

論文の内容の要旨

氏名：中澤 慈

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

論文題目：犬の慢性腸症の好発品種と MHC クラス II 遺伝子型に関する研究

犬の慢性腸症は 3 週間以上の嘔吐や下痢などの症状を示す疾患であり、遺伝的要因や環境要因、免疫要因の関与する多因子性の疾患と考えられているが、病態は未だ不明である。治療には主に食事療法、抗生剤、グルココルチコイドや免疫抑制剤の投与が行われるが、難治性の慢性腸症は再発を繰り返し犬や飼い主の QOL を著しく低下させることから、病態解明や新たな診断・治療が必要とされる疾患である。

近年様々な免疫介在性疾患に関連する遺伝子として注目されている主要組織適合性複合体 (MHC) のクラス II 分子は、細胞外由来の抗原ペプチドを T 細胞に対して抗原提示し、炎症反応を惹起する重要な分子である。MHC クラス II 分子をコードする遺伝子は最も多型性に富む遺伝子であり、抗原提示部位に多型が集中する。多型による構造的変化が抗原との結合性に変化をもたらし、様々な異物を排除する役割を果たす一方で、自己抗原等に過剰に反応すると免疫介在性疾患の一因となると考えられている。MHC の遺伝子型は人や犬の様々な免疫介在性疾患の発症に関連しているという報告があるが、犬の慢性腸症についての報告は少ない。

そこで本研究は、犬の慢性腸症と MHC クラス II 遺伝子型の関連性の検討、および MHC クラス II 遺伝子型の臨床応用へ向けた知見の収集を目的に、はじめに日本大学動物病院における慢性腸症の好発犬種と各犬種における慢性腸症の臨床的特徴について調査した。続いて犬種ごとに MHC クラス II 遺伝子型と慢性腸症の発症関連解析を行った。そして最後に MHC クラス II 遺伝子型と治療反応性や予後との関連性について調査し、臨床応用へ向けた検討を行った。

1. 慢性腸症の好発犬種とその臨床的特徴

1-1. 慢性腸症の好発犬種に関する回顧的研究

犬の慢性腸症には好発犬種が知られており、海外の報告ではジャーマンシェパードやボクサーといった大型犬が報告されている。国内では柴犬が慢性腸症を発症しやすいことが報告されているが、その他の犬種に関する報告はほとんどない。しかしながら、日本は海外と比べて小型犬の飼育頭数の割合が著しく高く、大型犬の割合が高い海外と比較すると犬種の内訳が大きく異なっている。そこで国内における慢性腸症の好発犬種を明らかにするため回顧的調査を実施した。

対象は 2015 年 1 月～2021 年 12 月の期間に日本大学動物病院に来院し、消化管内視鏡検査および病理組織学的検査を実施した 393 頭のうち、慢性腸症と診断した 185 頭とした。また、同一期間内に日本大学動物病院に他疾患を理由に来院した犬の頭数をコントロールとし、各犬種の慢性腸症のオッズ比を算出した。その結果、慢性腸症の感受性が高い犬種は、ボクサー、ジャーマンシェパード、フレンチブルドッグ、ジャックラッセルテリア、ヨークシャーテリア、ダックスフンド、柴犬の 7 犬種であった ($P<0.05$)。このことから、海外の報告と一致したジャーマンシェパード、ボクサーといった大型犬以外に、国内において飼育頭数の多い小型犬、中型犬にも好発犬種が存在することが明らかとなった。

1-2. 各犬種における慢性腸症の臨床的特徴

慢性腸症は複数の病態を含んだ炎症性の消化管疾患の総称であり、特に柴犬においては他の犬種に比べて予後不良であるなど、病態に犬種差が存在することが報告されている。しかし、柴犬以外の犬種における慢性腸症の特性について検討した報告は少ない。そこで、慢性腸症の好発犬種と判明した犬種のうち、来院頭数が多かった 3 犬種について回顧的に臨床的特徴を調査した。

対象は日本大学動物病院にて慢性腸症と診断したダックスフンド (27 頭)、フレンチブルドッグ (23 頭)、柴犬 (22 頭) とした。シグナルメント、臨床兆候、病理組織学的検査所見、治療反応性、生存期間等の臨床

データを比較検討した。その結果、フレンチブルドッグは他2犬種に比べてやや若齢で診断され ($P=0.03$)、柴犬は炎症に続発するリンパ管拡張を高率に伴うことが明らかとなった ($P=0.002$)。また、生存期間中央値は柴犬 (191 日)、ダックスフンド (977 日)、フレンチブルドッグ (2520 日) となり、犬種間の生存期間の著しい差を認めた ($P<0.0001$)。柴犬は過去の報告と同じく著しく予後不良であり、一方フレンチブルドッグは他の2犬種と比べて長期生存することが新たに明らかとなった。このことから、柴犬以外の犬種においても慢性腸症の臨床的特徴の差異が存在することが明らかとなり、犬種別の疾患関連解析の必要性が示された。

2. MHC クラス II 遺伝子型と慢性腸症の発症関連解析

医学では人の炎症性腸疾患の発症と MHC クラス II 遺伝子型の関連が世界各国の多人種で報告されている。人において保有する MHC クラス II 遺伝子型に人種差が存在するように、犬も犬種によって遺伝子型の種類や割合が大きく異なることが知られている。しかしながら、MHC クラス II の遺伝子型と犬の慢性腸症の関連について検討した研究はイギリスのジャーマンシェパードの報告 1 件に限られている。そこで国内の好発犬種に関して犬種別に慢性腸症の発症関連解析を実施した。

本検討では好発犬種と明らかになったダックスフンド (59 頭)、フレンチブルドッグ (62 頭)、柴犬 (33 頭) の3犬種について解析を行った。発症群は日本大学動物病院および犬バイオバンクより提供を受けた東京大学附属動物医療センターの症例とした。非発症群は消化管疾患および免疫介在性疾患に罹患していない症例とした。末梢血由来のゲノム DNA、もしくは RNA から合成した cDNA を用い、各 MHC クラス II 遺伝子座 (*DLA-DRB1*、*-DQA1*、*-DQB1*) に特異的なプライマーにて PCR 反応を行った。その後ダイレクトシーケンス法にて解析し、サブクローニング法による塩基配列決定と多型解析、MHC ハプロタイプの推定を行い、発症群と非発症群間にて統計学的検定を行った。その結果、柴犬、フレンチブルドッグにて慢性腸症にそれぞれリスク因子もしくは保護因子の遺伝子型を認めたが、ダックスフンドでは関連のある遺伝子型は認められなかった。また、既報のジャーマンシェパードで報告されている関連遺伝子型と本研究の柴犬、フレンチブルドッグの関連遺伝子型は全て異なっていた。このことから、慢性腸症の発症に関連する MHC クラス II 遺伝子型には犬種差が存在することが明らかとなった。

3. MHC クラス II 遺伝子型の臨床応用に関する検討

近年、医学において MHC クラス II 遺伝子型は免疫介在性疾患の重症度、予後の予測等への臨床応用が検討されている。しかしながら、獣医学において免疫介在性疾患における MHC クラス II 遺伝子型の臨床応用に関する研究はまだない。さらに人の炎症性腸疾患においては、その細分類であるクローン病と潰瘍性大腸炎を MHC クラス II 遺伝子型によって鑑別できる可能性が示唆されている。一方、犬の慢性腸症の診断において特に重要な鑑別疾患は消化器型リンパ腫であり、症状が慢性腸症と類似しているものの生存期間が著しく短縮するため早期の鑑別が重要である。そこで本研究では MHC クラス II 遺伝子型と慢性腸症の重症度・予後との関連、および消化器型リンパ腫との鑑別について検討を行った。

対象は日本大学動物病院を受診し、末梢血サンプルと臨床データの両方が得られたダックスフンド 19 頭、柴犬 18 頭、フレンチブルドッグ 13 頭とした。慢性腸症と消化器型リンパ腫は、病理組織学的検査およびリンパ球フローサイトメトリ検査によって総合的に鑑別診断された。ダイレクトシーケンス法にて得られた MHC クラス II 遺伝子型と電子カルテから得られたシグナルメント、臨床スコア (CCECAI)、血液検査、初期治療への反応性、生存日数を評価項目とした。その結果、柴犬において慢性腸症のリスク因子であったアレル *DLA-DRB1*001:01* を保有する個体の割合は、慢性腸症群と消化器型リンパ腫群において明らかな差が認められなかった。しかし、慢性腸症および消化器型リンパ腫を合わせた 18 頭にてアレル *DLA-DRB1*001:01* の保有の有無で群分けを行うと、*DLA-DRB1*001:01* 保有群は非保有群と比較して統計学的有意差はないものの臨床的重症度 (CCECAI) が高い傾向にあり (11.5 vs 5.5, $P=0.19$)、また非保有群に比べて生存期間中央値が短い傾向にあった (43 日 vs 458 日, $P=0.06$)。このことから、アレル *DLA-DRB1*001:01* は柴犬の慢性腸症および消化器型リンパ腫において重症度判定や予後予測の因子となる可能性が示された。

総括

本研究によって日本国内における慢性腸症の好発犬種と、各犬種における慢性腸症の臨床的特徴の差異が明らかとなった。また、慢性腸症の発症に関与する MHC クラス II 遺伝子型には犬種差が存在することが示された。そして MHC クラス II 遺伝子型は、特に柴犬の慢性腸症において重症度や予後と関連する可能性が示唆された。以上のことより、本研究は犬の慢性腸症と MHC クラス II 遺伝子型の関連を明らかにし、臨床応用への可能性が示されたことから、今後の獣医療の発展に寄与するものであると考えられる。