

平成 21年 1月

# 山口耕介 学位論文審査要旨

主 査 村 脇 義 和  
副主査 池 口 正 英  
同 清 水 英 治

## 主論文

大腸癌細胞株に対するセツキシマブを介した抗体依存性細胞傷害活性（ADCC）の検討

（著者：山口耕介、堅野国幸、橋本潔、千酌浩樹、倉井淳、澄川崇、木下直樹、米田一彦、  
中本成紀、龍河敏行、重岡靖、陶山久司、井岸正、鰐岡直人、池口正英、  
清水英治）

平成20年 Biotherapy 22巻 423頁～430頁

# 学 位 論 文 要 旨

## 大腸癌細胞株に対するセツキシマブを介した抗体依存性細胞傷害活性（ADCC）の検討

上皮成長因子受容体（EGFR：epidermal growth factor receptor）は多くの大腸癌に発現し、その発現レベルが予後不良と相関することが報告されている。セツキシマブはEGFRの細胞外ドメインに対するキメラ化抗体であり、本邦においても進行大腸癌に対し保険承認された。セツキシマブの作用機序として、抗体依存性細胞傷害活性（ADCC：antibody-dependent cellular cytotoxicity）を悪性黒色腫、食道癌、肺癌において検討した報告がみられるが、大腸癌における報告は未だ無い。本研究では大腸癌に対するセツキシマブを介したADCC活性について検討することを目的とした。

### 方 法

大腸癌細胞株は、CoLo-320、CW-2、CACO-2、CoLo-TC、LoVo、WiDr-TCの6株を使用した。定量的フローサイトメトリーにより、各大腸癌細胞株細胞表面のEGFR発現量を細胞一つあたりの抗EGFR抗体結合部位の個数として定量した。WST-8法にて、72時間におけるセツキシマブの細胞増殖抑制効果を調べた。NK活性及びADCC活性は4時間<sup>51</sup>Cr遊離法により測定し、エフェクター細胞にはヒト末梢血単核球を使用した。末梢血単核球のIL-2処理では、10 ng/ml IL-2添加培地で37℃、18時間培養した。化学療法のADCC活性に対する影響を調べるために、大腸癌術後補助化学療法の前後においてADCC活性を測定した。

### 結 果

定量的フローサイトメトリーの結果、CoLo-320にはEGFR発現をほとんど認めなかった（16.2個/細胞）が、他の5株ではEGFR発現を認めた（ $4.24 \times 10^3 \sim 3.53 \times 10^4$ 個/細胞）。WST-8法の結果、72時間では6株全てに対しセツキシマブによる直接細胞増殖抑制効果は認めなかった。4時間<sup>51</sup>Cr遊離法にて、CoLo-320以外の5種のEGFR発現細胞株においてADCC活性が確認された。このADCC活性は、セツキシマブ濃度0.025 µg/ml以上で最大活性を示した。ADCC活性はEGFR発現量と対数相関を示した。CoLo-320ではADCC活性を全く認めなかったが、IL-2処理した末梢血単核球をエフェクター細胞として使用した際にはADCC活性が認められた。ADCC活性を認めた5株全てにおいて末梢血単核球のIL-2処理によって活性が増強した。また、

ADCC活性は経口フッ化ピリミジン系薬による術後補助化学療法の前後で変化を認めなかった。

## 考 察

セツキシマブはEGFR経路を遮断し、さらに細胞内へのEGFR取り込みを促進する。これらはセツキシマブの直接効果として知られているが、セツキシマブにはADCC活性のような免疫学的機序を介した効果のあることが知られている。今回、大腸癌細胞株に対するセツキシマブを介したADCC活性について初めて報告した。セツキシマブは高濃度においても今回使用した6株に対し、72時間では直接的な細胞増殖抑制効果を認めなかった。一方、ADCC活性は0.025  $\mu\text{g/ml}$ 以上で最大値を示した。この濃度は臨床投与量で予想される組織内濃度に比べ十分に低い濃度と考えられ、生体内においてもADCC活性が重要であると考えられた。また、この濃度は、セツキシマブがEGFRを薬理学的に完全競合阻害するのに必要な濃度1.25  $\mu\text{g/ml}$ に比べてきわめて低く、ADCC活性の効率の高さがうかがえる。末梢血単核球のIL-2処理によりADCC活性が上昇し、特にADCC活性を認めなかったCoLo-320ではIL-2処理によってADCC活性が惹起された点は興味深い。リツキシマブ、トラスツズマブにおいてIL-2同時投与を行う前臨床試験が試みられており、セツキシマブについてもIL-2同時投与の検討が可能であると考えられる。進行大腸癌に対するセツキシマブの奏効率は10%程度であり、他の抗癌剤との併用療法が主流となっている。ADCC活性は免疫系を介した機序であるが、今回のレジメンでは化学療法の影響を受けないことを示した。これは、セツキシマブ投与時期の適正化を考慮する上で重要な結果と考えられた。

## 結 論

セツキシマブは大腸癌細胞株に対して直接的な細胞増殖抑制を示さなかったが、免疫学的機序による細胞傷害活性を発揮することを示し、ADCC活性がセツキシマブ作用機序において重要であると考えられた。ADCC活性はEGFR発現量と対数相関し、大腸癌術後患者において経口フッ化ピリミジン系薬により影響を受けないことが明らかとなった。これらの結果は、セツキシマブ投与患者の選択、及び抗癌剤併用時の適切な投与時期を考慮する上で重要な結果と考えられた。