

論文審査の結果の要旨

氏名：吉田 織江

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

論文題名：犬の副腎腫瘍の診断と治療に関する研究

審査委員：（主査） 教授 浅野 和之

（副査） 教授 杉谷 博士

教授 亘 敏広

犬の原発性副腎腫瘍では、皮質由来の副腎皮質腺腫と副腎皮質腺癌、髄質由来の褐色細胞腫の発生が非常に多く認められる。副腎腫瘍が機能性である場合には、皮質からは糖質あるいは鉱質コルチコイドが、髄質からはカテコールアミンが過剰に分泌されることから、クッシング症候群やコーン症候群、高血圧、頻脈、不整脈などが発生する危険性があり、生命を脅かす問題となり得る。また、悪性腫瘍であった場合には転移や血管内浸潤を起こす可能性があり、腫瘍が破裂することによって腹腔内出血が発生する危険性もある。したがって、副腎腫瘍の治療の第一選択は外科的切除であり、手術で摘出できた場合には生存期間の延長が見込めるとされている。しかし、副腎腫瘍の外科的切除は術中や術後の合併症の発生率が高いため、綿密な周術期管理が必要とされるが、腫瘍の種類によって大きく異なることから、術前の鑑別診断が非常に重要である。さらに、後大静脈内浸潤を伴う場合には、血流遮断を含む高度な外科的手技が要求される。

以上のことから、犬の副腎腫瘍における診断と治療について検討することを目的として、第1章では犬の副腎褐色細胞腫に対する血中および尿中バイオマーカーの診断的有用性について調査した。次いで、第2章では画像診断技術の一つであるコンピュータ断層撮影法(CT)を用いた犬の原発性副腎腫瘍の鑑別診断の可能性を検討した。第3章では犬の副腎腫瘍に対する外科治療成績を回顧的に調査し、第4章において血管内浸潤を伴う副腎褐色細胞腫に対する新しい外科的手技である *Veno-venous bypass* の有用性を評価した。最後に、第5章では犬の副腎腫瘍の周術期補助療法として分子標的になり得ると予想される血管新生因子、増殖因子およびそのレセプターの遺伝子発現を定量解析し、犬の副腎腫瘍における分子生物学的特徴について検討した。

1. 副腎褐色細胞腫に対する血中および尿中バイオマーカーの診断的有用性の検討

犬の褐色細胞腫は、カテコールアミンの過剰分泌により高血圧や頻脈などを引き起こし、さらに、転移や後大静脈内浸潤を高率に認めることから悪性腫瘍に分類される。人医療では、血漿・24時間尿中カテコールアミンおよびカテコールアミン代謝産物の測定を診断の一助としているが、犬の褐色細胞腫においてはこれらのパラメーターの比較や詳細な報告は少ない。そこで本研究では、褐色細胞腫のカテコールアミンならびにその代謝産物の分泌について特徴を明らかにするとともに、診断的有用性について検討を行った。

本研究は、2009年9月から2015年4月の間に本学附属動物病院に来院し、外科的切除を行った副腎腫瘍の犬21頭を対象とし、比較検討のために健常犬16頭を用いた。術前に血漿・尿中カテコールアミン分画(アドレナリン、ノルアドレナリン、ドパミン)、血漿・尿中ホモバニリン酸、血漿・尿中

バニルマンデル酸、尿中メタネフリン分画(メタネフリン、ノルメタネフリン)および尿中クレアチニンを測定し、尿中項目は尿中クレアチニン値で除して補正值の算出を行った。すべての項目において感度、特異度、陽性的中率および陰性的中率を算出した。

その結果、皮質腫瘍群(副腎皮質腺腫および腺癌)10頭、褐色細胞腫群11頭であり、さらに褐色細胞腫群のうち、臨床検査時または術中の腹腔内操作に関連した高血圧、頻脈、不整脈の徴候を認めた機能性群が6頭(55%)、これらの徴候が認められなかった非機能性群が5頭(45%)であった。褐色細胞腫群(機能性群)において血漿ドパミン、尿中ノルメタネフリンならびに尿中ノルメタネフリン・クレアチニン比で感度が100%、特異度、陽性的中率および陰性的中率のすべてが80%以上と高値を示した。

以上より、機能性褐色細胞腫であった場合には血漿ドパミン、尿中ノルメタネフリン値の測定や尿中ノルメタネフリン・クレアチニン比の算出により、術前に副腎皮質由来腫瘍との鑑別診断が可能となることが示唆された。

2. Triple-phase helical CT法を用いた原発性副腎腫瘍の術前鑑別診断の検討

第1章により、機能性の褐色細胞腫に対する血漿中ならびに尿中バイオマーカーの診断的有用性が明らかとなったものの、非機能性の副腎腫瘍であった場合にはバイオマーカーのみでの鑑別診断は困難である。そこで画像診断技術のひとつであるCTを用いて、副腎腫瘍の形態学的特徴や造影剤による増強程度の違いによる鑑別診断の可能性を検討した。

本研究は2007年4月から2013年11月に本学附属動物病院に来院し、術前にTriple-phase helical CTを行った後に副腎摘出術を行った犬36頭を用いた。犬を全身麻酔後に伏臥位に保定し、血管造影剤としてイオヘキソール2.5mL/kg(750mgI/kg)を橈側皮静脈より投与した。造影前、投与開始20秒後(動脈相)、投与開始40秒後(静脈相)、投与開始2分後(平衡相)で撮像を行った。各時相で得られた画像より腫瘍の形態学的特徴(最大径、辺縁の形態)、石灰化の有無、大血管への浸潤の有無、造影パターンおよびCT値を評価した。さらに、各時相のCT値を用いてPercentage enhancement washout ratio (PEW)、Relative percentage washout (RPW)、Washin値、Washout値を算出した。また、CT後に副腎摘出術を実施して病理組織学的検索を行った。

その結果、皮質腺腫7頭、皮質腺癌16頭、褐色細胞腫13頭であった。腫瘍最大径、辺縁の不整、大血管への浸潤、腫瘍の不均一性は、皮質腺腫と比較して褐色細胞腫で有意に高値であった。造影前最小CT値、静脈相平衡相間のWashout値は、皮質腺癌と比較して皮質腺腫で有意に高値であった。造影前、動脈相および静脈相CT値、Washin値、Washout値、PEW、RPWにおいて、皮質腺癌と比較して褐色細胞腫で有意に高値を示した。さらに、腫瘍内石灰化は褐色細胞腫と比較して皮質腺癌で有意に高率で認められた。

以上より、Triple-phase helical CTによって得られた腫瘍の形態的特徴、大血管への浸潤や石灰化の有無、CT値、さらにCT値を用いた算出値など多くのパラメーターを使用することにより、原発性副腎腫瘍の術前鑑別診断が可能であることが示唆された。

3. 原発性副腎腫瘍に対する外科治療成績に関する回顧的研究

第1章ならびに第2章の結果より、犬の原発性副腎腫瘍の術前の鑑別診断の可能性が示唆された。そこで本研究では、2007年1月から2015年8月に本学附属動物病院に来院し、外科的切除を行って

病理組織学的に診断された副腎腫瘍の犬 46 頭における外科治療成績について回顧的に調査した。

その結果、皮質腺腫が 11 頭、皮質腺癌が 19 頭、褐色細胞腫が 16 頭であった。犬種は、ミニチュアダックスフンドが 6 頭(13%)と最も多く、性別は雄 15 頭、雌 31 頭であり、雄よりも雌で約 2 倍の発生が認められた。年齢の中央値は 11.2 歳と高齢で発症し、体重の中央値は 8.4kg と小～中型犬での発生が多い傾向にあった。術後 14 日以内に死亡した症例は 10/46 頭(22%)であり、皮質腺腫が 1/11 頭(9%)、皮質腺癌が 5/19 頭(26%)、褐色細胞腫が 4/16 頭(25%)であった。腫瘍栓は皮質腺癌の 6 頭(32%)、褐色細胞腫の 13 頭(81%)に認められ、皮質腺腫、皮質腺癌と比較して褐色細胞腫では有意に高率で認められた。全症例における術後生存期間の中央値は 851 日間であり、腫瘍ごとでは皮質腺腫が 994 日間、皮質腺癌が 732 日間、褐色細胞腫が 907 日間であった。さらに、術中に腫瘍栓が認められた症例では術後生存期間の中央値は 661 日間であったのに対し、腫瘍栓が認められなかった症例では術後生存期間の中央値は 907 日間であり、有意に生存期間の延長を認めた。

以上より、副腎腫瘍摘出術では長期予後は良好なものの、短期予後では既存の報告と同等の死亡率が示され、短期予後を改善することによって治療成績を向上できる可能性が示唆された。さらに、腫瘍栓は褐色細胞腫で有意に高率で認められ、生存期間を有意に短縮させることから、腫瘍栓を伴う副腎腫瘍に対する外科的切除をより安全かつ適切に実施することが治療成績の改善につながることを示唆された。

4. 後大静脈浸潤を伴う副腎褐色細胞腫の外科的切除における Venovenous bypass の有用性

第 3 章の結果から悪性腫瘍であった場合には腫瘍栓の形成が高率で生じ、腫瘍栓を伴う場合は予後が有意に短縮することが示された。特に、腫瘍が巨大化して後大静脈内に腫瘍栓を形成している場合には、全身の血液循環を維持しながら腫瘍を分離・摘出しなければならず、手術は技術的に非常に困難となる。そこで、静脈還流を維持できる Venovenous bypass を用いた副腎腫瘍摘出術を考案し、後大静脈浸潤を伴う巨大副腎褐色細胞腫に応用して Venovenous bypass の有用性を検討した。

本研究は、巨大な副腎の腫瘍性病変を持つゴールデンレトリバーの 3 頭で行われた。術前の CT 所見に基づき、巨大副腎腫瘍を後大静脈の一部と腎臓もしくは後大静脈の一部ごと一括して切除する手術が計画された。後大静脈を仮遮断中は 2 本のアンスロンバイパスチューブ(東レ・メディカル、VTT 型、内径 3mm、外径 4mm)を用いて大腿静脈と頸静脈を連結することで全身の血液循環の維持を図った。摘出した腫瘍は病理組織学的検査に供されて褐色細胞腫と診断された。

すべての症例で副腎腫瘍と罹患側の腎臓の一括切除と後大静脈の再建が可能であった。1 頭は術後から尿産生の低下が認められ、術後 3 日目に死亡したものの、その他 2 頭は術後経過が良好であった。

以上より、副腎腫瘍が非常に大きく周囲組織に浸潤して後大静脈に腫瘍栓を形成している場合、Venovenous bypass を用いることで静脈還流を維持して後大静脈遮断中も血行動態を安定化させることができるため、副腎腫瘍を安全かつ適切に分離して完全切除できることが示された。したがって、Venovenous bypass は後大静脈浸潤を伴う巨大副腎腫瘍の切除に有効であることが示唆された。

5. 副腎腫瘍における血管新生因子、増殖因子および増殖因子レセプターの遺伝子発現解析

第 3 章より副腎腫瘍摘出術の長期予後は良好であることが示されたが、副腎腫瘍摘出後に再発を起して死亡している症例の存在が明らかとなったため、周術期補助療法として副腎腫瘍の分子標的に

なり得ると予想される血管新生因子、増殖因子およびそのレセプターの遺伝子発現を定量解析し、犬の副腎腫瘍における分子生物学的特徴について検討することで、人医療で腫瘍性疾患に臨床応用されている分子標的治療薬の適応の可能性を検討した。

本研究は、2012年3月から2015年4月に本学附属動物病院に来院し、外科的切除を行った皮質腺腫の犬の組織4検体、皮質腺癌の犬の組織7検体、褐色細胞腫の犬の組織9検体および、健常犬3頭(6検体)を用いた。定量解析する遺伝子として腫瘍の増殖に必要と考えられている血管増殖因子を含む血管内皮細胞増殖因子-A(VEGF-A)、血管内皮細胞増殖因子受容体-1、2および3(VEGFR-1, 2, 3)、血小板由来成長因子-B(PDGF-B)、血小板由来成長因子受容体- β (PDGFR- β)、アンジオポイエチン-2(Ang-2)、Tie2、上皮細胞成長因子(EGF)、上皮細胞成長因子受容体(EGFR)、形質転換増殖因子- α (TGF- α)、ヘパリン結合性EGF様増殖因子(HB-EGF)、肝細胞増殖因子(HGF)、MET、インスリン様成長因子1(IGF1)、インスリン様成長因子1および2受容体(IGF1R, 2R)の17遺伝子を選択した。

その結果、今回解析した17遺伝子では腫瘍群間で有意差は認められなかったため、犬の副腎腫瘍間での挙動の違いにはこれらの細胞増殖シグナルを担う遺伝子の発現は関与していない可能性があり、他の遺伝子の変異やタンパク質発現の変化の関与についてさらなる研究が必要であると考えられた。

本研究によって、犬の機能性副腎褐色細胞腫に対する血中および尿中バイオマーカーを用いることによって術前鑑別診断が可能であることが示された。さらに、Triple-phase helical CTを応用することによって原発性副腎腫瘍に対する術前鑑別診断が可能であることが示唆され、これらの検査を応用することによって副腎腫瘍の術前診断が可能であることが示された。犬の原発性副腎腫瘍の回顧的研究を行うことで、腫瘍ごとによる外科治療成績が明らかとなり、予後因子について検討したところ、腫瘍栓形成が治療成績を悪化させる可能性が示された。したがって、後大静脈浸潤を伴う巨大副腎褐色細胞腫に対してVeno-venous bypassを適用したところ、術中の血行動態が安定化して外科的切除に有効であることが示された。最後に、犬の副腎腫瘍における分子生物学的特徴を明らかにしたものの、今回検討した遺伝子は治療の標的になり得ないことが推測された。

以上のことから、本研究は犬の副腎腫瘍における診断と治療に関して新たな知見を有しており、小動物臨床に大きく寄与するものと思われる。

よって本論文は、博士(獣医学)の学位を授与されるに値するものと認められる。

以上

平成 28 年 1 月 20 日