

平成 21 年 3 月 31 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2007-2008

課題番号：19790983

研究課題名 (和文) 胸膜中皮腫の腫瘍マーカーの検討

研究課題名 (英文) Tumor markers for patients with malignant pleural mesothelioma

研究代表者

塩見 和 (SHIOMI KAZU)

順天堂大学・医学部・助教

研究者番号：50398682

研究成果の概要：中皮腫は極めて難治性の疾患であり、その理由の一つに画像では早期診断が難しい点あげられる。今回、我々は、中皮腫細胞が分泌する血液中のタンパク質 (N-ERC/mesothelin) に注目し、これが、中皮腫の腫瘍マーカーとしてどれだけ有用か (早期診断や効果判定が十分できるか) を検討した。その結果、N-ERC/mesothelin は、これまでの中皮腫の腫瘍マーカーの中で最も優れていることが示された。また、同時に実際の臨床で使用する際の注意点も明らかになった。

交付額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2007年度 | 1,700,000 | 0 | 1,700,000 |
| 2008年度 | 1,600,000 | 480,000 | 2,080,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,300,000 | 480,000 | 3,780,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・胸部外科学

キーワード：腫瘍マーカー、Mesothelin、中皮腫

1. 研究開始当初の背景

(1) 胸膜中皮腫による死亡者数は年々増加傾向にある。これまでさまざまな治療法が試みられてきたが、予後は極めて不良で、生存期間中央値は6～18ヶ月である。近年、新しい抗がん剤や分子標的治療薬が開発され、大規模な比較試験でその有効性が証明されつ

つある。また、Sugarbakerらによって、胸膜肺全摘術後に放射線と化学療法を加えた三者併用療法の安全性と有効性 (特に早期症例において、5年生存率が40%を越えたという画期的な成績) が報告され、早期発見と集学的治療への期待が高まっている。

しかし、現実には、胸膜中皮腫は、画像上、胸水や胸膜肥厚を伴う疾患 (結核性胸膜炎、

肺癌、胸壁腫瘍、胸膜プラーク、良性胸膜炎、びまん性胸膜肥厚など）との鑑別が難しいばかりでなく、胸部CT検査では存在すら指摘できない非常に狭い胸腔内を進展した後に、胸水や胸部レントゲン異常陰影（胸膜肥厚像）として発見されるため、現在の画像診断技術（CT検査、MRI検査、PET検査、その他）では早期に発見することは非常に困難である。そのため、予後の改善には、がん細胞の性質や体内での状況、進行度をより正確に把握するための腫瘍マーカーなどの早期診断技術の開発が急務である。

(2)一方、我々は、本学第2病理学講座 樋野教授（遺伝性腎がんラット（Eker rat）の腎がん過程で、現在中皮腫、卵巣癌、膵癌の腫瘍マーカーとして注目されているMesothelin遺伝子のラットホモログであるERC遺伝子を発見（1995年））らとともに、ERC/Mesothelin遺伝子に関連した研究を基礎と臨床の両面から進めてきた。ERC/Mesothelin遺伝子より作られる全長のタンパク（71kDa、GPIアンカー型膜蛋白）のN末側、31kDa タンパク（N-ERC/Mesothelin）は生理的に血中に分泌されるが、最近、我々はこのN-ERC/Mesothelinに対するELISA系（樋野教授とIBLの共同研究）を用い、アスベスト・中皮腫外来を中心に集積した患者の臨床検体を用いて中皮腫の腫瘍マーカーとしての有用性を示してきた。

(3)今後は、N-ERC/Mesothelinの臨床的有用性に関するより詳細な検討、外来での綿密なFollow-upや研究型検診による早期診断の可能性の検討、High Risk群の同定等を行う予定である。

2. 研究の目的

(1)血液中N-ERC/Mesothelinの腫瘍マーカーとしての有用性のより詳細な検討、つまり、多施設共同研究として症例数の確保、他の中皮腫腫瘍マーカーとの比較・組み合わせ（パネル作成）を行う。

(2)新しい高精度のELISA系の確立

(3)研究型検診及び順天堂アスベスト中皮腫外来でのFollow upを通して、早期診断の可能性を検討する。

(4)実地臨床で、この腫瘍マーカーを診断及びスクリーニング目的に使用する際の問題点を探る。

3. 研究の方法

(1)アスベスト・中皮腫外来及び他の共同研究施設を中心に症例の登録を行い、血液、胸水、組織を集積する。

(2)Osteopontin、CA125、ヒアルロン酸、CYFRAなどの中皮腫腫瘍マーカーとの比較・組み合わせを検討する。

(3)免疫生物研究所と共同で、高感度のELISA系を開発する。

(4)アスベスト・中皮腫外来及び研究型検診での定期的な血中N-ERC/mesothelinの測定を行う。

(5)他疾患、他の病態での血中N-ERC/mesothelinの濃度を測定する。

4. 研究成果

(1)新しいELISA系の開発と臨床的有用性
最初に開発したELISA系（7-4）と比較し、より高精度のELISA系（7-16）を免疫生物研究所とともに開発した。また、これを用いて、多数かつ臨床的に中皮腫との鑑別において重要な疾患を集積し、散布図及びROC曲線を作成し、腫瘍マーカー、N-ERC/mesothelin（N-ERC）の特徴と感度、特異度を求めた。中皮腫患者39人、ボランティア102人、胸膜プラーク患者98人、良性胸膜炎患者14人、石綿肺患者6人、アスベスト暴露83人、画像上中皮腫と鑑別が必要な疾患8人を対象とした。

結果は、N-ERCを中皮腫全体のマーカー（上皮型、肉腫型、混合型のすべてを含む）とした場合、AUC0.85、感度71.7、特異度93.31で、上皮型のマーカーとした場合は、AUC0.93、感度90.48、特異度90.44であった。以上より、N-ERCは、特に上皮型の診断に優れたマーカーであることが分かった。

(2)他のマーカーとの比較と組み合わせ

現在、中皮腫の腫瘍マーカーと考えられている5つのマーカー、N-ERC/mesothelin（N-ERC）、Osteopontin（OPN）、CYFRA21-1、CA125、Hyaluronic acid（HA）を比較した。対象集団は上記(1)と同様な集団で、散布図及びROC曲線を作成し、各腫瘍マーカーの特徴と感度・特異度を求め、比較と組み合わせを検討した。その結果、中皮腫全体の腫瘍マーカーとしては、統計学的にN-ERCとOPNが選ばれ、中皮腫の上皮型のマーカーとしては、N-ERCとCA125が選ばれた。中皮腫全体の腫瘍マーカーとしてOPNが選ばれた理由は、OPNが他

のマーカーに比べ肉腫型で高値を示す傾向にあるためと考えられた。一方、上皮型の型のマーカーとしてN-ERCとCA125が統計学的に選ばれたが、CA125に関しては、N-ERCほど特異性も高くなく、N-ERCへの上乗せ効果も軽度であることから、臨床的には、N-ERC単独で使うべきと考えられた。

*発表予定：2009年8月2日、13th World Conference on Lung Cancer, International association for the Study of Lung Cancer

(3)他疾患のN-ERC/mesothelin血中濃度に与える影響

目的とする疾患（今回は中皮腫）のみで、高値を示す夢のような血液マーカーはこれまで存在しない。よって、実地臨床で腫瘍マーカーを使用する際には、上記の鑑別疾患以外の疾患及び病態で血液中腫瘍マーカーの濃度を測定することが必要である。

今回は、この一環として、腎機能が腫瘍マーカーの血中濃度に与える影響を検討した。その理由は、2つある。一つ目は、これまでの臨床研究の過程で、N-ERC/mesothelin (N-ERC) が年齢とともに増加傾向にあること（腎機能は年齢とともに悪くなる）、また、透析患者で高値を示す症例を経験したためである。二つ目は、中皮腫の抗癌剤治療中に、腎機能障害をたびたび合併すること、また、中皮腫は画像での再発や効果判定が難しい腫瘍であるため、他の疾患に比べ、臨床判断を腫瘍マーカーに依存せざるを得ない状況にあるという理由である。

対象は、腎機能障害（GFR（糸球体濾過率）で腎機能を分類するStage分類を用いた）患者32人、透析患者22人、ボランティア102人を対象とした。腎障害グループ（透析患者＋腎機能障害患者）のN-ERCの血中濃度は、ボランティアに比べ、統計学的に有意（P）に高値を示した。また、N-ERCの血中濃度は、腎機能障害の程度（Stage）が上がるにつれて、高値になることが証明された。さらに、糖尿病の影響がないことも示唆された。以上より、中皮腫の腫瘍マーカーとしてN-ERCを使用する際には、腎機能を考慮する必要があると考えられた。

*2009年5月14日、第26回日本呼吸器外科学会総会で発表。

上記の(1)～(3)をまとめると、N-ERCは、これまでの中皮腫（特に上皮型）の腫瘍マーカーの中で最も優れたマーカーであり、中皮腫の腫瘍マーカーの中心におくべきマーカーである。しかし、実際の臨床では、患者は、さまざまな疾患を合併することが多いため、今後は、腎疾患以外の疾患で高値を示すかどうかを詳細に検討する必要がある。これによ

ってN-ERCによる臨床判断の精度が上がると考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

1. Shiomi K., Hagiwara Y., Hino O. : Sensitive and Specific New Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for N-ERC/Mesothelin Increases its Potential as a Useful Serum Tumor Marker for Mesothelioma. Clin Cancer Res. 2008 Mar 1;14(5):1431-1437
2. Segawa T., Hagiwara Y., Hino O. (6番目): Mesomark kit detects C-ERC/mesothelin, but not SMRP with C-terminus. BBRC, 369: 915-918, 2008
3. Tajima K., Hirama m., Shiomi K.: ERC/mesothelin as a marker for chemotherapeutic response in patients with mesothelioma. Anticancer Research 28: in press 2008
4. Hino O., Shiomi K., Maeda M. : A diagnostic biomarker of Asbestos-related mesothelioma - Example of translational research. Cancer Sci. 2007 Aug;98(8):1147-1151

[学会発表] (計 7 件)

1. 塩見和、塩見智子、石永祐司、樋野興夫 中皮腫の腫瘍マーカー (N-ERC/mesothelin と Osteopontin) の血中濃度に対する腎機能障害の影響。第 26 回日本呼吸器外科学会総会、2009 年 5 月 14 日～15 日、北九州。
2. Okio Hino, Kazu Shiomi, Yoshiaki Hagiwara. : Diagnostic tumor marker of human asbestos-related mesothelioma - Translational research from animal model -. (7th Joint Conference of the American Association for Cancer research and the Japanese Cancer Association) In the Forefront of Basic and Translational Cancer Research. January 21-25, 2007, Hawaii
3. 塩見和、樋野興夫、前田雅弘。: 中皮腫の腫瘍マーカーとしての N-ERC/Mesothelin と Osteopontin の比較検討。第 48 回日本肺癌学会総会。2007 年 11 月 8 日～9 日、名古屋。
4. 泉 浩、塩見和、樋野興夫。: 中皮腫の病理診断と問題点。第 48 回日本肺癌学会総会。2007 年 11 月 8 日～9 日、名古屋。
5. 田島 健、平間未知大、高橋和久 (9 番目) : 胸膜中皮腫における化学療法前後の血清 ERC/mesothelin と血漿 OPN の検討。第 48 回日本肺癌学会総会。2007 年 11 月 8 日～9 日、名古屋。
6. 瀬川辰也、萩原良明、樋野興夫 (5 番

目) : SMRP に対する新規 ELISA 系の構築 (Establishment of new ELISA system for SMRP (soluble mesothelin-related protein))。第 66 回日本癌学会総会、2007 年 10 月 3-5 日、横浜。

5. 大橋里奈、崔日、高橋和久 (5 番目) : 悪性中皮腫の克服に向けて オステオポンチンは悪性胸膜中皮腫の細胞機能に影響を与える。第 48 回日本肺癌学会総会、2007 年 11 月 8-9 日、名古屋。

7. 塩見和、樋野興夫、萩原良明: 中皮腫における腫瘍マーカーの検討。第 24 回日本呼吸器外科学会総会、2007 年 5 月 17 日～18 日、横浜。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

塩見 和 (SHIOMI KAZU)

順天堂大学・医学部・助教

研究者番号 : 5 0 3 9 8 6 8 2

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者