

犬および猫におけるライソゾーム病の新規診断法および バイオマーカーに関する研究

学位論文内容の要旨

現在50疾患近くのライソゾーム病が認められており、これらのほとんどはライソゾーム内水解酵素の欠損により生じ、その当該基質が進行性にライソゾーム内に蓄積する。本研究では、ライソゾーム病のうち、GM1およびGM2ガングリオシドーシスに主眼を置き、脳脊髄液（CSF）を用いた解析を行った。

獣医領域では、ガングリオシドーシスを含む多くのライソゾーム病において確定診断が困難である。一般に、ライソゾーム病の確定診断には中枢神経系（CNS）での蓄積物質の同定と欠損酵素の決定が必要となる。したがって、多くの場合、確定診断は動物の死後に行われることとなる。生きた個体から低侵襲的に得られる生体試料で診断を行うことが出来れば疾患動物の予後を早期に判別することが可能となる。

また、ライソゾーム病に対する有望な治療法が現在研究されているが、これらの新規治療法の効果や安全性が理想的な動物モデルを使って適切に評価されなければならない。犬や猫はヒト疾患の優れたモデルと考えられているが、マウスほど多産でもなく、多くの個体を治療試験に用いるのは困難である。もし生きた個体から得られる生体試料でCNSの変性の程度を評価することが出来れば、治療成績を評価する個体数を減らすことが可能となり、同時に実験動物の福祉にも寄与することとなる。

本研究では、CSFを用いた、犬および猫のGM1ならびにGM2ガングリオシドーシスの診断法を開発した。CSF中GM1およびGM2ガングリオシド濃度は、薄層クロマトグラフィー/酵素免疫染色法により測定した。その結果、両疾患動物においてCSF中に主要蓄積基質の増加が認められた。また、CSF中GM1ガングリオシドの蓄積は、疾患犬が臨床症状を発現する5カ月齢以前より認められた。これらの結果から、組織の得られない個体であっても本法によりGM1およびGM2ガングリオシドーシスの早期診断が可能であることが示された。

また、本研究ではGM1ガングリオシドーシスにおけるCNSの変性を反映するCSFバイオマーカーを決定した。定期的なCSFの解析により、GM1ガングリオシド濃度、アスパラギン酸アミノ基転移酵素および乳酸脱水素酵素活性、神経特異エノラーゼおよびミエリン塩基性蛋白濃度がGM1ガングリオシドーシス疾患犬でのCNS変性を反映するCSFバイオマーカーとして有用であり、本疾患に適用された新規治療法の効果判定に用いることが可能であると考えられた。さらに、今回GM1ガングリオシドーシス疾患犬にプレドニゾロンの経口投与を続け、その効果を上述のバイオマーカーを用いて評価した。しかし、この治療は疾患犬の臨床症状にもCSFバイオマーカーにも影響せず、グルココルチコイド療法は本疾患の治療には有用でないと考えられた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 前 出 吉 光
副 査 教 授 木 村 和 弘
副 査 助 教 授 山 崎 真 大
副 査 教 授 大 和 修 (鹿児島大学)

学位論文題名

犬および猫におけるライソゾーム病の新規診断法および バイオマーカーに関する研究

現在50疾患近くのライソゾーム病が認められており、これらのほとんどはライソゾーム内水解酵素の欠損により生じ、その当該基質が進行性にライソゾーム内に蓄積する。

本研究は、脳脊髄液 (CSF) を用いた、犬および猫のGM1ならびにGM2ガングリオシドーシス診断法の開発を目的としている。CSF中GM1およびGM2ガングリオシド濃度は、薄層クロマトグラフィー/酵素免疫染色法により測定された。その結果、両疾患動物においてCSF中に主要蓄積基質の増加が認められた。また、CSF中GM1ガングリオシドの蓄積は、疾患犬が臨床症状を発現する5カ月齢以前より認められた。これらの結果から、組織の得られない個体であっても本法によりGM1およびGM2ガングリオシドーシスの早期診断が可能であることが示された。

また、本研究ではGM1ガングリオシドーシスにおけるCNSの変性を反映するCSFバイオマーカーが決定された。すなわち、定期的なCSFの解析により、GM1ガングリオシド濃度、アスパラギン酸アミノ基転移酵素および乳酸脱水素酵素活性、神経特異エノラーゼおよびミエリン塩基性蛋白濃度がGM1ガングリオシドーシス疾患犬でのCNS変性を反映するCSFバイオマーカーとして有用であり、本疾患に適用された新規治療法の効果判定に用いることが可能であると考えられた。さらに、GM1ガングリオシドーシス疾患犬にプレドニゾロンの経口投与を続け、その効果を上述のバイオマーカーを用いて評価した。しかし、この治療は疾患犬の臨床症状を改善することがなく、本疾患の治療には有用でないと考えられた。また、CSFバイオマーカーはこの結果を反映した値を示していた。

以上のように本研究は犬および猫のライソゾーム病診断に関する新知見を多く含んでいる。よって、審査委員一同は、佐藤裕之氏が提出した博士論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第6条の規定による本研究科の行う博士論文の審査等に合格と認めた。