

免疫染色に基づいた抗癌剤選択の可能性

— 大腸癌 —

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

フルオロウラシル 5-fluorouracil (5-FU) は、大腸癌を含めた各種固形癌に対して広く使用されている代謝拮抗剤である。とくにわが国では経口 5-FU プロドラッグの開発が盛んに行われてきた。代表的な経口 5-FU プロドラッグとして、UFT (ユーエフティ UFT®)、S-1 (ティーエスワン TS-1®) およびカペシタビン capecitabine (ゼローダ Xeloda®) がある。UFT と S-1 には、5-FU を分解する酵素 dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) の阻害剤が配合されている。

大腸癌の術後補助化学療法として 5-FU/ロイコボリン leucovorin (LV) 療法、UFT/LV 療法、カペシタビン療法および FOLFOX 療法が推奨されている。ロイコボリンは還元型葉酸製剤で、5-FU や UFT の抗腫瘍効果を高めるために併用される。FOLFOX 療法とは、5-FU/LV にオキサリプラチン oxaliplatin (エルプラット Elplat®) を加えた併用療法をいう。

一方、切除不能進行再発大腸癌に対する化学療法については細かいアルゴリズムが作成されている。すなわち、一次治療として、FOLFOX 療法、FOLFIRI 療法および 5-FU/LV 療法と、これらに分子標的薬剤であるベバシズマブ bevacizumab (アバスタチン Avastin®) やセツキシマブ cetuximab (アービタックス Erbitux®) を加えたレジメンなどがある。FOLFIRI 療法とは、5-FU/LV にイリノテカン irinotecan (カンプト Campto®、トポテシン Topotecin®) を加えた併用療法をさす。二次治療のレジメンは抵抗性となった一次治療に応じて考慮されている。

本稿では、免疫染色による大腸癌治療薬適応判定の現状と効果予測の可能性について、マーカ一ごとに概説する。

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^{1,2}。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 α 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→Raf→MAPK/ERK kinase→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。

セツキシマブは EGFR に対するキメラ型モノクローナル抗体で、リガンドと競合的に EGFR の細胞外ドメインに結合することでシグナル伝達を抑制する(図1)²。セツキシマブの適応対象は、EGFR 陽性の治癒切除不能な進行・再発大腸癌である。現在、EGFR 発現の評価は免疫染色によって行われており、癌細胞の細胞膜にわずかでもシグナルが認められれば陽性と判定される(図2)。ただし、大腸癌に対するセツキシマブの効果と EGFR 発現レベルや EGFR 遺伝子変異との明らかな関連は示されていない。

EGFR の下流にある KRAS 遺伝子に機能獲得性変異があると、その下流が恒常的に活性化されるため、セツキシマブが EGFR に結合しても、細胞増殖が促進されてしまう(図1)³。したがって、セツキシマブの適応判定法としては、KRAS 遺伝子変異解析が実施されている。一方、パニツムマブ panitumumab (ベクチビックス Vectibix®) は EGFR に対する完全ヒト化抗体で²、KRAS 野生型の治癒切除不能な進行・再発大腸癌に限定して適応認可されている。

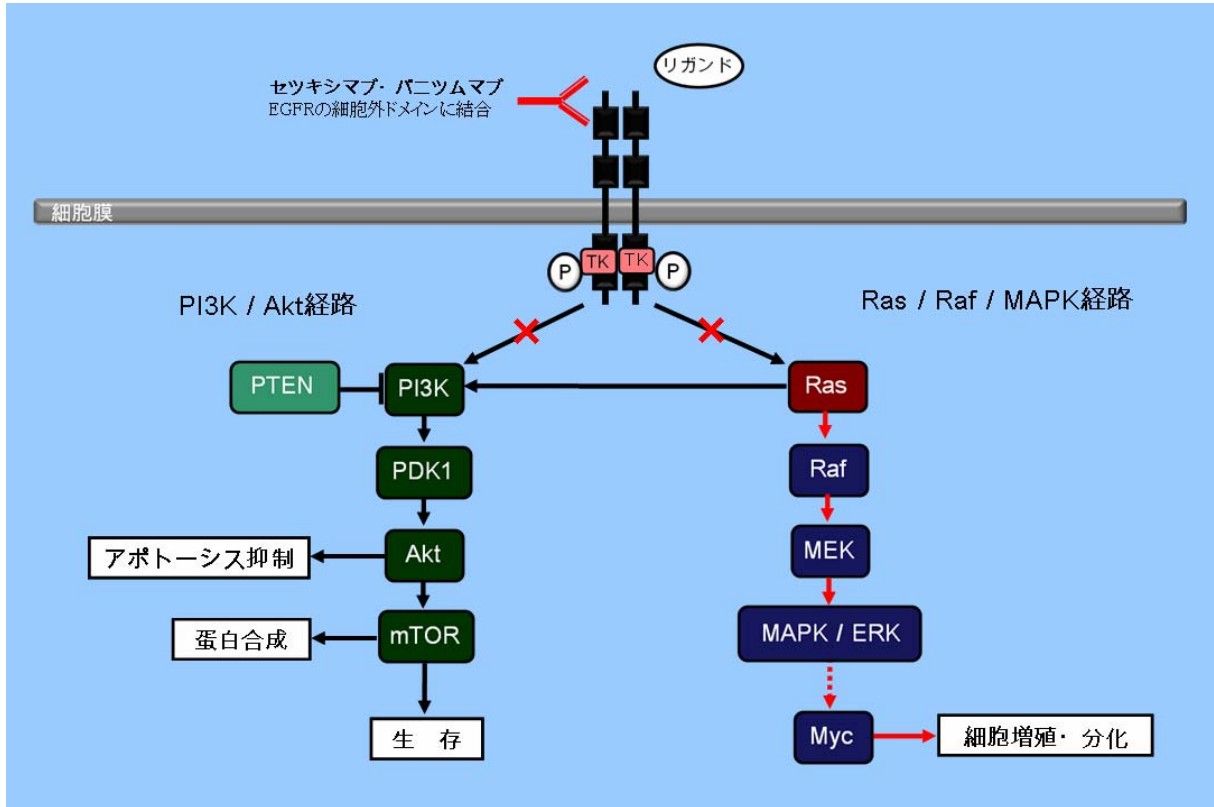


図 1. EGFR を介した癌細胞内シグナル伝達とセツキシマブ、パニツムマブの作用機序

セツキシマブやパニツムマブは、リガンドと競合的に EGFR の細胞外ドメインに結合することでシグナル伝達を抑制する。しかし、*KRAS* 遺伝子に機能獲得性変異があると、その下流が恒常的に活性化されるため、セツキシマブやパニツムマブに対して抵抗性となる。

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

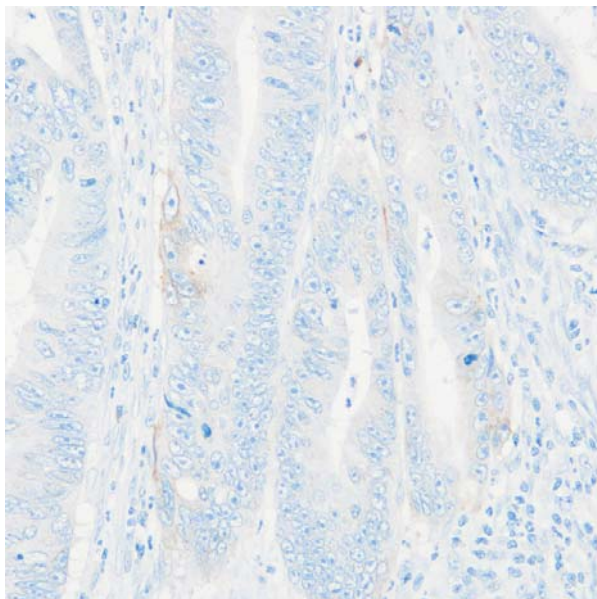


図 2. 大腸癌を対象にした EGFR 免疫染色

抗体 ; 抗 EGFR マウスモノクローナル抗体
(クローン : 2-18C9)

腫瘍細胞の細胞膜にわずかでもシグナルが認められれば陽性と判定される。

2. Thymidylate synthase

図 3 に、5-FU 系抗癌剤による核酸合成の障害経路を示す。5-FU は 5-fluorodeoxyuridine monophosphate (FdUMP) へと変換されてはじめて活性体となる⁴。Thymidylate synthase (TS) は DNA 合成に必須の酵素であり、deoxyuridine monophosphate (dUMP) をメチル化し、deoxythymidine monophosphate (dTMP) へと変換する。FdUMP が TS、還元型葉酸 (あるいはロイコボリン) とともに三重複合体を形成する結果、dTMP が枯渇して DNA 合成が抑制される。もう一つの (minor な) 経路では、生成された 5-fluorouridine triphosphate (FUTP) が RNA に取り込まれて、RNA の機能が障害される。一方、5-FU は DPD によって速やかに分解される。

以上のような 5-FU の作用機序から考えると、腫瘍組織における標的酵素 TS および分解酵素 DPD の発現が過剰な場合に 5-FU 系抗癌剤の効果が低下することが予想される。大腸癌組織における TS 発現と 5-FU 系抗癌剤の効果との関連性については、残念ながら見解が一致していない⁵⁻⁹。著者は、抗原性賦活化法を含めた免疫染色技術の違いが結果不一致の主たる原因であると考えている。ホルマリン固定パラフィン切片に対して最も効果的な TS 抗原性賦活化法は EDTA 溶液 (pH 8.0) 中での加熱処理であるが¹⁰、ほとんどの報告者は 10 mM クエン酸緩衝液 (pH 6.0) を用いて加熱しているか、前処理を行わずに染色している。著者らは、5-FU を基礎とする術前化学療法あるいは術後補助化学療法を施行された大腸癌症例を対象として、至適条件下で TS の免疫染色を実施し、TS 高発現 (30%以上の癌細胞が陽性) は化学療法抵抗性を示す症例に高頻度に認められることを報告した (図 4)^{11, 12}。すなわち、TS に対する正確な免疫染色によって、大腸癌の 5-FU 抵抗性を予測できる可能性を示した。一方、大腸癌細胞には DPD 発現がほとんど確認されないため¹³、大腸癌の 5-FU 抵抗性に DPD 発現が関与しているとは考えにくい。

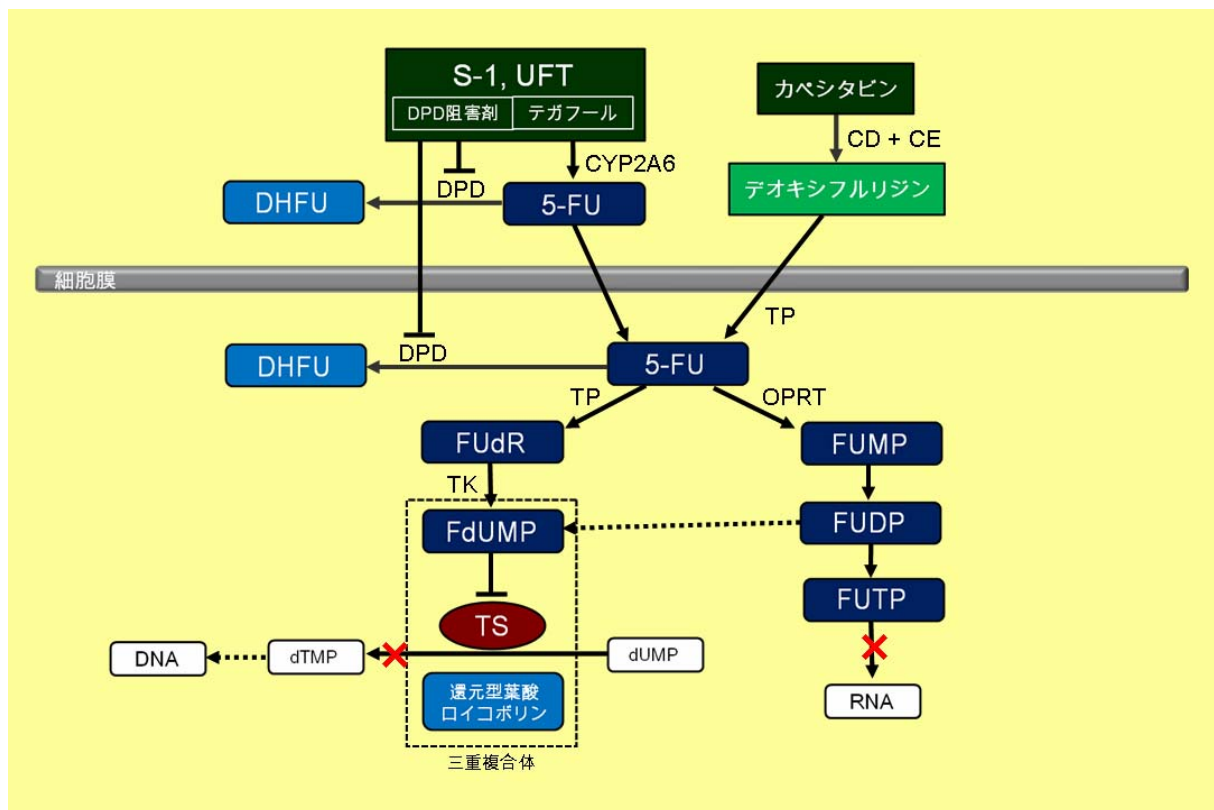


図 3. 5-FU 系抗癌剤の作用機序

- | | | | |
|-------|--------------------------------------|--------|-------------------------------------|
| CD | : cytidine deaminase | CE | : carboxyesterase |
| 5-FU | : 5-fluorouracil | DPD | : dihydropyrimidine dehydrogenase |
| DHFU | : dihydrofluorouracil | CYP2A6 | : cytochrome P450 2A6 |
| TP | : thymidine phosphorylase | OPRT | : orotate phosphoribosyltransferase |
| FUdR | : 5-fluorodeoxyuridine | TK | : thymidine kinase |
| FdUMP | : 5-fluorodeoxyuridine monophosphate | TS | : thymidylate synthase |
| dUMP | : deoxyuridine monophosphate | dTMP | : deoxythymidine monophosphate |
| FUMP | : 5-fluorouridine monophosphate | FUDP | : 5-fluorouridine diphosphate |
| FUTP | : 5-fluorouridine triphosphate | | |

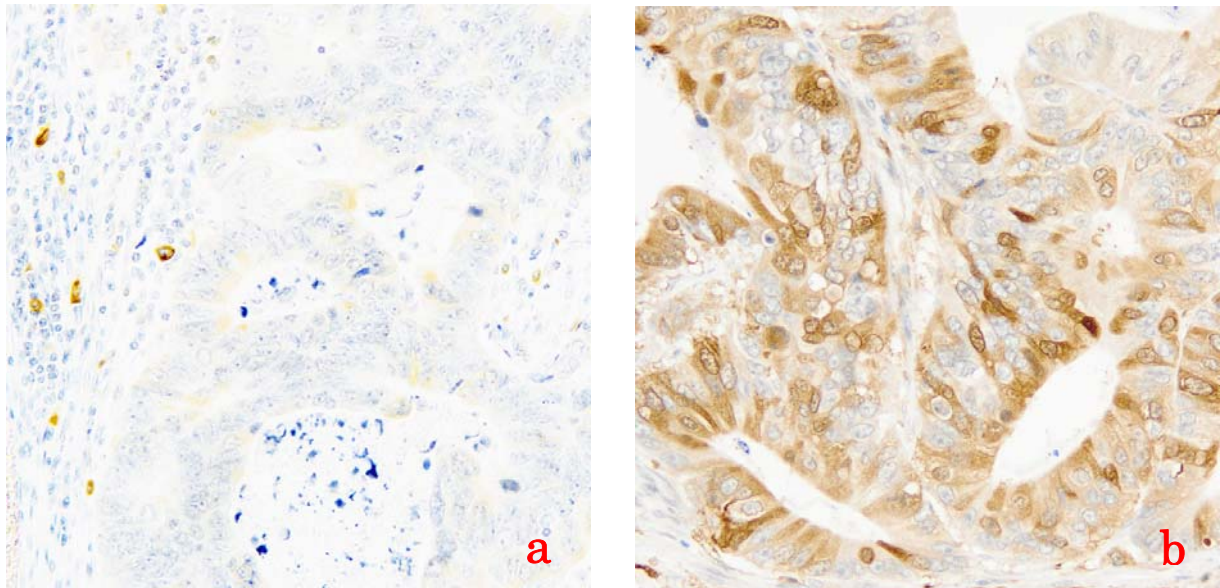


図 4. 大腸癌に対する TS 免疫染色

抗体；抗 TS ウサギポリクローナル抗体

a：5-FU プロドラッグが有効だった症例

少数の腫瘍細胞が弱陽性を示すのみであるのに対し、間質の形質細胞は強陽性を呈している。

b：5-FU プロドラッグが無効だった症例

多くの腫瘍細胞の核・細胞質が陽性である。

3. Topoisomerase I

Topoisomerase は、DNA を切断し再結合することによって DNA の立体構造を調節する酵素である。DNA 2 本鎖の一方だけを切断する酵素は topoisomerase I、2 本とも切断する酵素は topoisomerase II に分類される。イリノテカン は topoisomerase I 阻害剤で、主に肝臓の carboxylesterase によって活性代謝物 SN-38 に加水分解される¹⁴。Topoisomerase I 陽性細胞が多数確認される大腸癌に対しては、イリノテカンを含む化学療法が効果的であることが示唆されている^{15, 16}。

おわりに

残念ながら、大腸癌化学療法におけるセツキシマブ選択に対する EGFR 免疫染色の役割については明確ではない。最近、盛んに開発されているリン酸化シグナル伝達物質に対する抗体や抗変異 EGFR 抗体には、分子標的薬剤の適応判定に役立つ可能性が秘められている。一方、TS 免疫染色による 5-FU 抵抗性予測や topoisomerase I 免疫染色によるイリノテカン感受性予測に関しては、現時点では後向き研究のみであり、実用化されるには大規模な前向き臨床試験による検証が必要であろう。再現性の高い染色プロトコルを確立し、正確なスコアリング法やカットオフ基準を設定した上で、臨床研究に臨むことが大切である。

参考文献

1. Yarden Y, et al.: Nat Rev Mol Cell Biol 2001;2:127-137.
2. Lurje G, et al.: EGFR signaling and drug discovery. Oncology 2009;77:400-410.
3. Banck MS, et al.: Clin Cancer Res 2009;15:7492-7501.
4. Pinedo HM, et al.: J Clin Oncol 1988;6:1653-1664.
5. Findlay MPN, et al.: Br J Cancer 1997;75:903-909.
6. Paradiso A, et al.: Br J Cancer 2000;82:560-567.
7. Berglund A, et al.: Anticancer Res 2002;22:3653-3660.
8. Edler D, et al.: J Clin Oncol 2002;20:1721-1728.
9. Allegra CJ, et al.: J Clin Oncol 2002;20:1735-1743.
10. Kamoshida S, et al.: Acta Histochem Cytochem 2003;36:115-118.
11. Kamoshida S, et al.: Pathol Intern 2004;54:564-575.
12. Kamoshida S, et al.: Jpn J Clin Oncol 2004;34:594-601.
13. Kamoshida S, et al.: Acta Histochem Cytochem 2003;36:471-479.
14. Humerickhouse R, et al.: Cancer Res 2000;60:1189-1192.
15. Braun MS, et al.: J Clin Oncol 2008;26:2690-2698.
16. Kostopoulos I, et al.: BMC Cancer 2009;9:339.