

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

日本大学大学院獣医学研究科獣医学専攻  
博士課程

中澤 慈

2022

## 目次

第1章	序論.....	1
第2章	慢性腸症の好発犬種とその臨床的特徴 .....	7
第1節	慢性腸症の好発犬種に関する回顧的研究 .....	7
2-1.1	はじめに .....	8
2-1.2	材料および方法.....	10
2-1.2.1	研究サンプル.....	10
2-1.2.2	診断基準.....	10
2-1.2.3	統計処理.....	11
2-1.3	結果 .....	12
2-1.3.1	犬種と頭数.....	12
2-1.3.2	病理組織学的検査.....	12
2-1.3.3	好発犬種.....	12
2-1.4	考察 .....	14
第2節	各犬種における慢性腸症の臨床的特徴 .....	20
2-2.1	はじめに .....	21
2-2.2	材料および方法.....	23
2-2.2.1	対象.....	23
2-2.2.2	診断基準および除外条件 .....	23

2-2.2.3	検討項目	23
1)	シグナルメントと臨床兆候の評価	24
2)	血液検査	24
3)	腹部超音波検査	24
4)	治療内容、治療反応性	25
5)	予後	25
2-2.2.4	統計処理	25
2-2.3	結果	26
2-2.3.1	シグナルメント・臨床兆候	26
2-2.3.2	血液検査	26
2-2.3.3	腹部超音波検査	27
2-2.3.4	病理組織学的検査	27
2-2.3.5	初期治療と治療反応性、生存期間	27
2-2.3.6	慢性腸症と消化器型リンパ腫、リンパ管拡張の発生率	28
2-2.4	考察	29
2.5	小括	37
第3章	MHCクラスII遺伝子型と慢性腸症の発症関連解析	38
3.1	はじめに	39
3.2	材料および方法	41
3.2.1	研究サンプル	41

3.2.2	診断基準および除外条件 .....	41
3.2.3	ゲノム DNA、RNA の抽出および cDNA の合成 .....	43
3.2.4	DLA クラス II 遺伝子の PCR 増幅とダイレクトシーケンス .....	43
3.2.5	DLA クラス II アレル配列の決定と DLA ハプロタイプの推定 .....	44
3.2.6	統計処理 .....	44
3.3	結果 .....	46
3.4	考察 .....	48
3.5	小括 .....	53
第 4 章	MHC クラス II 遺伝子型の臨床応用に関する研究 .....	66
4.1	はじめに .....	67
4.2	材料および方法 .....	69
4.2.1	研究サンプル .....	69
4.2.2	DLA クラス II 遺伝子型の同定 .....	69
4.2.3	検討項目 .....	70
1)	シグナルメントと臨床症状の評価 .....	70
2)	血液検査 .....	70
3)	腹部超音波検査 .....	70
4)	治療内容、治療反応性の評価 .....	71
5)	予後 .....	71
4.2.4	統計処理 .....	71

4.3	結果.....	72
4.3.1	慢性腸症と消化器型リンパ腫の関連遺伝子型.....	72
4.3.2	柴犬の <i>DLA-DRB1</i> 遺伝子型と臨床的特徴の関連.....	73
4.3.3	フレンチブルドッグとダックスフンドの <i>DLA-DRB1</i> 遺伝子型と臨床的特徴の関連.....	74
4.4	考察.....	76
4.5	小括.....	79
第5章	総括.....	85
謝辞	.....	91
引用文献	.....	92

# 第 1 章

## 序論

犬の慢性腸症 (**Chronic enteropathy**) は 3 週間以上の嘔吐、下痢、食欲不振、体重減少、腹痛などの非特異的な消化器症状を示す疾患群の総称である (Allenspach et al., 2007)。本邦の臨床現場において消化器症状は皮膚症状に次いで 2 番目に多い犬の来院理由であり (Inoue et al., 2015)、慢性的な下痢を示す症例のうち 71% が慢性腸症と診断され (Volkman et al., 2017)、臨床現場においてよく遭遇する疾患である。犬の慢性腸症は、人のクローン病や潰瘍性大腸炎を含む炎症性腸疾患 (**Inflammatory bowel disease**) に相同的な疾患と考えられており、遺伝的要因、環境要因、宿主の免疫要因が関与する多因子性の疾患と考えられているが病態の全貌は未だ明らかにされていない (Simpson and Jergens, 2011)。このことから、以前は人と同じく犬においても炎症性腸疾患と呼ばれていたが、近年は人と犬では類似した疾患ではあるものの、病態や治療方針に差異が存在することから、犬では慢性腸症と総称されるようになった (Jergens and Simpson, 2012)。

犬の慢性腸症の診断は、同じく嘔吐、下痢などの消化器症状を呈する消化管腫瘍や感染症、甲状腺機能低下症などの内分泌疾患、消化管内異物、膵炎や膵外分泌不全などの膵疾患、腎疾患等を除外して診断される (Simpson and Jergens, 2011)。確定診断は消化管粘膜組織の病理組織学的検査を行い、消化管粘膜への炎症細胞の浸潤によって診断される (Day et al., 2008)。慢性腸症は治療反応性によってさらに、食事反応性腸症 (**Food responsive enteropathy**、FRE)、抗生剤反応性腸症 (**Antibiotics responsive enteropathy**、ARE)、ステロイド/免疫抑制療法反応性腸症 (**Steroid responsive enteropathy**、SRE)、そしてこれらの治

療に反応しない難治性腸症（Non-responsive enteropathy、NRE）に分類される（Dandrieux, 2016）。慢性腸症の鑑別診断は治療反応性によって行われ、食事療法により、症状の改善がみられない場合は抗生剤療法を行い、その後抗生剤投与にも反応しない症例にステロイド・免疫抑制療法を行う。慢性腸症の FRE や ARE、SRE、NRE といったサブタイプは臨床兆候や病理組織学的所見が類似しているため鑑別は困難である（Schreiner et al., 2008; Makielski et al., 2019）。慢性腸症のうち 66%が最初の食事療法によって症状が改善する FRE であるが（Volkman et al., 2017）、試験的治療によって SRE や NRE を診断するまでには長い時間を必要とする。近年、慢性腸症の治療は糞便移植療法（Niina et al., 2019）や間葉系幹細胞投与（Pérez-Merino et al., 2015）などの新たな治療法が検討されているものの、低蛋白食や低アレルギー食などの食事療法や抗生剤、ステロイド、免疫抑制剤の投与が主流であり治療法の選択肢は限られている（Simpson and Jergens, 2011）。また SRE や NRE は特に症状の再発を繰り返し、犬や飼い主の QOL を低下させる疾患であるため、病態の解明や新たな診断法・治療法が必要とされている。

消化管は食事由来、腸内細菌叢、病原生物などの様々な抗原に常にさらされているため、病原物質に対して免疫反応を示す一方で無害な物質に対し免疫寛容を示すバランスを常に保っている。しかし何らかの原因でバランスが崩れると慢性的な炎症が起きる（German et al., 2003）。主要組織適合性複合体（Major histocompatibility complex、MHC）は免疫の促進と免疫寛容の両方に関与する重要な因子であり、免疫介在性疾患の病態に関与すると考えられている。MHC は



クラス I、クラス II、クラス III の 3 つの領域によって構成されている(Yuhki et al., 2007)。中でも MHC クラス II 分子は抗原ペプチドを認識・結合し、ヘルパー T 細胞に対して抗原提示を行う。抗原提示を受けた T 細胞は活性化され、抗体産生やマクロファージの活性化などを促進し炎症反応を開始させる。また免疫反応を促進する一方で、MHC クラス II は胸腺において適度な自己反応性をもつ T 細胞を選択するポジティブセレクションに必要な不可欠な分子であり、無害な物質を攻撃しない自己寛容にも重要な役割を果たしている(Jurewicz and Stern, 2019)。このことから MHC クラス II は人のクローン病や潰瘍性大腸炎の病態に関与すると考えられ、MHC クラス II と炎症性腸疾患の関連性について数多くの研究が行われてきた(Lombardi et al., 2001; Ashton et al., 2019)。しかしながら、犬の慢性腸症における MHC クラス II 遺伝子型の関連性についての研究報告は少ないのが現状である。

MHC は免疫に関与する重要な因子であり、クラス II の構造は人と犬で類似している(Yuhki et al., 2007)。このクラス II 領域に存在する DRB1 遺伝子、DQA1 遺伝子、DQB1 遺伝子は、抗原ペプチドと結合する MHC クラス II 分子のペプチド収容溝を構成し、特に多型に富む。人の MHC を人白血球抗原(Human leukocyte antigen、HLA)、犬の MHC を犬白血球抗原 (Dog leukocyte antigen、DLA) と呼ぶ。現在までに IPD/MHC データベース (IPD-MHC database; <https://www.ebi.ac.uk/ipd/mhc/group/DLA/>) において *DLA-DRB1* は 161 種類、*DLA-DQA1* は 30 種類、*DLA-DQB1* は 79 種類もの多型が公開されている。また、膨大な数の多型が存在するものの、犬の保有する MHC クラス II 遺伝子型頻度は

犬種によって大きく偏っていることが知られている。犬は過去 200 年の間に何百もの犬種が人為的に作出され、現在日本国内だけでも 206 犬種が登録され (Japan Kennel Club)、国際畜犬連盟 (Fédération Cynologique Internationale、FCI、<https://www.fci.be/en/>) においては 356 種類もの犬種が登録されている。人気の特性を持った犬種を作出するため同一血統内での近親交配を繰り返すことで、結果として犬種により保有する MHC 遺伝子型の違いは大きくなり、同一犬種内の遺伝子型の多様性は減少した(Kennedy et al., 1999)。遺伝的多様性の減少によって特定の疾患が増加することが報告されており(Benjamin et al., 1996)、MHC の遺伝子型の多様性の減少によって免疫介在性疾患に関連する遺伝子型を保有している犬種では疾患が発症しやすくなる可能性がある。

医学では MHC クラス II の遺伝子型は炎症性腸疾患、関節リウマチ、1 型糖尿病など様々な自己免疫疾患と関連する遺伝子型が報告され、ヨーロッパや北アメリカ、日本といった複数の国や人種で検討が行われている(Ahmad et al., 2006)。犬でも同じく関節リウマチ(Ollier et al., 2001)、免疫介在性溶血性貧血(Kennedy et al., 2006a)、慢性肝炎(Dyggve et al., 2011)などの疾患で MHC クラス II との関連の報告があり、さらに副腎皮質機能低下症や 1 型糖尿病などの疾患においては複数の犬種で検討が行われ、疾患に関連する遺伝子型の犬種差が報告されている(Massey et al., 2013a; Denyer et al., 2020)。しかしながら、MHC クラス II と慢性腸症の関連についての報告はイギリスのジャーマンシェパードの報告 1 件に限られており(Peiravan et al., 2016)、その他の国や犬種における報告は存在しない。

また近年医学では潰瘍性大腸炎(Okada et al., 2011)、セリアック病(Patel and Robert, 2022)、関節リウマチ(Viatte et al., 2015)などの疾患で MHC クラス II の遺伝子型は臨床における診断や、予後・治療反応性との関与が報告されている。しかしながら、犬の免疫介在性疾患において疾患の鑑別や予後などとの関連についての報告はなく、臨床応用に関する検討は行われていないのが現状である。

そこで本学位論文では、犬の慢性腸症と MHC クラス II の関連性の検討、および MHC クラス II 遺伝子型を臨床応用することを目的に、第 2 章では疫学調査の一環として国内における慢性腸症の好発品種と、各犬種における慢性腸症の特徴について調査した。続いて第 3 章では犬種ごとに 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。そして第 4 章では、第 3 章で慢性腸症との関連が認められた MHC クラス II 遺伝子型と治療反応性や予後との関連について調査し、臨床応用へ向けた検討を行った。

## 第 2 章

### 慢性腸症の好発犬種とその臨床的特徴

#### 第 1 節

#### 慢性腸症の好発犬種に関する回顧的研究

## 2-1.1 はじめに

人の炎症性腸疾患の発生率は近年世界的に増加傾向にあるが、ヨーロッパや北アメリカなどの白色人種における発生率は、他のアジアやアフリカ諸国の人種と比較すると高いことが知られている(Ng et al., 2017)。人の炎症性腸疾患の発生率に人種差が存在するように、犬の慢性腸症の発生率も犬種によって異なることが知られている。イギリス南東部ではジャーマンシェパードやボクサー、ロットワイラーといった大型犬が慢性腸症を好発する(Kathrani et al., 2011)。また、ドイツにおける報告においては慢性腸症の発症は大型犬種が 45.7%を占めている(Volkman et al., 2017)。しかしながら、アメリカやイギリスなどの欧米諸国では大型犬が比較的多く飼育されている一方で、日本における飼育犬種の内訳は欧米諸国とは異なっている。各国で飼育されている犬種の頭数内訳を比較すると、イギリスでは飼育頭数全体における小型犬種の割合は 52.1%であるのに対して、日本では 84.2%と著しく高く、飼育登録頭数の上位 5 犬種中、4 犬種を小型犬が占めている(Japan Kennel Club, 2021; The Kennel Club, 2021)。このことから、国によって飼育犬種の内訳が大きく異なっていることを考慮すると、日本における慢性腸症の発生状況は海外とは異なる可能性があり、欧米の疫学データをそのまま日本国内に適応することはできない。

免疫介在性疾患の中には、複数の国に渡って共通の好発犬種が報告されている疾患が存在する。犬に後天性の失明を引き起こす突発性後天性網膜変性症においては、ダックスフンドとミニチュアシュナウザーの 2 犬種がアメリカ(Heller et al., 2017; Montgomery et al., 2008)および日本(Terakado et al., 2013)の 2 カ国の研究報告で共通して症例数の多い犬種である。また、副腎

皮質機能低下症はスタンダードプードルやウエストハイランドホワイトテリアが好発犬種であることがアメリカ(Peterson et al., 1996)、およびイギリス(Schofield et al., 2021)において報告されている。

その一方で、犬の免疫介在性疾患の発生率に地域差が存在する疾患が存在する。ダックスフンドの炎症性結直腸ポリープ(Ohmi et al., 2012)や柴犬の慢性腸症(Ohmi et al., 2011; Okanishi et al., 2013)は日本において犬種特異的に発生することが報告されているが、海外で好発するという報告はない。慢性腸症の遺伝学的要因、犬種差および地域差を考慮して、日本国内における好発犬種に関して疫学的調査を行う意義は大きい。

現時点で日本国内における慢性腸症の好発犬種に関して行われた報告は柴犬以外の犬種では少なく、多犬種を網羅的に解析した慢性腸症の疫学的調査に関する報告はない。そこで本検討では、はじめに日本大学動物病院に来院した犬の品種と頭数について調査し、Japan kennel Clubに登録された本邦の登録犬種の割合と、2次診療施設である本学動物病院に来院した犬種の割合の相違について調査を行った。続いて、消化器内科を受診し慢性腸症と診断した犬の品種と頭数を調査し慢性腸症の好発犬種について解析を行った。

## 2-1.2 材料および方法

### 2-1.2.1 研究サンプル

症例は2015年1月～2021年12月の7年間に日本大学動物病院消化器内科を受診し、上部・下部消化管内視鏡検査および病理組織学的検査を実施した犬を回顧的に調査した。Kathraniら(2011)の報告を基にコントロールとして同一調査期間内に本学動物病院の他診療科や消化器内科を別疾患で受診した同一犬種の頭数を記録した。また、本学動物病院へ来院した犬種の割合を調査するため、7年間の調査期間中に全診療科に来院した犬種別の頭数を記録した。

### 2-1.2.2 診断基準

消化管内視鏡検査によって得られた生検組織の病理組織学的診断名と診断部位、リンパ球クローナリティ検査結果を記録した。生検は上部内視鏡検査では空腸移行部、十二指腸下行部、胃幽門部から行い、腫瘍性病変や潰瘍病変が存在する場合は追加で生検を行った。下部内視鏡検査では回盲部、下行結腸の生検を行い、上部消化管の臨床兆候が認められる場合には回腸の生検も行い、腫瘍性病変や潰瘍病変を認める場合には病変部の生検が追加で行われた。細胞診もしくは病理組織学的検査にて消化管粘膜への著しいリンパ球の浸潤を認めた場合はリンパ球クローナリティ検査を実施した。病理組織学的検査およびリンパ球クローナリティ検査はすべてノースラボに外部委託した。消化管において複数の病理診断名が存在する場合は主要症状の原因疾患のみを記録した。研究期間内に複数回の内視鏡検査を実施した症例は初回診断時の結果のみを記録した。病理組織学的検査にて消化器型リンパ腫

もしくはリンパ腫疑いでリンパ球クロマチン検査陽性と診断された症例を消化器型リンパ腫とした。病理組織検査にてリンパ球形質細胞性腸炎、肉芽腫性腸炎、好酸球性腸炎、化膿性腸炎と診断された症例をすべて慢性腸症とした。消化器症状を示していたものの、病理組織学的検査にて異常が認められなかった症例は著変なしとして記録した。

### 2-1.2.3 統計処理

統計には2×2クロス集計表を用い、オッズ比 (Odds ratio、OR) と 95% 信頼区間 (Confidence interval、CI) を Fisher's exact test にて算出した。統計解析には、統計プログラム R ver. 3.6.3 および js-STAR ver.9.8.4j (<http://www.kisnet.or.jp/nappa/software/star/>)を用いた。なお統計学的な有意水準は 0.05 とした。



## 2-1.3 結果

### 2-1.3.1 犬種と頭数

調査期間の7年間に消化管内視鏡検査を実施した犬は393頭であり、同一期間内に慢性腸症以外の疾患を理由に来院した症例は10,111頭であった。本学動物病院の全診療科に来院した犬種と内視鏡検査を実施した犬種の頭数と順位をTable 2-1.1に示した。Japan Kennel Club (2015~2021)における飼育頭数上位10位の犬種のうち、8犬種が本学動物病院の7年間における来院頭数の多い犬種と一致し、7犬種が内視鏡検査を多く実施した犬種と一致した。

### 2-1.3.2 病理組織学的検査

内視鏡検査を実施した393頭のうち病理組織学的検査にて胃の疾患と診断された症例は35頭(8.9%)、小腸から大腸の範囲の疾患と診断された症例は301頭(76.6%)、著変なしと診断された症例は57頭(14.5%)であった。各部位における病理組織学的診断名と症例数をTable 2-1.2に示した。小腸から大腸の範囲の消化管で病変が存在した301頭のうち、慢性腸症と分類された症例の合計は185頭で、発生率は61.5%であった。慢性腸症と分類された症例のうち、182頭はリンパ球形質細胞性腸炎、2頭はリンパ球と形質細胞の他に好中球の浸潤を認めた化膿性腸炎であり、1頭は好酸球性腸炎であった。

### 2-1.3.3 好発犬種

慢性腸症と分類された185頭には計45犬種が含まれており、10頭以

上の症例が来院した犬種はダックスフンド (30)、トイプードル (21)、雑種 (13)、柴犬 (12)、フレンチブルドッグ (12) であった (Table 2-1.3)。続いて、慢性腸症以外の症例数をコントロールとしてオッズ比と 95%CI を算出したところ、オッズ比が 1 より大きく、かつ統計学的有意差を認めた犬種は、ボクサー (OR 21.87、CI 4.22-113.47、P=0.007)、ジャーマンシェパード (OR 12.87、CI 5.23-31.66、P<0.0001)、フレンチブルドッグ (OR 2.65、CI 1.46-4.83、P=0.003)、ジャックラッセルテリア (OR 2.42、CI 1.05-5.54、P=0.046)、ヨークシャーテリア (OR 2.24、CI 1.13-4.44、P=0.04)、ダックスフンド (OR 1.97、CI 1.33-2.93、P=0.002)、柴犬 (OR 1.92、CI 1.06-3.48、P=0.04) の 7 犬種であった (Table 2-1.3)。症例数の多かったトイプードルや雑種およびチワワでは有意差は認められなかった。

#### 2-1.4 考察

本学動物病院にて慢性腸症の好発犬種であると考えられた犬種は、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。ジャーマンシェパードとボクサーの2犬種は2011年のイギリス南東部における好発犬種の報告と一致していた(Kathrani et al., 2011)。ジャーマンシェパードは特に慢性腸症の感受性が高い犬種であることがヨーロッパの各国で報告されており、慢性腸症の遺伝的要因が高い犬種と考えられる(Batt et al., 1988; German et al., 2000)。本検討においても同じ結果が得られたことから、国内で飼育されているジャーマンシェパード、ボクサーの系統はヨーロッパで飼育されている系統と遺伝学的特性を共有している可能性が高いと考えられる。ヨークシャーテリアは慢性腸症が一因となる蛋白漏出性腸症の好発犬種であると各国で報告されており(Lecoindre et al., 2010; Peterson and Willard, 2003)、ジャーマンシェパード、ボクサーと同様に世界的に遺伝的特性を共有していると考えられる。

フレンチブルドッグの慢性腸症に関する疫学的調査はほとんど存在しないが、日本の医療保険に加入した犬の疾患に関する調査において、消化管疾患を呈した犬の22%はフレンチブルドッグであり、最も消化管疾患を多く罹患する犬種であることが報告されている(Inoue et al., 2015)。この報告では消化管疾患の内訳は分類されていないため、慢性腸症の発生率は不明であるが、本研究の結果を加味するとフレンチブルドッグは慢性腸症の好発犬種である可能性がある。近年フレンチブルドッグは日本、アメリカ、イギリスにおいて増加傾向であり、特にイギリスにおいては飼育頭数第2位まで増加

している(American Kennel Club, 2021; Japan Kennel Club, 2021; the Kennel Club, 2021)。海外におけるフレンチブルドッグの慢性腸症の発生率に関する報告はないが、世界的に飼育頭数の増加が著しい犬種であり今後着目すべき犬種であると考えられる。

柴犬は本邦において慢性腸症を罹患しやすい犬種であることが報告されているが(Ohmi et al., 2011; Okanishi et al., 2013)、海外では柴犬の慢性腸症に関する報告はない。柴犬は日本原産の犬であり、飼育頭数は日本の 9958 頭 (7 位) と比較して、イギリスでは 497 頭 (66 位)、アメリカ 42 位 (飼育頭数未公表) と海外での柴犬の飼育頭数は少ない。海外では柴犬の飼育頭数が少ないため慢性腸症に罹患する頭数が少ないという可能性は否定できないが、日本で飼育されている柴犬に慢性腸症を好発する系統が存在する可能性は高く、柴犬の慢性腸症の遺伝的要因に関してさらなる検討が必要である。

ダックスフンドの慢性腸症に関する疫学的な研究報告は少なく、我々の知る限りアメリカの報告において小型犬の中では症例数が多いという報告しか存在しない(Allenspach et al., 2007)。しかしながら、ダックスフンドは突発性後天性網膜変性(Terakado et al., 2013)、結腸直腸炎症性ポリープ(Ohmi et al., 2012)、非再生性免疫介在性貧血(Woolhead et al., 2021)、無菌性結節性皮下脂肪織炎(Yamagishi et al., 2007)といった数々の免疫介在性疾患の好発犬種であり、免疫介在性疾患の遺伝的素因を保有していると考えられ、本検討の結果を加味すると慢性腸症の遺伝免疫学的な要因を考慮すべき犬種であると考えられる。

本研究の制限は、2 次診療施設であるため関東近郊の 1 次診療施設からの紹介された症例しか来院せず、特定の疾患や犬種が偏る可能性があることである。Japan Kennel Club (2015~2021)において日本の登録頭数の多い犬種と

本学動物病院に多く来院した犬種を比較すると上位 10 犬種のうち 8 犬種が共通しており、犬種の偏りは少ないと思われたが、2 次診療施設のバイアスにより日本国内の慢性腸症の発生率を正確には反映していない可能性があり、今後は多施設での大規模な疫学的研究を行う必要がある。

しかしながら、本研究では海外の報告と同様のジャーマンシェパード、ボクサー、ヨークシャーテリアや、日本で過去に報告のあった柴犬といった犬種だけでなく、今まで報告のなかったフレンチブルドッグ、ダックスフンド、ジャックラッセルテリアなどの犬種も慢性腸症を発症しやすい可能性が示唆された。特にこれら小型、中型犬種は日本における人気犬種であり、慢性腸症の遺伝的素因を保有した系統が国内で維持されている可能性があるため今後着目すべき犬種であると考えられる。

JKC飼育登録頭数(2015~2021) <sup>a</sup>			来院頭数(2015~2021)		内視鏡件数(2015~2021)	
	犬種	n	犬種	n	犬種	n
1	プードル	543,933	トイプードル	950	ミニチュアダックスフンド	73
2	チワワ	355,829	ダックスフンド	925	トイプードル	37
3	ダックスフンド	185,719	雑種 <sup>b</sup>	696	雑種 <sup>b</sup>	33
4	ポメラニアン	130,817	チワワ	685	柴	29
5	柴犬	76,614	柴犬	361	チワワ	25
6	ミニチュアシュナウザー	72,228	フレンチブルドッグ	267	フレンチブルドッグ	21
7	ヨークシャーテリア	73,022	ヨークシャーテリア	232	ヨークシャーテリア	17
8	フレンチブルドッグ	70,730	ポメラニアン	205	シェットランドシープドッグ	14
9	シーズー	63,827	ゴールデンレトリバー	187	ジャックラッセルテリア	10
10	マルチーズ	59,777	ミニチュアシュナウザー	175	ポメラニアン	8

**Table 2-1.1** 日本の犬種別飼育登録頭数と日本大学動物病院の犬種別来院頭数および内視鏡検査数（2015~2021）

※Japan Kennel Club(JKC)の上位10位と共通している犬種を灰色で示した。

a : 2015年~2021年のJKCの犬種別犬籍登録頭数の合計

b : JKCの犬種別登録頭数には雑種という項目は存在しない。

部位		病理診断名	症例数	%
胃 (n=35)		粘膜過形成	12	3.1
		胃腺癌	11	2.8
		胃炎	9	2.3
		出血	1	0.3
		胃潰瘍	1	0.3
		消化器型リンパ腫	1	0.3
腸管 (n=301)	小腸 (n=227)	リンパ球形質細胞性腸炎 <sup>a</sup>	171	43.5
		特発性リンパ管拡張	25	6.4
		消化器型リンパ腫	25	6.4
		化膿性腸炎	2	0.5
		好酸球性腸炎	1	0.3
		腺腫	1	0.3
		起源不明腫瘍	1	0.3
		潰瘍	1	0.3
		大腸 (n=74)	炎症性ポリープ	27
	腺癌		23	5.9
	リンパ球形質細胞性腸炎		11	2.8
	腺腫		6	1.5
	消化器型リンパ腫		3	0.8
	カタル		1	0.3
	潰瘍		1	0.3
	肉芽腫		1	0.3
		肥満細胞腫	1	0.3
著変なし			57	14.5

**Table 2-1.2** 内視鏡検査を実施した犬 393 頭の病理組織学的診断名の内訳

a : 慢性腸症に分類した診断名を灰色で示した。

犬種	慢性腸症		コントロール		合計		オッズ比	95%CI	P値
	n	%	n	%	n	%			
ボクサー	2	1.1	5	0.05	7	0.1	21.87	4.22-113.47	0.007 **
ジャーマンシェパード	6	3.2	26	0.3	32	0.3	12.87	5.23-31.66	<0.0001 ***
ウェストハイランドホワイトテリア	2	1.1	28	0.3	30	0.3	3.90	0.92-16.48	0.10
イタリアングレイハウンド	2	1.1	38	0.4	40	0.4	2.87	0.69-11.98	0.16
フレンチブルドッグ	12	6.5	255	2.5	267	2.6	2.65	1.46-4.83	0.003 **
アメリカンコッカースパニエル	3	1.6	64	0.6	67	0.7	2.56	0.8-8.23	0.12
ボーダーコリー	4	2.2	86	0.9	90	0.9	2.55	0.93-7.03	0.08
ジャックラッセルテリア	6	3.2	137	1.4	143	1.4	2.42	1.05-5.54	0.046 *
ヨークシャーテリア	9	4.9	223	2.2	232	2.3	2.24	1.13-4.44	0.04 *
バーニーズマウンテンドッグ	2	1.1	49	0.5	51	0.5	2.22	0.54-9.21	0.24
ダックスフンド	30	16.2	895	8.9	925	9.1	1.97	1.33-2.93	0.002 **
柴犬	12	6.5	349	3.5	361	3.5	1.92	1.06-3.48	0.04 *
ウェルシュコーギーペンブローク	5	2.7	159	1.6	164	1.6	1.72	0.7-4.24	0.23
ラブラドル・レトリバー	5	2.7	161	1.6	166	1.6	1.70	0.69-4.19	0.23
ポメラニアン	5	2.7	200	2.0	205	2.0	1.36	0.55-3.35	0.43
シェットランドシープドッグ	3	1.6	122	1.2	125	1.2	1.34	0.42-4.24	0.50
トイプードル	21	11.4	929	9.3	950	9.3	1.25	0.79-1.98	0.31
マルチーズ	3	1.6	135	1.3	138	1.4	1.21	0.38-3.82	0.74
雑種	13	7.0	683	6.8	696	6.8	1.03	0.58-1.82	0.88
パピヨン	2	1.1	116	1.2	118	1.2	0.93	0.23-3.8	1
ゴールデン・レトリバー	3	1.6	184	1.8	187	1.8	0.88	0.28-2.78	1
チワワ	8	4.3	677	6.8	685	6.7	0.62	0.31-1.27	0.23
ミニチュアシュナウザー	2	1.1	173	1.7	175	1.7	0.62	0.15-2.52	0.77
その他 <sup>a</sup>	25	13.5	4317	43.1	3927	38.5			
合計	185		10011		10196				

Table 2-1.3 各犬種における慢性腸症のオッズ比と 95%信頼区間 (CI)

\* : P<0.05、\*\* : P<0.01、\*\*\* : P<0.001

a : 慢性腸症の症例が 1 頭しかない犬種はその他に分類



## 第 2 章 慢性腸症の好発犬種とその臨床的特徴

### 第 2 節 各犬種における慢性腸症の臨床的特徴

## 2-2.1 はじめに

人の炎症性腸疾患は主にクローン病や潰瘍性大腸炎に大別され、消化管に慢性、再発性の炎症を引き起こす疾患の総称である。人のクローン病において肛門周囲瘻の併発、消化管の狭窄、穿孔などを示す臨床的なサブタイプが存在し、人種によって発生率が異なることが報告されている(Barnes et al., 2021)。一方、犬の慢性腸症は3週間以上の消化器症状を示す炎症性の消化管疾患の総称であり、一般に治療反応性によってFRE、ARE及びSRE、NREに分類されるが、犬種によって特徴的な臨床兆候や病態を示す犬種特異性の腸炎が存在する(Simpson and Jergens, 2011)。

柴犬は国内において慢性腸症を発症しやすく、生存期間中央値が74日と他の犬種に比べて著しく予後不良であることが報告されている(Ohmi et al., 2011; Okanishi et al., 2013)。また、柴犬は慢性腸症の発症に関連して消化器型リンパ腫の発生が多い(Matsumoto et al., 2018)。柴犬と同じく慢性腸症の好発犬種であるボクサーやジャーマンシェパードは他の犬種に比べてやや若齢で発症し(Kathrani et al., 2011)、特にジャーマンシェパードは病態にIgA欠乏やToll様受容体(Toll like receptor)の一塩基多型(SNPs)が関与することが報告されている(German et al., 2000; Kathrani et al., 2010)。また、ヨークシャーテリアやロットワイラーは消化管から異常に蛋白質が漏出する蛋白漏出性腸症の好発犬種であることが報告されている(Lecoindre et al., 2010; Simmerson et al., 2014)。そして発生は非常に稀だが、特徴的な臨床兆候を示す犬種特異性腸炎として、アイリッシュセッターのグルテン反応性腸症(Garden et al., 2000)やボクサーやフレンチブルドッグの組織球性大腸炎といった疾患も存在する(German et al., 2000; Manchester et al., 2013)。慢性腸症と

総称される疾患群には様々な病態が混在していることから、遺伝学的、免疫学的検討には慢性腸症のフェノタイプや犬種特異性を考慮する必要がある。しかしながら、慢性腸症の特性に関して国内で柴犬以外の犬種について検討した報告は少ない。そこで本検討では第2章 第1節にて慢性腸症の好発犬種と判明した犬種のうち、本学動物病院への来院頭数が多かった3犬種（ダックスフンド、フレンチブルドッグ、柴犬）について回顧的調査を実施し、各犬種における慢性腸症の臨床的特徴の相違を検討した。

## 2-2.2 材料および方法

### 2-2.2.1 対象

日本大学動物病院の消化器内科にて慢性腸症と診断した、27頭のダックスフンド（2014年1月～2022年7月）、23頭のフレンチブルドッグ（2012年3月～2022年7月）、22頭の柴犬（2012年3月～2022年7月）を対象とした。また、同一期間内に消化器型リンパ腫と診断した症例と病理組織学的検査にてリンパ管拡張を認めた症例の頭数を記録した。

### 2-2.2.2 診断基準および除外条件

慢性腸症の診断基準は3週間以上の嘔吐、下痢、体重減少、食欲不振などの慢性消化器症状を示し、内視鏡生検および病理組織学的検査において消化管粘膜の炎症所見が認められた疾患とした。初診時の年齢、性別、臨床兆候、腹部超音波検査所見、血液化学検査所見、病理組織学的検査所見、治療内容、初期治療に対する反応性、生存期間を比較検討した。

消化器症状を示す慢性腸症以外の疾患の犬は全血球計算、血液化学検査、尿検査、糞便検査、および腹部超音波検査によって除外した。また、同一期間に内視鏡生検による病理組織学的所見で重度のリンパ球形質細胞性腸炎もしくは消化器型リンパ腫の可能性と診断され、クローナリティ検査陽性であった症例は消化器型リンパ腫として症例数を記録した。

### 2-2.2.3 検討項目

ダックスフンド、フレンチブルドッグ、柴犬それぞれの犬種で以下の項目について比較検討を行なった。

### 1) シグナルメントと臨床兆候の評価

シグナルメントは診断時年齢、性別を記録した。また、臨床兆候は Jergens ら (2003) によって提言された犬炎症性腸疾患活動性指数 (Canine inflammatory bowel disease activity index, CIBDAI) および Allenspach ら (2007) によって提言された犬慢性腸症臨床活動性指数 (Canine chronic enteropathy clinical activity index, CCECAI) によるスコアリングを実施した。CIBDAI は活動性、食欲、嘔吐の頻度、糞便の性状、排便の頻度、体重減少の 6 項目に分け、それぞれに 0 から 3 のスコアを付けた。それぞれの項目のスコアを合計し、スコア 3 以下を臨床上治療不要、4 から 5 を軽度、6 から 8 を中程度、9 以上を重度とした。CCECAI は CIBDAI の 6 項目に加えて、血清中アルブミン濃度、腹水・浮腫、皮膚の掻痒の 3 項目を加え、それぞれに 0 から 3 のスコアを付け、スコアの合計が 3 以下で臨床上治療不要、4 から 5 で軽度、6 から 8 で中程度、9 から 11 で重度、12 以上で非常に重度とした。

### 2) 血液検査

血液検査では白血球数 (WBC)、血小板数 (PLT) を測定した。血液凝固系検査としてアンチトロンビン (AT) を測定した。さらに血液化学検査では総タンパク (TP)、アルブミン (ALB)、アルカリフォスファターゼ (AST)、アラニントランスフェラーゼ (ALT)、総コレステロール (T-Cho)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cre)、C 反応性タンパク (CRP) カルシウム (Ca)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、クロール (Cl) を測定した。

### 3) 腹部超音波検査

腹部超音波検査において 12 時間絶食を行った後の十二指腸の全層 (mm)

を測定した。

#### 4) 治療内容、治療反応性

慢性腸症と診断後に実施した食事、抗生剤、ステロイド投与について記録した。治療反応性の評価は、治療に反応し症状が完全に消失したものをスコア 2 (改善)、治療に反応したが完全には症状の改善を認めなかったものをスコア 1 (一部改善)、症状の改善を認めなかった症例をスコア 0 (改善なし) と 3 段階で評価した。

#### 5) 予後

生存期間は初診時から死亡時または、最終受診日とした。本学動物病院での検診を終了した症例は 1 次診療の紹介病院へのアンケート調査を行い、追跡不可能であった症例は最後に生存が確認できた日までとした。

#### 2-2.2.4 統計処理

診断時年齢、臨床兆候の評価 (CIBDAI、CCECAI)、血液検査、十二指腸全層の厚さは中央値で表記し、3 犬種の各項目の比較検討には Kruskal Wallis test および Dunn's multiple comparisons test を用いた。3 犬種における性差、リンパ管拡張の有無、治療反応性の評価には Chi-square test を用いた。生存期間のデータの解析には Kaplan-Meier method と Log-rank test を用いた。消化器型リンパ腫の好発犬種の解析には 2×2 クロス集計表を用い、オッズ比 (Odds ratio、OR) と 95%信頼区間 (Confidence interval、CI) を Fisher's exact test にて算出した。なお、統計学的な有意水準は全て 0.05 とした。統計解析には GraphPad Prism 8 (GraphPad Software 社) を用いた。

## 2-2.3 結果

### 2-2.3.1 シグナルメント・臨床兆候

診断時の年齢はダックスフンドが中央値 8 歳（範囲 3-13 歳）、フレンチブルドッグが中央値 6 歳（範囲 0.4-12 歳）、柴犬が中央値 8 歳（範囲 0.6-15 歳）であり、フレンチブルドッグがダックスフンドに比べて有意に若齢で慢性腸症と診断された（ $P=0.03$ 、Figure 2-2.1）。性別（オス：メス）はダックスフンドが 16：11、フレンチブルドッグが 15：8、柴犬が 10：12 であり、いずれの犬種においても統計学的有意差は認めなかった。初診時の臨床スコア（CIBDAI：CCECAI）はダックスフンドで 5：5、フレンチブルドッグで 7：7、柴犬で 6：7 となり、3 犬種ともに中程度以下の重症度で犬種間における差異は認められなかった（Table 2-2.1）。

### 2-2.3.2 血液検査

血液化学検査においては、血清中 ALB 濃度中央値は 3 犬種とも基準範囲よりも低値を示す傾向にあったが（ダックスフンド 2.2 g/dL、フレンチブルドッグ 2.5 g/dL、柴犬 2.5 g/dL）、犬種間に有意な差は認められなかった（ $P=0.42$ ）。低 ALB 血症を呈した症例の割合はダックスフンドが 15/27 頭（55.6%）、フレンチブルドッグが 9/23 頭（39.1%）、柴犬が 9/22 頭（40.9%）であった。また、消化管のリンパ管拡張による蛋白漏出により低下しやすいアンチトロンビン（AT）や血清中総コレステロール（T-Cho）濃度の中央値も明らかな低下は認められなかった（ $P=0.46$ 、 $P=1$ ）。その他の全血球計算や血液凝固系検査において、明らかな異常値を示した犬種はいなかった（Table 2-2.2）。

### 2-2.3.3 腹部超音波検査

十二指腸の全層 (mm) 中央値はダックスフンドが 3.9 mm (範囲 2.3-6.8 mm)、フレンチブルドッグが 5 mm (範囲 2.5-6.9 mm)、柴犬が 3.9 mm (範囲 2.9-6.1 mm) であり、フレンチブルドッグが有意に肥厚していた (P=0.02、Table 2-2.1)。

### 2-2.3.4 病理組織学的検査

病理組織学的検査所見では、3 犬種の全ての症例でリンパ球および形質細胞の浸潤を認めた。柴犬 22 頭のうち 1 頭はリンパ球と形質細胞の浸潤に加えて好中球の浸潤も著しかったため、化膿性腸炎と診断された。リンパ管拡張所見はダックスフンドの 13 頭 (69.6%)、フレンチブルドッグの 16 頭 (48.1%)、柴犬の 20 頭 (90.9%) で認められ、柴犬は高率にリンパ管拡張を伴っていた (P=0.002)。

### 2-2.3.5 初期治療と治療反応性、生存期間

診断後の初期治療には食事療法 (低アレルギー食、低脂肪食)、抗生剤投与、プレドニゾロン (PRD) の投与が行われた。抗生剤 (アモキシシリン、メトロニダゾール) は 3 犬種とも 90%以上の症例で投与された。食事療法において低アレルギー食が用いられた症例はダックスフンドで 37%、フレンチブルドッグ 43.5%、柴犬は 22.7%であった。低脂肪食を用いた症例はダックスフンドで 33.3%、フレンチブルドッグで 56.5%、柴犬で 54.5%であった。PRD 投与が行われた症例の割合はダックスフンドで 77.8%、フレンチブルドッグで 78.3%、柴犬で 90.9%であった。

診断後の初期治療により消化器症状の改善を認めた症例の割合は、ダ



ックスフンドで 78%、フレンチブルドッグで 77%、柴犬で 64%であり、犬種間で統計学的有意差は認められなかった ( $P=0.47$ )。治療反応性のスコア中央値はダックスフンドが 2 (範囲 1-2)、フレンチブルドッグが 1.5 (範囲 0-2)、柴犬が 1 (範囲 0-2) で犬種による明らかな違いは認められなかった ( $P=0.18$ )。追跡調査が可能であった症例はダックスフンドで 10/27 頭、フレンチブルドッグで 17/23 頭、柴犬 12/22 頭であった。生存期間中央値はダックスフンドで 977 日 (範囲 9-1839 日)、フレンチブルドッグで 2520 日 (範囲 33-3140 日)、柴犬は 191 日 (範囲 9-915 日) であり、柴犬で著しい短縮を認めた ( $P<0.0001$ 、Fig 2-2.2)。診断後の 6 ヶ月生存率および 1 年生存率はダックスフンドで 75%と 50%、フレンチブルドッグで 100%と 88%、柴犬で 57%と 31%であった。

#### 2-2.3.6 慢性腸症と消化器型リンパ腫、リンパ管拡張の発生率

本検討の調査期間内に来院した消化器型リンパ腫と慢性腸症の症例のうち、消化器型リンパ腫と診断された症例の頭数と割合はフレンチブルドッグで 0 頭 (0%)、ダックスフンドで 7 頭 (20.6%)、柴犬で 13 頭 (37.1%) であった。第 2 章 第 1 節における 7 年の調査期間内で消化器型リンパ腫と診断した犬種のオッズ比と 95%信頼区間を慢性腸症と同様の方法で算出したところ、有意にオッズ比が 1 より大きい値を示した犬種はミニチュアピンシャー (OR 20.17、CI 5.93-68.61、 $P=0.0007$ )、柴犬 (OR 15.5、CI 7.1-33.83、 $P<0.0001$ )、ダックスフンド (OR 3.35、CI 1.42-7.9、 $P=0.01$ ) の 3 犬種であった (Table 2-2.3)。また、病理組織学的検査のリンパ管の拡張所見の有無に関して同様にオッズ比と 95%信頼区間を算出し検討を行ったが、著しい感受性を示す犬種はいなかった ( $P>0.05$ )。

#### 2-2.4 考察

柴犬の慢性腸症は日本において予後不良であることが報告されているが、その他の犬種についての報告は少ないのが現状であった。本研究では柴犬の他に第2章第1節にて好発犬種と判明し、来院頭数の多かったダックスフンドおよびフレンチブルドッグの慢性腸症の特徴について検討を行い、犬種による違いを明らかにした。

本研究においてフレンチブルドッグはダックスフンドや柴犬と比較してやや若齢で慢性腸症と診断されることが明らかとなった。人においても炎症性腸疾患を含む免疫介在性疾患の発症年齢は人種によって異なることが報告されており、その原因として炎症誘発性アディポカインレベルの人種差、免疫機構の加齢速度の人種差、食事と腸内細菌叢の人種差が影響しているという仮説が立てられている(Sharma-Oates et al., 2022)。犬において免疫介在性疾患の発症年齢の犬種差が生じる原因について検討した研究報告はないが、イギリス南東部の好発犬種を明らかにした Kathrani ら (2011) の研究では、ボーダーコリーと比較して、ジャーマンシェパードとボクサーは若齢で慢性腸症を発症することが報告されており、日本国内においてはフレンチブルドッグが比較的若齢で発症する犬種である可能性が示唆された。

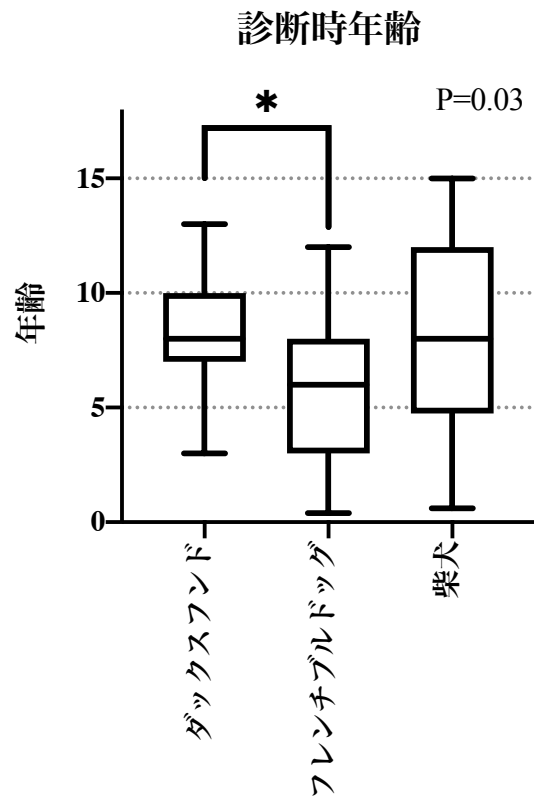
病理組織学的検査所見では全ての症例でリンパ球と形質細胞の浸潤を認めた。また柴犬では90.9%と高率でリンパ管拡張を伴うことが明らかとなった。過去の報告では慢性腸症を発症し、かつ低アルブミン血症を呈している症例の76%がリンパ管拡張所見を伴うことが知られている(Wennogle et al., 2017)。犬のリンパ管拡張の発生機序は未だ明らかとなっていないが、先天的なリンパ管の形態異常による1次性のリンパ管拡張と、慢性炎症や消化器

型リンパ腫、腺癌の浸潤によるリンパ液の流れの変化や、右心不全、門脈圧亢進症によるリンパ管内圧上昇によって生じる 2 次性なリンパ管拡張が原因であると考えられている(Jablonski, 2022)。リンパ管拡張症には好発犬種が存在し、ソフトコーテッドウィートンテリア、チャイニーズシャーペイ、マルチーズ、ロットワイラー、ヨークシャーテリアが報告されている(Jablonski, 2022; Lecoindre et al., 2010; Peterson and Willard, 2003) 。本研究では第 2 章 第 1 節において慢性腸症の犬種のおッズ比を算出したのと同様に、リンパ管拡張所見を認めた犬種のおッズ比を算出したがダックスフンド、フレンチブルドッグ、柴犬のいずれの犬種においてもリンパ管拡張の有意な感受性の高さは認められず遺伝的要因の与える影響の程度は不明であった。本検討の柴犬は全ての症例で炎症細胞の浸潤を認め、リンパ管拡張の高い感受性を示さなかったため 2 次性のリンパ管拡張が起きている可能性が高いと考えられる。しかしながら、先天的なリンパ管の形成異常を伴っている場合、炎症によってリンパ管拡張症を起こしやすいことがマウスを用いた実験で報告されており(Davis et al., 2017)、リンパ管拡張の病態や遺伝的要因についてはさらなる検討が必要である。

本研究の柴犬の 1 年生存率は 30.8%、生存期間中央値は 191 日であり、過去の報告と同様に著しい短縮を認めた(Ohmi et al., 2011; Okanishi et al., 2013)。逆に、フレンチブルドッグでは 1 年生存率は 88.2%、生存期間の中央値が 2520 日と長い傾向が認められた。慢性腸症の予後や生存日数に関して長期的な追跡調査を行った報告は、柴犬以外の犬種ではほとんどない。柴犬は消化器型リンパ腫を発症しやすい犬種であり、慢性腸症から消化器型リンパ腫へ移行する可能性が報告され、人における腸管症関連型 T 細胞性リンパ腫に似た病態ではないかと考えられている(Ohmi et al., 2017)。本検討にお

いても慢性腸症の症例と同一期間内に消化器型リンパ腫と診断した症例の割合を算出したところ、消化器型リンパ腫の割合は柴犬で 37.1%、ダックスフンドで 20.6%、フレンチブルドッグで 0%となり、生存期間の短い柴犬で高く、生存期間の長いフレンチブルドッグで 0%という結果であった。また、第 2 章第 1 節における 7 年の調査期間中に消化器型リンパ腫と診断した症例のオッズ比を慢性腸症と同様に算出したところ、柴犬とダックスフンドはリンパ腫を発症しやすい犬種であることが明らかとなった。このことから、生存期間の短縮には慢性腸症から消化器型リンパ腫への移行が関与している可能性があり、慢性腸症が消化器型リンパ腫へと移行する病態の発生率には犬種差が存在し、特に柴犬で特異的に発生し、フレンチブルドッグでは発生率が低い可能性が示唆された。

本検討により同じ慢性腸症と診断される症例でも犬種により病理組織学的所見および臨床的所見には違いがあることが明らかとなり、柴犬以外の犬種においても慢性腸症の不均一性と犬種による差異があることが裏付けられた。本検討の制限は、2 次診療施設で行われた回顧的研究であるため、紹介元の 1 次診療施設における治療が異なっていることが挙げられる。特に初診時における臨床症状や血液化学検査の結果は、紹介医におけるグルココルチコイド投与の有無や食事療法の内容に影響される可能性があるため、今後は条件を統一した前向き研究が必要となる。しかしながら、本検討において明らかな生存期間の犬種差を認めたことから、臨床的特徴の犬種差が存在することが明らかとなった。また、今後は慢性腸症の検討を行う上で多犬種を混合した検討ではなく、遺伝学的要因を配慮した犬種別の検討を行う必要性があると考えられた。



**Figure 2-2.1** ダックスフンド、フレンチブルドッグ、柴犬の診断時年齢中央値

	ダックス フンド	フレンチ ブルドッグ	柴犬	P値
症例数 (n)	27	23	22	-
年齢 (中央値)	8	6	8	0.03 *
性別 (オス:メス)	16:11	15:8	10:12	0.39
<b>臨床兆候スコア</b>				
CIBDAI (中央値)	5	7	6	0.64
CCECAI (中央値)	5	7	7	0.20
<b>病理組織検査</b>				
LPE (n)	27	23	21	-
LPE+好中球 (n)	0	0	1	-
リンパ管拡張 (n)	13 (69.6%)	16 (48.1%)	20 (90.9%)	0.002 **
<b>腹部超音波</b>				
十二指腸厚さ (mm)	3.9	5	3.9	0.02 *
<b>初期治療</b>				
抗生剤 (n)	27 (100%)	22 (95.6%)	20 (90.9%)	-
低アレルギー食 (n)	10 (37%)	10 (43.5%)	5 (22.7%)	-
低脂肪食 (n)	9 (33.3%)	13 (56.5%)	12 (54.5%)	-
PRD (n)	21 (77.8%)	18 (78.3%)	20 (90.9%)	-
<b>初期治療反応性</b>				
スコア2 (改善) (n)	14	11	7	-
スコア1 (一部改善) (n)	4	6	7	-
スコア0 (改善なし) (n)	5	5	8	-
不明 (n)	4	1	0	-
改善率	78%	77%	64%	0.47
スコア(中央値)	2	1.5	1	0.18
<b>予後</b>				
生存日数(中央値)	977	2520	191	<0.0001 ***
6ヶ月生存率	12/16 (75%)	19/19 (100%)	8/14 (57%)	-
1年生存率	5/10 (50%)	15/17 (88%)	4/13 (31%)	-

**Table 2-2.1** 3犬種のシグナルメント、各種検査所見、治療と生存期間

※LPE：リンパ球形質細胞性腸炎、PRD：プレドニゾロン

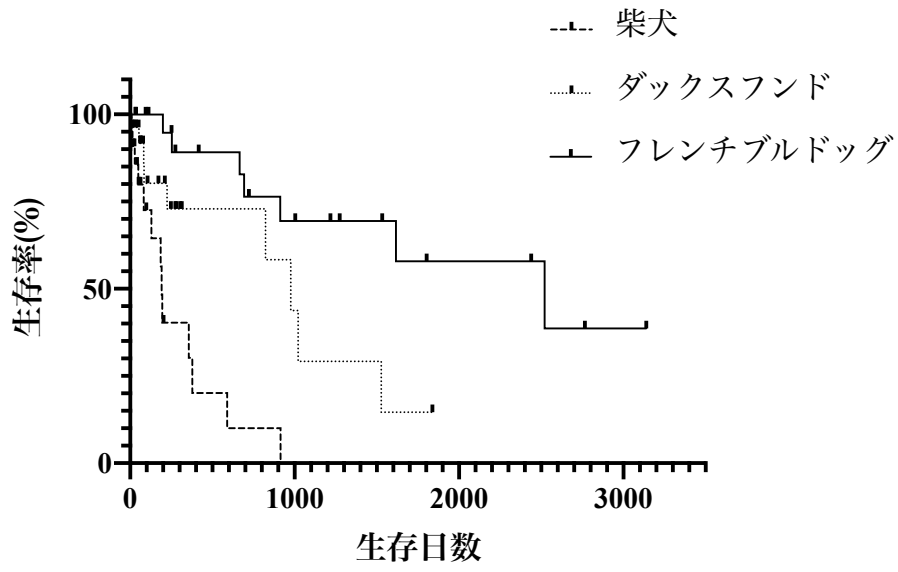
※P値はKruskal Wallis testによる3群間の検定結果を示した。

\*：P<0.05、\*\*：P<0.01、\*\*\*：P<0.001

検査項目 (正常範囲)	ダックスフンド		フレンチブルドッグ		柴犬		P値
	中央値	範囲	中央値	範囲	中央値	範囲	
WBC (6,000-17,000 / $\mu$ L)	9,000	1,100-44,900	9,200	5,100-51,400	11,750	3,200-72,000	0.37
PLT (200-400 G/L)	460	151-892	468	230-690	356	70-676	0.02 *
PCV (37-55%)	47	37-61	47.9	17.4-59.6	41.4	25-54	0.003 **
AT (102-156%)	114	52-145	128	65-185	117	66-144	0.46
TP (5.5-7.7 g/dL)	5.2	3.3-8.5	5.4	2.7-6.5	5.6	4-7	0.25
ALB (2.5-3.8 g/dL)	2.2	1.2-3.3	2.5	1.1-3.8	2.5	1.5-3.3	0.42
Tcho (85-337 mg/dL)	146	68-298	137	46-327	135.5	79-236	1
AST (18-65 U/L)	36	24-187	35	0-380	41	14-138	0.58
ALT (20-99 U/L)	48	15-1545	81	10-729	61	12-1217	0.57
GGT (3-12 U/L)	7	1-218	4	0-242	4.5	1-122	0.03 *
ALP (49-298 U/L)	61	13-1868	77	15-1552	121.5	11-2238	0.08
BUN (6-31 mg/dL)	12	6-29	13	6-16.9	14	5.6-46	0.15
Cre (0.4-1.6 mg/dL)	0.6	0.24-1.1	0.7	0.2-1.4	0.7	0.27-13	0.02 *
CRP (< 1 mg/dL)	0.1	0-12	0.1	0-10	0.2	0-5.8	0.32
Ca (8.9-11.4 mg/dL)	9.2	7.5-10.5	9.7	5.1-11.2	9.55	7.5-10.9	0.46
Na (141-151 mEq/L)	147	139-151	146	142-151	147	143-151	0.41
K (3.5-5.4 mEq/L)	3.9	3.2-5.1	3.9	3.4-5.3	4	3.5-5	0.27
Cl (107-121 mEq/L)	112	1.5-120	110	101-120	111	105-120	0.24

**Table 2-2.2** ダックスフンド、フレンチブルドッグ、柴犬における初診時の血液検査所見

\* : P<0.05、\*\* : P<0.01



**Figure 2-2.2** ダックスフンド、フレンチブルドッグ、柴犬の生存日数と生存率



犬種	消化器型リンパ腫		コントロール		合計		オッズ比	95%CI	P値
	n	%	n	%	n	%			
ミニチュアピンシャー	3	10.7	60	0.59	63	0.6	20.17	5.93-68.61	0.0007 ***
柴犬	10	35.7	351	3.46	361	3.5	15.50	7.1-33.83	<0.0001 ***
ボストンテリア	1	3.6	69	0.68	70	0.7	5.41	0.72-40.37	0.18
ダックスフンド	7	25.0	918	9.05	925	9.1	3.35	1.42-7.9	0.01 *
ジャックラッセルテリア	1	3.6	142	1.40	143	1.4	2.61	0.35-19.33	0.33
シーザー	1	3.6	164	1.62	165	1.6	2.25	0.3-16.69	0.38
フレンチブルドッグ	1	3.6	266	2.62	267	2.6	1.38	0.19-10.16	0.53
雑種	2	7.1	694	6.84	696	6.8	1.05	0.25-4.42	0.72
チワワ	1	3.6	684	6.74	685	6.7	0.51	0.07-3.78	1
トイプードル	1	3.6	949	9.35	950	9.3	0.36	0.05-2.64	0.51
その他	0	0	5849	57.65					
合計	28		10146		10174				

**Table 2-2.3** 消化器型リンパ腫症例のオッズ比と 95%信頼区間 (CI)

(調査期間：2017年1月~2021年12月)

\* : P<0.05、\*\* : P<0.01、\*\*\* : P<0.001

## 2.5 小括

第2章 第1節より本学動物病院において慢性腸症の発症オッズ比が有意に高かった犬種はボクサー、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犬種であり、国内の好発犬種である可能性が示唆された。続いて、第2章 第2節ではこのうち来院頭数が多い3犬種（ダックスフンド、フレンチブルドッグ、柴犬）に着目し、慢性腸症の臨床的特徴の犬種差が明らかとなった。

## 第 3 章

### MHC クラス II 遺伝子型と慢性腸症の発症関連解析

### 3.1 はじめに

犬の慢性腸症と人の炎症性腸疾患の両疾患において、原因は未だ明らかにされていないが、遺伝的要因、宿主の免疫要因、腸内細菌叢、および食事などの環境要因の相互作用が、人(Sartor, 2006) と犬(Eissa et al., 2019)の両方において発症に関与していると考えられている。

遺伝的要因、免疫要因として関与する重要な免疫因子である主要組織適合性複合体 (MHC) クラス II 遺伝子は、人の炎症性腸疾患を含む様々な免疫介在性疾患との関連が報告されている(Stokkers et al., 1999)。同様に、犬の MHC であるイヌの白血球抗原 (DLA) 遺伝子型と、副腎皮質機能低下症、慢性肝炎、糖尿病などの免疫介在性疾患との関連も多数報告されている ( Kennedy et al., 2006a, 2006b; Bexfield et al., 2012; Massey et al., 2013b; Gershony et al., 2019; Stromberg et al., 2019)。MHC クラス II 分子は、胸腺 CD4+ T 細胞レパートリーの選択、末梢寛容への影響、および二次リンパ組織における効果的な免疫応答の開始において重要な役割を果たすことが知られているため (Jurewicz and Stern, 2019) 、MHC クラス II 遺伝子型の関連解析は、慢性腸症の病態解明の一助になると考えられる。

しかし、我々の知る限り、MHC クラス II 遺伝子型と慢性腸症との関連性に関する報告は、2016 年に Peiravan らによって報告されたイギリスのジャーマンシェパードとの関連性の報告 1 件に限られている。しかしながら、MHC クラス II 遺伝子型は犬種によって保有する遺伝子型が大きく異なることが知られており (Kennedy et al., 2002)、特に日本由来の和犬である柴犬と、ヨー

ロッパなどの国を原産とする洋犬では大きな違いが存在することが知られている(Miyamae et al., 2016)。

そこで本検討では、第2章 第1節にて好発犬種と判明し、国内における飼育頭数が多く、本学動物病院への来院頭数が多いフレンチブルドッグとダックスフンド、柴犬のMHCクラスII遺伝型と慢性腸症の関連について検討した。

## 3.2 材料および方法

### 3.2.1 研究サンプル

発症群は日本大学動物病院に来院した、70頭のフレンチブルドッグおよび84頭のダックスフンド、柴犬40頭（発症群45頭：フレンチブルドッグ15頭、ダックスフンド16頭、柴犬14頭；非発症群149頭）の検査後の残余全血サンプルを用いてMHCクラスII遺伝子型の解析を行った。また、麻布大学のイヌバイオバンクを通じて東京大学附属動物医療センターにて慢性腸症と診断された症例（37例：フレンチブルドッグ14頭、ダックスフンド23頭）の末梢血由来DNAサンプルの提供を受けた。これらのサンプルとカルテデータから、59頭のフレンチブルドッグ（発症群29頭、非発症群30頭）と62頭のダックスフンド（発症群30頭、非発症群32頭）、柴犬33頭（発症群10頭：非発症群23頭）が分析に用いられた。残余血液の研究使用に関する飼い主の同意は書面にて行われた。研究デザインは、日本大学動物病院の倫理委員会によって審査および承認された。犬種のデータは飼い主の申告、問診票、紹介状から取得した。すべてのダックスフンドがミニチュアであり、ほとんどの被毛がロングコートであったが、回顧的研究であるため血統情報は取得できなかった。

### 3.2.2 診断基準および除外条件

慢性腸症の診断基準は3週間以上の嘔吐、下痢、体重減少、食欲不振などの消化器症状を示し、内視鏡生検および病理組織学的検査において消化管

粘膜の炎症所見が認められた症例とした。同じ消化器症状を示す慢性腸症以外の疾患の犬は全血球計算、血液化学検査、尿検査、糞便検査、および腹部超音波検査所見によって除外した。また、発症群・非発症群の両群において免疫介在性疾患（糖尿病、非再生性免疫介在性貧血、免疫介在性溶血性貧血、慢性肝炎、膵外分泌不全、炎症性結直腸ポリープ、肉芽腫性大腸炎、関節リウマチ、起源不明髄膜脳脊髄炎、甲状腺機能低下症）と診断された犬は除外した。

症例は免疫抑制療法を必要とする SRE、NRE に相当する難治性の慢性腸症と推測されたが、1 次診療施設での治療は統一されておらず、難治性で紹介された症例であることから、食事および抗生物質反応性腸症を除外するための食事療法・抗生剤療法を行うことはできなかった。

非発症群は、慢性の消化器症状の病歴、免疫介在性疾患の診断のないダックスフンド、フレンチブルドッグおよび柴犬とした。年齢は遺伝的素因を持つ症例を除外するため、柴犬は過去の報告により診断年齢中央値 5 歳以上の症例を非発症群とした(Ohmi et al., 2011)。フレンチブルドッグ、ダックスフンドの発症年齢に関する報告はないため、慢性腸症発症群の中央値であった 7 歳以上のフレンチブルドッグ、10 歳以上のダックスフンドを非発症群とした。

性別はフレンチブルドッグの発症群でオス 16 頭：メス 13 頭（診断時年齢中央値 7.7 歳、範囲 0.5-12 歳）、非発症群でオス 15 頭：メス 15 頭（診断時年齢中央値 9.9 歳、範囲 7.0-14.1 歳）であった。ダックスフンドの発症群はオス 15 頭：メス 15 頭（診断時年齢中央値 10.9 歳、範囲 2.6-16.4 歳）、非発症群

はオス 17 頭：メス 15 頭（診断時年齢の中央値 12.5 歳、範囲 10.0-16.6 歳）であった。柴犬の発症群はオス 5 頭：メス 5 頭（診断時年齢の中央値 9.0 歳、範囲 0.6-14 歳）、非発症群はオス 13 頭：メス 10 頭（診断時年齢の中央値 11.9 歳、範囲 6.9-17.3 歳）であった。どの犬種のグループ間においても性別の分布に統計的な有意差は認められなかった。

### 3.2.3 ゲノム DNA、RNA の抽出および cDNA の合成

研究デザインは、Angles ら（2005）および宮前ら（2019）の報告に基づいて設計した。TRIzol LS Reagent（Thermo Fisher Scientific 社）を用い製品添付のプロトコルに従って、末梢白血球から total RNA およびゲノム DNA サンプルを抽出した。抽出した total RNA は DNase I（Thermo Fisher Scientific 社）で処理した後、ReverTra Ace（東洋紡株式会社）もしくは Omniscript Reverse Transcription kit（QIAGEN 社）を用い、オリゴ dT プライマーにて cDNA 合成を行なった。DNase I 処理および cDNA 合成はいずれも製品の添付文章に従った。

### 3.2.4 DLA クラス II 遺伝子の PCR 増幅とダイレクトシーケンス

DLA-class II の 3 遺伝子（*DLA-DRB1*、*DLA-DQA1*、*DLA-DQB1*）に特異的な 6 組のプライマーを用いて PCR 増幅を行なった（Table 3.1）。新規アレルまたは ambiguity を示すアレルが検出された場合、RT-PCR 産物を TA クローニングキット（東洋紡株式会社）の添付文書に従って pTA2 クローニングベクターにクローニングし、ABI3130 genetic analyzer（Thermo Fisher Scientific 社）によって解析を行なった。



### 3.2.5 DLA クラス II アレル配列の決定と DLA ハプロタイプの推定

アレル配列は DNA シークエンス解析ソフトウェア Sequencher Ver.5.4.6 (Gene Codes Corporation 社) を用いて、GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) および IPD-MHC canine database (<https://www.ebi.ac.uk/ipd/mhc/group/DLA/>) の既知の DLA クラス II 遺伝子配列と比較して遺伝子型を決定した。新規アレルは、サブクローニングとサンガーシーケンス法によって決定した。DLA クラス II の 3 遺伝子座のハプロタイプは、既報の方法に基づいて推定した (Kennedy et al., 2002; Miyamae et al., 2018)。

### 3.2.6 統計処理

P 値と 2×2 クロス集計表と Fisher's exact test を用いて、発症群と非発症群の間のアレル、ハプロタイプおよびホモ接合体の頻度についてオッズ比 (odds ratio, OR)、95%信頼区間 (confidence intervals, CI) を算出した。過去の研究で推奨されているように、Bonferroni 補正は行わなかった (Perneger, 1998; Stromberg et al., 2019)。サンプルの性別分布の解析には、Chi-square test を用いた。

有意に慢性腸症の発症に関連するアレルが検出された犬種において Relative predispositional effects (RPE) メソッドを用いて、より強い関連性を持つ遺伝子型がその他の遺伝子型の結果に影響を及ぼしていないかを解析した。最初に *DLA-DRB1*、*-DQA1*、および *-DQB1* アレルの全体的な分布を、Chi-

square test を用いて発症群と非発症群で比較し、最も結果に寄与しているアレルを決定した。次に最も強い寄与を持つアレルを解析から除外し、残りのアレルの寄与を比較して、発症群と非発症群の間に有意差がなくなるまでこの手順を繰り返した。さらに一部の低頻度のアレルの影響を考慮するため、Monte-Carlo simulation によって P 値を算出した (Payami et al., 1989; Gül et al., 2002; Zhang et al., 2019)。統計解析は統計プログラム R ver. 3.6.3 および js-STAR ver.9.8.4j (<http://www.kisnet.or.jp/nappa/software/star/>)を用いて行われた。有意水準はすべての検定で 0.05 とした。

### 3.3 結果

ダックスフンドで 14 種類の *DLA-DRB1*、8 種類の *DLA-DQA1*、9 種類の *DLA-DQB1* アレルが、フレンチブルドッグで 8 種類の *DLA-DRB1*、5 種類の *DLA-DQA1* および 8 種類の *DLA-DQB1* アレルが、柴犬で 6 種類の *DLA-DRB1*、7 種類の *DLA-DQA1* および 9 種類の *DLA-DQB1* アレルが検出された。本研究で検出したすべての DLA クラス II アレルを Table 3.2 に示した。

アレル *DLA-DRB1\*002:01*、*DLA-DQA1\*009:01*、および *DLA-DQB1\*001:01* の頻度は、フレンチブルドッグの非発症群で有意に高かった (OR 0.09、CI 0.01-0.71、P=0.008、Table 3.3)。アレル *DLA-DRB1\*006:01*、*DLA-DQA1\*005:01:1*、および *DLA-DQB1\*007:01* の頻度は、フレンチブルドッグの発症群で高かったが、有意差はなかった (発症群 8 頭：非発症群 2 頭、P=0.05)。これらのアレルは、RPE 分析のラウンド 1 とラウンド 2 で有意性が失われたものの、発症群と非発症群の間のアレルの全体的な分布の中で 2 番目に高い寄与因子であった (Table 3.4)。柴犬では *DLA-DRB1\*001:01* (OR 36.82、CI 4.21-322.03、P=0.0001)、*DLA-DQB1\*013:02* (OR 7.72、CI 1.74-34.18、P=0.006) の頻度は発症群において有意に高く、*DLA-DRB1\*056:01* (OR 0.11、CI 0.03-0.44、P=0.001)、*DLA-DQA1\*014:01:2* (OR 0.25、CI 0.07-0.86、P=0.03)、*DLA-DQB1\*044:01* (OR 0.13、CI 0.04-0.47、P=0.001) の頻度は非発症群で有意に高かった (Table 3.5)。柴犬のアレルの RPE 解析において、有意差を認めたアレルは RPE 解析でも同様にリスク因子、保護因子としての影響が強かったが、他のアレルにおいて明らかな関連は認められなかった (Table

3.6)。対照的に、ダックスフンドの発症群と非発症群のアレル頻度間に有意差は認められなかった (Table 3.7)。

フレンチブルドッグでは計 9 種類のハプロタイプが検出され (Table 3.8)、柴犬では計 19 種類のハプロタイプが (Table 3.9)、ダックスフンドでは計 18 種類のハプロタイプが検出された (Table 3.10)。フレンチブルドッグのハプロタイプ 4 (*DLA-DRB1\*002:01-DQA1\*009:01-DQB1\*001:01*)は慢性腸症の発症に対する強い保護因子であった (OR 0.09、CI 0.01-0.71、P=0.008)。フレンチブルドッグのハプロタイプ 5 (*DLA-DRB1\*006:01-DQA1\*005:011-DQB1\*007:01*)は、統計学的有意差はないものの慢性腸症に対しリスク因子の傾向を示した。柴犬のハプロタイプ 5 (*DLA-DRB1\*001:01-DQA1\*002:01-DQB1\*013:02*) の頻度は発症群で有意に高く (OR 18.6、CI 0.91-378.78、P=0.02)、ハプロタイプ 1 (*DLA-DRB1\*056:01-DQA1\*014:01:2-DQB1\*044:01*) の頻度は非発症群で有意に高かった (OR 0.18、CI 0.05-0.69、P=0.01)。一方で、ダックスフンドの発症群と非発症群のハプロタイプの頻度間に有意差は認められなかった (Table 3.10)。

3つのクラス II アレルとハプロタイプをホモ接合性で持つ個体の割合は、いずれの犬種の発症群と非発症群の間、またはすべてのフレンチブルドッグ (Table 3.8) と柴犬 (Table 3.9) ダックスフンド (Table 3.10) の間で有意差を認めなかった。

### 3.4 考察

MHC クラス II 遺伝子と人および犬の様々な免疫介在性疾患との間に強い遺伝子型の関連性が報告されており、本検討ではフレンチブルドッグと柴犬において MHC クラス II と慢性腸症における重要な関連性を明らかにし、さらに犬種間のリスク関連遺伝子型と保護関連遺伝子型の違いが示された。

Peiravan ら (2016) のジャーマンシェパードと、本検討のフレンチブルドッグ、ダックスフンド、柴犬において慢性腸症に関連する遺伝子型の明らかな違いが認められた。ジャーマンシェパードにおけるリスクハプロタイプ *DLA-DRB1\*015:01-DQA1\*006:01-DQB1\*003:01* は、本研究ではフレンチブルドッグ、ダックスフンド、柴犬のいずれにも検出されなかった。同様に、強い保護ハプロタイプ (*DLA-DRB1\*015:02-DQA1\*006:01-DQB1\*023:01*) はジャーマンシェパードの非発症群でのみ見られたが、フレンチブルドッグにおいては発症群で多く認められた (発症群 32 頭 : 非発症群 26 頭)。ダックスフンドは発症群の 1 頭でしか認められず、柴犬では検出されなかった。

ジャーマンシェパードのリスクハプロタイプと保護ハプロタイプは、超可変領域 (Hypervariable region、HVR) の内側と外側にそれぞれアミノ酸の変化を引き起こす置換が 2 塩基しか存在しないのに対し (Peiravan et al., 2016)、フレンチブルドッグではリスク・保護ハプロタイプでは 39 塩基が異なっており、結果として 27 アミノ酸の置換が認められ、そのうち 21 アミノ酸置換が HVR 内に存在していた (Figure 3.1)。HVR はペプチド収容溝にあたる領域を構成しており、この領域にある塩基の置換がペプチド収容溝の構造に与える

影響は未だ明らかとなっていない。しかしフレンチブルドッグのアミノ酸の置換によって抗原ペプチドとの結合性が変化し、リスク因子および保護因子として関与する可能性は、リスク・保護ハプロタイプで2塩基しか置換のないジャーマンシェパードよりも高いと推察される。

フレンチブルドッグにおける慢性腸症の発症群の中でやや高い頻度で保有されていたハプロタイプ 5 (*DLA-DRB1\*006:01-DQA1\*005:01-DQB1\*007:01*) はイングリッシュスプリングースパニエルの慢性肝炎の発症と関連があることが知られており (Bexfield et al., 2012)、アレル *DLA-DRB1\*006:01* はドーベルマン肝炎のリスクアレルと報告されている (Dyggve et al., 2011)。慢性腸症に関連する遺伝子型が他犬種の他疾患と共通していたことは、リスクアレル/ハプロタイプが複数の犬種や様々な自己免疫疾患で共有されているという過去の報告と一致しており (Gershony et al., 2019)、フレンチブルドッグの慢性腸症が免疫遺伝学的な素因を持つことを裏付けしている。また、本検討でフレンチブルドッグのハプロタイプ 4 (*DLA-DRB1\*002:01-DQA1\*009:01-DQB1\*001:01*) は慢性腸症に対する強力な保護ハプロタイプであった ( $P=0.008$ )。そして、このハプロタイプは、Peiravan らのジャーマンシェパードの慢性腸症において保護因子として関与していた。またこのアレル *DLA-DQB1\*001:01* と *DLA-DQA1\*009:01* が組み合わさった DQ ハプロタイプは、フィンランドのドーベルマン肝炎 (Dyggve et al., 2011) やアメリカのダックスフンドの突発性後天性網膜変性 (Stromberg et al., 2019) における保護因子であった。このことから、リスク因子の MHC クラス II 遺伝子型だけでなく、保護因子の MHC クラス II 遺伝子型も複数の犬種において共有されていることが

明らかとなった。

一方で、柴犬の関連性を認めたアレル/ハプロタイプはこれまで犬の免疫介在性疾患との関連で報告されてきた遺伝子型とは一致しなかった。これは、過去の免疫介在性疾患と MHC クラス II の関連解析に関する報告は全てジャーマンシェパードやドーベルマンといった洋犬種で行われており、和犬である柴犬と保有している遺伝子型が異なるためと考えられる(Miyamae et al., 2016)。また、柴犬の慢性腸症 MHC クラス II 遺伝子型が他の犬種と共通していないことは、慢性腸症は第 2 章 第 2 節で示されたようにダックスフンドやフレンチブルドッグの慢性腸症と臨床的特徴が大きく異なることを反映し、柴犬の慢性腸症の特異性を反映している可能性があると考えられた。

一方で、ダックスフンドの発症群と非発症群の間では有意なアレル/ハプロタイプは認められなかった。これはダックスフンドの慢性腸症は MHC クラス II との関連が低く、ジャーマンシェパードなどで示された Toll 様受容体 (Kathrani et al., 2010) など、MHC クラス II の領域外の遺伝子がより強く関連することを示唆している可能性がある。しかし、複数の犬種のサブタイプ、複数の慢性腸症のサブタイプが含まれていた可能性や、ダックスフンドの遺伝的多様性に対してサンプル数が十分でなかった可能性があり、今後はサンプル数を増やした上で慢性腸症のサブタイプ別の解析が必要である。

また過去の報告や本検討において異なる犬種間で共通するリスク・保護遺伝子型が存在する一方で、今回犬種によって慢性腸症のリスク・保護ハプロタイプが明らかに異なっていたことは、MHC 領域全体で認められる連鎖不均衡 (linkage disequilibrium) の強さを反映している可能性がある(Barnes et al.,

2009)。特に第 12 染色体上に存在し、クラス II に近接しているクラス I、クラス III の遺伝子座は補体タンパク質や炎症誘発性サイトカインの TNF- $\alpha$  など、免疫系で重要な役割を持つ分子をコードしている(Yuhki et al., 2007)。慢性腸症の病態に直接関与する他の遺伝子と、MHC クラス II 遺伝子が連鎖不均衡により連鎖している場合、リスクおよび保護ハプロタイプの犬種差を説明することが可能であり、MHC クラス II が原因遺伝子のマーカーとなっている可能性は否定できない(Kennedy et al., 2006b; Barnes et al., 2009)。また、HLA クラス II は慢性腸症の発症に深く関与する腸内細菌叢の形成に重要な役割を果たしており(Minamoto et al., 2015; Russell et al., 2019)、MHC クラス II 領域外の遺伝子にまで及ぶ広範な研究や、腸内細菌叢へ及ぼす影響を含めた研究が必要である。

また本検討の洋犬種の中では、フレンチブルドッグの発症群と非発症群の間で有意な遺伝子型の違いが認められた。フレンチブルドッグという犬種は遺伝的多様性が少なく、遺伝的ボトルネックが起きた小さな母集団まで追跡することが可能であり(Pedersen et al., 2016)、選択的に交配が行われ小さい集団として維持されてきた犬種である(Marsden et al., 2016; Ostrander et al., 2017)。その後、日本国内では過去 20 年間で飼育頭数が 5 倍に増加した

(Japan Kennel Club, 2021)。これは、一貫して人気のあるダックスフンドが同じ期間内に飼育頭数が 8 分の 1 に減少したこととは対照的であった (Figure 3.2)。小さな集団内での選択的な交配によって病気に関連する遺伝子型の蓄積と固定が起きる可能性があることから、我々はフレンチブルドッグの急速な飼育頭数の増加と過度な近親交配が病気のリスクを高め、一方ダックスフン



ドは飼育頭数の減少により、疾患に配慮した交配と新しい血統の輸入により有害な遺伝子の効果が薄まり、20年にわたって病気の感受性が低下したと仮定した。予想通りフレンチブルドッグは、ダックスフンドと比較して、3つのアレルすべてでホモ接合性の割合がやや高く（42.4% vs 33.9%）、アレル（21種類 vs 31種類）とハプロタイプ（9種類 vs 18種類）の多様性が少なかった。この結果はホモ接合性の一塩基多型の長さの減衰率から推定された遺伝的多様性において、ダックスフンドよりもフレンチブルドッグの遺伝的多様性が少ないことを示す研究と一致していた(Dreger et al., 2016)。

本検討はサンプルサイズが小さいという制限に加えて、十分な血統データがないため、近親のサンプルや複数の品種サブタイプを含んでいることによる結果の歪みが生じた可能性がある。さらに、すべての非発症群の症例は2次診療施設に来院し、何らかの治療を必要とする犬であった。消化器症状と免疫介在性疾患の犬は除外したが、この集団が結果に与える影響は否定できない。しかしながら、本研究はフレンチブルドッグと柴犬の慢性腸症に関連するMHCクラスIIの遺伝子型を特定し、犬種間の差異を明らかにし、今後の診断や慢性腸症を発症しにくいブリーディングの検討などに応用していくための基礎的な知見となった。

### 3.5 小括

フレンチブルドッグおよび柴犬の慢性腸症の発症と MHC クラス II 遺伝子型の関連を認め、さらに慢性腸症に関連する MHC クラス II 遺伝子型は犬種によって異なることが明らかとなった。

DLA locus	プライマー名	プライマー配列(5' to 3')	参照
for cDNA			
DLA-DRB1	DRB1-F1	GCACCCTGTCCTTTCTG	Miyamae et al. (2019)
	DRB1-R1	TCACCATCTCCACTTCAG	
DLA-DQA1	DQA1-F1	AGTTCTGATTCTGGGGAC	Miyamae et al. (2019)
	DQA1-R1	TCTGGGAGGTGGGCAT	
DLA-DQB1	DQB1-F1	CAGGTAGGAGCTGTGTTGAC	Miyamae et al. (2019)
	DQB1-R1	CGGTATCCTCAGGCATC	
for genomic DNA			
DLA-DRB1	DRB1-F2	CCGTCCCCACAGCACATTTT	Wagner et al. (1996a)
	DRB1-R2	TGTGTCACACACCTCAGCACC	
DLA-DQA1	DQA1-F2	TAAGGTCTTTTCTCCCTCT	Wagner et al. (1996b)
	DQA1-R2	GGACAGATTCAGTGAAGAGA	
DLA-DQB1	DQB1-F2	TCACTGGCCCGGCTGTCTCC	Wagner et al. (1998)
	DQB1-R2	GGTGCGCTCACCTCGCCGCT	

**Table 3.1** プライマー情報

DLA locus	Serial no.	アレル名	フレンチブルドッグ (n=59)		ダックスタフ (n=62)		柴犬 (n=33)		Published NCBI accession numbers	NCBI accession no. of extended or novel alleles in present study
			アレル数	アレル頻度 (%)	アレル数	アレル頻度 (%)	アレル数	アレル頻度 (%)		
<b>DLA-DRB1</b>										
	1	DRB1*001:01	11	9.32	48	38.71	10	15.15	M57529	LC495499
	2	DRB1*001:02	0	0	1	0.81	0	0	M57528, S76138	-
	3	DRB1*002:01	11	9.32	11	8.87	0	0	DQ056280	LC495500
	4	DRB1*002:03	0	0	25	20.16	0	0	AM076472	LC495501
	5	DRB1*006:01	10	8.47	0	0	1	1.52	EU528639	LC495504
	6	DRB1*009:01	5	4.24	8	6.45	0	0	DQ056277	LC495508
	7	DRB1*011:03	0	0.00	0	0	12	18.18	EU528635, LR598905	LC495511
	8	DRB1*012:01	2	1.69	2	1.61	0	0	AJ003015	LC495512
	9	DRB1*013:01	2	1.69	0	0	0	0	EU528636	LC495513
	10	DRB1*015:01	0	0	10	8.06	3	4.55	DQ056281	LC495514, LC495515, LC495516
	11	DRB1*015:02	58	49.15	1	0.81	0	0	EU400579, AJ003013	LC495517
	12	DRB1*025:01	0	0	1	0.81	0	0	AJ003019	LC495527
	13	DRB1*048:01	19	16.10	1	0.81	0	0	AJ311093	LC495533
	14	DRB1*056:01	0	0	0	0	31	46.97	AY126656	LC495536
	15	DRB1*073:01	0	0	7	5.65	0	0	AM076477	LC495538
	16	DRB1*092:01:1	0	0	0	0	9	13.64	AM408904, LR598930	LC495540
	17	DRB1*094:01	0	0	7	5.65	0	0	M57531, FM246838	LC495541
	18	DRB1*103:01	0	0	1	0.81	0	0	LS974575, LR598937	-
	19	DRB1*novB	0	0	1	0.81	0	0	-	LC130499
<b>DLA-DQA1</b>										
	1	DQA1*001:01	37	31.36	67	54.03	3	4.55	NM_001011726	-
	2	DQA1*002:01	0	0	7	5.65	14	21.21	KF586961	LC495574, LC495575
	3	DQA1*003:01	0	0	1	0.81	0	0	KF586968	LC495576, LC495577
	4	DQA1*004:01	2	1.69	2	1.61	0	0	AJ630363	LC495578
	5	DQA1*004:02	0	0	1	0.81	0	0	AJ311099	LC495579
	6	DQA1*005:01:1	10	8.47	0	0	1	1.52	U44787	LC495580
	7	DQA1*006:01	58	49.15	9	7.26	19	28.79	U44790, KF586978	LC495581, LC495582
	8	DQA1*007:01	0	0.00	0	0	2	3.03	U44842	LC495583
	9	DQA1*009:01	11	9.32	36	29.03	0	0	U44785	LC495584
	10	DQA1*012:01:2	0	0	1	0.81	0	0	AJ311098	LC495586
	11	DQA1*014:01:2	0	0	0	0	27	40.91	AY126646, AJ316220	LC495587
<b>DLA-DQB1</b>										
	1	DQB1*001:01	11	9.17	36	28.80	0	0	AF043147	LC495543
	2	DQB1*002:01	13	10.83	50	40.00	2	3.03	AF016908, AF043148, M90803-	-
	3	DQB1*003:01	0	0	0	0	1	1.52	AF043151, M90804	LC495544
	4	DQB1*007:01	10	8.33	0	0	1	1.52	AF043149	LC495548
	5	DQB1*008:01:1	4	3.33	15	12.00	0	0	AH006318	LC495549
	6	DQB1*008:02	19	15.83	3	2.40	0	0	AF343731	LC495550
	7	DQB1*013:02	0	0	0	0	10	15.15	AF043159	LC495551
	8	DQB1*013:03	2	1.67	9	7.20	1	1.52	AF043152, AJ630363	LC495552, LC495553, LC495554
	9	DQB1*013:05	0	0	0	0	4	6.06	DQ415891	LC529380
	10	DQB1*017:01 <sup>a</sup>	2	1.67	1	0.80	0	0	AF043162	LC495557
	11	DQB1*020:02	0	0	6	4.80	0	0	AF043164	LC495561
	12	DQB1*022:01	0	0	0	0.00	1	1.52	AF043155	LC495562
	13	DQB1*023:01	58	48.33	4	3.20	0	0	AF043153	LC495563
	14	DQB1*029:01	0	0	1	0.80	0	0	AJ311102	LC495566
	15	DQB1*044:01	0	0	0	0	34	51.52	AY126649	LC495570
	16	DQB1*049:01	0	0	0	0	12	18.18	AM182473, AF043156	LC495571
	17	DQB1*nov5	1	0.83	0	0	0	0	-	LC494679

**Table 3.2** 本研究で検出したアレル情報

a : *DLA-DQB1\*017:01* は *DLA-DQB1\*013:03* との組み合わせで検出。

アレル	発症群		非発症群		合計		OR	95%CI	P値	
	2n=58	%	2n=60	%	2n=118	%				
<b>DRB1</b>										
1)	015:02	32	55.2	26	43.3	58	49.2	1.61	0.78-3.33	0.27
2)	048:01	8	13.8	11	18.3	19	16.1	0.71	0.26-1.92	0.62
3)	001:01	5	8.6	6	10	11	9.3	0.85	0.24-2.95	1
4)	<b>002:01</b>	<b>1</b>	<b>1.7</b>	<b>10</b>	<b>16.7</b>	<b>11</b>	<b>9.3</b>	<b>0.09</b>	<b>0.01-0.71</b>	<b>0.008**</b>
5)	<b>006:01</b>	<b>8</b>	<b>13.8</b>	<b>2</b>	<b>3.3</b>	<b>10</b>	<b>8.5</b>	<b>4.64</b>	<b>0.94-22.87</b>	<b>0.05</b>
6)	009:01	2	3.5	3	5	5	4.2	0.68	0.11-4.22	1
7)	012:01	0	0	2	3.3	2	1.7	0.2	0.01-4.26	0.5
8)	013:01	2	3.5	0	0	2	1.7	5.35	0.25-113.96	0.24
<b>DQA1</b>										
1)	006:01	32	55.2	26	43.3	58	49.2	1.61	0.78-3.33	0.27
2)	001:01	17	29.3	20	33.3	37	31.4	0.83	0.38-1.81	0.69
3)	<b>009:01</b>	<b>1</b>	<b>1.7</b>	<b>10</b>	<b>16.7</b>	<b>11</b>	<b>9.3</b>	<b>0.09</b>	<b>0.01-0.71</b>	<b>0.008**</b>
4)	<b>005:01:1</b>	<b>8</b>	<b>13.8</b>	<b>2</b>	<b>3.3</b>	<b>10</b>	<b>8.5</b>	<b>4.64</b>	<b>0.94-22.87</b>	<b>0.05</b>
5)	004:01	0	0	2	3.3	2	1.7	0.2	0.01-4.26	0.5
<b>DQB1</b>										
1)	023:01	32	55.2	26	43.3	58	49.2	1.61	0.78-3.33	0.27
2)	008:02	8	13.8	11	18.3	19	16.1	0.71	0.26-1.92	0.61
3)	002:01	7	12.1	6	10	13	11	1.24	0.39-3.92	0.78
4)	<b>001:01</b>	<b>1</b>	<b>1.7</b>	<b>10</b>	<b>16.7</b>	<b>11</b>	<b>9.3</b>	<b>0.09</b>	<b>0.01-0.71</b>	<b>0.008**</b>
5)	<b>007:01</b>	<b>8</b>	<b>13.8</b>	<b>2</b>	<b>3.3</b>	<b>10</b>	<b>8.5</b>	<b>4.64</b>	<b>0.94-22.87</b>	<b>0.05</b>
6)	008:01:1	2	3.5	2	3.3	4	3.4	1.04	0.14-7.61	1
7)	013:03-017:01	0	0	2	3.3	2	1.7	0.2	0.01-4.26	0.5
8)	nov5	0	0	1	1.7	1	0.9	0.34	0.01-8.49	1

**Table 3.3** フレンチブルドッグのアレル頻度

\*P<0.05、 \*\*P<0.01

DLA-DRB1										
アレル	Round 1					Round 2 (DRB1*002:01 除外)				
	発症	非発症	X <sup>2</sup>	P	P <sub>MC</sub> <sup>a</sup>	発症	非発症	X <sup>2</sup>	P	P <sub>MC</sub>
015:02	32	26	1.65	0.20	0.26	32	26	0.18	0.67	0.70
048:01	8	11	0.45	0.50	0.63	8	11	1.16	0.28	0.33
001:01	5	6	0.07	0.80	1	5	6	0.30	0.58	0.75
<b>002:01</b>	<b>1</b>	<b>10</b>	<b>7.79</b>	<b>0.005</b>	**	<b>0.009</b>	**			
<b>006:01</b>	<b>8</b>	<b>2</b>	<b>4.16</b>	<b>0.04</b>	*	<b>0.05</b>		<b>3.17</b>	<b>0.08</b>	<b>0.10</b>
009:01	2	3	0.18	0.68	1	2	3	0.37	0.54	0.67
012:01	0	2	1.97	0.16	0.49	0	2	2.32	0.13	0.22
013:01	2	0	2.10	0.15	0.23	2	0	2.14	0.14	0.24
全体	58	60	<b>16.32</b>	<b>0.02</b>	*	<b>0.01</b>	*	8.56	0.20	0.29

DLA-DQA1										
アレル	Round 1					Round 2 (DQA1*009:01 除外)				
	発症	非発症	X <sup>2</sup>	P	P <sub>MC</sub>	発症	非発症	X <sup>2</sup>	P	P <sub>MC</sub>
006:01	32	26	1.65	0.20	0.27	32	26	0.18	0.67	0.69
001:01	17	20	0.22	0.64	0.70	17	20	1.22	0.27	0.29
<b>009:01</b>	<b>1</b>	<b>10</b>	<b>7.79</b>	<b>0.005</b>	**	<b>0.01</b>	*			
<b>005:01:1</b>	<b>8</b>	<b>2</b>	<b>4.16</b>	<b>0.04</b>	*	<b>0.06</b>		<b>3.17</b>	<b>0.08</b>	<b>0.11</b>
004:01	0	2	1.97	0.16	0.50	0	2	2.32	0.13	0.21
全体	58	60	<b>13.80</b>	<b>0.008</b>	**	<b>0.004</b>	**	6.03	0.11	0.09

DLA-DQB1										
アレル	Round 1					Round 2 (DQB1*001:01 除外)				
	発症	非発症	X <sup>2</sup>	P	P <sub>MC</sub>	発症	非発症	X <sup>2</sup>	P	P <sub>MC</sub>
023:01	32	26	1.65	0.20	0.26	32	26	0.18	0.67	0.70
008:02	8	11	0.45	0.50	0.63	8	11	1.16	0.28	0.32
002:01	7	6	0.13	0.72	0.77	7	6	0	0.96	1
<b>001:01</b>	<b>1</b>	<b>10</b>	<b>7.79</b>	<b>0.005</b>	**	<b>0.01</b>	*			
<b>007:01</b>	<b>8</b>	<b>2</b>	<b>4.16</b>	<b>0.04</b>	*	<b>0.049</b>	*	<b>3.07</b>	<b>0.08</b>	<b>0.10</b>
008:01:1	2	2	0.00	0.97	1	2	2	0	0.98	1
013:01:3/017:0	0	2	1.97	0.16	0.49	0	2	2.32	0.13	0.21
nov5	0	1	0.97	0.32	1	0	1	1.15	0.28	0.47
全体	58	60	<b>15.11</b>	<b>0.03</b>	*	<b>0.02</b>	*	7.34	0.29	0.26

**Table 3.4** フレンチブルドッグにおける Relative predispositional effects (RPE)

解析

a: P<sub>MC</sub>: Monte-Carlo simulation により算出した P 値

\*P<0.05、 \*\*P<0.01

アレル	アレル頻度比較						OR	95%CI	P値
	発症群		非発症群		合計				
	2n=20	%	2n=46	%	2n=66	%			
<b>DRB1</b>									
1) <b>056:01</b>	<b>3</b>	<b>15</b>	<b>28</b>	<b>60.9</b>	<b>31</b>	<b>47.0</b>	<b>0.11</b>	<b>0.03-0.44</b>	<b>0.001 **</b>
2) 011:03	4	20	8	17.4	12	18.2	1.19	0.31-4.51	1
3) <b>001:01</b>	<b>9</b>	<b>45</b>	<b>1</b>	<b>2.2</b>	<b>10</b>	<b>15.2</b>	<b>36.82</b>	<b>4.21-322.03</b>	<b>0.0001 ***</b>
4) 092:01:1	3	15	6	13.0	9	13.6	1.18	0.26-5.26	1
5) 015:01	0	0	3	6.5	3	4.5	0.30	0.01-6.15	0.55
6) その他	1		0		1				
<b>DQA1</b>									
1) <b>014:01:2</b>	<b>4</b>	<b>20</b>	<b>23</b>	<b>50.0</b>	<b>27</b>	<b>40.9</b>	<b>0.25</b>	<b>0.07-0.86</b>	<b>0.03 *</b>
2) 006:01	6	30	13	28.3	19	28.8	1.09	0.34-3.44	1
3) 002:01	7	35	7	15.2	14	21.2	3.00	0.88-10.17	0.10
4) 001:01	2	10	1	2.2	3	4.5	5.00	0.43-58.64	0.22
5) 007:01	0	0	2	4.3	2	3.0	0.43	0.02-9.46	1
6) その他	1		0						
<b>DQB1</b>									
1) <b>044:01</b>	<b>4</b>	<b>20</b>	<b>30</b>	<b>65.2</b>	<b>34</b>	<b>51.5</b>	<b>0.13</b>	<b>0.04-0.47</b>	<b>0.001 **</b>
2) 049:01	5	25	7	15.2	12	18.2	1.86	0.51-6.77	0.49
3) <b>013:02</b>	<b>7</b>	<b>35</b>	<b>3</b>	<b>6.5</b>	<b>10</b>	<b>15.2</b>	<b>7.72</b>	<b>1.74-34.18</b>	<b>0.006 **</b>
4) 013:05	0	0	4	8.7	4	6.1	0.23	0.01-4.49	0.31
5) 002:01	1	5	1	2.2	2	3.0	2.37	0.14-39.86	0.52
6) その他	3		1						

**Table 3.5** 柴犬のアレル頻度

\*P<0.05、 \*\*P<0.01、 \*\*\*P<0.001

※1つしか検出されなかったアレルはその他に集計

DLA-DRB1															
アレル	Round 1					Round 2 (DRB1*001:01除外)					Round 3 (DRB1*056:01除外)				
	発症	非発症	X <sup>2</sup>	P	P <sub>MC</sub> <sup>b</sup>	発症	非発症	X <sup>2</sup>	P	P <sub>MC</sub>	発症	非発症	X <sup>2</sup>	P	P <sub>MC</sub>
<b>056:01</b>	<b>3</b>	<b>28</b>	<b>11.78</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>***</b>	<b>0.002</b>	<b>**</b>	<b>3</b>	<b>28</b>	<b>11.78</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>***</b>	<b>0.001</b>	<b>**</b>	
011:03	4	8	0.06	0.80		1		4	8	0.06	0.80		1		
<b>001:01</b>	<b>9</b>	<b>1</b>	<b>19.89</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>***</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>***</b>								
092:01:1	3	6	0.05	0.83		1		3	6	0.05	0.83		1		
015:01	0	3	1.37	0.24		0.55		0	3	1.37	0.24		0.54		
その他	1	0						1	0						
全体	20	46	<b>26.81</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>***</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>***</b>	11	45	9.27	0.05		0.05		

DLA-DQA1													
アレル	Round 1					Round 2 (DQA1*014:01:2除外)							
	発症	非発症	X <sup>2</sup>	P	P <sub>MC</sub>	発症	非発症	X <sup>2</sup>	P	P <sub>MC</sub>			
<b>014:01:2</b>	<b>4</b>	<b>23</b>	<b>5.19</b>	<b>0.02</b>	<b>*</b>	<b>0.03</b>	<b>*</b>						
006:01	6	13	0.02	0.89		1		6	13	0.02	0.89		1
002:01	7	7	3.26	0.07		0.12		7	7	3.26	0.07		0.10
001:01	2	1	3.67	0.06		0.12		2	1	3.67	0.06		0.11
007:01	0	2	0.90	0.34		0.58		0	2	0.90	0.34		0.57
その他	1	0						1	0				
全体	20	46	10.70	0.06		0.05		16	23	4.81	0.31		0.36

DLA-DQB1															
アレル	Round 1					Round 2 (DQB1*044:01除外)					Round 3 (DQB1*013:02除外)				
	発症	非発症	X <sup>2</sup>	P	P <sub>MC</sub>	発症	非発症	X <sup>2</sup>	P	P <sub>MC</sub>	発症	非発症	X <sup>2</sup>	P	P <sub>MC</sub>
<b>044:01</b>	<b>4</b>	<b>30</b>	<b>11.41</b>	<b>0.001</b>	<b>**</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>***</b>								
049:01	5	7	0.90	0.34		0.49		5	7	0.90	0.34		0.49		
<b>013:02</b>	<b>7</b>	<b>3</b>	<b>8.79</b>	<b>0.003</b>	<b>**</b>	<b>0.01</b>	<b>*</b>	<b>7</b>	<b>3</b>	<b>8.79</b>	<b>0.003</b>	<b>**</b>	<b>0.01</b>	<b>*</b>	
013:05	0	4	1.85	0.17		0.30		0	4	1.85	0.17		0.31		
002:01	1	1	0.38	0.54		1.00		1	1	0.38	0.54		1		
その他	3	1						3	1						
全体	20	46	<b>23.17</b>	<b>0.003</b>	<b>**</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>***</b>	16	16	9.93	0.19		0.13		

**Table 3.6** 柴犬における Relative predispositional effects (RPE)解析

\*P<0.05、 \*\*P<0.01、 \*\*\*P<0.001

※1つしか検出されなかったアレルはその他に集計



アレル	発症群		非発症群		合計		OR	95%CI	P値
	2n=60	%	2n=64	%	2n=124	%			
<b>DRB1</b>									
1) 001:01	23	38.3	25	39.1	48	38.7	0.97	0.47-1.00	1
2) 002:03	10	16.7	15	23.4	25	20.2	0.65	0.27-1.59	0.38
3) 002:01	7	11.7	4	6.3	11	8.9	1.98	0.55-7.15	0.35
4) 015:01	7	11.7	3	4.7	10	8.1	2.69	0.66-10.91	0.20
5) 009:01	3	5.0	5	7.8	8	6.5	0.62	0.14-2.72	0.72
6) 073:01	3	5.0	4	6.3	7	5.7	0.79	0.17-3.68	1
7) 094:01	3	5.0	4	6.3	7	5.7	0.79	0.17-3.68	1
8) 012:01	1	1.7	1	1.6	2	1.6	1.07	0.07-17.46	1
その他	3	5.0	3	4.7	6	4.8			
<b>DQA1</b>									
1) 001:01	31	51.7	36	56.3	67	54.0	0.83	0.41-1.69	0.72
2) 009:01	17	28.3	19	29.7	36	29.0	0.94	0.43-2.04	0.84
3) 006:01	7	11.7	2	3.1	9	7.3	4.09	0.82-20.56	0.09
4) 002:01	3	5.0	4	6.3	7	5.7	0.79	0.17-3.68	1
5) 004:01	1	1.7	1	1.6	2	1.6	1.07	0.07-17.46	1
その他	1	1.7	2	3.1	3	2.4			
<b>DQB1</b>									
1) 002:01	23	38.3	27	42.2	50	40.3	0.85	0.42-1.75	0.72
2) 001:01	17	28.3	19	29.7	36	29.0	0.94	0.43-2.04	1
3) 008:01:1	6	10.0	9	14.1	15	12.1	0.68	0.23-2.04	0.59
4) 013:03	4	6.7	4	6.3	8	6.5	1.07	0.26-4.49	1
5) 020:02	4	6.7	2	3.1	6	4.8	2.21	0.39-12.56	0.43
6) 023:01	3	5.0	1	1.6	4	3.2	3.32	0.34-32.79	0.35
7) 008:02	2	3.3	1	1.6	3	2.4	2.17	0.19-24.60	1
その他	1	1.7	1	1.6	2	1.6			

**Table 3.7** ダックスフンドのアレル頻度

※ 1つしか検出されなかったアレルはその他に集計

ハプロタイプ DRB1 - DQA1 - DQB1	ハプロタイプ頻度						OR	95%CI	P値
	発症群		非発症群		合計				
	2n=58	%	2n=60	%	2n=118	%			
1) 015:02-006:01-023:01	32	55.2	26	43.3	58	49.2	1.6	0.78-3.33	0.27
2) 048:01-001:01-008:02	8	13.8	11	18.3	19	16.1	0.71	0.26-1.92	0.62
3) 001:01-001:01-002:01	5	8.6	6	10	11	9.3	0.85	0.24-2.95	1
4) <b>002:01-009:01-001:01</b>	<b>1</b>	<b>1.7</b>	<b>10</b>	<b>16.7</b>	<b>11</b>	<b>9.3</b>	<b>0.09</b>	<b>0.01-0.71</b>	<b>0.008**</b>
5) <b>006:01-005:01:1-007:01</b>	<b>8</b>	<b>13.8</b>	<b>2</b>	<b>3.3</b>	<b>10</b>	<b>8.5</b>	<b>4.64</b>	<b>0.94-22.87</b>	<b>0.05</b>
6) 009:01-001:01-008:01:1	2	3.5	2	3.3	4	3.4	1.04	0.14-7.61	1
7) 012:01-004:01-013:03/017:01	0	0	2	3.3	2	1.7	0.2	0.01-4.26	0.50
8) 013:01-001:01-002:01	2	3.5	0	0	2	1.7	5.35	0.25-113.9	0.24
9) 009:01-001:01- nov5	0	0	1	1.7	1	0.9	0.34	0.01-8.49	1
	58		60		118				

**Table 3.8** フレンチブルドッグのハプロタイプ頻度

\*P<0.05、 \*\*P<0.01

ハプロタイプ DRB1 - DQA1 - DQB1	ホモ接合体						OR	95%CI	P値
	発症群		非発症群		合計				
	n=13	%	n=12	%	n=25	%			
1) 015:02-006:01-023:01	12	41.4	7	23.3	19	32.2	2.32	0.75-7.13	0.17
2) 048:01-001:01-008:02	0	0	3	10	3	5.1	0.13	0.01-2.70	0.24
3) 001:01-001:01-002:01									
4) <b>002:01-009:01-001:01</b>	0	0	1	3.3	1	1.7	0.33	0.01-8.52	1
5) <b>006:01-005:01:1-007:01</b>	1	3.5	0	0	1	1.7	3.21	0.13-82.07	0.49
6) 009:01-001:01-008:01:1									
7) 012:01-004:01-013:03/017:01	0	0	1	3.3	1	1.7	0.33	0.01-8.52	1
8) 013:01-001:01-002:01									
9) 009:01-001:01- nov5									
	13	44.8	12	40	25	42.4			

続き : **Table 3.8** フレンチブルドッグのハプロタイプ頻度 (ホモ接合体)

ハプロタイプ DRB1 - DQA1 - DQB1	ハプロタイプ頻度						OR	95%CI	P値
	発症群		非発症群		合計				
	2n=20	%	2n=46	%	2n=66	%			
1) <b>056:01-014:01:2-044:01</b>	<b>3</b>	<b>15</b>	<b>23</b>	<b>50.0</b>	<b>26</b>	<b>39.4</b>	<b>0.18</b>	<b>0.05-0.69</b>	<b>0.01 *</b>
2) 011:03-002:01-013:02	4	20	3	6.5	7	10.6	3.58	0.72-17.81	0.19
3) 092:01:1-006:01-049:01	3	15	5	10.9	8	12.1	1.45	0.31-6.74	0.69
4) 011:03-002:01-044:01	0	0	4	8.7	4	6.1	0.23	0.01-4.49	0.31
5) <b>001:01-002:01-013:02</b>	<b>3</b>	<b>15</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>3</b>	<b>4.5</b>	<b>18.60</b>	<b>0.91-378.78</b>	<b>0.02 *</b>
6) 001:01-001:01-002:01	1	5	1	2.2	2	3.0	2.37	0.14-39.86	0.52
7) 001:01-006:01-049:01	2	10	0	0	2	3.0	12.75	0.58-274.5	0.09
8) 015:01-006:01-013:05	0	0	2	4.3	2	3.0	0.43	0.02-9.46	1
9) 056:01-006:01-013:05	0	0	2	4.3	2	3.0	0.43	0.02-9.46	1
10) 056:01-007:01-044:01	0	0	2	4.3	2	3.0	0.43	0.02-9.46	1
その他	4	20	4	8.7	8	12.1			
	20		46		66				

**Table 3.9** 柴犬のハプロタイプ頻度

\*P<0.05

※1つしか検出されなかったハプロタイプはその他に集計

ハプロタイプ DRB1 - DQA1 - DQB1	ホモ接合体						OR	95%CI	P値
	発症群		非発症群		合計				
	n=10	%	n=23	%	n=33	%			
1) <b>056:01-014:01:2-044:01</b>	0	0	5	21.7	5	15.2	0.16	0.01-3.19	0.29
2) 011:03-002:01-013:02	1	10	0	0	1	3.0	7.42	0.28-198.84	0.30
3) 092:01:1-006:01-049:01	1	10	0	0	1	3.0	7.42	0.28-198.84	0.30
4) 011:03-002:01-044:01	0	0	2	8.7	2	6.1	0.41	0.02-9.32	1
5) <b>001:01-002:01-013:02</b>	1	10	0	0	1	3.0	7.42	0.28-198.84	0.30
6) 001:01-001:01-002:01	0	0	0	0	0	0			
7) 001:01-006:01-049:01	0	0	0	0	0	0			
8) 015:01-006:01-013:05	0	0	0	0	0	0			
9) 056:01-006:01-013:05	0	0	1	4.3	1	3.0	0.71	0.03-11.24	1
10) 056:01-007:01-044:01	0	0	1	4.3	1	3.0	0.71	0.03-11.24	1
その他						0			
	3	30	9	39.1	12	36.4			

続き : **Table 3.9** 柴犬のハプロタイプ頻度 (ホモ接合体)

※1つしか検出されなかったハプロタイプはその他に集計

ハプロタイプ DRB1 - DQA1 - DQB1	ハプロタイプ頻度						OR	95%CI	P値
	発症群		非発症群		合計				
	2n=60	%	2n=64	%	2n=124	%			
1) 001:01-001:01-002:01	23	38.3	25	39.1	48	38.7	0.97	0.47-1.00	1
2) 002:03-009:01-001:01	12	20.0	15	23.4	27	21.8	0.82	0.35-1.92	0.67
3) 002:01-009:01-001:01	5	8.3	4	6.3	9	7.3	1.36	0.35-5.34	0.74
4) 009:01-001:01-008:01:1	3	5.0	4	6.3	7	5.6	0.79	0.17-3.68	1
5) 073:01-002:01-013:03	3	5.0	4	6.3	7	5.6	0.79	0.17-3.68	1
6) 094:01-001:01-008:01:1	3	5.0	4	6.3	7	5.6	0.79	0.17-3.68	1
7) 015:01-006:01-020:02	4	6.7	2	3.1	6	4.8	2.21	0.39-12.56	0.43
8) 015:01-006:01-023:01	2	3.3	0	0	2	1.6	5.51	0.26-117.22	0.23
9) 012:01-004:01-013:03/017:01	1	1.7	1	1.6	2	1.6	1.07	0.07-17.46	1
10) 015:02-006:01-023:01	1	1.7	0	0	1	0.8	3.25	0.13-81.39	0.48
その他	3	5.0	5	7.8	8	6.5			
	60		64		124				

**Table 3.10** ダックスフンドのハプロタイプ頻度

※ 1つしか検出されなかったハプロタイプはその他に集計

ハプロタイプ DRB1 - DQA1 - DQB1	ホモ接合体						OR	95%CI	P値
	発症群		非発症群		合計				
	n=11	%	n=10	%	n=21	%			
1) 001:01-001:01-002:01	6	20.0	7	21.9	13	21.0	0.89	0.26-3.04	1
2) 002:03-009:01-001:01	1	3.3	2	6.3	3	4.8	0.52	0.04-6.02	1
3) 002:01-009:01-001:01									
4) 009:01-001:01-008:01:1	0	0	1	3.1	1	1.6	0.34	0.01-8.78	1
5) 073:01-002:01-013:03									
6) 094:01-001:01-008:01:1	1	3.3	0	0	1	1.6	3.31	0.13-84.33	0.48
7) 015:01-006:01-020:02	2	6.7	0	0	2	3.2	5.70	0.26-123.79	0.23
8) 015:01-006:01-023:01	1	3.3	0	0	1	1.6	3.31	0.13-84.33	0.48
9) 012:01-004:01-013:03/017:01									
10) 015:02-006:01-023:01									
その他									
	11	36.7	10	31.3	21	33.9			

**続き : Table 3.10** ダックスフンドのハプロタイプ頻度 (ホモ接合体)

※ 1つしか検出されなかったハプロタイプはその他に集計

### DLA-DRB1

		10	20	30	40	50
リスクアレル	DRB1*00:201	HFLEM	VKFECHFTNG	TERVRYLARD	IYNREEILRF	DSDVGEYRAV
保護アレル	DRB1*00:601	- - - V	A - A - - - -	- - - - - FVE - Y	- - - - - YV - -	- - - - - - - - -
			HVR1		HVR2	
		60	70	80	90	94
(続き)	DRB1*002:01	TELGRP	IAES WNRQKE	ILEQ	RRAAVDTYCR	HNYGVIESFA VQRR
(続き)	DRB1*006:01	- - - - -	D - - Y - - P - - L - - R	A - - - - - - - - -	- - - - - G - - - T	- - - - -
			HVR3			

### DLA-DQA1

		10	20	30	40	50
リスクアレル	DQA1*009:01	DHVAI	YGINVYQSYG	PSGQF	THEFD	GDEEFYVDLE KKETVWRLPV
保護アレル	DQA1*005:01:1	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -	- - - - -
			HVR1			
		60	70	80	87	
(続き)	DQA1*009:01	FSTFR	SFDPQ	GALRNLA	I I K	QNLNIMTKRS NQTAATN
(続き)	DQA1*005:01:1	- - - T	- - - - -	- - - T - - - - -	- - - - -	- - - K - - - - -
			HVR2		HVR3	

### DLA-DQB1

		10	20	30	40	50
リスクアレル	DQB1*001:01	DFVYQ	FKGECYFTNG	TERVRL	LLTRD	IYNREEHVRF DSDVGEYRAV
保護アレル	DQB1*007:01	- - - - -	- F - - - - -	- - - - -	- A - - - - -	- F - - - - -
			HVR1		HVR2	
		60	70	80	90	94
(続き)	DQB1*001:01	TELGRP	DAEY WNGQKELLER	RRAEV	DTVCR	HNYGREELTT LQRR
(続き)	DQB1*007:01	- - - - -	- - - - -	- Q - - - - -	- L - - - - -	- - - L - - - Y - - - - -
			HVR3			

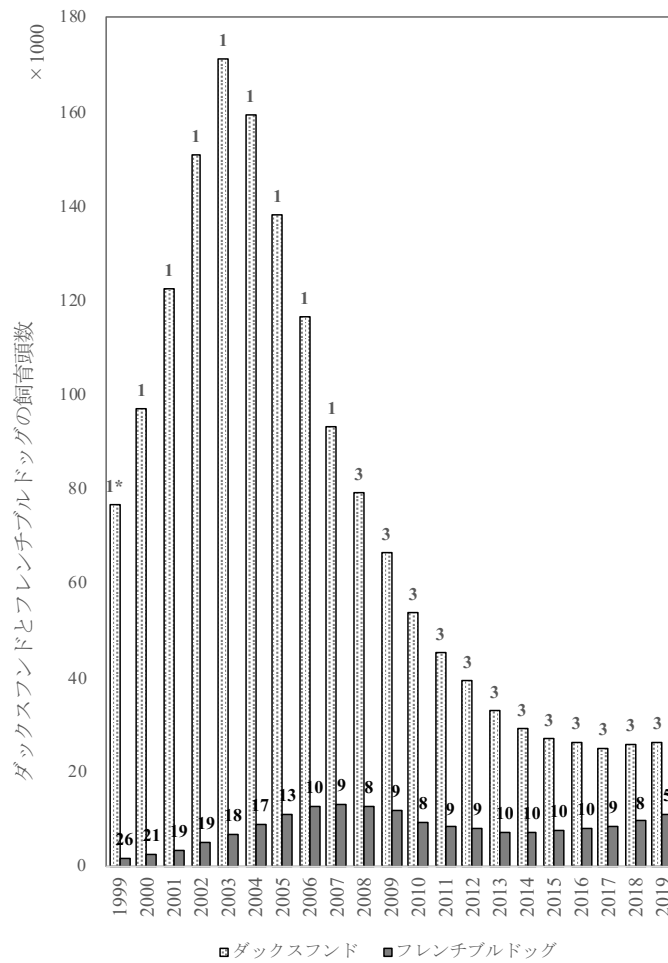
**Figure 3.1** フレンチブルドッグのリスクおよび保護ハプロタイプのアミノ酸残基の比較

※網掛け部分は超可変領域（HVR）を示す。

共通しているアミノ酸は省略し、置換しているアミノ酸残基のみ表記した。

フレンチブルドッグはリスクと保護ハプロタイプにおいて *DLA-DRB1*、*DLA-DQA1*、*DLA-DQB1* の exon2 領域に計 27 残基のアミノ酸の置換が存在し、

HVR 内に計 21 残基のアミノ酸の置換が存在した。



**Figure 3.2** Japan Kennel Club (JKC) におけるダックスフンドとフレンチブルドッグの飼育登録頭数 (1999-2019)

\*JKC における飼育頭数の順位

## 第 4 章

### MHC クラス II 遺伝子型の臨床応用に関する検討

#### 4.1 はじめに

犬の慢性腸症はさまざまな病態を含んだ疾患群の総称であり、第2章第2節において認められたリンパ管拡張を伴う腸炎や、ステロイドや免疫抑制剤に反応を示さず、生存期間の短縮が著しい腸炎などをはじめとした様々な臨床的サブタイプが存在する。しかし、これらの病態は全て嘔吐や下痢、体重減少などの非特異的な消化器症状を示し、迅速な鑑別は困難である。現状ではこれらのサブタイプの鑑別には内視鏡検査および病理組織学的検査や、試験的治療が必要であり、麻酔や内視鏡検査の負担、診断するまでの多大な時間を必要とする。

近年、医学領域において MHC 遺伝子型は発症関連解析だけでなく、MHC 遺伝子型の予後との関連が研究され臨床応用が検討されている。人の潰瘍性大腸炎では HLA 遺伝子型と重症度や白血球数との関連が報告され(Iwamoto et al., 2018)、関節リウマチでは重症度だけでなく、治療反応性や予後との関連が報告されている(Viatte et al., 2015)。また、グルテン不耐症のセリアック病においては、MHC クラス II 遺伝子型の HLA-DQ2 もしくは HLA-DQ8 が診断の補助として用いられている(Liu et al., 2005)。犬の DLA クラス II 遺伝子型のタイピングは末梢単核球由来の DNA もしくは RNA サンプルから分析を行うことができるため、採血だけで実施可能で、内視鏡検査など生体へ負担のかかる検査を必要とせず、スクリーニングや診断の補助としての臨床応用が期待される。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。



また、人の炎症性腸疾患においては、そのサブタイプである潰瘍性大腸炎とクローン病の鑑別に応用できる可能性が報告されている(Okada et al., 2011)。一方、犬の慢性腸症の診断において臨床現場で特に重要な鑑別疾患は消化器型リンパ腫である。犬の消化器型リンパ腫は犬の消化管腫瘍の中で最も多く発生する腫瘍であり(Volkman et al., 2017)、診断には病理組織学的診断が必須であるが、慢性腸症で最も一般的であるリンパ球形質細胞性腸炎との鑑別が困難である場合がある(Carrasco et al., 2015)。消化器型リンパ腫は症状が慢性腸症と類似しているが、治療方針と生存期間が著しく異なるため早期の鑑別が必要である(Frank et al., 2007)。また近年の研究では特に柴犬において慢性腸症から消化器型リンパ腫への移行の可能性が報告されており(Ohmi et al., 2017)、この2つの疾患の鑑別は大きな課題となっている。

そこで本研究では第3章にて明らかとなった慢性腸症に関連するMHCクラスII遺伝子型と疾患の重症度・予後との関連を検討した。また、同時に消化器型リンパ腫との鑑別にMHC遺伝子型のタイピングを用いることができるか検討を行った。

## 4.2 材料および方法

### 4.2.1 研究サンプル

日本大学動物病院を 2014 年 6 月から 2022 年 7 月の期間に受診し、消化管内視鏡検査および病理組織学的検査にて慢性腸症もしくは消化器型リンパ腫と診断した症例で、検診時の余剰 EDTA 処理末梢血サンプルが入手可能であった症例を対象とした。症例の血液サンプルの提供に関しては飼い主の書面による同意を入手し、研究デザインは日本大学動物病院の倫理委員会の審査を受けた。対象犬種は第 2 章 第 1 節で好発犬種と明らかになった柴犬、ダックスフンド、フレンチブルドッグの 3 犬種とした。

慢性腸症と消化器型リンパ腫の群分けは、病理組織学的検査所見およびクローナリティ検査で総合的に鑑別診断した。病理組織学的所見で消化器型リンパ腫の疑いと診断され、クローナリティ検査陽性であった症例は消化器型リンパ腫に分類した。また血液化学検査、腹部超音波検査、X 線検査、糞便検査の結果から、消化器症状を示す他の原因疾患を除外した。

### 4.2.2 DLA クラス II 遺伝子型の同定

第 3 章に示した、末梢血サンプルからの RNA の抽出、cDNA の合成、DLA クラス II の 3 遺伝子 (*DLA-DRB1*、*DLA-DQA1*、*DLA-DQB1*) に特異的なプライマーを用いた PCR 増幅およびダイレクトシーケンスによって得られた DLA クラス II 遺伝子型データを用いた。

#### 4.2.3 検討項目

ダックスフンドと柴犬の慢性腸症と消化器型リンパ腫の関連遺伝子型を比較した。また、第3章にて有意に慢性腸症と関連した遺伝子型について、フレンチブルドッグ、ダックスフンド、柴犬それぞれの犬種で関連遺伝子型の保有群と非保有群に分け、以下の項目について比較検討を行なった。

##### 1) シグナルメントと臨床症状の評価

シグナルメントは診断時年齢、性別を記録した。また、臨床症状の評価には第2章第2節と同じく Jergens ら (2003) によって提言された CIBDAI と Allenspach ら (2007) によって提言された CCECAI を用いた。

##### 2) 血液検査

全血球計算では白血球数 (WBC)、赤血球数 (RBC)、血小板数 (PLT) を測定した。血液凝固系検査としてアンチトロンビン (AT)、フィブリノーゲン (Fib)、D ダイマー (d-dimer) を測定した。さらに血液化学検査では総タンパク (TP)、アルブミン (ALB)、グルコース (Glu)、アルカリフォスファターゼ (AST)、アラニントランスフェラーゼ (ALT)、総コレステロール (T-Cho)、尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cre)、C 反応性タンパク (CRP) カルシウム (Ca)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、クロール (Cl) を測定した。

##### 3) 腹部超音波検査

腹部超音波検査において絶食 12 時間後の十二指腸全層 (mm) を測定した。

#### 4) 治療内容、治療反応性の評価

慢性腸症または消化器型リンパ腫と診断した後に実施した食事療法、抗生剤、ステロイド、抗がん剤投与について記録した。治療反応性の評価は、治療に反応し、症状が完全に消失したものをスコア 2 (改善)、治療に反応したが完全には症状の改善を認めなかったものをスコア 1 (一部改善)、症状の改善が認められなかった症例をスコア 0 (改善なし) と 3 段階で評価した。

#### 5) 予後

生存期間は初診時から死亡時または、最終受診日とした。本学動物病院での検診を終了した症例は 1 次診療の紹介病院へのアンケート調査を行い、追跡不可能であった症例は最後に生存が確認できた日までとした。

#### 4.2.4 統計処理

慢性腸症と消化器型リンパ腫に関連する DLA クラス II の 3 遺伝子 (*DLA-DRB1*、*-DQA1*、*-DQB1*) のアレルの関連の比較には  $2 \times 2$  のクロス集計表を用いて、オッズ比 (OR) と 95%信頼区間 (CI) を Fisher's exact test にて算出した。Bonferroni 補正は第 3 章と同じく行わなかった。発症関連アレルの保有群と非保有群に群分けした後、診断時年齢、臨床スコア (CIBDAI、CCECAI)、十二指腸全層 (mm)、血液検査項目の比較には Mann-Whitney U test を用いた。結果は中央値と範囲を表記した。生存期間のデータ比較には Kaplan-Meier 生存曲線と log-rank test を用いた。統計分析には GraphPad Prism8 (GraphPad Software 社) を用いた。なお、統計学的な有意水準は 0.05 とした。

## 4.3 結果

### 4.3.1 慢性腸症と消化器型リンパ腫の関連遺伝子型

対象はダックスフンドが 19 頭（慢性腸症 15 頭：リンパ腫 4 頭）、柴犬が 18 頭（慢性腸症 10 頭：リンパ腫 8 頭）、フレンチブルドッグは 13 頭（慢性腸症 13 頭：リンパ腫 0 頭）であり、調査期間内に来院したフレンチブルドッグのリンパ腫症例はいなかった。消化器型リンパ腫と診断されたダックスフンドの 4 頭と柴犬 8 頭は病理組織学的検査において消化器型リンパ腫もしくはその疑いありと診断された。ダックスフンド 4 頭のうち 3 頭が小細胞性、1 頭が大細胞性であり、2 頭はリンパ球クローナリティ検査で T 細胞性陽性であった。柴犬は 5 頭が小細胞性、3 頭が大細胞性であり、全ての症例でリンパ球クローナリティは T 細胞性陽性であった。

ダックスフンドと柴犬の 2 犬種において慢性腸症と消化器型リンパ腫症例のハプロタイプ頻度を比較した (Table 4.1; Table 4.2)。2 犬種とも 2×2 クロス集計表において各ハプロタイプの症例数 5 未満が大半であったため統計学的検討は実施しなかったが、ダックスフンドにおいて出現頻度の高い 2 ハプロタイプは慢性腸症と消化器型リンパ腫で共通していた。

柴犬はさらに各アレルで評価を行なったところ (Figure 4.1)、非発症群と比較して *DLA-DRB1\*001:01* の頻度は慢性腸症 (OR 36.8、CI 4.21-322.03、 $P < 0.001$ ) と消化器型リンパ腫 (OR 27、CI 2.92-249.89、 $P < 0.001$ ) で共通して有意に高かった。*DLA-DQB1\*013:02* の頻度は慢性腸症で有意に高く (OR 7.7、CI 1.74-34.18、 $P = 0.006$ )、消化器型リンパ腫では発症群に多い傾向はあるものの統計学

的有意差は認められなかった (OR 2.1、P=0.60)。

#### 4.3.2 柴犬の *DLA-DRB1* 遺伝子型と臨床的特徴の関連

慢性腸症および消化器型リンパ腫で共通していた *DLA-DRB1\*001:01* について保有群 8 頭 (慢性腸症 5 頭：リンパ腫 3 頭) と非保有群 10 頭 (慢性腸症 5 頭：非保有群 5 頭) に群分けして解析を実施した (Table 4.3)。

診断時年齢は保有群で 8 歳 (範囲 1-16 歳)、非保有群で 10.5 歳 (範囲 0.6-12 歳) であった。臨床兆候のスコアである CIBDAI は保有群で 10.5 (範囲 0-15)、非保有群は 5 (2-14) であり、CCECAI は保有群で 11.5 (範囲 0-16)、非保有群で 5.5 (範囲 3-14) であった。CIBDAI、CCECAI のいずれにおいても保有群で重症度が高い傾向にあったが、有意差は認められなかった。血液検査では保有群は有意に GGT の高値 (P=0.02) と、Ca の低値 (P=0.04) を示した。PLT は保有群で低い傾向にあったが、統計学的な有意差は認められなかった (P=0.05)。十二指腸の全層の厚さは 2 群間に有意な差を示さなかった。

*DLA-DRB1\*001:01* 保有群において本学動物病院来院前に 1 次診療施設にてステロイド投与が行われていた症例は保有群で 6/8 頭 (75%)、非保有群で 9/10 頭 (90%) であった。慢性腸症と診断された症例にはプレドニゾン投与もしくは抗生剤投与が実施された。消化器型リンパ腫と診断された症例は L-アスパラギナーゼ (ロイナーゼ注、協和キリン株式会社、400 U/kg、週 1 回、皮下) 投与およびプレドニゾン投与が行われた。

治療に対して症状の改善を認めた症例の割合は、慢性腸症の保有群で 40%、非保有群で 80% であった。消化器型リンパ腫の保有群の 66.7%、非保有群の

100%が治療に対して症状の改善を認めた。

生存期間中央値は保有群で 43 日（範囲 9-204 日）、非保有群で 458 日（14-904 日）であり保有群の生存日数が短い傾向にあったが、統計学的有意差は認められなかった（ $P=0.06$ 、Figure 4.2）。

#### 4.3.3 フレンチブルドッグとダックスフンドの *DLA-DRB1* 遺伝子型と臨床的特徴の関連

第 3 章にてリスク因子の可能性があったフレンチブルドッグのハプロタイプ（*DLA-DRB1\*006:01-DQA1\*005:01:1-DQB1\*007:01*）について検討した。このハプロタイプを構成する 3 アレル（*DLA-DRB1\*006:01*、*DLA-DQA1\*005:01:1*、*DLA-DQB1\*007:01*）は完全に連鎖しており、オッズ比と P 値は全て共通であった。フレンチブルドッグの慢性腸症 13 頭のうち、リスクハプロタイプ（*DLA-DRB1\*006:01-DQA1\*005:01:1-DQB1\*007:01*）を保有していた保有群は 2 頭、非保有群は 11 頭であった。

診断年齢中央値は保有群で 6 歳（範囲 8-11 歳）、非保有群で 9.5 歳（範囲 0.4-12 歳）であった。臨床兆候の評価において CIBDAI は保有群で 5.5（範囲 5-6）、非保有群で 8（範囲 0-9）、CCECAI は保有群で 7（範囲 7）、非保有群で 9（範囲 0-12）でありいずれも有意差は認められなかったが、保有群で臨床的な重症度は低い傾向にあった（ $P=0.39$ ）。

本学動物病院来院前に 1 次診療施設にてステロイド投与が行われていた症例は保有群で 1/2 頭（50%）、非保有群で 8/11 頭（72.7%）であった。診断後の治療は保有群の 2 頭でプレドニゾロン投与と超低脂肪食（ささみと白米）

(Okanishi et al., 2014)が行われた。非保有群では 9/11 頭でプレドニゾロン投与、全症例で食事療法（低アレルギー食、低脂肪食もしくは超低脂肪食）が行われた。治療反応性は保有群 2 頭とも治療に対して明らかな症状の改善を認めないまま維持した。非保有群は症状の改善を認めた症例が 9 頭（81.8%）、改善しない症例が 1 頭（9%）、不明が 1 頭であった。生存期間中央値は、保有群では研究期間終了時に 2 頭とも生存しており 636 日であった。非保有群の生存期間中央値は 1804 日であり、うち 5 頭死亡（45.5%）、3 頭が生存（27.3%）、3 頭が経過不明であった。

ダックスフンドの MHC クラス II 遺伝子型にて各ハプロタイプで同様の解析を行なったが、いずれの遺伝子型においても臨床的特徴に明らかな違いは認められなかった。



#### 4.4 考察

慢性腸症と消化器型リンパ腫に関連する MHC クラス II 遺伝子型の比較検討において、ダックスフンドでは MHC クラス II 遺伝子型の頻度に明らかな違いは認められず、また柴犬では *DLA-DRB1\*001:01* が慢性腸症と消化器型リンパ腫に共通するリスクアレルであった。このことから、柴犬とダックスフンドの慢性腸症と消化器型リンパ腫に関連する MHC クラス II 遺伝子型に差異はなく、鑑別に用いることはできない可能性が示唆された。過去の報告では、柴犬において慢性腸症が消化器型リンパ腫へ移行する可能性が報告されている (Ohmi et al., 2017; Matsumoto et al., 2018)。また、免疫組織学的特徴が類似していることから、小細胞性リンパ腫はさらに大細胞性リンパ腫へと移行する仮説が立てられている (Matsumoto et al., 2019)。柴犬の慢性腸症と小細胞性および大細胞性消化器型リンパ腫は連続した病態であると仮定すると、本研究において関連する MHC クラス II 遺伝子型が共通していることは、過去の報告と矛盾しないと考えられる。

また、*DLA-DRB1\*001:01* を保有している柴犬において、統計学的有意差はないものの臨床的重症度が高い傾向と、生存期間の短縮傾向を認めた。日本人の潰瘍性大腸炎ではリスクアレル *HLA-DRB1\*15* を保有していると消化管外症状の出現や白血球数の上昇が認められることが報告されている (Iwamoto et al., 2018)。また *HLA-DRB1\*08* を保有しているとより重度な大腸全域の広範囲の病変になりやすいことが報告されている (Matsumura et al., 2008)。また、人の関節リウマチでは特定のアミノ酸配列を持つ *HLA-DRB1* アレルは画像診断上の骨破

壊の進行度、死亡率、関節リウマチの治療法である TNF 阻害剤への反応性が関連することが報告されている(Viatte et al., 2015)。本研究の柴犬においても *DLA-DRB1\*001:01* を保有していると生存期間が短い傾向を認めたため、治療の予後判定として利用できる可能性がある。しかしながら、本検討は回顧的研究であり治療法が統一されていないため、抗がん剤等に対する反応性の評価は困難であり、また検討を行う上でサンプル数が十分ではなかった。今後、予後や治療反応性との関連を明らかにするためにはさらに症例数を蓄積し、治療プロトコルを統一した前向き研究が必要と考えられる。

フレンチブルドッグのリスク傾向のハプロタイプ (*DLA-DRB1\*006:01-DQA1\*005:01:1-DQB1\*007:01*)は、保有している個体が 2 頭しか存在しなかったため統計学的検定を実施することができなかった。また、研究終了時点で 2 頭とも生存していたため生存期間との関連性は不明であったが、2 頭ともプレドニゾン投与や食事療法による症状の改善は乏しく、観察期間平均 636 日の間、プレドニゾン療法および食事療法は継続されており、難治性の腸炎であると考えられた。81.8%で症状の改善が認められた非保有群と比較すると、リスク傾向ハプロタイプを保有すると慢性腸症の重症度が高い可能性はあるが、フレンチブルドッグの慢性腸症の臨床的重症度と MHC クラス II 遺伝子型の関連を明らかにするためには症例数を増やした前向き研究が必要である。

ダックスフンドは第 3 章にて発症に関与する遺伝子型が認められず、本検討においても、いずれの遺伝子型も生存期間などとの関連は認められなかった。これは MHC クラス II 以外の要因がダックスフンドの慢性腸症の病態に関与している可能性や、慢性腸症が不均一な疾患であり、複数の病態のサブタイプが

含まれている可能性が挙げられる。また、ダックスフンドは毛質（ワイヤー、ロング、スムース）やサイズ（スタンダード、ミニチュア、カニンヘン）、毛色によってさらに系統が分類される（Japan kennel Club、2021）。本検討に用いられたダックスフンドは16/19頭（84.2%）の症例がロングヘアのミニチュアダックスフンドであったが、その他の系統のダックスフンドも一部含まれている。また、回顧的研究であるため毛色の情報は入手できなかった。今後はダックスフンドの系統が与える影響も考慮し、解析を行う必要があると考えられる。

さらに、本検討の制限は症例数が少ないため、柴犬の慢性腸症と消化器型リンパ腫の症例を分けずに検討を行なったことである。慢性腸症よりも生存期間が短縮する消化器型リンパ腫の症例数は、保有群と非保有で偏りは認められなかった。しかしながら、一般的に大細胞性T細胞性消化器型リンパ腫は小細胞性T細胞性消化器型リンパ腫に比べて生存期間が著しく短縮することが知られており（Couto et al., 2018）、クローナリティや腫瘍細胞の異型性の違いは生存期間に影響を与えると考えられる。

本検討の柴犬では複数のタイプの消化器型リンパ腫が混在しているため、症例数を蓄積し分類した上で比較検討を行う必要があるが、一般的に予後不良である大細胞性の割合は非保有群で多く認められたにもかかわらず生存期間は非保有群の方が長い傾向を認めたことから、柴犬の *DLA-DRB1\*001:01* の有無が臨床的に予後を判断する上で有効である可能性が示唆された。

#### 4.5 小括

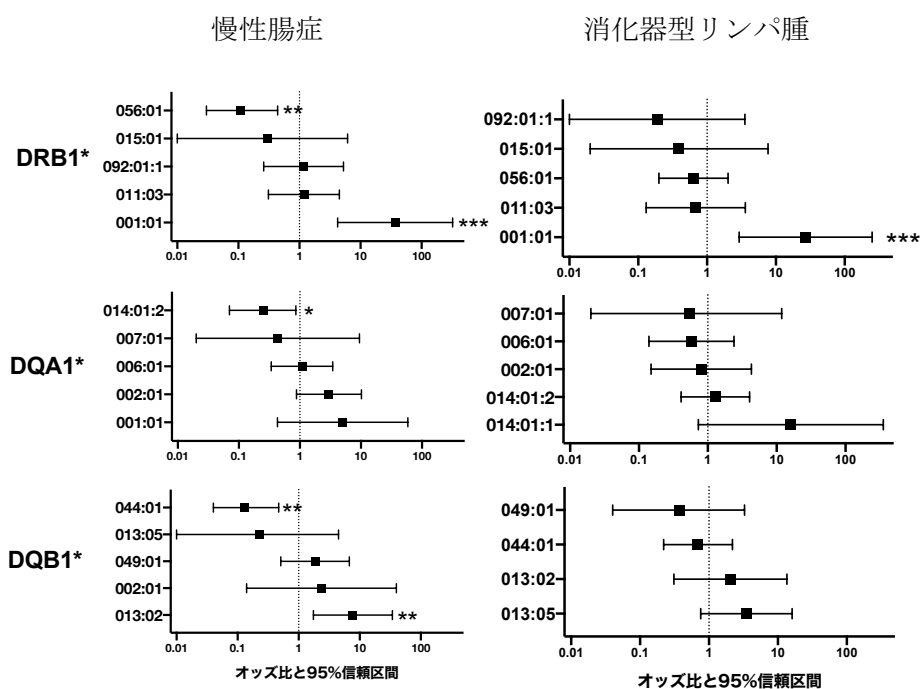
慢性腸症と消化器型リンパ腫に関連する MHC クラス II 遺伝子型の頻度に明らかな違いは認められず、柴犬では2つの疾患に関連する遺伝子型は共通していた。また、柴犬では *DLA-DRB1\*001:01* を保有していると生存期間が短縮する傾向を認めた。

DRB1-DQA1-DQB1	慢性腸症		消化器型リンパ腫		合計	
	2n=30	%	2n=8	%	2n=38	%
1) 001:01-001:01-002:01	8	26.7	3	37.5	11	28.9
2) 002:03-009:01-001:01	7	23.3	3	37.5	10	26.3
3) 002:01-009:01-001:01	2	6.7	1	12.5	3	7.9
4) 009:01-001:01-008:01:1	3	10.0	0	0	3	7.9
5) 073:01-002:01-013:03	3	10.0	0	0	3	7.9
6) 012:01-004:01-013:03/017:01	2	6.7	0	0	2	5.3
7) 015:01-006:01-020:02	2	6.7	0	0	2	5.3
8) 015:02-006:01-023:01	1	3.3	1	12.5	2	5.3
9) 015:01-001:01-008:02	1	3.3	0	0	1	2.6
10) 094:01-001:01-008:01:1	1	3.3	0	0	1	2.6
	30		8		38	

**Table 4.1** ダックスフンドの慢性腸症と消化器型リンパ腫のハプロタイプ比較

DRB1-DQA1-DQB1	慢性腸症		消化器型リンパ腫		合計	
	2n=20	%	2n=14	%	2n=34	%
1) 056:01-014:01:2-044:01	3	15	6	42.9	9	26.5
2) 056:01-014:01:2-044:01	4	20	2	14.3	6	17.6
3) 001:01-002:01-013:02	3	15	0	0	3	8.8
4) 001:01-006:01-049:01	2	10	1	7.1	3	8.8
5) 001:01-014:01:2-044:01	0	0	3	21.4	3	8.8
6) 092:01-006:01-049:01	3	15	0	0	3	8.8
7) 056:01-006:01-013:05	0	0	2	14.3	2	5.9
8) 006:01-005:01:1-012:01	1	5	0	0	1	2.9
9) 001:01-001:01-002:01	1	5	0	0	1	2.9
10) 001:01-001:01-013:03	1	5	0	0	1	2.9
11) 001:01-006:01-022:01	1	5	0	0	1	2.9
12) 001:01-014:01:2-013:02	1	5	0	0	1	2.9
	20		14		34	

**Table 4.2** 柴犬の慢性腸症と消化器型リンパ腫のハプロタイプ比較



	リスクアレル	OR	95%CI	P値
慢性腸症	DRB1*001:01	36.8	4.21-322.03	<0.001
	DQB1*013:02	7.72	1.74-34.18	0.006
消化器型リンパ腫	DRB1*001:01	27.0	2.92-249.89	<0.001

**Figure 4.1** 柴犬の各 DLA クラス II アレルにおける慢性腸症と消化器型リンパ腫のオッズ比と 95%信頼区間

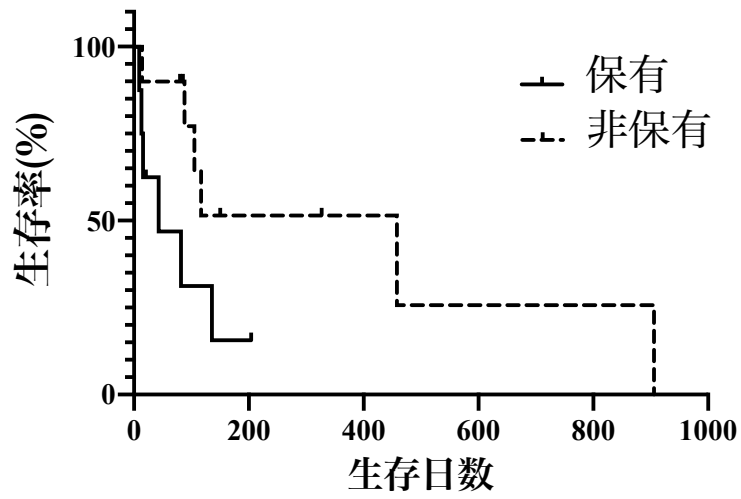
※各アレルのオッズ比 (OR) と 95%信頼区間 (CI) をフォレストマップに示し、OR が 1 より大きく、 $P < 0.05$  のアレルを表に示した。

DLA-DRB1*001:01					
	保有		非保有		P値
	中央値	範囲	中央値	範囲	
症例数 (CE:GIL) (n)	5:3	-	5:5	-	
診断時年齢	8	1-16	10.5	0.6-12	0.81
<b>臨床スコア</b>					
CIBDAI	10.5	0-15	5	2-14	0.23
CCECAI	11.5	0-16	5	3-14	0.19
<b>血液検査 (基準値)</b>					
WBC (6,000-17,000 / $\mu$ L)	12,300	4,200-32,400	11,550	4,200-21,300	0.65
PLT (200-400 G/L)	187.5	70-412	350.5	48-676	0.05
PCV (37-55%)	47.5	25-54	45.5	33-52	0.92
AT (102-156%)	101.5	53-145	107.5	90-127	0.91
d-dimer (<2 $\mu$ g/mL)	2.7	0-85.35	0.3	0-8.35	0.17
TP (5.5-7.7 g/dL)	5.3	4-6.1	5.5	4.9-6.1	0.35
ALB (2.5-3.8 g/dL)	2.3	1.5-3	2.5	1.9-2.6	0.51
AST (18-65 U/L)	60.5	19-334	32.0	17-138	0.07
ALT (20-99 U/L)	324.0	17-728	44.5	12-1217	0.08
GGT (3-12 U/L)	20.5	4-122	4.0	1-106	0.02 *
ALP (49-298 U/L)	450.5	74-1358	112.0	38-1022	0.15
Tcho (85-337 mg/dL)	134.5	79-263	145.0	97-245	0.46
BUN (6-31 mg/dL)	10.5	5.6-28	18.5	7-55	0.12
Cre (0.4-1.6 mg/dL)	0.9	0.27-1.2	0.8	0.3-13	0.88
CRP (<1 mg/dL)	0.5	0.05-3.9	0.1	0-4.29	0.26
Ca (8.9-11.4 mg/dL)	7.9	7.5-9.7	9.4	8.4-10.9	0.04 *
Na (141-151 mEq/L)	145.5	115-147	146.5	144-151	0.11
K (3.5-5.4 mEq/L)	4.0	2-4.2	4.2	3.7-4.5	0.03 *
Cl (107-121 mEq/L)	111.5	106-118	111.0	105-120	0.81
<b>腹部超音波</b>					
十二指腸全層(mm)	3.5	3.1-3.9	3.6	2.9-5.3	0.78
<b>リンパ球クローナリティ</b>					
T細胞性(n)	4	-	5	-	
陰性(n)	3	-	3	-	
未実施(n)	1	-	2	-	
<b>症状の改善率</b>					
慢性腸症	2/5 (50%)	-	4/5 (80%)	-	
消化器型リンパ腫	2/3 (66.7%)	-	5/5 (100%)	-	
生存期間(日)	43	9-204	458	14-904	0.06

**Table 4.3** DLA-DRB1\*001:01 保有群と非保有群における各種検査所見

\* : P<0.05





**Figure 4.2** *DLA-DRB1\*001:01* 保有群、非保有群における生存日数と生存率

## 第 5 章

### 総括

犬の慢性腸症は遺伝要因、環境要因、宿主の免疫要因が関与する多因子性の疾患であると考えられているが病態は未だ明らかになっていない。特に難治性の慢性腸症を発症すると消化器症状の再発を繰り返すため生涯にわたり食事療法や薬剤投与が必要になるが、現在の治療のスタンダードは食事療法、抗生剤療法、ステロイド/免疫抑制療法であり、治療の選択肢は限られている。このように慢性腸症は犬と飼い主の QOL を著しく低下させるため、病態解析と新たな診断・治療法の検討が必要な疾患である。MHC クラス II 遺伝子型は人の炎症性腸疾患で病態解析やサブタイプの分類に関する研究が世界各国の様々な人種で数多く行われているが、犬ではイギリスのジャーマンシェパードの報告 1 件に限られていた。また、国によって飼育されている人気犬種には違いが存在するが、国内における好発犬種についての報告は少ないのが現状であった。そこで本学位論文では、本学動物病院における慢性腸症の好発犬種についての疫学的調査を行い、その好発犬種において慢性腸症と MHC クラス II の遺伝子型の関連と臨床応用への基礎的知見を収集することを目的とした。

## 第 2 章 第 1 節 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存在することが知られており、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で報告が多い。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は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

に調査を行った。各犬種の慢性腸症のオッズ比を算出したところ、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。このことから、国内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や柴犬の他に、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。

## 第2章 第2節 各犬種における慢性腸症の臨床的特徴

犬の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が、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、第2章 第1節にて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（ダックスフンド、フレンチブルドッグ、柴犬）について回顧的に臨床的特徴を調査した。

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、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。また、生存期間中央値は柴犬（191日）で最も短く、続いてダックスフンド（977日）、フレンチブルドッグ（2520日）という結果となった。柴犬は過去の報告と同じく他犬種に比べ著しく予後不良であり、一方フレンチブルドッグは半数が5年以上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が異なってい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。

### 第3章 MHCクラスII遺伝子型と慢性腸症の発症関連解析

人の炎症性腸疾患では、MHC 遺伝子型と疾患発症の関連が多数の国や人種で報告されている。人の MHC 遺伝子型において人種差が存在するように、犬の MHC も犬種によって保有する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 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海外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ごとに慢性腸症の発症関連解析を実施した。本検討では第2章にて好発犬種と明らかになったダックスフンド、フレンチブルドッグ、柴犬の3犬種について解析を行った。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。

### 第4章 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 遺伝子型は免疫介在性疾患の重症度、予後の

予測等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 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。

対象は第 3 章にて MHC クラス II の遺伝子型を解析した 3 犬種（ダックスフンド、フレンチブルドッグ、柴犬）とした。その結果、ダックスフンドと柴犬において慢性腸症群と消化器型リンパ腫群が保有する MHC クラス II 遺伝子型の頻度は明らかな違いが認められなかった。柴犬で慢性腸症と消化器型リンパ腫で共通して発症に関連していた *DLA-DRB1\*001:01* の保有の有無で解析を行ったところ、*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は高い傾向にあり、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。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や予後予測の因子となる可能性が示された。

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、各犬種の慢性腸症の臨床的特徴に違いが存在することが明らかとなった。今後はより大規模の疫学的研究が必要ではあるが、国内において慢性腸症を好発する可能性があ

る犬種が明らかになり、本研究の結果は今後の慢性腸症の遺伝学的な検討を進めていく上で重要な知見となると考えられた。また、慢性腸症の病態に関与する重要な要因の1つとしてMHCクラスIIに着目し、各犬種において慢性腸症の発症に関与するMHCクラスII遺伝子型を明らかにし、関連する遺伝子型には犬種差が存在することを示した。そしてMHCクラスII遺伝子型が、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、本学位論文は犬の慢性腸症とMHCクラスII遺伝子の関連を明らかにし、臨床的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。

## 謝辞

本研究を完遂するに至るまで、終始温かい激励とご指導、ご鞭撻を賜りました、日本大学生物資源科学部獣医内科学研究室の亘敏広 教授、同魚病学/比較免疫学研究室の森友忠昭 教授、ならびに同獣医消化器病学研究室の坂井学 教授に謹んで御礼申し上げます。

また、犬のMHC解析を行うにあたり、多岐にわたる実験の技術指導並びにご助言を賜りました東海大学医学部基礎医学系分子生命科学ゲノム医科学研究室の椎名隆 教授、日本大学生物資源科学部魚病学/比較免疫学研究室の片倉文彦 専任講師、岡山理科大学獣医学部獣医学科獣医免疫学講座の宮前二郎 助教、日本大学歯学部法医学講座の岡野雅春 助教に深謝いたします。

加えて、研究材料の提供にご協力いただいた東京大学大学院農学部生命科学科獣医内科学研究室の辻本元 教授、大野耕一 准教授、金本英之 助教、ならびに日本大学動物病院の中山智宏 教授、伊藤大介 教授、枝村一弥 教授、北川勝人 教授、山谷吉樹 教授、丸山治彦 准教授、関真美子 専任講師および高橋朋子 専任講師に深く感謝いたします。さらには、多くの実験にご協力いただいた魚病学/比較免疫学研究室ならびに獣医内科学/消化器病学研究室内の学部生諸君に深く感謝致します。

最後に、大学院博士課程への進学を応援いただき、終始温かく見守り、支え続けてくれた家族に心から感謝致します。



## 引用文献

- Ahmad, T., Marshall, S.E., Jewell, D., 2006. Genetics of inflammatory bowel disease: the role of the HLA complex. *World J Gastroenterol* 12, 3628–3635.  
<https://doi.org/10.3748/wjg.v12.i23.3628>
- Allenspach, K., Wieland, B., Gröne, A., Gaschen, F., 2007. Chronic enteropathies in dogs: evaluation of risk factors for negative outcome. *J Vet Intern Med* 21, 700–8. [https://doi.org/10.1892/0891-6640\(2007\)21\[700:ceideo\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1892/0891-6640(2007)21[700:ceideo]2.0.co;2)
- American Kennel Club, Most popular dog breeds – Full Ranking List, <http://www.akc.org/news/the-most-popular-dog-breeds-in-america/>. Accessed 1 October 2022.
- Angles, J.M., Kennedy, L.J., Pedersen, N.C., 2005. Frequency and distribution of alleles of canine MHC-II DLA-DQB1, DLA-DQA1 and DLA-DRB1 in 25 representative American Kennel Club breeds. *Tissue Antigens* 66, 173–184.  
<https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.2005.00461.x>
- Ashton, J.J., Latham, K., Beattie, R.M., Ennis, S., 2019. Review article: the genetics of the human leucocyte antigen region in inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 50, 885–900. <https://doi.org/10.1111/apt.15485>
- Barnes, A., O’Neill, T., Kennedy, L.J., Short, A.D., Catchpole, B., House, A., Binns, M., Fretwell, N., Day, M.J., Ollier, W.E.R., 2009. Association of canine anal furunculosis with TNFA is secondary to linkage disequilibrium with DLA-DRB1\*. *Tissue Antigens* 73, 218–224. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.2008.01188.x>
- Barnes, E.L., Loftus, E.V., Kappelman, M.D., 2021. Effects of Race and Ethnicity on

- Diagnosis and Management of Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology*.  
<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.08.064>
- Batt, R.M., McLean, L., Riley, J.E., 1988. Response of the jejunal mucosa of dogs with aerobic and anaerobic bacterial overgrowth to antibiotic therapy. *Gut* 29, 473–482. <https://doi.org/10.1136/gut.29.4.473>
- Benjamin, S.A., Stephens, L.C., Hamilton, B.F., Saunders, W.J., Lee, A.C., Angleton, G.M., Mallinckrodt, C.H., 1996. Associations between lymphocytic thyroiditis, hypothyroidism, and thyroid neoplasia in beagles. *Vet Pathol* 33, 486–94. <https://doi.org/10.1177/030098589603300502>
- Bexfield, N.H., Watson, P.J., Aguirre-Hernandez, J., Sargan, D.R., Tiley, L., Heeney, J.L., Kennedy, L.J., 2012. DLA class II alleles and haplotypes are associated with risk for and protection from chronic hepatitis in the English Springer Spaniel. *PLoS One* 7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042584>
- Carrasco, V., Rodríguez-Bertos, A., Rodríguez-Franco, F., Wise, A.G., Maes, R., Mullaney, T., Kiupel, M., 2015. Distinguishing intestinal lymphoma from inflammatory bowel disease in canine duodenal endoscopic biopsy samples. *Vet Pathol* 52, 668–675. <https://doi.org/10.1177/0300985814559398>
- Couto, K.M., Moore, P.F., Zwingenberger, A.L., Willcox, J.L., Skorupski, K.A., 2018. Clinical characteristics and outcome in dogs with small cell T-cell intestinal lymphoma. *Vet Comp Oncol* 16, 337–343. <https://doi.org/10.1111/vco.12384>
- Dandrieux, J.R.S., 2016. Inflammatory bowel disease versus chronic enteropathy in dogs: are they one and the same? *J Small Anim Pract* 57, 589-599.

<https://doi.org/10.1111/jsap.12588>

Davis, R.B., Kechele, D.O., Blakeney, E.S., Pawlak, J.B., Caron, K.M., 2017.

Lymphatic deletion of calcitonin receptor–like receptor exacerbates intestinal inflammation. *JCI Insight* 2. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.92465>

Day, M.J., Bilzer, T., Mansell, J., Wilcock, B., Hall, E.J., Jergens, A., Minami, T.,

Willard, M., Washabau, R., 2008. Histopathological standards for the diagnosis of gastrointestinal inflammation in endoscopic biopsy samples from the dog and

cat: a report from the World Small Animal Veterinary Association

Gastrointestinal Standardization Group. *J Comp Pathol* 138, S1-S43.

<https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2008.01.001>

Denyer, A.L., Massey, J.P., Davison, L.J., Ollier, W.E.R., Catchpole, B., Kennedy,

L.J., 2020. Dog leucocyte antigen (DLA) class II haplotypes and risk of canine diabetes mellitus in specific dog breeds. *Canine Med Genet* 7, 1–13.

<https://doi.org/10.1186/s40575-020-00093-9>

Dreger, D.L., Rimbault, M., Davis, B.W., Bhatnagar, A., Parker, H.G., Ostrander, E.A.,

2016. Whole-genome sequence, SNP chips and pedigree structure: Building demographic profiles in domestic dog breeds to optimize genetic-trait mapping.

*Dis Mod Mech* 9, 1445–1460. <https://doi.org/10.1242/dmm.027037>

Dyggve, H., Kennedy, L.J., Meri, S., Spillmann, T., Lohi, H., Speeti, M., 2011.

Association of Doberman hepatitis to canine major histocompatibility complex II.

*Tissue Antigens* 77, 30–35. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.2010.01575.x>

Eissa, N., Kittana, H., Gomes-Neto, J.C., Hussein, H., 2019. Mucosal immunity and

gut microbiota in dogs with chronic enteropathy. *Res Vet Sci* 122, 156–164.

<https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2018.11.019>

Fédération Cynologique Internationale, <https://www.fci.be/en/>

Accessed 1 October 2022.

Frank, J.D., Reimer, S.B., Kass, P.H., Kiupel, M., 2007. Clinical outcomes of 30 cases (1997-2004) of canine gastrointestinal lymphoma. *J Am Anim Hosp Assoc* 43, 313–321. <https://doi.org/10.5326/0430313>

Garden, O.A., Pidduck, H., Lakhani, K.H., Walker, D., Wood, J.L.N., Batt, R.M., 2000. Inheritance of gluten-sensitive enteropathy in Irish Setters. *Am J Vet Res* 61, 462–468. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2000.61.462>

German, A.J., Hall, E.J., Day, M.J., 2000. Relative deficiency in IgA production by duodenal explants from German shepherd dogs with small intestinal disease. *Vet Immunol Immunopathol* 76, 25–43. [https://doi.org/10.1016/s0165-2427\(00\)00191-4](https://doi.org/10.1016/s0165-2427(00)00191-4)

German, A.J., Hall, E.J., Kelly, D.F., Watson, A.D.J., Day, M.J., 2000. An immunohistochemical study of histiocytic ulcerative colitis in boxer dogs. *J Comp Pathol* 122, 163–175. <https://doi.org/10.1053/jcpa.1999.0353>

German, A.J., Hall, E.J., Day, M.J., 2003. Chronic intestinal inflammation and intestinal disease in dogs. *J Vet Intern Med* 17, 8–20. [https://doi.org/10.1892/0891-6640\(2003\)017<0008:ciiaid>2.3.co;2](https://doi.org/10.1892/0891-6640(2003)017<0008:ciiaid>2.3.co;2)

Gershony, L.C., Belanger, J.M., Short, A.D., Le, M., Hytönen, M.K., Lohi, H., Famula, T.R., Kennedy, L.J., Oberbauer, A.M., 2019. DLA class II risk

- haplotypes for autoimmune diseases in the bearded collie offer insight to autoimmunity signatures across dog breeds. *Canine Genet Epidemiol* 6, 1–13. <https://doi.org/10.1186/s40575-019-0070-7>
- Gül, A., Uyar, F.A., Inanç, M., Ocal, L., Barrett, J.H., Aral, O., Koniçe, M., Saruhan-Direskeneli, G., 2002. A weak association of HLA-B\*2702 with Behçet’s disease. *Genes Immun* 3, 368–372. <https://doi.org/10.1038/sj.gene.6363863>
- Heller, A.R., van der Woerd, A., Gaarder, J.E., Sapienza, J.S., Hernandez-Merino, E., Abrams, K., Church, M.L., La Croix, N., 2017. Sudden acquired retinal degeneration in dogs: breed distribution of 495 canines. *Vet Ophthalmol* 20, 103–106. <https://doi.org/10.1111/vop.12370>
- Inoue, M., Hasegawa, A., Hosoi, Y., Sugiura, K., 2015. Breed, gender and age pattern of diagnosis for veterinary care in insured dogs in Japan during fiscal year 2010. *Prev Vet Med* 119, 54–60. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2015.02.010>
- Iwamoto, T., Yashima, K., Morio, K., Ueda, N., Ikebuchi, Y., Kawaguchi, K., Harada, K., Isomoto, H., 2018. Association of Clinical Features with Human Leukocyte Antigen in Japanese Patients with Ulcerative Colitis. *Yonago Acta Med* 61, 27–32. <https://doi.org/10.33160/yam.2018.03.004>
- Jablonski, S.A., 2022. Pathophysiology, diagnosis, and management of canine intestinal lymphangiectasia: a comparative review. *Animals* 12, 2791. <https://doi.org/10.3390/ani12202791>
- Japan Kennel Club, Number of annual registrations by breed (in Japanese), <https://www.jkc.or.jp/archives/enrollment>. Accessed 1 October 2022.

- Japan Kennel Club, Classification Criteria for Dachshunds (in Japanese),  
[https://www.jkc.or.jp/archives/world\\_dogs/2604](https://www.jkc.or.jp/archives/world_dogs/2604). Accessed 1 October 2022.
- Jergens, A.E., Schreiner, C.A., Frank, D.E., Niyo, Y., Ahrens, F.E., Eckersall, P.D.,  
Benson, T.J., Evans, R., 2003. A scoring index for disease activity in canine  
inflammatory bowel disease. *J Vet Intern Med* 17, 291–297.  
<https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2003.tb02450.x>
- Jergens, A.E., Simpson, K.W., 2012. Inflammatory bowel disease in veterinary  
medicine. *Front Biosci (Elite Ed)* 4, 1404–1419. <https://doi.org/10.2741/e470>
- Jurewicz, M.M., Stern, L.J., 2019. Class II MHC antigen processing in immune  
tolerance and inflammation. *Immunogenetics* 71, 171-187.  
<https://doi.org/10.1007/s00251-018-1095-x>
- Kathrani, A., House, A., Catchpole, B., Murphy, A., German, A., Werling, D.,  
Allenspach, K., 2010. Polymorphisms in the Tlr4 and Tlr5 gene are significantly  
associated with inflammatory bowel disease in German shepherd dogs. *PLoS One*  
5, 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015740>
- Kathrani, A., Werling, D., Allenspach, K., 2011. Canine breeds at high risk of  
developing inflammatory bowel disease in the South-Eastern UK. *Veterinary  
Record* 169, 635. <https://doi.org/10.1136/vr.d5380>
- Kennedy, L.J., Carter, S.D., Barnes, A., Bell, S., Bennett, D., Ollier, B., Thomson, W.,  
1999. Interbreed variation of DLA-DRB1, DQA1 alleles and haplotypes in the  
dog. *Vet Immunol Immunopathol* 69, 101–111. [https://doi.org/10.1016/S0165-2427\(99\)00046-X](https://doi.org/10.1016/S0165-2427(99)00046-X)

- Kennedy, L.J., Barnes, A., Happ, G.M., Quinnell, R.J., Bennett, D., Angles, J.M., Day, M.J., Carmichael, N., Innes, J.F., Isherwood, D., Carter, S.D., Thomson, W., Ollier, W.E.R., 2002. Extensive interbreed, but minimal intrabreed, variation of DLA class II alleles and haplotypes in dogs. *Tissue Antigens* 59, 194–204. <https://doi.org/10.1034/j.1399-0039.2002.590303.x>
- Kennedy, L.J., Barnes, A., Ollier, W.E.R., Day, M.J., 2006a. Association of a common dog leucocyte antigen class II haplotype with canine primary immune-mediated haemolytic anaemia. *Tissue Antigens* 68, 502–508. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.2006.00715.x>
- Kennedy, L.J., Davison, L.J., Barnes, A., Short, A.D., Fretwell, N., Jones, C.A., Lee, A.C., Ollier, W.E.R., Catchpole, B., 2006b. Identification of susceptibility and protective major histocompatibility complex haplotypes in canine diabetes mellitus. *Tissue Antigens* 68, 467–476. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.2006.00716.x>
- Lecoindre, P., Chevallier, M., Guerret, S., 2010. [Protein-losing enteropathy of non-neoplastic origin in the dog: a retrospective study of 34 cases]. *Schweiz Arch Tierheilkd* 152, 141–146. <https://doi.org/10.1024/0036-7281/a000033>
- Liu, E., Rewers, M., Eisenbarth, G.S., 2005. Genetic testing: Who should do the testing and what is the role of genetic testing in the setting of celiac disease? *Gastroenterology* 128, S33-S37. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2005.02.013>
- Lombardi, M.L., Pirozzi, G., Luongo, V., Mercuro, O., Pace, E., Blanco Del Vecchio, G., Cozzolino, A., Errico, S., Fusco, C., Castiglione, F., 2001. Crohn disease:

- Susceptibility and disease heterogeneity revealed by HLA genotyping. *Hum Immunol* 62, 701–704. [https://doi.org/10.1016/S0198-8859\(01\)00259-2](https://doi.org/10.1016/S0198-8859(01)00259-2)
- Makielski, K., Cullen, J., O'Connor, A., Jergens, A.E., 2019. Narrative review of therapies for chronic enteropathies in dogs and cats. *J Vet Intern Med* 33, 11–22. <https://doi.org/10.1111/jvim.15345>
- Manchester, A.C., Hill, S., Sabatino, B., Armentano, R., Carroll, M., Kessler, B., Miller, M., Dogan, B., McDonough, S.P., Simpson, K.W., 2013. Association between granulomatous colitis in French Bulldogs and invasive *Escherichia coli* and response to fluoroquinolone antimicrobials. *J Vet Intern Med* 27, 56–61. <https://doi.org/10.1111/jvim.12020>
- Marsden, C.D., Ortega-Del Vecchyo, D., O'Brien, D.P., Taylor, J.F., Ramirez, O., Vilà, C., Marques-Bonet, T., Schnabel, R.D., Wayne, R.K., Lohmueller, K.E., 2016. Bottlenecks and selective sweeps during domestication have increased deleterious genetic variation in dogs. *Proc Natl Acad Sci U S A* 113, 152-157. <https://doi.org/10.5061/dryad.012s5>
- Massey, J., Boag, A., Short, A.D., Scholey, R.A., Henthorn, P.S., Littman, M.P., Husebye, E., Catchpole, B., Pedersen, N., Mellersh, C.S., Ollier, W.E.R., Kennedy, L.J., 2013a. MHC class II association study in eight breeds of dog with hypoadrenocorticism. *Immunogenetics* 65, 291–297. <https://doi.org/10.1007/s00251-013-0680-2>
- Massey, J., Rothwell, S., Rusbridge, C., Tauro, A., Addicott, D., Chinoy, H., Cooper, R.G., Ollier, W.E.R., Kennedy, L.J., 2013b. Association of an MHC class II



- haplotype with increased risk of polymyositis in Hungarian Vizsla Dogs. *PLoS One* 8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056490>
- Matsumoto, I., Uchida, K., Nakashima, K., Goto-Koshino, Y., Chambers, J.K., Tsujimoto, H., Nakayama, H., 2018. Pathological features of intestinal T-cell lymphoma in Shiba dogs in Japan. *Vet Comp Oncol* 16, 417–423. <https://doi.org/10.1111/vco.12396>
- Matsumoto, I., Nakashima, K., Goto-Koshino, Y., Chambers, J.K., Tsujimoto, H., Nakayama, H., Uchida, K., 2019. Immunohistochemical profiling of canine intestinal T-Cell lymphomas. *Vet Pathol* 56, 50–60. <https://doi.org/10.1177/0300985818800015>
- Matsumura, Y., Kinouchi, Y., Nomura, E., Negoro, K., Kakuta, Y., Endo, K., Aizawa, H., Takagi, S., Takahashi, S., Shimosegawa, T., 2008. HLA-DRB1 alleles influence clinical phenotypes in Japanese patients with ulcerative colitis. *Tissue Antigens* 71, 447–452. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.2008.01031.x>
- Minamoto, Y., Otoni, C.C., Steelman, S.M., Büyükleblebici, O., Steiner, J.M., Jergens, A.E., Suchodolski, J.S., 2015. Alteration of the fecal microbiota and serum metabolite profiles in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *Gut Microbes* 6, 33–47. <https://doi.org/10.1080/19490976.2014.997612>
- Miyamae, J., Uno, S., Tanaka, M., Katakura, F., Moritomo, T., Namba, S., Sakai, M., Watari, T., Suzuki, S., Shina, T., 2016. [Polymorphism and haplotype estimation of dog major histocompatibility complex DLA-DRB1 and DLA-88 genes]. *DNA Polymorphism* 24, 81–86.

- Miyamae, J., Suzuki, S., Katakura, F., Uno, S., Tanaka, M., Okano, M., Matsumoto, T., Kulski, J.K., Moritomo, T., Shiina, T., 2018. Identification of novel polymorphisms and two distinct haplotype structures in dog leukocyte antigen class I genes: DLA-88, DLA-12 and DLA-64. *Immunogenetics* 70, 237–255. <https://doi.org/10.1007/s00251-017-1031-5>
- Miyamae, J., Yagi, H., Sato, K., Okano, M., Nishiya, K., Katakura, F., Sakai, M., Nakayama, T., Moritomo, T., Shiina, T., 2019. Evaluation of alloreactive T cells based on the degree of MHC incompatibility using flow cytometric mixed lymphocyte reaction assay in dogs. *Immunogenetics* 71, 635–645. <https://doi.org/10.1007/s00251-019-01147-4>
- Montgomery, K.W., van der Woerdt, A., Cottrill, N.B., 2008. Acute blindness in dogs: Sudden acquired retinal degeneration syndrome versus neurological disease (140 cases, 2000-2006). *Vet Ophthalmol* 11, 314–320. <https://doi.org/10.1111/j.1463-5224.2008.00652.x>
- Ng, S.C., Shi, H.Y., Hamidi, N., Underwood, F.E., Tang, W., Benchimol, E.I., Panaccione, R., Ghosh, S., Wu, J.C.Y., Chan, F.K.L., Sung, J.J.Y., Kaplan, G.G., 2017. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. *The Lancet* 390, 2769–2778. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)32448-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32448-0)
- Niina, A., Kibe, R., Suzuki, R., Yuchi, Y., Teshima, T., Matsumoto, H., Kataoka, Y., Koyama, H., 2019. Improvement in clinical symptoms and fecal microbiome after fecal microbiota transplantation in a dog with inflammatory bowel disease. *Vet*

- Med (Auckl) 10, 197–201. <https://doi.org/10.2147/VMRR.S230862>
- Ohmi, A., Ohno, K., Uchida, K., Nakayama, H., Koshino-Goto, Y., Fukushima, K., Takahashi, M., Nakashima, K., Fujino, Y., Tsujimoto, H., 2011. A retrospective study in 21 Shiba dogs with chronic enteropathy. *J Vet Med Sci* 73, 1–5. <https://doi.org/10.1292/jvms.10-0154>
- Ohmi, A., Tsukamoto, A., Ohno, K., Uchida, K., Nishimura, R., Fukushima, K., Takahashi, M., Nakashima, K., Fujino, Y., Tsujimoto, H., 2012. A retrospective study of inflammatory colorectal polyps in miniature dachshunds. *J Vet Med Sci* 74, 59–64. <https://doi.org/10.1292/jvms.11-0352>
- Ohmi, A., Ohno, K., Uchida, K., Goto-Koshino, Y., Tomiyasu, H., Kanemoto, H., Fukushima, K., Tsujimoto, H., 2017. Significance of clonal rearrangements of lymphocyte antigen receptor genes on the prognosis of chronic enteropathy in 22 Shiba dogs. *J Vet Med Sci* 79, 1578–1584. <https://doi.org/10.1292/jvms.16-0626>
- Okada, Y., Yamazaki, K., Umeno, J., Takahashi, A., Kumasaka, N., Ashikawa, K., Aoi, T., Takazoe, M., Matsui, T., Hirano, A., Matsumoto, T., Kamatani, N., Nakamura, Y., Yamamoto, K., Kubo, M., 2011. HLA-Cw\*1202-B\*5201-DRB1\*1502 haplotype increases risk for ulcerative colitis but reduces risk for crohn’s disease. *Gastroenterology* 141, 864-871. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.05.048>
- Okanishi, H., Sano, T., Yamaya, Y., Kagawa, Y., Watari, T., 2013. The characteristics of short- and long-term surviving Shiba dogs with chronic enteropathies and the risk factors for poor outcome. *Acta Vet Scand* 55, 32. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-55-32>

- Okanishi, H., Yoshioka, R., Kagawa, Y., Watari, T., 2014. The clinical efficacy of dietary fat restriction in treatment of dogs with intestinal lymphangiectasia. *J Vet Intern Med* 28, 809–817. <https://doi.org/10.1111/jvim.12327>
- Ollier, W.E.R., Kennedy, L.J., Thomson, W., Barnes, A.N., Bell, S.C., Bennett, D., Angles, J.M., Innes, J.F., Carter, S.D., 2001. Dog MHC alleles containing the human RA shared epitope confer susceptibility to canine rheumatoid arthritis. *Immunogenetics* 53, 669–673. <https://doi.org/10.1007/s002510100372>
- Ostrander, E.A., Wayne, R.K., Freedman, A.H., Davis, B.W., 2017. Demographic history, selection and functional diversity of the canine genome. *Nat Rev Genet* 18, 705-720. <https://doi.org/10.1038/nrg.2017.67>
- Patel, N., Robert, M.E., 2022. Frontiers in Celiac Disease: Where Autoimmunity and Environment Meet. *Am J Surg Pathol* 46, e43–e54. <https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000001639>
- Payami, H., Joe, S., Farid, N.R., Stenszky, V., Chan, S.H., Yeo, P.P., Cheah, J.S., Thomson, G., 1989. Relative predispositional effects (RPEs) of marker alleles with disease: HLA-DR alleles and graves disease. *Am J Hum Genet* 45, 541–546.
- Pedersen, N.C., Pooch, A.S., Liu, H., 2016. A genetic assessment of the English bulldog. *Canine Genet Epidemiol* 3, 6. <https://doi.org/10.1186/s40575-016-0036-y>
- Peiravan, A., Allenspach, K., Boag, A.M., Soutter, F., Holder, A., Catchpole, B., Kennedy, L.J., Werling, D., Procoli, F., 2016. Single nucleotide polymorphisms in major histocompatibility class II haplotypes are associated with potential

- resistance to inflammatory bowel disease in German shepherd dogs. *Vet Immunol Immunopathol* 182, 101–105. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2016.10.012>
- Pérez-Merino, E.M., Usón-Casaús, J.M., Zaragoza-Bayle, C., Duque-Carrasco, J., Mariñas-Pardo, L., Hermida-Prieto, M., Barrera-Chacón, R., Gualtieri, M., 2015. Safety and efficacy of allogeneic adipose tissue-derived mesenchymal stem cells for treatment of dogs with inflammatory bowel disease: Clinical and laboratory outcomes. *Vet J* 206, 385–390. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.08.003>
- Perneger, T., 1998. What's wrong with Bonferroni adjustments. *Br Med J* 316, 1236–1238. <https://doi.org/https://doi.org/10.1136/bmj.316.7139.1236>
- Peterson, M.E., Kintzer, P.P., Kass, P.H., 1996. Pretreatment clinical and laboratory findings in dogs with hypoadrenocorticism: 225 cases (1979-1993). *J Am Vet Med Assoc* 208, 85-91.
- Peterson, P.B., Willard, M.D., 2003. Protein-losing enteropathies. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 33, 1061–1082. [https://doi.org/10.1016/s0195-5616\(03\)00055-x](https://doi.org/10.1016/s0195-5616(03)00055-x)
- Russell, J.T., Roesch, L.F.W., Ördberg, M., Ilonen, J., Atkinson, M.A., Schatz, D.A., Triplett, E.W., Ludvigsson, J., 2019. Genetic risk for autoimmunity is associated with distinct changes in the human gut microbiome. *Nat Commun* 10, 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11460-x>
- Sartor, R.B., 2006. Mechanisms of disease: pathogenesis of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 3, 390–407. <https://doi.org/10.1038/ncpgasthep0528>

- Schofield, I., Woolhead, V., Johnson, A., Brodbelt, D.C., Church, D.B., O'Neill, D.G., 2021. Hypoadrenocorticism in dogs under UK primary veterinary care: frequency, clinical approaches and risk factors. *J Small Anim Pract* 62, 343–350. <https://doi.org/10.1111/jsap.13285>
- Schreiner, N.M.S., Gaschen, F., Gröne, A., Sauter, S.N., Allenspach, K., 2008. Clinical signs, histology, and CD3-positive cells before and after treatment of dogs with chronic enteropathies. *J Vet Intern Med* 22, 1079–1083. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2008.0153.x>
- Sharma-Oates, A., Zemedikun, D.T., Kumar, K., Reynolds, J.A., Jain, A., Raza, K., Williams, J.A., Bravo, L., Cardoso, V.R., Gkoutos, G., Nirantharakumar, K., Lord, J.M., 2022. Early onset of immune-mediated diseases in minority ethnic groups in the UK. *BMC Med* 20. <https://doi.org/10.1186/s12916-022-02544-5>
- Simmerson, S.M., Armstrong, P.J., Wünschmann, A., Jessen, C.R., Crews, L.J., Washabau, R.J., 2014. Clinical features, intestinal histopathology, and outcome in protein-losing enteropathy in yorkshire terrier dogs. *J Vet Intern Med* 28, 331–337. <https://doi.org/10.1111/jvim.12291>
- Simpson, K.W., Jergens, A.E., 2011. Pitfalls and progress in the diagnosis and management of canine inflammatory bowel disease. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 41, 381–398. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2011.02.003>
- Stokkers, P.C.F., Reitsma, P.H., Tytgat, G.N.J., van Deventer, S.J.H., 1999. HLA-DR and -DQ phenotypes in inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *Gut* 45, 395–401. <https://doi.org/10.1136/gut.45.3.395>

- Stromberg, S.J., Thomasy, S.M., Marangakis, A.D., Kim, S., Cooper, A.E., Brown, E.A., Maggs, D.J., Bannasch, D.L., 2019. Evaluation of the major histocompatibility complex (MHC) class II as a candidate for sudden acquired retinal degeneration syndrome (SARDS) in Dachshunds. *Vet Ophthalmol* 22, 751–759. <https://doi.org/10.1111/vop.12646>
- Terakado, K., Yogo, T., Nezu, Y., Harada, Y., Hara, Y., Tagawa, M., 2013. Efficacy of the use of a colorimetric pupil light reflex device in the diagnosis of fundus disease or optic pathway disease in dogs. *J Vet Med Sci* 75, 1491-1495. <https://doi.org/10.1292/jvms.12-0363>
- The Kennel Club, Breed registration statistics, <https://www.thekennelclub.org.uk/media-centre/breed-registration-statistics/>. Accessed 1 October 2022.
- Viatte, S., Plant, D., Han, B., Fu, B., Yarwood, A., Thomson, W., Symmons, D.P.M., Worthington, J., Young, A., Hyrich, K.L., Morgan, A.W., Wilson, A.G., Isaacs, J.D., Raychaudhuri, S., Barton, A., 2015. Association of HLA-DRB1 haplotypes with rheumatoid arthritis severity, mortality, and treatment response. *JAMA* 313, 1645–1656. <https://doi.org/10.1001/jama.2015.3435>
- Volkman, M., Steiner, J.M., Fosgate, G.T., Zentek, J., Hartmann, S., Kohn, B., 2017. Chronic diarrhea in dogs – Retrospective study in 136 cases. *J Vet Intern Med* 31, 1043–1055. <https://doi.org/10.1111/jvim.14739>
- Wagner, J.L., Burnett, R.C., Works, J.D., Storb, R., 1996a. Molecular analysis of DLA-DRB1 polymorphism. *Tissue Antigens* 48, 554–561.

- Wagner, J.L., Burnett, R.C., DeRose, S.A., Storb, R., 1996b. Molecular analysis and polymorphism of the DLA-DQA genes. *Tissue Antigens* 48, 199–204.  
<https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.1998.tb03039.x>
- Wagner, J.L., Hayes-Lattin, B., Works, J.D., Storb, R., 1998. Molecular analysis and polymorphism of the DLA-DQB genes. *Tissue Antigens* 52, 242–250.  
<https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.1998.tb03039.x>
- Wennogle, S.A., Priestnall, S.L., Webb, C.B., 2017. Histopathologic characteristics of intestinal biopsy samples from dogs with chronic inflammatory enteropathy with and without hypoalbuminemia. *J Vet Intern Med* 31, 371–376.  
<https://doi.org/10.1111/jvim.14669>
- Woolhead, V.L., Szladovits, B., Chan, A., Swann, J.W., Glanemann, B., 2021. Breed predispositions, clinical findings, and prognostic factors for death in dogs with nonregenerative immune-mediated anemia. *J Vet Intern Med* 35, 252–260.  
<https://doi.org/10.1111/jvim.15986>
- Yamagishi, C., Momoi, Y., Kobayashi, T., Ide, K., Ohno, K., Tsujimoto, H., Iwasaki, T., 2007. A Retrospective Study and Gene Analysis of Canine Sterile Panniculitis, *J Vet Med Sci* 69, 915-924. <https://doi.org/10.1292/jvms.69.915>
- Yuhki, N., Beck, T., Stephens, R., Neelam, B., O'Brien, S.J., 2007. Comparative genomic structure of human, dog, and cat MHC: HLA, DLA, and FLA. *J Hered* 98, 390–399. <https://doi.org/10.1093/jhered/esm056>
- Zhang, M., Lin, S., Yuan, X., Lin, Z., Huang, Z., 2019. HLA-DQB1 and HLA-DRB1 variants confer susceptibility to latent autoimmune diabetes in adults: Relative



predispositional effects among allele groups. *Genes (Basel)* 10, 1–22.

<https://doi.org/10.3390/genes10090710>