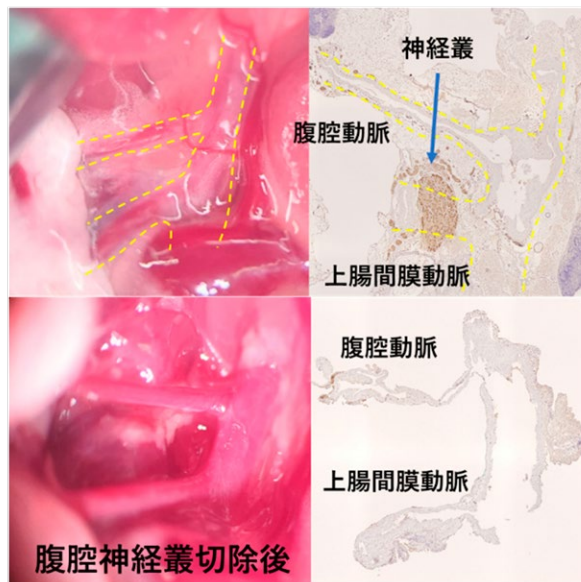


図 3 マウス腹腔神経叢

### 3). 腹腔神経叢切除と高脂肪食給餌による体重変化

KC マウスを①腹腔神経叢切除 (Gx) + 高脂肪食、② Sham + 高脂肪食、③ Sham + 通常食の3群での処置を行った。現在、各群数匹ずつの処置の遂行ならびに生育中である。现阶段では体重変化率の経過を観察している (図4)。コントロールである Sham + 高脂肪食群は Sham + 通常食群に比し体重増加を来しているが、Gx + 高脂肪食群では体重増加率が低い傾向にある。今後、各群8匹ずつとし処置を行い、生育予定である。

小目的③については今後行う予定である。

## V 考 察

本研究では交感神経が膵腺房細胞にも走行しており、交感神経受容体である ADRB2 を発現していることを明らかにした。現在まで交感神経の刺激が正常な膵腺房細胞に及ぼす作用についての報告は少ない。今後、腹腔神経叢切除による膵臓内の交感神経量や分布の変化を確認することで膵癌発生との関連を詳細に検討が可能と考える。

高脂肪食摂取後の体重変化についてはメスで

は処置数が少なく評価が困難であるが、オスでは Sham + 高脂肪食群では順調に増加しているものの、Gx + 高脂肪食群では増加が緩やかとなっている。この原因として、腹腔神経叢切除の侵襲が大きいことや処置により腹腔内に癒着がおこり食餌摂取に影響を及ぼしている可能性が考えられる。また、腹腔神経叢は腸管運動を支配しており、実臨床において膵癌患者の疼痛コントロール目的に腹腔神経叢ブロックを行った場合にも下痢症状が出現する。マウスにも同様の事象が起こっている可能性があり、今後の体重増加率により適宜処置方法の再検討を行う。

本実験は計画通り遂行中である。今後、マウスの体重変化記録と共に肥満が膵癌発生に及ぼす影響ならびに交感神経制御による膵癌予防の可能性を評価する。

### 参考文献

- 1) Renz BW, Takahashi R, Tanaka T, Macchini M, Hayakawa Y, Dantes Z, et al. beta2 Adrenergic-Neurotrophin Feedforward Loop Promotes Pancreatic Cancer. *Cancer Cell*. 2018; 33(1): 75-90 e7.
- 2) Babic A, Bao Y, Qian ZR, Yuan C, Giovannucci EL, Aschard H, et al. *Pancreatic Cancer*

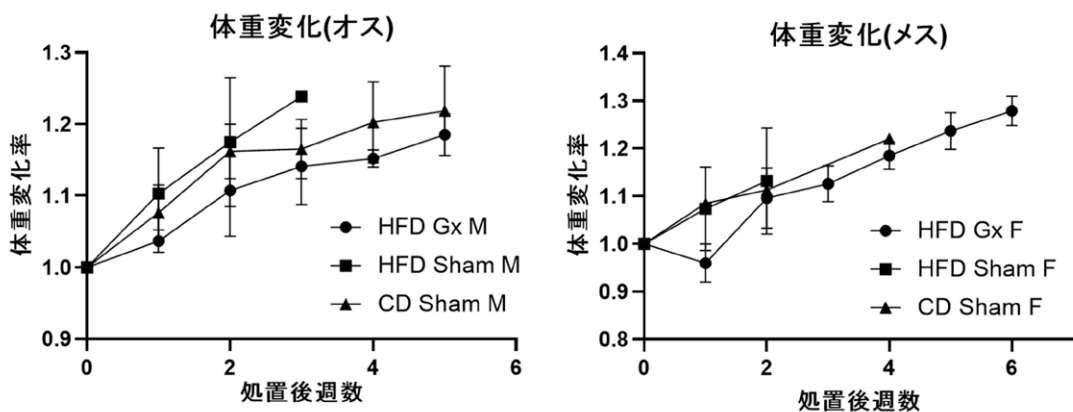


図4 マウスの体重増加率

Risk Associated with Prediagnostic Plasma Levels of Leptin and Leptin Receptor Genetic Polymorphisms. *Cancer Res.* 2016; 76(24): 7160-7.

- 3) Eibl G. Endocrine-exocrine signals in obesity-associated pancreatic cancer. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2020; 17(8): 455-6.