

令和 6 年 4 月 13 日現在

機関番号：17102

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K20889

研究課題名（和文）オシメルチニブと免疫チェックポイント阻害薬による薬剤性間質性肺炎の病態解明

研究課題名（英文）Pathogenesis of drug-induced pneumonitis with osimertinib and immune checkpoint inhibitors

研究代表者

坪内 和哉（Tsubouchi, Kazuya）

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：60961927

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：肺癌の治療薬として広く使用され予後延長に寄与している上皮成長因子受容体チロシンキナーゼ阻害薬（薬剤名：オシメルチニブ）は、一定の頻度で薬剤性間質性肺炎を発症し致死的な転機を取る。今回オシメルチニブによる薬剤性間質性肺炎の病態解明に取り組んだ。オシメルチニブをマウスに投与し、オシメルチニブによる薬剤性肺炎を起こしたところ、このマウスでは実際の患者さんと同様に肺の中にリンパ球という免疫細胞が浸潤し、マウスの細気管支から分泌するサイトカインによってそのリンパ球が誘導されていると考えられた。気道上皮によって誘導されるリンパ球がオシメルチニブによる薬剤性肺炎の病態の一部であることが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

上皮成長因子受容体(epithelial growth factor receptor: EGFR)チロシンキナーゼ阻害薬は、肺癌の予後を大きく改善したが、一定の頻度で薬剤性間質性肺炎を発症し致死的な転機を取るため、薬剤性間質性肺炎の病態解明が求められている。本研究による結果はEGFRチロシンキナーゼ阻害薬による薬剤性肺炎の病態の一部を解明し、病態に関係するリンパ球を同定したことは薬剤性肺炎の診断や新規治療法の開発につながると考えられる。

研究成果の概要（英文）：The epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor (osimertinib), widely used as a therapeutic agent for lung cancer, is associated with the development of drug-induced pneumonitis, leading to fatal outcomes. In this study, we investigated the pathogenesis of osimertinib-induced pneumonitis. Osimertinib was administered to mice, resulting in drug-induced pneumonitis similar to that observed in patients with osimertinib-induced pneumonitis, characterized by infiltration of immune cells called lymphocytes into the lungs. These lymphocytes are induced by cytokines secreted from the mouse's bronchial epithelium. This indicates that lymphocytes induced by damaged airway epithelium play a role in the pathophysiology of osimertinib-induced interstitial pneumonitis.

研究分野：呼吸器内科学

キーワード：薬剤性肺炎 EGFRチロシンキナーゼ阻害薬

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

抗がん剤を含む多くの薬剤には、有害事象として肺障害があり、その障害を受ける部位が主に肺胞および間質領域であるものを、一般的には薬剤性間質性肺炎とよんでいる。がんによる死因として最多である肺癌の予後改善に大きな役割を果たしている薬剤に、上皮成長因子受容体 (epithelial growth factor receptor: EGFR)チロシンキナーゼ阻害薬と免疫チェックポイント阻害薬があるが、いずれの薬剤も一定頻度で薬剤性間質性肺炎を発症し、致死的な転機を取ることがある。近年では、免疫チェックポイント阻害薬投与後の症例に、EGFR チロシンキナーゼ阻害薬：オシメルチニブによる薬剤性間質性肺炎の発症頻度が増加することも報告され、病態解明が求められている。

薬剤性間質性肺炎の病態解明が困難な理由の一つに、適切な動物モデルの作成の難しさがある。我々はこれまでマウスにナフタレンを腹腔内投与し、細気管支上皮を一時的に脱落させ、EGFR チロシンキナーゼ阻害薬を投与することで、薬剤性間質性肺炎を増悪させるモデルを確立して複数の論文をこれまで報告してきた (*Am J Respir Crit Care Med* 2011;183:743-751)。更にこのナフタレン投与モデルを用いて、EGFR チロシンキナーゼ阻害薬の一つであるアファチニブと免疫チェックポイント阻害薬を併用投与し、薬剤性間質性肺炎の増悪の有無を検討した経験を有する (*Biochem Biophys Res Commun*.2017;491:655-661)。

2. 研究の目的

我々がこれまで報告してきた高い再現性のある、ナフタレン気道障害マウスを用いた薬剤性肺炎モデルを使用して、EGFR チロシンキナーゼ阻害薬：オシメルチニブによる薬剤性間質性肺炎モデルを作成し、また薬剤性間質性肺炎を発症した患者から得られた気管支肺胞洗浄液のマスサイトメトリー解析を用いて薬剤性間質性肺炎の病態解明を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

オシメルチニブによる薬剤性間質性肺炎モデルの作成

薬剤性間質性肺炎を起こしやすい臨床患者背景として、高齢、喫煙者などによる気道上皮障害が想定されるため、それを模倣するためにナフタレン投与によって一過性に細気管支上皮障害を誘導させるナフタレン投与モデルを用いた。ナフタレン(200mg/kg)腹腔内投与 1 日後に細気管支が脱落し 14 日後には自然に回復し、単独投与では肺障害はきたさないモデルである。コントロール群、ナフタレン単独投与群、オシメルチニブ単独投与群、ナフタレン + オシメルチニブ投与群の 4 群比較を行った。オシメルチニブ (10mg/kg) はナフタレン投与前日から開始し、13 日まで連日経口投与した。気管支肺胞洗浄液と組織の検討時期は 14 日後に行った。肺組織は HE 染色や免疫染色といった組織学的評価を行い、肺障害の程度や組織浸潤している細胞の評価を行った。気管支肺胞洗浄液は細胞分画の他、Anti-fibrotic cytokine (IFN など)や Pro-fibrotic cytokine (IL-4 や IL13 など)を測定した。

オシメルチニブによる薬剤性肺炎患者の気管支肺胞洗浄液の解析

2020 年 1 月から 2022 年 5 月までに凍結保存していたオシメルチニブによる薬剤性肺炎患者より採取した気管支肺胞洗浄液をマスサイトメトリーにて解析した。抗体はパネルを用いてマスサイトメーター Helios (Fluidigm)でデータを取得した。

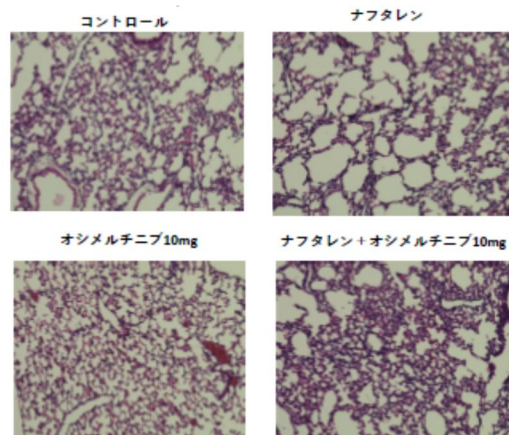
4. 研究成果

オシメルチニブによる薬剤性間質性肺炎モデルの作成

ナフタレンをマウスに腹腔内投与し、細気管支上皮を一時的に脱落させ、オシメルチニブを 14 日間経口投与したところ、コントロール群、オシメルチニブ単剤投与群やナフタレン単剤投与群ではみられない肺障害を誘導することができた

(右図)。マウスより気管支肺胞洗浄液を回収し、細胞数および Diff Quick 法での細胞分画

を確認すると、通常は洗浄液中の細胞はマクロファージがほとんどを占めるが、ナフタレンとオシメルチニブを投与したマウスでは総細胞数とリンパ球数の増加、およびリンパ球の割合の増加を認めた。マウスの気管支肺胞洗浄液をフローサイトメトリーで評価すると、CD4 陽性リンパ球の増加を認めていた。オシメルチニブ肺臓炎モデルマウスの肺を用いて、bulk RNAseq を行ったところ、naive CD4T 細胞を遊走させるケモカインである CCL21 の発現がオシメルチニブとナフタレンを投与したマウスで上昇しており、さらにはマウス肺



を蛍光免疫染色したところ、その CCL21 が脱落後再生してきた細気管支上皮に多く発現していることを見出した。

オシメルチニブによる薬剤性肺炎患者の気管支肺胞洗浄液の解析

オシメルチニブによる薬剤性間質性肺炎患者から採取した気管支肺胞洗浄液をマスサイトメトリーにより解析したところ、他の間質性肺疾患では検出されないnaive CD4T 細胞を認めた。

以上のように、今回我々が作成したオシメルチニブによる薬剤性肺炎マウスモデルは、実臨床で経験するオシメルチニブによる薬剤性間質性肺炎症例の気管支肺胞洗浄液と同様の所見を呈しており、このモデルはオシメルチニブによる薬剤性肺炎モデルとして評価することができると考えられた。またヒト患者検体を用いた解析結果も併せて、オシメルチニブ肺臓炎の発症には、障害された細気管支上皮による naive CD4T 細胞の遊走が関与していることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 安藤裕之、坪内和哉、柳原豊史、鈴木邦裕、衛藤大祐、秦兼太郎、岡本勇 |
| 2. 発表標題 ナフタレンマウスモデルを用いたオシメルチニブ肺障害の機序の解析 |
| 3. 学会等名 第63回 日本呼吸器学会総会 |
| 4. 発表年 2023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 |
|---------|---------|
|---------|---------|