

## 論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（ 医学 ）	氏名	大月 鷹彦
学位授与の条件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論文題目 Aminopeptidase N/CD13 as a Potential Therapeutic Target in Malignant Pleural Mesothelioma (アミノペプチダーゼ N/CD13 は悪性胸膜中皮腫における有望な治療標的である)			
論文審査担当者			
主 査 教授 武島 幸男			印
審査委員 教授 稲葉 俊哉			
審査委員 教授 岡田 守人			
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>悪性胸膜中皮腫（MPM）は悪性度の高い予後不良な疾患であるが、診断時点で進行例も多く集学的治療の適応となる症例は限られており、新たな全身治療が必要と考えられる。また、固形癌の進展において血管新生が重要な因子であることが知られているが、MPM においては近年、シスプラチン+ペメトレキセド療法にベバシズマブ（抗 VEGF モノクローナル抗体）を併用することで有意な生存期間の延長が得られることが報告されており、やはり抗血管新生は有望な治療戦略と考えられる。一方、アミノペプチダーゼ N/CD13（APN/CD13）は、亜鉛依存性の膜結合型ペプチダーゼであり、癌細胞運動、血管新生を促進し癌の転移、進展に関わっていることが報告されている。大腸癌、膵臓癌、非小細胞肺癌など様々な悪性腫瘍において、腫瘍組織の APN/CD13 が高発現である場合、予後不良であることが報告されているが悪性胸膜中皮腫における APN/CD13 の臨床的な意義については明らかではない。</p> <p>これらの知見から著者は MPM において APN/CD13 の発現が予後と関連しており、さらに APN/CD13 は MPM の治療標的となるのではないかと仮説を立て研究を遂行した。最初に MPM における APN/CD13 の臨床的意義について検討するため腫瘍組織における APN/CD13 の発現と予後との関連について検討した。対象は当院で術前化学療法及び根治的外科切除が施行された 31 例とし、切除標本における APN/CD13 の発現と予後について検討したところ APN/CD13 高発現群は有意に予後不良であることが示された。さらに臨床病理学的因子について多変量解析を行ったところ、「APN/CD13 高発現」と「組織型」が独立した予後不良因子であることが示された。さらに APN/CD13 が MPM の治療標的となるかどうかを検討するため中皮腫マウスモデルにおいて、完全ヒト型抗 APN/CD13 モノクローナル抗体（MT95-4）の抗腫瘍効果について検討を行ったところ、EHMES-10（APN/CD13 高発現株）移植マウスでは MT95-4 投与による抗腫瘍効果が認められたのに対して、MSTO-211H（APN/CD13 低発現株）移植マウスモデルでは抗腫瘍効果を認めなかった。さらに、抗血管新生効果を検討するため、腫瘍組織の CD31 を免疫染色することで腫瘍血管密度を評価したところ、EHMES-10 移植マウスでは MT95-4 投与による抗血管新生効果が認められたのに対して、MSTO-211H 移植マウスでは抗血管新生効果が認められなかった。さらに臨床応用の観点から殺細胞性抗がん剤であるシスプラチンと併用することで抗腫瘍効果が増強されるかどうか検証したところ、併用投与によりシスプラチン単独投与と比較して、有意な抗腫瘍効果の増強及び生存期間の延長が認められた。次に、MT95-4 の抗血管新生効果の機序として血管新生因子を介する機序及びマトリックス蛋白の分解を介する機序について検証を行った。まず、血管新生因子を介する機序として MT95-4 が腫瘍細胞における血管新生因子の発現に影響を及ぼすかどうかを検証した。EHMES-10 に MT95-4 を添加して培養し VEGF の発現レベルを ELISA 及び real-time PCR で検討したがいずれも有意な差は認められなかった。さらに抗体アレイを用いて 43 種類の血管新生因子についても網羅的に検証したが、MT95-4 は EHMES-10 における血管新生因子の発現に影響を及ぼさなかった。次にマトリックス蛋白の分解を介した機序について検討を行った。血管基底膜や細胞外マトリックスの分解により血管内皮細胞の遊走が増加し、血管新</p>			

生が促進されることが知られている。一方、APN/CD13 はマトリックス蛋白の分解に関与することが過去に報告されており、これらの知見から MT95-4 は腫瘍細胞の APN/CD13 を阻害しマトリックス蛋白の分解を抑制することで血管内皮細胞の遊走を抑制しているのではないかという仮説を立て、検証を行った。Matrix degradation assay を用いて検討を行ったところ、APN/CD13 存在下では血管内皮細胞の遊走が促進されること、さらに MT95-4 は EHMS-10 の APN/CD13 をブロックし、マトリックス蛋白の分解を抑制している可能性が示唆された。これらの結果は仮説を支持する結果であると考えられた。

本研究において著者らは APN/CD13 が MPM の悪性度と関連しており、さらに新たな治療標的となる可能性を示した。さらに完全ヒト型抗 APN/CD13 モノクローナル抗体である MT95-4 は APN/CD13 高発現腫瘍において抗腫瘍効果及び抗血管新生効果を示しさらに、シスプラチンと併用することで抗腫瘍効果が増強することも示された。また、MT95-4 の抗血管新生効果は血管内皮細胞の遊走抑制を介している可能性が示唆された。

以上の結果から著者らは悪性胸膜中皮腫において APN/CD13 を治療標的とした新たな治療法を提案した点で評価される。

よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。

別記様式第7号（第16条第3項関係）

最終試験の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（医学）	氏名	大月 鷹彦
学位授与の条件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目 Aminopeptidase N/CD13 as a Potential Therapeutic Target in Malignant Pleural Mesothelioma (アミノペプチダーゼ N/CD13 は悪性胸膜中皮腫における有望な治療標的である)			
最終試験担当者			
主査教授 武島 幸男			印
審査委員 教授 稲葉 俊哉			
審査委員 教授 岡田 守人			
〔最終試験の結果の要旨〕			
判 定 合 格			
<p>上記3名の審査委員会委員全員が出席の上、平成30年5月7日の第74回広島大学研究科発表会（医学）及び平成30年5月10日日本委員会において最終試験を行い、主として次の試問を行った。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1 中皮腫症例の切除標本における間質や腫瘍血管での APN/CD13 発現の検討。</li> <li>2 組織型（上皮型、二相型、肉腫型）による APN/CD13 発現の相違。</li> <li>3 免疫染色における APN/CD13 高発現/低発現の cut off の定義</li> <li>4 MSTO-211H を移植したマウスモデルにおいてむしろ腫瘍血管密度が高値であったことに関する考察。</li> <li>5 MT95-4 をヒトに投与した場合に想定される有害事象の考察。</li> <li>6 MT95-4 とペレキセドの併用投与に関する考察</li> </ol> <p>これらに対して極めて適切な解答をなし、本委員会が本人の学位申請論文の内容及び関係事項に関する本人の学識について試験した結果、全員一致していずれも学位を授与するに必要な学識を有するものと認めた。</p>			