

目的

肺腺癌の化学療法は ALK や EGFR などの遺伝子変異に対する分子標的薬治療が広く行われているが、これらの遺伝子変異のある肺腺癌患者は全体の約 35% である。これらの分子標的薬は遺伝子変異のない肺腺癌患者には奏効性がないため、多くの患者はプラチナ製剤を基本とした多剤併用療法が主に用いられている。プラチナ製剤は遺伝子変異の有無に関わらず高い治療効果があるため、一次、二次治療薬として用いられることが多い。しかし、副作用が強く、奏効率も 20% 程度であり、事前に治療効果が期待できないことが予測できれば、非プラチナ製剤を用いた治療に変更することも可能となる。

本研究では、プラチナ製剤感受性予測マーカーの獲得を目指し、プラチナ製剤を用いた治療を受け、その治療効果判定が既知である肺腺癌患者の治療前血清を一次抗体とした二次元免疫ブロット法を行い、自己抗体利用したプラチナ製剤治療感受性予測マーカー探索を網羅的に行った。

方法

材料：プラチナ製剤を基本とした多剤併用療法を行い、RECIST による治療の効果判定が既知である肺腺癌患者の治療前に採血した血清（治療前血清）と、同じく治療前に採取した腫瘍の生検組織（治療前腫瘍組織）を用いた。

二次元免疫ブロット法：シスプラチン耐性にした肺腺癌細胞株（シスプラチン耐性株）からタンパク質を抽出し、二次元電気泳動法にて展開した。PVDF 膜に転写後、化学療法で奏効群または進行群と判断されたそれぞれ 3 例の治療前混合血清を一次抗体に用いた免疫ブロット法を行い、それぞれで自己抗体が認識する抗原タンパク質を検出した。その後、CBB 染色したゲルから自己抗体が認識した抗原スポットを切り出し、トリプシンを用いたゲル内消化後、質量分析装置にて抗原タンパク質を同定した。

Dot Blot 解析：シスプラチン耐性株から抽出したタンパク質を二次元電気泳動法にて展開後、目的とする Galectin-3 (Gal-3) のスポットをゲルから切り出し、Electro Elution 法にてタンパク質を抽出した。抽出したタンパク質を抗原とした Dot Blot 法により、22 症例の治療前血清中の自己抗体量を測定した。その後、シグナル解析ソフトウェアを用いて進行群を判別群、奏効/安定群を対照群とした ROC 解析を行った。

免疫染色法：10%ホルマリン固定パラフィン包埋された 40 例の治療前腫瘍生検組織を対象に、一次抗体に抗 Gal-3 抗体を用いて免疫染色を行った。腫瘍細胞の細胞質に明らかな発現が認められたものを陽性、認められなかったものを陰性と評価した。

結果

治療前血清を一次抗体とした二次元免疫ブロット法（図 1）により自己抗体が認識する抗原タンパク質は進行群で 51 種、奏効群で 12 種が同定された。今回、進行群のみで検出され、薬剤感受性との関連性が多く報告されている Gal-3 に着目し、さらに検討を進めた。

22 例の肺腺癌患者の治療前血清中の抗 Gal-3 自己抗体量を Dot Blot 解析により測定した結果、奏効/安定群に比して進行群で有意に抗 Gal-3 自己抗体量が増加していた ($p =$

0.0084, 図 2)。Receiver operating characteristic curve (ROC)解析では進行群を判別群、奏効/安定群を対照群とした場合、The area under the curve (AUC)が 0.84 であり、最適 Cut off 値を 1,086 と設定した時、感度が 67%、特異度が 92%で両者を鑑別可能であった。

また、肺腺癌患者の治療前腫瘍組織を用いた免疫染色の結果、Gal-3 の発現は進行群では 15 例中 10 例 (66.7%)、安定群では 14 例中 7 例 (50.0%)、奏効群では 11 例 2 例 (18.2%) と徐々に陽性率が低下していた (図 3)。また、Gal-3 タンパク質の陽性率は奏効/安定群に比して進行群で高い傾向を示した ($p = 0.0601$)。

考察

Gal-3 タンパク質の発現は腫瘍細胞においては、プラチナ製剤による治療で奏効/安定群に比して非奏効群 (進行群) で高い陽性率を示し、さらに進行群で血中自己抗体量が高いことと、過去の報告から肺腺癌組織においてもプラチナ製剤耐性に関与していることが示唆される。さらに、肺腺癌患者の抗 Gal-3 自己抗体量を測定することで、プラチナ製剤の治療感受性予測が治療前の血清で容易に行える可能性を今回初めて明らかにした。

以上の結果から、肺腺癌患者の治療前血清中の抗 Gal-3 自己抗体検査はプラチナ製剤による治療後に進行する患者を事前に鑑別できる可能性が示唆され、このような患者は非プラチナ製剤を用いた治療に変更するなどの治療方針の変更に役立つ可能性がある。