

主 論 文 要 旨

報告番号

甲 ㊦ 第

号

氏 名

茂 田 浩 平

主 論 文 題 名

Expression of Epidermal Growth Factor Receptor Detected by Cetuximab Indicates Its Efficacy to Inhibit *In Vitro* and *In Vivo* Proliferation of Colorectal Cancer Cells

(セツキシマブを一次抗体として用いて検出された大腸癌細胞のEGFR発現量とin vitro及びin vivoにおける腫瘍増殖抑制効果の検討)

(内 容 の 要 旨)

ヒトキメラ抗体セツキシマブは大腸癌治療で頻用される薬剤であり、細胞外epidermal growth factor receptor (EGFR) に結合し、腫瘍増殖シグナル伝達経路を抑制することで抗癌作用を発揮するが、免疫染色で検出されたEGFR発現量と治療効果に相関がないと報告されている。そこで本研究はセツキシマブを一次抗体として用いたフローサイトメトリー(FCM)により、検出されたEGFR発現量と、腫瘍増殖抑制効果の相関および臨床的意義を検討することを目的とした。

研究方法は、4種のヒト大腸癌細胞株であるCaco-2, WiDR, SW480, HCT116およびヒト基底細胞癌株A431を対象とし、各細胞株のK-ras, BRAF, PIK3CAの変異の有無を確認した。ビオチン修飾セツキシマブを作成し、FCMによりEGFR検出を行った。限界希釈法により作成したサブクローンからこのFCMによりEGFRの高発現株と低発現株を抽出し、MTT法を用いてセツキシマブの腫瘍増殖抑制試験を行った。また、免疫不全マウスを用いて異種移植モデルを作成し、セツキシマブ感受性試験を行った。さらに、セツキシマブ治療後の腫瘍を摘出し、非特異的抗EGFR抗体を用いてEGFR発現を検出した。

まず、K-ras 変異はSW480 (Codon 13D), HCT116 (Codon 13D), BRAF 変異はWiDR, PIK3CA 変異はSW480 (Exon9), HCT116 (Exon20) にみられ、Caco-2は全て野生型であった。EGFRが豊富なA431を用いてビオチン修飾セツキシマブの検出能を確認した後、これを用いて各細胞株のEGFR発現量を定量し、作成したサブクローンから高発現・低発現株を抽出した。これらを用いた腫瘍増殖抑制効果では、EGFR低発現株では高発現株に比して腫瘍増殖抑制効果がみられなかった。マウス異種移植モデルを用いた感受性試験も同様にEGFR低発現の腫瘍は高発現のものに比して有意な差を持って腫瘍増殖抑制効果が認められなかった。免疫染色では、EGFR高発現・低発現腫瘍のどちらにおいてもセツキシマブ治療後においてもEGFRが発現していることを確認した。

大腸癌におけるセツキシマブ治療の予測因子はK-ras変異の有無のみとされているが、奏効が見込まれる野生型においても奏効率が40-60%であり、さらなる予測因子の検索が求められている。現在までの報告によれば、乳癌に対するトラスツズマブとは異なり、免疫染色によるEGFR発現とセツキシマブ感受性には相関がない。しかしS492変異EGFRへセツキシマブが結合しないことが報告され、セツキシマブが結合可能なEGFR発現量を定量する必要性が示唆された。本研究によりセツキシマブを一次抗体として用いて検出されたEGFR発現量が、セツキシマブ感受性と相関することが基礎的に示され、臨床検体を用いた実験で同様の結果を得ることができれば、K-ras野生型大腸癌で確実に奏効が見込まれる症例の抽出が可能となり、薬剤選択に大きな指針を与えられたい。