

平成 22 年 5 月 31 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20780223

研究課題名 (和文) 犬の遺伝性進行性網膜萎縮の分子病態についての検討

研究課題名 (英文) Study on molecular pathogenesis of canine progressive retinal atrophy

研究代表者

玉原 智史 (SATOSHI TAMAHARA)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・助教

研究者番号：80401181

研究成果の概要 (和文)：ミニチュア・ダックスフンドにおける進行網膜萎縮 (PRA) についてその原因遺伝子として報告された *RPGRIP1* 遺伝子の健常犬における発現、培養細胞発現系における蛋白質発現について解析を実施した。

研究成果の概要 (英文)：A mutation of *RPGRIP1* gene cause progressive retinal atrophy (PRA) in miniature dachshund was reported. In the present study, we analyzed the expression of the *RPGRIP1* gene in a healthy dog, and of *RPGRIP1* molecules in cultured cells.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	2,400,000	720,000	3,120,000
2009 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	960,000	4,260,000

研究分野：獣医学

科研費の分科・細目：臨床獣医学

キーワード：獣医学・遺伝性疾患・分子病態・診断法・疾患モデル

1. 研究開始当初の背景

進行性網膜萎縮 (progressive retinal atrophy ; PRA) は犬においてよく認められる遺伝性眼疾患の一つである。この疾患は最終的に失明に至る点、著効する治療法がない

点から罹患した個体の QOL を著しく下げる。そのため飼い主に対しても精神的、経済的負担をかけることになる点でも問題とされる疾患である。ミニチュア・ダックスフンドは国内で最も多く愛玩動物として飼育されて

おり、PRAの好発犬種とされている。2006年、イギリスのミニチュア・ダックスフンドのコロニーについて連鎖解析が行われた結果、人のレーバー先天性黒内障の原因遺伝子とされる retinitis pigmentosa GTPase reguator-interacting protein 1 (*RPGRIP1*)の exon 2 における 44 ベースの挿入変異が疾患原因遺伝子変異であると報告された (Mellersh CS., et al., *Genomics*, 88: 293-301. 2006)。しかし、実際の臨床症例の表現型と遺伝子型との間には矛盾が生じており、それを説明する分子病態についての検討はなされていなかった。

2. 研究の目的

本研究は、ミニチュア・ダックスフンドにおける進行性網膜萎縮症 (PRA) について、疾患原因遺伝子 (*RPGRIP1*)の異常から生じる分子病態を明らかにすること目的とし、より確実な新規診断法の開発ならびに疾患モデル動物として確立することを目指している。

3. 研究の方法

2008 年度：正常犬の網膜組織から抽出した total RNA から cDNA を作成し、犬 *RPGRIP1* の全長の同定を試みた。

2009 年度：前年度得られた *RPGRIP1* 遺伝子 (アイソフォーム含む) を培養細胞発現系に導入し蛋白質発現を解析した。

4. 研究成果

2008 年度：犬 *RPGRIP1* には、いくつかのアイソフォームが存在することが明らかになった。それらの C 末端領域はすべて共通していたが、N 末端領域にいくつかのバリエーションが存在した。共通している C 末端領域は、関連蛋白質である RPGR との結合部位を含み、人やマウスと比較してもよく保存されていた。一方、既報 (Mellersh CS., et al., *Genomics*, 88: 293-301. 2006) で示された挿入変異が存在する Exon 2 と予測された配列を含むアイソフォームの全長は得ることができなかった。

以上のことから、犬 *RPGRIP1* の N 末端側は予測されていた N 末端とは異なったものであり、そのため遺伝子型 (44 b 挿入変異の有無) と表現型 (発症の有無) が一致しない可能性が示された。

2009 年度：前年度において得られた Exon

2を含まない犬 *RPGRIP1* アイソフォームについて、培養細胞における発現系を用いて蛋白質発現についての検討を実施した。イムノブロット、免疫染色法において発現が確認された。よって犬 *RPGRIP1* 蛋白質においては、N 末端側が異なり C 末端領域が共通するアイソフォーム蛋白質が存在し、その C 末端領域は細胞における発現において重要であると考えられた。すなわち、既報にある Exon 2 における挿入変異が存在していても、他のアイソフォームの発現によって機能的に代償されている可能性が示され、変異をホモに持つ個体における表現型（発症の有無・発症時期）の差異が生じる機序の一部となることが示唆された。

また、C 末端領域の遺伝子について発症犬・非発症犬（2 頭ずつ）で比較検討を実施したが本研究期間中においては明らかな違いは認められなかった。

以上の結果より、ミニチュア・ダックスフンドの PRA は *RPGRIP1* の Exon 2 における 44 bp の挿入変異だけではなくそれ以外の要因によって発症が決定されることが示唆された。

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 1 件)

ここまで来た眼・神経疾患の診断 「進行性網膜変性疾患」日本内科学アカデミー・獣医臨床病理学会合同大会 (2010 年 2 月)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○ 出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

玉原 智史 (SATOSHI TAMAHARA)

研究者番号 : 80401181

(2) 研究分担者

()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

()

研究者番号 :