

Pertuzumab, trastuzumab, cetuximab és kombinációik alkalmazhatósága erbb2 pozitív emlőtumorok kezelésére: in vitro hatások sejtvonalakon

Tóth Gábor, Szöllősi János, Vereb György

Debreceni Egyetem OEC Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

A pertuzumab olyan tumor terápiában alkalmazott ErbB2 célpontú humanizált monoklonális antitest, mely az ErbB2 dimerizációs hurkához kötődve annak heterodimerizációját gátolja, míg a trastuzumab az ErbB2 leszabályozását fokozza. 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 elkövetésére 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 proliferáció-gátlás hatékonyságát, azonban e megfigyelés általánosíthatósága még nem ismert. Mindezek alapján in vivo kombinációs kezeléseket megalkotásához 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 hatását vizsgáltuk. A proliferációt MTT alapú teszttel, az ErbB expressziót áramlási citometriával, az ErbB és Akt foszforilációt Western blotton mértük. Az EGFR-ErbB heterodimerizációt mikroszkópos fluoreszcencia rezonancia energiatranszfer mérésekkel jellemeztük. Egyedi kezeléseket 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 kezeléseket során jelentősebb potencirozó hatást egyik sejtvonal esetén sem tapasztaltunk. A BT474 esetében a trastuzumab és a pertuzumab additív hatást fejtett ki, míg SKBR3 esetén kifejezett antagonizmust észleltünk közöttük, mely leginkább kis dózisu 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. Ezzel párhuzamosan a mikroszkópos FRET mérés-

sek alapján azt is látható volt, hogy a F(ab)2 fragmentum az egész antitestnél is hatékonyabban csökkenti az EGFR-ErbB2 molekuláris interakciót, tehát a csökkenő Akt foszforiláció és növekedett apoptózis hátterében feltehetőleg a kedvezőbb sztérikus feltételek miatt hatékonyabb EGFR-ErbB2 heterodimerizáció-gátlás állhat. 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 expressziójánál nincs kifejezett in vitro proliferációs következménye.

