

自己評価報告書

平成 23 年 4 月 13 日現在

機関番号：17701
 研究種目：基盤研究(B)
 研究期間：2008～2011
 課題番号：20380173
 研究課題名（和文）動物遺伝病（ライソゾーム蓄積病）の新規診断・予防法および新規治療法の開発
 研究課題名（英文）Development of novel methods for diagnosis, prevention and treatment in inherited diseases (lysosomal storage diseases) in animals
 研究代表者
 大和 修 (YAMATO OSAMU)
 鹿児島大学・農学部・教授
 研究者番号：80261337

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学・臨床獣医学

キーワード：ライソゾーム蓄積病、動物モデル、ガングリオシドーシス、サンドホフ病、セロイドリポフスチン症、遺伝病、スクリーニング

1. 研究計画の概要

本研究では、多数の新規および既知の動物遺伝病（特に、ライソゾーム蓄積病）について、1) 診断・スクリーニング法を開発し、2) 各疾患の予防法を確立・実践し、さらに 3) 治療法を開発・考案する。

すなわち、1) では、大規模集団に適応可能な簡易・迅速・安価な診断・スクリーニング法を開発する。このために、各疾患の分子基盤を明らかにする。そして、これらの特徴を基にして、2) では、実践可能な予防計画を立案・実行し、実行前後の変異アレル頻度などを基にして予防効果を評価する。また、いくつかの疾患では、3) 動物モデルとして応用し、これらの神経難病に対する有効な治療法を検討・開発する。このために、その治療根拠となる病態メカニズムを明らかにして、実践可能な治療を実際の症例に試行し、これらの動物疾患の治療法の確立を目指す。

2. 研究の進捗状況

1) 診断・スクリーニング法開発

GM1 ガングリオシドーシス（柴犬、日本猫）、サンドホフ病（日本猫 2 変異、トイプードル）、ニーマンピック病（シャム猫）、セロイドリポフスチン症（ボーダーコリー、サルキー）、コリー眼異常（ボーダーコリー、北海道犬）、犬 *MDRI* 遺伝子変異、猫多発性嚢胞腎に関する各種新規遺伝子型検査法を開発した。また、血液バフィーコート電顕法を使ったライソゾーム病スクリーニング法を開発した。

2) 予防法の確立・実践

上記遺伝子型検査法を用いた大規模調査を実施し、各種疾患の犬および猫集団における変異アレル頻度を算出して、予防すべき疾患であるかを評価した。同時に、予防すべき疾患については繁殖ラインからキャリア動物を外す繁殖コントロールを実施し、変異アレル頻度を低下させた。

3) 病態メカニズム解明と治療法開発

柴犬の GM1 ガングリオシドーシスに関する経時的頭部 MRI 変化および病理組織学的変化を記録し、これらの変化が診断補助因子となりうることを明らかにした。また、MRI 画像上の変化の組織学的根拠（白質形成不全等）を明らかにした。一方、猫サンドホフ病症

例に対する抗炎症療法を試行し、ステロイドによる延命効果を明らかにし、脳における炎症が増悪因子であることを証明した。

4) 新規疾患および新規変異の発見

研究の過程で、新たな疾患（キサントチン尿症、ピリミジン代謝異常症、チロシン血症、シスチン尿症、メーブルシロップ尿症、マール症候群など）ならびに新規変異を発見同定した。これらについても、随時、その分子基盤・病態メカニズムの解析に着手してきた。

3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している

進捗状況で述べたように、当初の研究計画 1)～3) は順調に進んでおり、さらに下記の研究成果で示したように、多くの研究論文を出版することができている。さらに、4) で示したように、新たな疾患および変異が次々に発見され、これらが加わって、当初の計画以上の成果が上がっている。ちなみに、論文に関しても提示した 12 本以外にすでに 6 本の関連論文を投稿済みである。

4. 今後の研究の推進方策

当初の計画通りに推進する他、新たに加わった対象についても解明し、さらに多くの成果（論文）を発表する。

5. 代表的な研究成果

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

*corresponding author

[雑誌論文] (計 12 件) すべて査読あり。

- Nakamoto Y, Yamato O*, Uchida K, Nibe K, Tamura S., Ozawa T, Ueoka N, Nukaya A, Yabuki A, Nakaichi M. Neuronal ceroid-lipofuscinosis in long-haired Chihuahuas: clinical, pathological, and magnetic resonance imaging findings. *J Am Anim Hosp Assoc* in press.
- Rahman MM, Shoubudani T, Mizukami K, Chang HS, Hossain MA, Yabuki A, Mitani S, Higo T, Arai T, Yamato O*. Rapid and simple polymerase chain reaction-based

diagnostic assays for GM2 gangliosidosis variant 0 (Sandhoff-like disease) in Japanese domestic cats. *J Vet Diagn Invest* 23, 338-342, 2011.

3. Chang HS, Mizukami K, Yabuki A, Hossain MA, Rahman MM, Uddin MM, Arai T, **Yamato O***. A novel rapid genotyping technique for Collie eye anomaly: SYBR Green-based real-time polymerase chain reaction method applicable to blood and saliva specimens on Flinders Technology Associates filter paper. *J Vet Diagn Invest* 22, 708-715, 2010.
4. Tamura S, Tamura Y, **Uchida K**, Nibe K, **Nakaichi M**, Hossain MA, Chang HS, Rahman MM, Yabuki A, **Yamato O***. GM2 gangliosidosis variant 0 (Sandhoff-like disease) in a family of toy poodles. *J Vet Intern Med* 24, 1013-1019, 2010.
5. Chang HS, Arai T, Yabuki A, Hossain MA, Rahman MM, Mizukami K, **Yamato O***. Rapid and reliable genotyping technique for GM1 gangliosidosis in Shiba dogs by real-time polymerase chain reaction with TaqMan-minor groove binder probes. *J Vet Diagn Invest* 22, 234-237, 2010.
6. **Yamato O***, Funk H, Kawahara N, Funková M, Entlerová Z, Petrusová H, Hayashi D, Satoh H, Yamasaki M, Maede Y, Yabuki A, Arai T. Mutation screening of canine GM1 gangliosidosis for preventive measures: absence of the mutant allele in breeding shiba dogs in the Czech Republic. *Jpn J Prophylactic Vet Med* 1, 63-68, 2009.
7. Masoudi AA, **Yamato O**, Yoneda K, Tsuji T, Mikami O, **Kunieda T***. Exclusion of *NEU1* and *PPGB* from candidate genes for a lysosomal storage disease in Japanese black cattle. *Anim Sci J* 80, 611-615, 2009.
8. Kuwamura M*, Nakagawa M, Nabe M, Yamate J, Inoue M, Satoh H, **Yamato O**. Neuronal ceroid-lipofuscinosis in a Japanese domestic shorthair cat. *J Vet Med Sci* 71, 665-667, 2009.
9. 中本裕也*, **大和 修**, 小澤 剛, 長谷川大輔, 板本和仁, 方伯部健吾, 塚根美穂, 中市統三. 遺伝子検査により GM1 ガングリオシドーシスと確定診断された柴犬3症例の頭部MRI所見. 日獣会誌 62, 219-224, 2009.
10. Nagayasu A, Nakamura T, **Yamato O**, Tsuzuki K, Hosaka Y, Ueda H*, Tangkawattana P, **Takahana K**. Morphological analysis of corneal opacity in Shiba dog in GM1 gangliosidosis. *J Vet Med Sci*, 70, 881-886, 2008.
11. **Yamato O***, Hayashi D, Satoh H, Shoda T, Uchida K, Nakayama H, Sakai H, Masegi T, Murai A, Iida T, Hisada H, Hisada A, Yamasaki M, Maede Y, Arai T. Retrospective diagnosis of feline GM2 gangliosidosis variant 0 (Sandhoff-like disease) in Japan: possible spread of the mutant allele in the Japanese domestic cat population. *J Vet Med Sci* 70, 813-818, 2008.
12. **Yamato O***, Jo EO, Chang HS, Satoh H, Shoda T, Sato R, Uechi M, Kawasaki N, Naito Y, Yamasaki M, Maede Y, Arai T. Molecular screening of canine GM1 gangliosidosis using blood smear specimens after prolonged storage: Detection of carriers among Shiba dogs in northern Japan. *J Vet Diagn Invest* 20, 68-71, 2008.

[学会発表] 招待講演のみ記載 (計 8 件)

1. **大和 修**. ライソゾーム病 Update. 第 35 回獣医神経病学会. 京都, 2010.
2. **大和 修**. ボーダーコリーの視覚異常を伴う遺伝病: セロイドリポフスチン症・コリー眼異常・X染色体性進行性網膜萎縮. In: 比較眼科学会シンポジウム「ここまで来た眼・神経疾患の診断」. 日本獣医内科学アカデミー/日本獣医臨床病理学会 2010 年大会, 東京, 2010.
3. **大和 修**. 犬猫のライソゾーム病とその他関連疾患のスクリーニングについて. In: 司祭機関・獣医臨床遺伝研究会共催シンポジウム ポストシーケンス時

代を迎えて - 動物の遺伝性疾患をめぐる最近の話題 - . 第 147 回日本獣医学会, 宇都宮, 2009.

4. **大和 修**. 日本獣医臨床病理学会大会セミナー 臨床徴候から診断へのアプローチ: 運動失調 (遺伝性). 日本獣医内科学アカデミー/日本獣医臨床病理学会 2009 年大会, 東京, 2009.
5. **大和 修**. 牛の先天的および後天的代謝異常症: ライソゾーム病と乳熱の話. 第 75 回鹿児島県家畜疾病診断研究会, 鹿児島, 2008.
6. **大和 修**. 動物の遺伝病について: 柴犬の GM1 ガングリオシドーシス. 平成 20 年度日本犬保存会審査部研究会, 東京, 2008.
7. **大和 修**. 蓄積病の臨床・生化学. In: 日本獣医病理学会スライド・セミナー「蓄積病」. 第 145 回日本獣医学会, 相模原, 2008.
8. **大和 修**. 小動物の脳・脊髄疾患 - 診断と病理の最近の知見 - 犬猫のライソゾーム蓄積病: 国内症例とその臨床を中心に. 第 4 回鹿児島大学小動物臨床フォーラム, 鹿児島, 2008.

[図書] (計 1 件)

大和 修. Na-K-ATPase 赤血球, カタプレキシシー, ガングリオシドーシス, 吸収不良症候群, クラッペ病, 好酸球性胃腸炎, 自己免疫性溶血性貧血, シスチン尿症, 失血性貧血, シトルリン血症, 小脳形成不全症, セロイドリポフスチン症, 先天性甲状腺腫, 糖原病, ニーマンピック病, ハインツ小体溶血性貧血, ハエ咬み運動, ピルビン酸キナーゼ欠損症, フコシドーシス, プロトポルフィリン症, マンノシドーシス, ムコ多糖症, メープルシロップ尿症, メンケス病. In: 新獣医学辞典編集委員会 編集, 新獣医学辞典, チクサン出版, 東京, 2008.

[その他] 総説および解説 (計 9 件)

1. 田村慎司, **大和 修**. 犬の遺伝性神経変性性疾患における臨床獣医師の役割: ライソゾーム病症例の経験に基づいた考察. 広島県獣医学雑誌 印刷中.
2. **大和 修**. 犬の先天代謝異常症 - ライソゾーム病・スフィンゴリピドーシス -. J-VET No. 289, 59-70, 2011.
3. **大和 修**. 治療シリーズ-私はこうしている- 神経・筋肉・関節疾患 ライソゾーム (蓄積) 病. SA Medicine 12(6), 10-13, 2010.
4. 中本裕也, 小澤 剛, 矢吹 映, **大和 修**. 柴犬の GM1 ガングリオシドーシス - 早期診断を導くために必要な知識 -. Clinic Note No. 58, 71-82, 2010.
5. **大和 修**. 治療シリーズ-私はこうしている- 血液疾患 ホスホフルクトキナーゼ (PFK) 欠損症. SA Medicine 12(1), 23-24, 2010.
6. **大和 修**. 治療シリーズ-私はこうしている- 血液疾患 ピルビン酸キナーゼ (PK) 欠損症. SA Medicine 12(1), 22-23, 2010.
7. **大和 修**. 蓄積病の臨床・生化学. 日本獣医病理学会および日本獣医病理専門家協会会報, 7 月号, 6-10, 2008.
8. **大和 修**. DAMNIT-V で学ぶ神経病学各論 第 4 回「ライソゾーム病」. CAP (Companion Animal Practice) No. 229, 51-62, 2008.
9. **大和 修**. 動物の先天代謝異常症: ライソゾーム病および関連疾患について. 鹿児島県獣医師会会報 第 41 号, 20(1), 2-7, 2008.