

学 位 論 文 要 約

氏 名 河 口 貴 恵

題 目 上室頻拍性不整脈モデル犬を用いたアンジオテンシン II 制御薬の
臨床効果に関する研究

上室頻拍性不整脈 (SVTA) は、犬において臨床的に多く遭遇する不整脈の 1 つであり、上室からの高頻度インパルスにより心室拍動数の増加が認められる。この心室拍動数の増加が重度で長期間持続した場合、心筋に拡張型心筋症様の形態的変化をもたらすとともに、著しい心機能の低下を引き起こす。この心筋における形態的あるいは機能的変化は、レニン-アンジオテンシン-アルドステロン系 (RAAS) の持続的活性化によって引き起こされる心筋傷害が関与していると考えられている。臨床的には、この RAAS の持続的活性化に対し、アンジオテンシン変換酵素阻害剤 (ACEI) ならびにアンジオテンシン II 受容体 1 拮抗薬 (ARB) を含む RAAS 制御薬が適用されるが、SVTA 罹患犬におけるこれらの薬剤の心筋傷害に対する抑制効果について、臨床的、病理学的観点からの包括的研究はなされていない。また、この心筋傷害の評価はこれまで病理組織学的検査に依存してきたが、生前での検査実施が難しく、臨床的有用性に欠けるという課題があった。この課題を解決すべく、近年、心筋細胞が壊れた際に血中に放出されるタンパク質である心筋トロポニン I (cTnI) が心筋傷害バイオマーカーとして注目を集めている。そこで本研究では、SVTA モデル犬を作出し、RAAS を制御する薬剤である ACEI ならびに ARB を SVTA モデル犬に投与した際の治療効果を臨床的、病理学的観点から解析するとともに、SVTA による心筋傷害の診断マーカーとして cTnI の臨床的有用性を検討した。

第 1 章では、健康犬の左心房に高頻度電気刺激 (RAP) を与えることで SVTA モデル犬を作出し、心エコー検査や血圧測定を含む臨床的評価と心筋組織の病理学的評価をもとに、SVTA モデルとして妥当性を検討した。また、血中 cTnI 濃度を継時的に測定し、病理組織学的変化と比較することで、血中 cTnI 濃度の心筋傷害に対する診断マーカーとしての有用性を検討した。臨床的評価の結果、RAP 開始後 1 週目において左心室収縮能の低下および血圧低下が認められ、2 週から 3 週目において心拍出量の低下が確認された。また、心筋病理学的評価の結果、RAP 開始後 3 週目において明らかな心筋細胞の壊死や脱落、一部に線維化が確認された。これらの結果より、SVTA 臨床例で確認される臨床的ならびに病理学的変化を 3 週間という短期間で、本モデル犬において再現できることが示された。また、明らかな病理組織学的変化が認められる前 (RAP 開始後 1 週目) より、血中 cTnI 濃度の有意 ($p < 0.05$) な上昇が確認され、心筋傷害の鋭敏な早期診断マーカーとしての有用性が示された。

心筋傷害の抑制作用を有する RAAS 制御薬のうち、ACEI であるマレイン酸エナラプリル

は犬の循環器疾患に対し、ARB であるテルミサルタンは猫の腎疾患に対し、動物薬として認可され、薬用量の決定がなされている。しかしながら、犬の循環器疾患に対するテルミサルタンの適応性やその薬用量の検討はなされていない。そこで、第2章では、テルミサルタンを健常ビーグル犬に経口投与することで、犬におけるテルミサルタンの体内薬物動態を評価し、その薬用量の決定を行った。経口投与後 3.6 h における最大血中濃度は 0.588 ± 0.074 $\mu\text{g/ml}$ 、平均吸収時間は 7.34 ± 2.45 時間、生体内利用率は 28.2 ± 0.1 %であった。薬物濃度-時間曲線下面積 (AUC) は 6.53 ± 0.97 $\mu\text{g} \cdot \text{h/ml}$ 、定常状態における分布容積は 1.80 ± 0.30 l/kg 、そして消失相における半減期は 9.9 ± 2.21 h であった。また、血漿蛋白結合率は 99.5 ± 0.073 %であった。これらの血中動態プロファイルは、過去に報告されている人のプロファイルと同程度であり、犬ならびに人の AUC の比較から、犬におけるテルミサルタンの経口投与量は 1.0 mg/kg/日 と決定した。

第3章では、SVTA モデル犬にマレイン酸エナラプリルならびにテルミサルタンを投与し、心エコー検査や血圧測定を含む臨床的評価と心筋組織の病理学的評価をもとに、RAP によってもたらされる心筋傷害に対する抑制効果を検討した。臨床的評価の結果、マレイン酸エナラプリル投与群およびテルミサルタン投与群では無投与群に比べ左室収縮能の低下が有意 ($p < 0.01$) に抑制されることが明らかになった。また、心筋組織に出現する病理組織学的変化をスコア化し心筋傷害の程度を比較解析した結果、両薬剤の投与群は無投与群に比べ、心筋傷害が有意 ($p < 0.05$) に抑制されていることが示された。また、各群の血中 cTnI 濃度を比較したところ、病理組織学的スコアに一致して、マレイン酸エナラプリル投与群およびテルミサルタン投与群では、無投与群に比較し血中 cTnI 濃度の上昇が有意 ($p < 0.01$) に抑制された。

以上の結果より、ACEI であるマレイン酸エナラプリルおよび ARB であるテルミサルタンは、SVTA による心筋傷害を緩和し、心機能の低下を防ぐことが明らかになった。また、血中 cTnI 濃度は心筋傷害を鋭敏に反映する心筋傷害マーカーとして、あるいは薬剤の治療効果を把握するための治療マーカーとして利用できる可能性が示された。

学 位 論 文 要 約

氏 名 KAWAGUCHI, Takae
題 目 Studies on the Clinical Effects of Angiotensin II Regulatory Drugs Using a Canine Model of Supraventricular Tachyarrhythmia
(上室頻拍性不整脈モデル犬を用いたアンジオテンシン II 制御薬の臨床効果に関する研究)

Supraventricular tachyarrhythmia (SVTA) is a clinically significant arrhythmia in dogs, which is characterized by the increased heart rate due to high-frequency impulses from the supraventricle. The continuous tachycardiac state causes severe cardiac dysfunction with morphological and functional changes, as is observed in dilated cardiomyopathy. The unfavorable changes with cardiac damage are believed to result from sustained activation of the renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS). The evaluation of the cardiac damage associated with the RAAS activation has been, thus far, dependent on histopathological examination. However, the examination has the drawbacks of difficulty in performing it on live animals, and therefore the clinical use in prenatal diagnosis was limited. In recent years, instead of the histopathological examination, the blood cardiac troponin I (cTnI) has gathered interest as a biomarker of myocardial damage, as it is released from damaged myocardial cells into the bloodstream. To regulate the sustained activation of RAAS, RAAS regulatory drugs including angiotensin-converting enzyme inhibitors (ACEIs) and angiotensin II receptor 1 blockers (ARBs) are used on daily clinical basis. Nevertheless, comprehensive research on the clinical and pathological features of the regulatory effects of these drugs in SVTA dogs has not been conducted. Therefore, in this study, the feasibility of using cTnI as a diagnostic marker of SVTA-related myocardial damage was evaluated using a canine SVTA model. The inhibitory effects of ACEIs and ARBs on the cardiac damage were analyzed from the clinical and pathological aspects.

In Chapter 1, a canine SVTA model was prepared by a rapid atrial pacing (RAP) method, which gives high-frequency electrical stimulation to the left atrium of a healthy dog. Based on the clinical analysis including echocardiography and blood pressure measurement as well as the pathological approach to cardiac tissues, the validity of the SVTA model was examined. Moreover, the clinical usability of blood cTnI as a marker of myocardial damage was evaluated through comparative study between the blood cTnI levels and histopathological damage scores. The clinical analysis demonstrated a significant ($p<0.01$) decrease in left ventricular contractility and blood pressure a week after RAP initiated, along with a significant ($p<0.05$) depression of cardiac output 2 to 3 weeks after the initiation. Pathologic evaluations of the myocardial tissues demonstrated the

presence of myocardial necrosis and partial fibrosis in the cardiac tissues 3 weeks after the RAP initiation. These results confirmed that the clinical and pathologic characteristics normally observed in a clinical case of SVTA were reproduced in the SVTA model in a short time of 3 weeks. A significant ($p<0.05$) increase in blood cTnI levels was observed even before the clear histopathological changes were detected (a week after the initiation of RAP), confirming the clinical validity of this protein as a sensitive marker of myocardial damage.

Of the various RAAS regulatory drugs that can mitigate the myocardial damage, enalapril maleate (an ACEI) and telmisartan (an ARB) have been approved for canine cardiovascular diseases and feline kidney diseases, respectively, and the medicinal dosage of each has been determined. However, the clinical application as well as the clinical dosage of telmisartan for canine cardiovascular diseases have not been evaluated or determined. Thus, in Chapter 2, the clinical oral dosage of telmisartan for dogs was determined using healthy beagles based on the pharmacokinetic analysis. At 3.6 hours after the oral administration, the highest blood concentration observed was 0.588 ± 0.074 $\mu\text{g/mL}$; the average absorption time was 7.34 ± 2.45 h; and the bioavailability was 28.2 ± 0.1 %. The area under the drug concentration–time curve (AUC) was 6.53 ± 0.97 $\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$; the steady-state volume of distribution was 1.80 ± 0.30 L/kg; and the elimination half-life was 9.9 ± 2.21 h. Finally, the binding rate to plasma proteins was 99.5 ± 0.073 %. This kinetic profile was similar to that in humans previously reported. By comparing the AUCs between dogs and humans, the clinically optimal oral dosage of telmisartan for dogs was concluded to be 1.0 mg/kg/day.

In Chapter 3, enalapril maleate and telmisartan were administered to the SVTA model to examine the inhibitory effects of these drugs on RAP-related myocardial damage. The inhibitory effects were evaluated from the clinical and histopathological aspects, as performed in Chapter 1. The clinical assessment revealed that enalapril maleate and telmisartan significantly ($p<0.05$) prevented the functional depression of left heart, comparing to the result from untreated dogs. The histopathological assessment by scoring the histological damages occurring in the cardiac muscle tissues showed that the administration of these drugs significantly ($p<0.05$) inhibited the myocardial damage. In accordance with the improvement in the histopathological scores, blood cTnI levels were significantly ($p<0.01$) decreased.

From the above results, it is concluded that enalapril maleate (ACEI) and telmisartan (ARB) could mitigate the myocardial damage caused by SVTA and prevent the depression of cardiac function. Furthermore, blood cTnI concentration is a sensitive and accurate marker of myocardial damage and can also be used as a clinical marker to understand the pharmacotherapeutic effects.