

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 小 川 実 月

粘液腫様変性性僧帽弁疾患 (MMVD)はイヌでは代表的な後天性心疾患である。近年、この疾患の診断に心臓バイオマーカー(CB)が利用されるようになった。CB の一種である N 末端プロ心房性ナトリウム利尿ペプチド(NT-proANP)は新規の CB で、この血漿濃度は MMVD の進行に伴い上昇する。しかしこの CB に関する研究は、血漿 NT-proB 型ナトリウム利尿ペプチド(NT-proBNP)濃度を含む他の CB と比較して明らかに不足しており、この濃度に影響する要因には不明な点が多い。また、イヌでは血漿 NT-proANP 濃度の臨床的有用性は十分には検討されていない。

そこで本研究では、健康なイヌを用いて血漿 NT-proANP 濃度の日内変動の有無を調査した (第 2 章)。続いて、健康なイヌを用いて血漿 NT-proANP 濃度に対する脱水の影響を評価した (第 3 章)。そして、血漿イオヘキソール・クリアランス試験(PCio)により糸球体濾過量(GFR)を測定したイヌを用いて、血漿 NT-proANP 濃度に対する GFR の影響を評価した (第 4 章)。さらに MMVD のイヌを対象に血漿 NT-proANP 濃度の臨床的有用性も検討した (第 5 章)。最後に、発咳を示すイヌで血漿 NT-pro ANP 濃度による MMVD および呼吸器疾患の原因鑑別能を調査した (第 6 章)。

【第 2 章】イヌの血漿 N 末端プロ心房性ナトリウム利尿ペプチド濃度に対する食事の影響および日内変動に関する検討

健康な 5 頭のイヌを供試した。食事摂取の影響に関する調査では、フード給与 5 分前をベースライン(BL)とし、イヌがフードを完食してから 5、15、30 分、そして 1 および 2 時間後の血漿 NT-proANP 濃度を比較した。日内変動の評価では 10:30、13:30、16:30、19:30、

22:30、そして翌日の 1:30、4:30 および 7:30 の血漿 NT-proANP 濃度、心拍数および心拍変動(HRV)を比較・評価した。

その結果、血漿 NT-proANP 濃度は食事に影響されなかった。血漿 NT-proANP 濃度は全 RR 間隔の標準偏差(RMSSD)と逆相関を示し、交感神経活性が一時的に優位であったタイミングで一過性に上昇した。

以上の所見から、血漿 NT-proANP 濃度の測定のために採血する際、食事の影響は考慮する必要はないと判断された。しかし、交感神経活性の亢進時に血漿 NT-proANP 濃度は上昇する可能性が考えられたことから、採血時にイヌが興奮または緊張状態だった場合、この濃度の解釈に注意が必要と考えられた。

【第 3 章】イヌの血漿 N 末端プロ心房性ナトリウム利尿ペプチドおよび N 末端プロ B 型ナトリウム利尿ペプチド濃度に対する水和状態の影響に関する検討

健康なイヌ 5 頭にフロセミドを 1-2 時間毎に 2-4 mg/kg の用量で静脈内投与し、脱水モデルを作成した。5%以上の体重減少、かつ身体診察にて脱水所見が認められた時点を脱水モデル完成とした。脱水モデル作製前(BL)、脱水モデル完成時、そして脱水が改善したと判断した時点の血漿 NT-proANP および NT-proBNP 濃度を比較した。

その結果、血漿 NT-proANP 濃度は BL と比較して脱水モデル完成時に有意に減少した。これに対して、血漿 NT-proBNP 濃度は脱水前後で有意差を示さなかった。血漿 NT-proANP 濃度と体重および血漿 NT-proBNP 濃度が、そして血漿 NT-proBNP 濃度と電解質および心エコー図検査パラメータ(拡張期左室内径[LVIDd]および体重で標準化した LVIDd [LVIDdN])が有意に相関した。

以上の所見から、脱水状態のイヌから得た血漿 NT-proANP 濃度は、MMVD の重症度を過小評価する可能性が考えられた。血漿 NT-proBNP 濃度は血漿 NT-proANP 濃度、血漿ナトリウム濃度および左

室内径パラメータと有意に相関したことから、より重度な脱水時には心室内腔の縮小に伴い有意に減少する可能性が考えられた。

【第4章】イヌの血漿 N 末端プロ心房性ナトリウム利尿ペプチド濃度に対する糸球体濾過量の影響

本学付属動物医療センターまたは外部の動物病院で PCio によって GFR を測定した 59 頭のイヌを供試した。PCio が 1.8 mL/min/kg を超えていたイヌを正常群、0.9-1.8 mL/min/kg だったイヌを軽度 GFR 低下群、そして 0.9 mL/min/kg 未満だったイヌを重度 GFR 低下群に分類した。

結果として、正常群は 19 頭、軽度 GFR 低下群は 26 頭、そして重度 GFR 低下群は 14 頭だった。血漿 NT-proANP 濃度は正常群および軽度 GFR 低下群と比較して重度 GFR 低下群で有意に上昇したことから、血漿 NT-proANP 濃度は GFR の重度に低下した場合にのみ影響され、GFR の軽度な低下の影響は受けないことが判った。

【第5章】粘液腫様変性性僧帽弁疾患のイヌでの血漿 N 末端プロ心房性ナトリウム利尿ペプチド濃度および 3 種類の心臓バイオマーカーの病態に対する識別能の比較

本学付属動物医療センターまたは外部の 7 施設から症例を収集した。105 頭の供試犬は正常群（正常心およびアメリカ獣医内科学学会 [ACVIM] ステージ A : 36 頭）または MMVD 群 (ACVIM ステージ B1 : 34 頭、B2 : 14 頭、C : 14 頭および D : 7 頭) に分類した。

結果として、血漿 cTnI 濃度以外の CB は、正常群に対してステージ B1、B2、C および D で有意に上昇した。多変量解析では、左房内径大動脈根内径比 (LA/Ao) が血漿 NT-proANP、NT-proBNP および ANP 濃度に独立して関連する変数として選択された。受信者動作特性 (ROC) 曲線解析では、血漿 NT-proANP および NT-proBNP 濃度は、心拡大およびうっ血性心不全 (CHF) に対する感度および陰性的中

率が他の CB と比較して高値を示したが、この 2 つの CB 間では識別能に差なかった。

以上の所見から、血漿 NT-proANP、NT-proBNP および ANP 濃度は、臨床徴候の有無に関係なく、左房拡大に伴い上昇することが判った。

【第 6 章】 うっ血性心不全徴候を呈さない粘液腫様変性性僧帽弁疾患のイヌおよび呼吸器疾患のイヌにおける発咳の原因鑑別ツールとしての心臓バイオマーカーの有用性の比較評価

本学付属動物医療センターを受診し、かつ受診時に発咳が認められたイヌ 57 頭を供試した。発咳の原因が MMVD だったイヌは MMVD 群（31 頭）に、そして呼吸器疾患だったイヌは呼吸器疾患群(RD 群：26 頭)に分類した。なお、MMVD および呼吸器疾患の両者を併発した症例は除外した。

結果として、血漿 NT-proANP および NT-proBNP 濃度はいずれも RD 群と比較して MMVD 群で有意に上昇し、血漿 NT-proANP および NT-proBNP 濃度の感度は 93.9 および 97.0%、そして特異度はいずれも 82.1 %だった。

以上の所見から、この 2 種の CD の血漿濃度は MMVD のイヌおよび呼吸器疾患のイヌにおける発咳の原因鑑別に優れることが判った。

以上のように、本論文は、血漿 NT-proANP 濃度には日内変動が存在しないこと、そして脱水および GFR の影響を受けることを明らかにした。加えて、MMVD に対する血漿 NT-proANP 濃度の CB としての臨床的有用性を証明しており、学術上、応用上貢献するところが少なくない。

よって審査委員一同は、本論文が博士（獣医学）の学位論文として十分な価値を有するものと認め、合格と判定した。