

令和元年9月3日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K08401

研究課題名(和文) 薬剤性肺線維症の分子メカニズムの解明とゲノム薬理的解析の統合的研究

研究課題名(英文) Integrated research for clarification of molecular biological and pharmacogenomic mechanisms of interstitial lung disease induced by molecular targeted drugs

研究代表者

山本 和宏 (Yamamoto, Kazuhiro)

神戸大学・医学部附属病院・特命講師

研究者番号：30610349

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究において、STAT3の遺伝子多型(rs4796793)の遺伝子型CCを有する患者は、mTOR阻害薬に起因する間質性肺疾患の発症リスクが高いことを明らかにした。また、基礎的検討により、ヒト肺がん細胞はSTAT3の遺伝子多型(rs4796793)の遺伝子型により、エベロリムス曝露後のEMT関連マーカーの発現および関連シグナル因子の活性変動パターンが異なることを明らかにした。

分子標的治療薬による間質性肺疾患のメカニズムにSTAT3が関与する可能性が示唆された。今後の詳細な検討を行うことにより、STAT3遺伝子多型が間質性肺疾患の事前予測因子となることが期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

間質性肺疾患はときに致命的な病態となる重大な副作用であり、近年の分子標的型薬剤の開発促進により、その発症者は経年的に増加している。これまで解明されていなかった分子標的治療薬に起因する間質性肺疾患の発症メカニズムにSTAT3と呼ばれるシグナル因子が関連することを明らかにすることができれば、これらのメカニズムに基づく発症予測因子や新規予防・治療方法の確立が期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, we clarify that the patients with CC genotype of STAT3 single nucleotide polymorphism (SNP) rs4796793 have a higher risk of interstitial lung disease induced by mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibitor. Moreover, we observed that expression or activity of EMT marker and EMT related signal transduction factor is different from genotype of rs4796793 in human lung cancer cell lines.

Our study suggest that mechanism of molecular targeted drugs-induced interstitial lung disease associate with STAT3. To accumulate the data by further experiments, it is expected that STAT3 polymorphism use as the prediction marker of interstitial lung disease.

研究分野：ゲノム薬理学

キーワード：間質性肺疾患 mTOR阻害薬 STAT3 EMT

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

1. 研究開始当初の背景

がん化学療法における副作用ケアは患者の QOL の確保のみならず、治療成績の向上においても非常に重要である。中でも薬剤性肺線維症は致死的な病状経過を示すこともある重大な副作用である。肺線維症の原因薬剤は多岐に渡るが、抗悪性腫瘍薬が 53.3%と大半を占めており、その報告数は経年的に増加している。特に分子標的治療薬には副作用として肺線維症を生じる薬剤が多く、临床上重要な副作用として警戒されているにも関わらず、未だに根本的な発症メカニズムは解明されておらず、解決に向けた研究が進んでいない。これらの薬剤による統合的な肺線維症発症メカニズムを解明することが、今後の患者主体の癌治療を検討する上での最重要課題である。著者は、signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3)が mammalian target of rapamycin (mTOR)阻害薬の誘導する上皮間葉転換(EMT)に関与することを基礎的検討により見出している。また、STAT3 をコードする遺伝子には日本人に特徴的な一塩基多型が知られているが、分子標的治療薬による間質性肺疾患における関連性は知られていない。分子標的治療薬による間質性肺疾患の発症メカニズムにおける STAT3 の関与と遺伝薬理学的影響を明らかにするためには詳細な検討が必要である。

2. 研究の目的

本研究では、薬剤性肺線維症の発症メカニズムを分子生物学的かつゲノム薬理学的アプローチにより解明することを目的とし、基礎と臨床の両面から多角的・統合的検討を実施する。

3. 研究の方法

【臨床研究】

STAT3 遺伝子多型と mTOR 阻害薬による間質性肺疾患の発症との関連性を評価するための多施設共同研究を行った。

(1) 患者

エベロリムスまたはテムシロリムスを投与した腎細胞がん患者を対象とした。当該薬剤の治療開始時に Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) ver. 4.0 に基づく「肺臓炎」または「肺線維症」を有する患者および間質性肺疾患以外の理由で 140 日以内に治療を中止した患者は除外した。目標症例数は 80 名とした。

(2) サンプリングおよび遺伝子多型解析

血液は通常診療における残余検体を用いた。血液より DNA を抽出し、日本人において変異頻度の高い STAT3 の遺伝子多型を Taqman Probe 法によりタイピングした。

(3) アウトカム

主要評価項目は mTOR 阻害薬治療に起因する間質性肺炎の 140 日以内の発症の有無とした。また、副次的評価項目として全期間における間質性肺疾患の発症の有無、治療奏効率、治療継続期間などとした。

臨床研究は神戸大学医学部倫理委員会および各参加施設の倫理委員会の承認を得た上で実施した (No.160020)。

【基礎研究】

基礎研究には各種ヒト肺がん細胞を用いた。また、薬剤性肺線維症を惹起する分子標的治療薬としてエベロリムスを選択した。

(1) 遺伝子多型解析

基礎研究に用いる細胞を選定するために、臨床研究において間質性肺疾患との関連性を示した遺伝子多型を各種ヒト肺がん細胞において Taqman Probe 法によりタイピングした。また、標的遺伝子多型の遺伝子型と STAT3 発現量および活性レベルの関連を Western blot 法により評価した。

(2) 肺線維症モデルの構築

標的遺伝子多型の遺伝子型において、間質性肺疾患高リスクの遺伝子型と低リスクの遺伝子型の細胞を選出し、エベロリムスの曝露後の EMT マーカー発現変動を評価した。また、それらのモデルにおける Akt、STAT3 の活性変動を中心としたプロファイル解析を行った。EMT マーカーは E-cadherin、vimentin、Fibronectin などの発現を Western blot 法により評価した。

4. 研究成果

臨床研究の主要評価について表 1 に示す。対象における間質性肺疾患発症患者において STAT3 の遺伝子多型 (rs4796793) の CC 型の割合が顕著に高いことが明らかになった。mTOR 阻害薬に

よる間質性肺疾患の発症と STAT3 の遺伝子多型 (rs4796793) が関連する可能性を示唆した。

表 1. 間質性肺疾患発症の発症と STAT3 遺伝子型

SNP	genotype	within 140 days				Overall				Overall (Temsirolimus)				Overall (Everolimus)			
		Non-ILD	ILD	OR	P	Non-ILD	ILD	OR	P	Non-ILD	ILD	OR	P	Non-ILD	ILD	OR	P
STAT3	GG	8	2			7	3			2	1			5	2		
	GC	22	7	-	<0.001	18	11	-	<0.001	10	5	-	<0.001	8	6	-	0.007
	CC	4	14			0	18			0	10			0	8		
rs4796793	GG + GC	30	9	11.67	<0.001	25	14	-	<0.001	14	4	-	<0.001	13	8	-	0.003
	CC	4	14			0	18			0	10			0	8		
	GG	8	2	3.23	0.15	7	3	3.76	0.07	2	1	2.88	0.22	5	2	4.15	0.19
	GC + CC	26	21			18	29			10	15			8	14		

各種ヒト肺がん細胞の STAT3 の遺伝子多型 (rs4796793) のプロファイルと STAT3 の発現量および活性について図 1 に示す。STAT3 (rs4796793) の遺伝子型と STAT3 発現量および活性に関連性は認めなかった。

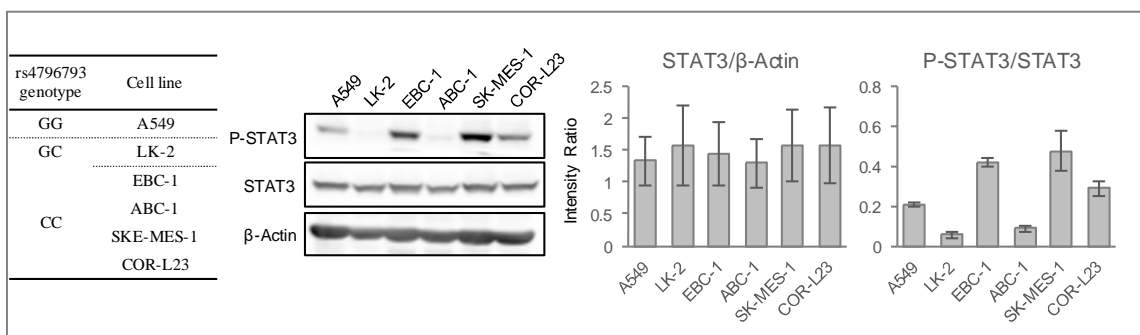


図 1. 各種ヒト肺がん細胞の STAT3 (rs4796793) の遺伝子型と STAT3 発現量および活性

STAT3 の遺伝子多型 (rs4796793) が GG の A549 細胞と CC の EBC-1 細胞におけるエベロリムス曝露後の反応性の差異を評価した。A549 細胞では、EMT マーカーの発現に顕著な変動は示しておらず、STAT3 同様に EMT に関連するシグナル因子である Akt の活性化が認められた。一方、EBC-1 細胞では、間葉系マーカーである N-cadherin や Vimentin の発現上昇が認められたが、EMT 関連シグナル因子は STAT3 の活性化が認められ、Akt は活性低下を認めた。

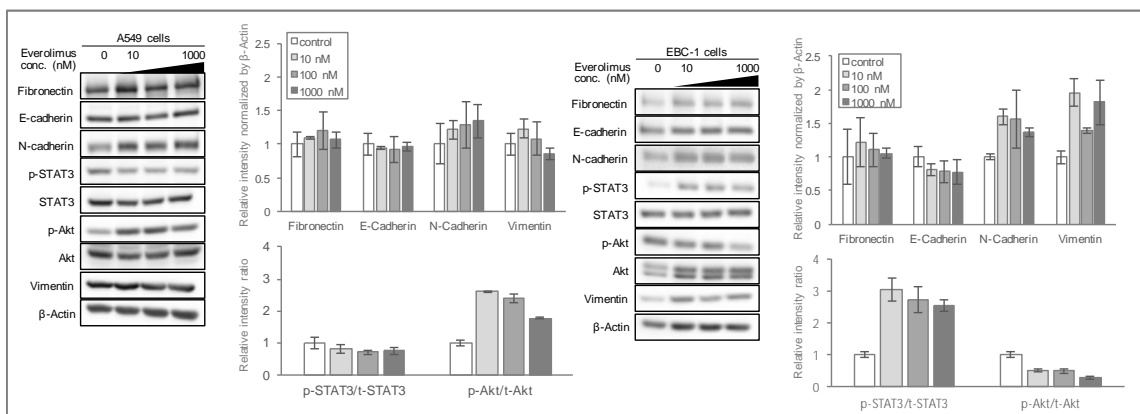


図 2 A549 細胞および EBC-1 細胞におけるエベロリムス曝露後の EMT マーカーの発現変動と STAT3 および Akt の活性変動

本研究において、以下のことが明らかとなった。

1. STAT3 の遺伝子多型(rs4796793)の遺伝子型 CC を有する患者は、mTOR 阻害薬に起因する間質性肺疾患の発症リスクが高い。
2. ヒト肺がん細胞は STAT3 の遺伝子多型(rs4796793)の遺伝子型により、エベロリムス曝露後の EMT 関連マーカーの発現および関連シグナル因子の活性変動パターンが異なる。

分子標的治療薬による間質性肺疾患のメカニズムに STAT3 が関与する可能性が示唆された。今後の詳細な検討を行うことにより、STAT3 遺伝子多型が間質性肺疾患の事前予測因子となることが期待される。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 20 件)

1. Yamamoto K, Yano I. Genetic polymorphisms associated with adverse reactions of molecular-targeted therapies in renal cell carcinoma. *Med Oncol.* 35(2):16, 2018

2. Yamamoto K, Hara T, Nakagawa T, Hirai M, Miyake H, Fujisawa M, Yano I. Association of Expression Levels or Activation Status of STAT3 with Treatment Outcomes of Sunitinib in Patients with Renal Cell Carcinoma. *Target Oncol*, 13(3):371-8, 2018
3. 山本和宏, 中川勉, 矢野育子, 平井みどり. シグナル伝達因子に起因する間質性肺炎発症メカニズム. *メディカル・サイエンス・ダイジェスト*, 44(1):49-53, 2018
4. 大藪智奈美, 佐藤伊都子, 東口佳苗, 山本和宏, 石村武志, 中町祐司, 三枝淳. 電気化学発光免疫測定法によるエベロリムス血中濃度測定試薬"エクルーシス試薬エベロリムス"の基礎的検討. *医学検査*, 67(5), 722-726, 2018
5. Watanabe A, Yamamoto K, Ioroi T, Hirata S, Harada K, Miyake H, Fujisawa M, Nakagawa T, Yano I, Hirai M. Association of Single Nucleotide Polymorphisms in STAT3, ABCB1, and ABCG2 with Stomatitis in Patients with Metastatic Renal Cell Carcinoma Treated with Sunitinib: A Retrospective Analysis in Japanese Patients. *Biol Pharm Bull*, 40(4):458-464, 2017
6. Yamamoto K, Ioroi T, Kanaya K, Shinomiya K, Komoto S, Hirata S, Harada K, Watanabe A, Suno M, Nishioka T, Kume M, Makimoto H, Nakagawa T, Hirano T, Miyake H, Fujisawa M, Hirai M. STAT3 polymorphism rs4796793 may be a predictive factor of tumor response to multiple tyrosine kinase inhibitors in metastatic renal cell carcinoma in Japanese population. *Med Oncol*, 33(3):24, 2016
7. Yamamoto K, Shinomiya K, Ioroi T, Hirata S, Harada K, Suno M, Nishioka T, Kume M, Makimoto H, Nakagawa T, Hirano T, Bito T, Nishigori C, Miyake H, Fujisawa M, Hirai M. Association of single nucleotide polymorphisms in STAT3 with hand-foot skin reactions in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with multiple tyrosine kinase inhibitors: a retrospective analysis in Japanese patients. *Target Oncol*, 11(1):93-9, 2016

〔学会発表〕(計 49 件)

1. 山本和宏. 個別化医療のいまとこれからを考える ～がんゲノム医療からプライマリ・ケアまで～:趣旨説明. 第 28 回日本医療薬学会年会, 2018 年 11 月, 神戸
2. 岩間弓奈, 山本和宏, 濱口常男, 中川勉, 矢野育子. エベロリムス長期曝露肺胞上皮細胞の上皮間葉転換に寄与するケモカインの探索. 医療薬学フォーラム 2018 第 26 回 クリニカルファーマシーシンポジウム, 2018 年 6 月, 東京
3. 山本和宏. がん分子標的治療による副作用の分子メカニズムの解明と克服法の確立に向けた病院薬剤師の挑戦. 日本薬学会第 138 年会, 2018 年 3 月, 金沢
4. Kazuhiro Yamamoto. Bench-to-bedside research for the dermatological side effects induced by multiple tyrosine kinase inhibitors. The 15th International Congress of Therapeutic Drug Monitoring & Clinical Toxicology (IATDMCT 2017), September, 2017, Kyoto
5. 山本和宏. 分子標的治療薬の有効性・副作用と STAT3 遺伝子多型の関連. 第 15 回日本臨床腫瘍学会学術集会, 2017 年 7 月, 神戸
6. 山本和宏. 分子標的治療薬の適正使用に向けた遺伝子多型解析の実践. 第 11 回日本緩和医療薬学会年会, 2017 年 6 月, 札幌
7. 穂原裕奈, 山本和宏, 渡邊愛未, 七里博章, 中川勉, 濱口常男, 矢野育子, 平井みどり. エベロリムスによる間質性肺疾患発症メカニズムにおける TGF- β の関与. 日本薬学会第 137 年会, 2017 年 3 月, 仙台

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

6. 研究組織

- (1)研究分担者: なし
- (2)研究協力者: なし

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。