

Humanizált ErbB célpontú antitest kezelések hatása ErbB2 pozitív emlőtumor sejtvonalak proliferációjára

Tóth Gábor, Roszik János, Szöllősi János, Vereb György

Debreceni Egyetem OEC Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet, Debrecen

A trastuzumab olyan tumor terápiában alkalmazott ErbB2 célpontú humanizált monoklonális antitest, mely az ErbB2 leszabályozását fokozza, míg a pertuzumab az ErbB2 dimerizációs hurkához kötődve annak heterodimerizációját gátolja. Munkacsoportunk korábbi kísérletei szerint a trastuzumabra in vitro rezisztens JIMT1 emlőtumor sejteket immunhiányos egerekbe oltva, azokban a terápiás antitest Fc részén keresztül kifejtett ADCC képes a tumornövekedést megakadályozni. Az ADCC-közvetített hatások in vivo elkülönítésére tehát szükséges F(ab)2 kezeléseket végezni, melyhez az F(ab)2 hatások in vitro jellemzése elengedhetetlen. Mások megfigyelései szerint több EGFR (ErbB1) ellenes monoklonális antitest kombinációja in vitro fokozhatja a proliferációgátlás hatékonyságát, azonban e megfigyelés általánosíthatósága még nem ismert. Mindezek alapján in vivo kombinációs kezelések megalapozásához a trastuzumab és a pertuzumab, valamint az EGFR ellenes cetuximab, és F(ab)2 fragmentumaik három - ErbB2-t és EGFR-et kifejező - emlőtumor vonalra in vitro kifejtett proliferációs hatását vizsgálatuk. A proliferációt MTT alapú teszttel, az ErbB expressziót áramlási citometriával, az ErbB és Akt foszforilációt Western bloton mértük. Egyedi kezelések esetén az irodalomból ismert eredményeket kaptuk: a BT474 kifejezetten, az SKBR3 kevésbé, míg a JIMT1 egyáltalán nem volt érzékeny trastuzumabra. A pertuzumab hasonló arányban hatott a három sejt proliferációjára, de a trastuzumabnál kevésbé. Egyik sejt sem volt érzékeny cetuximabra. Az F(ab)2 fragmentumok in vitro az egész antitesthez hasonló proliferáció gátlást okoztak. A kombinációs kezelések során jelentősebb potenciózó hatást egyik sejtvonal esetén sem tapasztaltunk. A BT474 esetében a trastuzumab és a pertuzumab additív hatást fejtett ki, míg SKBR3 esetén kifejezett antagonizmust észleltünk köztük, mely leginkább kis dózisú pertuzumab esetén nyilvánult meg. Az ErbB foszforilációs mintázatokból kiemelhető megfigyelés, hogy a pertuzumab F(ab)2 jobban csökkenti az ErbB2 expresszióját, mint az egész antitest. Ezzel párhuzamosan az EGFR, ErbB2 és Akt foszforilációt is hatékonyabban csökkentette a pertuzumab F(ab)2. Az Akt foszforiláció csökkenését fokozott apoptózis kísérte. Mikroszkópos fluoreszcencia rezonancia energiatranszfer mérésekből azt is megállapítottuk, hogy a F(ab)2 fragmentum az egész antitestnél is hatékonyabban csökkenti az EGFR-ErbB2 molekuláris interakciót, tehát feltehetőleg kedvezőbb sztérikus feltételekkel képes gátolni az EGFR-ErbB2 heterodimerizációt. Kísérleteink alapján megállapítható, hogy (i) az általunk készített F(ab)2 fragmentumok in vivo rendszerben az in vitro hatás emulációjára alkalmasak; (ii) a többféle antitesttel együttesen létrehozható hiperkeresztkötés és következményes fokozott proliferáció gátlás nem általánosítható, és (iii) pertuzumab esetén a F(ab)2 sztérikus okok miatt jobban megbontja az EGFR-ErbB2 heterodimert, mint az egész antitest, azonban ennek alacsony EGFR expressziónál nincs kifejezett in vitro proliferációs következménye.

Kulcsszavak: EGFR, ErbB2, antitest, kombináció, F(ab)2