

令和元年6月6日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10606

研究課題名(和文) 臨床応用を目指した、膵癌血管新生におけるIGF1シグナルの解明

研究課題名(英文) Analysis of IGF 1 signal in pancreatic cancer angiogenesis

研究代表者

松尾 洋一 (MATSUO, YOICHI)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号：40381800

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：膵癌は消化器癌のなかでも悪性度の非常に高い癌である。既存の治療は十分に満足いくものではなく、新たな分子標的薬剤の開発は急務である。インスリン様成長因子(IGF)-1は通常は肝臓で産生される成長ホルモンで、癌の増殖・浸潤に関与することが報告されている。一方、膵癌由来IL-8は腫瘍血管新生を亢進することを報告してきた。本研究では、今までの我々の研究成果をふまえ、IGF-1が膵癌細胞に作用してPI3K/AKT/mTOR/NF- $\kappa$ Bシグナルを介してIL-8の産生を制御していることを解明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膵癌は難治性で、新規治療薬の開発は緊急の課題である。一方、膵癌のリスクファクターには糖尿病があり、インスリン様成長因子(IGF)-1はかねてから治療の標的として研究されてきたが、その成果は不十分であった。本研究では、IGF-1が腫瘍血管新生因子のIL-8の産生を亢進するメカニズムを世界に先駆けて解明した。IGF-1をターゲットとした分子標的薬剤の開発は世界レベルで進められており、臨床応用へ向けた重要な研究であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Pancreatic cancer has high grade malignancy among all digestive cancer. Existing treatments are not completely satisfactory, and the development of new molecular target drugs for pancreatic cancer is urgently needed. Insulin-like growth factor (IGF) -1 is a growth hormone which is produced in the liver and has been reported to be involved in cancer growth and invasion. On the other hand, we previously reported that pancreatic cancer-derived IL-8 enhances tumor angiogenesis. In this study, based on our previous research, we elucidate that IGF-1 acts on pancreatic cancer cells and regulates the production of IL-8 through PI3K/AKT/mTOR/NF- $\kappa$ B signal.

研究分野：消化器外科

キーワード：膵癌 血管新生 IGF-1 サイトカイン IL-8

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

膵癌は消化器癌のなかでも悪性度の非常に高い癌である。根治手術を行っても5年生存率は20%に満たなく、切除不能の患者も多い。抗癌剤や放射線治療が選択されるが、その効果は十分に満足のものではなく、新たな分子標的薬剤の開発は急務である。

インスリン様成長因子(IGF)-1は通常は肝臓で産生される成長ホルモンで、癌の増殖・浸潤に関与することが報告されている。我々も今までに、IGF-1がPI3K/AKTシグナルを介して膵癌増殖に影響することを報告してきた<sup>1)</sup>。しかしながらそのメカニズムは十分に解明されていない。一方、膵癌では、腫瘍由来CXCL8/IL-8が癌間質相互作用により血管新生を亢進することをin vitroおよびin vivoで確認し、その制御が抗腫瘍効果をもつことを報告している<sup>2-4)</sup>。また、CXCL8/IL-8の発現には、転写因子NF- $\kappa$ Bの活性化が関与していることを確認している<sup>5)</sup>。これらの結果をもとに、IGF-1がPI3K/AKT/mTOR/NF- $\kappa$ Bを介してCXCL8/IL-8の発現を制御し、膵癌血管新生を亢進することを確認する。また、IGF-1シグナルをターゲットとした分子標的薬の開発も進んでおり、IGF-1シグナルの制御が膵癌治療の新たな分子標的薬剤の役割を果たすことを検討し、臨床応用を目指す。

#### <参考文献>

- 1) Ma J, Matsuo Y, et al. J Surg Res. 2010;160:90-101.
- 2) Matsuo Y, et al. Pancreas 2004;28: 344-52
- 3) Matsuo Y, et al. International Journal of Cancer, 2009;125: 1027-1037.
- 4) Matsuo Y, et al. International Journal of Cancer, 2009;124: 853-861.
- 5) Matsuo Y, et al. Dig Dis Sci 2010; 55: 1167-1176

### 2. 研究の目的

膵癌は診断時にはすでに進行しており、手術適応のない膵癌患者も多い。そのような場合には化学療法や放射線治療が選択されるが、その効果は十分に満足のものではない。本邦でも近年、FOLFIRINOXやGemcitabine + nabPTX併用療法といった化学療法が保険適応になったが、膵癌治療のbreak throughには至っておらず、新たな治療薬の開発は急務である。我が国の膵癌患者の既往歴では、糖尿病が25.9%と最も多いと報告され、糖尿病における膵癌リスクは約2倍である。それには、インスリンの過剰あるいはインスリン抵抗性、それに引き続くIGFの産生亢進が膵癌発症に深く関わっていると報告されている<sup>6)</sup>。

一方、我々は今までに、CXCL8/IL-8といったサイトカインが膵癌血管新生を亢進し、その抑制が抗腫瘍効果をもつことを報告してきた。

我々はすでに、予備実験でIGF-1が膵癌細胞に作用してCXCL8/IL-8の発現を亢進することを確認している。同時にIGF-1が膵癌のPI3K/AKTを活性化することも確認しており、その下流の転写因子NF- $\kappa$ Bに作用することも推察され、この経路がCXCL8/IL-8発現に関与していると考えられる。この経路はCXCL8/IL-8を介した血管新生のみでなく、他の成長因子発現や抗アポトーシス作用を引き起こし、腫瘍増殖に関わっている。よってIGF-1/IGF-1R axisの制御は膵癌治療の新たな分子標的薬剤の役割を果たすと考えられる。この分野においては、当教室と、研究代表者である松尾洋一が留学し共同研究を行ってきたMD Anderson Cancer Centerが先駆者の役割を果たしている。CXCL8/IL-8をターゲットとしたIGF-1/IGF-1Rシグナルの研究は他になく、今までの我々の研究結果に基づいた非常に新鮮なアイデアを有している。本研究により、膵癌の新たな分子標的薬剤の開発につながると考えている。

#### <参考文献>

- 6) Li D. Diabetes and pancreatic cancer Mol Carcinog. 2012 51; 64-74

### 3. 研究の方法

#### (1)膵癌におけるIGF-1R発現の検討

膵癌細胞株(BxPC-3, SW1990, AsPC-1, MIA PaCa-2, Panc-1)を用いてRT-PCRおよびWestern BlotでIGF-1の受容体であるIGF-1Rの発現を検討した。

#### (2)IGF-1が膵癌細胞のCXCL8/IL-8産生に及ぼす影響の検討

膵癌細胞株MIA PaCa-2およびSW1990をIGF-1で刺激してIL-8の発現の変化をqPCRで検討した。

#### (3)IGF-1の下流シグナルの解明

IGF-1がIL-8の発現を亢進するシグナルを検討した。

膵癌細胞株(BxPC-3, SW1990, AsPC-1, MIA PaCa-2, Panc-1)をIGF-1で濃度依存的に刺激をし、リン酸化PTENの発現の変化をp-PTEN sandwich ELISAで検討した。

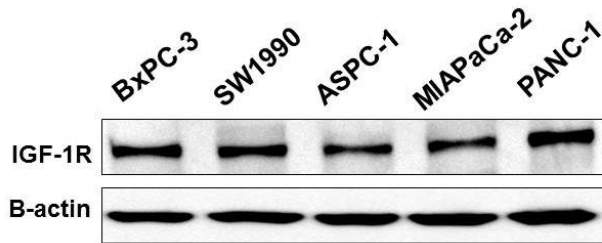
膵癌細胞株を用いてPTENをsiRNAで抑制し、pNF- $\kappa$ Bの発現の変化をWestern Blotで検討した。また、PI3K inhibitorおよびAKT inhibitorを用いてその関与を検討した。

BxPC-3, MIA PaCa-2, およびCapan-2を用いてsi-PTENおよびPI3K inhibitorを用いてp-AKTの発現の変化をWestern blotで検討した。

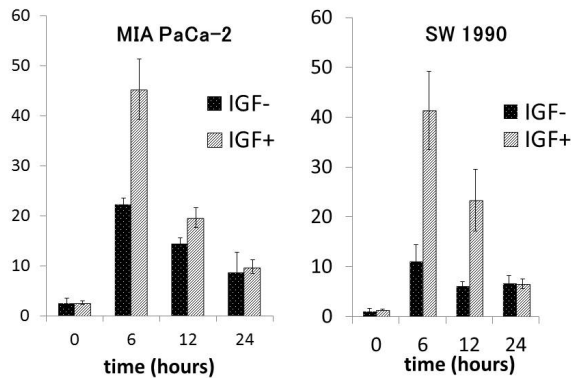
### 4. 研究成果

#### (1)膵癌におけるIGF-1R発現の検討

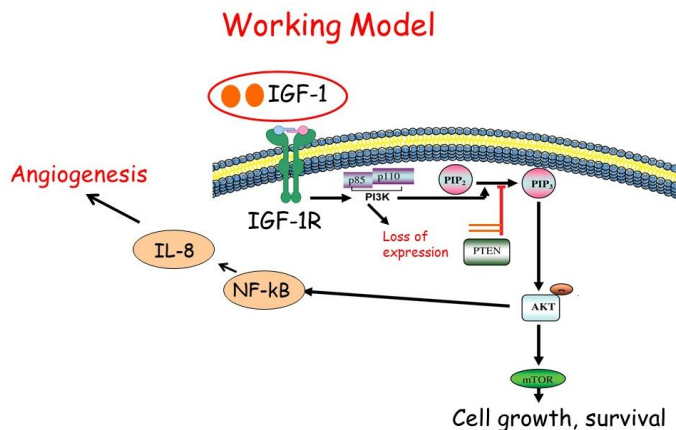
すべての膵癌細胞株で IGF-1R の発現を RT-PCR および Western Blot で確認した。



(2) IGF-1 が膵癌細胞の CXCL8/IL-8 産生に及ぼす影響の検討  
IGF-1 の刺激により，膵癌細胞株の IL-8 産生が亢進することを確認した。



(3) IGF-1 の下流シグナルの解明  
IGF-1 が PI3K/AKT/mTOR/NF- $\kappa$ B を介して IL-8 の産生を亢進し，それに癌抑制遺伝子 PTEN が関与していることを証明する。



IGF-1 は濃度依存的に PTEN の発現を減弱し，それは PI3K inhibitor で抑制された。

IGF-1 は NF- $\kappa$ B を活性化し，それは PTEN を抑制することによりさらに亢進した．このシグナルには PI3K/AKT が関与していると考えられた。

PTEN の抑制により AKT は活性化し，それは PI3K inhibitor で抑制された。

以上より IGF-1 が PI3K/AKT/mTOR/NF- $\kappa$ B を介して IL-8 の産生を亢進し，それに癌抑制遺伝子 PTEN が関与していることが証明された。

## 5 . 主な発表論文等

[ 雑誌論文 ] ( 計 12 件 )

Eicosapentaenoic acid suppresses angiogenesis via reducing secretion of IL-6 and VEGF from colon cancer-associated fibroblasts. Ando N, Hara M, Shiga K, Yanagita T, Takasu K, Nakai N, Maeda Y, Hirokawa T, Takahashi H, Ishiguro H, Matsuo Y, Takiguchi S. *Oncol Rep.* 2019 May 2. doi: 10.3892/or.2019.7141. PMID: 31059084 査読あり

Laparoscopic extraperitoneal sigmoid colostomy using the totally extraperitoneal hernia repair technique after abdominoperineal resection for rectal cancer. Takahashi H, Takasu K, Nakaya S, Yanagita T, Ando N, Nakai N, Maeda Y, Shiga K, Hirokawa T, Morimoto M, Ogawa R, Hara M, Matsuo Y, Takiguchi S. *Surg Today.* 2019 May 2. doi:

10.1007/s00595-019-01814-9. PMID: 31049704 査読あり

Acquisition of gemcitabine resistance enhances angiogenesis via upregulation of IL-8 production in pancreatic cancer. Imafuji H, Matsuo Y, Ueda G, Omi K, Hayashi Y, Saito K, Tsuboi K, Morimoto M, Koide S, Ogawa R, Hara M, Takahashi H, Takiguchi S. *Oncol Rep.* 2019 Jun;41(6):3508-3516. doi: 10.3892/or.2019.7105. Epub 2019 Apr 9. PMID: 31002348 査読あり

Invasive Ductal Carcinoma Arising in Mucinous Cystic Neoplasm of Pancreas: A Case Report. Sawai H, Kurimoto M, Koide S, Kiriya Y, Haba S, Matsuo Y, Morimoto M, Koide H, Kamiya A, Yamao K. *Am J Case Rep.* 2019 Feb 24;20:242-247. doi: 10.12659/AJCR.914092. PMID: 30798329 査読あり

Recanalization of postoperative biliary disconnection with intraductal cholangioscopy-assisted forceps retrieval of rendezvous guidewire. Yoshida M, Morimoto M, Kato A, Hayashi K, Naitoh I, Miyabe K, Matsuo Y. *Endoscopy.* 2018 Dec;50(12):E338-E339. doi: 10.1055/a-0667-7751. Epub 2018 Sep 19. PMID: 30231261 査読あり

Apigenin induces apoptosis by suppressing Bcl-xl and Mcl-1 simultaneously via signal transducer and activator of transcription 3 signaling in colon cancer. Maeda Y, Takahashi H, Nakai N, Yanagita T, Ando N, Okubo T, Saito K, Shiga K, Hirokawa T, Hara M, Ishiguro H, Matsuo Y, Takiguchi S. *Int J Oncol.* 2018 Mar 7. doi: 10.3892/ijo.2018.4308. PMID: 29512707 査読あり

Xanthohumol inhibits angiogenesis by suppressing nuclear factor- $\kappa$ B activation in pancreatic cancer. Saito K, Matsuo Y, Imafuji H, Okubo T, Maeda Y, Sato T, Shamoto T, Tsuboi K, Morimoto M, Takahashi H, Ishiguro H, Takiguchi S. *Cancer Sci.* 2018 Jan;109(1):132-140. doi: 10.1111/cas.13441. Epub 2017 Dec 3. PMID: 29121426 査読あり

NOTCH1 activates the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway in colon cancer. Ishiguro H, Okubo T, Kuwabara Y, Kimura M, Mitsui A, Sugito N, Ogawa R, Katada T, Tanaka T, Shiozaki M, Mizoguchi K, Samoto Y, Matsuo Y, Takahashi H, Takiguchi S. *Oncotarget.* 2017 Jul 25;8(36):60378-60389. doi: 10.18632/oncotarget.19534. eCollection 2017 Sep 1. PMID: 28947978 査読あり

Usefulness of 3D balanced turbo-field-echo MR sequence evaluating the branching pattern of the intrahepatic bile ducts: comparison with drip infusion CT cholangiography. Ogawa M, Ozawa Y, Ohta K, Sekiguchi T, Omata S, Urano M, Matsuo Y, Shibamoto Y. *Abdom Radiol (NY).* 2017 Jul;42(7):1888-1895. doi: 10.1007/s00261-017-1093-8. PMID: 28260170 査読あり

Laparoscopically resected obturator nerve schwannoma: A case report. Takahashi H, Hara M, Tsuboi K, Sagawa H, Ishiguro H, Matsuo Y, Takeyama H. *Asian J Endosc Surg.* 2016 Nov;9(4):307-310. doi: 10.1111/ases.12291. Epub 2016 May 24. PMID: 27217293 査読あり

Factors that predict the occurrence of and recovery from non-alcoholic fatty liver disease after pancreateoduodenectomy. Sato T, Matsuo Y, Shiga K, Morimoto M, Miyai H, Takeyama H. *Surgery.* 2016 Aug;160(2):318-30. doi: 10.1016/j.surg.2016.04.009. Epub 2016 May 19. PMID: 27211602 査読あり

Enhancement of the CXCL12/CXCR4 axis due to acquisition of gemcitabine resistance in pancreatic cancer: effect of CXCR4 antagonists. Morimoto M, Matsuo Y, Koide S, Tsuboi K, Shamoto T, Sato T, Saito K, Takahashi H, Takeyama H. *BMC Cancer.* 2016 May 12;16:305. doi: 10.1186/s12885-016-2340-z. PMID: 27175473 査読あり

[学会発表](計 11 件)

松尾洋一、林 祐一、今藤裕之、齋藤健太、社本智也、坪井 謙、森本 守、高橋広城、石黒秀行、瀧口修司 膵癌微小転移の制御を目的とした新規分子標的薬の開発 第 73 回日本消化器外科学会総会 2018 年

松尾洋一、葛谷宙正、上田悟郎、大見 関、林 祐一、今藤裕之、前田祐三、齋藤健太、社本智也、坪井 謙、森本 守、高橋広城、石黒秀行、Sung Bokyoung、Guha Sushova、瀧口修司 新規治療薬開発を目指した膵癌における癌幹細胞マーカー CXCR4 の機能解析 第 27 回日本がん転移学会学術集会・総会 2018 年

松尾洋一、上田悟郎、大見 関、林 祐一、今藤裕之、齋藤健太、坪井 謙、森本 守、原 賢康、高橋広城、石黒秀行、瀧口修司 膵癌における癌幹細胞マーカー CXCL4 の機能解析 第 77 回日本癌学会学術総会 2018 年

松尾洋一、上田悟郎、大見 関、林 祐一、今藤裕之、齋藤健太、社本智也、坪井 謙、森本 守、高橋広城、石黒秀行、瀧口修司 分子生物学的基礎研究から臨床応用を目指した膵癌次世代治療薬の開発 第 26 回日本消化器関連学会週間 2018 年

松尾洋一、上田悟郎、林 祐一、今藤裕之、齊藤健太、佐藤崇文、社本智也、志賀一慶、廣川高久、坪井 謙、田中達也、森本 守、小川 了、坂本宣弘、原 賢康、高橋広城、石黒秀行、瀧口修司 癌-間質相互作用からみた膵癌肝転移における血管新生とサイトカインネットワークの役割 第 118 回日本外科学会定期学術集会 2018 年  
松尾洋一、森本 守、坪井 謙、社本智也、佐藤崇文、齊藤健太、今藤裕之、高橋広城、石黒秀行、瀧口修司 膵癌肝転移能に関わる血管新生の役割とサイトカインネットワーク 第 26 回日本がん転移学会学術集会・総会 2017 年  
松尾洋一、森本 守、佐藤崇文、齊藤健太、今藤裕之、坪井 謙、社本智也、坂本宣弘、石黒秀行、高橋広城、竹山廣光 膵癌における血管新生因子発現に関する IGF-1 シグナルの役割 第 48 回日本膵臓学会大会 2017 年  
松尾洋一、今藤裕之、齊藤健太、佐藤崇文、坪井 謙、社本智也、森本 守、小出修司、竹山廣光 ケモカインを標的とした Gemcitabine に続く次世代膵癌治療薬の開発 第 103 回日本消化器病学会総会 2017 年  
松尾洋一、森本 守、小出修司、齊藤健太、佐藤崇文、坪井 謙、社本智也、高橋広城、竹山廣光 Gemcitabine 耐性に伴う膵癌血管新生・浸潤能の変化とサイトカインシグナルの役割 第 25 回日本がん転移学会学術集会・総会 2016 年  
松尾洋一、森本 守、坪井 謙、社本智也、佐藤崇文、齊藤健太、高橋広城、石黒秀行、若杉健弘、竹山廣光 膵癌血管新生における ENA-78/CXCL5 の役割 第 71 回日本消化器外科学会総会 2016 年  
松尾洋一、森本 守、佐藤崇文、坪井 謙、社本智也、齊藤健太、高橋広城、若杉健弘、竹山廣光 膵癌発癌に関わる血管新生因子 ~ Kras 点突然変異の役割と下流シグナルの解明 第 116 回日本外科学会定期学術集会 2016 年

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：竹山 廣光

ローマ字氏名：TAKEYAMA, hiromitsu

所属研究機関名：名古屋市立大学

部局名：大学院医学研究科

職名：名誉教授

研究者番号(8桁)：00216946

研究分担者氏名：佐藤 崇文 (削除 2017 年 3 月 21 日)

ローマ字氏名：SATO, takafumi

所属研究機関名：名古屋市立大学

部局名：大学院医学研究科

職名：研究員

研究者番号(8桁)：10747257

研究分担者氏名：齊藤 健太

ローマ字氏名：SAITO, kenta

所属研究機関名：名古屋市立大学

部局名：大学院医学研究科

職名：助教

研究者番号(8桁)：10770240

研究分担者氏名：森本 守

ローマ字氏名：MORIMOTO, mamoru

所属研究機関名：名古屋市立大学

部局名：大学院医学研究科

職名：助教

研究者番号(8桁)：60722569

研究分担者氏名：今藤 裕之 (追加 2017 年 3 月 21 日)

ローマ字氏名：IMAFUJI, hiroyuki

所属研究機関名：名古屋市立大学

部局名：大学院医学研究科

職名：助教

研究者番号(8桁)：80790641

(2)研究協力者  
研究協力者氏名：  
ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。