

新しい検査法 悪性中皮腫に対する新しい血液診断マーカー 可溶性メソテリン関連ペプチド

A Novel Blood Marker for Diagnosis of Malignant Mesothelioma
Soluble Mesothelin-related Peptides : SMRP

ふく おか かず や
福 岡 和 也
Kazuya FUKUOKA

はじめに

メソテリン (mesothelin) は、胸膜、腹膜および心膜腔の中皮内層の細胞膜表面に発現する糖蛋白であり、膀胱癌、卵巣癌、悪性中皮腫やその他の悪性腫瘍にも過剰発現することが報告されている。メソテリンの遺伝子は 69kDa の前駆蛋白をコードする。この糖蛋白は furin-like proteinase で切断後、N 末端側は 31kDa の巨核球増強因子 (megakaryocyte potentiating factor : MPF) として血中に放出され、C 末端側 40kDa の糖蛋白はメソテリンとして細胞膜に結合する (図 1)。メソテリンには 3 種類の variant form が存在するが、そのひとつは修飾されたカルボキシル基終末をもち、glycosylphosphatidylinositol (GPI) アンカーを欠如するため、細胞膜から遊離する。この細胞膜から遊離した variant form を、可溶性メソテリン関連ペプチド (soluble mesothelin-related

peptides : SMRP) と呼ぶ (図 1)¹⁾。

一方、悪性中皮腫は体腔内面を広く覆う胸膜、腹膜、心膜などの中皮細胞から発生する難治性腫瘍であり、その発症にはアスベスト (石綿) 曝露との密接な関連性が指摘されている。悪性中皮腫の早期発見は非常に困難であり、確定診断が得られた時点では、すでに進行期の症例が大多数を占める。早期診断には、画像検査や内視鏡検査の進歩とともに、血液や体腔液診断に有用なバイオマーカーの開発が必要不可欠である。これまで、シフラ 21-1、tissue polypeptide antigen (TPA)、ヒアルロン酸、carcinoembryonic antigen (CEA) などが悪性中皮腫の補助診断に用いられてきたが、これらは何れも悪性中皮腫特異的なマーカーではなかった。近年、悪性中皮腫に対する新しい血液診断マーカーが報告されてくる中で、SMRP は最も信頼性の高いマーカーとして位置づけられている²⁾。欧米では、enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) キットである MESOMARK™ (Fujirebio Diagnostics Inc., USA) を用いた血清 SMRP の測定が実施されていたが、わが国では、2010 年、MESOMARK と同一の抗体を用いた chemiluminescence enzyme immunoassay (CLEIA) 法による血清 SMRP 濃度測定キット「ルミパルス®メソテリン」が開発された³⁾。本キットを用いた多施設共同試験の結果、悪性中皮腫に対する SMRP の診断性能は MESOMARK による従来の報告とほぼ同等であることが示された⁴⁾。この結果から、2014 年 9 月、SMRP は悪性中皮腫に対する新しい血液診断マーカーとして、わが国で初めて保険収載され、臨床導入されることとなった。本稿では、悪性中皮腫の病態、SMRP 開発の経緯と悪性中皮腫に対する診断性能などについて概説する。

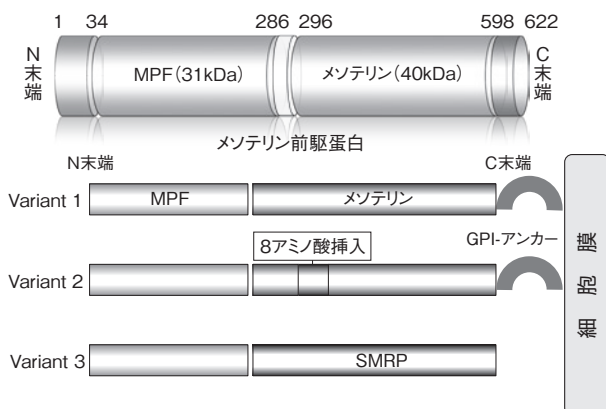


図 1 メソテリン前駆蛋白およびメソテリンの分子構造模式図

MPF, megakaryocyte potentiating factor ;
GPI, glycosylphosphatidylinositol ;
SMRP, soluble mesothelin-related peptides

I. 悪性中皮腫 (malignant mesothelioma)

1. 病因・頻度

悪性中皮腫は体腔内面を広く覆う漿膜に発生する中皮細胞由来の悪性腫瘍で、胸膜、腹膜、心膜、および、極めて稀に精巣鞘膜からも発生する。これまで、悪性中皮腫は比較的稀な疾患とされてきたが、その罹患者数および死亡者数は世界的に急激な増加を辿っている。これらの中では悪性胸膜中皮腫(malignant pleural mesothelioma)が最も多い。悪性中皮腫の発症とアスベスト曝露との間には深い因果関係があり、わが国における昨今のアスベストによる健康障害は労働者のみならず、一般住民をも巻き込んだ社会問題に発展している。これを受けた政府の対応によって、現在、悪性中皮腫は労災もしくは石綿救済法による公的補償制度の対象疾患となっている。

アスベストによる発癌機構は複雑であり、アスベスト繊維の標的細胞に対する直接作用とマクロファージや好中球などの炎症細胞を介した間接作用とによって惹起される酸化ストレスが関与するとされる。一方、悪性中皮腫には *p16* や *neurofibromatosis 2 (NF2)* などの癌抑制遺伝子が高率に変異・欠失しており、これらの遺伝子異常も腫瘍の増殖や進展に密接に関連していることが報告されている⁵⁾。さらに、最近、網羅的ゲノム解析の結果から、*breast cancer susceptibility gene 1 (BRCA1)-associated protein 1 (BAP1)* が悪性中皮腫において不活化する新規の癌抑制遺伝子であることが同定され、注目を集めている⁶⁾。

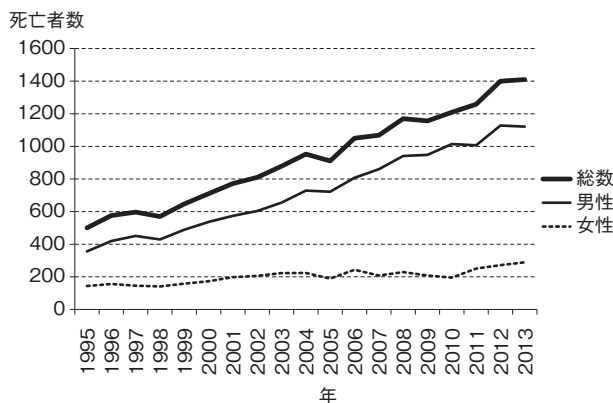


図2 悪性中皮腫死亡者数の年次推移

わが国における悪性中皮腫死亡者数の年次推移は、1995年から2013年までの18年間で500例から1400例へと概ね3倍の増加を来している(図2)。さらに、疫学研究の結果から、今後、約30年間は悪性胸膜中皮腫の発生率および死亡数の増加が予想されている。

2. 病態・診断

悪性胸膜中皮腫は壁側胸膜に初発し、臓側胸膜に播種した後、すべての胸膜面に浸潤するびまん性増殖を来す。通常、病初期から胸水貯留を認めるが、無症候性の少量胸水から縦隔偏位を来すほどの大量胸水に発展する場合もある。画像診断に関して、胸部X線写真はスクリーニング検査や経過観察の手段としても重要であるが、初発時に胸水貯留所見のみを呈する症例も少なくない。病初期の胸水は移動性であるが、進行すると分葉状となり、患側胸郭縮小、肋間腔狭小化、患側横隔膜挙上、縦隔の患側偏位を生じる。胸部造影CTは、病期診断、生検部位の決定、治療効果判定に有用であり、画像診断の中心的役割を果たす。悪性胸膜中皮腫の典型的CT所見としては、片側性胸水、凹凸不整の結節状を示すびまん性胸膜肥厚、胸膜腫瘤などが挙げられる(図3)。

胸腔鏡は悪性胸膜中皮腫の診断に不可欠な検査であり、直視下胸膜生検による診断率は、90%以上に達する。胸腔鏡肉眼所見の特徴は、びまん性に肥厚した胸膜面に拡がる大小不同の顆粒状隆起性病変である。悪性中皮腫の組織分類は、上皮細胞様の腫瘍細胞の乳頭腺管状構造からなる上皮型、紡錘形ある

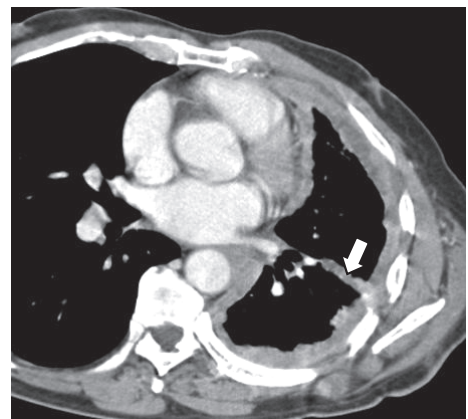


図3 悪性胸膜中皮腫の胸部造影CT像

左胸膜の不整な全周性肥厚と葉間胸膜の肥厚(⇨)を認める。患側の左胸郭は健側に比較して、縮小している。

表1 悪性胸膜中皮腫診断の問題点

✓画像検査のみでは診断することができない。
✓確定診断には病理組織診が必要であるが、生検による組織採取は侵襲を伴う。
✓病理診断には、病理医の高度な専門的知識と豊富な経験を要する。
✓精度の高い腫瘍特異的な血液診断マーカーが存在しない。

いは多角形の腫瘍細胞の束状配列あるいは充実性増殖からなる肉腫型、上皮型および肉腫型の混在からなる二相型、高度な線維性結合組織の増殖を伴う線維形成型に分類される。病理組織診断には、複数の抗体や染色法を併用した免疫組織化学的検討が重要な役割を果たす。近年、悪性中皮腫において発現率の高いサイトケラチン、カルレチニン、メソテリンなどの“陽性マーカー”と発現率の低い carcinoembryonic antigen (CEA)、surfactant apoprotein A, naspin A などの“陰性マーカー”を複数組み合わせた抗体パネルによって、病理診断の精度は著しく向上した。

しかしながら、これまで、悪性胸膜中皮腫の診断に関しては、幾つかの問題点が指摘されてきた(表1)。そのひとつとして、精度の高い腫瘍特異的な血液診断マーカーが存在しないことが挙げられる。

II. 可溶性メソテリン関連ペプチド (soluble mesothelin-related peptides)

1. 開発の経緯

悪性胸膜中皮腫の補助診断には、これまで、シフラ 21-1、TPA、ヒアルロン酸、CEA などの既知のバイオマーカーが用いられてきた。具体例のひとつとしては、原因不明の胸水貯留症例において、胸水中シフラ 21-1 およびヒアルロン酸が高値を示し、CEA の上昇がみられない場合は、癌性胸膜炎よりも悪性胸膜中皮腫の可能性が高い。最近、悪性中皮腫における新しい血液診断マーカーの有用性が報告されるようになった。2003年、Robinsonらは血清 SMRP の悪性胸膜中皮腫における診断的意義に関する最初の報告を行ったが⁷⁾、その後、SMRP を認識する2種類のモノクローナル抗体(4H3 および OV569)を用いた新しい定量的 ELISA キットである MESOMARK が開発され、血清 SMRP 濃度の測定

が可能となった。この結果、悪性胸膜中皮腫血清診断における SMRP の感度は 48 ~ 80% (中央値 68.2%)、特異度は 72 ~ 99% であり、血清 SMRP の優れた診断性能が欧米や豪州を中心として報告された^{4,8)}。また、筆者らは、血清 SMRP に陰性マーカーである CEA を組み合わせることによって、SMRP 単独に比較して、診断性能がより向上することを明らかにした⁸⁾。

2. ルミパルス メソテリンの測定原理

一方、わが国では、CLEIA 法による SMRP 濃度測定キット(ルミパルス メソテリン)が富士レリオ株式会社によって開発され、2010年10月、体外診断用医薬品として認可された³⁾。本キットの測定原理は、SMRP に特異的なエピトープを認識する2種類のモノクローナル抗体(4H3 および OV569)を用いた2ステップサンドイッチ法による化学発光酵素免疫測定法(CLEIA)である(図4)^{3,9)}。これら2種類のモノクローナル抗体は、Pacific Northwest Research Institute の Nathalie Scholler らによって作製された抗体であり、MESOMARK と同一のものである。本試薬は、全自動化学発光酵素免疫測定システム用試薬であり、測定が全工程約30分間で完了する。反応の概略は、検体 20 μ l が希釈液によって10倍希釈され、第1免疫反応で抗 SMRP モノクローナル抗体(4H3)が固定されたフェライト粒子と反応し、洗浄後、第2免疫反応でアルカリホスファター

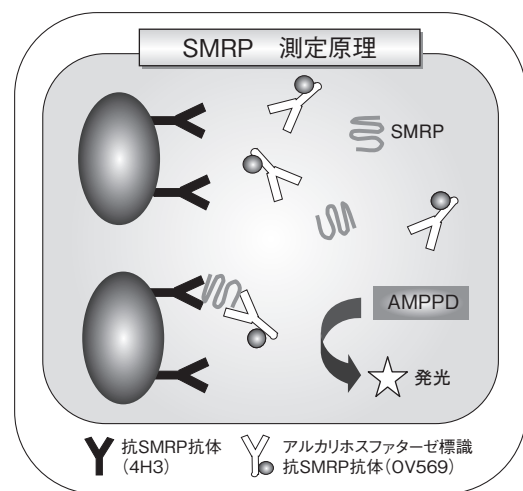


図4 ルミパルス メソテリンの測定原理

SMRP, soluble mesothelin-related peptides;
AMPPD, 3-(2'-spiroadamantane)-4-methoxy-4-(3"-phosphoryloxy)
phenyl-1,2-dioxetane disodium salt

文献9)より引用

ゼ標識抗 SMRP モノクローナル抗体 (OV569) と反応する。再度洗浄後に化学発光基質 AMPPD (3-(2'-spiroadamantane)-4-methoxy-4-(3''-phosphoryloxy) phenyl-1,2-dioxetane disodium salt) を添加し、酵素反応が行われる。その後、AMPPD の分解に伴う発光量が測定され、標準溶液の測定によって作成された検量線との比較によって検体中の SMRP 濃度が算出される。本キットの測定範囲は、0.1 ~ 100nmol/L と広範囲に及ぶことが特徴である。本キットは、血清または血漿中の SMRP 濃度の測定が可能である。血清 887 検体を用いて検討された MESOMARK との相関性は、ほぼ 1 : 1 であり、同等の測定結果が報告された (図 5) ³⁾。

3. 悪性中皮腫に対するルミパルス メソテリンの診断性能

ルミパルス メソテリンの体外診断用医薬品としての認可に先立ち、悪性中皮腫血液診断における血清 SMRP の診断性能を検証する多施設共同試験が、2005年から2006年にかけて、わが国で実施された⁴⁾。対象は、各施設を受診した悪性中皮腫患者および対

照疾患患者のうち、試験参加に関して文書で同意が得られた被験者およびアスベスト曝露歴のない健常者の計 802 症例であった。悪性中皮腫 85 例のうち、77 例が悪性胸膜中皮腫であった。対照疾患の内訳は、肺癌、アスベスト関連良性疾患、アスベスト非関連良性疾患および高血圧・慢性心疾患であった (表 2)。血清 SMRP の参考基準値を 1.5nmol/L に設定した場合、各疾患における陽性率はそれぞれ、悪性中皮腫 66%、肺癌 21%、アスベスト関連良性疾患 15%であった (表 2)⁴⁾。悪性中皮腫患者の血中 SMRP 濃度 (中央値: 2.38nmol/L) は、対照疾患および健常者のそれよりも有意に高値であった⁴⁾。Receiver operating characteristic (ROC) 曲線による悪性中皮腫と対照疾患および健常者との鑑別は、血中濃度-時間曲線下面積 (area under the curve : AUC) 0.76 ~ 0.87 と概ね良好な鑑別診断能を示した (図 6)⁹⁾。本試験の結果から、2014年9月、SMRP は悪性中皮腫に対する新しい血液診断マーカーとして、わが国で初めて保険収載され、臨床導入されることとなった。

ルミパルス メソテリンの算定は、悪性中皮腫の

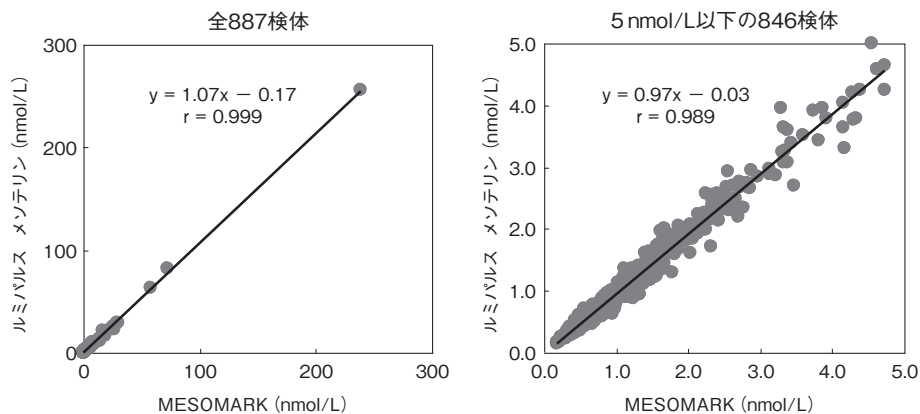


図 5 ルミパルス メソテリンとMESOMARKの相関図

文献 3) より引用

表 2 悪性中皮腫を含む各種疾患および健常者における血清 SMRP の診断性能

	健常者	悪性 中皮腫	肺癌	アスベスト 非関連 良性疾患	アスベスト 関連 良性疾患	高血圧 慢性 心疾患
症例数	110	85	240	136	157	74
中央値 (nmol/L)	0.57	2.38	0.96	0.82	0.74	0.80
標準偏差 (nmol/L)	0.3	28.57	1.36	0.74	0.58	0.62
陽性数	1	56	51	24	24	7
陽性率	1%	66%	21%	18%	15%	9%

文献 4) を改変・引用

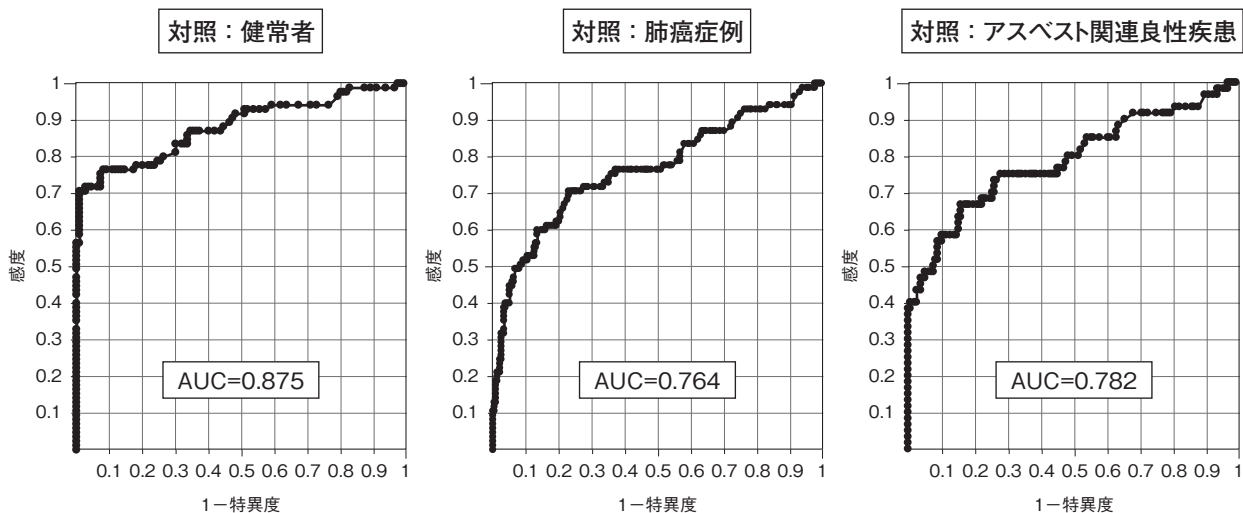


図6 Receiver operating characteristic (ROC) 曲線による血清SMRPの悪性中皮腫診断性能

血中濃度-時間曲線下面積 (AUC, area under the curve)

文献9) より引用

表3 保険収載された可溶性メソテリン関連ペプチド

保険適応日	2014年9月1日
測定項目	可溶性メソテリン関連ペプチド (SMRP)
測定方法	化学発光酵素免疫測定法 (CLEIA法)
主な測定目的	血清、または血漿中の可溶性メソテリン関連ペプチド (SMRP) の測定 (悪性中皮腫の診断補助)
保険点数	220点
区分	E3 (新項目)
主な留意事項	悪性中皮腫の診断補助、または悪性中皮腫の診断が既に確定した患者に対しては治療効果の判定、もしくは経過観察を目的として実施された場合に可能である。但し、悪性中皮腫の診断補助を目的として実施される場合は、下記のいずれかに該当する患者が対象となる。 1) アスベスト曝露歴があり、胸水、腹水などの貯留が認められる患者 2) 体腔液細胞診で悪性中皮腫が疑われる患者 3) 画像診断で胸膜腫瘍、腹膜腫瘍などが認められる患者

診断補助、または悪性中皮腫の診断がすでに確定した患者に対しては治療効果の判定、もしくは経過観察を目的として実施された場合に可能である。ただし、悪性中皮腫の診断補助を目的として実施される場合は、下記のいずれかに該当する患者が対象となるので、留意する必要がある (表3)。

- 1) アスベスト曝露歴があり、胸水、腹水などの貯留が認められる患者
- 2) 体腔液細胞診で悪性中皮腫が疑われる患者
- 3) 画像診断で胸膜腫瘍、腹膜腫瘍などが認められる患者

おわりに

悪性中皮腫の確定診断には、胸膜生検などの病理組織学的アプローチが必要とされるが、高齢者や全

身状態不良例では、侵襲的検査が困難で診断に苦慮する場合も少なくない。このような症例や前述のルミパルスメソテリン算定基準1)-3)に該当する症例では、SMRPを用いた血清診断が重要な役割を果たす。患者血清もしくは血漿を用いたルミパルスメソテリンによるSMRP濃度測定は、一般血液検査と同様、全自動分析装置による測定が約30分間で完了する。したがって、患者への侵襲は少なく、技術的にも容易で短時間のうちに測定結果を解析することができることから、今後、SMRP濃度測定は、悪性中皮腫を疑う患者に対して広く活用されていくことが予想される。また、悪性中皮腫の発症リスクの高いアスベスト曝露者を対象とした血液スクリーニング検査のひとつとして用いられていくことも想定される。わが国では、今後約30年間、悪性中皮腫の発生率および死亡者数の増加が予想されてお

り、悪性中皮腫補助診断試薬としての SMRP の有用性に更なる期待が寄せられている。

文 献

- 1) Hassan R, Bera T, Pastan I. Mesothelin : a new target for immunotherapy. *Clin Cancer Res.* 2004 ; **10**(12): 3937-3942.
- 2) Cristaudo A, Bonotti A, Simonini S, et al. Soluble markers for diagnosis of malignant pleural mesothelioma. *Biomarkers Med.* 2011 ; **5**(2): 261-273.
- 3) 中町 衛、桑原明子、村上 弘、他. ルミバルス メソテリンの基礎性能評価. *医学と薬学.* 2011 ; **65**(2): 261-267.
- 4) 福岡和也、関戸好孝、樋田豊明、他. 悪性中皮腫の血清診断における可溶性メソテリン関連ペプチド(SMRP : Soluble Mesothelin-related Peptides)の有用性に関する多施設共同試験. *医学と薬学.* 2012 ; **68**(1): 177-183.
- 5) Sekido Y. Molecular biology of malignant mesothelioma. *Environ Health Prev Med.* 2008 ; **13**(2): 65-70.
- 6) Bott M, Brevet M, Taylor BS, et al. The nuclear deubiquitinase BAP1 is commonly inactivated by somatic mutations and 3p21.1 losses in malignant pleural mesothelioma. *Nat Genet.* 2011 ; **43**(7): 668-672.
- 7) Robinson BW, Creaney J, Lake R, et al. Mesothelin-family proteins and diagnosis of mesothelioma. *Lancet.* 2003 ; **362**(9396): 1612-1616.
- 8) Fukuoka K, Kuribayashi K, Yamada S, et al. Combined serum mesothelin and carcinoembryonic antigen measurements in diagnosing malignant mesothelioma. *Mol Clin Oncol.* 2013 ; **1**(6): 942-948.
- 9) 福岡和也. メソテリン. *検査と技術.* 2013 ; **41**(3): 229-230.