

## 審査の結果の要旨

氏名 オン シュウメイ

犬骨肉腫は最も発生の多い悪性骨腫瘍であり、断脚術等の手術単独での予後は悪くドキソルビシン、カルボプラチン等の術後化学療法により一定の予後改善は得られるが、最終的にはほぼ全例が遠隔転移により死亡する。これら殺細胞性抗腫瘍薬は心毒性や腎毒性等の副作用や費用等の問題があり、分子標的薬も開発期間と高額な費用がかかることから、獣医療では安価な既存薬の中で犬骨肉腫に対し有効な治療薬を見出すことも重要な選択肢となる。

獣医療での有用性や適用癌腫が不明な薬剤のうちトポソメラーゼⅡ阻害薬であるエトポシドは、予備検討で他の犬の癌腫に比べ犬骨肉腫細胞株に対しより高い増殖抑制効果を示したが、マウスモデルでの副作用等から単剤での使用は困難と考えられた。一方、近年作用機序の異なる薬剤の併用による抗腫瘍効果の増強や副作用の軽減が示唆されているが、その併用薬の1つとして獣医療でも広く用いられている非ステロイド性消炎鎮痛剤であるピロキシカムが挙げられる。その他抗腫瘍薬の作用機序に基づく選択的阻害剤も候補として考えられる。

そこで本研究では、犬骨肉腫に対するエトポシドの抗腫瘍効果とその作用機序を明らかにし、有用な併用薬の検索と新規併用療法の確立に向けた基礎的検討を行うことを目的とした。

第1章では犬骨肉腫に対するエトポシド単独およびピロキシカム併用での抗腫瘍効果について、犬骨肉腫由来細胞株 HMPOS、POS、HOS の3株を用い評価した。全ての細胞株でエトポシド単剤に対し濃度依存的な感受性を示し、 $IC_{50}$  は生体内で達成できる濃度の範囲内であった。またエトポシドは Cdc2-cyclinB1 複合体を不活化し G2/M 期の停止とアポトーシスを誘導することが明らかとなった。ピロキシカムは単剤では増殖抑制効果は示さなかったが、併用によりエトポシドの抗腫瘍効果を増強し、その作用機序として survivin の発現抑制とそれに続く cleaved PARP の発現上昇が確認された。一方、*in vitro* で効果を示すピロキシカムの濃度は生体内では再現できない可能性があり、マウスモデルでの検討や survivin を標的とする阻害剤を用いた検討が必要と考えられた。

第2章では survivin 阻害剤である YM155 を用い、第1章と同様にその抗腫瘍効果とエ

トポシドとの併用効果を検討した。YM155 による IC<sub>50</sub> は全ての細胞株で nM 濃度であり、血中濃度で達成可能な濃度であった。POS、HOS 株では S 期の増加と G1 期の減少が見られたが、HMPOS 株では顕著ではなく、G2/M 期停止や Cdc2-cyclinB1 複合体の不活化もみられなかった。YM155 の併用による作用機序は不明な点が多い結果となったが、犬骨肉腫細胞株に対してエトポシドとの相乗的な抗腫瘍効果を示し、有用な併用療法となる可能性が示唆された。

第 3 章では、これら *in vitro* の結果を犬骨肉腫細胞株移植マウスモデルで検証した。HMPOS 株を用いたヌードマウス移植モデルを作出し、薬剤投与による腫瘍体積、Ki-67 発現、アポトーシス誘導について評価した。エトポシド単剤群とピロキシカム併用群において増殖抑制効果がみられ *survivin* の発現抑制も確認されたが、第 1 章のようなアポトーシス誘導の増強やピロキシカム単剤／併用による抗腫瘍効果がみられなかったことから、生体内で達成できる濃度ではこれらの効果はもたらされないと考えられた。またいずれの群でも体重減少など明らかな副作用は認められなかったことから、ピロキシカムは癌性疼痛管理として骨肉腫症例に安全に使用できる可能性が示唆された。

また、YM155 を用いて同様に生体内での抗腫瘍効果を検討したところ、エトポシドおよび YM155 は単剤での抗腫瘍効果は少なかったが、エトポシドと YM155 の併用により Ki-67 の発現減少と無治療群に比較して約 70% の腫瘍増殖の抑制が認められた。一方で、*survivin* の発現抑制とアポトーシス誘導の関連は明らかではなかった。YM155 を用いた治療法の開発にはその用量などさらなる条件検討が必要と考えられた。

本研究では *in vitro*、マウスモデルにおいて犬骨肉腫に対するエトポシドの抗腫瘍効果が明らかとなり、ピロキシカムおよび *survivin* 阻害剤の併用療法についても一部において有用性を示す基礎的データを得ることができ、これらは細胞周期に影響することが示唆された。一方でこれらの抗腫瘍効果の作用機序や最適な投与量や投与方法については未だ不明な点が多く、犬骨肉腫症例に対する臨床応用に向けたさらなる研究が必要と考えられた。

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。