

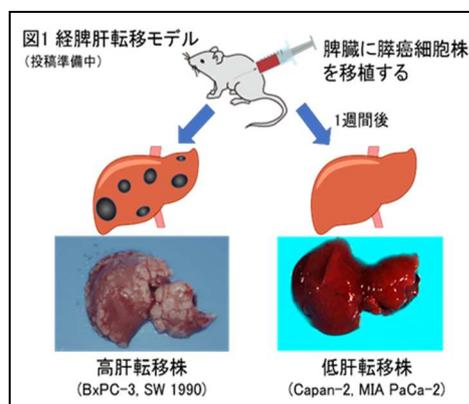
臨床応用を目指した膵癌におけるインターロイキン1 α の機能解析

名古屋市立大学 消化器外科

齊藤 健太

1.緒言

膵癌の予後は極めて悪く、消化器癌の中でも既存の治療法は限局的であり難病である。外科医の立場からみても、根治手術を行っても、すぐに転移を生じて再発することを临床上よく経験する。転移のメカニズムを解明し、これをコントロールすることは膵癌の予後を改善すると考えられる。一方、われわれは今までに、転移のメカニズムを解明することを目的に、動物実験モデルを用いて、膵癌細胞株を高肝転移株と低肝転移株に分類することに



成功した (図 1)。さらに網羅的な遺伝子の解析を行い、高肝転移株のみに炎症性サイトカインのインターロイキン1 α (IL-1 α) が発現していることをつきとめた¹⁾。炎症は膵癌の重要なリスクファクターの一つであるが、肝転移における IL-1 α の役割はいまだ十分に解明されていない。IL-1 α の役割を解明し、これをコントロールすることは膵癌の予後の改善につながる。本研究では、(1)膵癌における IL-1 α の機能解析を行うことにより、肝転移における IL-1 α の役割を解明し、(2)IL-1 α のレセプター拮抗薬である IL-1ra に着目し、その抗腫瘍効果を検討することを目的とした。

2.方法

(1) 膵癌における IL-1 α の機能解析

(A) 網羅的遺伝子解析による標的遺伝子の同定

(A1) 高肝転移膵癌細胞株と低肝転移膵癌細胞株を用いて網羅的遺伝子解析を行い、高肝転移化株のみに炎症性サイトカインの IL-1 α が発現していることを確認する。

(A2) RT-PCR および ELISA で高肝転移株における IL-1 α の発現を確認する。

(B) IL-1 α が制御するサイトカインの同定

(B1) 膵癌細胞株に IL-1 α および IL-1 α Ab (IL-1 α の中和交代) を作用し、膵癌細胞株由来血

管新生因子の産生量の変化をサイトカインアレイで検討する。

(B2) 同様に膵癌細胞株と間質（線維芽細胞）を共培養した培養上澄を用いて、共培養によって間質から産生が増加する血管新生因子を検討する。

(B3) (B1)および(B2)をもとに、増加するサイトカインを Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) を用いて定量比較する。

(C) 転移能と血管新生能の関連と IL-1 α の関与

(C1) 膵癌細胞株、線維芽細胞および血管内皮細胞を共培養する in vitro angiogenesis assay で、転移能の異なる膵癌細胞株の血管新生能を比較検討する。

(C2) (C1)に IL-1 α Ab を用いて IL-1 α シグナルを抑制し、血管新生能の変化を検討する。

(C3) 同様に、(B)で同定した血管新生因子を抑制し、これら血管新生因子の関与を検討する。

(2) IL-1ra (IL-1 α 受容体拮抗薬の効果の検討)

(A) 血管新生因子産生亢進に対する IL-1ra の効果の検討

(A1) 高肝転移膵癌細胞株に IL-1ra を作用し、(1)(B1)で同定した膵癌細胞由来血管新生因子の産生変化を ELISA で検討する。

(A2) 同様に IL-1ra による(1)(B2)で同定したサイトカインの産生量の変化を ELISA で検討する。

(B) IL-1ra の抗血管新生効果の検討

in vitro angiogenesis assay で、膵癌との共培養によって亢進した血管新生能に及ぼす IL-1ra の効果を検討する。

(C) IL-1ra の転移抑制効果の検討 (in vivo)

ヌードマウス経脾肝転移モデルを用いて、IL-1ra の腹腔内投与による転移抑制効果を検討する。

3.結果

(1)膵癌における IL-1 α の機能解析

(A) 網羅的遺伝子解析による標的遺伝子の同定

(A1) 高肝転移膵癌細胞株と低肝転移膵癌細胞株を用いて網羅的遺伝子解析を行った結果、高肝転移化株のみに炎症性サイトカインの IL-1 α が標的遺伝子として候補にあがった。

(A2) RT-PCR および ELISA で高肝転移株のみに IL-1 α が発現していることを確認した。

(B) IL-1 α が制御するサイトカインの同定

(B1) IL-1 α および IL-1 α Ab (IL-1 α の中和交代) を用いて、膵癌細胞株由来血管新生因子の産生量の変化をサイトカインアレイで検討した結果、炎症性サイトカイン IL-8 の産生が IL-1 α によって制御されていることが確認できた。

(B2) 同様に間質（線維芽細胞）に IL-1 α で刺激を行うと、血管新生因子の一つである HGF の産生が亢進することが確認できた。また、高肝転移膵癌細胞株との共培養で線維芽細胞由

来の HGF の産生が亢進し、これは IL-1 α シグナルの抑制で低下することが確認できた。

(B3)ELISA にて (B1) および (B2) を定量的に確認し、IL-1 α は autocrine に作用し IL-8 の産生を制御し、paracrine に作用して HGF の産生を制御していることを確認した。

(C) 転移能と血管新生能の関連と IL-1 α の関与

(C1) 膵癌細胞株、線維芽細胞および血管内皮細胞を共培養する in vitro angiogenesis assay で、転移能の異なる膵癌細胞株の血管新生能を比較したところ、膵癌における血管新生能と転移能は相関していることが確認された。

(C2)(C1)に IL-1 α Ab を用いて IL-1 α シグナルを抑制し、血管新生能の変化を検討し、このシグナルの抑制で膵癌の血管新生能が低下することを確認した。

(C3) 同様に、IL-1 α が産生を制御している IL-8 のシグナル抑制で膵癌の血管新生が低下することを確認した。

(2) IL-1ra (IL-1 α 受容体拮抗薬) の効果の検討

(A) 血管新生因子産生亢進に対する IL-1ra の効果の検討

(A1) IL-1ra は高肝転移細胞株由来 IL-8 の産生量を抑制した。

(A2) IL-1ra は高肝転移株に作用し IL-1 α シグナルを抑制、その結果、間質由来の HGF の産生を低下した。

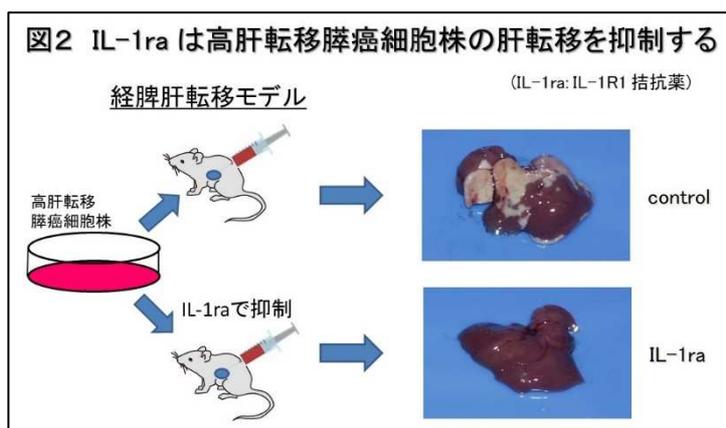
(B) IL-1ra の抗血管新生効果の検討

in vitro angiogenesis assay で、膵癌との共培養によって亢進した血管新生能を IL-1ra は抑制した。

(C) IL-1ra の転移抑制効果の検討 (in vivo)

ヌードマウス経脾肝転移モデルで、

IL-1ra の腹腔内投与は肝転移を抑制した (図 2)。



4.考察

IL-1 はサイトカインと呼ばれる生理活性物質の一種であるインターロイキンの中でも最初に同定された分子である。炎症反応に深く関与し、炎症性サイトカインと呼ばれるグループに含まれる。IL-1 には現在 IL-1 α と IL-1 β の 2 種類が同定されている²⁾。今回われわれは膵癌肝転移に IL-1 α は重要な役割を果たしており、そのシグナルの抑制は転移能を低下させることを解明した。

IL-1 受容体拮抗薬(IL-1ra)は IL-1 受容体に結合して IL-1 α 及び IL-1 β と競合的に拮抗し、IL-1 の生理活性の発現に対して抑制的に働くタンパク質である。IL-1 のそれぞれに対して相同性を示す。IL-1 と IL-1ra のバランスが崩れ、IL-1 優位になったときに関節リウマチな

どの疾患が生じる。われわれは、IL-1ra は *in vitro* および *in vivo* で IL-1 α により誘導された転移能を抑制することを明らかにした。関節リウマチ、敗血症ショック、急性骨髄性白血病、炎症性腸疾患などで IL-1ra 投与による病態の改善が数多く報告され、治療薬としても注目されている。特に関節リウマチ治療薬として IL-1ra (Anakinra) が海外で認可されている。今後は膵癌といった悪性腫瘍への応用がまたれるところである。

5.結語

今回われわれは、膵癌肝転移に IL-1 α は重要な役割を果たしており、そのシグナルの抑制は転移能を低下させることを解明した。さらに IL-1 α の受容体拮抗薬である IL-1ra は *in vitro* および *in vivo* で IL-1 α により誘導された転移能を抑制することを明らかにした。IL-1ra (Anakinra) は関節リウマチの治療薬として海外で認可されており、今後は膵癌といった悪性腫瘍への応用が期待される。

6.文献

- 1) Matsuo Y, Sawai H, Funahashi H, et al. Enhanced angiogenesis due to inflammatory cytokines from pancreatic cancer cell lines and relation to metastatic potential. *Pancreas*. 2004 Apr;28(3):344-52. PMID: 15084984
- 2) Matsuo Y, Sawai H, Ochi N, et al. Interleukin-1alpha secreted by pancreatic cancer cells promotes angiogenesis and its therapeutic implications. *J Surg Res*. 2009 May 15;153(2):274-81. PMID: 18952231