

ゲフィチニブ投与症例における血清 KL-6, SP-A, SP-D の検討

大柳文義¹・西尾誠人¹・堀池 篤¹・
田口史子¹・佐藤之俊¹・奥村 栄¹・
中川 健¹・笠原寿郎²・宝来 威¹

要旨 **目的** . 上皮成長因子受容体阻害剤であるゲフィチニブを投与した非小細胞肺癌症例において間質性肺炎の活動性の指標とされる KL-6, Surfactant Proteins A および D (SP-A, SP-D) がゲフィチニブによる interstitial lung disease (ILD) の予測に有用かどうかを検討した. **方法** . ゲフィチニブ単剤 (250 mg/日) を投与された非小細胞肺癌患者 90 症例 (ILD の発症が疑われた 5 例を含む) を対象とし, ゲフィチニブ投与前と投与開始 2 週間後の血清中の KL-6, SP-A, SP-D を測定した. (KL-6; 500 U/ml 以上, SP-D; 110 ng/ml 以上, SP-A; 43.8 ng/ml 以上を高値とした). **結果** . 90 例のうち, ゲフィチニブ投与前より血清 KL-6, SP-A および SP-D 値が陽性であった症例は KL-6; 38 例 (42.2%), SP-A; 37 例 (41.1%), SP-D; 27 例 (30%) であった. ILD 発症群 5 例中 3 症例 (60%) でイレッサ投与前より血清 KL-6, SP-A, SP-D 値が高値であったが, ILD 非発症群 (85 症例) においても血清 KL-6, SP-A, SP-D 値は 35 例 (41%), 34 例 (40%), 24 例 (28%) で高値であり, これらのマーカーの陽性率は両群間で差はなかった. また, ILD 発症群でもゲフィチニブ投与前後の血清 KL-6, SP-A, SP-D 値の有意な増加は認めなかった. 一方, ゲフィチニブに奏効した症例では血清 KL-6, SP-A, SP-D 値が低下する傾向を認めた. **結論** . 非小細胞肺癌症例では血清 KL-6, SP-A, SP-D 値が治療前より異常値を示すことが多く, また, 治療の効果とともに低下することより血清 KL-6, SP-A, SP-D 値が腫瘍から産生されている可能性が考えられ, これらのマーカーによるゲフィチニブの ILD 発症の予測は困難であった. (肺癌. 2005;45:823-828)

索引用語 ゲフィチニブ, KL-6, SP-D, SP-A

Serum Levels of KL-6, SP-A and SP-D in NSCLC Patients Treated With Gefitinib

Fumiyoshi Ohyanagi¹; Makoto Nishio¹; Atsushi Horiike¹;
Fumiko Taguchi¹; Yukitoshi Sato¹; Sakae Okumura¹;
Ken Nakagawa¹; Toshiro Kasahara²; Takeshi Hori¹

ABSTRACT **Objective.** Gefitinib, a selective epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor sometimes induces severe and fatal interstitial lung disease (ILD). KL-6, Surfactant Protein A and D (SP-A and SP-D) are well known as markers of activity of ILD, but the usefulness of these markers have not been fully clarified in gefitinib-induced ILD. **Methods.** Sera from 90 patients with advanced NSCLC were obtained at pretreatment and during the time of treatment with gefitinib monotherapy (days 14 to 18) and serum KL-6, SP-A, SP-D levels were examined. The cut-off levels were set for each marker: KL-6, 500 U/ml, SP-D 110 ng/ml, SP-A 43.8 ng/ml. **Results.** Positive rates of serum KL-6, SP-A and SP-D at pretreatment were 42.2%, 41.1% and 30% respectively. There was no difference in the levels of

¹癌研究会有明病院呼吸器センター; ²金沢大学病院呼吸器内科.
別刷請求先: 西尾誠人, 癌研究会有明病院呼吸器センター,
〒135-8550 東京都江東区有明 3-10-6.

¹Thoracic Oncology Center, Cancer Institute Hospital of Japanese Foundation for Cancer Research, Japan; ²Respiratory Medicine, Kanazawa University Hospital, Japan.

Reprints: Makoto Nishio, Thoracic Oncology Center, Cancer Institute Hospital of Japanese Foundation for Cancer Research, 3-10-6 Ariake, Koutou-ku, Tokyo 135-8550, Japan.

Received June 10, 2005; accepted October 18, 2005.

© 2005 The Japan Lung Cancer Society

these markers between ILD cases (5 patients) and non-ILD cases (85 patients) On the other hand, these markers levels decreased in patients who showed an objective response for gefitinib. **Conclusion.** Serum KL-6, SP-A, SP-D levels are not good markers to predict gefitinib-induced ILD in NSCLC patients, because KL-6, SP-A and SP-D may be produced by non-small cell lung cancer(*JJLC*. 2005;45:823-828)

KEY WORDS Gefitinib, KL-6, SP-D, SP-A

はじめに

上皮成長因子受容体チロシンキナーゼ阻害剤であるゲフィチニブは既治療非小細胞肺癌に対して約 20% の奏効率と約 40% の症状緩和効果が示され一部の患者においては非常に有効な薬剤である¹。一方、ゲフィチニブを投与された症例の約 5.8% に致死的な急性肺障害・間質性肺炎 (interstitial lung disease: ILD) の発症がみられ、このゲフィチニブによる急性肺障害を予測することが重要である^{2,3}。

KL-6 は MUC1 に属するムチンの 1 つであり、障害を受けた肺胞領域において再生肺胞上皮細胞から産生される^{4,5}。一方、Surfactant Protein A (SP-A), および Surfactant Protein D (SP-D) は II 型肺胞上皮細胞と Clara 細胞で産生されたのち、肺胞腔に分泌され生体防御に關する急性期反応物質と考えられている⁶⁻⁸。そのため、血清中の KL-6, SP-A, SP-D は肺胞上皮細胞の障害の程度を反映し、いずれも肺線維症、放射線性肺臓炎、ARDS など高率に上昇し疾患活動性の指標としてその有用性が示されている^{6,9-11}。しかし、これらのマーカーがゲフィチニブによる ILD においても有用かどうかはあまり検討されていない。そこで、今回、ゲフィチニブ (250 mg/日) を投与した切除不能進行非小細胞肺癌患者を対象として血清 KL-6, SP-D, SP-A をゲフィチニブ投与前と投与後 2 週間の値を測定し、これらのマーカーがゲフィチニブによる ILD の予測因子となるかどうかを検討した。

対象と方法

2002 年 7 月 ~ 2004 年 3 月までに癌研究会附属病院呼吸器科および金沢大学病院呼吸器科で、再発または切除不能進行非小細胞肺癌と診断され、ゲフィチニブ (250 mg/日) を投与した患者 90 例を対象とした。

全症例で患者の同意を得た後、ゲフィチニブ投与前と投与 2 週間後に採血を行い、血清を分離後、- 80 ℃ に凍結保存した。ただし、2 週間以内の ILD 発症例では、発症診断日に採血を行った。血清 KL-6, SP-D, SP-A 濃度は (株) SRL 社 (Tokyo) で ELISA 法を用いて測定した。基準値は KL-6 ; 500 U/ml 以下、SP-D ; 110 ng/ml 以下、SP-A ; 43.8 ng/ml 以下とし、これらの値を超えた症例を高値例とした。

Table 1. Patients Characteristic

Characteristic	No.
Total no. of patients	90
Sex	
Male/Female	56/34
Age, year	
Median (Range)	62 (31-79)
Stage	
A/ B	3/16
/Recurrence after surgery	48/21
Performance status	
0, 1/ 2	66/24
Histology	
Adenocarcinoma	68
Squamous cell carcinoma	12
Large cell carcinoma	7
others	3
Smoking History	
former or curent smoker/non-smoker	53/37
Response against gefitinib	
PR	25
SD	29
PD	32
NE	4
KL-6 level (mean ± SD U/ml)	1047 ± 1782
SP-A level (mean ± SD ng/ml)	67 ± 97
SP-D level (mean ± SD ng/ml)	108 ± 130

Abbreviations: PR; Partial Response, SD; Stable Disease, PD; Progressive disease, NE; Not Evaluable

ILD 症例は、胸部単純写真および胸部 CT 所見より間質性肺炎と考えられ、臨床的に ILD と判断された症例とした。腫瘍縮小効果は WHO の基準¹² を用いて評価した。

対応のない 2 群間の比較には unpaired t-test, 投与前後の変動は paired t-test, 分割表の検定には χ^2 検定を用いて統計学的検定を行った。

結 果

90 例の患者背景を Table 1 に示す。年齢は中央値 62 歳 (31 ~ 79 歳), 性別は男性 56 例, 女性 34 例であった。組織型は、腺癌 68 例, 扁平上皮癌 12 例, 大細胞癌 7 例, その他 3 例であった。Performance status (PS) 0-1 の症例が 66 例, PS 2 は 24 例であり喫煙歴を有する症例は 53

Table 2. Summary of ILD Cases in Our Study

No.	Sex	histology	Smoking history	Time to ILD acquired	Survival time from ILD acquired	pre-treatment KL-6 IU/ml	post-treatment KL-6 IU/ml	pre-treatment SP-A ng/ml	post-treatment SP-A ng/ml	pre-treatment SP-D ng/ml	post-treatment SP-D ng/ml
1	male	adeno	+	7 days	19 days	5690	5720	33.9	31.3	168	123
2	male	adeno	+	7 days	12 days	373	422	42.1	33.8	46.9	119
3	male	adeno	+	17 days	55 days	9000	9000	435	484	64.7	77
4	female	adeno	-	22 days	142 days	2420	3010	740	987	987	869
5	male	adeno	+	42 days	60 days	231	214	67.5	60.2	133	137

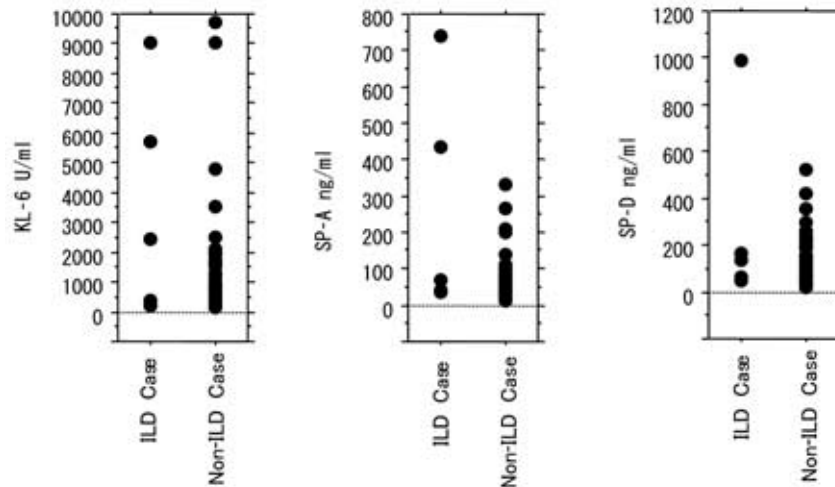


Figure 1. KL-6, SP-A and SP-D levels in NSCLC patients. Serum KL-6, SP-A and SP-D levels were measured at the time of pretreatment in the ILD group and in the non-ILD group. There was no statistical difference between the ILD group and the non-ILD group.

例，喫煙歴のない症例は 37 例であった。

90 症例中 5 例でゲフィチニブ投与中に ILD が発症した。5 例中 4 例が男性，PS 0-1 が 4 例，組織型は 5 例とも腺癌であった。また，5 例中 4 例は喫煙歴があり，その 4 例とも Brinkmann Index が 400 以上であった。ゲフィチニブ投与開始から ILD 発症までの平均日数は 19 日（7～42 日）であった。投与開始後，2 週間以内に発症した症例は 2 例，投与開始 14 日以降に発症した症例は 3 例であった（Table 2）。

90 例のうち 25 例（27.8%）で Partial Response（PR）の腫瘍縮小を認めた。Stable Disease（SD）は 29 例（32.2%），Progressive Disease（PD）は 32 例（35.6%），Not evaluable（NE）が 4 例（4.4%）であった。ILD 症例の腫瘍縮小効果は，PD 3 例，NE 2 例で PR はなかった。

90 例のゲフィチニブ投与前の血清 KL-6，SP-A，SP-D 値（平均 ± 標準偏差）はそれぞれ 1047 ± 1782 U/ml，67 ± 97 ng/ml，108 ± 130 ng/ml であり，ゲフィチニブ投与前

値には，ILD 発症例と ILD 非発症例で有意差はなかった（Figure 1）。90 例のうち，ゲフィチニブ投与前より血清 KL-6，SP-A，SP-D 値が陽性であった症例は KL-6 で 38 例（42.2%），SP-A で 37 例（41.1%），SP-D で 27 例（30%）であった。

ILD 発症例では 5 例中 3 症例（60%）でゲフィチニブ投与前より血清 KL-6，SP-A，SP-D 値が陽性であった。一方，非発症例（85 例）でも血清 KL-6，SP-A，SP-D 値が陽性であった症例はそれぞれ 35 例（41%），34 例（40%），24 例（28%）であり，これらのマーカーの陽性率は両群間に差を認めなかった（KL-6；p = 0.41，SP-A；p = 0.4，SP-D；p = 0.13，Table 3）。また，ゲフィチニブ投与後の血清 KL-6，SP-A，SP-D 値にも両群間に差を認めなかった。さらに，ゲフィチニブ投与前後の血清 KL-6，SP-A，SP-D 値の変動を検討したが，ILD 発症例においてもゲフィチニブ投与前と投与 2 週後でこれらのマーカーに有意な増加はみられず，逆に非発症例では SP-D がゲフィ

Table 3. KL-6, SP-A and SP-D level in Non-Small Cell Lung Cancer Patients

	KL-6 Level		SP-A Level		SP-D Level	
	Normal	High (> 500 U/ml)	Normal	High (> 43.8 ng/ml)	Normal	High (> 110 ng/ml)
Total (n=90)	52 (57.7%)	38 (42.2%)	53 (58.9%)	37 (41.1%)	63 (70%)	27 (30%)
Non-ILD Case (n = 85)	50 (58.8%)	35 (41.2%)	51 (60%)	34 (40%)	61 (71.7%)	24 (28.3%)
ILD case (n = 5)	2 (40%)	3 (60%)	2 (40%)	3 (60%)	2 (40%)	3 (60%)
	p = 0.41		p = 0.4		p = 0.13	

Serum KL-6, SP-A and SP-D levels were measured at the time of pretreatment in the ILD group and in the non-ILD group. The positive rates for each marker did not statistically differ between the groups.

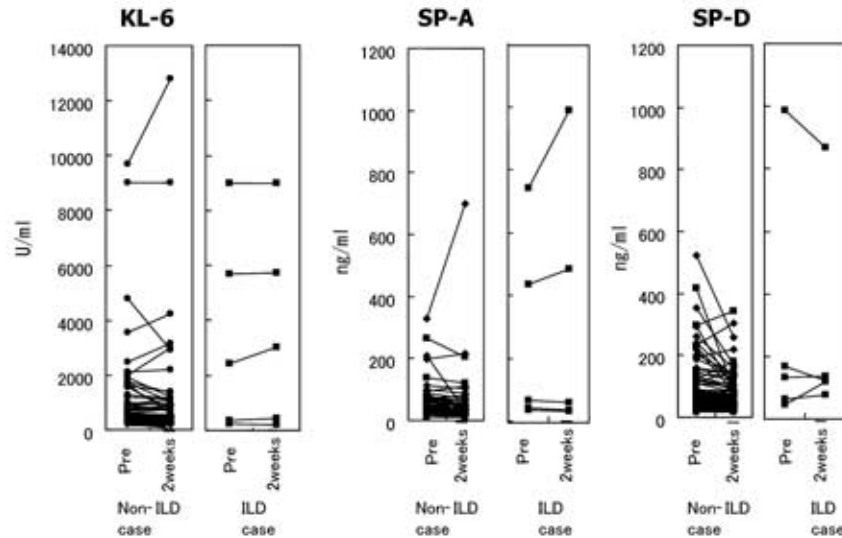


Figure 2. KL-6, SP-A and SP-D levels during gefitinib treatment in ILD and non-ILD cases.

Serum KL-6, SP-A and SP-D levels were compared at the time of pretreatment and during the gefitinib administration in each group. In KL-6 and SP-A, there were no changes between pre-treatment and two weeks later in each group. Serum SP-D levels decreased significantly in non-ILD patients during treatment, however there was no change in ILD patients (paired t-test $p < 0.05$)

チニブ投与2週後に有意な減少がみられた (paired t-test, $p = 0.0038$, Figure 2). これらの結果より血清 KL-6, SP-A, SP-D 値とゲフィチニブによるILDの発症には明らかな関係は認められなかった。

一方、腫瘍縮小効果と血清 KL-6, SP-A, SP-D 値の変動との関係を検討すると PR 群において、SP-A, SP-D 値はゲフィチニブ投与2週後に有意に減少し、KL-6 値も減少傾向を認めた (paired t-test, SP-A; $p = 0.028$, SP-D; $p = 0.02$, KL-6; $p = 0.055$, Figure 3) SD 群では SP-D 値で有意な減少を認めたが ($p = 0.012$), KL-6, SP-A 値では変化を認めず、PD 群では、KL-6, SP-D, SP-A のいずれにおいても変化を認めなかった。これらの結果より血清 KL-6, SP-D, SP-A 値の変動はゲフィチニブの

腫瘍縮小効果と関係していると考えられ、KL-6, SP-D, SP-A が腫瘍から産生されている可能性が考えられた。

考 察

ゲフィチニブの投与により 5.8% の症例においてILDを発症し 2.5% の症例が致死的な経過をたどることが報告され、このゲフィチニブによる急性肺障害の発症の予測と特異的な診断法の確立が重要な課題となっている^{2,3}

ゲフィチニブによるILDの臨床背景として男性、喫煙歴があること、腺癌でないこと、Performance Status (PS)不良(2以上)、間質性肺疾患の合併などが危険因子として報告されているが、ILDの予測血清マーカーは明らかとなっていない^{2,3}

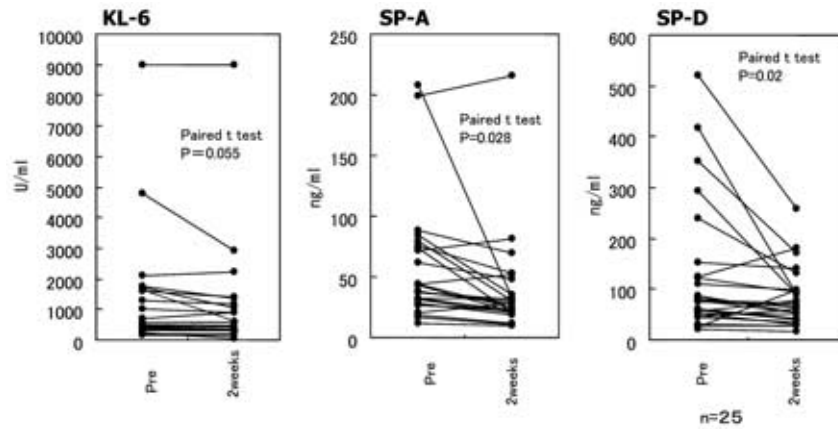


Figure 3. KL-6, SP-A and SP-D levels during gefitinib treatment in PR cases. Serum KL-6, SP-A and SP-D levels were compared at the time of pretreatment and during gefitinib administration in PR patients. There was significant reduction in SP-A and SP-D. KL-6, it showed a tendency to decrease during gefitinib treatment.

これまでに、Inoueらは、ゲフィチニブ投与後にILDを発症した症例で血清KL-6の上昇を認めたと報告し、InomataらもゲフィチニブによるILD発症例において血清KL-6, SP-A, SP-Dが上昇していたことを報告しており、血清KL-6, SP-A, SP-D値がゲフィチニブによるILDの予測マーカーとなる可能性を示唆している^{13,14}しかし、これらの報告ではゲフィチニブによるILDが疑われた症例だけの検討であり、ILDの発症しない非小細胞肺癌患者との比較検討はされていない。

特発性間質性肺炎では、血清KL-6, SP-A, SP-Dによる有病正診率はSP-A 78.8%, SP-D 84.6%であり無病正診率もそれぞれ、94.4%, 95.4%と非常に高く、また、ILDの急性増悪時には血清KL-6, SP-D, SP-A値が全症例で上昇し、その上昇が予後因子になることが示されており、特発性間質性肺炎におけるこれらのマーカーの有用性は確立されていると考えられる¹⁵

一方、これまでの報告では基礎疾患に間質性肺炎を伴わない肺癌患者症例においてもSP-D, SP-Aの陽性率は、SP-Dで14.8% (21/142例)、SP-Aで9.7% (7/72例)とそれほど高くなく肺癌の合併した間質性肺炎症例においてもこれらのマーカー値の上昇がILDの指標となり得ると考えられている¹⁶

しかし、今回の検討では30~40%の症例でゲフィチニブ内服治療前より血清KL-6, SP-A, SP-D値が上昇を認め、以前の報告と比べて陽性率が高く、ILD発症例、非発症例ともにゲフィチニブ投与前の血清マーカー値が異常高値を示すものを認めた。

少ない症例数での検討であるが、間質性肺炎の発症や予後判定に、血清マーカー値のカットオフ値の設定(基準値2倍)により、効率良く予後不良症例を抽出できた

との報告があり検討したが、発症例と非発症例の陽性率に差は認めなかった¹⁷

間質性肺炎における血清SP-A, SP-D値の上昇は炎症細胞浸潤と基底膜障害の発症時期に一致して生じ、血清マーカーと肺の線維化に直接的関連性は乏しいと言われている¹⁷。そのため、血清マーカーの測定時期が重要となると思われた。2週間以内のILD発症例で、診断時のSP-Dが上昇している症例を認めたが、他のILD症例はごく僅かな上昇かむしろ減少しており、KL-6, SP-Aも同様であった。また、ILD非発症例においても、血清マーカーの異常高値や投与後のマーカー値上昇を認めるものも多くあることから、ILDの予測や早期発見の指標とはなり得ないものと思われた。

また、奏効例においては、血清KL-6, SP-D, SP-A値は減少する傾向がみられた。

KL-6はII型肺胞上皮細胞から産生される腫瘍マーカーとして開発され、上皮系悪性腫瘍では高頻度に過剰発現を認めることが知られ、特に進行期の肺腺癌、鱗癌、乳癌などで高値を呈することが指摘されている^{18,19}。また、SP-DやSP-Aも肺腺癌や肺大細胞癌で産生され、肺腺癌の約50%にSP-Aの発現がみられることが報告されており、いずれの血清マーカーも腫瘍量に伴ない変動する可能性がある^{20,21}

また、ゲフィチニブが上皮成長因子受容体を阻害することにより肺におけるSP-Aの発現が抑制するとの報告があるが、PR症例で血清KL-6, SP-D, SP-Aは有意に減少したのに対し、PD症例においては血清KL-6, SP-D, SP-Aの有意な減少は認められていないことより、ゲフィチニブによりこれらの産生を抑制したのではなく、腫瘍量に並行して血清KL-6, SP-D, SP-Aが減少したと考え

られた²²

ゲフィチニブの投与される症例のほとんどは、1st line もしくは2nd line の化学療法後に再増悪した患者であり、より進行した肺癌患者が対象となる。そのため腫瘍から産生されるKL-6、SP-D、SP-Aが多く、今回の結果が以前の報告と比べ陽性率が高かった理由と考えられる。

担癌患者においては腫瘍から産生されるKL-6、SP-D、SP-Aと肺胞上皮細胞障害により正常の細胞より産生されるKL-6、SP-D、SP-Aとの区別は困難であり、ゲフィチニブが投与されるような進行非小細胞肺癌では癌では上昇しない、ILDに特異的なマーカーが必要である。今後、ILDの詳細な発症機序の解明と症例のさらなる集積が必要である。

結 論

ゲフィチニブによるILDの発症予測および早期検出はゲフィチニブ投与前の血清KL-6、SP-D、SP-A値やその変化で予測することは難しいと考えられた。

REFERENCES

1. Fukuoka M, Yano S, Giaccone G, et al. Multi-institutional randomized phase II trial of gefitinib for previously treated patients with advanced non-small-cell lung cancer (The IDEAL 1 Trial [corrected]). *J Clin Oncol*. 2003;21:2237-2246.
2. Seto T, Yamamoto N. Interstitial lung disease (ILD) induced by gefitinib in patients with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) Results of a West Japan Thoracic Oncology Group (WJTOG) epidemiological survey. *Proc Am Soc Clin Oncol*. 2004;23:7064.
3. 吉田 茂.ゲフィチニブ プロスペクティブ調査(特別調査)結果報告. 医薬ジャーナル. 2005;41:772-789.
4. Kohno N, Kyoizumi S, Awaya Y, et al. New serum indicator of interstitial pneumonitis activity. Sialylated carbohydrate antigen KL-6. *Chest*. 1989;96:68-73.
5. Inoue Y, Barker E, Daniloff E, et al. Pulmonary epithelial cell injury and alveolar-capillary permeability in berylliosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 1997;156:109-115.
6. Kuroki Y, Takahashi H, Chiba H, et al. Surfactant proteins A and D: disease markers. *Biochim Biophys Acta*. 1998;1408:334-345.
7. Kuroki Y, Sano H. Functional roles and structural analysis of lung collectins SP-A and SP-D. *Biol Neonate*. 1999;76 (suppl 1):19-21.
8. Reid KB. Functional roles of the lung surfactant proteins SP-A and SP-D in innate immunity. *Immunobiology*. 1998;199:200-207.
9. Kuroki Y, Tsutahara S, Shijubo N, et al. Elevated levels of lung surfactant protein A in sera from patients with idiopathic pulmonary fibrosis and pulmonary alveolar proteinosis. *Am Rev Respir Dis*. 1993;147:723-729.
10. Kobayashi J, Kitamura S. KL-6: a serum marker for interstitial pneumonia. *Chest*. 1995;108:311-315.
11. Mason RJ, Greene K, Voelker DR. Surfactant protein A and surfactant protein D in health and disease. *Am J Physiol*. 1998;275:1-13.
12. WHO: World Health Organization. *WHO Handbook for Reporting Results of Cancer Treatment*. Geneva, Switzerland, World Health Organization. WHO offset publication; 1979:48.
13. Inoue A, Saijo Y, Maemondo M, et al. Severe acute interstitial pneumonia and gefitinib. *Lancet*. 2003;361:137-139.
14. Inomata S, Takahashi H, Nagata M, et al. Acute lung injury as an adverse event of gefitinib. *Anticancer Drugs*. 2004;15:461-467.
15. Takahashi H, Fujishima T, Koba H, et al. Serum surfactant proteins A and D as prognostic factors in idiopathic pulmonary fibrosis and their relationship to disease extent. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;162:1109-1114.
16. Fujishima T, Takahashi H, Abe S. Cytokines and surfactant as a factor of onset and progression of COPD. *Nippon Rinsho*. 1999;57:1976-1981.
17. 高橋弘毅, 伊藤峰幸, 大塚満雄. 特発性肺線維症. 呼吸と循環. 2002;50:199-203.
18. Kohno N, Akiyama M, Kyoizumi S, et al. Detection of soluble tumor-associated antigens in sera and effusions using novel monoclonal antibodies, KL-3 and KL-6, against lung adenocarcinoma. *Jpn J Clin Oncol*. 1988;18:203-216.
19. Kohno N. Serum marker KL-6/MUC1 for the diagnosis and management of interstitial pneumonitis. *J Med Invest*. 1999;46:151-158.
20. Zamecnik J, Kodet R. Value of thyroid transcription factor-1 and surfactant apoprotein A in the differential diagnosis of pulmonary carcinomas: a study of 109 cases. *Virchows Arch*. 2002;440:353-361.
21. Zhang F, Pao W, Umphress SM, et al. Serum levels of surfactant protein D are increased in mice with lung tumors. *Cancer Res*. 2003;63:5889-5894.
22. Takeyama K, Dabbagh K, Lee HM, et al. Epidermal growth factor system regulates mucin production in airways. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96:3081-3086.