

## 論 文 要 旨

### Mesothelin expression correlates with prolonged patient survival in gastric cancer

Mesothelin 発現は胃癌患者の生存延長に關与する

馬場 研二

#### 【序論および目的】

Mesothelin は正常中皮細胞に存在する糖蛋白であり、中皮腫や膵癌・卵巣癌等で高率に発現することが知られている。膵癌では抗 mesothelin 抗体が分子標的療法に使用されており、mesothelin と癌免疫との關連が指摘されている。

胃癌における mesothelin 発現の報告は散見されるが、その臨床病理学的な意義は不明である。今回申請者らは、胃癌における mesothelin の発現を免疫組織学的に評価し、臨床病理学的意義を検討した。

#### 【材料および方法】

1992 年から 2002 年までの間に鹿児島大学病院で治癒切除を行った胃癌症例は 212 例で、うち進行癌は 125 例、早期癌は 87 例であった。Mesothelin の発現は免疫組織学的に評価した。パラフィン固定標本で、anti-mesothelial-cell antibody を用いて Avidin-biotin complex(ABC)法による免疫染色法を施行した。染色の評価は光学顕微鏡 400 倍にて、1 スライド中 500 個の腫瘍細胞をカウントし、5%以上の発現を mesothelin 陽性群、5%未満の発現を mesothelin 陰性群とした。臨床的因子は TNM 分類に準じて行った。統計分析は、群間比較は  $\chi^2$  検定により行った。生存分析は Kaplan-Meier 法を用い、多変量解析は Cox の比例ハザードモデルを用い、 $p < 0.05$  を有意差ありとした。

#### 【結 果】

- 1) 胃癌では腫瘍細胞膜に mesothelin の発現が認められた。全 212 例中 mesothelin 陽性群は 124 例(58.5%)であり、mesothelin 陰性群は 88 例(41.5%)であった。
- 2) Mesothelin 陽性群は陰性群と比較して、深達度が深く、リンパ節転移陽性例が有意に多く認められた ( $p < 0.05$ )。
- 3) 進行癌 125 症例に限って解析すると、陽性群は 74 例(59.2%)、陰性群は 51 例(40.8%)であった。

mesothelin 陽性群は陰性群より脈管侵襲の頻度が有意に高く認められた。

4) Mesothelin 発現別の全例の生存曲線では mesothelin 陽性群が mesothelin 陰性群より予後が良い傾向にあった( $p=0.0628$ )が有意差はみられなかった。

5) 進行胃癌のみにおける mesothelin 発現別の生存曲線では mesothelin 陽性群が5年生存率 55.3%であり、mesothelin 陰性群(45.7%)より有意に予後良好であった ( $p=0.0407$ )。多変量解析では、年齢、リンパ節転移とともに、mesothelin 発現は進行胃癌における術後生存に対する独立した予後規定因子として選択された( $p<0.0443$ )。

#### 【結論及び考察】

本研究では胃癌における mesothelin の発現を免疫組織学的に調べ、臨床病理学的因子との関連について検討した。mesothelin 発現は胃癌の進行とともに発現を認め、特に進行胃癌においては mesothelin 陽性群が陰性群より予後良好であり、mesothelin 発現が予後予測因子となりうることを示唆された。これまでの報告では、悪性中皮腫や卵巣癌において高度 mesothelin 発現群は無発現および弱発現群と比較して予後良好と報告されている。mesothelin 発現腫瘍には、血中 mesothelin 特有抗体の関与が示唆されており、卵巣癌や悪性中皮腫患者の mesothelin 発現と血中 mesothelin 特有免疫グロブリンとの関連を調べた結果、mesothelin 発現患者の約 55%に血中の mesothelin 抗体が認められたという報告もある。膵癌では抗 mesothelin 抗体 (SS1P)を用いて、mesothelin を標的とした免疫治療が治験段階である。胃癌や卵巣癌においては、自己の免疫グロブリンが SS1P と同様な働きが推察されているという報告もある。今回の研究では、mesothelin 発現群が予後良好という一見逆説的な結果であったが、これは mesothelin 発現患者の血中 mesothelin 抗体が治癒切除後の癌免疫に影響し、予後に関与したと考えられた。mesothelin は胃癌において予後規定因子だけではなく、癌治療における新しい治療標的としての有用性が示唆された。

(Journal of Surgical Oncology 2012 Feb;105(2):195-9. 掲載)

# 論文審査の要旨

報告番号	総研第 210 号	学位申請者	馬場 研二	
審査委員	主査	高尾 尊身	学位	博士 (医学)
	副査	米澤 傑	副査	黒野 祐一
	副査	橋口 照人	副査	武田 泰生

## Mesothelin expression correlates with prolonged patient survival in gastric cancer

### Mesothelin 発現は胃癌患者の生存延長に関与する

Mesothelin は正常組織では中皮及びごく一部の上皮のみに存在する糖蛋白である。悪性腫瘍では悪性中皮腫や膀胱癌・卵巣癌等で高率に発現することが知られており、消化器癌での発現もみられている。正常組織内での分布が制限されていることより、特定腫瘍の治療標的として期待されているだけでなく、卵巣癌や中皮腫では予後因子として報告されている。胃癌における Mesothelin 発現の臨床病理学的意義は不明である。今回、申請者らは、胃癌における Mesothelin の発現を免疫組織学的に評価し、予後を含めた臨床病理学的意義について検討した。

その結果、本研究で以下の知見が明らかとされた。

- 1) 胃癌では腫瘍の細胞膜に Mesothelin の発現が認められ、陽性率は 58.5% (124/212 例)であった。
- 2) Mesothelin 陽性群 (n=124)は陰性群 (n=88)と比較して、有意に深達度が深かった ( $p<0.05$ )。
- 3) 進行癌 117 症例に限って解析すると、陽性群は 72 例 (61.5%)、陰性群は 45 例 (38.5%)であった。Mesothelin 陽性群は陰性群より脈管侵襲の頻度が有意に高く認められた ( $p<0.05$ )。
- 4) Mesothelin 発現別による全例の生存曲線は、Mesothelin 陽性群が Mesothelin 陰性群より予後が良い傾向にあったが、有意差は認められなかった ( $p=0.0628$ )。
- 5) 進行胃癌で Mesothelin 発現別の生存曲線を解析すると、Mesothelin 陽性群の 5 年生存率は 55.3%であり、Mesothelin 陰性群の 45.7%に比べ、有意に予後良好であった ( $p<0.05$ )。多変量解析では、年齢、リンパ節転移とともに、Mesothelin 発現は進行胃癌の独立した予後規定因子として選択された ( $p<0.05$ )。

以上の結果より、進行胃癌で Mesothelin 発現は、抗腫瘍免疫機構を介した予後因子としての有用性が示唆された。今回の研究では、Mesothelin 発現群が予後良好という一見逆説的な結果であったが、これは Mesothelin 発現患者の血中 Mesothelin 抗体が治癒切除後の癌免疫に影響し、予後に関与したと考えられた。今後は新しい胃癌の治療標的として、Mesothelin の胃癌における働きを解明することが必要である。

本研究は胃癌における Mesothelin の発現と臨床病理学的因子との関連を調べたはじめての報告である。Mesothelin の発現は腫瘍の進展に伴い増加し、進行胃癌における独立した予後規定因子として規定された。Mesothelin は癌の免疫治療に使用されており、今後胃癌においても新たな治療につながる可能性が期待される。よって本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。

## 最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 210 号	学位申請者	馬場 研二
審査委員	主査	高尾 尊身	学位 博士 (医学)
	副査	米澤 傑	副査 黒野 祐一
	副査	橋口 照人	副査 武田 泰生

主査および副査の5名は、平成24年8月29日、学位申請者 馬場 研二君に面接し、学位申請論文の内容について説明を求めると共に、関連事項について試問を行った。具体的には、以下のような質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。

質問1) Mesothelin の正常組織での働きは何か。

(回答) Mesothelin ノックアウトマウスも異常を示さずに正常に発育し、生体組織での働きは不明とされてきたが、最近の研究では細胞接着に関与していることが報告されている。

質問2) Mesothelin 発現の制御機構の解明は進んでいるのか。

(回答) 現在のところ不明であり、今後の課題である。

質問3) Mesothelin の可溶性部分は biomarker として使用できないのか。

(回答) 現在は biomarker としては使用されていないが、血中より検出されている抗 Mesothelin 抗体は癌患者で増加することが報告されており、biomarker としても使用できる可能性があると考えられる。

質問4) Mesothelin の発現は標本中のどの部分を観察して評価したのか、局所での染色性の違いはみられたか。

(回答) Mesothelin は最深部の腫瘍最大断面の切片を染色しているが、局在による染色性の違いは認めなかった。

質問5) 染色の評価を5%未満、5~50%、50%以上の3群で分類すると結果はどうだったか。

(回答) 50%以上は全体の約15%であり、3群間の比較では予後の差は得られなかった。

質問6) Mesothelin の発現0%の症例は何例にみられたか、また0%を negative にしてもよいのではないか。

(回答) 5%未満というのはほぼ0に近い状態で、negative の88例のほぼ全例が0%という結果であった。

Contamination の除外も含め5%未満を negative とした。

質問7) 50%以上の陽性が15%ということであるが、陽性率の分布はどうであったか。

(回答) 正規分布を調べていないが、5%以上の陽性群では中等度発現 (20~40%)が多い傾向にあり、先ほど述べたように5%以下の陰性群のほとんどが発現0%であった。

質問8) T分類において、Mesothelin と深達度が相関するのはなぜか。

(回答) Mesothelin は癌が進行すると発現が増強する性質があるため、深達度と相関したと考えられる。

質問9) 進行癌で高発現しているが、原発巣と転移巣 (リンパ節)での Mesothelin の発現に差があるのか。

(回答) 今回の研究では調べていない。今後の検討課題としたい。

質問10) Mesothelin 陽性細胞に陰性細胞が混在しているが、その形態学的違いはあるのか。

(回答) 発現細胞と非発現細胞が混在していたが、多重染色を含め形態学的違いについては検討していない。

質問11) 分化型と低分化型で Mesothelin 発現に差は出していないが、他の癌ではどうか。

(回答) 卵巣癌、中皮腫、膵臓癌、肺腺癌でも胃癌と同様に組織型での発現の差はないと報告されている。

## 最終試験の結果の要旨

質問 12) TABLE I.において、pN+と pN-の数値に差異がみられる。正しい数値は何か。

(回答) 正しくは、pN+において Mesothelin positive 59 例、negative 38 例となる。N+症例に Mesothelin 陽性が多い傾向にあるが、有意差は認めなかった。

質問 13) TABLE I.では「T1+T2 群」と「T3+T4 群」にわけて Mesothelin の発現を比較しているが、進行胃癌のみの TABLE II.では同様の検討をしていないのはなぜか。

(回答) 進行胃癌において「T1+T2 群」と「T3+T4 群」に分けて検討すると、「T1+T2 群」の Mesothelin positive 31 例、negative 27 例、一方「T3+T4 群」の Mesothelin positive は 41 例、negative 18 例 ( $p=0.07$ )と有意な差は得られなかったため記載しなかった。

質問 14) T-cell immune system (細胞性免疫)と記述した根拠は何か。

(回答) Mesothelin の免疫反応は細胞性・液性のいずれも相互的に作用していることが報告されている。膀胱癌においては Mesothelin に特異的な CTL の誘導が報告され、細胞性免疫との関連が示唆されている。胃癌においても同様に考えられるため、そのような記載をした。

質問 15) 静脈侵襲陽性症例で予後が良いのはなぜか。

(回答) 卵巣癌や中皮腫においても同様の結果であり、今回の結果と矛盾しない。予後に関与して Mesothelin 発現のメカニズムは不明な点が多く今後の研究課題だが、卵巣癌では Mesothelin 発現患者の約 55%に血中の Mesothelin 抗体が認められたという報告があり、治癒切除後の患者の血中に残存している抗 Mesothelin 抗体が残存腫瘍に対する腫瘍免疫に働き、引いては患者の生存延長につながったのではないかと推察している。

質問 16) 抗 Mesothelin 抗体が癌に高発現していると、免疫染色に影響しないか。

(回答) 使用する Mesothelin 抗体の認識部位の違いにもよると思われるが、免疫染色の染色性と抗 Mesothelin 抗体の影響は不明である。

質問 17) 抗 Mesothelin 抗体と SS1P は別なものではないか。

(回答) 抗 Mesothelin 抗体は自己の免疫グロブリンであるが、SS1P は細菌毒素を用いて作られた immunotoxin であり、全く別物である。しかし、Mesothelin が抗体に対する標的であるという点は共通していると考えられる。

質問 18) 抗 Mesothelin 抗体はクリーブされた可溶性部分を認識するのか、Mesothelin 全体を認識するのか。

(回答) 卵巣癌や中皮腫で発見された抗 Mesothelin 抗体は血中の可溶性部分を認識しているが、SS1P は腫瘍細胞に発現する Mesothelin 全体を認識している。

質問 19) 抗 Mesothelin 抗体陽性は年齢等、発現に特徴があるのか。

(回答) 今回の研究では胃癌における抗 Mesothelin 抗体の発現に関する検討はできていない。卵巣癌・中皮腫と抗 Mesothelin 抗体の発現を検討した論文で、年齢・性別・人種において有意な違いは見られなかったと報告されている。

質問 20) 今回の抗体を選んだ理由は何か。抗体別での発現の違いはあるのか。

(回答) これまでの発表された他の癌腫の文献を参考に抗体を選択した。異なる抗 Mesothelin 抗体での検討は行っていない。

質問 21) 論文中食道癌では less positivity とあるが、どのような意味か。

(回答) 食道癌においては正確には Mesothelin 発現と予後との関係に有意差がない結果であった。

以上の結果から、5名の審査委員は申請者が大学院博士課程修了者としての学力・識見を有しているものと認め、博士(医学)の学位を与えるに足る資格を有するものと認定した。