

犬と猫の悪性腫瘍における臨床応用を目的とした集学的研究

藤原 亜紀

日本獣医生命科学大学 獣医学部 獣医学科 臨床獣医学部門 治療学分野 I・講師

日獣生大研報 66, 1-5, 2017.

はじめに

平成二十八年度梅野信吉賞に応募したこのテーマは、筆者が学部学生時の卒業論文研究から始まり、大学院での博士論文研究、教員となった現在まで九年にわたり継続しているものである。テーマの内容は「犬と猫の悪性腫瘍に対する集学的研究」と幅広く、さまざまな腫瘍を研究対象としたが、すべての研究は「臨床現場に還元すること」を目的としており現在もその考えに変わりはない。筆者の研究においては、実際に臨床現場で直面した疑問や悩みが研究テーマのヒントとなっている。それら研究成果を臨床現場に還元することは我々臨床教員の責務であり、我々しか行うことができない希少なものと考えている。本稿では筆者の研究概要とその研究に至る背景も含め紹介させて頂きたい。

研究の背景

過去二十年、日本における獣医療の発展により犬猫の平均寿命が飛躍的に延びている。その結果、人と同様に犬および猫においても悪性腫瘍が最も多い死亡原因となっている。人医療において腫瘍の三大療法として外科療法・化学療法・放射線療法が知られているが、これらは近年獣医療においても一般的に用いられ始めている。また人医療では三大療法に加えた第四の治療法の開発のため、さまざまな腫瘍の病態解明に関する基礎研究が行われており、分子標的薬や遺伝子治療などのより副作用の少ない治療へ応用されている。

現在獣医療において、悪性腫瘍に対する治療法は人医療から外挿するなど急速に発展しているが、大規模な臨床研究はまだ少ない。また、基礎的な病態解明についても主に一部の欧米から報告はあるが、多くは明らかとなっていない。そこで筆者は一般的に認められる犬および猫の悪性腫瘍に対し、将来的な臨床応用を目指し、さまざまな角度から研究を実施した。

犬鼻腔内腫瘍に対する低分割放射線療法の効果と副作用

これまで犬の鼻腔内腫瘍に対する治療法として、外科療

法・化学療法・放射線療法およびこれら併用療法が報告されていたが、多くは発生部位が脳に近いことや副作用などの問題から、高電圧 X 線を用いた放射線療法単独が欧米での主流であった。これら報告は根治を目的とした多分割照射を用いており、緩和を目的とした低分割照射に関する大規模報告は成されていなかった。一般的に放射線療法のプロトコルとして根治目的の多分割照射は、低い 1 回線量を週 3～5 回照射することで総線量として多くの線量が照射できる。そのため治療効果も高く、1 回線量が低いことから重篤な晩発障害発生も少ないことが利点である。一般的に放射線療法には副作用が伴い、これらは急性障害と晩発障害に分類される。犬猫において急性障害は照射中～3ヶ月程度の期間に認められ、一般的に可逆的であり発生することは避けられない。晩発障害は照射後 6ヶ月～数年後に認められ、不可逆的であるため重篤なものは発生させてはならない¹⁾。人医療ではほとんどの場合多分割プロトコルが採用されているが、獣医療と大きく異なる点としては動物には治療に麻酔が必要であることが挙げられる。一方で低（小）分割照射は 1 回線量が高く、週 1 回の照射のプロトコルであり、総線量は低く設定される。そのため抗腫瘍効果は低下するが麻酔や来院回数を減らすことが最大の利点である。1 回線量が高いため、晩発障害が発生する可能性が危惧され、基本的には長期生存の可能性が低い場合に緩和を目的として実施される。本学では頻回の麻酔や来院に伴う動物や飼い主の負担を低減させるため、犬鼻腔内腫瘍に対し低分割プロトコルを採用して来たため、治療効果・晩発障害に対する大規模検討を行った。

本学において低分割放射線療法を実施した 38 頭の鼻腔内腫瘍の犬に対し回顧的な調査を実施した。組織型は腺癌が最も多く (58%)、年齢の中央値は 10.5 歳、品種ではゴールデン・レトリバーが多く認められた。低分割放射線療法のプロトコルは 1 回線量中央値 8Gy、総線量中央値 32Gy、週 1 回照射であった。臨床徴候は 83% の症例で改善し、無増悪生存期間の中央値 245 日、生存期間 (OS) の中央値 512 日であった。急性障害としては眼脂・流涙 (72%)、脱毛 (50%)、色素沈着 (36%)、結膜炎 (31%) が最も多く認められたが、いずれも対症療法によってコン

トロール可能であった。晩発障害としては白内障 (33%) が最も多く、続いて KCS (20%) であった。重篤な晩発障害として考えられる、骨壊死や放射線誘発性の腫瘍形成などは認められなかった。今回の回顧的調査により、犬鼻腔内腫瘍に対する低分割照射は比較的高い反応率を得た。以前に無治療では生存期間中央値 96 日と報告されており、低分割照射プロトコールによっても延命の効果が認められた。また最も危惧されていた重篤な晩発障害の発生も認められなかったため、今後は犬鼻腔内腫瘍に対する治療の一選択肢として低分割照射もなり得ることが証明された。

これは学部生五年の時に当時筆者の指導教員であった藤田道郎准教授 (現、放射線学教室教授) から頂いたテーマである。当時本学にリニアックが導入され二年以上が経過し、犬の鼻腔内腫瘍の症例が多くデータが集積されて来たため、まとめて学会発表を行わないかとお話を頂いた。筆者は学部六年生の時にこの研究テーマで初めて学会発表を行い²⁾、その後に海外発表を経験したテーマであり、筆者にとってすべての研究の原点であったように思う。今振り返ってみれば度胸というよりも、世間知らず・怖いもの知らずであったと思うのだが、留学経験があるわけでもないのに同内容を英語に訳し、米国の Veterinary Cancer Society にて口頭発表を行った³⁾。時期的に国家試験の勉強会が始まっており、同級生が国家試験対策に勤しむ中、筆者は海外発表の準備に奔走した。統計解析や海外発表に精通した日本小動物がんセンターの小林哲也先生の元に通い、発表準備のご指導を頂き、初めての海外発表を無事終えた。帰国後は時差ボケに悩まされ、ようやく勉強会に出席できるようになっても居眠りばかりで全く集中できず、初めての模試はさんざんであった記憶がある。どうにか卒業試験・国家試験を突破した後獣医師免許を取得し、東京大学で次の悪性腫瘍研究を勤しむこととなった。本研究内容はその後症例の追跡を継続し、論文として報告した⁴⁾。

犬リンパ腫の病態解明

分子生物学的手法を用いた基礎研究は東京大学大学院において実施した。博士論文のテーマを決めるにあたり、指導教授であった辻本元教授 (東京大学獣医内科学教室) と大学院入学後から何度も話し合いの場を持って頂いた。テーマの探索のために診療日以外の日は医学部の図書館に何度も通い、人医療において盛んに腫瘍研究が行われている分野に関連した本をとにかく読み漁った。そこで決定したテーマは「エピジェネティック分野」であった。「エピジェネティック」な現象とは、DNA 配列の変化を伴わない遺伝子制御の総称であり、1980 年代に提唱され始めた比較的新しい分野である⁵⁻⁶⁾。この分野は人医療では研究が盛んに行われているが、獣医療ではほとんど報告が無かった。有難いことに生化学教室にエピジェネティック分野に精通した先生がいらっしゃり、専門的な指導を頂けることになった。また東京大学附属動物医療センターには血液腫瘍の来院数がとても多く、リンパ腫に遭遇することが多

かったため犬のリンパ腫を研究対象とした。人医療や実験動物では腫瘍に関する異常が多く報告されているが、獣医療ではほとんど関与が明らかにされていない癌抑制遺伝子 p16, p15, p14 に着目した。

犬のリンパ腫は発生頻度の高い腫瘍のひとつであり、造血器腫瘍の中では 83 ~ 85% と最も多くを占める悪性腫瘍である。リンパ腫は化学療法に対する感受性が高い腫瘍であることから、治療の多くは多剤併用による化学療法が用いられている。しかし多くの症例は化学療法により一度は寛解に至っても直に抗癌剤耐性を獲得、もしくは寛解に至ることなく死亡する。人医療においてリンパ腫の病態解明や予後予測のために、現在さまざまな基準に基づいた分類が行われその分類の多くは犬リンパ腫でも適用されている。しかしながら犬リンパ腫の病態を解明するためには犬における基礎的研究が必要であるが、分子生物学的な異常の点から検討している研究はまだ少ない。研究対象とした p16, p15, p14 遺伝子は細胞周期制御に関与する癌抑制遺伝子として広く知られている。これら p16, p15, p14 遺伝子のジェネティックおよびエピジェネティックな異常による不活化がヒトリンパ系腫瘍において頻繁に認められている。これら 3 種遺伝子のうち、p16 遺伝子の不活化は最も認められ、その多くはゲノムの欠失もしくは CpG island の高メチル化によるものである。さらにそれら機構による不活化がさまざまなリンパ系腫瘍において負の予後因子になるということが報告されている。犬リンパ腫において、その機構はほとんど明らかにされていない。そこで筆者は、犬リンパ系腫瘍における p16, p15, p14 遺伝子の不活化機構とその予後への影響を明らかにすることを目的とした。

まず p15, p14 遺伝子と配列が類似している p16 遺伝子の配列同定を行い、犬リンパ系腫瘍において p16, p15, p14 遺伝子の欠失を示唆するゲノム異常による不活化を検出した^{7,8)}。続いて犬リンパ系腫瘍において p16 遺伝子の CpG island のメチル化による不活化を検出した⁹⁻¹¹⁾。これらを踏まえ犬高悪性度リンパ腫症例における p16, p15, p14 遺伝子の不活化と予後との関連の検討を行い、p16 遺伝子の異常発現が負の予後因子として検出された^{12,13)}。一方で症例においては p16 遺伝子の不活化に関し、メチル化以外にもエピジェネティックな機構が存在すると考え、犬リンパ系腫瘍における p16 遺伝子のヒストン H3 アセチル化による不活化を検出した¹⁴⁾。

別のエピジェネティック現象として、血清中の循環 microRNA に着目した。microRNA とは 21-25 塩基長の短い RNA であり、mRNA の 3' 末端に対して相補的な配列を有し、mRNA に作用することで、翻訳抑制や mRNA の切断を行っていることが明らかになっている。これまで人医療ではさまざまな疾患における異常が報告されている。これらのうち分泌型 (循環) microRNA は、細胞外に分泌され血清中、尿中、脳脊髄液を循環し、膜小胞で包まれているため安定していることが知られている。循環 microRNA の役割は不明なことが多いが、人医療では

腫瘍や心疾患などで特定の microRNA が血清中で変化をすることが報告され始めており、新たな診断マーカーや治療マーカーになり得ることが期待されている。そこで犬のさまざまなリンパ腫症例において変化する microRNA を探索するために、61 頭のリンパ腫症例の血液を用いた。リンパ腫に伴う炎症による microRNA の変化を除外するために、比較対照として炎症性疾患を含むさまざまな非腫瘍疾患の犬の血液も 40 症例用いた。まず候補となる microRNA を絞り込むために、疾患および非腫瘍疾患 3 症例ずつにおいて 227 種の microRNA から網羅的解析を用いて発現変動の可能性のある 5 種の遺伝子を抽出した。その後、101 頭の血清から抽出した microRNA を用いて検証した。リンパ腫の分類にも基づいて検討した結果、miR-423a は非腫瘍疾患に比較してリンパ腫の分類に関わらず血清中で増加していた^{15,16)}。今後は治療反応に関連した変動、実際の腫瘍組織における変動を調査することが必要であると考えられた。

これらエピジェネティックな遺伝子制御は獣医療において数少ない報告となっており、本研究成果は犬のリンパ腫における病態解明の一助となった。今後、犬においてもエピジェネティック創薬の開発が進む中で、重要な研究結果と考えられる。筆者は上述した以外にも、研究室において多くのエピジェネティック研究に携わった¹⁷⁻²⁰⁾。筆者は学部学生時には分子生物学には授業以外には触れていなかったため、大学院でその技術を一から習得することになった。大学院の四年間で腫瘍に関する分子生物学手法を用いた研究において、五報の論文として報告できたのもひとえに多くのご指導頂いた先生方と大学院の同僚のお陰である。先生方には忙しい中研究進捗に関する話し合いの場を頻繁に設けて頂き、筆者が満足に研究できるよう十分な研究費を提供して頂いた。大学院の同僚は研究初心者であった私に実際の手法を指導して頂き、日々の結果に対し細めに相談に乗ってくれたためこれら研究を成し遂げることが出来たと思う。当時は懸命に研究を行うのみであったという間に四年が過ぎ去って行ったが、とても恵まれていた研究環境・人間関係に心より感謝している。

放射線療法に関する臨床研究

大学院を卒業後、母校に助教として着任することができ、これまで血液腫瘍に多く触れてきたが放射線治療が適応となる固形腫瘍に触れる機会が急激に増えた。本学では動物やご家族の頻回来院に伴う負担だけでなく、人員の制限もあり低分割プロトコルを適応している腫瘍も多かった。実際に診察を行って犬の鼻腔内腫瘍に関しては効果や副作用について容易に答えられるのに、他の腫瘍に関しては科学的な数値を示すことができていないことに疑問を感じた。これまで主要な腫瘍に対する多分割放射線療法の効果・副作用については海外から複数報告されているが、低分割プロトコルに関するものはほとんど報告されていないため、「治療には多くの子が反応します」「副作用ははず

れも可能性があります」とご家族に話すしかなかった。放射線療法の適応が多い疾患に対してはご家族に研究に基づいた科学的な証拠を示したいと考え、回顧的研究を行った。
・猫鼻腔内腫瘍²¹⁾

犬鼻腔内腫瘍と同様にこれまで低分割照射に関する大規模な報告はされていなかった。また猫の鼻腔内腫瘍にはリンパ腫がもっとも多く、リンパ腫以外の病理組織型と比較した報告も成されていなかった。猫の鼻腔型リンパ腫は局限していることが多く、放射線療法も化学療法も反応が良いと知られており、実際に数年にわたり寛解した症例を多くの獣医師が経験している。鼻腔型リンパ腫に関する治療報告は多いが、いずれも多分割照射であるため低分割照射に対する効果は不明であった。一方でリンパ腫以外の鼻腔内腫瘍に対する放射線療法については、多分割照射であっても少ない症例数の報告のみであった。

本学において低分割放射線療法を実施した 65 頭の鼻腔内腫瘍を有する猫に対し回顧的な調査を実施した。組織型はリンパ腫群が 29 頭 (45%) と最も多く、非リンパ腫群は 36 頭のうち腺癌 (32%) が最も多かった。年齢の中央値は 8.4 歳、12 歳とリンパ腫は若い傾向にあった。非リンパ腫では純血種が多い傾向にあった (42%)。低分割放射線療法のプロトコルは 1 回線量中央値 8Gy、総線量中央値 32Gy、週 1 回照射であった。臨床徴候は 83 ~ 90% の症例で改善し、OS の中央値はそれぞれの群で 412 日、450 日であり、予後に差は認められなかった。急性障害としては脱毛 (37%)、眼脂 (23%)、角結膜炎 (19%) が最も多く認められたが、いずれも対症療法によってコントロール可能であった。晩発障害としては白内障 (21%) が最も多く、重篤な晩発障害として眼球萎縮 (5.2%)、腫瘍形成 (2.6%) が認められ、いずれも若齢でリンパ腫を発症し、長期寛解した症例であった。今回の回顧的調査により、猫鼻腔内腫瘍に対する低分割照射は、比較的高い反応率を得るが、若齢期に発症したリンパ腫症例は、長期に生存する可能性があるため、プロトコルを再考する必要があると示された。これまでリンパ腫は長期寛解し、非リンパ腫は予後が短いと一般的に考えられていたが、OS 中央値に差は認めなかった。しかしながらリンパ腫症例の OS は 150 ~ 2009 日と幅広く、長期生存する症例と短期に転移再発する症例の存在も明らかとなった。

・犬口腔内悪性黒色腫²²⁾、犬四肢肥満細胞腫²³⁾

文字数の都合上今回は割愛するが、いずれも研究室所属学生を指導し、学会発表を行った。

・スコティッシュ・フォールドの骨軟骨異形成症

本疾患はスコティッシュ・フォールドに特異的に認められる遺伝疾患であり、腫瘍疾患ではない。スコティッシュ・フォールドに特徴的な耳折れに関連して発症し、若齢期より四肢と尾に骨関節症を生じる。臨床徴候は慢性疼痛、関節可動域の制限などであり生涯にわたり猫の生活の質を低下させる。根本的な治療法はなく、これまで鎮痛薬やサプリメントなどの対症療法が行われて来た。骨瘤を切除する

外科治療も報告されているが、早期に再増殖が認められている。人医療では関節などに対し疼痛緩和を目的とした低線量放射線療法 (LD-RT) が用いられており、骨軟骨異形成症に対して 1 症例のみ報告されているが、若齢期の照射のため晩発障害を考え長期にわたるモニタリングが必要であった。そこで本学では以前の報告に基づいて骨軟骨異形成症に対して LD-RT を実施し、これまで 15 症例以上においてその効果を検討している²⁴⁾。そのうち 3 症例において長期に追跡ができた²⁵⁾。3 症例の追跡期間は照射後 59 ~ 72 ヶ月、すべての症例は LD-RT 後に臨床徴候が改善し、X 線画像上病変部の進行は認めるものの、実施以前に比較して生活の質は向上したまま維持されていた。また、追跡期間内は壊死や腫瘍形成などの重篤な晩発障害は認められず、少なくとも 5 ~ 6 年間は有効な治療であることが示され、LD-RT は骨軟骨異形成症に対する新たな治療法として確立させた。その後、長期追跡していた症例の 1 症例が別の原因によって死亡したため、剖検を実施し放射線を照射した部位を病理組織学的に評価したところ、明らかな壊死や腫瘍形成所見は認められなかった。こちらの研究成果は今後論文準備中で発表である²⁶⁾。

結 語

一連の研究は本学 (学部, 現在) および東京大学 (大学院) において実施し、いずれも多くは悪性腫瘍を有する症例が多く来院する施設のため実施することができた研究と考えられる。これら集学的な研究は、実際に筆者が症例の診察を行い、診断・治療に苦慮した背景から研究題目に至っているため、独創的であり臨床現場に即した課題といえる。繰り返しになるが、臨床研究成果を臨床現場に還元することは我々臨床教員の責務であり、我々しか行うことができない希少なものである。これら研究成果は犬と猫の悪性腫瘍研究の発展に大きく貢献したと考えている。現在は本学において遭遇することの多い猫鼻腔内リンパ腫において末梢血の腫瘍細胞の数を定量し、侵襲の少ない新規診断・治療マーカーとして有用であることを国内外の学会にて発表した^{27,28)}。また、猫リンパ腫においても病態解明を目的とした、基礎研究を遂行中である。今回の筆者の受賞が今後本学における女性教員・若手研究者の少しでも研究の励みとなれば幸いである。

謝 辞

現在私の研究環境を全面的にサポート頂いております獣医放射線学教室、藤田道郎教授、長谷川大輔准教授、濱本裕仁先生、湯祥彦先生、研究室学生の皆様に感謝申し上げます。学部学生の時に進学へのきっかけを頂いた本学獣医放射線学教室織間博光名誉教授、学会発表に関してご指導頂いた小動物がんセンター小林哲也先生、また大学院時代に研究者としてのさまざまな礎をご指導頂いた東京大学獣医内科学教室辻本元教授、大野耕一准教授、後藤裕子特任准教授、高橋雅先生、福島建次郎先生、共に叱咤激励し研

究に邁進した大学院同僚 (金本英之先生、佐藤雅彦先生、望月浩之先生、中嶋真弓先生、前田真吾先生、富安博隆先生、五十嵐寛高先生)、エビジェネティック分野に対しご指導頂いた東京大学細胞生化学教室塩田邦郎教授、大鐘潤講師に心より感謝申し上げます。最後になりますが貴重な治療データやサンプルをご提供頂いた症例とご家族、東京大学附属動物医療センターおよび日本獣医生命科学大学附属動物医療センターのスタッフ皆様、これまで全面的に私をサポートして頂いた両親と大切な猫たちにも感謝申し上げます。

- 1) BOMFORD, C.K., KUNKLER, I.H. & HANCOCK, B.W. et al., 2003. Principles of management and dosage. In: Walter and Miller's Textbook of Radiotherapy, 6th edn. Churchill Livingstone, London. pp. 307-323.
- 2) 藤原亜紀, 藤田道郎, 小林哲也ら. 低分割放射線治療を行った鼻腔内腫瘍の犬における回顧的研究 (2005 ~ 2008). 2008 年度第 28 回日本獣医がん研究会.
- 3) FUJIWARA, A., FUJITA, M., KOBAYASHI, T. et al., 2008. Hypofractionated radiotherapy of nasal tumors in dogs: a retrospective study of 38 cases (2005-2008). Veterinary Cancer Society Annual Conference.
- 4) FUJIWARA, A., KOBAYASHI, T., KAZATO, Y. et al., 2013. Efficacy of hypofractionated radiotherapy for nasal tumours in 38 dogs (2005-2008). Journal of small animal practice, **54** (2), 80-86.
- 5) HOLLIDAY, R., 1987. DNA methylation and epigenetic defects in carcinogenesis. Mutation Research, **181**, 215-217.
- 6) HOLLIDAY, R., 2006. Epigenetics: a historical overview. Epigenetics, **1**, 76-80.
- 7) 藤原亜紀, 後藤裕子, 望月浩之ら. 犬のリンパ系腫瘍細胞における癌抑制遺伝子 p16, p15, p14 の欠失. 2011 年度第 125 回日本獣医学術集会.
- 8) FUJIWARA-IGARASHI, A., GOTO-KOSHINO, Y., MOCHIZUKI, H. et al., 2013. Simultaneous inactivation of the p16, p15 and p14 genes encoding cyclin-dependent kinase inhibitors in canine T-lymphoid tumor cells. The Journal of Veterinary Medical Science, **75**, 733-742.
- 9) 藤原亜紀, 後藤裕子, 高橋雅ら. 犬のリンパ系腫瘍細胞株における癌抑制遺伝子 p16, p15, p14 の発現低下および DNA CpG island DNA メチル化の検討. 2011 年度第 7 回日本獣医内科学アカデミー.
- 10) FUJIWARA-IGARASHI, A., GOTO-KOSHINO, Y., MOCHIZUKI, H. et al., 2011. Inhibition of the expression of a tumor suppressor gene p16 through hypermethylation of CpG island in canine lymphoid tumor cells, The Asian Meeting of Animal Medicine Specialities.

- 11) FUJIWARA-IGARASHI, A., GOTO-KOSHINO, Y., MOCHIZUKI, H. et al., 2014. Inhibition of p16 tumor suppressor gene expression via promoter hypermethylation in canine lymphoid tumor cells. *Research in Veterinary Science*, **97** (1), 60-3.
- 12) 藤原亜紀, 後藤裕子, 佐藤雅彦ら. 犬の多中心型高悪性度リンパ腫症例における p16, p15, p14 遺伝子の発現および p16 遺伝子 CpG island のメチル化の検討. 2012 年度第 8 回日本獣医内科学アカデミー.
- 13) FUJIWARA-IGARASHI, A., GOTO-KOSHINO, Y., SATO, M. et al., 2014. Prognostic significance of the expression levels of the p16, p15, and p14 genes in dogs with high-grade lymphoma. *The Veterinary Journal*, **199** (2), 236-44.
- 14) FUJIWARA-IGARASHI, A., TOMIYASU, H., IGARASHI, H. et al., 2016. Regulation of p16 gene expression by histone H3 acetylation in canine lymphoid tumor cell lines. *Japanese Journal of Veterinary Research*, **64** (4), 257-263.
- 15) 藤原亜紀, 水谷格之, 五十嵐寛高ら. 犬リンパ腫症例において発現変動を示す血清中 microRNA の同定. 2013 年度第 9 回日本獣医内科学アカデミー.
- 16) FUJIWARA-IGARASHI, A., IGARASHI, H., MIZUTANI, N. et al., 2015. Expression profile of circulating serum microRNAs in dogs with lymphoma. *The Veterinary Journal*, **205** (2), 317-2.
- 17) MAEDA, S., OHNO, K., FUJIWARA-IGARASHI, A. et al., 2014. Methylation of TNFRSF13B and TNFRSF13C in duodenal mucosa in canine inflammatory bowel disease and its association with decreased mucosal IgA expression. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **160** (1-2), 97-106.
- 18) SATO, M., MOCHIZUKI, H., GOTO-KOSHINO, Y. et al., 2014. Hypermethylation of the death-associated protein kinase CpG island in canine B-cell lymphoid tumors. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **161** (3-4), 222-31.
- 19) TOMIYASU, H., FUJIWARA-IGARASHI, A., GOTO-KOSHINO, Y. et al., 2014. Evaluation of DNA methylation profiles of the CpG island of the ABCB1 gene in dogs with lymphoma. *American Journal of Veterinary Research*, **75** (9), 835-41.
- 20) MOCHIZUKI, H., FUJIWARA-IGARASHI, A., SATO, M. et al., 2017. Genetic and epigenetic aberrations of p16 in feline primary neoplastic diseases and tumor cell lines of lymphoid and non-lymphoid origins. *The Veterinary Journal*, **219**: 27-33.
- 21) FUJIWARA-IGARASHI, A., FUJIMORI, T., OKA, M. et al., 2014. Evaluation of outcomes and radiation complications in 65 cats with nasal tumours treated with palliative hypofractionated radiotherapy. *The Veterinary Journal*, **202** (3), 455-61.
- 22) 藤森俊希, 藤原亜紀, 風戸友佳里ら. 口腔内悪性黒色腫の犬における低分割放射線治療の効果・副作用の評価検討. 2014 年度第 10 回日本獣医内科学アカデミー.
- 23) 西村友璃, 藤原亜紀, 宮直人ら. 肥満細胞腫の犬における低分割放射線治療の効果・副作用の評価検討. 2015 年度第 11 回日本獣医内科学アカデミー.
- 24) 齋藤有理江, 藤原亜紀, 長谷川大輔ら. スコティッシュ・フォールドにおける骨軟骨異形成症に対する放射線治療の効果検討. 2015 年度第 11 回日本獣医内科学アカデミー.
- 25) FUJIWARA-IGARASHI, A., IGARASHI, H., HASEGAWA, D. et al., 2015. Long-term evaluation of the efficacy and complications of palliative irradiation in three Scottish Fold cats with osteochondrodysplasia. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **29** (6), 1643-7.
- 26) 藤原亜紀, 坪井誠也, 五十嵐寛高ら. 放射線治療を実施したスコティッシュ・フォールドの骨軟骨異形成症における長期経過後の病変部画像および病理組織学的所見. 2017 年度第 13 回日本獣医内科学アカデミー.
- 27) 藤原亜紀, 藤森俊希, 西村友璃ら. 猫高悪性度リンパ腫症例における末梢血中の微小残存病変 (MRD) 測定の有効性検討. 2015 年度第 11 回日本獣医内科学アカデミー.
- 28) FUJIWARA-IGARASHI, A., FUJIMORI, T., NISHIMURA, Y. et al., 2015. Evaluation of minimal residual disease in peripheral blood by using the real-time polymerase chain reaction in feline high-grade nasal lymphoma. *Asian Meeting of Animal Medicine Specialties*.