

令和 2 年 9 月 15 日現在

機関番号：87105

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10793

研究課題名(和文)慢性炎症・線維化に着目した肺癌悪性度獲得メカニズムの解明と新規治療への応用

研究課題名(英文)The role of inflammation and fibrosis through the malignant process in lung cancer

研究代表者

庄司 文裕 (Fumihito, Shoji)

独立行政法人国立病院機構九州医療センター(臨床研究センター)・その他部局等・呼吸器外科医師

研究者番号：90444851

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文):結果 :IL-6は間質性肺炎非合併肺癌非癌部で発現量が高く、VEGFは癌部での発現が高かった。間質性肺炎合併肺癌非癌部ではIL-6発現量が高く、IL1 β 、VEGF、FGFは腫瘍部での発現が高かった。FGFは間質性肺炎非合併肺癌症例の非癌部、癌部いずれにおいても高値であった。結果 :術前 MLR高値は男性、喫煙歴あり及び術後再発と相関を認めた。術前MLR高値は独立した術後再発予測因子であった。術前MLR高値症例は再発リスクが高かった。術前MLR高値症例における5年無再発生存率は低値症例と比較して有意に低かった。腫瘍径>2cm (T1c)かつMLR 高値を示す症例が有意に無再発生存率が低かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

研究 :炎症性・線維性サイトカインの中で、Fibroblast growth factor (FGF)は間質性肺炎合併肺癌及び非合併肺癌における悪性度獲得メカニズム獲得のKey因子となる可能性が示唆された。従ってFGFをターゲットとした肺癌に対する新規治療への展開も考えられた。

研究 :術前Monocyte-lymphocyte ratio (MLR)値は簡便に算出可能な炎症性バイオマーカーであり、病理病期IA期非小細胞肺癌における術後再発予測因子である。

研究成果の概要(英文):Result :In lung cancer patients without interstitial pneumonia, IL-6 expression in non-cancerous tissue was high,although VEGF expression in cancerous tissue was high. On the other hand, in lung cancer patients with interstitial pneumonia, IL-6 expression in non-cancerous tissue was also high,although IL-1 β , VEGF and FGF expressions were high in cancerous tissue, respectively. FGF expression in both cancerous and non-cancerous tissue were high in lung cancer patients without interstitial pneumonia. Result :Preoperative high MLR levels were significantly associated with patient sex, smoking status, and postoperative recurrence. Only preoperative MLR levels were identified as an independent predictor of shorter RFS. Five-year RFS rates in patients with preoperatively high MLR levels were significantly lower than in those with low MLR levels. In subgroup analysis, the high MLR level subgroup with tumors >2 cm had significantly shorter RFS than other subgroups.

研究分野：呼吸器外科学

キーワード：肺癌 線維性サイトカイン 炎症性サイトカイン 炎症性バイオマーカー 悪性度獲得 予後因子

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 肺癌の予後と治療法：原発性肺癌は世界の癌死亡原因の1位であり、本邦においても最も多い癌死の原因疾患(男性49,035人、女性18,548人：2009年)である。また、今後もその比率は上昇し、10年後においては約2倍(10万人/年)になると考えられている。なかでも80-85%を占める非小細胞肺癌に対する治療成績の向上は急務と考えられる。治癒切除の対象となるI-III A期非小細胞肺癌に対する第一選択は手術であるが、手術療法にて完全切除が期待できるのは約30%、完全切除された症例でも5年生存率は50%程度と決して満足できるものではない。また、肺癌患者の3/4は診断時に進行癌として発見され、化学療法や放射線療法にて治療されるものの、その平均生存期間は約7-11ヶ月と不良であり、新しい治療法や予防法の開発が急務である。(2) 肺線維化と肺癌：難治性疾患に指定されている特発性肺線維症(Idiopathic Pulmonary Fibrosis: IPF)症例は、しばしば肺癌を合併することが知られている。IPFあるいは特発性間質性肺炎と肺癌の合併は5-30%と高頻度であるとされており、IPFそのものが肺癌発症の独立した因子であるとする報告もある[Am J Respir Crit Care Med 2000]。また、肺に重複癌のみられる頻度が他の肺気腫などの肺基礎疾患より優位に高いとする報告もある。しかしながらIPF合併肺癌の治療は、外科療法においては術後のIPFの急性増悪の可能性、がん化学療法における薬剤性急性肺障害の危険性、さらには放射線療法における放射性肺臓炎の危険性を孕んでおり、その治療には多くの制限がある。また近年、喫煙関連肺疾患としてCombined Pulmonary Fibrosis and Emphysema (CPFE)が知られており、慢性閉塞性肺疾患(Chronic Obstructive Pulmonary Disease: COPD)よりも高頻度に肺癌を合併することが報告されている[Radiographics 2008, Respiriology 2010]。今後もこのような肺線維症合併肺癌は増加することが予想される。従って、こうした肺線維症合併肺癌に対する新規治療法の開発が急務であることは言うまでもない。(3) 肺線維症と肺癌関連遺伝子異常：肺線維症では慢性的な肺上皮障害により、肺癌関連遺伝子損傷が蓄積し発癌に至ると考えられているが、肺線維症における病変部位では種々の肺癌関連遺伝子異常の関与が示唆されている[J Cell Mol Med 2002]。(4) 肺線維症と炎症性サイトカイン：肺の線維化が生じている部位では、腫瘍壊死因子：tumor necrosis factor (TNF)、Interleukin-1 beta (IL-1)、血小板由来増殖因子：platelet derived growth factor (PDGF)などの炎症性サイトカインの産生が持続していることが知られている。一方、肺組織の線維化は、正常な組織修復過程の病的な過剰状態であり、肺損傷刺激の繰り返しにより、トランスフォーミング増殖因子：transforming growth factor-beta1 (TGF- β 1)やfibronectinといった線維化促進サイトカインの持続産生あるいは過剰産生といった悪循環に陥っているとされている(N Eng J Med 1994)。(5) 肺線維化及び肺癌と炎症との関連性：肺の線維化が生じている部位では、炎症性サイトカインあるいは線維化促進サイトカインの産生が持続していることが知られている。しかし、これらの炎症性サイトカインが肺癌や肺癌の進展にどのような作用を有しているかは明らかでなかった。そこで、我々はこれまでに手術標本を用いた研究で、肺癌組織における炎症性サイトカイン並びに線維化促進サイトカインのmRNAレベルの発現状態を検証した。方法として、癌部、非癌部(腫瘍隣接部及び腫瘍から3cm以上離れた腫瘍遠隔部)の3か所の凍結標本を採取し、total RNAを抽出、real-time RT-PCR法にて種々の炎症性サイトカイン及び線維化促進サイトカイン(TGF- β 、vascular epithelial growth factor: VEGF、fibroblast growth factor-2: FGF-2、Fibronectin、hepatocyte growth factor: HGF、TNF- α 、IL-1 β 、PDGF、insulin growth factor-1: IGF-1)のmRNAレベルでの発現を解析した。その結果、VEGF、Fibronectin、HGF、IL-1 β の4種類の炎症性サイトカインならびに線維化促進サイトカインの腫瘍部における高発現が認められたのみ

ならず、腫瘍隣接部においてもこうしたサイトカインの高発現を認めた。よって、炎症性サイトカインならびに線維化促進サイトカインは癌細胞自身によってのみならず、近隣細胞（間質細胞）からも過剰産生されていることが示唆された。肺における慢性炎症それに伴う肺線維化は、正常肺組織からの線維化、線維化肺からの発癌、悪性度獲得に重要な関連性を有する可能性がある。

2. 研究の目的

非小細胞肺癌における炎症性サイトカイン及び線維化促進サイトカインの発現・機能を網羅的に解析することによりその転移・浸潤のメカニズムを解明し、Keyとなるサイトカインを同定し、新規治療のターゲットとなりうるかについて検討する。

3. 研究の方法

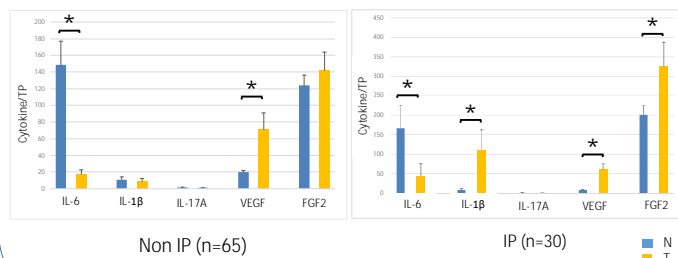
方法(1): 2006年1月から2015年12月までの肺癌切除症例より抽出した間質性肺炎非合併症例(non IP) 65例及び間質性肺炎合併症例(IP) 33例を対象とし、非小細胞肺癌の手術標本より癌部(T)、非癌部(N)のタンパクを抽出し、non IP、IPにおけるサイトカイン発現の比較を行った。測定項目: VEGF, FGF, IL-1, TNF, IL-6, IFN-, IL-10, IL-17A, IL-12p。

方法(2): 2006年4月から2012年12月までに完全切除された病理病期IA期非小細胞肺癌311症例を対象とし、術前 systemic inflammatory index (SII)、neutrophil/lymphocytes ratio (NLR)、platelet/lymphocyte ratio (PLR)、monocyte/lymphocyte ratio (MLR)と術後再発及び無再発生存期間との関連性につき統計学的解析を行った。

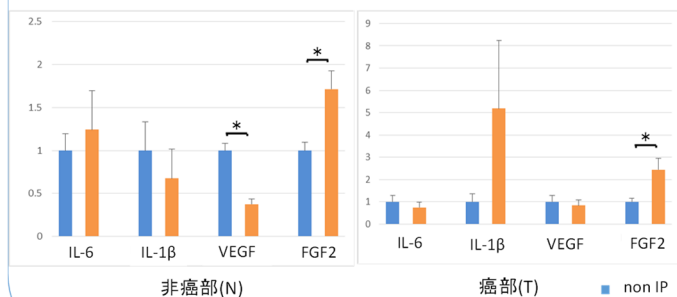
4. 研究成果

結果(1): non IPではIL-6は非癌部での発現量が高く、VEGFは腫瘍部での発現が高かった。IL-6は非癌部での発現量が高く、IL-1, VEGF, FGFは腫瘍部での発現が高かった。IL-10, TNF, IL-12p, IFN-は検出できなかった。また非癌部、癌部いずれにおいてもFGFはIP症例で高

non IP, IP症例におけるサイトカイン発現



非癌部、癌部におけるサイトカイン発現量の比較



値であった。結語(1): 炎症性・線維性サイトカインの中で、Fibroblast growth factor (FGF)は間質性肺炎合併肺癌及び非合併肺癌における悪性度獲得メカニズム獲得のKey因子となる可能性が示唆された。従ってFGFをターゲットとした肺癌に対する新規治療への展開も考えられた。

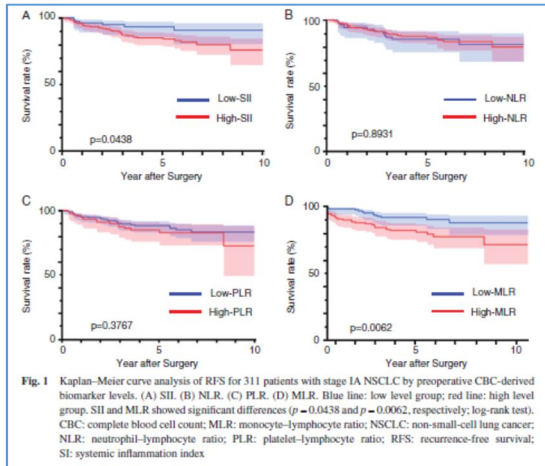
結果(2): 術前MLR高値は男性、喫煙歴あり及び術後再発と有意な相関を認めた ($P < 0.0001$, $=0.0307$, $=0.0146$)。また術前SII高値は術後再発と有意な相関を認めた ($P = 0.0458$)。一方、術前NLR値及びPLR値はいかなる因子とも相関を認めなかった。腫瘍内血管浸潤 ($P = 0.0412$)、

腫瘍内リンパ管浸潤 (P= 0.0097) 及び術前 MLR 高値 (P= 0.0269)が病理病期 IA 期非小細胞肺癌における独立した術後再発予測因子であった (Table 4)。また術前 MLR 高値症例は低値症例と比較して、2.259 倍 (95% CI: 1.094–5.000) 再発リスクが高かった。

Table 4 Univariate and multivariate analyses of disease-free survival in patients with stage IA NSCLC

Variable	Univariate analysis	Multivariate analysis
	RR (95% CI), p value	RR (95% CI), p value
Age (> 65 vs. ≤ 65)	1.150 (0.620–2.217), 0.6622	–
Sex (male vs. female)	2.677 (1.421–5.329), 0.0021	1.297 (0.572–3.045), 0.5386
Smoking status (cur/for vs. never)	2.726 (1.470–5.252), 0.0014	1.664 (0.768–3.757), 0.2011
Tumor size (T1bc vs. T1a)	4.608 (1.004–81.682), 0.0493	4.311 (0.877–78.243), 0.0780
Histology (non-Ad vs. Ad)	2.001 (0.900–4.007), 0.0855	–
Procedure (limited vs. lobectomy)	1.436 (0.763–2.857), 0.2680	–
BVI (yes vs. no)	3.503 (1.327–7.720), 0.0143	2.955 (1.049–7.002), 0.0412
LVI (yes vs. no)	3.262 (1.466–6.536), 0.0053	3.177 (1.353–6.776), 0.0097
Preoperative SII (high vs. low)	2.264 (1.028–5.976), 0.0420	1.924 (0.826–5.275), 0.1355
Preoperative NLR (high vs. low)	1.710 (0.921–3.139), 0.0883	–
Preoperative PLR (high vs. low)	1.328 (0.689–2.464), 0.3854	–
Preoperative MLR (high vs. low)	2.474 (1.298–5.029), 0.0054	2.259 (1.094–5.000), 0.0269

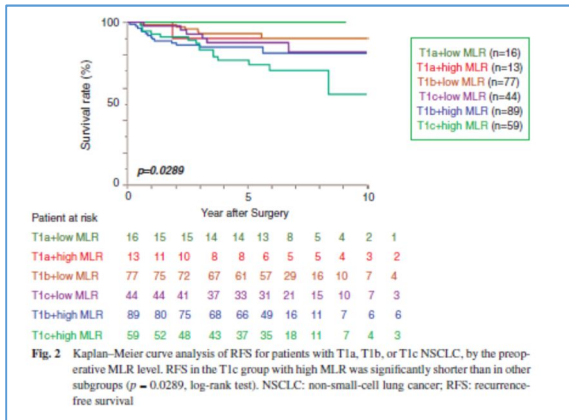
95% CI: 95% confidence interval; Ad: adenocarcinoma; BVI: intratumoral blood vessel invasion; Cur/for: current/former smoker; limited: limited resection; LVI: lymphatic vessel invasion; MLR: monocyte-lymphocyte ratio; NSCLC: non-small-cell lung cancer; NLR: neutrophil-lymphocyte ratio; PLR: platelet-lymphocyte ratio; RR: relative risk; SII: systemic immune inflammation index



腫瘍径>2cm (T1c)かつ MLR 高値を示す症例が有意に無再発生存率が低かった (Fig. 2)。

結語 (2): 術前 MLR 値は簡便に算出可能な炎症性バイオマーカーであり、病理病期 IA 期非小細胞肺癌における術後再発予測因子と考えられた。

た。さらに術前 MLR 高値症例における 5 年無再発生存率は低値症例と比較して有意に低かった (82.21% vs. 92.05%, $p = 0.0062$) (Fig. 1)。術前 MLR 値と病理学的 T 因子にて層別化すると、



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Shoji Fumihiko, Kozuma Yuka, Toyokawa Gouji, Yamazaki Koji, Takeo Sadanori	4. 巻 in press
2. 論文標題 Complete Blood Cell Count-Derived Inflammatory Biomarkers in Early-Stage Non-Small-Cell Lung Cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery	6. 最初と最後の頁 1-8
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5761/atcs.oa.19-00315	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 庄司文裕、上妻由佳、豊川剛二、山崎宏司、竹尾貞徳
2. 発表標題 病理病期IA期非小細胞肺癌における術前Systemic immune-inflammation indexの意義
3. 学会等名 第59回日本呼吸器学会学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Fumihiko Shoji, Yuka Kozuma, Gouji Toyokawa, Koji Yamazaki and Sadanori Takeo
2. 発表標題 Preoperative complete blood cell count-derived inflammation biomarkers for postoperative recurrence in early-staged non-small cell lung cancer patients
3. 学会等名 2019 World Conference on Lung Cancer（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 庄司文裕、上妻由佳、豊川剛二、山崎宏司、竹尾貞徳
2. 発表標題 病理病期IA期非小細胞肺癌における術前炎症性バイオマーカーの意義に関する検討
3. 学会等名 第72回日本胸部外科学会定期学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	豊川 剛二 (Toyokawa Gouji) (30627261)	独立行政法人国立病院機構（九州がんセンター臨床研究センター）・その他部局等・呼吸器腫瘍科医師 (87102)	
研究 分担者	岡本 龍郎 (Okamoto Tatsuro) (80568626)	大分大学・医学部・准教授 (17501)	