

審査の結果の要旨

氏名 茂木 朋貴

リンパ腫は犬において発生頻度の高い悪性腫瘍であり、WHO 分類において、解剖学的発生部位、組織学的特徴、および免疫学的表現型に基づいて分類される。そのなかでも多中心型高悪性度 B 細胞性リンパ腫は最も症例数が多く、化学療法反応性の高いサブタイプであり、CHOP プロトコールが第一選択として用いられている。しかし、同一の病理組織学的特徴を有しているにも関わらず、症例によって化学療法に対する反応性が著しく異なり、同じ病理組織学的サブタイプにおけるさらなる層別化が必要と考えられた。そこで本論文では、人においてリンパ腫をはじめ多くの腫瘍の予後と関連し、がん幹細胞での発現が注目されている CD44 variant isoform (CD44v) に着目して一連の研究を行った。

第 1 章：犬のリンパ腫症例において CD44v の発現が予後に与える影響

はじめに、リンパ腫を発症した犬において CD44v の発現量と予後との関連を調査した。多中心型高悪性度 B 細胞性リンパ腫と診断した犬 45 頭のリンパ節より採取した腫瘍細胞における CD44 variant exon 3, 6, 7 の発現量をリアルタイム PCR によって定量し、CHOP 療法を行った場合の予後を比較した。その結果、いずれの variant exon に関しても、高発現群は低発現群に比べて予後が悪いことが示された。とくに、CD44v6 の高発現群における奏効率は低発現群における奏効率に比べて有意に低いことが明らかとなった。また、CD44v6 の高発現群における無増悪生存期間は低発現群に比べ有意に短かった。CD44v3, v7 に関しても同様の結果が示された。

第 2 章：犬のリンパ腫における CD44v の特徴とその抗がん剤耐性との関連

CD44 variant exon 3, 6, 7 の発現量が多いリンパ腫症例 4 頭のリンパ節から合計 8 種類の CD44v mRNA を同定し、それらの塩基配列を決定した。これら 8 種類の CD44v のうち、CD44v3-5,7 および CD44v6 の cDNA を犬のリンパ腫細胞株に導入して発現させ、その機能変化を解析した。その結果、CD44v6 発現細胞株ではドキソルビシンおよびビンクリスチンに対する感受性が低下したが、CD44v3-5,7 発現細胞株ではこれら抗がん剤に対する感受性の変化は認められなかった。さらに、CD44v6 発現細胞株では HGF 刺激によって p-PDK1 および p-Akt の発現量が増加し、Akt 阻害薬である LY249002 を添加することによって DXR および VCR に対する感受性が回復した。

第 3 章：犬のリンパ腫症例の予後と関連する CD44v の発現を制御する因子としての ESRP1 の

同定

多中心型高悪性度 B 細胞性リンパ腫と診断した症例からマイクロアレイ解析によって CD44v 高発現群と CD44v 低発現群を比較することで 1,249 遺伝子が抽出された。発現量が変化していた上位 5 遺伝子について症例ごとに比較したところ、SCML と ESRP1 の 2 遺伝子では CD44v 高発現群 4 頭における最低値が CD44v 低発現群 5 頭における最高値を大きく上回っていた。そこで、ESRP1 の cDNA を犬のリンパ腫細胞株に導入して発現させたところ、ESRP1 の発現誘導に伴って CD44v の発現亢進が認められ、ドキソルビシンおよびビンクリスチンに対する感受性の低下が認められた。さらに、多中心型高悪性度 B 細胞リンパ腫 47 頭に関して、ESRP1 発現量解析および予後調査を行ったところ、無増悪生存期間は ESRP1 低発現群よりも ESRP1 高発現群で有意に短かった。

本研究により、犬のリンパ腫における CD44v の病態生理学的役割が明らかになった。今後、CD44v6 や ESRP1 の発現量が多い犬のリンパ腫において、Akt 阻害薬を併用した新規治療法の応用が期待され、これにより治療反応性の悪いリンパ腫症例の予後を改善できる可能性が示唆された。また、本研究によって明らかとなった犬のリンパ腫における CD44v 発現量と予後との関連により、同じ病理組織学的サブタイプの症例を分子マーカーによって層別化することが可能となった。

本研究において実施した分子生物学的マーカーに関する解析法は更なる治療法に関するアイデアを生み、獣医学分野において遺伝子発現量や遺伝子型の変化に基づいた新たな治療法開発戦略を提供するものであり、臨床獣医学における Precision medicine の発展に貢献するものと考えている。

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。