

猫の拘束型心筋症（心内膜心筋型）の  
臨床的および病理学的研究

2016年

岐阜大学大学院連合獣医学研究科  
(東京農工大学)

木村 勇介

猫の拘束型心筋症（心内膜心筋型）の  
臨床的および病理学的研究

木村勇介



## 目次

緒 言	-----	1
第1章	猫の拘束型心筋症（心内膜心筋型）に関する疫学のおよび臨床的研究	
序 文	-----	7
材料と方法	-----	10
結 果	-----	15
考 察	-----	33
小 括	-----	39
第2章	猫の拘束型心筋症（心内膜心筋型）にみられる心臓病変 に関する病理学的研究	
序 文	-----	41
材料と方法	-----	45
結 果	-----	55
考 察	-----	90
小 括	-----	95
第3章	猫の心臓にみられる左室仮腱索に関する形態学的研究 -拘束型心筋症（心内膜心筋型）の病理発生を視野に入れて-	
序 文	-----	98
第 1 節	猫の左室仮腱索に関する形態学的検索	
はじめに	-----	101
材料と方法	-----	102
結 果	-----	104
考 察	-----	115

## 第 2 節 猫の左室異常仮腱索に関する形態学的検索

はじめに	—————	117
材料と方法	—————	118
結 果	—————	120
考 察	—————	128
小 括	—————	130
総 括	-----	132
謝 辞	-----	137
引用文献	-----	138

## 緒 言

基礎心疾患をもたない原発性の心筋疾患として1957年にイギリスのBrigden [16] が初めて創出した“心筋症 (cardiomyopathy)”なる用語は、心筋自体の異常により心機能に障害をきたす心疾患の総称である [47, 122]。Brigden の報告後、心筋症は原因不明な心筋疾患として原発性心筋疾患 (primary myocardial disease) や特発性心筋症 (idiopathic cardiomyopathy) などと呼ばれていたが、1961年 Goodwin らは心筋症を肥大型心筋症 (hypertrophic cardiomyopathy: HCM)、拘束型心筋症 (restrictive cardiomyopathy: RCM) および拡張型心筋症 (dilated cardiomyopathy: DCM) の3つに分類した [43]。さらに、1980年にはWHO/ISFC (世界保健機関/国際心臓連合) 合同委員会において「原因不明の心筋疾患」と定義され、分類不能型心筋症 (unclassified cardiomyopathy: UCM) を加えたかたちで“特発性心筋症 (idiopathic cardiomyopathy)”としてオーソライズされた [123]。一方、1980年代には心臓病の研究にも分子遺伝学的手法が盛んに導入されるようになり、1990年にSeidmanら [39] のグループが家族性のHCM症例に心筋 $\beta$ ミオシン重鎖遺伝子のミスセンス変異を見いだしたのを皮切りに、原因遺伝子 (病因) が次々と明らかにされるに至り、同委員会は1995年に心筋症の定義を「心機能障害を伴う心筋疾患」と改め、従来の4型に新たに不整脈源性右室心筋症 (arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: ARVC) を追加した [123]。本邦においても1960年代に心筋症に対する関心が急速に高まり、1970年の日本循環器学会において特発性心筋症との病名に統一することが提唱された [122, 133]。そして1974年には病因不明で治療法が確立されていない難病として厚生労働省の特定疾患に指定されるとともに、特発性心筋症調査研究班が発足し、現在まで多岐にわたる研究がなされてきている [122]。

ヒトの心筋症は発生頻度の低いあるいは稀な疾患とされており [42, 47, 82]、報告によって違いはみられるものの、厚生省特定疾患特発性心筋症調査研究班

が行った病院へのアンケートによる全国疫学調査では、人口 10 万人あたり HCM が 17 人、DCM が 14 人、RCM が 0.2 人にみられている [97, 100]。しかしながら、心エコー検査機器の進歩あるいは心臓 CT や心臓核医学検査、血中バイオマーカー測定などの新たな検査方法の開発による診断技術の向上に伴い、心筋症は決して稀な疾患ではなくなってきている [78]。

いずれの型の心筋症も重度のうっ血性心不全 (congenital heart failure: CHF) や血栓塞栓症 (arterial thromboembolism: ATE) および／あるいは致死性不整脈に伴う突然死をきたすリスクが高いことから、一般的に予後は不良とされているが [4, 42, 79, 96], 積極的な薬物療法, 恒久的心臓ペースング, カテーテルアブレーションといった治療法から心臓移植などの高度な外科手術まで実施されている [78, 82]。すなわち, 医学領域では心筋症はその発生頻度に関わらず重要な心疾患の 1 つとして位置づけられており, 病因解明に向けた遺伝子学的検索を含む数多くの研究がなされている [41, 58, 73~75, 105, 114, 118, 120, 135, 150]。

一方, 獣医学領域では心筋症に関する独自の疾患概念が確立されていないため, ヒトになぞらえた定義と分類がなされている [27, 33]。心筋症の発生は犬・猫のみならず, ハムスター, フェレットなどの家庭用愛玩動物, 牛, 豚などの産業動物, 動物園動物やヒトの糖尿病モデルとして知られる KK マウス (実験動物) でも報告されているが [140], 中でも猫での発生が特に多く, 循環器系疾患の大半を占めている [31]。ちなみに, 猫の剖検例 4933 頭 (1962-1976 年) を対象とした病理学的研究では, 先天性心疾患が 1.9%であったのに対し, 心筋症は 8.5%に認められている [85]。一方, 猫の心筋症に関する臨床報告では, HCM がもっとも多くみられ (検索 106 頭中 61 頭, 57.5%), RCM がこれに次いでいる (22 頭, 20.7%) [27]。

ヒトの RCM は左室あるいは両心室の拡張機能障害を特徴とする原発性の心筋症で, 診断には①左室壁のスティフネス (硬さ) が増していること, ②左室

の拡大や肥大がみられないこと，③左室の収縮機能が正常または正常に近いこと，④原因（基礎疾患）不明であることの4つを満たす必要がある [54, 57, 79, 134]。本症の本質的異常は左室壁の硬さに起因するコンプライアンスの低下であるが [10, 18, 95, 146, 149]，その要因は多岐にわたっており，心筋細胞の異常（収縮関連タンパクの異常，心筋内の  $\text{Ca}^{2+}$ ハンドリングの異常など）あるいは細胞外マトリクスの異常（膠原線維や弾性線維の増生，心筋間質の三次元構造の異常など）が挙げられている [53, 59, 114, 118, 150]。また，その病因は不明とされているものの，HCMと同様に家族性の発生がみられること，組織学的に心筋の錯綜配列を認める例があることなどから，遺伝子要因が病理発生に関与している可能性が示唆されている [23, 36, 59, 104, 118, 120, 149, 151]。

本疾患の臨床症状は病態の初期には無症状の場合もあるが，病期の進行に伴って呼吸困難などの CHF 症状，動悸や失神などの不整脈に起因する症状，心房細動を合併した重症例では血栓塞栓に伴う症状（四肢の冷感・疼痛や胸部痛）をきたすこともある [4, 59, 80]。胸部 X 線検査では本症に特異的な所見はみられないとされるが，心電図検査にてしばしば上室期外収縮や心房細動などの不整脈，左室肥大所見，非特異的 ST-T 異常が認められる [59]。一方，心エコー検査は本疾患の臨床診断にきわめて有用であり，診断要件として①正常ないし軽度に肥厚した左室壁厚，②正常もしくは正常に近い収縮機能，③左房および／あるいは両心房の拡大，④パルスドプラー検査における左室流入速度波形の偽正常化パターンあるいは拘束パターン，⑤心内膜の肥厚（心内膜心筋線維化）などが挙げられている [59, 102]。

RCM に特異的な治療法は存在しないが，その病態と主たる臨床症状は拡張機能不全に起因するため，治療は拡張期心不全の治療に準ずる [4, 56, 59, 80]。一般的には，Ca チャネル拮抗薬，アンギオテンシン変換酵素（angiotensin-converting-enzyme inhibitor : ACE）阻害薬やアンギオテンシ

ン II 受容体拮抗薬 (angiotensin II receptor blocker : ARB), 硝酸薬, 利尿薬などが使用されるが, これらの薬剤が病態の増悪阻止に有効かどうか現時点では不明である [56, 59]。予後は一般に不良とされる [145]。Ammash ら [4] の報告では, 94 人の症候性特発性 RCM 患者の 5 年生存率は 64%, 10 年生存率は 37% であり, 年齢と性別を一致させた対象者に比していずれも不良であったとされている。ちなみに, 予後不良因子は, 男性, 70 歳以上, 運動耐容能低下, 左房径 60 mm 以上であった。特に小児症例の予後は極めて不良であり, 診断と同時に心臓移植の適用が考慮されることになる [4, 145]。

RCM の形態的基盤は左室の心内膜, 心内膜下組織および/あるいは心筋層の線維化にあり, 左室壁の心筋スティフネスの増大に伴い左室の拡張期伸展性とコンプライアンスが低下するため, 拡張期心室充満が障害される。また, 心室の拡張, 心筋の虚血もしくは梗塞, 不整脈なども拡張機能不全に関与する [31, 72, 93, 144]。このように, RCM の病態は様々な病的プロセスによって引き起こされる。一方, 病理形態学的には病変が主座する部位に基づいて 2 つに大別されている。すなわち, 一方は主に心筋層を巻き込んでいる心筋型, 他方は主に心内膜と心内膜下心筋層を巻き込んでいる心内膜心筋型とである [35]。

猫の RCM もヒトのそれになぞらえて分類されている。もっとも一般的なタイプが心内膜心筋型であり [14, 21, 28, 33], この型の RCM は心内膜および心内膜下心筋層の広範な線維化を特徴とする。線維化病変は左室に主座し, 高頻度に自由壁と心室中隔とを連結する線維性架橋を形成するとともに, しばしば中間部ないしは心尖部の内腔に閉塞をもたらす [33, 90]。

猫の心内膜心筋型 RCM は高い発生頻度と致死率を有することから, 重要な心疾患の 1 つに位置づけられている [21, 33, 72, 130, 144]。しかしながら, 本疾患を対象とした体系的な研究や報告がほとんどないことから, いまだその疫学および臨床に関するデータは乏しく, 病因や病理発生についてはまったく明らかにされていない [33, 130]。そこで, 本研究では猫に好発する心内膜心筋

型 RCM の疫学, 臨床および病理学的特徴を包括的に取りまとめるとともに, その病理発生についても明らかにすることとした。

## 第 1 章

# 猫の拘束型心筋症（心内膜心筋型）に関する 疫学のおよび臨床的研究



## 序 文

猫の心内膜心筋型 RCM は、心内膜の線維性肥厚と心内膜下心筋層における線維性結合組織の増生を特徴的な所見とする[12, 13, 19, 29, 31, 65, 85, 87, 123, 136]。線維化病変は左室に主座し、心筋スティフネスの増大が左室の拡張期伸展障害（コンプライアンスの低下）ならびに拡張期充満圧の上昇を招来する [19, 29, 31, 67, 68, 86, 136]。その結果、左心不全に伴う肺水腫や右心不全による胸水貯留および／あるいは心膜液貯留、重度の左房あるいは両心房の重度拡大に伴う心房細動の発生、左房または左室腔内における血栓の形成、腹部大動脈への血栓塞栓に伴う後躯麻痺、心筋虚血に起因する心室期外収縮の発生など重篤な病態や症状が惹起される [12, 13, 21, 72, 84, 144]。

猫の心内膜心筋型 RCM は 1970 年に Liu [84] が “CHF を引き起こす後天性心疾患” 1 つとして初めて報告した後、1980 年に Liu および Tilley [86] が 1 つの独立した疾患として臨床ならびに形態学的特徴を取りまとめた。その後、当該疾患は発生頻度と致死率の高さから猫の重要な心疾患の 1 つに位置づけられるようになり [33, 74, 86, 130]、2004 年には Fox が臨床および病理学的特徴を包括的に取りまとめた [33]。

どのような心疾患群が心内膜心筋型 RCM に分類されるのか、臨床診断や病理診断に関する議論も含め、獣医循環器専門医の間で統一した見解が得られていない。したがって、正確なシグナルメントについて言及するのは難しいが [31, 71, 72]、多くの場合中年齢～高齢の猫に発生し、年齢幅は 8 ヶ月～19 歳である [21, 51, 85, 86, 88, 144]。また、好発品種および性差はないとされているが、性差がみられるとする報告もある [27, 85, 86, 88, 93, 144]。

臨床症状としては他の心筋症と同様、呼吸促迫や呼吸困難、運動不耐性など CHF に起因する症状、後躯の麻痺や疼痛といった血栓塞栓症に伴う症状が高率にみられ、急激に発症して急速に悪化することが多い [12, 29, 30, 32, 51, 52, 71, 85, 86, 88, 93, 144]。

臨床検査所見として、聴診では一般的に収縮期性雑音やギャロップ音あるいは不整な心音が聴取され、身体検査では頸静脈の怒張や拍動、心拍出量の低下に伴う低体温がみられることがある [21, 71, 93]。心電図検査では左房および左室の拡張あるいは肥大に伴い様々な上室性不整脈（心房細胞、心房静止、心房期外収縮）および／あるいは心室性不整脈（心室頻拍、心室期外収縮）が認められる [13, 21, 52, 71, 86, 93, 144]。胸部 X 線検査では中等度～重度の胸水貯留、種々の程度の肺水腫、心膜液の貯留に伴う球状心陰影、左房（特に左心耳）もしくは両心房の著しい拡大がみられる。また、腹部 X 線検査では CHF に伴う肝腫大や腹水貯留がみられることもある [13, 33, 93, 144]。

心エコー検査所見は、ヒトの“心内膜心筋線維化 endomyocardial fibrosis”のものと類似しており、通常、左房（あるいは両心房）の顕著な拡張、正常ないしはやや肥厚した左室壁および／あるいは心室中隔が描出される [13, 21, 28, 33, 93, 144]。さらに、左室心内膜表面には不整な高エコー輝度領域が頻繁に観察され、左室の内腔を横断する索状構造物がみられることもある [13, 21, 28, 33, 93, 144]。カラードップラー検査では軽度の僧帽弁逆流や左室内構造物に起因する血液の乱流が観察され、パルスドップラー検査では多くの場合、経僧帽弁左室流入速度波形が拘束パターンを示す [13, 21, 28, 33, 71, 93, 144]。

本疾患の根治的な治療法はヒトの RCM と同様に確立されていない。したがって、治療は主に CHF（肺水腫、胸水貯留、心膜液貯留など）に対する対症療法（胸腔穿刺、心膜穿刺、利尿剤、ACE 阻害剤、陽性変力作動薬など）や各種頻脈性不整脈に対する抗不整脈薬（Ca チャネル阻害剤、βブロッカーなど）の使用、血栓塞栓症に対する血栓除去手術や血栓溶解療法（抗血液凝固薬、組織プラスミノゲン活性化因子製剤など）および／あるいは血栓の再塞栓を予防するための血栓予防薬の投与が単独あるいは複数組み合わせで行われるが、多くの場合奏効しないとされる [12, 13, 21, 31, 93, 144]。猫の RCM は一般に

予後不良であり,過去の臨床報告によると生存期間中央値は132日である [21, 27, 28, 93, 144]。しかしながら,心内膜心筋型 RCM に限ってその予後を検討した報告は見当たらない。

これまでに猫の心内膜心筋型 RCM を対象とした研究・報告は極めて少ない。そのため,本疾患の疫学および臨床データは少なく,いずれの成書も限られた情報をもとに記述しているのが現状である。そこで,本章では臨床現場に還元できる猫の心内膜心筋型 RCM に関する情報を得るべく,当研究室で心内膜心筋型 RCM と病理診断された猫 41 例を対象に回顧的な調査を実施し,本疾患の疫学ならびに臨床的特徴を取りまとめた。

## 材料と方法

### 1. 検索対象

2007年～2014年の8年間に東京農工大学獣医臨床腫瘍学研究室にて剖検を実施し、心疾患（心筋症、弁膜症、心奇形、原発性または転移性の心臓腫瘍、感染性の心内膜炎もしくは心筋炎など）を有していることが確認された327例の猫の中で、心内膜心筋型RCMと病理診断された41例（Nos. 1 - 41）を本検索の対象とした。当該期間中、心筋症と診断された猫は100例で、その内訳は肥大型心筋症（HCM）34例、拡張型心筋症（DCM）12例、不整脈源性右室心筋症（ARVC）11例、心筋型RCM2例、心内膜心筋型RCM41例であった。

心内膜心筋型RCMの病理診断は、その特徴的な肉眼的および組織学的所見に基づいてなされた。すなわち、肉眼的所見は、左房もしくは両心房の中等度から重度の拡大（図1）；左室心内膜のび慢性の線維性肥厚（図2A）あるいは左室自由壁と心室中隔とを連結する線維性構造物の形成（図2B）；正常ないしは軽度～中等度に肥厚した左室壁；線維性病変の形成ならびに左室壁の肥厚に伴う左室内腔の変形（図2B）などからなっていた。また、組織学的所見としては、心内膜および心内膜下心筋層における線維性結合組織の増生（図3）；心筋細胞の大小不同や錯綜配列（図4A, B）；壁内冠状動脈の硬化性病変（図4C）などが観察された。

### 2. 検索内容

当研究室に剖検を依頼した施設あるいは動物病院から得たカルテ情報をもとに、心内膜心筋型RCM罹患猫41例の各種臨床データを回顧的に調査した。調査項目は罹患猫の品種、死亡時年齢、性別、初診時の主訴、治療方法、診断時から死亡するまでの期間（生存期間）とした。また、臨床検査データとして身体検査所見、胸部および腹部X線検査所見、血液一般検査所見、血液化学検査所見、標準双極肢誘導心電図検査所見、心エコー検査（Bモード、Mモード、ドプラー）所見を取りまとめた。

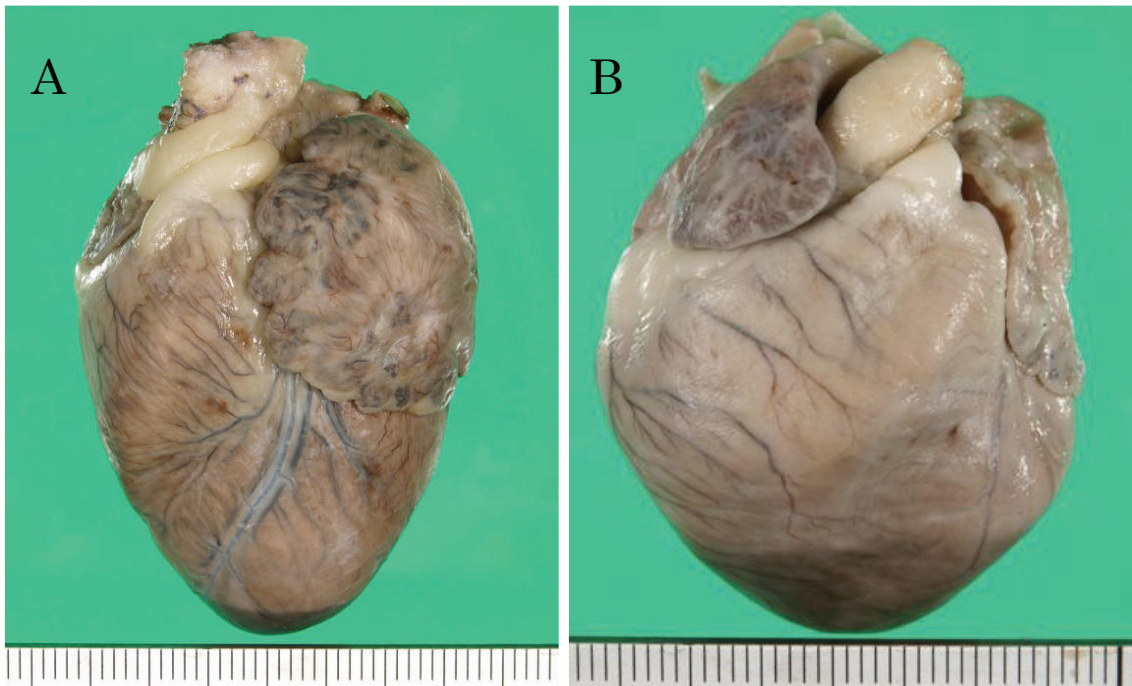


図1 心内膜心筋型 RCM 罹患心臓の外観

(A) No. 39 (雑種, 6 歳, 去勢済み雄). 左房 (左心耳) に顕著な拡大が認められる. 目盛り = 1 mm.

(B) No. 40 (雑種, 10 歳, 避妊済み雌). 左房の重度拡大に加えて右房の拡大も認められる. また, 両心室も顕著に拡大しており, 心臓全体が丸みを帯びている. 目盛り = 1 mm.



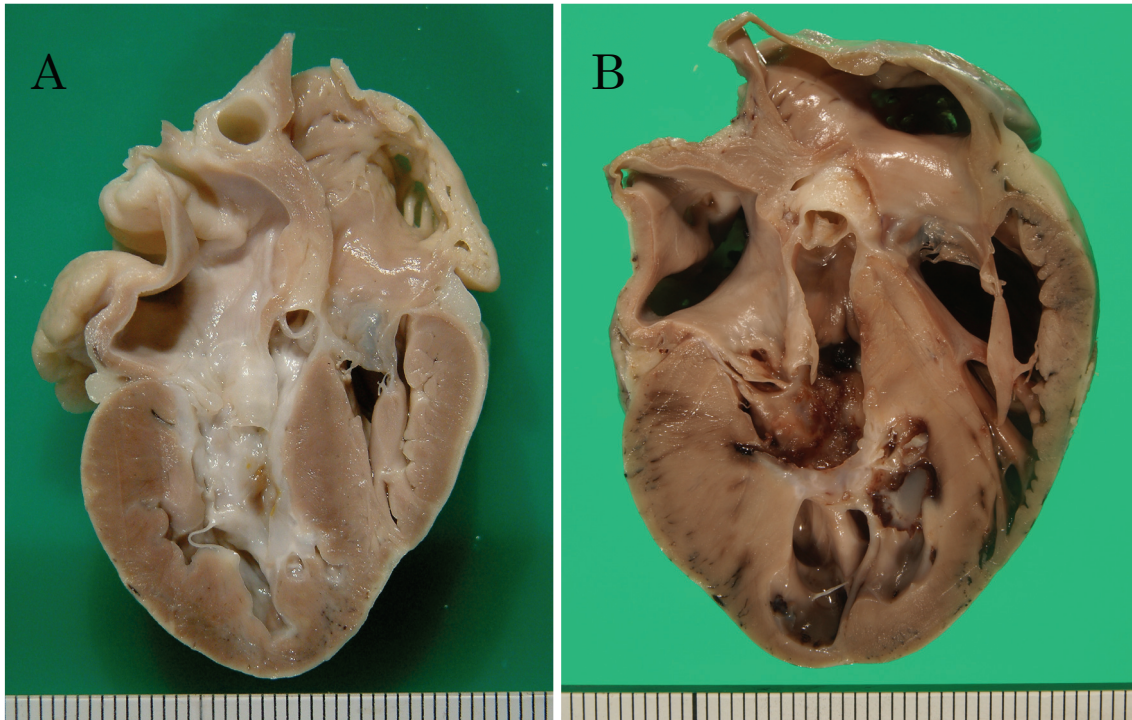


図 2 心内膜心筋型 RCM 罹患心臓の縦断面

(A) No. 26 (雑種, 5 歳, 避妊済み雌). 左室心内膜のほぼ全域が乳白色の線維性病変で被覆され顕著な肥厚を呈するとともに, 左房の心内膜にも肥厚が認められる. 目盛り = 1 mm.

(B) No. 25 (雑種, 3 歳, 去勢済み雄). 左室内腔に後乳頭筋と心室中隔とを連結する不整な帯状の線維性病変が形成されており, 左室が上下に分断されている. また, 左室内腔には重度の変形 (左室自由壁の軽度~中等度の肥厚, 心尖部領域の限局性の菲薄化, 内腔の拡張) がみられる. 目盛り = 1 mm.

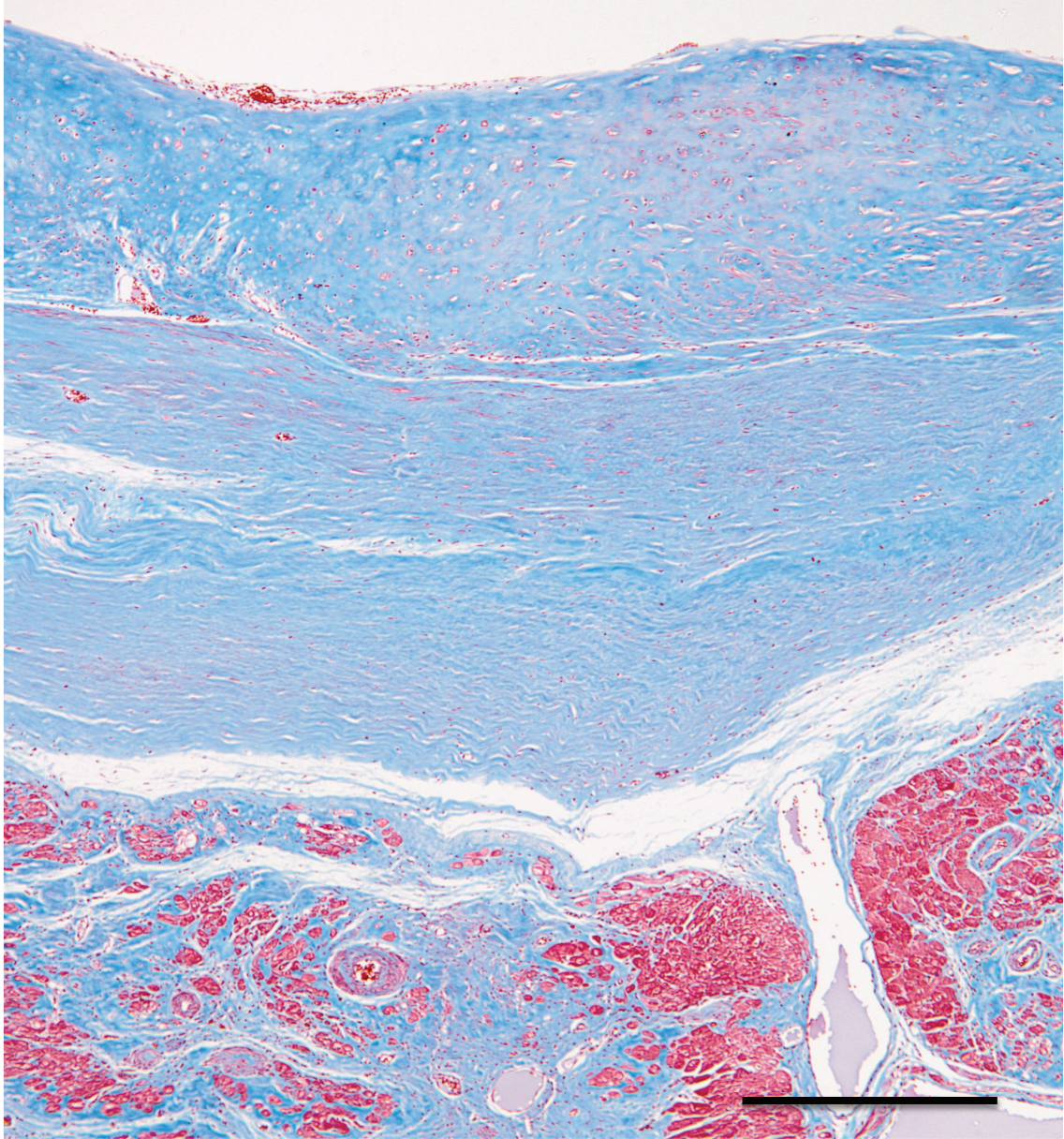


図3 心内膜心筋型 RCM 罹患猫の心内膜および心内膜下心筋層の組織像  
No. 38 (雑種, 16 歳, 去勢済み雄). 膠原線維を主体とした線維性結合組織  
の増生により左室の心内膜が顕著に肥厚している. なお, 心内膜における線  
維組織の増生は心内膜下心筋層にまで波及している. マッソン・トリクロ  
ム染色. Bar = 500  $\mu$ m.



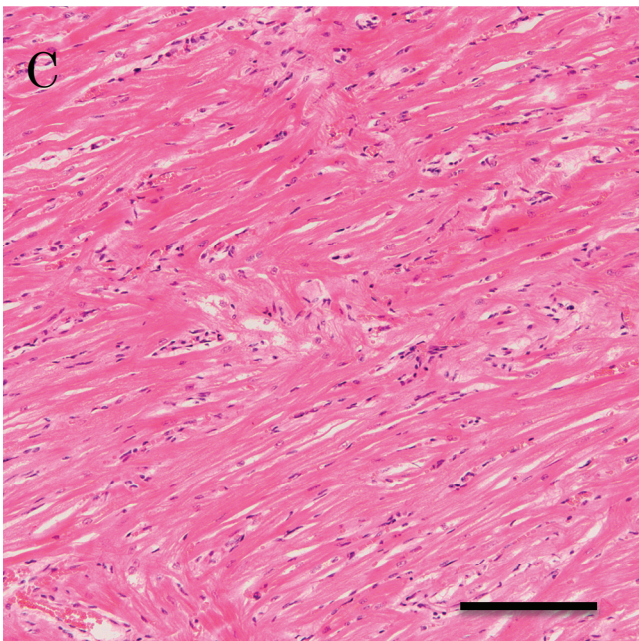
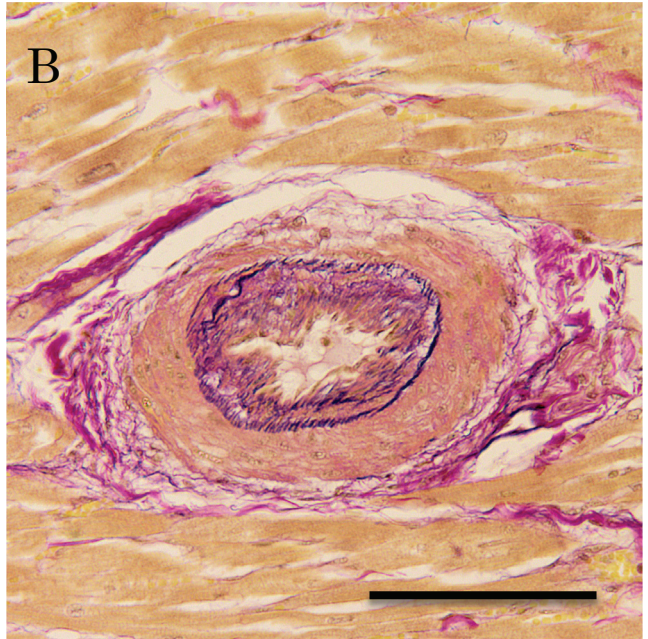
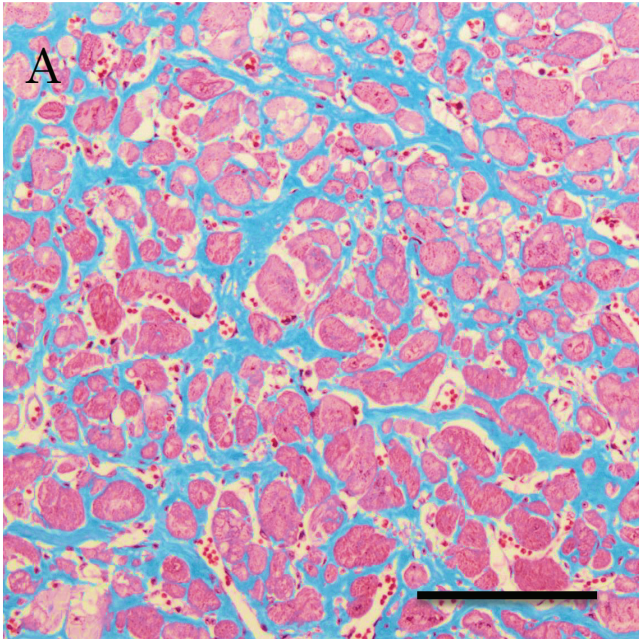


図4 心内膜心筋型RCM罹患心臓の組織像.

(A) No. 20 (雑種, 7歳, 避妊済み雌).  
心筋細胞の大小不同化と間質性の線維化.  
マッソン・トリクローム染色. Bar = 100  
μm.

(B) No. 28 (雑種, 3歳, 避妊済み雌).  
壁内冠動脈の硬化性変化. エラスチカ・ワ  
ンギーソン染色. Bar = 200 μm.

(C) No. 40 (雑種, 10歳, 避妊済み雌).  
心筋の錯綜配列. HE 染色. Bar = 100 μm.



## 結 果

心内膜心筋型 RCM 罹患猫 41 例のシグナルメントと主要な臨床データを表 1 に示した。

### 1. 品種，死亡時年齢および性別

本検索で取り扱った猫 41 例の品種は，チンチラの 1 例 (No. 10) を除く全例 (No. 1~9, 11~41) が雑種であった。また，死亡時年齢は 4 ヶ月齢~19 歳 (中央値：6 歳，平均±標準偏差：7.4±4.8 歳)，性別は雄 25 例 (うち去勢済み雄 19 例)，雌 16 例 (うち避妊済み雌 13 例) であった。

### 2. 主訴

もっとも一般的な主訴は呼吸促迫あるいは呼吸困難 (図 5) で 41 例中 30 例 (No. 2 - 4, 6 - 8, 10, 12, 13, 15 - 18, 21 - 23, 25 - 27, 29 - 36, 38, 39, 41) にみられた。これら 30 例のうち 6 例 (Nos. 2, 6, 16, 32, 35, 39) には動脈血栓塞栓症 (ATE) に伴う後肢の不全麻痺あるいは完全麻痺，4 例 (Nos. 18, 25, 26, 36) に食欲不振，2 例 (Nos. 30, 34) に発咳，1 例 (No. 21) に頻回の嘔吐，1 例 (No. 12) に失神も認められた。一方，残りの 11 例は突発的な後肢の不全麻痺あるいは完全麻痺のみを主訴として来院していた (Nos. 1, 5, 9, 11, 14, 19, 20, 24, 28, 37, 40) (図 5)。

### 3. 身体検査所見

初診時の身体検査では，呼吸促迫あるいは呼吸困難が 35 例 (Nos. 1 - 8, 10, 12, 13, 15 - 19, 21 - 23, 25 - 36, 38 - 41)，頻脈が 28 例 (Nos. 1, 2, 4, 8, 10 - 12, 15 - 17, 20 - 26, 28, 29, 31, 32, 34 - 38, 40, 41)，不明瞭な心音および肺音が 24 例 (Nos. 1, 2, 4, 6 - 8, 12, 15 - 17, 21 - 23, 25 - 27, 31 - 36, 40, 41)，大腿動脈拍動の減弱または消失が 17 例 (Nos. 1, 2, 5, 6, 9, 11, 14, 16, 19, 20, 24, 28, 32, 35, 37, 39, 40)，心調律異常が 12 例 (Nos. 1, 2, 4, 11, 21, 23, 24, 32, 34, 35, 38, 40)，腹囲膨満が 10 例 (Nos. 3, 6, 12, 18, 27, 29, 31, 35, 38, 40)，左側心尖部あるいは左側心尖部ある

表 1. 心内型心房型PACM症例41例のレジナルメントおよび臨床経過概要

症例	品種	年齢(歳)	性別	主訴	×線検査所見 (胸水貯留, 肺水腫)	心電図検査所見	心エコー検査所見	生存期間(日)
1	雑種	5	OM	HL, para/para	Pleu-ef, Pul-eds	PVCs	-	18
2	雑種	9	OM	RD, HL, para/para	Pleu-ef, Pul-eds	PVCs	Tra-band Thrombus	5
2	雑種	2	OM	RD	Pleu-ef, Pul-eds	MD	Tra-band	72
4	雑種	13	SF	RD	Pleu-ef	PACs, RBBB	Tra-band	21
5	雑種	8	SF	HL, para/para	Pleu-ef	-	Thrombus	18
6	雑種	17	OM	RD, HL, para/para	Pleu-ef, Pul-eds	IABV	Thrombus	1
7	雑種	4	OM	RD	Pul-eds	-	Tra-band	457
8	雑種	4	SF	RD	Pleu-ef, Pul-eds	AF	-	4
9	雑種	5	OM	HL, para/para	-	-	-	7
10	チンチラ	15	OM	RD	Pleu-ef, Pul-eds	-	Tra-band	13
11	雑種	12	OM	HL, para/para	-	PACs	-	12
12	雑種	4	SF	RD	Pleu-ef	AF, RBBB	-	215
12	雑種	4	SF	RD	Pleu-ef	-	-	157
14	雑種	3	OM	HL, para/para	-	-	Tra-band, Thrombus	33
15	雑種	8	M	RD	Pul-eds	MD	Tra-band	38
15	雑種	8	SF	RD, HL, para/para	Pleu-ef	MD	Tra-band	74
17	雑種	5	M	RD	Pul-eds	AF	-	419
18	雑種	3	SF	RD	Pleu-ef, Pul-eds	-	Tra-band	2
19	雑種	9	M	HL, para/para	RD	-	-	1
20	雑種	7	SF	HL, para/para	-	-	-	288
21	雑種	5	OM	RD	Pleu-ef, Pul-eds	PACs, PVCs	Tra-band, Thrombus	1
22	雑種	8.5	F	RD	Pleu-ef, Pul-eds	MD	Tra-band, Thrombus	12
23	雑種	9	OM	RD	Pleu-ef	PVCs	Tra-band	48
24	雑種	18	OM	HL, para/para	-	PACs	Tra-band	48
25	雑種	3	OM	RD	Pleu-ef	-	Tra-band	88
25	雑種	6	SF	RD	Pleu-ef	CAVB	-	114
27	雑種	12	M	RD	Pleu-ef, Pul-eds	-	-	6
28	雑種	3	SF	HL, para/para	RD	MD	Tra-band	1
29	雑種	11	SF	RD	Pleu-ef, Pul-eds	MD	Tra-band	64
30	雑種	5	M	RD	Pul-eds	-	Tra-band	104
31	雑種	3	OM	RD	Pleu-ef, Pul-eds	MD	Tra-band	3
32	雑種	3	OM	RD, HL, para/para	Pleu-ef, Pul-eds	PACs, PVCs, RBBB	-	1
33	雑種	5	M	RD	Pul-eds	-	Tra-band	68
34	雑種	15	OM	RD	Pleu-ef	PACs	Thrombus	223
35	雑種	2	F	RD, HL, para/para	Pleu-ef, Pul-eds	PACs	Tra-band	1
36	雑種	6	SF	RD	Pleu-ef	-	Tra-band	671
37	雑種	3	F	HL, para/para	-	AF	Tra-band	15
38	雑種	16	OM	RD	Pleu-ef	PACs, RBBB	Thrombus	216
39	雑種	6	OM	RD, HL, para/para	RD	-	Tra-band	2
40	雑種	13	SF	HL, para/para	Pleu-ef	PVCs	Tra-band	23
41	雑種	8	OM	RD	Pleu-ef	AF	Tra-band	156

M: 雄, OM: 去勢済み雄, F: 雌, SF: 避妊済み雌, RD: 呼吸器症, HL, para/para: 肺動脈不全閉塞/完全閉塞, Pleu-ef: 胸水貯留, Pul-eds: 肺水腫, MD: 二次性L, PACs: 心室性期外収縮, PVCs: 心室性期外収縮, AF: 心房細動, RBBB: 右室ブロック, CAVB: 完全房室ブロック, IABV: 第1房室節ブロック, Tra-band: 高エネルギー投与の既往経過, Thrombus: 左房内血栓



図 5 心内膜心筋型 RCM 罹患猫の初診時の外貌

(上段) No. 12 (雑種, 3 歳, 避妊済み雌). 呼吸困難を主訴に来院, 酸素室内で管理.

(下段) No. 20 (雑種, 7 歳, 避妊済み雌). 両側性の後肢麻痺.

いは右側前胸部胸骨縁に最強点を有する収縮期性心雑音が8例(Nos. 3, 6, 12, 15, 26, 32, 38, 39), ギャロップ音が7例(Nos. 1, 7, 10, 24, 28, 32, 38)に認められた。

#### 4. 臨床検査データ

血液一般検査および血液化学検査は41例中37例(Nos. 1-8, 10-23, 25-34, 36, 38-41)で実施された。血液一般検査では、すべての検査項目が正常範囲内にあったのは29例(Nos. 2-4, 6-8, 11-13, 15-18, 20-23, 25, 27-34, 36, 38, 39, 41)で、残りの8例(Nos. 1, 5, 10, 14, 19, 20, 26, 38)で軽度～重度の白血球増多症(平均値±標準偏差:  $25,950 \pm 10,343/\mu\text{l}$ ; 範囲:  $14,900 \sim 30,400/\mu\text{l}$ ; 基準値範囲 [60]:  $5,500 \sim 19,500/\mu\text{l}$ ) および軽度～中等度のヘマトクリット値の低下(平均値±標準偏差:  $20.6 \pm 2.4\%$ ; 範囲:  $18.1 \sim 21\%$ ; 基準値範囲 [60]:  $24 \sim 45\%$ )がみられた。

血液化学検査では、軽度～重度の血中尿素窒素値(BUN)の上昇(平均値±標準偏差:  $60.7 \pm 36.5 \text{ mg/dl}$ ; 範囲:  $28 \sim 189 \text{ mg/dl}$ ; 基準値範囲 [106]:  $7 \sim 22 \text{ mg/dl}$ )ならびに血中クレアチニン値(Cre)の上昇(平均値±標準偏差:  $3.2 \pm 2.8 \text{ mg/dl}$ ; 範囲:  $1.5 \sim 10.5 \text{ mg/dl}$ ; 基準値範囲 [106]:  $0.5 \sim 1.0 \text{ mg/dl}$ )が13例(Nos. 1, 4, 12, 19, 21, 25, 26, 27, 29, 32, 33, 38, 41), 軽度～重度のアスパラギン酸アミノ基転移酵素(AST)活性の上昇(平均値±標準偏差:  $289.6 \pm 439.6 \text{ mg/dl}$ ; 範囲:  $126 \sim >1,000 \text{ mg/dl}$ ; 基準値範囲 [106]:  $10 \sim 48 \text{ IU/L}$ )ならびにアラニンアミノ基転移酵素(ALT)活性の上昇(平均値±標準偏差:  $247.8 \pm 336.8 \text{ mg/dl}$ ; 範囲:  $96 \sim >1,000 \text{ U/L}$ ; 基準値範囲 [106]:  $12 \sim 130 \text{ IU/L}$ )が14例(Nos. 2-4, 9, 12, 19, 21, 25, 26, 29, 32, 33, 38, 40), 重度のクレアチニンキナーゼ(CK)活性の上昇(いずれも  $>2000 \text{ IU/L}$ ; 基準値範囲 [106]:  $0 \sim 314 \text{ IU/L}$ )が7例(Nos.: 8, 10, 14, 19, 20, 32, 39), 重度の乳酸脱炭酸酵素(LDH)活性の上昇( $>900 \text{ IU/L}$ ; 基準値範囲 [106]:  $0 \sim 798 \text{ IU/L}$ )が1例(No. 21)にみられた。

X線検査は41例中38例 (Nos. 1-18, 20-27, 29-38, 40, 41) で実施された。胸部X線検査では、38例中36例 (Nos. 1-8, 10-16, 18, 20-27, 29-38, 40, 41) で左房あるいは両心房の拡大を伴う軽度～重度の心拡大 (VHS :  $8.7 \pm 0.88$  椎体分; 正常値 [144] :  $8.1 \pm 0.45$  椎体分) がみられるとともに、胸水貯留所見 (胸腔内腹側に位置するX線不透過部および心陰影の不明瞭化) が27例 (Nos. 1-6, 8, 10, 12, 13, 16, 18, 21-23, 25-27, 29, 31, 32, 34-36, 38, 40, 41), 肺水腫所見 (肺門部周囲の浸潤影, 肺の間質および肺胞の種々の程度のX線不透過性亢進) が21例 (Nos. 1-8, 10, 15, 17, 18, 21, 22, 27, 29-33, 35) で認められた (図6)。腹部X線検査では、腹水貯留所見 (腹腔内臓器コントラストの低下ないしは消失) が12例 (Nos. 2, 3, 6, 12, 18, 21, 24, 29, 31, 35, 38, 40), 肝腫大が9例 (Nos. 2, 6, 12, 18, 21, 24, 29, 31, 35) にみられた (図7)。

心電図検査 (標準双極肢誘導) は41例中34例 (Nos. 1, 2, 4-14, 17-21, 23-27, 30, 32-41) で実施され、そのうち19例 (Nos. 1, 2, 4, 6, 8, 11, 12, 17, 21, 23, 24, 26, 32, 34, 35, 37, 38, 40, 41) に各種不整脈が単独あるいは複合して発生していた。観察された不整脈は心房期外収縮 (PACs) 9例 (Nos. 2, 4, 11, 21, 26, 32, 34, 35, 36, 38), 心房細動 (AF) 5例 (Nos. 8, 12, 17, 37, 41), 心室期外収縮 (PVCs) 5例 (Nos. : 1, 21, 23, 32, 40), 右脚ブロック (RBBB) 4例 (Nos. : 4, 12, 32, 38), 完全房室ブロック (CAVB) 1例 (No. 26), 第1度房室ブロック (1AVB) 1例 (No. 6) であった (図8, 9)。

Bモード心エコー検査は41例すべてで実施され、重度の左房拡張 (LA/Ao :  $2.7 \pm 0.5$ ; 基準値 [17] :  $1.4 \pm 0.1$ ) が29例 (Nos. 1-9, 11, 13-17, 20, 21, 23, 25-27, 29, 32-34, 36, 38-40) (図10A) にみられ、そのうち12例 (Nos. 10, 12, 18, 19, 22, 24, 27, 30, 31, 35, 37, 41) では右房の拡張もみられた (図10B)。さらに、斑状あるいは広範な左室心内膜の高エコー輝度領域が41例中36例 (Nos. 2-8, 10-18, 20-23, 25-35, 37-41) に認められた (図



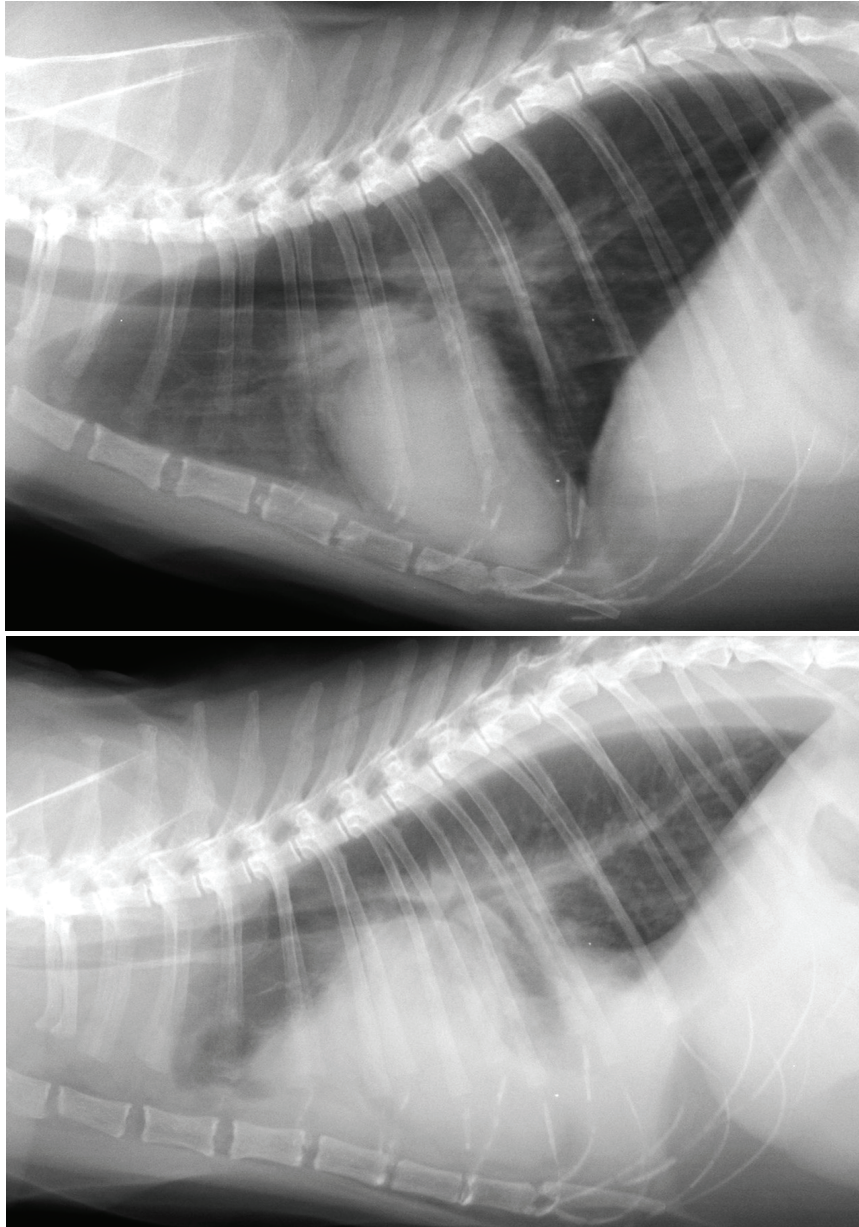


図 6 心内膜心筋型 RCM 罹患症例の X 線ラテラル像

(上段) No. 7 (雑種, 4 歳, 去勢済み雄). 肺門部周囲の浸潤影 (軽度の肺水腫所見) および左房陰影の拡大.

(下段) No. 18 (雑種, 4 歳, 避妊済み雌). 重度の胸水貯留所見および心陰影の不明瞭化, ならびに肺門部周囲の浸潤影.

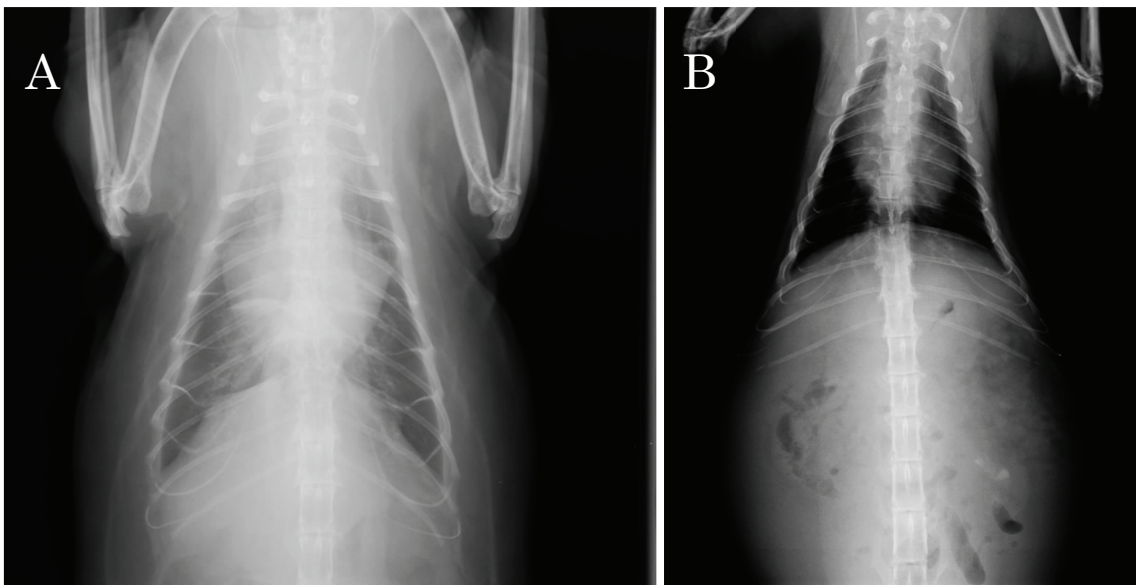


図 7 心内膜心筋型 RCM 罹患症例の X 線背腹像

(A) No. 9 (雑種, 6 歳, 去勢済み雄). 両心房の拡大を伴う心陰影の重度拡大 (バレンタインハート).

(B) No. 24 (雑種, 18 歳, 去勢済み雄). 腹腔内臓器コントラストの低下 (腹水貯留所見).



図8 心内膜心筋型 RCM 罹患症例の心電図 (標準双極肢誘導・II誘導)

(上段) No. 17 (雑種, 5歳, 雄). 心房細動. 50 mm/sec, 1 cm = 1mV.

(下段) No. 24 (雑種, 18歳, 去勢済み雄). 頻発する心房期外収縮. 50 mm/sec, 1 cm = 1mV.



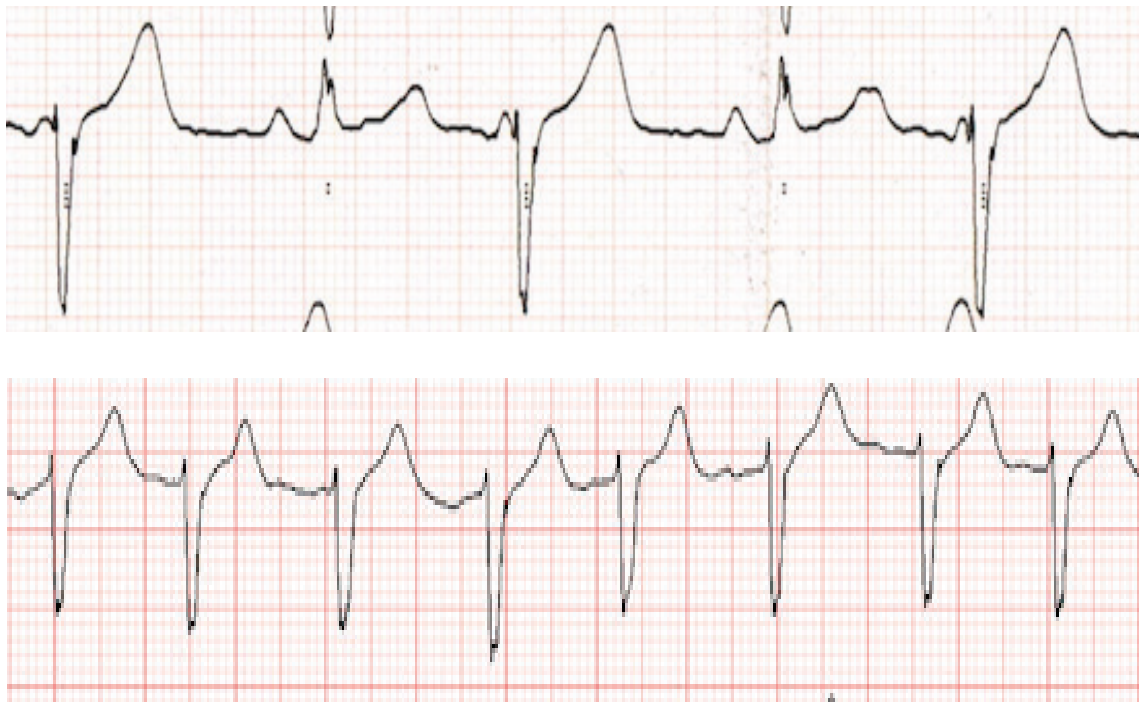


図9 心内膜心筋型 RCM 罹患症例の心電図（標準双極肢誘導・II誘導）

（上段）No. 23（雑種，9歳，去勢済み雄）．頻発する心室期外収縮（二段脈）．  
50 mm/sec, 1 cm = 1mV

（下段）No. 38（雑種，16歳，去勢済み雄）．右脚ブロック．50 mm/sec, 1  
cm = 1mV.

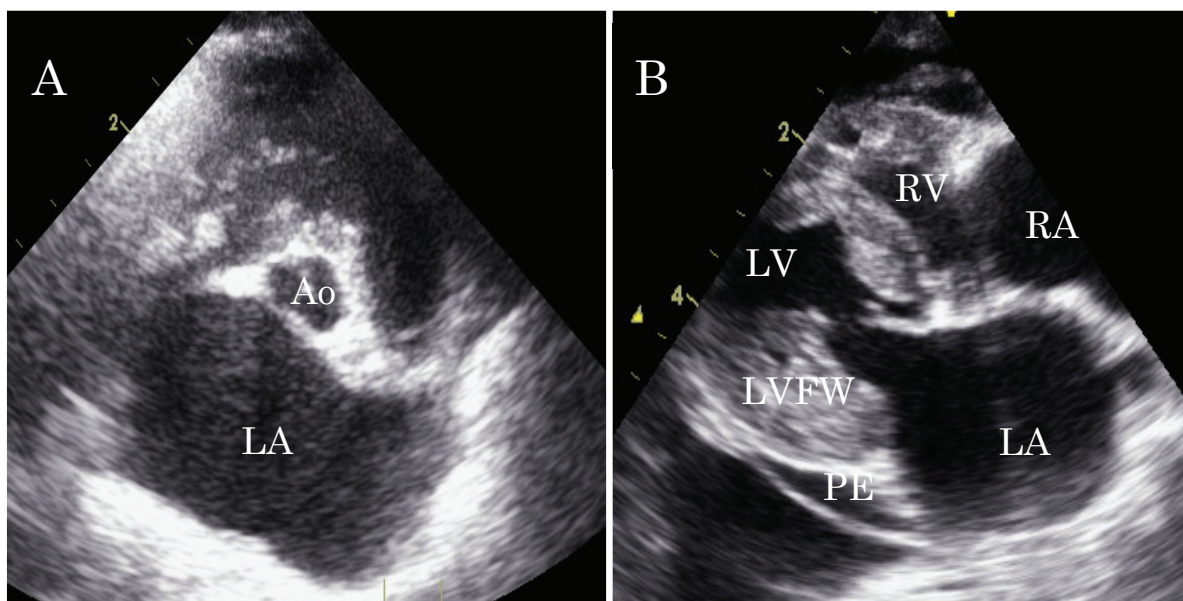


図 10 心内膜心筋型 RCM 罹患症例の B モード心エコー画像 (A, 右側傍胸骨短軸断面・大動脈レベル; B, 右側傍胸骨四腔断面)

(A) No. 11 (雑種, 12 歳, 去勢済み雄). 左房の著しい拡張.

(B) No. 27 (雑種, 12 歳, 雄). 両心房の重度拡張, 左室自由壁の局所的肥厚および心膜液の軽度貯留. Ao, 大動脈; LA, 左房; LV, 左室; LVFW, 左室自由壁; PE, 心膜液貯留; RA, 右房; RV, 右室.

11)。なお、これら 36 例のうち 25 例 (Nos. 2 - 4, 7, 10, 14 - 16, 18, 21 - 25, 28 - 31, 33, 35 - 37, 39 - 41) では左室自由壁と心室中隔とを連結する高エコー輝度の索状構造物が観察された (図 12)。また、左房内血栓が 8 例 (Nos. 2, 5, 6, 14, 21, 22, 34, 38) にみられた (図 13)。

M モード心エコー検査は 41 例中 10 例 (Nos. 4, 8, 11, 25, 27, 31, 33, 39 - 41) で実施され、ほぼ正常な収縮機能 (FS;  $49.5 \pm 11.6\%$ ; 基準値 [17];  $52.1 \pm 7.1\%$ ) と正常ないしは軽度に肥厚した左室自由壁 ( $5.4 \pm 1.5$  mm; 基準値 [17]:  $4.4 \pm 0.4$  mm) および心室中隔壁 ( $4.9 \pm 1.5$  mm; 基準値 [17]:  $4.5 \pm 0.3$  mm) が認められた。

カラードップラー検査は 41 例中 38 例 (Nos. 1 - 16, 18, 19, 21 - 31, 34 - 41) で実施され、心臓のリモデリングに伴う軽度～中等度の僧帽弁逆流 (図 14) が全例に、軽度の三尖弁逆流が 38 例中 3 例 (Nos. 12, 25, 26) にみられた。

パルスドップラー検査は 41 例中 10 例 (Nos. 7, 19, 22, 23, 27, 29, 33, 36, 40, 41) で実施され、いずれの例でも左室流入速度波形における左室急速流入血流速度 (E 波速度) の上昇 ( $0.97 \pm 0.42$  m/sec; 基準値 [64]:  $0.67 \pm 0.14$  m/sec), 減速時間の短縮 ( $43 \pm 28$  msec; 基準値 [64]:  $66 \pm 13$  msec) および心房収縮期流入血流速度 (A 波速度) の低下 (E/A:  $3.0 \pm 2.5$ ; 基準値 [64]:  $2.3 \pm 1.0$ ) を伴う拘束パターンが認められた (図 15)。

## 5. 治療方法

治療は 41 例すべてで実施された。治療方法は、急性肺水腫に対して利尿剤 (フロセミド) および/あるいは陽性変力作動薬 (ドブタミン, ドパミン) の持続点滴, ATE がみられた例では血栓溶解剤 (ウロキナーゼプラスミノゲン活性化因子製剤あるいは組織プラスミノゲン活性化因子製剤) や抗血液凝固剤 (低分子ヘパリン) が用いられたほか、腹部大動脈の分岐部に ATE がみられた 1 例 (No. 28) ではバルーンカテーテルによる血栓除去手術が実施された (図 16)。また、慢性期に移行した CHF の症状軽減を目的として利尿剤 (フロセミド,

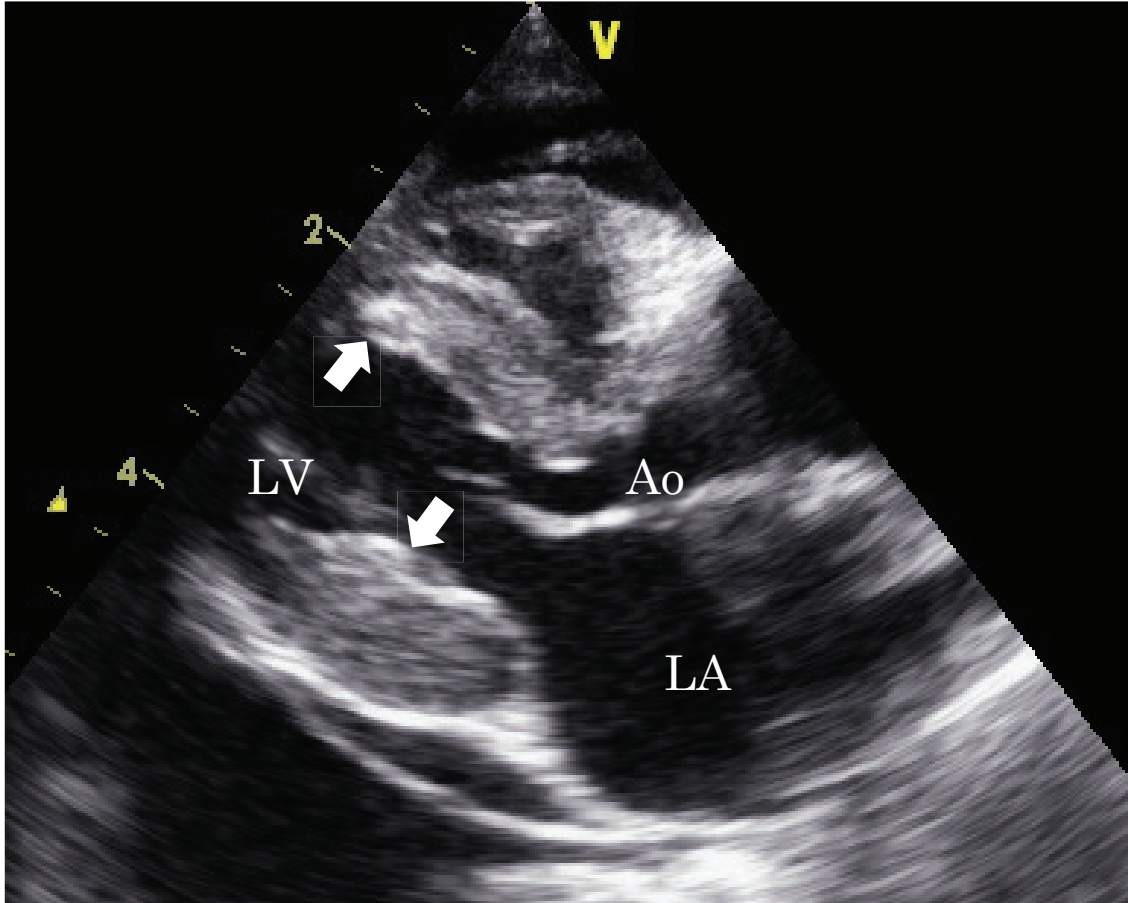


図 11 心内膜心筋型 RCM 罹患症例の B モード心エコー画像（右側傍胸骨五腔断面）

No. 27（雑種，12 歳，雄）．左室心内膜にみられる不整な高エコー輝度領域（矢印）．Ao，大動脈；LA，左房；LV，左室．

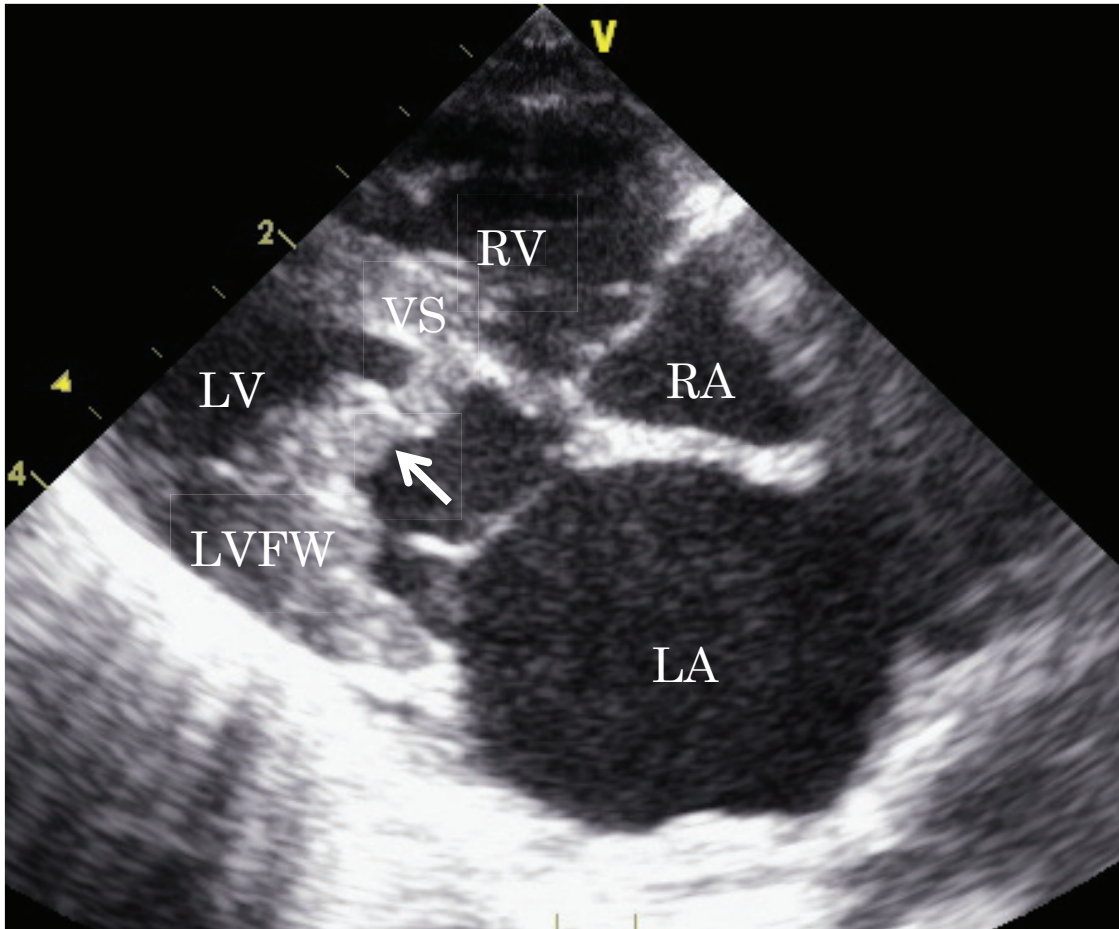


図 12 心内膜心筋型 RCM 罹患症例の心エコー画像（右側傍胸骨四腔断面）  
No. 30（雑種，5歳，雄）. 左室内腔を横断し，心室中隔と左室自由壁を連結する高エコー輝度の巨大な索状構造物（矢印）が観察され，左室内腔が分断されている. LA, 左房; LV, 左室; LVPFW, 左室自由壁; RA, 右房; RV, 右室 VS, 心室中隔.

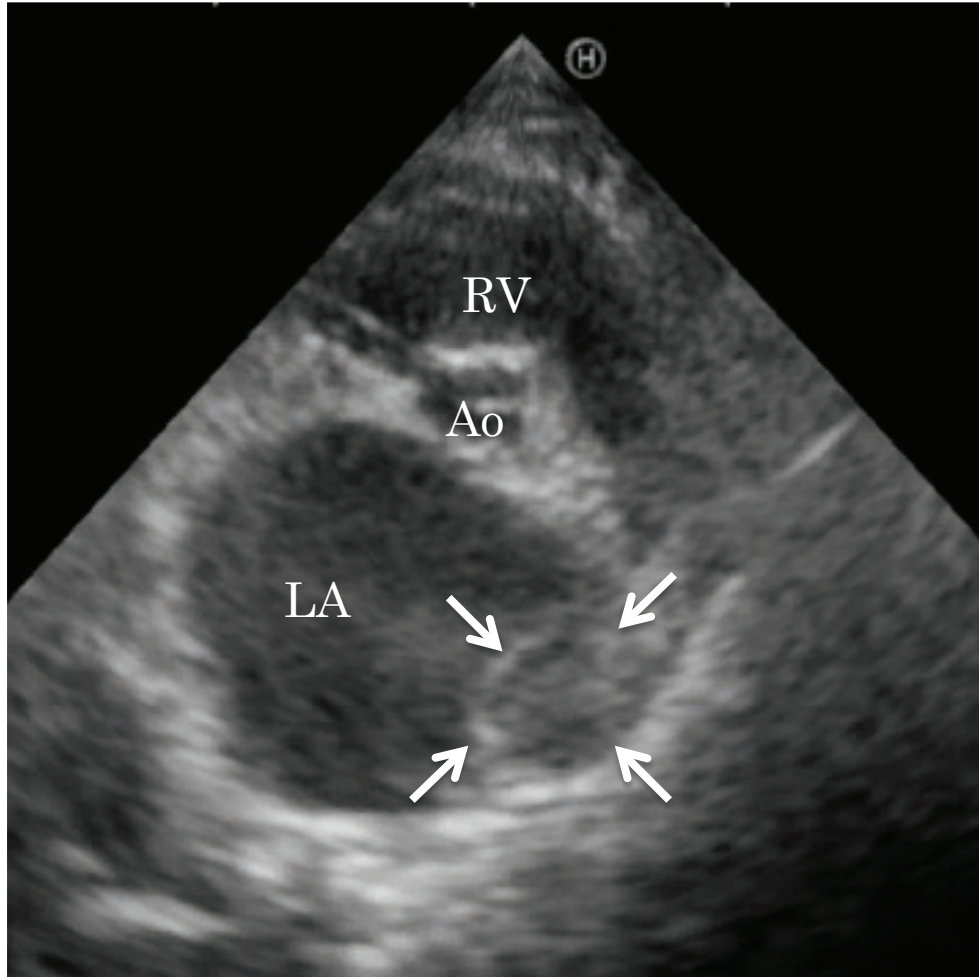


図 13 心内膜心筋型 RCM 罹患症例の心エコー画像 (右側傍胸骨短軸断面・大動脈レベル)

No. 14 (雑種, 3 歳, 去勢済み雄). 左房の顕著な拡張と壁着性血栓 (矢印). Ao, 大動脈; LA, 左房; RV, 右室.



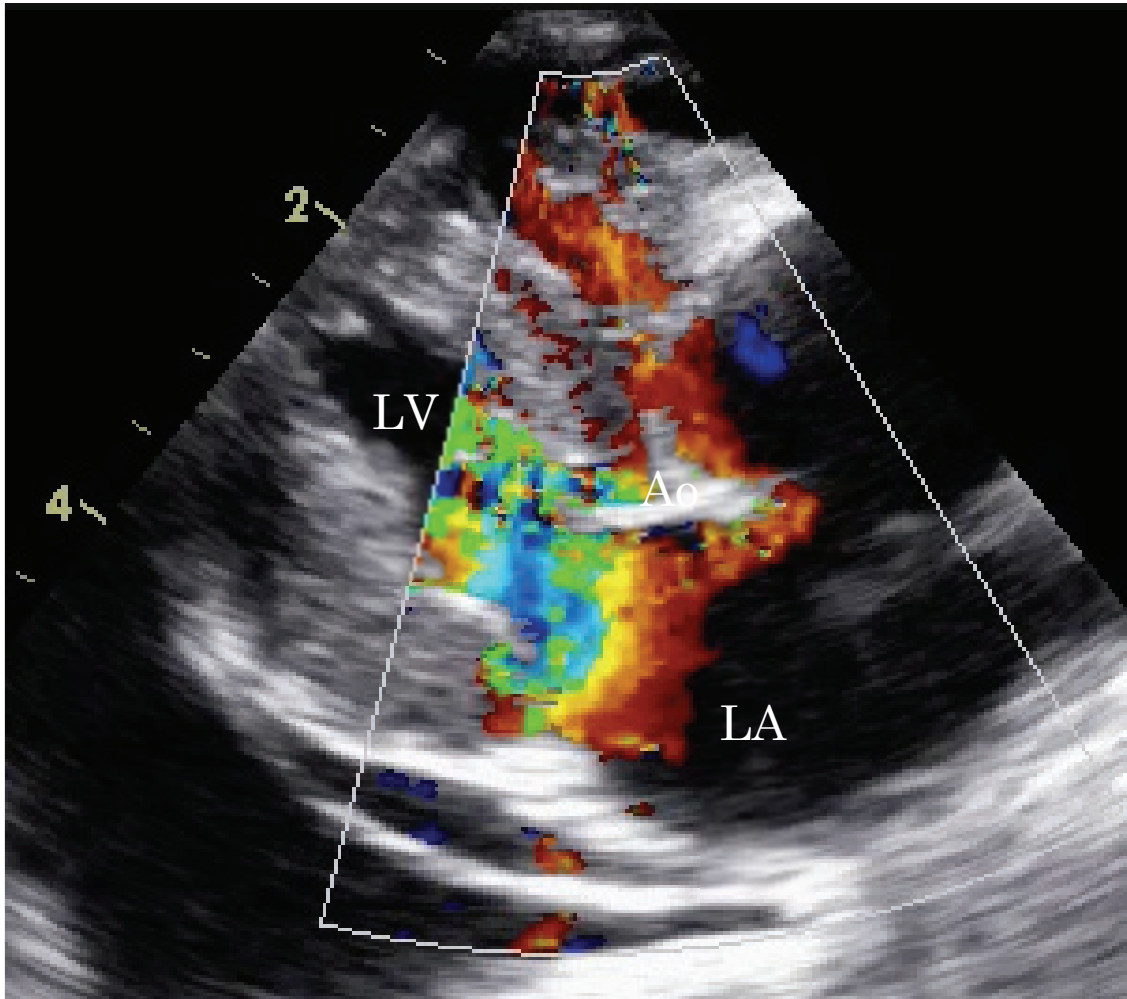


図 14 心内膜心筋型 RCM 罹患症例のカラードップラー画像（右側傍胸骨五腔断面）

No. 27（雑種，12 歳，雄）．軽度の僧帽弁逆流血流と，左室流出路における乱流．Ao，大動脈；LA，左房；LV，左室．

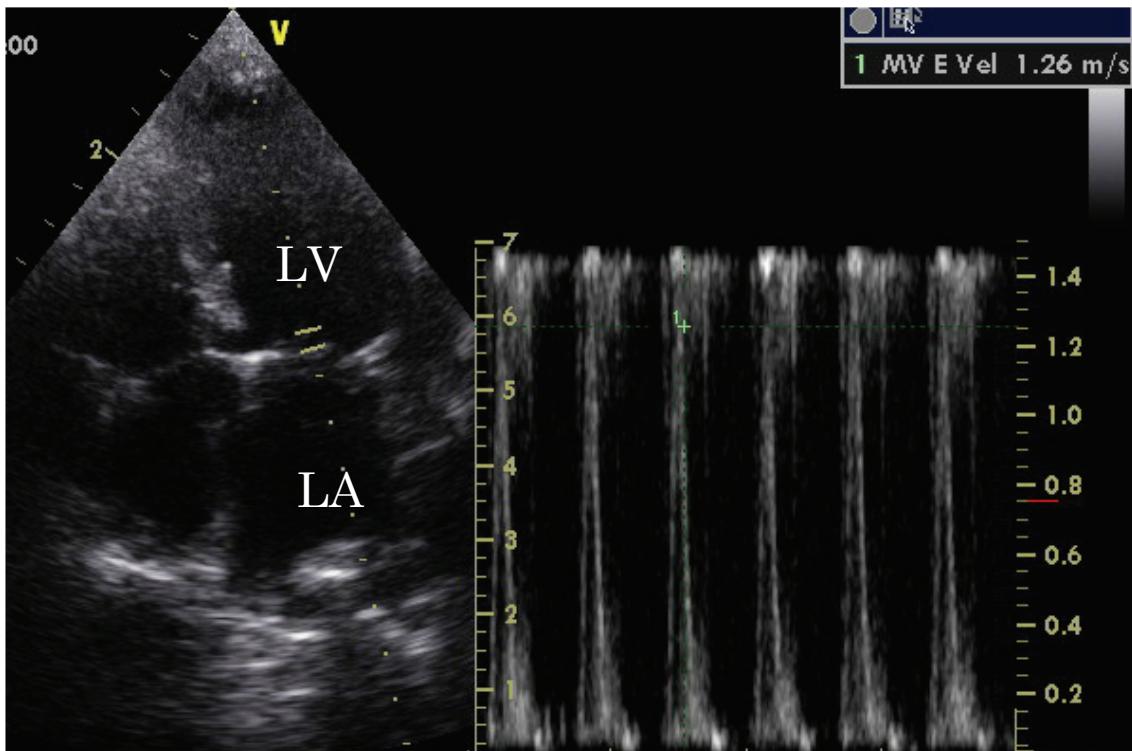


図 15 心内膜心筋型 RCM 罹患症例のパルスドップラー画像（左側傍胸骨心尖部四腔断面像）

No. 27（雑種，12 歳，雄）．拘束パターンを示す経僧帽弁左室流入速度波形．  
LA，左房；LV，左室．



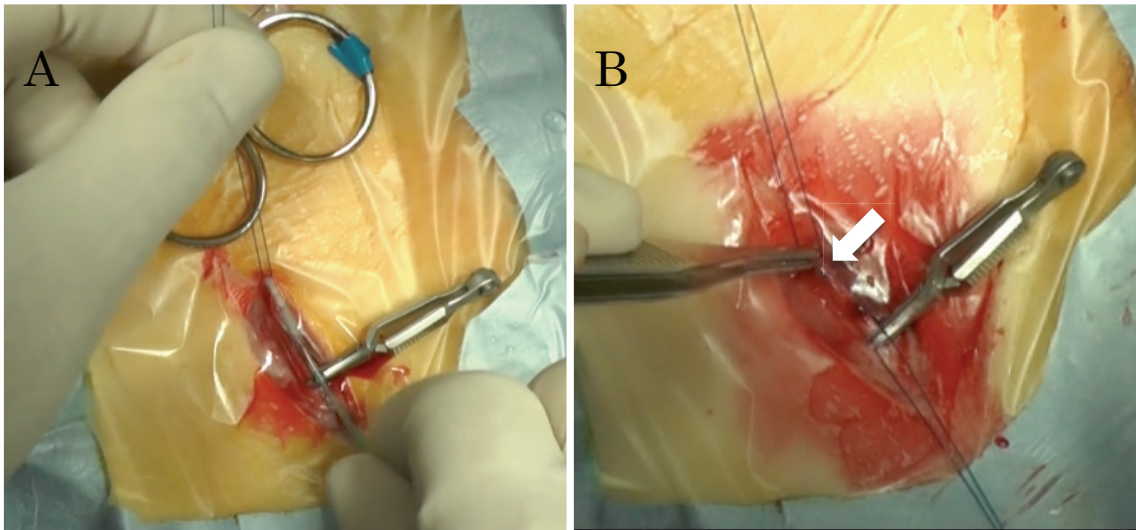


図 16 血栓除去手術の術中写真 (No.28 : 雑種, 3 歳, 避妊済み雌) .

(A) バルーンカテーテルを大腿動脈から血栓塞栓部 (腸骨動脈の分岐部) の頭側まで挿入し, 血栓を引き抜いている.

(B) 大腿動脈の内部に引き抜いてきた血栓 (矢印) が認められる.

スピロノラクトン), 陽性変力作動薬 (ピモベンダン), ACE 阻害剤 (アラセプリル, ベナゼプリル) が単独あるいは組み合わせて用いられたほか, 不整脈がみられた 19 例では Ca チャネル阻害剤 (ジルチアゼム) もしくはβブロッカー (アテノロール, カルベジロール), ATE の再発あるいは血栓形成のリスクが高い例では血栓予防薬 (アスピリン, オザグレル, クロピドグレル, ジピリダモール, 低分子ヘパリン) が使用された。さらに, 胸水貯留がみられた 27 例 (Nos. 1 - 6, 8, 10, 12, 13, 16, 18, 21 - 23, 25 - 27, 29, 31, 32, 34 - 36, 38, 40, 41) ではいずれも胸腔穿刺術が実施され, 腹水貯留がみられた 2 例 (Nos. 24, 38) では腹腔穿刺術も行われた。

## 6. 生存期間

上記のように, いずれの例にも可能な限り積極的な治療が施されていたが, これらの治療はほとんどの例で奏効しておらず, 全例が重度の CHF および/あるいは ATE (再発例も含む) で死亡した。そして, 治療開始から死亡までの期間は 1~977 日で, 平均生存日数 (±標準偏差) は 103±183 日, 生存期間中央値は 30 日であった。

## 考 察

本章では、猫の心内膜心筋型 RCM の疫学および臨床に関する情報を得るべく、2007～2014 年の約 8 年間に当研究室にて剖検を実施した各種心疾患罹患猫 327 例のうち、心内膜心筋型 RCM と病理診断された猫 41 例を対象に回顧的調査を行い、その疫学および臨床的特徴を取りまとめた。

当該期間に剖検を実施した心疾患罹患猫 327 例のうち、心筋症例は 100 例あり、その内訳は HCM 34 例 (34%)、DCM 12 例 (12%)、ARVC 11 例 (11%)、心筋型 RCM 2 例 (2%) であり、心内膜心筋型 RCM の割合 (41%) がもっとも高かった。心内膜心筋型 RCM の発生頻度については十分に明らかにされていないが、猫の心筋症 106 例を対象とした Ferasin ら [25] の臨床報告では、HCM が 61 例 (58%)、DCM が 10 例 (11%)、RCM が 22 例 (21%) にであったことから、現在のところ RCM の発生頻度は HCM よりも少なく、DCM よりも多いとされている [21, 144]。心筋症全体に占める心内膜心筋型 RCM の割合に関して Ferasin ら [25] の臨床報告と本検索結果との間に違い (21% vs 41%) がみられるが、これには検索方法の違い (臨床例 vs 剖検例)、あるいは時代的背景や地理的要因などが関与している可能性がある。

一方、本疾患の特徴的所見とされる左室心内膜の線維性病変は B モード心エコー検査で左室心内膜の不整な高エコー輝度領域として比較的容易に描出されることから、これが臨床診断の一助となる [33]。しかしながら、この線維性病変がその位置やサイズ、心エコー検査機器の性能、検査者の技術といった要因によって見過ごされることで、本来心内膜心筋型 RCM と臨床診断されるべき例が看過されていた可能性や、HCM など他の心筋症と誤診されていた可能性がある。これらのファクターを勘案すると、これまで 2 番目に多い心筋症とされていた本疾患の発生頻度は従来報告されていたよりも高い可能性が示唆された。ちなみに、1986 年～1992 年の 6 年間に実施された猫の剖検例 1,472 例を取りまとめた病理学的報告では、左室の心内膜心筋炎 (endomyocarditis; EMC) が

37例、左室心内膜線維化 (left ventricular endocardial fibrosis; EMF) が25例に認められている [130]。この報告では EMC と EMF を表現型や病期の異なる同一疾患、すなわち心内膜心筋型 RCM とみなしており、HCM (34例) や DCM (33例) よりもはるかに発生頻度が高かったことから、心内膜心筋型 RCM を猫でもっとも重要な心疾患に位置づけている。

今回検索した心内膜心筋型 RCM 罹患猫 41例では1例 (チンチラ) を除くすべてが雑種 (日本猫) であったことから、成書 [21, 144] にも記されているように、本症には品種による偏り (品種好発性) はみられていない。一方、22例の RCM 罹患猫を検索した Ferasin ら [27] の臨床報告では22例のうち13例が雑種であり、その他にバーマン 2例、シャム 2例、ペルシャ 1例、オリエンタル 1例、バリニーズ 1例が含まれていた。さらに、62例の心内膜心筋型 RCM (EMC 37例および EMF 25例) を検索した Stalis ら [130] の病理学的報告では、その内58例が雑種で、その他にシャムが3例、メインクーンが1例であった。このように、本症は雑種にもっとも多く発生しているが、特定の品種 (特にシャム) にもみられることから、今後も品種好発性に関してさらなる検討を加える必要がある。

今回検索した猫 41例の死亡時平均年齢は  $7.4 \pm 4.8$  歳 (中央値: 6歳) であった。これまでの報告に記されている本疾患の死亡時年齢をみると、Ferasin ら [27] の臨床報告 (心内膜心筋型と心筋型を含む) では、 $7.1 \pm 3.1$  歳 (範囲: 3~16歳)、Liu [84, 85] による2つの病理学的報告ではそれぞれ、 $7.3 \pm 4.0$  歳 (範囲: 記載なし) および  $6.8 \pm 0.5$  歳 (範囲: 1~11歳)、Stalis ら [130] の病理学的報告では、7.4歳 (標準偏差: 記載なし) (範囲: 1~16歳) であった。このように、今回の検索で得られた死亡時平均年齢は過去の報告とおおむね一致していた。また、過去の報告と同様、死亡時年齢には過去の報告と同様にかかなりの幅 (4ヶ月齢~19歳) がみられたことから、本症は1歳未満の幼若齢猫から超高齢猫まで幅広く発生する可能性のあることが確認された。

今回の 41 例は雄 25 例 (61%), 雌 16 例 (39%) からなっており, 有意差は認められなかったものの雄に多くみられる傾向があった。過去の報告をみると, 68 例の心内膜心筋型 RCM 罹患猫を対象とした病理学的研究では, 雄が 40 例, 雌が 28 例 (59% vs 41%) [84], 25 例の EMF 罹患猫を対象とした病理学的研究では, 雄が 20 例, 雌が 5 例 (80% vs 20%) [130] といずれにおいても雄に多くにみられている。上述の 2 つの報告とは検索方法および検索対象が若干異なるため性差について厳密に比較することはできないが, これらの結果を考えると, 本疾患は雄に多く発生する可能性が高いものと考えられた。一方, 22 例の RCM 罹患猫を対象とした臨床的研究では雄が 6 例, 雌が 16 例 (27% vs 73%) であり [27], と本研究や過去の病理学的研究とは逆に雌に多くみられていることから, 本疾患の性差に関しては今後遺伝学的背景も踏まえさらなる検索が必要とされる。

心内膜心筋型 RCM 罹患猫はいずれも左室もしくは両心室の CHF に関連する症状 (呼吸促迫または呼吸困難, 頻脈, 胸水貯留, 腹水貯留, 心膜液貯留, 肺水腫など) や ATE に起因する症状 (後肢の不全麻痺あるいは完全麻痺) を示していた。しかしながら, これらの臨床症状は他の心筋症でも頻繁に認められるため [21, 144], 臨床症状から本症の臨床診断につながるものはなかった。また, 血液一般検査では少数例 (37 例中 8 例) で軽度~重度の白血球増多症や軽度の貧血が認められたが, これは本症で認められる ATE や慢性的な CHF に伴う非特異的な所見だとみなされた。さらに, 血液化学検査では心拍出量低下に伴う軽度~重度の BUN および Cre 値の上昇 (腎機能障害) や肝うっ血に伴う AST および ALT 値の上昇 (肝機能障害) がみられるとともに, LDH や CK 値の上昇など ATE に伴う重度の骨格筋障害を示唆する結果も得られた。しかしながら, これらの血液化学検査所見のいずれも猫の心疾患では一般的にみられるものであるため [13, 21, 31, 144], 血液一般および血液化学検査からは本症の臨床診断に有用な情報は期待できない。

X線検査では、ほとんどの例で顕著な左房あるいは両心房（38例中36例；95%）の拡大が認められるとともに、肺水腫を示唆する所見（肺野のX線不透過性の亢進、肺門部周囲の浸潤影）や胸水／腹水の貯留を疑う所見（胸腔内腹側におけるX線不透過部および心陰影の不明瞭化、腹腔内臓器コントラストの低下）が得られた。しかしながら、いずれも他の心疾患あるいは心機能障害を伴う全身性疾患（腎不全に伴う全身性高血圧症や甲状腺機能亢進症など）でもみられる所見であるため [21, 144], X線検査でも本症に特異的な所見を得ることはできなかった。

今回の41例全例に実施したBモード心エコー検査では、いずれの例でも左房あるいは両心房の顕著な拡張が認められた。加えて、Mモード心エコー検査を実施した10例ではおおむね正常な収縮機能と心室壁厚が、そしてパルスドップラー検査を実施した10例では左室流入速度波形に拘束パターンが認められた。これらの所見は本疾患にのみ認められるものではないが、これまでの臨床研究 [33] や成書 [21, 144] に本疾患の心エコー検査所見として記されているものと一致していた。一方、41例中8例の左房内に血栓の存在を疑わせる像が確認されたが、この所見と後肢における不全麻痺あるいは完全麻痺の発生との間に明らかな相関は認められなかった。

Bモード心エコー検査では、特徴的な所見として左室心内膜面の不整な高エコー輝度領域および／あるいは左室内腔を横断する高エコー輝度の索状構造物がかなり高い確率（41例中36例；88%）で観察された。これらの所見は他の心筋症や心疾患にはみられないため、本疾患に特異的な所見だとみなされる。ちなみに、“心内膜心筋線維化”として知られるヒトの心内膜心筋型RCMの臨床診断には、本症の構造学的異常（左房の顕著な拡張や左室心内膜面の線維性病変）を正確に捉えることができる心エコー検査がゴールドスタンダードとされており、心エコー検査によってこれらを捕捉することで無症候性の心内膜心筋型RCM患者をいち早く発見できるとされている [102, 103]。猫では本疾患



の臨床診断基準は明確に規定されていないものの、本症を対象とした Fox [33] による本症の臨床および病理学的研究においても、心内膜線維化に関連する病理学的所見（すなわち左室心内膜の線維性病変）は本疾患に特徴的なものであり、臨床診断に資するところが極めて大きいとされている。このことから、猫の心内膜心筋型 RCM の臨床診断には B モード心エコー検査で本疾患の特徴病変である左室心内膜の線維性病変を検出することがもつとも有用であり、心エコー検査を中心に各種検査を実施することで本疾患の早期発見につながるものと考えられる。

これまでの報告では、心電図検査により RCM 罹患猫の 31% [85] あるいは 70% [52] に異常所見がみられたとされている [13]。本研究でも心電図検査を実施した 34 例のうち 19 例 (56%) に様々な不整脈 (PACs, AF, PVCs, RBBB, CAVB あるいは 1AVB) が単独あるいは複合して発生していた。特に、PACs (9/34 ; 26 %) および AF (5/34 ; 15 %) が比較的高率にみられたが、これは心電図検査を実施した 34 例のすべての左房もしくは両心房の中等度～重度拡大がみられたことを考慮すると当然の結果といえる。すなわち、左房または両心房の顕著な拡張は、心房壁の過度な伸展に伴う電気生理学的異常を介して心房性不整脈発生のための素地を形成したものと考えられた [33, 76]。

今回の検索では、心内膜心筋型 RCM 罹患猫の診断後の生存期間は 1～977 日 (平均±標準偏差 : 103±183 日) で、いずれの例も積極的な治療がなされたにも関わらずその多くが 1 ヶ月以内 (生存期間中央値 : 30 日) に死亡していた。したがって、本疾患はヒトの RCM と同様 [4, 145] に非常に予後が悪い疾患であるといえる。本疾患に限って生存期間を調査した報告は見当たらないが、22 例の RCM 罹患猫を検索した Ferasin らの臨床報告 [27, 28] では、追跡調査が可能であった 16 例のうち、死亡した 12 例の生存期間中央値は 21 日、報告時にまだ生存していた 4 例の生存期間中央値は 1,277 日で、合算すると 132 日であった。これらの報告では、報告時に死亡していた例と生存していた例とが混在

していることに加え、心内膜心筋型と心筋型が区別されていないことから、今回の検索結果とは単純に比較することはできない。とはいえ、その大部分が1ヶ月以内（16例中12例；生存期間中央値21日）に死亡していたことから、本疾患の予後は非常に悪いことがわかる。さらに、罹患猫はいずれもCHFやATEを発症し重篤な状態に陥ってから初めて動物病院を受診していたことを考慮すると、本疾患は末期的な段階にまで病期が進行しないと臨床症状の発現には至らない可能性が極めて高い。したがって、定期的な健康診断などで心エコー検査を積極的に行うことにより罹患猫をより早期に発見し、症状の発症を遅らせるための予治療が必要であろうと考えられた。



## 小 括

本章では、2007～2014年の約8年間に当研究室において心内膜心筋型 RCM と病理診断された猫 41 例の医療データを回顧的に調査し、そのシグナルメント（品種、年齢および性差）や各種臨床検査（身体検査、血液検査、X線検査、心電図検査および心エコー検査）所見、治療方法ならびに生存期間を取りまとめた。当該期間に剖検を実施した心疾患罹患猫 327 例のうち、心筋症例は 100 例あり、その内訳は HCM 34 例 (34%), DCM 12 例 (12%), ARVC 11 例 (11%), 心筋型 RCM 2 例 (2%) であり、心内膜心筋型 RCM の割合 (41%) がもっとも高かった。このことから、猫の RCM の発生頻度は以前の報告よりも高い可能性が示唆された。今回検索した心内膜心筋型 RCM 罹患猫 41 例では 1 例（チンチラ）を除くすべてが雑種（日本猫）であったことから、本症には品種による偏り（品種好発性）はみられていない。また、本検索例の平均死亡時年齢は 7.4 ± 4.8 歳（中央値：6 歳，範囲：4 ヶ月～19 歳）で、過去の報告とおおむね同様の結果だった。今回検索した 41 例のうち雄 25 例，雌 16 例で、有意な差は認められなかったものの、雄に多くみられる傾向があった。心内膜心筋型 RCM 罹患猫が示す臨床症状は呼吸促迫や呼吸困難がもっとも多く (85%, 35 例/41 例)，ATE に起因する後肢の不全麻痺もしくは完全麻痺は (41%, 17 例/41 例) にみられた。血液一般検査では少数例 (22%, 8 例/37 例) で軽度～重度の白血球増多症や軽度の貧血が認められ、血液化学検査では心拍出量低下に伴う軽度～重度の BUN および Cre 値の上昇（腎機能障害）や肝うっ血に伴う AST および ALT 値の上昇（肝機能障害）とともに、LDH や CK 値の上昇など ATE に伴う重度の骨格筋障害を示唆する結果も得られた。X線検査では、ほとんどの例で顕著な左房あるいは両心房 (95%, 36 例/38 例) の拡大が認められるとともに、肺水腫を示唆する所見（肺野の X線不透過性の亢進，肺門部周囲の浸潤影）や胸水／腹水の貯留を疑う所見（胸腔内腹側における X線不透過部および心陰影の不明瞭化，腹腔内臓器コントラストの低下）が得られた。心電図検査を実施

した 34 例中 19 例 (56%) では様々な不整脈 (PACs, AF, PVCs, RBBB, CAVB  
あるいは 1AVB) が単独あるいは複合して発生しており, 特に, PACs (26%,  
9 例/34 例) および AF (15%, 5 例/34 例) が比較的高率にみられた。B モード  
心エコー検査では, 特徴的な所見として左室心内膜面の不整な高エコー輝度領  
域および/あるいは左室内腔を横断する高エコー輝度の索状構造物がかなり高  
い確率 (88%, 36 例/41 例) で観察された。これらの所見は他の心筋症や心疾  
患にはみられないため, 本疾患に特異的な所見だとみなされる。今回の検索で  
は, 心内膜心筋型 RCM 罹患猫の診断後の生存期間は 1~977 日 (平均±標準偏  
差: 103±183 日) で, いずれの例も積極的な治療が施されたにも関わらずその  
多くが 1 ヶ月以内 (生存期間中央値: 30 日) に死亡していた。したがって, 本  
疾患はヒトの RCM と同様に非常に予後が悪い疾患であるといえる。

## 第 2 章

# 猫の拘束型心筋症（心内膜心筋型）にみられる 心臓病変に関する検索

## 序 文

猫の心内膜心筋型 RCM にもっとも特徴的な病理所見の 1 つが左室心内膜の線維性肥厚である。左室の心内膜（個体によっては心内膜下心筋層を含めて）に限局性ないしはび漫性の線維増生が生じる結果、左室の内腔は顕著な変形やゆがみをきたす [13, 21, 32, 33, 130, 144]。Fox [33] は、心内膜病変の分布形態／分布様式から当該疾患を 2 つのタイプに大別している（両者にはオーバーラップする部分もある）。もっとも多くみられるパターンは、左室内腔を横断する大型で不整形の線維性索状構造物が左室自由壁と心室中隔とを連結するものである。このタイプの病変では、線維性の構造物によって左室の内腔が上下に分断されることもあれば、左室の内腔が中間部から心尖部にかけて管状あるいはスリット状に狭窄ないしは閉塞し、収縮期および拡張期に左室内圧較差が生じることもある [33, 90, 144]。加えて、左室の心尖部、左室自由壁および／あるいは心室中隔の構造的リモデリング（局所性の菲薄化または肥厚、変形やゆがみ）が頻繁に観察される。もう 1 つのパターンは、左室のほぼ全域を巻き込む様に心内膜がび漫性に線維性肥厚するもので、この線維増生はしばしば左房の心内膜や大動脈の基部にまで及ぶ [33]。このタイプの病変の発生頻度は前者よりもはるかに低い。左室の心内膜がび漫性に肥厚するため、左室容積が顕著に減少し、しばしば内腔が閉塞することもある。さらに、心内膜病変は頻繁に乳頭筋、腱索および僧帽弁からなる僧帽弁装置をも巻き込み、軽度～重度の僧帽弁逆流を引き起こす [33]。なお、心内膜病変以外の肉眼的変化としては、左房もしくは両心房の中等度～重度の拡張、左室自由壁および／あるいは心室中隔の種々の程度の肥厚、左房内（ときに左室内）の壁在性血栓形成などが挙げられる [13, 31, 33, 142]。

猫の心内膜心筋型 RCM で観察される左室の心内膜病変に関する研究はほと

んどなされておらず、著者の知る限りこれまでに4つの報告がみられるのみである。Liuによる1970年[84]および1985年[85]の病理学的報告では、左室心内膜の線維性肥厚病変は炎症性変化の修復機転として生じた肉芽組織（幼若な線維芽細胞、マクロファージ、組織球、アニチコフ細胞、リンパ球・形質細胞、好中球などの炎症性細胞浸潤ならびに線維芽細胞の浸潤・増殖と繊細な線維性結合組織の増生）からなり、最終的には膠原線維を主体とした線維性結合組織によってほぼ完全に置換される。また、1995年のStalisら[130]の病理学的報告では、1986年～1992年に実施した猫の剖検例1,472例のうち、62例の左室心内膜に線維性肥厚病変を見いだしており、これらを炎症性変化の有無によって、“心内膜心筋炎（endomyocarditis；EMC）”と“心内膜心筋線維化（left ventricular endomyocardial fibrosis；EMF）”とに分けている。前者は種々の程度の炎症性細胞（好中球、マクロファージ、組織球、リンパ球・形質細胞など）の浸潤ならびに線維芽細胞に浸潤・増殖と未熟な線維性結合組織からなり、後者は成熟した線維性結合組織からなっている。また、EMCは比較的若齢の猫（死亡時平均年齢：3.4歳）に多くみられるのに対して、EMFはそれよりも高齢の猫（死亡時平均年齢：7.4歳）に多くみられる。加えて、両者の中間的な病変を持つ個体も存在していることから、EMCとEMFはそれぞれ同じ疾患の異なる一形態で、EMCとEMFはいずれも同一疾患（心内膜心筋型RCM）の異なった時相を表現しているものと結論付けている（換言すれば、EMFはEMCの終末像に相当する）[130]。その後、Fox[33]は心内膜心筋型RCMの臨床像および病理像を体系的に取りまとめた、本疾患の病理組織学的特徴は硝子様基質、線維性結合組織、肉芽組織の3つからなる左室心内膜の顕著な線維性肥厚であり、心内膜病変は主に硝子様基質と弾性線維をまじえた線維性結合組織（時に軟骨化生を伴う）から構成され、その直下に位置する心内膜下心



筋層の病変は単核細胞の浸潤を伴う肉芽組織の形成からなるとしている。

猫の心内膜心筋型 RCM の病因あるいは病理発生についてはまったく明らかにされていないが、過去の症例報告や病理学的報告ではいくつかの仮説が示されている。1つの説は、ヒトの心内膜心筋型 RCM の一因とされている好酸球増多症に伴うレフラー心筋炎 (Löffler's myocarditis) が、猫の心内膜心筋型 RCM の病因にもなりうるとするものである [33]。これは過去の症例報告において、好酸球増多症と診断された猫の左室心内膜に心内膜心筋型 RCM でみられるような線維性肥厚が認められたことに基づいている [98, 126, 129]。しかしながら、これらの報告で扱っている症例はいずれも散発例であることから、その因果関係については今のところ明らかにされていない [33, 93]。もう1つは、本疾患の特徴的病変である左室の心内膜および／あるいは心内膜下心筋層の病的変化が、ウイルス性心筋炎あるいは自己免疫性心筋炎の修復機転に起因するものとする説である [33]。この仮説は、過去の病理学的検索において心内膜心筋層に原因不明の炎症性機転がみられていたこと、Meurs ら [101] が実施した PCR を用いた分子生物学的研究で、心筋炎を伴う RCM 罹患猫の心臓から猫汎白血球減少症ウイルス (パルボウイルス) のウイルスゲノムが検出されたことなどを根拠としている [33, 88, 101, 130]。しかしながらこの説に関しても、ウイルスゲノムの存在が心筋炎の発生と直結していたかどうかは明らかにされていない [21, 33, 71]。なお、心筋梗塞や心筋不全により重篤化した HCM あるいは他の病型の心筋症の末期像である可能性も示唆されているが、これらに関しても推測の域を出ない [21]。

このように、これまでの報告では本疾患に特徴的であるとされる左室心内膜病変にフォーカスを当てた病理組織学的検索がなされてはいるものの、質的あるいは量的に必ずしも十分ではなく、その病理発生については全く明らかにさ

れていないといっても過言ではない。そこで本章では、第1章で取り扱った心内膜心筋型 RCM 罹患猫 41 例の心臓を用いて左室の心内膜病変詳細に検索し、病理発生についても検討を加えることとした。

## 材料 と 方法

### 1. 心臓の肉眼的および組織学的検索

第1章にて検索対象とした心内膜心筋型 RCM 罹患猫 41 例の心臓を用いた。剖検はいずれも死後 12 時間以内に実施した。心臓と肺を胸腔内より一括して取り出し、10%中性緩衝ホルマリン溶液中に丸ごと浸漬、5 日間以上固定した後、肉眼的検索に供した。心臓の肉眼的検索および切り出しは以下の手順で実施した：① 固定された心臓と肺を流水で一昼夜水洗し、心臓に傷をつけないように注意しながら肺および心膜を分離した；② 心臓の外観を観察した後、心重量 (HW, g) を計測し、それを体重 (BW, kg) で除すことにより心重量・体重比 (HW/BW, g/kg) を算出した；③ 心臓の外観を前壁側および後壁側から撮影した後 (図 17)、左室自由壁、右室自由壁および心室中隔が前後で均等になるようにそれらの中間部で心臓を縦断した；④ 凝固血液を取り除いた後に心室内腔を詳細に観察した；⑤ 左室に形成されていた心内膜病変の分布様式を精査した後、二分割された心臓の縦断面を撮影した (図 18)；⑥ 心室を冠状溝から心尖までの上 3 分の 1 のレベルで横断した後、心尖部側の組織塊から約 5mm の厚さで連続した 3 つの横断組織片を切り出し、これらを組織学的検索に供した。

切り出した心室前側および後壁側の心室横断組織片はすべて定法に従ってパラフィン包埋し、厚さ約 5  $\mu\text{m}$  の薄切片を作製した後、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色を施して鏡検した。また、HE 染色に加え、線維性結合組織内の膠原線維を染めるためにマッソン・トリクローム染色、粘液多糖類を染め出すためにアルシアン青 pH 2.5 染色およびトルイジン青 pH 2.5 染色、線維性結合組織内の膠原線維と弾性線維を染め分けるためにエラスチカ・ワンギーソン染色をそれぞれ実施・鏡検した。

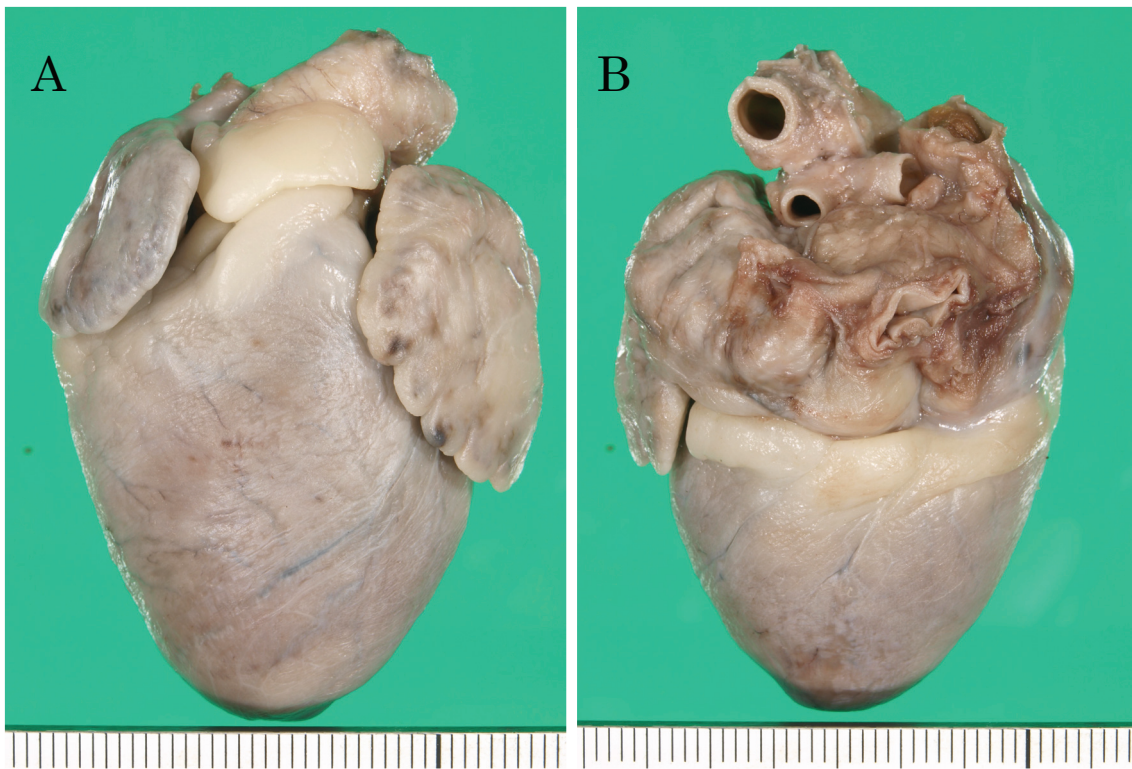


図 17 心内膜心筋型 RCM に罹患した心臓の外観 (No. 38, 雑種, 16 歳, 去勢済み雄) . (A) 前壁側, (B) 後壁側. 目盛り = 1 mm.





図 18 心臓の切り出し方法 (No. 38, 雑種, 16 歳, 去勢済み雄)

(上段) 心臓縦断面. 左室心内膜のほぼ全域が顕著に肥厚している. 右: 前壁側, 左; 後壁側. 目盛り = 1 mm.

(下段) 心室横断組織片. 心尖部側 (左), 中間部 (中央), 心底部側 (右) の 3 つのレベルで心室の横断組織片を切り出している. 目盛り = 1 mm.

## 2. 左室心内膜病変の免疫組織化学的検索

左室心内膜病変内に存在する細胞の由来を同定するために、各種抗体を用いた免疫組織化学染色を実施した。免疫組織化学染色には心室横断組織片のパラフィン包埋ブロックから作製した厚さ約 6  $\mu\text{m}$  の薄切片に、アビジン・ビオチン・ペルオキシダーゼ法 (Vectastain ; Vector laboratories ; Burlingame, California, USA) を適用した [7]。一次抗体には、抗マウス vimentin モノクローナル抗体 (間葉系細胞マーカー ; クローン Vim 3B4 ; 100 倍希釈 ; 東京, ダコ・ジャパン), 抗ヒト  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA) ・マウスモノクローナル抗体 (平滑筋細胞マーカー ; クローン 1A4 ; 100 倍希釈 ; 東京, ダコ・ジャパン), 抗マウス caldesmon モノクローナル抗体 (平滑筋細胞マーカー ; クローン h-CD ; 100 倍希釈 ; 東京, ダコ・ジャパン) を使用した。併せて、細胞増殖因子の発現の有無を確認するために抗ウサギ platelet derived growth factor (PDGF) BB ポリクローナル抗体 (50 倍希釈 ; Abcam ; Cambridge, UK) および抗ウサギ transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) ポリクローナル抗体 (50 倍希釈 ; Abcam ; Cambridge, UK) を用いた。また、各一次抗体について陽性 / 陰性対照となる組織を同時に染色した。染色方法は以下の通りである : ① 剥離防止加工されたスライドガラスに接着固定した組織切片を脱パラフィン処理後, pH 7.4 のクエン酸緩衝液内にいれ, オートクレーブにての抗原賦活化処理をした (90°C · 15 分間) ; ② 緩衝液中のスライドを流水中に 30 分間静置して冷却した後, 1%過酸化水素加メタノールに入れ替え, 30 分間の内因性ペルオキシダーゼ不活化処理を施した ; ③ pH 7.4 のクエン酸緩衝液 (PBS) で 3 分間 · 3 回洗浄した後, 10%ヤギ正常血清を組織片の大きさに応じてスライド 1 枚あたり 2~3 滴滴下し, 37°C · 30 分間のブロッキング処理を施した ; ④ その後, 希釈した一次抗体をスライド 1 枚あたり 200  $\mu\text{l}$  滴下し, プラスティックパラフィン



フィルムで組織片を被覆して湿潤箱に入れ、4°Cで12時間静置した；⑤ 一次抗体と十分に反応させた後、PBSで3分間・3回洗浄し、その後二次抗体としてビオチン標識抗マウスIgG・ヤギポリクローナル抗体を各スライドに2～3滴滴下、再度PBSで3分間・3回洗浄した；⑥ 次いで、酵素試薬としてペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンを各スライドに2～3滴滴下し、PBSで3分間・3回洗浄後、ジアミノベンジジン水溶液（DAB<sup>+</sup>・Liquid，ダコ・ジャパン，東京）を2～3滴滴下して、1分間発色させた；⑦ 最後に蒸留水で洗浄し、マイヤーのヘマトキシリンで2分間対比染色した。

### 3. 分子生物学的検索

心内膜心筋型 RCM 罹患猫の心内膜および心筋層内におけるウイルスゲノムの有無を確認するため、上述した41例の猫の心臓のうち、2013年から2014年の約2年間に採取した猫14例の心臓を対象に、Taqman<sup>®</sup>プローブを用いたreal-time PCRを実施した。

#### 1) 検出対象ウイルスならびにプライマーおよびプローブデザイン

本検索での検出対象ウイルスは、過去の報告 [101] で対象とされていた猫ヘルペスウイルス (FHV)，猫汎白血球減少症ウイルス (FPLV)，猫コロナウイルス (FCoV) および猫カリシウイルス (FCV) の4種類に、本邦で一般的にみられる猫エイズウイルス (FIV) と猫白血病ウイルス (FeLV) を加えた6種類とし、陽性コントロールにはリファレンス遺伝子の $\beta$ -アクチン (ACTB) を選択した [70]。デザインしたプライマーおよびプローブの情報を表2に取りまとめた。FHV，FPLV，FIV および FeLV のプライマー・プローブは過去の報告においてデザインされ、すでに使用されていたものを採用した [5，25，121，143]。FCoV および FCV のプライマーセットはそれぞれの保存領域 (FCoV：7b タンパクコード領域；FCV：5'末端の非翻訳領域) をターゲット遺伝子とし

表2: 使用したプライマーセットの情報

Target name	Target gene name	Probe sequence (5' FAM -3' TAMURA)	Primer sequences (5'-3')	GenBank accession No.	Reference
FHV	ORF of gB protein	TATATGTGTCCACACCTTCAGGATCTAC TGTCGA	F: AGAGGCTAACGGACCATCGA R: GCCCCGTGGTGGCTCTAAAC	S66371	Vögtlin, A.
FPLV	VP	CGAGTGATGAATTTGCTACAGG	F: TGGAACTAGTGGCACACCAA R: AAATGCTGTAAGCCCAATG	HQ184203	André, F. S.
FCV	5'UTR	ACTCACAGTGTCCGAAAGGACTTTGTGC	F: ATGTCTCAAACCTCTGAGCTTCGT R: CGCCTCCGTGCAAGTGTA	AY560115	-
FCoV	7b protein	CAGCGGATGACCCAGTAATTCCTCGGA	F: TGAGTTATAAGGCAACCCGATGT R: GTGCTTACCATTCTGTACAAGAGTA	JN634064	-
FIV	gag protein	TATGCCTGTGGAGGCCCTTCCT	F: AGAACTGTGTGATATACCAGAGAC R: TTGGGTCAAAGTGCTACATATTG	M25381	Dieter, K.
FeLV	U3 of LTR	CCAGCAGTCTCCAGGCTCCCCA	F: AACAGCAGAAAGTTTCAAGGCC R: TTATAGCAGAAAAGCGCGC	AB847301	Ravi, T.
ACTB	Chromosome E3 β-actin	TCGCTGTCCACCTTCCAGCAGATGT	F: AGCGCAAAGTACTCCCGTGTG R: CGGACTCGTCTGACTCCTGCTT	XM006941899	-

F: フォワードプライマー, R: リバーズプライマー, FHV: 猫ヘルペスウイルス, FHV: 猫ヘルペスウイルス, FPLV: 猫汎白血球減少症ウイルス(猫パルボウイルス)  
FCV: 猫カリシウイルス, FCoV: 猫コロナウイルス, FIV: 猫エイズウイルス, FeLV: 猫エイズウイルス, ACTB: βアクトチン

てアライメント編集ソフトの Bioedit (Ibis Biosciences, Carlsbad, CA, USA) で複数のウイルス株間における共通の塩基配列 (コンセンサス配列) を作製, これを元にプライマーデザインツールの PrimeQuest (Integrated DNA Technologies, Coralville, Iowa, USA)を用いてデザインしたものを使用した [1, 66]。また, ACTB のプライマーセットは猫の Chromosome E3 をターゲットとし, FCV および FCoV のプライマーセットと同様のプロセスで作製した。なお, プライマーの作製は Integrated DNA Technologies Inc. (IDT; Coralville, Iowa, USA) あるいはシグマアルドリチジャパン (東京, 日本) に依頼した。

## 2) DNA および RNA サンプルの抽出

14 例の心室中間部横断組織片パラフィン包埋ブロックからそれぞれ 5  $\mu\text{m}$   $\times$  10 枚の薄切片を作製し, 滅菌マイクロチューブに入れたものを, DNA 抽出用あるいは RNA 抽出用として各検体 2 つずつ作製した。その後, RecoverAll™ Total Nucleic Acid Isolation Kit For FFPE (Life Technologies, Ambion division, Carlsbad, USA) を用いて, 規定の手順に従って DNA と RNA を別々に抽出した (DNA または RNA サンプル) (図 19)。それぞれのサンプルは Qubit 2.0 instrument (Life Technologies, Invitrogen division, Darmstadt, Germany) および専用の試薬 (DNA サンプル用: Qubit dsDNA HS Assay ; RNA サンプル用: Qubit RNA Assay Kit ; Life Technologies, Invitrogen division, Darmstadt, Germany) を用いてそれぞれの核酸濃度を測定した後, real-time PCR で使用する反応溶液中の核酸濃度を統一するために Nuclease-free water (Ambion, Foster City, CA) を用いて 2 ng/ $\mu\text{l}$  になるよう調整し,  $-80^{\circ}\text{C}$  で保管した。

## 3) real-time PCR

本実験では 1 回の real-time PCR 解析で DNA ウイルスおよび RNA ウイルス

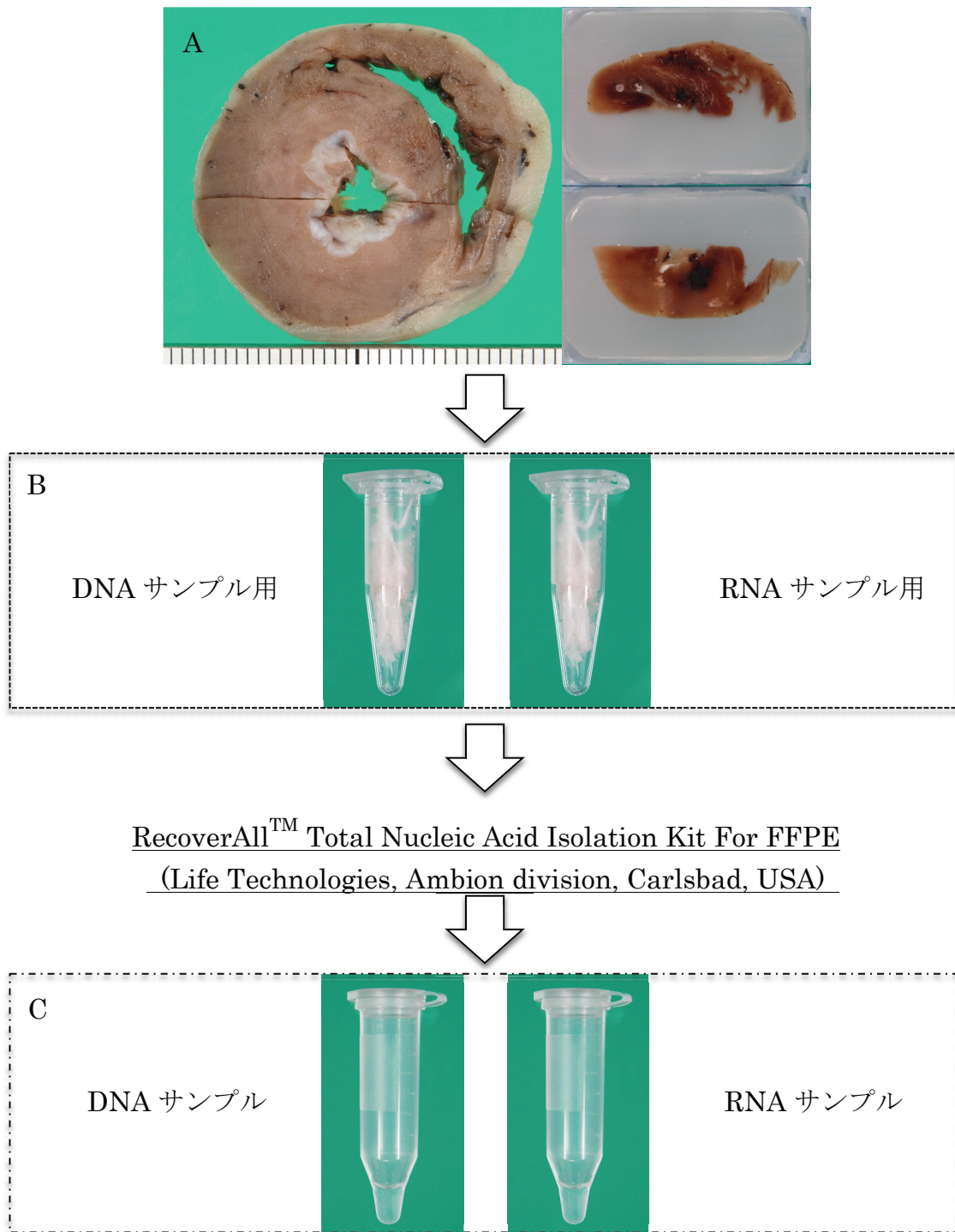


図 19 DNA および RNA サンプルの抽出方法.

心室横断組織片のパラフィン包埋ブロック (A) より作製した薄切片 (B) から RecoverAll™ Total Nucleic Acid Isolation Kit For FFPE (C) を用いて DNA および RNA を別々に抽出する (D) .

のゲノムを一度に検出できるように One-Step Reverse Transverse real-time PCR (OS-RT-qPCR) をデザインし、PCR 機器は LightCycler® Nano (Roche diagnostics, Mannheim, Deutschland), データの解析には LightCycler® Nano Software (Roche diagnostics, Mannheim, Deutschland), 試薬は One-Step PrimeScript™ RT-PCR kit (TAKARA Biotech, 滋賀, 日本) を使用した。OS-RT-qPCR に用いた反応溶液は最終的に 20 µl になるよう調整し、内容は以下の通りとした: マスターミックス 14µl (2X One-Step RT-PCR Buffer III 10 µl, TaKaRa Ex Taq® Hot Start Version 0.4 µl, PrimeScript™ RT Enzyme Mix II 0.4 µl, Nuclease-free water 3.2 µl), DNA あるいは RNA サンプル 5 µl, プライマーミックス 1 µl (プライマーおよびプローブを 50 µM ずつ含有するように調整)。OS-RT-qPCR には 8 連チューブ (LightCycler® 8-Tube Strips, diagnostics, Mannheim, Deutschland) を使用し、左端から順に FHV, FPLV および ACTB の反応溶液 (DNA サンプルを使用), 次いで FCV, FCoV, FIV, FeLV および ACTB の反応溶液 (RNA サンプルを使用) (計 20 µl) を相互汚染しないように細心の注意を払って分注した (図 20)。また、陰性コントロールはサンプルとは別の 8 連チューブに、マスターミックス 14 µl, Nuclease Free Water 5 µl および ACTB のプライマーミックス 1 µl を分注し、サンプルと同時に OS-RT-qPCR を実施した。OS-RT-qPCR の反応条件は Tsuchiaka ら [136] の方法に従って以下の通りとした: 逆転写反応 - 45°C・5 分間, 初期熱変性 95°C・30 秒間; サイクリング (40 サイクル) - 熱変性 95°C・10 秒間, アニール 55°C・20 秒間, 伸張反応 72°C・20 秒間。本実験は相互汚染を避けるために独立した 2 回の実験を行い、2 回ともゲノムの増幅が認められた場合に陽性と判断した。

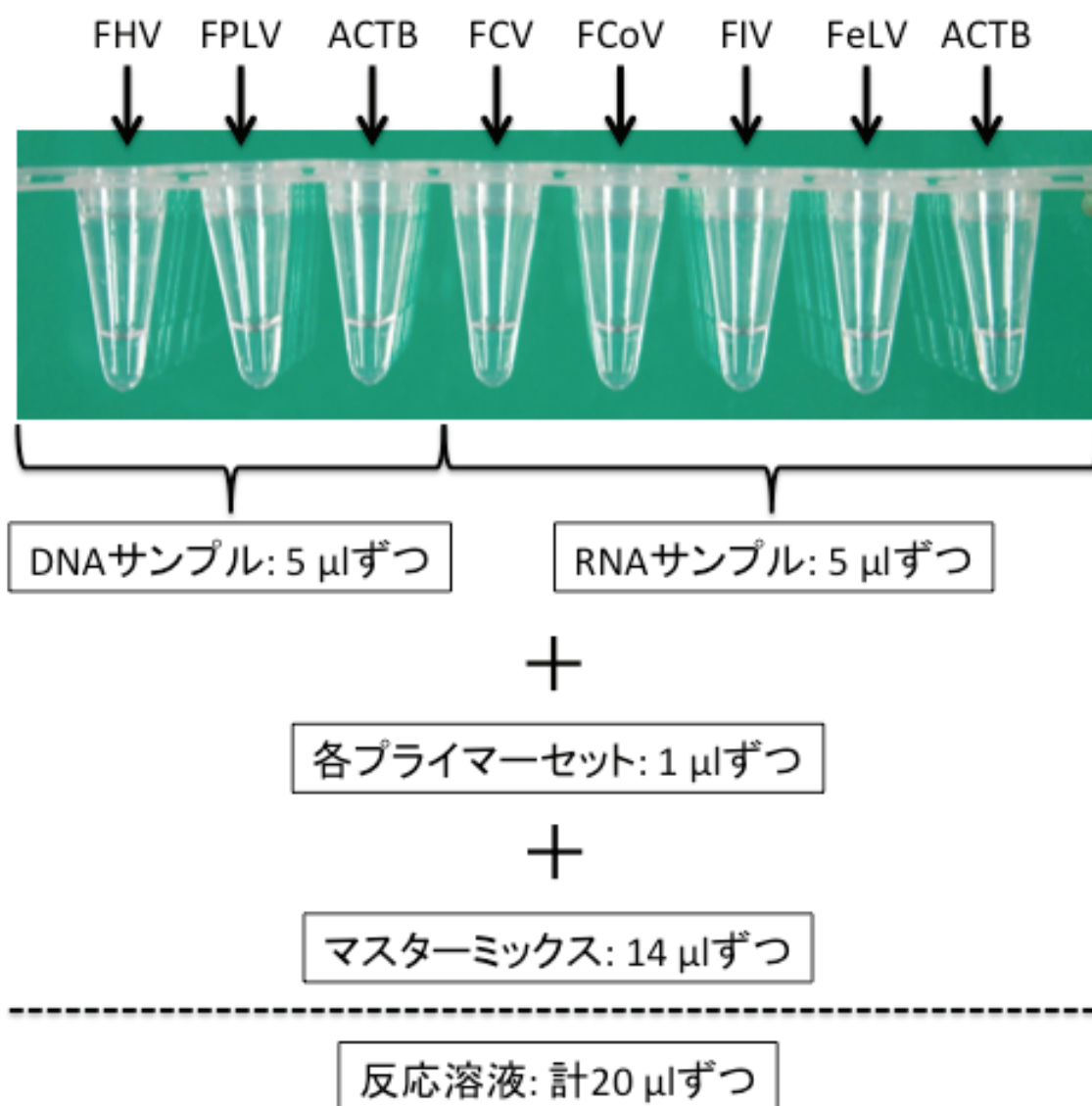


図20: 反応溶液の分注方法



## 結 果

### 1. 肉眼的検索

心臓の肉眼的検索結果の概要を表 3 に示した。HW は  $22.5 \pm 5.5$  g (平均±標準偏差; 範囲 10.4-34.7 g), HW/BW は  $5.9 \pm 1.2$  g/kg (範囲 2.6-8.7 g/kg) で、いずれも正常猫 (HW 17.4 g, 範囲 11-23 g; HW/BW  $4.5 \pm 0.2$  g/kg) と比べて高い値を示していた [13, 63, 86]。心臓の外観については、41 例全例で左房および左心耳の中等度～重度の拡大がみられ、そのうち 12 例では右房の中等度～重度の拡大もみられた (Nos. 8, 14, 17, 20, 21, 27, 28, 34, 36 - 40) (図 21)。心臓の縦断面では、形態、分布様式や分布範囲に違いはみられるものの、いずれの例においても心内膜に線維性病変が形成されていた。また、左室には構造的リモデリング (左室自由壁および/あるいは心室中隔の軽度～中等度の肥厚, 左室自由壁および/あるいは心室中隔の局所的な菲薄化, 左室腔のゆがみや変形) も頻繁に観察された。加えて、41 例中 12 例 (29.3%; Nos. 2, 5, 6, 14, 20, 21, 24, 25, 27, 34, 38, 41) には左房, 左心耳あるいは左室内に小型～大型の壁在性血栓が形成されていた (図 22)。

左室心内膜病変の分布様式は 2 つに大別された (両者の中間的な特徴を有し、分布様式の境界ラインが不明瞭な例もしばしばみられた)。もっとも多くみられたのは、1 本ないしは複数本の梁柱状の線維性構造物あるいは幅広・大型・不整形で帯状ないしは斑状の線維性構造物が、左室自由壁と心室中隔を連結しているパターンのものであった (斑状肥厚パターン) (図 23)。このタイプの心内膜病変は 41 例中 34 例にみられた (Nos. 2 - 4, 6 - 11, 13 - 16, 18 - 25, 28 - 37, 39 - 41)。斑状肥厚パターンの心内膜病変は通常、左室の内腔を横断し、前乳頭筋 (APM) および/あるいは後乳頭筋 (PPM) と心室中隔とを橋渡ししており、

表 3. 心内膜心筋型RCM症例41例の病理学的所見の概要

症例	品種	年齢 (歳)	体重 (kg)	心重量 (g)	心重量/体重比 (g/kg)	肉眼的パターン	左室内連結パターン	組織学的タイプ
1	雑種	5	3.5	19.4	5.5	び漫性肥厚		2
2	雑種	9	4.3	26.7	6.2	斑状肥厚	PPMおよびAPMとVS	3
3	雑種	2	4.7	12.34	2.6	斑状肥厚	PPMおよびAPMとVS	1
4	雑種	19	2.1	10.4	5	斑状肥厚	PPMおよびAPMとVS	3
5	雑種	10	3.6	21.39	5.9	び漫性肥厚		3
6	雑種	17	4.8	28.3	5.9	斑状肥厚	PPMおよびAPMとVS	3
7	雑種	4	3.4	26.7	7.9	斑状肥厚	PPMおよびAPMとVS	2
8	雑種	4	3.4	24.3	7.1	斑状肥厚	APMとVS	3
9	雑種	6	5.3	31.1	5.9	斑状肥厚	PPMおよびAPMとVS	2
10	チンチラ	15	2.9	16.3	5.6	斑状肥厚	PPMおよびAPMとVS	3
11	雑種	12	2.8	12.8	4.6	斑状肥厚	PPMとVS	3
12	雑種	3	2.5	17.4	7	び漫性肥厚		1
13	雑種	4	4.4	22.2	5	斑状肥厚	PPMおよびAPMとVS	2
14	雑種	3	2.5	17.5	7	斑状肥厚	PPMおよびAPMとVS	2
15	雑種	8	6.2	34.7	5.6	斑状肥厚	PPMおよびAPMとVS	2
16	雑種	8	4.6	21.6	4.7	斑状肥厚	PPMおよびAPMとVS	2
17	雑種	5	4.7	30.1	6.4	び漫性肥厚		2
18	雑種	4	4.3	23.3	5.4	斑状肥厚	PPMおよびAPMとVS	3
19	雑種	9	6.4	31.8	5	斑状肥厚	APMとVS	2
20	雑種	7	4.1	24.3	5.9	斑状肥厚	PPMとVS	3
21	雑種	5	3.1	16.6	5.4	斑状肥厚	PPMおよびAPMとVS	2
22	雑種	0.3	2.8	20.6	7.4	斑状肥厚	PPMおよびAPMとVS	1
23	雑種	9	6.7	30.5	4.6	斑状肥厚	PPMおよびAPMとVS	3
24	雑種	18	2.7	21.1	7.8	斑状肥厚	PPMとVS	3
25	雑種	3	4	29.3	7.3	斑状肥厚	PPMおよびAPMとVS	2
26	雑種	5	4	22.3	5.6	び漫性肥厚		2
27	雑種	12	5.6	26.1	4.7	び漫性肥厚		3
28	雑種	3	3.9	16.2	4.2	斑状肥厚	PPMおよびAPMとVS	3
29	雑種	11	3.5	19.7	5.6	斑状肥厚	PPMおよびAPMとVS	2
30	雑種	5	4.9	23.3	4.8	斑状肥厚	PPMおよびAPMとVS	2
31	雑種	3	3.8	22.9	6	斑状肥厚	PPMおよびAPMとVS	3
32	雑種	3	5.8	28.3	4.9	斑状肥厚	PPMおよびAPMとVS	2
33	雑種	5	5.1	27.79	5.5	斑状肥厚	PPMおよびAPMとVS	3
34	雑種	15	3.7	24.66	6.7	斑状肥厚	PPMおよびAPMとVS	3
35	雑種	2	2.5	16.7	6.7	斑状肥厚	PPMおよびAPMとVS	2
36	雑種	6	2.5	18.45	7.4	斑状肥厚	PPMおよびAPMとVS	3
37	雑種	3	2.6	22.72	8.7	斑状肥厚	PPMおよびAPMとVS	2
38	雑種	16	2.7	20.3	7.5	び漫性肥厚		3
39	雑種	6	4.3	20.69	4.8	斑状肥厚	PPMおよびAPMとVS	2
40	雑種	10	2.7	19.6	7.3	斑状肥厚	PPMおよびAPMとVS	2
41	雑種	8	4	22.06	5.5	斑状肥厚	PPMおよびAPMとVS	3

APM: 前乳頭筋, PPM: 後乳頭筋, VS: 心室中隔

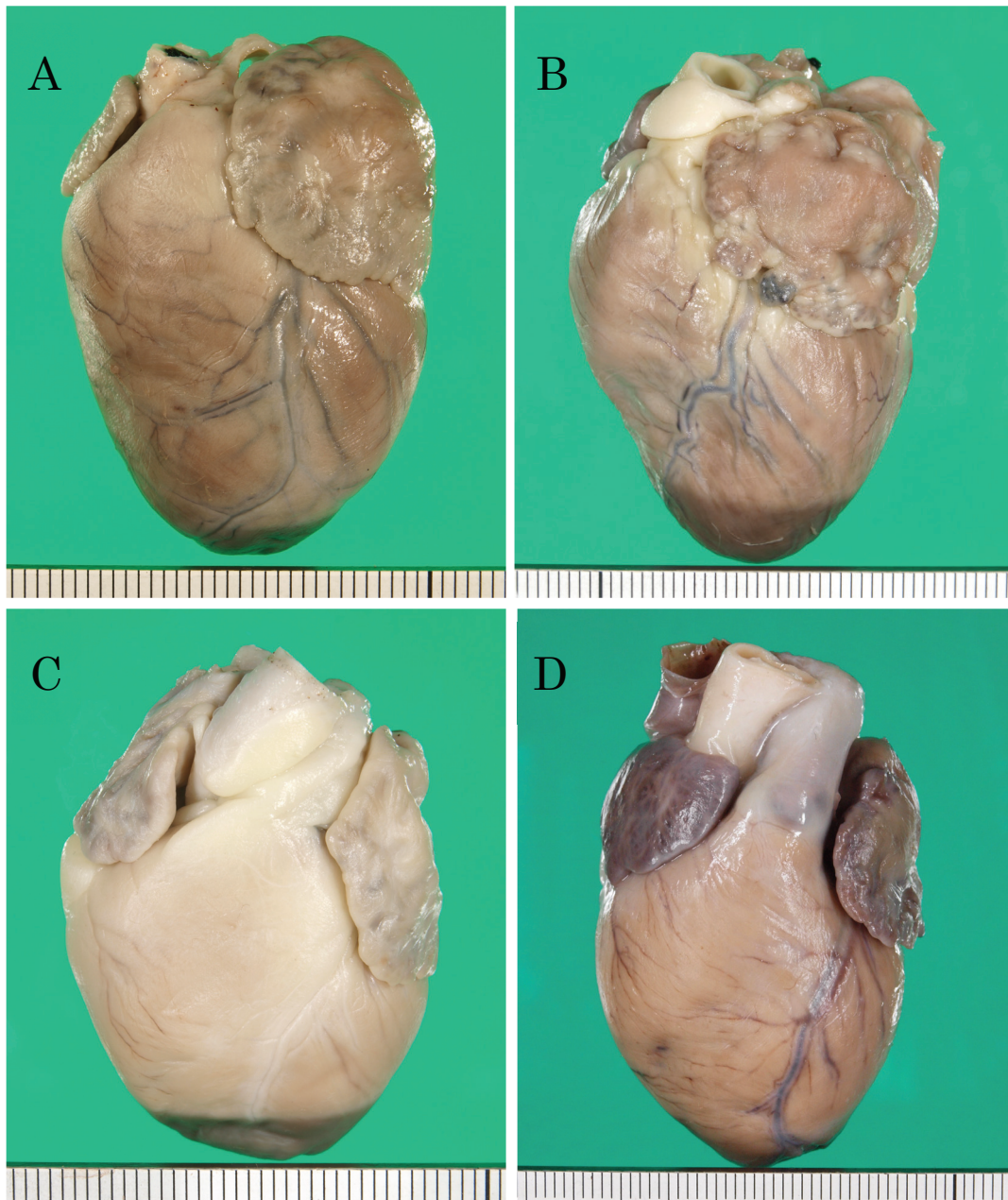


図 21 心内膜心筋型 RCM 罹患心臓の外観。

(A) No. 28 (雑種, 3 歳, 避妊済み雌) および (B) No. 41 (雑種, 8 歳, 去勢済み雄). 左房の顕著な拡大が認められる.

(C) No. 34 (雑種, 15 歳, 去勢済み雄) および (D) No. 37 (雑種, 3 歳, 雌). 左房の重度拡大に加えて右房の中等度拡大も観察される. 目盛り = 1 mm.

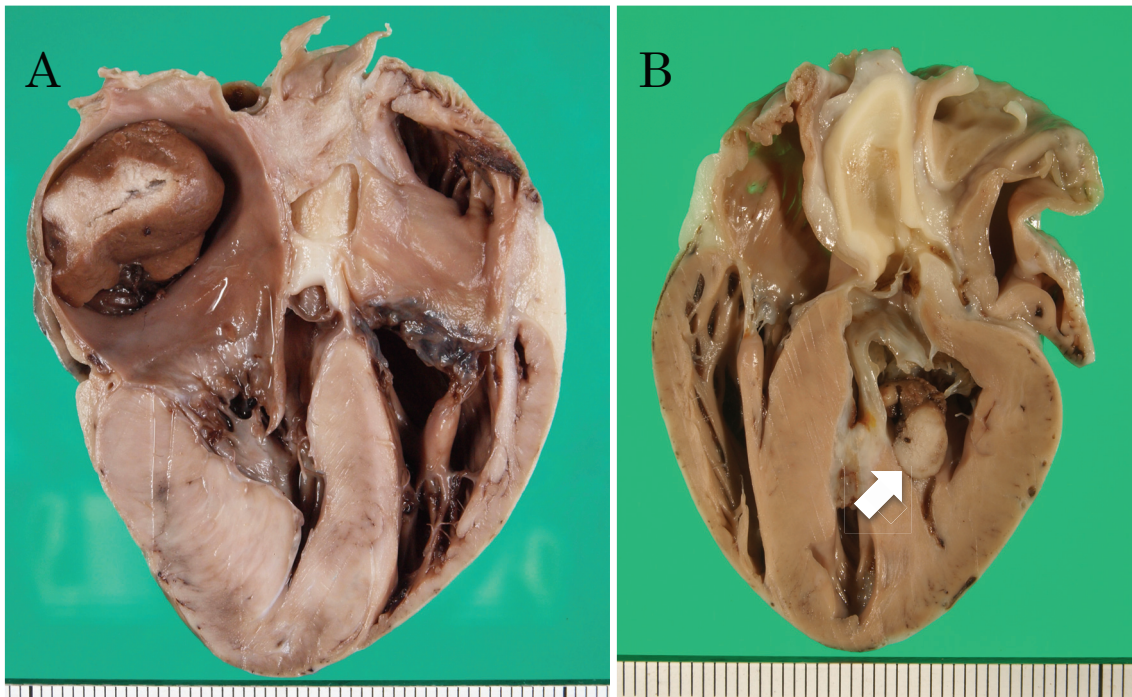


図 22 心内膜心筋型 RCM 罹患心臓の縦断面。

(A) No. 5 (雑種, 10 歳, 避妊済み雌). 左房腔内に大型の球状血栓が形成されている. 目盛り = 1 mm.

(B) No. 24 (雑種, 18 歳, 去勢済み雄). 左室乳頭筋に血栓 (矢印) が付着している. 目盛り = 1 mm.





図 23 心内膜心筋型 RCM 罹患心臓（斑状肥厚パターン）の縦断面。  
No. 25（雑種，3 歳，去勢済み雄）．左室腔内に前乳頭筋および後乳頭筋と  
心室中隔の中間部とを連結する幅の広い帯状の線維性構造物（心内膜病変）  
が形成されており，内腔が上下に分断されている．左室自由壁には軽度～中  
等度の肥厚，心尖部には限局性の心筋の菲薄化および左室内腔の変形が観察  
される．目盛り = 1 mm.

様々なレベル（上部，中間部あるいは下部）で左室腔の狭小化や部分的な閉塞および／あるいは変形をもたらしていた（図 24， 25）。このような左室内連結パターンは 3 つに大別され， APM および PPM と心室中隔との連結が 29 例（Nos. 2 - 4, 6, 7, 9, 10, 13 - 16, 18, 21 - 23, 25, 28 - 37, 39 - 41）， PPM と心室中隔との連結が 3 例（Nos. 11, 20, 24）， APM と心室中隔との連結が 2 例（Nos. 8, 19）に見いだされた。また，斑状肥厚パターンの一形態として，網目状ないしは蜘蛛の巣状の線維性構造物が左室の自由壁と心室中隔とを連結しているものが 7 例（Nos. 11, 14, 19, 29, 31, 35, 40）（図 26）に認められた。

一方，比較的少数例ではあったが，心内膜の線維性肥厚病変が左室のほぼ全域を巻き込んでいるパターンもみられた（び慢性肥厚パターン）（図 27）。このタイプの心内膜病変は 41 例中 7 例にみられた（Nos. 1, 5, 12, 17, 26, 27, 38）。び慢性肥厚パターンの心内膜病変は左室の流入路および流出路のみならず，僧帽弁装置（僧帽弁，腱索および乳頭筋）や，しばしば左房の心内膜をも巻き込んでおり，左室容積の軽度～重度の減少，僧帽弁装置の変形・ゆがみや隣接組織への接着・癒合を惹起していた（図 28A）。いずれのパターンにおいても，肥厚した心内膜は著しく硬度を増し，灰白色～黄褐色で透明感を失っていた。なお，表面の一部あるいはところどころに小型で黄褐色～茶褐色の血栓が付着している例もみられた（図 28B）。

## 2. 組織学的検索

心内膜病変の基本的な組織構築は，肉眼的なパターン（斑状肥厚パターンもしくはび慢性肥厚パターン）に如何にかかわらず同一であった。すなわち，41 例の心臓に形成されていた心内膜病変はすべて，様々な形態を示す間葉系細胞の増殖ならびに膠原線維と粘液状基質とを種々の程度にまじえた線維性結合組織（しばしば硝子様を呈する）の増生からなり，その表面は単層の内皮細胞に



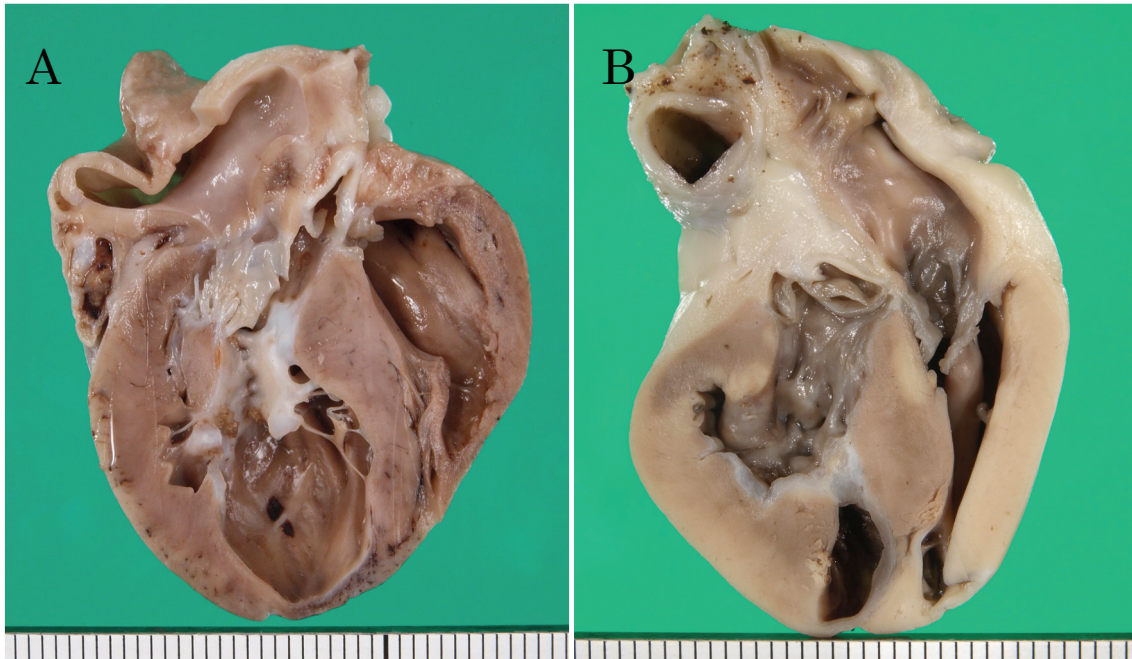


図 24 心内膜心筋型 RCM 罹患心臓（斑状肥厚パターン）の縦断面。

(A) No. 8 (雑種, 4 歳, 避妊済み雌). 白色で幅の広い斑状の線維性構造物が前乳頭筋と心室中隔上部とを連結している. また, 左室の内腔は拡張し, 心尖部領域の左室壁は菲薄化している. 目盛り = 1 mm.

(B) No. 34 (雑種, 15 歳, 去勢済み雄). 灰白色で幅の広い梁柱状の線維性構造物が前および後乳頭筋と心室中隔の中間部とを連結し, 左室の内腔が上下に分断されている. また, 心尖部領域の左室壁と心室中隔は部分的に菲薄化している. 目盛り = 1 mm.

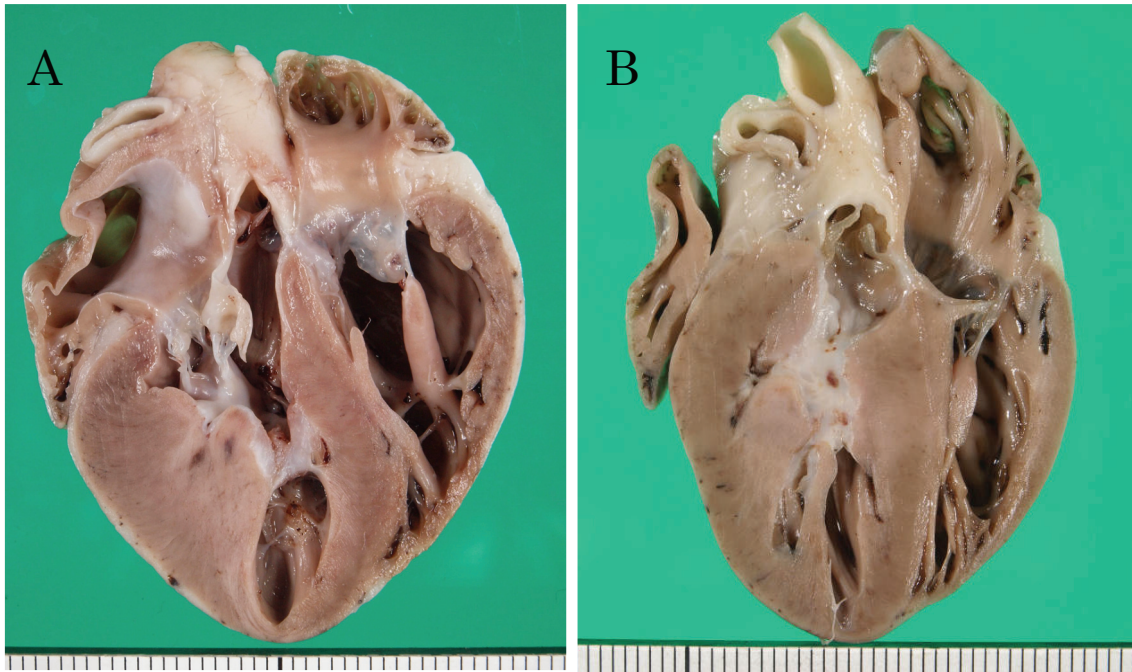


図 25 心内膜心筋型 RCM 罹患心臓（斑状肥厚パターン）の縦断面.

(A) No. 15 (雑種, 8 歳, 雄). 灰白色で梁柱状の線維性構造物が前および後乳頭筋と心室中隔中間部を連結し, 左室の内腔が上下に分断されている. 目盛り = 1 mm.

(B) No. 16 (雑種, 8 歳, 避妊済み雌). 灰白色の線維性構造物によって左室壁の上部と心室中隔の上部とが広範に連結され, 左室流出路が重度に狭窄している. 目盛り = 1 mm.

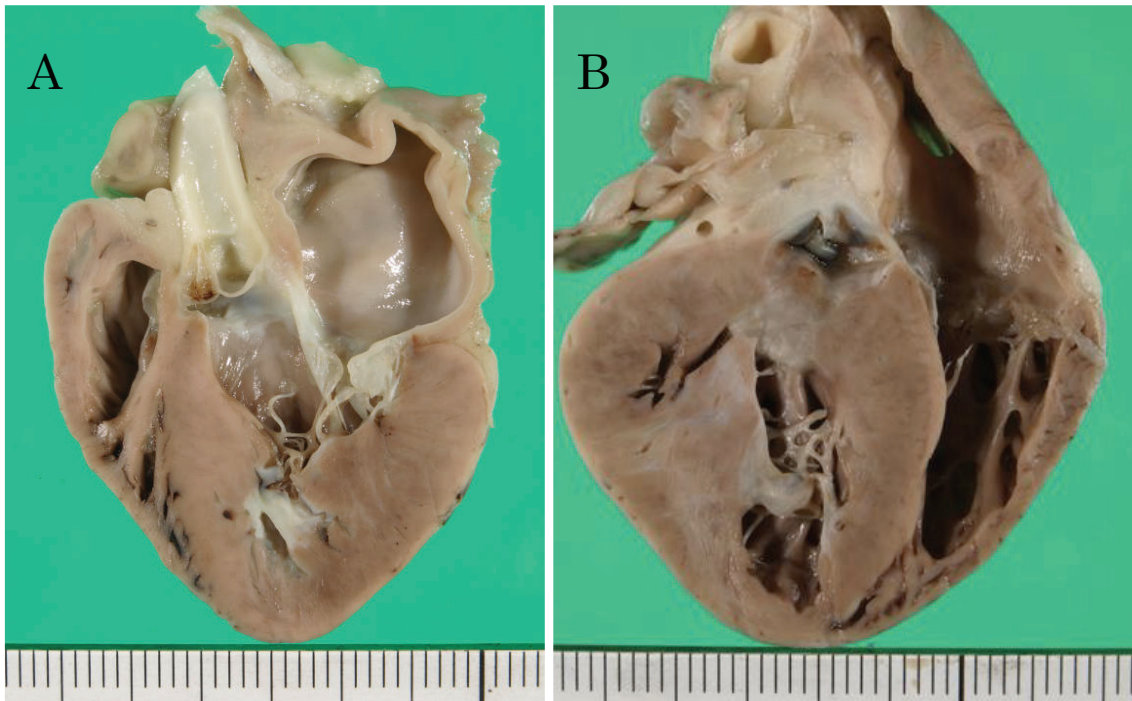


図 26 心内膜心筋型 RCM 罹患心臓（斑状肥厚パターン）の縦断面。

(A) No. 35 (雑種, 2 歳, 雌). 灰白色で索状～梁柱状の線維性構造物が後乳頭筋と心室中隔の中間部～下部を連結している. 目盛り = 1 mm.

(B) No. 40 (雑種, 10 歳, 去勢済み雄). 梁柱状および網の目状（蜘蛛の巣状）の線維性構造物が前乳頭筋と心室中隔とを広範に連結している. 目盛り = 1 mm.



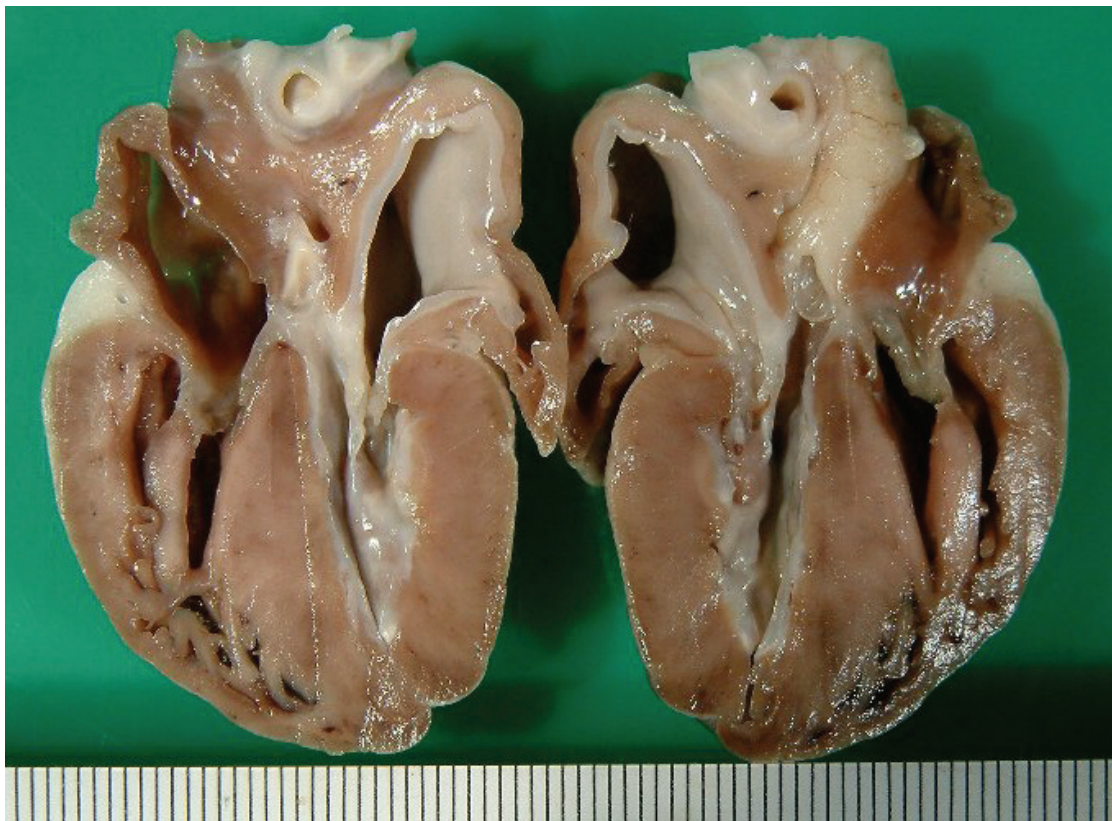


図 27 心内膜心筋型 RCM 罹患心臓（び慢性肥厚パターン）の縦断面.  
No. 12（雑種，3 歳，避妊済み雌）. 左室の心内膜がほぼ全域にわたって線  
維性に肥厚している. また，重度に拡張した左房の心内膜も顕著に肥厚して  
いる. 目盛り = 1 mm.

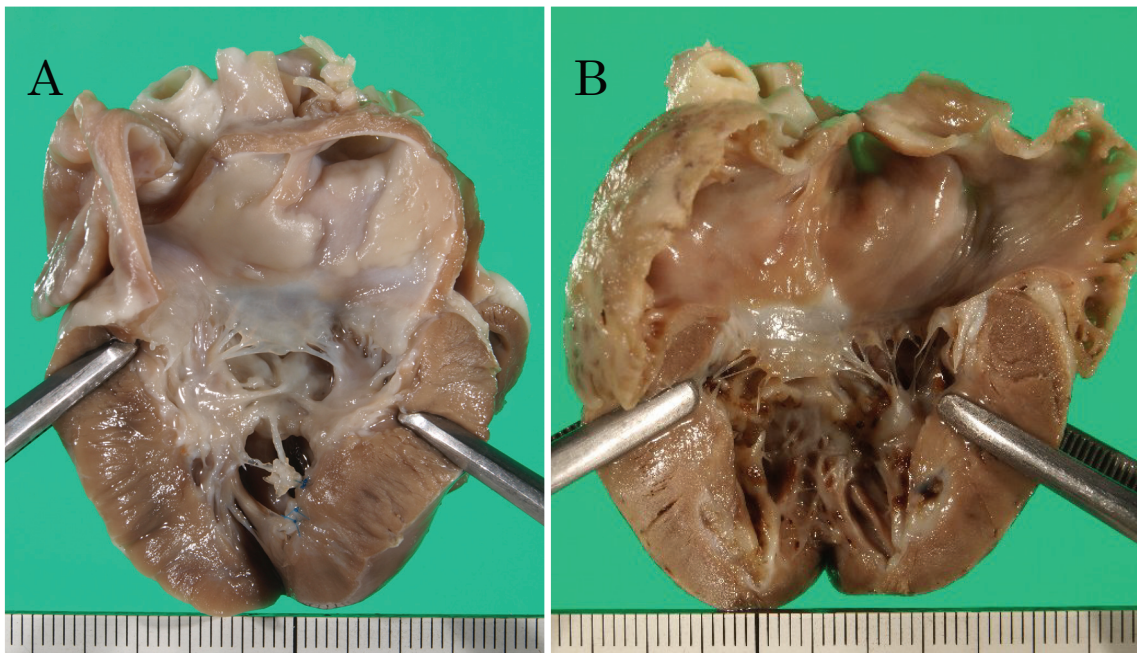


図 28 心内膜心筋型 RCM 罹患心臓（び慢性肥厚パターン）の縦断面。

(A) No. 17 (雑種, 5 歳, 雄). 灰白色で凹凸不整な線維性病変が左室の心内膜, 左房の心内膜および僧帽弁装置 (腱索, 乳頭筋および僧帽弁) を広範に巻き込んでいる. 目盛り = 1 mm.

(B) No. 27 (雑種, 12 歳, 雄). 灰白色で凹凸不整な線維性病変が左室心内膜のほぼ全域を覆っており, その表面には微小な血栓が多数付着している. 目盛り = 1 mm.

よって被覆されていた (図 29)。これらの心内膜病変はその構成要素となる膠原線維の成熟度と内在する間葉系細胞の形態および数から 3 つのタイプに分類された (図 30)。

1 つ目のタイプの心内膜病変では、アルシアン青染色の豊富な粘液状基質 (酸性粘液多糖類) をまじえた幼若かつ繊細な膠原線維とごく少量の弾性線維を足場に、多数の紡錘形、多稜形～星芒状あるいは不整形の間葉系細胞が内層から深層にかけて全層性に増殖していた (図 31)。タイプ 1 の心内膜病変は 41 例中 3 例 (Nos. 3, 12, 22) に認められた。上述した間葉系細胞は小型～中型で明瞭な核小体を 1～2 個と少量～中等量の繊細ないしは微細顆粒状のクロマチンを入れた中型～大型で類円形～卵円形もしくは楕円形 (こちらが主体をなす) 核、ならびに細胞境界が明瞭～不明瞭な胞体を有していた。これらの細胞の多くは心室壁に沿って重層性に比較的規則正しく配列していたが、波状、渦巻き状あるいは不規則な配列を示すものもしばしば見いだされた。

2 つ目のタイプ (タイプ 2) では、心内膜病変を構成する膠原線維の成熟度ならびに内在する間葉系細胞の形態と細胞数にばらつきがみられ、個体間あるいは同一個体内でもバリエーションに富んでいた。しかしながら、いずれの例も基本的にかなり特徴的な 2 層構造を有していた (図 32A)。すなわち、浅層部 (心内膜側) では豊富な酸性粘液多糖類をまじえた幼若かつ繊細な膠原線維と少量の弾性線維を足場に紡錘形～星芒状の間葉系細胞が旺盛に増殖しており、タイプ 1 とおおむね同様の組織像を呈していた (図 32B)。なお、浅層部で増殖している細胞の一部は類円形ないし卵円形の形態を取り、トルイジン青染色で異染性を示す軟骨基質に取り囲まれて (軟骨小窩内に埋没して) いた (図 33)。一方、深層部 (心筋側) は密実に配列した膠原線維が主体をなしており、その間隙に少量かつ繊細な弾性線維が入り込んでいた (図 34)。また、間葉系細胞



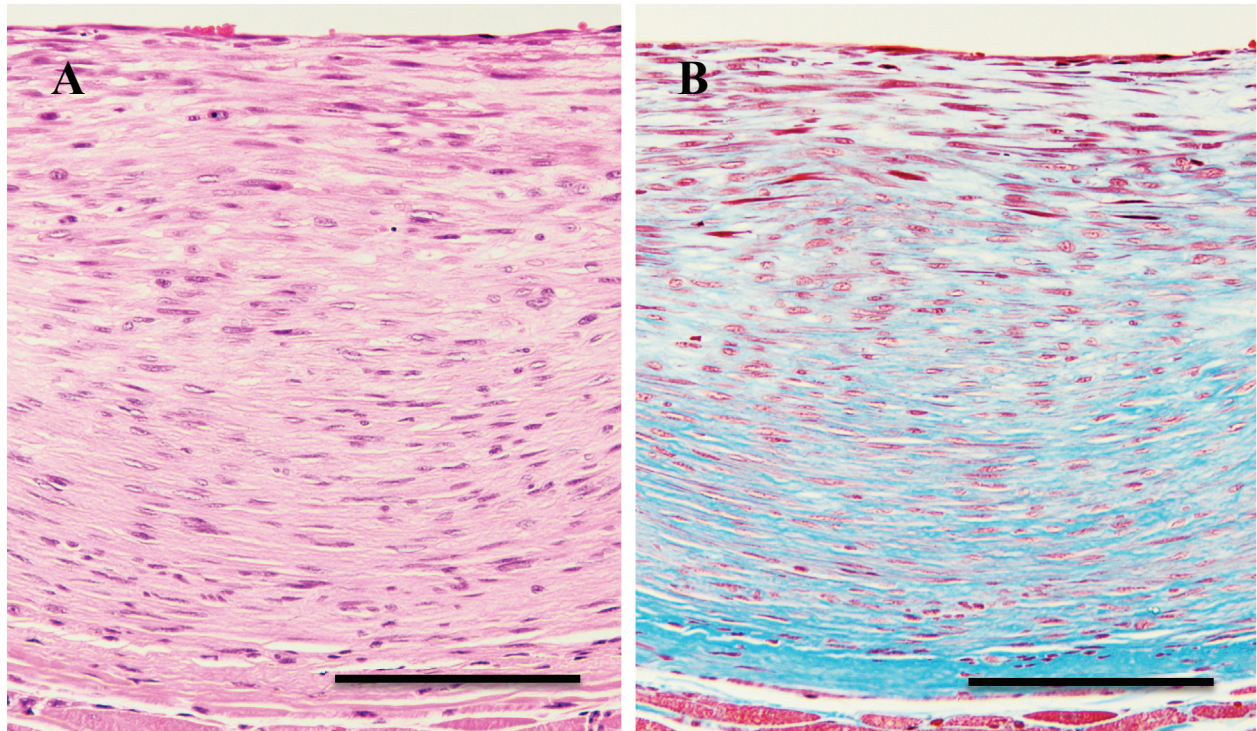


図 29 左室心内膜の線維性肥厚病変の組織像 (No. 1 : 雑種, 5 歳, 去勢済み雄) .

(A) 心内膜病変は様々な形態を示す間葉系細胞の増殖と線維性結合組織の増生により形成され, その表面を単層の内皮細胞が被覆している. HE 染色. Bar = 100  $\mu$ m.

(B) 心内膜病変を構成する線維性結合組織は青色に染まる膠原線維が主体をなしている. マッソン・トリクローム染色. Bar = 100  $\mu$ m.

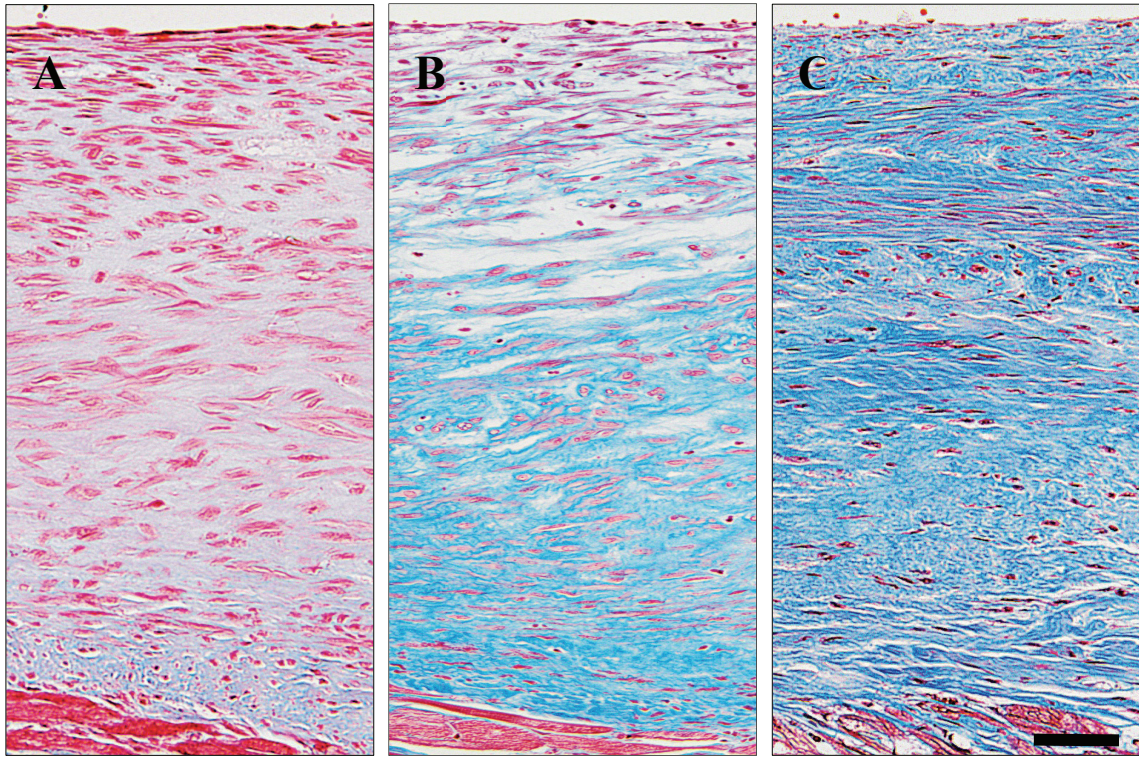


図 30 心内膜病変の組織学的タイプ分類。

(A) No. 12 (雑種, 3 歳, 避妊済み雌). タイプ 1: 豊富な粘液状基質をまじえた幼若かつ繊細な膠原線維を足場に, 多数の紡錘形, 多稜状~星芒状あるいは不整形の間葉系細胞が全層性の増殖している.

(B) No. 26 (雑種, 5 歳, 避妊済み雌). タイプ 2: 浅層部 (心内膜側) では豊富な粘液状基質をまじえた幼若かつ繊細な膠原線維を足場に, 多数の紡錘形~星芒状細胞が増殖し, 深層部 (心筋側) は密実に配列した膠原線維が主体をなしている.

(C) No. 27 (雑種, 12 歳, 雄). タイプ 3: ほぼ全域が密実な膠原線維束からなり, 少数の細長い形の間葉系細胞が膠原線維束の長軸に沿って配列している. Bar = 100  $\mu$ m.



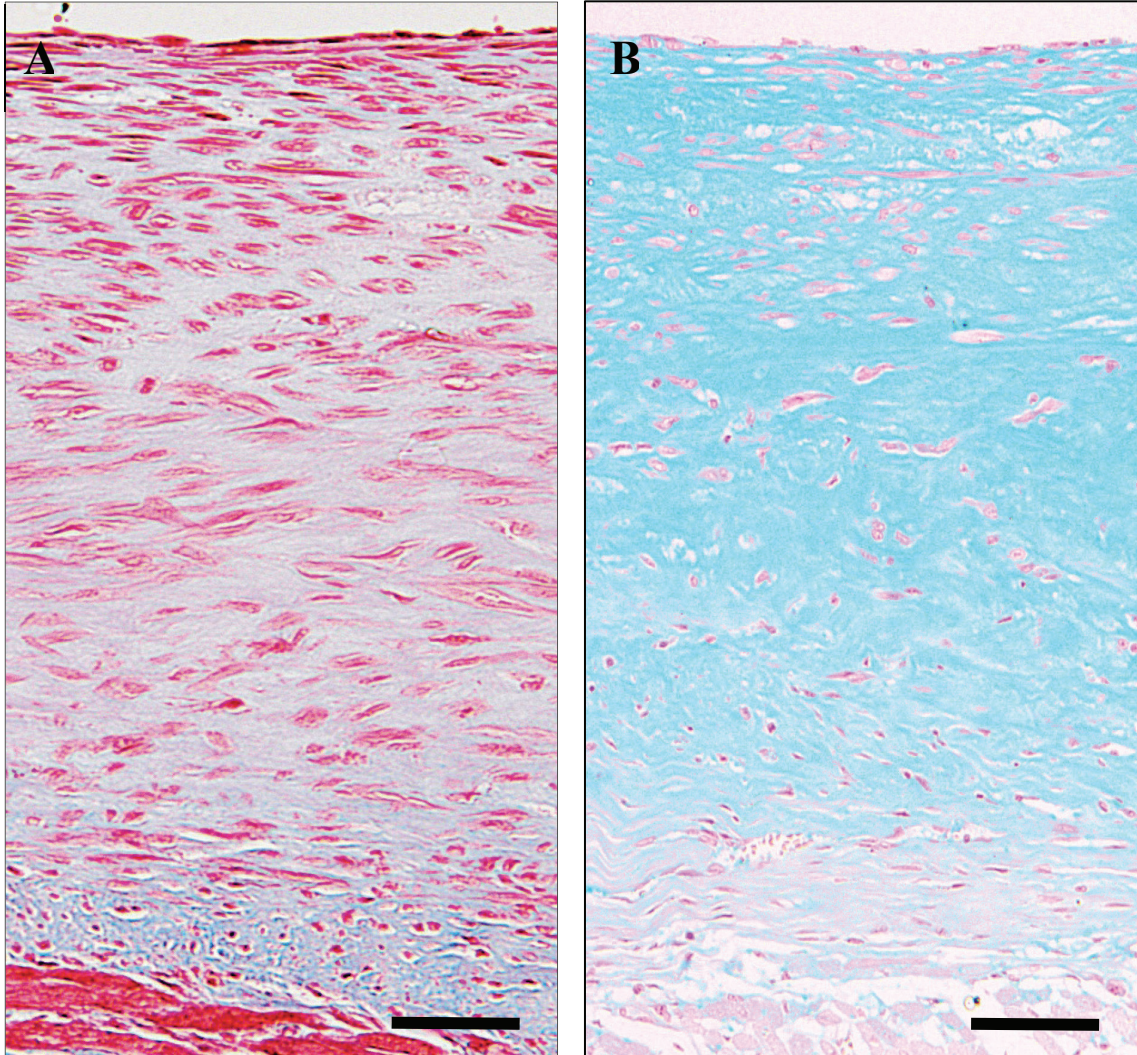


図 31 心内膜病変・タイプ 1 の組織像 (No. 12 : 雑種, 3 歳, 避妊済み雌) .

(A) 心内膜病変は紡錘形～星芒状細胞の増殖と幼若な線維性結合組織の増生からなる. マッソン・トリクローム染色. Bar = 100 µm.

(B) 繊細な線維性結合組織はアルシアン青 (pH 2.5) 染色の酸性粘液多糖類を豊富に携えている. アルシアン青染色. Bar = 100 µm.



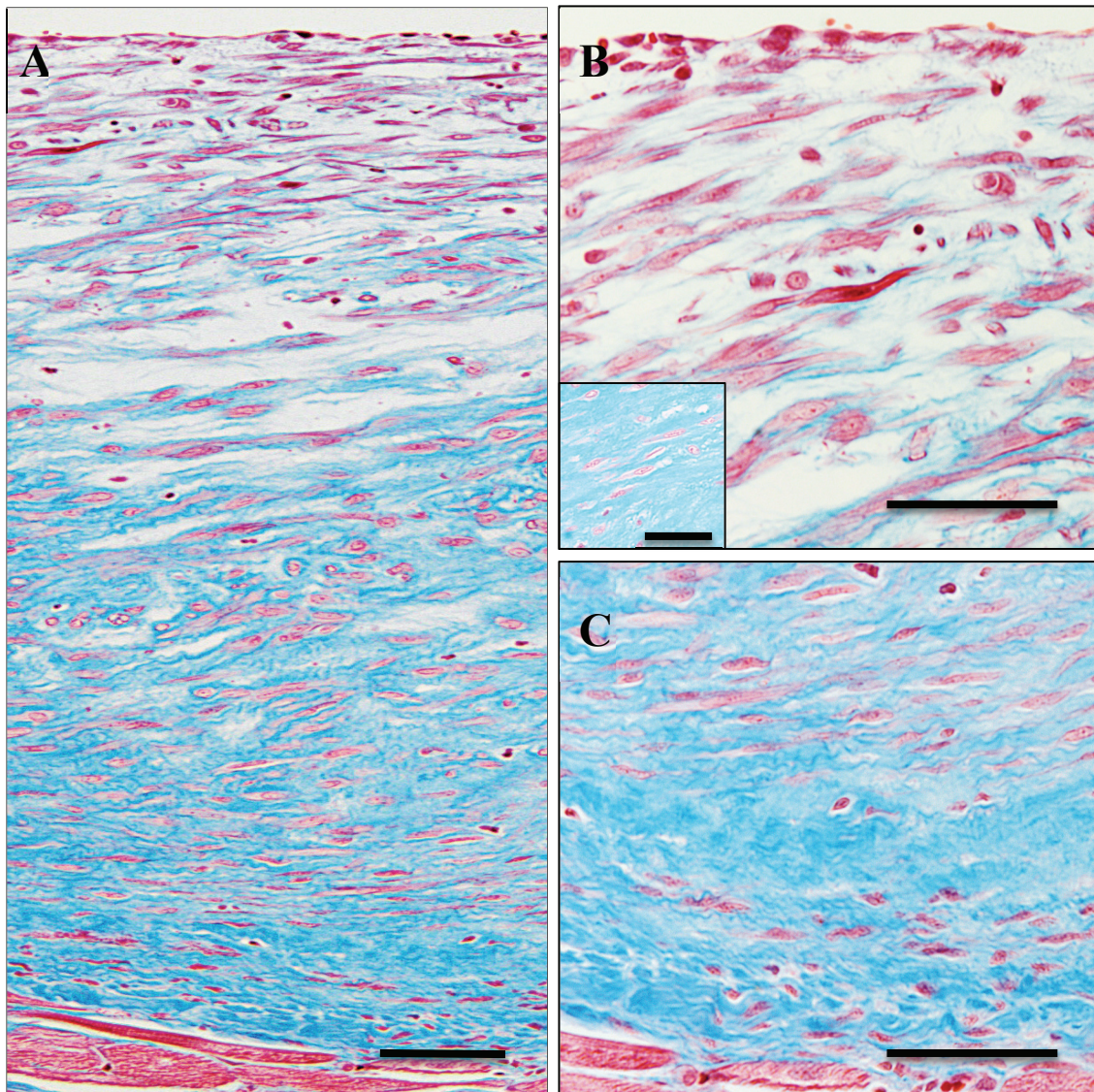


図 32 心内膜病変・タイプ 2 の組織像 (No. 26 : 雑種, 5 歳, 避妊済み雌) .

(A) 心内膜病変は境界不明瞭な 2 層構造を呈している. マッソン・トリクローム染色. Bar = 100  $\mu\text{m}$ .

(B) 浅層部 (心内膜側) はタイプ 1 と同様に繊細な線維性結合組織とアルシアン青染色陽性基質 (小粋) を足場に活発に増殖する紡錘形～星芒状細胞からなる. マッソン・トリクローム染色. Bar = 50  $\mu\text{m}$ .

(C) 深層部 (心筋層側) は密に配列した膠原線維束からなり, その間隙に細長い紡錘形細胞が埋まり込んでいる. マッソン・トリクローム染色. Bar = 50  $\mu\text{m}$ .

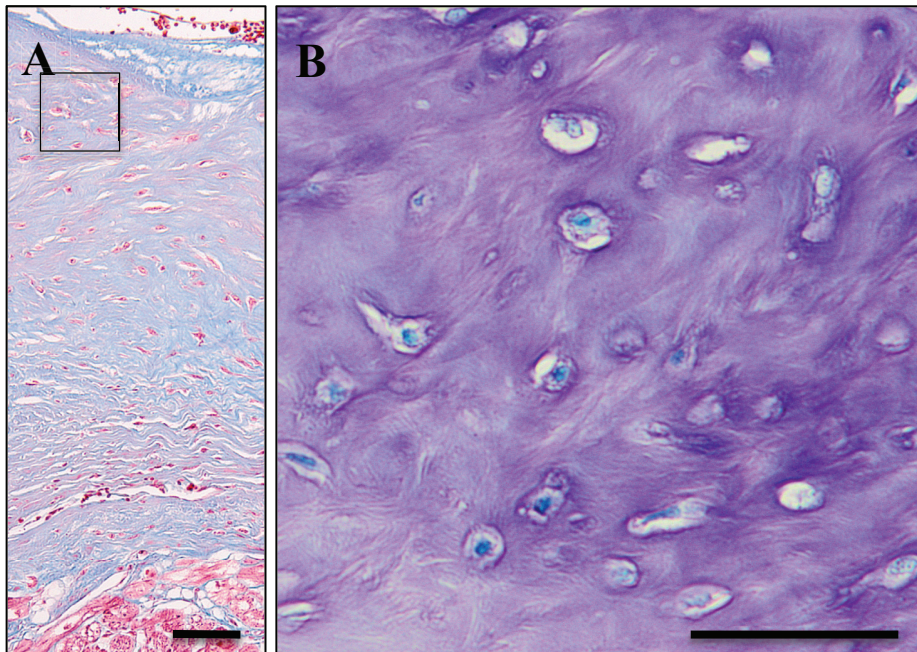


図 33 心内膜病変・タイプ 2 の組織像 (No. 19 : 雑種, 9 歳, 雄) .

(A) マッソン・トリクローム染色. Bar = 100  $\mu\text{m}$ .

(B) 心内膜病変の表層部に存在する細胞の一部 (図 A の黒枠部) はトルイジン青染色で異染性を示す軟骨基質 (軟骨小窩) 内に埋没している. トルイジン青染色 (pH. 2.5) . Bar = 100  $\mu\text{m}$ .



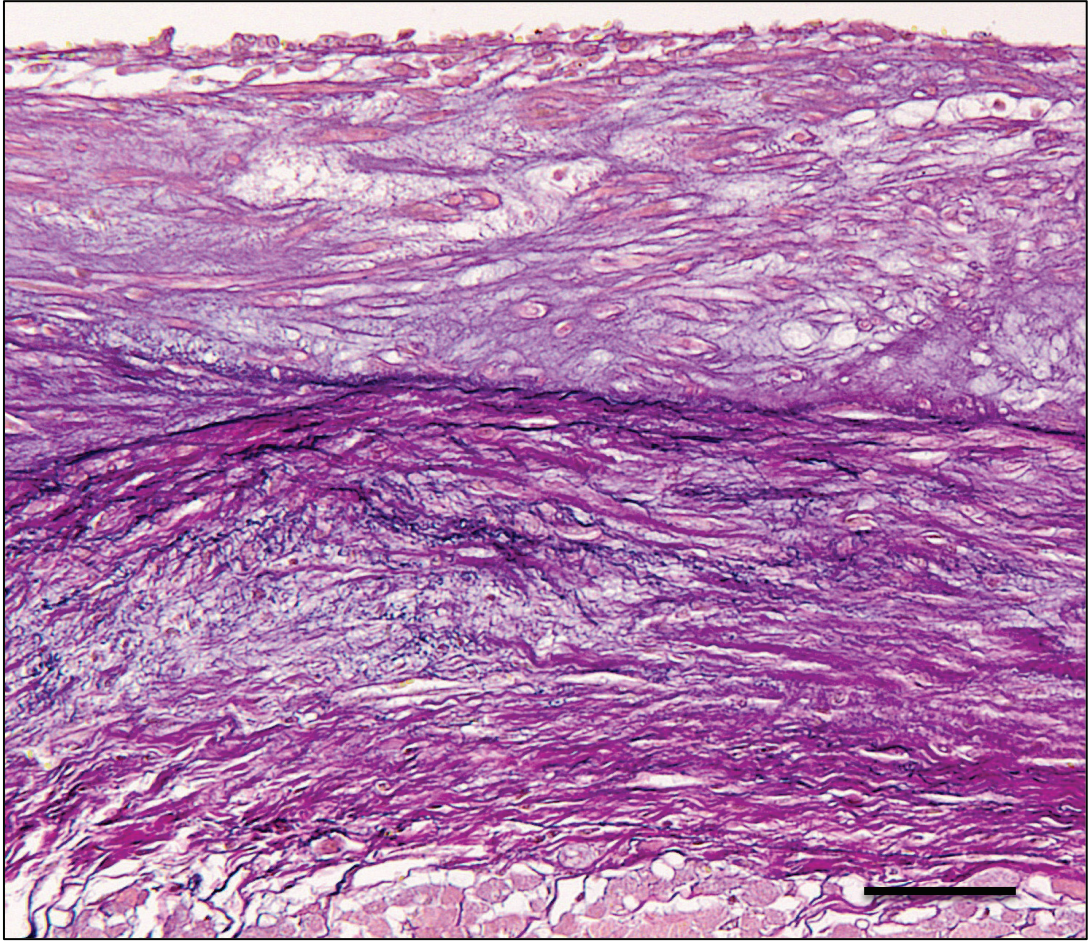


図 34 心内膜病変・タイプ 2 の組織像 (No. 1 : 雑種, 5 歳, 去勢済み雄). 深層部では密実な膠原線維にまじって様々な太さの弾性線維が観察される. エラスチカ・ワンギーソン染色. Bar = 100  $\mu$ m.



は膠原線維の長軸方向に沿って比較的規則正しく配列していたが、その数は浅層部と比べて少なかった(図 32C)。タイプ 2 の心内膜病変は 41 例中 19 例(Nos. 1, 7, 9, 13 - 17, 19, 21, 25, 26, 29, 30, 32, 35, 37, 39, 40) に認められた。

3 つ目のタイプ (タイプ 3) では、肥厚した心内膜のほぼ全域が少量～中等量の弾性線維をまじえた密実な膠原線維束から構成されており、しばしば明瞭な軟骨化生 (時に石灰が沈着している) を伴っていた (図 34)。このタイプの心内膜病変でも、タイプ 2 の深層部と同様に、細長い形の間葉系細胞が主に膠原線維束の長軸方向に沿うように配列していたが、その数はタイプ 2 よりもさらに減少していた。タイプ 3 の心内膜病変は 19 例 (Nos. 2, 4 - 6, 8, 10, 11, 18, 20, 23, 24, 27, 28, 31, 33, 34, 36, 38, 41) で観察された。

それぞれのタイプの心内膜病変を有していた猫の死亡時平均年齢は、タイプ 1 :  $1.8 \pm 1.4$  歳 (範囲 0.3 - 3.0 歳), タイプ 2 :  $5.5 \pm 2.6$  歳 (範囲 2 - 11 歳), タイプ 3 :  $10.2 \pm 5.2$  歳 (範囲: 3 - 19 歳) であった。なお, StutPlus® (AnalystSoft Inc., WALNUT, CA, US) を用いた統計処理 (one-way analysis of variance) では、各タイプの平均死亡時年齢の間に有意差が認められた ( $P < 0.001$ )。

次に、肉眼的パターン別 (び慢性肥厚パターンと斑状肥厚パターン) にそれぞれの心内膜および心内膜下心筋層を精査すると、び慢性肥厚パターン (41 例中 7 例) では、肥厚した心内膜と心内膜下心筋層はほとんどの例で境界がきわめて明瞭であり、何らかの炎症性機転の関与を示唆するような組織所見 (炎症性細胞の浸潤や心筋の変性・壊死・融解あるいは間質性の心筋線維化) はいっさい見いだされなかった。しかしながら、ごく少数例では心内膜に生じた線維増生が種々の程度に心内膜下心筋層内にまで波及しており、こうした部位では心筋線維が軽度～中等度に萎縮していた。

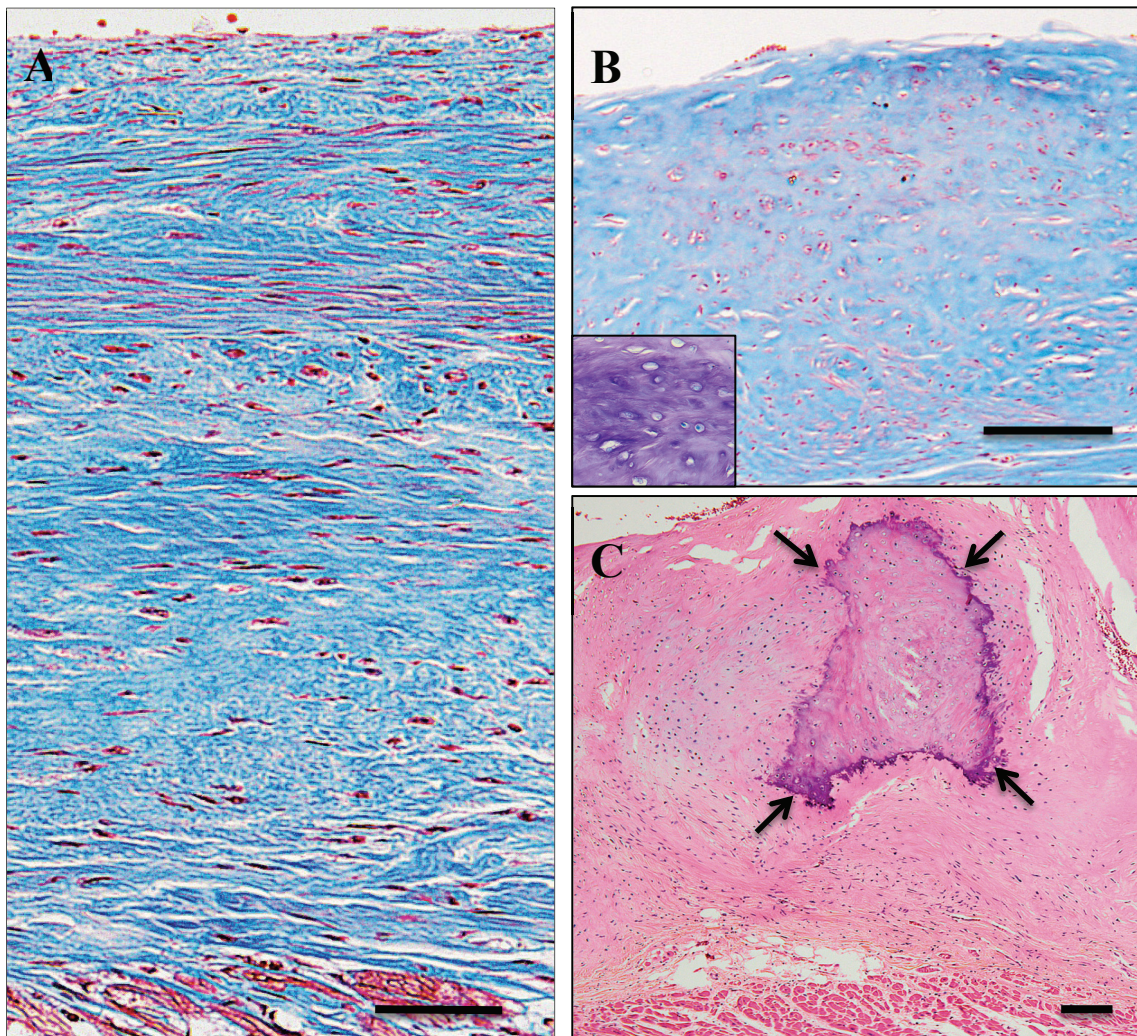


図 35 心内膜病変・タイプ 3 の組織像.

(A) No. 27 (雑種, 12 歳, 雄). 肥厚した心内膜のほぼ全域が密実な膠原線維束からなり, その間隙に細長い紡錘形細胞が埋まり込んでいる. マッソン・トリクローム染色. Bar = 100  $\mu\text{m}$ .

(B) No. 38 (雑種, 16 歳, 去勢済み雄). 心内膜病変の一部に軟骨化生がみられる (小枠: トルイジン青染色). マッソン・トリクローム染色. Bar = 100  $\mu\text{m}$ .

(C) No. 38 (雑種, 16 歳, 去勢済み雄). B と別の部位では軟骨化生した部位に石灰沈着を伴っている (矢印). HE 染色. Bar = 100  $\mu\text{m}$

斑状肥厚パターン（41 例中 34 例）の心内膜病変では、いずれの例においても中心部に位置するプルキンエ線維束とそれを囲繞する密実な膠原線維束からなる、いわゆる“左室仮腱索（left ventricular false tendon ; LVFT）”が病巣内に多数存在していた（図 36）。そして、紡錘形～星芒状の間葉系細胞がこれら LVFT を足場に同心円状に増殖するとともに、幼若かつ繊細な線維性結合組織を旺盛に産生することで心内膜病変の骨組みを形成していた。すなわち、LVFT の構成要素であるプルキンエ線維束を取り囲む線維性結合組織層に内在している既存の間葉系細胞が、同心円状に活発に増殖しながら酸性粘液多糖類を豊富に携えた繊細な膠原線維を多量に産生することで個々の LVFT が顕著に増幅していた。さらに、肥厚した LVFT 同士が互いに接着・癒合することで全体として一塊の大きな線維性病変が形成されていた。この病変形成過程は上述の‘タイプ 1’に合致するものであった（図 37）。こうした病的機転が進行すると LVFT 周囲の比較的幼若な線維性結合組織層は、細胞成分の減少とともにより成熟した膠原線維束を主体とした線維性結合組織へと転換し（上述の‘タイプ 2’に相当する機転）（図 38）、さらに時間が経過すると最終的に病変の全域が細胞成分に乏しい、太くて密実な膠原線維束によって置き換えられていた（上述の‘タイプ 3’に相当する機転）（図 39）。なお、斑状肥厚パターンの心内膜病変の内部分や付着部位にも明らかな炎症性変化は認められなかった。

### 3. 免疫組織化学的検索

肥厚した心内膜の内部に存在している紡錘形～星芒状細胞のほぼすべてが、間葉系細胞マーカーである vimentin（図 40A）ならびに平滑筋分化マーカーである  $\alpha$ -smooth muscle actin（SMA）に陽性反応を示した（図 40B）。さらに、それらよりも多少少ないようであったが多くの紡錘形～星芒状細胞が平滑筋分化マーカーである caldesmon にも陽性反応を示した（図 40C）。一方、心内膜



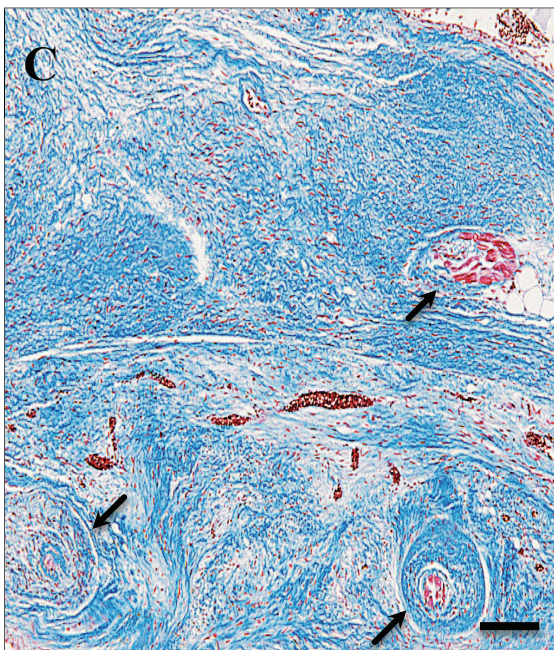
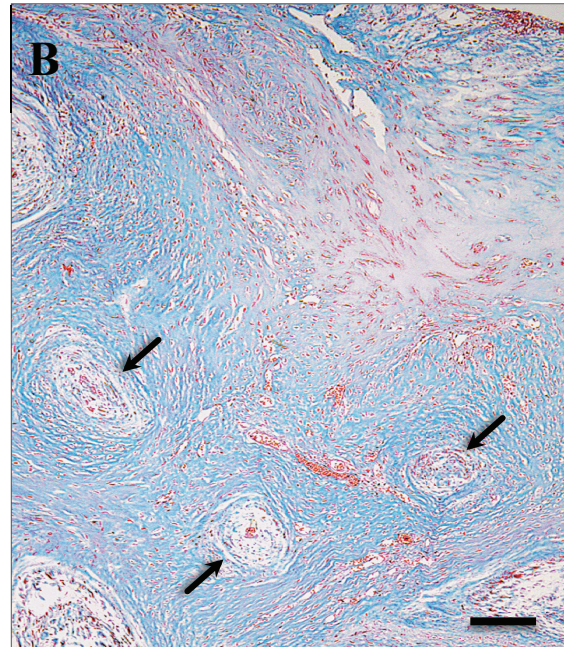
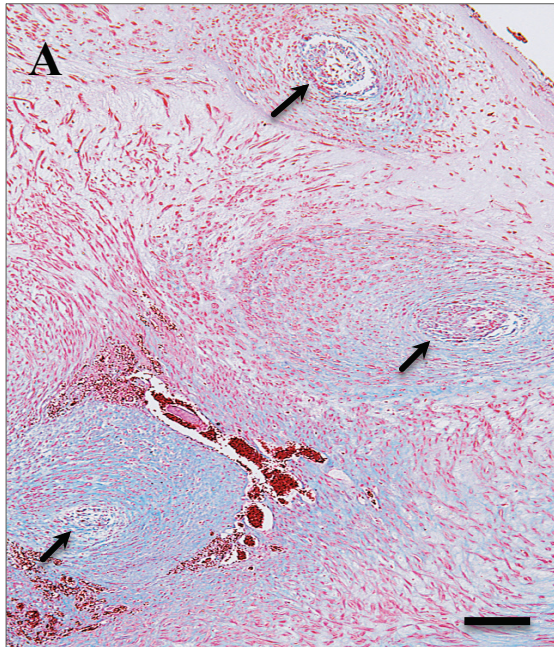


図 36 斑状肥厚パターンを示した心内膜病変の組織像.

(A) No. 3 (雑種, 2 歳, 避妊済み雌) : タイプ 1.

(B) No. 9 (雑種, 6 歳, 去勢済み雌) : タイプ 2.

(C) No. 23 (雑種, 9 歳, 去勢済み雄) : タイプ 3.

いずれも肥厚した心内膜の内部には左室仮腱索 (矢印) が多数見いだされる. マッソン・トリクローム染色, Bar = 100  $\mu$ m.



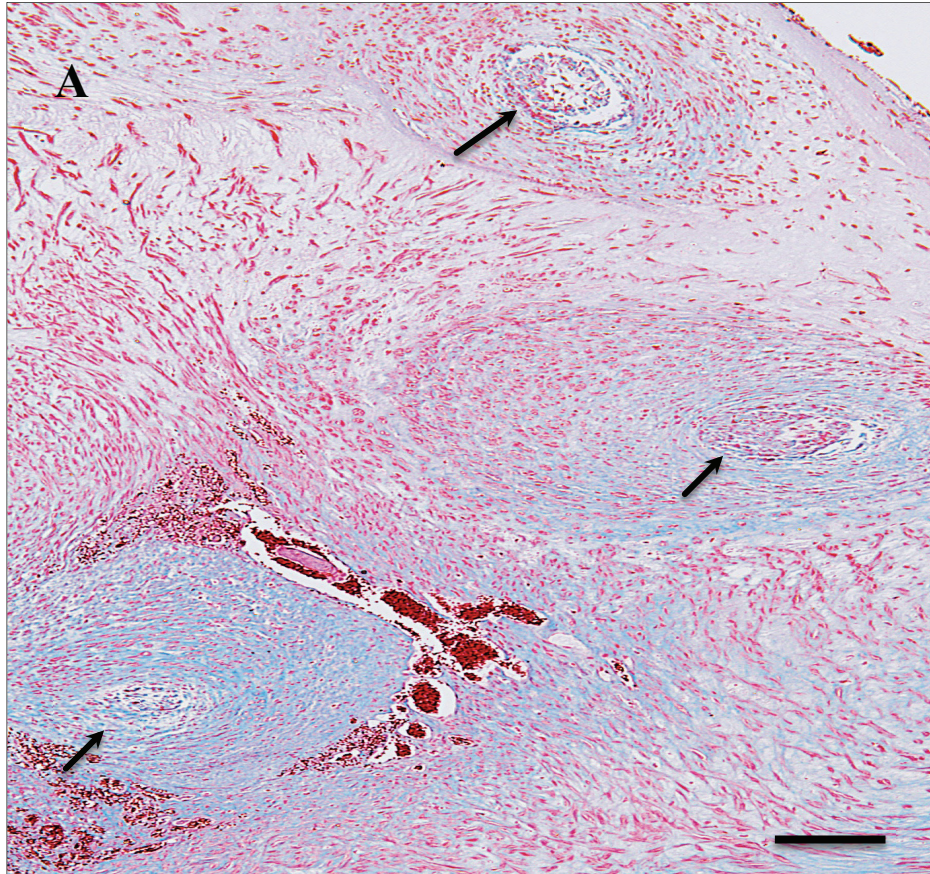


図 37 斑状肥厚パターンを示した心内膜病変・タイプ 1 の組織像  
No. 3 (雑種, 2 歳, 避妊済み雌). 左室仮腱索 (矢印) の構成成分である紡錘形～星芒状細胞が既存のプルキンエ細胞束を取り囲むように同心円状に増殖し, 豊富な粘液多糖類を携えた緻細かつ豊富な膠原線維を産生している. その結果, 個々の仮腱索は顕著に肥厚し, 太さを増した仮腱索同士が互いに接着・癒合することで大型の線維性構造物が形成されている. マッソン・トリクローム染色, Bar = 100  $\mu$ m.

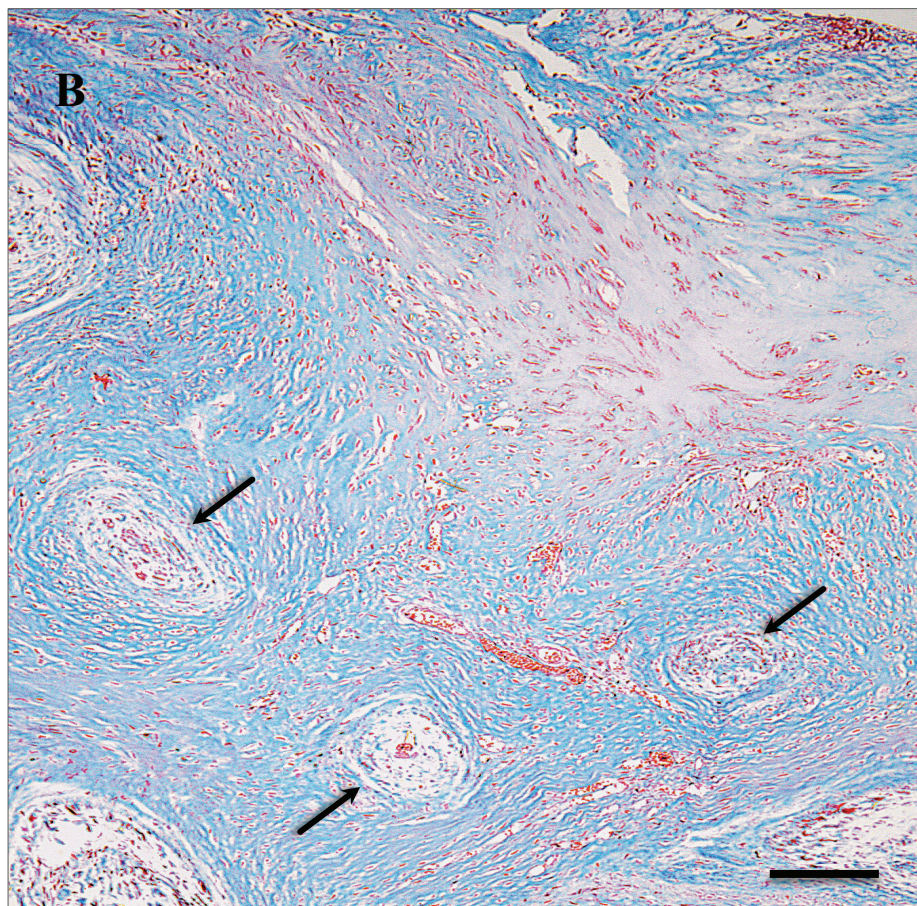


図 38 斑状肥厚パターンを示した心内膜病変・タイプ 2 の組織像  
No. 9 (雑種, 6 歳, 去勢済み雌). 左室仮腱索 (矢印) を取り囲んでいる膠  
原線維はタイプ 1 よりも成熟しているが, 浅層側 (心室腔側) ではタイプ 1  
と同様, 豊富な酸性粘液多糖類を携えた幼若な膠原線維足場の間葉系細胞が  
活発に増殖している. マッソン・トリクローム染色, Bar = 100  $\mu$ m.



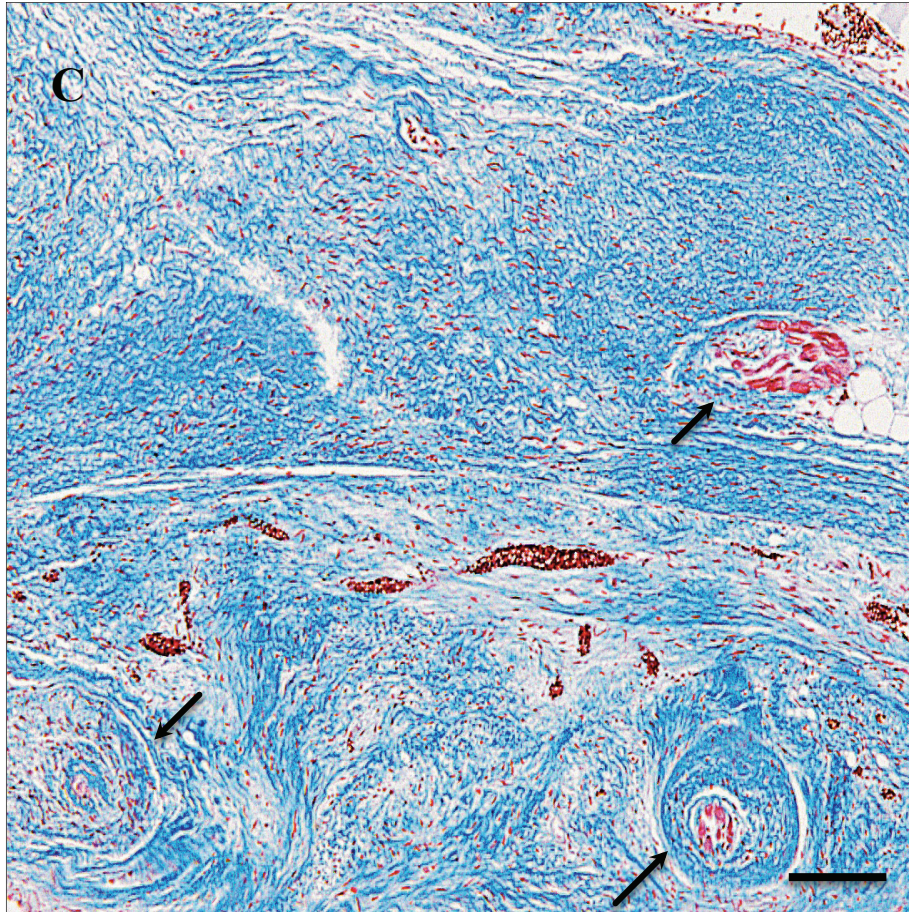


図 39 斑状肥厚パターンを示した心内膜病変・タイプ 3 の組織像  
No. 23 (雑種, 9 歳, 去勢済み雄). 線維性構造物のほぼ全域が細胞成分に乏しい成熟した線維性結合組織によって構成されており, その内部に左室仮腱索 (矢印) が埋没している. マッソン・トリクローム染色, Bar = 100  $\mu$ m.

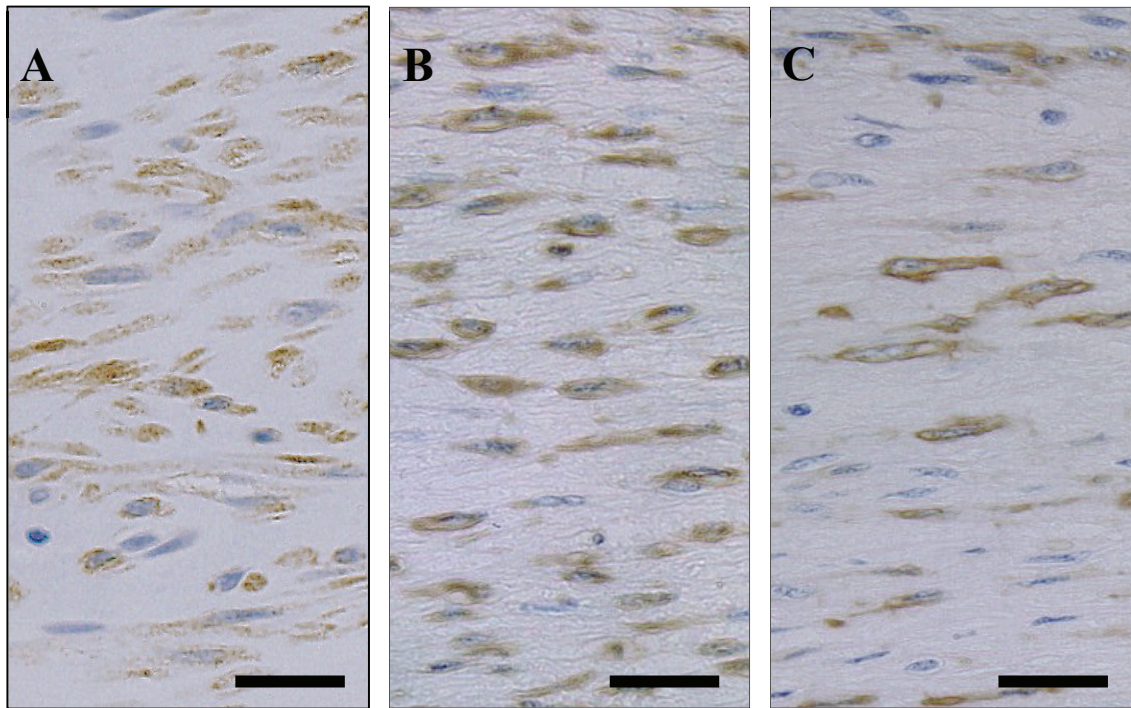


図 40 心内膜病変内で増殖する紡錘形～星芒状細胞の免疫組織化学的染色像。  
病巣内の紡錘形～星芒状細胞はそのほとんどが (A) 抗 vimentin および (B) 抗  $\alpha$ -smooth muscle actin 抗体に陽性反応を示し, それらよりも若干数は少なくなるものの多くの細胞が (C) 抗 caldesmon 抗体にも陽性反応を示している. Bar = 20  $\mu$ m.

病変を構成する線維性結合組織の内部および間葉系細胞の細胞膜表面には PDGF および TGF- $\beta$  が発現しており (図 41), その発現頻度は明らかにタイプ 3 よりもタイプ 1 およびタイプ 2 に分類された心内膜病変で高かった。

#### 4. 分子生物学的検索

本実験に先立ち, 今回デザインした OS-RT-qPCR のウェットバリデーションとして, 各検出対象のターゲット遺伝子を含む 7 種類 (各ウイルスおよび ACTB) の既知濃度の合成 DNA (IDT に作製依頼) を鋳型とした 10 倍希釈系列 ( $1 \times 10^0 \sim 1 \times 10^6$  copy/ $\mu$ l), および今回作製したプライマーセットを用いて検量線を作成した (図 42, 43)。その結果いずれのプライマーセットにおいても, 増幅効率, プライマーの感度に問題はみられなかった。

本実験として心内膜心筋型 RCM 罹患猫の心臓から抽出した DNA サンプルおよび RNA サンプルを用いて OS-RT-qPCR を実施したところ, いずれのサンプルでも, 検出対象とした 6 種類のウイルスゲノムはいっさい検出されなかった (図 44~48)。一方, 陽性コントロールとして用いた ACTB はすべてのサンプルで検出された。



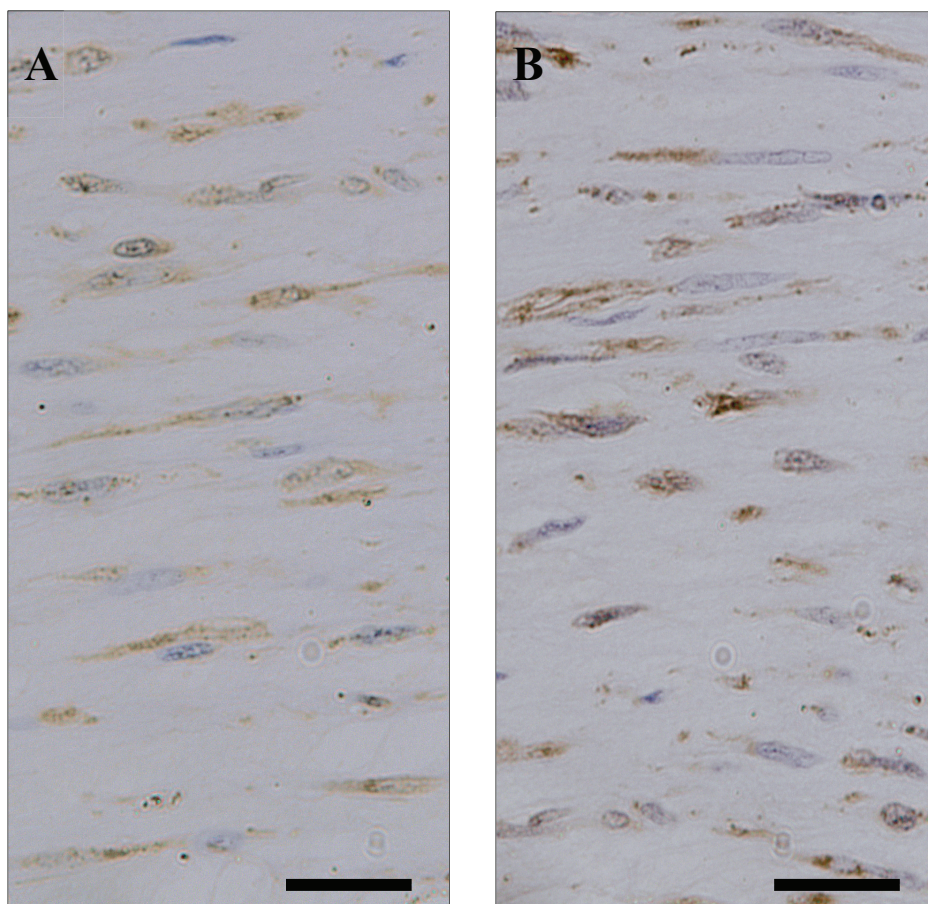


図 41 platelet derived growth factor (PDGF) および transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) に対する免疫組織化学的染色像.

(A) PDGF および (B) TGF- $\beta$ は、病巣内の紡錘形～星芒状細胞の細胞膜表面および線維性結合組織層の内部に発現していた. Bar = 20  $\mu$ m.

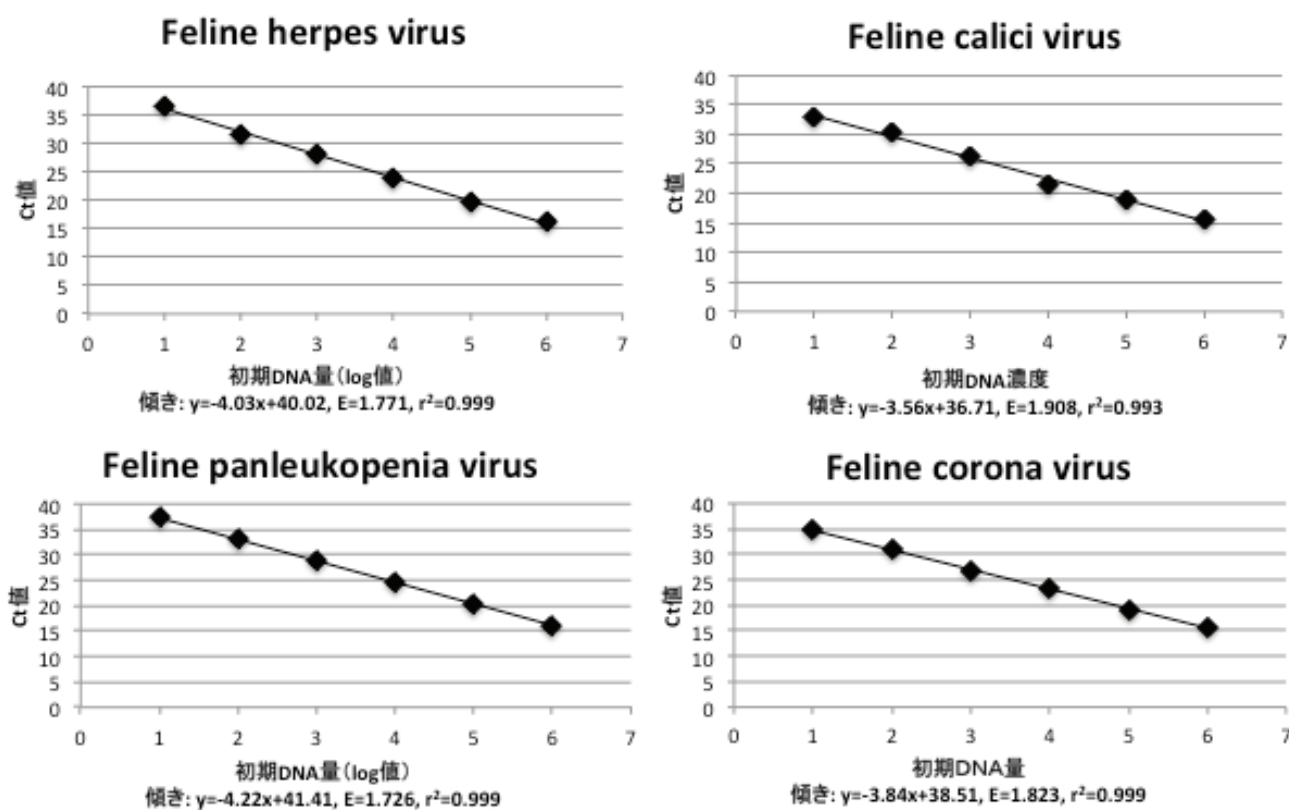


図 42 各プライマーセットおよび合成 DNA の 10 倍希釈系列を用いて作成した検量線 (FHV, FPLV, FCV および FCoV) . Ct 値, 閾値; E, 増幅効率;  $r^2$ , 相関係数.



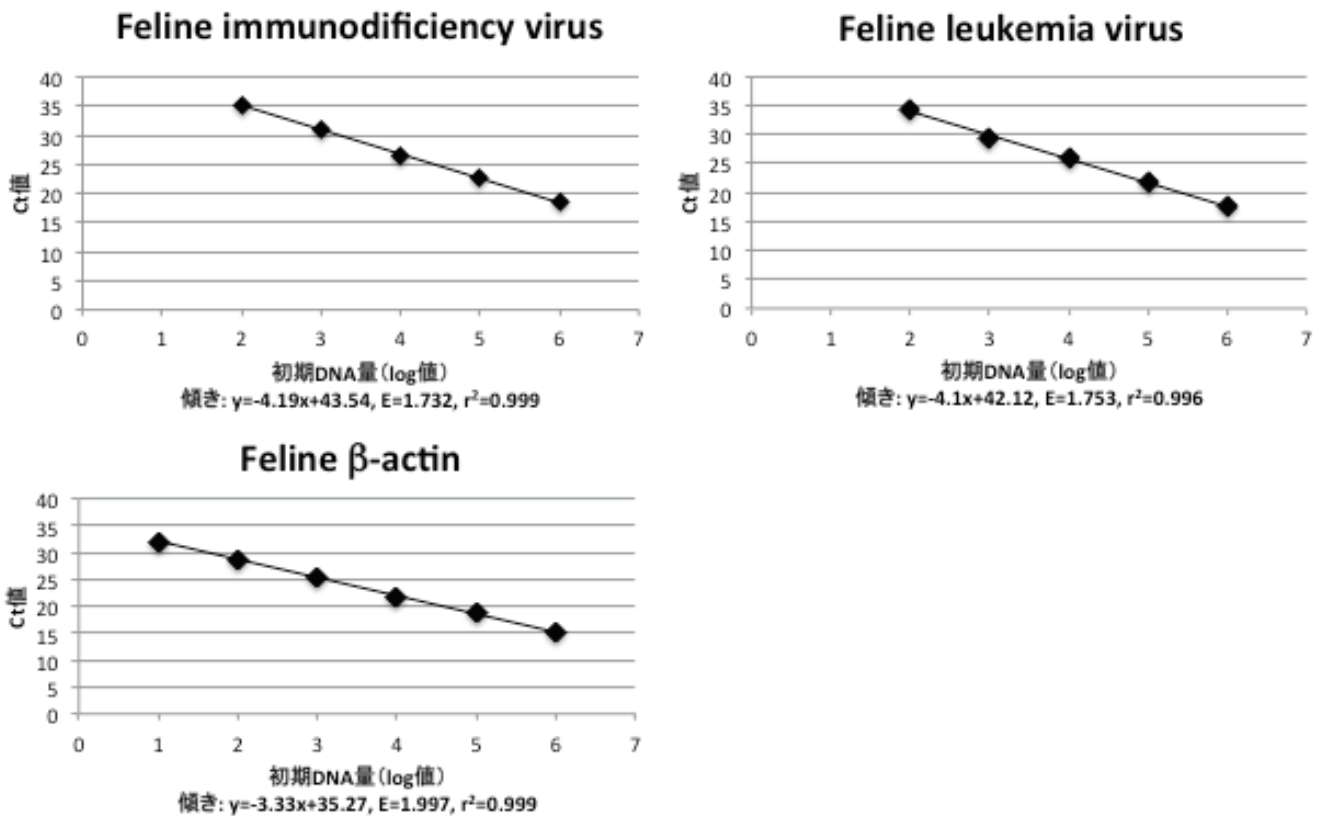


図 43 各プライマーセットおよび合成 DNA の 10 倍希釈系列を用いて作成した検量線 (FIV, FeLV および ACTB) . Ct 値, 閾値; E, 増幅効率;  $r^2$ , 相関係数.

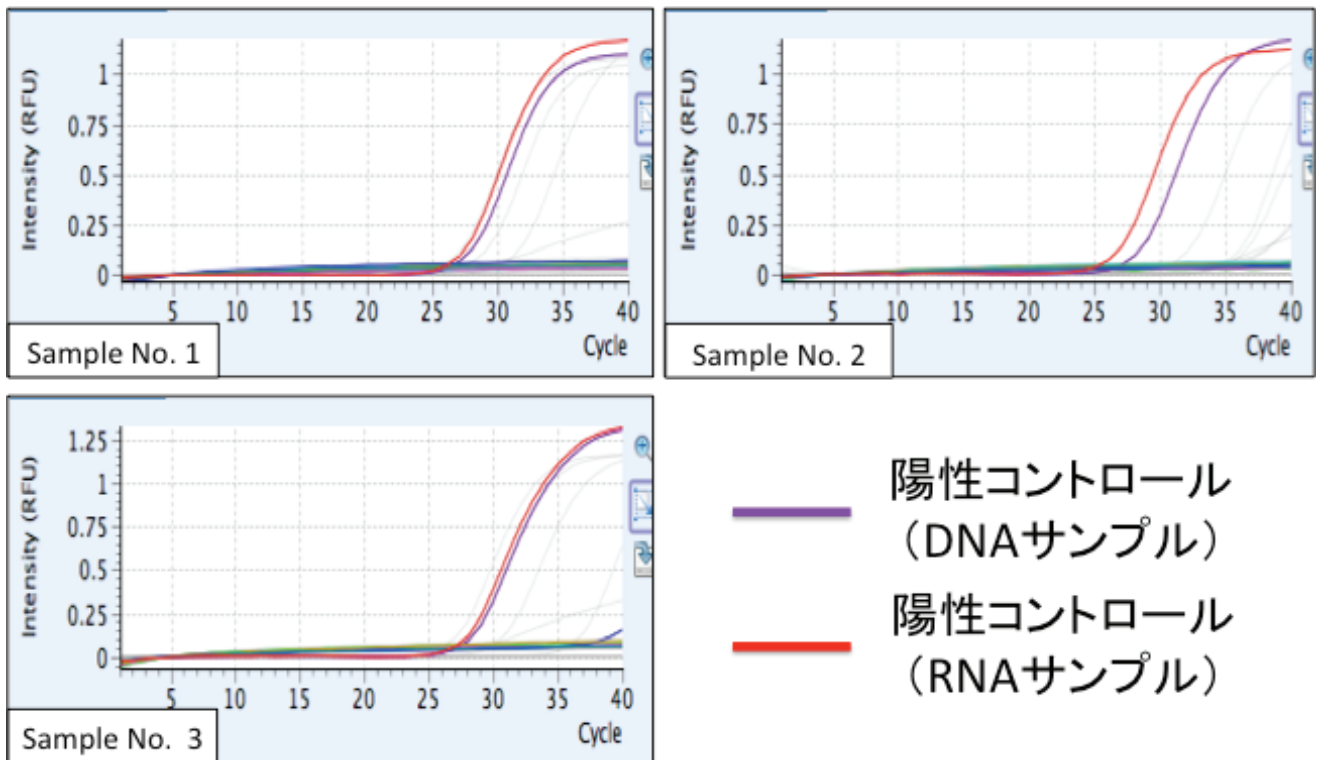


図 44 OS-RT-qPCR の結果を示すグラフ ( Sample No. 1, 2, 3). いずれのグラフでも DNA/ RNA サンプルの陽性コントロール (ACTB) は検出されているが, ウイルスゲノムは小さい検出されていない.

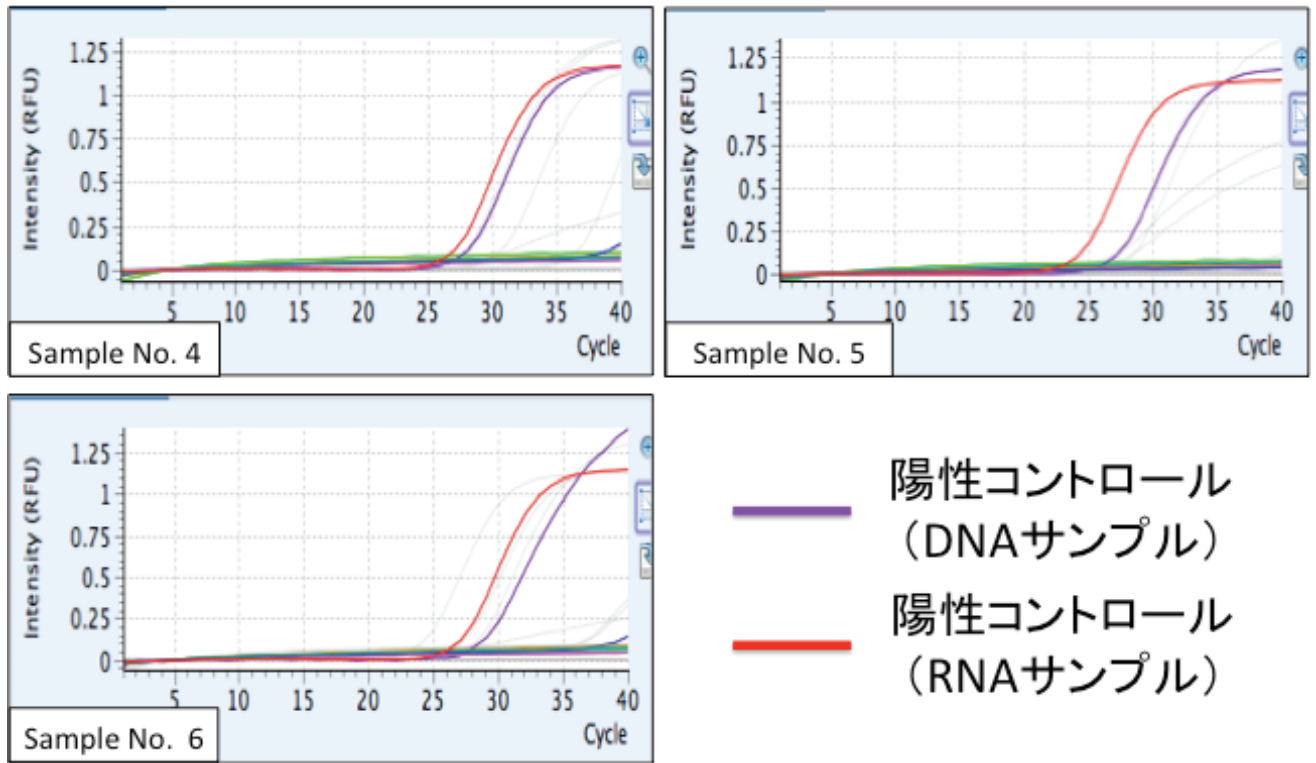


図 45 OS-RT-qPCR の結果を示すグラフ ( Sample No. 4, 5, 6). いずれのグラフでも DNA/ RNA サンプルの陽性コントロール (ACTB) は検出されているが, ウイルスゲノムはいつい検出されていない.

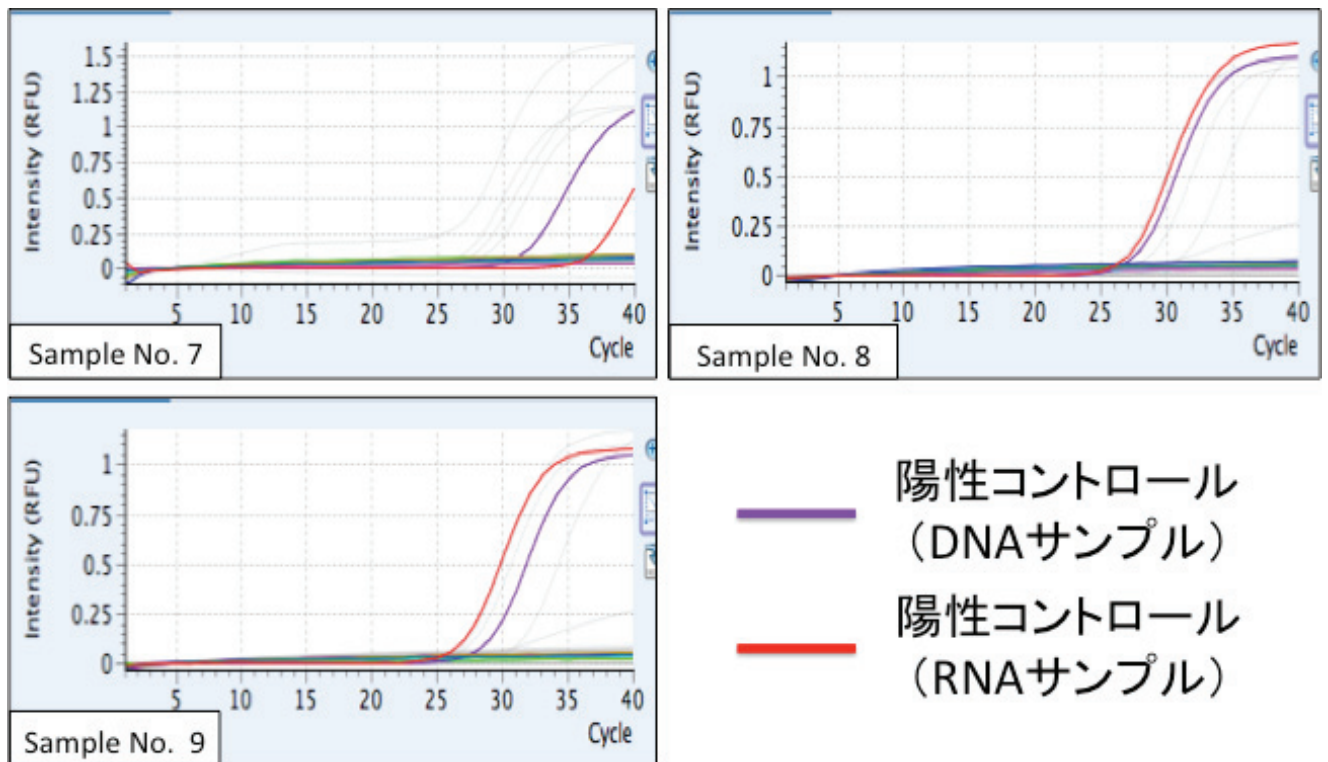


図 46 OS-RT-qPCR の結果を示すグラフ ( Sample No. 7, 8, 9). いずれのグラフでも DNA/ RNA サンプルの陽性コントロール (ACTB) は検出されているが、ウイルスゲノムはいつい検出されていない。

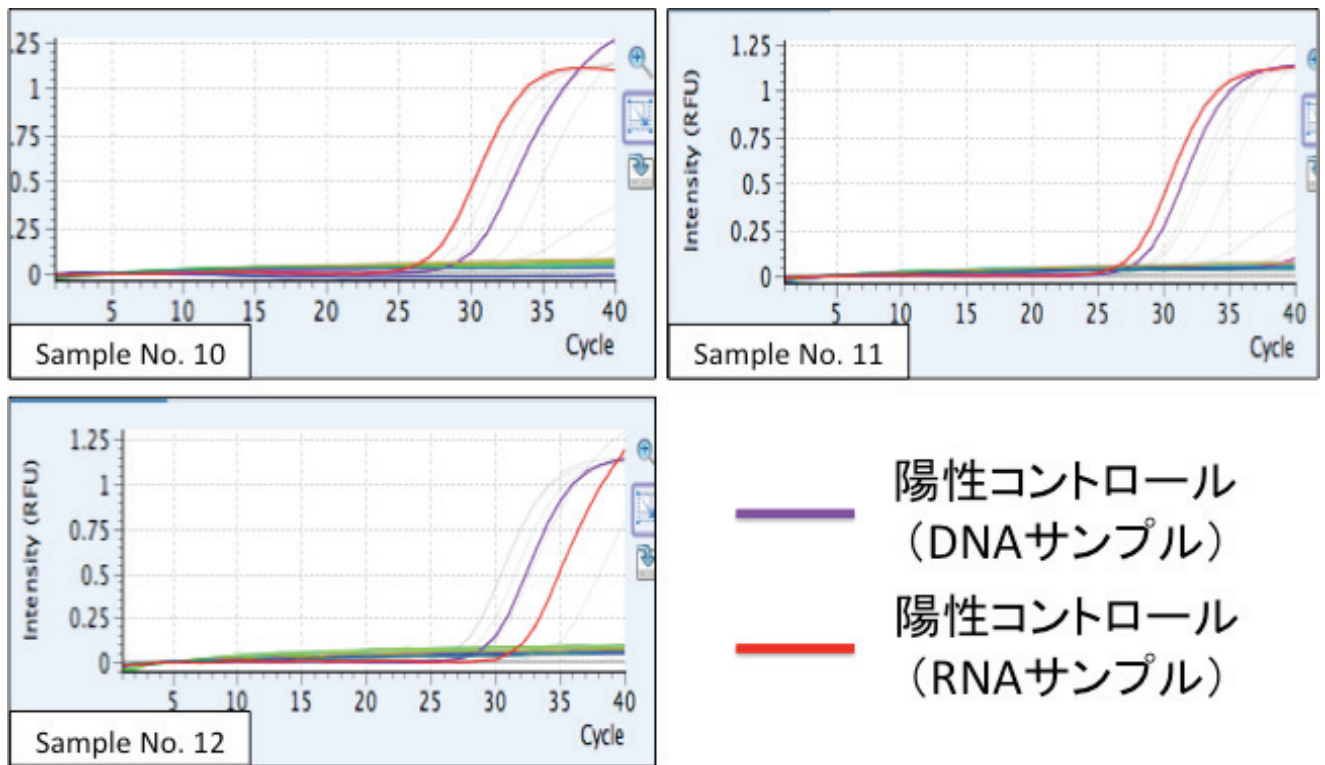
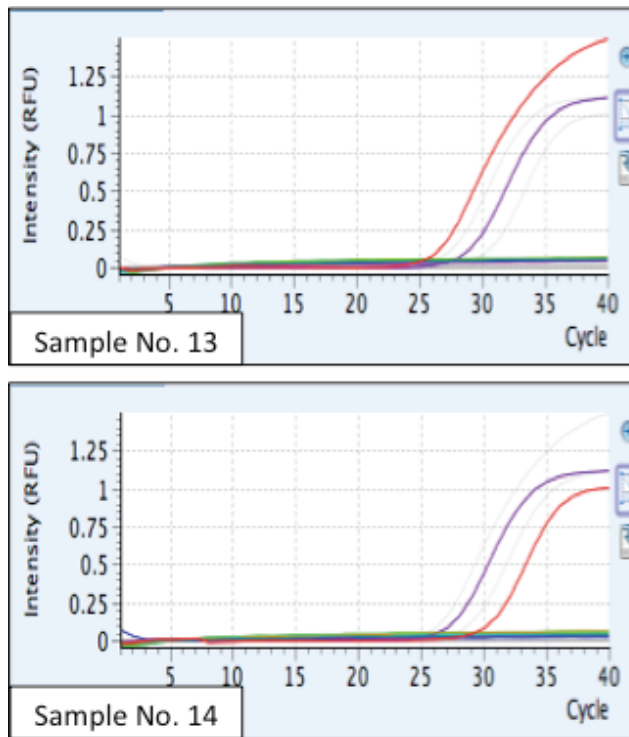


図 47 OS-RT-qPCR の結果を示すグラフ ( Sample No. 10, 11, 12) . いずれのグラフでも DNA/ RNA サンプルの陽性コントロール (ACTB) は検出されているが、ウイルスゲノムはまったく検出されていない。





— 陽性コントロール  
 (DNAサンプル)  
— 陽性コントロール  
 (RNAサンプル)

図 48 OS-RT-qPCR の結果を示すグラフ (Sample No. 13, 14) . いずれのグラフでも DNA/ RNA サンプルの陽性コントロール (ACTB) は検出されているが、ウイルスゲノムはいつ さい検出されていない。

## 考 察

本章では 2004 年の Fox による報告 [33] 以降、病理学に関する新たな情報が示されていない猫の心内膜心筋型 RCM について、特に左室心内膜の線維性肥厚病変の病理形態像を体系的に検索するとともに、これまで明らかにされていなかった本疾患の病理発生ならびに病因を追究するため、病理形態学的、免疫組織化学的および分子生物学的手法を用いた各種検索を実施した。

肉眼的に、左室心内膜病変の分布様式は斑状肥厚パターンとび慢性肥厚パターンの 2 つに大別され、前者が 41 例中 34 例とその大半を占めていた。斑状肥厚パターンでは、1 本ないしは複数本の梁柱状の線維性構造物あるいは幅が広くて大型の帯状ないしは斑状の線維性構造物が、左室自由壁と心室中隔を連結していた。一方、41 例中 7 例と少数ではあったが、び慢性肥厚パターンでは心内膜の線維性肥厚病変が左室のほぼ全域を巻き込んでいた。このように、猫の心内膜心筋型 RCM では斑状肥厚パターンが左室心内膜病変の主体をなしており、本検索結果は Fox [33] の報告とおおむね一致していた。なお、今回の検索例の中にはこれら 2 つのパターンの中間的な特徴をもつ例がしばしばみられたが、両者の関連性については明らかにされなかった。

組織学的に、左室心内膜病変はその構成要素となる膠原線維の成熟度ならびに病変内部に存在する間葉系細胞の形態や数から 3 つのタイプに分類された。タイプ 1 の心内膜病変は豊富な酸性粘液多糖類を携えた未熟で繊細な線維性結合組織と多数の紡錘形～星芒状細胞からなっていた。一方、タイプ 2 の心内膜病変では、上層（浅層）側はタイプ 1 に類似した組織構築を示したのに対して、下層（深層）側は密実な線維性結合組織からなっており、紡錘形～星芒状細胞はかなり減少していた。さらに、タイプ 3 の心内膜病変はタイプ 1 や 2 よりも細胞成分に乏しくかつ十分に成熟した密実な線維性結合組織からなっていた。

なお、それぞれの病変タイプに属する個体の年齢を比較してみると、タイプ1は幼若齢の猫（ $1.8 \pm 1.4$  歳）で観察されたのに対して、タイプ2および3の心内膜病変はそれよりも有意に高い年齢の猫（それぞれ  $5.5 \pm 2.6$  歳， $10.2 \pm 5.2$  歳）で観察されている（ $P < 0.001$ ）。また、各タイプに属する個体の数を比較するとタイプ1（3例）よりも、タイプ2（19例）およびタイプ3（19例）の方がはるかに多かった。以上の所見を勘案すると、タイプ1は心内膜病変の初期像に相当し、時間の経過とともに膠原線維を主体とした線維性結合組織が次第に成熟することでタイプ2、さらにはタイプ3の心内膜病変に進行するものと推察された。加えて、各タイプ（タイプ1と2およびタイプ2と3）の中間的な組織像を示す検体がしばしば見いだされたこと、心内膜病変の成熟度が年齢と並行していたことなどを考え合わせると、猫の心内膜心筋型 RCM は出生後に発生し、経年齢的に進行していく疾患であろうと考えられた。しかしながら、本疾患が新生仔に認められたとする報告は今のところみられていないので、出生後のどの段階で発生し始めるのかは定かでない。

斑状肥厚パターンにおいて形成される梁柱状あるいは帯状～斑状の心内膜病変内部には多数の LVFT が包含されており、それら LVFT を取り囲むように間葉系細胞が活発に増殖し線維性結合組織を旺盛に産生することで心内膜病変が形成されることが明らかになった。本所見は LVFT が斑状肥厚パターンで形成される心内膜病変の‘足場’となっている可能性を強く示唆している。しかしながら、猫の LVFT の形態学的特徴に関する情報は極めて少なく、本疾患の病理発生との関連性ならびにその意義については十分に明らかにされなかった。そこで、この内容については次章でさらに詳しく取り扱うこととする。

免疫組織化学的検索では、41例の左室心内膜病変内に存在する紡錘形～星芒状細胞のほぼすべてが間葉系細胞マーカーである vimentin と平滑筋分化マ-

カーである $\alpha$ -SMAに陽性反応を示し、それよりも数は多少少ないものの多くの細胞が平滑筋分化マーカーである caldesmon を発現していた。このことは、左室心内膜病変内部で増殖する紡錘形～星芒状細胞が平滑筋細胞への分化傾向を示す間葉系細胞であることを示している。一方、平滑筋分化マーカーによって標識されなかった一部の間葉系細胞は未分化間葉系細胞に分類されるものと推察された。ヒトの心臓の解剖学および組織学に関する成書によれば、左室（特に心室中隔上部）および左房の心内膜下組織にはもともと、平滑筋細胞および未分化間葉系細胞が多数存在しているとされている [62]。この知見を踏まえて今回の免疫組織化学染色の結果を考察すると、心内膜病変の内部に存在する平滑筋分化を示す間葉系細胞は心内膜下組織の平滑筋細胞あるいは未分化間葉系細胞に由来する可能性が高いものと考えられる。さらに、心内膜病変を構成する線維性結合組織の内部あるいは心内膜病変内で増殖する間葉系細胞の細胞膜表面には、細胞増殖因子である PDGF と TGF- $\beta$ が発現していた。これらの細胞増殖因子は平滑筋細胞の遊走・増殖や細胞外マトリクスの産生を制御し [34, 37, 44, 46, 107, 125, 131, 147]、ヒトでは PDGF や TGF- $\beta$ を含めた様々な細胞増殖因子と平滑筋細胞の働きによって動脈硬化症でみられる血管内膜の線維性肥厚病変が形成されることが明らかにされている [34, 44, 46, 61, 107]。これらの知見を勘案すると、猫の心内膜心筋型 RCM で形成される左室の心内膜に形成される線維性肥厚病変は、心内膜下組織にもともと存在していた平滑筋細胞あるいは平滑筋分化を示す未分化間葉系細胞が、細胞増殖因子などの刺激により活発に増殖、膠原線維や弾性線維などの細胞外マトリクスを過度に産生することで形成されるものと推察された。しかしながら、本研究では平滑筋細胞への分化を促す刺激や機転に関しては明らかにされておらず、今後はこれらの点について追究していく必要がある。



“心内膜心筋線維化”としても知られているヒトの心内膜心筋型 RCM の病因に関しては多くの研究がなされており [35, 102, 103], 栄養不良 (ビタミン E 欠乏), 感染性疾患 (シャーガス病, マラリア感染, 寄生虫感染, コクサッキーウイルス感染), 腫瘍性疾患 (カルチノイド), 自己免疫性疾患 (リウマチ熱), 代謝性疾患 (高セロトニン血症), 毒性物質 (セリウム) の蓄積など様々な要因が関与している可能性が示されている [6, 8, 22, 26, 55, 82, 110, 111, 127]。それらの中でも, 特に好酸球増多症に伴うレフラー心筋炎との関連性を示唆する報告が多くみられることから, 本疾患が心内膜心筋型 RCM の病因になる可能性が高いものと考えられている [18, 55, 111~113, 128]。さらに, ヒトの心内膜心筋型 RCM はとりわけ赤道直下のアフリカ地域で家族性に発生することが多いことから, 遺伝学的背景を視野に入れた様々な分子生物学的研究がなされている [3, 9, 19, 57, 81, 92, 102, 103, 115]。一方, 猫の心内膜心筋型 RCM の病理発生についてはまったく明らかにされておらず, 一部ではヒトと同様に好酸球増多症 (レフラー心筋炎) との関連性も言われてはいるが [98, 126, 129], 確たる証拠は示されていない [33, 71, 93]。そのような中で, これまでもっとも注目されてきたのが, ウイルス感染あるいは免疫介在性の機序による心筋炎や心内膜炎である [33, 93]。この説は, 1985 年の Liu ら [88] の報告および 1995 年の Stalis ら [130] の報告において心内膜心筋型 RCM 罹患猫の心内膜および心内膜下心筋層に原因不明の炎症性機転が認められたことがその発端になっている。加えて, Meurs ら [101] が 2000 年に, RCM 罹患猫 6 例中 4 例の心臓に心筋炎所見を見いだすとともに, 6 例中 2 例 (前者 4 例との関連性は不明) の心臓から FPLV のゲノムを検出したことがそれに拍車をかけている。しかしながら, これらの報告以降, 炎症性機転と心内膜心筋型 RCM の病理発生との関連性についてはまったく検索がなされていない。そこで, 本研究では本

症の病理発生に炎症性の機転が関与しているのかどうかを検証すべく、詳細な病理組織学的検索と併せて、**real-time PCR (OS-RT-qPCR)** を用いた分子生物学的検索を実施した。その結果、41 例すべての心臓の心内膜あるいは心筋層に炎症性機転の関与を示唆する所見（炎症性細胞の浸潤、心筋細胞の変性・壊死、心筋線維化）は認められなかった。また、**real-time PCR** を用いた分子生物学的検索でも、14 例の心臓から抽出した DNA あるいは RNA サンプルから対象とした 6 種類のウイルスゲノムはいっさい検出されなかった。過去の報告とは時代的背景、地理的状況、検出方法（コンベンショナル PCR vs **real-time PCR**）などに違いがあるため、今回得られた結果とそのまま比較することはできないが、少なくとも本検索の範囲内ではウイルス感染に起因する炎症性機転が本症の病理発生に関与していた可能性は極めて低いものと考えられた。しかしながら、今回の実験ではサンプル数が限られていたことに加え、ウイルスが心臓の一部に局在していた可能性や **OS-RT-qPCR** 実施中に技術的問題が発生していた可能性も完全には否定できない。なお、免疫介在性の機序が本症の病理発生に関与している可能性については検証できなかったため、今後鋭意検証していく必要がある。

## 小 括

本章では 2004 年の Fox による報告 [33] 以降、病理学に関する新たな情報が示されていない猫の心内膜心筋型 RCM について、特に左室心内膜の線維性肥厚病変の病理形態像を体系的に検索するとともに、これまで明らかにされていなかった本疾患の病理発生ならびに病因を追究するため、病理形態学的、免疫組織化学的および分子生物学的手法を用いた各種検索を実施した。肉眼的に、左室心内膜病変の分布様式は 2 つに大別された。もっとも多くみられたのは、1 本ないしは複数本の梁柱状の線維性構造物あるいは幅広・大型・不整形で帯状ないしは斑状の線維性構造物が、左室自由壁と心室中隔を連結しているパターンのものであった（斑状肥厚パターン；34/41 例）。一方、少数例ではあったが、心内膜の線維性肥厚病変が左室のほぼ全域を巻き込んでいるパターンもみられた（び慢性肥厚パターン；7/41 例）。組織学的に、心内膜病変の基本的な組織構築は、肉眼的なパターンに如何にかかわらず同一であった。すなわち、41 例の心臓に形成されていた心内膜病変はすべて、様々な形態を示す間葉系細胞の増殖ならびに膠原線維と粘液状基質とを種々の程度にまじえた線維性結合組織の増生からなり、その表面は単層の内皮細胞によって被覆されていた。さらに、左室心内膜病変はその構成要素となる膠原線維の成熟度ならびに病変内部に存在する間葉系細胞の形態や数から 3 つのタイプに分類された。タイプ 1 の心内膜病変は豊富な酸性粘液多糖類を携えた未熟で繊細な線維性結合組織と多数の紡錘形～星芒状細胞からなっていた。一方、タイプ 2 の心内膜病変では、上層（浅層）側はタイプ 1 に類似した組織構築を示したのに対して、下層（深層）側は密実な線維性結合組織からなっており、紡錘形～星芒状細胞はかなり減少していた。さらに、タイプ 3 の心内膜病変はタイプ 1 や 2 よりも細胞成分に乏しくかつ十分に成熟した密実な線維性結合組織からなっていた。また、各タイ

プの心内膜病変を有していた猫の死亡時平均年齢は、タイプ1：1.8±1.4歳（範囲0.3-3.0歳）、タイプ2：5.5±2.6歳（範囲2-11歳）、タイプ3：10.2±5.2歳（範囲3-19歳）で、各タイプの死亡時平均年齢には有意差がみられた（ $P < 0.001$ ）。このように、左室の心内膜病変には年齢に呼応した変化がみられたため、本疾患は経年齢的に進行する疾患だと推察された。斑状肥厚パターンにおいて形成される梁柱状、帯状～斑状の心内膜病変内部には多数のLVFTが存在しており、これらの周囲に紡錘形～星芒状の間葉系細胞が同心円状に増殖、緻密～密実な線維性結合組織を旺盛に産生することで心内膜病変が形成されていた。本所見はLVFTが斑状肥厚パターンで形成される心内膜病変の‘足場’となっている可能性を強く示唆している。免疫組織化学的検索では、左室心内膜病変の内部で増殖している細胞が平滑筋分化を示す間葉系細胞だと判明した。さらに、これら間葉系細胞の細胞膜表面および線維性結合組織内部には細胞増殖因子のPDGFおよびTGF- $\beta$ が発現していることも明らかとなった。この結果から、猫の心内膜心筋型RCMで形成される左室の心内膜に形成される線維性肥厚病変は、平滑筋分化を示す間葉系細胞が細胞増殖因子などの刺激により活発に増殖、膠原線維や弾性線維などの細胞外マトリクスを過度に産生することで形成するものと推察された。病理組織学的検索で、41例すべての心臓の心内膜あるいは心筋層に炎症性機転の関与を示唆する所見は認められなかった。また、real-time PCRを用いた分子生物学的検索でも、14例の心臓から抽出したDNAあるいはRNAサンプルから対象とした6種類（FHV, FPLV, FCV, FCoV, FIV, FeLV）のウイルスゲノムはいっさい検出されなかった。このことから、少なくとも本検索の範囲内ではウイルス感染に起因する炎症性機転が本症の病理発生に関与していた可能性は極めて低いことが示された。



## 第 3 章

### 猫の心臓にみられる左室仮腱索に関する 形態学的研究

—拘束型心筋症（心内膜心筋型）の病理発生を視野に入れて—

## 序 文

左室仮腱索 (left ventricular false tendons, LVFT) は左室の内腔を横断する 1 本ないしは複数本の細い線維性あるいは線維筋性の索状構造物で、通常の腱索 (chordae tendineae) と異なるのは僧帽弁尖に挿入していない点である [20, 40, 69, 116, 117, 119]。LVFT に関する研究の歴史は古く、1893 年に Turner がヒトの左室内に調節帯 (moderator band in the left ventricle) を見いだしたことに始まる [137 - 139]。これらの報告以降現在に至るまで、この左室腔に存在する索状構造物は auriculo-ventricular bundle [65], muscular strand [99], fibromuscular ribbons [48], anomalous left ventricular strands [124], anomalous left ventricular chordae tendinae [49], septomarginal trabeculae [45], prominent left ventricular trabeculations [15] など様々な名称で呼ばれてきた。しかしながら、近年はその解剖学的特徴から“左室仮腱索 (LVFT)”と呼ぶのが一般的である [11, 67]。Turner の報告後、1906 年に Keith と Flack [65] が、LVFT はほとんどのヒトあるいは牛の左室腔内に存在していることを見いだした。それからしばらくの間、LVFT は心臓の剖検時にみられる偶発的所見として扱われていたが、1981 年に Nishimura ら [108] が心エコー検査機器を用いて LVFT を初めて視覚化したのを機に、心臓内における一般的な所見として認識されるに至った [68, 119, 124]。

ヒトの LVFT に関する解剖学および病理学的な情報は一般的な成書にはほとんど記されていないが、過去の剖検例ではヒトの心臓の 34~68% に認められている [2, 15, 40, 83, 119]。また、LVFT は発生学的に原始心の内心筋層に由来し [116, 119, 138]、肉眼的には主に乳頭筋と心室中隔とを連結する細い線維索で [83, 91, 119]、組織学的には主に線維性結合組織、筋線維および細・小動脈から構成され、ときにヒス束由来の伝導系組織を包含することが明らかにされている [2, 69, 83, 119]。さらに、心エコー検査機器の発達に伴い正常あるいは各種心疾患に罹患した心臓内に LVFT が存在していることが明らかに

されたことに加え [2, 40, 69], LVFT が心室性不整脈（心室期外収縮や心室細動）や生理的心雑音の発生に関与している可能性が示されたことから、その解剖学および生理学的な意義にも注目が集まっている [38, 91, 94, 109, 119, 124, 132, 141]。ちなみに、猫でも“異常仮腱索（abnormal diffuse networks of left ventricular moderator bands）”あるいは“過剰調節帯（excessive moderator band）”として知られる、多数の LVFT から形成される網目状の構造物がうっ血性心不全で死亡した 21 例の猫の左室腔内に存在していたとの報告があり、猫の LVFT と心疾患の発生との関連性が疑われた [27, 87, 89, 90]。

心内膜心筋型 RCM 罹患猫の心臓を病理学的に検索した第 2 章では、本症に特徴的な所見とされる左室心内膜の線維性肥厚病変の中でもっとも一般的なパターンは梁柱状あるいは幅の広い不整な斑状の形態（線維性架橋）を取るものであり、このタイプの病変は主に前乳頭筋（APM）および／あるいは後乳頭筋（PPM）と心室中隔とを連結していることが明らかになった。しかしながら、本来中空であるはずの左室の内腔を横断する形で線維性の架橋が形成されるためには、その足場となる構造物が必要となるはずである。一方、第 2 章の組織学的検索では、1) 線維性架橋の内部には必ず多数の LVFT が存在すること（図 49）；2) そして LVFT の構成細胞である間葉系細胞が中心部に位置するプルキンエ線維束を取り囲むように活発に増殖するとともに、酸性粘液多糖類を豊富に携えた幼若な膠原線維とアルシアンブルー陽性基質を種々の程度にまじえた線維性結合組織を過度に産生すること；3) その結果、顕著に肥厚した LVFT 同士が互いに接着・癒合することで線維性架橋が形成されることが明らかになった。本所見は、上述した線維性架橋が左室の内腔にもともと存在している LVFT を足場として形成される可能性が高いことを示唆している。そこで、本章では猫の心内膜心筋型 RCM の病理発生にかかる LVFT の意義を明らかにすることを目的とし、第 1 節では「猫の左室仮腱索に関する形態学的検索」、第 2 節では「猫の左室異常仮腱索に関する形態学的検索」を実施した。



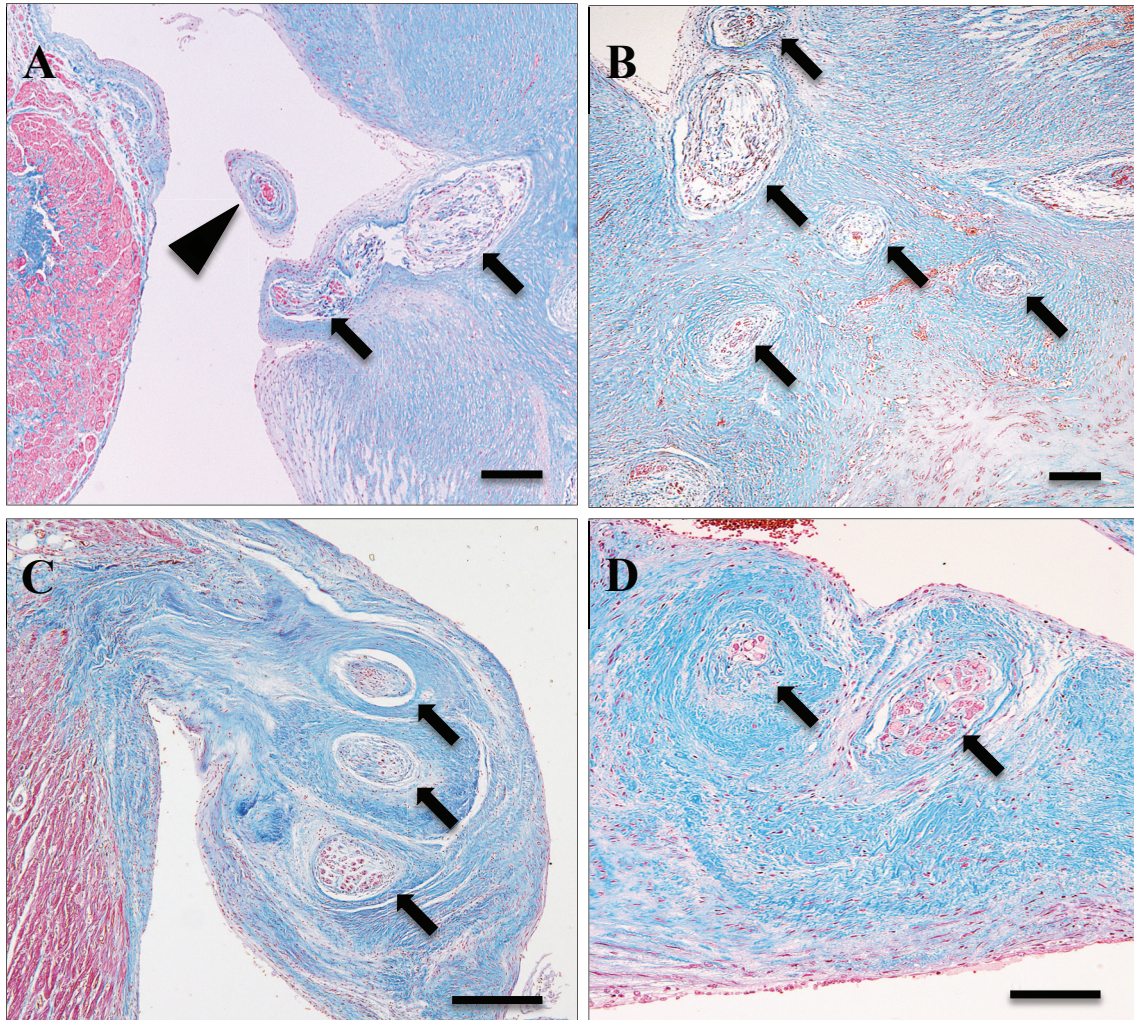


図 49 斑状肥厚パターンにみられる線維性架橋の組織像。

(A) No. 37 (雑種, 3 歳, 雌). 左室腔内に孤立性の左室仮腱索 (矢頭) が存在しているが, 線維性架橋の内部にも左室仮腱索 (矢印) が埋まり込んでいる. マッソン・トリクローム染色. Bar = 50  $\mu\text{m}$ .

(B) No. 9 (雑種, 6 歳, 去勢済み雌), (C) No. 23 (雑種, 9 歳, 去勢済み雄) および (D) No. 34 (雑種, 15 歳, 去勢済み雄). いずれの線維性架橋も内部に多数の左室仮腱索 (矢印) を包含しており, これらを足場に線維性病変が形成されている. マッソン・トリクローム染色. Bar = 100  $\mu\text{m}$ .



## 第 1 節

### 猫の左室仮腱索に関する形態学的検索

#### はじめに

LVFT に関する形態学的研究は、ヒト以外にも牛、馬、豚、山羊、羊、犬、猫、兎など多くの動物種でなされている[24, 40, 116]。しかしながら、猫の LVFT に関する知見はきわめて乏しく、1984 年の Gerlis ら [40] による健常猫 24 例の検索報告に限られており、その形態学的本態、臨床的意義などについては十分に明らかにされていない。そこで、本節では猫の LVFT の解剖学的意義を明らかにするため、心疾患に罹患していない猫と罹患している猫の心臓を用いて形態学および組織学的検索を実施し、LVFT の解剖学的特徴について調べた。

## 材料 と 方法

### 1. 検索材料

1) 非心疾患群：2012年に薬物の投与実験に用いられ、実験終了後に剖検に供された心疾患を有していない猫12例、ならびに2010～2012年の約3年間に東京農工大学獣医臨床腫瘍学研究室にて剖検を実施した猫156例のうち、臨床的に心疾患を有していないと診断された猫13例、計25例の心臓を非心疾患群として用いた。薬物投与実験に使用された猫12例に関しては実験期間を通じて臨床症状は認められず、身体検査、X線検査、心エコー検査などでも異常はいっさい検出されなかった。剖検を実施した猫13例は、いずれも心疾患以外の原因（慢性腎不全、心臓腫瘍以外の腫瘍性疾患、外傷など）で死亡しており、病理組織学的検索で心臓に異常所見は認められなかった。非心疾患群の猫25例の年齢は3～19歳で、性別は雄14例、雌11例であった。

2) 心疾患群：2010～2012年の約3年間に当研究室にて剖検を実施し、各種心疾患に罹患していることが確認された猫の心臓57例を心疾患群として用いた。心疾患の内訳は、肥大型心筋症（HCM）31例、拡張型心筋症（DCM）7例、不整脈源性右室心筋症（ARVC）4例、原発性もしくは転移性心臓腫瘍15例であった。心疾患罹患群の猫57例の年齢は4～17歳で、性別は雄37例、雌20例であった。なお、当該期間中にRCMと病理診断された猫は23例で、いずれも心内膜心筋型であった。これらの例では左室心内膜の線維性肥厚病変がLVFTを巻き込んでおり、LVFTを詳細に観察できなかったことから、本検索の対象には含めなかった。

### 2. 検索方法

いずれの例においても剖検は死後12時間以内に実施した。各検体の心臓および肺を胸腔内より一括して取りだし、10%中性緩衝ホルマリン液に丸ごと浸漬して5日間以上固定した。心臓の切り出しは以下の手順で実施した。すなわち、組織が十分に固定された後、心臓に傷をつけないように肺および心膜を分離し

た。その後、前乳頭筋と後乳頭筋との間に割が入るように、肺静脈から左室の側壁に沿って心底部から心尖部に向けてハサミを入れ、LVFT を切断しないように細心の注意を払いながら心尖部まで切り開き、心室の内腔に溜まっていた凝固血液を取り除いた後、肉眼的検索を実施した。

肉眼的検索にあたっては、LVFT にフォーカスを当てつつ左室の内腔を精査した。LVFT は、左室内の異なる 2 点間を連結する単一あるいは複数本の線維性索状物で、僧帽弁尖に挿入していないものと定義し、その有無と本数を調べた。さらに、左室内での付着部位を確認して左室内連結パターンとして取りまとめた。その際、LVFT の付着部位を上部（心底部側）、中間部、下部（心尖部側）の 3 つに分類するとともに、LVFT の中間部（付着部位 2 点間の中間地点）における短径をデジタルノギスにて計測した。

上記肉眼的検索の後、心室を冠状溝から心尖までの上 3 分の 2 のレベルで横断した後、心底部側から約 5 mm の厚さで連続的に横断組織片を切り出し、これらを組織学的検索に供した。LVFT を含む部位については、できる限り LVFT が横断されるように切り出した。すべての心室横断組織片を定法に従ってパラフィン包埋し、厚さ約 5  $\mu\text{m}$  の薄切片を作製した後、ヘマトキシリン・エオジン (HE) およびマッソン・トリクローム染色を施して鏡検した。

## 結 果

### 1. 肉眼的検索

#### 1) 非心疾患群

非心疾患猫 25 例のいずれにおいても左室の内腔や僧帽弁装置（僧帽弁，腱索および乳頭筋）に目立った異常は認められなかった。また，心内膜は全例において平滑で固有の透明感と光沢を有していた。

左室の内腔を詳細に観察したところ，本数や太さに違いはみられるもののすべての心臓に LVFT が確認された。LVFT は単一ないしは複数本の細い線維索であり，頻繁に枝分かれしていた。色は灰白色，半透明で特有の光沢を有していた（図 50）。LVFT の本数を調べたところ，観察された LVFT の総本数は 25 例で 89 本（平均：3.6 本），その内訳は 1 本が 2 例，2 本が 4 例，3 本が 4 例，4 本が 8 例，5 本が 7 例であった。なお，LVFT の短径は 0.09～0.71 mm であった。

LVFT の左室内における連結パターンは，タイプ I～V の 5 つに分類された（図 51）。タイプ I の LVFT は PPM と心室中隔とを連結しており，25 例中 25 例（100 %）の心臓で観察された。また，APM と心室中隔とを連結するタイプ II は 25 例中 22 例（88 %），PPM と左室側壁とを連結するタイプ III は 25 例中 17 例（68 %），PPM と心室中隔とを連結するタイプ IV は 25 例中 16 例（64 %），PPM と APM とを連結するタイプ V は 25 例中 9 例（36 %）の心臓に見いだされた（図 52）。なお，LVFT のほとんどは左室の上部あるいは中間部に位置し，左室の内腔を横断していたが，一部は LV 下部に複数本の細い線維索を形成していた。

LVFT の太さは，タイプ I  $0.65 \pm 0.06$  mm（平均±標準偏差），タイプ II  $0.61 \pm 0.05$  mm，タイプ III  $0.32 \pm 0.05$  mm，タイプ IV  $0.29 \pm 0.04$  mm，タイプ V  $0.26 \pm 0.07$  mm であった。



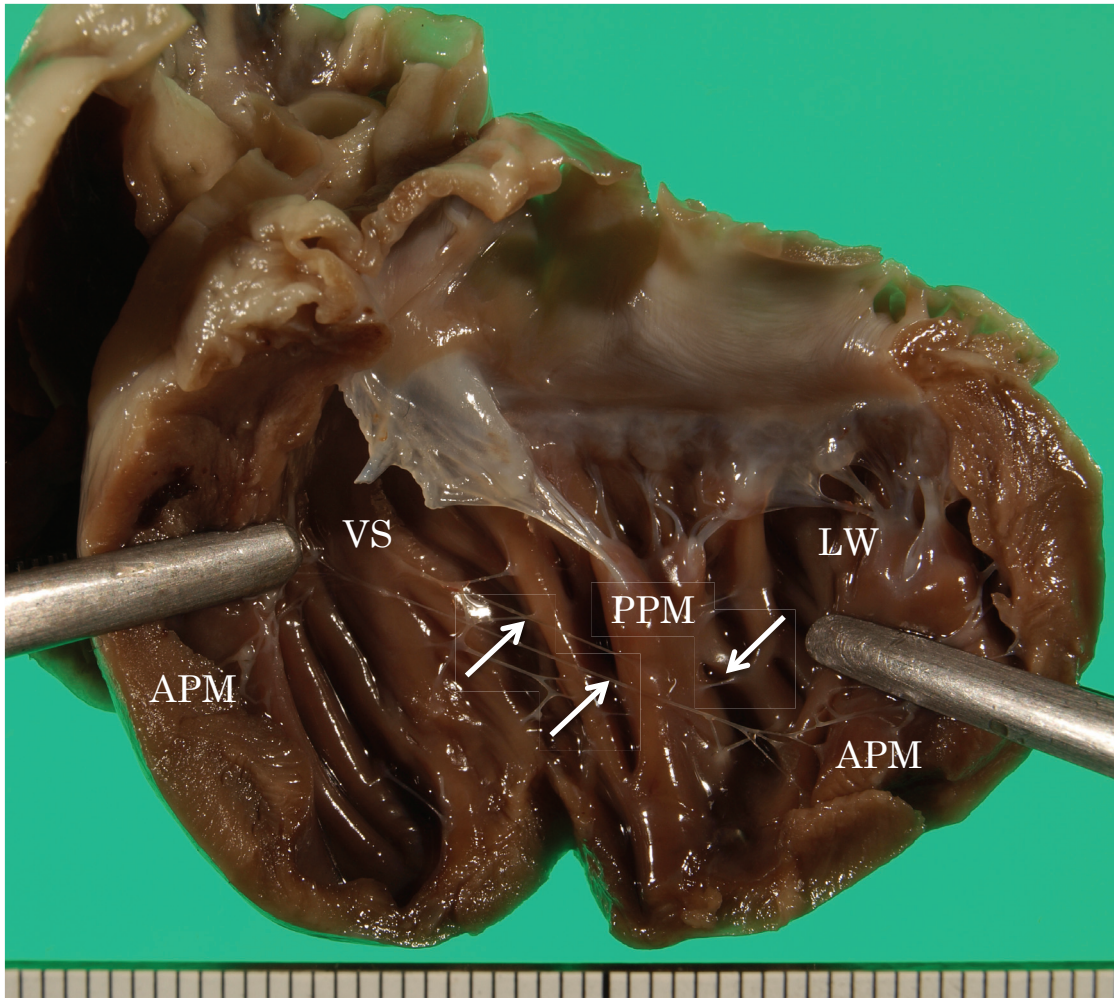


図 50 心疾患を有していない猫（非心疾患猫）の左室内腔。  
左室の内腔面に細い線維索（左室仮腱索）が存在している（矢印）。APM, 前乳頭筋; LW, 側壁; PPM, 後乳頭筋; VS, 心室中隔. 目盛り = 1 mm.

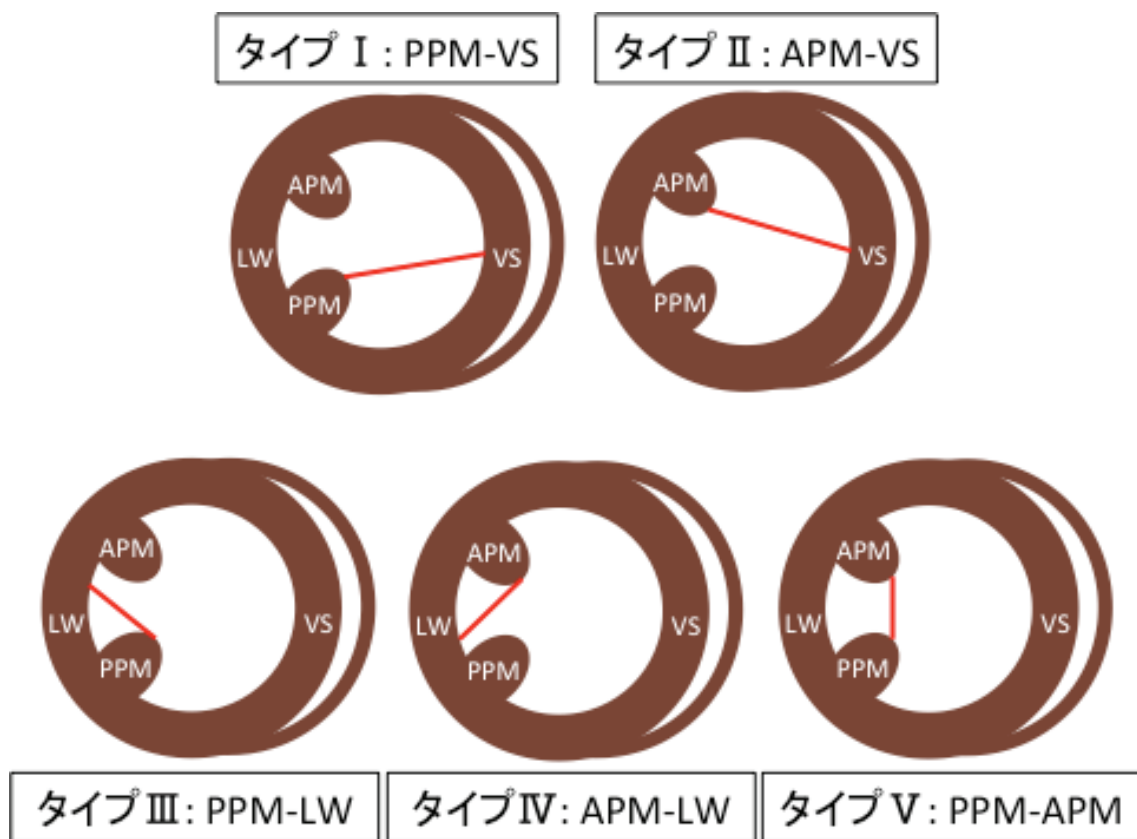


図 51: 左室仮腱索の左室内連結パターンの模式図. APM, 前乳頭筋; LW, 側壁; PPM, 後乳頭筋; VS, 心室中隔.

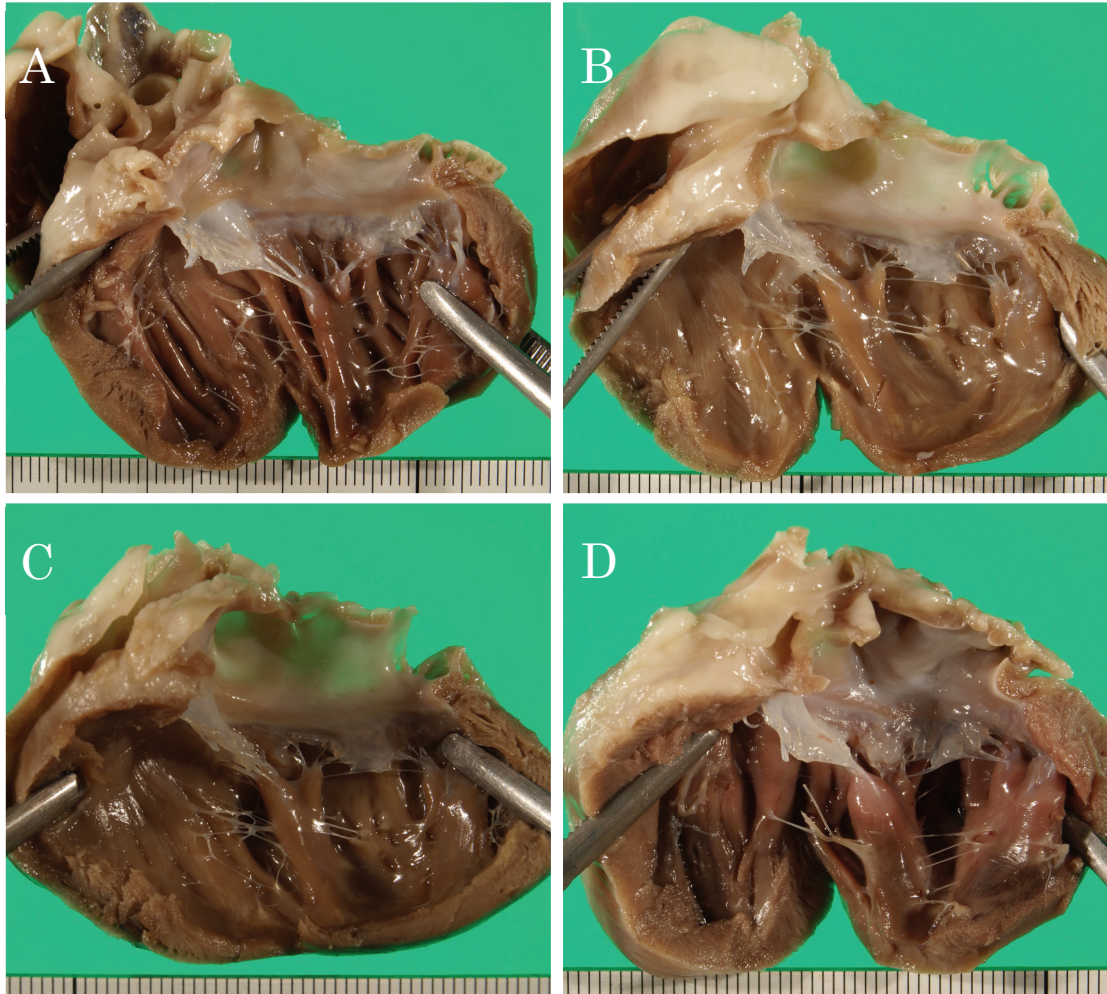


図 52 非心疾患猫の左室内腔

いずれの例でも左室の内膜面に各種タイプの左室仮腱索が観察される：(A) タイプ I, II, III および V；(B) タイプ I および III；(C) タイプ I, III および IV；(D) タイプ I および V. 目盛り = 1 mm.

## 2) 心疾患群

HCM の 31 例では左室自由壁および心室中隔の重度肥厚とそれに伴う左室内腔の狭小化, DCM の 7 例では左室壁, 右室壁および心室中隔の菲薄化と心室腔の顕著な拡張, ARVC の 4 例では右室および右房において内腔の拡張と壁の菲薄化など, それぞれの心疾患に特徴的な形態的異常が認められたが, いずれの心臓においても非心疾患群の左室腔内で観察されたものと同様の LVFT が観察された (図 53~55)。また, 原発性もしくは転移性心臓腫瘍の 15 例には, 腫瘍組織の浸潤・増殖に伴う心筋の混濁・褪色および/あるいは腫瘤形成とそれに伴う左室内腔の狭小化が種々の程度に認められた。しかしながら, これらの症例においても非心疾患群と同様, 全例の左室腔内に LVFT が存在していた (図 56)。心疾患群 57 例のすべての心臓に見いだされた LVFT の総数は計 201 本(平均 3.5 本) で, その太さは 0.07~0.83 mm であった。

心疾患群 57 例における連結パターン別にみた例数と線維索の太さ (例数/太さ) は, タイプ I : 56 例 (98 %) / 0.67±0.06 mm, タイプ II : 48 例 (84 %) / 0.62±0.06 mm, タイプ III : 41 例 (72 %) / 0.33±0.05 mm, タイプ IV : 32 例 (56%) / 0.31±0.05 mm, タイプ V : 24 例 (42 %) / 0.28±0.07 mm であった。なお, LVFT の付着部位についてはそのほとんどが左室腔内の中間部から上部を横断するパターンのものであった。

## 2. 組織学的検索

LVFT の組織構築は, 非心疾患群, 心疾患群ともにまったく同一であった。すなわち, 中心部の領域をプルキンエ線維束が占め, それらを密実な膠原線維を主体とした線維性結合組織が囲繞し, さらにその表面を 1 層の内皮細胞が被覆していた (図 57A)。上述した密実な線維性結合組織層と内皮細胞との間に繊細かつ疎な線維性結合組織からなる領域を伴っている例がしばしば観察された。なお, 密あるいは疎な線維性結合組織層内には紡錘形ないしは細長い間葉系細胞が種々の程度に観察された。また, 中心部のプルキンエ線維束を取り囲むよ



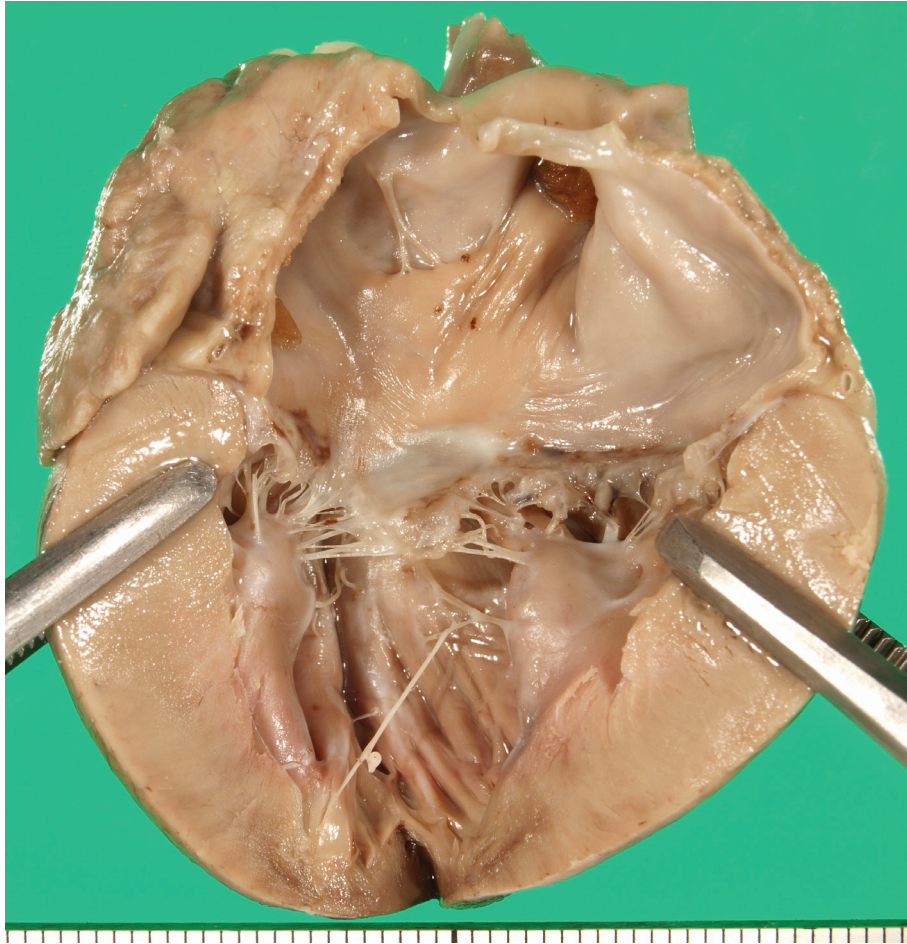


図 53 肥大型心筋症に罹患した心臓の左室内腔。  
左室内腔内にタイプ I および II の左室仮腱索が観察される。目盛り = 1 mm.

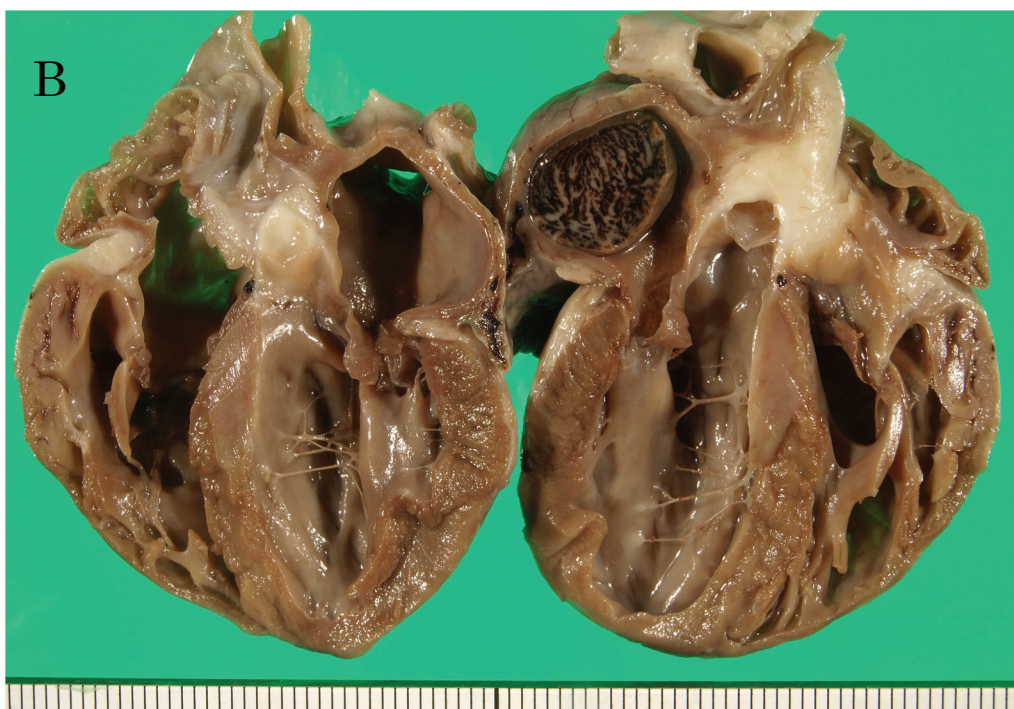


図 54 拡張型心筋症に罹患した心臓の左室内腔。  
いずれも左室腔内に左室仮腱索が観察される：(A) タイプ I, II, III  
および IV；(B) タイプ I, II, III および IV. 目盛り = 1 mm.



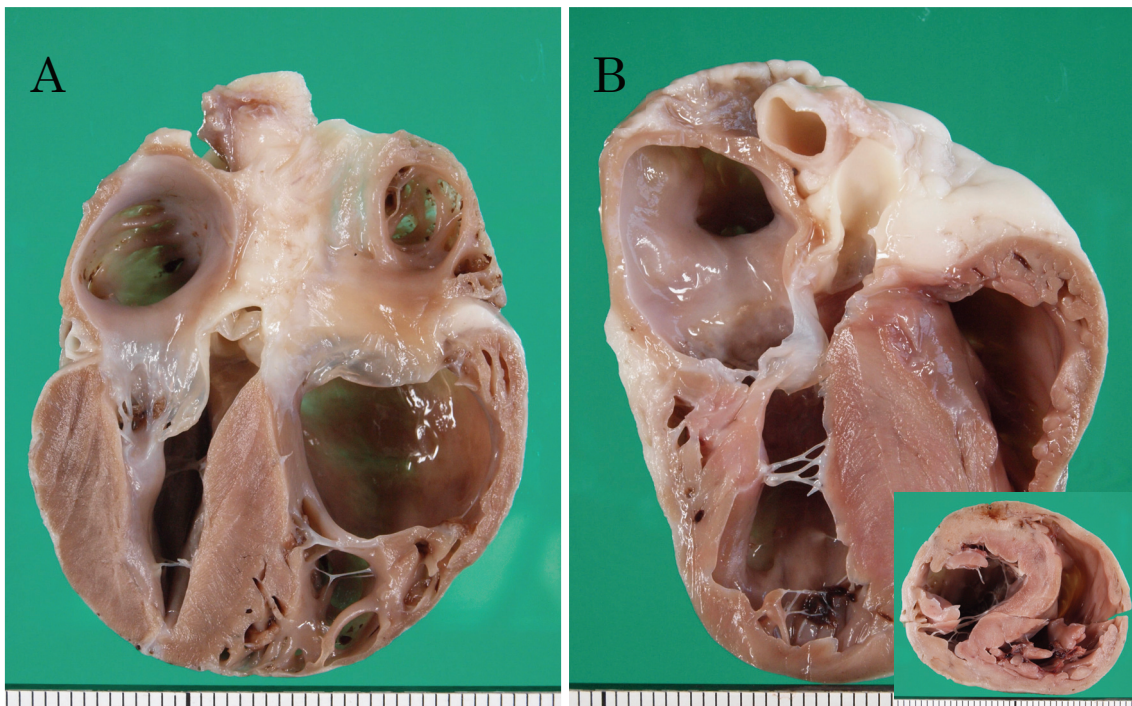


図 55 不整脈源性右室心筋症に罹患した心臓の左室内腔.

いずれも左室腔内に左室仮腱索が観察される：(A) タイプⅡ；(B) タイプⅠ. 目盛り = 1 mm.

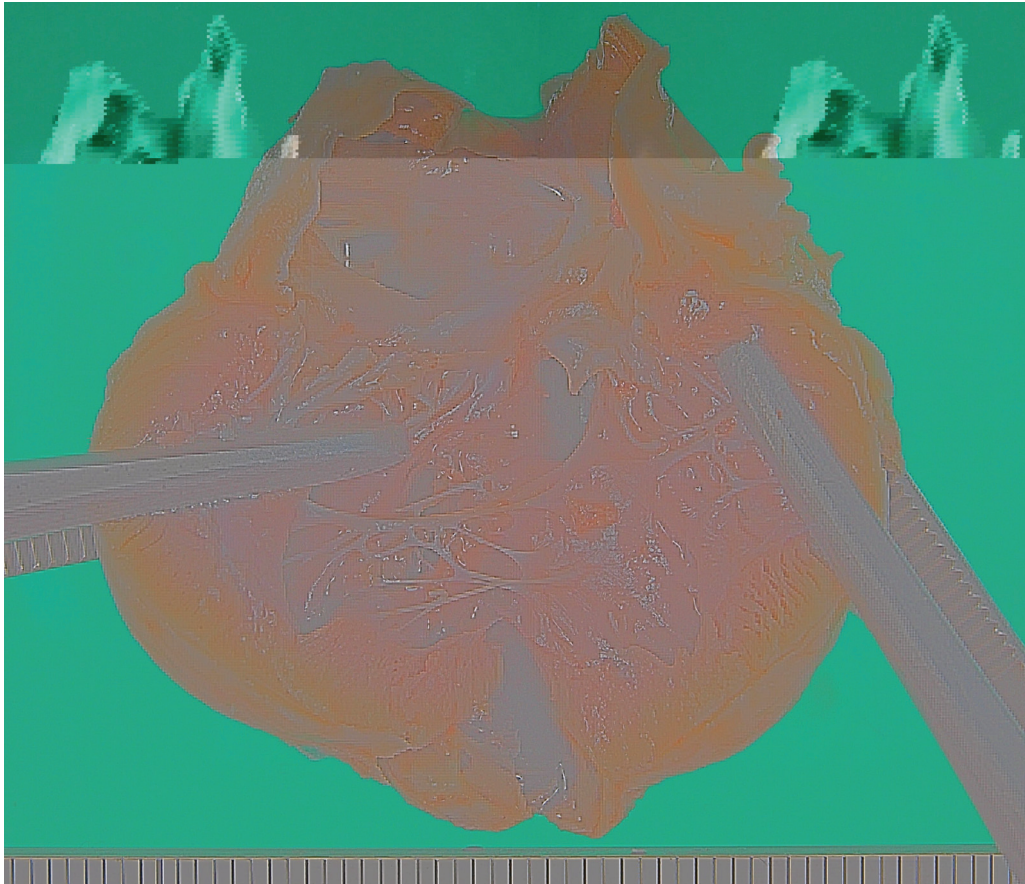


図 56 転移性腫瘍（リンパ腫）に罹患した心臓の左室内腔.  
左室内腔内にタイプ I および II の左室仮腱索が観察される. 目盛り =  
1 mm.



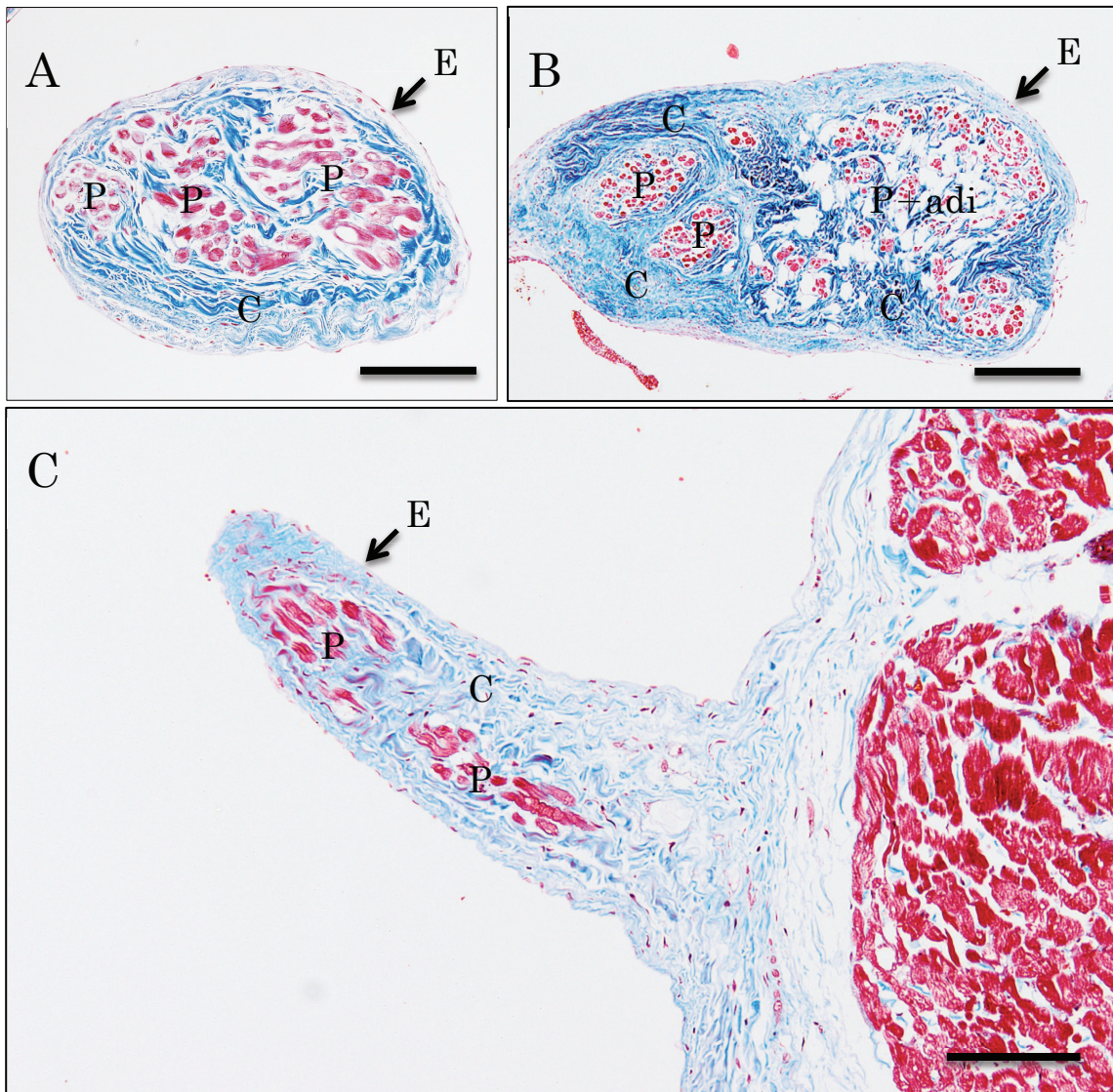


図 57 左室仮腱索の組織像.

(A) 通常の左室仮腱索では、中心部に位置するプルキンエ線維束を密実な線維性結合組織層が囲繞し、その外側を 1 層の内皮細胞が被覆している。

(B) 太めの左室仮腱索では、プルキンエ線維束を取り囲む線維性結合組織層と内皮細胞の間に、間葉系細胞の増殖を伴った繊細な線維性結合組織の増生が加わっている。また、中心部のプルキンエ線維束の周囲には脂肪組織もみられる。

(C) 左室仮腱索と左室壁との付着部では、心内膜が軽度に線維性肥厚しているが、炎症性機転の関与はみられない。

C, 線維性結合組織; E, 内皮細胞; P, プルキンエ線維束; adi, 脂肪組織. マッソン・トリクローム染色. Bar = 100  $\mu$ m.

うに脂肪組織が観察される例もみられた (図 57B)。一般に, LVFT の太さはプルキンエ線維および線維性結合組織の量を反映していた。一方, LVFT 付着部の左室心内膜は軽度に肥厚していたが, 炎症性の機転はいっさい認められなかった (図 57C)。

## 考 察

これまでも各種の哺乳類を対象とした LVFT の形態学的研究は多数なされており、LVFT は左室内腔にみられる一般的な構造物として認識されている [40, 77]。Gerlis ら [40] は 6 種類の動物の心臓を解剖学的に検索し、羊 42 例、馬 20 例、猫 24 例および犬 12 例の全例に LVFT を見いだすとともに、牛の 25 例中 23 例 (92%)、豚の 36 例中 31 例 (86%) にも LVFT を認めている。さらに、その検出頻度は全動物種を併せて 96% (159 例中 152 例) であったとしている。また、Kervancioglu ら [69] の報告では、犬の 20 例中 14 例 (70%)、羊の 50 例中 41 例 (82%)、山羊の 20 例中 16 例 (80%) に LVFT を見いだしている。また、Deniz ら [24] では検索した全動物種の 86% (山羊 : 88%, 羊 : 92%, 犬 : 77%) に LVFT を認めている。さらに、豚を対象とした 2 つ報告では、20 例中 19 例 (95%) [50] および 14 例全例 [118] に LVFT が認められている。これらの報告をヒトのそれと比較すると、動物ではヒトよりも高頻度に LVFT が形成されているようである (動物 : 70~100%, ヒト : 34~68%)。

猫についてみると、Gerlis ら [40] が検索した 24 例ではそのすべてに LVFT が見いだされている。また、本研究では計 82 例の猫 (非心疾患群 25 例および心疾患群 57 例) を対象に検索を実施したところ、心疾患の有無に関係なく、全例に LVFT が存在していた。これらの結果を考え合わせると、LVFT は猫の左室内腔内にみられる正常な解剖学的構築であることが明らかになった。一方、LVFT の左室内連結パターンについて調べた過去の文献では、いずれにおいても LVFT は主に乳頭筋と心室中隔とを連結しており [40, 50, 91, 94, 119]、今回の検索結果と一致していた。なお、タイプごとに LVFT の太さを比較してみると、タイプ I (PPM と VS を連結) およびタイプ II (APM と VS を連結) の LVFT はその他のタイプよりも太かったことから、タイプ I およびタイプ II に分類される LVFT が猫の LVFT の主体をなすものと推察された。

組織学的にヒト、犬および豚の LVFT は筋線維、線維性結合組織、刺激伝導

系組織および細・小血管が種々の割合で混在することにより構成されている [50, 69, 119]。羊の LVFT では線維性結合組織と刺激伝導系組織が主体をなしており、筋線維や血管はあまりみられないとされる一方で、山羊の LVFT は線維性結合組織と刺激伝導系組織のみで構成されているとの報告もある [24]。今回の組織学的検索では、猫の LVFT は通常、中心部に位置するプルキンエ線維束とそれを囲繞する密実な膠原線維、ならびにそれらを被覆する内皮細胞からなり、他の動物種と共通点はみられるものの異なる組織構築を示していた。

今回の肉眼的検索の結果から、猫の LVFT の主要な左室内連結パターンは PPM と心室中隔を連結するタイプ（タイプ I ; 25 例中 25 例）ならびに APM と心室中隔を連結するタイプ（タイプ II ; 25 例中 22 例）の 2 つであることが明らかになった。すなわち、猫の LVFT の主体をなす左室内連結パターンは、斑状肥厚パターンを示す猫の心内膜心筋型 RCM で形成される線維性架橋の連結パターンと呼応していることが分かる。しかしながら、今回の検索で明らかになった LVFT の本数と RCM 罹患心臓の線維性架橋内部に存在している LVFT の本数を比較すると、前者は平均 3.6 本であったのに対して、後者の線維性架橋内部にはそれよりもはるかに多くの LVFT（平均 : 8.2 本）が存在していた。これらの結果については、一方が肉眼的検索から、そしてもう一方が組織学的検索から得られたものであるため、両者を単純に比較することはできないが、正常構築としての LVFT のみからでは線維性架橋内に存在する多数の LVFT を説明することができない。したがって、通常の LVFT を足場として線維性架橋が形成されるとする考え方に大きな疑問点が生じた。そこで第 2 節では、過去の報告 [87] においてうっ血性心不全で死亡した猫の左室腔内に形成されていた“異常仮腱索”と呼ばれる構造物に着目し、異常仮腱索の観点から心内膜心筋型 RCM の病理発生について検討することとした。



## 第 2 節

### 猫の左室異常仮腱索に関する形態学的検索

#### はじめに

多数の LVFT から形成される網目状ないしは蜘蛛の巣状の構造物として知られる“異常仮腱索 (excessive moderator bonds)”は、1982 年に Liu ら [87] によって初めて報告された。この報告では、うっ血性心不全で死亡した猫 21 例の心臓内に異常仮腱索が見いだされたことから、この構造物は心不全の発症に関与するものと推察されている。また、Liu らは同報告において異常仮腱索の病理学的特徴を取りまとめており、肉眼的には左室自由壁と心室中隔とを連結し、組織学的には中心部のプルキンエ線維束とそれらを囲繞する密実な線維性結合組織層ならびに最外層の内皮細胞から構成され、内皮細胞と線維性結合組織層の間には繊細な線維性結合組織と線維芽細胞を種々の程度に入れている [87, 89]。これらの報告（いずれにおいても調節帯心筋症 moderator band cardiomyopathy として記載されている）以降、本構造物に関する包括的な臨床報告はほとんどなされておらず、詳細な病理学的特徴や心筋疾患あるいは心不全の発生にかかる意義についてはいまだ明らかにされていない [27, 144, 148]。そこで、本節では当研究室で扱った剖検例のうちで、心臓内に異常仮腱索が形成されていた猫の心臓を対象に詳細な病理学的検索を行った。

## 材料 と 方法

第 1 節では LVFT を「左室内の異なる 2 点間を連結する単一あるいは複数本の線維性索状物で、僧帽弁尖に挿入していないもの」としたが、本節では異常仮腱索 (increased LVFTs) を「多数の LVFT で構成される網目状あるいは蜘蛛の巣状の形態を呈する複雑な線維性構造物で、3 か所以上の付着部位をもつもの」と定義した。

### 1. 検索材料

2005～2014 年の 10 年間に東京農工大学獣医臨床腫瘍学研究室にて剖検を実施した猫 327 例のうち、左室内に increased LVFTs が形成されていた心疾患罹患猫および非心疾患猫、併せて 19 例を検索対象とした。症例の内訳は、非心疾患 9 例、HCM 2 例、ARVC 1 例、心内膜心筋型 RCM (いずれも斑状肥厚パターン) 7 例である。年齢は 3～17 歳で、性別は雄 10 例、雌 9 例であった。

### 2. 検索方法

いずれの例についても剖検は死後 12 時間以内に実施した。各検体の心臓および肺を胸腔内より一括して取りだし、10%中性緩衝ホルマリン液に丸ごと浸漬して 5 日間以上固定した。非心疾患猫の心臓の切り出しは以下の手順で実施した。すなわち、組織が十分に固定された後、心臓に傷をつけないように肺および心膜を分離した。その後、前乳頭筋と後乳頭筋との間に割が入るように、肺静脈から左室の側壁に沿って心底部から心尖部に向けてハサミを入れ、LVFT を切断しないように細心の注意を払いながら心尖部まで切り開き、心室の内腔に溜まっていた凝固血液を取り除いた後、左室の内腔を詳細に観察した。なお、increased LVFTs はその複雑かつ特殊な形態から第 1 節で行ったような形態計測を実施することはできなかったが、おおまかな太さと左室内連結パターンについて取りまとめることは可能であった。

肉眼的検索にあたっては、左室の内腔を詳細に観察し、特に increased LVFTs 付着部位を精査した。その後、心室を冠状溝から心尖までの上 3 分の 2 のレベ

ルで横断した後，心底部側から約 5 mm の厚さで連続的に横断組織片を切り出し，これらを組織学的検索に供した。すべての心室横断組織片を定法に従ってパラフィン包埋し，厚さ約 5  $\mu\text{m}$  の薄切片を作製した後，ヘマトキシリン・エオジン（HE）およびマッソン・トリクローム染色を施して鏡検した。

## 結 果

### 1) 肉眼的検索

検索した 19 例の左室腔内には、心疾患の有無に関係なく、種々の太さを有する多数の LVFT が網目状ないしは蜘蛛の巣状に密なメッシュワークを形成していた。非心疾患猫、HCM および ARVC 罹患猫併せて 12 例にみられた increased LVFTs は、灰白色～黄褐色で表面が平滑ないしはやや粗造であり、APM および／あるいは PPM と心室中隔とを連結していた。また、これら 12 例では increased LVFTs が付着している部位の左室心内膜が、白色～灰白色を呈して限局性に肥厚していた（図 58-60）。一方、心内膜心筋型 RCM 罹患猫 7 例にみられた increased LVFTs はいずれも、その一部あるいはかなりの領域が線維性架橋と連結ないしは線維性架橋内に巻き込まれるような形態をとっていた（図 61）。

increased LVFTs を構成する個々の LVFT の太さにはかなりのばらつきがみられた。すなわち、非心疾患猫と HCM および ARVC 罹患猫では、increased LVFTs を構成する個々の LVFT は通常のそれと同程度の太さであったが、心内膜心筋型 RCM 罹患猫でみられた increased LVFTs を構成する個々の LVFT はかなり太いものが多く、2～4 mm 径に達するものもみられた。なお、左室内連結パターンを調べたところ、increased LVFTs はいずれも APM および／あるいは PPM と心室中隔とを連結しており、その内訳は APM および PPM と心室中隔を連結するパターンが 19 例中 13 例、APM と心室中隔を連結するパターンが 19 例中 3 例、PPM と心室中隔を連結するパターンが 19 例中 3 例であった。

### 2) 組織学的検索

非心疾患猫と HCM および ARVC 罹患猫の increased LVFTs を構成する細めの LVFT の組織構築は、通常の LVFT のそれとおおむね同様であった。すなわち、基本的に中心部のプルキンエ線維束とそれらを囲繞する密実な線維性結合組織層および最外層の内皮細胞で構成されており、内皮細胞と線維性結合組織



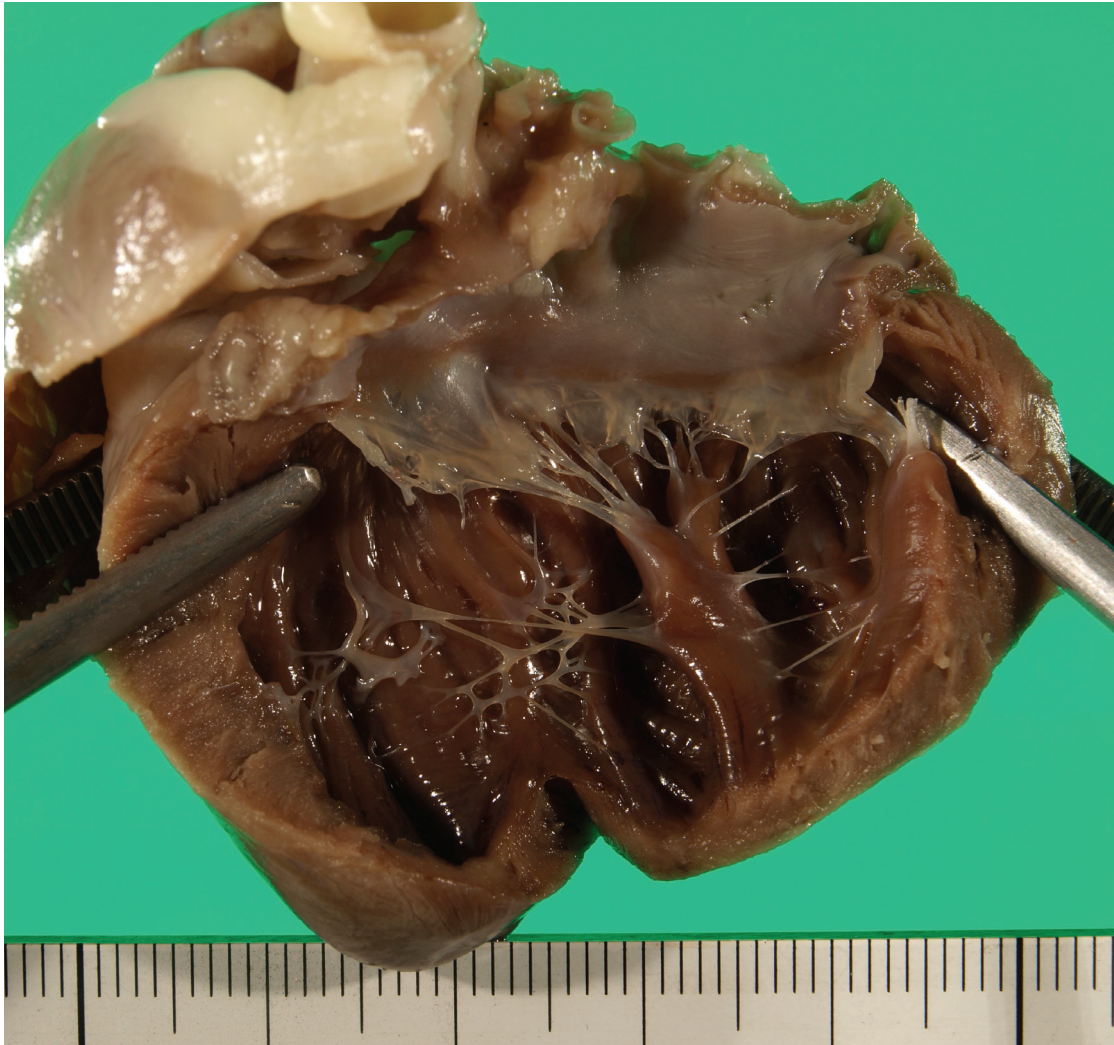


図 58 非心疾患猫の左室腔内.  
左室の内腔には多数の左室仮腱索からなる網目状ないしは蜘蛛の巣状の線維性構造物 (increased LVFTs) が形成されている. 目盛り = 1 mm.

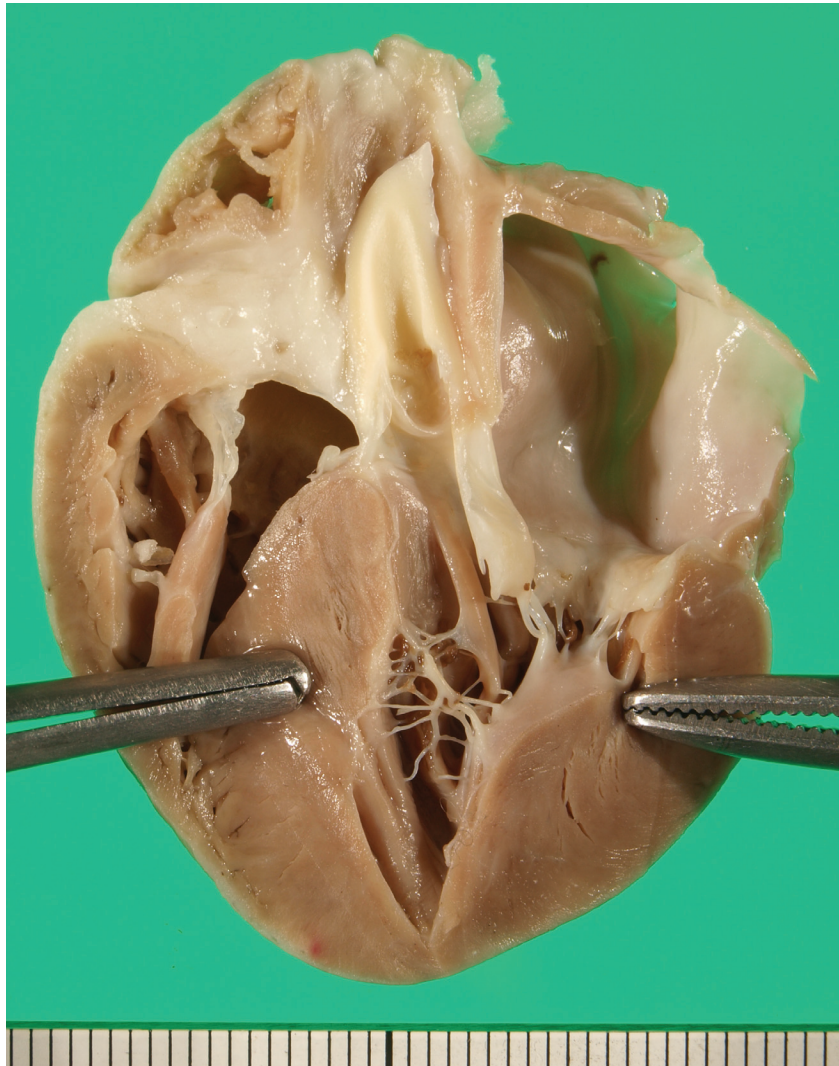


図 59 肥大型心筋症に罹患した心臓の左室腔内.  
狭小化した左室の内腔には increased LVFTs が観察される, 後乳頭筋  
と心室中隔とを連結している. 目盛り = 1 mm.



図 60 不整脈源性右室心筋症に罹患した心臓の左室腔内.  
左室の内腔には多数の左室仮腱索からなる increased LVFTs が観察される. 目盛り = 1 mm.



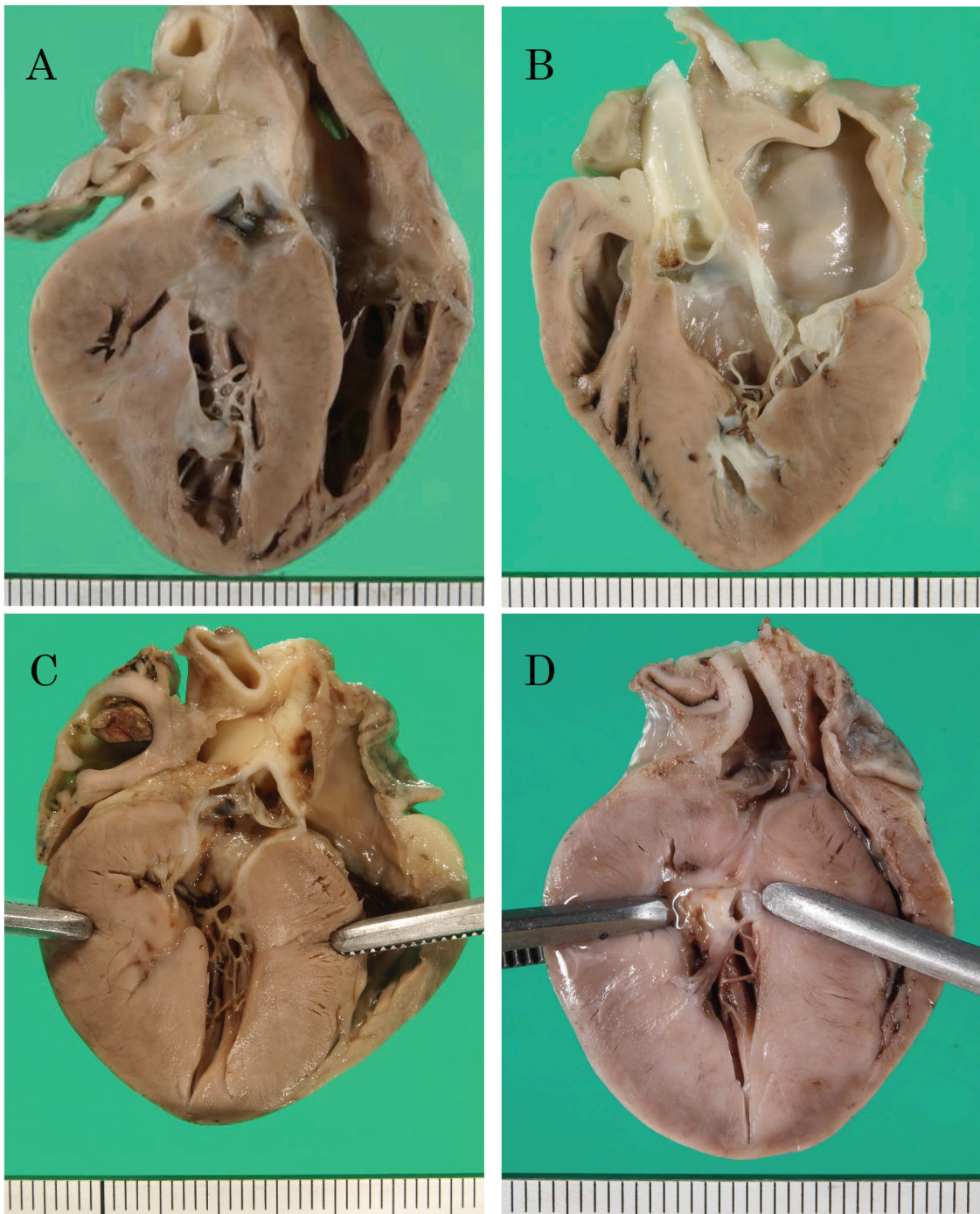


図 61 心内膜心筋型 RCM (斑状肥厚パターン) に罹患した心臓の左室腔内。左室の内腔にみられる increased LVFTs は、いずれも線維性架橋に連結するように (A および B) , あるいは線維性架橋に巻き込まれる形で (C および D) 形成されている。目盛り = 1 mm.



層との間には繊細な線維性結合組織および線維芽細胞様の紡錘形細胞を種々の程度に携えていた(図62)。一方,心内膜心筋型RCM罹患猫でみられた **increased LVFTs** を構成する太いLVFTでは,中心部のプルキンエ線維束を囲繞する密実な線維性結合組織層と内皮細胞の間に豊富な酸性粘液多糖類を伴った繊細な線維性結合組織が増生し,その内部では紡錘形~星芒状の間葉系細胞が活発に増殖していた(図63)。なお, **increased LVFTs** の付着部位に炎症性変化はいっさい認められなかった。

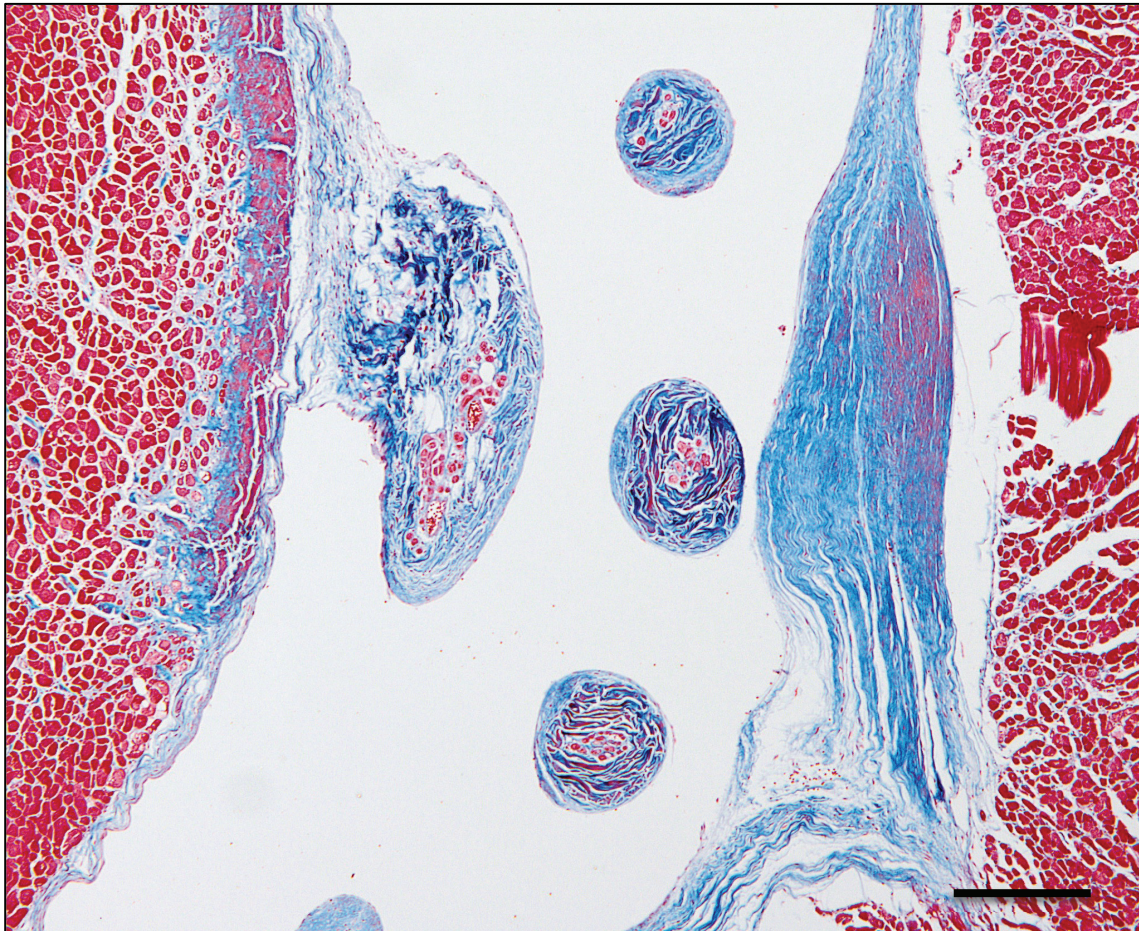


図 62 不整脈源性右室心筋症に罹患した心臓にみられた increased LVFTs の組織像.

Increased LVFTs を構成する個々の LVFT の組織構築は通常の LVFTs と同様、中心部のプルキンエ線維束とそれらを囲繞する密実な線維性結合組織層ならびに最外層の内皮細胞で形成されている. マッソン・トリクローム染色. Bar = 100  $\mu$ m.



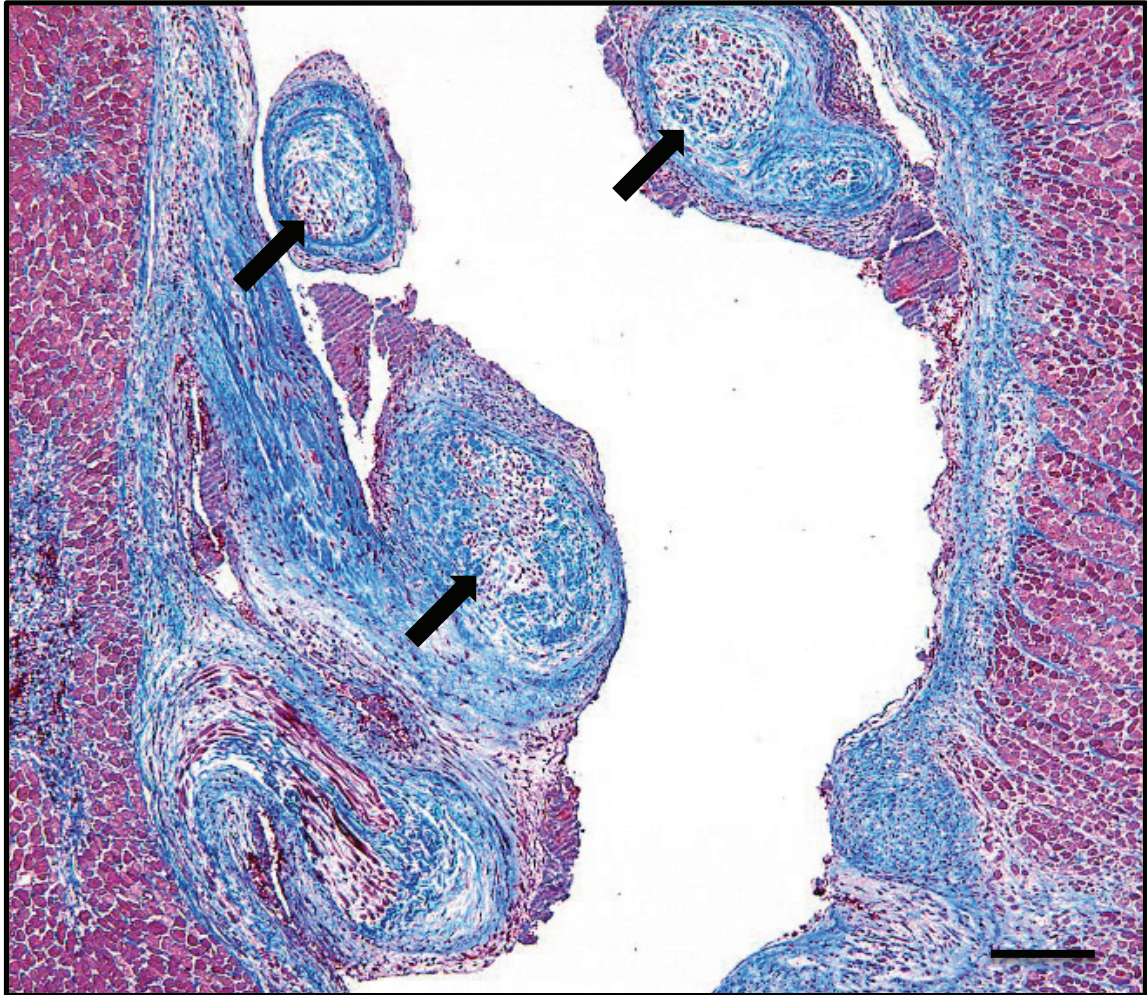


図 63 心内膜心筋型 RCM (斑状肥厚パターン) に罹患した心臓にみられた increased LVFTs 組織像.

Increased LVFTs を構成する太い LVFT では, 既存の LVFT (矢印) を取り囲むように紡錘形～星芒状の間葉系細胞の増殖と緻細～密実な線維性結合組織が増生している. マッソン・トリクローム染色. Bar = 100  $\mu$ m.

## 考 察

第 1 節では猫の左室腔内にみられる正常構造物としての LVFT について検索したが、本節では多数の LVFT によって形成される網目状ないし蜘蛛の巣状の構造物である“increased LVFTs”の病理学的特徴について調べた。

肉眼的検索では、increased LVFTs はすべて APM もしくは PPM と心室中隔とを連結しており、increased LVFTs の左室内連結パターンが通常の LVFT と同様、心内膜心筋型 RCM でもっとも一般的にみられる線維性架橋の左室内連結パターンとおおむね一致していることが明らかになった。組織学的検索では、非心疾患猫と HCM および ARVC 罹患猫で観察された increased LVFTs の組織構築は通常の LVFT と同様であったが、心内膜心筋型 RCM の心臓に形成されていた increased LVFTs は通常の LVFT の辺縁部および周囲に活発に増殖した紡錘形～星芒状の間葉系細胞ならびに顕著に増生した繊細な膠原線維を主体とした幼若な線維性結合組織を携えていた。換言すると、心内膜心筋型 RCM 罹患猫の心臓に形成されていた increased LVFTs の組織構築は、基本的に斑状肥厚パターンでみられる線維性架橋のものとおおむね一致していることが示された。さらに、心内膜心筋型 RCM 罹患心臓で観察された increased LVFTs は、いずれも線維性架橋と連結するように、あるいは線維性架橋に巻き込まれる形で形成されていたことから、これらは increased LVFTs と線維性架橋の中間的な位置づけにある病変とみなされる。上述のように increased LVFTs の肉眼的および組織学的特徴が線維性架橋とおおむね一致していること、そして increased LVFTs と線維性架橋との中間的な位置づけにある病変が心内膜心筋型 RCM 罹患猫の左室に形成されていたことを考え合わせると、猫の心内膜心筋型 RCM で形成される線維性架橋は第 1 節で検索した通常の LVFT ではなく、increased LVFTs を足場に形成されるものと考えられた。ちなみに、猫の心筋症に関する 2009 年の Ferasin [28] の総説において、過去の報告 [13, 27] で“moderator band cardiomyopathy”あるいは“excessive moderator band”と呼ばれていた心



疾患は、いずれも心内膜心筋型 RCM の一形態にすぎないのではないかと考察している点はきわめて興味深い。

うっ血心不全で死亡した 21 例の猫を病理学的に検索した Liu ら [87] の報告では、increased LVFTs (文献中では excessive moderator band として記されている) の存在が心不全の発生に関連していたと考察しており、その病理発生については不明であるが高齢猫と同様に若齢猫にも認められたことから、increased LVFTs は先天性の異常な構造物である可能性が高いとしている。しかしながら、同報告における猫 21 例の心臓重量・体重比 (g/kg)  $4.5 \pm 0.2$  g/kg は、HCM や RCM に罹患した猫の心臓重量・体重比 (それぞれ  $6.3 \pm 0.1$  g/kg,  $6.4 \pm 0.3$  g/kg) よりも小さく、かつ臨床的に正常な猫のもの ( $4.8 \pm 0.1$  g/kg) と同等であった。また、Fox [31] は increased LVFTs (文中では increased LV moderator bands と表記している) が多くの健康な猫の心臓にもみられることから、increased LVFTs が異常な左室内構造物とされることに疑問を抱いている。本研究では、increased LVFTs は心疾患の有無に関わらず観察され、検体数も心疾患猫と非心疾患猫とでほぼ同じであったことから、やはり increased LVFTs は異常な構造物というよりもむしろ正常な LVFT の一形態として捉えるのが妥当であろうと推論された。

## 小 括

本章では猫の左室内に存在する線維性索状構造物として知られる LVFT の形態学的特徴を取りまとめるとともに、猫の心内膜心筋型 RCM の病理発生にかか  
る意義を明らかにすることを目的とした検索を行った。第 1 節では、猫の LVFT  
の解剖学的意義を明らかにするため、非心疾患猫 25 例および心疾患猫 57 例を  
対象に形態学的・組織学的検索を実施し、LVFT の解剖学的特徴について調べ  
た。肉眼的に、猫の LVFT は心疾患の有無に関係なく、全例の左室内に存在し  
ていた。このことから、LVFT は猫の左室腔内における正常な解剖学的構造物  
であることが明らかになった。LVFT の付着部位から左室内連結パターンを調  
査したところ 5 つに分類 (タイプ I ~ V) され、そのうち PPM と心室中隔とを  
連結するタイプ (タイプ I : 100%) と APM と VS とを連結するタイプ (タイ  
プ II : 88%) の LVFT がほぼすべての猫の左室内に存在していた。さらに、そ  
の太さを調べたところ、タイプ I ( $0.65 \pm 0.06$  mm) およびタイプ II ( $0.61 \pm$   
 $0.05$  mm) は他のタイプよりも太かった。以上の結果から、タイプ I およびタ  
イプ II の LVFT が猫の LVFT の主体をなすものと推察された。LVFT の組織構  
築は、非心疾患群、心疾患群ともにまったく同一であった。すなわち、中心部  
の領域をプルキンエ線維束が占め、それらを密実な膠原線維を主体とした線維  
性結合組織が囲繞し、さらにその表面を一層の内皮細胞が被覆していた。第 1  
節の肉眼的検索の結果、猫の LVFT の主体をなす左室内連結パターン (タイプ  
I およびタイプ II) が、斑状肥厚パターンを示す猫の心内膜心筋型 RCM で形成  
される線維性架橋の連結パターンと呼応していることが示された。しかしなが  
ら、LVFT の本数を調べたところ平均 3.6 本であったのに対し、線維性架橋内部  
にはそれよりもはるかに多くの LVFT (平均 : 8.2 本) が存在していた。したが  
って、正常構築としての LVFT のみからでは線維性架橋内部に存在する多数の  
LVFT を説明できなかった。そこで、第 2 節では多数の LVFT から構成される  
“異常仮腱索 (increased LVFTs)” と呼ばれる構造物に着目し、心臓内に

increased LVFTs が形成されていた非心疾患猫および心疾患（HCM, ARVC, 心内膜心筋型 RCM）猫，併せて 19 例を対象に詳細な病理学的検索を行い，心内膜心筋型 RCM の病理発生との関連性について検討することとした。肉眼的に，いずれの例でも increased LVFTs は APM および／あるいは PPM と心室中隔とを連結しており，線維性架橋の連結パターンと一致していることが判明した。組織学的に，非心疾患猫と HCM および ARVC 罹患猫で観察された increased LVFTs の組織構築は通常の LVFT と同様であったが，心内膜心筋型 RCM の心臓に形成されていた increased LVFTs は通常の LVFT の辺縁部および周囲に活発に増殖した紡錘形～星芒状の間葉系細胞ならびに顕著に増生した繊細な膠原線維を主体とした幼若な線維性結合組織を携えていた。すなわち，心内膜心筋型 RCM で認められた increased LVFTs の組織構築は，基本的に斑状肥厚パターンで見られる線維性架橋のものとおおむね一致していた。加えて，心内膜心筋型 RCM 罹患猫の心臓で観察された increased LVFTs はいずれも線維性架橋と連結するように，あるいは線維性架橋に巻き込まれる形で形成されていたことから，これらは increased LVFTs と線維性架橋の中間的位置付けにある病変だとみなされた。以上の結果を勘案すると，線維性架橋は通常の LVFT ではなく，increased LVFTs を足場として形成されるものと考えられた。また，increased LVFTs は心疾患の有無に関わらず観察されたことから，異常な構造物というよりはむしろ正常な LVFT の一形態であろうと推論された。

## 総 括

本研究では、猫の重要な心疾患の1つとされているにも関わらず、体系的な研究がほとんどなされていない、心内膜心筋型 RCM の疫学、臨床および病理学的特徴を包括的に取りまとめるとともに、その病理組織学的特徴を多角的に検証することで、本疾患の病理発生に関する新たな情報を得た。

第1章では、猫の心内膜心筋型 RCM の疫学および臨床に関する情報を得るべく、2007～2014年の約8年間に当研究室にて心内膜心筋型 RCM と病理診断した猫41例を対象に回顧的調査を行い、その疫学および臨床的特徴を取りまとめた。当該期間に剖検を実施した心疾患罹患猫327例のうち心筋症例は100例あり、その内訳はHCM 34例(34%)、DCM 12例(12%)、ARVC 11例(11%)、心筋型 RCM 2例(2%)であり、心内膜心筋型 RCM の割合(41%)がもっとも高かった。本疾患に発生頻度については十分に明らかにされていないが、この結果から、その発生頻度は従来の報告よりも高い可能性が示された。今回検索した心内膜心筋型 RCM 罹患猫41例では1例(チンチラ)を除くすべてが雑種(日本猫)だった。今回検索した猫の死亡時平均年齢は7.4 ± 4.8歳(中央値:6歳)で、過去の報告とおおむね同様の結果だった。今回の41例は雄25例(61%)、雌16例(39%)からなっており、有意な差は認められなかったものの、雄に多くみられる傾向があった。心内膜心筋型 RCM 罹患猫が示す臨床症状は呼吸促迫や呼吸困難が41例中35例(85%)ともっとも多く、ATEに起因する後肢の不全麻痺もしくは完全麻痺は41例中17例(41%)にみられた。身体検査、血液検査、心電図検査ならびにX線検査では疾患特異的な所見は得られなかった。Bモード心エコー検査では、特徴的な所見として左室心内膜面の不整な高エコー輝度領域および/あるいは左室内腔を横断する高エコー輝度の索状構造物がかなり高い確率(41例中36例;88%)で観察された。これらの所見は他の心筋症や心疾患にはみられないため、本疾患に特異的な所見だとみなされる。今回の検索では、心内膜心筋型 RCM 罹患猫の診断後の生存期間は1



～977日（平均±標準偏差: 103±183日）で、いずれの例も積極的な治療が施されたにも関わらずその多くが1ヶ月以内（生存期間中央値: 30日）に死亡していた。したがって、本疾患はヒトのRCMと同様に非常に予後が悪い疾患であるといえる。

第2章では、2004年のFoxによる報告以降、病理学に関する新たな情報が示されていない猫の心内膜心筋型RCMについて、特にもっとも特徴的な病理所見の1つとされる左室心内膜の線維性肥厚病変の病理形態像を体系的に検索するとともに、これまで明らかにされていなかった本疾患の病理発生ならびに病因を追究するため、第1章で対象とした心内膜心筋型RCM罹患猫41例の心臓を対象に病理形態学的、免疫組織化学的および分子生物学的手法を用いた各種検索を実施した。肉眼的に、左室心内膜病変の分布様式は2つに大別された（境界ラインが不明瞭な例もしばしばみられた）。もっとも多くみられたのは、1本ないしは複数本の梁柱状の線維性構造物あるいは幅広・大型・不整形で帯状ないしは斑状の線維性構造物が、前乳頭筋（APM）および／あるいは後乳頭筋（PPM）と心室中隔を連結しているパターンのものであった（斑状肥厚パターン; 34/41例）。一方、比較的少数例ではあったが、心内膜の線維性肥厚病変が左室のほぼ全域を巻き込んでいるパターンもみられた（び慢性肥厚パターン; 7/41例）。組織学的に、心内膜病変は様々な形態を示す間葉系細胞の増殖ならびに膠原線維と粘液状基質とを種々の程度にまじえた線維性結合組織の増生からなっていた。さらに、左室心内膜病変はその構成要素となる膠原線維の成熟度ならびに病変内部に存在する間葉系細胞の形態や数から3つのタイプに分類された。タイプ1の心内膜病変は豊富な酸性粘液多糖類を携えた未熟で繊細な線維性結合組織と多数の紡錘形～星芒状細胞からなっていた。一方、タイプ2の心内膜病変では、上層（浅層）側はタイプ1に類似した組織構築を示し

たのに対して、下層（深層）側は密実な線維性結合組織からなっており、紡錘形～星芒状細胞はかなり減少していた。さらに、タイプ3の心内膜病変はタイプ1や2よりも細胞成分に乏しくかつ十分に成熟した密実な線維性結合組織からなっていた。また、各タイプの心内膜病変を有していた猫の死亡時平均年齢は、タイプ1： $1.8 \pm 1.4$  歳（範囲 0.3 - 3.0 歳）、タイプ2： $5.5 \pm 2.6$  歳（範囲 2 - 11 歳）、タイプ3： $10.2 \pm 5.2$  歳（範囲: 3 - 19 歳）で、各タイプの死亡時平均年齢には有意差がみられた（ $P < 0.001$ ）。このように、左室の心内膜病変には年齢に呼応した変化がみられたため、本疾患は経年齢的に進行する疾患だと推察された。一方、斑状肥厚パターンにおいて形成される梁柱状、幅広・帯状・不整形あるいは斑状心内膜病変内には必ず多数の左室仮腱索が存在しており、左室仮腱索の周囲に間葉系細胞が同心円状に増殖、繊細～密実な線維性結合組織を旺盛に産生することで心内膜病変が形成されていた。このことから、左室仮腱索は斑状肥厚パターンで形成される心内膜病変の“足場”となっている可能性が強く疑われた。免疫組織化学的検索では、心内膜病変の内部で増殖している細胞が平滑筋分化を示す間葉系細胞だと判明し、それらの細胞膜表面および心内膜病変を構成する線維性結合組織内部には平滑筋細胞の増殖および細胞外マトリクスの産生を制御する PDGF および TGF- $\beta$  が発現していた。このことから、心内膜病変は平滑筋分化を示す間葉系細胞が細胞増殖因子などの刺激を受けて活発に増殖、膠原線維や弾性線維などの細胞外マトリクスを過度に産生することで形成されるものと推察された。病理組織学的検索で、41 例すべての心臓の心内膜あるいは心筋層に炎症性機転の関与を示唆する所見は認められなかった。また、real-time PCR を用いた分子生物学的検索でも、14 例の心臓から抽出した DNA あるいは RNA サンプルから検出対象とした 6 種類 (FHV, FPLV, FCV, FCoV, FIV, FeLV) のウイルスゲノムはいっさい検出されなかった。

このことから、少なくとも本検索の範囲内ではウイルス感染に起因する炎症性機転が本症の病理発生に関与していた可能性は極めて低いものと考えられた。

第3章では猫の左室内に存在する線維性索状構造物として知られる左室仮腱索 (LVFT) の形態学的特徴を取りまとめるとともに、猫の心内膜心筋型 RCM の病理発生にかかる意義を明らかにすることを目的とし、2節からなる検索を行った。第1節では、猫の LVFT の解剖学的意義を明らかにするため、非心疾患猫 25 例および心疾患猫 57 例を対象に形態学的・組織学的検索を実施し、LVFT の解剖学的特徴について調べた。肉眼的に、猫の LVFT は心疾患の有無に関係なく、全例に LVFT が存在していた (平均 3.6 本)。このことから、LVFT は猫の左室腔内における正常な解剖学的構造物であることが明らかになった。LVFT の付着部位から左室内連結パターンを調査したところ 5 つに分類 (タイプ I ~ V) され、そのうち PPM と心室中隔とを連結するタイプ (タイプ I) と APM と VS とを連結するタイプ (タイプ II) の LVFT がほぼすべての猫の左室内に存在していた。加えて、これらのタイプの LVFT は他のタイプのものよりも太かった。これらの結果から、猫の LVFT の主体をなすのはタイプ I およびタイプ II の LVFT だと考えられた。組織学的に、猫の LVFT は中心部に位置するプルキンエ線維束とそれを囲繞する密実な膠原線維およびそれらを被覆する内皮細胞からなっていた。肉眼的検索において、猫の LVFT の本数を調査したところ、その平均本数は 3.6 本 (290 本 / 82 例) だった。しかしながら、第2章の病理組織学的検索では、斑状肥厚パターンを示す心内膜心筋型で形成される梁柱状~幅の広い帯状の線維性病変 (線維性架橋) の内部にはそれよりも多くの LVFT (平均 : 8.2 本) が認められたことから、正常構築としての LVFT のみからでは線維性架橋の病理発生との関連性を十分に追究することができなかった。そこで、第2節では多数の LVFT から構成される“異常仮腱索 (increased

LVFTs)”と呼ばれる構造物に着目し、心臓内に increased LVFTs が形成されていた非心疾患猫および心疾患（HCM, ARVC, 心内膜心筋型 RCM）罹患猫、併せて 19 例を対象に詳細な病理学的検索を行い、心内膜心筋型 RCM の病理発生との関連性について検討することとした。肉眼的に、いずれの例でも increased LVFTs は APM および／あるいは PPM と心室中隔を連結しており、線維性架橋の連結パターンと一致していた。組織学的に、非心疾患猫と HCM および ARVC 罹患猫で観察された increased LVFTs の組織構築は通常の LVFT と同様であったが、心内膜心筋型 RCM の心臓に形成されていた increased LVFTs は通常の LVFT の辺縁部および周囲に活発に増殖した紡錘形～星芒状の間葉系細胞ならびに顕著に増生した繊細な膠原線維を主体とした幼若な線維性結合組織を携えていた。すなわち、心内膜心筋型 RCM で認められた increased LVFTs の組織構築は、基本的に斑状肥厚パターンで見られる線維性架橋のものとおおむね一致していた。加えて、心内膜心筋型 RCM 罹患猫の心臓で観察された increased LVFTs はいずれも線維性架橋と連結するように、あるいは線維性架橋に巻き込まれる形で形成されており、これらは increased LVFTs と線維性架橋の中間的位置付けにある病変だとみなされた。これらの結果を勘案すると、線維性架橋は通常の LVFT ではなく、increased LVFTs を足場として形成されるものと推察された。

本研究では、猫の心内膜心筋型 RCM に関する体系的な検索を行い、疫学、臨床および病理学的特徴を包括的に取りまとめるとともに、その病理発生について新たな知見を得ることができた。この研究成果をもとに、今後さらなる研究を積み重ねていくことで、本疾患の病態解明、さらには根治的治療の開発へと繋ぐことができると考える。



## 謝 辞

本稿を終えるにあたって、終始ご指導とご鞭撻を賜りました本研究科の町田 登教授には深甚なる感謝の意を表します。論文の校閲とご助言を賜りました東京農工大学獣医外科学教室の打出 毅教授，帯広畜産大学病態病理学研究室の古岡秀文教授，岩手大学獣医小動物内科学研究室の山崎真大教授，岐阜大学獣医病理学研究室の酒井洋樹准教授に深謝いたします。また，材料収集にご協力いただいたペットクリニックハレルヤの平川 篤先生，東京農工大学獣医外科学研究室の田中 綾准教授，福島隆治准教授，実験をご指導いただいた東京農工大学農学部附属国際家畜感染症防疫研究教育センターの水谷哲也教授，東京農工大学獣医微生物学研究室の古谷哲也准教授に謝意を表します。さらに，多くのご助言とご協力をいただきました本研究科の小林正行准教授に敬意を表するとともに，ご協力を惜しまれなかった研究室員各位に厚く御礼申し上げます。

## 引用文献

1. Abd-Eldaim, M. M., Wilkes, R. P., Thomas, K. V. and Kennedy, M. A. (2009): Development and validation of a TaqMan real-time reverse transcription-PCR for rapid detection of feline calicivirus. *Arch. Virol.*, **154**, 555-560.
2. Abdulla, A. K., Frustaci, A., Martinez, J. E., Florio, R. A., Somerville, J. and Olsen, E. G. J. (1990): Echocardiography and Pathology of Left Ventricular "False Tendons". *Chest*, **98**, 129-132.
3. Adi, F. C. (1963): Endomyocardial fibrosis in two brothers. *Brit. Heart J.*, **25**, 684-688.
4. Ammash, N. M., Seward, J. B., Bailey, K. R., Edwards, W. D. and Tajik, a J. (2000): Clinical profile and outcome of idiopathic restrictive cardiomyopathy. *Circulation*, **101**, 2490~2496.
5. André, F. S., Rüster, D., Truyen, U. and Homeier, T. (2013): An updated TaqMan real-time PCR for canine and feline parvoviruses. *J. Virol. Methods*, **143**, 6-8.
6. Andy, J. J., Ogunowo, P. O., Akpan, N. A., Odigwe, C. O., Ekanem, I. A. and Esin, R. A. (1998): Helminth associated hypereosinophilia and tropical endomyocardial fibrosis (EMF) in Nigeria. *Acta Tropica*, **69**, 127-140.
7. Ara, J. A. R. A. (2005): Technical Aspects of Immunohistochemistry,

*Vet. Pathol.*, 426, 405-426.

8. Ball, J. D. (1957): Endomyocardial fibrosis. Proceedings of the Royal Society of Medicine. **50**, 43.
9. Beaton, A., Sable, C., Brown, J., Hoffman, J., Mungoma, M., Mondo, C. and Mocumbi, A. O. (2014): Genetic susceptibility to endomyocardial fibrosis. *Glob. Cardiol. Sci. Pract.*, **4**, 473-481.
10. Benotti, J. R., Grossman, W. and Cohn, P. F. (1980): Clinical profile of restrictive cardiomyopathy. *Circulation*, **61**, 1206-1212.
11. Bhatt, M. R., Alfonso, C. E., Bhatt, A. M., Lee, S., Ferreira, A. C., Salerno, T. A. and de Marchena, E. (2009): Effects and mechanisms of left ventricular false tendons on functional mitral regurgitation in patients with severe cardiomyopathy. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **138**, 1123-1128.
12. Bonagura, J. D. and Fox P. R. (1993): Restrictive cardiomyopathy. *In*: Bonagra J. D. [eds] Current Veterinary Therapy XII, pp. 863-867. WB Saunders, Philadelphia.
13. Bonagura, J. D. (1997): Feline restrictive cardiomyopathy. *Vet. Q.*, **19**(sup 1), 3-4.
14. Bond, B. R. and Fox, P. R. (1984): Advances in feline cardiomyopathy. *Vet. Clin. North. Am. Small. Anim. Pract.*, **15**, 1021-1038.
15. Boyd, M. B., Seward, J. B., Tajik, A. J. and Edwards, W. D. (1987): Frequency and location of prominent left ventricular trabeculations

- autopsy in 474 normal human hearts: implications for evaluation of mural thrombi by two dimensional echocardiography. *J. Am. Coll. Cardiol.*, **9**, 323-326.
16. Brigden, W. (1957): Uncommon myocardial diseases; The non-coronary cardiomyopathies. *Lancet*, **Dec 14**, 1180-1184.
  17. Campbell, F. E., and Kittleson, M. D. (2007): The effect of hydration status on the echocardiographic measurements of normal cats. *J. Vet. Intern. Med.*, **21**. 1008-1015.
  18. Chew, C. Y. C., Ziady, G. M., Raphael, M. J. and Nellen, M. (1977): Primary restrictive cardiomyopathy: Non-tropical endomyocardial fibrosis and hypereosinophilic heart disease. *Br. Heart J.*, **39**, 399-413.
  19. Cilliers, A. M., Adams, P. E. and Mocumbi, A. O. (2011): Early presentation of endomyocardial fibrosis in a 22-month-old child: a case report. *Cardiol. Young*, **21**, 101-103.
  20. Cocchieri, M. and Bardelli, G. (1992): False chordae tendineae. *Minerva Cardioangiol.*, **40**, 353-358.
  21. Cote, E., MacDnald, K. A., Meurs, K. M. and Sleeper, M. M. (2011): Restrictive / unclassified cardiomyopathy. *In*: Cote, E., MacDnald, K. A., Meurs, K. M. and Sleeper, M. M. [eds] *Feline Cardiology*, pp. 177-181. Willey-Blackwell. Ames.
  22. Crawford, M. A. (1962): Endomyocardial fibrosis and carcinoidosis. A common denominator? *Am. Heart. J.*, **66**, 273-276.



23. Daneshvar, D. A., Kedia, G., Fishbein, M. C. and Siegel, R. J. (2012): Familial restrictive cardiomyopathy with 12 affected family members. *Am. J. Cardiol.*, **109**, 445-447.
24. Deniz, M., Kiliç, M. and Hatipoğlu, E. S. (2004): Morphologic study of left ventricular bands. *Surg. Radiol. Anat.*, **26**, 230-234.
25. Dieter, K., Petra, J., Ralf, S., Mathias, M., Brian, S. and Walter, H. G. (1999): Proviral load determination of different feline immunodeficiency virus isolates using real-time polymerase chain reaction: Influence of mismatches on quantification. *Electrophoresis*, **20**, 291-299.
26. Eling, W. M., Jerusalem, C. R., Heinen-Borries, U. J., Hermsen, C. C. and van Run-van Breda, J. J. (1988): Is malaria involved in the pathogenesis of tropical endomyocardial fibrosis? *Acta Leidensia*, **57**, 47-52.
27. Ferasin, L., Sturgess, C. P., Cannon, M. J., Caney, S. M. A. and Gruffydd-Jones, T. J. (2003): Feline idiopathic cardiomyopathy: a retrospective study of 106 cats (1994–2001). *J. Feline Med. Surg.*, **5**, 151-159.
28. Ferasin, L. (2009): Feline myocardial disease 1: Classification, pathophysiology and clinical presentation. *Feline Med. Surg.*, **11**, 3-13.
29. Fox, P. R. (1986): Feline myocardial diseases. Proceedings of the Ninth Annual Kal Kan Symposium, Vernon. California.

30. Fox, P. R. (1987): Feline cardiomyopathy. *In*: Bonagra, J. D. [eds] Contemporary Issues in Small Animal Practice. Vol. 7: Cardiology. pp. 157. Churchill Livingstone. New York.
31. Fox, P. R. (1999): Feline cardiomyopathies. *In*: Fox, P. R., Sisson, D. N. and Moise, S. [eds] Textbook of Canine and Feline Cardiology: principles and clinical practice 2nd ed., pp. 621-678. WB Saunders, Philadelphia, Pennsylvania.
32. Fox, P. R. (2000): Feline cardiomyopathies. *In*: Ettinger, S. J., E. C. Feldman [eds] Textbook of Veterinary Internal Medicine 5th ed., pp. 896-923. WB Saunders, Philadelphia, Pennsylvania.
33. Fox, P. R. (2004): Endomyocardial fibrosis and restrictive cardiomyopathy: pathologic and clinical features. *J. Vet. Cardiol.*, **6**, 25-31.
34. Fukumoto, H., Naito, Z., Asano, G. and Aramaki, T. (1998): Immunohistochemical and Morphometric Evaluations of Coronary Atherosclerotic Plaques Associated with Myocardial Infarction and Diabetes Mellitus. *J. Atheroscler. Thromb.*, **5**, 29-35.
35. Gallo, P. and d'Amati, G. (2001): Cardiomyopathies. *In*: Silver, M. D., Gotlieb, A. I. and Schoen, F. I. [eds] Cardiovascular Pathology, 3rd ed., pp. 583-605. Churchill Livingstone, New York.
36. Gambrin, F. I., Tagliani, M. and Arbustini, E. (2008): Pure restrictive cardiomyopathy associated with cardiac troponin I gene mutation:

mismatch between the lack of hypertrophy and the presence of disarray.

*Heart*, **94**, 1257.

37. Gao, F., Chambon, P., Tellides, G., Kong, W., Zhang, X. and Li, W. (2014): Disruption of TGF- $\beta$  signaling in smooth muscle cell prevents flow-induced vascular remodeling. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **454**, 245-250.
38. Gardener, H. M. and Joffe, H. S. (1991): Genesis of Still's murmurs: a controlled Doppler echocardiographic study. *Br. Heart J.*, **66**, 217-220.
39. Geisterfer-Lowrance, A. A., Kass, S., Tanigawa, G., Vosberg, H. P., McKenna, W., Seidman, C. E. and Seidman, J. G. (1990): A molecular basis for familial hypertrophic cardiomyopathy: a beta cardiac myosin heavy chain gene missense mutation. *Cell*, **62**, 999-1006.
40. Gerlis, L. M., Wright, H. M., Wilson, N., Erzenigin, F. and Dickinson, D. F. (1984): Left ventricular bands. A normal anatomical feature. *Heart*, **52**, 641-647.
41. Gerull, B., Heuser, A., Wichter, T., Paul, M., Basson, C. T., McDermott, D. A. and Thierfelder, L. (2004): Mutations in the desmosomal protein plakophilin-2 are common in arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Nat. Genet.*, **36**, 1162-1164.
42. Goodwin, J. F. and Gordon, H., Hollman, A., Bishop, M. B. (1961): Clinical aspects of cardiomyopathy. *Brit. Med. J.*, **1**, 69-79.
43. Goodwin, J. F. and Oakley, C. M. (1961): The cardiomyopathies. *Brit.*

*Heart J.*, **34**, 545-552.

44. Gorenne, I., Kavurma, M., Scott, S., Bennett, M. (2006): Vascular smooth muscle cell senescence in atherosclerosis. *Cardiovasc. Res.*, **72**, 9-17.
45. Goshal, N. G. (1975): Enquire heart and arteries. *In*: Getty, R. [eds] Sisson and Grossman's the Anatomy of Domestic Animals, 5th ed., pp. 561-563. WB Saunders, Philadelphia, Pennsylvania.
46. Gotlieb, A. I. and Silver, M. D. (2001): Atherosclerosis: Pathology and Pathogenesis. *In*: Silver, M. D., Gotlieb, A. I., and Shoen, F. I. [eds] Cardiovascular Pathology, 3rd ed., pp. 68-106. Churchill Livingstone, Elsevier, New York.
47. Gotlieb, A. I. and Silver, M. D. (2001): Cardiomyopathies. *In*: Silver, M. D., Gotlieb, A. I., and Shoen, F. I. [eds] Cardiovascular Pathology, 3rd ed., pp. 285-325. Churchill Livingstone, Elsevier, New York.
48. Grzybiak, M., Lotkowski, D. and Kozłowski. D. (1995): False tendons in the left ventricle of the heart in humans during pre-and postnatal periods. *Folia Morphol.*, **55**, 89-99.
49. Gueron, M. and Cohen, W. (1972): Anomalous left ventricular chordae tendinae and pre-excitation, unusual cause of precordial pansystolic murmur in a baby with fibroelastosis. *Br. Heart J.*, **34**, 966-968.
50. Gulyaeva, a. S. and Roshchevskaya, I. M. (2012): Morphology of Moderator Bands (Septomarginal Trabecula) in Porcine Heart



Ventricles. *Anat. Histol. Embryol.*, **41**, 326-332.

51. Harpster, S. K. (1986): The cardiovascular system. *In*: Holzworth, I. [eds] Diseases of the Cat. Vol. I., pp. 820. WB Saunders, Philadelphia, Pennsylvania.
52. Harpster, S. K. (1986): The cardiovascular system. *In*: Kirk, R. W. [eds] Current Veterinary Therapy. Vol. IX., pp. 380. WB Saunders, Philadelphia, Pennsylvania.
53. Hayashi, T., Shimomura, H., Terasaki, F., Toko, H., Okabe, M., Deguchi, H. and Kawamura, K. (1998): Collagen subtypes and matrix metalloproteinase in idiopathic restrictive cardiomyopathy. *Int. J. Cardiol.*, **64**, 109-116.
54. 弘田雄三, 寺崎文生, 河村慧四郎. (1993). 全身性塞栓症を繰り返す特発性拘束型心筋症による慢性心不全の一例. *Jpn. Circ. J.*, **57**, 1407-1411.
55. Hutt, M. S. (1983): Epidemiology aspects of endomyocardial fibrosis. *Postgrad. Med. J.*, **59**, 142-146.
56. Hunt, S. A., Baker, D. W., Chin, M. H., Cinquegrani, M. P., Feldman, A. M., Francis, G. S. and Smith Sidney C, J. (2001): ACC/AHA guidelines for the evaluation and management of chronic heart failure in the adult: executive summary. A report of the American college of cardiology/American heart association task force on practice guidelines (committee to revise the 1995 guidelines for the evaluation and management of heart failure) developed in collaboration with the

- international society for heart and lung transplantation endorsed by the heart failure society of america. *J. Am. Coll. Cardiol.*, **38**, 2101-2113.
57. Iglezias, S. D. A., Benvenuti, L. A., Calabrese, F., Salemi, V. M. C., Silva, A. M. G., Carturan, E. and De Brito. T. (2008): Endomyocardial fibrosis: Pathological and molecular findings of surgically resected ventricular endomyocardium. *Virchows Arch.*, **453**, 233-241.
58. Inagaki, N., Hayashi, T., Arimura, T., Koga, Y., Takahashi, M., Shibata, H. and Kimura, A. (2006):  $\alpha$ B-crystallin mutation in dilated cardiomyopathy. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **342**, 379-386.
59. 伊藤隆英, 寺崎史生, 北浦 泰. (2010): 拘束型心筋症. *In*: 川名正敏, 北風政文, 小室一成, 室原豊明, 山崎 力, 山下武志. [eds] 循環器病学, 基礎と臨床, pp. 994-1001. 西村書店. 東京.
60. Jain, N. C. (1993): Comparative Hematology of Common Domestic Animals. *In*: Essentials of Veterinary Hematology, pp. 19-53. Lea and Febiger. Philadelphia.
61. Johnson, J. L. (2014): Emerging regulators of vascular smooth muscle cell function in the development and progression of atherosclerosis. *Cardiovasc. Res.*, **103**, 452-460.
62. John, P. V., Feroze, N. G. and Virginia, M. W. (2001): Light microscopy and ultrastructure of the blood vessels and heart. *In*: Silver, M. D., Gotlieb, A. I., and Shoen, F. I. [eds] Cardiovascular Pathology, 3rd ed., pp. 68-106. Churchill Livingstone, Elsevier, New York.

63. Kaneshige, T., Machida, N., Itoh, H. and Yamane, Y. (2006): The Anatomical Basis of Complete Atrioventricular Block in Cats with Hypertrophic Cardiomyopathy. *J. Comp. Pathol.*, **135**, 25-31.
64. Karsten, E. S., and Bonagura, J. D. (2003): Comparison between invasive hemodynamic measurements and noninvasive assessment of left ventricular diastolic function by use of Doppler echocardiography in healthy anesthetized cats. *Am. J. Vet. Res.*, **64**. 93-103
65. Keith, A. and Flack, M. W. (1906): The auriculo-ventricular bundle of the human heart. *Lancet*, **168**, 359-364.
66. Kennedy, M. A., Abd-Eldaim, M., Zika, S. E., Mankin, J. M. and Kania, S. A. (2008): Evaluation of antibodies against feline coronavirus 7b protein for diagnosis of feline infectious peritonitis in cats. *Am. J. Vet. Res.*, **69**, 1179-1182.
67. Ker, J. (2009): Subaortic tendon induced ST-segment elevation – a new echo-electrocardiographic phenomenon? *Cradiovasc. Ultrasound*, **24**, 7-13.
68. Keren, A., Billingham, M. E. and Popp, R. L. (1984): Echocardiographic reorganization and implications of ventricular hypertrophic trabeculations and aberrant bands. *Circulation*, **70**, 836-842.
69. Kervancioglu, M., Ozbag, D., Kervancioglu, P., Hatipoglu, E. S., Kiling, M., Yilmaz, F. and Deniz, M. (2003): Echocardiographic and morphologic

- examination of left ventricular false tendons in human and animal hearts. *Clin. Anat.*, **16**, 389-395.
70. Kessler, Y., Helfer-Hungerbuehler, A. K., Cattori, V., Meli, M. L., Zellweger, B., Ossent, P. and Hofmann-Lehmann, R. (2009): Quantitative TaqMan real-time PCR assays for gene expression normalisation in feline tissues. *BMC Mol. Biol.*, **10**, 106.
71. Kienle, R. D. (1998): Feline unclassified and restrictive cardiomyopathy. *In*: Kittleson, M. D. and Kienle, R. D. [eds] Small Animal Cardiovascular Medicine, pp. 363-369. Mosby, St. Louis.
72. Kienle, R. D. (2008): Feline myocardial diseases. *In*: Tilley, L. P., Smith, F. K. W. Jr., Oyama, M. A. and Sleeper, M. M. [eds] Manual of canine and feline cardiology, 4th ed., pp. 151-175. Saunders Elsevier, St Louis.
73. 木村彰方. (2007): 心筋症の遺伝的病因はどこまで解明されたか. *Prog. Med.*, **27**, 842-847.
74. Kimura, A. (2010): Molecular basis of hereditary cardiomyopathy: abnormalities in calcium sensitivity, stretch response, stress response and beyond. *J. Hum. Genet.*, **55**, 81-90.
75. Kimura, A. (2011): Contribution of genetic factors to the pathogenesis of dilated cardiomyopathy. The cause of dilated cardiomyopathy: genetic or acquired? (Genetic-Side). *Circ. J.*, **75**, 1756-1765.
76. Kimura, Y., Fukushima, R., Hirakawa, A., Kobayashi, M. and



- Machida, N. (2016): Epidemiological and clinical features of the endomyocardial form of restrictive cardiomyopathy in cats: a review of 41 cases. *J. Vet. Med. Sci.*, **78**, 781-784.
77. Kimura, Y., Karakama, S., Kobayashi, M. and Machida, N. (2015): Incidence, Distribution and Morphology of Left Ventricular False Tendons in Cat Hearts. *Anat. Histol. Embryol.*, (in press).
78. 久保 亨, 大川真理, 北岡裕章, 土井義則 (2010): 肥大型心筋症. *In*: 川名正敏, 北風政文, 小室一成, 室原豊明, 山崎 力, 山下武志. [eds] 循環器病学, 基礎と臨床, pp. 976-993. 西村書店. 東京.
79. Kubo, T., Matsumura, Y., Kitaoka, H., Okawa, M., Hirota, T., Hamada, T. and Doi, Y. (2008): Improvement in prognosis of dilated cardiomyopathy in the elderly over the past 20 years. *J. Cardiol.*, **52**, 111-117.
80. Kushwaha, S. S., Fallon, J. T. and Fuster, V. (1997): Restrictive Cardiomyopathy. *New Engl. J. Med.*, **336**, 267-276.
81. Kutty, V. R., Abraham, S. and Kartha, C. C. (1996): Geographical distribution of endomyocardial fibrosis in South Kerala. *Int. J. Epidemiol.*, **25**, 1202-1207.
82. 古賀義則 (2010): 心筋症の定義と分類. *In*: 川名正敏, 北風政文, 小室一成, 室原豊明, 山崎 力, 山下武志. [eds] 循環器病学, 基礎と臨床, pp. 960-962. 西村書店. 東京.

83. Leutmer, P. H., Edwards, W. D., Seward, J. B. and Tajik, A. J. (1986): Incidence and distribution of left ventricular false tendons: an autopsy study of 483 normal human hearts. *J. Am. Coll. Cardiol.*, **8**, 179-183.
84. Liu, S. K. (1970): Acquired cardiac lesions leading to congestive heart failure in the cat. *Am. J. Vet. Res.*, **31**, 2071-2088.
85. Liu, S. K. (1977): Pathology of feline heart diseases. *Vet. Clin. North. Am.*, **7**, 323-329.
86. Liu, S. K. and Tilley, L. P. (1980): Animal models of primary myocardial diseases. *Yale Biol. Med.*, **53**, 191-211.
87. Liu, S. K., Fox, P. R. and Tilley, L. P. (1982): Excessive moderator bands in the left ventricle of 21 cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **180**, 1215-1219.
88. Liu, S. K. (1985): Myocarditis and cardiomyopathy in dog and cat. *Heart Vessels*, **1**, 122-126.
89. Liu S.K. (1989): Excessive Left Ventricular Moderator Bands Associated with Cardiac Failure. *In*: Liu S. K., Hsu F. S. and Lee R. C. T. [eds] An Atlas of Cardiovascular Pathology, pp. 78-89. Pig Research Institute of Taiwan.
90. Liu, S. K. and Fox, P. R. (1999): Cardiovascular pathology. *In*: Fox, P. R., Sisson, D. and Moise, N. E. [eds] Textbook of Canine and Feline Cardiology, 2nd ed., pp. 817-844. WB Saunders, Philadelphia, Pennsylvania.

91. Loukas, M., Louis, R. G., Black, B., Pham, D., Fudalej, M. and Sharkees, M. (2007): False tendons: An endoscopic cadaveric approach. *Clin. Anat.*, **20**, 163-169.
92. Lowenthal, M. N. (1978): Endomyocardial fibrosis: familial and other cases from Zambia. *Br. Med. J.*, **12**, 2-7.
93. MacDonald, K. (2010): Myocardial diseases: Feline. *In*: Ettinger, S. J. and Feldman, E. C. [eds] Textbook of Veterinary Internal Medicine, 7th ed., pp. 1328-1341. Saunders Elsevier, St Louis.
94. Malouf, J., Gharzuddine, W. and Kutayli, F. (1986): A reappraisal of the prevalence and clinical importance of left ventricular false tendons in children and adults. *Br. Heart J.*, **55**, 587-591.
95. Maron, B. J., Bonow, R. O., Cannon, R. O., Leon, M. B. and Epstein, S. E. (1987): Hypertrophic Cardiomyopathy. *N. Engl. J. Med.*, **316**, 780-789.
96. Maron, B. J., Casey, S. A., Poliac, L. C., Gohman, T. E., AK, Almquist, A. K. and Aeppli, D. M. (1999): CLinical course of hypertrophic cardiomyopathy in a regional united states cohort. *JAMA*, **281**, 650-655.
97. Matsumori, A., Furukawa, Y., Hasegawa, K., Sato, Y., Nakagawa, H., Morikawa, Y. and Co-research workers. (2002): Epidemiologic and Clinical Characteristics of Cardiomyopathies in Japan. *Circ. J.*, **66**, 323-336.

98. McEwen, S. A., Valli, V. E. O. and Hilland, T. J. (1985): Hypereosinophilic syndrome in a cat: a report of three cases. *Can. J. Comp. Med.*, **49**, 248-253.
99. Miller, M. E. (1964): Anatomy of dog., pp. 281. SB Saunders. Philadelphia and London.
100. Miura, K., Nakagawa, H., Morikawa, Y., Sasayama, S., Matsumori, A, Hasegawa, K. and Inaba, Y. (2002): Epidemiology of idiopathic cardiomyopathy in Japan: results from a nationwide survey. *Heart (British Cardiac Society)*, **87**, 126-130.
101. Meurs, K. M., Fox, P. R., Magnon, A. L., Liu, S. K. and Towbin, J. A. (2000): Molecular screening by polymerase chain reaction detects panleukopenia virus DNA in formalin-fixed hearts from cats with idiopathic cardiomyopathy and myocarditis. *Cardiovasc. Pathol.*, **9**, 119-126.
102. Mocumbi, A. O., Ferreira, M. B., Sidi, D. and Yacoub, M. H. (2008): A population study of endomyocardial fibrosis in a rural area of Mozambique. *New Engl. J. Med.*, **359**, 43-49.
103. Mocumbi, A. O. (2012): Endomyocardial fibrosis: A form of endemic restrictive cardiomyopathy. *Glob. Cardiol. Sci. Pract.*, **1**, 11.
104. Mogensen, J., Klausen, I. C., Pedersen, a K., Egeblad, H., Bross, P., Kruse, T. A. and Borglum, a D. (1999): Alpha-cardiac actin is a novel



- disease gene in familial hypertrophic cardiomyopathy. *J. Clin. Invest.*, **103**, 39-43.
105. Mogensen, J., Kubo, T., Duque, M., Uribe, W., Shaw, A., Murphy, R. and McKenna, W. J. (2003): Idiopathic restrictive cardiomyopathy is part of the clinical expression of cardiac troponin I mutations. *J. Clin. Invest.*, **111**, 209-216.
106. 桃井康行 (2009). どうぶつ病院 臨床検査 ~検査の選び方と結果の読み方~. 福原佳子[eds]. pp. 1-116.
107. Mori, S. and Saito, Y. (1996): Phenotypic change of the smooth muscle cell and atherosclerosis. *Folia Pharmacol. Jpn.*, **107**, 161-170.
108. Nishimura, T., Kondo, M., Umadome, H. and Shimono, Y. (1981): Echocardiographic features of false tendons in the left ventricle. *Am. J. Cardiol.*, **48**, 177-183.
109. Nranian, N. V. (1991): Clinical significance of false ventricular tendons (results of 5-years study). *Kardiologia*, **31**, 83-86.
110. Ojo, G. O. (1970): The pathogenesis of endomyocardial fibrosis: the question of 5-hydroxytryptamine. *Br. Heart J.*, **32**, 671-674.
111. Olsen, E. G. J. and Spry, J. F., Chir, B., Phil, D. (1979): The pathogenesis of Löffler's endomyocardial disease, and its relationship to endomyocardial fibrosis. *Prog. Cardiol.*, **8**, 281-303.
112. Olsen, E. G. J. and Path, F. R. C. (1983): Pathological aspects of endomyocardial fibrosis. *Postgrad. Med. J.*, **59**, 135-139.

113. Olsen, E. G. J. (1990): Morphological overview and pathogenetic mechanism in endomyocardial fibrosis associated with eosinophilia, *In*: Olsen, E. G. J. and Sekiguchi, M. [eds] *Cardiomyopathy Update 3, Restrictive Cardiomyopathy and Arrhythmias*, pp. 1-8. University of Tokyo Press.
114. Parvatiyar, M. S. and Pinto, J. R. (2015): Pathogenesis associated with a restrictive cardiomyopathy mutant in cardiac troponin T is due to reduced protein stability and greatly increased myofilament Ca<sup>2+</sup> sensitivity. *Biochim. Biophys. Acta.*, **1850**, 365-372.
115. Patel, A. K., Ziegler, J. L., D'Arbela, P. G. and Somers, K. (1971): Familial cases of endomyocardial fibrosis in Uganda. *Br. Med. J.*, **4**, 331-334.
116. Perry, L. W., Ruckman, R. N., Shapiro, S. R., Kuehl, K. S., Galioto Jr, F. M. and Scott, L. P. (1983): Left ventricular false tendons in children: prevalence as detected by 2-dimensional echocardiography and clinical significance. *J. Cardiol.*, **52**, 1264-1266.
117. Pierard, L. A., Henrard, L. and Noel, J-F. (1985): Detection of left ventricular false tendons by two-dimensional echocardiography. *Acta. Cardiol.*, **40**, 229-235.
118. Pinto, J. R., Parvatiyar, M. S., Jones, M. a., Liang, J. and Potter, J. D. (2008): A troponin T mutation that causes infantile restrictive cardiomyopathy increases Ca<sup>2+</sup> sensitivity of force development and

- impairs the inhibitory properties of troponin. *J. Biol. Chem.*, **283**, 2156-2166.
119. Philip, S., Cherian, K. M., Wu, M. H. and Lue, H. C. (2011): Left ventricular false tendons: Echocardiographic, morphologic, and histopathologic studies and review of the literature. *Pediatr. Neonatol.*, **52**, 279-286.
120. Rai, T. S., Ahmad, S., Ahluwalia, T. S., Ahuja, M., Bahl, A., Saikia, U. N. and Khullar, M. (2009): Genetic and clinical profile of Indian patients of idiopathic restrictive cardiomyopathy with and without hypertrophy. *Mol. Cell Biochem.*, **331**, 187-192.
121. Ravi, T., Valentino, C., Maria, A. G., Marina, L. M., Matthew, C. G., Hans, L. and Regina, H. L. (2005): Quantitation of feline leukemia virus viral and prodigal loads by TaqMan<sup>®</sup> real-time polymerase chain reaction. *J. Virol. Methods*, **130**, 124-132.
122. Richardson, P., McKenna, R. W., Bristow, M., Maisch, B., Mautner, B., O'connell, J. and Nordet, P. (1995): Report of the 1995 World Health Organization/International Society and Federation of Cardiology task force on the definition and classification of cardiomyopathies. *Circulation*, **93**, 841-842.
123. Report of the WHO/ISFC task force on the definition and classification of cardiomyopathies. (1980): *Brit. Heart J.*, **44**, 672-673.

124. Roberts, W. C. (1969): Anomalous left ventricular band: an unemphasised cause of a precordial musical murmur. *Am. J. Cardiol.*, **23**, 736-738.
125. Ross, R. (1986): The pathogenesis of atherosclerosis: An update. *New Engl. J. Med.*, **314**, 488-500.
126. Saxon, B., Hendrick, M. and Waddle, J. R. (1991): Restrictive cardiomyopathy in a cat with hypereosinophilic syndrome. *Can. Vet. J.*, **32**, 367-369.
127. Shaper, A. G. (1972): Cardiovascular Disease in the Tropics II, Endomyocardial fibrosis. *Br. Med. J.*, **3**, 743-746.
128. Spry, C. J. F. and Tai, P. C. (1990): Clinical studies on endomyocardial fibrosis in patients with hypereosinophilia: A historical review. *In*: Olsen, E. G. J. and Sekiguchi, M. [eds] *Cardiomyopathy update 3, Restrictive Cardiomyopathy and Arrhythmias*, pp. 81-98. University of Tokyo Press.
129. Scott, D. W., Randolph, J. F. and Walsh, K. M. (1985): Hypereosinophilic syndrome in a cat. *Feline. Pract.*, **14**, 22-30.
130. Stalis, I. H., Bossbaly, M. J. and Van Winkle, T. J. (1995): Feline endomyocarditis and left ventricular endocardial fibrosis. *Vet. Pathol.*, **32**, 122-126.
131. Stewart, H. J. S., Guildford, A. L., Lawrence-Watt, D. J. and Santin, M. (2009): Substrate-induced phenotypical change of monocytes/macrophages into myofibroblast-like cells: A new insight into



- the mechanism of in-stent restenosis. *J. Biomed. Mater. Res. A*, **90**, 465-471.
132. Suwa, M., Hirota, Y., Nagao, H., Kino, M. and Kawamura, K. (1984): Incidence of the coexistence of left ventricular false tendons and premature ventricular contractions in apparently healthy subjects. *Circulation*, **70**, 793-798.
133. 鷹津 正, 河合忠一 (1970): 特発性心筋症-日本循環器学会シンポジウムにおける問題点を中心として. 日本医師会雑誌, **64**, 593-610.
134. 寺崎文生, 北浦 泰 (2005). 拘束型心筋症. *In*: 北畠 顕, 友池仁賜 [eds] 心筋症・診断の手引きとその解説, pp 51-60. 厚生労働省難治性疾患克服研究事業特発性心筋症調査研究班.
135. Tiso, N., Stephan, D. A., Nava, A., Bagattin, A., Devaney, J. M., Stanchi, F. and Rampazzo, A. (2001): Identification of mutations the cardiac ryanodine receptor gene in families affected with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy type 2 (ARVD2). *Hum. Mol. Genet.*, **10**, 189-194.
136. Tsuchiaka, S., Masuda, T., Sugimura, S., Kobayashi, S., Komatsu, N., Nagai, M. and Mizutani, T. (2015): Development of a novel detection system for microbes from bovine diarrhea by real-time PCR. *J. Vet. Med. Sci.*, **78**, 383-389.
137. Turner, W. (1893): A heart with moderator band in the left ventricle. *J. Anat. Physiol.*, **27**, [abstract].

138. Turner, W. (1896): Another Heart with Moderator Band in Left Ventricle. *J. Anat. Physiol.*, **30**, 568-569.
139. Turner, W. (1898): Moderator band in left ventricle and tricuspid left auriculo-ventricular valve. *J. Anat. Physiol.*, **32**, 373-376.
140. 宇根 有美. 梅村 孝治. 岡田 幸助. 谷山 弘行. 中山 裕之. 林 俊春 (2010): 循環器. *In: 動物病理学各論*, pp. 11-13. 文永堂出版. 東京.
141. Van Oort, A., Va Hopman, J., Der Boo, T., Van der Werf, T., Rohmer, J. and Daniels, O. (1994): The vibratory innocent heart murmur in school children: a case-control Doppler echocardiographic study. *Pediatr. Cardiol.*, **15**, 275-281.
142. Van Vleet, J. F., and Ferrans, V. J. (1986): Myocardial diseases of animals. *Am. J. Pathol.*, **124**, 98-178.
143. Vöglin, A., Fraefel, C., Albini, S., Leutenegger, C. M., Schraner, E., Spiess, B. and Ackermann, M. (2002): Quantification of feline herpesvirus 1 DNA in ocular fluid samples of clinically diseased cats by real-time TaqMan PCR. *J. Clin. Microbiol.*, **40**, 519-523.
144. Ware, W. A. (2011): Myocardial diseases of the cat. *In: Cardiovascular Diseases in Small Animal Medicine*, pp. 300-319. Manson Publishing, London.
145. Webber, S. A. (2008): Primary restrictive cardiomyopathy in childhood. *Prog. Pediatr. Cardiol.*, **25**, 85-90.

146. Wenger, N. K., Goodwin, J. F. and Roberts, W. C. (1986):  
Cardiomyopathy and myocardial involvement in systemic disease. *In:*  
Hurst, J. W. [eds] *The Heart*, pp. 1181. McGraw-Hill. New York.
147. Wight, T. N. (1996): The vascular extracellular matrix. *In:* Fuster, V.,  
Ross, R. and Topel, P. [eds] *Atherosclerosis and Coronary Artery Disease*.  
pp. 421-440. Philadelphia. Lippincott-Raven.
148. Wray, J. D., Gajanayake, I. and Smith, S. H. (2007): Congestive heart  
failure associated with a large transverse left ventricular moderator  
band in a cat. *J. Feline Med. Surg.*, **9**, 56-60.
149. Wynne, J. W. and Braunwald, E. (2001): The cardiomyopathies and  
myocarditides. *In:* Braunwald, E., Zipes, D. P., and Libby, P. [eds] *Heart  
Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*. 6th ed., pp. 1751-1806.  
WB Saunders, Philadelphia, Pennsylvania.
150. Yumoto, F., Lu, Q. W., Morimoto, S., Tanaka, H., Kono, N., Nagata, K.  
and Ohtsuki, I. (2005): Drastic Ca<sup>2+</sup> sensitization of myofilament  
associated with a small structural change in troponin I in inherited  
restrictive cardiomyopathy. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **338**,  
1519-1526.
151. Zhang, J., Kumar, A., Stalker, H. J., Viridi, G., Ferrans, V. J., Horiba,  
K. and Wallace, M. R. (2001): Clinical and molecular studies of a large  
family with desmin-associated restrictive cardiomyopathy. *Clin.  
Genet.*, **59**, 248-256.