

犬における Two-dimensional speckle-tracking
echocardiography 法による
心筋運動評価の有用性に関する研究

(Myocardial function assessed by two-dimensional
speckle-tracking echocardiography in dogs)

鈴木 亮平

日本獣医生命科学大学大学院獣医生命科学研究科
(指導教授：小山 秀一)

平成 26 年 3 月

目次

第 1 章	序論	1-6
第 2 章	心拍数の Two-dimensional speckle-tracking echocardiography 法による心筋運動変数に対する影響	
1.	緒言	8-9
2.	方法	10-14
3.	結果	15-16
4.	考察	17-19
5.	小括	20
6.	図表	21-40
第 3 章	年齢の Two-dimensional speckle-tracking echocardiography 法による心筋運動変数に対する影響	
1.	緒言	42
2.	方法	43-46
3.	結果	47-48
4.	考察	49-52
5.	小括	53
6.	図表	54-59
第 4 章	臨床例の僧帽弁閉鎖不全症に罹患した犬における Two-dimensional speckle-tracking echocardiography 法に よる長軸、短軸円周および壁厚方向心筋運動評価	

1.	緒言	61-62
2.	方法	62-66
63.	結果	67-68
4.	考察	69-72
5.	小括	73
6.	図表	74-80

第 5 章 臨床例の僧帽弁閉鎖不全症に罹患した犬における
Two-dimensional speckle-tracking echocardiography 法による捻れ方向心筋運動評価

1.	緒言	82
2.	方法	83-85
3.	結果	86-87
4.	考察	88-91
5.	小括	92
6.	図表	93-98

第 6 章 慢性僧帽弁逆流モデル犬における Two-dimensional speckle-tracking echocardiography 法で評価したドブタミン負荷試験による収縮機能不全の検出

1.	緒言	100-101
2.	方法	102-107
3.	結果	108-109
4.	考察	110-113

5.	小括	114
6.	図表	115-121
第7章	総括	123-127
	謝辞	128
	参考文献	130-153
	Summary of Doctor Thesis	155-161

第 1 章 序論

犬における心臓病と心エコー図検査

犬において、心臓病は一般的な疾患であり古くから研究されているが[1]、依然死因の上位を占める重要な疾患である[2-4]。心臓病の病態評価において、心エコー図検査は今や必須の検査ツールと言え、診断のみならず、重症度評価や予後評価にも応用されている[5]。Two-dimensional speckle-tracking echocardiography (2D-STE) 法は近年新たに登場した心エコー図検査による心機能評価方法であり、従来の心エコー図検査が心形態や血行動態評価をメインとしていたのに対し、血流を生み出す心筋運動の定量評価を行う方法である。主にヒト医学において心臓病患者における病態の層別化[6]、不整脈リスク[7]や予後評価[8-13]、さらには dyssynchrony といった新しい病態の解明[14,15]にも応用され始めている。しかし、犬において 2D-STE 法の有用性を評価した報告は数少ない。

心エコー図検査による心筋運動評価

従来、心筋運動の評価には組織ドプラ法が用いられ、獣医学においてもその有用性が報告されてきた[16]。しかし、組織ドプラ法による心筋運動評価はその原理がドプラ法に基づいているため、心臓の移動、牽引や角度依存性といった制限が問題となり、その正確性や有用性が疑問視されている[17,18]。

一方、2D-STE 法の原理は、スペックルと呼ばれる心筋微細組織に依存した超音波反射波のパターンマッチング法による追跡であり、組織ドプラ法での心筋運動評価で問題となったような心臓の移動、牽引や角度依存性といった制限は受けない利点を持つ[19]。また 2D-STE 法では心筋運動を長軸、短軸円周および壁厚方向の 3 方向に分け、各々評価が可能である。僧帽弁逆流 (MR) を有するヒト患者に対する 2D-STE 法による病態評価の報告では、

これら心筋運動方向別に代償運動が異なることが示唆され[20,21]、犬においても病態進行に伴う運動方向別の代償的心筋機能をとらえることができる可能性がある。またさらに近年では、2D-STE 法によって心筋線維本来の収縮方向である捻れ方向の心筋運動も評価が可能となった[22,23]。そして、これら 2D-STE 法で評価した心筋運動は、詳細に心筋機能を反映するパラメーターとして検証され[24-26]、犬においても観血的な心機能評価方法と比べて心機能評価に十分な精度をもつとされている[27]。しかしながら、犬において 2D-STE 法で評価した心筋運動に対して、心拍数および年齢といった基本的背景が与える影響は検討されていない。

僧帽弁閉鎖不全症

粘液腫様変性性僧帽弁閉鎖不全症（MMVD）は犬における最も一般的な心不全の原因であり、臨床的に重要な疾患である[28]。その発生頻度は犬の心臓病の75-80%以上を占めるとも言われている[28,29]。またMMVDの発生頻度は年齢と密接に関係し[30,31]、小型犬に多い傾向があると報告されている[31,32]。さらにキャバリア・キングチャールズ・スパニエルといった特定の犬種では病態進行に特徴があり[33,34]、多因子遺伝形質をとることも証明されている[35]。今後犬の寿命延長や本邦における小型犬人気に伴い、MMVDはさらに発生が増加していくと考えられる。

MMVD の病態進行においてその慢性期では、MR による容量負荷を心拡大[36]、交感神経系やレニン-アンジオテンシン-アルドステロン系を主とする神経内分泌系の活性化[37]などにより代償し長期的に心機能は維持され、一般的に無症状で病態は緩徐に進行する[38]。一部の症例では急速に症状を発現したり突然死することもあるが[38]、それら症例の早期における層別化は現状困難とされている[39]。

一方、代償の限界を超えうっ血性心不全の兆候が出始めると、その病態は急速な進行性で、死に至る症例も多い[38,40]。うっ血性心不全の発症前には急速な心拡大の進行[41,42] や心機能の悪化[43]が見られると報告されているが、MMVD の病態における代償不全発展への詳細な機序の検討は十分とは言えない[44]。

MR を外科的に誘導したモデル犬ではその病態進行に伴い個々の心筋細胞で評価した心筋収縮機能が低下していることが報告されている[45,46]。また MMVD の犬における予後因子として収縮機能不全が報告されている[38,47]。これら報告から MMVD の病態において、収縮機能不全は代償不全への発展に大きく貢献することが想定されるが、MMVD の犬における収縮機能評価は MR による慢性容量負荷や神経体液因子の活性化により困難である[48]。また MMVD は主に弁膜疾患と考えられ、心筋機能障害はこれまで顕著な特徴とされていないが[16,49]、近年 MMVD に起因したうっ血心不全を伴う犬において線維化および動脈狭小化を含む心筋の変性が病理学的に認められている[50,51]。よって MMVD を患った犬において病態の背景に収縮機能不全につながり得る心筋病変を持つ可能性が示唆されるが、疾患の早期においてすでに存在する心筋機能障害は、先に述べたような MMVD における様々な負荷状態によって隠されるかもしれない。しかしながら心筋自体の機能評価が可能である 2D-STE 法はこのような早期における心筋機能障害の検出に有用である可能性があり、ヒト医学では左室駆出率の正常な心不全患者において 2D-STE 法による潜在的な心筋収縮機能障害が実証されている[52]。

また犬における MMVD の治療は主に内科的に行われるが[53,54]、ヒト医学では外科的治療が一般的である[55]。ヒト MR 患者に対する外科的治療では、術前の左室駆出率で判定した良好な心収縮機能にも関わらず、術後の心

機能低下が問題となり[56,57]、これは MR の病態における潜在的な収縮機能障害の影響と考えられ、外科的治療介入へのより厳密な適応判定が求められている[58]。近年、このような術後の心機能低下の予測に 2D-STE 法による心筋運動評価が有用と報告されている[59-61]。2D-STE 法における心筋運動の詳細な評価は MMVD の犬において、外科的治療が一般的になった際により重要となると考えられる。また犬の MMVD はヒトの MR モデルとしても有用であり[62,63]、2D-STE 法による心筋機能評価はヒト医学への応用も期待できる可能性がある。

以上のように、2D-STE 法による心筋運動評価はヒト医学において様々な有用性が報告されている。しかし、犬における報告は数少なく、健常犬における変動性や疾患時の有用性に関する検討はほとんどなされていない。そこで本研究では、犬において 2D-STE 法の有用性を確立することを目的とした。具体的には、2D-STE 法の変数に影響を与えうる因子として心拍数および年齢の与える影響について正常な心機能を持つ犬を対象に検討した。また重症度の異なる臨床例の MMVD 犬に対する心筋運動の相違を検討し、その病態評価に対する有用性を検討した。最後に、MMVD 犬における収縮機能評価への応用を目標に MR モデル犬を作製し、2D-STE 法をドブタミン負試験に応用し、心筋機能障害の早期検出を試みた。

以上の目的を達成するため、本論文では以下の構成で研究を進めた。

第 2 章

正常な心機能を持つ麻酔下の犬に対して、右心房ペーシングにより心拍数を変化させ、心拍数変化による 2D-STE 法での心筋運動変数に与える影響

を評価した。

第 3 章

正常な心機能を持つ覚醒下の若齢および高齢犬における相違を検討し、年齢の違いが 2D-STE 法での心筋運動変数に与える影響を評価した。

第 4 章

僧帽弁閉鎖不全症に罹患した臨床例の犬において 2D-STE 法による長軸、短軸円周および壁厚方向心筋運動の重症度に応じた相違を検討し、臨床的な病態評価に有用であるか検討した。

第 5 章

僧帽弁閉鎖不全症に罹患した臨床例の犬において 2D-STE 法による捻れ方向心筋運動の重症度に応じた相違を検討し、臨床的な病態評価に有用であるか検討した。

第 6 章

慢性僧帽弁逆流モデル犬において、病態進行における収縮機能不全の検出に 2D-STE 法で評価したドブタミン負荷試験の有効性を観血的心機能評価方法と比較検討した。

第 2 章 心拍数の Two-dimensional speckle-tracking echocardiography 法による心筋運動変数に対する影響

1. 緒言

心エコー図検査は今や獣医学領域における心疾患の病態評価には欠かせないツールである[5]。中でも、近年新たに登場した **Two-dimensional speckle-tracking echocardiography (2D-STE)**法は医学領域における心筋機能の評価に応用され、第 1 章でも述べたように様々な有用性が報告されている[6-15,19-23,26,52,59-61]。また獣医学領域においても健常犬[27,64-71]、および心疾患犬[72-78]における心機能評価に応用され、その有用性が報告され始めている。この方法では、ストレインやストレインレートおよび“ねじれ”といった心筋運動変数を評価可能であり、従来の心エコー図検査変数よりも潜在的な心筋機能異常の検出に感度の良い方法と言われている[52,79,80]。

心筋機能の評価には従来から組織ドプラ法が用いられてきた[16]。しかし、組織ドプラ法では心臓の移動、周囲心筋による牽引やドプラ法の角度依存性が問題となっていた[17,18]。一方 2D-STE 法はグレースケールの B モード画像における心筋に独特なスペックルパターンを追跡する方法であり、それ故に心臓移動や牽引、角度の制限を受けない[19]。さらに 2D-STE 法では心筋運動を 3 方向（長軸、短軸円周および壁厚方向）と心筋線維本来の収縮方向である捻れ方向に分けて評価が可能である[71,75,76]。しかしながら、同一個体における 2D-STE 法による複数方向心筋機能評価は、健常な麻酔下の犬でさえ報告がない。

心拍数（HR）は心機能の重要な修飾因子であり、心エコー図検査変数に影響を与えることが知られている[81,82]。それ故に、心エコー図検査によって心機能評価を行う際には常に考慮すべきものであり、心不全患者ではその高い HR の影響のためになおさらである[83]。しかしながら、心拍数の 2D-STE 法で評価した心筋運動変数へ与える影響についてはこれまで報告

がない。

以上より、本研究では、健常な麻酔下の犬において、心拍数が **2D-STE** 法で評価した心筋運動変数へ与える影響について評価することを目的とした。私は健常な麻酔下の犬において、**HR** の上昇が左室の収縮および拡張機能を増強させ、**2D-STE** 法はこれら変化を複数方向で定量化するのに有意義であろうと仮説した。

2. 方法

供試動物

13頭の健常ビーグル犬（体重 10.6 ± 2.0 kg、月齢 12.0 ± 0.5 ヲ月）を用いた。全ての犬は心疾患の既往がないこと、および身体検査、完全血球検査（総白血球数、白血球分画、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球ヘモグロビン濃度、血小板数）、血液生化学検査（血清総タンパク濃度、血清アルブミン濃度、血清尿素窒素濃度、血清クレアチニン濃度、血清アラニンアミノトランスフェラーゼ濃度、血清アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ濃度、血清アルカリフォスファターゼ濃度、血清グルコース濃度、血清総コレステロール濃度、血清トリグリセリド濃度、血清ナトリウム濃度、血清カリウム濃度、血清クロール濃度）、標準肢誘導心電図検査、胸部レントゲン検査、オシロメトリック法による非観血的血圧検査、経胸壁心エコー図検査によって異常が認められないことを確認した。本研究の実験手順および動物の管理取扱いについては、日本獣医生命科学大学動物実験ガイドラインに従い、動物実験委員会および動物実験に係わる生命倫理審査委員会の承認を得た（11-63）。

麻酔手順

全ての犬はチオペンタールナトリウム 25mg/kg の静脈内投与により麻酔導入を行い、100%酸素およびイソフルレン 1-1.5%の吸入麻酔により維持した。1回換気量 $15\text{-}20\text{mL/kg}$ 、1分間当たり 10-15回の頻度で用手呼吸を行った。

ペーシングプロトコール

麻酔後に各犬は左横臥位に準備した。右頸部領域を毛刈りし、定法に従い

消毒後、ドレーピングを行った。右頸静脈を露出するために、約 5cm のカットダウンを行った。ペーシング用カテーテル (5F electrophysiology catheter, St. Jude Medical, MN, USA.) を右頸静脈に挿入、エコーガイドもしくはレントゲン透視下にて右房腔内まで誘導し、外部ペースメーカー (Model SEP-101; Star Medical Inc., Tokyo, Japan.) により右房ペーシングを行うために固定した。安定した右房ペーシングのデータを得られるように、カテーテルの位置は適宜調節した。全ての犬は 120、140、160、180 回/分(bpm)の頻度で各々連続 5 分間ペーシングした後に、同様な手順で検査を行った。各ペーシング頻度において、心エコー図検査データおよびそれと同期した心電図データを記録し、保存した。各ペーシング頻度の間には、血行動態の安定化のために少なくとも 5 分以上の間隔を設けた。

標準的な心エコー図検査

従来からの 2D、M-モード法およびドプラ法による検査を各ペーシング頻度において行った。検査は一人の検者が行い、同一の心エコー装置 (Vivid7, GE Healthcare, Tokyo, Japan.) および 3.5-6.9MHz トランスデューサーを用いて行った。全てのデータは安定した右房ペーシングの状態、呼気時に少なくとも連続 5 心拍以上得た。カットダウンした領域は無菌的に保護し、十分に注意した状態で右横臥位および左横臥位の心エコー図検査を繰り返して行った。

2D、M モード法およびドプラ法による心エコー図検査データは一人の計測者によって Echo-PAC ワークステーション (GE Healthcare, Tokyo, Japan) を用いて解析した。右傍胸骨短軸像大動脈弁レベルを用いて、B モード法による左房大動脈径比を計測した [84]。右傍胸骨短軸像乳頭筋もしくは腱索レベルを用いて、左室の M モード計測を leading edge-to-leading

edge 法を用いて行い[85]、拡張末期左室内径、収縮末期左室内径および左室短縮率を計測した。左側心尖部四腔像より経僧帽弁血流を記録し、拡張早期血流 (E 波) 血流速のピーク値、E 波減速時間および拡張後期血流 (A 波) 血流速のピーク値を計測した[86,87]。パルス組織ドプラ法を用いた僧帽弁弁輪部運動速度は左側心尖部四腔像の中隔側弁輪部から記録し、拡張早期僧帽弁弁輪部運動速度 (Em) を計測した[87,88]。左側心尖部五腔像からパルスドプラ法により大動脈血流シグナルを記録し、大動脈血流速ピーク値および大動脈駆出時間を計測した。一回拍出量を大動脈血流シグナルの時間速度積分値と大動脈弁部断面積より推定した[89]。大動脈弁部断面積は右傍胸骨長軸像における大動脈弁領域の拡大像より得た大動脈弁輪内径の 1/2 を半径 r とし、 $\pi \times r^2$ として算出した[89]。各変数の統計解析には連続 3 心拍の平均値を用いた。

2D-STE 法による心エコー図検査

標準的な心エコー図検査と並行して、2D-STE 法のための高画質な B モード像を、同一の検者および心エコー装置を用いて記録した。全ての画像は 1 秒あたり 70-156 のフレームレートで取得した。長軸方向心筋運動の評価のためには、左側心尖部四腔像 (Figure 1.) を用いた[68,71,75]。短軸円周および壁厚方向心筋運動には、右傍胸骨短軸像乳頭筋もしくは腱索レベル (Figure 2.) を用いた[68,71,75]。また捻れ運動評価のために、右傍胸骨短軸像僧帽弁レベル (Figure 3.) および心尖部レベル (Figure 4.) を用いた[68,71,76,152]。僧帽弁レベルは心周期を通して左室が円形に描出され僧帽弁が見える断面とし、心尖部レベルは乳頭筋レベルよりも下部で円形な左室腔が最小に描出される断面として、十分に注意して取得した。全てのデータは安定した右房ペーシングの状態、少なくとも連続 5 心拍以上得た。

全ての 2D-STE 法データは一人の計測者が Echo-PAC ワークステーション(GE Healthcare, Tokyo, Japan)を用い、我々の施設で以前報告した方法に従って、解析した[68,71,75,76,152]。高画質な B モード像の中から 1 つの心周期 (QRS 群の開始点から次の QRS 群開始点) を選択し、適切な関心領域の設定のために、拡張末期における心内膜心筋の境界を手動でトレースした。関心領域を全心筋壁厚に調節し、訓練した計測者が心周期を通じて心筋運動を追従しているかどうか視覚的に検証した。その後ソフトウェアが自動的に心筋領域を追跡、左室を 6 つのセグメントに振り分け、心筋運動を追従できているかどうか評価した。関心領域が心筋運動を追従できていないとソフトウェアによって評価された場合には、必要に応じて、心内膜心筋の境界を再び手動でトレースし修正した。複数回の修正にもかかわらず、ソフトウェアによる評価が“不可”の場合には、“不可”のセグメントは統計解析に含まなかった。我々は 6 つのうち 4 セグメント以上心筋運動の追従ができた心拍について、それら全セグメントの平均値をその周期における心筋運動変数とした。ソフトウェアによって十分な追従性が確認された各セグメントは、1 心周期にわたる心筋運動プロファイルとして表示される (Figure 5-9)。長軸、短軸円周および壁厚方向について、同期した心電図から収縮期、拡張早期および拡張後期を判定し、各々におけるストレインおよびストレインレートのピーク値を外部ワークシート (Microsoft Office Excel 2010, Microsoft Corp., Redmond, Wash) 上で計測した (Figure 10-12)。捻れ運動について、僧帽弁レベルおよび心尖部レベルにおける 1 心周期の回転運動プロファイルをワークシートに展開、同期した心電図から収縮期、拡張早期および拡張後期を判定し、各々における回転運動および回転速度のピーク値を計測した (Figure 13,14)。さらに、僧帽弁レベルと心尖部レベルにおけるフレーム値を差し引きし、1 心周期の捻れ運動プロファイルを展開、

同期した心電図から収縮期、拡張早期および拡張後期を判定し、各々における捻れ運動および捻れ速度のピーク値を計測した (Figure 15)。心尖部から見て反時計方向への回転および捻れ運動を正として表記した。フレーム数に差がある場合は適切にフレーム数を合わせ、捻れ運動プロファイルを作成した。各変数の統計解析には連続 3 心拍の平均値を用いた。

統計解析

データは平均±標準偏差で表記した。全ての統計解析には市販の統計解析ソフト (SPSS for Windows; SPSS, Tokyo, Japan) を用いた。Kolmogorov-Smirnov test を正規性の評価に用いた。4 つの異なるペースング頻度における変数の比較には、1 元配置分散分析を用い、その後に Tukey's honestly significant difference test により多重比較を行った。有意水準は Bonferroni 補正を行い、 $P \leq 0.008$ を有意とした。2D-STE 法の計測者内変動として、120bpm のペースング頻度の 5 頭における、異なる日での繰り返しの計測を用いた変動係数により評価した。変動係数は標準偏差を平均値で除することで算出した。

3. 結果

標準的な心エコー図検査

120bpm のペーシングデータにおいて、2頭の犬はペーシングと自己心拍が競合し、安定した右房ペーシングが行えなかったため、統計解析から除外した。2D、Mモード法およびドプラ法における結果は Table 1 および Table 2 に示した。E波速度は 180bpm において 120bpm に比べて有意に増加した ($P = 0.008$)。Em速度は 180bpm において 120bpm および 140bpm に比べて有意に増加した ($P = 0.001$ および $P = 0.006$)。E波減速時間は 160bpm および 180bpm において 120bpm および 140bpm に比べて有意に短縮した (160 bpm: $P < 0.001$ および $P = 0.002$; 180 bpm: $P < 0.001$ および $P = 0.002$)。左室駆出時間は 180bpm において 120bpm および 140bpm に比べて有意に短縮した ($P < 0.001$ および $P < 0.001$)。一方、左房径、拡張期および収縮期左室内径、一回拍出量には有意な変化は認められなかった。

2D-STE法

長軸および短軸像の全てのセグメントにおける 2D-STE 法変数が統計解析に含まれた。2D-STE 法変数の計測者内の変動係数 (最小値-最大値) は長軸方向 0.1-17.1%、短軸円周方向 0.2-10.1%、短軸壁厚方向 0.2-13.5% および捻れ方向 0.7-16.6% であった。2D-STE 法によるストレインおよびストレインレートの結果は Table 3 に示した。収縮期および拡張期共に全てのストレインとストレインレートは 120-180bpm のペーシング頻度において、有意な変化を示さなかった。2D-STE 法による捻れ方向変数の結果は Table 4 に示した。拡張早期捻れ速度が 180bpm において 120bpm に比べて有意に増加した ($P = 0.003$)。個々の犬における拡張早期捻れ速度の心拍数変化に対する散布図は Figure 16 に示した。他の収縮期および拡張期捻れ方向変

数には有意な変化は認められなかった。

4. 考察

麻酔下の健常ビーグル犬における 120-180bpm の心拍数変化に対して、2D-STE 法による複数方向の心筋運動は十分な再現性をもって評価可能であった。収縮期および拡張期における全てのストレインとストレインレートは心拍数増加に対して有意な変化は示さなかった。一方、拡張早期捻れ速度は 180bpm において有意に増加した。

本研究において、長軸、短軸円周および壁厚方向におけるストレインとストレインレートの変数は心拍数増加に対して有意な変化を示さなかった。この理由は明確にはわかっていないが、おそらくこれら方向におけるストレインやストレインレートの差が検出できるほど有意な変化が現れなかったためと考えられた。そして、これら所見は組織ドプラ法によるストレインおよびストレインレートに対する心拍数の影響を評価した過去の論文と一致した[90]。

対照的に、180bpm における拡張早期捻れ速度は心拍数増加に伴い上昇した。左室捻れ運動は心筋線維本来の収縮方向であり、心内膜側心筋と心外膜側心筋機能のバランスを反映するとされている[91]。高い心拍数における捻れ運動の増強は、駆出および充満時間の短縮による心内膜側心筋の心筋機能低下または心外膜側心筋機能の増加、もしくはその両方の可能性が考えられた。収縮時間に比べて、拡張時間は心拍数増加の影響をより大きく受け、心内膜側心筋への冠動脈供給は主に拡張期に起こるため[92]、心内膜側心筋機能は心外膜側よりもより心拍数増加の影響を受けやすいことが予想される。さらに、心内膜側心筋と心外膜側心筋は協調して駆出期における心筋壁内ストレスとストレイン勾配を均一にしているため[93]、心内膜側心筋機能の低下は心外膜側心筋機能の増加により代償される可能性も考えられる。故に、心内膜側心筋機能の低下および心外膜側心筋機能の代償的増加の相乗によ

って 180bpm で見られた拡張早期捻れ速度の増加が説明できるかもしれない。

収縮期に捻れた左室に蓄えられたエネルギーは拡張早期に急速に放出され、等容性弛緩期における迅速なほどけを生み出す[91]。本研究でも有意な変化ではなかったが、収縮期捻れ運動および捻れ速度は、心拍数増加に伴い上昇傾向であり、頻数変力作用による収縮期エネルギーの増加が拡張早期におけるほどけの亢進につながった可能性が考えられた。

左室の等容性収縮時間および拡張時間もまた心拍数増加につれ短縮する。さらに拡張期、つまり等容性弛緩時間は収縮期に比べて心拍数増加の影響をより大きく受ける。そして、等容性の収縮および拡張運動は心筋壁各層の運動に特徴づけられたダイナミックな過程であるとされ[94]、心筋壁各層に依存した左室内の心内膜側心筋と心外膜側心筋らせん構造の活動的な相互作用が捻れ運動を生み出すと言われている[95]。この時相における詳細な心筋運動は従来の心エコー図検査では評価することが不可能であった。本研究では、拡張早期捻れ速度における 180bpm での上昇をとらえることができた。この拡張早期捻れ速度が等容性弛緩期における拡張機能を表すよい指標だとする過去の研究における所見[96-98]や、2D-STE 法で評価した心筋捻れ運動が心筋線維本来の収縮方向に起因した運動である[99,100]ことを考えると、拡張早期捻れ速度は心筋弛緩能の増強を反映し、とくに等容性弛緩期における、拡張機能の非侵襲的な評価となる可能性が考えられた。

左室捻れ運動は心筋内における酸素需要勾配を均一化し、故に酸素消費量の最小化および心筋のエネルギー動態や効率の適正化に係わるメカニズムでもある[101-103]。心拍数増加に伴う拡張早期捻れ速度の上昇は心筋壁内代謝勾配の改善を反映している可能性があり、それによって駆出および充填時間が減少したにも関わらず一回拍出量が維持できているのかもしれない。

本研究にはいくつかの制限が挙げられる。少数例の検討であり、今回の所見をより大きな集団に適応するには限界があるかもしれない。また、研究デザインのために、麻酔の影響を取り除くことができなかった。故に、今回の所見を覚醒下の犬にそのまま適応すべきではないと考えられた。また、捻れ運動の算出には同一心拍ではない僧帽弁レベルと心尖部レベルの短軸断面を用い、このことは今回の所見に影響を与えているかもしれない。さらに、心筋回転運動はトランスデューサーの角度による制限が報告されており[104]、左室心尖部レベル像は技術的に描出が困難な症例も存在する。将来的には、3次元スペックルトラッキング心エコー図検査によってこれらの制限は改善されるものと思われる。今回は正常な心機能を有する犬のみを対象にしたが、心拍数変化に対する影響は心疾患動物では異なる可能性もあり、注意が必要である。更なる有用性を確立するためには、圧-容積曲線のような詳細な心機能評価との比較検討が望まれる。

5. 小括

麻酔下の健常な犬において、120-180bpm の心拍数変化に対し、2D-STE 法による複数方向の心筋運動は十分な再現性をもって評価可能であった。拡張早期捻れ速度のみが 180bpm で上昇し、心拍数増加に伴う拡張性増強を反映している可能性が考えられた。そして、高い心拍数で増強した捻れ運動は、短縮した駆出および充満時間に対抗して一回拍出量を維持するのに役立つ可能性が考えられた。2D-STE 法による詳細な心筋運動評価は犬においても十分に心筋機能の非侵襲的な評価を可能にすると考えられた。

なお、この第 2 章における主な内容は *Journal of veterinary cardiology : the official journal of the European Society of Veterinary Cardiology*, 2013 にて公表した [68]。

6. 図表

Figure 1. Example of left apical 4-chamber view for longitudinal deformations assessed by two-dimensional speckle-tracking echocardiography in a healthy dog. Six segments were designated as basal septum (yellow), mid septum (light blue), apical septum (green), apical lateral (purple), midlateral (dark blue), and basal lateral (red) for speckle-tracking analysis. The computer software evaluation for each segmental tracking is displayed on the screen.

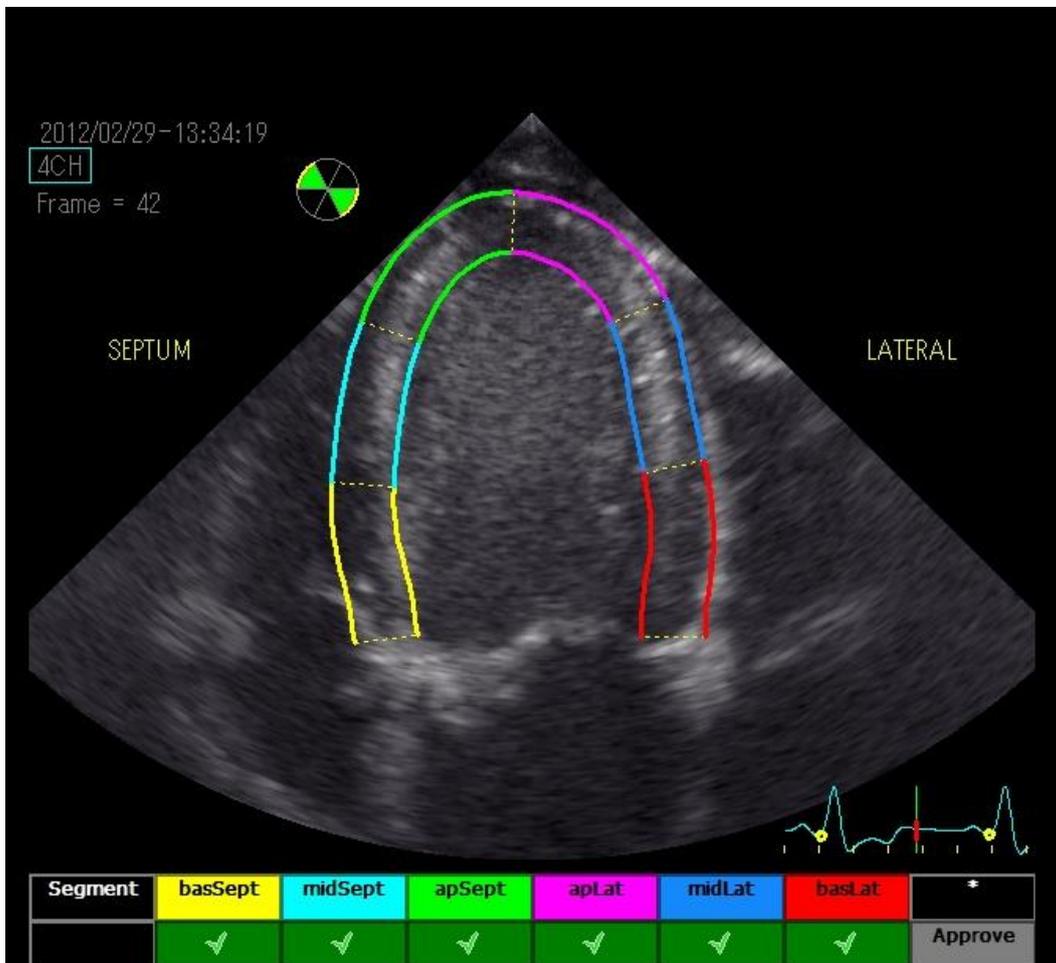


Figure 2. Example of right parasternal short-axis view of the left ventricle at the papillary muscle level for circumferential and radial deformations assessed by two-dimensional speckle-tracking echocardiography in a healthy dog. Six segments were designated as anterior septum (yellow), anterior (light blue), lateral (green), posterior (purple), inferior (dark blue), and septal (red) for speckle-tracking analysis. The computer software evaluation for each segmental tracking is displayed on the screen.

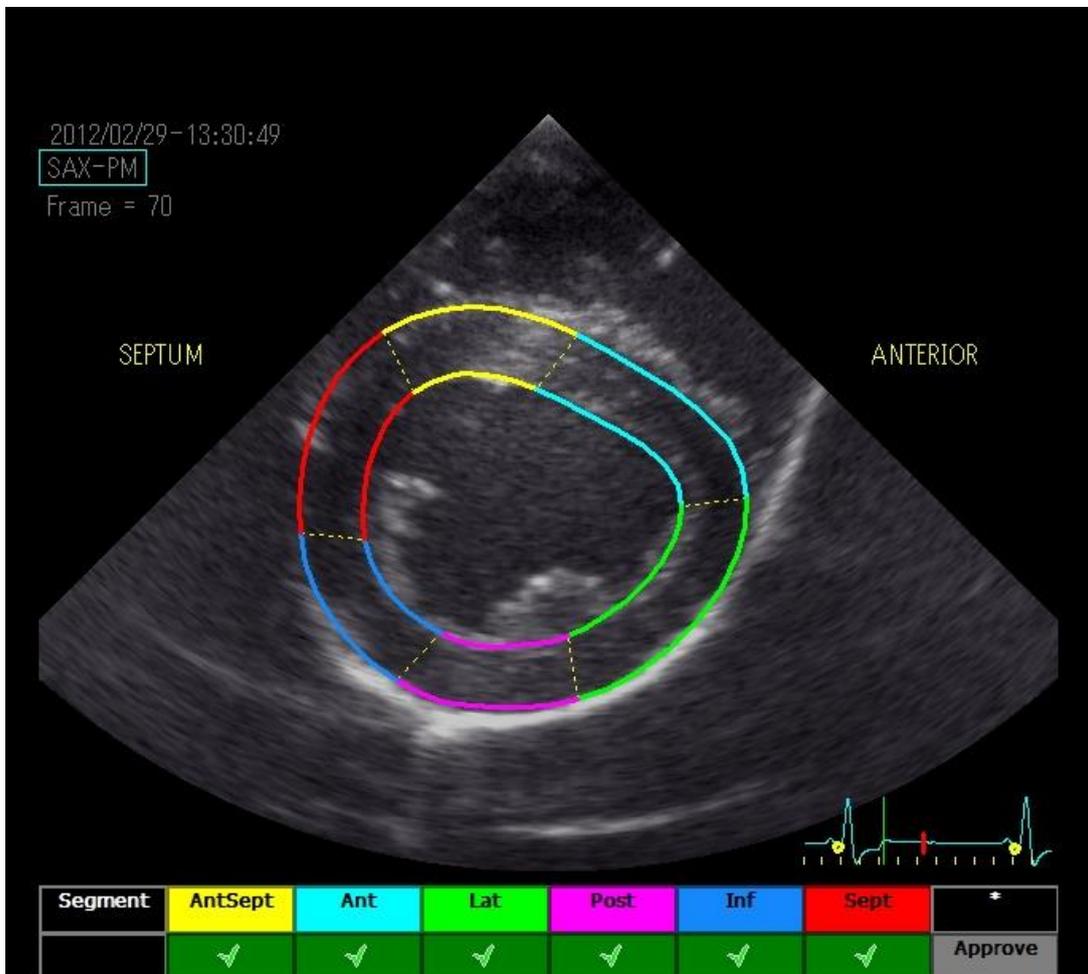


Figure 3. Example of right parasternal short-axis view of the left ventricle at the basal level for two-dimensional speckle-tracking echocardiography in a healthy dog. The proper basal level was defined as the view showing the mitral valve leaflet. LV short-axis view was obtained as circular as possible. Six segments were designated as anterior septum (yellow), anterior (light blue), lateral (green), posterior (purple), inferior (dark blue), and septal (red) for speckle-tracking analysis. The computer software evaluation for each segmental tracking is displayed on the screen.

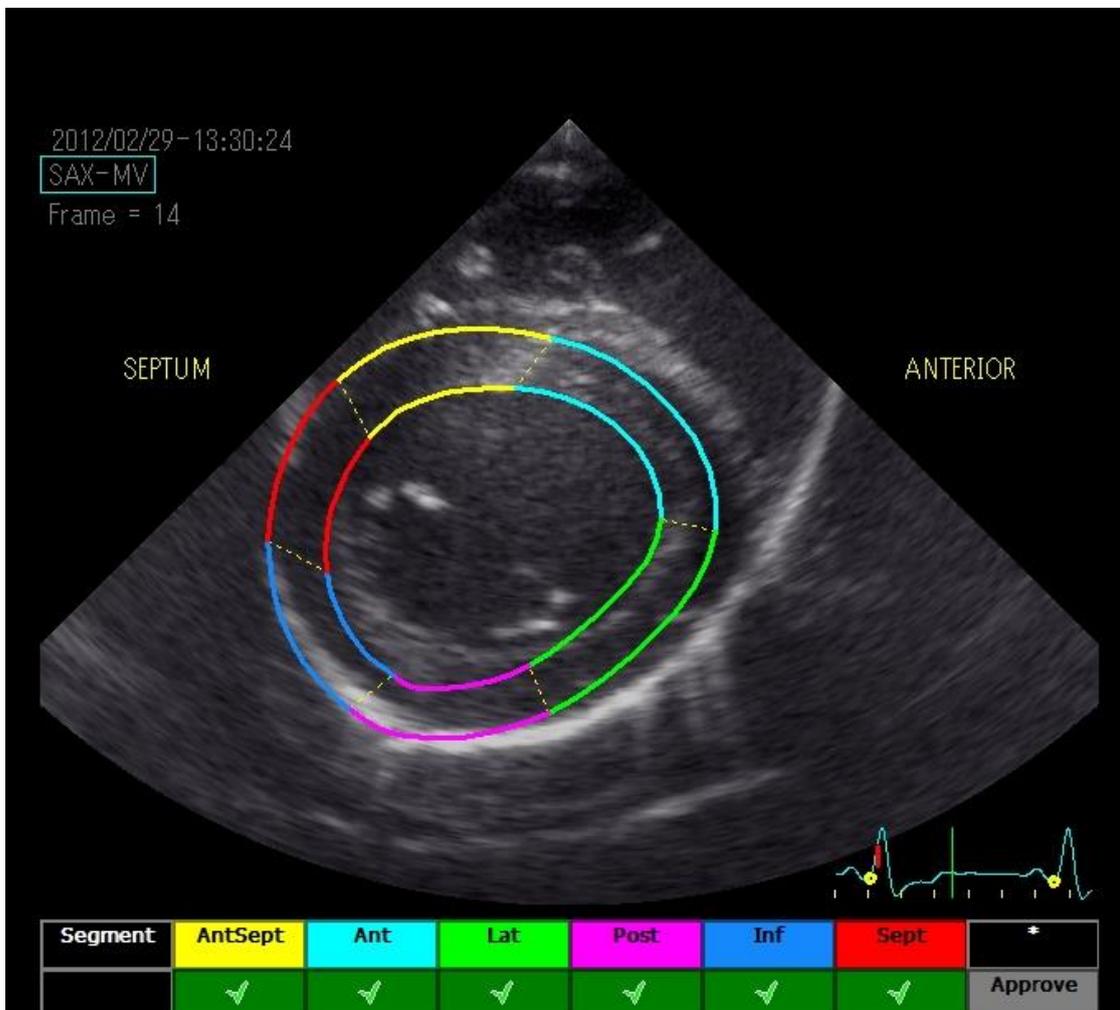


Figure 4. Example of right parasternal short-axis view of the left ventricle at the apical level for two-dimensional speckle-tracking echocardiography in a healthy dog. The proper apical level was defined as the view of LV cavity alone with no papillary muscles visible. LV short-axis view was obtained as circular as possible. Six segments were designated as anterior septum (yellow), anterior (light blue), lateral (green), posterior (purple), inferior (dark blue), and septal (red) for speckle-tracking analysis. The computer software evaluation for each segmental tracking is displayed on the screen.

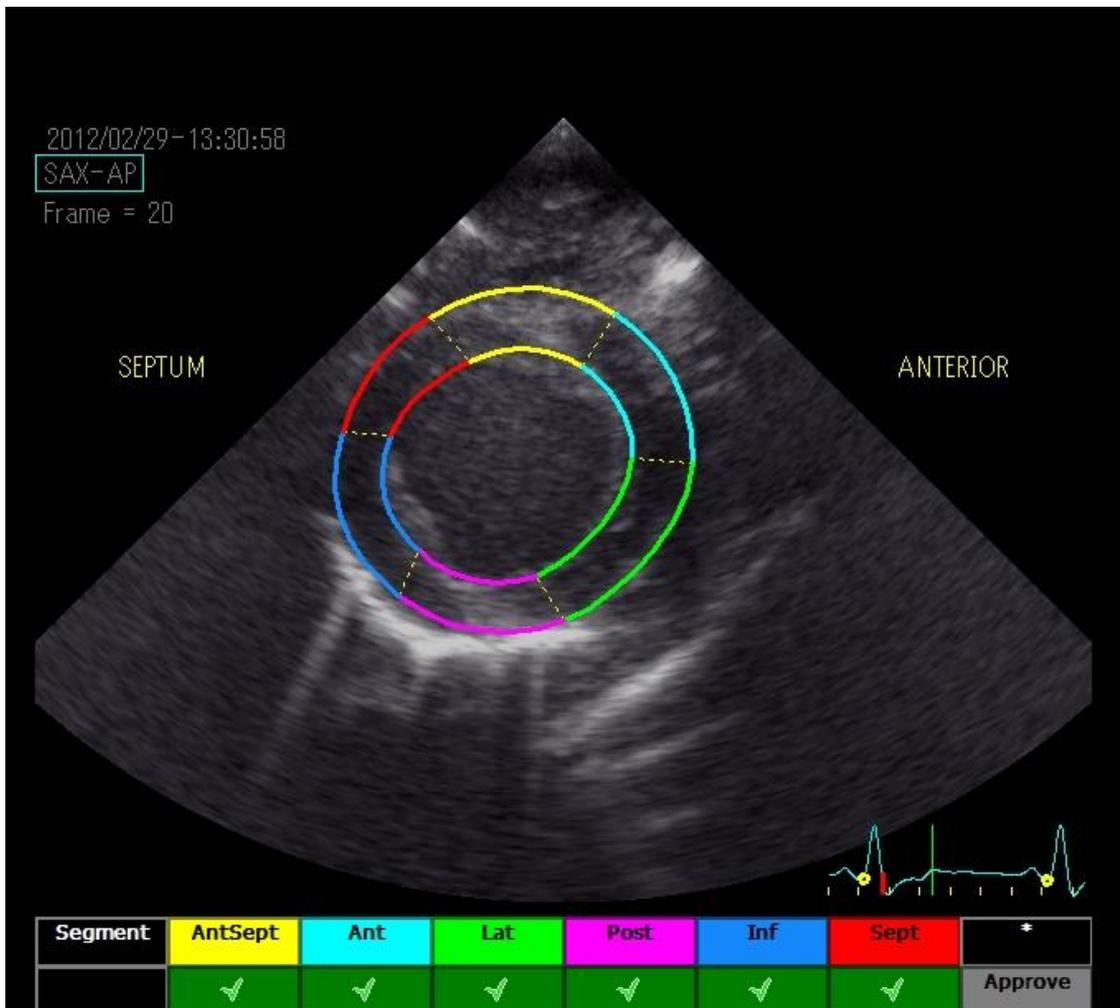


Figure 5. Example of analysis process of longitudinal deformations by two-dimensional speckle-tracking echocardiography in a healthy dog. Longitudinal strain (A) and strain rate (B) versus time curves corresponding to the six myocardial segments of Figure 1. These representative cases demonstrate a negative deformation during systole, and positive deformations during diastole in the longitudinal direction.

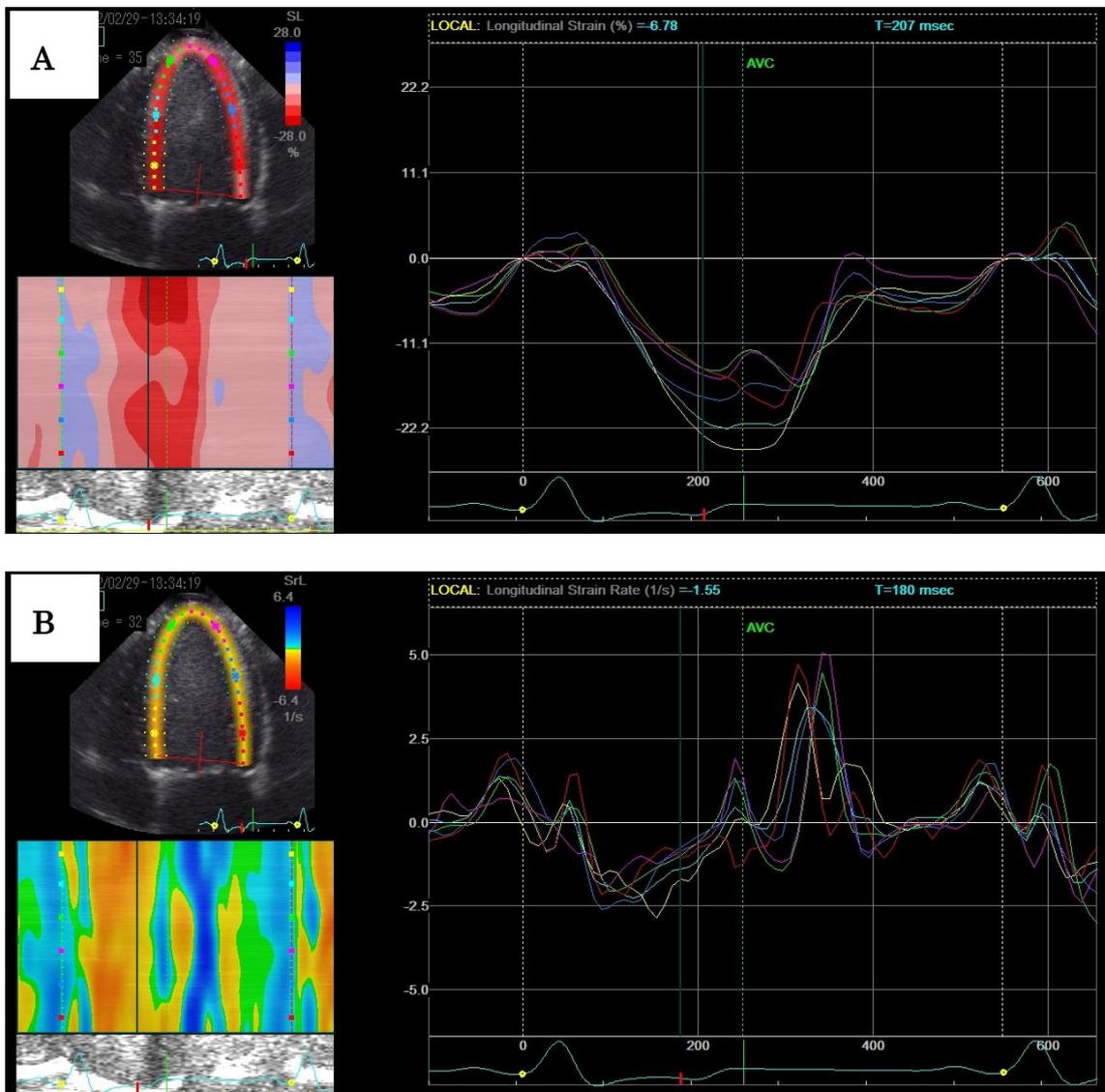


Figure 6. Example of analysis process of circumferential deformations by two-dimensional speckle-tracking echocardiography in a healthy dog. Circumferential strain (A) and strain rate (B) versus time curves corresponding to the six myocardial segments of Figure 2. These representative cases demonstrate a negative deformation during systole, and positive deformations during diastole in the circumferential direction.

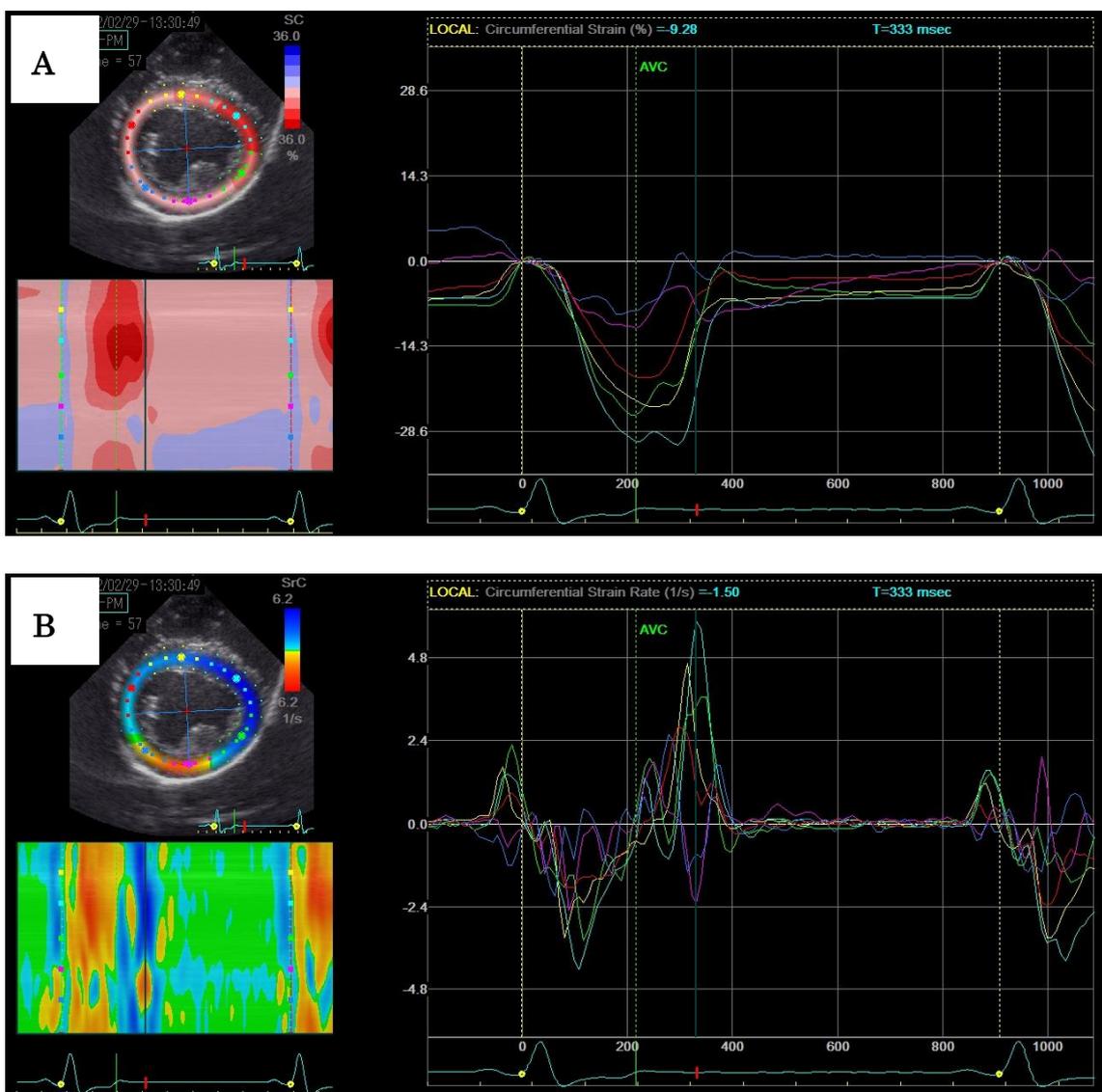


Figure 7. Example of analysis process of radial deformations by two-dimensional speckle-tracking echocardiography in a healthy dog. Radial strain (A) and strain rate (B) versus time curves corresponding to the six myocardial segments of Figure 2. These representative cases demonstrate a positive deformation during systole, and negative deformations during diastole in the radial direction.

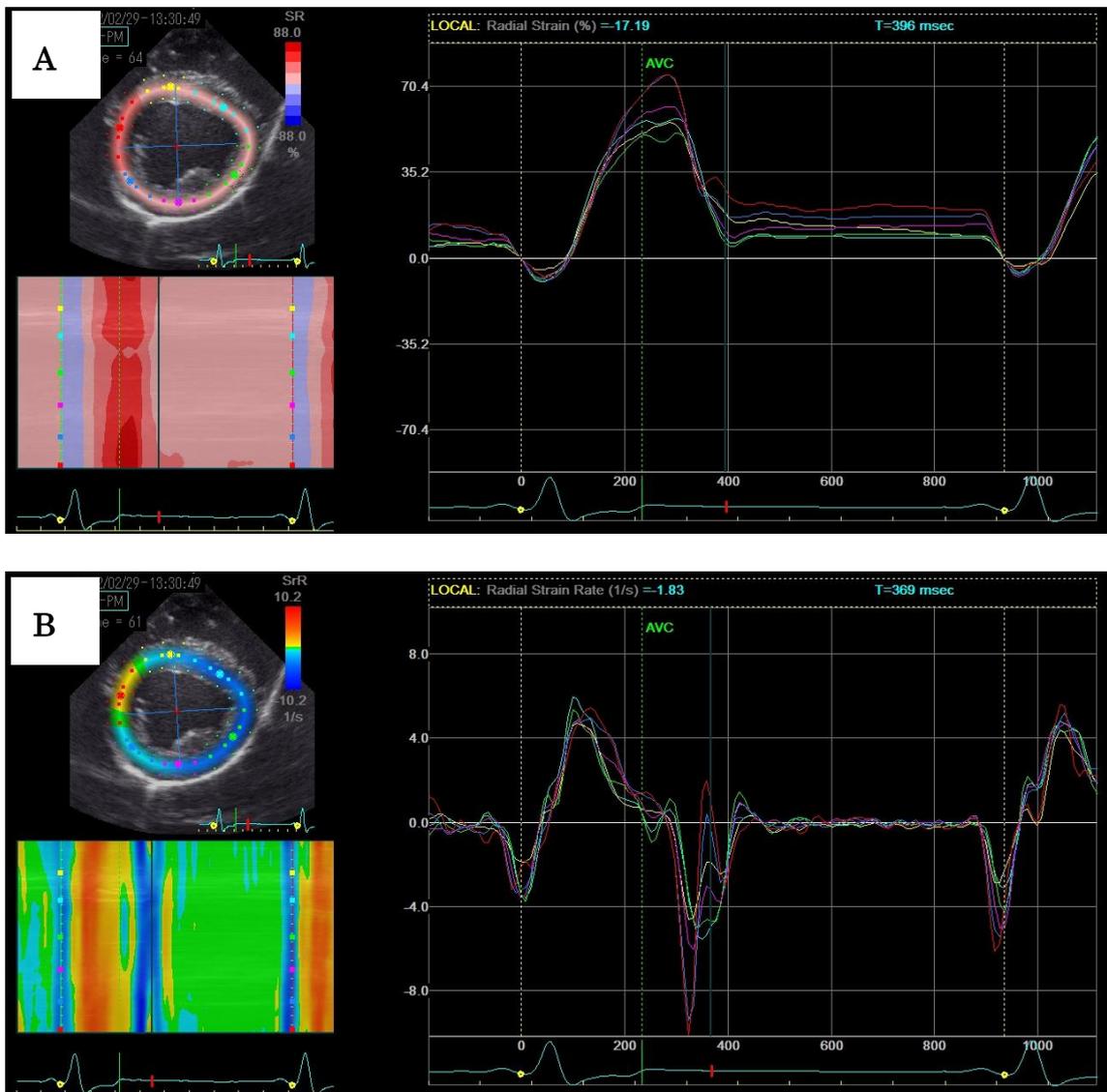


Figure 8. Example of analysis process of basal deformations by two-dimensional speckle-tracking echocardiography in a healthy dog. Basal rotation (A) and rotation rate (B) versus time curves corresponding to the six myocardial segments of Figure 3. This representative case demonstrates that, as seen from the apex, the six segments of basal myocardium homogeneously go through a systolic wringing motion with an initial minimal counterclockwise rotation (positive rotation) followed by a dominant clockwise rotation (negative rotation).

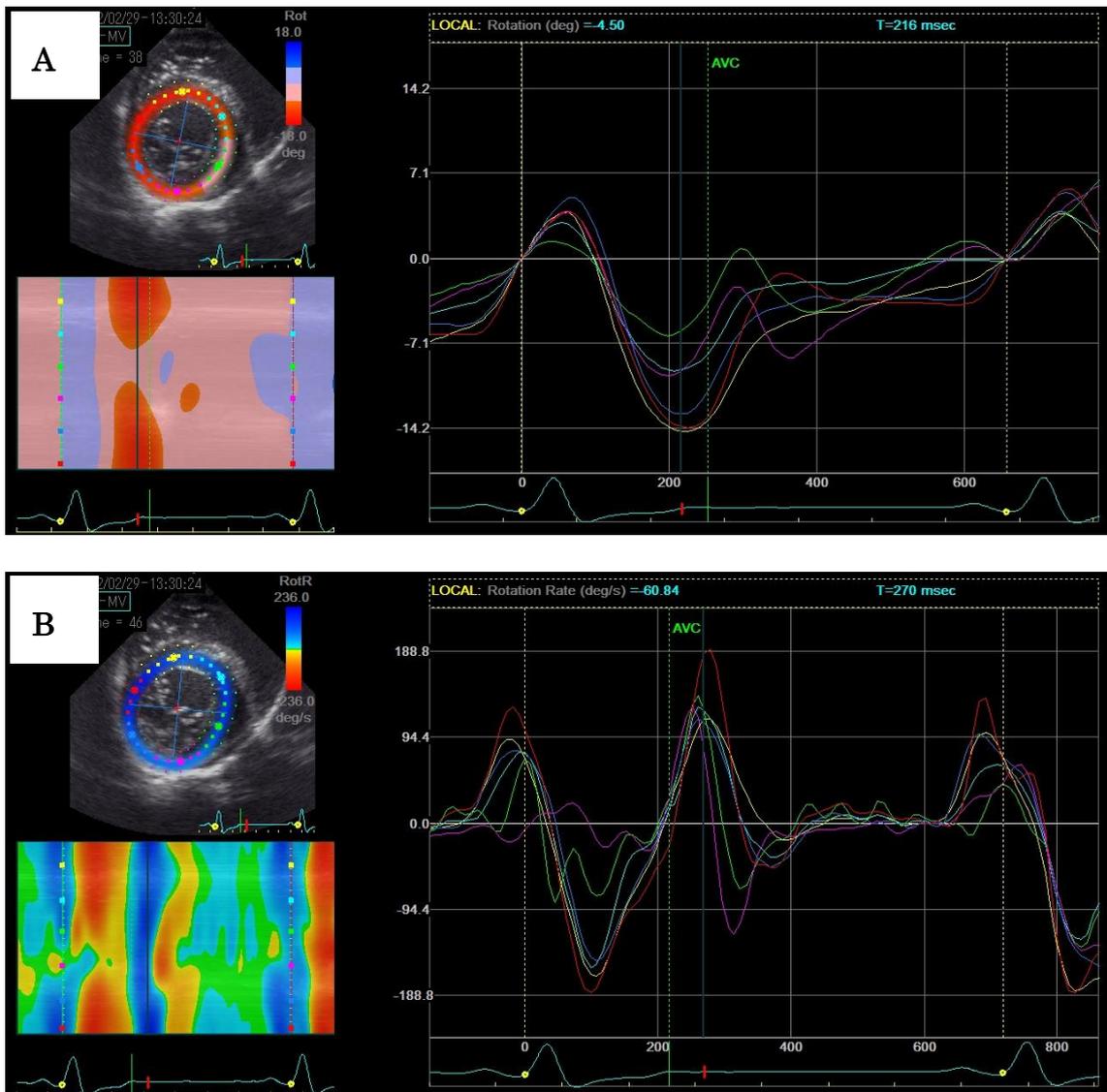


Figure 9. Example of analysis process of apical deformations by two-dimensional speckle-tracking echocardiography in a healthy dog. Apical rotation (A) and rotation rate (B) versus time curves corresponding to the six myocardial segments of Figure 4. This representative case demonstrates that, as seen from the apex, the six segments of apical myocardium homogeneously go through a systolic wringing motion with an initial minimal clockwise rotation (negative rotation) followed by a dominant counterclockwise rotation (positive rotation).

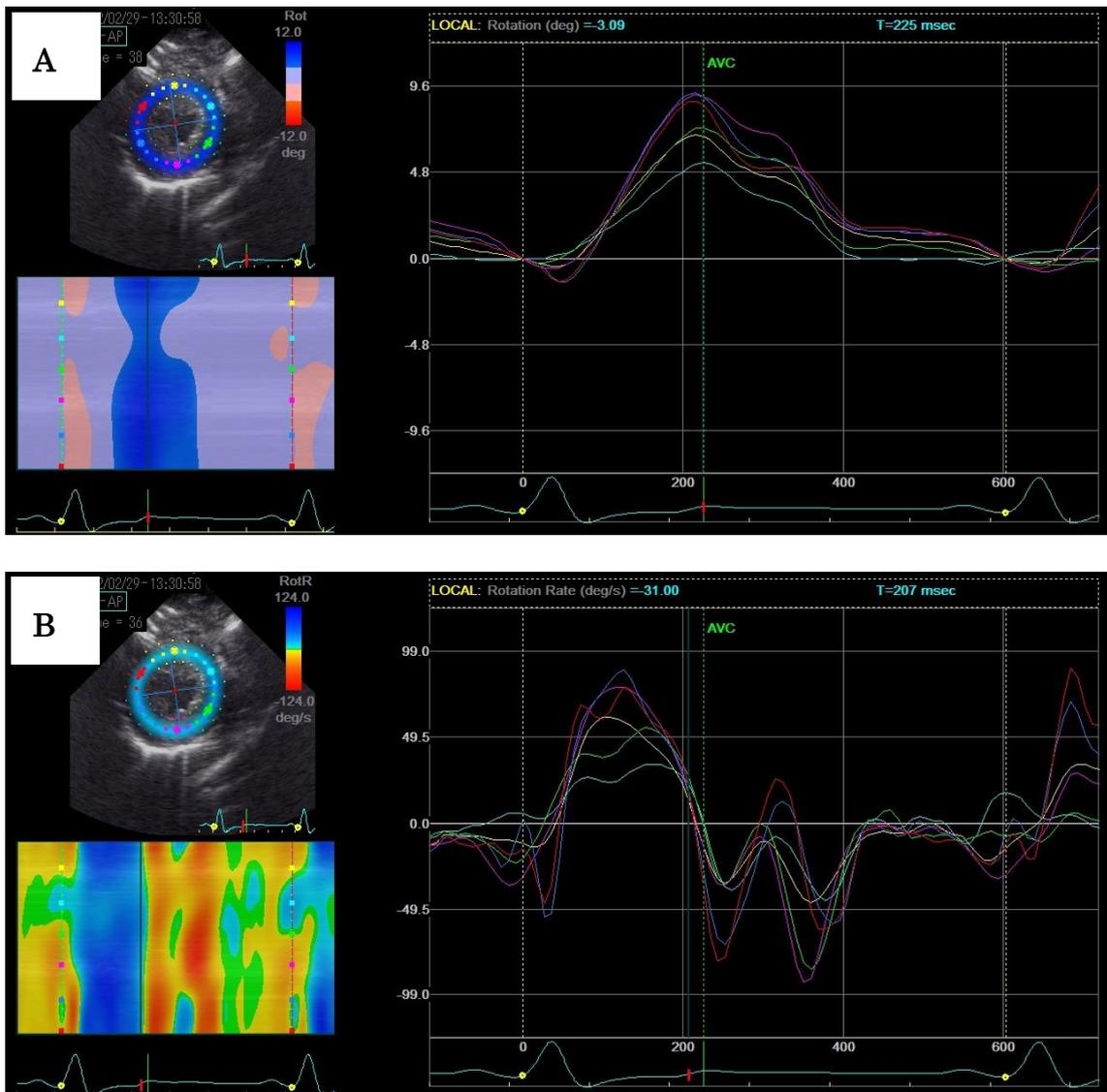


Figure 10. Example of longitudinal strain (A) and strain rate (B) analysis for one cardiac cycle obtained by left apical 4-chamber view in a healthy dog. A, Systolic longitudinal strain values as identified from the ECG (shown as arrow head) were measured. B, Systolic, and early and late diastolic strain rate values as identified from the ECG (shown as arrows) were measured.

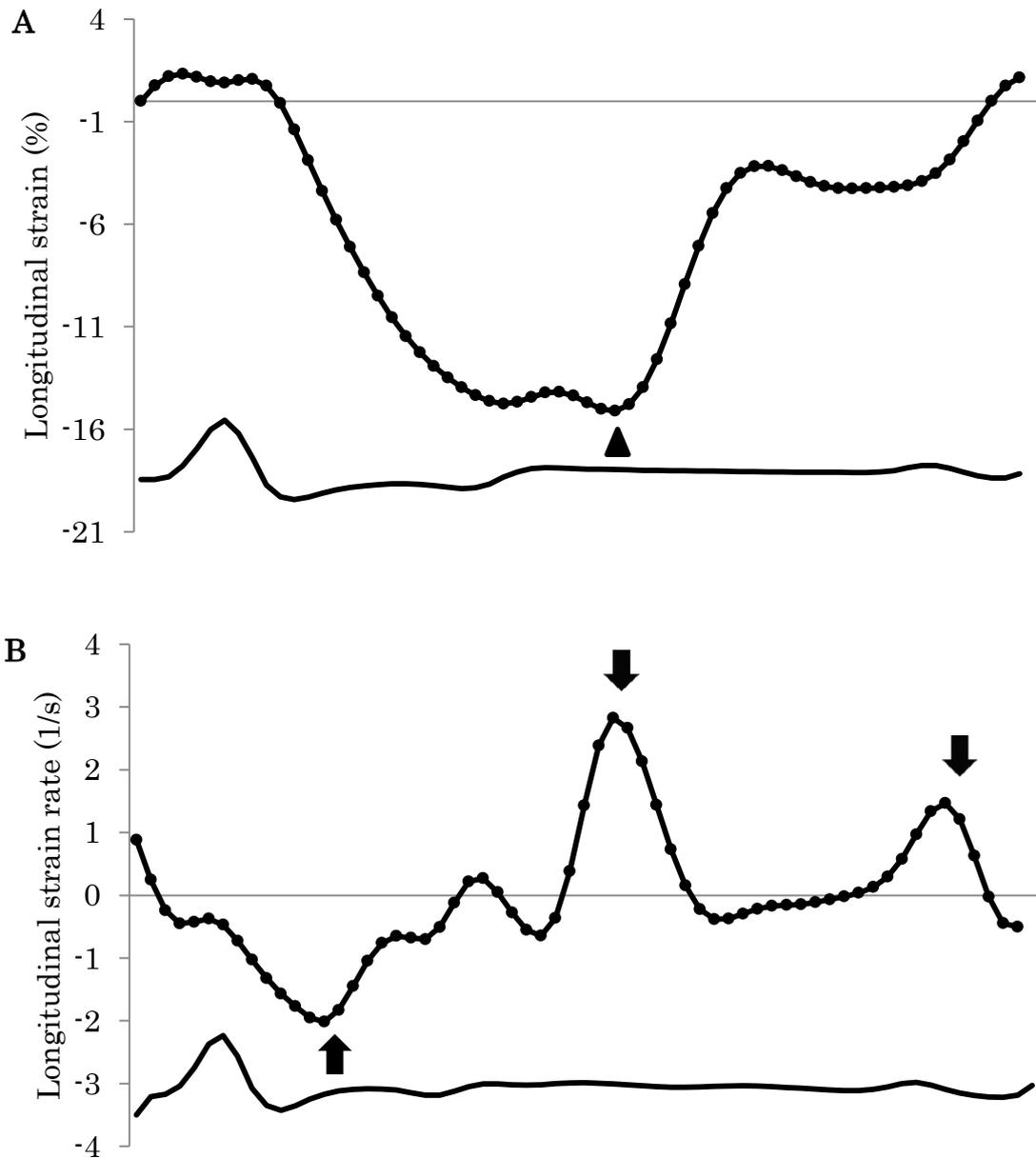


Figure 11. Example of circumferential strain (A) and strain rate (B) analysis for one cardiac cycle obtained by right parasternal short-axis view of the left ventricle at the level of the papillary muscles in a healthy dog. A, Systolic circumferential strain values as identified from the ECG (shown as arrow head) were measured. B, Systolic, and early and late diastolic strain rate values as identified from the ECG (shown as arrows) were measured.

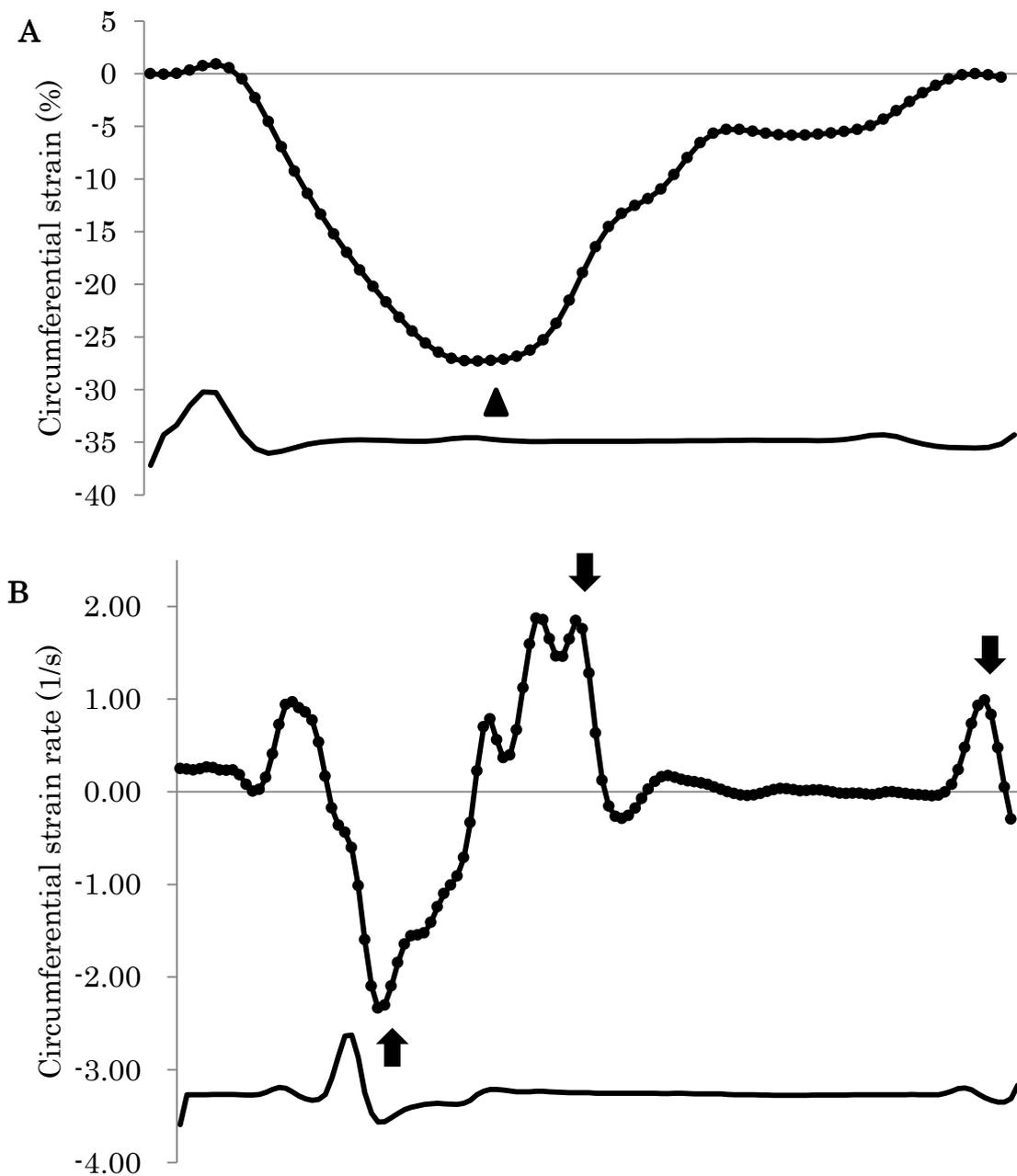


Figure 12. Example of radial strain (A) and strain rate (B) analysis for one cardiac cycle obtained by right parasternal short-axis view of the left ventricle at the level of the papillary muscles in a healthy dog. A, Systolic radial strain values as identified from the ECG (shown as arrow head) were measured. B, Systolic, and early and late diastolic strain rate values as identified from the ECG (shown as arrows) were measured.

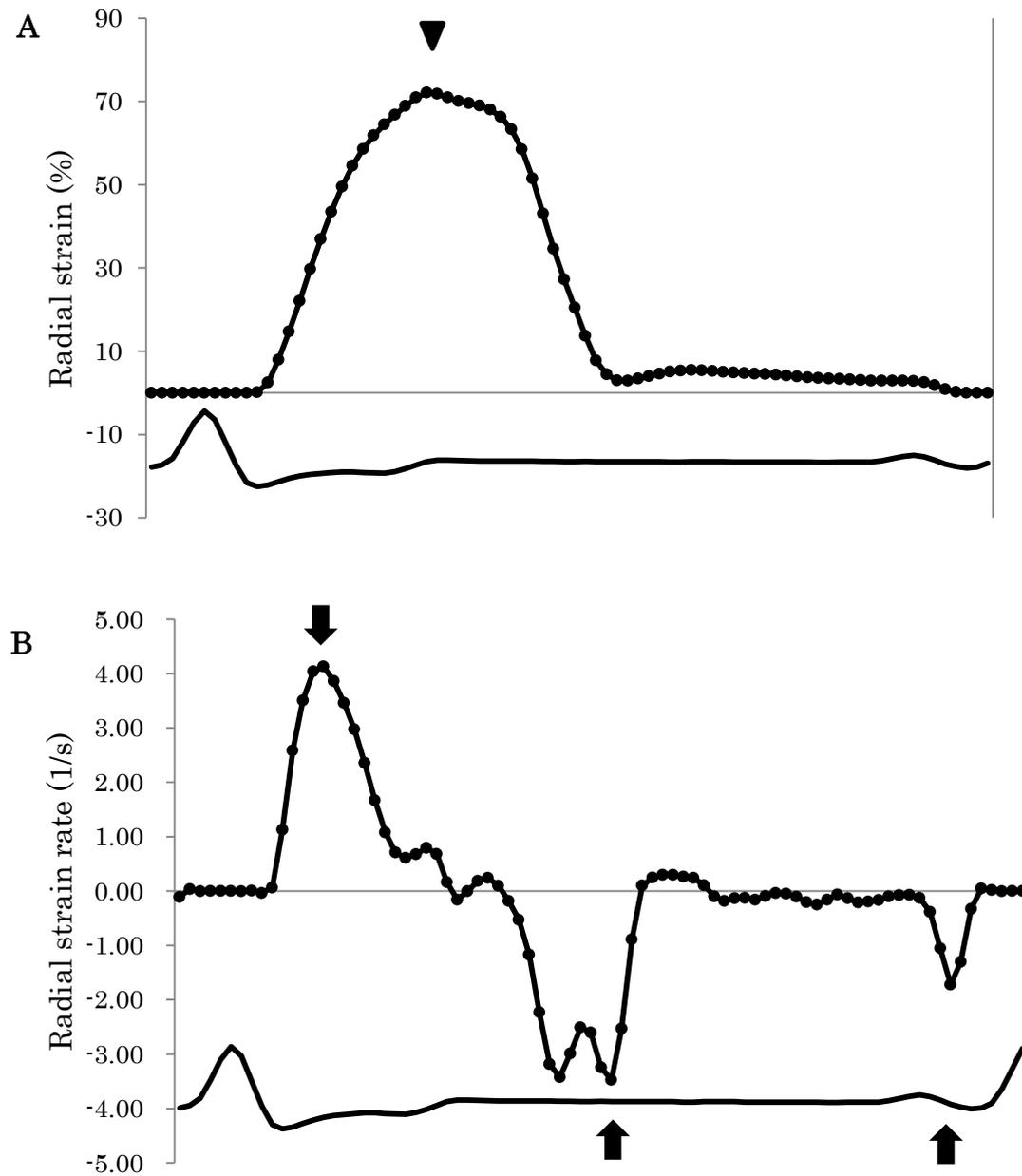


Figure 13. Example of basal rotation (A) and rotation rate (B) curves for one cardiac cycle obtained by right parasternal short-axis view at the basal level in a worksheet of a healthy dog. A, Systolic rotation values as identified from the ECG (shown as arrow head) were measured. B, Systolic, and early and late diastolic rotation rate values as identified from the ECG (shown as arrows) were measured.

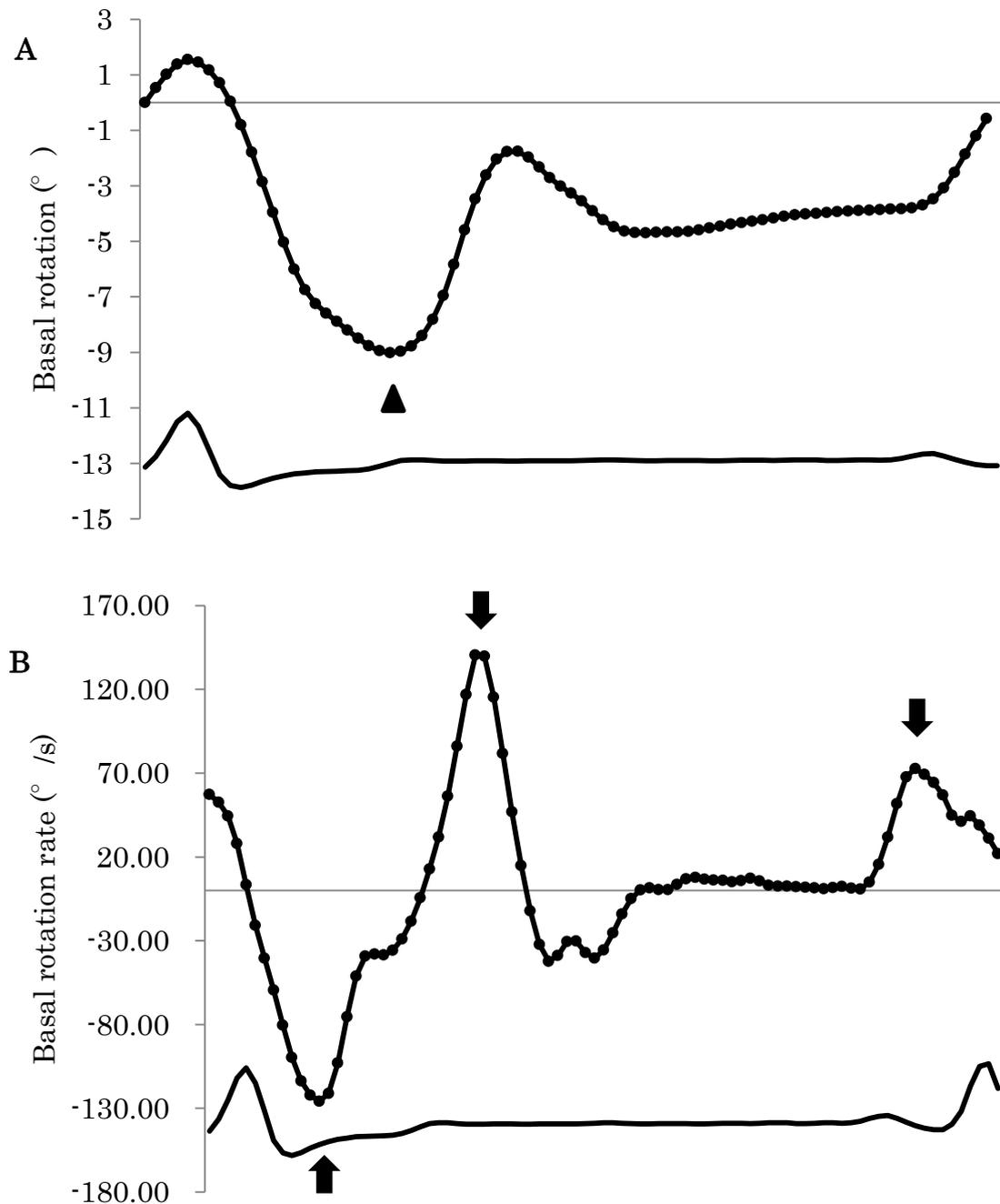


Figure 14. Example of apical rotation (A) and rotation rate (B) curves for one cardiac cycle obtained by right parasternal short-axis view at the apical level in a worksheet of a healthy dog. A, Systolic rotation values as identified from the ECG (shown as arrow head) were measured. B, Systolic, and early and late diastolic rotation rate values as identified from the ECG (shown as arrows) were measured.

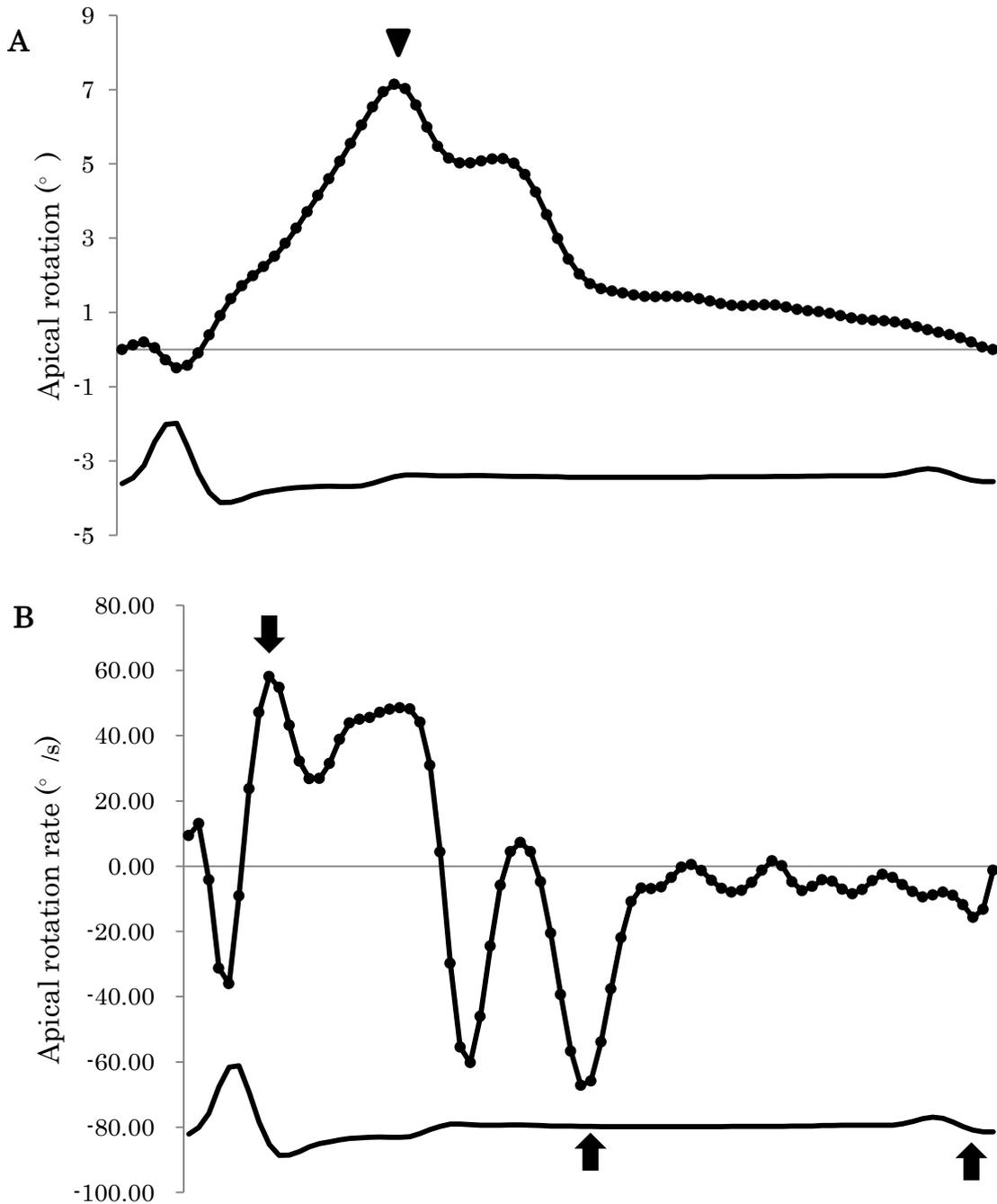


Figure 15. Example of torsion (A) and torsion rate (B) curves as a net difference of the values of each frame between the basal and apical segments for one cardiac cycle obtained by right parasternal short-axis view at the basal and apical level in a worksheet of a healthy dog. A, Systolic torsion values as identified from the ECG (shown as arrow head) were measured. B, Systolic, and early and late diastolic torsion rate values as identified from the ECG (shown as arrows) were measured.

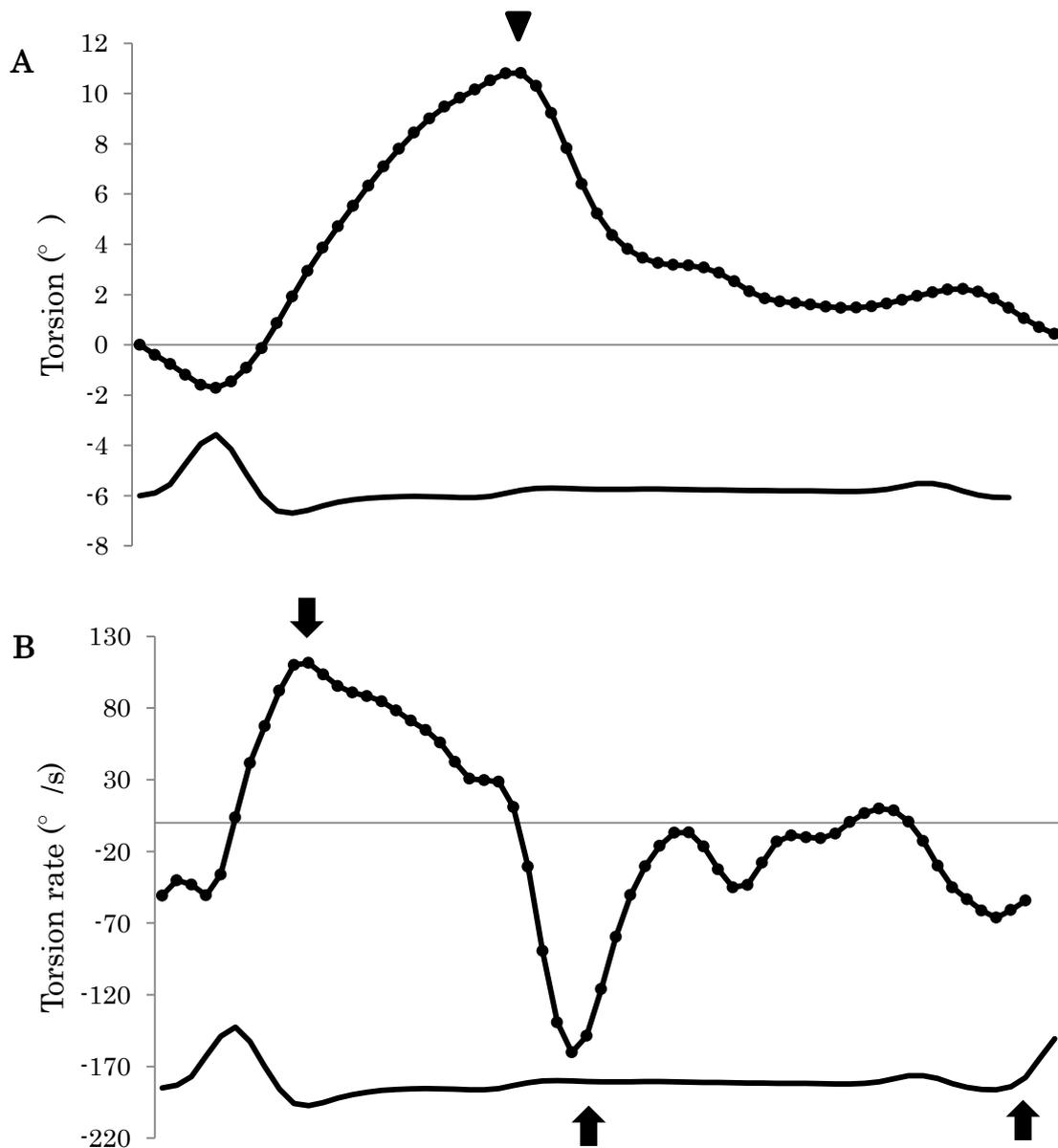


Figure 16. Plots of individual dogs' peak systolic (A) and early diastolic (B) LV torsion rate assessed by two-dimensional speckle-tracking echocardiography at the pacing rates of 120, 140, 160, and 180 beats per minute (bpm)

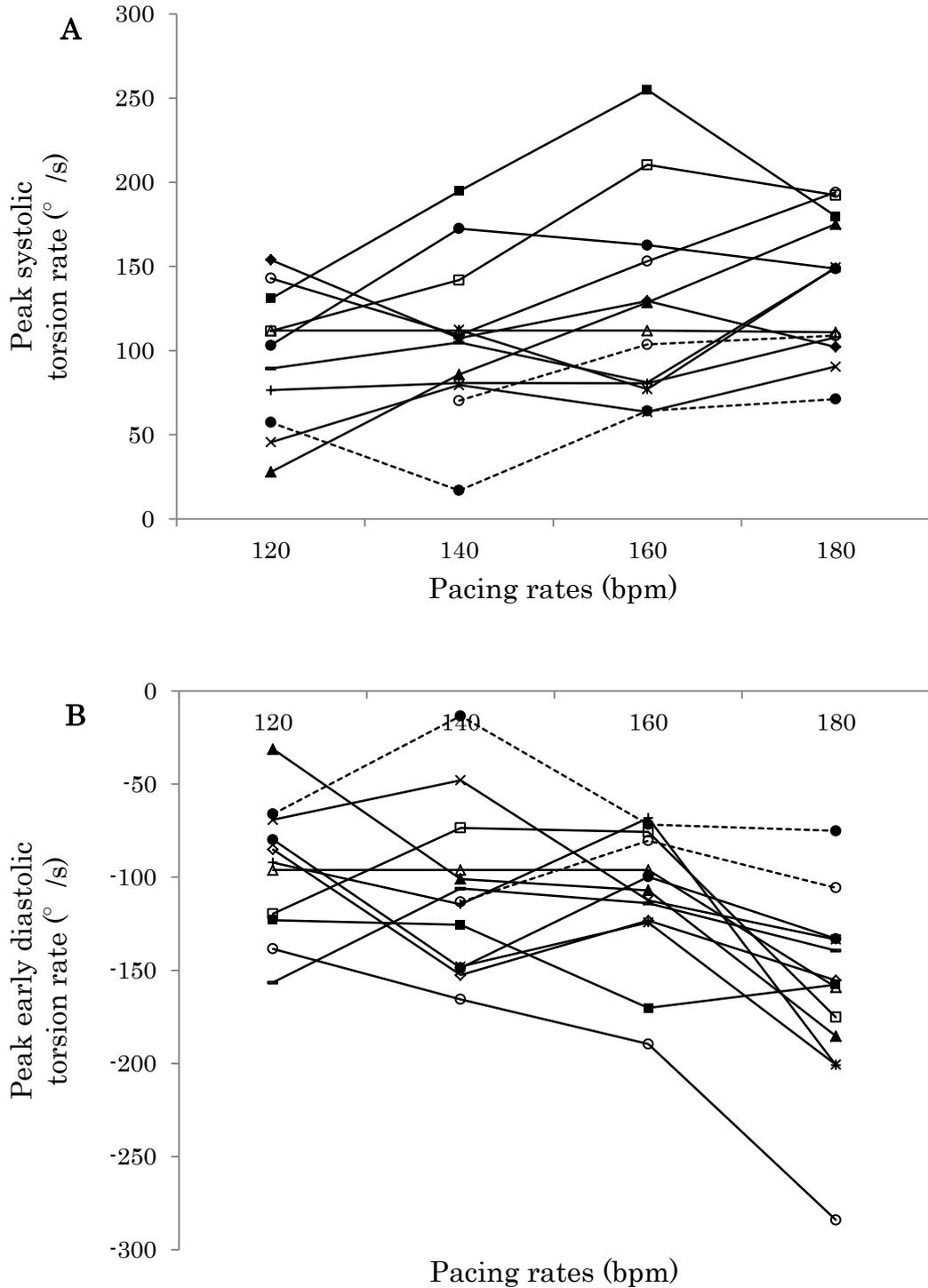


Table 1. Conventional 2D, and M-mode data at different pacing rates from 13 healthy anesthetized beagle dogs

Variable	Pacing rates (bpm)			
	120	140	160	180
Left atrial to aortic root ratio	1.4 ± 0.1	1.3 ± 0.1	1.4 ± 0.1	1.4 ± 0.1
End diastolic LV internal dimension (mm)	25.3 ± 3.0	25.2 ± 3.4	24.3 ± 3.4	23.7 ± 3.3
End systolic LV internal dimension (mm)	19.4 ± 2.9	20.1 ± 3.4	19.2 ± 3.0	18.8 ± 2.1
Fractional shortening (%)	23.2 ± 5.9	20.5 ± 5.6	20.7 ± 8.8	19.9 ± 7.3

Data are expressed as means ± standard deviation.

a, Within a row, the value differs significantly ($P < 0.008$) from the value at 120 bpm.

b, Within a row, the value differs significantly ($P < 0.008$) from the value at 140 bpm.

LV, left ventricular.

Table 2. Conventional Doppler echocardiographic data at different pacing rates from 13 healthy anesthetized beagle dogs

Variable	Pacing rates (bpm)			
	120	140	160	180
E wave velocity (m/s)	0.65 ± 0.11	0.69 ± 0.12	0.79 ± 0.14	0.85 ± 0.19 ^a
E wave deceleration time (ms)	112 ± 15	108 ± 19	84 ± 15 ^{a,b}	84 ± 11 ^{a,b}
A wave velocity (m/s)	0.39 ± 0.11	0.43 ± 0.18	0.50 ± 0.19	0.51 ± 0.14
Em velocity (cm/s)	6.0 ± 1.1	6.5 ± 1.8	7.3 ± 1.3	8.7 ± 1.8 ^{a,b}
LV outflow velocity (m/s)	0.9 ± 0.2	0.9 ± 0.2	0.9 ± 0.2	0.9 ± 0.1
LV ejection time (ms)	205.5 ± 15.7	190.5 ± 15.0	175.5 ± 11.3 ^a	163.9 ± 13.9 ^{a,b}
Stroke volume (mL)	19.0 ± 2.5	16.8 ± 3.5	16.7 ± 5.1	17.6 ± 5.0

Data are expressed as means ± standard deviation.

a, Within a row, the value differs significantly ($P < 0.008$) from the value at 120 bpm.

b, Within a row, the value differs significantly ($P < 0.008$) from the value at 140 bpm

LV, left ventricular; E wave, early diastolic transmitral wave; A wave, late diastolic transmitral wave; Em, early diastolic mitral annular motion derived using the tissue Doppler technique

Table 3. Systolic and early diastolic myocardial strain and strain rate variables using two-dimensional speckle-tracking echocardiography at different pacing rates in 13 healthy anesthetized beagle dogs

Variable	Pacing rates (bpm)			
	120	140	160	180
Systolic Long S (%)	-11.3 ± 3.1	-9.9 ± 2.7	-10.2 ± 3.1	-8.9 ± 2.8
Systolic Long Sr (1/s)	-1.1 ± 0.3	-1.1 ± 0.3	-1.2 ± 0.3	-1.2 ± 0.4
Early diastolic Long Sr (1/s)	1.4 ± 0.4	1.0 ± 0.6	0.6 ± 0.5	0.8 ± 0.8
Systolic Rad S (%)	44.6 ± 10.6	40.7 ± 11.8	38.4 ± 10.0	33.2 ± 7.9
Systolic Rad Sr (1/s)	2.4 ± 0.5	2.3 ± 0.6	2.6 ± 0.9	2.6 ± 0.4
Early diastolic Rad Sr (1/s)	-2.9 ± 0.8	-2.5 ± 1.0	-1.8 ± 1.2	-2.5 ± 1.6
Systolic Circ S (%)	-12.0 ± 2.2	-10.5 ± 2.4	-9.4 ± 2.7	-8.4 ± 2.3
Systolic Circ Sr (1/s)	-1.4 ± 0.3	-1.3 ± 0.3	-1.3 ± 0.3	-1.4 ± 0.3
Early diastolic Circ Sr (1/s)	1.1 ± 0.4	1.0 ± 0.5	0.9 ± 0.5	1.1 ± 0.4

Data are expressed as means ± standard deviation.

Long S, longitudinal strain; Long Sr, longitudinal strain rate; Rad S, radial strain; Rad Sr, radial strain rate; Circ S, circumferential strain; Circ Sr, circumferential strain rate

Table 4. Systolic and early diastolic myocardial torsional variables using two-dimensional speckle-tracking echocardiography at different pacing rates in 13 healthy anesthetized beagle dogs

Variable	Pacing rates (bpm)			
	120	140	160	180
Systolic basal rotation (°)	-2.9 ± 1.6	-3.4 ± 1.9	-4.2 ± 2.4	-4.1 ± 2.2
Systolic basal rotation rate (°/s)	-66.8 ± 31.6	-75.3 ± 22.2	-77.1 ± 24.5	-83.7 ± 23.5
Early diastolic basal rotation rate (°/s)	42.0 ± 26.7	51.5 ± 36.7	43.5 ± 41.3	75.9 ± 45.6
Systolic apical rotation (°)	9.3 ± 3.8	9.7 ± 3.2	8.2 ± 3.7	8.5 ± 2.7
Systolic apical rotation rate (°/s)	110.8 ± 44.3	121.5 ± 41.5	106.6 ± 50.4	124.5 ± 56.5
Early diastolic apical rotation rate (°/s)	-87.6 ± 36.1	-107.4 ± 27.7	-86.0 ± 36.5	-118.0 ± 44.7
Systolic torsion (°)	8.6 ± 3.8	10.2 ± 3.1	10.0 ± 4.5	11.0 ± 3.0
Systolic torsion rate (°/s)	95.5 ± 40.6	106.8 ± 45.3	124.7 ± 58.3	136.9 ± 40.9
Early diastolic torsion rate (°/s)	-96.1 ± 36.0	-108.2 ± 43.6	-110.2 ± 36.4	-161.9 ± 51.3 ^a

Data are expressed as means ± standard deviation.

a, Within a row, the value differs significantly ($P < 0.008$) from the value at 120 bpm.

第 3 章 年齢の Two-dimensional speckle-tracking echocardiography 法による心筋運動変数に対する影響

1. 緒言

加齢は健常犬の心機能に影響を与えうる因子として報告されている [105,106]。犬における侵襲的な研究では、加齢によって心室スティフネスの増加や弛緩の遅延が引き起こされ、結果として拡張機能が主に影響されることが示されている [106,107]。また、加齢は心筋線維本来のらせん方向収縮運動を直接的に反映している [99,100]、Two-dimensional speckle-tracking echocardiography (2D-STE) 法で評価した捻れ運動にも影響を与えることが健常な人において証明されている [108,109]。今後、高齢の犬の割合が増えることが予想されるため、正常な心血管機能に対する加齢に伴う変化の情報はより重要となると考えられる。しかしながら、健常な犬において、2D-STE 法で評価した心筋運動変数に対する年齢の影響は検討されていない。

また第 2 章で示したように、2D-STE 法は複数方向の心筋運動を定量化することができ、麻酔下の同一個体犬における複数方向心筋機能を評価することができた。そこで、本研究では、2D-STE 法による複数方向の心筋運動を覚醒下の犬で定量化し、若齢犬および高齢犬での相違を検討した。私は、若齢犬および高齢犬における 2D-STE 法による心筋運動変数は、健常な犬でさえ、有意に相違が認められ、これらの相違は心疾患動物の病態解釈の際にも考慮されるべきであろうと仮説した。

2. 方法

供試動物

17頭の若齢犬（年齢 1.1 ± 0.2 歳）および 15 頭の高齢犬（ 8.9 ± 1.6 歳）を用いた。全ての犬はビーグル犬であり、心疾患の既往がないことおよび身体検査、完全血球検査（総白血球数、白血球分画、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球ヘモグロビン濃度、血小板数）、血液生化学検査（血清総タンパク濃度、血清アルブミン濃度、血清尿素窒素濃度、血清クレアチニン濃度、血清アラニンアミノトランスフェラーゼ濃度、血清アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ濃度、血清アルカリフォスファターゼ濃度、血清グルコース濃度、血清総コレステロール濃度、血清トリグリセリド濃度、血清ナトリウム濃度、血清カリウム濃度、血清クロール濃度）、標準肢誘導心電図検査、胸部レントゲン検査、オシロメトリック法による非観血的血圧検査、経胸壁心エコー図検査によって異常が認められないことを確認した。本研究の実験手順および動物の管理取扱いについては、日本獣医生命科学大学動物実験ガイドラインに従い、動物実験委員会および動物実験に係わる生命倫理審査委員会の承認を得た（12-40）。

標準的な心エコー図検査

従来からの 2D、M-モード法およびドプラ法による心エコー図検査を行った。検査は一人の検者が行い、同一の心エコー装置（Vivid7, GE Healthcare, Tokyo, Japan.）および 3.5-6.9MHz トランスデューサーを用いて行った。全てのデータは無鎮静で右横臥位もしくは左横臥位に保定した洞調律の犬から、少なくとも連続 9 心拍以上得た。

2D、M モード法およびドプラ法による心エコー図検査データは一人の計

測者によって Echo-PAC ワークステーション (GE Healthcare, Tokyo, Japan) を用いて解析した。右傍胸骨短軸像大動脈弁レベルを用いて、B モード法による左房大動脈径比を計測した [84]。右傍胸骨短軸像腱索レベルを用いて、左室の M モード計測を leading edge-to-leading edge 法を用いて行い [85]、拡張末期心室中隔壁厚、拡張末期左室自由壁厚、拡張末期左室内径、収縮末期左室内径および左室短縮率を計測した。左室の幾何学的評価のために、左室球状化指数および相対的壁厚を、過去の報告に従って算出した。左室球状化指数は、左室の最大長径を短径で除した値とし、拡張末期および収縮末期において計測した [110,111]。相対的壁厚は M モード法で計測した拡張末期心室中隔壁厚と拡張末期左室自由壁厚の和を拡張末期左室内径で除した値とした [110,112]。左側心尖部四腔像より経僧帽弁血流を記録し、拡張早期血流 (E 波) 血流速のピーク値、E 波減速時間および拡張後期血流 (A 波) 血流速のピーク値を計測、E/A 比を算出した [86,87]。パルス組織ドプラ法を用いた僧帽弁弁輪部運動速度は左側心尖部四腔像の中隔側弁輪部から記録し、拡張早期および拡張後期僧帽弁弁輪部運動速度 (Em および Am) を計測、E/Em を算出した [87,88]。各変数の統計解析には連続 3 心拍の平均値を用いた。

2D-STE 法による心エコー図検査

標準的な心エコー図検査と並行して、2D-STE 法のための高画質な B モード像を、同一の検者および心エコー装置を用いて、第 2 章で示した方法で記録した。全てのデータは無鎮静で右横臥位もしくは左横臥位に保定された洞調律の犬から、少なくとも連続 9 心拍以上得た。

全ての 2D-STE 法データは一人の計測者が Echo-PAC ワークステーション (GE Healthcare, Tokyo, Japan) を用い、我々が以前報告した方法に従っ

て、第 2 章で示したように解析した[68,71,75,76,152]。長軸、短軸円周および壁厚方向について、同期した心電図から収縮期、拡張早期および拡張後期を判定し、各々におけるストレインおよびストレインレートのピーク値を外部ワークシート (Microsoft Office Excel 2010, Microsoft Corp., Redmond, Wash) 上で計測した。捻れ運動について、僧帽弁レベルおよび心尖部レベルにおける 1 心周期の回転運動プロファイルをワークシートに展開、同期した心電図から収縮期、拡張早期および拡張後期を判定し、各々における回転運動および回転速度のピーク値を計測した。さらに、僧帽弁レベルと心尖部レベルにおけるフレーム値を差し引きし、1 心周期の捻れ運動プロファイルを展開、同期した心電図から収縮期、拡張早期および拡張後期を判定し、各々における捻れ運動および捻れ速度のピーク値を計測した。心尖部から見て反時計方向への回転および捻れ運動を正として表記した。フレーム数に差がある場合は適切にフレーム数を合わせ、捻れ運動プロファイルを作成した。各変数の統計解析には連続 3 心拍の平均値を用いた。

統計解析

データは平均±標準偏差で表記した。全ての統計解析には市販の統計解析ソフト (SPSS for Windows; SPSS, Tokyo, Japan) を用いた。Shapiro-Wilk test を正規性の評価に用いた。若齢犬および高齢犬における変数の差の検定には Student's t-test を用いた。また、性別による影響を考慮するため、オスおよびメスの変数もまた Student's t-test を用い比較した。有意水準は $P < 0.05$ とした。2D-STE 法の計測者内変動として、ランダムに選択した 5 頭の犬 (2 頭の若齢犬および 3 頭の高齢犬) における日内および日間変動を評価した。日内の再現性については、同一の日における繰り返し 3 回の計測から算出した。日間の再現性については、異なる日における繰り返し 3

回の計測から算出した。

3. 結果

供試動物のプロファイルおよび標準的な心エコー図検査

供試動物の特性および 2D、M モード法およびドプラ法による心エコー図検査結果は Table 1 に示した。体重、心エコー検査中の心拍数およびオシロメトリック法で得た非観血的収縮期血圧に有意な相違は認められなかった。同様に、左室短縮率、左室壁厚、左室球状化指数および相対的壁厚も有意な相違は認められなかった。一方、高齢犬において、E 波速度および E/A 比が有意に低値で、A 波速度が有意に高値であった ($P < 0.001$, $P = 0.015$, および $P < 0.001$)。

2D-STE 法

長軸および短軸像の全てのセグメントにおける 2D-STE 法変数が統計解析に含まれた。日内の計測者内変動の最大値は拡張早期心尖部回転速度で 18.1%、日間の最大値は同じく拡張早期心尖部回転速度で 12.1%であった。拡張後期壁厚方向ストレインレートおよび拡張後期長軸方向ストレインレートがメスにおいてオスよりも有意に高値であった(壁厚方向ストレインレート, -2.5 ± 0.5 vs -1.8 ± 0.8 , $P = 0.016$; 長軸方向ストレインレート, 1.7 ± 0.5 vs 1.4 ± 0.4 , $P = 0.047$)。

2D-STE 法で評価した収縮期心筋運動変数の結果は Table 2 に示した。収縮期心尖部回転速度が高齢犬において若齢犬に比べて有意に高値であった ($P = 0.036$)。高齢犬および若齢犬の収縮期心尖部回転速度の箱ひげ図を Figure 1 に示した。

2D-STE 法で評価した拡張期心筋運動変数の結果は Table 3 に示した。拡張早期における円周方向ストレインレート、心基部回転速度および捻れ速度が高齢犬において若齢犬と比べて有意に低値であった ($P = 0.03$, $P = 0.033$)。

および $P = 0.015$)。若齢犬および高齢犬の拡張早期円周方向ストレインレートの箱ひげ図を **Figure 2** に示した。また拡張後期における長軸方向ストレインレートおよび壁厚方向ストレインレートが高齢犬において若齢犬と比べて有意に高値であった($P = 0.002$ および $P = 0.018$)。若齢犬および高齢犬の拡張後期長軸方向ストレインレートの箱ひげ図を **Figure 3** に示した。

4. 考察

本研究では、覚醒下の健常犬全例において 2D-STE 法による複数方向の心筋運動変数が評価可能であった。また、若齢犬および高齢犬における収縮期心筋運動変数の多くは同様であったが、いくつかの拡張期変数には相違が認められた。よって、2D-STE 法により拡張機能評価の検討を行う際には、年齢を合わせたコントロール群が必要であると考えられた。さらに、本研究では若齢および高齢犬の 2D-STE 法変数の正常データを示し、犬における 2D-STE 法変数の参考範囲の確立に寄与できると考えられた。

収縮期心尖部回転速度を除いて、全ての収縮期心筋運動変数は若齢犬および高齢犬間で相違が認められなかった。これら所見は、高齢犬における 3 方向心筋運動（長軸、短軸円周および壁厚方向）と心筋線維走行本来の収縮方向（捻れ方向）のいずれもが、若齢犬と同等であることが示唆された。同様に、心筋運動変数に影響を与えうる因子として知られている[113]、左室内径、左室壁厚、左室幾何学的変数および収縮期血圧もまた若齢犬および高齢犬間で相違が認められなかった。ラジオアイソトープ心室造影法で評価した健常な人における研究では、左室駆出率や一回拍出量で表した全体的な収縮機能は心筋に器質的な異常が認められない限り、年齢の影響を受けないことが報告されている[114]。今回認められた、2D-STE 法による同等な収縮期心筋運動は健常な高齢犬において左室ポンプ機能を十分に維持するのに貢献していると考えられた。

左室が左手方向の心外膜側心筋と右手方向の心内膜側心筋によるらせん構造をしていることに基づいて、左室は収縮期に捻れと呼ばれる回転変形を起こす[91,93,94]。捻れ運動は心外膜側心筋機能が心内膜側心筋機能を相対的に上回ると増強するとされている[91]。高齢犬の収縮期心筋回転運動において、心尖部回転運動の高値傾向、および心尖部回転速度の有意な高値、心

基部回転運動の低値傾向が若齢犬と比べて認められた。理論的に考えると、心内膜側心筋らせん構造は心基部運動を誘導し、反対に心尖部運動を制限する。健常人の心臓において心内膜側心筋機能は、カラー組織ドプラ法[115]や磁気共鳴画像法[116]で評価した場合に加齢に伴い低下していることが報告されている。したがって、今回の所見も加齢に伴う心内膜側心筋機能の低下により説明できると考えられた。また、拡張期心筋回転運動においても、拡張早期心基部回転運動の有意な低値、拡張早期心尖部回転速度の高値な傾向が見られ、心内膜側心筋機能が高齢犬において低下している影響を受けている可能性がある。これらの潜在的な機序の解明には更なる検討が必要である。

有意な変化ではなかったが、高齢犬における収縮期捻れ運動および捻れ速度は低下傾向を示した。健常人における 2D-STE 法の過去の研究では、高齢者における収縮期捻れ運動の高値および収縮期捻れ速度の低値が報告されている[108,109]。本研究は少数例の検討であること、捻れ運動変数の計測における変動性が比較的高いこと、および今回用いた年齢の群わけが結果に影響していると思われた。つまり、より高齢の犬であれば、高い捻れ運動や低い捻れ速度をより有意に検出した可能性が考えられる。さらに、左室捻れ運動の参考範囲は健常人においても幅広いことが報告されている[108,109]。故に、犬においても幅広い参考範囲が存在する可能性があり、このことは今回の結果に影響した可能性がある。加えて、心筋回転運動はトランスデューサーの角度による制限が報告されており[104]、左室心尖部レベル像は技術的に描出が困難な症例も存在する。

犬における過去の侵襲的研究では、高齢な心臓では心室スティフネスの上昇および弛緩遅延が生じ、拡張機能が影響を受けると報告されている[106,107]。今回の結果でも、E 波速度および E/A 比の有意な減少、A 波速

度の有意な増加が認められ、左室弛緩機能の低下、心筋スティフネスの上昇および拡張後期充満の代償的増強が示唆され、これらは犬における年齢の影響を検討した過去の報告に一致した[105-107]。収縮期および拡張期左室内径、左室短縮率や収縮期血圧には相違が認められず、収縮期における心臓ポンプ機能には有意な変化が見られなかった。全体的な左室充満は拡張後期における代償的な左房機能により拡張早期充満の減少を補っていると考えられた。

いくつかの拡張期心筋運動変数は若齢犬と高齢犬で有意な相違が認められた。具体的には拡張早期円周方向ストレインレートの有意な低値と拡張後期長軸方向および壁厚方向ストレインレートの高値が高齢犬において、若齢犬と比べて認められた。磁気共鳴画像法を用いて心筋内ストレインを計測したいくつかの研究においてもまた、健康な加齢は全体的な収縮機能には影響しないが、拡張機能には有意に影響すると報告している[117,118]。しかしながら、これら変化に貢献する過程は十分には解明されていない。拡張期の心筋運動において、拡張早期変数が低下し、拡張後期変数が代償的に上昇していることは、従来の心エコー図変数と同様に、加齢に伴う弛緩障害を反映していると考えられた。しかしながら、大きな変動係数および性別による有意な相違は拡張後期における長軸方向および壁厚方向ストレインレートに影響を与えている可能性がある。

本研究にはいくつかの制限が存在する。少数例の検討であり、特定の犬種（ビーグル）のみの検討であることはより大規模な他犬種を含む集団へ応用する際には注意が必要である。高齢者に対するドプラ心エコー図検査による研究では、男性よりも女性の方が拡張機能の悪化が顕著であるとする報告がある[119,120]。本研究での群における性差もまた結果に影響を与えた可能性がある。また捻れ運動の算出には同一心拍ではない僧帽弁レベルと心尖部

レベル短軸像の断面を用い、このことは今回の所見に影響を与えているかもしれない。さらに、真の左室心尖部レベル像は技術的に描出が困難な症例も存在する。将来的には、3次元スペクトルトラッキング心エコー図検査によってこれらの制限は改善されるかもしれない。

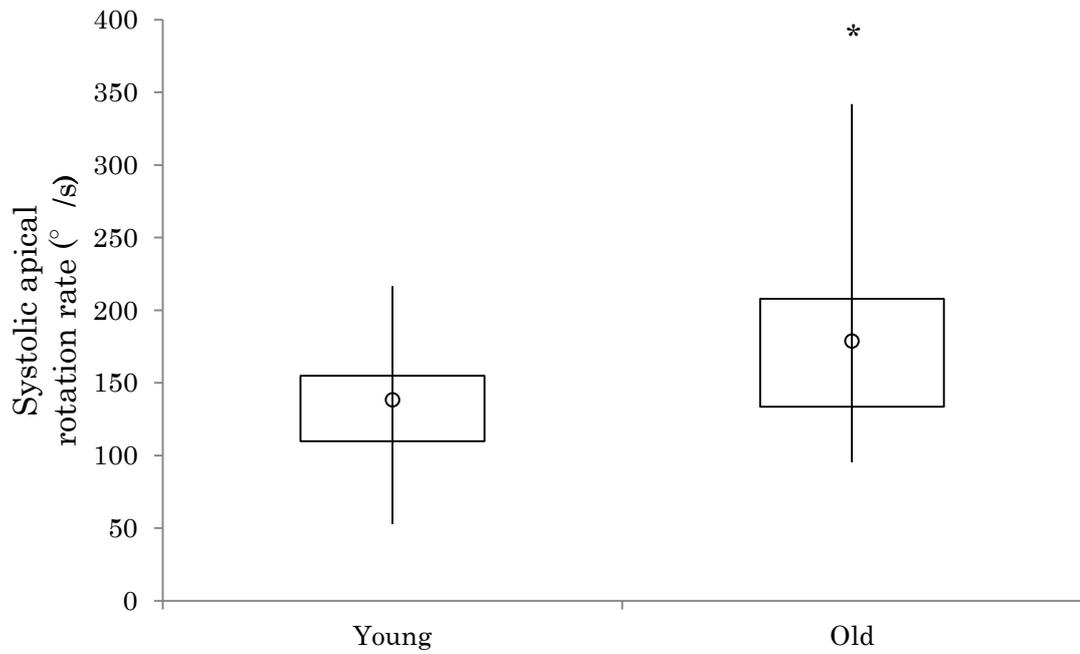
5. 小括

2D-STE 法による複数方向心筋運動は、覚醒下の犬においても十分な再現性をもって評価することが可能であった。また、2D-STE 法で評価した収縮期の心筋運動変数の多くは、若齢犬および高齢犬間で相違が認められなかった。一方、いくつかの拡張期変数は相違が認められ、2D-STE 法による拡張機能の評価の際には年齢を合わせたコントロール群が必要と考えられた。心臓に対する年齢の影響を検討したエビデンスは年齢に関連した心血管障害の病態を把握するのに重要な役割を果たすと考えられた。

なお、この第3章における主な内容は *Journal of veterinary cardiology : the official journal of the European Society of Veterinary Cardiology*, 2013 にて公表した[71]。

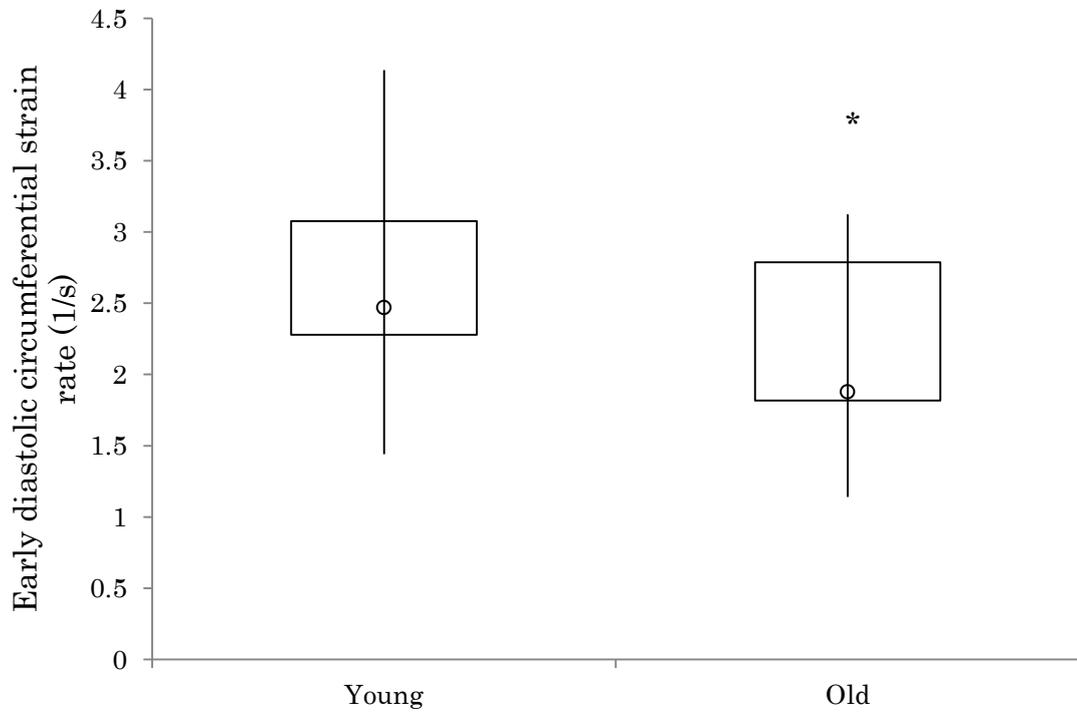
6. 図表

Figure 1. Box and whisker plots of systolic apical rotation rate in young and old dogs. *, Values differed significantly ($P < 0.05$) between young and old dogs.



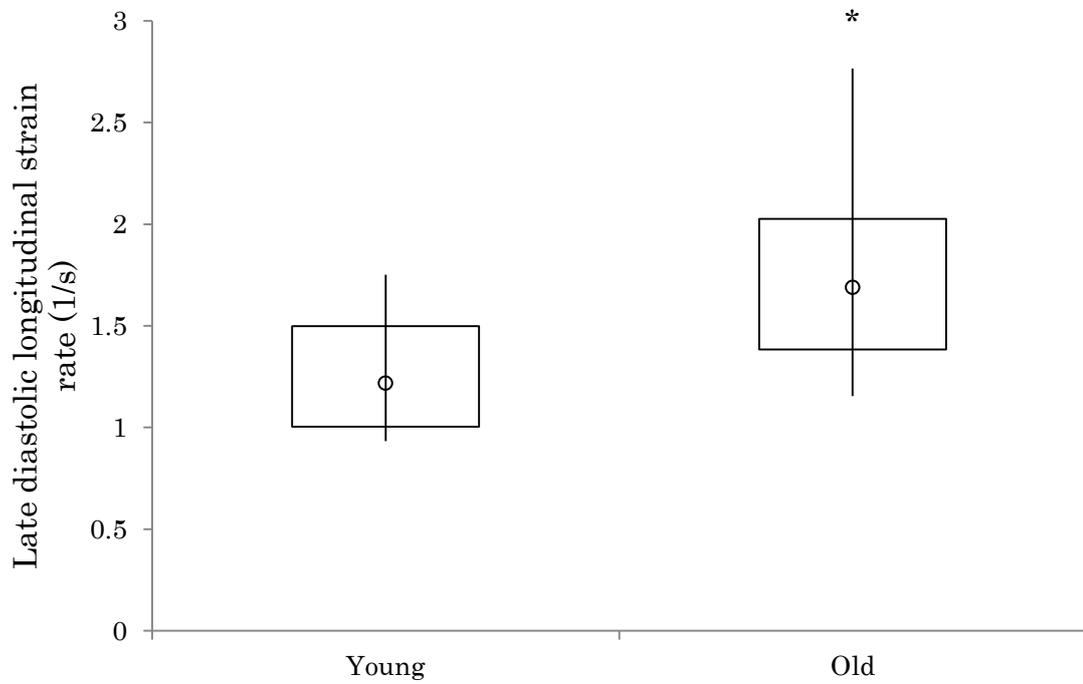
*, Within a row, values differed significantly ($P < 0.05$) between groups.

Figure 2. Box and whisker plots of early diastolic circumferential strain rate in young and old dogs. *, Values differed significantly ($P < 0.05$) between young and old dogs.



*, Within a row, values differed significantly ($P < 0.05$) between groups.

Figure 3. Box and whisker plots of late diastolic longitudinal strain rate in young and old dogs. *, Values differed significantly ($P < 0.05$) between young and old dogs.



*, Within a row, values differed significantly ($P < 0.05$) between groups.

Table 1. Characteristics and conventional echocardiographic data for healthy young and old dogs

	Young (n=17)	Old (n=15)
No. of male dogs	16	6
Body weight (kg)	9.9 ± 1.0	10.8 ± 1.4
Heart rate (beats/minute)	112 ± 21	106 ± 17
Systolic blood pressure (mmHg)	136.3 ± 25.8	142.9 ± 16.5
LA/Ao	1.3 ± 0.1	1.2 ± 0.1
LVIDd (mm)	32.0 ± 3.1	31.7 ± 4.0
LVIDs (mm)	20.0 ± 2.9	19.8 ± 3.3
Fractional shortening (%)	37.4 ± 7.3	37.6 ± 7.0
E-wave velocity (m/s)	0.82 ± 0.11	0.69 ± 0.07*
E-wave deceleration time (ms)	106 ± 19	104 ± 14
A-wave velocity (m/s)	0.49 ± 0.12	0.59 ± 0.12*
E/A ratio	1.8 ± 0.5	1.2 ± 0.3*
Em velocity (cm/s)	9.3 ± 1.9	8.3 ± 2.3
E/Em ratio	9.3 ± 2.2	8.7 ± 2.1
Am velocity (cm/s)	6.2 ± 1.4	7.6 ± 1.4
Relative wall thickness	0.50 ± 0.09	0.54 ± 0.14
Diastolic sphericity index	1.61 ± 0.14	1.56 ± 0.15
Systolic sphericity index	1.74 ± 0.2	1.74 ± 0.23

Data are expressed as means ± standard deviation. LA/Ao, left atrial to aortic root ratio; LVIDd, end-diastolic left ventricular internal dimension; LVIDs, end-systolic left ventricular internal dimension.

*, Within a row, values differed significantly ($P < 0.05$) between groups.

Table 2. Peak systolic two-dimensional speckle-tracking echocardiographic data for healthy young and old dogs

	Young	Old
Systolic Long S (%)	-14.8 ± 3.1	-14.9 ± 4.7
Systolic Long Sr (1/s)	-1.7 ± 0.3	-1.9 ± 0.4
Systolic Circ S (%)	-19.4 ± 4.4	-17.6 ± 2.5
Systolic Circ Sr (1/s)	-2.3 ± 0.4	-2.1 ± 0.5
Systolic Rad S (%)	52.4 ± 11.1	50.1 ± 12.3
Systolic Rad Sr (1/s)	3.2 ± 0.6	3.1 ± 0.5
Systolic basal rotation (°)	-4.8 ± 1.9	-3.3 ± 3.4
Systolic basal rotation rate (°/s)	-103.7 ± 27.6	-119.9 ± 44.4
Systolic apical rotation (°)	10.3 ± 5.6	12.9 ± 6.0
Systolic apical rotation rate (°/s)	132.1 ± 48.4	181.4 ± 65.1*
Systolic torsion (°)	14.7 ± 4.6	13.6 ± 5.8
Systolic torsion rate (°/s)	178.6 ± 50.5	154.7 ± 61.2

Data are expressed as means ± standard deviation.

Long S, longitudinal strain; Long Sr, longitudinal strain rate; Circ S, circumferential strain; Circ Sr, circumferential strain rate; Rad S, radial strain; Rad Sr, radial strain rate.

*, Within a row, values differed significantly ($P < 0.05$) between groups.

Table 3. Peak diastolic two-dimensional speckle-tracking echocardiographic data for healthy young and old dogs

	Young	Old
Early diastolic Long Sr (1/s)	2.5 ± 0.5	2.3 ± 0.5
Late diastolic Long Sr (1/s)	1.3 ± 0.3	1.8 ± 0.5*
Early diastolic Circ Sr (1/s)	2.6 ± 0.7	2.2 ± 0.7*
Late diastolic Circ Sr (1/s)	1.0 ± 0.5	0.9 ± 0.3
Early diastolic Rad Sr (1/s)	-4.0 ± 0.8	-3.4 ± 1.1
Late diastolic Rad Sr (1/s)	-1.8 ± 0.7	-2.4 ± 0.7*
Early diastolic basal rotation rate (°/s)	109.9 ± 37.7	80.8 ± 40.8*
Late diastolic basal rotation rate (°/s)	55.3 ± 26.3	72.6 ± 23.8
Early diastolic apical rotation rate (°/s)	-116.4 ± 58.0	-126.8 ± 54.7
Late diastolic apical rotation rate (°/s)	-48.0 ± 42.6	-41.3 ± 46.1
Early diastolic torsion rate (°/s)	-174.8 ± 49.1	-144.9 ± 48.5*
Late diastolic torsion rate (°/s)	-73.0 ± 47.8	-97.1 ± 53.5

Data are expressed as means ± standard deviation.

Abbreviations are as in Tables 2.

*, Within a row, values differed significantly ($P < 0.05$) between groups.

第 4 章 臨床例の僧帽弁閉鎖不全症に罹患した犬における
Two-dimensional speckle-tracking echocardiography 法による
長軸、短軸円周および壁厚方向心筋運動評価

1. 緒言

粘液腫様変性性僧帽弁閉鎖不全症（MMVD）は犬における最も一般的な心不全の原因であり、臨床的に重要な疾患である[28]。そして、MMVDの犬のいくらかはその慢性的な心臓リモデリングの影響から心筋機能不全に陥ることが知られている[28]。犬種（例えばキャバリアキングチャールズスパニエル）、高い心拍数および収縮機能不全がMMVDの犬におけるうっ血性心不全発症へのリスク因子として既に報告されている[38]。またMMVD犬において線維化および動脈狭小化を含む心筋の変性が病理学的に認められ[50,51]、病態の背景に収縮機能不全につながり得る心筋病変を持つ可能性が示唆されている。しかしながら、僧帽弁逆流（MR）の影響による慢性容量負荷や神経体液因子の活性化により心筋収縮機能の臨床的評価は困難である。

心筋運動の評価にはしばしば組織ドプラ法が用いられてきたが、心臓の移動、牽引や角度依存性といった制限が問題となり[17,18]、とくに左室拡大の進行したヒト患者においては心筋収縮機能との相関が弱いとされている[17]。一方、Two-dimensional speckle-tracking echocardiography (2D-STE)法は、心筋組織特有の超音波反射波をパターンマッチング法により追跡し、組織ドプラ法のような制限は受けない[19]。また2D-STE法では心筋運動を長軸、短軸円周および壁厚方向に分け、複数方向の評価が可能である。ヒトMR患者に対する2D-STE法による報告では、これら心筋運動方向別に代償運動が異なることが示唆され[20,21]、犬においても病態進行に伴う心筋運動方向別の代償的心筋機能が検出できる可能性がある。しかしながら、犬におけるMMVDの進行に伴った心筋運動変化については報告が認められない。そこで、本研究では様々なステージのMMVD犬において、複数方向の心筋運動を定量化した。私は2D-STE法で評価した複数方向の心筋運動

評価が MMVD 犬における収縮機能不全の評価に有用ではないかと仮説した。

2. 方法

供試動物

87頭のMMVDに罹患したクライアント所有の犬を研究対象とした。また20頭の年齢と体重を適合させた健常な犬をコントロール群とした。これらの犬は日本獣医生命科学大学附属動物医療センター循環器科にて心臓精査を受けた臨床症例であり、回顧的に検討した。全ての犬のオーナーから研究へ供試する同意を得た。紹介病院からの治療を既に受けている症例も組み入れた。ただし、心筋収縮機能への直接的な影響があるピモベンダンによる治療を受けている症例は除外した。MMVDの臨床診断は我々が以前報告しているように行った[75,76,110]。具体的には、2D像において、僧帽弁の逸脱および肥厚、そしてカラードプラ法によりMRを検出した症例を組み入れた。先天性心疾患や他の後天性心疾患を併発している症例は除外した。僧帽弁の心内膜炎は臨床徴候や心エコー図的に大きくて異質な疣贅病変がないことを確認し除外した。ドプラ法で評価した逆流速度3.45m/s以上の三尖弁逆流を有する症例も除外した。この速度は簡易ベルヌーイ式に当てはめると、48mmHg以上の圧較差に相当し、中等度から重度の肺高血圧症併発を示唆している。48mmHg以上の圧較差は、左房負荷を下げる治療だけでは改善されないことが報告され、肺動脈自体の器質的変化が示唆されている[121]。左室の心筋運動に対する右室の影響を考慮し、今回の研究では48mmHg以上の右房-右室圧較差のある症例は除外した。

我々はMMVDと臨床診断された全ての犬をInternational Small Animal Cardiac Health Council (ISACHC)の提唱に従って分類した[151]。オーナーへの適切な問診による臨床徴候の聴取と心エコー図検査による心拡大の有無判定によりクラスI、II、もしくはIIIのいずれかに分類した。コントロール群は、身体検査、標準肢誘導心電図検査、胸部レントゲン検査、経胸

壁心エコー図検査により異常が認められないことを確認した。コントロール群の犬は心臓関連の臨床徴候の既往もなかった。

標準的な心エコー図検査

従来からの 2D、M-モード法およびドプラ法による心エコー図検査を行った。検査は一人の検者が行い、同一の心エコー装置 (Vivid7, GE Healthcare, Tokyo, Japan.) および 3.5-6.9MHz トランスデューサーを用いて行った。全てのデータは無鎮静で右横臥位もしくは左横臥位に保定した洞調律の犬から、少なくとも連続 5 心拍以上得た。僧帽弁の逸脱および肥厚、カラードプラ法による MR ジェットの検出は右傍胸骨長軸像、右傍胸骨四腔像および左側心尖部四腔像で行った。

2D、M モード法およびドプラ法による心エコー図検査データは 4 人の計測者によって Echo-PAC ワークステーション (GE Healthcare, Tokyo, Japan) を用いて解析した。右傍胸骨短軸像大動脈弁レベルを用いて、B モード法による左房大動脈径比を計測した [84]。右傍胸骨短軸像乳頭筋もしくは腱索レベルを用いて、左室の M モード計測を leading edge-to-leading edge 法を用いて行い [85]、拡張末期心室中隔壁厚、拡張末期左室自由壁厚、拡張末期左室内径、収縮末期左室内径および左室短縮率を計測した。拡張末期心室中隔壁厚と拡張末期左室自由壁厚の和を拡張末期壁厚として算出した。左室の幾何学的評価のために、左室球状化指数および相対的壁厚を、過去の報告に従って算出した。左室球状化指数は、左室の最大長径を短径で除した値とし、拡張末期において計測した [110,111]。相対的壁厚は拡張末期壁厚を拡張末期左室内径で除した値とした [110,112]。左側心尖部四腔像より経僧帽弁血流を記録し、拡張早期血流 (E 波) 血流速のピーク値および拡張後期血流 (A 波) 血流速のピーク値を計測、E/A 比を算出した [86,87]。

左側心尖部五腔像からパルスドプラ法により大動脈血流シグナルを記録し、大動脈血流速ピーク値を計測した。前方一回拍出量（FSV）を大動脈血流シグナルの時間速度積分値と大動脈弁部断面積より推定した[89]。大動脈弁部断面積は右傍胸骨長軸像における大動脈弁領域の拡大像より得た大動脈弁輪内径の 1/2 を半径 r とした、 $\pi \times r^2$ として算出した[89]。さらに FSV は体重から推定した体表面積[122]で除し、前方一回拍出量指数（FSVI）を算出した。各変数の統計解析には連続 3 心拍の平均値を用いた。

2D-STE 法による心エコー図検査

標準的な心エコー図検査と並行して、2D-STE 法のための高画質な B モード像を、同一の検者および心エコー装置を用いて記録した。長軸方向心筋運動の評価のためには、左側心尖部四腔像を用いた[71,75]。短軸円周および壁厚方向心筋運動には、右傍胸骨短軸像乳頭筋もしくは腱索レベルを用いた[71,75]。全ての画像は 1 秒あたり 76.1-139.2 のフレームレートで取得した。全てのデータは無鎮静で右横臥位もしくは左横臥位に保定した洞調律の犬から、少なくとも連続 5 心拍以上得た。

全ての 2D-STE 法データは 4 人の計測者が Echo-PAC ワークステーション(GE Healthcare, Tokyo, Japan)を用い、我々が以前報告した方法に従って、第 2 章で示したように解析した[68,71,75,76,152]。長軸、短軸円周および壁厚方向について、同期した心電図から収縮期を判定し、ストレインおよびストレインレートのピーク値を外部ワークシート（Microsoft Office Excel 2010, Microsoft Corp., Redmond, Wash）上で計測した。各変数の統計解析には連続 3 心拍の平均値を用いた。

統計解析

データは中央値（四分位範囲）で表記した。全ての統計解析には市販の統計解析ソフト（SPSS for Windows; SPSS, Tokyo, Japan）を用いた。Kolmogorov-Smirnov test を正規性の評価に用いた。4つの異なる重症度（コントロール、クラス I、II、および III）における変数の比較には、Kruskal-Wallis 検定を用い、その後に Bonferroni 補正した Mann-Whitney U 検定により多重比較を行った。有意水準は $P < 0.008$ とした。2D-STE 法変数と心拍数、体重、および年齢の相関性を評価するために線形回帰分析を行った。有意水準は $P < 0.05$ とした。2D-STE 法の計測者間変動として、ランダムに選択した健常犬 5 頭における、繰り返しの計測を用いた変動係数により評価した。計測者内変動として、ランダムに選択した健常犬 5 頭における、異なる日での繰り返しの計測を用いた変動係数により評価した。変動係数は標準偏差を平均値で除することで算出した。

3. 結果

供試動物および標準的な心エコー図検査の結果

供試動物の特性および 2D、M モード法およびドプラ法による心エコー図検査結果は Table 1-3 に示した。年齢、体重、および体表面積に有意な相違は認められなかった。コントロール群およびクラス I の犬はすべて検査時に投薬を受けていなかった。一方、クラス II の 34% (11/32) およびクラス III の 40% (4/10) の症例は検査時に紹介病院からの治療を受けていた。クラス II の 34% (11/32) およびクラス III の 40% (4/10) の症例はアンジオテンシン変換酵素阻害薬が処方されていた。クラス III の症例は 20% (2/10) がフロセミド、10% (1/10) がスピロノラクトンを処方されていた。クラス II の 13% (4/32) およびクラス III の 30% (3/10) の症例は硝酸イソソルビドが処方されていた。本学における検査後、投薬内容は MMVD の重症度に応じて見直した。

2D-STE 法

全 1926 個のセグメントのうち、長軸像では 1845 個 (95.8%)、短軸像では 1867 個 (96.9%) の解析が可能であった。計測者間の変動係数 (最小値-最大値) は長軸方向心筋運動で 7.5-16.4%、短軸壁厚方向心筋運動で 1.6-6.5%、短軸円周方向心筋運動で 6.4-15.6%であった。計測者内の変動係数 (最小値-最大値) は長軸方向心筋運動で 0.5-6.5%、短軸壁厚方向心筋運動で 0.6-9.4%、短軸円周方向心筋運動で 0.5-10.7%であった。

2D-STE 法で評価した健常コントロール犬および MMVD 犬における収縮期心筋運動変数の結果は Table 4 および箱ひげ図は Figure 1-3 に示した。収縮期円周方向ストレインはクラス II において、クラス I およびコントロール群に比べて高値であった。 ($P = 0.002$ および $P < 0.001$)。コントロー

ル群と比べて、クラス III では円周方向ストレイン ($P < 0.001$)、壁厚方向ストレイン ($P < 0.001$) および壁厚方向ストレインレート ($P = 0.001$) が有意に高値であった。またクラス I と比べて、クラス III では円周方向ストレイン ($P = 0.001$)、壁厚方向ストレイン ($P = 0.001$) および壁厚方向ストレインレート ($P = 0.006$) が有意に高値であった。他の心筋運動変数については MMVD のいかなるステージ間およびコントロール群間で有意な相違は認められなかった。

長軸方向ストレインレート、円周方向ストレインレート、および壁厚方向ストレインレートは心拍数と有意に正の相関を示した ($\rho = -0.218, P = 0.032$ 、 $\rho = -0.200, P = 0.04$ 、および $\rho = 0.336, P = 0.001$)。長軸方向ストレインレート、円周方向ストレイン、および円周方向ストレインレートは体重と有意に正の相関を示した ($\rho = 0.283, P = 0.005$ 、 $\rho = 0.207, P = 0.035$ 、および $\rho = 0.361, P < 0.001$)。今回解析した群において、年齢と 2D-STE 法変数に相関性は認められなかった。

4. 考察

2D-STE 法で評価した円周方向および壁厚方向の収縮期心筋運動は MMVD 犬においてコントロール群に比べて、または MMVD のステージ間でも相違が認められた。これらの心筋運動は慢性容量負荷に対する代償的心筋機能を反映していると考えられた。さらに、臨床例の MMVD 犬において、代償的心筋機能は心筋運動方向別に異なっていた。従って、複数方向の心筋運動評価は MMVD 犬における心機能の臨床的評価に貢献する可能性が示唆された。

左房大動脈径比および左室拡張末期径は ISACHC 分類が重度なほど高値を示し、MR による容量負荷は MMVD が重度なほど影響が強いと考えられた。これらは左房および左室の拡大として反映されている。クラス I およびクラス II の犬はこのような容量負荷を代償し、重篤な症状発現を防いでいる。一方、クラス III の犬における心拍数、E 波速度、E/A 比の高値および FSVI の低値は重篤なうっ血性心不全症状につながる代償不全に関連し、MMVD を対象とした過去の研究における重度な所見と一致した [38,86,110]。本研究での左室短縮率に反映されるような心室運動性の亢進は、進行した MMVD の犬における容量負荷の上昇に伴う典型的な所見ではあるが、個々の心筋細胞で評価した過去の研究では心筋収縮機能は低下していることが報告されている [45,46]。左室短縮率による収縮機能評価は MR による容量負荷や神経体液因子活性化の影響で有用性が制限され [48]、本研究に組み入れた症例でも従来からの心エコー図検査変数では明確な収縮機能不全は検出できなかった。

長軸方向心筋運動ではストレインが上昇傾向を示したが、円周方向や壁厚方向とは異なり、コントロール群と比べて有意な相違は認められなかった。過去の報告でも同様に、組織ドプラ法による長軸方向ストレインおよびスト

レインレートは MMVD に起因したうっ血性心不全症状のある犬とない犬で差が認められなかった[16]。一方、左室の幾何学的評価の指標とした相対的壁厚および左室球状化指数には有意に相違が認められた。慢性的な容量負荷に対して心筋細胞の菲薄や伸長、遠心性心拡大などの心臓リモデリング（球状化）が慢性的に進行していることは、MMVD 犬で見られた相対的壁厚の低値に関与していると考えられた。また、球状化指数の低値も MMVD の進行に伴う左室の段階的な球状化を示唆し、MR の犬[36,110]およびヒト患者[111]での過去の報告に一致した。より球状化した心臓は増加した壁応力の結果であり、心筋線維の配列異常に関連するとされている[111]。従って、これらの所見は高い壁応力と心筋線維の配列異常がより重度な MMVD の犬ほど存在することを示唆し、本研究で長軸方向心筋運動に有意な相違が認められなかったことに関係している可能性が考えられた。これらの仮説は、ヒトにおいて拡大した左室での壁応力が円周方向よりも長軸方向で大きいこと[123]や、容量負荷や圧負荷を変動させた際のマイクロマノメーターで評価した壁応力と 2D-STE 法で評価した長軸方向心筋運動とが逆相関すること[124]により裏付けられると考えられた。

対照的に、円周方向ストレインはクラス II において、クラス I およびコントロール群に比べて有意に高値であり、クラス III とは相違が認められなかった。円周方向心筋運動は心疾患のヒト患者において心ポンプ機能の維持に重要な役割を担っているとされ[79,125]、長軸方向心筋運動が障害された心血管系リスク因子を持つ無症候性のヒト患者では代償的な円周方向心筋運動が働くとされている[80]。従って、MMVD 犬においても円周方向心筋運動の高値は容量負荷を代償し心ポンプ機能を維持するのに貢献していると考えられた。正常な犬の心臓において、円周方向由来の心筋線維は長軸方向由来の約 10 倍と報告され[99]、この解剖学的な心筋線維の走行から長軸

方向よりも円周方向心筋運動がより心筋収縮に貢献していると考えられる。さらに、心筋の非圧縮性という性質のために円周方向への心筋線維短縮はそれに直交する線維方向（つまり左室内腔へ向かう中心方向）の短縮を生み出し、壁厚増加に大きく貢献する[126]。この概念からすると大きな円周方向心筋運動は十分な一回拍出量のための壁厚増加を引き起こすと考えられる。本研究では、クラス III の円周方向ストレインはクラス II と比べて高値ではなかった。この結果はクラス III の犬における前方拍出量の低下と重度なうっ血所見に関連している可能性があり、クラス III の犬における重篤な心不全症状の発現に寄与している可能性が考えられた。相対的壁厚と球状化指数が示すように、壁応力の増加と心筋線維の配列異常はクラス II に比べてクラス III においてより重度と考えられ、本研究において円周方向の更なる代償運動を制限した可能性がある。そして、円周方向心筋運動の代償破綻はより重度な心筋機能障害を示唆し、心不全症状の進行と関連していると考えられた。

本研究において、壁厚方向心筋運動は最も重度なクラス III の MMVD 犬において他の群に比べて有意に高値であった。過去の報告では、長軸方向、円周方向、および壁厚方向の十分な組み合わせによる心筋運動は効率の良い一回拍出量に寄与するとされている[100]。クラス III の MMVD 犬における前方拍出量の低値、壁厚方向ストレインおよびストレインレートの高値を考えると、壁厚方向心筋運動の増加は有効な前方拍出の増加ではなく、逆流量の増加に貢献した可能性が考えられた。重度 MMVD 犬における円周方向心筋運動のさらなる代償的増加を伴わない壁厚方向心筋運動のみの増加は、心ポンプ機能には非効率的で、クラス III の犬の重度な臨床徴候につながる可能性が考えられた。クラス III の犬は心拍数も他の群に比べて高値であり、いくつかの 2D-STE 法変数は心拍数との相関性が認められた。高い心拍数

は MMVD の進行に伴う交感神経系の活性化に関連し、2D-STE 法で評価した心筋運動に影響を与えた可能性がある。

本研究ではいくつかの制限が存在する。まずは回顧的な研究デザインが挙げられ、1人以上の計測者による解析は本研究の結果に影響を与えている可能性がある。次に、投薬による 2D-STE 法変数への影響が挙げられる。回顧的な研究デザインと我々の施設が一次病院からの紹介を主とした二次病院であることから、本研究の犬の中には投薬治療が行われている症例が少なからず存在した。このような循環器系薬剤は心筋運動変数にも影響する可能性があり、本研究結果の解釈を困難にしている。3つ目として、ドプラ法による三尖弁逆流に基づいて中等度から重度の肺高血圧症を検出したことが挙げられる。三尖弁逆流が検出できない肺高血圧症患者を組み入れている可能性がある。また、肺高血圧症の併発頻度や重症度は MMVD の重症度が増すにつれ増加するとされ、特に ISACHC クラス III の犬において肺高血圧症の併発はより一般的である [121]。本研究では中等度から重度の肺高血圧症を併発した患者を除外しているため、今回の結果は犬における MMVD の本来の経過や病態進行を反映しないかもしれない。最後に、今回の研究は重症度のことなる犬における心筋運動の相違の検討であり、同一患者における心筋運動変化の検討ではない。今後、同一患者における症状や病態の推移と心筋運動変数の関係性や予後への有用性などの検討が期待される。

5. 小括

MMVD 犬において円周方向心筋運動は前方拍出量の維持に重要な役割を果たしている可能性が考えられた。また臨床例の MMVD 犬の病態進行において、代償的心筋機能は心筋運動方向別に異なっていた。複数方向心筋運動による収縮機能評価は MMVD 犬におけるより詳細な心機能の臨床的評価に貢献しうると考えられた。

なお、この第 4 章における主な内容は *Journal of veterinary cardiology : the official journal of the European Society of Veterinary Cardiology*, 2013 にて公表した[75]。

6. 図表

Figure 1. Box and whisker plots of Longitudinal strain (A) and strain rate (B) in dogs with myxomatous mitral valve disease and healthy controls. ISACHC, International Small Animal Cardiac Health Council.

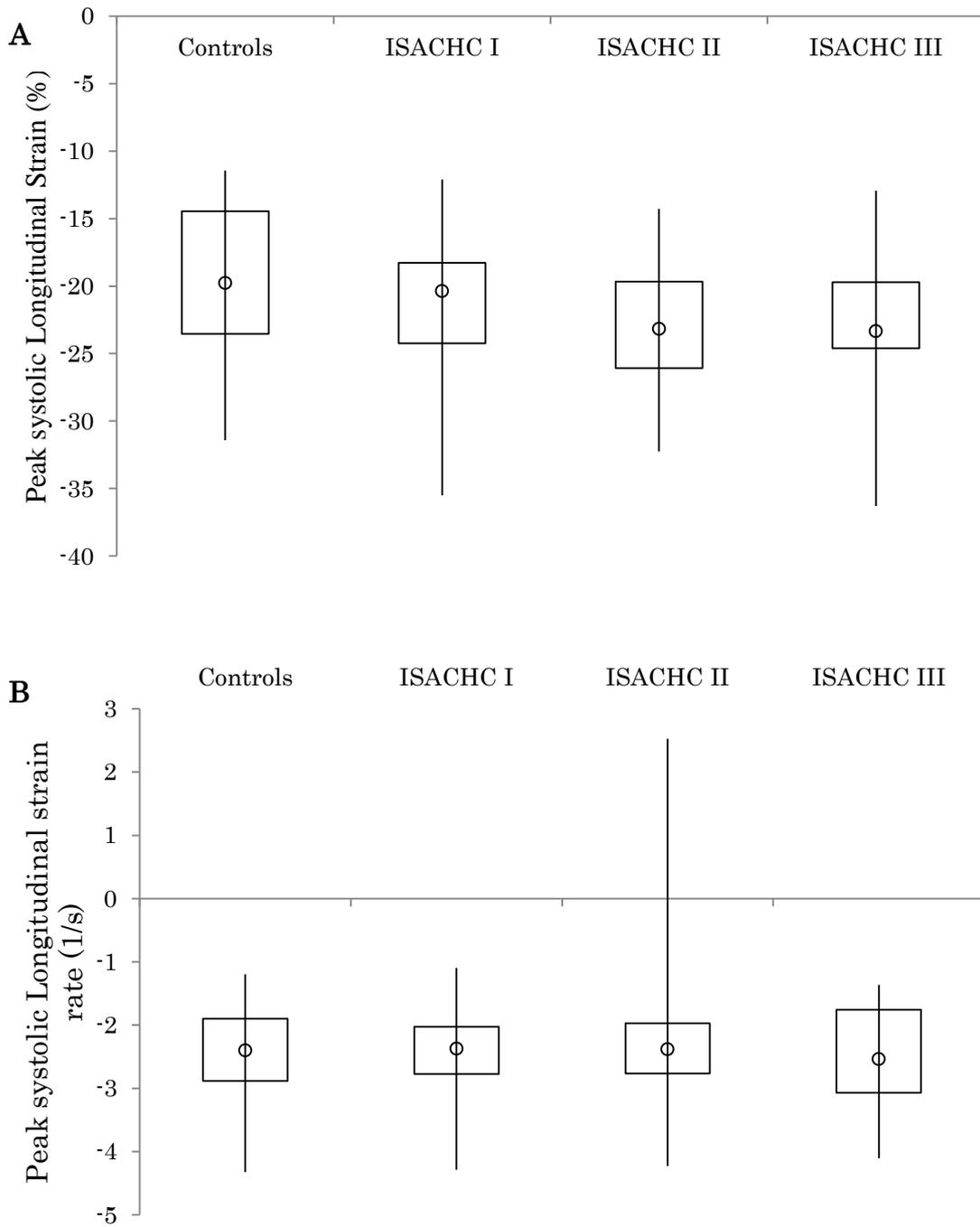
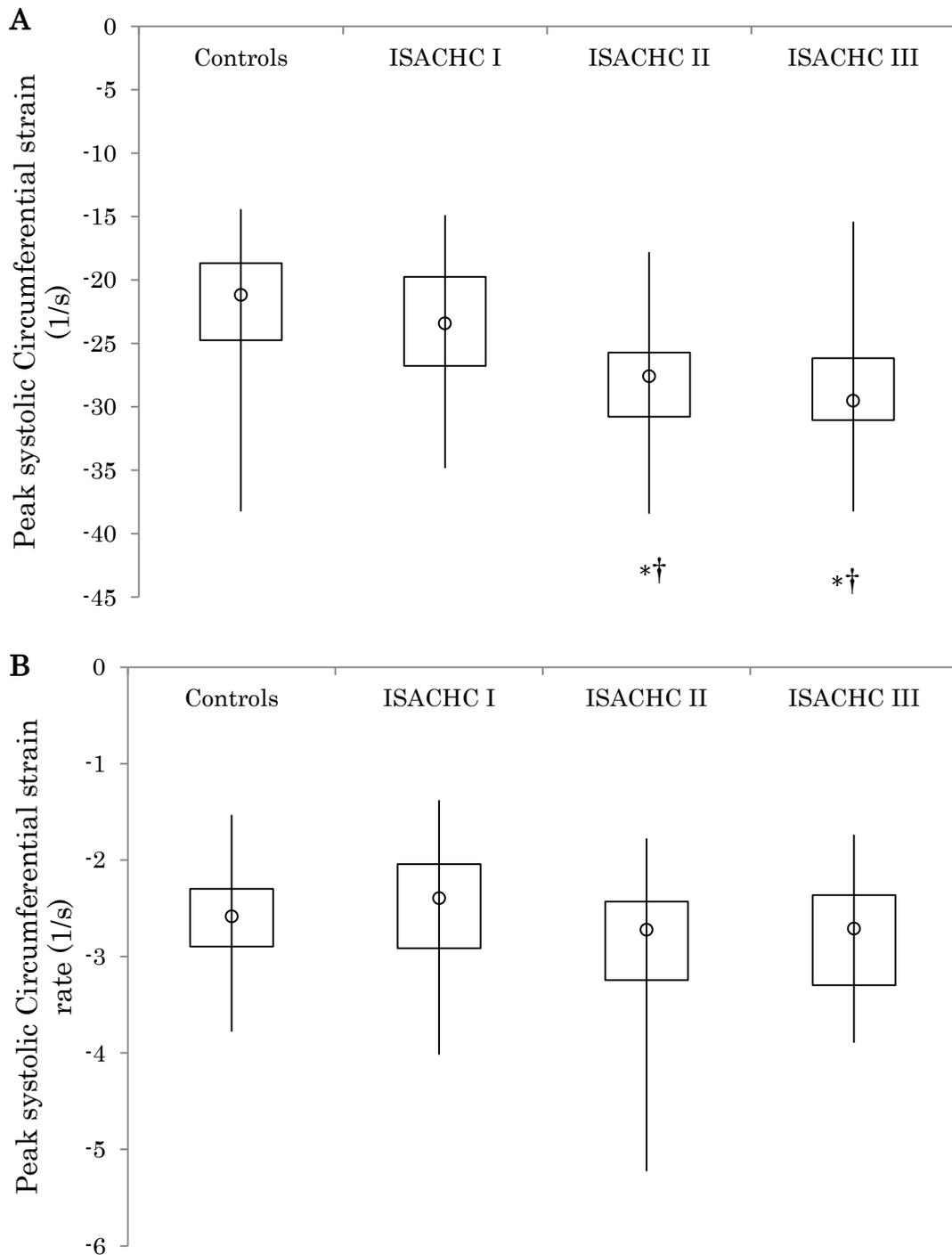


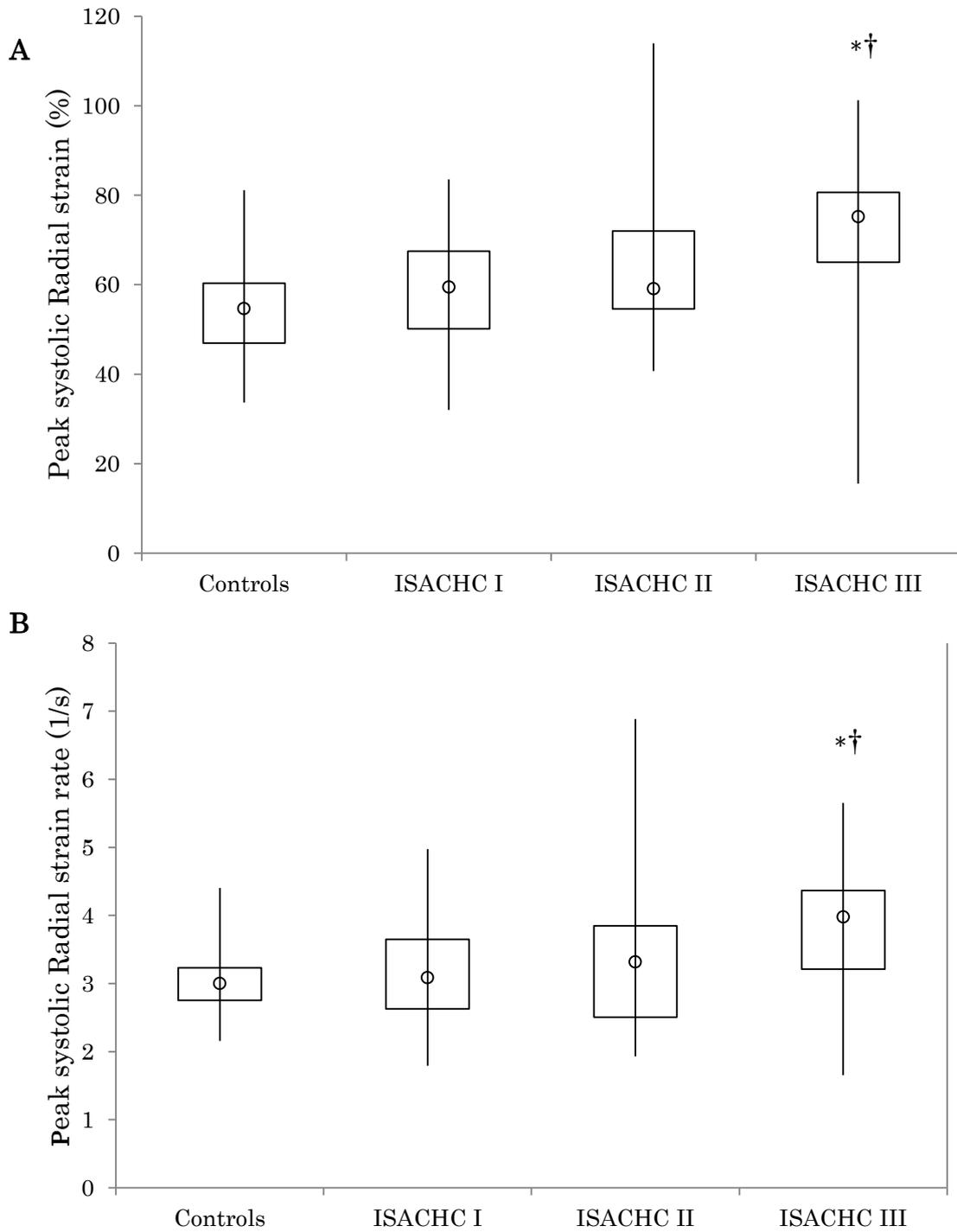
Figure 2. Box and whisker plots of Circumferential strain (A) and strain rate (B) in dogs with myxomatous mitral valve disease and healthy controls. ISACHC, International Small Animal Cardiac Health Council.



*, Within a row, values differed significantly ($P < 0.008$) from controls.

†, Within a row, values differed significantly ($P < 0.008$) from class I.

Figure 3. Box and whisker plots of Radial strain (A) and strain rate (B) in dogs with myxomatous mitral valve disease and healthy controls. ISACHC, International Small Animal Cardiac Health Council.



*, Within a row, values differed significantly ($P < 0.008$) from controls.

†, Within a row, values differed significantly ($P < 0.008$) from class I.

Table 1. Characteristics and clinical data for healthy controls and dogs with myxomatous mitral valve disease

	ISACHC classification			
	Controls	I	II	III
Number of dogs	20	45	32	10
Number of male dogs	9	24	19	7
Number of breeds	10	18	10	6
Age (years)	9.8 (8.8-10.8)	10.8 (9.0-12.0)	12.0 (9.8-13.0)	11.5 (8.8-12.0)
Body weight (kg)	6.5 (5.9-9.9)	7.1 (4.4-8.5)	7.1 (3.9-9.1)	6.5 (4.9-9.0)
Heart rate (beats/minute)	106 (93-128)	111 (95-132)	110 (102-133)	136 [†] (116-145)

Data are expressed as medians (interquartile ranges).

ISACHC, International Small Animal Cardiac Health Council.

†, Within a row, values differed significantly ($P < 0.008$) from class I.

Table 2. Conventional 2D and M-mode echocardiographic data for healthy controls and dogs with myxomatous mitral valve disease

	ISACHC classification			
	Controls	I	II	III
LA/Ao	1.4 (1.3-1.5)	1.6* (1.3-1.8)	1.9*† (1.6-2.3)	2.6*‡ (2.3-2.9)
LVIDd (mm)	24 (22-27)	29 (23-32)	33*† (27-36)	37*† (31-43)
LVIDs (mm)	14 (13-16)	16 (12-20)	17 (14-20)	18 (14-20)
Fractional shortening (%)	39 (35-41)	42 (36-48)	49*† (45-51)	49*† (45-57)
Relative wall thickness	0.57 (0.54-0.67)	0.54 (0.46-0.62)	0.41*† (0.33-0.46)	0.34*‡ (0.31-0.40)
Sphericity index	1.52 (1.40-1.64)	1.33* (1.19-1.46)	1.22* (1.11-1.31)	1.05*‡ (0.94-1.17)

Data are expressed as medians (interquartile ranges).

LA/Ao, Left atrial to aortic root ratio; LVIDd, End-diastolic left ventricular internal dimension; LVIDs, End-systolic left ventricular internal dimension; ISACHC, International Small Animal Cardiac Health Council.

*, Within a row, values differed significantly ($P < 0.008$) from controls.

†, Within a row, values differed significantly ($P < 0.008$) from class I.

‡, Within a row, values differed significantly ($P < 0.008$) from class II.

Table 3. Conventional Doppler echocardiographic data for healthy controls and dogs with myxomatous mitral valve disease

	ISACHC classification			
	Controls	I	II	III
E wave velocity (m/s)	0.64 (0.54-0.84)	0.83 (0.62-0.98)	1.22*† (0.98-1.31)	1.63*‡ (1.46-1.69)
A wave velocity (m/s)	0.67 (0.53-0.76)	0.72 (0.60-0.90)	0.83* (0.73-0.98)	0.84 (0.60-1.04)
E/A ratio	1.0 (0.9-1.3)	1.0 (0.9-1.2)	1.3† (1.0-1.7)	2.0† (1.6-2.8)
Forward stroke volume index (mL/m ²)	37 (33-44)	38 (28-45)	36 (26-44)	25*† (18-38)
Number of dogs with TR (%)	0 (0)	11 (24)	13 (41)	8 (80)
Mean TR velocity (m/s)	-	2.6	2.9	3.0

Data are expressed as medians (interquartile ranges).

TR, Tricuspid regurgitation; ISACHC, International Small Animal Cardiac Health Council.

*, Within a row, values differed significantly ($P < 0.008$) from controls.

†, Within a row, values differed significantly ($P < 0.008$) from class I.

‡, Within a row, values differed significantly ($P < 0.008$) from class II.

Table 4. Peak systolic two-dimensional speckle-tracking echocardiographic data for healthy controls and dogs with myxomatous mitral valve disease

	ISACHC classification			
	Controls	I	II	III
Systolic Circ S (%)	-21 (-25--19)	-23 (-27--20)	-28*† (-30--25)	-30*† (-32--27)
Systolic Circ Sr (/s)	-2.6 (-2.9--2.3)	-2.4 (-2.9--2.0)	-2.7 (-3.0--2.3)	-2.9 (-3.3--2.6)
Systolic Rad S (%)	55 (47-60)	60 (50-67)	59 (53-69)	75*† (71-76)
Systolic Rad Sr (/s)	3.0 (2.8-3.2)	3.1 (2.6-3.6)	3.3 (2.6-3.7)	4.0*† (3.4-4.3)
Systolic Long S (%)	-19 (-23--14)	-20 (-24--18)	-23 (-26--19)	-24 (-30--22)
Systolic Long Sr (/s)	-2.4 (-2.8--1.9)	-2.4 (-2.8--2.0)	-2.4 (-2.7--1.8)	-2.3 (-2.9--1.9)

Data are expressed as medians (interquartile ranges).

Circ S, Circumferential strain; Circ Sr, Circumferential strain rate; Rad S, Radial strain; Rad Sr, Radial strain rate; Long S, Longitudinal strain; Long Sr, Longitudinal strain rate; ISACHC, International Small Animal Cardiac Health Council.

*, Within a row, values differed significantly ($P < 0.008$) from controls.

†, Within a row, values differed significantly ($P < 0.008$) from class I.

第 5 章 臨床例の僧帽弁閉鎖不全症に罹患した犬における
Two-dimensional speckle-tracking echocardiography 法による
捻れ方向心筋運動評価

1. 緒言

粘液腫様変性性僧帽弁閉鎖不全症（MMVD）は犬における最も一般的な心不全の原因であり、臨床的に重要な疾患である[28]。そして、MMVDの犬のいくらかはその慢性的な心臓リモデリングの影響から心筋収縮機能不全に陥る[28]。左室駆出率で評価された収縮機能不全は僧帽弁逆流（MR）を有するヒト患者において有害事象のリスクを上昇させると報告され[127]、慢性MR患者に対する収縮機能の詳細な評価は外科的治療介入の最適時期決定にも重要な因子とされている[55]。また収縮機能不全はMMVDによる中等度の心不全を有する犬においても証明され[47]、生存期間の短縮と関連があるとされている[38]。第4章では、臨床例のMMVD犬におけるTwo-dimensional speckle-tracking echocardiography（2D-STE）法による心筋運動評価によって心筋運動方向別の代償関係や収縮機能障害が示唆された。

心筋捻れ運動は心筋線維本来のらせん方向収縮運動を直接的に反映しており[99,100]、より感度のよい心筋機能評価方法とされ、潜在的な心筋機能障害の検出にも有用とされている[22,23,26,79,91]。従来、この捻れ運動は放射線不透過性マーカーの埋め込み[128]、ソノマイクロメトリー[129]、磁気共鳴画像法[130]のような侵襲的もしくは麻酔を要する手技でしか評価できず、臨床的に評価することは困難であった。近年2D-STE法が登場し、この捻れ運動を非侵襲的、無麻酔で、かつ簡便に評価できるようになった[22,23]。犬における2D-STE法による心筋捻れ運動評価は主に健常犬において行われ[65,66,68,71]、心疾患を有する犬では報告がない。従って、本研究では様々な重症度のMMVD犬および体重と年齢を合わせた健常コントロール群において、心筋捻れ運動を定量化した。

2. 方法

供試動物

67頭のMMVDに罹患したクライアント所有の犬を研究対象とした。また16頭の年齢と体重を適合させた健常な犬をコントロール群とした。これらの犬は日本獣医生命科学大学附属動物医療センター循環器科にて心臓精査を受けた臨床症例であり、回顧的に検討した。全ての犬のオーナーから研究へ供試する同意を得た。紹介病院からの治療を既に受けている症例も組み入れた。ただし、心筋収縮機能への直接的な影響があるピモベンダンによる治療を受けている症例は除外した。MMVDの臨床診断は第4章で示したように行い、全ての犬をInternational Small Animal Cardiac Health Council (ISACHC)の提唱に従って分類した[151]。コントロール群は、身体検査、標準肢誘導心電図検査、胸部レントゲン検査、経胸壁心エコー図検査により異常が認められないことを確認した。コントロール群の犬は心臓関連の臨床徴候の既往もなかった。

標準的な心エコー図検査

従来からの2D、M-モード法およびドプラ法による心エコー図検査を行った。検査は一人の検者が行い、同一の心エコー装置(Vivid7, GE Healthcare, Tokyo, Japan.) および3.5-6.9MHzトランスデューサーを用いて行った。全てのデータは無鎮静で右横臥位もしくは左横臥位に保定した洞調律の犬から、少なくとも連続5心拍以上得た。僧帽弁の逸脱および肥厚、カラードプラ法によるMRジェットの検出は右傍胸骨長軸像、右傍胸骨四腔像および左側心尖部四腔像で行った。

2D、Mモード法およびドプラ法による心エコー図検査データは4人の計測者によってEcho-PACワークステーション(GE Healthcare, Tokyo,

Japan)を用いて第 4 章で示したように解析した。各変数の統計解析には連続 3 心拍の平均値を用いた。

2D-STE 法による心エコー図検査

標準的な心エコー図検査と並行して、2D-STE 法のための高画質な B モード像を、同一の検者および心エコー装置を用いて記録した。捻れ運動評価のために、右傍胸骨短軸像僧帽弁レベルおよび心尖部レベルを用いた^{71,76}。僧帽弁レベルは心周期を通して左室が円形に描出され僧帽弁が見える断面とし、心尖部レベルは乳頭筋レベルよりも下部で円形な左室腔が最小に描出される断面として、十分に注意して取得した。全ての画像は 1 秒あたり 76.1-139.2 のフレームレートで取得した。全てのデータは無鎮静で右横臥位もしくは左横臥位に保定した洞調律の犬から、少なくとも連続 5 心拍以上得た。

全ての 2D-STE 法データは 4 人の計測者が Echo-PAC ワークステーション(GE Healthcare, Tokyo, Japan)を用い、我々が以前報告した方法に従って、第 2 章で示したように解析した[68,71,75,76,152]。捻れ運動について、僧帽弁レベルおよび心尖部レベルにおける 1 心周期の回転運動プロファイルワークシート (Microsoft Office Excel 2010, Microsoft Corp., Redmond, Wash) に展開、同期した心電図から収縮期を判定し、回転運動および回転速度のピーク値を計測した。さらに、僧帽弁レベルと心尖部レベルにおけるフレーム値を差し引きし、1 心周期の捻れ運動プロファイルを展開、心電図同期より収縮期を判定し、捻れ運動および捻れ速度のピーク値を計測した。心尖部から見て反時計方向への回転および捻れ運動を正として表記した。フレーム数に差がある場合は適切にフレーム数を合わせ、捻れ運動プロファイルを作成した。各変数の統計解析には連続 3 心拍の平均値を用

いた。

統計解析

データは中央値（四分位範囲）で表記した。全ての統計解析には市販の統計解析ソフト（SPSS for Windows; SPSS, Tokyo, Japan）を用いた。Kolmogorov-Smirnov test を正規性の評価に用いた。4つの異なる重症度（コントロール、クラス I、II、および III）における変数の比較には、Kruskal-Wallis 検定を用い、その後に Bonferroni 補正 Mann-Whitney U 検定により多重比較を行った。有意水準は $P < 0.008$ とした。2D-STE 法変数と心拍数、体重、および年齢の相関性を評価するために線形回帰分析を行った。有意水準は $P < 0.05$ とした。2D-STE 法の計測者間変動として、ランダムに選択した健常犬 5 頭における、繰り返しの計測を用いた変動係数により評価した。計測者内変動として、ランダムに選択した健常犬 5 頭における、異なる日での繰り返しの計測を用いた変動係数により評価した。変動係数は標準偏差を平均値で除することで算出した。

3. 結果

供試動物および標準的な心エコー図検査の結果

供試動物の特性および 2D、M モード法およびドプラ法による心エコー図検査結果は Table 1-3 に示した。年齢、体重、および体表面積に有意な相違は認められなかった。コントロール群およびクラス I の犬はすべて検査時に投薬を受けていなかった。一方、クラス II の 61% (11/18) およびクラス III の 70% (7/10) の症例は検査時に紹介病院からの治療を受けていた。クラス II の 61% (11/18) およびクラス III の 70% (7/10) の症例はアンジオテンシン変換酵素阻害薬が処方されていた。クラス III の症例は 20% (2/10) がフロセミド、およびスピロノラクトンを処方されていた。クラス II の 22% (4/18) およびクラス III の 60% (6/10) の症例は硝酸イソソルビドが処方されていた。本学における検査後、投薬内容は MMVD の重症度に応じて見直した。

2D-STE 法

全 1494 個のセグメントのうち、心基部短軸像では 1470 個 (98.4%)、心尖部短軸像では 1452 個 (97.2%) の解析が可能であった。計測者間の変動係数 (最小値-最大値) は 0.7-16.6%であった。計測者内の変動係数 (最小値-最大値) は 0.6-9.4%であった。

2D-STE 法で評価した健常コントロール犬および MMVD 犬における収縮期捻れ運動変数の結果は Table 4 および Figure 1-2 に示した。コントロール群と比べて、クラス I では収縮期捻れ運動 ($P = 0.003$)、収縮期捻れ速度 ($P = 0.002$)、心尖部捻れ運動 ($P = 0.004$)、および心尖部捻れ速度 ($P = 0.003$) が有意に低値であった。またクラス I と比べて、クラス II では収縮期捻れ運動が有意に高値であった ($P < 0.001$)。クラス III ではクラス

II およびコントロール群と比べて、収縮期捻れ運動が有意に低値であった ($P = 0.001$ および $P = 0.003$)。他の心筋運動変数については MMVD のいかなるステージ間およびコントロール群間で有意な相違は認められなかった。

4. 考察

2D-STE 法で評価した心筋捻れ運動は、各ステージにおける MMVD 犬において異なっており、これらの運動は心筋の代償機能を反映していると考えられた。クラス I の無症候性 MMVD に比べて、クラス II の症候性 MMVD では心筋捻れ運動が高値であり、代償的心筋機能の亢進を反映し、潜在的な心筋機能変化の早期検出に有用と考えられた。さらに、代償不全に陥ったクラス III の MMVD 犬で見られた捻れ運動の低値は、潜在的な収縮機能不全を反映している可能性があり、これらの犬における重篤な臨床徴候に寄与していると考えられた。ヒト医学では、このような 2D-STE 法による収縮機能評価が MR 患者の外科的治療介入の時期決定に役立っている[59-61]。従って、2D-STE 法による心筋運動の詳細な評価は MMVD 犬において外科的治療がより一般的となった際により重要となる可能性がある。この研究は MMVD と臨床診断された犬を対象に、2D-STE 法による心筋捻れ運動を評価した最初の報告である。

左房大動脈径比および左室拡張末期径は ISACHC 分類が重度なほど高値を示し、MR による容量負荷は MMVD が重度なほど影響が強いと考えられた。これらは左房および左室の拡大として反映されている。クラス I およびクラス II の犬はこのような容量負荷を代償し、重篤な症状発現を防いでいる。一方、クラス III の犬における心拍数、E 波速度、E/A 比の高値および FSVI の低値は重篤なうっ血性心不全症状につながる代償不全に関連し、MMVD を対象とした過去の研究における重度な所見と一致した[38,75,86,110]。本研究での左室短縮率に反映されるような心室運動性の亢進は、進行した MMVD の犬における典型的な所見ではあるが、過去の研究における個々の心筋細胞で評価した心筋収縮機能では低下していることが報告されている[45,46]。左室短縮率による収縮機能評価は、MR による容

量負荷や神経体液因子活性化の影響のため有用性が制限されることが知られている[48]。本研究に組み入れた症例において、従来からの心エコー図検査変数である左室短縮率では収縮性は亢進しており、明確な収縮機能不全は検出できなかった。

左室の捻れ運動は心筋線維本来の収縮運動により決定され、左室内における心内膜側心筋線維と心外膜側心筋線維の動的な相互作用で捻れ運動が生み出される[99,100]。したがって、心筋捻れ運動は心内膜側心筋機能と心外膜側心筋機能のバランスやレバーアームの長さの差異を反映する[22,23,91]。レバーアームは心内膜側心筋と心外膜側心筋の半径として表される。今回のクラス I の MMVD 犬では、コントロール群に比べて、収縮期捻れ運動、収縮期捻れ速度、心尖部捻れ運動、および心尖部捻れ速度が有意に低値であった。クラス I では左房大動脈径比が有意に高値であり、拡張末期左室内径や左室短縮率も高値傾向、左室の幾何学的変化の指標とした相対的壁厚および球状化指数は低値傾向であった。左室捻れ運動が心筋線維本来の収縮運動を直接的に反映していることを考えると、低い捻れ運動変数は有意な逆流による壁応力の減少を反映している可能性が考えられた。

左室壁厚の減少で示されるように、クラス II の MMVD 犬ではクラス I に比べて、心内膜側心筋と心外膜側心筋のレバーアームの差異が減少していた。これにもかかわらず、クラス II ではクラス I に比べて、心筋捻れ運動が高値であった。故に、MMVD クラス II の犬で見られた心筋捻れ運動の高値は、心内膜側心筋の心筋機能低下と心外膜側心筋の心筋機能亢進を反映していると考えた。心筋細胞の菲薄や伸長、遠心性拡大などの心臓リモデリング（球状化）が慢性的に進行していることは心拍出量を維持するための代償的適応と考えられ、今回左室の幾何学的変化の指標とした相対的壁厚および球状化指数は MMVD が重度なほど低値を示した。これらの所見は MMVD

の進行に伴い容量負荷が増大するため、壁応力が上昇し、心筋線維の配列異常が進行していることを示唆し、心内膜側心筋機能を制限する可能性が考えられた。さらに、心内膜側心筋線維は MMVD の犬で想定される微小冠動脈の狭小化や線維化の影響[50,51]を受けやすいため、心筋機能は心外膜側よりも心内膜側でより早期に低下すると考えられている[131]。また心内膜側心筋と心外膜側心筋は協調して駆出期における心筋壁内ストレスとストレイン勾配を均一にしているため[93]、心内膜側心筋機能の低下は心外膜側心筋機能の増加により代償されると考えられる。したがって、心内膜側心筋機能の低下および心外膜側心筋機能の代償的増加の相乗によって、クラス II の MMVD 犬で見られた捻れ運動の増強が説明できる。臨床的に、心筋捻れ運動の高値は代償的心筋機能の亢進を反映し、潜在的な心内膜側心筋機能障害の検出に感度の良い指標と考えられた。

代償期であるクラス II やコントロール群の犬に比べて、クラス III の MMVD 犬は重篤な臨床徴候を呈し、捻れ運動も低値であった。慢性 MR モデルを用いた過去の研究では、同一個体の慢性期において急性期に比べて心筋捻れ運動が減少することが報告されている[132,133]。クラス III の犬で見られた捻れ運動の低値は心外膜側心筋機能の代償運動が破綻し、さらに壁厚の低値が示すようなレバーアーム差異の減少の結果である可能性が考えられた。クラス III の犬における相対的壁厚や球状化指数の低値から考えると、壁応力増加や心筋線維の配列異常はコントロール群や他の MMVD 群に比べて最も重度であると推測された。重度な壁応力増加や心筋線維の配列異常は心内膜側心筋のみならず、心外膜側心筋機能までも障害している可能性が考えられた。MMVD 進行に伴う細胞レベルのリモデリング[45,46]やサルコメア機能障害[134]もまた心筋線維の収縮に関与していると思われる。またクラス II および III の症例は投薬による治療をうけているにもかかわらず

ず、クラス III の捻れ運動変数の多くは他の群に比べて高値ではなく、収縮期捻れ運動はクラス II およびコントロール群に比べて有意に低値であった。このこともまた重度な MMVD 犬における収縮機能不全の存在を支持すると考えられた。

左室捻れ運動は心筋内における酸素需要勾配を均一化し、故に酸素消費量の最小化および心筋のエネルギー動態や効率の適正化に係わるメカニズムでもある[101-103]。ヒト[135]および犬[46]の両方における MR 患者において、心筋機能障害は臨床徴候の増悪に寄与するとされている。したがって、心筋捻れ運動の評価は、MMVD 犬における心不全徴候に関係する可能性があり、より重度な MMVD 患者の早期層別化に役立つものと考えられた。

本研究にはいくつかの制限が存在する。まず、捻れ運動の算出には同一心拍ではない僧帽弁レベルと心尖部レベル短軸像の断面を用いた。しかし、我々はこれらの画像を注意深く取得し、フレームレートや動物の状態もできる限り同一にして記録した。2つ目の制限は、今回の研究が非侵襲的な臨床研究であり、心機能評価のゴールドスタンダードとされている侵襲的な方法による厳密な心筋収縮性を評価できなかったことである。3つ目として、ドプラ法による三尖弁逆流に基づいて中等度から重度の肺高血圧症を検出したことが挙げられる。三尖弁逆流が検出できない肺高血圧症患者を組み入れている可能性がある。さらに、投薬による 2D-STE 法変数への影響が挙げられる。循環器系薬剤は心筋運動変数にも影響する可能性があり、本研究結果の解釈を困難にしている。最後に、今回の研究は重症度のことなる犬における心筋運動の相違の検討であり、同一患者における心筋運動変化の検討ではないことも制限と考えられる。

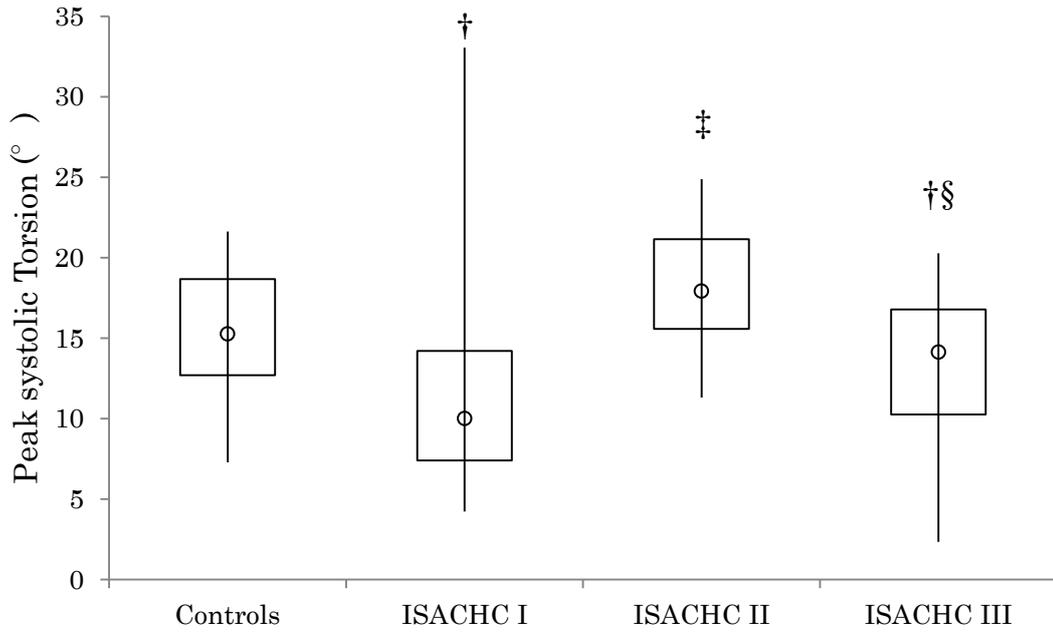
5. 小括

2D-STE 法で評価した心筋捻れ運動は、様々な重症度の MMVD 犬において異なっており、これらの運動は心筋の代償機能を反映していると考えられた。重度 MMVD 犬で見られた捻れ運動の低値は、潜在的な収縮機能不全に貢献し、これらの犬における重篤な臨床徴候に関係していると考えられた。2D-STE 法による心筋捻れ運動評価は、MMVD の犬においてより詳細な収縮機能評価を可能にするものと考えられた。同一患者における病態推移との関係性や予後評価への有用性などについては更なる検討が必要である。

なお、この第 5 章における主な内容は *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine, 2013* にて公表した[76]。

6. 図表

Figure 1. Box and whisker plots of peak systolic Torsion in dogs with myxomatous mitral valve disease and healthy controls. ISACHC, International Small Animal Cardiac Health Council.

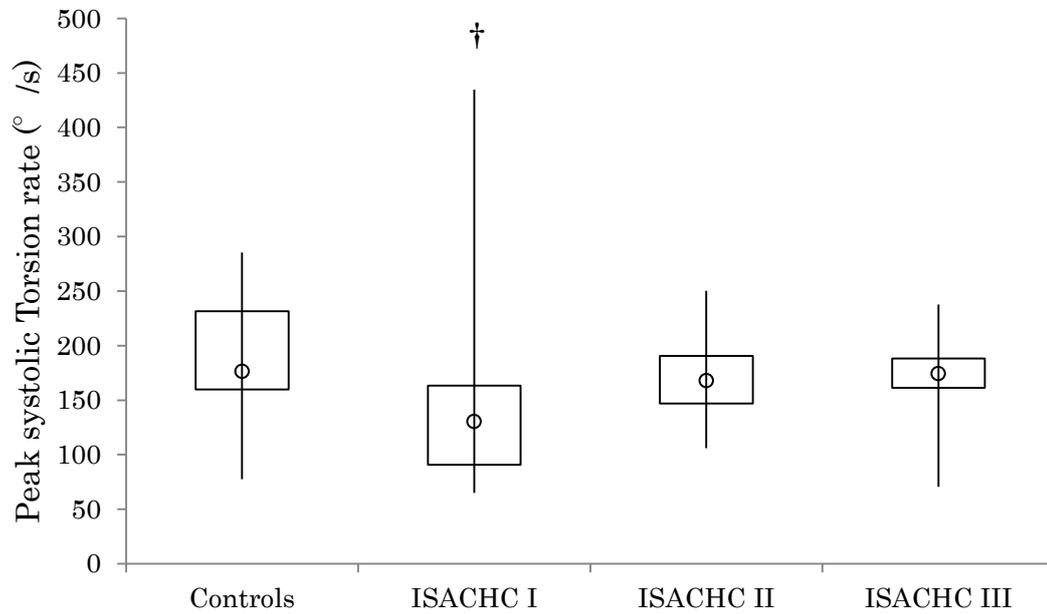


†, Within a row, values differed significantly ($P < 0.008$) from controls.

‡, Within a row, values differed significantly ($P < 0.008$) from class I.

§, Within a row, values differed significantly ($P < 0.008$) from class II.

Figure 2. Box and whisker plots of peak systolic Torsion rate in dogs with myxomatous mitral valve disease and healthy controls. ISACHC, International Small Animal Cardiac Health Council.



†, Within a row, values differed significantly ($P < 0.008$) from controls.

Table 1. The clinical characteristics in healthy controls and dogs with myxomatous mitral valve disease

	ISACHC classification			
	Controls	I	II	III
Number of dogs	16	39	18	10
Number of breeds	7	14	8	8
Number of male dogs	9	19	9	8
Age (years)	9.8 (9.6–11.1)	10.8 (9.0–12.0)	11.5 (9.3–12.8)	10.2 (8.6–12.0)
Body weight (kg)	6.6 (6.3–9.9)	7.1 (4.5–8.4)	6.9 (5.4–8.5)	7.0 (6.0–7.3)
Heart rate (beats/minute)	113 (93–131)	110 (94–133)	109 (101–134)	130‡ (123–143)

Data are expressed as medians (interquartile ranges).

‡, Within a row, values differed significantly ($P < 0.008$) from class I.

ISACHC, International Small Animal Cardiac Health Council.

Table 2. Conventional 2D and M-mode echocardiographic data in healthy controls and dogs with myxomatous mitral valve disease

	ISACHC classification			
	Controls	I	II	III
LA/Ao	1.4 (1.3-1.4)	1.6 [†] (1.3-1.8)	1.9 ^{†‡} (1.7-2.3)	2.7 ^{†‡§} (2.3-3.1)
LVIDd (mm)	25 (22-27)	29 (23-31)	33 [†] (28-36)	37 ^{†‡} (32-39)
LVIDs (mm)	14 (13-17)	16 (12-19)	17 (15-19)	20 [†] (16-22)
Fractional shortening (%)	39 (35-42)	42 (36-48)	47 [†] (43-51)	48 (37-55)
Relative wall thickness	0.57 (0.54-0.69)	0.53 (0.46-0.61)	0.41 ^{†‡} (0.34-0.46)	0.33 ^{†‡§} (0.30-0.40)
Sphericity index	1.47 (1.38-1.66)	1.33 (1.19-1.45)	1.20 [†] (1.05-1.30)	1.06 ^{†‡§} (0.91-1.18)

Data are expressed as medians (interquartile ranges).

†, Within a row, values differed significantly ($P < 0.008$) from controls.

‡, Within a row, values differed significantly ($P < 0.008$) from class I.

§, Within a row, values differed significantly ($P < 0.008$) from class II.

LA/Ao, Left atrial to aortic root ratio; LVIDd, End-diastolic left ventricular internal dimension; LVIDs, End-systolic left ventricular internal dimension; ISACHC, International Small Animal Cardiac Health Council.

Table 3. Conventional Doppler echocardiographic data in healthy controls and dogs with myxomatous mitral valve disease

	ISACHC classification			
	Controls	I	II	III
E wave velocity (m/s)	0.7 (0.5-0.9)	0.8 (0.6-1.0)	1.2 ^{†‡} (1.0-1.4)	1.6 ^{†‡} (1.0-1.6)
A wave velocity (m/s)	0.7 (0.6-0.8)	0.7 (0.6-0.9)	0.9 (0.7-1.0)	0.6 (0.5-1.0)
E/A ratio	1.0 (1.0-1.3)	1.1 (1.0-1.2)	1.2 (1.0-2.0)	2.0 ^{†§} (1.5-2.3)
Forward stroke volume index (mL/m ²)	37 (33-46)	39 (28-45)	27 (23-42)	23 ^{†‡} (18-36)

Data are expressed as medians (interquartile ranges).

†, Within a row, values differed significantly ($P < 0.008$) from controls.

‡, Within a row, values differed significantly ($P < 0.008$) from class I.

§, Within a row, values differed significantly ($P < 0.008$) from class II.

ISACHC, International Small Animal Cardiac Health Council.

Table 4. Peak systolic two-dimensional speckle-tracking echocardiographic data for healthy controls and dogs with myxomatous mitral valve disease

	ISACHC classification			
	Controls	I	II	III
Systolic torsion (°)	15.3 (12.7-18.7)	10.0 [†] (7.4-14.2)	17.3 [‡] (15.5-19.2)	9.7 ^{†§} (6.1-12.8)
Systolic torsion rate (°/s)	176.3 (159.8-231.6)	130.5 [†] (90.6-163.5)	155.5 (141.0-174.7)	164.8 (108.0-181.9)
Systolic basal rotation (°)	-7.0 (-8.4--4.1)	-5.5 (-7.1--3.4)	-7.7 (-9.1--4.9)	-4.0 (-5.3--3.2)
Systolic basal rotation rate (°/s)	-118.6 (-160.1--95.4)	-104.4 (-142.6--67.5)	-112.1 (-135.7--81.6)	-90.2 (-132.3--48.7)
Systolic apical rotation (°)	10.7 (9.0-13.8)	7.4 [†] (5.4-9.5)	8.76 (6.7-12.2)	8.3 (5.3-9.5)
Systolic apical rotation rate (°/s)	162.8 (126.9-194.5)	102.7 [†] (72.3-142.7)	116.4 (84.5-148.8)	104.8 (77.4-145.1)

Data are expressed as medians (interquartile ranges).

†, Within a row, values differed significantly ($P < 0.008$) from controls; ‡, Within a row, values differed significantly ($P < 0.008$) from class I; §, Within a row, values differed significantly ($P < 0.008$) from class II.

ISACHC, International Small Animal Cardiac Health Council.

第 6 章 慢性僧帽弁逆流モデル犬における

Two-dimensional speckle-tracking echocardiography 法
で評価したドブタミン負荷試験による収縮機能不全の検出

1. 緒言

粘液腫様変性性僧帽弁閉鎖不全症（MMVD）は犬における最も一般的な心不全の原因であり、臨床的に重要な疾患である[28]。そして、MMVDの犬のいくらかはその慢性的な心臓リモデリングの影響から最終的に心筋機能不全に陥ることが知られている[28]。第4章および第5章で示したように、私は臨床例のMMVD犬において、その慢性的な病態進行過程で、Two-dimensional speckle-tracking echocardiography（2D-STE）法で評価した心筋運動の代償破綻を証明している[75,76]。これまで、MMVDでの収縮機能障害は一部の重度群にのみ起こることが報告されている[16,49]が、私はこのような心筋機能障害が早期からのMMVD重症度に潜在的に大きく貢献しているのではないかと推測した。

ドブタミン負荷試験はヒト医学において運動負荷試験と並んで行われつつある心血管系疾患の負荷試験の一つである[136,137]。運動負荷試験は、動物の場合馴化が必要であり、画像取得の際に体動や呼吸の影響を受けやすい。一方、薬物負荷試験は馴化の必要がなく、より高画質な画像も取得しやすいことから、覚醒下の犬における心筋機能評価で安全性が高く、反復可能な検査として多数応用されている[138,139]。さらに、犬を対象とした過去の研究では、収縮機能不全の早期検出に対して、ドブタミン負荷試験の感度や信頼性が高いことを報告している[140,141]。しかしながら、MRの存在する犬においてドブタミン負荷試験により心筋収縮予備能を評価した報告は存在しない。

近年、2D-STE法はドブタミン負荷試験の際の心筋運動評価にソノミクロメトリーと比較して十分な精度をもつと報告されている[142]。従来の心エコー図検査を用いた心筋収縮予備能の評価はしばしば主観的であったが、2D-STE法ではドブタミン負荷試験中の心筋運動を客観的に定量すること

ができる。私は、ドブタミン負荷試験を 2D-STE 法と組み合わせて評価することで、安静時には明らかでない潜在的な収縮機能不全の検出を可能にし、心筋収縮予備能の評価に有用ではないかと仮説した。

私の知る限り、MR を実験的に誘導したモデル犬において、ドブタミン負荷試験を 2D-STE 法で評価した報告は存在しない。故に、本研究では、MR を実験的に誘導したモデル犬においてドブタミン負荷試験中の心筋運動を定量化することを目的とした。

2. 方法

供試動物

5頭の健常ビーグル犬（体重 10.0 ± 1.5 kg、月齢 15.6 ± 0.5 ヶ月）を用いた。全ての犬は心疾患の既往がないこと、および身体検査、完全血球検査（総白血球数、白血球分画、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球ヘモグロビン濃度、血小板数）、血液生化学検査（血清総タンパク濃度、血清アルブミン濃度、血清尿素窒素濃度、血清クレアチニン濃度、血清アラニンアミノトランスフェラーゼ濃度、血清アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ濃度、血清アルカリフォスファターゼ濃度、血清グルコース濃度、血清総コレステロール濃度、血清トリグリセリド濃度、血清ナトリウム濃度、血清カリウム濃度、血清クロール濃度）、標準肢誘導心電図検査、胸部レントゲン検査、オシロメトリック法による非観血的血圧検査、経胸壁心エコー図検査によって異常が認められないことを確認した。本研究の実験手順および動物の管理取扱いについては、日本獣医生命科学大学動物実験ガイドラインに従い、動物実験委員会および動物実験に係わる生命倫理審査委員会の承認を得た（12-64）。

pre データの取得および MR モデル犬の作製

全ての犬は酒石酸ブトルファノール（Vetrphale, Meiji Seika, Tokyo, Japan） 0.2 mg/kg の筋肉内投与による前投与を行った。十分な酸素化の後に、チオペンタールナトリウム（Ravonal, Tanabe Mitsubishi Pharma, Osaka, Japan） 25 mg/kg の静脈内投与により麻酔導入を行い、 100% 酸素およびイソフルレン（Isoflu, Dainippon Sumitomo Pharma, Osaka, Japan） $1-1.5\%$ の吸入麻酔により維持した。1回換気量 $15-20$ mL/kg、1分間当たり $10-15$ 回の頻度で用手呼吸を行った。

各犬を左もしくは右横臥位で保定した。右もしくは左頸部領域を毛刈り、定法に従い消毒後、ドレーピングを行った。約 5cm のカットダウンを行い、頸動脈を露出、小切開を行った。切開部位から直接的に圧トランスデューサー付きマイクロチップカテーテル (Model SPR-350, 5Fr, Millar Instruments, Houston, TX, USA) を頸動脈に挿入、エコーガイドもしくは X 線透視下にて左室腔内まで誘導し固定した。安定した左室圧データを得られるように、カテーテルの位置は適宜調節した。最初に pre のコントロールデータのための左室圧測定、心エコー図検査およびそれらと同期した心電図データを後述するドブタミン負荷試験と共に記録した。

pre のコントロールデータ取得後、各犬を右横臥位に保定した。左側胸部領域を毛刈り、定法に従い消毒後、ドレーピングを行った。左第 5 肋間にて開胸を行い、定法に従って心膜切開を行った。左心房に巾着縫合を二重にかけ、その中心に小切開を加えた。モスキート鉗子を切開部より左室内に挿入、腱索を保持牽引し、断裂させた。腱索の位置および MR の誘導程度は経胸壁心エコー図検査によって評価した。カラードプラ法で明瞭な MR ジェットが確認できるまでこの操作を繰り返し、モデル犬を作製した。胸腔内にドレーンを設置し、定法に従い抜気と閉胸を行った。開胸および閉胸時に塩酸ブピバカイン (Marcain 0.5%, AstraZeneca, Osaka, Japan) 総量 1.5mg/kg を胸腔内および肋間筋へ投与した。術前 1 日から術後 3 日までメロキシカム (Methacam 0.15%, Nippon Boehringer Ingelheim, Tokyo, Japan) 0.2mg/kg/day を経口投与、術後は必要に応じて酒石酸ブトルファノールの筋肉内投与 (0.2mg/kg) もしくは静脈内持続点滴 (0.025mg/kg/hour) を行った。また術後感染防止のため、セファレキシシン 25mg/kg (Larixin, Taisho Toyama Pharma, Tokyo, Japan) を 7 日間経口投与した。

モデル犬作製後 3 ヶ月および 6 ヶ月にて、pre と同様な手順で麻酔をかけ、

左室圧測定および心エコー図検査をドブタミン負荷試験と共に記録した。検査終了後、カテーテルを抜去し頸動脈切開部を 7-0 ナイロンにて連続縫合、皮膚は定法にしたがい縫合した。

観血的左室圧測定

連続的な左室圧データおよびそれと同期した心電図データをドブタミン負荷試験と共に記録した。最大収縮期左室圧および最大左室圧増加率 (dp/dt) を循環機能解析ソフト (SBP2000, Softron, Tokyo, Japan) により計測した。各左室圧データの統計解析には安定した連続 10 心拍の平均値を用いた。

ドブタミン負荷試験

ベースライン (ドブタミン負荷前) の心エコー図検査を実施した。次に、ドブタミン 5 μ g/kg/min (Dobutrex, Shionogi & Co., Osaka, Japan) を 5 分間、10 μ g/kg/min を 5 分間と段階的に増量し静脈内持続点滴した。負荷後の血行動態的に安定した状態で、ドブタミン負荷心エコー図検査を行った。

ドブタミン負荷心エコー図検査

ベースライン (ドブタミン負荷前) およびドブタミン負荷中において同様な手順で心エコー図検査を行った。従来からの 2D、M-モード法およびドプラ法による心エコー図検査を行った。検査は一人の検者が行い、同一の心エコー装置 (Vivid7, GE Healthcare, Tokyo, Japan.) および 3.5-6.9MHz トランスデューサーを用いて行った。全てのデータは麻酔下閉胸状態で右横臥位もしくは左横臥位に保定し、洞調律であることを確認し、呼気時に少なくとも連続 9 心拍以上得た。カットダウンした領域は無菌的に保護し、十分に注意した状態で右横臥位および左横臥位の経胸壁心エコー図検査を繰り返す。

返し行った。

2D、M モード法およびドプラ法による心エコー図検査データは一人の計測者によって Echo-PAC ワークステーション (GE Healthcare, Tokyo, Japan) を用いて解析した。右傍胸骨短軸像大動脈弁レベルを用いて、B モード法による左房大動脈径比を計測した [84]。右傍胸骨短軸像乳頭筋もしくは腱索レベルを用いて、左室の M モード計測を leading edge-to-leading edge 法を用いて行い [85]、拡張末期心室中隔壁厚、拡張末期左室自由壁厚、拡張末期左室内径、収縮末期左室内径および左室短縮率を計測した。左室の幾何学的評価のために、左室球状化指数および相対的壁厚を、過去の報告に従って算出した。左室球状化指数は、左室の最大長径を短径で除した値とし、拡張末期および収縮末期において計測した [110,111]。相対的壁厚は M モード法で計測した拡張末期心室中隔壁厚と拡張末期左室自由壁厚の和を拡張末期左室内径で除した値とした [110,112]。心尖部四腔像および心尖部二腔像による 2 断面ディスク法 (Simpson 変法) をアメリカ心エコー図学会の提唱した方法を用いて行い [143]、拡張末期左室容積、収縮末期左室容積、および総一回拍出量を算出した。推定した各左室容積変数は体重から推定 [122] した体表面積で除し、拡張末期左室容積指数、収縮末期左室容積指数、および総一回拍出量指数を算出した。左側心尖部五腔像からパルスドプラ法により大動脈血流シグナルを記録し、大動脈血流前駆出時間 (PEP) および駆出時間 (ET) を計測し、PEP/ET を算出した。前方一回拍出量 (FSV) を大動脈血流シグナルの時間速度積分値と大動脈弁部断面積より推定し [89]、(総一回拍出量 - 前方一回拍出量) / 総一回拍出量として逆流分画を算出した。大動脈弁部断面積は右傍胸骨長軸像における大動脈弁領域の拡大像より得た大動脈弁輪内径の 1/2 を半径 r とし、 $\pi \times r^2$ として算出した [89]。各変数の統計解析には連続 3 心拍の平均値を用いた。

標準的な心エコー図検査と並行して、2D-STE 法のための高画質な B モード像を、同一の検者および心エコー装置を用いて、第 5 章で示したように記録した。全てのデータは麻酔下閉胸状態で右横臥位もしくは左横臥位に保定し、洞調律であることを確認し、呼気時に少なくとも連続 9 心拍以上得た。

全ての 2D-STE 法データは一人の計測者が Echo-PAC ワークステーション(GE Healthcare, Tokyo, Japan)を用い、我々が以前報告した方法に従って、第 2 章で示したように解析した[68,71,75,76,152]。捻れ運動について、僧帽弁レベルおよび心尖部レベルにおける 1 心周期の回転運動プロファイルをワークシートに展開、同期した心電図から収縮期を判定し、回転運動および回転速度のピーク値を計測した。さらに、僧帽弁レベルと心尖部レベルにおけるフレーム値を差し引きし、1 心周期の捻れ運動プロファイルを展開、同期した心電図から収縮期を判定し、捻れ運動および捻れ速度のピーク値を計測した。心尖部から見て反時計方向への回転および捻れ運動を正として表記した。フレーム数に差がある場合は適切にフレーム数を合わせ、捻れ運動プロファイルを作成した。各変数の統計解析には連続 3 心拍の平均値を用いた。

統計解析

データは平均±標準偏差で表記した。全ての統計解析には市販の統計解析ソフト (SPSS for Windows; SPSS, Tokyo, Japan) を用いた。Shapiro-Wilk test を正規性の評価に用いた。モデル犬作製前 (pre)、モデル作成後 3 ヶ月および 6 ヶ月におけるベースラインおよびドブタミン負荷中の各々の変数の比較には、Tukey's honestly significant difference test により多重比較を行った。2D-STE 法による捻れ運動変数と観血的左室圧変数の相関性を評

価するために線形回帰分析を行った。有意水準は $P < 0.05$ とした。計測者内変動として、ランダムに選択した 3 頭における、異なる日での繰り返し 3 回の計測を用いた変動係数により評価した。変動係数は標準偏差を平均値で除することで算出した。

3. 結果

観血的左室圧変数および標準的な心エコー図検査変数

pre、3ヶ月および6ヶ月におけるベースライン（ドブタミン負荷前）時の左室圧および心エコー図検査変数は Table 1 および Table 2 に示した。左房大動脈径比 ($P < 0.001$)、左室拡張末期径 ($P = 0.001$)、左室収縮末期径 ($P = 0.012$)、左室拡張末期容積指数 ($P < 0.001$)、左室収縮末期容積指数 ($P = 0.033$)、総一回拍出量 ($P = 0.035$)、および逆流分画 ($P < 0.001$)は3ヶ月において pre に比べて有意に増加した。また、拡張期および収縮期球状化指数、および相対的壁厚 ($P = 0.001$ 、 $P < 0.001$ 、および $P = 0.045$)は3ヶ月において pre に比べて有意に減少した。左房大動脈径比 ($P < 0.001$)、左室拡張末期径 ($P < 0.001$)、左室収縮末期径 ($P = 0.006$)、左室拡張末期容積指数 ($P < 0.001$)、左室収縮末期容積指数 ($P = 0.008$)、総一回拍出量指数 ($P = 0.002$)、および逆流分画 ($P < 0.001$)は6ヶ月において pre に比べて有意に増加した。また、観血的 dp/dt ($P = 0.022$)、拡張期および収縮期球状化指数 (共に $P < 0.001$) および相対的壁厚 ($P = 0.022$)は6ヶ月において pre に比べて有意に減少した。収縮期球状化指数は6ヶ月において3ヶ月に比べて有意に減少した ($P = 0.044$)。心拍数、左室短縮率、左室駆出率、および PEP/ET は有意な変化を示さなかった。

2D-STE 法変数

本研究において、ドブタミン負荷試験は全ての犬の全てのステージにおいて耐用可能であった。また全てのセグメントにおける 2D-STE 法変数が統計解析に含まれた。計測者内変動の標準偏差および変動係数の平均値は回転および捻れ運動で 6.9° および 6.4% 、回転および捻れ速度で $9.1^\circ/\text{s}$ および 11.2% であった。

pre、3ヶ月および6ヶ月におけるベースライン（ドブタミン負荷前）時とドブタミン負荷時の左室圧および心エコー図検査変数は Table 3 および Table 4 に示した。5 μ g/kg/min のドブタミン負荷試験では、全ての 2D-STE 法変数において、3ヶ月および6ヶ月における反応性は pre と同程度であった。10 μ g/kg/min のドブタミン負荷試験では、収縮期心尖部回転運動 ($P = 0.005$ and $P = 0.006$)、収縮期心尖部回転速度 ($P = 0.002$ and $P = 0.044$)、収縮期捻れ運動 ($P < 0.001$ and $P = 0.003$)、および収縮期捻れ速度 ($P = 0.006$ and $P = 0.021$)の反応性は3ヶ月および6ヶ月において pre に比べて有意に低下していた。pre、3ヶ月および6ヶ月における収縮期捻れ運動および収縮期捻れ速度の 10 μ g/kg/min のドブタミン負荷への反応性の箱ひげ図を Figure 1.および Figure 2.に示した。心基部回転運動および回転速度に対する反応性は有意に変化しなかった。心基部回転運動($r = -0.41$, $P = 0.009$)、心基部回転速度($r = -0.667$, $P < 0.001$)、心尖部回転運動($r = 0.399$, $P = 0.009$)、心尖部回転速度 ($r = 0.66$, $P < 0.001$)、捻れ運動 ($r = 0.644$, $P < 0.001$)、および捻れ速度 ($r = 0.696$, $P < 0.001$)は観血的 dp/dt と有意に相関した。収縮期捻れ運動および捻れ速度と観血的 dp/dt の散布図を Figure 3. に示した。

4. 考察

2D-STE 法で評価した心筋捻れ運動は、麻酔下の重度 MR モデル犬において、収縮機能の指標とされている左室短縮率や左室駆出率に変化がないにもかかわらず、健常時に比べてドブタミン負荷試験に対する反応性が低下した。さらに、これらの心筋捻れ運動は観血的 dp/dt と有意に相関した。したがって、2D-STE 法によるドブタミン負荷試験は MR の犬において収縮予備能の潜在的な低下を検出するのに役立つ可能性がある。

自然発生例の MMVD 犬[38,47]および実験的に誘導した MR モデル犬[45,46]における過去の研究では、その慢性的な病態進行過程において収縮機能が低下していることが示唆されている。しかしながら、MMVD の犬における臨床的な収縮機能評価は困難とされ[48]、本研究での左室短縮率や左室駆出率および PEP/ET といった収縮機能変数は明確な収縮機能不全を検出しなかった。これらの変数は本来の収縮性に加えて、MR による容量負荷や神経体液因子活性化の影響を受け、MR の存在下での収縮機能不全の存在を隠す可能性がある[48]。

心筋捻れ運動は心筋線維本来のらせん方向収縮運動を直接的に反映しており[99,100]、より感度の高い心筋機能評価方法とされ、潜在的な心筋機能障害の検出にも有用とされている[22,23,26,79,91]。慢性 MR モデルを用いた過去の研究では、同一個体の慢性期において急性期に比べて心筋捻れ運動が減少することが報告されている[132,133]。さらに、第 5 章で示したように、臨床例の重度 MMVD 犬において、体重および年齢を適合させたコントロール群に比べて、収縮期捻れ運動は低値を示した[76]。モデル犬の病態進行に伴うベースライン（ドブタミン負荷前）時の捻れ運動低下はおそらく心筋収縮性の低下を反映していると考えられ、前述の過去所見[76,132,133]に一致するが、有意な変化ではなかった。これは、モデル犬の頭数が少ない

こと、麻酔の影響および自然発生例とは異なる可能性がある MR の程度や持続期間の影響が原因かもしれない。

左室収縮末期径および左室収縮末期容積指数の増加や観血的 dp/dt の低下から、本研究の MR モデルでは病態進行に伴い収縮機能障害が進行していたことが示唆される。負荷試験において、3 ヶ月および 6 ヶ月では捻れ運動および捻れ速度のドブタミンに対する反応性が低下していた。陽性変力作用を持つドブタミンに対する心筋反応性の低下は MR モデル犬における心筋収縮予備能の低下を表していると考えられた。ヒトの重度 MR 患者では、運動負荷試験で判定した収縮予備能が内科療法後の左室機能維持や良好な臨床予後の推測に有用とされ[136]、また収縮予備能の低下はこれらの患者において逆流量自体よりも運動耐用能を反映すると報告されている[137]。本研究では運動耐用能や予後の検討は行っていないが、ドブタミン負荷試験による収縮予備能評価は MR の犬においても臨床的な重症度評価に有用であると考えられた。さらに、ヒト MR 患者では、術後の左室機能不全の予測に負荷心エコー図検査に対する反応性の低下が報告されており[144]、MR の犬においても心筋収縮予備能の評価は、MMVD に対する外科的治療が一般的になった場合により重要となると思われる。

ドブタミンの負荷用量に関して、過去の健常犬[138,139]および収縮機能不全モデル犬[140]に対する最大負荷用量はヒトのドブタミン負荷試験にない 42.5 μ g/kg/min とされている。一方、臨床例の潜在性拡張型心筋症の犬に対する最大負荷用量は 5 μ g/kg/min で検討されている[141]。本研究では、臨床例への応用を目的としているため、比較的低用量の 5 μ g/kg/min からスタートし、最大負荷用量は 10 μ g/kg/min とした。その結果、5 μ g/kg/min では有意な収縮機能不全を検出しなかったが、10 μ g/kg/min と比較的低用量で収縮機能不全を検出できた。したがって、MMVD の犬に対する収縮機能

不全の評価に対して、10 μ g/kg/min 程度の用量で十分に評価でき、かつ不整脈等の重篤な有害事象をおこさず安全に行えることが示された。

ドブタミンは β 受容体の作動薬として知られ、 β 受容体刺激に対する反応性低下はヒト不全心における特徴とされている[145,146]。ヒト不全心からの単離心筋線維や心筋細胞は β 受容体作動薬への反応性が乏しく[147-149]、 β 受容体自体もダウンレギュレーションしている[145-147]。本研究では病理組織学的検討を行っておらず、供試動物は明らかな心不全徴候を示していなかったが、ドブタミン負荷試験に対する反応性低下はこれらの機能異常と考えられた。

我々は以前に MMVD の病態進行において左室の幾何学的変化が生じることを示しており[110]、このような変化は 2D-STE 法で評価した捻れ運動に影響を与えることが報告されている[150]。本研究においても、拡張期および収縮期の球状化指数、相対的壁厚は病態進行に伴って有意に低下した。このような単純な左室幾何学的変化は、本研究でのドブタミン負荷に対する反応性低下に影響したと考えられた。また、左室捻れ運動は心筋内における酸素需要勾配を均一化し、故に酸素消費量の最小化および心筋のエネルギー動態や効率の適正化に係わるメカニズムでもある[101-103]。ドブタミン負荷による心筋酸素需要量増加や MR の病態進行に伴う前方拍出量低下は心筋への酸素供給の低下をもたらし心筋の反応性に影響した可能性も考えられた。

本研究にはいくつかの制限が存在する。研究デザインのために、本研究では麻酔の影響を取り除くことができなかった。故に今回の所見は単純には覚醒下の犬に応用できないかもしれない。また、本研究では MMVD モデルとして MR 誘導後 6 ヶ月までの犬を用いた。しかしながら、臨床例における自然発生例の慢性 MMVD 犬は異なるタイプの心筋障害や心筋機能を有し

ている可能性もある。さらに、過去の犬を用いたドブタミン負荷試験研究では耐用性および安全性が高く、反復可能な検査であると示されているが[138-141]、より高齢で疾患を有した犬では不整脈のような有害事象が生じる可能性もある。覚醒下の高齢の疾患を有した犬に対する安全性評価の確立が望まれる。捻れ運動の算出には同一心拍ではない僧帽弁レベルと心尖部レベルの短軸断面を用い、このことは今回の所見に影響を与えているかもしれない。さらに、心筋回転運動はトランスデューサーの角度による制限が報告されており[104]、左室心尖部レベル像は技術的に描出が困難な症例も存在する。将来的には、3次元スペックルトラッキング心エコー図検査によってこれらの制限は改善されるかもしれない。またより厳密な収縮機能評価のためには圧-容積曲線のようなより詳細な解析による研究が必要であろう。

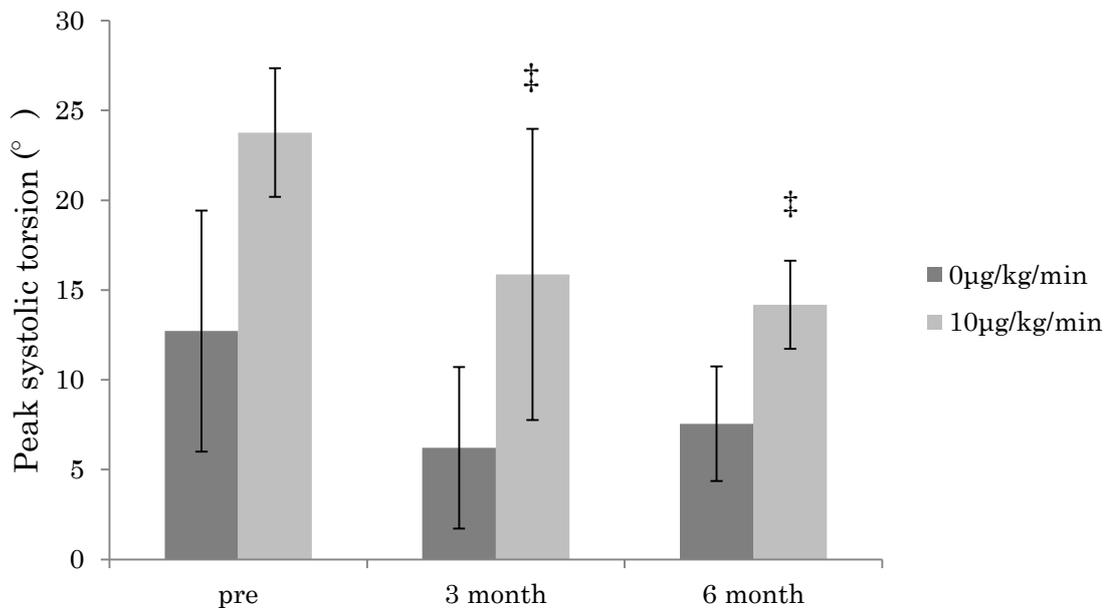
5. 小括

2D-STE 法で評価した心筋捻れ運動は、MR の病態が進行するにつれて、ドブタミン負荷試験に対する反応性が低下した。ドブタミン負荷試験に対する反応性の低下は潜在的な収縮機能不全を反映している可能性が考えられた。2D-STE 法を応用したドブタミン負荷試験による収縮予備能評価は MMVD 犬においてより詳細な収縮機能評価を可能にすると考えられた。これら指標の臨床的有用性や予後との関係性などは更なる検討が必要である。

なお、この第 6 章における主な内容は *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine, 2013* にて公表した[152]。

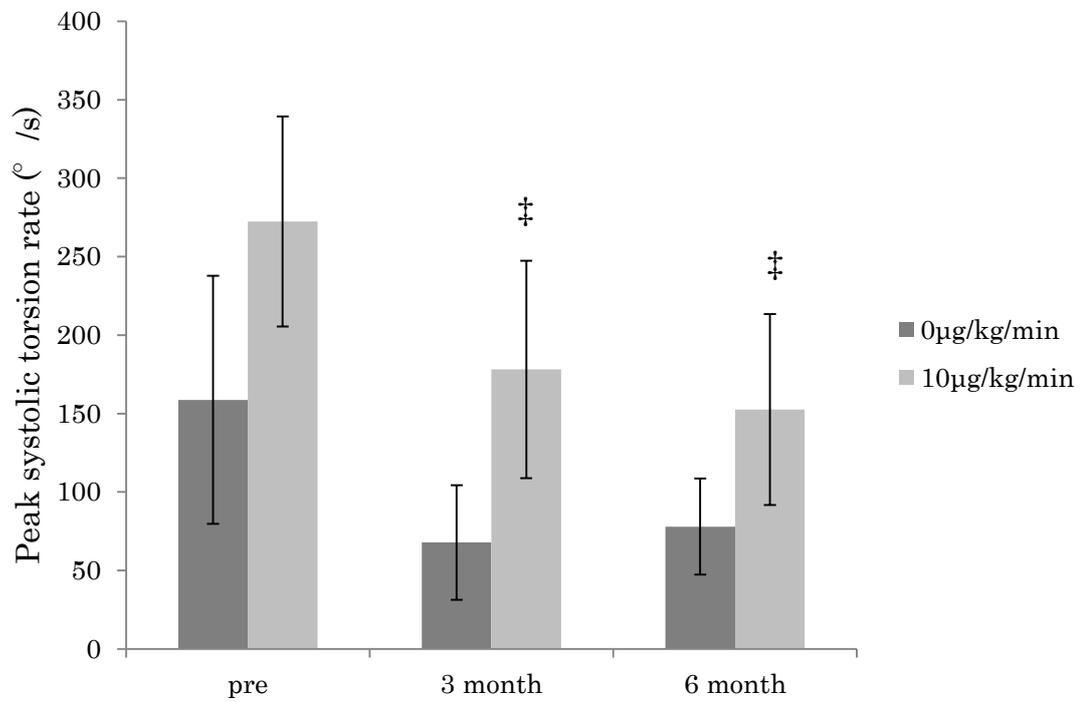
6. 図表

Figure 1. Peak systolic torsion values (mean \pm SD) for baseline (without dobutamine infusion) and dobutamine infusion (10 μ g/kg/min) prior to and 3 and 6 months after induction of mitral regurgitation



‡, Within a row, values differed significantly from dobutamine responsive values at pre (control).

Figure 2. Peak systolic torsion rates (mean \pm SD) for baseline (without dobutamine infusion) and dobutamine infusion (10 μ g/kg/min) prior to and 3 and 6 months after induction of mitral regurgitation



‡, Within a row, values differed significantly from dobutamine responsive values at pre (control).

Figure 3. Correlations between peak systolic torsion (A) and torsion rate (B), and invasive peak positive first derivatives of the left ventricular pressure (dp/dt) in overall dogs in this study.

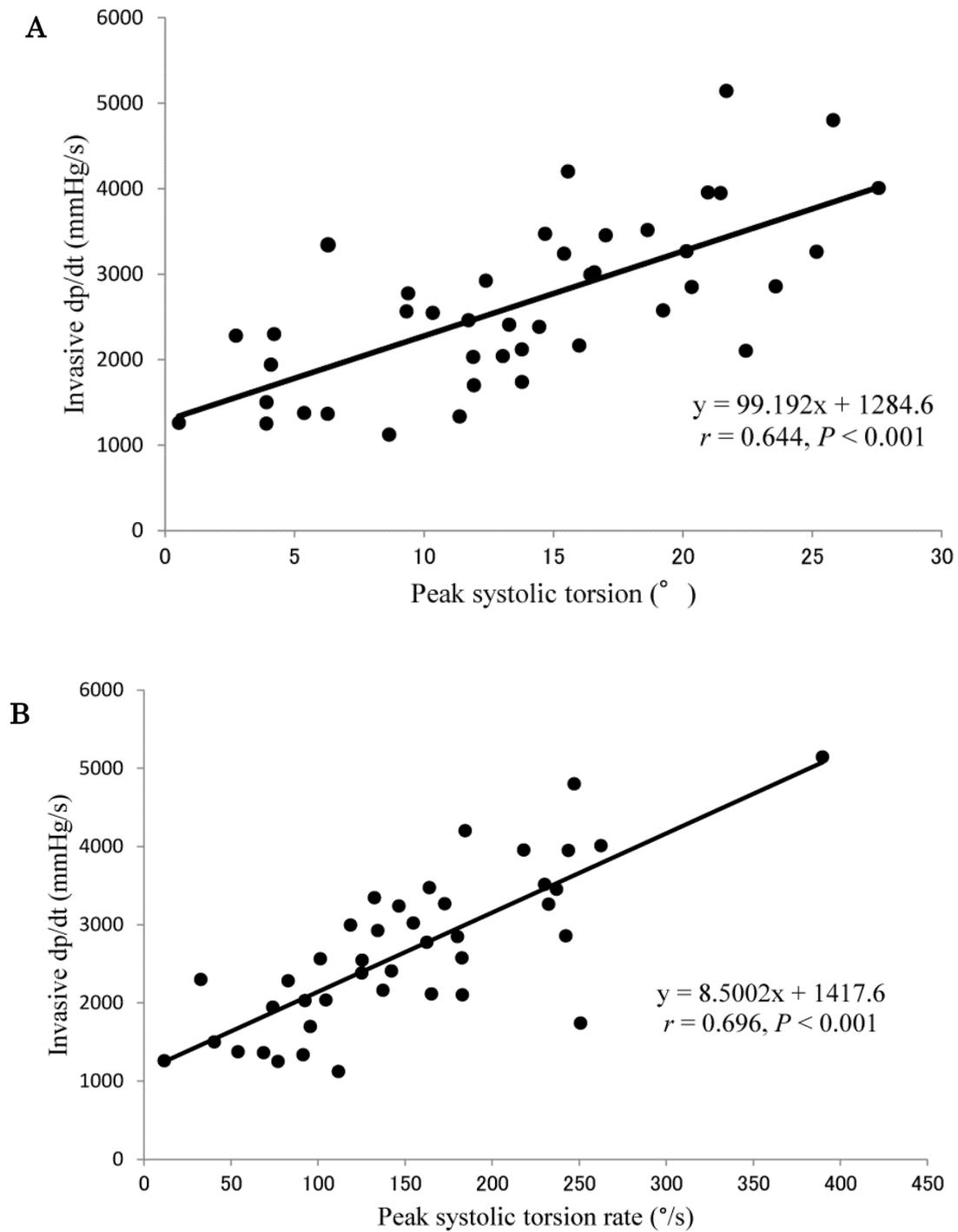


Table 1. Hemodynamic data for baseline (without dobutamine infusion) at prior to and 3 and 6 months after induction of mitral regurgitation

	pre	3 month	6 month
Heart rate (bpm)	91.1 ± 26.3	127.3 ± 48.6	102.2 ± 27.5
Peak systolic LV pressure (mmHg)	102.2 ± 20.6	92.4 ± 21.5	80.6 ± 8.0
Invasive dp/dt (mmHg/s)	2207.2 ± 377.4	1630 ± 552.9	1331.4 ± 156.5*

Data are expressed as mean ± standard deviation.

*, Within a row, values differed significantly from pre values.

LV, Left ventricular; dp/dt, peak positive first derivatives of the left ventricular pressure;

Table 2. Conventional, 2D, M-mode, and Doppler echocardiography data for baseline (without dobutamine infusion) at prior to and 3 and 6 months after induction of mitral regurgitation

	pre	3 month	6 month
LA/Ao	1.2 ± 0.1	2.0 ± 0.2*	2.2 ± 0.2*
LVIDd (mm)	26.3 ± 2.5	38.7 ± 4.9*	41.8 ± 2.8*
LVIDs (mm)	19.7 ± 3.6	27.0 ± 3.9*	28.3 ± 1.2*
Fractional shortening (%)	25.1 ± 11.8	29.9 ± 8.6	32.2 ± 2.6
PEP/ET	0.2 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1
Ejection fraction (%)	59.5 ± 6.1	57.3 ± 16.4	62.3 ± 2.7
EDVI (mL/m ²)	47.6 ± 11.1	90.0 ± 9.1*	117.9 ± 11.0*
ESVI (mL/m ²)	19.8 ± 6.8	37.9 ± 13.5*	44.6 ± 6.5*
TSVI (mL/m ²)	60.5 ± 12.2	113.8 ± 42.9*	153.0 ± 20.8*
Regurgitant fraction (%)	N.A.	43.7 ± 20.9*	56.8 ± 10.1*
Diastolic sphericity	1.7 ± 0.1	1.4 ± 0.1*	1.3 ± 0.1*
Systolic sphericity	1.8 ± 0.2	1.5 ± 0.2*	1.3 ± 0.1*†
Relative wall thickness	0.66 ± 0.15	0.43 ± 0.14*	0.40 ± 0.08*

*, Within a row, values differed significantly from pre values.

†, Within a row, values differed significantly from 3 month values.

LA/Ao, Left atrial to aortic root ratio; LVIDd, End-diastolic left ventricular internal dimension; LVIDs, End-systolic left ventricular internal dimension; PEP/ET, pre ejection period to ejection time ratio; EDVI, End-diastolic volume index; ESVI, End-systolic volume index; TSVI, Total stroke volume index; N.A., Not applied.

Table 3. Peak systolic two-dimensional speckle-tracking echocardiography data for baseline (without dobutamine infusion) and dobutamine infusion (5 and 10 μ g/kg/min) prior to and 3 and 6 months after induction of mitral regurgitation

		pre	3 month	6 month
Basal	Baseline	-3.0 \pm 2.3	-1.6 \pm 2.1	-2.8 \pm 2.7
rotation	5 μ g/kg/min	-5.5 \pm 1.5	-3.8 \pm 2.7	-3.7 \pm 3.1
($^{\circ}$)	10 μ g/kg/min	-4.9 \pm 2.8	-2.5 \pm 1.3	-4.4 \pm 3.2
Basal	Baseline	-78.4 \pm 45.5	-43.5 \pm 22.4	-67.1 \pm 29.3
rotation	5 μ g/kg/min	-106.3 \pm 37.0	-96.4 \pm 33.8	-80.4 \pm 39.8
rate ($^{\circ}$ /s)	10 μ g/kg/min	-128.8 \pm 53.3	-112.6 \pm 40.2 \ddagger	-112.0 \pm 75.2
Apical	Baseline	12.1 \pm 12.0	4.9 \pm 6.2	4.6 \pm 4.3
rotation ($^{\circ}$)	5 μ g/kg/min	12.3 \pm 3.4	8.9 \pm 6.1	11.6 \pm 1.6
	10 μ g/kg/min	20.6 \pm 2.8	12.1 \pm 7.3 \ddagger	10.5 \pm 4.8 \ddagger
Apical	Baseline	122.2 \pm 85.8	57.7 \pm 46.3	62.6 \pm 51.2
rotation	5 μ g/kg/min	129.3 \pm 43.1	81.7 \pm 60.5	98.0 \pm 35.5
rate ($^{\circ}$ /s)	10 μ g/kg/min	230.0 \pm 64.4	104.8 \pm 77.1	124.7 \pm 59.7

Data are expressed as mean \pm standard deviation.

\ddagger , Within a row, values differed significantly from dobutamine responsive values at pre (control).

Table 4. Peak systolic two-dimensional speckle-tracking echocardiography data for baseline (without dobutamine infusion) and dobutamine infusion (5 and 10 μ g/kg/min) prior to and 3 and 6 months after induction of mitral regurgitation

		pre	3 month	6 month
Torsion ($^{\circ}$)	Baseline	12.7 \pm 6.7	6.2 \pm 4.5	7.6 \pm 3.2
	5 μ g/kg/min	16.1 \pm 5.9	12.5 \pm 5.9	14.7 \pm 3.2
	10 μ g/kg/min	23.8 \pm 3.6	15.9 \pm 8.1 \ddagger	14.2 \pm 2.4 \ddagger
Torsion rate ($^{\circ}$ /s)	Baseline	158.8 \pm 79.1	67.8 \pm 36.5	78.0 \pm 30.7
	5 μ g/kg/min	160.7 \pm 39.6	128.1 \pm 41.1	93.8 \pm 24.8
	10 μ g/kg/min	272.4 \pm 66.9	178.1 \pm 69.3 \ddagger	152.5 \pm 60.8 \ddagger

Data are expressed as mean \pm standard deviation.

\ddagger , Within a row, values differed significantly from dobutamine responsive values at pre (control).

第 7 章 総括

犬の心臓病の病態評価において、今や心エコー図検査は必須のツールと言える。近年登場した Two-dimensional speckle-tracking echocardiography (2D-STE)法は心筋運動の詳細な評価を可能にし、新たな心機能評価方法として注目されている。しかしながら、犬における 2D-STE 法の検討は数少なく、心拍数および年齢といった基本的背景が 2D-STE 法で評価した心筋運動変数に与える影響は検討されていない。

粘液腫様変性性僧帽弁閉鎖不全症 (MMVD) は犬における心不全の最も一般的な原因である。この病態進行過程において、近年収縮機能不全が背景に隠れ予後に影響する可能性が示されている。しかし、僧帽弁逆流 (MR) による慢性容量負荷の影響や神経体液因子活性化の影響により、その臨床的評価は困難である。2D-STE 法は従来の心形態や血行動態を評価する心エコー図法とは異なり、血流を生み出す心筋運動自体を評価することができ、より早期から鋭敏に病態を反映する可能性が期待される。

そこで本研究では、犬において 2D-STE 法が心機能評価方法として適応できるか検討し、心拍数および年齢といった基本的背景が 2D-STE 法変数に与える影響を評価した。また、臨床例の健常犬および MMVD 犬においても検討し、MMVD の臨床的な病態評価に有用であるか検討した。さらに MMVD 犬における収縮機能不全の早期検出を目標に、2D-STE 法を用いたドブタミン負荷試験の有用性を MR モデル犬を用いて検討した。

1. 心拍数の Two-dimensional speckle-tracking echocardiography 法による心筋運動変数に対する影響 (第 2 章)

心拍数は重要な心機能規定因子であり、従来の心エコー図検査の変数に影響を与える因子としても知られている。しかしながら、新しく登場した 2D-STE 法において、犬における心拍数変化が 2D-STE 法変数へ与える影

響については検討がなされていない。そこで、正常な心機能を持つ麻酔下の犬 13 例に対して、右房ペーシングにより心拍数を 120-180bpm の範囲で変化させ 2D-STE 法変数の変化を検討し、心拍数変化の 2D-STE 法による心筋運動変数に与える影響を評価した。麻酔下の健常ビーグル犬における 120-180bpm の心拍数変化に対して、2D-STE 法による複数方向の心筋運動評価は十分な再現性をもって可能であった。2D-STE 法による心筋運動のストレインおよびストレインレートはすべて心拍数変化の影響を受けなかった。一方、拡張早期捻れ速度のみは 180bpm で上昇し、心拍数増加に伴う拡張性増強を反映している可能性が考えられた。そして、高い心拍で増強した収縮期の捻れおよび拡張期のほどけ運動は、短縮した駆出および充満時間に対抗して一回拍出量を維持するのに役立つ可能性が考えられた。2D-STE 法による詳細な心筋運動評価は心筋機能の非侵襲的な評価、特に従来は評価できなかった等容性弛緩時間における心筋運動評価を可能にすると考えられた。

2. 年齢の Two-dimensional speckle-tracking echocardiography 法による心筋運動変数に対する影響（第 3 章）

従来の心エコー図検査変数において、加齢の影響は主に拡張期変数に影響を与えることが知られている。また健常ヒトにおける 2D-STE 法による心筋運動評価では加齢の影響が報告されている。しかしながら、犬における年齢の 2D-STE 法変数に与える影響については検討がなされていない。そこで、正常な心機能を持つ覚醒下の若齢犬（年齢 1.1 ± 0.2 歳）17 例および高齢犬（年齢 8.9 ± 1.6 歳）15 例において 2D-STE 法変数の相違を検討し、年齢の違いが 2D-STE 法による心筋運動変数に与える影響を評価した。覚醒下の健常犬全例において 2D-STE 法による複数方向の心筋運動変数は十分

な再現性をもって評価が可能であった。2D-STE 法による心筋運動の収縮期変数は心尖部回転速度を除いてすべて年齢の違いによる影響を受けなかった。一方、拡張期変数は拡張早期変数の低値（長軸、円周、壁厚、心基部回転、および捻れ方向）、拡張後期変数の高値（長軸、壁厚、心基部回転、および捻れ方向）が見られ、加齢に伴う心筋拡張機能の低下を反映している可能性が考えられた。以上より、拡張期変数の評価には年齢を合わせたコントロール群や年齢毎の参考範囲確立の必要性が示唆された。心臓に対する年齢の影響を検討したエビデンスは年齢に関連した心血管障害の病態を把握するのに重要な役割を果たすと考えられた。

3. 僧帽弁閉鎖不全症に罹患した臨床例の犬における Two-dimensional speckle-tracking echocardiography 法による長軸、短軸円周および壁厚方向心筋運動評価（第 4 章）

臨床例の MMVD 犬 67 例と健常コントロール群 20 例において 2D-STE 法による長軸、短軸円周および壁厚方向心筋運動による病態評価を試みた。2D-STE 法による長軸、短軸円周および壁厚方向心筋運動は臨床例の犬のほとんどにおいて評価可能であり、臨床的な病態把握に有用であると考えられた。MMVD の病態進行において、中等度な群では、短軸円周および壁厚方向心筋運動が亢進し、代償的な心筋運動を反映していると考えられた。円周方向心筋運動は ISACHC クラス III の重症例では低下し代償不全となり、MMVD の病態悪化に関連している可能性が考えられた。このように 2D-STE 法では心筋運動方向別の代償関係を把握することが可能であり、MMVD 犬において詳細に心機能を把握することにつながると考えられた。

4. 臨床例の僧帽弁閉鎖不全症に罹患した犬における Two-dimensional

speckle-tracking echocardiography 法による捻れ方向心筋運動評価（第 5 章）

臨床例の MMVD 犬 67 例と健常コントロール群 16 例において 2D-STE 法による捻れ方向心筋運動による病態評価を試みた。2D-STE 法による捻れ方向心筋運動は、適切に画像取得を行った臨床例の MMVD 犬のほとんどにおいて評価可能であり、臨床的な病態把握に有用であると考えられた。

MMVD の病態進行において、中等度な群では捻れ方向心筋運動が増強し、代償的な心筋運動を反映していると考えられた。捻れ方向心筋運動は ISACHC クラス III の重症例ではコントロール群に比べ低下し代償不全となり、MMVD の病態悪化に関連している可能性が考えられた。心筋線維方向の収縮運動でありより鋭敏な変化を反映していると考えられる捻れ運動が低値を示したことは、MMVD の病態進行における心筋収縮機能不全を裏打ちする結果であった可能性が考えられた。

5. 慢性僧帽弁逆流モデル犬における Two-dimensional speckle-tracking echocardiography 法で評価したドブタミン負荷試験による収縮機能不全の検出（第 6 章）

第 4 章および第 5 章の検討から、MMVD 犬の病態における潜在的な心筋収縮機能障害が示唆された。ヒト医学においてこのような潜在的収縮機能障害にドブタミン負荷試験による検出が有用とされている。また 2D-STE 法を用いることで負荷試験における心筋運動を定量化することができる。そこで、MR の病態における収縮機能不全をより特徴づけ、観血的な心機能評価方法との比較検討を行うため、外科的に作製した慢性 MR モデル犬 5 例において、作製前、モデル作製後 3 か月および 6 ヶ月に 2D-STE 法で評価したドブタミン負荷試験を行い、病態進行に伴う収縮機能不全の検出を試みた。

ドブタミン負荷試験に対する 2D-STE 法で評価した心筋捻れ運動の反応性は病態が進むにつれ低下し、潜在的な心筋機能低下を 2D-STE 法と合わせた負荷試験により検出できる可能性を示した。従って、臨床的に収縮機能評価が困難とされている慢性容量負荷状態の MMVD 犬においてもこのような方法は有用となり得る可能性が示唆された。

以上のように本論文では、2D-STE 法変数に影響を与えうる基本的背景として心拍数および年齢を検討し、それらの影響を考え症例等に応用していく必要性を示した。このような基礎的検討は今後 2D-STE 法の参考範囲を確立する際に重要となると考えられた。また臨床例の健常犬および MMVD 犬において、2D-STE 法が臨床的に十分に応用可能であることを示し、今後症例を蓄積することで更なる有用性を確立できる可能性を示した。今後は MMVD に続発した肺高血圧症を呈した犬や犬における dyssynchrony といった新しい病態解明への応用が期待される。さらに 2D-STE 法という心筋運動定量評価の有用性を活かしドブタミン負荷試験を行い、収縮機能評価が困難とされていた容量過負荷状態における MR モデル犬の収縮機能不全を検出できた。このような潜在的な収縮機能不全は臨床例の MMVD 犬においても想定され、代償不全や予後の悪化に寄与している可能性があり、更なる検討が望まれる。

謝辞

本研究の終始にわたり多大なる御指導と御助言を賜り、さらに心エコー図検査の醍醐味を存分に教えて頂きました、日本獣医生命科学大学獣医内科学教室・小山秀一教授に心から感謝いたします。

本研究に対し、多大なる御指導と御助言を賜りました、日本獣医生命科学大学獣医内科学教室・松本浩毅講師、水谷尚講師、手嶋隆洋助教に心から感謝いたします。

本研究における解析結果を通じて数多くの議論をさせて頂き、さらに研究の意義や醍醐味について熱意をもって教えて頂いた、葉山ハートセンター・納富雄一先生に心から感謝いたします。

本研究における実験および膨大なるデータの解析に対し、多大なる御協力と御支援を頂きました、日本獣医生命科学大学獣医内科学教室の卒業生および室員各位に心から感謝いたします。

本研究を行うに際し、大学院進学を理解し、経済的及び精神的の両面において、長きにわたり応援して頂いた私の両親、父淳一、母由美子に心から感謝いたします。

最後になりましたが、本研究の供試動物および本研究に御協力頂いた心臓病を患った多くの動物たちに心から感謝すると共に、将来このような研究成果によって多くの動物たちが救われることを願います。

参考文献

1. Buchanan JW. The history of veterinary cardiology. *J Vet Cardiol* 2013;15:65-85.
2. Bonnett BN, Egenvall A, Hedhammar A, Olson P. Mortality in over 350,000 insured Swedish dogs from 1995-2000: I. Breed-, gender-, age- and cause-specific rates. *Acta Vet Scand* 2005;46:105-120.
3. Egenvall A, Bonnett BN, Hedhammar A, Olson P. Mortality in over 350,000 insured Swedish dogs from 1995-2000: II. Breed-specific age and survival patterns and relative risk for causes of death. *Acta Vet Scand* 2005;46:121-136.
4. Egenvall A, Bonnett BN, Häggström J. Heart disease as a cause of death in insured Swedish dogs younger than 10 years of age. *J Vet Intern Med* 2006;20:894-903.
5. Boon JA. Evaluation of size, function, and hemodynamics. In: Boon JA. *Veterinary echocardiography*, 2nd ed. Wiley-Blackwell; 2011. p. 153-266.
6. Miyazaki S, Daimon M, Miyazaki T, Onishi Y, Koiso Y, Nishizaki Y, Ichikawa R, Chiang SJ, Makinae H, Suzuki H, Daida H. Global longitudinal strain in relation to the severity of aortic stenosis: A two-dimensional speckle-tracking study. *Echocardiography* 2011;28:703-708.
7. Haugaa KH, Goebel B, Dahlslett T, Meyer K, Jung C, Lauten A, Figulla HR, Poerner TC, Edvardsen T. Risk assessment of ventricular arrhythmias in patients with nonischemic dilated cardiomyopathy by strain echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 2012;25:667-673.
8. Cho GY, Marwick TH, Kim HS, Kim MK, Hong KS, Oh DJ. Global

- 2-dimensional strain as a new prognosticator in patients with heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2009;54:618-624.
9. Stanton T, Leano R, Marwick TH. Prediction of all-cause mortality from global longitudinal speckle strain: comparison with ejection fraction and wall motion scoring. *Circ Cardiovasc Imaging* 2009;2:356-364.
 10. Nahum J, Bensaid A, Dussault C, Macron L, Clémence D, Bouhemad B, Monin JL, Rande JL, Gueret P, Lim P. Impact of longitudinal myocardial deformation on the prognosis of chronic heart failure patients. *Circ Cardiovasc Imaging* 2010;3:249-256.
 11. Motoki H, Borowski AG, Shrestha K, Troughton RW, Tang WH, Thomas JD, Klein AL. Incremental prognostic value of assessing left ventricular myocardial mechanics in patients with chronic systolic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2012;60:2074-2081.
 12. Iacoviello M, Puzzovivo A, Guida P, Forleo C, Monitillo F, Catanzaro R, Lattarulo MS, Antoncetti V, Favale S. Independent role of left ventricular global longitudinal strain in predicting prognosis of chronic heart failure patients. *Echocardiography* 2013;30:803-811.
 13. Kearney LG, Lu K, Ord M, Patel SK, Profitis K, Matalanis G, Burrell LM, Srivastava PM. Global longitudinal strain is a strong independent predictor of all-cause mortality in patients with aortic stenosis. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2012;13:827-833.
 14. Suffoletto MS, Dohi K, Cannesson M, Saba S, Gorcsan J 3rd. Novel speckle-tracking radial strain from routine black-and-white echocardiographic images to quantify dyssynchrony and predict

- response to cardiac resynchronization therapy. *Circulation* 2006;113:960-968.
15. Arita T, Sorescu GP, Schuler BT, Schmarkey LS, Merlino JD, Vinten-Johansen J, Leon AR, Martin RP, Sorescu D. Speckle-tracking strain echocardiography for detecting cardiac dyssynchrony in a canine model of dyssynchrony and heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007;293:H735-742.
 16. Tidholm A, Ljungvall I, Höglund K, Westling AB, Häggström J. Tissue Doppler and strain imaging in dogs with myxomatous mitral valve disease in different stages of congestive heart failure. *J Vet Intern Med* 2009;23:1197-1207.
 17. Rösner A, Bijmens B, Hansen M, How OJ, Aarsaether E, Müller S, Sutherland GR, Myrmet T. Left ventricular size determines tissue Doppler-derived longitudinal strain and strain rate. *Eur J Echocardiogr* 2009;10:271-277.
 18. Lim P, Mitchell-Heggs L, Buakhamsri A, Thomas JD, Grimm RA. Impact of left ventricular size on tissue Doppler and longitudinal strain by speckle tracking for assessing wall motion and mechanical dyssynchrony in candidates for cardiac resynchronization therapy. *J Am Soc Echocardiogr* 2009;22:695-701.
 19. Amundsen BH, Helle-Valle T, Edvardsen T, Torp H, Crosby J, Lyseggen E, Støylen A, Ihlen H, Lima JA, Smiseth OA, Slørdahl SA. Noninvasive myocardial strain measurement by speckle tracking echocardiography: validation against sonomicrometry and tagged magnetic resonance imaging. *J Am Coll Cardiol* 2006;47:789-793.

20. Paraskevaidis IA, Kyrzopoulos S, Tsiapras D, Iliodromitis EK, Parissis J, Farmakis D, Kremastinos DT. The role of left ventricular long axis contraction in patients with asymptomatic non-ischemic mitral valve regurgitation and normal systolic function. *Int J Cardiol* 2008;124:64-71.
21. Kim MS, Kim YJ, Kim HK, Han JY, Chun HG, Kim HC, Sohn DW, Oh BH, Park YB. Evaluation of left ventricular short- and long-axis function in severe mitral regurgitation using 2-dimensional strain echocardiography. *Am Heart J* 2009;157:345-351.
22. Notomi Y, Lysyansky P, Setser RM, Shiota T, Popović ZB, Martin-Miklovic MG, Weaver JA, Oryszak SJ, Greenberg NL, White RD, Thomas JD. Measurement of ventricular torsion by two-dimensional ultrasound speckle tracking imaging. *J Am Coll Cardiol* 2005;45:2034-2041.
23. Helle-Valle T, Crosby J, Edvardsen T, Lyseggen E, Amundsen BH, Smith HJ, Rosen BD, Lima JA, Torp H, Ihlen H, Smiseth OA. New noninvasive method for assessment of left ventricular rotation: speckle tracking echocardiography. *Circulation* 2005;112:3149-3156.
24. Urheim S, Edvardsen T, Torp H, Angelsen B, Smiseth OA. Myocardial strain by Doppler echocardiography. Validation of a new method to quantify regional myocardial function. *Circulation* 2000;102:1158-1164.
25. Greenberg NL, Firstenberg MS, Castro PL, Main M, Travaglini A, Odabashian JA, Drinko JK, Rodriguez LL, Thomas JD, Garcia MJ. Doppler-derived myocardial systolic strain rate is a strong index of

- left ventricular contractility. *Circulation* 2002;105:99-105.
26. Kim WJ, Lee BH, Kim YJ, Kang JH, Jung YJ, Song JM, Kang DH, Song JK. Apical rotation assessed by speckle-tracking echocardiography as an index of global left ventricular contractility. *Circ Cardiovasc Imaging* 2009;2:123-131.
27. Culwell NM, Bonagura JD, Schober KE. Comparison of echocardiographic indices of myocardial strain with invasive measurements of left ventricular systolic function in anesthetized healthy dogs. *Am J Vet Res* 2011;72:650-660.
28. Kittleson MD. Myxomatous Atrioventricular Valvular Degeneration. In: Kittleson MD, Kienle RD. *Small Animal Cardiovascular Medicine*. St. Louis, Mosby; 1998. p. 297-303.
29. Haggstrom J, Kwart C, Pedersen HD. Acquired valvular disease. In: Ettinger SJ, Feldman EC, eds. *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, 6th ed. St Louis: Elsevier; 2005:1022–1039.
30. Detweiler DK, Luginbühl H, Buchanan JW, Patterson DF. The natural history of acquired cardiac disability of the dog. *Ann N Y Acad Sci* 1968;147:318-329.
31. Borgarelli M, Buchanan JW. Historical review, epidemiology and natural history of degenerative mitral valve disease. *J Vet Cardiol* 2012;14:93-101.
32. Parker HG, Kilroy-Glynn P. Myxomatous mitral valve disease in dogs: does size matter? *J Vet Cardiol* 2012;14:19-29.
33. Häggström J, Hansson K, Kwart C, Swenson L. Chronic valvular disease in the cavalier King Charles spaniel in Sweden. *Vet Rec*

- 1992;131:549-553.
34. Beardow AW, Buchanan JW. Chronic mitral valve disease in cavalier King Charles spaniels: 95 cases (1987-1991) *J Am Vet Med Assoc* 1993;203:1023-1029.
35. French AT, Ogden R, Eland C, Hemani G, Pong-Wong R, Corcoran B, Summers KM. Genome-wide analysis of mitral valve disease in Cavalier King Charles Spaniels. *Vet J* 2012;193:283-286.
36. Ljungvall I, Höglund K, Carnabuci C, Tidholm A, Häggström J. Assessment of global and regional left ventricular volume and shape by real-time 3-dimensional echocardiography in dogs with myxomatous mitral valve disease. *J Vet Intern Med* 2011;25:1036-1043.
37. Oyama MA. Neurohormonal activation in canine degenerative mitral valve disease: implications on pathophysiology and treatment. *J Small Anim Pract* 2009;50 Suppl 1:3-11.
38. Borgarelli M, Savarino P, Crosara S, Santilli RA, Chiavegato D, Poggi M, Bellino C, La Rosa G, Zanatta R, Haggstrom J, Tarducci A. Survival characteristics and prognostic variables of dogs with mitral regurgitation attributable to myxomatous valve disease. *J Vet Intern Med* 2008;22:120-128.
39. Borgarelli M, Crosara S, Lamb K, Savarino P, La Rosa G, Tarducci A, Haggstrom J. Survival characteristics and prognostic variables of dogs with preclinical chronic degenerative mitral valve disease attributable to myxomatous degeneration. *J Vet Intern Med* 2012;26:69-75.

40. Häggström J, Boswood A, O'Grady M, Jöns O, Smith S, Swift S, Borgarelli M, Gavaghan B, Kresken JG, Patteson M, Ablad B, Bussadori CM, Glaus T, Kovacević A, Rapp M, Santilli RA, Tidholm A, Eriksson A, Belanger MC, Deinert M, Little CJ, Kwart C, French A, Rønn-Landbo M, Wess G, Eggertsdottir AV, O'Sullivan ML, Schneider M, Lombard CW, Dukes-McEwan J, Willis R, Louvet A, DiFruscia R. Effect of pimobendan or benazepril hydrochloride on survival times in dogs with congestive heart failure caused by naturally occurring myxomatous mitral valve disease: the QUEST study. *J Vet Intern Med* 2008;22:1124-1135.
41. Lord P, Hansson K, Kwart C, Häggström J. Rate of change of heart size before congestive heart failure in dogs with mitral regurgitation. *J Small Anim Pract* 2010;51:210-218.
42. Lord PF, Hansson K, Carnabuci C, Kwart C, Häggström J. Radiographic heart size and its rate of increase as tests for onset of congestive heart failure in Cavalier King Charles Spaniels with mitral valve regurgitation. *J Vet Intern Med* 2011;25:1312-1319.
43. Hezzell MJ, Boswood A, Moonarmart W, Elliott J. Selected echocardiographic variables change more rapidly in dogs that die from myxomatous mitral valve disease. *J Vet Cardiol* 2012;14:269-279.
44. Orton EC. Mitral valve degeneration: still more questions than answers. *J Vet Cardiol* 2012;14:3-5.
45. Carabello BA, Nakano K, Corin W, Biederman R, Spann JF Jr. Left ventricular function in experimental volume overload hypertrophy.

- Am J Physiol 1989;256:H974-981.
46. Urabe Y, Mann DL, Kent RL, Nakano K, Tomanek RJ, Carabello BA, Cooper G 4th. Cellular and ventricular contractile dysfunction in experimental canine mitral regurgitation. *Circ Res* 1992;70:131-147.
 47. Borgarelli M, Tarducci A, Zanatta R, Haggstrom J. Decreased systolic function and inadequate hypertrophy in large and small breed dogs with chronic mitral valve insufficiency. *J Vet Intern Med* 2007;21:61-67.
 48. Bonagura JD, Schober KE. Can ventricular function be assessed by echocardiography in chronic canine mitral valve disease? *J Small Anim Pract* 2009;50:12-24.
 49. Kittleson MD, Eyster GE, Knowlen GG, Bari Olivier N, Anderson LK. Myocardial function in small dogs with chronic mitral regurgitation and severe congestive heart failure. *J Am Vet Med Assoc* 1984;184:455-459.
 50. Falk T, Ljungvall I, Zois NE, Höglund K, Olsen LH, Pedersen HD, Häggström J. Cardiac troponin-I concentration, myocardial arteriosclerosis, and fibrosis in dogs with congestive heart failure because of myxomatous mitral valve disease. *J Vet Intern Med* 2013;27:500-506.
 51. Falk T, Jönsson L, Olsen LH, Pedersen HD. Arteriosclerotic changes in the myocardium, lung, and kidney in dogs with chronic congestive heart failure and myxomatous mitral valve disease. *Cardiovasc Pathol* 2006;15:185-193.
 52. Edvardsen T, Helle-Valle T, Smiseth OA. Systolic dysfunction in

heart failure with normal ejection fraction: speckle-tracking echocardiography. *Prog Cardiovasc Dis* 2006;49:207-214.

53. Atkins CE, Häggström J. Pharmacologic management of myxomatous mitral valve disease in dogs. *J Vet Cardiol* 2012;14:165-184.
54. Atkins C, Bonagura J, Ettinger S, Fox P, Gordon S, Haggstrom J, Hamlin R, Keene B, Luis-Fuentes V, Stepien R. Guidelines for the diagnosis and treatment of canine chronic valvular heart disease. *J Vet Intern Med* 2009;23:1142-1150.
55. Bonow RO, Carabello BA, Chatterjee K, de Leon AC Jr, Faxon DP, Freed MD, Gaasch WH, Lytle BW, Nishimura RA, O'Gara PT, O'Rourke RA, Otto CM, Shah PM, Shanewise JS; 2006 Writing Committee Members; American College of Cardiology/American Heart Association Task Force. 2008 Focused update incorporated into the ACC/AHA 2006 guidelines for the management of patients with valvular heart disease: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 1998 Guidelines for the Management of Patients With Valvular Heart Disease): endorsed by the Society of Cardiovascular Anesthesiologists, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, and Society of Thoracic Surgeons. *Circulation* 2008;118:e523-661.
56. Enriquez-Sarano M, Tajik AJ, Schaff HV, Orszulak TA, McGoon MD, Bailey KR, Frye RL. Echocardiographic prediction of left ventricular function after correction of mitral regurgitation: results and clinical

- implications. *J Am Coll Cardiol* 1994;24:1536-1543.
57. Matsumura T, Ohtaki E, Tanaka K, Misu K, Tobaru T, Asano R, Nagayama M, Kitahara K, Umemura J, Sumiyoshi T, Kasegawa H, Hosoda S. Echocardiographic prediction of left ventricular dysfunction after mitral valve repair for mitral regurgitation as an indicator to decide the optimal timing of repair. *J Am Coll Cardiol* 2003;42:458-463.
58. De Bonis M, Bolling SF. Mitral valve surgery: wait and see vs. early operation. *Eur Heart J* 2013;34:13-19a.
59. de Isla LP, de Agustin A, Rodrigo JL, Almeria C, del Carmen Manzano M, Rodríguez E, García A, Macaya C, Zamorano J. Chronic mitral regurgitation: a pilot study to assess preoperative left ventricular contractile function using speckle-tracking echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 2009;22:831-838.
60. de Agustín JA, Pérez de Isla L, Núñez-Gil IJ, Vivas D, Manzano Mdel C, Marcos-Alberca P, Fernández-Golfín C, Corros C, Almería C, Rodrigo JL, Aubele A, Herrera D, Rodríguez E, Macaya C, Zamorano J. Assessment of myocardial deformation: Predicting medium-term left ventricular dysfunction after surgery in patients with chronic mitral regurgitation. *Rev Esp Cardiol* 2010;63:544-553.
61. Mascle S, Schnell F, Thebault C, Corbineau H, Laurent M, Hamonic S, Veillard D, Mabo P, Leguerrier A, Donal E. Predictive value of global longitudinal strain in a surgical population of organic mitral regurgitation. *J Am Soc Echocardiogr* 2012;25:766-772.
62. Pedersen HD, Häggström J. Mitral valve prolapse in the dog: a model

- of mitral valve prolapse in man. *Cardiovasc Res* 2000;47:234-243.
63. Leroux AA, Moonen ML, Pierard LA, Kolh P, Amory H. Animal models of mitral regurgitation induced by mitral valve chordae tendineae rupture. *J Heart Valve Dis* 2012;21:416-423.
64. Chetboul V, Serres F, Gouni V, Tissier R, Pouchelon JL. Radial strain and strain rate by two-dimensional speckle tracking echocardiography and the tissue velocity based technique in the dog. *J Vet Cardiol* 2007;9:69-81.
65. Chetboul V, Serres F, Gouni V, Tissier R, Pouchelon JL. Noninvasive assessment of systolic left ventricular torsion by 2-dimensional speckle tracking imaging in the awake dog: repeatability, reproducibility, and comparison with tissue Doppler imaging variables. *J Vet Intern Med* 2008;22:342-350.
66. Takano H, Fujii Y, Ishikawa R, Aoki T, Wakao Y. Comparison of left ventricular contraction profiles among small, medium, and large dogs by use of two-dimensional speckle-tracking echocardiography. *Am J Vet Res* 2010;71:421-427.
67. Wess G, Keller LJ, Klausnitzer M, Killich M, Hartmann K. Comparison of longitudinal myocardial tissue velocity, strain, and strain rate measured by two-dimensional speckle tracking and by color tissue Doppler imaging in healthy dogs. *J Vet Cardiol* 2011;13:31-43.
68. Suzuki R, Matsumoto H, Teshima T, Koyama H. Influence of heart rate on myocardial function using two-dimensional speckle-tracking echocardiography in healthy dogs. *J Vet Cardiol* 2013;15:139-146.

69. Carnabuci C, Hanås S, Ljungvall I, Tidholm A, Bussadori C, Häggström J, Höglund K. Assessment of cardiac function using global and regional left ventricular endomyocardial and epimyocardial peak systolic strain and strain rate in healthy Labrador retriever dogs. *Res Vet Sci* 2013;95:241-248.
70. Westrup U, McEvoy FJ. Speckle tracking echocardiography in mature Irish Wolfhound dogs: technical feasibility, measurement error and reference intervals. *Acta Vet Scand* 2013;16;55:41.
71. Suzuki R, Matsumoto H, Teshima T, Koyama H. Effect of age on myocardial function assessed by two-dimensional speckle-tracking echocardiography in healthy beagle dogs. *J Vet Cardiol* 2013;15,243-252.
72. Smith DN, Bonagura JD, Culwell NM, Schober KE. Left ventricular function quantified by myocardial strain imaging in small-breed dogs with chronic mitral regurgitation. *J Vet Cardiol* 2012;14:231-242.
73. Chetboul V, Tissier R. Echocardiographic assessment of canine degenerative mitral valve disease. *J Vet Cardiol* 2012;14:127-148.
74. Zois NE, Tidholm A, Nägga KM, Moesgaard SG, Rasmussen CE, Falk T, Häggström J, Pedersen HD, Åblad B, Nilsen HY, Olsen LH. Radial and longitudinal strain and strain rate assessed by speckle-tracking echocardiography in dogs with myxomatous mitral valve disease. *J Vet Intern Med* 2012;26:1309-1319.
75. Suzuki R, Matsumoto H, Teshima T, Koyama H. Clinical assessment of systolic myocardial deformations in dogs with chronic mitral valve insufficiency using two-dimensional speckle-tracking

- echocardiography. *J Vet Cardiol* 2013;15:41-49.
76. Suzuki R, Matsumoto H, Teshima T, Koyama H. Noninvasive clinical assessment of systolic torsional motions using two-dimensional speckle-tracking echocardiography in dogs with myxomatous mitral valve disease. *J Vet Intern Med* 2013;27:69-75.
77. Zois NE, Olsen NT, Moesgaard SG, Rasmussen CE, Falk T, Häggström J, Pedersen HD, Møller JE, Olsen LH. Left ventricular twist and circumferential strain in dogs with myxomatous mitral valve disease. *J Vet Intern Med* 2013;27:875-883.
78. Takano H, Fujii Y, Yugeta N, Takeda S, Wakao Y. Assessment of left ventricular regional function in affected and carrier dogs with Duchenne muscular dystrophy using speckle tracking echocardiography. *BMC Cardiovasc Disord* 2011;25:11:23.
79. Wang J, Khoury DS, Yue Y, Torre-Amione G, Nagueh SF. Preserved left ventricular twist and circumferential deformation, but depressed longitudinal and radial deformation in patients with diastolic heart failure. *Eur Heart J* 2008;29:1283-1289.
80. Mizuguchi Y, Oishi Y, Miyoshi H, Iuchi A, Nagase N, Oki T. The functional role of longitudinal, circumferential, and radial myocardial deformation for regulating the early impairment of left ventricular contraction and relaxation in patients with cardiovascular risk factors: a study with two-dimensional strain imaging. *J Am Soc Echocardiogr* 2008;21:1138-1144.
81. Jacobs G, Mahjoob K. Influence of alterations in heart rate on echocardiographic measurements in the dog. *Am J Vet Res*

- 1988;49:548-552.
82. Yamamoto K, Masuyama T, Tanouchi J, Doi Y, Kondo H, Hori M, Kitabatake A, Kamada T. Effects of heart rate on left ventricular filling dynamics: assessment from simultaneous recordings of pulsed Doppler transmitral flow velocity pattern and haemodynamic variables. *Cardiovasc Res* 1993;27:935-941.
83. Crosara S, Borgarelli M, Perego M, Häggström J, La Rosa G, Tarducci A, Santilli RA. Holter monitoring in 36 dogs with myxomatous mitral valve disease. *Aust Vet J* 2010;88:386-392.
84. Rishniw M, Erb HN. Evaluation of four 2-dimensional echocardiographic methods of assessing left atrial size in dogs. *J Vet Intern Med* 2000;14:429-435.
85. Sahn DJ, DeMaria A, Kisslo J, Weyman A. Recommendations regarding quantitation in M-mode echocardiography: results of a survey of echocardiographic measurements. *Circulation* 1978;58:1072-1083.
86. Schober KE, Hart TM, Stern JA, Li X, Samii VF, Zekas LJ, Scansen BA, Bonagura JD. Detection of congestive heart failure in dogs by Doppler echocardiography. *J Vet Intern Med* 2010;24:1358-1368.
87. Nagueh SF, Appleton CP, Gillebert TC, Marino PN, Oh JK, Smiseth OA, Waggoner AD, Flachskampf FA, Pellikka PA, Evangelista A. Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 2009;22:107-133.
88. Teshima K, Asano K, Sasaki Y, Kato Y, Kutara K, Edamura K,

- Hasegawa A, Tanaka S. Assessment of left ventricular function using pulsed tissue Doppler imaging in healthy dogs and dogs with spontaneous mitral regurgitation. *J Vet Med Sci* 2005;67:1207-1215.
89. Lewis JF, Kuo LC, Nelson JG, Limacher MC, Quinones MA. Pulsed Doppler echocardiographic determination of stroke volume and cardiac output: clinical validation of two new methods using the apical window. *Circulation* 1984;70:425-431.
90. Weidemann F, Jamal F, Sutherland GR, Claus P, Kowalski M, Hatle L, De Scheerder I, Bijnens B, Rademakers FE. Myocardial function defined by strain rate and strain during alterations in inotropic states and heart rate. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;283:H792-799.
91. Takeuchi M, Otsuji Y, Lang RM. Evaluation of left ventricular function using left ventricular twist and torsion parameters. *Curr Cardiol Rep* 2009;11:225-230.
92. Domalik-Wawrzynski LJ, Powell WJ Jr, Guerrero L, Palacios I. Effect of changes in ventricular relaxation on early diastolic coronary blood flow in canine hearts. *Circ Res* 1987;61:747-756.
93. Bovendeerd PH, Arts T, Huyghe JM, van Campen DH, Reneman RS. Dependence of local left ventricular wall mechanics on myocardial fiber orientation: a model study. *J Biomech* 1992;25:1129-1140.
94. Ashikaga H, van der Spoel TI, Coppola BA, Omens JH. Transmural myocardial mechanics during isovolumic contraction. *JACC Cardiovasc Imaging* 2009;2:202-211.
95. Ingels NB Jr, Hansen DE, Daughters GT 2nd, Stinson EB, Alderman

- EL, Miller DC. Relation between longitudinal, circumferential, and oblique shortening and torsional deformation in the left ventricle of the transplanted human heart. *Circ Res* 1989;64:915-927.
96. Dong SJ, Hees PS, Siu CO, Weiss JL, Shapiro EP. MRI assessment of LV relaxation by untwisting rate: a new isovolumic phase measure of tau. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;281:H2002-H2009.
97. Burns AT, La Gerche A, Prior DL, Macisaac AI. Left ventricular untwisting is an important determinant of early diastolic function. *JACC Cardiovasc Imaging* 2009;2:709-716.
98. Notomi Y, Popovic ZB, Yamada H, Wallick DW, Martin MG, Oryszak SJ, Shiota T, Greenberg NL, Thomas JD. Ventricular untwisting: a temporal link between left ventricular relaxation and suction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008;294:H505-H513.
99. Streeter DD Jr, Spotnitz HM, Patel DP, Ross J Jr, Sonnenblick EH. Fiber orientation in the canine left ventricle during diastole and systole. *Circ Res* 1969;24:339-347.
100. Cheng A, Nguyen TC, Malinowski M, Daughters GT, Miller DC, Ingels NB Jr. Heterogeneity of left ventricular wall thickening mechanisms. *Circulation* 2008;118:713-721.
101. Beyar R, Sideman S. Effect of the twisting motion on the nonuniformities of transmural fiber mechanics and energy demand: a theoretical study. *IEEE Trans Biomed Eng* 1985;32:764-769.
102. Beyar R, Sideman S. Left ventricular mechanics related to the local distribution of oxygen demand throughout the wall. *Circ Res*

- 1986;58:664-677.
103. Ohayon J, Chadwick RS. Theoretical analysis of the effects of a radial activation wave and twisting motion on the mechanics of the left ventricle. *Biorheology* 1988;25:435-447.
104. Grabskaya E, Spira C, Hoffmann R, Altiok E, Ocklenburg C, Hoffmann R, Becker M. Myocardial rotation but not circumferential strain is transducer angle dependent: a speckle tracking echocardiography study. *Echocardiography* 2010;27:809-814.
105. Schober KE, Fuentes VL. Effects of age, body weight, and heart rate on transmitral and pulmonary venous flow in clinically normal dogs. *Am J Vet Res* 2001;62:1447-1454.
106. Templeton GH, Platt MR, Willerson JT, Weisfeldt ML. Influence of aging on left ventricular hemodynamics and stiffness in beagles. *Circ Res* 1979;44:189-194.
107. Urthaler F, Walker AA, Kawamura K, Hefner LL, James TN. Canine atrial and ventricular muscle mechanics studied as a function of age. *Circ Res* 1978;42:703-713.
108. Takeuchi M, Nakai H, Kokumai M, Nishikage T, Otani S, Lang RM. Age-related changes in left ventricular twist assessed by two-dimensional speckle-tracking imaging. *J Am Soc Echocardiogr* 2006;19:1077-1084.
109. van Dalen BM, Soliman OI, Vletter WB, ten Cate FJ, Geleijnse ML. Age-related changes in the biomechanics of left ventricular twist measured by speckle tracking echocardiography. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008;295:H1705-1711.

110. Suzuki R, Matsumoto H, Teshima T, Mochizuki Y, Koyama H. Left ventricular geometrical differences in dogs with various stages of myxomatous mitral valve disease. *J Small Anim Pract* 2013;54:234-239.
111. Gomez-Doblas JJ, Schor J, Vignola P, Weinberg D, Traad E, Carrillo R, Williams D, Lamas GA. Left ventricular geometry and operative mortality in patients undergoing mitral valve replacement. *Clin Cardiol* 2001;24:717-722.
112. Dini FL, Capozza P, Donati F, Simioniuc A, Corciu AI, Fontanive P, Pieroni A, Di Bello V, Marzilli M. Patterns of left ventricular remodeling in chronic heart failure: prevalence and prognostic implications. *Am Heart J* 2011;161:1088-1095.
113. Marciniak A, Claus P, Sutherland GR, Marciniak M, Karu T, Baltabaeva A, Merli E, Bijnens B, Jahangiri M. Changes in systolic left ventricular function in isolated mitral regurgitation. A strain rate imaging study. *Eur Heart J* 2007;28:2627-2636.
114. Lakatta EG, Levy D. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part II: the aging heart in health: links to heart disease. *Circulation* 2003;107:346-354.
115. Nikitin NP, Witte KK, Thackray SD, de Silva R, Clark AL, Cleland JG. Longitudinal ventricular function: normal values of atrioventricular annular and myocardial velocities measured with quantitative two-dimensional color Doppler tissue imaging. *J Am Soc Echocardiogr* 2003;16:906-921.
116. Lumens J, Delhaas T, Arts T, Cowan BR, Young AA. Impaired

- subendocardial contractile myofiber function in asymptomatic aged humans, as detected using MRI. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006;291:H1573-1579.
117. Oxenham HC, Young AA, Cowan BR, Gentles TL, Occleshaw CJ, Fonseca CG, Doughty RN, Sharpe N. Age-related changes in myocardial relaxation using three-dimensional tagged magnetic resonance imaging. *J Cardiovasc Magn Reson* 2003;5:421-430.
118. Fonseca CG, Oxenham HC, Cowan BR, Occleshaw CJ, Young AA. Aging alters patterns of regional nonuniformity in LV strain relaxation: a 3-D MR tissue tagging study. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003;285:H621-630.
119. Fleg JL, O'Connor F, Gerstenblith G, Becker LC, Clulow J, Schulman SP, Lakatta EG. Impact of age on the cardiovascular response to dynamic upright exercise in healthy men and women. *J Appl Physiol* 1995;78:890-900.
120. Okura H, Takada Y, Yamabe A, Kubo T, Asawa K, Ozaki T, Yamagishi H, Toda I, Yoshiyama M, Yoshikawa J, Yoshida K. Age- and gender-specific changes in the left ventricular relaxation: a Doppler echocardiographic study in healthy individuals. *Circ Cardiovasc Imaging* 2009;2:41-6.
121. Chiavegato D, Borgarelli M, D'Agnolo G, Santilli RA. Pulmonary hypertension in dogs with mitral regurgitation attributable to myxomatous valve disease. *Vet Radiol Ultrasound* 2009;50:253-258.
122. Jacobs G, Mahjoob K. Multiple regression analysis, using body size and cardiac cycle length, in predicting echocardiographic variables in

- dogs. *Am J Vet Res* 1988;49:1290-1294.
123. Grossman W, Jones D, McLaurin LP. Wall stress and patterns of hypertrophy in the human left ventricle. *J Clin Invest* 1975;56:56-64.
124. Burns AT, La Gerche A, D'hooge J, MacIsaac AI, Prior DL. Left ventricular strain and strain rate: characterization of the effect of load in human subjects. *Eur J Echocardiogr* 2010;11:283-289.
125. Mizuguchi Y, Oishi Y, Miyoshi H, Iuchi A, Nagase N, Oki T. Concentric left ventricular hypertrophy brings deterioration of systolic longitudinal, circumferential, and radial myocardial deformation in hypertensive patients with preserved left ventricular pump function. *J Cardiol* 2010;55:23-33.
126. Kato T, Ohte N, Wakami K, Goto T, Fukuta H, Narita H, Kimura G. Myocardial fiber shortening in the circumferential direction produces left ventricular wall thickening during contraction. *Tohoku J Exp Med* 2010;222:175-181.
127. Avierinos JF, Gersh BJ, Melton LJ 3rd, Bailey KR, Shub C, Nishimura RA, Tajik AJ, Enriquez-Sarano M. Natural history of asymptomatic mitral valve prolapse in the community. *Circulation* 2002;106:1355-1361.
128. Arts T, Hunter WC, Douglas AS, Muijtjens AM, Corsel JW, Reneman RS. Macroscopic three-dimensional motion patterns of the left ventricle. *Adv Exp Med Biol* 1993;346:383-392.
129. Gorman JH 3rd, Gupta KB, Streicher JT, Gorman RC, Jackson BM, Ratcliffe MB, Bogen DK, Edmunds LH Jr. Dynamic three-dimensional imaging of the mitral valve and left ventricle by

- rapid sonomicrometry array localization. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996;112:712-726.
130. Lorenz CH, Pastorek JS, Bundy JM. Delineation of normal human left ventricular twist throughout systole by tagged cine magnetic resonance imaging. *J Cardiovasc Magn Reson* 2000;2:97-108.
131. Sengupta PP, Narula J. Reclassifying heart failure: predominantly subendocardial, subepicardial, and transmural. *Heart Fail Clin* 2008;4:379-382.
132. Ennis DB, Nguyen TC, Itoh A, Bothe W, Liang DH, Ingels NB, Miller DC. Reduced systolic torsion in chronic "pure" mitral regurgitation. *Circ Cardiovasc Imaging* 2009;2:85-92.
133. Tibayan FA, Yun KL, Fann JI, Lai DT, Timek TA, Daughters GT, Ingels NB, Miller DC. Torsion dynamics in the evolution from acute to chronic mitral regurgitation. *J Heart Valve Dis* 2002;11:39-46.
134. Hamdani N, Kooij V, van Dijk S, Merkus D, Paulus WJ, Remedios CD, Duncker DJ, Stienen GJ, van der Velden J. Sarcomeric dysfunction in heart failure. *Cardiovasc Res* 2008;77:649-658.
135. Pu M, Gao Z, Zhang X, Liao D, Pu DK, Brennan T, Davidson WR Jr. Impact of mitral regurgitation on left ventricular anatomic and molecular remodeling and systolic function: implication for outcome. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009;296:H1727-1732.
136. Lee R, Haluska B, Leung DY, Case C, Mundy J, Marwick TH. Functional and prognostic implications of left ventricular contractile reserve in patients with asymptomatic severe mitral regurgitation. *Heart* 2005;91:1407-1412.

137. Leung DY, Griffin BP, Snader CE, Luthern L, Thomas JD, Marwick TH. Determinants of functional capacity in chronic mitral regurgitation unassociated with coronary artery disease or left ventricular dysfunction. *Am J Cardiol* 1997;79:914-920.
138. McEntee K, Amory H, Clercx C, Soyeur D, Michaux C, Vanhaeverbeek O, Jacqmot O, Henroteaux M. Physiologic response to dobutamine infusion during cardiac stress testing of dogs. *Am J Vet Res* 1998;59:1160-1165.
139. Spasojević Kosić L, Trailović DR, Matunović R. Resting and dobutamine stress test induced serum concentrations of brain natriuretic peptide in German Shepherd dogs. *Res Vet Sci* 2012;93:1446-1453.
140. Mc Entee K, Clercx C, Soyeur D, Amory H, Michaux C, Flandre T, Jonville E, Pynnaert C, Miserque N, Henroteaux M. Usefulness of dobutamine stress tests for detection of cardiac abnormalities in dogs with experimentally induced early left ventricular dysfunction. *Am J Vet Res* 2001;62:448-455.
141. Minors SL, O'Grady MR. Resting and dobutamine stress echocardiographic factors associated with the development of occult dilated cardiomyopathy in healthy Doberman pinscher dogs. *J Vet Intern Med* 1998;12:369-380.
142. Reant P, Labrousse L, Lafitte S, Bordachar P, Pillois X, Tariosse L, Bonoron-Adele S, Padois P, Deville C, Roudaut R, Dos Santos P. Experimental validation of circumferential, longitudinal, and radial 2-dimensional strain during dobutamine stress echocardiography in

- ischemic conditions. *J Am Coll Cardiol* 2008;51:149-157.
143. Zoghbi WA, Enriquez-Sarano M, Foster E, Grayburn PA, Kraft CD, Levine RA, Nihoyannopoulos P, Otto CM, Quinones MA, Rakowski H, Stewart WJ, Waggoner A, Weissman NJ; American Society of Echocardiography. Recommendations for evaluation of the severity of native valvular regurgitation with two-dimensional and Doppler echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr* 2003;16:777-802.
144. Donal E, Mascle S, Brunet A, Thebault C, Corbineau H, Laurent M, Leguerrier A, Mabo P. Prediction of left ventricular ejection fraction 6 months after surgical correction of organic mitral regurgitation: the value of exercise echocardiography and deformation imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2012;13:922-930.
145. Bristow MR, Ginsburg R, Minobe W, Cubicciotti RS, Sageman WS, Lurie K, Billingham ME, Harrison DC, Stinson EB. Decreased catecholamine sensitivity and beta-adrenergic receptor density in failing human hearts. *N Engl J Med* 1982;307:205-211.
146. Engelhardt S, Böhm M, Erdmann E, Lohse MJ. Analysis of beta-adrenergic receptor mRNA levels in human ventricular biopsy specimens by quantitative polymerase chain reactions: progressive reduction of beta1-adrenergic receptor mRNA in heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1996;27:146-154.
147. Bristow MR, Anderson FL, Port JD, Skerl L, Hershberger RE, Larrabee P, O'Connell JB, Renlund DG, Volkman K, Murray J. Differences in beta-adrenergic neuroeffector mechanisms in ischemic versus idiopathic dilated cardiomyopathy. *Circulation* 1991;84:1024-

1039.

148. Davies CH, Davia K, Bennett JG, Pepper JR, Poole-Wilson PA, Harding SE. Reduced contraction and altered frequency response of isolated ventricular myocytes from patients with heart failure. *Circulation* 1995;92:2540–2549.
149. Feldman MD, Copelas L, Gwathmey JK, Phillips P, Warren SE, Schoen FJ, Grossman W, Morgan JP. Deficient production of cyclic AMP: pharmacologic evidence of an important cause of contractile dysfunction in patients with end-stage heart failure. *Circulation* 1987;75:331–339.
150. van Dalen BM, Kauer F, Vletter WB, Soliman OI, van der Zwaan HB, Ten Cate FJ, Geleijnse ML. Influence of cardiac shape on left ventricular twist. *J Appl Physiol* 2010;108:146-151.
151. International Small Animal Cardiac Health Coucil.1999.Recommendations for diagnosis of heart disease and treatment of heart failure in small animals.pp.883-901. In: Fox,P.R., Sisson,D. and Moise N.S.eds. *Textbook of Canine and Feline Cardiology* 2nd ed. W.B.Saunders: Philadelphia.
152. Suzuki R, Matsumoto H, Teshima T, Mochizuki Y, Koyama H. Dobutamine Stress Echocardiography for Assessment of Systolic Function in Dogs with Experimentally Induced Mitral Regurgitation. *J Vet Intern Med* (In press)

**Myocardial function assessed by two-dimensional
speckle-tracking echocardiography in dogs**

Summary of Doctor Thesis

Ryohei Suzuki

**Graduate school of Veterinary and Life Science
Nippon Veterinary and Life Science University**

Echocardiography plays an essential role in the assessment of cardiac disease in veterinary medicine. Two-dimensional speckle-tracking echocardiography (2D-STE) has recently been used to assess myocardial deformations in humans and dogs. This technique has enabled the assessment of myocardial variables, such as strain, strain rate, and torsional measurements, that provide better quantification of regional and global myocardial deformations and might have higher sensitivity than conventional echocardiographic parameters for detecting subtle myocardial function abnormalities. However, the effect of age and heart rate (HR) on 2D-STE variables has not previously been reported.

Myxomatous mitral valve disease (MMVD) is the most common cardiac disease of dogs, and some dogs with MMVD develop myocardial dysfunction due to enlargement and remodeling of the heart. Recently, systolic dysfunction is associated with poor outcomes in dogs with MMVD. However, assessment of systolic function using conventional echocardiographic methods is difficult in mitral regurgitation (MR) owing to altered hemodynamic loading conditions and sympathetic tone. We hypothesized that myocardial deformations assessed by 2D-STE could be useful markers of systolic dysfunction in dogs with MMVD.

This study was designed to assess 1) the effect of HR and age on 2D-STE variables in healthy dogs, 2) multidirectional myocardial deformations derived by 2D-STE in dogs with various stages of MMVD, and 3) myocardial deformations during a dobutamine stress test with 2D-STE in dogs with experimentally induced chronic MR.

1. Influence of heart rate on myocardial function using two-dimensional speckle-tracking echocardiography in healthy dogs (Chapter II).

HR is a known important modulator of cardiac function, influencing echocardiographic variables. Therefore, it should always be considered in the evaluation of cardiac function, particularly in the event of cardiac failure. However, influence of HR on myocardial function assessed by 2D-STE has not previously been reported. In this study, thirteen healthy beagles were anesthetized and controlled HR with right atrial pacing. Myocardial function of each was assessed using 2D-STE at the pacing rates of 120, 140, 160, and 180 beats per minute (bpm). All strain and strain rate variables in the longitudinal, circumferential, and radial directions were not significantly different at the range of 120-180 bpm. The peak early diastolic torsion rate at 180 bpm was significantly increased compared with that at 120 bpm ($P = 0.003$). Torsion rate in early diastole was elevated at a HR of 180 bpm, which may reflect increased myocardial relaxation with increasing HR. Left ventricular torsion and untwisting at higher HR may play an important role in preserving stroke volume in the presence of shortened ejection and filling times.

2. Effect of age on myocardial function assessed by two-dimensional speckle-tracking echocardiography in healthy beagle dogs (Chapter III).

Aging might affect cardiac function in dogs. Aging also seems to be related to myocardial torsion, assessed by 2D-STE in healthy humans, which is directly related to the helical orientation of myocardial fibers.

As the number and proportion of older dogs in the canine population will increase, quantitative information on age-associated changes in cardiovascular function in the absence of disease becomes more important. However, the effect of age on myocardial function assessed by 2D-STE in healthy dogs has not been previously reported. Thirty-two healthy beagles were used. Myocardial function was assessed in each dog by using 2D-STE, and the results were compared between young and old dogs. The myocardial deformations in systole, besides the apical rotation rate, were not significantly different between young and old dogs. In contrast, the early diastolic circumferential strain rate, basal rotation rate, and torsion rate were significantly lower in old dogs than in young dogs ($P = 0.03$, $P = 0.033$, and $P = 0.015$, respectively). Late diastolic longitudinal and radial strain rates were significantly higher in old dogs than in young dogs ($P = 0.002$ and $P = 0.018$, respectively). Young and old dogs showed similar systolic myocardial deformations, but significant differences in the values of some diastolic deformation variables were found between young and old dogs, highlighting the need for using age-matched control subjects in studies of diastolic function. Evidences about the effect of age in the heart provide important information for understanding age-related cardiovascular diseases.

3. Clinical assessment of systolic myocardial deformations in dogs with myxomatous mitral valve disease using two-dimensional speckle-tracking echocardiography (Chapter IV).

This study was designed to quantitatively measure multidirectional

myocardial deformations of dogs in various stages of MMVD. Our hypothesis for this study was that myocardial deformations assessed by 2D-STE could be useful markers of systolic dysfunction in dogs with MMVD. Eighty-seven dogs with MMVD were enrolled in the study. Dogs were placed into 1 of 3 classes, based on the International Small Animal Cardiac Health Council classification. In addition, 20 weight- and age-matched healthy dogs were enrolled as controls. The dogs were examined for myocardial deformations using 2D-STE, and the peak systolic strain and strain rate in the longitudinal, circumferential, and radial directions were evaluated. Class II and III dogs had higher circumferential strain than class I dogs ($P = 0.002$ and $P = 0.001$, respectively) and controls ($P < 0.001$ and $P < 0.001$, respectively). Class III dogs had higher radial strain than class I dogs ($P = 0.001$) and controls ($P < 0.001$). Class III dogs had higher radial strain rate than class I dogs ($P = 0.006$) and controls ($P = 0.001$). Other deformations, including longitudinal deformations, were not significantly different between classes of MMVD or between MMVD dogs and controls. In the clinical progression of MMVD in dogs, myocardial deformations, as assessed by 2D-STE, differed according to myocardial contractile direction. Thus, assessments of multidirectional myocardial deformations may be important for better assessment of clinical cardiac function in dogs with MMVD.

4. Noninvasive clinical assessment of systolic torsional motions by two-dimensional speckle-tracking echocardiography in dogs with

myxomatous mitral valve disease (Chapter V).

This study was designed to quantitatively measure myocardial torsional deformations of dogs in various stages of MMVD. Our hypothesis for this study was that myocardial torsion, which is directly related to helically oriented myocardial fibers, could be useful markers of systolic dysfunction in dogs with MMVD. Sixty-seven client-owned dogs with MMVD classified into 3 classes based on the International Small Animal Cardiac Health Council classification and 16 weight- and age-matched healthy dogs. Dogs were examined for myocardial deformations using 2D-STE and were evaluated for peak systolic rotation and rotation rate at each basal and apical view. Dogs were also evaluated for peak systolic torsion and torsion rate. Peak systolic torsion was higher in class II than in class I ($P < 0.001$) dogs. Peak systolic torsion was lower in class III than in class II ($P = 0.001$) dogs and controls ($P = 0.003$). Torsional deformations assessed by 2D-STE differed among clinical classes of MMVD. The lower torsion in dogs with severe MMVD may contribute to latent systolic dysfunction and seems to be related to severe cardiac clinical signs. Myocardial torsional deformations using 2D-STE may provide more detailed assessment of contractile function in dogs with MMVD.

5. Dobutamine stress echocardiography for assessment of systolic function in dogs with experimentally induced mitral regurgitation (Chapter VI).

Systolic dysfunction is associated with poor outcomes in dogs with

MMVD. However, assessment of systolic variables using conventional echocardiographic methods is difficult in these dogs due to MR. We hypothesized that an inotropic challenge with dobutamine, and assessed by 2D-STE, could reveal early occult cardiac dysfunction not evident at rest. Five anesthetized dogs with experimentally induced MR were used. Dogs were examined for systolic myocardial deformations using 2D-STE during dobutamine infusion prior to and 3 and 6 months after MR induction. We evaluated peak systolic rotation and the rotation rate in each basal and apical view; peak systolic torsion and torsion rate were also calculated. Invasive peak positive first derivatives of the left ventricular pressure (dp/dt) were significantly decreased in dogs 6 months after induction of MR compared with the pre-MR values. Dogs with 3 and 6 months of MR had diminished peak systolic torsion values and torsion rates in response to dobutamine infusion compared with pre-MR data (3 months, $P < 0.001$ and $P = 0.006$; 6 months, $P = 0.003$ and $P = 0.021$). These were significantly correlated with the overall invasive dp/dt ($r = 0.644$, $P < 0.001$; $r = 0.696$, $P < 0.001$). Diminished torsion during dobutamine infusion in dogs with advanced MR may reflect latent systolic dysfunction. Contractile reserve, assessed as described, may provide a more detailed assessment of contractile function in dogs with MR.

This study confirmed that the effect of HR and age on myocardial function assessed by 2D-STE in dogs. The present study obtained normal values for 2D-STE variables in various HR and young and old dogs, and

these can be used as preliminary data for the establishment of reference intervals of 2D-STE in the dog. This study also indicated that multidirectional myocardial deformations could be assessed using 2D-STE to evaluate myocardial function of non-sedated dogs with adequate repeatability. These multidirectional myocardial deformations might improve the clinical assessment of cardiac function in dogs with MMVD. As the torsion is directly related to helically-oriented myocardial fibers, the lower torsion in dogs with severe MMVD may contribute to latent systolic dysfunction. Finally, this study suggests that contractile reserve assessed by dobutamine stress test with 2D-STE is useful tool for early detection of the systolic dysfunction in dogs with MR.