

犬と猫の関節炎の早期発見に寄与する バイオマーカーの開発について

○上田 忠佳^{※1)}、永原 俊治^{※1)}、枝村 一弥^{※2)}

※1) 物産アニマルヘルス株式会社 新規事業部

※2) 日本大学 生物資源学部 獣医学科 獣医外科学研究室

○責任著者

1. はじめに

変形性関節症（Osteoarthritis、以下OA）は、関節軟骨の変性と破壊、関節包付着や関節軟骨下における骨の増生、二次性滑膜炎を伴う進行性かつ非感染性の関節疾患です。

OAは、獣医療技術の発展により動物の高齢化が進

んだ結果、近年増加傾向にある疾患であり、日本大学動物病院の調べによると、10歳齢以上の犬の約45%がOAもしくは変形性脊椎症に罹患していることが明らかになっています（図1）。さらに、12歳齢以上の猫の70%以上にOAか変形性脊椎症が存在していることも判明しています（図1）。

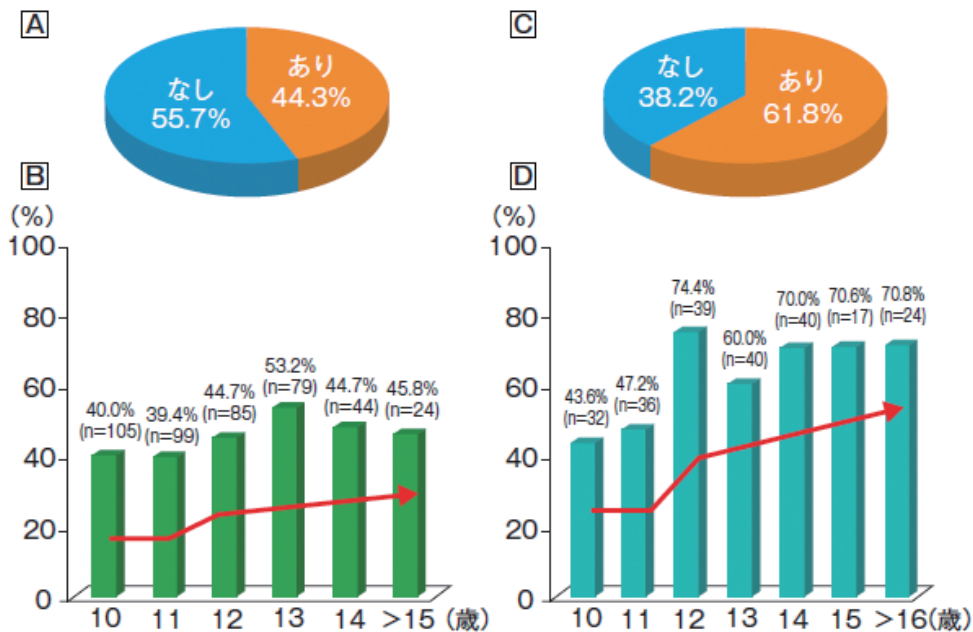


図1 日本の10歳齢以上の犬と猫における変形性関節症もしくは変形性脊椎症の罹患率（日本大学動物病院調べ、2015年 出展：Vet-i:2022,Vol.35 P56）

A：10歳齢以上の犬での罹患率

B：犬における年齢ごとの罹患率の推移

C：10歳齢以上の猫での罹患率

D：猫における年齢ごとの罹患率の推移

その一方で、運動器疾患を主訴で動物病院に来院した割合は「アニコム 家庭動物白書2023」に、犬で11.0%、猫で2.0%との報告があり、多くの犬や猫がOAに罹患しているにもかかわらず動物病院に来院することが少ないのが現状です。このことは、OAに罹患した犬や猫の行動変化に飼い主が気づかず早期発見が困難であることを示しています。特に猫はOAに罹患していても顕著な跛行を認めないことが多いため、早期発見は困難であると考えられています¹⁾。

OAによって生じる関節内の変化は不可学的であり、一度生じると元に戻すことが出来ません。したがって、早期発見による早期からの治療介入が重要であり、その進行を如何に緩やかにし、QOLの改善や維持を図るかが治療の要点となります。しかし、前述のように臨床徴候による早期発見は困難を極めますので、OAの早期発見に寄与する診断法の開発が望まれていました。

このような背景から、当社ではOAの早期診断に寄与するバイオマーカーの探索を開始し、軟骨の主要成分であるII型コラーゲンのコラゲナーゼ分解物であるCII ネオエピトープ（以下、CIINE）に対する2種類のモノクローナル抗体を用いたELISA法を開発し、日本大学 生物資源学部 獣医学科 獣医外科学 枝村 一弥教授との共同研究により、本検査のエビデンスを構築してまいりました。本稿では、その一部をご紹介します。

2. OAの早期発見の意義について

OAの根本的な治療法はまだ確立されていません。しかし、早期にOAの発症を発見することで、運動指導やエクササイズ、体重管理、サプリメントの給与、生活指導や環境の改善、骨関節炎症状改善剤の投与など様々な介入につながり、臨床徴候の発現を予防もしくは遅延させるとともに、薬剤投与により適切に疼痛を管理することができます。その結果、犬の猫の健康寿命延長につながっていくと考えられています（図2）。

現在、犬や猫のOAの診断はX線検査にて行うのが一般的ですが、診断時にはすでに重度に進行していることが多く、より早期にかつ簡便に診断が可能な手法の確立が望まれていました。犬や猫において、OAは他臓器の疾患や免疫介在性関節炎と異なり、血液や尿でスクリーニング検査を行うことはできません。そのため、日常の診療において簡便に診断可能なバイオマーカーがあれば、健康診断や運動器検診の一部として取り入れることができます。

3. OAの早期発見につながるバイオマーカー「CIINE」について

OAは、II型コラーゲン代謝酵素であるマトリックスメタロプロテアーゼ（matrix metalloproteinase：以下MMP）の異常亢進を主に起因する軟骨の変性・破壊を伴う慢性疾患です。CIINEは、MMPの異常亢進により軟骨の主要成分であるII型コラーゲンが断片化されることで生じ、尿中に排泄されます²⁾。



図2 運動機能を維持するための獣医師主導型プログラムの概念図
(出展：Vet-i:2022, Vol.35 P57)

以前から尿中のCIINEは、MMP活性に相関して増減することが知られており、OAの病態評価や治療薬の薬効評価に貢献することが期待され、サンドイッチELISA法の開発が世界中で実施されていました。既に報告されているELISA測定法としては、Otternessらの9A4抗体を使用する方法、PooleらのC2C抗体を使用する方法が報告されていますが、9A4抗体は771番目のプロリンが水酸化されたneoepitope（約80%のType II collagenはこの部位に水酸化を受けている）には結合が低下し検出感度が低いこと、C2C抗体は感度と特異度が低いという課題がありました³⁾。

当社は、CIINEに特異的で検出感度の高い抗体である高橋ら³⁾が作製した20A10を用いたサンドイッチELISA法を開発しました。20A10抗体は771番目のプロリンの水酸化の影響を受けずにネオエピトープと特異的に結合する抗体です。一般にネオエピトープを特異的に認識する抗体は水酸化されるプロリンを含む数アミノ酸を認識部位とするため³⁾、プロリンの水酸化の影響を受けない20A10抗体は「奇跡（幸運）の抗体」と言えます。

当社が開発した新規検査系は、MMPにより分解されて生じたネオエピトープと特異的に結合する20A10抗体と、それよりも内側でType IIコラーゲンを特異的に認識して結合する6G4抗体からなるサンドイッチELISA法により、CIINEを高感度、高精度に検出することが可能となりました。

4. CIINE測定の結果について

2018年4月～2023年8月までの期間で9施設（王禅寺ペットクリニック、上北沢動物病院、竹原獣医科医院、辻堂犬猫病院、東京猫医療センター、日本大学動物病院、野毛坂どうぶつ病院、本牧通り動物病院、横浜山手犬猫医療センター：50音順）の協力を得て実施した結果をご報告します。

各病院の獣医師がOAに罹患していないと認識している犬251頭と猫245頭および獣医師がOAと診断した犬99頭および猫26頭の尿中CIINEを測定し、尿中クレアチニンの測定値で補正した結果を図3に示します。

本結果より、犬OAのカットオフ値（病態識別値）は2.0pM/Cre未満、猫OAのカットオフ値（病態識別値）は0.8pM/Cre未満となりました。

5. CIINE測定の活用法について

運動器に関連した徴候が乏しいまたはまったく認められない場合には、X線検査を中心とした画像診断にまで至ることは少ないと思います。しかし、OAのバイオマーカーとして尿中CIINEの測定を実施し、カットオフ値以上の測定値が認められたら、視診、歩行検査、触診、整形外科的検査、X線検査といった精密検査を飼い主に推奨する根拠として活用できると考えています。その結果、運動器に関連した徴候がない早期の段階で、適切なOAの検査につなげることが期待できます（図4）。

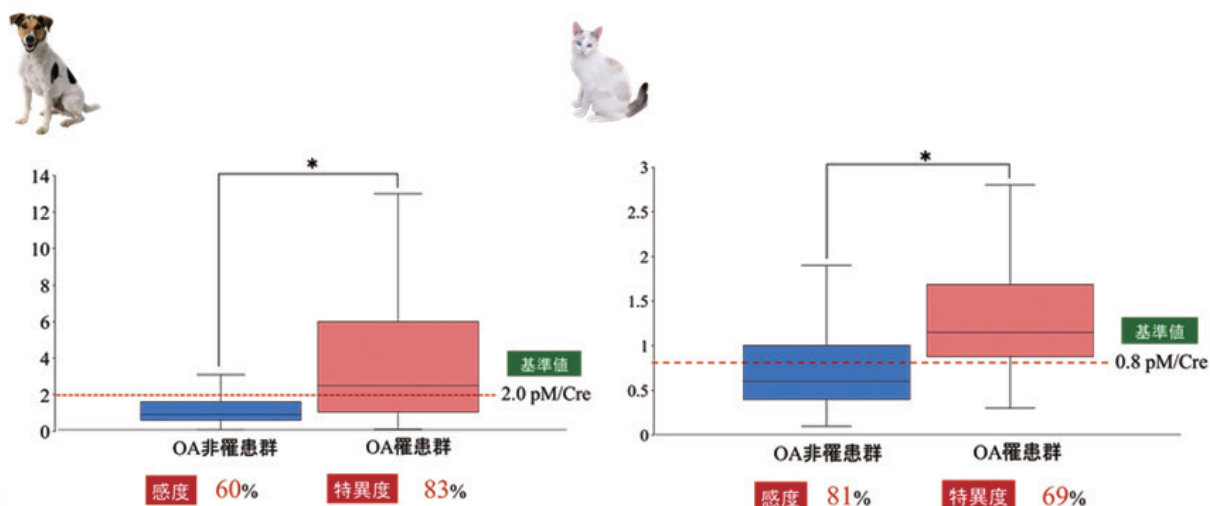


図3 犬および猫の尿中CIINE測定例

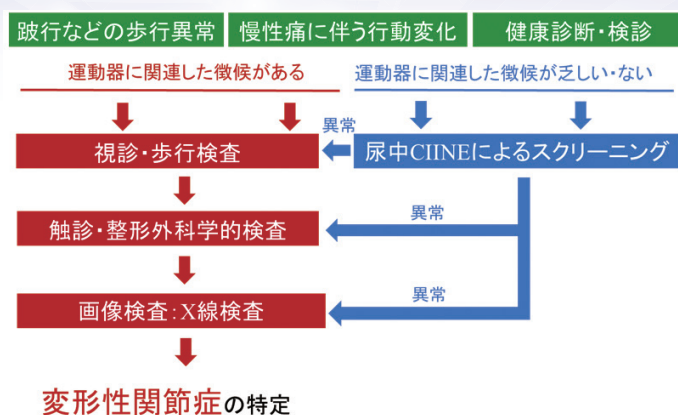


図4 変形性関節症の犬や猫におけるバイオマーカーの活用方法（出展：Vet-i:2022,Vol.35 P58）

6. 検査の概要について

1. 検体：尿 0.5mL（一般的な尿検査を併用の場合は残渣にて検査可能）
2. 保存：4℃（一時的な室温保管・輸送可能）で採尿後7日以内に測定、なお、長期保管は-20℃以下
3. 検査方法：サンドイッチELISA法（尿中クレアチニン値で補正します）
4. 正常基準範囲 犬：2.0pM/Cre未満
猫：0.8pM/Cre未満
5. 交差反応：I型コラーゲン、IV型コラーゲンと交差しない
6. 他疾患との影響：腎疾患、心疾患の影響を受けない

注1) 本検査は研究測定となります。本検査の結果のみでOAの診断は出来ませんので、その他の検査（関節鏡、X線など）の結果と総合的にご判断ください。

注2) 本検査は関節軟骨の主要成分であるII型コラーゲンのMMP分解産物を測定しています。そのため、1歳未満の成長期では軟骨のリモデリングが活発であるため高値になる傾向にあります。また、臨床徴候の明らかな重度のOA罹患獣ではII型コラーゲンがすでに少なくなっているため低値になる傾向にあります。

7. 検査の委託について

本検査については、(株)エム・エル・ティー様、(株)ランス様、富士フィルムVETシステムズ(株)様での研究測定を実施しております。検査の委託につきましては各社にお問い合わせください。

株式会社エム・エル・ティー

〒563-0011 大阪府池田市伏尾町103番地
TEL:072-753-0335 FAX:072-754-2208
<https://www.m-lt.co.jp/>



〒224-0032 神奈川県横浜市都筑区茅ヶ崎中央24-4
第6セキビル2F
TEL:045-944-4442 FAX:045-944-4443
<http://www.lans-inc.co.jp/>

FUJIFILM

富士フィルム VETシステムズ株式会社

【検査の出検前にお問い合わせください】

営業推進本部

受託検査推進グループ

TEL:0422-26-7129

(受付時間：平日9:30-18:00)

参考文献

- 1) 山崎敦：「犬または猫の変形性関節症における新規診断法の開発」
日本大学 大学院 獣医学科獣医学研究科 博士課程（2020）
- 2) 北海道大学 薬学部 薬学研究科 池原 達也
2009 学位論文
- 3) 高橋達也ほか Clinica Chimica Acta 413（2012）
1591-1599