

多発性骨髄腫の分子標的治療導入後血流感染合併リスクおよび小細胞肺癌細胞 Lu-165 細胞活性に果たす電位依存性ナトリウムチャネルの役割

Risk of Blood Stream Infection during Molecular Targeting
Pharmacotherapy in Multiple Myeloma and Role of Voltage-Gated
Sodium Channel in Cell Viability of SCLC Cell Line Lu-165

平成 27 年度入学 清水 幸宏 (Shimizu, Yukihiro)

指導教員 菱沼 滋

近年、がん薬物治療の進歩は著しく、細胞傷害性抗がん剤及び放射線療法に加え、分子標的治療薬 (Molecular targeting drug: MTD) や免疫療法が一般的に使用されるようになった。MTD はがん細胞に特異的に発現している標的に対して設計されているため、正常な細胞に障害を与えず、有害事象が最小となることが期待されている治療薬である。しかしながら、実臨床における MTD の有害事象は少なからず報告され、そのマネジメントが重要となっている。特に多発性骨髄腫における感染症は予後に直結する重要な問題である。今回、多発性骨髄腫患者における MTD 導入後の血流感染症の危険因子について検討した。

また、小細胞肺癌 (Small cell lung cancer: SCLC) には現在のところ MTD が存在しない。そこで、SCLC 細胞株 Lu-165 を用い、新たな標的分子として注目される電位依存性ナトリウムチャネル (Voltage-gated sodium channel: VGSC) のがん細胞増殖における役割について解析することにより、SCLC に対する MTD 開発の可能性について検討した。

1. 多発性骨髄腫患者における分子標的薬導入後の血流感染症合併リスク 因子の検討

【背景と目的】近年、多発性骨髄腫に対する MTD が開発され、奏効率の改善や生存期間の延長に大きく寄与している。一般に、MTD では正常細胞への障害が抑えられ、従来 of 細胞障害性抗がん剤と比較して有害事象が少ないと考えられる。多発性骨髄腫は、その病態から感染症のリスクは高いが、MTD による重篤な感染症も報告されている。これまで、MTD による感染症の危険因子について十分な検討はなされていないことから、本研究では、MTD 投与における血流感染症（Bloodstream infection: BSI）の危険因子について検討した。

【方法】2010 年 1 月から 2017 年 1 月までの期間に、防衛医科大学校病院において多発性骨髄腫に対する治療を目的に入院した患者を対象とした。対象患者について、各治療レジメンの投与サイクル毎にデータを収集し、外来治療および、感染症による入院については除外した。治療レジメンは細胞傷害性抗がん剤群（Cytotoxic Chemotherapy: Chemo、大量メルファラン療法や大量エトポシド療法など全 10 種類）と MTD 群（ボルテゾミブ/デキサメタゾン療法やレナリドミド/デキサメタゾン療法など全 14 種類）に分け、各群において BSI の危険因子を単変量解析及び多変量解析にて検討した。単変量解析において有意水準 20%未満で抽出された因子を多変量解析に導入し、有意水準を 5%未満として解析した。

【結果】対象患者は108例、解析対象となった治療レジメンの総サイクル数は245サイクルであり、43サイクルでBSIの発症が認められた。BSIの発症はChemo群52.6%、MTD群6.9%とChemo群で有意に高かった(図1)。BSI発症の危険因子として、Chemo群ではFourth

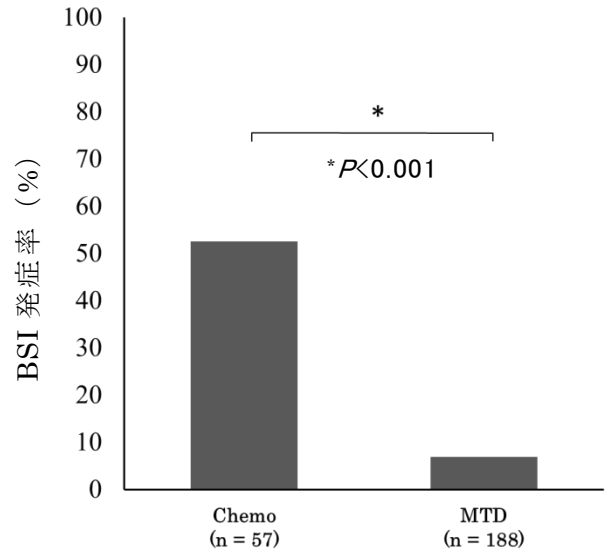


図1. BSI発症率

line以上の治療歴が検出され(表1:オッズ比[95%信頼区間]; 3.09[1.01-9.48]), MTD群ではリンパ球数最低値(<200/ μ L)が検出された(表2:オッズ比[95%信頼区間]; 7.85[1.75-35.11])。

表1. 細胞障害性抗がん剤治療サイクルにおけるBSIの危険因子

Clinical variable	Univariate			Multivariate		
	Odds ratio	95% confidence interval	P value	Odds ratio	95% confidence interval	P value
性別						
Female	reference	-	-	reference	-	-
Male	2.50	0.76-8.25	0.132	2.39	0.69-8.23	0.168
ST合剤の予防投与						
+	reference	-	-	reference	-	-
-	2.33	0.78-6.98	0.130	2.77	0.11-1.19	0.095
治療ライン数						
first, second and third	reference	-	-	reference	-	-
more	3.18	1.06-9.58	0.040	3.09	1.01-9.48	0.049

年齢、PS、eGFR、CVカテーテルの有無、治療開始前の好中球数、好中球数最低値、治療開始前のリンパ球数、リンパ球数最低値、フルオロキノロンの予防投与、国際病期分類基準は単変量解析にて有意差がなく、多変量解析では性別、ST合剤の予防投与、治療ライン数のみを変数として投入。

表2. 分子標的治療薬治療サイクルにおけるBSIの危険因子

Clinical variable	Univariate			Multivariate		
	Odds ratio	95% confidence interval	P value	Odds ratio	95% confidence interval	P value
CVカテーテル						
-	reference	-	-	reference	-	-
+	2.79	0.86-9.10	0.088	3.29	0.85-12.80	0.086
好中球数最低値						
$\geq 500/\mu$ L	reference	-	-	reference	-	-
< 500/ μ L	4.42	1.22-15.97	0.024	1.05	0.19-5.91	0.954
治療開始前のリンパ球数						
$\geq 800/\mu$ L	reference	-	-	reference	-	-
< 800/ μ L	7.47	1.98-28.23	0.003	4.05	0.90-18.31	0.069
リンパ球数最低値						
$\geq 200/\mu$ L	reference	-	-	reference	-	-
< 200/ μ L	14.54	4.26-49.65	<0.0001	7.85	1.75-35.11	0.007
国際病期分類基準						
I or II	reference	-	-	reference	-	-
III	0.33	0.07-1.53	0.156	1.580	0.30-8.33	0.589

性別、年齢、PS、eGFR、治療開始前の好中球数、フルオロキノロンの予防投与、ST合剤の予防投与、治療ライン数は単変量解析にて有意差がなく、多変量解析ではCVカテーテルの有無、好中球数最低値、治療開始前のリンパ球数、リンパ球数最低値、国際病期分類基準のみを変数として投入。

【考察】今回の解析により、BSI の発症は Chemo 群より有意に低いものの MTD 群でも生じうる有害事象であることが確認された。また、MTD 施行時の BSI 発症の危険因子として、リンパ球数の最低値 ($<200/\mu\text{L}$) が検出された。なお、発熱性好中球減少症の予防としてのフルオロキノロンの投与は、BSI の発症と関連がなかった。一般にリンパ球の低下は真菌感染やウイルス感染の危険因子となるが、プロテアソーム阻害薬ボルテゾミブの投与による T リンパ球の低下が細菌感染症の危険因子となることが報告されている。本研究結果と考え合わせると、MTD 施行時にはリンパ球数をモニタリングし、フルオロキノロン等の予防投与の有無に関わらず感染予防策を講じること、また、BSI 発症時には早期に対応できるよう留意すべきことが示唆される¹⁾。

2. SCLC 細胞株 Lu-165 細胞活性に果たす VGSC の役割

【背景と目的】SCLC は増殖速度が速く、副腎皮質刺激ホルモンやアルギニンバズプレッシン (AVP) の産生を伴う神経内分泌腫瘍の一つとされている。SCLC において血清 Na の低下は予後規定因子の一つとされており、その原因として SCLC からの AVP 分泌の過剰による低 Na 血症が考えられている。当研究室では、先の研究で SCLC 細胞株 Lu-165 において VGSC 阻害薬であるフェニトイン (PHT) が AVP の産生を抑制することを明らかにしている²⁾。今回、VGSC 阻害薬が SCLC 細胞株 Lu-165 の細胞生存率に与える影響を検討した。

【方法】常法に従い Lu-165 細胞を培養し、24 時間の無血清化後、VGSC 阻害薬 (PHT、カルバマゼピン : CBZ) 及び抗悪性腫瘍薬 (シスプラチン : CDDP、エトポシド : ETP) に細胞を曝露し、48 時間後に細胞生存率/細胞毒性および細胞死の分析を行った。細胞生存率/細胞毒性の測定には Cell

Counting Kit-8/ Cytotoxicity LDH Assay Kit-WST（同仁化学研究所）を用いた。アポトーシスの分析には Apoptotic/Necrotic/Healthy Cells Detection Kit（PromoCell GmbH 社）を用いた。統計解析には JMP Pro version 13（SAS Institute Inc., Cary, NC, USA）を用い、一元配置分散分析後、Dunnett 検定もしくは Tukey 検定を行い、有意水準を 5% 未満として解析した。

【結果】無血清下、細胞を 48 時間薬物に曝露した後の細胞生存率は、PHT 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 群 $67 \pm 22\%$ 、PHT 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 群 $26 \pm 17\%$ 、CBZ 12 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 群 $79 \pm 21\%$ 、CDDP 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 群 $26 \pm 6\%$ 、ETP 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 群 $32 \pm 23\%$ 、ETP 340 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 群 $9 \pm 4\%$ 、PHT 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ + ETP 340 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 群 $5 \pm 1\%$ となり、CBZ 群以外は DMSO 群と比較して有意に低下した（図 2a）。また、LDH 活性上昇を指標にした薬物の細胞毒性においては、PHT 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 群と CBZ 12 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 群以外は DMSO 群（High control）と同等の細胞毒性を示した（図 2b）。一方、アポトーシスにおいては、CDDP 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 群の

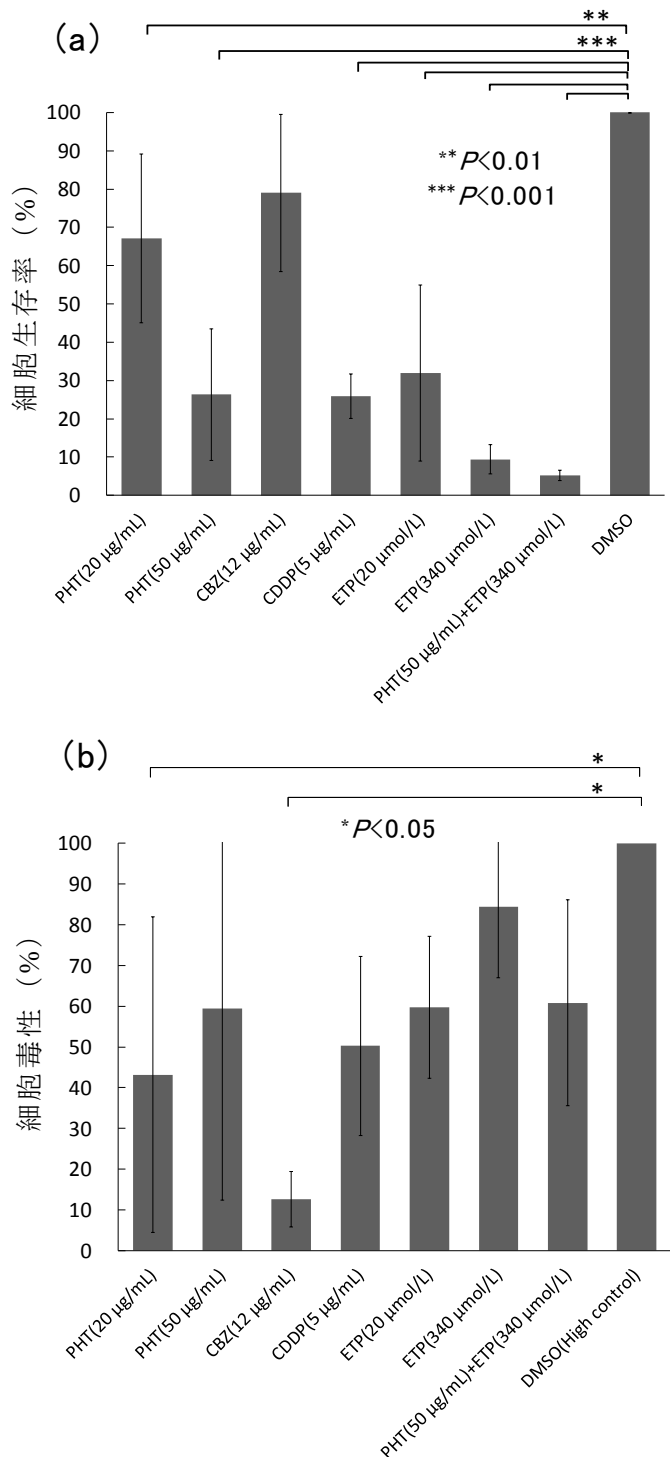


図 2. 細胞生存率 (a) 及び細胞毒性 (b)

み有意に増加した (図 3)。

【考察】VGSC 阻害薬である PHT によって Lu-165 細胞の生存率が低下した。従って、PHT による AVP の産生抑制は、Lu-165 細胞の生存率の低下によりもたらされた可能性が示唆される。VGSC 阻害薬による抗腫瘍効果については、基礎及び臨床ともに報告があるが、アポトーシスとの関連に

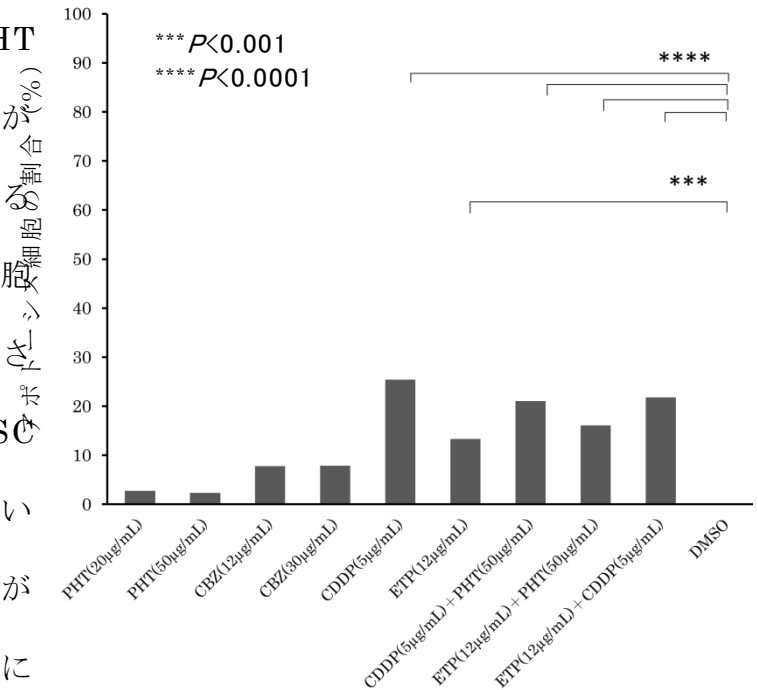


図 3. アポトーシス細胞の割合

については十分検討されていない。本研究において、PHT によってアポトーシスが生じた細胞は CDDP と比較して少なかったことから、VGSC 阻害薬による抗腫瘍効果は、アポトーシスによらない細胞生存率の低下と関連する可能性が示唆される。

【総括】多発性骨髄腫の治療において MTD は重要な選択肢の一つとなっている。今回、BSI の頻度は MTD では著明に低下しており、リンパ球数の最低値 (<200/ μ L) が BSI の危険因子として見いだされた。これらの知見は、MTD の有害事象マネジメントにおいて有用な情報を提供する。また、SCLC 細胞株 Lu-165 における VGSC 阻害薬は、細胞生存率を低下させることにより抗腫瘍効果を示す可能性が示唆された。従って、VGSC は、SCLC 治療における新たな標的分子の一つとなることが期待される。

参考文献

- 1) Shimizu Y., Inoue H., Hishinuma S., Shoji M., *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.*, in press.
- 2) Ohta T., Mita M., Hishinuma S., Ishii-Nozawa R., Shoji M., *Front. Endocrinol. (Lausanne)*, doi: 10.3389/fendo.2017.00094 (2017).