

平成 29 年 8 月 18 日現在

機関番号：82606

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26460930

研究課題名(和文) 神経・癌相互作用による膵癌悪液質の機序解明

研究課題名(英文) Cancer cachexia via cancer-nerve crosstalk in pancreatic cancer

研究代表者

光永 修一 (Mitsunaga, Shuichi)

国立研究開発法人国立がん研究センター・東病院・医長

研究者番号：20466197

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、膵癌神経浸潤部での腫瘍細胞由来IL-6が疼痛や悪液質の原因となることを立証するために計画された。膵癌神経浸潤マウスモデルの特徴は、体重減少、異痛、腫瘍由来IL-6量の増加であった。次に、shIL-6 shRNA Capan-1クローンをを用いて作製した神経浸潤マウスモデルでは明瞭な体重減少を認めず、神経浸潤が抑制されていた。よって、腫瘍由来IL-6は神経浸潤および神経浸潤による悪液質等の症状悪化に関わると考えられた。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study is to elucidate the role of IL-6 N-inv in cachexia and pain via neural invasion (N-inv) using experimental N-inv model of pancreatic cancer. N-inv model was made by the injection of Capan-1, human pancreatic cancer cell, into a left sciatic nerve of severe combined immunodeficiency mice. N-inv mice showed an increase of human IL-6 level, tumoral IL-6, allodynia and a loss of body weight without appetite loss, which are compatible with an animal model of cancer cachexia. The shIL-6 clones to be originated from Capan-1 was used in N-inv model. A decrease of tumoral IL-6, the improvement of allodynia, and the suppression of N-inv distance were observed in the N-inv model using shIL-6 Capan-1, compared to the N-inv model using shRNA Capan-1. Tumoral IL-6 promotes N-inv and N-inv-related symptom as cachexia in N-inv model of pancreatic cancer.

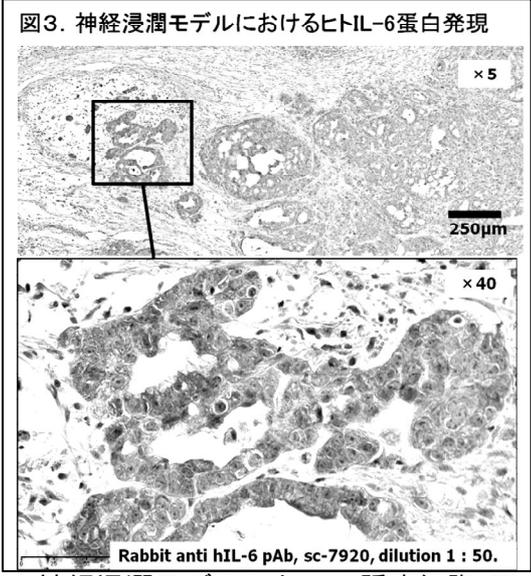
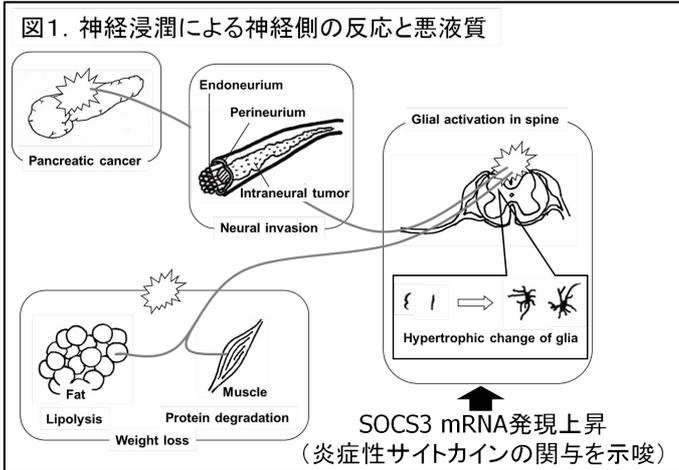
研究分野：緩和医療

キーワード：膵がん 悪液質 神経浸潤 疼痛 IL-6 マウスモデル

1. 研究開始当初の背景

我々は、膵癌悪液質の機序解明を目的として、臨床病理学的検討から膵癌神経浸潤は悪液質と関連することを見だし、膵癌神経浸潤モデルマウスを用いて神経浸潤による神経側の反応が癌性悪液質の原因となることを初めて報告した。具体的には、神経浸潤モデルはヒト膵癌細胞株 Capan-1 を免疫不全マウスの座骨神経内に直接注入することで作製され、骨格筋量や脂肪量の低下を伴う体重低下や全身性炎症反応の亢進を認めるが、神経浸潤中枢側神経の結紮もしくは神経浸潤と接続する脊髄で上昇するアストロサイト活性の阻害剤投与で体重減少や炎症反応は抑制された。この結果は、神経浸潤と接続する中枢側神経組織の反応が癌性悪液質の原因の一つであることを示す(図1)。神経浸潤モデルマウスの脊髄では、炎症性サイトカインの内因性阻害因子である suppressor of cytokine signaling 3 (SOCS3) mRNA 発現が上昇しており、神経浸潤による神経組織の応答および悪液質は、炎症性サイトカインに制御されている可能性があると考えられた(図1)。

神経浸潤モデルにおいて、ヒト IL-6 蛋白は神経浸潤中枢側(浸潤先進部)の腫瘍細胞に高発現しており、神経浸潤部により発現誘導されている可能性は高い(図3)。一方、神経浸潤は神経損傷をきたし、神経損傷は神経組織での IL-6 発現を亢進する(文献2)。従って、神経浸潤により発現が上昇する IL-6 は、腫瘍細胞由来もしくは神経組織由来であることが予想される。IL-6 産生細胞の同定は膵癌神経浸潤による悪液質誘導の機序解明に必要と考えられるが、神経浸潤マウスモデルであれば腫瘍細胞由来 IL-6 はヒト IL-6 として測定され、神経組織などから産生されるマウス由来 IL-6 と区別して測定可能である。従って、神経浸潤腫瘍細胞由来 IL-6 による神経組織の応答および悪液質発症に関する検討は神経浸潤モデルを用いれば可能と考えられた。



神経浸潤モデルにおいて腫瘍細胞 IL-6 発現上昇時期が同定できた場合、その後には明瞭となる事象は腫瘍細胞由来 IL-6 により制御されている可能性が高い(図4)。よって、神経組織の応答・悪液質の程度・IL-6 発現を時系列で並べて検討し、さらに腫瘍細胞由来 IL-6 抑制作用について評価することで、神経内腫瘍細胞由来 IL-6 が原因となる神経組織の応答および悪液質発症が証明できると考えられたため、本研究を計画した。

神経浸潤と関わりの強い炎症性サイトカインを同定するため、46名の進行膵がん患者の炎症性サイトカイン血中濃度と造影 computed tomography 検査(CT)で評価される神経浸潤の程度を評価した。炎症性サイトカインは顆粒球単球コロニー刺激因子、インターフェロン、インターロイキン-1(IL-1)、IL-2、IL-6、IL-10、IL-12、腫瘍壊死因子を測定し、高度神経浸潤群で血中濃度が高値となるサイトカインは IL-6 のみであった(図2)。よって、神経浸潤による神経組織の応答及び悪液質は IL-6 により制御されている可能性が高いと考えた。

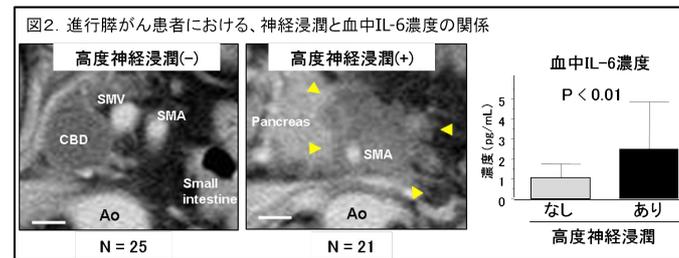
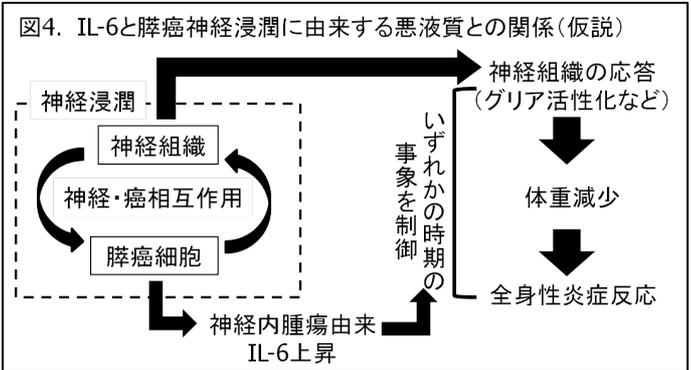


図4. IL-6と膵癌神経浸潤に由来する悪液質との関係(仮説)

## 2. 研究の目的

本研究は、神経浸潤腫瘍細胞由来 IL-6 による神経組織の応答および悪液質発症への関与について検討する。具体的には、膵癌神経浸潤マウスモデルにおいて腫瘍細胞 IL-6 発現上昇時期と神経組織の応答や悪液質発症時期との時系列的な関係を検討し、腫瘍細胞由来 IL-6 抑制による神経浸潤マウスモデルでの神経組織の応答や悪液質に対する作用を確認する。

## 3. 研究の方法

本研究は、神経浸潤部では腫瘍細胞での IL-6 発現が亢進し、腫瘍細胞由来 IL-6 が神経組織での反応および悪液質の原因となることの立証を目的として計画された。具体的には、膵癌神経浸潤マウスモデルにおいて腫瘍細胞 IL-6 発現上昇時期と神経組織の応答や悪液質発症時期との時系列的な関係を検討し、腫瘍細胞由来 IL-6 抑制による神経浸潤マウスモデルでの神経組織の応答や悪液質に対する作用を確認する。また、本研究は臨床問題となっている悪液質を扱うため、基礎研究の結果が臨床へのトランスレーションが可能であるか検討することは重要である。従って、進行膵がん患者における高度神経浸潤と IL-6 濃度および疼痛や悪液質との関連を図 2 の内容に引き続いて患者数を増やして検討する。

## 4. 研究成果

平成26年度の検討では、皮下腫瘍モデルと比較検討により明らかになった膵癌神経浸潤マウスモデル関連事象は、作製から4週後より始まる体重減少、異痛、腫瘍由来IL-6量が増加であった。また、IL-6発現が抑制されているCapan-1細胞の作製に取り組み、Parent wild-type Capan-1と比較して、細胞増殖の対数増殖期がほぼ同一で、control shRNAであればヒトIL-6 mRNA発現が明瞭に低下しておらず、hIL-6 shRNAであればヒトIL-6 mRNA発現が明瞭に低下したクローンを選択した。

平成27年度の検討では、神経浸潤モデルを用いて腫瘍細胞由来IL-6阻害効果を検討した。具体的には、PBSのみをマウス座骨神経内に注入したsham群(N=9)、control shRNA Capan-1クローンを座骨神経内に注入したcontrol群(N=8)、hIL-6 shRNA Capan-1クローンを注入したshIL-6群(N=8)を比較検討した。作製から6週後にsham群と比較すると、control群の体重は低下したが(P<0.1)、shIL-6群の体重との差を認めなかった。神経浸潤距離では、control群と比較してshIL-6群の神経浸潤距離は抑制されていた(P=0.12)。摂食量に有意な差を認めなかった。

H28年度の検討では、進行膵がん患者における神経浸潤と疼痛や悪液質との関連を検討した。初回全身化学療法前のステージ IV 膵癌患者を対象に、悪液質関連因子と神経浸潤の程度との関連を解析した。CT画像にて上腸

間膜動脈周囲神経浸潤を53名(33%)に認めた。神経浸潤陽性患者集団の特徴は、body mass index 低下(P<0.01)、高度の疼痛(P<0.01)及び高度の食欲不振(P<0.01)であった。上記結果を基に論文作成中である。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計6件)

1. Mitsunaga S, Okusaka T, Ikeda M, Ozaka M, Ohkawa S, Ioka T, Shimura T, Sato K, Terao K, Ochiai A, Furuse J. Multicenter, Open-Label, Phase I/II Study of Tocilizumab, an Anti-Interleukin-6 Receptor Monoclonal Antibody, Combined with Gemcitabine in Patients with Advanced Pancreatic Cancer. *J Med Diagn Meth* 6(1): 234, 2017. doi:10.4172/2168-9784.1000234
2. Ikeda M, Sato A, Mochizuki N, Toyosaki K, Miyoshi C, Fujioka R, Mitsunaga S, Ohno I, Hashimoto Y, Takahashi H, Hasegawa H, Nomura S, Takahashi R, Yomoda S, Tsuchihara K, Kishino S, Esumi H. A Phase I trial of GBS-01 for Advanced Pancreatic Cancer Refractory to Gemcitabine. *Cancer Sci.* (in press)
3. Mitsunaga S, Ikeda M, Shimizu S, Ohno I, Takahashi H, Okuyama H, Ueno H, Morizane C, Kondo S, Sakamoto Y, Okusaka T, Ochiai A. C-Reactive Protein Level Is an Indicator of the Aggressiveness of Advanced Pancreatic Cancer. *Pancreas*. 45(1):110-6, 2016.
4. Miura T, Mitsunaga S, Ikeda M, Shimizu S, Ohno I, Takahashi H, Furuse J, Inagaki M, Higashi S, Kato H, Terao K, Ochiai A. Characterization of Patients With

Advanced Pancreatic Cancer and High Serum Interleukin-6 Levels.

Pancreas. 44(5):756-63, 2015.

5. Sugimoto M, Mitsunaga S, Yoshikawa K, Kato Y, Gotohda N, Takahashi S, Konishi M, Ikeda M, Kojima M, Ochiai A, Kaneko H. Prognostic impact of M2 macrophages at neural invasion in patients with invasive ductal carcinoma of the pancreas. Eur J Cancer. 50(11):1900-8, 2014.

[学会発表](計 8 件)

1. S. Mitsunaga, M. Ikeda. DETERIORATION OF CACHEXIA-RELATED FACTORS AFTER FIRST-LINE CHEMOTHERAPY FOR ADVANCED PANCREATIC CANCER (e-Poster eP-11) Multinational Association of Supportive Care in Cancer (MASCC2016) June 23-25, 2016 Adelaide, Australia
2. N. Tatematsu, S. Mitsunaga, M. Ikeda. CHARACTERIZATION OF ADVANCED PANCREATIC CANCER PATIENTS SHOWING A DECREASE OF THE SKELETAL MUSCLE MASS WHILE RECEIVING FIRST-LINE CHEMOTHERAPY (e-Poster eP-11) Multinational Association of Supportive Care in Cancer (MASCC2016) June 23-25, 2016 Adelaide, Australia
3. Shuichi Mitsunaga, Motohiro Kojima, Hiroko Sudo, Junpei Kawauchi, Satoko Takizawa, Masafumi Ikeda, Masaru Konishi, Atsushi Ochiai. MicroRNA markers

for the detection of resectable pancreatic cancer (シンポジウム) 第

47 回日本膵臓学会大会

2016/08/04-07 仙台市

4. S Mitsunaga, M Ikeda, S Shimizu, I Ohno, H Takahashi, H Okuyama, Y Hashimoto, K Watanabe, K Umemoto, A Ochiai S100A8/A9 as a potent serological marker in monitoring the activity of chemotherapy in pancreatic cancer. (Abstract e15265) 2015 ASCO Annual Meeting May 29- June 2, 2015 Chicago
5. S. Mitsunaga, H. Takahashi, T. Doi, A. Johne, J. Wang, A. Shimizu, M. Ikeda .Japanese phase I trial of hypoxia-activated prodrug evofosfamide (TH-302) as monotherapy in patients with solid tumors or in combination with gemcitabine in patients with advanced pancreatic cancer. 18<sup>th</sup>ECCO-40<sup>th</sup>ESMO European Cancer Congress 25-29 September 2015 Vienna, Austria (Abstract 2312)
6. 光永修一、池田公史、落合淳志. 膵癌肝転移における replacement growth pattern は膵癌悪性度の指標となる (Oral session) 第 74 回日本癌学会学術総会 2015/10/08 名古屋市
7. 光永修一 Loss of STAT3 tyrosine phosphorylation in tumor relates poor prognosis in patients with advanced pancreatic cancer (一般口演) 第 12 回日本臨床腫瘍学会学術集会 2014/07/17-19 福岡市
8. 光永修一、落合淳志. 予後不良な膵癌患者の腫瘍細胞で高発現するサイトケ

ラチン 6 は、IL-6/STAT3 経路の制御  
を受けている 第 73 回日本癌学会学  
術集会 2014/9/26 横浜市

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等  
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

光永 修一 (MITSUNAGA Shuichi)

国立がん研究センター東病院・医長

研究者番号：20466197

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

なし