

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 中 村 倫 子

リンパ系腫瘍は犬および猫において最も発生頻度の高い悪性腫瘍の一つであり、その治療には抗がん剤による化学療法が用いられる。化学療法における最大の問題は抗がん剤に対する耐性であり、それが症例の予後の悪化と密接に関連している。そのような耐性にはさまざまな機構があり、複数の抗がん剤に対して耐性となる多剤耐性が認められることも多い。そこで本研究では、犬および猫のリンパ系腫瘍における多剤耐性機構とその克服に関する一連の検討を行った。

第一章では犬のリンパ系腫瘍細胞において、多剤耐性関連遺伝子である *mdr1*、*mrp*、*GSTπ*、*bcl-2* および *TopoIIα* の発現について検討を行った。まず、犬のリンパ系腫瘍細胞株 CL-1 および GL-1 に加えて、これらのアドリアマイシン (ADM) またはビンクリスチン (VCR) 耐性株である CL-1/ADM、GL-1/ADM、GL-1/VCR を用い、これら各遺伝子を増幅する RT-PCR を行った。*mdr1* は、3 つの薬剤耐性株のうち GL-1/VCR のみに、*mrp* は CL-1 にその発現を認めた。*bcl-2* は、薬剤耐性獲得に伴い、CL-1/ADM で発現低下が、GL-1/ADM および GL-1/VCR で発現上昇が認められた。*TopoIIα* は、3 つの薬剤耐性株すべてにおいて、親株と比較してその発現が減少していた。*GSTπ* はいずれの細胞株にも発現がみられなかった。次に、4 例の抗がん剤感受性症例および 17 例の抗がん剤耐性例から成る合計 21 例の犬のリンパ系腫瘍症例から採取した腫瘍細胞においてこれらの薬剤耐性関連遺伝子の発現を検討した。*mdr1* は抗がん剤反応性の 4 例中 1 例、および抗がん剤耐性の 17 例中 10 例でその発現が認められた。*mrp* は抗がん剤耐性の 3 症例に、また *GSTπ* は抗がん剤耐性の 1 症例にその発現が認められた。*bcl-2* および *TopoIIα* は抗がん剤感受性および耐性の症例間で明らかな差は見られなかったが、21 症例中それぞれ 16 例および 15 例にその発現が認められた。以上のことから、犬のリンパ系腫瘍における薬剤耐性においては *mdr1* の発現が主要なはたらきを示すものと考えられたが、*bcl-2*、*TopoIIα* などの遺伝子の発現や、未知の機構によるものが存在することが示唆された。

第二章では多剤耐性克服薬の候補薬について、多剤耐性を示す犬および猫のリンパ系腫瘍細胞株における耐性克服効果を検討した。GL-1 および GL-1/VCR 細胞の他、猫のリンパ腫由来細胞株 FT-1 およびその ADM 耐性株 (FT-1/ADM) を用いた。これら GL-1/VCR および FT-1/ADM においては P-gp の明らかな発現が認められた。これらの細胞株に、シクロスポリン A (CsA)、タクロリムス (Tac)、ベラパミル (Ver) および新規キノリン化合物である MS-209 を添加し、ADM および VCR に対する感受性を 50% 増殖阻害濃度によって評価した。GL-1/VCR に CsA、Tac、Ver および MS-209 を添加したところ、ADM に対する感受性は 1.4~10 倍に、VCR に対する感受性は 31~375 倍に増強された。同様に FT-1/ADM にこれらの 4 剤を添加して培養したところ、ADM に対する感受性は 1.5~7.3 倍に、VCR

に対する感受性は1.2～35倍に増強された。このことから、P-gpを発現し、多剤耐性を獲得した犬および猫のリンパ系腫瘍細胞株において、CsA、Tac、VerおよびMS-209の4薬剤はいずれも抗がん剤に対する感受性を回復させる効果があることが明らかとなった。なかでも、MS-209はいずれの細胞株と抗がん剤の組み合わせにおいても良好な耐性克服効果を示した。また、MS-209は他の3剤とは異なり、単剤での生理活性および副作用がないことから、その臨床応用が期待された。

そこで第三章では、抗がん剤耐性となった犬および猫のリンパ腫症例におけるMS-209の薬剤耐性克服効果を検討した。VCRに耐性になった時点で、VCR投与による腫瘍縮小率の算定および末梢血中の腫瘍細胞の減少率の評価を行い、一定期間後に同一症例に対してVCRおよびMS-209を同時に投与して同様の評価を行った。この両治療法による効果の違いによって薬剤耐性症例におけるMS-209の有効性を判定した。本臨床試験の結果、リンパ腫の犬の7例中4例および猫の2例中2例において、VCR単独投与では認められなかった腫瘍の縮小や末梢血中腫瘍細胞の減少が、VCRとMS-209の同時投与によって明らかに認められた。このことから、MS-209が犬および猫のリンパ腫症例において耐性克服効果を有することが示された。

以上、犬および猫のリンパ系腫瘍における多剤耐性機構に関する本論文は学問的および応用上価値ある論文であり、審査委員一同は博士（獣医学）の学位論文に値するものと認めた。