

論文審査の結果の要旨

申請者名 富 永 芳 昇

イヌおよびネコの心疾患は発生頻度が高く、これらの動物種の死因としても重要である。イヌでは僧帽弁閉鎖不全症(MVI)が、そしてネコでは肥大型心筋症(HCM)が最も多発しており、これらは様々な検査を併用して診断されている。血漿中 N 末端 proB 型ナトリウム利尿ペプチド (NT-proBNP)濃度は、心疾患の存在および重症度の判定に使用される心臓バイオマーカーの一つである。血漿中 NT-proBNP 濃度の診断的意義に関するイヌおよびネコでの知見は肯定的なものと否定的なものに大別され、混乱している。本申請者は、その原因の一つとして血漿中 NT-proBNP 濃度の変動要因が十分に解析されていないことに注目し、最初に血漿中 NT-proBNP 濃度に影響する各種要因を検討した後(第 2～4 章)、イヌの MVI およびネコの HCM での血漿中 NT-proBNP 濃度の診断的意義を解析した(第 5 および 6 章)。

1. イヌおよびネコの血漿中 NT-proBNP 濃度の測定内および測定間変動の評価(第 2 章)

同一個体内で血漿中 NT-proBNP 濃度が変化した場合、その変動の由来が生体または測定手技なのかを判断することは重要である。そこで、動物ではこれまでほとんど検討されていない測定内変動および測定間変動に加え、測定前の血漿処理時にアプロチニンを添加する必要性も検討した。

それぞれ 5 頭のイヌおよびネコから採血し、エチレンジアミン四酢酸(EDTA)のみ、またはこれに加えてアプロチニンを添加して血漿を分離した。これらを 20 等分し、血漿中 NT-proBNP 濃度を同時測定した(測定内変動)。また、1 日以上の間隔をおいて測定を 10 回反復した(測定間変動)。

その結果、EDTA を添加した血漿中 NT-proBNP 濃度の測定内変動はイヌおよびネコでそれぞれ 11.4 および 10.6% だった。これに対して、EDTA およびアプロチニンを添加したイヌおよびネコの測定内変動は、それぞれ 11.4 および 0%

だった。測定間変動に関しては、EDTA 添加血漿での NT-proBNP 濃度はイヌおよびネコでそれぞれ 19.9 および 16.9% で、EDTA およびアプロチニンで処理した血漿のそれはそれぞれ 21.5 および 29.5% だった。測定内変動および測定間変動の両者において、同一動物種間およびサンプル処理法間で有意差は検出されなかった。

以上の結果から、血漿中 NT-proBNP 濃度にはおよそ 10 ~ 20 % の測定変動が存在することが明らかになった。

2. 臨床的に健康なイヌおよびネコの血漿中 NT-proBNP 濃度の日内および週間変動、そして食事および運動の影響の評価（第 3 章）

血行動態には日内リズムが存在し、また食事および運動の影響を受けるため、血漿中 NT-proBNP 濃度はこれらの要因に影響される可能性がある。血漿中 NT-proBNP 濃度を臨床現場で活用することを想定すると、これらの変動要因を明確にすべきだが、イヌおよびネコではこの点に関する調査は行われていない。そこで、本章では血漿中 NT-proBNP 濃度の日内および週間変動（実験 1）、そして食事（実験 2）および運動による影響を評価した（実験 3）。

実験 1 では健康なイヌ 7 頭およびネコ 5 頭を用い、それぞれ 3 時間間隔で 24 時間にわたって採血した。また、週間変動を確認するためこの操作を同じ曜日に 3 回反復した。実験 2 では、実験 1 で用いた 7 頭のイヌから 12 時間絶食後に採血し、その後に食事を与え、採食完了 180 分後まで計 5 回採血した。実験 3 では、実験 1 および 2 と同じ 7 頭のイヌを用いヒトが歩行する速度で 15 分間運動させた後、実験 2 と同様に採血した。その結果、いずれの実験でも血漿中 NT-proBNP 濃度に有意な変動は観察されなかった。このため、血漿中 NT-proBNP 濃度の測定を目的に採血する際に、採血時刻、そして食物摂取および運動の影響を考慮する必要はないことが判明した。

3. 血漿中 NT-proBNP 濃度に対する糸球体ろ過量の影響の評価（第 4 章）

ヒトおよび実験動物では、循環中 NT-proBNP は糸球体ろ過により排泄されるため、この濃度は糸球体ろ過量 (GFR) に影響される。イヌおよびネコでは慢性心臓病に加え、腎機能が低下する症例が多い。しかし、イヌおよびネコでは GFR と血漿中 NT-proBNP 濃度の関連は調査されていない。そこで、心臓病に罹患していないイヌ 73 頭およびネコ 34 頭を用いて、血漿中 NT-proBNP 濃度、そして血漿イオヘキソールクリアランス法で求めた GFR の相関性を検討した。

その結果、イヌでは血漿中 NT-proBNP 濃度は GFR と有意な負の相関関係を示した。いっぽう、ネコでは両者に有意な相関関係は見られなかったが、中程度～重度に GFR が低下したネコの血漿中 NT-proBNP 濃度は、軽度に GFR が低下したネコのそれよりも有意に上昇していた。また、重回帰分析では血漿中 NT-proBNP 濃度に影響する要因として、イヌでは GFR、そしてネコでは血漿中クレアチニン濃度が選択された。以上のことから、血漿中 NT-proBNP 濃度は明らかに GFR の影響を受け、この濃度により心機能を推定する際には GFR を考慮する必要があることが解った。

4. MVI に罹患したイヌにおける血漿中 NT-proBNP 濃度の診断的意義の検討 (第 5 章)

イヌの代表的心疾患である MVI では、三尖弁閉鎖不全症 (TVI) および/または肺高血圧 (PH) を併発することが多い。これらの合併はこれまで心エコー図検査によってのみ確認可能だった。しかし、これらの異常が合併したイヌでの血漿中 NT-proBNP 濃度の診断的意義は検討されていない。そこで、本章では 270 頭の MVI のイヌを用い、血漿中 NT-proBNP 濃度の診断的意義を検討した。

その結果、MVI では血漿中 NT-proBNP 濃度は心拡大に関連して有意に上昇したが、心拡大のない MVI の血漿中 NT-proBNP 濃度は対照群のそれと同等だった。血漿中 NT-proBNP 濃度は椎骨心臓スケール、左房大動脈内径比 (LA/Ao) および拡張期左室内径係数 (LVIDdI) といった容積負荷の指標と有意な正相関を示した。さらに、重回帰分析では血漿中 NT-proBNP 濃度と密接に関連する要因として LA/

Ao および LVIDdI が選択された。このため、血漿中 NT-proBNP 濃度により同一症例の容量負荷を経時的に評価できることが解った。血漿中 NT-proBNP 濃度は TVI または PH の合併に伴って有意に上昇した。受信者動作特性(ROC)曲線による解析により、International Small Animal Cardiac Health Council 心不全分類のステージ IIIa のイヌでは、TVI および PH の合併を血漿中 NT-proBNP 濃度により十分な感度を持って検出できることが明らかとなった。

5. HCM に罹患したネコにおける血漿中 NT-proBNP 濃度の診断的意義の検討 (第 6 章)

HCM の診断にはエコー図検査が不可欠である。また、無徴候性 HCM のネコでは心雑音や不整脈が認められない場合があり、心エコー図検査の必要性を判断するための心臓バイオマーカーの登場が期待されていた。また、心臓バイオマーカーと各種画像検査結果の相関性はネコでは検討されていない。そこで、計 95 頭のネコを用いて HCM での血漿中 NT-proBNP 濃度の診断的意義を検討した。

その結果、血漿中 NT-proBNP 濃度は心不全徴候の存在と関連して増加すること、そして心室肥大および心房拡張の程度と関連することが解った。特に、重回帰分析により血漿中 NT-proBNP 濃度と密接に関連する要因として拡張期左室自由壁厚および左房内径が採択された。加えて、ROC 曲線の解析により、無徴候性 HCM のネコを血漿中 NT-proBNP 濃度により十分な信頼性をもって検出できることも確認できた。この点は本研究での特筆すべき発見だと考えられた。また、血漿中 NT-proBNP 濃度により心形態の変化を推定可能と考えられた。

以上のように、本論文はイヌおよびネコの血漿中 NT-proBNP 濃度の各種変動要因を検討し、血漿中 NT-proBNP 濃度は MVI および HCM の存在、重症度判定、そして血行動態の変化の予測に使用できることを明らかにした。以上の知見は学術上、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。