

■受領No.1451

KRAS 遺伝子変異を有する大腸がん個別化医療に向けた抗体医薬開発

代表研究者

大石 智一

(公財) 微生物化学研究会 微生物化学研究所 第 1 生物活性研究部/沼津支所(兼務) 主任研究員



Development of antibody drugs for the personalized medicine of colorectal cancer patients with KRAS mutation

Senior Researcher

Tomokazu Ohishi,

Institute of Microbial Chemistry (BIKAKEN), Laboratory of oncology & Numazu, Microbial Chemistry Research Foundation

現在臨床で使用されている抗上皮成長因子受容体 (EGFR) 抗体は、KRAS 遺伝子が野生型の切除不能な大腸がん患者にのみ有効である。このことから、KRAS 遺伝子に変異を有する切除不能な大腸がんに対する新たな治療戦略が望まれている。今回の検討で我々は、新規抗 EGFR 抗体の EMab-17(mouse IgG_{2a}, kappa)が KRAS 遺伝子に変異を有する大腸がん細胞に制がん効果を示すことを見出した。EMab-17 は、KRAS 遺伝子変異の有無に関わらず大腸がん細胞の内在性の EGFR を認識し、フローサイトメトリーで高い親和性を示すことから、EGFR に高い結合能を有することが示唆された。また、試験管内の検討において、EMab-17 は抗体依存性細胞障害活性および補体依存性細胞障害活性を示した。さらに、ヌードマウスを用いた大腸がん肝転移モデルにおいて、EMab-17 は KRAS 遺伝子変異を有する大腸がん細胞 (HCT-15, HCT-116) の肝転移を抑制した。これらの結果から、EMab-17 は KRAS 遺伝子に変異を有する大腸がんに対する抗体を用いた治療に有用であると考えられる。

The now clinically-used anti-epidermal growth factor receptor (EGFR) monoclonal antibody drugs have showed significant efficacy only in patients with metastatic colorectal cancer (mCRC), with wild-type Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog (KRAS). Therefore, a new strategy for targeting mCRC with KRAS mutated tumors is desired. In the present study, we demonstrated the anti-tumor activities of a novel anti-EGFR monoclonal antibody, EMab-17 (mouse IgG_{2a}, kappa), in colorectal cancer cells with the KRAS mutation. EMab-17 recognized endogenous EGRF in CRC cells with or without KRAS mutations, and showed a high sensitivity for CRC cells in flow cytometry, indicating that EMab-17 possesses a high binding affinity to the endogenous EGFR. In addition, in vitro experiments showed that EMab-17 exhibited antibody-dependent cellular cytotoxicity and complement-dependent cytotoxicity activities against CRC cells. Furthermore, in vivo analysis revealed that EMab-17 inhibited the metastases of KRAS mutated CRC cells (HCT-15 and HCT-116) in the livers of nude mouse metastatic models. In conclusion, EMab-17 may be useful in an antibody-based therapy against mCRC with the KRAS mutation.

1. 研究内容

大腸がんは、日本人のがん部位別罹患率の第 1 位、がん部位別死亡者数の第 2 位を占める。切除不能な進行・再発大腸がんの予後は、2000 年代までは約 6-8 ヶ月であったが、抗上皮成長因子受容体 (EGFR) 抗体が認可された 2010 年には欧米と日本でほぼ同様の治療ガイドラインとなり、生存期間中央値 (MST) も約 2 年まで延長した。しかし、この 10 年間は MST に顕著な進歩がみられないことから、新たな治療法の開発が望まれている。

EGFR は、大腸がんの約 80% に高発現が認められる。EGFR にリガンドが結合すると、下流の KRAS (Kirsten rat sarcoma 2 viral oncogene homolog) シグナル伝達経路を活性化して、細胞増殖が亢進する。本邦で承認されている 2 種類の抗 EGFR 抗体薬は、主に EGFR によるシグナルを阻害することで抗腫瘍効果を示すと考えられているが、大腸がんの KRAS 変異は EGFR とは無関係にシグナル経路を活性化させるため、現在の大腸がん治療ガイドラインでは KRAS 変異型での使用が推奨されていない。

大腸がんの KRAS 変異は 30-40% で検出され、エクソン 2 のコドン 12,13 に異常の 90% が集中している。申請者らは東北大学の加藤幸成教授らとの共同研究により、新たな抗 EGFR 抗体の開発を行った。EGFR を発現している複数の大腸がん細胞株 (KRAS 野生型: Caco-2, HT-29, COLO201, COLO205、KRAS 変異型: HCT-15, HCT-116, DLD-1, HCT-8, SW1116, LS174T) を用いた検討において、抗 EGFR 抗体 EMaB-17 (サブクラス、IgG_{2a}) は、KRAS 変異の有無に関わらず高い親和性を示し、さらに、KRAS 変異を有する大腸がん細胞株 (HCT-15, HCT-116) に抗体依存性細胞障害 (ADCC) 活性および補体依存性細胞障害 (CDC) 活性を示した。一方で、同抗体 EMaB-51 (サブクラス、IgG₁) は高い親和性を示すが、ADCC および CDC 活性を示さなかった。これに一致して、KRAS 変異を有する大腸がん細胞株を用いたゼノ

グラフトモデルにおいて、EMaB-17 は抗腫瘍効果を示したが、EMaB-51 は示さなかった。大腸がん肝転移モデルにおいても同様に、EMaB-17 は有意な抗転移効果を示した。試験管内の検討において、EMaB-17 および EMaB-51 の添加は大腸がん細胞株に対して有意な細胞増殖抑制効果を示さないことから、EMaB-17 の抗腫瘍効果ならびに抗転移効果は EGFR シグナルの抑制というよりむしろ ADCC および CDC 活性によるものと考えられた。

本研究結果は、未だ治療法が確立していない KRAS 変異型の大腸がんに対する治療応用につながる可能性を有しており、今後の個別化医療、創薬への展開が期待される。

2. 発表 (研究成果の発表)

1. Defucosylated Anti-Epidermal Growth Factor Receptor Monoclonal Antibody Exerted Antitumor Activities in Mouse Xenograft Models of Canine Mammary Gland Tumor.

Tanaka T, Ohishi T, Saito M, Suzuki H, Kaneko MK, Kawada M, Kato Y.

Monoclon Antib Immunodiagn Immunother., 41, 142-149, 2022.

2. Antitumor Activities in Mouse Xenograft Models of Canine Mammary Gland Tumor by Defucosylated Mouse-Dog Chimeric Anti-Epidermal Growth Factor Receptor Antibody (E134Bf).

Li G, Suzuki H, Takei J, Asano T, Sano M, Tanaka T, Harada H, Mizuno T, Ohishi T, Kawada M, Kaneko MK, Kato Y. *Monoclon Antib Immunodiagn Immunother.*, 41, 53-58, 2022.

3. Antitumor Activities in Mouse Xenograft Models of Canine Fibroblastic Tumor by Defucosylated Anti-Epidermal Growth Factor Receptor Monoclonal Antibody.

Goto N, Suzuki H, Ohishi T, Harakawa A, Li G,

Saito M, Takei J, Tanaka T, Asano T, Sano M, Kawada M, Kaneko MK, Kato Y.

Monoclon Antib Immunodiagn Immunother., 41, 67-73, 2022.

4. Defucosylated Anti-Epidermal Growth Factor Receptor Monoclonal Antibody (134-mG2a-f) Exerts Antitumor Activities in Mouse Xenograft Models of Canine Osteosarcoma.

Nanamiya R, Takei J, Ohishi T, Asano T, Tanaka T, Sano M, Nakamura T, Yanaka M, Handa S, Tateyama N, Harigae Y, Saito M, Suzuki H, Kawada M, Kaneko MK, Kato Y.

Monoclon Antib Immunodiagn Immunother., 41, 1-7, 2022.

5. Defucosylated Mouse-Dog Chimeric Anti-EGFR Antibody Exerts Antitumor Activities in Mouse Xenograft Models of Canine Tumors.

Li G, Ohishi T (Corresponding author), Kaneko MK, Takei J, Mizuno T, Kawada M, Saito M, Suzuki H, Kato Y.

Cells, 10, 3599, 2021.

6. Defucosylated Anti-Epidermal Growth Factor Receptor Monoclonal Antibody 134-mG2a-f Exerts Antitumor Activities in Mouse Xenograft Models of Dog Epidermal Growth Factor Receptor-Overexpressed Cells.

Tateyama N, Nanamiya R, Ohishi T (Co-first author), Takei J, Nakamura T, Yanaka M, Hosono H, Saito M, Asano T, Tanaka T, Sano M, Kawada M, Kaneko MK, Kato Y.

Monoclon Antib Immunodiagn Immunother., 40, 177-183, 2021.

7. Anti EGFR monoclonal antibody 134 mG2a exerts antitumor effects in mouse xenograft

models of oral squamous cell carcinoma.

Hosono H, Takei J, Ohishi T (Co-first author), Sano M, Asano T, Sayama Y, Nakamura T, Yanaka M, Kawada M, Harada H, Kaneko MK, Kato Y.

Int J Mol Med., 46, 1443-1452, 2020.

8. Anti-Metastatic Activity of an Anti-EGFR Monoclonal Antibody against Metastatic Colorectal Cancer with KRAS p.G13D Mutation.

Ohishi T (Corresponding author), Kato Y, Kaneko MK, Ohba SI, Inoue H, Harakawa A, Kawada M.

Int J Mol Sci., 21, 6037, 2020.