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_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　　博士（医　学）　　氏 名　水上　達三

	主査	教授　松野　吉宏
審査担当者	副査	教授　平野　聡
	副査	教授　園下　将大
	副査	教授　白土　博樹

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）

学位申請者　水上達三は、膵癌術後補助療法を想定したmesothelin（以下MSLN）高発現膵癌腹膜播種マウスモデルを用いて、抗MSLN抗体Amatuximab（以下AMT）投与によりgemcitabine（以下GEM）の抗腫瘍効果が増強することを示した。

まず､MSLN発現の高い膵癌細胞株AsPc-1に分泌型ルシフェラーゼであるGluc遺伝子を導入し、分泌されるGlucの発光活性により腫瘍量の客観的評価可能な膵癌腹膜播種マウスモデルを作製した。このモデルへのAMT腹腔内投与実験では、血漿Gluc活性には有意差は見られないが、投与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(sherbet-like aggregates、以下SLA)が認められた。次にAMTおよびGEMの相乗効果の検討では、GEM単独腹腔内投与群と比較し、GEM + AMT群では血漿Gluc活性が有意に低く、肉眼的にも明らかな腹膜播種結節の減少を認め、SLAがほぼ消滅した。この抗腫瘍効果の増強は、AMTのMSLN-CA125結合阻害作用により腫瘍塊形成が抑制されてSLAが形成され、その結果GEMの腫瘍細胞へのアクセスが良好になったためと推論した。

審査にあたり本研究における意義及び結果解釈、今後の臨床応用に向けた課題・発展性について質疑応答がなされた。まず、副査の園下教授から①AMT投与により生じたSLAのviabilityの有無、②GEMにAMTを併用した群においてGluc活性の減少は認めるものの、マウスのsurvivalは延長するのかとの質問があった。申請者は①SLAのviabilityを直接評価していないが、腫瘍量を反映するGluc活性は各群間で差がない一方でAMT群のみでSLA形成が認められ、かつ播種結節体積が有意に減少していることから、播種結節体積の減少分がSLAに形を変えて生存していると考えられること、②day29で犠牲死させためsurvivalに関しての評価はできていないが、播種巣の腫瘍塊の大きさ自体は縮小されているので、survivalも延長することが予想されることを回答した。また園下教授からは、AMT投与量決定の予備実験の際、本来は用いるcontrolのPBS（溶媒）量も各群間で調節すべきであったこと、GEM+AMT投与実験において本来はIg対照群のデータを提示すべきであることの指摘があった。

次に副査の平野教授から①GEM の腹腔内投与の有効性およびそのメカニズムに関する先行研究の有無②当モデルにおける AMT の作用機序として ADCC 活性および MSLN-CA125 結合阻害作用のどちらが関与したかとの質問があった。申請者は①膵癌腹膜播種患者に対する GEM の腹腔内投与の有効性は報告されているが、そのメカニズムの検証や考察を行った先行研究は見当たらないこと、②播種結節体積が減少するのみで Gluc 活性の低下は認めないこと、およびヌードマウスでの実験であるため ADCC 活性よりも MSLN-CA125 結合阻害作用が主と考えられることを回答した。また平野教授から、本研究のモデルは進行がん例の播種病巣というよりは、術中操作などで局所のみに播種された可能性のある癌細胞をターゲットにした術後補助療法のモデルと解釈すべきではないかとの指摘があった。次に主査の松野教授から①SLA の viability に関する直接的証明法②AMT の MSLN-CA125 結合阻害作用点③実臨床で使用される場合 MSLN 発現の cut-off 値設定に関しての質問があった。申請者は①免疫組織化学染色で Ki-67 などの発現を評価すること、②中皮細胞および腫瘍細胞の両者に CA125 が存在することから、中皮細胞と腫瘍細胞間の結合あるいは腫瘍細胞間同士の結合の両方に作用する可能性があり、いずれも今後検証する必要があること、③切除膵癌での MSLN/CA125 の発現と予後に関する先行研究なども参考に、今後設定する必要があることを回答した。最後に別室で審査を行った副査の白土教授から①SLA の viability、②SLA における CA125 の存在に関して質問があった。申請者は①前述の理由で viability はあると考えていること、②AsPC-1 で CA125 の発現が認められるという data はあるので、SLA おける発現を今後確認する必要があることを回答した。

この研究の詳細は Oncotarget 誌に掲載され、今後の臨床応用への発展も期待される。研究発表の内容及びその後の質疑応答を通して、申請者は当該領域に関する見識と研究遂行能力を有すると判断し、審査員一同はこれらを総合的に評価し、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充分な資格を有するものと判定した。