

審査の結果の要旨

申請者氏名 平林 美幸

反応性あるいは腫瘍性に組織球が増殖する動物の組織球増殖性疾患の病態は多様である。猫では肺のランゲルハンス細胞 (LC) が増殖する肺ランゲルハンス細胞組織球症 (LCH)、全身緒臓器で間質樹状細胞 (iDC) が増殖する組織球性肉腫 (HS) と猫進行性組織球症 (FPH)、およびマクロファージが増殖する血球貪食性 HS に分類される。犬では活性化した iDC が反応性に増殖する皮膚組織球症と全身性組織球症 (SyH) に分類され、さらに腫瘍性疾患として、LC が増殖する皮膚組織球腫と皮膚 LCH、iDC が増殖する HS と樹状細胞白血病、およびマクロファージが増殖する血球貪食性 HS に分類される。また犬の HS は限局性 HS と多臓器病変を形成する播種性 HS に細分類される。これらの疾患を通常の病理学的検索のみで明確に分類することは困難であり、さらに各疾患における細胞増殖メカニズムは異なる可能性が高いと予想される。このため組織球増殖性疾患の治療法の開発には、各疾患を明確に分類し、それぞれの病理発生メカニズムを分子レベルで解明することが不可欠である。本研究では、犬と猫の組織球増殖性疾患の病理学および免疫組織化学的特徴と細胞増殖メカニズムを分類ごとに明らかにして、これらの疾患に汎用性のある治療薬を探索することを目的とした。提出された博士論文は 3 章から構成される。

第 1 章では、猫の正常組織と、25 例の HS と 6 例の FPH を用いて、正常組織球および各疾患の増殖細胞の免疫表現型を、ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 標本を用いて比較検討している。さらに FPH 由来の細胞株を樹立・定性した。免疫組織化学的に猫の FPH と HS の増殖細胞は CD204+/E-cadherin⁻ (iDC/マクロファージ免疫表現型) または CD204-/E-cadherin⁺ (LC 免疫表現型) で、一部の HS は CD204+/E-cadherin⁺ (LC 様細胞免疫表現型) であった。さらに、E-cadherin 陰性 FPH に由来する培養細胞株の解析により、同細胞が *in vitro* および *in vivo* で CD204+/E-cadherin⁺を示すことが明らかにされた。これらの結果より猫の HS および FPH の免疫表現型は、微小環境の変化により多様な細胞表現型を示すことが確認された。

第 2 章では、犬の正常組織と、組織球増殖性疾患の 38 例の FFPE 標本を用いて、正常組織球および各疾患の増殖細胞の免疫表現型が検討された。また、播種性 HS と SyH から新規樹立した

細胞株を用い、各疾患の増殖細胞が定性された。免疫組織化学的に限局性 HS と播種性 HS の増殖細胞は CD204+/E-cadherin⁻ (iDC/マクロファージ免疫表現型) または CD204+/E-cadherin⁺ (LC 様細胞免疫表現型) で、1 例の播種性 HS の増殖細胞は CD204-/E-cadherin⁺ (LC 免疫表現型) であった。これらの結果から、犬の組織球増殖性疾患の増殖細胞は、多様な iDC/マクロファージおよび LC マーカーの発現型を示すことが明らかにされた。また、播種性 HS 由来の複数の培養細胞株と、SyH 由来培養細胞株の *in vitro* および *in vivo* 解析により、増殖細胞の E-cadherin 発現パターンは微小環境によって変化することが示された。

第 3 章では、犬の正常単球に加え、2 章で用いた犬の播種性 HS、限局性 HS、SyH および LCH 細胞株の mRNA 発現が網羅的に解析された。解析結果のクラスタリングにより、正常単球、SyH 由来細胞株と播種性 HS 由来細胞株、限局性 HS 由来の 2 種の細胞株、および LCH 由来の細胞株の 4 群が個別に分類された。また機能解析の結果、播種性 HS では遊走関連の遺伝子発現、LCH では E-cadherin を含む細胞間接着に関連する遺伝子の発現が上昇していた。さらに播種性 HS では PI3K シグナル伝達経路、限局性 HS では MAPK シグナル伝達経路と PI3K シグナル伝達経路、LCH では MAPK シグナル伝達経路が活性化していた。申請者はこれらの経路に共通する腫瘍抑制因子である *RBI* 遺伝子の発現が、いずれの細胞株でも高いことに着目し、CDK4/6 阻害薬である Palbociclib について、犬の播種性 HS、限局性 HS、LCH および猫の FPH の細胞株に対する細胞増殖抑制効果を検討した。その結果、Palbociclib は、*in vitro* で全細胞株の増殖を抑制し、播種性 HS 細胞株を移植したマウスでも明瞭な腫瘍増殖抑制効果が確認された。

以上の研究により、申請者は犬と猫の組織球増殖性疾患の増殖細胞の免疫表現型の特徴により従来の疾患分類を再考し、その病態に新しい概念を提唱した。同時に犬の SyH、播種性 HS、限局性 HS および LCH に由来する細胞株の網羅的な mRNA 発現解析に基づき、各疾患の増殖細胞の分子メカニズムの一部を明らかにするとともに、*RBI* 遺伝子産物である Rb およびリン酸化 Rb を発現する組織球増殖性疾患に対する CDK4/6 阻害薬 Palbociclib の治療薬としての有用性を示した。これら一連の研究成果は、不明な点が多かった組織球増殖性疾患の病理発生機序の解明や、治療薬の開発に直接寄与すると共に、ヒトでは稀とされるこれらの疾患の病態解明にも比較病理学的見地より有用な情報をもたらすものと考えられる。よって審査委員一同は申請者が博士（獣医学）の学位を授与するに値すると認めた。