

**MESOTHELIN : A NOVEL BIOMARKER IN
DIAGNOSIS
AND FOLLOW UP OF MALIGNANT PLEURAL
MESOTHELIOMA**

Essay

*Submitted for Partial Fulfillment of Master Degree
in Clinical and Chemical Pathology*

BY

Asmaa Abdel Aziz Ibrahim

M.B., B.CH.
Cairo University
2003

Supervised by

Prof. Hanzada Ibrahim Abdel Fattah

*Professor of Clinical and Chemical Pathology
Faculty of Medicine – Ain Shams University*

Prof. Karim Yehia Ali Shaheen

*Professor of Clinical and Chemical Pathology
Faculty of Medicine – Ain Shams University*

Dr. Rania Salah Eldin Kamle Shahin

*Lecturer of Clinical and Chemical Pathology
Faculty of Medicine – Ain Shams University*

**Faculty of Medicine
Ain Shams University
2009**

ميزوثيللين : دلالة حيويه جديده لتشخيص و متابعة ورم الظهاره المتوسطه الخبيثه فى الغشاء البلورى

رساله توطئه للحصول على درجة الماجستير

فى الباثولوجيا الإكلينيكيه و الكيمياء

مقدمه من

الطبيبة / أسماء عبدالعزيز ابراهيم

بكالوريوس الطب و الجراحه العامه

كلية الطب - جامعة القاهره ٢٠٠٣

تحت إشراف

أستاذ / هان زاده ابراهيم عبدالفتاح

أستاذ الباثولوجيا الإكلينيكيه والكيمياء

كلية الطب - جامعة عين شمس

أستاذ / كريم يحيى على شاهين

أستاذ الباثولوجيا الإكلينيكيه و الكيمياء

كلية الطب - جامعة عين شمس

دكتور / رانيا صلاح الدين كامل شاهين

مدرس الباثولوجيا الإكلينيكيه و الكيمياء

كلية الطب - جامعة عين شمس

كلية الطب

جامعة عين شمس

٢٠٠٩

Acknowledgement

*First and foremost, my thanks and gratitude go to **ALLAH**, the most kind and most merciful.*

*I would like to express my deepest gratitude to **Prof. Hanzada Ibrahim Abdel Fattah**, professor of Clinical and Chemical Pathology, Ain Shams University for her continuous supervision, great encouragement and endless cooperation.*

*My deepest thanks and sincere appreciation to **Prof. Karim Yehia Ali Shaheen**, professor of Clinical and Chemical Pathology, Ain Shams University for his great and kind support, valuable remarks and continuous guideness. He saved neither time nor effort in helping me in every step of this work.*

*I would like to express my great thanks and appreciation to **Dr. Rania Salah Eldin Kamle Shahin**, lecturer of Clinical and Chemical Pathology, Ain Shams University for her kind support, continuous close supervision and constant help.*

Lastly, I would like to record my great thanks and gratitude to my parents, my husband and my little son for their help and support.

Asmaa Abdel Aziz Ibrahim

Dedication

To my parents who have supported me by all means throughout my life. To my sincere husband who greatly supported and encouraged me and to my sweet heart son. I dedicate my essay together with my love to them.

**MESOTHELIN : A NOVEL BIOMARKER
IN DIAGNOSIS AND FOLLOW UP OF
MALIGNANT PLEURAL MESOTHELIOMA**

Protocol of Essay

Submitted for Partial Fulfillment of Master
Degree in Clinical and Chemical Pathology

BY

Asmaa Abdel Aziz Ibrahim

M.B., B.CH.
Cairo University

Supervised by

Prof. Hanzada Ibrahim Abdel Fattah

Professor of Clinical and Chemical Pathology
Faculty of Medicine – Ain Shams University

Assist. Prof. Karim Yehia Ali Shaheen

Assistant Professor of Clinical and Chemical Pathology
Faculty of Medicine – Ain Shams University

Dr. Rania Salah Eldin Kamle Shahin

Lecturer of Clinical and Chemical Pathology
Faculty of Medicine – Ain Shams University

**Faculty of Medicine
Ain Shams University
2008**

Introduction

Malignant mesothelioma is an aggressive tumor that arises from the mesothelial surfaces of the pleural and the peritoneal cavities, and less commonly from the pericardium and the tunica vaginalis. Malignant pleural mesothelioma (MPM) is a highly aggressive tumor with a poor survival rate. Previously, it was considered as a rare tumor, but in the last few years, its incidence showed a considerable increase, thus it has become a very important public health issue (*Bendayan and Kramer, 2006 and Scherpereel et al., 2006*).

Asbestos exposure is the main factor involved in the pathogenesis of MPM. The screening and the diagnosis of MPM in the subjects exposed to asbestos are difficult because the disease may occur up to 30 to 40 years after exposure. The use of pleural biopsies for the differentiation between MPM, pleural benign diseases and pleural metastasis of adenocarcinoma may be difficult in some cases even with the use of immunohistochemistry . Thus it's thought that diagnosis and management of MPM would be improved if guided by reliable markers (*Scherpereel et al., 2006*).

A potentially reliable marker in mesothelioma diagnosis is mesothelin – also called soluble mesothelin related protein (SMRP) – which is a glycosyl phosphatidyl inositol (GPI) linked membrane protein of 40 KDa. Mesothelin is expressed by normal mesothelial cells, however, it's highly over-expressed in malignant mesothelioma. It can be detected in the blood and the pleural fluid (*Hassan et al., 2007*).

Elevated amounts of SMRP have already been reported in sera and pleural effusions from mesothelioma patients providing a useful diagnostic marker for MPM. Serum level of SMRP is elevated in 84% of patients with mesothelioma and fewer than 2% of patients with other lung diseases. Effusion levels have a sensitivity of 67% and a specificity of 98% for distinguishing mesothelioma from non malignant effusions. Its diagnostic value was similar in both types of samples, but pleural fluid SMRP may better discriminate primary mesothelioma from pleural metastasis (*Bendayan and Kramer, 2006, Creaney et al, 2007 and Sapede et al., 2008*).

SMRP level parallels the progression and the resection of the tumor, therefore it could be used in monitoring therapy and diagnosing mesothelioma earlier than conventional methods. Early diagnosis could reduce the costs of subsequent hospitalizations and investigations and provide the opportunity for early treatment by using new treatment regimens which have been proved to be of some value (*Bendayan and Kramer, 2006 and Creaney et al, 2007*).

Aim of The Essay

The aim of this essay is to study the possible role of mesothelin as a novel biomarker for diagnosis and follow up of malignant pleural mesothelioma.

References

Bendayan, D. and Kramer, M.R. (2006) :

Malignant Mesothelioma : A Disease that Continues to Mystify

IMAJ ; 8 : 501-502

Creaney, J. ; Yeoman, D. ; Naumoff, L.K. ; Hof, M. ; Segal, A. ; Musk, A.W. ; De Klerk, N. ; Horick, N. ;Skates, S.J. and Robinson, B.W.S. (2007) :

Soluble mesothelin in effusions : a useful tool for the diagnosis of malignant mesothelioma.

Thorax ; 62 (7) : 569-76

Hassan, R. ; Ebel, W. ; Routhier, E.L. ; Patel, R. ; Pastan, I. ; Jacob, S. ; Chao, Q. ; Zhang, J. ; Turchin, H. ; Gibbs, L. ; Phillips, D.P. ; Mudali, S. ; Jaffee, E.M. ; Kline, J.B.. ; Moreno, M. ; Donahue, I.D. ; Sass, P.M. ; Nicolaides, C.N. and Grasso, L. (2007) :

Preclinical evaluation of MORAb-009, a chimeric antibody targeting tumor-associated mesothelin.

Cancer Immunity ; 7 : 20

Sapede, C. ; Gauthier, A. ; Barbieux, I. ; Padieu, M. ; Cellerin, L. ;Sagn, C. ; Scherpereel, A. ; Dabouis, G. and Gregoire, M. (2008) :

Aberrant splicing and protease involvement in mesothelin release from epithelioid mesothelioma cells.

Cancer Science ; 99 (3) : 590-594

Scherpereel, A. ; Chahine, B. ; Grigoriu, B. ; Porte, H. ; Gregoire, M. ; Copin, M.C. ; Conti, M. ; Devos, P. ; Lassalle, P. and Gey, T. (2006) :

Soluble Mesothelin-related Peptides in the diagnosis of Malignant Pleural Mesothelioma.

American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine; 173 : 1155-1160

ميزوثيلين : دلالة حيويه جديده لتشخيص و متابعة
ورم الظهاره المتوسطه الخبيثه فى الغشاء البلورى

بروتوكول رساله

توطئه للحصول على درجة الماجستير
فى الباثولوجيا الإكلينيكيه و الكيمائيه

مقدمه من

الطبييه / أسماء عبدالعزيز إبراهيم
بكالوريوس الطب و الجراحه العامه
كلية الطب – جامعة القاهره

تحت إشراف

أستاذ / هان زاده إبراهيم عبدالفتاح
أستاذ الباثولوجيا الإكلينيكيه و الكيمائيه
كلية الطب – جامعة عين شمس

أستاذ مساعد / كريم يحيى على شاهين
أستاذ مساعد الباثولوجيا الإكلينيكيه و الكيمائيه
كلية الطب – جامعة عين شمس

دكتور / رانيا صلاح الدين كامل شاهين
مدرس الباثولوجيا الإكلينيكيه و الكيمائيه
كلية الطب – جامعة عين شمس

كلية الطب

جامعة عين شمس

٢٠٠٨

المقدمة

مرض الظهارة المتوسطة الخبيثة هو ورم سريع النمو و الانتشار ينشأ من خلايا طبقة الميزوثيلليوم فى كل من الغشائين البللورى و البريتونى و بنسبه أقل فى التامور (غشاء القلب) و غشاء الخصيتين . و بالنسبه لورم الظهارة المتوسطة الخبيثة البللورى فهو سريع جدا فى الانتشار و النمو و يكون مصحوبا بفترة حياه قصيره بالنسبه للمريض ، و قد كان يعتبر سابقا مرضا نادرا ، و لكن فى السنوات القليله الأخيره زاد معدل انتشاره زياده ملحوظه مما جعله الآن هاما جدا بالنسبه للصحة العامه .

و التعرض للأسبستوس هو العامل الرئيسى فى الإصابه بالمرض ، و لكن من الصعب عمل مسح و تشخيص لمرض الظهارة المتوسطة الخبيثة البللورى فى الأشخاص المعرضين للأسبستوس لأن الإصابه بالمرض قد تحدث بعد ٣٠ إلى ٤٠ سنه من التعرض كما أن استخدام عينة الغشاء البللورى فى التفرقه بينه و بين أمراض الغشاء البللورى الحميده و بين أورام الغشاء البللورى النقيه من السرطانات الغديه ، هذه التفرقه قد تكون صعبه حتى باستخدام الكيمياء المناعيه للأنسجه. و لذلك يعتقد أن تشخيص و علاج هذا المرض سيكون أفضل مع وجود دلالة يعتمد عليها .

الميزوثيللين أو البروتين الذائب ذو الصله بالميزوثيللين هما اسمين لدلاله حيويه لتشخيص الظهارة المتوسطة ، و هو بروتين غشائى مرتبط بـ جليكوزيل فوسفاتيديل اينوسيتول و يبلغ وزنه الجزئى ٤٠ كيلو دالتون ، و يظهر بواسطه خلايا الميزوثيلليوم الطبيعيه و لكن يزيد ظهوره جدا فى حالات الظهارة المتوسطة الخبيثه ، و يمكن قياسه فى الدم و فى الانصباب الجنبى (البللورى) ، و قد سجل فعلا ارتفاع كمية الميزوثيللين فى الدم و فى الانصباب البللورى فى مرضى الظهارة المتوسطة مما أعطى دلالة تشخيصيه مفيده و يرتفع مستوى الميزوثيللين فى الدم فى ٨٤% من مرضى الظهارة المتوسطة الخبيثه و فى أقل من ٢% فى أمراض الرئه الأخرى، أما مستواه فى الانصباب فذو حساسيه بنسبة ٦٧% و تخصص عال بنسبة ٩٨% فى التمييز بين الظهارة المتوسطة الخبيثه و الانصباب غير الخبيث . و الميزوثيللين قيمته التشخيصيه متساويه فى العينتين و لكن قياسه فى الانصباب البللورى قد يكون أفضل فى التمييز بين الظهارة المتوسطة و أورام الغشاء البللورى

النقله ، و هذا المستوى مكافئ لتقدم أو استئصال المرض و يمكن أن يستخدم في مراقبة العلاج و تشخيص الظاهره المتوسطه أسرع من الطرق الاعتياديه .
والتشخيص المبكر يمكن أن يقلل تكلفة الفحوصات التاليه و دخول المستشفى و يعطى فرصه للعلاج المبكر باستخدام طرق العلاج الحديثه التى قد تكون ذات قيمه •

الهدف من البحث

يهدف هذا البحث إلى دراسة دور الميزوثيللين كدلاله حيويه جديدة لتشخيص و متابعة مرض الظاهره المتوسطه الخبيثه فى الغشاء البللورى .

List of contents

Subject	Page
LIST OF ABBREVIATIONS.	I
LIST OF FIGURES.	IV
LIST OF TABLES.	V
INTRODUCTION AND AIM OF THE ESSAY	1
I. THE PLEURA.	--
A. Anatomy of The Pleura.	4
B. Physiology of The Pleural Space.	10
C. Pathophysiology of Pleural Effusion.	14
II. DIFFUSE MALIGNANT PLEURAL MESOTHELIOMA.	--
A. Definition.	16
B. Epidemiology.	16
C. Risk Factors.	18
D. Molecular Aspects of Mesothelioma.	22
E. Pathology.	27
F. Other Types of Mesothelioma.	37
G. Diagnosis of MPM.	40
H. Treatment.	48
III. BLOOD AND PLEURAL FLUID MARKERS.	--
A. Osteopontin	52
B. Hyaluronan.	56
C. Cytokines.	62
D. Carcino Embryonic Antigen.	67
E. 8-Hydroxy-2-Deoxyguanosine.	70
F. Carbohydrate Antigen 125.	73
G. Fibronectin.	75
H. Angiogenic Factors.	76
I. Other Markers.	85

List of contents (Cont.)

IV. MESOTHELIN.	--
A. Chemical Structure.	87
B. The Sources of Mesothelin.	90
C. Regulation of Mesothelin.	91
D. Biological Function of Mesothelin.	91
E. Role of Mesothelin in Cancer.	92
F. Soluble Mesothelin in Diagnosis of MPM.	96
G. Mesothelin as A Prognostic Factor.	102
H. Mesothelin as A Screening Factor.	103
I. Serum MPF as A Marker for Mesothelioma.	103
J. Mesothelin in Comparison or Combination With Other Markers of Mesothelioma.	105
K. Therapeutic Role of Mesothelin.	109
L. Methods of Assay of Soluble Mesothelin.	111
SUMMARY AND CONCLUSION.	126
RECOMMENDATIONS.	129
REFERENCES.	130
ARABIC SUMMARY.	--

List of Abbreviations

8-OHdG	8-Hydroxy-2-deoxyguanosine.
8-OHG	8-Hydroxyguanosine.
Ab	Antibodies.
ADAM	A disintegrin and metalloproteinase.
AJCC	American Joint Committee on Cancer.
ARF	Alternate open reading frame.
AU	Arbitrary unit.
bFGF	Basic fibroblast growth factor.
BPLAE	Benign pleural disease associated with asbestos exposure.
CA-125	Carbohydrate antigen-125.
CDKN2A	Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A.
cDNA	Complementary deoxyribonucleic acid.
CEA	Carcino embryonic antigen.
CHF	Congestive heart failure.
CLEIA	Chemiluminescent enzyme immunoassay.
CT	Computed tomography.
CV	Coefficient of variation.
CXR	Chest X-ray.
DMMs	Diffuse malignant mesotheliomas.
dNTPs	Deoxynucleotides
ECL	Electrochemiluminescence.
ECM	Extracellular matrix.
ECLIA	Enhanced chemiluminescent immunometric assay.
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid.
ELISA	Enzyme linked immune-sorbent assay method.
EPP	Extra pleural pneumonectomy.
FACS	Fluorescent activated cell sorting.