

令和 3 年 10 月 8 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K15951

研究課題名(和文) 肺癌患者における薬剤性肺障害の病態解明：RAGE/HMGB1 axisの視点から

研究課題名(英文) Mechanistic association of RAGE/HMGB1 axis with drug induced lung injury in lung cancer

研究代表者

山口 覚博 (Yamaguchi, Kakuhiro)

広島大学・病院(医)・助教

研究者番号：90812991

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：間質性肺炎合併肺癌患者の重篤な合併症として細胞障害性抗がん剤による肺障害があるが、本研究はその最初の予測血液マーカーを調査した。間質性肺炎合併肺癌患者では、血清HMGB1値の上昇と細胞障害性抗がん剤による肺障害の発症率上昇との間に独立した関連性があった。さらに、探索的分析により、HMGB1によるシグナル伝達を抑制するデコイ受容体であるsRAGEのレベルが血中で高いほど、HMGB1値が高い患者における細胞障害性抗がん剤による肺障害の発生率が低下した。つまり、HMGB1が間質性肺炎合併肺癌患者における細胞障害性抗がん剤による肺障害の予測に有用であり、かつ病因を解明しうる分子標的となるかもしれない。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肺癌は癌の中で死亡者数が最多であり、加えて喫煙と強く関連する癌腫であるため、もともと肺に間質性肺炎などの器質的異常を伴う頻度が高い。間質性肺炎を合併する患者は全体の10-15%という報告があるが、そのような患者では各種薬剤による肺障害のリスクが高く、標準治療を行えないばかりか肺障害のリスクの高さから緩和的治療に終止する場合もある。本研究では、血液マーカーを用いて肺障害の予測精度を高め、またその分子生物学的な発症機序の一端を解明することで、間質性肺炎を合併した肺癌患者に対する治療の最適化および予防的な介入の確立に向けた研究の基盤となるデータをえることができたと考えている。

研究成果の概要(英文)：This study was conducted to investigate the first predictive blood biomarker for cytotoxic chemotherapy induced lung injury as a life-threatening complication in patients with lung cancer concomitant with interstitial lung disease (ILD). We found an independent association between serum HMGB1 levels and the onset of chemotherapy-induced lung injury in these patients. Additionally, exploratory analysis revealed that higher levels of serum sRAGE, a decoy receptor for RAGE ligands including HMGB1, was associated with decreased incidence of cytotoxic chemotherapy-induced lung injury in patients with higher HMGB1 levels. These results indicate that HMGB1 is a promising biomarker and may have a role in the pathogenesis of cytotoxic chemotherapy-induced lung injury in patients with lung cancer and ILD.

研究分野：呼吸器内科学

キーワード：薬剤性肺障害 肺癌 細胞障害性抗がん剤 HMGB1 sRAGE

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

抗癌薬による薬剤性肺障害は、肺癌患者の致命的な合併症の1つである。複数の臨床研究から既存の間質性肺炎が肺癌患者における薬剤性肺障害のリスクを上昇させることが知られている。しかし、薬剤性肺障害の発症機序自体に不明な部分が多く、その発症を予測するバイオマーカーも確立されていない。治療前に薬剤性肺障害の発症リスクを定量化できれば臨床的有用性は高いと考えられる。

「RAGE」(The receptor for advanced glycation end-product)は肺に生理的に高発現する1型膜蛋白で、リガンドと反応し細胞内シグナル伝達を行うことで炎症を惹起する。例えば、RAGEのリガンドであるHMGB1(high mobility group box1)は過剰なRAGEシグナルを活性化し、肺障害を悪化させる。一方、細胞内ドメインを欠いた状態で循環するRAGEの可溶性アイソフォーム「soluble RAGE(sRAGE)」は、膜型RAGEとリガンドの反応を妨げることで抗炎症作用を示し、肺障害に保護的に働くことが知られている。

我々は間質性肺炎の中で最も予後不良な「特発性肺線維症」の患者で血中sRAGEが低下し、血中HMGB1が上昇していることに加え、sRAGE低値・HMGB1高値が急性増悪という急性肺障害の発症を促進している可能性を報告してきた。加えて、肺癌に罹患することでsRAGE低下・HMGB1上昇が起こることが報告されている。

以上の先行研究の結果から、我々は「担癌状態および間質性肺炎の併存に伴う血中HMGB1上昇・sRAGE低下が、過剰なRAGEシグナルによる炎症を惹起し、肺癌患者における薬剤性肺障害の発症リスクを上昇させる」と仮説をたて、HMGB1やsRAGEを用いることで抗癌薬による薬剤性肺障害の発症を予測できるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

- ①間質性肺炎合併肺癌患者における薬剤性肺障害の発生と血中sRAGE・HMGB1の関連を調べ、この致命的有害事象の発症予測マーカーになりえるか検証する。
- ②①で間質性肺炎合併肺癌患者における薬剤性肺障害の発生と血中sRAGE・HMGB1の関連が確認できれば、引き続きRAGE/HMGB1 axisが予防的創薬のターゲットになり得るかマウスモデルで検証する。

3. 研究の方法

(1) 間質性肺炎合併肺癌患者における薬剤性肺障害の発症予測マーカーの開発

- a) 健常群・間質性肺炎を合併していない肺癌群・間質性肺炎を合併している肺癌群の3群から採取した血清検体を用い、ELISA kitでsRAGE(R&D systems)・HMGB1(シノテスト)を測定し比較する。続けて間質性肺炎を合併している肺癌群において、血中sRAGE・HMGB1と薬剤性肺障害の発症率・発症までの期間の関連について解析する。
- b) sRAGEもしくはHMGB1の変化に寄与する因子の同定を行う。HMGB1は腫瘍からも分泌されるため、癌の進行度合いがHMGB1の値および薬剤性肺障害の発症に寄与するか検証するため、腫瘍量をCTから定量化し、血中sRAGE・HMGB1との相関や肺障害発症までの期間との関連を確認する。

(2) RAGE/HMGB1 axisを標的とした薬剤性肺障害の予防的創薬のための基盤研究

In vivoにおける肺癌と薬剤性肺障害の関与を解明するため、まずはマウス由来の肺癌細胞株を皮下移植したマウスと正常マウスにブレオマイシンや高酸素による肺障害を起こす。血中・肺胞

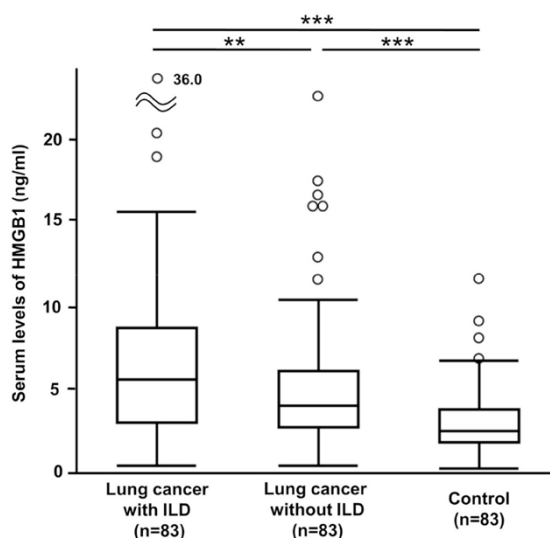
洗浄液中の sRAGE や HMGB1・肺の線維化や血管透過性の亢進を定量化し比較することで、担癌状態が肺障害の悪化に寄与するか検証する。癌の存在が肺障害を悪化させれば、recombinant sRAGE や抗 HMGB1 抗体・HMGB1 siRNA で肺障害が軽減できるか確認する。

4. 研究成果

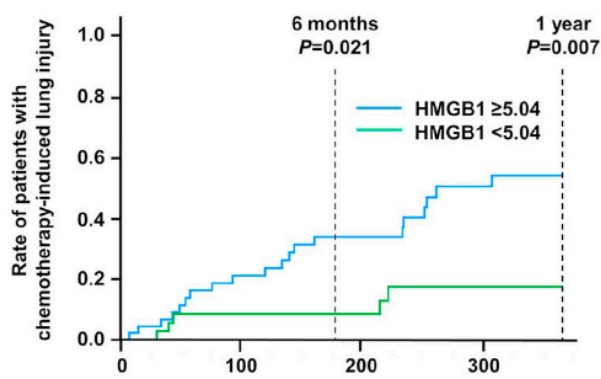
(1) 間質性肺炎合併肺癌患者における薬剤性肺障害の発症予測マーカーの開発

本研究では、2003年10月から2018年12月までの期間に広島大学病院で診断され治療を受けた初回治療前の血清サンプルを有する進行肺癌患者743例のうち、ILDを有した144例から根治的放射線照射やドライバー遺伝子陽性例などを除き、細胞障害性抗癌剤で治療を受けた83例のILD合併肺癌を対象とした。また、ILD合併肺癌患者と背景因子が合うように調整した83例のILD非合併肺癌患者と83例の健常者も解析に含めた。化学療法治療開始前に採取した血清検体を用い、HMGB1・sRAGEを測定し、これらの3群で比較した。次に、腫瘍量やILDの存在がHMGB1やsRAGEに与える影響を検証し、さらに血清HMGB1・sRAGEと治療開始1年以内の薬剤性肺障害の発症までの期間との関連について解析した。

まず血清HMGB1値は、健常群よりILD非合併肺癌群で有意に高く、さらにILD合併肺癌群では健常群・ILD非合併肺癌群より有意に高かった(右図)。また、重回帰分析では血清HMGB1の上昇は、高腫瘍量やILDの存在と独立した関連を示した。



ILD合併肺癌患者83例中、25例が1年以内の細胞障害性抗癌剤に起因する薬剤性肺障害を発症していた。ROC曲線を用いて算出したカットオフ値5.04 ng/mLで2群に分けた場合、HMGB1高値群の細胞障害性抗癌剤に起因する薬剤性肺障害の発症率はHMGB1低値群と比較して有意に高かった(下図)。



	Follow-up periods (days)				
Number at risk	0	100	200	300	
HMGB1 ≥ 5.04:	46	33	24	15	11
HMGB1 < 5.04:	37	28	22	17	14

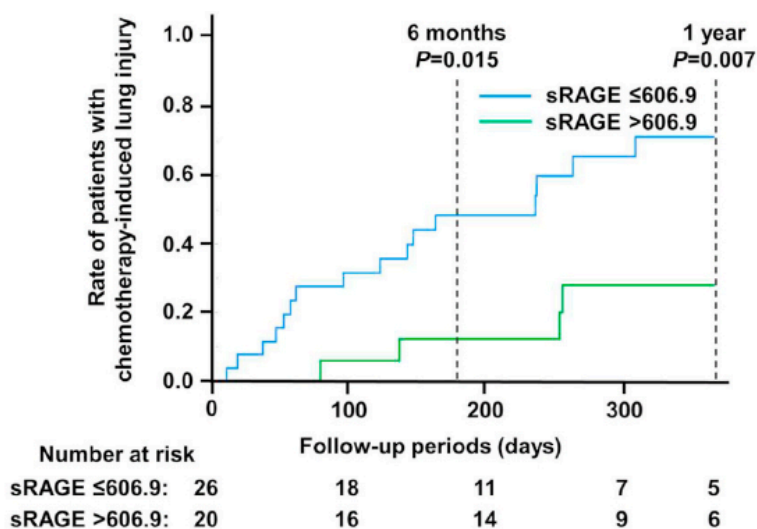
有意に高かった。

HMGB1・sRAGEをとともに含めたコックス比例ハザードモデルにおいては、単変量解析では、高腫瘍量、血清sRAGE低下、血清HMGB1上昇が有意な薬剤性肺障害の発症予測因子であり、多変量解析では、血清HMGB1のみが独立した薬剤性肺障害の発症予測因子であることが示された。

次に血清sRAGE値は、健常群よりILD非合併肺癌群で有意に低く、さらにILD合併肺癌群では健常群・ILD非合併肺癌群より有意に低かった。ROC曲線を用いて算出したカットオフ値606.9 pg/mLで2群に分けた場合、sRAGE低値群の細胞障害性抗癌剤に起因する薬剤性肺障害の発症率はsRAGE高値群と比較して

これらの結果から、血中 HMGB1 値は ILD 合併肺癌患者における細胞障害性抗癌剤治療に起因する薬剤性肺障害発症に重要な役割を担っていると考えられた。

興味深い点は、血清 HMGB1 5.04 ng/mL 以上の患者において、血清 sRAGE が 606.9 pg/mL より高い水準で維持されていると肺障害の発症率が低下した。一方で、血清 HMGB1 5.04 ng/mL 以上の患者において、血清 sRAGE も 606.9 pg/mL 未満しか存在しない場合が肺障害の発症率が最も高かった (右図)。



この結果は、HMGB1 の上昇がもたらす炎症性シグナルの増強は、高レベルの sRAGE によって軽減される可能性があることを示しており、これは HMGB1 が ILD 合併肺癌患者の化学療法に伴う薬剤性肺障害の病因に関与するだけでなく、予防的創薬の標的分子になる可能性を示唆している。

(2) RAGE/HMGB1 axis を標的とした薬剤性肺障害の予防的創薬のための基盤研究

臨床検体を用いた検討で HMGB1 やその活性を制御する sRAGE が肺癌患者における薬剤性肺障害の病態形成に重要な役割を担っている可能性が示されたため、その機序を探索すべくマウスモデルの作成を行った。まず C57BL/6 マウスの皮下に Lewis lung carcinoma 細胞を移植し、血中 HMGB1 の推移を確認したところ、がん細胞の播種により血液中の HMGB1 濃度が上昇することを確認した。現在はそのマウスに対して各種抗がん剤を投与することで肺におよぼす影響を探索すべく実験を進めており、研究の継続を予定している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2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 0件）

1. 著者名 Nakao Satoshi, Yamaguchi Kakuhiro, Iwamoto Hiroshi, Sakamoto Shinjiro, Horimasu Yasushi, Masuda Takeshi, Miyamoto Shintaro, Nakashima Taku, Ohshimo Shinichiro, Fujitaka Kazunori, Hamada Hironobu, Hattori Noboru	4. 巻 172
2. 論文標題 Serum high-mobility group box 1 as a predictive marker for cytotoxic chemotherapy-induced lung injury in patients with lung cancer and interstitial lung disease	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Respiratory Medicine	6. 最初と最後の頁 106131 ~ 106131
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.rmed.2020.106131	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 NAKAO SATOSHI, YAMAGUCHI KAKUHIRO, SAKAMOTO SHINJIRO, HORIMASU YASUSHI, MASUDA TAKESHI, MIYAMOTO SHINTARO, NAKASHIMA TAKU, IWAMOTO HIROSHI, FUJITAKA KAZUNORI, HAMADA HIRONOBU, HATTORI NOBORU	4. 巻 39
2. 論文標題 Chemotherapy-associated Acute Exacerbation of Interstitial Lung Disease Shortens Survival Especially in Small Cell Lung Cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 5725 ~ 5731
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.13773	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Nakao S, Yamaguchi K, Sakamoto S, Horimasu Y, Masuda T, Miyamoto S, Nakashima T, Iwamoto H, Ohshimo S, Fujitaka K, Hamada H, Hattori N.
2. 発表標題 Pivotal role of the HMGB1/sRAGE axis in drug-induced lung injury in advanced lung cancer with pre-existing interstitial lung disease
3. 学会等名 30th International Congress of the European Respiratory Society
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中尾聡志, 山口寛博, 坂本信二郎, 堀益靖, 益田武, 宮本真太郎, 中島拓, 岩本博志, 藤高一慶, 濱田泰伸, 服部登
2. 発表標題 間質性肺炎合併肺癌における化学療法による間質性肺炎急性増悪発症予測因子としての血中HMGB1・sRAGEの有用性
3. 学会等名 第61回日本肺癌学会学術総会
4. 発表年 2020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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------