

令和 4 年 6 月 1 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K15675

研究課題名（和文）ゲノムワイド関連解析を用いた犬の壊死性脳炎における遺伝要因の解明

研究課題名（英文）Elucidation of genetic factors in canine necrotizing encephalitis using genome-wide association analysis

研究代表者

茂木 朋貴（Motegi, Tomoki）

東京大学・大学院農学生命科学研究科（農学部）・特任助教

研究者番号：40803416

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：犬における壊死性髄膜脳炎は自己免疫性の疾患であることが疑われているが、その原因については不明であり、ゲノムワイド関連解析より原因遺伝子の特定を試みることにした。疫学的に発症率が高い犬種3種の末梢血を収集して、全ゲノム上のマーカーSNPを同定したところ、パグの3番染色体およびヨークシャーテリアの1,9,15,16,20,24,25,28番染色体上に関連が示唆される領域を認めた。これらの領域における一番関連の強いマーカーSNPの大半はオッズ比が高く、疾患におけるマーカーSNPとして利用できる可能性が見いだせた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回犬の壊死性髄膜脳炎の原因遺伝子を疫学的に有意に発症が多い犬種に絞ってゲノムワイド関連解析を用いることで探索した。得られた感受性領域にある遺伝子のうち、一部ではマウスにおける実験的自己免疫性脳脊髄炎における関連遺伝子への影響が示唆された。このため犬のMUOは今まで言われていたラスムッセン脳炎や自己免疫性小脳失調症とは異なり、人の多発性硬化症の類縁疾患である可能性が新たに示された。人の多発性硬化症の治療法は十分に確立されているとは言い難く、このモデル動物と考えた場合、新規治療法開発において非常に有益であると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Necrotizing meningoencephalitis in dogs is suspected to be an autoimmune disease, but its cause is unknown. We identified marker SNPs in the whole genome of three epidemiologically prevalent breeds of dogs, and found regions on chromosomes 3 of pugs and chromosomes 1, 9, 15, 16, 20, 24, 25, and 28 of Yorkshire terriers that were suggestive of association. Furthermore, the most strongly associated marker SNPs in these regions had high odds ratios and could be used as marker SNPs in the disease.

研究分野：臨床獣医学

キーワード：犬 脳炎 起源不明の髄膜脳炎 壊死性髄膜脳炎 壊死性白質脳炎 自己免疫性脳脊髄炎 多発性硬化症

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

犬における原因不明の壊死性脳炎は、炎症性脳脊髄疾患の症例の最大 25% を占めており、その有病率は 1% に達する普遍的な疾患である。この疾患は壊死性髄膜脳炎 (necrotizing meningoencephalitis: NME) と壊死性白質脳炎 (necrotizing leukoencephalitis: NLE) の 2 つが代表的な組織型である。これら 2 つの脳炎には脳脊髄液 (CSF) 中に共通の自己抗体が出現することや自己反応性 T 細胞の蓄積、特異的な病原体の検出が無いことが特徴である。壊死性脳炎は免疫抑制療法によって臨床症状を軽快し、疾患の進行を遅らせることができるが、若齢で発症するためその予後は悪く、不可逆な脳傷害により早期に死亡するか、生存しても生活の質が低くなり、横臥状態で生涯を終えることも少なくない。このため壊死性脳炎の病因を究明することは急務であると考えられる。また犬における壊死性脳炎は人におけるラスマッセン脳炎や自己免疫性小脳失調症と類似している点が多くあり、これら指定難病のモデル動物となる可能性を秘めている。

この壊死性脳炎は発症犬種に偏りがあり、NME はパグ、マルチーズ、チワワ、シーザー、パピヨン、NLE はヨークシャーテリア、フレンチブルドッグなどといった特定の小型犬においてよく見られる。またパグの NME における解析ではその遺伝率は 0.52-0.82 と高く、遺伝学的解析によって原因遺伝子を突き止められる可能性が高い。犬では犬種ごとに異なる遺伝子の固定化が起きており、数十頭程度のゲノムワイド関連解析 (Genome Wide Association Study: GWAS) で原因遺伝子を見つけることが可能となっている。このため犬の壊死性脳炎の病因を解明するために、犬種ごとに GWAS を行うことで疾患原因遺伝子が見つかる可能性がある。

2. 研究の目的

本研究は GWAS を用いて好発犬種における壊死性脳炎の遺伝要因を明らかにすることである。ここから壊死性脳炎の原因遺伝子を特定し、最終的には発症の予防や有効な新規治療方法を見つけることを目標とした。

3. 研究の方法

研究開始時には海外における好発犬種情報が存在していなかったため、日本における壊死性脳炎の大規模な疫学を行い、その中で有意となった犬種に対して壊死性脳炎の GWAS を実施した。具体的には壊死性髄膜脳炎・壊死性白質脳炎、これらを包括した概念である起源不明の自己免疫性脳炎 (MUO) と診断された疾患犬、および自己免疫性疾患の無い対照犬のゲノム DNA を抽出し、CanineHD Whole-Genome Genotyping BeadChip (Illumina) を用いて全ゲノム上におけるマーカー SNP の同定を行った。この情報と臨床情報を統合し、GWAS によって疾患関連 SNP の同定を実施した。同時に他の表現型情報との GWAS も行い、最終的に集められた全体および犬種毎のデータを用いてメタアナリシスおよびファインマッピングを実施し、感受性領域から疾患発症関連遺伝子を推定した。そしてこの遺伝子群を他の人の自己免疫関連脳炎の情報と比較することで疾患の類似性を調べた。

また保存されている脳組織などから採取した RNA より遺伝子発現情報を取得し、これ

らの遺伝子発現変化を調べ、疾患との関連性を調査した。

4．研究成果

まず日本の犬における壊死性髄膜脳炎・壊死性白質脳炎、MU0の疫学情報を取得した。この結果を基に国際畜犬連盟で登録されている 352 品種を対象とした多重検定を実施したところ、日本国内ではヨークシャーテリア・チワワ・パグの三品種で発症率が有意に高いことが示された。他の報告で遺伝要因が示されているマルチーズや疫学的に報告の多いシーズー・ペキニーズ・パピヨン・フレンチブルドッグについては有意な差が検出されなかった。

続いて疫学的に発症率が高い犬種の末梢血を収集して、全ゲノム上のマーカーSNPを同定した。そして事前に設定したサンプルサイズを超えたヨークシャーテリア・パグの解析を行ったところ、ゲノムワイドに有意なマーカーSNPは検出されなかったが、パグにおいて3番染色体に、ヨークシャーテリアにおいては1,9,15,16,20,24,25,28番染色体上に関連が示唆される領域を認めた。これらの領域における一番関連の強いマーカーSNPの大半はオッズ比が高く、疾患におけるマーカーSNPとして利用できる可能性が見いだせた。

またこれらの感受性領域にある遺伝子のうち、犬の脳における遺伝子発現と比較するために、新鮮組織およびホルマリン固定パラフィン包埋組織におけるRNA-seqデータと比較すると、パグにおいては今までに報告の無い遺伝子に強い関連を認めた。感受性領域における関連を調べていると新規のマイクロRNAが同定され、このマイクロRNAはこの感受性遺伝子の制御を行っているため、疾患に対する両者の関連が疑える。これ以外に関連が疑われた遺伝子では一部にマウスにおける実験的自己免疫性脳脊髄炎に関連する遺伝子が見ついている。このため犬のMU0は今まで言われていたラスムッセン脳炎や自己免疫性小脳失調症とは異なり、人の多発性硬化症の類縁疾患である可能性が新たに示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Iio, A., Maeda, S., Yonezawa, T., Momoi, Y. and Motegi, T.	4. 巻 32
2. 論文標題 Isolated growth hormone deficiency in a Chihuahua with a mutation in GH1.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Vet Diagn Invest	6. 最初と最後の頁 733-736
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1177/1040638720938671	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Shingo Maeda, Tomoki Motegi, Aki Iio, Kenjiro Kaji, Yuko Goto-Koshino, Shotaro Eto, Namiko Ikeda, Takayuki Nakagawa, Ryohei Nishimura, Tomohiro Yonezawa, Yasuyuki M.	4. 巻 -
2. 論文標題 CCR4 blockade leads to clinical activity and prolongs survival in a canine model of advanced prostate cancer.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bioaxiv	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1101/2021.04.12.439476	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------