

# 審査の結果の要旨

氏名 水谷 格之

犬のリンパ腫は最も発生頻度の高い造血器腫瘍性疾患であるが、その治療に関しては新たな展開が乏しいのが現状である。そこで本研究では、犬のリンパ腫において IL-2 受容体  $\alpha$  鎖(interleukin-2 receptor alpha chain, IL-2r $\alpha$ ) (CD25) の発現およびその可溶性タンパクを解析することにより、将来的なリンパ腫の治療成績向上を目指すこととした。

CD25 は活性化過程でリンパ球上に発現誘導される分子量 55kDa の膜貫通型糖タンパクである。医学領域では、複数のサブタイプに属する悪性リンパ腫/白血病の腫瘍細胞が CD25 を発現し、その発現率と予後との関連が示されている。また、CD25 が血清中に切断遊離した可溶性 IL-2 受容体(soluble IL-2 receptor, sIL-2r) (分子量 45kDa) は、悪性リンパ腫患者における腫瘍の病勢を反映することから、医学領域において腫瘍マーカーとして臨床応用されている。

## 第 1 章 犬の T 領域リンパ腫(TZL) 16 例における臨床的・臨床病理学的特徴に関する検討

本章において病理組織学的に TZL と診断された犬 16 症例を対象とし、診療データを解析するとともに、免疫組織化学染色 (IHC) により腫瘍細胞における CD25 発現を解析した。TZL では、診断時 WHO 臨床ステージ・サブステージでは Va の症例が最も多く、併発疾患として毛包虫症およびその他感染・腫瘍性疾患が高頻度に認められた。予後解析において全生存期間の中央値は 938 日であり、追跡期間中リンパ腫による死亡例は 3 例のみであった。無治療により経過観察した 6 例中 5 例は観察終了時まで生存していた。リンパ節の IHC において、TZL における腫瘍細胞は CD25 強陽性であった。

本研究から、犬の TZL は穏やかな臨床挙動をたどり、長期生存が期待できるリンパ腫サブタイプではあるものの、免疫抑制と関連すると考えられる併発疾患が高頻度に認められることが示された。また、腫瘍細胞における CD25 高発現はこれら症例における免疫抑制状態と関連している可能性が考慮された。

## 第 2 章 犬のリンパ系腫瘍細胞におけるインターロイキン 2 受容体 $\alpha$ 鎖(IL-2r $\alpha$ ) の発現およびその予後に対する影響

本章では、犬の各種リンパ系腫瘍細胞における CD25 の発現を解析するとともに、その発現率と予後との関連を検討した。腫瘍細胞サンプルを用いたフローサイトメトリー (FCM) の結果、高悪性度 B 細胞性リンパ腫および TZL においては健常犬および反応性過形成のリンパ節よりも有意に CD25 発現率が高かった。また、濾胞性リンパ腫 (Follicular lymphoma, FL) および皮膚型リンパ腫のいずれにおいても高い CD25 発現率が認められた。しかし、急性リンパ芽球性白血病 (Acute lymphoblastic lymphoma, ALL) では、いずれの症例においても腫瘍細胞における CD25 発現率は低かった。高悪性度 B 細胞性リン

パ腫症例を発現率の違いにより CD25 高発現群と低発現群の 2 群に分け予後解析したところ、高発現群における無増悪生存期間は低発現群におけるものに比べて有意に短かった。IHC においては、FL では腫瘍細胞領域が CD25 強陽性であり、また高悪性度 B 細胞性リンパ腫では、FCM の結果同様、腫瘍細胞の CD25 陽性率は症例により様々であった。

本研究により、犬のリンパ腫の主要なサブタイプにおける腫瘍細胞の CD25 発現状況が明らかになり、また高悪性度 B 細胞性リンパ腫では CD25 の発現率が予後因子になりうることが示された。

### 第 3 章 犬のリンパ腫における血清中可溶性インターロイキン 2 受容体の測定に関する検討

本章では、犬の血清中において sIL-2r を検出し、またイヌ CD25 細胞外領域のペプチドをもとに作製した抗イヌ IL-2r $\alpha$  ポリクローナル抗体および既存の抗イヌ IL-2r $\alpha$  モノクローナル抗体を用い、Sandwich ELISA 系を構築しイヌ sIL-2r 値の臨床的有用性を検討した。免疫沈降ポリアクリルアミド電気泳動(IP-PAGE)の結果、犬リンパ腫細胞株の CD25 全長タンパク(55kDa)より分子量の小さい sIL-2r(45kDa)を犬血清中にて検出した。妥当性試験より、本 ELISA 系は犬の血清中 sIL-2r を特異的に測定可能であることが確認された。治療前の多中心型高悪性度リンパ腫症例の血清中 sIL-2r 濃度は健常犬より有意に高値であった。治療経過中、高悪性度 B 細胞性リンパ腫症例において血清中 sIL-2r 濃度がリンパ節/腫瘍サイズと並行して変動することが示された。さらに寛解導入後再発の 9~13 週前から sIL-2r 濃度の上昇が確認された。

本研究より、犬血清中に sIL-2r の存在が証明され、治療中腫瘍の消長と相関する症例が存在したことから、sIL-2r は犬リンパ腫症例の治療効果のモニタリングに有用である可能性が示された。

本論文における一連の研究により、犬のリンパ腫細胞に様々なレベルの CD25 の発現が検出され、本タンパクの高発現が免疫抑制および予後悪化に関与している可能性が示唆された。また、リンパ腫罹患犬の血中に高濃度の sIL-2r が確認され、血清中 sIL-2r 濃度は治療効果のモニタリングや再発の早期検出に有用であることが示唆された。本研究によって得られた成果は、犬のリンパ腫における病態生理の解明および病状のモニタリングに寄与するとともに、CD25 をターゲットとする分子標的薬の臨床応用の可能性を示唆するものであり、リンパ腫治療における新たな方向性を示すものと考えられる。

これらの研究成果は、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士(獣医学)の学位論文として価値あるものと認めた。