

犬の肥満細胞腫におけるイマチニブ耐性化に関する研究

(Studies on the development of resistance to imatinib in canine mast cell tumor)

学位論文の内容の要旨

獣医生命科学研究科獣医学専攻博士課程平成 24 年度入学

小林 正人

(指導教授：鷺巣月美)

KIT に変異を有する犬の肥満細胞腫 (MCT) ではイマチニブが奏功するが、最終的に耐性を獲得することが問題となっている。一方、MCT のイマチニブ耐性化の解析はほとんど行われておらず、その耐性機構は不明である。そこで、本研究では犬の肥満細胞腫のイマチニブ耐性機構を解明することとした。

まず、イマチニブに対して耐性を獲得した MCT 症例の治療前および耐性獲得後の *KIT* の塩基配列の解析を行ったところ、6 症例中 1 症例で *KIT* に二次変異 (c.2463T>A) が同定された。一方、5 症例では二次変異は同定されなかった。

次いで、イマチニブに感受性の犬の肥満細胞腫株化細胞 CoMS および VI-MC からそれぞれのイマチニブ耐性株 rCoMS1 (IC50 約 9 μ M) および rVI-MC1 (IC50 約 2 μ M) と rVI-MC10 (IC50 約 12 μ M) を作製した。これらの細胞を用いて、腫瘍細胞のイマチニブ耐性化機構について検討した。rCoMS1 では *KIT* の過剰発現が認められた。さらに、この *KIT* の過剰発現はイマチニブにより *KIT* のユビキチン化が抑制されることで誘導されたと考えられた。一方、rVI-MC1 および rVI-MC10 では二次変異 (c.1523A>T) が同定され、この変異を有する *KIT* のリン酸化はイマチニブに抵抗性を示した。さらに、rVI-MC10 では高濃度のイマチニブに対して *KIT*/SFK 非依存性の ERK の活性が認められた。

以上から、イマチニブに対して耐性を獲得した犬の肥満細胞腫において、*KIT* に二次変異を持つ症例の割合は少ないことが示唆された。株化細胞を用いた解析から、*KIT* に二次変異を持たない症例では、イマチニブが *KIT* のユビキチン化を抑制することで *KIT* が過剰発現し、その結果イマチニブに対して耐性を獲得している場合があると考えられた。一方、*KIT* に二次変異を持つ症例では、二次変異によりイマチニブ耐性を獲得することが示された。また、二次変異に加えて *KIT*/SFK 非依存性の ERK 活性化が起こり、イマチニブに対してより強い耐性を獲得することもあると考えられた。