

Title	Megakaryocyte potentiating factor as a tumor marker of malignant pleural mesothelioma : Evaluation in comparison with mesothelin
Author(s)	岩堀, 幸太
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/49885">https://hdl.handle.net/11094/49885</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	いわ ぼり こう た 岩 堀 幸 太
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 2 2 7 5 5 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 21 年 3 月 24 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当  医学系研究科内科系臨床医学専攻
学 位 論 文 名	Megakaryocyte potentiating factor as a tumor marker of malignant pleural mesothelioma : Evaluation in comparison with mesothelin  (悪性胸膜中皮腫の腫瘍マーカーとしての megakaryocyte potentiating factor と mesothelin の比較検討)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 川瀬 一郎  (副査) 教 授 青笹 克之 教 授 奥村明之進

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔 目 的 〕

過去におけるアスベスト暴露の影響で今後の悪性胸膜中皮腫患者数の増加が予測されている。しかし、悪性胸膜中皮腫は外科的切除可能な早期での発見が困難で、化学療法は cisplatin＋pemetrexed 併用療法により生存期間中央値が 12 ヶ月まで延長したものの有効な治療法が未だないのが現状である。そのため、ハイリスク群の中から早期に悪性胸膜中皮腫患者を発見するためのスクリーニング方法の開発が望まれている。その中で血清マーカーは低侵襲、低コストでありスクリーニング方法として適しているといえる。

現在、悪性胸膜中皮腫の血清マーカー候補としてMPF(megakaryocyte potentiating factor)およびmesothelinが研究されている。MPFおよびmesothelinは同一の前駆体であるGPIアンカー型膜蛋白質よりプロテアーゼにより切断されて一部が細胞外へ分泌される。これまでにMPFおよびmesothelinそれぞれについて悪性胸膜中皮腫患者血清において高値を示すことが報告されているが、両者を比較検討した報告はない。そこで、我々は新たに開発したELISAアッセイ系を用いて両者を比較し、どちらが血清マーカーとして有用であるかを検討した。

### 〔 方法ならびに成績 〕

組換えMPFタンパク質および組換えmesothelinタンパク質をそれぞれBALB/cマウスに免疫し、MPFおよびmesothelinに対するモノクローナル抗体を作成した。作成した抗体のMPFおよびmesothelin に対する特異性は、作成した抗体を用いた組換えMPFタンパク質および組換えmesothelinタンパク質に対する免疫沈降法およびウェスタンブロット法にて確認した。さらに、mesothelinに対するモノクローナル抗体を用いて、mesothelinを発現している細胞株NCI-H226と発現していない細胞株NCI-H520のフローサイトメトリーによる解析を行った結果、mesothelinを発現している細胞株NCI-H226にのみ抗原抗体反応がみられ、作成した抗体が細胞表面のmesothelinを特異的に認識していることが確認された。また、MPFに対するモノクローナル抗体を用いてMPFおよびMPF/mesothelin前駆体の発現ベクターをそれぞれトランスフェクションした293T細胞の上清をウェスタンブロット法で調べた結果、いずれの細胞上清からもMPFが検出され、作成した抗体が細胞外に分泌されたMPFを特異的に認識していることが確認された。そこで、これらの抗体を用いてMPFおよびmesothelinのSandwich ELISAアッセイ系を構築した。これらのMPFおよびmesothelinのELISAアッセイ系を用いてMPFおよびmesothelinの発現ベクターをそれぞれトランスフェクションした293T細胞の上清を調べた結果、細胞上清中においてMPFおよびmesothelinがそれぞれ検出され、これらのELISAアッセイ系を用いてMPFおよびmesothelin

を測定できることを確認した。次にこれらのELISAアッセイ系を用いて悪性胸膜中皮腫27症例、肺癌、アスベスト暴露健常人を含む129症例をコントロール群として血清中のMPFおよびmesothelin濃度を測定した。その結果、悪性胸膜中皮腫患者群においてコントロール群に比べて有意にMPFおよびmesothelin濃度が高値を示した。悪性胸膜中皮腫および肺癌、アスベスト暴露健常人、アスベスト非暴露健常人を比較するためにAUC(The area under the receiver operating characteristic curve)を計算した結果、MPFはAUC＝0.879、カットオフ値19.1ng/mlにて感度74.1%、特異度90.4%であったのに対し、mesothelinはAUC＝0.713、カットオフ値93.5ng/mlにて感度59.3%、特異度86.2%であった。MPFおよびmesothelinのAUCを比較した結果、mesothelinと比べてMPFのAUCが有意に高く（p=0.025）、MPFはmesothelinと比較して診断のためのマーカーとして適していることが示唆された。

### 〔 総 括 〕

悪性胸膜中皮腫の診断マーカー開発のため、診断マーカー候補タンパク質であるMPFおよびmesothelinに対する特異的なモノクローナル抗体を作成し、新たにELISAアッセイ系を開発した。そのELISAアッセイ系を用いて悪性胸膜中皮腫患者およびコントロール群の血清中のMPFおよびmesothelinを測定し、AUCを計算した結果、悪性胸膜中皮腫の診断マーカーとしてMPFの方が優れていることが示唆された。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究では、我が国において今後の患者数の増加が予測されている悪性胸膜中皮腫の診断マーカーとして megakaryocyte potentiating factor (MPF) およびmesothelinに着目し、血清中のMPFおよびmesothelin濃度測定のための新たなELISA測定系の開発を行った。このELISA測定系を用いて悪性胸膜中皮腫患者群およびコントロール群のMPF およびmesothelin濃度を測定した結果、MPFおよびmesothelinいずれも悪性胸膜中皮腫患者群において有意に高値を示した。さらに、MPFおよびmesothelinを比較した結果、MPFの方がmesothelinに比べ診断マーカーとして有用であることを示唆する結果を得た。今後において臨床での応用が期待される研究結果であり、学位の授与に値すると考えられる。