

審査の結果の要旨

氏名 日吉 沙綾

リンパ系腫瘍における細胞のクローン性を解析するため、免疫グロブリン重鎖(immunoglobulin heavy chain, IgH)遺伝子および T 細胞受容体 γ 鎖(T-cell receptor γ chain, TCR γ)遺伝子の再構成を polymerase chain reaction (PCR)で解析する検査(PCR for antigen receptor gene rearrangement, PARR)が開発された。PARR の解析法として、近年では、ポリアクリルアミドゲル電気泳動(PAGE)法に代わって、GeneScan が用いられるようになってきている。本解析法は PAGE と比較して高い分解能を持ち、増幅産物の核酸長を正確に測定可能であるといった利点を有している。そこで本研究では、リンパ増殖性疾患に罹患した犬の症例から採取したサンプルについて GeneScan による PARR 解析を実施し、犬のリンパ増殖性疾患と抗原レセプター遺伝子のクローン性との関連を検討した。

第 1 章 犬の慢性腸症におけるリンパ球の抗原レセプター遺伝子再構成と病理組織学的評価との関連

犬において、組織学的に慢性腸炎と診断された症例においても、しばしば PARR によりクローン性再構成が認められることが報告されており、その解析結果の解釈については不明な点が多かった。そこで本章では、胃腸管型リンパ腫診断における PARR 解析の有用性を検討するため、慢性消化器症状を呈する犬の 117 症例から採取した消化管内視鏡下生検材料を用いて、PARR の結果と病理組織学的評価および生存期間との関連を検討した。結果として、組織学的に慢性腸炎と診断された症例においても、その 51%の症例でクローン性再構成が検出された。一方、胃腸管型リンパ腫症例におけるクローン性再構成陽性率は 76%であった。また、慢性腸炎症例のクローン性再構成の陽性群と陰性群との間において、生存期間に有意差は認められなかった。今回の結果から、PARR 単独での胃腸管型リンパ腫の診断は危険であると考えられた。

第 2 章 犬のリンパ腫における GeneScan を利用したリンパ球の抗原レセプター遺伝子再構成解析による血中循環腫瘍細胞の検出

血中循環腫瘍細胞(circulating tumor cells, CTCs)の検出は、犬のリンパ腫の診断や予後予測に有用である可能性が示唆されている。そこで本章では、犬のリンパ腫における GeneScan を用いた CTCs 検出の有用性を検討した。その結果、高悪性度多中心型リンパ腫の 76%、低悪性度多中心型リンパ腫の 100%、胃腸管型リンパ腫の 33%の症例で、診断時における病変部と末梢血単核球 (PBMCs) の両方でクローン性再構成が検出され、かつ共通の核酸長を持つ増幅産物が得られた。高悪性度多中心型リンパ腫と胃腸管型リンパ腫の各 1 症例について、増幅産物の塩基配列を比較したところ、いずれの症例でも PBMCs において腫瘍病変部と同一の塩基配列を有しており、CTCs の存在が確認された。今回の結果から、GeneScan 解析を用いた PARR では、病変部および

PBMCs におけるクローンの比較を行うことにより、CTCs の存在を示唆する事ができると考えられた。

第3章 悪性度の異なる2つのリンパ系腫瘍を発症した犬における GeneScan を利用したリンパ球クローンの由来の識別

犬において、低悪性度リンパ系腫瘍に罹患した症例において、その臨床経過中により悪性度の高いリンパ腫を発症する症例が報告されているが、これら2つの腫瘍が同一のクローン由来か、あるいは別々のクローンに由来するかについては議論があった。そこで本章では、悪性度の異なる2つのリンパ系腫瘍を発症した5症例において、それらのリンパ球クローンの由来を PARR によって検討した。その結果、3症例において原発腫瘍と続発腫瘍の間で同一の核酸長を有するクローン性の IgH 遺伝子増幅産物が検出され、2つの腫瘍が同一のクローン由来であることが示された。一方、2症例においては、2つの腫瘍の間で、異なる抗原レセプター遺伝子にクローン性再構成が認められ、2つの腫瘍が異なるクローンに由来することが示された。今回の結果から、犬における悪性度の異なる2つのリンパ系腫瘍は、同一あるいは別々のクローンを由来として発生することが示された。

本研究から、PARR が犬のリンパ増殖性疾患における細胞のクローン性増殖の面から見た病理発生機序の理解に有用であると考えられた。今後、本研究によって得られた成果を臨床現場にフィードバックすることにより、獣医臨床腫瘍学におけるトランレーショナルリサーチを促進できると考えている。

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。