

学位論文題名

Mesothelin and CA125 Expression in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma

(膵管癌における Mesothelin と CA125 発現の検討)

学位論文内容の要旨

【背景と目的】膵癌は予後不良の癌であり、治癒切除を実施した場合にのみ長期生存する可能性があるが、いまだ手術可能な症例においても5年生存率は20%に満たない。非治癒切除症例および切除不能症例を含めると5年生存率は0.4-4%である。膵癌に対して Gemcitabine や 5-FU をはじめとする化学療法は生存期間を延長しており、さらに最近では癌標的治療として Epidermal growth factor receptor や vascular endothelial growth factor に対する分子標的学治療の有効性が示されている。しかしいまだ十分な治療効果を認めているとはいえ、今後新たな治療法が必要な疾患の一つである。膵癌治療の問題点は症状に乏しく早期発見が難しいということと、決定的な治療法がいまだ確立されていないこの2点があげられる。そこで我々は Mesothelin というタンパク質に注目している。Mesothelin は 40kDa の細胞膜糖蛋白であり、正常の胸膜・腹膜・心膜の中皮細胞に存在するだけでなく、悪性中皮腫・卵巣癌・膵癌を含むいくつかの悪性腫瘍においても高頻度に発現を認めていることが知られている。Mesothelin の生物学的機能はいまだよく分かっていない。しかしながら卵巣癌において mesothelin 発現は生物学的悪性度を増加させ、CA125/MUC16 と高い親和性を有し腹膜播種に関係があるとの報告もあることから腫瘍悪性度に関して何らかの関係が示唆される。実際、治療においても mesothelin をターゲットとした分子標的学的治療およびワクチン治療が Phase I を実施および終了しており、現在 Phase II が進行中で今後報告が期待される。膵癌に関しては現在のところ癌部にのみその発現を認め正常の膵組織には発現を認めないという報告は認めるものの、病理学的因子と mesothelin 発現との関係を報告したものはなく、今回我々は通常型膵管癌における mesothelin および CA125/MUC16 発現と病理学的因子の関係および再発形式との相関について検討を実施した。

【対象と方法】本実験は北海道大学病院高度先進医療センター自主臨床研究事務局により承認された課題名“消化器癌等における Mesothelin および CA125 発現の検討”臨床研究番号：自010-0047に基づき行われた。

2000年から2006年までに当院および札幌厚生病院にて行われた通常型膵管癌肉眼的治癒切除66例の切除検体を用いて検討を実施した。まずそれぞれの症例に対して UICC の TNM classification に基づき病理学的評価を行い、代表的な切片に対して Mesothelin 抗体(clone 5B2 diluted 1:50; Novocastra)、CA125 抗体(clone M11 diluted 1:50; Dako)を用いて免疫組織化学染色法を実施した。臨床経過を知らない3人の病理医により200倍の視野下で腫瘍細胞の染色率(%), 染色強度(0,1+,2+)を評価し、腫瘍細胞の Mesothelin 陽性率 50%以上もしくは染色性 2+以上を

Mesothelin 過剰発現（以下 M 群）、腫瘍細胞の CA125 陽性率 50%以上もしくは染色性 2+以上を CA125 過剰発現（以下 C 群）と定義した。この定義に基づき臨床病理学的診断および再発、予後との関連を検討した。

【結果】 Mesothelin は 57 例(86.4%)に発現し、M 群は 35 例(53.2%)であった。CA125 は 61 例(92.4%)に発現し、C 群は 53 例(80.3%)であった。病理学的検討において M 群は非 M 群と比較して分化度が低く($p=0.049$)、脈管浸潤を認めた($p=0.0006$)。C 群は非 C 群と比較して再発を多く認めた($p=0.015$)。M 群かつ C 群(以下 MC 群: 33 例)は非 MC 群と比較して分化度が低く($p=0.044$)、脈管浸潤を認めた($p=0.001$)。MC 群は再発に関して傾向は認めるものの有意差は認めなかった($p=0.060$)。Mesothelin 発現と CA125 発現に関して M 群かつ C 群は 33 例、M 群かつ非 C 群は 2 例存在し、非 M 群かつ C 群は 20 例、非 M 群かつ非 C 群は 11 例存在し、その発現に正の相関関係を認めた($p=0.0041$)。予後に関しては M 群および C 群はそれぞれ非過剰発現群に比べ有意に予後不良であったが (M 群: $p=0.012$; median OS 19.8 months, C 群: $p=0.030$; median OS 20.9 months)、MC 群が最も予後不良であった (MC 群: $p=0.0062$; median OS 19.0 months)。

【考察】 今回の検討での重要点としてまず膵管癌において Mesothelin 発現が腫瘍分化度、脈管浸潤に関連を認めたということである。これは近年の *in vitro* や *in vivo* での Mesothelin 発現が proliferation や migration に関与するという報告などを臨床病理学的に裏付けている。

次に膵管癌において Mesothelin と CA125 が共発現するということである。Mesothelin 発現と CA125 発現との間に正の相関を認め、さらに Mesothelin と CA125 の共発現を認めた群は最も予後不良であった。Mesothelin 発現群もしくは CA125 発現群のみでも予後不良であるが共発現を認めた群がもっとも予後不良であったことから、共発現することにより腫瘍の増殖能や転移能が高まり予後不良になることが予想される。Mesothelin は卵巣癌において CA125 と高い親和性が示されており腹膜播種に関係があるとの報告もあることから、Mesothelin 自体をターゲットとした分子標的治療のみならず Mesothelin と CA125 の結合を阻害することで癌の転移や悪性度の増加を阻止することができる可能性がある。

【結語】今回我々は通常型膵管癌を用いて初めて Mesothelin 発現が腫瘍悪性度に関係があることを示し、Mesothelin と CA125 の共発現を示した。共発現群は悪性度が高く予後不良であることから、Mesothelin と CA125 を調べることにより膵管癌の生物学的悪性度を予測できる可能性があり、今後分子標的治療の候補としてなりうる可能性が示唆された。

学位論文審査の要旨

主査	教授	田中伸哉
副査	准教授	神山俊哉
副査	教授	武富紹信
副査	教授	松野吉宏

学位論文題名

Mesothelin and CA125 Expression in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma

(膵管癌における Mesothelin と CA125 発現の検討)

膵癌は予後不良の癌であり今後新たな治療法が必要な疾患の一つである。膵癌治療の問題点は症状に乏しく早期発見が難しいということと、決定的な治療法がいまだ確立されていないこの2点あげられる。そこで我々は Mesothelin というタンパク質に注目している。Mesothelin の生物学的機能はいまだよく分かっていないが mesothelin 発現は生物学的悪性度を増加させ CA125/MUC16 と高い親和性を有し腹膜播種に関係があるとの報告もあることから腫瘍悪性度に関して何らかの関係が示唆されている。今回我々は通常型膵管癌における mesothelin および CA125/MUC16 発現と病理学的因子の関係および再発形式との相関について通常型膵管癌 66 例を対象として検討を実施した。病理学的検討において Mesothelin 過剰発現群 (以下 M 群) は非 M 群と比較して分化度が低く脈管浸潤を認めた。CA125 過剰発現群 (以下 C 群) は非 C 群と比較して再発を多く認めた。M 群かつ C 群 (以下 MC 群) は非 MC 群と比較して分化度が低く脈管浸潤を認めた。Mesothelin 発現と CA125 発現に関してその発現に正の相関関係を認めた。予後に関しては M 群および C 群はそれぞれ非過剰発現群に比べ有意に予後不良であったが MC 群が最も予後不良であった。今回の検討での重要点としてまず膵管癌において Mesothelin 発現が腫瘍分化度、脈管浸潤に関連を認めたということと Mesothelin と CA125 が共発現するということである。Mesothelin 発現と CA125 発現との間に正の相関を認め、さらに Mesothelin と CA125 の共発現を認めた群は最も予後不良であった。Mesothelin 発現群もしくは CA125 発現群のみでも予後不良であるが共発現を認めた群がもっとも予後不良であったことから共発現することにより腫瘍の増殖能や転移能が高まり予後不良になることが予想される。Mesothelin 自体をターゲットとした分子標的治療のみならず Mesothelin と CA125 の結合を阻害することで癌の転移や悪性度の増加を阻止することができる可能性がある。

上記発表に対して副査の松野教授から Mesothelin 発現は腫瘍の本体と先進部と比較した場合違

いがあるか、また今後非切除症例に対してどのように今回の結果を生かすことができるかという質問があり、Mesothelin 発現は先進部にその発現を多く認め、また先進部の方が膜発現を多く認めることが分かっていることが説明された。また非切除症例に対しては細胞診での染色が可能であることも実験済みであり腹水があれば腹水細胞診を実施して Mesothelin・CA125 の発現の有無により抗 Mesothelin 治療を実施することや腫瘍そのものの悪性度を検討可能であると答えた。次に副査の武富教授から Mesothelin の前駆物質から Mesothelin が分れる機序がわかっているのかまた分れる前と分れた後では function が異なるかという質問があった。それに対して Mesothelin の前駆物質から切断される部位は判明しているがその前駆物質と Mesothelin との biological function の違いを調べたものはないが、存在している部位が前駆物質は細胞質で Mesothelin 自体は膜蛋白であり、それを踏まえて胃癌の検討を Mesothelin の膜発現と細胞質発現で実施した結果、膜発現が極めて予後不良であることが判明した。その結果現在 in vitro で前駆物質を過剰発現した細胞株と Mesothelin を過剰発現した細胞株を作製し、その function の違いを検討しようと試みていると答えた。主査である田中教授からは Mesothelin と EMT の関係はいわれているかどうかとの質問があり、それに対して最近 Mesothelin と EMT の関係を示す論文が Publish されていることを説明した。最後に副査の神山准教授からなぜ当科の肺癌の検討では Mesothelin 発現が 83%に認められたのかという質問があり、Mesothelin 発現率が少し低くなっていたのは可能性としてはブロック切片自体が悪く抗原としての働きが無くなってしまったか、もしくはいままでの論文ではこのように 66 例のような数多くの検討を実施していなかったので実際は 90%前後の発現率なのかもしれないと返答した。

この論文は、英文誌 Pancreas で高く評価され、今後の Mesothelin 研究の臨床応用のための基礎データとして期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。