

## 免疫染色に基づいた抗癌剤選択の可能性 - 肺癌 -

神戸大学大学院 保健学研究科 病態解析学領域  
鴨志田 伸吾

肺癌の病理診断において、臨床的視点からはこれまで小細胞癌と非小細胞癌の分類が重要とされてきた。小細胞肺癌に対しては、シスプラチン cisplatin (ブリプラチン Briplatin<sup>®</sup>、ランダ Randa<sup>®</sup>) にエトポシド etoposide (ラストット Lastet<sup>®</sup>、ベプシド Vepesid<sup>®</sup>) あるいはイリノテカン irinotecan (カンプト Campto<sup>®</sup>、トポテシン Topotecin<sup>®</sup>) を併用するレジメンが標準的治療として実施される。一方、非小細胞肺癌を対象とした化学療法としてはシスプラチンないしカルボプラチン carboplatin (パラプラチン Paraplatin<sup>®</sup>) と他剤との併用療法が中心であるが、臨床病期 期の症例に対しては新規代謝拮抗剤や分子標的薬剤も使用される。

ところが、後述する EGFR チロシンキナーゼ阻害剤 ゲフィチニブ gefitinib (イレッサ Iressa<sup>®</sup>) は腺癌に有効で、血管新生阻害剤 ベバシズマブ bevacizumab (アバスタチン Avastin<sup>®</sup>) や代謝拮抗剤 ペメトレキセド pemetrexed (アリムタ Alimta<sup>®</sup>) は扁平上皮癌症例に重篤な副作用や生存期間の短縮を引き起こす。したがって、最近では、抗癌剤の選択条件として腺癌か扁平上皮癌かの鑑別診断が重要となっている。免疫染色マーカーの中で、腺癌の診断には thyroid transcription factor-1、surfactant protein-A および napsin A が、扁平上皮癌の診断には p63、cytokeratin 5/6 および cytokeratin 14 が役立つ<sup>1, 2</sup>。

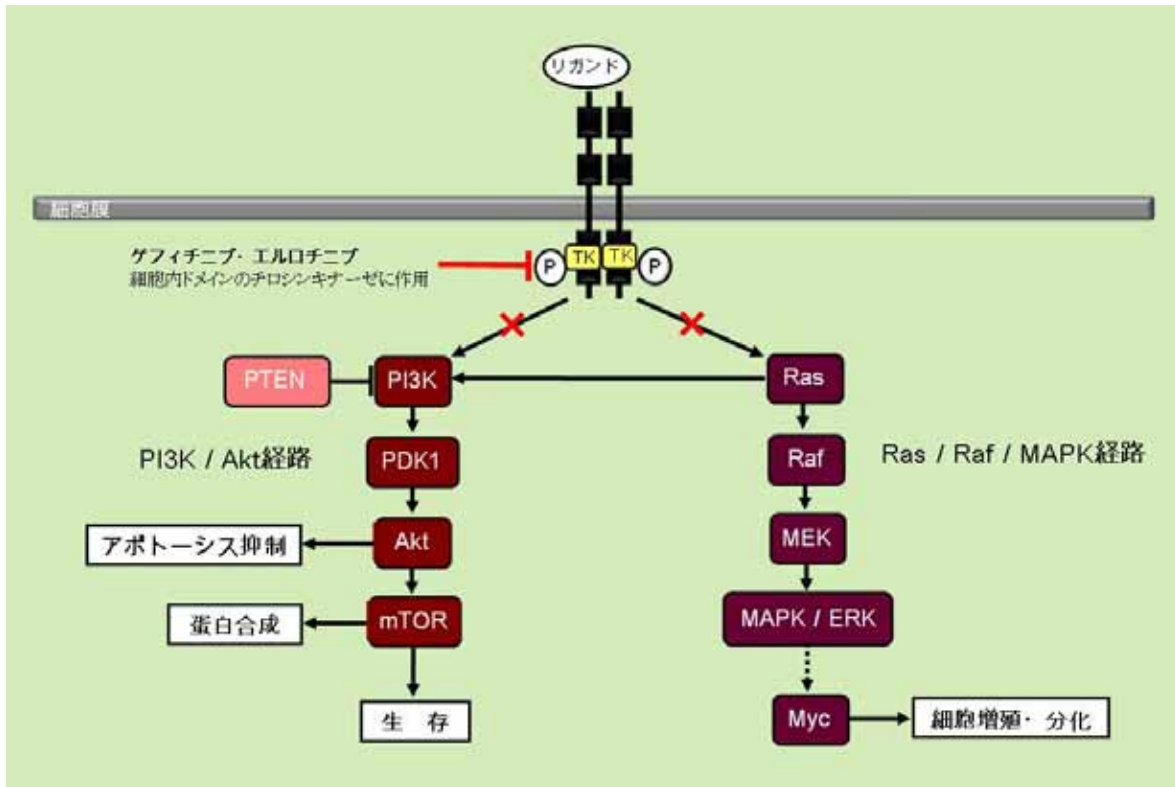
本稿では、免疫染色による非小細胞肺癌の治療効果予測の可能性について、代表的なバイオマーカーを挙げて概説する。

### 1. Epidermal growth factor receptor

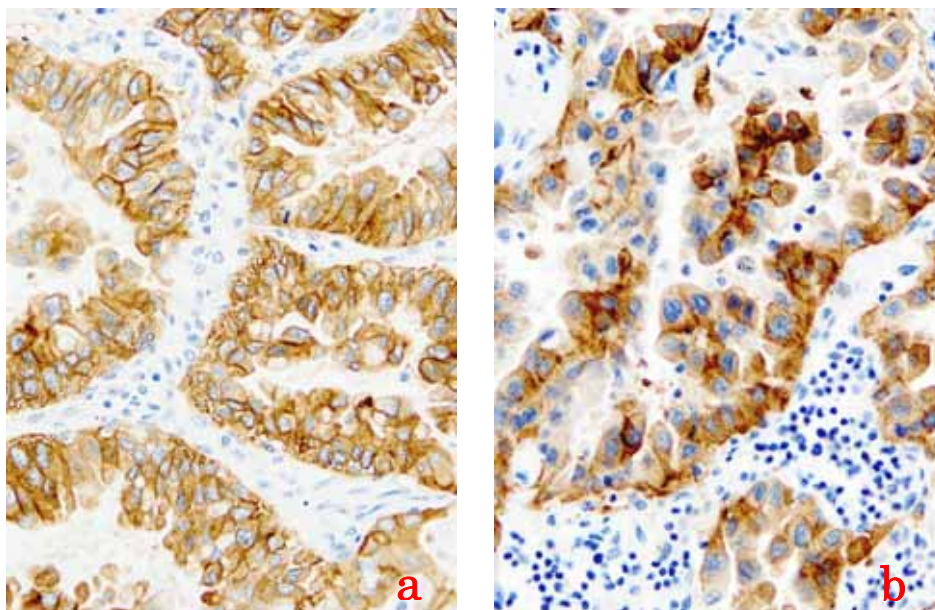
Epidermal growth factor receptor (EGFR) は細胞膜を貫通する受容体型チロシンキナーゼの HER ファミリーに属し、3 つの領域 (細胞外ドメイン、膜貫通ドメインおよび細胞内ドメイン) からなる<sup>3, 4</sup>。図 1 に、EGFR を介した癌細胞内シグナル伝達経路を示す。細胞外ドメインにリガンド (epidermal growth factor と transforming growth factor  $\alpha$  がよく知られている) が結合すると、二量体が形成される。すると、細胞内ドメインのチロシンキナーゼが ATP 存在下に自己リン酸化を起こし、PI3K / Akt 経路や Ras / Raf / MAPK 経路などを介して細胞内へのシグナル伝達が活性化される。PI3K / Akt 経路は phosphoinositide 3-kinase (PI3K)、Akt および mammalian target of rapamycin のリン酸化を通して、アポトーシスの阻害や蛋白合成の促進を誘導する。PI3K のリン酸化は phosphatase and tensin homolog によって抑制される。一方、Ras / Raf / MAPK 経路では、Ras  $\rightarrow$  Raf  $\rightarrow$  MAPK / ERK kinase  $\rightarrow$  mitogen-activated protein kinase / extracellular signal-regulated kinase という連続したリン酸化反応により、癌細胞を増殖あるいは分化へ導く。

ゲフィチニブは、EGFR 細胞内ドメインのチロシンキナーゼ領域にある ATP 結合部位に競合的に結合して自己リン酸化を阻害する低分子化合物である (図 1)<sup>2</sup>。EGFR 遺伝子に機能獲得性変異があると、EGFR およびその下流のシグナル伝達が恒常的に活性化してしまう。EGFR 遺伝子変異は女性、アジア人、非喫煙者および腺癌に高頻度で、エクソン 19 のコドン 746-750 を中心とする欠失変異 (del 19) とエクソン 21 のコドン 858 における点突然変異 (L858R) で 90% 以上を占める<sup>5, 6</sup>。ゲフィチニブは EGFR 遺伝子に変異を有する腺癌に対して治療効果を示すため<sup>5, 6</sup>、EGFR 遺伝子変異の検索と腺癌の病理診断は臨床的に極めて重要である。なお、ゲフィチニブと同様に EGFR チロシンキナーゼ阻害剤である エルロチニブ elrotinib (タルセバ Tarceva<sup>®</sup>) は、二次治療として使用可能である。

最近、変異 EGFR (del 19 および L858R) に特異的なウサギモノクローナル抗体が開発され、それらを用いた免疫染色 (図 2) と EGFR 遺伝子解析の結果が相関することが報告されている<sup>7-10</sup>。しかしながら、報告によって免疫染色の感度および特異度には差がある。



**図 1. EGFR を介した癌細胞内シグナル伝達とゲフィチニブ、エルロチニブの作用機序**  
 ゲフィチニブやエルロチニブは、EGFR 細胞内ドメインのチロシンキナーゼ領域にある ATP 結合部位に競合的に結合して自己リン酸化を阻害し、下流へのシグナル伝達を遮断する。  
 PTEN : phosphatase and tensin homolog、PI3K : phosphoinositide 3-kinase、PDK1 : phosphoinositide-dependent protein kinase-1、mTOR : mammalian target of rapamycin、MEK : MAPK / ERK kinase、MAPK / ERK : mitogen-activated protein kinase / extracellular signal-regulated kinase



**図 2. 肺腺癌を対象とした変異型 EGFR の免疫染色**

a: エクソン19における欠失

抗体: 抗EGFR(E746-A750欠失特異的)  
ウサギモノクローナル抗体(クローン: 6B6)

b: エクソン21における点突然変異

抗体: 抗EGFR(L858R点突然変異特異的)  
ウサギモノクローナル抗体(クローン: 43B2)

多くの腫瘍細胞の細胞膜が陽性を呈している。

## 2. Excision repair cross-complementation group 1

シスプラチンは、DNAの構成塩基であるグアニン、アデニンのN-7位に結合し、DNA鎖内に架橋を形成することによってDNAの複製を妨げる働きをもつプラチナ製剤である<sup>11</sup>。シスプラチンは様々な種類の悪性腫瘍に対して他剤と併用される。カルボプラチンもシスプラチンと同様な機序でDNAの複製を障害するプラチナ製剤だが、十分な抗腫瘍活性を保ちながらも、腎毒性および嘔気・嘔吐などの副作用はシスプラチンよりも軽減される。DNA修復機構の中のヌクレオチド除去修復に関わる分子であるexcision repair cross-complementation group 1 (ERCC1) が高発現を示す非小細胞肺癌 (図 3) は、シスプラチンやカルボプラチンに抵抗性であることが示唆されている<sup>12, 13</sup>。卵巣癌、胃癌および大腸癌でも同様な報告がなされている<sup>14-16</sup>。

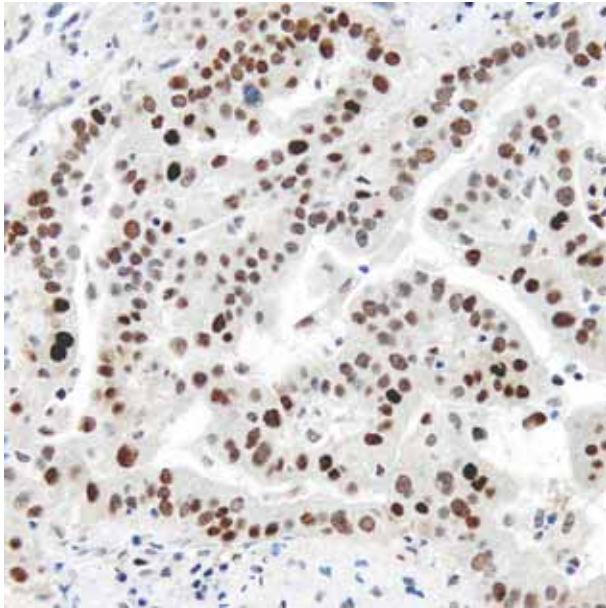


図 3. 肺腺癌を対象とした ERCC1 の免疫染色  
抗体；抗 ERCC1 ウサギポリクローナル抗体  
多くの腫瘍細胞の核が陽性を呈している。

## 3. Class III $\beta$ -tubulin

細胞分裂の際に出現する紡錘体をつくる微小管は、 $\alpha$ と $\beta$ からなるtubulinのヘテロ二量体で形成されている。タキサン系抗癌剤、すなわちパクリタキセルpaclitaxel (タキソールTaxol<sup>®</sup>) およびドセタキセルdocetaxel (タキソテールTaxotere<sup>®</sup>) は $\beta$ -tubulinに結合することによって、tubulinの重合を促進し、微小管を安定化する。その結果、細胞分裂が阻害される。タキサン系抗癌剤はプラチナ製剤などの併用で投与される。微小管の重合を減弱させる機能をもつclass III  $\beta$ -tubulinが高発現を示す非小細胞肺癌 (図 4) は、タキサン系抗癌剤に抵抗性を示すことが示唆されている<sup>17-19</sup>。

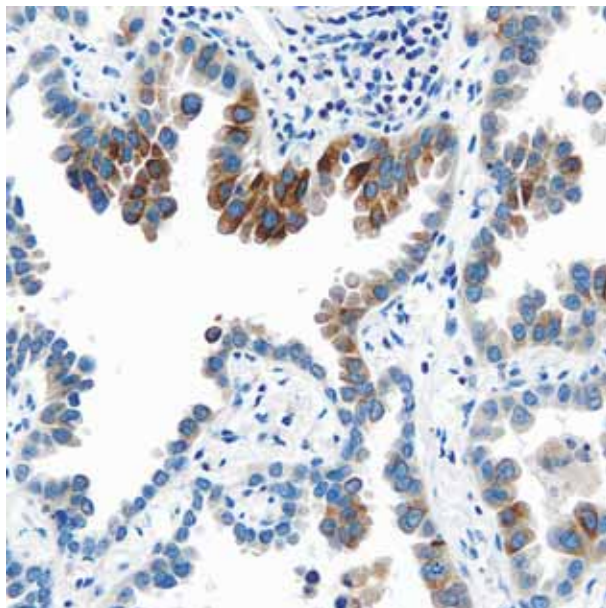


図 4. 肺腺癌を対象とした class III  $\beta$ -tubulin の免疫染色  
抗体；抗 class III  $\beta$ -tubulin マウスモノクローナル抗体 (クローン：TU-20)  
多くの腫瘍細胞の細胞質が陽性を呈している。

## おわりに

抗癌剤に対する感受性は患者ごとに大きく異なるため、抗癌剤の効果予測は、無効な薬剤を除外することによる副作用の回避やより有効な薬剤の優先選択につながる。抗癌剤の適応判定に利用されるバイオマーカー検査法として免疫染色が期待される。とくに、最近、変異蛋白やリン酸化蛋白に特異的なウサギモノクローナル抗体の開発が盛んで、これらは分子標的薬剤の適応判定において有力な武器となる可能性を有している。本稿で紹介した効果予測マーカーの免疫染色に関しては、後向き研究のみのため適応判定への実用化まで至っていない。今後は、最も安定した染色プロトコルと結果評価方法に統一した上で、大規模な前向き臨床試験により検証を行っていくことが望まれる。

## 参考文献

1. 谷田部恭, ほか: 病理と臨床 臨時増刊号 2007;25:89-98.
2. Mukhopadhyay S, et al.: Am J Surg Pathol 2011;35:15-25.
3. Yarden Y, et al.: Nat Rev Mol Cell Biol 2001;2:127-137.
4. Lurje G, et al: Oncology 2009;77:400-410.
5. Lynch TJ, et al.: N Eng J Med 2004;350:2129-2139.
6. Paez JG, et al.: Science 2004;304:1497-1500.
7. Yu J, et al.: Clin Cancer Res 2009;15:3023-3028.
8. Kawahara A, et al.: Clin Cancer Res 2010;16:3163-3170.
9. Kitamura A, et al.: Clin Cancer Res 2010;16:3349-3355.
10. Kozu Y, et al.: Lung Cancer 2011;73:45-50.
11. Försti A, et al.: Pharmacol Toxicol 1989;64:120-125.
12. Olausson KA, et al.; IALT Bio Investigators: N Eng J Med 2006;335:983-991.
13. Azuma K, et al.: Cancer Sci 2007;98:1336-1343.
14. Dabholkar M, et al.: J Clin Invest 1994;94:703-708.
15. Shirota Y, et al.: J Clin Oncol 2001;19:4298-4304.
16. Park DJ, et al.: Curr Opin Pharmacol 2006;6:337-344.
17. Sève P, et al.: Mol Cancer Ther 2007;4:2001-2007.
18. Sève P, et al.: Lancet Oncol 2008;9:168-175.
19. Hayashi Y, et al.: Intern Med 2009;48:203-208.