

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 1 日現在

機関番号：15101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22590863

研究課題名（和文）ADCC 活性制御による胸膜中皮腫の新しい治療法の開発

研究課題名（英文）Development of novel therapy for malignant mesothelioma by controlling ADCC activity.

研究代表者

清水 英治 (SHIMIZU EIJI)

鳥取大学・医学部・教授

研究者番号：50187449

研究成果の概要（和文）：

胸膜中皮腫は、アスベストが国内での使用が禁止された現在も急増している。上皮細胞成長因子受容体（EGFR）に対するモノクローナル抗体であるセツキシマブは大腸癌、頭頸部癌などの領域で新規分子標的治療薬として成果をあげているが、胸膜中皮腫での効果は確かめられていない。そこで我々は本剤の悪性胸膜中皮腫への効果的な投与方法を開発することを目的として本研究を行い、セツキシマブの免疫学的作用である抗体依存性細胞障害（ADCC）を増強することで、本剤が胸膜中皮腫の有力な治療方法となりうることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

Most patients with malignant pleural mesothelioma (MPM) have a history of exposure to carcinogenic asbestos fibers, and the latent period of this disease is more than 40 years. Therefore, the numbers of the patients are now still increasing. Cetuximab is a chimeric mouse-human antibody directed against the extracellular domain of EGFR and has been shown remarkable effects for colorectal cancer and head and neck cancer. However, no published *in vitro* or *in vivo* studies have focused on the effect of cetuximab against MPM. In the present study, we found that cetuximab has potent anti-tumor activity against MPM in combination with the methods to enhance its immunological function, antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC) activity. Our data indicate the important role of ADCC activity in the mechanism of action of cetuximab and underscore the promising potential of cetuximab as a new class of therapeutic agent for use against MPM.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・呼吸器内科学

キーワード：胸膜中皮腫、分子標的治療

1. 研究開始当初の背景

セツキシマブは非小細胞肺癌に過剰発現しているEGFRに対するモノクローナル抗体である。肺癌領域では本年、非小細胞肺癌に対する抗癌剤との併用による大規模第III相(FLEX)試験で全生存期間延長の上乗せ効果があったことが論文発表された(Lancet 373:1525-31, 2009)。これは先行した低分子EGFR阻害剤(EGFR-TKI)ゲフィチニブではなしえなかったことで、本剤への期待はきわめて高い。一方、胸膜中皮腫は胸膜原発の悪性腫瘍であるが、アスベスト暴露後40年前後の潜伏期を経て発病するため、国内での使用が禁止された後も急増している。臨床III相試験の結果からシスプラチンとペメトレキセドの併用が標準的とされているが、中間生存期間は12ヶ月と満足すべきものではなく(J Clin Oncol 21:2636-44, 2003)、新規治療法の開発が強く求められている。

近年、セツキシマブの抗腫瘍機序として、高い親和性でEGFRに結合し、①EGFR活性化刺激を遮断②receptor internalization促進によるEGFRのdown-regulationをまねく③抗体依存性細胞障害(ADCC)機序による抗腫瘍効果などが想定されている(図1)。

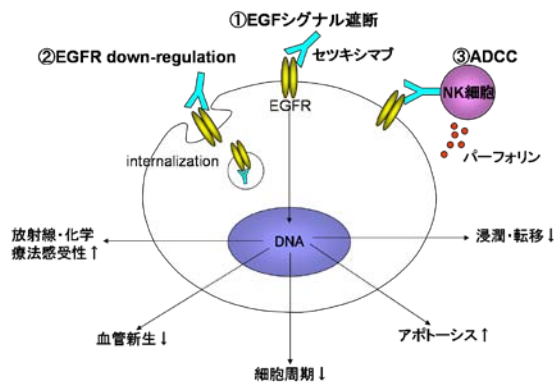


図1. セツキシマブの作用機序

われわれの肺癌を対象として研究では、直接的な細胞増殖抑制効果はほとんどみられなかったが、セツキシマブは広範囲の肺癌細胞株に対してNK細胞を介した強いADCC活性を誘導することを初めて見いだした(Clin Cancer Res. 13, 1552-61. 2007)。しかし、胸膜中皮腫についての研究は全くおこなわれていない。ADCC活性を担う免疫細胞であるNK細胞の活性を増強することが重要である。NK細胞の活性化因子として中皮腫細胞表面のNKG2Dリガンドに注目し、ペメトレ

キセドやEGFR-TKIによるNKG2Dリガンド発現制御とセツキシマブ依存性ADCC活性を検討することにより、より効果的な中皮腫治療法を開発すること目的とした。

2. 研究の目的

本研究の目的は、上皮成長因子受容体(EGFR)に対するモノクローナル抗体セツキシマブの悪性胸膜中皮腫への効果的な投与法を開発することにある。

3. 研究の方法

胸膜中皮腫細胞表面に発現誘導されたNKG2DリガンドはNK細胞の抗腫瘍活性を誘導する。しかし一方でこのリガンドは切り出されて可溶化し、可溶性リガンドはNK細胞上のNKG2Dの発現低下を引き起こし、その抗腫瘍活性を抑制することが報告されている。また、NKG2Dリガンドは細胞のウイルス感染、悪性化、熱ストレス、細胞障害性薬剤などで発現上昇することが知られているが、抗がん薬の種類による発現への影響やゲフィチニブやエルロチニブなどのEGFR-TKIによる発現への影響については知られていない。そこで本研究では、以下の点を明らかにする。

- (1)セツキシマブの胸膜中皮腫細胞への効果をin vitro, in vivoで明らかにする。
- (2)セツキシマブの効果に与えるADCC活性の影響を明らかにする。
- (3)ADCC活性に与えるNKG2Dリガンドの影響を明らかにする。具体的にはNKG2Dリガンドの発現量変化がヒト末梢血単核球のセツキシマブ依存性ADCC活性に与える効果を検討する。
- (4)ヒト胸膜中皮腫のマウスモデルを作製し、本モデルにおいて、セツキシマブとADCC活性を修飾する薬剤との併用効果を検討する。

4. 研究成果

われわれはまず、5種類の中皮腫細胞株に対して基礎的検討を行い、①肺癌細胞株と同程度のEGFRを発現する②直接的な細胞増殖抑制効果はほとんどみとめない③さらにNK細胞を介したADCC活性を誘導することをin vivoマウスモデルにより明らかにした。さらにこのADCC作用とNKG2Dリガンドの関連を検討した。

(本結果の詳細は現在論文投稿準備中である。論文受理後に詳細を改めて報告する)

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

1. Takata M, Chikumi H, Miyake N, Adachi K, Kanamori Y, Yamasaki A, Igishi T, Burioka N, Nanba E, Shimizu E:
Lack of AKT activation in lung cancer cells with EGFR mutation is a novel marker of cetuximab sensitivity.
Cancer Biol Ther, 13: 369-378, 2012.
査読有
<http://dx.doi.org/10.4161/cbt.19238>
2. Yamaguchi K, Chikumi H, Shimizu A, Takata M, Kinoshita N, Hashimoto K, Nakamoto M, Matsunaga S, Kurai J, Miyake N, Matsumoto S, Watanabe M, Yamasaki A, Igishi T, Burioka N, Shimizu E:
Diagnostic and Prognostic Impact of Serum Soluble UL16-Binding Protein 2 in Lung Cancer Patients.
Cancer Science, 103: 1405-1413, 2012.
査読有
DOI:10.1111/j.1349-7006.2012.02330.x
3. Miyake N, Chikumi H, Takata M, Nakamoto M, Igishi T, Shimizu E:
Rapamycin induces p53-independent apoptosis through the mitochondrial pathway in non-small cell lung cancer cells
Oncology reports 28: 848-854, 2012 査読有
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2313637>
4. Kurai J, Chikumi H, Hashimoto K, Takata M, Sako T, Yamaguchi K, Kinoshita N, Watanabe M, Touge H, Makino H, Igishi T, Hamada H, Yano S, Shimizu E.
Therapeutic antitumor efficacy of anti-epidermal growth factor receptor antibody, cetuximab, against malignant pleural mesothelioma
International Journal of Oncology 41: 1610-1618, 2012 査読有
10.3892/ijo.2012.1607

[学会発表] (計 3 件)

1. Kinoshita N, Chikumi H, Yamaguchi K, Takata M, Nakamoto M, Kodani M, Matsumoto S, Kawasaki Y, Tadashi I, Shimizu E:
Circulating serum ULBP2 in patients with various lung diseases.
第 52 回日本呼吸器学会学術講演会
神戸コンベンションセンター(神戸),
2012 年 4 月 22 日
2. Takata M, Chikumi H, Igishi T, Burioka N, Yamasaki A, Nakamoto M, Kinoshita N, Kitaura T, Okada K, Shimizu E.
Development of a novel combination therapy using cetuximab.
第 52 回日本呼吸器学会学術講演会
神戸コンベンションセンター(神戸),
2012 年 4 月 20 日
3. Chikumi H, Kurai J, Kinoshita N, Nakamoto M, Matsumoto S, Igishi T, Hamada H, Yano S, Shimizu E:
Antibody-dependent cellular cytotoxicity mediated by cetuximab against mesothelioma cells.
The 10th international conference of the international mesothelioma interest group
(Workshop: Immunotherapy: bench to bedside-II).
Kyoto, Japan, 2010 年 9 月 2 日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

清水 英治 (SHIMIZU EIJI)

鳥取大学・医学部・教授

研究者番号: 50187449

(2) 研究分担者

千酌 浩樹 (CHIKUMI HIROKI)

鳥取大学・医学部付属病院・准教授

研究者番号: 90283994