

学位論文審査結果の要旨

学位申請者 氏 名	Shahnaj Pervin	
審査委員	主査	鹿児島大学 矢吹 映
	副査	山口大学 高木 光博
	副査	山口大学 西垣 一男
	副査	鹿児島大学 小原 恭子
	副査	鹿児島大学 三浦 直樹
審査協力者	印	
題 目	Molecular epidemiologic study on canine neuronal ceroid lipofuscinosis and GM1 gangliosidosis 犬の神経セロイドリポフスチン症および GM1 ガングリオシドーシスの分子疫学研究	
審査の要旨：		
<p>申請者の Shahnaj Pervin 氏は、チワワの神経セロイド・リポフスチン症 (NCL) および柴犬の GM1 ガングリオシドーシスの既報の原因変異について、国内の大規模集団 (チワワ仔犬および豆柴繁殖犬) で分子疫学調査を実施してキャリア頻度および変異アレル頻度を算出し、そのデータに基づいて各疾患の予防の是非を検討し、それぞれの犬種における適切な予防方法を立案した。これらの目的を達成するために、以下の第 1 章と第 2 章の研究が実施された。</p> <p>第 1 章：Investigation of neuronal ceroid lipofuscinosis in Chihuahua puppies in Japan (日本のチワワ仔犬における神経セロイド・リポフスチン症の調査)</p> <p>NCL は、チワワを含むさまざまな犬種で報告されている稀な神経変性性致死性のライソゾーム蓄積病の疾患グループである。近年、国内人気犬種であるチワワの NCL の原因として、<i>CLN7/MFSD8</i> 遺伝子にフレームシフトを引き起こす一塩基欠失 (c.843delT, p.Phe282Leufs13*) が同定された。本研究の目的は、リアルタイム PCR 法を応用して新たに開発された遺伝子型検査法を使用し、日本のチワワにおける NCL のキャリア率および変異アレル頻度を算出・決定し、チワワの NCL に関する適切な予防法を立案することであった。本研究では、全国ブリーダーからペットショップに搬入される前に実施される身体検査において、1,007 頭のチワワ仔犬からスポンジ製スワブで唾液が収集され、Finders Technology Associates (FTA) カードに塗布・乾燥させて保管された。DNA は FTA カード上の唾液から簡易抽出して、蛍光標識された TaqMan プロブを用いて各遺伝子型を決定した。遺伝子型検査の精度は、予め Sanger シーケンスで決定した各遺伝子型の試料で評価・確定した。その結果、本研究で開発された検査法は明確に遺伝子型を識別し、さらに</p>		

チワワ集団のキャリア頻度は1.29% (変異アレル頻度 0.00645) であった。この変異アレル頻度と国内チワワ集団の大きさから考慮すると、国内において変異ホモ接合体の発症犬が散発的に発生する可能性があると考えられた。そのためチワワ NCL の変異アレル頻度は、現行で予防策を講じる必要がある高いレベルであると判断された。本研究では各地のブリーダーで生産されるチワワ仔犬の全頭検査を実施してキャリア率と変異アレル頻度を算出したが、より効率的な予防策をとるためにはブリーダーが保有する繁殖犬を対象として遺伝子型検査を実施し、疾患予防のために同定されたキャリアを繁殖に用いないようにブリーダーを教育する必要があると考えられた。

第2章：Investigation of GM1 gangliosidosis in miniature Shiba breeding dogs in Japan (日本の豆柴の繁殖犬における GM1 ガングリオシドーシスの調査)

GM1 ガングリオシドーシスは、*GLB1* 遺伝子によってコードされる酸性 β -ガラクトシダーゼの欠損により、同酵素の基質である GM1 ガングリオシドなどが中枢神経で過剰蓄積して神経細胞死を招き、進行性致死性の神経変性を引き起こすライソゾーム蓄積病である。本疾患は柴犬での発生がよく知られており、その原因として犬 *GLB1* 遺伝子の一塩基欠失 (c.1649delC, p.P550Rfs*50) が同定されている。以前に日本の柴犬集団で実際された分子疫学調査では、キャリア率は 1.02~2.94% であったが、近年人気が高まっているミニチュアサイズの柴犬である豆柴での調査は実施されていなかった。本研究の目的は、日本の豆柴集団における GM1 ガングリオシドーシスのキャリア率および変異アレル頻度を算出・決定し、豆柴における本疾患に関する適切な予防法を立案することであった。本研究では、143 の豆柴繁殖犬舎に属する 1,832 頭の臨床的に健康な豆柴から血液を採取し、FTA カードに滴下・乾燥して保存した。遺伝子型検査は、既報のリアルタイム PCR 法を用いて実施した。その結果、豆柴集団のキャリア率は 0.49% (変異アレル頻度 0.00246) であった。今回の結果から、豆柴集団は標準型の柴犬から本疾患の遺伝子変異をすでに継承していることが明らかとなり、変異ホモ接合体の発症犬が発生する危険があることが判明した。今回の調査では、豆柴繁殖犬を検査したことから、この調査で判明したキャリアは繁殖に供さないことで、直接的に本疾患の予防に貢献すると考えられた。今後、未検査の豆柴繁殖犬については、遺伝子型検査を実施することで本疾患の全国規模の予防がさらに達成できると考えられた。

以上のように、本研究においては、国内のチワワにおける NCL ならびに豆柴における GM1 ガングリオシドーシスのキャリア率および変異アレル頻度を明らかにすることができた。チワワではキャリア率 1.29% (変異アレル頻度 0.00645) と比較的高い値であり、豆柴ではキャリア率 0.49% (変異アレル頻度 0.00246) とチワワに比較して低値であった。しかし、いずれの犬種も国内の人気犬種であるために生産個体数が極めて多く、偶発的に変異ホモ接合体の発症犬を生産する危険性があると考えられた。そのため、繁殖犬を対象として遺伝子型検査を実施し、キャリアと判明した犬を繁殖ラインが外して予防措置をとる必要があると考えられた。本研究の成果は、これらの人気犬種の致死性疾患の予防に大きく貢献し、獣医臨床遺伝学の発展に寄与するものと考えられた。

以上により、本論文は博士 (獣医学) の学位に十分に値すると判断された。