

(様式4)

学位論文の内容の要旨

西村俊夫 印

(学位論文のタイトル)

The effect of molecular target drug, erlotinib, against endometrial cancer expressing high levels of epidermal growth factor receptor

(上皮成長因子受容体の過剰発現を認める子宮体癌における分子標的薬エルロチニブの効果について)

(学位論文の要旨)

子宮体癌は日本で増加傾向を認める癌であり、年間8000人が日本でも罹患している。手術療法を行った後に、筋層浸潤の有無やリンパ節転移の有無等を評価し、追加療法として化学療法を行うが、奏効率は33-57%である。近年EGFRが肺癌や頭頸部癌、膀胱癌や膵臓癌において過剰発現が確認されており、それによる予後の不良の可能性も指摘されている。過去の研究では漿液性腺癌や明細胞癌という一部の特殊な子宮体癌にはEGFRやHER-2を含む erbB familyの発現が報告され、erbB familyに対するチロシンキナーゼインヒビターが有効であったという報告も出ている。しかし、子宮体癌の80%を占める類内膜腺癌では有効性は報告されていない。今回我々は子宮体癌におけるEGFR・HER-2の発現について解析を行い、EGFRのチロシンキナーゼをターゲットとした薬剤の有用性について研究を行った。

まず群馬大学医学部附属病院産婦人科において手術で摘出した51例の子宮体癌組織を用いて、EGFR/HER-2の発現について検討した。免疫染色では子宮体癌においてはEGFR/HER-2の発現を認めた (Fig. 1A)。Quantitative RT-PCRによってEGFR mRNA, HER-2 mRNAの発現量を評価したところ、EGFR mRNAはG3と比べてG1, G2で発現が多かった。子宮体癌においてEGFR/HER-2の発現を認めたため、続いて子宮体癌における機能解析を行った (Fig. 1B)。

続いて子宮体癌培養細胞系でのEGFR/HER-2機能を行った。3つの子宮体癌培養細胞系 (Ishikawa, HEC-1A, KLE) を用いて、EGFR, HER-2の蛋白質発現量をwestern blotting, mRNA発現量をQuantitative RT-PCRを用いて評価した (Fig. 2A, 2B)。蛋白質、mRNAは全ての細胞でEGFR, HER-2が発現していたが、EGFRはHEC-1Aで、HER-2はIshikawaで多く発現していた。続いてEGFRのリガンドであるEGFを添加したところ、全ての細胞でERKのリン酸化を認めたが、HEC-1Aはより低濃度のEGFでERKのリン酸化を認めた (Fig. 3)。この結果より、EGFRの発現量がMAPKの活性化の重要な因子である可能性が示された。続いてsiRNAを用いてEGFR/HER-2をknock downして機能解析を行った (Fig. 4A, 4B, 4C)。EGFRをknock downしたときはすべての細胞でERKのリン酸化が抑制され、また増殖能もすべての細胞で抑制された。HER-2をknock downすると、HER-2が多く発現しているIshikawaでERKのリン酸化が抑制されたが、HEC-1A, KLEでは抑制されず、増殖能もIshikawaのみ抑制された。この結果より、EGFRやHER-2の発現量が増殖能に影響していることが示された。

Ishikawa, HEC-1A, KLEにEGFRのチロシンキナーゼInhibitorであるerlotinib (ERL)、HER-2 monoclonal抗体であるtrastuzumab (TRA)を添加し、ERKのリン酸化、増殖能を評価した (Fig. 5A, 5B)。ERLを添加するとERKのリン酸化はすべての細胞で抑制されたが、EGFRが最も多く発現しているHEC-1Aでのみ細胞増殖能の抑制を認めた。TRAを添加すると、HER-2を最も多く発現していたIshikawaでのみERKのリン酸化の抑制、増殖能の抑制を認めた。この結果よりEGFR/HER-2がより多く発現している子宮体癌でEGFR/HER-2をtargetとする薬剤がより効果的であることが示唆された。

上記結果を踏まえて、In vivoでも同様の結果が得られるか xenograft mouseを用いて実験を行った。EGFRが多く発現しているHEC-1A、HER-2が多く発現しているIshikawaを用いて、メスのヌードマウスでxenograft modelを作成し、ERL、TRLを投与した。ERLを投与したところ、HEC-1Aの腫瘍は有意に増殖が抑制された。TRLを投与したところ、両方の腫瘍とも増殖は抑制されなかった(Fig. 6A, 6B)。マウスから腫瘍を摘出しHE染色を行ったところ、HEC-1AでERLを投与された腫瘍のみ線維化を認めた(Fig. 6C)。

これらの結果より、ERLはEGFRが過剰発現している子宮体癌において腫瘍増殖を抑制することが示され、今後子宮体癌においてEGFRの発現量によるERLを用いたテーラーメイド治療の可能性が示唆できた。