HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on the molecular pathogenesis and the novel disease-associated genes in dogs with inflammatory colorectal polyps [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	永田, 矩之
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	乙第7164号
Issue Date	2022-09-26
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/87239
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	NAGATA_Noriyuki_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）　　氏名：永田　矩之

審査委員	主査　教授	滝口　満喜
	副査　教授	木村　享史
	副査　教授	村上　正晃
	副査　准教授	中村　健介

学位論文題名

Studies on the Molecular Pathogenesis and the Novel Disease-Associated Genes in Dogs with Inflammatory Colorectal Polyps

（犬の炎症性結直腸ポリープの分子病態および新規疾患関連遺伝子に関する研究）

犬の炎症性結直腸ポリープ（Inflammatory colorectal polyp, ICRP）は、下行結腸から直腸の粘膜における原因不明の多発性あるいは孤立性の炎症性ポリープ形成を特徴とする疾患である。免疫抑制療法が有効であることから免疫異常が病態に関与していることが示唆されており、犬の炎症性腸疾患（Inflammatory bowel disease, IBD）の一つと考えられている。

ICRP の病理組織学的な特徴として、過剰な粘液を伴う杯細胞の過形成と、炎症細胞の浸潤、特に好中球とマクロファージの浸潤が挙げられるが、病態形成における意義は明らかになっていない。ICRP の最も重要な特徴の一つが、明らかな犬種特異性である。ミニチュア・ダックスフンド（MD）が発症例の 80%以上を占め、本疾患の病態における遺伝的素因の関与が強く疑われている。しかし、疾患発症と関連する遺伝子は明らかになっていない。そこで本研究では、ICRP に特徴的な病理組織学的所見に注目した分子病態の検討および新規疾患関連遺伝子の探索を行った。

第 1 章では、ICRP の病理組織学的特徴の一つである杯細胞の過形成と粘液の過剰に注目し、ムチン遺伝子の発現解析と杯細胞の分布について検討した。ICRP の病変部において、検体数の影響からか現時点では、*MUC2* 遺伝子の発現に有意差は認められなかった一方で、*MUC5AC* 遺伝子の発現が上昇していた。上皮細胞に対する杯細胞の割合に関しては、陰窩上部領域では変化が認められなかったが、陰窩下部領域では減少していた。以上の結果から、*MUC5AC* 遺伝子発現の上昇と陰窩下部領域における杯細胞の割合の低下は、ICRP の病態と関連している可能性が考えられた。

第 2 章では、ICRP の病理組織学所見におけるもう一つの特徴である好中球やマクロファージの浸潤に注目し、炎症細胞の遊走と細胞外マトリックス（Extracellular

matrix, ECM）の分解に重要な役割を担う MMP-2、MMP-9 およびセリンプロテアーゼの活性について検討した。ICRP の病変部では、MMP-2、MMP-9、およびセリンプロテアーゼの活性が上昇していた。これらの結果から、ICRP の病変部においてはゼラチナーゼ活性とセリンプロテアーゼ活性が上昇しており、これらの酵素による炎症細胞の遊走や ECM の分解が本疾患の病態に関与していることが示唆された。

第 3 章では、ICRP の直接的な原因となる因子について解析することを目的とし、新規疾患関連遺伝子を網羅的に探索した。MD とビーグル各 2 頭において全エクソームシーケンスを実施した結果、MD に特異的なミスセンスバリアントが、プラスミンの酵素前駆体であるプラスミノーゲン（PLG）をコードする *PLG* 遺伝子にみつかった。バリアント頻度を ICRP に罹患した MD（ICRP-MD）とコントロールの MD において比較した結果、ICRP-MD で有意に高かった。リスクアレルを持つ ICRP-MD は、リスクアレルを持たない ICRP-MD と比較して、病変部におけるプラスミノーゲン発現およびプラスミン活性が低かった。血清中のプラスミノーゲン発現およびプラスミン活性に差はみられなかった。さらに *In vitro* において、MMP-9 はリスクアレルを持つプラスミノーゲンの減少を引き起こした。以上の結果から、リスクアレルが引き起こすアミノ酸置換は、ICRP 病変部におけるプラスミノーゲン分子の安定性を低下させ、病変局所における MMP-9 活性がプラスミノーゲンを分解することで、ICRP の発症と関連する可能性が示された。

本研究の成果により、ICRP 病変部においてムチン遺伝子の発現量、杯細胞の分布、および MMP 活性が変化することが明らかとなった。網羅的な新規疾患関連遺伝子探索の結果、本疾患の発症と関連する MD に特異的なバリアントがみつかった。このバリアントは *PLG* 遺伝子上に存在し、プラスミノーゲン分子の安定性を低下させることで ICRP の発症と関連することが示唆された。安定性の低下したプラスミノーゲンの分解には MMP-9 が関与している可能性が示された。

以上、本研究では ICRP の病理組織学的な特徴に新たな知見を加えるとともに、犬種特異性に着目したアプローチによって ICRP の新規疾患関連遺伝子を同定した。本研究の成果は、ICRP の病態および慢性炎症のメカニズムの解明へと繋がることが期待される。よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者　永田矩之氏が博士（獣医学）の学位を授与されるに十分な資格を有するものと認めた。