HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	抗mesothelin抗体Amatuximabはmesothelin高発現膵癌細胞株によるマウス腹膜播種モデルにおいてgemcitabineの抗腫瘍効果を増強する［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	水上, 達三
Description	配架番号：2483
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第13469号
Issue Date	2019-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/74750
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Tatsuzo_Mizukami_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称　博士（医　学）　氏 名　水上　達三

学 位 論 文 題 名

抗 mesothelin 抗体 Amatuximab は mesothelin 高発現膵癌細胞株によるマウス腹膜播種モデルにおいて gemcitabine の抗腫瘍効果を増強する
（The anti-mesothelin monoclonal antibody amatuximab enhances the anti-tumor effect of gemcitabine against mesothelin-high expressing pancreatic cancer cells in a peritoneal metastasis mouse model）

【背景と目的】膵癌は予後不良の癌であり、治癒切除症例においてもその 5 年生存率は 20%以下と極めて低く、肝転移・腹膜播種が重要な予後決定因子として報告されている。手術時には根治術であるかに見えても、画像・肉眼所見で検出されない微小な病巣が既に体内に播種されていることが示唆され、手術予後の改善のためには、診断時に検出できない、あるいは術中・術後に残存する微小な癌細胞の制御が必須である。現在のところ治癒切除症例に対して、一般的に Gemcitabine（以下 GEM）あるいは S-1 を用いた術後補助化学療法が施行されているが、予後は 23～46 か月程度であり、より有効な補助療法の開発が強く望まれる。

Mesothelin は、ヒト胸膜、腹膜、心膜などの正常中皮細胞に発現する 40kDa の糖タンパク質である。悪性腫瘍においては悪性中皮腫、膵癌、卵巣癌などに高頻度に発現を認めており、そのリガンドである CA125（MUC-16）との共発現が悪性度の増大および予後不良に関与しているとの報告がある。各種消化器癌における Mesothelin 過剰発現が予後不良因子であるとの報告がなされ、また分子生物学的機構も徐々に解明されてきており、近年分子標的治療のターゲットとして注目されている。

Amatuximab はマウス抗体である可変部をヒト抗体の定常部に導入した抗 Mesothelin キメラ抗体で、その効用としては ADCC 活性および Mesothelin - CA125 結合阻害作用を持つとされているが、切除不能進行膵癌患者を対象とした臨床試験では第 II 相試験で打ち切りとなった。ただ、対象が切除不能進行膵癌患者であったため、乏血性腫瘍である膵癌での抗体 delivery の問題や binding site barrier という腫瘍表面に抗体がトラップされる現象などから、抗体が腫瘍に十分に到達されず、効果が発揮されなかったなどの懸念が残っている。

そこで、抗体が腫瘍に十分に到達されうる状況下として術後補助療法を想定し、Amatuximab の膵癌腹膜播種マウスモデルにおける有用性を検討することを目的とする。

【材料と方法】ウェスタンブロッティング法、FACS 分析および免疫細胞染色を用いて AsPC-1、BxPC-3、Panc-1 および MIA Paca-2 の中から Mesothelin 高発現株として AsPC-1 を選定した。

In vivo での腫瘍細胞の増殖をモニターするためのモデル系として、Gaussia ルシフェラーゼ（Gluc）を分泌する膵癌細胞である AsPC-1-Gluc 細胞を作成した。尾静脈からの採血を行なうことで Gluc 活性を測定し、経過中の腹腔内の腫瘍細胞量をモニタリングした。
術後補助療法を想定した Amatuximab の膵癌腹膜播種マウスモデルにおける有用性の検討をするために、day 0 より AsPC-1 Gluc 細胞をヌードマウスの腹腔内に投与すると同時に、day 0 から 1 日おきに day 20 まで PBS、Amatuximab または Control IgG を腹腔内投与し、day 22 に犠牲死させて腹腔内を観察した。

また、Amatuximab および GEM の相乗効果の評価するために、day 0 より AsPC-1 Gluc 細胞をヌードマウスの腹腔内に投与すると同時に、day 0 から 1 日おきに day 20 まで PBS および Amatuximab を腹腔内投与した。また、day 10、17、24 に両群に GEM を腹腔内投与し、day29 に犠牲死させて腹腔内を観察した。

【結果】1）膵癌腹膜播種マウスモデルにおける術後補助療法下での Amatuximab の有用性の検討 : 血漿 Gluc 活性に関してはいずれの群においても統計的に有意な差は見られなかったが、肉眼的所見に関しては Amatuximab 群においてのみ明らかな腹膜播種結節の減少とシャーベット状の癌細胞集塊(以下 sherbet-like aggregates)が認められた。

2）膵癌腹膜播種マウスモデルにおける術後補助療法下での Amatuximab および GEM の相乗効果の検討 : 血漿 Gluc 活性に関して、GEM 単独群と比較し、GEM + Amatuximab 群では有意に低かった。また、肉眼的にも GEM + Amatuximab 群において明らかな腹膜播種結節の減少を認めた。

【考察】本研究において、Amatuximab が、Mesothelin 高発現株である AsPC-1 Gluc 細胞を用いた膵癌腹膜播種マウスモデルにおける術後補助療法下で腹膜播種形成を抑制し、GEM の抗腫瘍効果を増強することが示された。

Amatuximab が腹膜播種形成の過程で、sherbet-like aggregates を形成し腫瘍体積を減少させることによって GEM の癌細胞へのアクセスを良好にすることで抗腫瘍効果が増強したことが示唆される。今後はこれらの薬剤間の相乗作用の正確なメカニズムを明らかにする必要があると思われる。

【結論】Amatuximab を用いた術後補助療法は、Mesothelin 高発現の膵癌による腹膜播種を防止するための有用な戦略であり得ることが示唆された。