

犬の肥満細胞腫における *KIT* 変異と
トセラニブ感受性に関する研究

(Studies on *KIT* mutations and toceranib susceptibility in canine mast cell tumor)

学位論文の内容の要旨

日本獣医生命科学大学大学院生命科学研究科

獣医学専攻博士課程平成 28 年入学

栗田 晟那

(指導教授：盆子原 誠)

犬の肥満細胞腫の治療ではキナーゼ阻害剤トセラニブがしばしば用いられ、特定の症例において著しい効果が見られる。トセラニブは KIT、PDGFR、VEGFR などの分子を標的とするマルチキナーゼ阻害剤であり、肥満細胞腫では変異により恒常的に活性化した KIT を抑制することで効果をあらわすと考えられている。しかしながら、必ずしも *KIT* の変異の有無とセラニブの効果の有無が一致するわけではなく、このため肥満細胞腫に対するトセラニブの個別化治療は実現していない。そこで本研究では、まず犬の肥満細胞腫 164 症例のゲノム DNA を NGS 解析し、*KIT* 変異の網羅的探索を行った。また NGS 解析で認められた変異およびいくつかの既知の変異について組み換え KIT 蛋白を作製し、各変異 *KIT* の性状解析を行った。その結果、犬の肥満細胞腫では *KIT* の広範な領域に多様な変異が存在していることが明らかとなり、変異によって異なる特性を有することが明らかとなった。また、これらの中には *KIT* にトセラニブ抵抗性を与える変異が低頻度ではあるが複数存在し、トセラニブ抵抗性のマイナークローンを有する症例が存在すると考えられた。そこで次に、肥満細胞腫細胞株を用いてトセラニブ耐性の獲得過程における *KIT* 変異の発生プロセスを解析した。この解析により、トセラニブ耐性化には *KIT* に生じた二次変異が重要な役割を果たしていることが明らかとなった。よって次に、トセラニブ耐性肥満細胞腫の克服

戦略を構築するため、KIT シグナルの下流に存在する SHP2 に着目し、トセラニブ耐性肥満細胞腫細胞株の増殖におよぼす SHP2 阻害剤の影響について検討した。トセラニブ耐性肥満細胞腫株化細胞において、SHP099 単独では十分な増殖抑制効果が得られなかったが、SHP099 とトセラニブの併用によって KIT-SHP2 シグナルが抑制され増殖が抑制されることが示された。本研究より、犬の肥満細胞腫におけるトセラニブの治療を個別化する上では、各変異の特性を踏まえたアプローチが必要と考えられた。とくにトセラニブ抵抗性の *KIT* 二次変異を持つ腫瘍細胞は腫瘍組織に予め微量存在する場合とトセラニブの暴露によって *de novo* に生じる場合があることが示され、これらトセラニブ抵抗性クローンの検出とそれ踏まえた治療戦略の構築が重要と考えられた。また、トセラニブ抵抗性クローンに対してはトセラニブと SHP2 を組み合わせた治療が有益である可能性が考えられた。