

論文の内容の要旨

論文題目 日本柴犬における隅角形態異常と
原発性緑内障の多発に関する研究

氏名 加藤久美子

人の緑内障は、失明の3大原因の一つに挙げられる重大な疾病である。本症は、眼内圧 (IOP) が上昇することにより視神経が損傷し、これにより視野狭窄を生じる疾患と定義されてきた。しかし、IOPの上昇を伴わずに、進行的な視神経障害を生じる病態 (正常眼圧緑内障) が数多く報告されているため、近年では、網膜神経細胞やそれらの神経軸索が進行性に傷害される疾病で、機能的構造的異常の本態は、緑内障性視神経症であると、定義されている。人における緑内障は、隅角 (ICA) の内側に存在する線維柱帯に目詰まりを生じ、眼房水の排出に障害が起きて生じる原発性開放隅角緑内障 (POAG)、虹彩基部が ICA を塞ぎ、眼房水の排出が極度に障害されるために生じる原発性閉鎖隅角緑内障 (PCAG)、眼や全身性の何らかの基礎疾病があり、それが原因となり、ICA の開放・閉鎖の有無に関わらず、IOP が上昇して生じる続発性緑内障、ならびに先天的に ICA に異常があるために生じる先天性緑内障の4つに大きく分類される。これらの中で、人では POAG が最も一般的なタイプの緑内障である。

犬の緑内障の分類は、人のそれと同様に POAG、PCAG、続発性緑内障、先天性緑内障と区別される。しかし、PCAG は人のそれと同一語であるが、病態は全く異なる。犬では、ICA 形態が先天的に狭い、あるいは閉鎖しており、これによって時間の経過とともに小柱網が

ら線維柱帯に目詰まりを生じ、緑内障を発症するものを PCAG と呼称している。さらには、犬の POAG でも病態が進行するにつれ、小柱網構造が崩れて行き、緑内障が悪化することが明らかにされている。したがって、犬の PCAG は、人における狭い ICA を持つ POAG と同じ病態ではないかと考えられる。

犬の緑内障では、その好発犬種が知られている。1957年にアメリカン・コッカー・スパニエルの緑内障の発表を皮切りに、ビーグル、バセット・ハウンド、イングリッシュ・コッカー・スパニエル、スプリンガー・スパニエルなどの好発犬種が報告されてきた。1988年には、米国獣医眼科専門医のデータを集中管理して、それにより犬の遺伝性眼科疾患の撲滅を目的とした財団が設立され、この機関から1999年までに、上述の犬種を含め48犬種が好発犬種と認定されている。しかし、本邦では、緑内障の好発犬種のみならず、罹患頭数さえも研究・把握されていないのが現状である。また、著者の臨床経験から、日本では柴犬に ICA 形態異常を伴う PCAG が多いように感じられているが、これに関してもデータは全くない。

これらを背景として、本研究ではまず日本における緑内障犬の現状を調査し、日本の犬における好発犬種を検討した。さらに、PCAGの好発犬種と示唆された柴犬における緑内障発生病態と ICA 異常との関連について調査した。またこの緑内障の原因が、遺伝性の病態である可能性が高いため、人の緑内障病因遺伝子といわれている *myocilin* 遺伝子に着目し、まず犬における当該遺伝子配列を確定して、その変異の有無と柴犬の緑内障との関連を検討した。

第2章では、1998年6月から2003年7月までの間に、東京大学大学院農学生命科学研究科附属動物医療センター (VMC) に来院し、眼科検査を受けた1244頭の犬を対象として緑内障の診断を行い、各犬種における緑内障発生率ならびに ICA 形態異常の有無との関連を検討した。

その結果、この間に VMC に来院した71犬種中、29犬種において緑内障が認められ、そのうち3頭以上の緑内障発症を認めた犬種 (9犬種) の中では、柴犬が42頭と最も多く、次いでシーズ21頭、アメリカン・コッカー・スパニエル8頭、ビーグル5頭、ゴールデン・レトリバー5頭であった。この調査期間中に VMC に来院した各犬種の総頭数に対する総緑内障頭数の比率では、柴犬が17.6%と圧倒的に高く、次いで、アメリカン・コッカー・スパニエル7%、シーズ3.1%、トイ・プードル1.9%、ビーグル1.8%、マルチーズ1%であった。これらの柴犬の緑内障に対し、Ekestenらの分類に基づいて ICA 形態分類を観察した結果、Closed が65.5%、Narrow が25.9%、Slightly Narrow が8.6%であり、Open の症例はなく、全ての眼が狭い ICA を呈していた。また、過去に緑内障の報告がされていない犬種 (パピヨン、アイヌ犬、ブル・テリア、フレンチ・ブルドック、オールド・イングリッシュ・シープドック、ポメラニアン) も認められた。一方、シーズー、アメリカン・コッカー・ス

パニエル、ビーグルは、今回の調査の中で緑内障好発犬種に認定されているが、これらの ICA 形態や原発性と続発性緑内障の比率などは、過去の報告とほぼ同様であった。以上の結果から、日本における柴犬は PCAG の発症率が高い犬種であることが明らかとなった。

第 3 章では、第 2 章の調査期間を延長して 1998 年 6 月から 2004 年 5 月までに VMC に来院し、緑内障の有無に関わらず、眼科検査により ICA と櫛状靭帯 (PL) の両者の評価を行うことの出来た 114 頭の柴犬を対象として、ICA 形態異常の程度と緑内障発症の関連性を検討した。114 頭中、緑内障の柴犬は 46 頭、非緑内障の柴犬は 68 頭であった。

緑内障柴犬の年齢は 8.7 ± 3.6 歳、非緑内障柴犬の年齢は 5.7 ± 3.8 歳であり、両者の年齢には統計学的有意差が認められた。ICA のグレード別における緑内障発症の比率は、Closed が 85.7%、Narrow が 45%、Slightly Narrow が 12.1%、Open が 0% で、ICA 形態異常が強いほど、緑内障の発生率が高かった。一方、非緑内障柴犬でも ICA の狭いものが 81% と多く、緑内障の有無に関わらず、日本の柴犬は ICA 異常を伴う率の高いことが認められた。PL 形態は、ICA 異常の程度に比例して、形成異常が認められ、Closed の犬においては、PL の形態は完全に消失していた。

さらにこれらのうち、両眼性緑内障の症例は 17 頭であり、片眼から両眼への進行が、1 年未満であったものが 11 頭 (65%) と多く、これらの ICA は Closed が 5 頭、Narrow が 5 頭、Slightly Narrow が 1 頭であった。1-3 年で進行したものが 5 頭 (29%) で、これらの ICA は Closed が 4 頭、Slightly Narrow が 1 頭であった。また、非緑内障の柴犬のうち、この調査期間中に 3 頭が緑内障を発症した。以上のことから、日本における柴犬は ICA 形態異常が強く、その緑内障は両眼への進行が比較的早い原発性緑内障であることが示唆された。しかし、ICA 異常は緑内障の発症危険率を高めるが、ICA の高度な異常があっても緑内障を発症していないものがあることから、発症にはその他の要因が関与していることが示唆された。

第 4 章では、人の POAG において有力な緑内障原因遺伝子と考えられている *myocilin* 遺伝子に着目した。この遺伝子の犬における遺伝子配列は同定されていなかったため、まずその解析を行った。健常ビーグルの毛様体から mRNA を抽出し、cDNA を作成して PCR を行い、シーケンスを行って、*myocilin* 遺伝子配列を決定した (GenBank 登録番号 DQ303878)。このアミノ酸配列と人、猫、牛、ネズミのアミノ酸配列との一致率は、それぞれ 83.6%、89.2%、85.5%、79.4% であった。その配列と、柴犬の DNA から抽出した *myocilin* 遺伝子配列とを比較し、緑内障発症および非発症の柴犬、さらに ICA 形態と *myocilin* 遺伝子変異の有無との関連を検討した。使用した検体は、緑内障で ICA が Closed の 5 頭、非緑内障で ICA が Closed の 2 頭、非緑内障で ICA が Open の 3 頭、計 10 頭である。なお、緑内障犬のみに認められた遺伝子発現異常を“変異”、非緑内障犬にも認められたものを“多型性”とした。

その結果、緑内障犬およびICAがOpenとClosedの非緑内障犬において、いずれも *myocilin* 遺伝子の様々な変異/多型性が認められた。しかし、今回はサンプル数が少なかったこともあり、*myocilin* 遺伝子変異と緑内障、非緑内障の発症との間には明確な関連性がみられず、ICAグレードにおいても同様に明らかな関連性は認められなかった。柴犬における変異/多型性の認められた *myocilin* 遺伝子の部位は、Exon 1とExon 3であったが、Exon 1の部位により多くの変異/多型性を認めた。人の緑内障における *myocilin* 遺伝子変異の結果は、90%がExon 3に変異を認めているため、柴犬のPCAGと人のPOAGにおける *myocilin* 遺伝子変異との間には多少異なる傾向にあった。

近年の研究から、*myocilin* 遺伝子のExon 1は、細胞外マトリックスと細胞表面の構造に重要な影響を及ぼし、Exon 3は *myocilin* 蛋白の分泌に重要な役割を持つことが明らかとなっている。このことから、今回柴犬にみられた exon 1領域の変異/多型性は、小柱網の組織構造の崩壊を生じさせ、眼房水の流出障害を生じ、さらには緑内障へとつながる可能性を示唆するとも考えられた。

以上の結果から、日本で飼育される柴犬では、ICA形態異常を伴うPCAGが高率に発症し、かつ非緑内障柴犬においてもICA異常が広範に見られることから、柴犬はICAの異常を伴うPCAGの好発犬種であると考えられた。しかし、人のPOAGで関連すると考えられる *myocilin* 遺伝子変異との関連は必ずしも明確ではなく、今後さらに詳細な解析を行うことが必要と考えられた。