

## 審査の結果の要旨

氏名 志賀 崇徳

筋疾患は筋原性と神経原性に大別されるが、それぞれ病態発生機序と治療法が大きく異なるため、これらを鑑別することが重要である。しかし、獣医学領域では、病理検査に提出される筋組織のほとんどがホルマリン固定材料であり、さらに麻酔下で実施される動物の針筋電図検査では安静時の筋電図しか得られないため、正確な診断や病態解明が困難である場合が多い。そこで、本研究において申請者は犬のホルマリン固定筋組織を用いた病理学的検索法を検討し、さらに安静時の針筋電図所見と筋病理所見とを関連づける体系的な検索を行うことで、犬の筋疾患の診断に有用な検査法の確立を目指した。加えて、これらの検索法を応用し、筋ジストロフィーが疑われた犬の症例について、病理発生機序の解明を試みた。

第1章では、原因が明確な犬の筋疾患症例15例の筋組織のホルマリン固定パラフィン切片を用い、筋疾患の診断に応用できる免疫組織化学的手法を検討した。用いたのは筋原性筋疾患7例と神経原性筋疾患8例で、通常の組織検索に加えて免疫染色を行なった。抗 Slow myosin 抗体と抗 Fast myosin 抗体を用いた免疫染色の結果、神経原性筋疾患症例では遅筋線維、速筋線維の両方が萎縮する小角化線維、群萎縮および筋線維タイプ群化が観察されたが、筋原性筋疾患ではこれらの所見は認められなかった。また、抗 Nestin 抗体と抗 Myogenin 抗体を用いた結果では、筋原性筋疾患症例において細胞質が Nestin 陽性、核が Myogenin 陽性の再生線維が観察された。以上の結果から、抗 Slow myosin 抗体と抗 Fast myosin 抗体を用いた免疫染色は、犬の筋原性筋疾患と神経原性筋疾患の鑑別に有効であり、抗 Nestin 抗体と抗 Myogenin 抗体を用いた免疫染色は、筋原性筋疾患における再生線維の描出に有効であることが示された。

第2章では、針筋電図検査および筋生検を実施した犬48例について、6種類の

筋電図所見（刺入時電位増大、刺入時電位減少、線維自発電位/陽性鋭波、線維束電位、複合反復放電、ミオトニー放電）と 5 種類の筋病理所見（筋線維の萎縮、筋線維の壊死・再生、脱神経筋線維、筋線維タイプ群化、脂肪浸潤・線維化）の相関について解析した。筋病理所見については、重症度によりそれぞれグレード 0 から 3 までスコア化した。うち 19 例については、病理組織学的所見をもとに疾病診断を確定した。その結果、線維束電位は神経原性疾患でのみ認められた。線維自発電位/陽性鋭波あるいは複合反復放電が観察された症例の筋病理所見は、いずれの項目についてもグレード 0 の割合が最も高かった。一方、病理学的変化が認められた場合、線維自発電位/陽性鋭波が観察された症例の筋病理所見はいずれの項目についてもグレード 1 から 3 まで様々であり、とくに複合反復放電が観察された症例の筋病理所見は高グレードの割合が高かった。以上の結果から、線維束電位は神経原性疾患に特異性が高いことが示された。また、線維自発電位/陽性鋭波と複合反復放電は、筋の形態学的変化に先立って観察される可能性があるが、前者は急性から慢性の様々な組織変化に関連するのに対し、後者は高グレードの病理組織学的所見と関連することが推測された。

第 3 章では、筋ジストロフィーが疑われた犬 9 例について、第 1 章と第 2 章で検討した病理学的、筋電図学的診断法を用いて解析した。抗 Dystrophin 抗体を用いた免疫染色とウェスタンブロットの結果から、症例 1~3 を Dystrophin 欠損型筋ジストロフィーと診断した。症例 4 については、臨床症状のミオトニア、ミオトニー放電を特徴とする筋電図所見、高頻度の内在核および濃染核集塊と遅筋線維優位などの病理組織学的所見にもとづいて、犬の筋強直性ジストロフィー（DM）と診断した。症例 5~9 は筋疾患の好発犬種であるラブラドル・レトリバーで、巨大食道症と食道横紋筋の重度病変、四肢骨格筋の筋原性変化と神経原性変化が混在する病変が全例に共通する特徴であった。同一コロニーで、ほぼ同一の年齢に発生していることや病態の共通性より、巨大食道症を特徴とする新規の遺伝性筋疾患が疑われた。

本研究では、犬の筋疾患の診断に有用な病理学的および筋電図学的検査法を確立した。これらの検査法は、とくに DM の診断に有用であった。また、第 3 章で診断したラブラドル・レトリバーの新規筋疾患については、特定の遺伝様式がみられなかったことから、遺伝的素因に加えて環境因子なども含む複合的な原因が考えられた。以上、本研究で得られた一連の知見は、犬の筋疾患の臨床および病理学的診断、病態解明に応用でき、同時にヒトの類似筋疾患の病理発生機序を理解する上でも、有用な比較生物学的情報を提供するものと考えられる。これらの研究成果は、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（獣医学）の学位論文として価値あるものと認めた。