

イヌのバイオバンクプロジェクト 2008

Canine bio-resource banking project in 2008

阪口雅弘, 川原井晋平

麻布大学大学院獣医学研究科獣医学専攻

Masahiro Sakaguchi, Shinpei Kawarai

Department of Veterinary Medicine, Graduate School of Veterinary Medicine, Azabu University

Abstract: Bio-resource banking project is a system for collection and storage of DNA, sera, tissues, and information from human patients with common diseases. To identify their susceptibility genes, a large number of samples are required for the study. In humans, by reason of the importance of bio-resource banking systems, the project is ongoing in the world.

In 2007, the canine bio-resource banking system started at Azabu University as a collaborative project with 11 referral animal hospitals. Following the informed consent to the owners, veterinarians have collected the blood samples and case histories from dogs referred to the animal hospitals and sent them to our laboratory in Azabu University. These blood samples are treated to prepare DNA and serum, and then, stored in the freezer. Each case and sample information is recorded in the database on a personal computer for future use.

Over 2,000 samples from 65 different breeds have been collected in this project. The best three breeds collected were dachshunds, golden retrievers, and shih-zhus and the best three diseases were ophthalmologic diseases, tumors, and bone-joint diseases.

The developed canine bio-resource banking system would be a key source for genetics research in dogs. Progress of this research would lead to decrease hereditary diseases in dogs.

1. 目的

犬のバイオバンクプロジェクトは麻布大学微生物学第一研究室に犬の生物資源を保管する拠点を置き、2007年に発足し、2008年から犬の検体の収集が始まった。このバイオバンクプロジェクトは日本のヒトのオーダーメイド医療実現化プロジェクト¹⁾を参考にシステム作りを行った。このプロジェクトでは、犬の病歴、DNA、血清を収集し、将来の獣医臨床研究に利用するために保管することを目的としている。現在、理化学研究所ゲノム医科学研究センターの技術協力のもとで、全国11の大学附属動物病院（東京大学、東京農工大学、岐阜大学、鹿児島大学、山口

大学、鳥取大学、大阪府立大学、北里大学、日本獣医生命大学、日本大学、麻布大学）と二次診療施設（日本動物高度医療センター）の臨床獣医師から症例を収集している。また、日本の遺伝病研究を行う組織である獣医臨床遺伝病研究会²⁾、日本動物遺伝病ネットワーク³⁾、K9バイオバンクプロジェクト⁴⁾とも連携を行っている。収集された検体は、治療法や診断法を開発するために提供され、犬のゲノム研究の発展に貢献すると考えられる。これまでに収集、保管している症例情報の中から犬種数、疾患症例数について、その進捗状況を報告する。

2. 方法

1) 検体の収集と保管⁵⁾

検体収集と保管の流れを Fig. 1 に示した。各動物病院に来院して確定診断が行われた症例から飼い主の検体利用に関する同意を得たうえで、血液の採取を行っている。この血液と症例情報は冷蔵便で麻布大学微生物学第一研究室に送付して収集されている。麻布大学に届いた検体の症例情報は紙面の状態でファイル管理されるとともに新規作成中のバイオバンク専用のデータベース上に保存される予定である。データベースには、犬種や年齢、ワクチン接種歴など症例のプロフィールと病歴や臨床検査結果、確定診断名などが記録される。症例情報には将来、検体を利用する際に症例の病歴を追跡できるようにするため、検体の送付先のカルテ番号が含まれているが、飼い主の個人情報の保護から検体は匿名化され、バイオバンクからは直接飼い主に連絡を取ることはできないようになっている。その他、検体の保管状況がすぐ把握できるように検体量や使用状況なども記録される。

送付された血液検体は採取後、麻布大学微生物学

第一研究室において4日以内にDNA、血漿と血清の抽出処理を行っている。症例のDNAはGenomix 2.4 ml blood (Talent SRL, Trieste, Italy) あるいは自動DNA抽出機 (QuickGene Q610L, Fuji film, Tokyo, Japan) を用いて精製されている。精製されたDNAは吸光度A260/280比が1.8～2.0の間にあり、大きさが12 kb以上の品質で、2 mlの血液から約60 ug抽出され、-30℃の冷凍庫 (MDF-U538, Sanyo, Tokyo, Japan) に保存されている。血漿はDNAを抽出する前に2 mlの血液から分離されて1検体あたり約0.5 ml収集されている。血清は3 mlの血液から1.5 ml分離されて収集され、血漿と血清とともに-80℃の冷凍庫 (CLN-50CW, Sanyo, Tokyo, Japan) において保存されている。

3. 結果

1) 犬の頭数

2008年から犬のバイオバンクにおいて犬の検体の収集がはじまり、これまでに2531頭の犬から検体が収集された。収集した検体の犬種数の内訳をTable 1に示した。最も症例数の多い犬種はダックスフンド (ミニチュアダックスフンドも含める)、ラブラドー

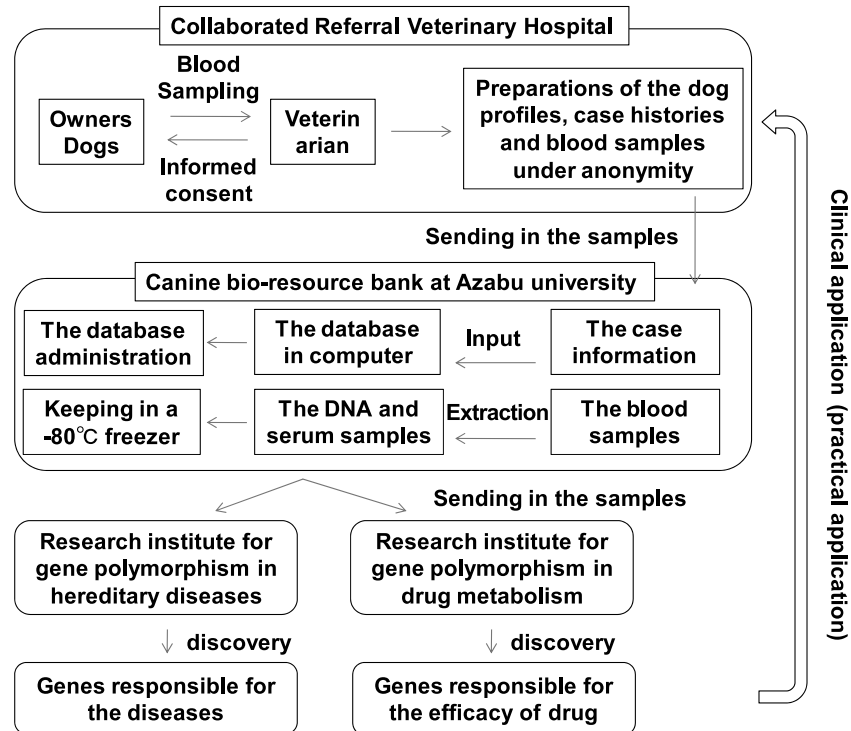


Fig. 1 Schema of canine bio-resource banking project

Table 1 Numbers of breeds corrected by canine bio-resource banking project

Breeds	Number	Breeds	Number
1 Dachshunds	351	34 Bernese mountain dog	7
2 Labrador retriever	324	35 Cairn terrier	7
3 Shih zhu	317	36 Kishu	7
4 American cocker spaniel	190	37 Flat coated retriever	6
5 Mix breeds	164	38 Scottish terrier	6
6 Shiba dog	146	39 Bichon frise	5
7 Cavalier king charles spaniel	115	40 Dobermann	5
8 Golden retriever	90	41 Old english sheepdog	5
9 Toy poodle	89	42 Airedale terrier	4
10 Yorkshire terrier	64	43 Spitzs	4
11 Maltese	55	44 Boxer	3
12 Miniature schnauzer	53	45 Brittany spaniel	3
13 Pug	44	46 German shepherd dog	3
14 Poodle	37	47 Great pyrenees	3
15 Shetland sheepdog	37	48 Springer spaniel	3
16 Chihuahua	36	49 Bouvier des flandres	2
17 Welsh corgi	34	50 Chin	2
18 Pomeranian	31	51 Italian greyhound	2
19 Wire fox terrier	31	52 Kai	2
20 Boston terrier	29	53 Rottweiler	2
21 Papillon	29	54 Spaniels	2
22 French bulldog	23	55 Afghan hound	1
23 Siberian husky	22	56 Australlian shepherd	1
24 West highland white terrier	21	57 Basenji	1
25 Beagle	17	58 Collies	1
26 Miniature pinscher	14	59 Dalmatian	1
27 Akita	12	60 English cocker spaniel	1
28 Welsh terrier	12	61 Great dane	1
29 Jack russell terrier	11	62 Keeshond	1
30 Pekingese	11	63 Lakeland terrier	1
31 Border colli	10	64 Sealyham terrier	1
32 Samoyed	9	65 Silky terrier	1
33 Bulldog	8	66 Belgian groenendael	1
		Total	2531

Table 2 Numbers of diseases corrected by canine bio-resource banking project

Diseases	Number
1 Ophthalmologic diseases	2049
2 Tumors	126
3 Bone-joint diseases	105
4 Skin diseases	36
5 Nuroopathy	10
6 Endocrine disease	6
7 Gastrointestinal diseases	5
8 Hematology	4
9 Cardiovascular disease	2
10 Urogenital disease	2
11 Disease controls	311
Total	2656

ルレトリバーであり、次いでシーズー等の順番であった。

2) 検体数

これまでに収集した症例の延べ数は2656（陰性対照となる検体も含める）であった。犬の頭数より症例の延べ数が多かったのでは、複数の病歴を持っている犬が存在したためである。収集した疾患の内訳をTable 2に示した。最も多い疾患は眼科疾患であり、次いで腫瘍性疾患や骨関節疾患等の順番であった。また、将来、遺伝子解析を行うときに、それぞれの疾患の陰性対照も必要になるため、これも同時に収集を行っている。

4. 考 察

本報告では、2008年10月から検体収集を開始して以来、これまでに犬のバイオバンクプロジェクトにおいて収集された犬の症例情報について犬種数と疾患症例数を報告した。検体数を公開したことで、麻布大学微生物学第一研究室において検体収集システムが既に構築されていることを公表することができた。

これまでに収集した犬の頭数は延べ2531頭であり、この数はヒトのバイオバンクプロジェクトにおいて収集されている数十万の検体数と比較すると、まだ大きな開きがある。しかし、欧米で我々に先行して行われている犬のバイオバンクプロジェクトである米国のCanine Comparative Oncology and Genomics Consortium (CCOGC)⁶⁾は、7大学からPfizer社の提供する保管施設において3年間に3000頭の癌症例の生物資源を最初に収集し、リンパ腫、骨肉腫、悪性黒色腫などそれぞれ600症例と軟部組織肉腫、血管肉腫、肥満細胞腫、肺腫瘍を合わせて1200症例収集することを目標としている。また、欧州連合のLUPA consortium⁷⁾では、12か国から20校の獣医系大学から2008年から2011年の4年間に10,000症例分のDNA検体を目標に、癌、癲癇、循環器および内分泌疾患など18疾患を対象に収集が行われている。これまでに我々が収集した検体数は、欧米の犬のバイオバンクプロジェクトにおいて収集されている検体数と遜色がない。今後、日本における犬のバイオバンクプロジェクトの普及を進めることによって、欧米と同じ数の症例数の収集が達成できることが期待される。

これまでに収集した中で、最も多い犬種はダックスフンドであり、次いでラブラドルレトリバー、シーザー等の順番であった。これらの犬種はジャパンケネルクラブ (Japan Kennel Club, JKC) が公開する犬種別犬籍登録頭数2008年(1月～12月)⁸⁾の上位を占める犬種であった(それぞれ順に3位, 15位, 7位)。このことから今回収集された犬の検体は日本で飼育されている犬種の頭数を反映していると考えられた。

これまでに収集された症例の疾患数は、眼科疾患が全体の約8割を占め、腫瘍疾患と骨関節疾患を併

せて全体の約1割であり、疾患数に偏りが認められた。これは10年以上前より検体の収集の重要性を認識して症例の収集を行ってきた麻布大学附属動物病院の印牧信行らが、その検体を犬のバイオバンクプロジェクトの症例として登録したことによる。その他にも腫瘍疾患や骨関節疾患が多かった理由としては、最も症例登録数が多かった麻布大学に来院する症例に腫瘍疾患が多いことや、日本動物遺伝病ネットワークが犬のバイオバンクの症例登録に協力したことが挙げられる。疾患に偏りがなく多数の検体を集められるように、犬のバイオバンクプロジェクトを普及していくことが今後の課題であると考えられる。

我々が収集している犬のバイオバンクプロジェクトに登録されている検体を利用して、将来、ひとつでも多くの疾患原因遺伝子が同定され、犬の獣医臨床への発展に貢献されることを期待している。

5. 謝 辞

犬のバイオバンクプロジェクトへの検体の登録に参加して下さった先生方、検体の抽出処理を中心的に行っている麻布大学微生物学第一研究室の石丸浩靖氏、太島勇気氏、工藤祥哉氏、久保田翔太氏、中島翔一氏、長井彰吾氏、野澤源太氏、柳 雅之氏に感謝いたします。

参考文献

- 1) 中村祐輔. 2005. 「ゲノム医学からゲノム医療へ」東京羊土社
- 2) 獣医遺伝病研究会ホームページ (<http://square.umin.ac.jp/jsacg/>)
- 3) 日本動物遺伝病ネットワークホームページ (<http://www.jahd.org/>)
- 4) 国立遺伝学研究所・生物遺伝資源情報総合センター Bioresource Newsletter Vol.1 No.7 (http://www.shigen.nig.ac.jp/shigen/news/n_letter/2005/newsletter_v1_n7.html#resources)
- 5) 阪口雅弘, 川原井晋平. 2008. 「犬のバイオバンクプロジェクト」 「麻布大学雑誌」 18, 19: 253-256.
- 6) Canine Comparative Oncology & Genomics Consortium homepage (<http://www.ccogc.net/index.html>)
- 7) LUPA consortium homepage (<http://www.eurolupa.org/>)
- 8) ジャパンケネルクラブ, 犬種別犬籍登録頭数 (<http://www.jkc.or.jp/modules/publicdata/>)