

論 文 内 容 要 旨

題目 EGFR Downregulation after Anti-EGFR Therapy Predicts the Antitumor Effect in Colorectal Cancer

(大腸癌における抗 EGFR 抗体薬治療後の EGFR Downregulation は抗腫瘍効果を予測する)

著者 Yasuyuki Okada, Tetsuo Kimura, Tadahiko Nakagawa, Koichi Okamoto, Akira Fukuya, Takahiro Goji, Shota Fujimoto, Masahiro Sogabe, Hiroshi Miyamoto, Naoki Muguruma, Yasushi Tsuji, Toshiya Okahisa, Tetsuji Takayama

平成 29 年発行 Molecular Cancer Research に掲載予定

内容要旨

大腸癌細胞では Epidermal growth factor receptor (EGFR) が過剰発現し、自ら産生・分泌する Transforming growth factor- α (TGF- α) が EGFR に結合して細胞増殖を促進することが知られている。そのため、大腸癌細胞の EGFR に結合して細胞増殖を抑制する抗 EGFR 抗体薬 (cetuximab や panitumumab) が大腸癌の標準治療の一つとして用いられている。一方、TGF- α などのリガンドが EGFR に結合すると、EGFR は内在化して再度リサイクルされることが知られている。抗 EGFR 抗体薬も EGFR に結合すると EGFR は内在化することが報告されているが、その意義は不明である。そこで本研究では、大腸癌細胞に対する cetuximab の抗腫瘍効果と EGFR 発現数の関係及び EGFR 内在化の意義を検討した。

まず 22 種類の大腸癌細胞株のうち、EGFR 下流の RAS、BRAF に変異の無い 10 種類の大腸癌細胞株を用いて、cetuximab の添加による細胞増殖抑制効果を調べるとともに細胞表面の EGFR 発現の変化を検討した。その結果、cetuximab の抗腫瘍効果と EGFR 発現は細胞株によりまちまちであったが、両者の間には相関を認めなかった。しかし、抗腫瘍効果は cetuximab 添加後の細胞膜上 EGFR の減少率と有意な相関を認めた。そこで、EGFR 内在化が多く認められ、抗腫瘍効果の高い大腸癌細胞株 CCK-81 を用いて EGFR の内在化及び細胞内局在を解析した。リガンドである TGF- α を添加すると、細胞膜上 EGFR は 15 分後に約 50% に減少したが、120 分後には 80% 以上に再度増加し、EGFR がリサイクルされることが確かめられた。しかし、cetuximab を添加すると 15 分後に約 20% にまで減少し、

様式(8)

以後増加しなかった。また、TGF- α の添加により細胞内総EGFR量は変わらなかったが、cetuximab添加により著明に減少した。さらに、EGFRの細胞内局在を免疫蛍光二重染色により検討したところ、cetuximab添加後に細胞膜上のEGFRは細胞質に内在化し、後期エンドソームを経てlysosomeに局在することが確認された。すなわち、cetuximabの添加によりEGFRは内在化し、lysosomeにおいて変性されることが示唆された。

次いで、抗EGFR抗体薬で治療した大腸癌13例(M/F 3/1、59 \pm 11歳、cetuximab/panitumumab 10/3)を対象に治療前後の癌組織を用いてEGFRの免疫染色を行い、治療効果との関連を検討した。抗EGFR抗体薬治療が奏効した4例のうち、1例は治療後のEGFRスコアが著明に低下、3例は軽度低下した。一方、奏効しなかった9症例においては7例でEGFRスコアは低下せず、2例は軽度低下のみであった。各症例の腫瘍縮小率と発現低下を解析すると、抗EGFR抗体薬投与後にEGFRスコアが低下する症例ほど奏効した。

以上の結果より、抗EGFR抗体薬はEGFRの内在化を誘導し、そのリサイクル機構を抑制し、lysosomeへ誘導することでEGFRを変性させ、治療効果を高めることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 1351 号	氏名	岡田 泰行
審査委員	主査 六反 一仁 副査 丹黒 章 副査 片桐 豊雅		

題目 EGFR Downregulation after Anti-EGFR Therapy Predicts the Antitumor Effect in Colorectal Cancer

(大腸癌における抗 EGFR 抗体薬治療後の EGFR Downregulation は抗腫瘍効果を予測する)

著者 Yasuyuki Okada, Tetsuo Kimura, Tadahiko Nakagawa, Koichi Okamoto, Akira Fukuya, Takahiro Goji, Shota Fujimoto, Masahiro Sogabe, Hiroshi Miyamoto, Naoki Muguruma, Yasushi Tsuji, Toshiya Okahisa, Tetsuji Takayama
 平成 29 年発行 Molecular Cancer Research に掲載予定
 (主任教授 高山 哲治)

要旨 大腸癌細胞では epidermal growth factor receptor (EGFR) が過剰発現し, 自ら産生・分泌する transforming growth factor- α (TGF- α) が EGFR に結合して細胞増殖を促進することが知られている. そのため, 大腸癌細胞の EGFR に結合して細胞増殖を抑制する抗 EGFR 抗体薬 (cetuximab や panitumumab) が大腸癌の標準治療の一つとして用いられている. 一方, TGF- α などのリガンドが EGFR に結合すると, EGFR は内在化されてリサイクルされることが知られている. 抗 EGFR 抗体薬が結合した EGFR も内在化することが報告されているが, その意義は不明である.

本研究では, 大腸癌細胞に対する cetuximab の抗腫瘍効果と EGFR 発現およびその細胞内の動態の意義を検討した. 得られた結果は以下のとおりである.

1. EGFR シグナル経路の遺伝子変異がない大腸癌細胞株 (10 種類)

に対する cetuximab の抗腫瘍効果は、cetuximab 添加後の細胞膜上 EGFR の減少率と有意な相関を認めた。

2. 大腸癌細胞に TGF- α を添加すると、細胞膜上の EGFR は 15 分後に約 50% に減少したが、120 分後には 80% 以上に回復し、EGFR がリサイクルされることが確かめられた。しかし、cetuximab を添加すると、細胞膜上の EGFR は 15 分後に約 20% にまで減少し、以後増加しなかった。
3. 細胞内の総 EGFR 量は、リガンドである TGF- α を添加しても変わらなかったが、cetuximab を添加すると著明に減少した。
4. cetuximab 添加後に細胞膜上の EGFR は細胞質に内在化し、後期エンドソームを経てリソソームに局在することが確認された。
5. 大腸癌 13 症例における抗 EGFR 抗体薬による腫瘍縮小率は、治療後の EGFR 発現の低下と有意に相関した。

以上より、抗 EGFR 抗体薬は EGFR の内在化とリソソームによる分解を促進して治療効果を高めることが示唆された。本研究は、今後の大腸癌治療の発展に大きく寄与するものであり、学位授与に値すると判定した。