

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K21363

研究課題名（和文）盲導犬の“育ち”から盲導犬採択率上昇へ挑む、盲導犬気質・性格のエピゲノム解析

研究課題名（英文）Epigenome analysis of guide dog temperament and character

研究代表者

渡邊 学（Watanabe, Manabu）

東京大学・大学院新領域創成科学研究科・特任教授

研究者番号：70376606

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では全ゲノムを対象としたメチル化パターンの比較による盲導犬採択に関連するゲノム変化を解明することで、盲導犬不足のという深刻な問題を解決することを目的とした。盲導犬採択犬3例、非盲導犬2例の脳、甲状腺、副腎由来のゲノムDNAを用いて網羅的メチル化解析を行い、メチル化の有無と盲導犬採択の是非との相関を検討することでエピゲノム解析を進めた。また、基盤となるゲノムデータを得るために、対象個体の同胎、両親等のSNPジェノタイピングにより延べ240例のゲノム解析を行った。その結果、平均Call Rate 0.994024、平均SNP数154026であり、基盤となるゲノムデータを取得することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、盲導犬の“育ち”に着目し、全ゲノムを対象にゲノム修飾状態を解明することで盲導犬採択犬のメチル化パターンを明らかにし、それらを盲導犬採択の分子指標として応用することで盲導犬の選抜が可能となる。本研究の成果により、盲導犬採択率を上昇させることが可能となり、盲導犬を望む多くの視覚障害者の方々への貸与が現実化する。この成果は障害者の自立や社会参加に多大な影響をあたえ、障害者福祉に大きく貢献することができる。また、動物の情動という観点において、犬ゲノム研究から犬の性格を研究する新機軸を打ち出す事ができ“こころのありかた”の動物モデルとしての新しい学問領域の構築のさきがけとなる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we performed canine whole genome epigenome analysis to solve severe problem of a guide dog shortage. We compared differences of DNA methylation patterns between three guide dogs and two non-ones using genome DNA Derived from brain, thyroid gland, and adrenal gland. In genome, we performed SNP genotyping analysis in the total two hundreds forty dog in a guide dog breeding colony. As the results of the analysis, we showed that the excellent call rates (average rate: 0.994024) and SNP detection numbers (average numbers: 154,026 SNPs), and we obtained the basic genome data.

研究分野：伴侶動物ゲノム学

キーワード：盲導犬 稟性 イヌゲノム ゲノム解析 メチル化解析 気質 ゲノム検査 障害者福祉

1. 研究開始当初の背景

2009年の報告では、視覚障害者は日本国内に推定約164万人存在するといわれ、そのうち約3000人が盲導犬の貸与を希望している。しかしその稼働数は約900頭ほどであり、盲導犬が不足しているのが現状である。盲導犬不足の原因のひとつとして採択率の低さが挙げられ、盲導犬候補犬のうち実際に採択されるのは30～40%ほどであり、盲導犬の採択率を上昇させることにより盲導犬の貸与を願う多くの視覚障害者に届けることができる。

盲導犬の採択に関するこれまでの研究は主に動物行動学からのアプローチが進められている。また、犬の気質・性格に関する遺伝子解析に関しては、他の動物種で解析された任意の遺伝子の比較にとどまっている。申請者らは盲導犬のゲノム(エクソーム)解析を進めているが、盲導犬採択に関する明瞭なゲノム多型の検出が困難であり、盲導犬の資質に関与する分子を解明するために着眼点を変えてのアプローチが必須である。

本研究は、ラットの子育ての研究にヒントを得て(Weaver et al., Nat Neurosci. 2004,7:847-854)、これまでの”氏”すなわちゲノムではなく、誕生後の性質に関する”育ち”すなわちエピゲノム解析を主眼として全ゲノムの網羅的メチル化パターンの比較を行う新しい切り口から盲導犬になり得るゲノム変化を解明することで、盲導犬不足のという深刻な問題を解決できる糸口をみだし、突破することで大きなブレイクスルーを得る着想を得た。

本研究では全ゲノムを対象としてエピゲノム解析を展開し、網羅的メチル化パターンの比較を行う新しい切り口から盲導犬になり得るゲノム変化を解明することで、盲導犬不足のという深刻な問題を解決できる糸口をみだし、突破することで大きなブレイクスルーを得ることができると考えた。

2. 研究の目的

本研究では、盲導犬の”育ち”に関与するエピゲノム解析に着目し、全ゲノムを対象にゲノム修飾状態を解明することで盲導犬採択犬のメチル化パターンを明らかにし、それらを盲導犬採択の分子指標として応用することで盲導犬になりやすい犬の選抜を行うことを目的とする。

本研究の成果により、盲導犬採択率を上昇させることが可能となり、盲導犬を望む多くの視覚障害者の方々への貸与が現実化する。この成果は障害者の自立や社会参加に多大な影響をあたえ、障害者福祉に大きく貢献することができる。

また、動物の情動という観点において、本研究の成果は犬ゲノム研究から犬の性格を研究する上での新機軸を打ち出す事ができ、この研究の成果により“こころのありかた”の動物モデルとしての新しい学問領域の構築のさきがけとなることが予測される。

3. 研究の方法

3-1. 対象検体

疾患等により死亡した盲導犬採択犬*例および非盲導犬*例を対象にして病理解剖にて脳および甲状腺、副腎を採取した。脳は解剖学的見地より10部位(前頭葉、頭頂葉、側頭葉、後頭葉、海馬、視床、中脳、橋、小脳、延髄)を分離採材を行った。

また、死産等の盲導犬繁殖コロニーの仔犬8例からも同様に病理解剖にて脳5部位(大脳(前頭/側頭、頭頂/後頭)、海馬、小脳、視床/中脳、橋/延髄)および甲状腺、副腎を採取した。

3-2. エピゲノム解析

盲導犬採択犬3例、非盲導犬2例および死産等の仔犬8例を脳および甲状腺、副腎を採取した。脳は解剖学的見地より10部位の採材をおこない、各部位からゲノムの抽出・精製を行った。

対象臓器より抽出されたゲノムDNAを用いて制限酵素切断法を基にしたRRBS法で網羅的ゲノムメチル化解析を行い、全メチル化領域の修飾の有無と盲導犬採択の是非の相関を検討する。

3-3. 血液検体 OK

エピゲノム解析データとの比較ゲノム解析を行うために、対象個体の同胎、両親および関連する血統を対象にしてゲノム解析を行った。公益財団法人日本盲導犬協会内にて保管されている盲導犬繁殖コロニーの血液リソースのべ240例を用いてゲノム抽出を行い、精製・調整後にゲノム解読に供した。

3-4. ゲノム解析

本研究で解析対象となった盲導犬採択犬、非盲導犬および死産等の仔犬*例の、同胎、両親および関連する血統個体のべ240例を用いて、SNPジェノタイピングによるゲノム解析を行った。

4. 研究成果

4-1. 盲導犬および非盲導犬の比較エピゲノム解析

メチル化はシトシン・グアニン(CG)配列のCにメチル基が結合することで起こり、特にプロモーター領域でのメチル化により遺伝子発現の調節に影響する。例えば、ゲノムのメチル化によりホルモンに関連する遺伝子の発現変化は結果的にホルモンへの感受性の変化となり表現型としての行動・情動として反映されることが考えられる。本研究では、脳の10領域および内分泌臓器である甲状腺、副腎に焦点をあてこれらの臓器内でのエピゲノム解析により盲導犬採択犬と非採択犬のメチル化パターン比較解析による盲導犬の採択との相関を検討した。

本研究において、脳10領域および甲状腺、副腎を対象としてエピゲノム解析を行った。採材した臓器各部位・領域を用いてライセートを作成し、ゲノム抽出・精製を行い、エピゲノム解析を進めている。

4-2. 仔犬のエピゲノム解析

誕生時または生後すぐに上述の臓器・部位でのメチル化の有無を類推するために、死産等で病理解剖行った盲導犬繁殖コロニー内の仔犬8例の脳5領域および甲状腺、副腎の採材を行い、上述と同様の方法でゲノムDNAを抽出・精製しエピゲノム解析を進めている。

4-3. ゲノム解析 OK

対象検体の基盤となるゲノムデータを得るために、対象個体の同胎、両親および血統のSNPジェノタイピングによる延べ240例のゲノム解析を行った。

その結果、平均 Call Rate 0.994024、平均 SNP コール数 154026 であり、本研究の基盤となるゲノムデータを取得することができた。

これらのゲノムデータの配列データをエピゲノム解析により見いだされた結果と比較することにより、対象ゲノム配列のゲノム多型がメチル化に依存する事象かまたは元々メチル化の関与に乏しいかを確認することで盲導犬繁殖コロニー内の候補犬の訓練・育成との関連を推察することが可能となる。

また、将来的なゲノム検査・診断応用に際して、本研究で対象とした臓器でのエピゲノムを対象とした検査は困難と考えられるが、ゲノムデータを介した比較解析のよりエピゲノム変化をゲノム多型の相関やパターンを探索することでゲノム検査による盲導犬採択に関するゲノム検査の可能性が見出されると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

東京大学新領域盲導犬歩行学研究室ホームページ https://watamoudoukenut.wixsite.com/moudouken-ut-watalab

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
---------	---------