

論文審査の結果の要旨

氏名：安川 慎二

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

論文題目：犬の膝蓋骨内方脱臼において生じる骨変形と病態の解析

審査委員：（主査） 教授 中山 智宏

（副査） 教授 浅野 和之

教授 渋谷 久

准教授 枝村 一弥

本論文は、犬の膝蓋骨内方脱臼（MPL）において生じる骨変形を検証し、その病態メカニズムを病理学的および分子生物学的手法を用いて解析を行った研究である。

第一章では、わが国で飼育されている犬のMPLの発生状況を把握するために、一次診療施設を受診した犬を対象に大規模な疫学的調査を実施した。今回の調査では、調査対象全体の19.2%（533/2,770頭）にMPLが認められた。MPLの症例は、成長期に多発し、小型犬種に多い傾向がみられた。MPLの好発犬種は、トイ・プードル、チワワ、ヨークシャー・テリア、ポメラニアンであり、この結果は他国の疫学的情報とほとんど一致していた。MPL罹患犬の性別は、雄が256頭（未去勢126頭・去勢済130頭）、雌が277頭（未不妊152頭・不妊済125頭）と、雌の方が有意に罹患率が高かった。調査対象全体において、両側性のMPLが342頭（12.3%）で認められ、片側性のMPLは191頭（6.9%）であった。MPL罹患犬の中では、64.2%が両側性であり、両側性のMPLの発生が有意に多かった。調査対象全体に対するMPLの各グレードの罹患率は、グレード1が10.9%、グレード2が7.8%、グレード3が3.1%、グレード4が0.3%であった。MPL罹患犬内での割合は、グレード1とグレード2で全体の85%以上を占めていた。本検討の結果から、わが国で飼育されている犬の5頭に1頭がMPLに罹患している可能性が示唆された。また、トイ・プードルにおいてMPLの罹患例が顕著に多かったことから、骨形態や病態の解析に最も臨床的価値の高い犬種であることが示された。これらの疫学的調査の結果は、わが国のMPLの発生を把握するためのきわめて貴重な研究成果と評価した。

第二章では、わが国で最もMPLの罹患数が多いトイ・プードルを対象とし、MPLによって生じる大腿骨、脛骨、膝蓋骨の骨変形についてコンピューター断層撮影（CT）を用いて三次元で評価し、それらの骨変形と重症度との関係について検討を行った。本検討の結果、MPLのトイ・プードルにおいては、グレード3群までは有意な骨変形を生じていなかったのに対し、グレード4群においては、大腿骨、脛骨、膝蓋骨の全てに様々な骨変形が生じていた。重度なMPLでは、大腿骨における内反変形と外方捻転、滑車溝の低形成、大腿骨顆におけるcranialおよびmiddle compartmentの低形成、脛骨近位の内旋変形、脛骨稜の内方への変位、膝蓋骨の成長不良が生じることが明らかとなった。過去にX線画像をもとに二次元で骨の形態を評価した報告から、重度なMPLの症例における大腿骨内側顆の低形成はcaudal compartmentの低形成が主体であると考えられてきたが、本検討において三次元で詳細に検討したところcaudal compartmentの低形成は生じておらず、新たにcranialおよびmiddle compartmentの低形成が主体であることが明らかになった。本検討で明らかになった大腿骨顆に生じる形態異常は、外科手術の術式を決定する上で重要な判断基準となり得るため、その臨床的価値はきわめて高い。MPL罹患犬に生じる骨変形について、同一個体内で膝関節を構成する複数の骨を同時に三次元で解析することにより、MPLによって生じる骨変形をより正確に評価することができた。これらの骨変形は、大腿四頭筋群の起始部と終止部を結ぶ直線に沿って生じており、大腿四頭筋群による持続的な牽引が関与している可能性が示唆された。本研究は、CTを用いて三次元でMPLの症例の骨形態を評価することで初めてられた知見もあり、その研究成果はきわめて臨床的価値が高いと判断された。

第三章では、MPL 罹患犬の膝関節周囲の筋肉において超音波検査を実施することでスクリーニングを行い、異常な筋肉を同定した。その結果、全症例で縫工筋、大腿直筋、内側広筋、外側広筋、中間広筋をそれぞれ描出することが可能であった。超音波画像における異常所見は、内側広筋に集中しており、特にグレード 4 群では全症例において内側広筋が高輝度を呈していた。次いで、同一症例において超音波検査にて異常が認められた内側広筋を術中に採取し、その一部を用いて病理組織学的検査を実施した。病理組織学的検査では、MPL の重症度が増すにつれて筋線維の大小不同が認められ、筋萎縮が生じていることが明らかになった。これらの筋萎縮は神経原性筋萎縮でないことが初めて明らかになった。しかし、内側広筋の異常が筋原性筋萎縮と廃用性筋萎縮のいずれによって生じているかについては判別できなかった。また、グレード 4 群の症例においては、筋束内の脂肪置換と間質への膠原線維の浸潤により、筋線維がほとんど認められない症例も存在した。さらに、一部の重度な MPL 症例の内側広筋から採取した mRNA を用いてマイクロアレイを行い、その発現を網羅的に解析した。マイクロアレイによる解析結果をもとに、内側広筋の異常に関係する遺伝子を推測し、Real time PCR にて候補遺伝子の発現量を定量的に評価することで MPL の病態メカニズムの解明を試みた。さらに、マイクロアレイによる発現変動遺伝子の網羅的解析を行ったところ、解糖系、アディポサイトカインシグナル伝達経路、FOXO シグナル伝達経路において複数の遺伝子に有意な発現強度の変動が認められた。Real time PCR による定量的解析を行ったところ、グレード 4 群の症例においては、今回検討した全ての解糖系に関する mRNA の発現量が低い傾向が認められた。これらの中で、*PGAM2* の発現量はグレード 4 群で有意な低値を示した。また、FOXO シグナル伝達経路においては、*IGF1*、*AKT3*、*FOXO1*、*FBXO32* の発現量に各群間で有意差は認められなかった。その一方で、グレード 4 群においては、*PPARGCIA* の発現量が正常群に比較し有意な低値を示した。本検討の結果、重度な MPL の症例では、病理組織学的異常と骨格筋の糖代謝および筋萎縮に関与する一部の mRNA の発現量に有意な変化が認められた。これらの結果から、MPL の病態メカニズムに内側広筋が重要な役割を果たしている可能性が示唆された。本検討は、世界で初めて MPL の症例の筋肉の病態を評価した研究であり、優れた研究内容であることで意見が一致した。

本研究は、犬の MPL において生じる骨変形を検証し、その病態メカニズムを病理学および分子生物学的手法を用いて解析を行った世界で初めての研究である。疫学的調査の結果から、MPL はわが国の犬が罹患している最も多い疾患といっても過言ではなく、その重要性が再認識された。また、これまで三次元での骨形態の解析が困難であったグレード 4 の症例も含め検討を行ったところ、重度な MPL で生じる骨変形の詳細を明らかにしたとともに、新たな知見を得ることができた。その結果、MPL に伴う骨変形は、大腿四頭筋群の起始部と終始部に沿って生じていたことから、大腿四頭筋群の牽引が膝関節を構成する骨の変形に影響を与えている可能性が示唆された。本研究では、さらに内側広筋に焦点を当てて、病理組織学および分子生物学的に解析を行ったところ、MPL 罹患犬の内側広筋において生じる変化を初めて明らかにすることができた。これらの結果より内側広筋は、MPL の病態生理において重要な役割を果たしている可能性が示唆された。本研究で得られた結果は、獣医療における MPL の治療に大きく貢献することが期待され、その価値はきわめて高いと判断された。

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 2月 1日