

原 著

## 膵癌における Interleukin-1 $\alpha$ によるインテグリン発現の 増強と転移能の関係

名古屋市立大学医学部第 1 外科

沢井 博純 山本 稔 舟橋 整 佐藤 幹則  
岡田 祐二 早川 哲史 田中 守嗣 赤毛 義実  
竹山 廣光 真辺 忠夫

**はじめに：**癌の浸潤・転移において，癌細胞の細胞外マトリックス (ECM) への接着は重要な One step である．今回，膵癌の転移機構を解明する目的で，膵癌細胞のインテグリン発現と，IL-1 $\alpha$  による発現変化，および ECM への接着能変化を検討した．**方法：**膵癌細胞のインテグリン，IL-1RI 発現を flow-cytometric analysis にて，IL-1 $\alpha$  によるインテグリン発現変化を Cellular-ELISA 法にて検索した．また，IL-1 $\alpha$  刺激によるインテグリン発現増強が，膵癌細胞の ECM への接着能にどう影響しているかについても検討した．**結果：**IL-1 $\alpha$  刺激により，膵癌細胞におけるインテグリン  $\alpha_6\beta_1$  発現が増強し，そのリガンドである laminin に対する接着・浸潤能も増強した．**考察：**膵癌細胞において，IL-1RI を介する IL-1 $\alpha$  刺激でインテグリン  $\alpha_6\beta_1$  発現が増強し，肝転移能・浸潤能が亢進している可能性が示唆された．

### 緒 言

膵癌は消化器癌の中でも非常に悪性度が高く，切除率の低い極めて予後の悪い癌の一つである．その予後因子として，肝転移は非常に重要であるが，その形成機序についてはいまだ十分に解明されていない．

癌が血行性転移を形成する各ステップにおいて，接着分子は重要な役割を果たしている．癌細胞の標的臓器の血管内皮への接着は，血管内皮細胞表面に発現する E-セレクトイン<sup>1)2)</sup>，そのリガンドである糖鎖抗原，s-Le<sup>a</sup>，s-Le<sup>x</sup> との接着から開始される<sup>3)4)</sup>．

インテグリンは  $\alpha$ ， $\beta$  の 2 つのサブユニットが非共有結合で会合するヘテロダイマーで，リガンド特異性によってサブグループに分類され，うち 15 種類が ECM をリガンドとすると報告されている<sup>5)</sup>．癌細胞の転移・浸潤に関しては，インテグリン  $\alpha_6\beta_1$  の発現が増強し，インテグリン  $\alpha_6\beta_1$  の発現が減弱しているとの報告もある<sup>6)~8)</sup>．

上皮性細胞を標的とする hepatocyte growth factor (HGF) や EGF receptor に対する結合能を持つ heparin-binding epidermal growth factor (HB-EGF)<sup>9)</sup>

は癌細胞の内皮細胞への接着能を変化させ<sup>10)</sup>，癌細胞株のインテグリン発現を増強することも報告されている<sup>11)</sup>．また，インテグリン  $\alpha_6\beta_1$  はヒト膵癌細胞のみでなく，ヒト正常膵組織においても発現が確認されている<sup>12)</sup>．

我々はこれまでに，ヒト膵癌細胞株を高肝転移株 (AsPC-1, BxPC-3, SW1990) と非肝転移株 (PaCa-2, PANC-1) に分類し，高肝転移株にのみ mRNA のレベルで Interleukin (IL) 1 $\alpha$  の発現を認めることを報告している<sup>13)</sup>．今回，膵癌転移・浸潤のメカニズムを解明することを目的として，これらの細胞株におけるインテグリンの発現に IL-1 $\alpha$  が及ぼす影響を検討し，これらの細胞株の ECM に対する接着能がどのように変化するかを検討した．

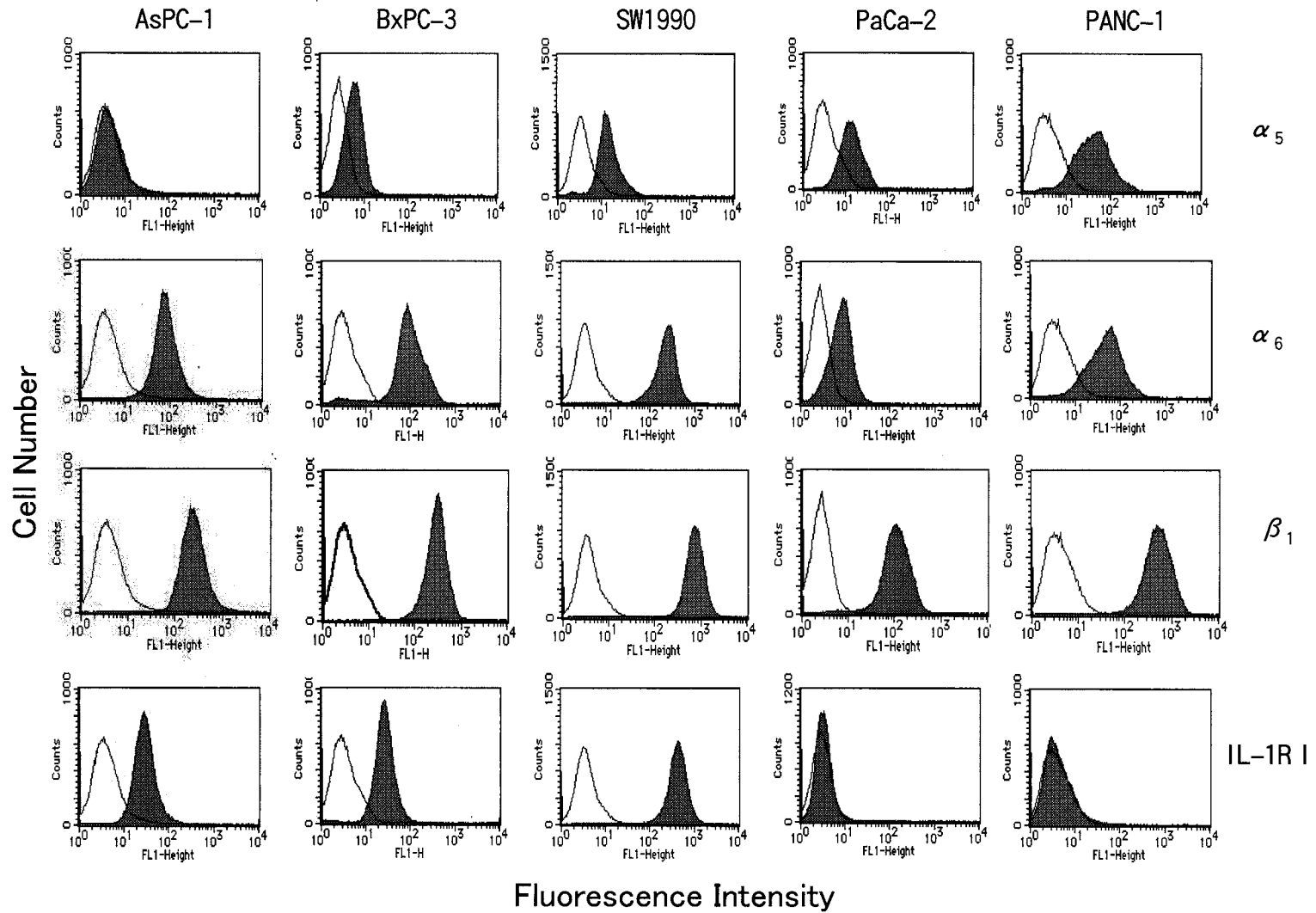
### 対象および方法

#### 1. 細胞培養

ヒト膵癌細胞株 AsPC-1, BxPC-3, PaCa-2, PANC-1, SW1990 は，American Type Culture Collection (Rockville, MD) より入手し，AsPC-1, BxPC-3 は 100% fetal calf serum (FCS) 含有の RPMI1640 培地 (GIBCO BRL, Eggenstein, Germany) にて，他の細胞株は 10% FCS 含有の Dullbecco's modified Eagle's medium (GIBCO BRL) にて 37℃，5%CO<sub>2</sub> の条件下で培養した．

<2002年2月27日受理> 別刷請求先：沢井 博純  
〒467 8601 名古屋市瑞穂区瑞穂町川澄1 名古屋市立大学医学部第1外科

Fig. 1 Flow-cytometric analysis of the expression of integrin  $\alpha_5$ ,  $\beta_1$  subunits and the IL-1RI in pancreatic cancer cell lines.



## 2. 使用薬剤

### 1) Monoclonal antibody

4B4( anti- $\beta_1$  ); Coulter Immunology( Hialeah, FL ), 4F10( anti- $\alpha_6$  ); Chemicon International( Temecula, CA ), Gi9( anti- $\alpha_2$  ), C3( anti- $\alpha_3$  ), SAM1( anti- $\alpha_5$  ); Immunotech ( Marseille, France ), anti-IL-1 $\alpha$ , anti-IL-1 receptor Type I ( IL-1RI ); Genzyme/ techne ( Cambridge, MA )

### 2) Recombinant protein

Recombinant human IL-1 $\alpha$ ( rIL-1 $\alpha$  ); GIBCO BRL, recombinant human human HGF ( rHGF ), recombinant human HB-EGF( rHB-EGF ); Genzyme/Techne

3) 24-well plate coated with ECM proteins ( collagen type I, collagen type IV, fibronectin, laminin ); Becton Dickinson Labware ( Franklin Lakes, NJ )

### 3. Flow-cytometric analysis

膵癌細胞膜上の各インテグリン鎖, および IL-1RI の存在を確認するため FACS can ( Becton Dickinson Immunocytometry Systems, Mountain View, CA ) を使用して Indirect immunofluorescence 法により Flow-cytometric analysis を行った。1 次抗体として抗インテグリン  $\alpha_5$ ,  $\alpha_6$ ,  $\beta_1$  抗体, 抗 IL-1RI 抗体を使用し 30 分間室温で反応させ, その後, 2 次抗体として fluorescein isothiocyanate-labeled rabbit anti-mouse immunoglobulin ( Dako, Glostrup, Denmark ) を使用した。

4. Cellular enzyme-linked immunosorbent assay ( CELISA )

IL-1 $\alpha$ , HGF, HB-EGF の刺激による各インテグリン鎖の発現変化を CELISA 法により検索した。96-well plate に膵癌細胞を一層に培養, rIL-1 $\alpha$  ( 10ng/ml ), rHGF ( 20ng/ml ) rHB-EGF ( 20ng/ml ) を添加して 24 時間刺激培養後, phosphate-buffered saline ( PBS ) で 2 回洗浄, 0.1% glutaraldehyde を加えて室温で 1 時間固定, PBS にて 3 回洗浄後, 5% bovine serum albumin ( BSA ) 加 PBA で nonspecific binding をブロックした。その後, 2 回 PBS にて洗浄, 1 次抗体を加えて 1 時間室温でインキュベートした。次いで PBS にて 3 回洗浄後, 2 次抗体 ( peroxidase-conjugated anti-mouse immunoglobulin ; Dako ) を加え, 1 時間室温でインキュベートした。PBS にて 3 回洗浄後, 発色基質と o-phenylene diamine 加 0.015% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含有クエン酸を添加し, 20 分間室温でインキュベートした。その後, 1 % sodium dodecyl sulfate を添加して発色反応を停

止, 吸光度 ( 405nm ) を micro-plate reader ( Molecular Devices, Sunnyvale, CA ) を使用して測定した。

### 5. Cell adhesion assay

IL-1 $\alpha$  刺激による膵癌細胞の ECM に対する接着能の変化を検索した。rIL-1 $\alpha$  ( 10ng/ml ) を添加した状態で, 37 °C にて 24 時間培養した膵癌細胞を, ECM protein ( collagen type I, collagen type IV, fibronectin, laminin ) をコートした 24-well plate に  $5 \times 10^5$  cells/well となるように蒔き, 37 °C で 30 分間インキュベートした。その後, PBS にて 3 回洗浄して接着していない細胞を除去し, 接着細胞を採取して顕微鏡下に計測した。

また, IL-1 $\alpha$  による ECM への接着能亢進の抑制を検索するため, 抗 IL-1 $\alpha$  抗体 ( 5 $\mu$ g/ml ), 抗 IL-1RI 抗体 ( 5 $\mu$ g/ml ) を rIL-1 $\alpha$  とともに添加した状態で 37 °C にて 24 時間培養した膵癌細胞についても, 同様に接着実験を行った。

### 6. 統計処理

CELISA 法については one-way analysis of variance ( ANOVA ) and post hoc test ( Dunnett multiple comparison ) にて, 接着実験, 浸潤実験については Student test にて解析した。

## 結 果

### 1. 各インテグリン鎖, IL-1RI の発現

Fig. 1 にインテグリン  $\alpha_5$ ,  $\alpha_6$ ,  $\beta_1$ , IL-1RI 発現を検索した Flow-cytometry の結果を示す。インテグリン  $\alpha_6$ ,  $\beta_1$  は 5 種すべての細胞株で発現を認めた。そのうち  $\alpha_6$  は高肝転移株 ( AsPC-1, BxPC-3, SW1990 ) で発現が強い傾向にあった。 $\alpha_5$  については高肝転移株である AsPC-1 で発現を認めなかったが, BxPC-3, SW1990 では弱い発現を認め, 非肝転移株 ( PaCa-2, PANC-1 ) では  $\alpha_5$  が強発現していた。IL-1RI はすべての肝転移株で発現を認めたが, 非肝転移株では発現を認めなかった。

### 2. 各インテグリン鎖の発現変化

rIL-1 $\alpha$  の至適刺激濃度 ( Table 1 ) と至適刺激時間 ( Table 2 ) の検索結果より, 以下の rIL-1 $\alpha$  による刺激濃度は 10ng/ml に, 刺激時間は 24 時間に決定した。

rIL-1 $\alpha$ , rHGF, および rHB-EGF 刺激による各インテグリン鎖の発現変化を Fig. 2 に示す。IL-1 $\alpha$  刺激により, 3 種の高肝転移株においてインテグリン  $\alpha_6$  ( laminin をリガンドとする ),  $\beta_1$  の有意な発現増強を認めた。これらの発現増強効果は rHGF, rHB-EGF よりも rIL-1 $\alpha$  により高い傾向にあった。高肝転移株においては, rIL-1 $\alpha$  による  $\alpha_6$ ,  $\beta_1$  発現増強効果のみが共

Table 1 Dose dependent enhancement of integrins on AsPC-1 cells by IL-1 $\alpha$

(ng/ml)	Absorbance			
	$\alpha_6$	% increase	$\beta_1$	% increase
control	0.503 $\pm$ 0.080	0.0	0.940 $\pm$ 0.078	0.0
1.0	0.627 $\pm$ 0.056	124.7	1.188 $\pm$ 0.074	126.4
5.0	0.644 $\pm$ 0.046	127.9	1.228 $\pm$ 0.049	130.7 <sup>a</sup>
10.0	0.725 $\pm$ 0.074	144.1 <sup>a</sup>	1.256 $\pm$ 0.037	133.6 <sup>a</sup>
20.0	0.735 $\pm$ 0.070	146.1 <sup>a</sup>	1.246 $\pm$ 0.036	132.6 <sup>a</sup>

All data are expressed as mean  $\pm$  SD. Statistical significance was tested by Student's t test.

<sup>a</sup>p values indicates statistical significances between data in controls and presence of IL-1 $\alpha$ .

<sup>a</sup>p < 0.01

Table 2 Time dependent enhancement of integrins on AsPC-1 cells by IL-1 $\alpha$

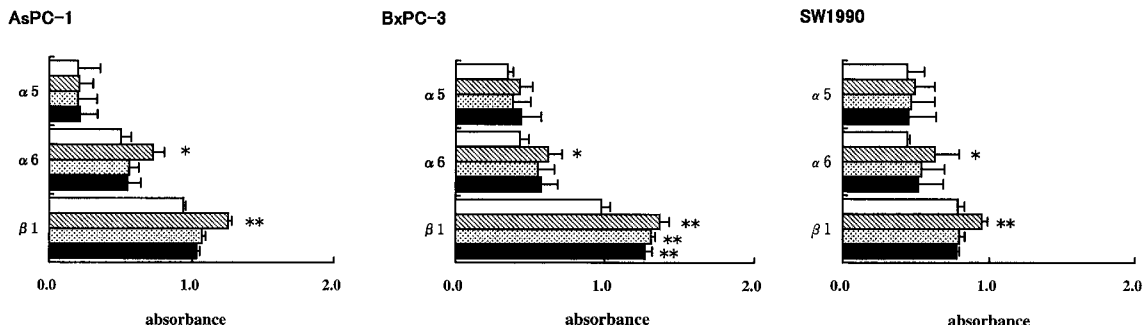
(hours)	Absorbance			
	$\alpha_6$	% increase	$\beta_1$	% increase
control	0.503 $\pm$ 0.080	0.0	0.940 $\pm$ 0.078	0.0
4	0.511 $\pm$ 0.072	101.6	0.946 $\pm$ 0.082	100.6
8	0.542 $\pm$ 0.072	107.8	0.960 $\pm$ 0.068	102.1
12	0.555 $\pm$ 0.053	110.3	1.205 $\pm$ 0.069	128.2 <sup>a</sup>
24	0.725 $\pm$ 0.074	144.1 <sup>a</sup>	1.256 $\pm$ 0.037	133.6 <sup>a</sup>
48	0.690 $\pm$ 0.067	137.2	1.225 $\pm$ 0.086	130.3 <sup>a</sup>

All data are expressed as mean  $\pm$  SD. Statistical significance was tested by Student's t test.

<sup>a</sup>p values indicates statistical significances between data in controls and presence of IL-1 $\alpha$ .

<sup>a</sup>p < 0.01

Fig. 2 Enhancement of integrin subunits on human pancreatic cancer cells measured by CELISA after incubation with 10ng/ml IL-1 $\alpha$  ( hatched columns ) 20ng/ml HGF ( dotted columns ) or 20ng/ml HB-EGF ( dark columns ) Open columns are control experiments. Statistical significance was tested by one-way ANOVA and post hoc test ( Dunnett multiple comparison ) Bars indicate the SD, \*\*p < 0.01, \*p < 0.05.



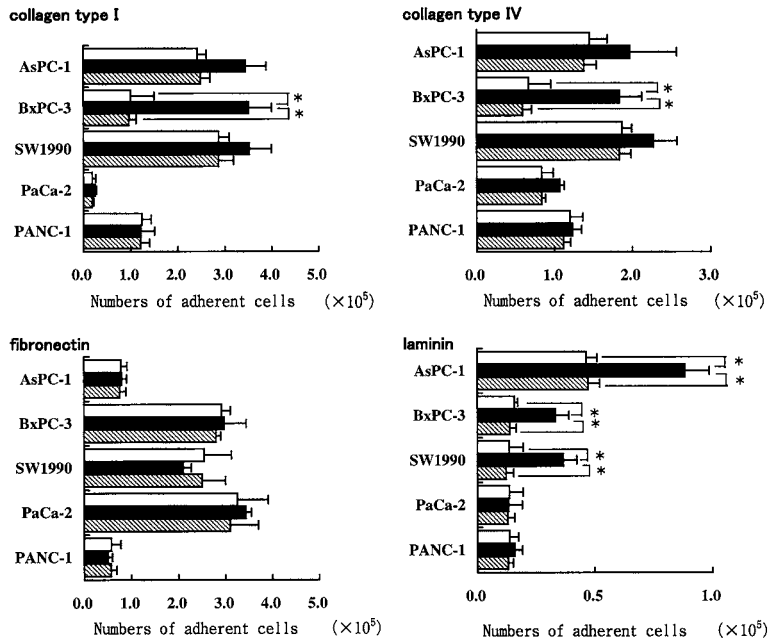
通して認められた( Dunnett multiple comparison ). インテグリン  $\alpha_5$  ( fibronectin をリガンドとする ) はすべての細胞株において, rIL-1 $\alpha$  刺激による発現変化を認めなかった. 非肝転移株では rIL-1 $\alpha$  刺激によって, インテグリンの発現に変化を認めなかった.

3. ECM protein に対する接着能の変化

各インテグリン鎖の発現変化によって, ECM protein に対する接着能がどう変化するかを検索した. Fig. 3 に示すように, 3 種の高肝転移株は rIL-1 $\alpha$  の刺激によってインテグリン  $\alpha_6\beta_1$  のリガンドである laminin に対する接着能が有意に増強したが, 発現変化を認めなかったインテグリン  $\alpha_6\beta_1$  のリガンドであ

る fibronectin に対する接着能には変化を認めなかった. BxPC-3 では, collagen type I, collagen type IV に対する接着能も有意した. AsPC-1 では, 有意差は認めないものの, collagen type I, collagen type IV に対する接着能が増強した. また, 抗 IL-1 $\alpha$  抗体を添加すると, 高肝転移株における rIL-1 $\alpha$  によるすべての接着能増強は, コントロールと同程度にまで抑制された. これらの rIL-1 $\alpha$  による接着能増強は, 非肝転移ではまったく認めず, 抗 IL-1 $\alpha$  抗体を添加しても接着能が抑制されることがなかった. 次に, 抗 IL-1RI 抗体を添加した場合の高肝転移株の接着能の変化を Fig. 4 に示す. 抗 IL-1 $\alpha$  抗体添加の場合と同様に, rIL-1 $\alpha$  による高肝

Fig. 3 Effects of rIL-1 $\alpha$  and inhibitory effect of antibody against IL-1 $\alpha$  on the attachment of pancreatic cancer cells to ECM proteins. Pancreatic cancer cells were cultured with ( dark columns ) 10ng/ml IL-1 $\alpha$ , with ( hatched columns ) 10ng/ml IL-1 $\alpha$  and 5  $\mu$ g/ml anti-IL-1 $\alpha$  antibody, or absence ( open columns ) of 10ng/ml rIL-1 $\alpha$  for 24h and were allowed to attach for 30 min to wells coated with collagen type I, collagen type IV, fibronectin and laminin. Statistical significance was tested by Student's t test. Bars indicate the SD, \*p < 0.01.



転移株の ECM protein への接着能増強効果は、コントロールと同程度に抑制された。

**考 察**

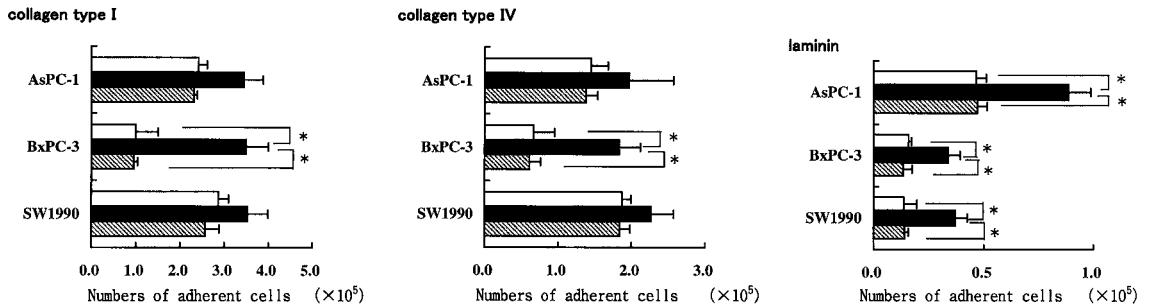
癌細胞の ECM protein への接着は、転移形成の大きなステップであり<sup>14)</sup>、膵癌細胞における機能的インテグリンの発現パターンは、転移・浸潤能に関連している<sup>15)16)</sup>。また、インテグリンと ECM protein との関連は正常な上皮細胞の分化・増殖に大きく関連しているとされる<sup>17)</sup>。我々はこれまでに、生物学的性質の解析により、膵癌細胞を高肝転移株と非肝転移株に分類し、高肝転移株のみに mRNA レベルで IL-1 $\alpha$  が発現していることを報告している<sup>13)</sup>。

これらの知見に基づいて、今回我々は、膵癌細胞株におけるインテグリン鎖と IL-1RI の発現をタンパクレベルで検索した。高肝転移株である AsPC-1 BxPC-3 SW1990 では、共通して IL-1 $\alpha$  の刺激によりインテグリン  $\alpha_6\beta_1$  の発現が有意に増強し、そのリガンドである laminin に対する接着能も有意に増強した。一方、非

肝転移株では、IL-1 $\alpha$  による刺激で各インテグリン鎖の発現が増強されることはなく、ECM protein に対する接着能にも変化を認めなかった。

これら IL-1 $\alpha$  刺激によるインテグリン発現増強、接着・浸潤能増強効果は、抗 IL-1 $\alpha$  抗体、抗 IL-1RI 抗体を添加することによりコントロールと同程度にまで抑制されており、高肝転移株では IL-1 $\alpha$  による IL-1RI を介したシグナル伝達が、インテグリン  $\alpha_6\beta_1$  発現の増強、接着・浸潤能の増強に関連しているものと考えられる。IL-1RI を介したシグナル伝達経路については、IL-1RI と IL-1 $\alpha$  との親和性を高める IL-1 receptor accessory protein (IL-1RAcP) との複合体の細胞内ドメインに、アダプタータンパク MyD88 を介してセリン/スレオニンキナーゼである IL-1R associated kinase (IRAK) が結合し、下流へとシグナルが伝達されることが報告されている<sup>18)-20)</sup>。現段階で報告されている IL-1 $\alpha$  のレセプターは IL-1RI と IL-1R type II (IL-1RII) のみで、IL-1RII は細胞内ドメインをほとんど持

Fig. 4 Inhibitory effect of antibody against IL-1RI on adhesion to ECM protein of metastatic pancreatic cancer cells. After culture for 30 min with ( hatched columns ) or without ( dark columns ) antibody against IL-1RI, the AsPC-1, BxPC-3, and SW1990 cell lines were cultured with 10ng/ml IL-1 $\alpha$  for 24h, after which the cell adhesion assay was performed. Open columns control experiments. Statistical significance was tested by Student's t test. Bars indicate the SD, \*p < 0.01.



たず、シグナル伝達はできないとされている。したがって、今回の検討で明らかになった膵癌細胞高肝転移株における IL-1 $\alpha$  によるインテグリン発現増強効果も、IL-1RI を介したシグナル伝達によるものと考えられる。

今回使用した膵癌細胞高肝転移株は内因性の IL-1 $\alpha$  を分泌しているが、パイロットスタディの結果、培養液中に分泌される IL-1 $\alpha$  濃度は約 10~50pg/ml であった。今回の報告では、IL-1 $\alpha$  刺激による膵癌細胞の接着変化をより明瞭にとらえるため、IL-1 $\alpha$  の刺激濃度を 10ng/ml とした。その結果として、抗 IL-1RI 抗体による接着能抑制効果はコントロール群と同程度にとどまっているものと考えられる。

インテグリン  $\alpha_6$  は血管内皮基底膜への接着・浸潤に強く関与し<sup>5)</sup>、メラノーマ<sup>21)</sup>や前立腺癌<sup>22)</sup>においてインテグリン  $\alpha_6$  の発現と転移能が関与していることが報告されている。また、laminin や collagen type IV は血管内皮基底膜に多く存在する functional ECM protein であり、癌細胞に発現するインテグリン  $\alpha_6\beta_1$  が laminin や collagen type IV といった ECM に接着・浸潤することが癌細胞転移の One step に大きく関与していることを示唆している。今回の結果は、これらの報告にも矛盾しないものである。

インテグリン  $\alpha_5$  は structural ECM protein である fibronectin をリガンドとする。今回の検索では高肝転移株においても、IL-1 $\alpha$  刺激によるインテグリン  $\alpha_5$  の発現増強や、fibronectin に対する接着・浸潤能に変化を認めなかった。

インテグリン  $\beta_1$  はすべての高肝転移株において IL-1 $\alpha$  刺激により発現増強を示した。インテグリン  $\beta_1$  は  $\alpha$  鎖と非共有結合として存在することによりインテグリンとしての機能の一端をになっており、 $\beta_1$  鎖を抗インテグリン  $\beta_1$  抗体でブロックすることにより膵癌細胞株の接着・浸潤能が抑制されていることから<sup>8,23)</sup>、癌細胞の転移・浸潤に大きく関与していると考えられる。

IL-1 $\alpha$  刺激によるインテグリン発現増強効果は、4 時間の刺激では観察されず、刺激時間を増加させることに強くなり、24 時間でプラトーに到達した。このことは、IL-1 $\alpha$  刺激からインテグリン発現が増強し、接着分子として機能するまでに要する時間が影響していることが原因と考えられる。また、今回の検討で、IL-1 $\alpha$  刺激によるインテグリン発現増強が 20~30% であるのに対し、ECM protein に対する接着・浸潤能は 50~250% の増強と、大きな差を生じている。これは、IL-1 $\alpha$  による刺激がインテグリン発現増強のみならず、その活性化にも大きく関与していると考えられる。インテグリン発現増強効果は IL-1 $\alpha$  刺激によるものが、HGF や HB-EGF によるものよりも強い傾向にあり、高肝転移株における one-way ANOVA and post hoc test (Dunnett multiple comparison) では、IL-1 $\alpha$  刺激によってのみ、共通して有意差を認めた。IL-1RI をタンパクレベルで発現していない非肝転移株では、IL-1 $\alpha$  刺激でまったく変化を認めなかった。

以上の結果は、膵癌細胞において、IL-1 $\alpha$  は IL-1RI を介したシグナル伝達によりインテグリン  $\alpha_6\beta_1$  発現

を増強し、ECM protein に対する接着・浸潤能を増強することによって、転移巣形成に大きな役割を果たしていることが示唆するものであり、実際の臨床においても、膵癌組織に発現する IL-1RI をブロックすることによって肝転移を予防するなど、予後不良である膵癌の新しい治療戦略を構築する可能性を示唆するものである。

### 文 献

- 1) Majuri ML, Mattila P, Renkonen R : Recombinant E-selectin-protein mediates tumor cell adhesion via sialyl-Le<sup>x</sup> and sialyl Le<sup>s</sup>. *Biochem Biophys Res Commun* 182 : 1376 1382, 1992
- 2) Takada A, Ohmori K, Yoneda T et al : Contribution of carbohydrate antigens sialyl Lewis A and sialyl Lewis X to adhesion of human cancer cells to vascular endothelium. *Cancer Res* 53 : 354 361, 1993
- 3) Lowe JB, Stoolman LM, Nair RP et al : ELAM-1 dependent cell adhesion to vascular endothelium determined by a transfected human fucosyltransferase cDNA. *Cell* 63 : 475 484, 1990
- 4) Philips ML, Nudelman E, Gaeta FCA et al : ELAM-1 mediates cell adhesion by recognition of a carbohydrate ligand, sialyl-Le<sup>s</sup>. *Science* 250 : 1130 1132, 1990
- 5) Heino J : Biology of tumor cell invasion : interplay of cell adhesion and matrix degradation. *Int J Cancer* 65 : 717 722, 1996
- 6) Shaw LM, Chao C, Wewer UM et al : Function of the integrin alpha 6 beta 1 in metastatic breast carcinoma cells assessed by expression of a dominant-negative receptor. *Cancer Res* 56 : 959 963, 1996
- 7) Varner JA, Emerson DA, Juliano RL : Integrin alpha 5 beta 1 expression negatively regulates cell growth : reversal by attachment to fibronectin : *Mol Biol Cell* 6 : 725 740, 1995
- 8) Vogelmann R, Kreuser ED, Adler G et al : Integrin  $\alpha 6\beta 1$  role in metastatic behavior of human pancreatic carcinoma cells. *Int J Cancer* 80 : 791 795, 1990
- 9) Higashiyama S, Abraham JA, Klagsbrun M : Heparin-binding EGF-like growth factor stimulation of smooth muscle cell migration : Dependence on interactions with cell surface heparan sulfate. *J Cell Biol* 122 : 933 940, 1993
- 10) Kobrin MS, Funatomi H, Friess H et al : Induction and expression of heparin-binding EGF-like growth factor in human pancreatic cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 202 : 1705 1709, 1994
- 11) Narita T, Kawakami-KN, Sato M et al : Alteration of integrins by heparin-binding EGF-like growth factor in human breast cancer cells. *Oncology* 53 : 374 381, 1996
- 12) Weinel RJ, Rosendahl A, Pinschmidt E et al : The alpha 6-integrin receptor in pancreatic carcinoma. *Gastroenterology* 108 : 523 531, 1995
- 13) 山本 稔 : ヒト膵癌細胞株における肝転移能と Interleukin-1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ) mRNA の発現の差異と浸潤能への影響 . 名古屋大医学会誌 50 : 31 44, 1999
- 14) Iwamoto Y, Robey FA, Graf J et al : YIGSR, a synthetic laminin pentapeptide, inhibits experimental metastasis formation [ published erratum appears in *Science* 239 ( 4837 ) 245 ( 1988 ) ] *Science* 238 : 1132 1134, 1987
- 15) Lohr M, Trautmann B, Gottler M et al : Expression and function of receptors for extracellular matrix proteins in human ductal adenocarcinomas of the pancreas. *Pancreas* 12 : 248 259, 1996
- 16) Hall PA, Coates P, Lemoine NR et al : Characterization of integrin chains in normal and neoplastic human pancreas. *J Pathol* 165 : 33 41, 1991
- 17) Hay ED : Cell and extracellular matrix : their organization and mutual dependence. *Mod Cell Biol* 2 : 509 548, 1983
- 18) Labow M, Shuster D, Zetterstrom M et al : Absence of IL-1 signaling and reduced inflammatory response in IL-1 type I receptor-deficient mice. *J Immunol* 159 : 2452 2461, 1997
- 19) Cullinan EB, Kwee L, Nunes P et al : IL-1 receptor accessory protein is an essential component of the IL-1 receptor. *J Immunol* 161 : 5614 5620, 1998
- 20) Wesche H, Henzel WJ, Shillinglaw W et al : MyD 88 : an adapter that recruits IRAK to the IL-1 receptor complex. *Immunity* 7 : 837 847, 1997
- 21) Danen EH, van Muuren GN, van de Wiel van Kemenade E et al : Regulation of integrin-mediated adhesion to laminin and collagen in human melanocytes and in non-metastatic and highly metastatic human melanoma cells. *Int J Cancer* 54 : 315 321, 1993
- 22) Rabinovitz I, Nagle RB, Cress AE : Integrin alpha 6 expression in human prostate carcinoma cells is associated with a migratory and invasive phenotype in vitro and vivo. *Clin Exp Metastasis* 13 : 481 491, 1995
- 23) Arai S, Matsumoto A, Otsuki M :  $\beta_1$  Integrins play an essential role in adhesion and invasion of pancreatic carcinoma cells. *Pancreas* 21 : 129 137, 2000

Relationship between Enhancement of Integrins by Interleukin-1 alpha  
and Metastasis in Pancreatic Cancer Cells

Hirozumi Sawai, Minoru Yamamoto, Hitoshi Funahashi, Mikinori Sato,  
Yuji Okada, Tetsushi Hayakawa, Moritsugu Tanaka, Yoshimi Akamo,  
Hiromitsu Takeyama and Tadao Manabe  
First Department of Surgery, Nagoya City University Medical School

**Background :** Tumor cell adhesion to extracellular matrix ( ECM ) proteins plays an important role in tumor invasion and metastasis. We studied integrin expression in human pancreatic cancer cell lines and its alteration by Interleukin-1 $\alpha$  ( IL-1 $\alpha$  ) to determine the adhesion mechanism of metastatic human pancreatic cancer cells to ECM proteins. **Methods :** The expression of integrin subunits and their alteration by IL-1 $\alpha$  were studied by flow-cytometric analysis and cellular-ELISA in metastatic human pancreatic cancer cell lines. Cancer cell adhesion to ECM proteins was assayed to determine if increased integrin expression actually affected adhesive interaction between cancer cells and putative integrin ECM ligands. **Result :** The  $\alpha_6\beta_1$  subunit expressed in metastatic cancer cells was enhanced by IL-1 $\alpha$ . Metastatic cancer cells also showed preferential adherence to laminin compared to nonmetastatic cancer cells, and this was enhanced by IL-1 $\alpha$ . **Conclusions :** In pancreatic cancer, the enhancement of  $\alpha_6\beta_1$ -integrin by IL-1 $\alpha$  through IL-1RI plays an important role in metastasis formation.

**Key words :** adhesion molecules, Interleukin-1 $\alpha$ , metastasis, pancreatic cancer, integrin

[ Jpn J Gastroenterol Surg 35 : 582 589, 2002 ]

**Reprint requests :** Hirozumi Sawai First Department of Surgery, Nagoya City University Medical School  
1 Kawasumi, Mizuho-cho, Mizuho-ku, Nagoya, 467 8601 JAPAN

---