

氏名（本籍）	田中綾（千葉県）
学位の種類	博士（獣医学）
学位記番号	獣医博甲第101号
学位授与年月日	平成13年3月13日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科及び専攻	連合獣医学研究科 獣医学専攻
研究指導を受けた大学	東京農工大学
学位論文題目	犬の僧帽弁閉鎖不全症における心筋病変と血小板機能の検討
審査委員	主査 東京農工大学 教授 山根義久 副査 帯広畜産大学 教授 山田明夫 副査 岩手大学 教授 首藤文榮 副査 東京農工大学 教授 小久江栄一 副査 岐阜大学 教授 佐々木 榮英

### 論文の内容の要旨

僧帽弁閉鎖不全症（MR）は高齢犬において最も一般的な獲得性心疾患である。人においては僧帽弁閉鎖不全症において、血小板の活性化による微小血栓が生じることにより各種の病態をもたらすとされている。病理組織学的には、心筋内の毛細血管が微小血栓により塞栓されるとされている。犬のMRにおいても心筋の変性、壊死、線維化は一般的にみられる心筋病変であり、その原因は人と同様に血小板の関与が示唆されており、僧帽弁疾患における心筋病変（心筋線維化）の発生予防のために抗血小板薬が使用されてきた。しかし、犬のMRにおける微小血栓の形成とそれに伴う併発症を説明する研究は少ない。

本研究は、MRにおける心筋病変（心筋線維化）と血小板機能の関連について調べ、心筋病変の発生機序を明らかにし治療に役立てることを目的に実施したものである。

第1章では、様々な病態のMR罹患犬における心筋の線維化の発生率とその形態に関する検索を実施した。病理組織学的検索およびコンピュータによる画像解析を実施し、病態の程度に応じた線維化の進行を解明した。しかし、血栓形成に起因する置換性線維化は、わずか4例のみに認められただけであり、むしろ、心筋層における線維化の主体は、血管周囲性線維化およびその発展型である間質性線維化であった。以上の所見よりMRにみられた線維化と微小血栓の塞栓との関連は否定的となった。

第2章では僧帽弁逆流が血小板機能に与える影響を調べるため、まず新しいパラメータ

である EPS (Enhancement of platelet sensitivity) の健常犬における適合性について検討した。また同時に再現性についての検討も実施した。その結果、EPS は従来の最大凝集率と比較しても臨床的に十分利用可能であることが確認された。

第 3 章では、健常犬と MR 罹患犬における血小板凝集能の比較を行った。ほとんどの MR 罹患犬は、最大凝集率でも EPS でも血小板凝集能は低下しており、その程度は病態が重度になるほど顕著であった。さらに EPS が病態の程度を分類する上でより感度が高いことも判明した。血小板凝集能の低下は、僧帽弁逆流により持続的な刺激による血小板の疲弊によるものと推察された。本実験における結果は人における報告とは逆であり、重度な MR 犬ほど血小板の機能の低下が認められた。したがって、心筋線維化の原因が血小板凝集能亢進による微小血栓の形成によるものではないことが本実験結果からも示唆された。

第 4 章では、MR における血小板機能低下が血液逆流による持続的な刺激や破壊によるものかどうかを確認するために、MR の有無における血小板寿命をフローサイトメトリーにて測定した。僧帽弁腱索切断により実験的 MR 犬を作成し、腱索切断前後における血小板寿命を測定し比較した。結果として、すべての犬において腱索切断後に血小板寿命の減少が認められた。このことは僧帽弁における逆流により血小板の破壊が起こっていることを示唆している。

本実験において、当初予測された微小血栓形成による置換性線維化はあまり認められず、この点では心筋の線維化と血小板との関連性において否定的であった。一方、MR における心筋の線維化の発生機序に関してはアンギオテンシン II やカテコラミン、あるいは電解質コルチコイドといったホルモンの関与も報告されており、さらに血小板も、近年では止血や血栓形成の役割だけでなく、炎症性細胞として機能することがわかってきており、血小板のさまざまな炎症反応に対する関与も考慮すべきと思われる。本研究では MR 犬における心筋線維化の発生機序についてさらなる検討が必要である。

## 審 査 結 果 の 要 旨

僧帽弁閉鎖不全症 (MR) は高齢犬において最も一般的な獲得性心疾患である。本疾患の発生率は加齢とともに増加していき、最終的には鬱血性心不全を引き起こす。人においては僧帽弁閉鎖不全症において、血小板の活性化による微小血栓が生じることにより各種の病態をもたらすとされている。病理組織学的には、心筋内の毛細血管が微小血栓により塞栓され、その結果心筋病変やそれに伴う不整脈などの発生が起こるとされている。また、冠状動脈病変に起因しない心筋梗塞の中には、血小板の微小血栓が原因となっているものもあるといわれている。さらに僧帽弁疾患における血栓症も報告されており、これらの病態形成における血小板の関与が考えられている。一方、犬の MR においても心筋

の変性、壊死、線維化は一般的にみられる心筋病変であり、その原因は人と同様に血小板の関与が示唆されており、僧帽弁疾患における心筋病変（心筋線維化）の発生予防のためにアスピリンやジピリダモールなどの抗血小板薬が使用されてきた。しかし、犬の MR における微小血栓の形成とそれに伴う併発症を説明する研究は少ない。

本研究は、MR においてみられる心筋病変（心筋線維化）と血小板機能の関連について調べ、僧帽弁閉鎖不全症における心筋病変の発生機序を明らかにし治療に役立てることを目的に実施したものである。

### 1. 様々な病態の MR 罹患犬における心筋の線維化の発生率とその形態に関する検索

病理組織学的検索およびコンピュータによる画像解析を実施し、病態の程度にしたがって線維化が進行していることを解明した。しかし、線維化の中で血栓形成に起因するとされている置換性線維化は、わずか4例において認められただけであった。むしろ、心筋層における線維化の主体は、血管周囲性線維化およびその発展型である間質性線維化であった。間質性線維化はまず、左心室心内膜層で生じ、その後、弁膜症の程度が進むにつれて左心室壁中間層、心外膜層へと広がり、さらには右心室壁にまでおよぶことが観察された。偏光顕微鏡による検索では、心筋線維の長軸方向に垂直に走行する細い筋周膜線維が出現し、既存の太い筋周膜線維の断裂・細片化あるいは消失が観察された。病変が進むに従い、拡大した心筋線維間のスペースには、心筋線維を取り囲む形で、心筋線維の長軸方向にほぼ垂直に走行する細い線維性コラーゲンと、その細い線維に直角に絡みつく太い筋周膜線維からなるメッシュワークが形成されていた。以上の所見より心筋線維化は間質性のものであり、MR にみられた線維化と微小血栓の塞栓との関連は否定的となった。

### 2. 第2章では EPS の健常犬における適合性についての検討

血小板凝集能の測定を最大凝集率と新しいパラメーターである EPS(Enhancement of platelet sensitivity)を用いて評価した。同時に血小板数、EPS、最大凝集率の再現性についての検討も実施した。その結果、EPS は臨床的に十分利用可能であることが確認された。

### 3. 僧帽弁における逆流が血小板機能に与える影響

健常犬と MR 罹患犬における血小板凝集能の比較を行った。その結果、従来の報告から予想された結果とは大きく異なり、ほとんどの MR 罹患犬は、最大凝集率でも EPS でも血小板凝集能は低下しており、その程度は病態が重度にな

るほど顕著であった。さらに EPS の方が病態の程度を分類する上でより感度が高いことも判明した。本実験において重度な MR 犬ほど、血小板凝集能が低下していたことは、僧帽弁逆流により持続的な刺激が血小板に加わり、血小板の疲弊が起きていたものと推察された。人における多くの研究では僧帽弁逆流による二次的な刺激は血小板の凝集能を高めるとされている。しかし、本実験における結果はその逆であり、重度な MR 犬ほど、血小板の機能の亢進ではなく低下が認められた。したがって、心筋線維化の原因が血小板凝集能亢進による微小血栓の形成によるものではないことが本実験結果からも示唆された。

#### 4. MR の逆流による血小板寿命への影響

第3章までの結果より、MR における血小板機能低下が血小板凝集能測定により確認されたため、この機能低下が血液逆流による持続的な刺激や破壊によるものかどうかを確認するために、MR の有無における血小板寿命をビオチン化の手法を用いてフローサイトメトリーにて測定し、MR による乱流が血小板寿命に与える影響を評価した。僧帽弁腱索切断により実験的 MR 犬を作成し、腱索切断前後における血小板寿命を測定し比較した。結果として、すべての犬において腱索切断後に血小板寿命の減少が認められた。このことは僧帽弁における逆流により血小板は持続的な刺激に曝され、血小板の破壊が起こっていることを示唆している。

本研究により、犬における MR における心筋の線維化が、今まで考えられていたような血小板の活性化によってできた微小血栓に起因するものではないということが確認された。心筋の線維化の原因としては、むしろ内分泌性の因子が関与していることが示唆された。また、MR における血小板の消耗が、凝集能および寿命の面から確認された。これらの知見は、MR の病態形成における微小血栓形成以外の面からの血小板の関わりの可能性を示唆するものである。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値のあるものと認めた。

#### 学位論文の基礎となる学術論文

1. 田中 綾, 舘野信治, 柴崎 哲, 城下幸仁, 山根義久 (1997) 犬の各種心疾患における血小板凝集能の検討. 動物臨床医学 6:7~21
2. Tanaka, R., Yamane, Y. (2000) Platelet aggregation in dogs with mitral valve regurgitation. American Journal of Veterinary Research 61:1248-1251

既発表学術論文

1. 菅井 龍, 菅井純子, 北島裕子, 田中 綾, 柴崎 哲, 城下幸仁, 鈴木 馨, 丸尾幸嗣, 山根義久 (1997) ハスキー犬の血管肉腫に併発した心タンポナーデの1症例. 動物臨床医学 5:21-27
2. Shiroshita, Y., Tanaka, R., Shibazaki, A., Yamane, Y. (1999) Accuracy of a portable blood gas analyzer incorporating optodes for canine blood. Journal of Veterinary Internal Medicine 13:597-600
3. 田中 綾, 永島由紀子, 星克一郎, 柴崎哲, 山根義久 (1999) デタッチャブルコイルを用いた犬の動脈管開存症の1治験例. 動物臨床医学 8:29-34
4. Shiroshita, Y., Tanaka, R., Shibazaki, A., Yamane, Y. (2000) Retrospective study of clinical complications occurring after arterial punctures in 111 dogs. Veterinary Record 146:16-9
5. Nagashima, Y., Hoshi, K., Tanaka, R., Shibazaki, A., Konno, K., Machida, N., Yamane, Y. (2000) A case of ovarian and retroperitoneal teratoma in a dog. The Journal of Veterinary Medical Science 62:793-795
6. Tanaka, R., Hoshi, K., Yamane, Y. (2001) Partial resection of bladder in a bitch with urinary retention after surgical excision of vaginal leiomyoma. Journal of Small Animal Practice *in press*