

# チワワにおける粘液腫様変性性僧帽弁疾患に関する研究

麻布大学大学院 獣医研究科

獣医学専攻 博士課程

獣医診断治療学 獣医外科学

DV2005 新実誠矢

## 要旨

チワワは粘液腫様変性性僧帽弁疾患（MMVD）を好発する小型犬種であるが、本疾患の正確な発生機序は不明であり、弁に生じる粘液腫様変性の発生を予防する方法や粘液腫様変性そのものを治療する方法はない。さらに、本邦ではチワワは、5万頭以上が飼育されていることから、MMVDに罹患したチワワは多数存在し、チワワにおけるMMVDは実臨床において極めて重要な疾患である。このような背景から、チワワにMMVDが好発する要因を解明するには早期段階における病態について詳細に観察する必要があると考え、以下の研究を行った。

まず研究1として、チワワにおける心エコーの指標を確立した。47例の臨床的に健康なチワワを用いて、体重に対して指数関数的に変化する心エコー値のアロメトリー式を求めた。その結果、健常なチワワの心エコー値は過去に報告されている基準値に準ずることが明らかとなった。さらに、偶発的な所見として、非常に軽微な僧帽弁逆流（MR）を有する個体を高頻度で確認した。本来MMVDは高齢期に発症する疾患であることから、この現象はチワワにおけるMMVDの特徴を示唆している可能性が考えられた。

次に研究2として心雑音が聴取されない若齢のチワワにおけるMRの保有率とその特徴を明らかにした。その結果、30例中26例と極めて高い割合でMRを有することが確認された。MMVDを示唆する僧帽弁の肥厚、左心房側への逸脱は、それぞれ17例、14例で認められた。これらの結果から、チワワでは若齢期からMRを有しており、若い個体であってもMMVDを発症している可能性が示唆された。さらに、収縮早期からすべての時相（全収縮期）で逆流を生じる本来のMRと異なり、収縮期の後半部分のみに限定して生じるMR（収縮後期MR）を呈する個体を確認した。収縮後期MRは、これまでに獣医療では報告されていない現象であり、本犬種におけるMMVDの高い発症率の一つの因子になりうると予想された。

最後に研究3として、早期病態として研究2で観察された軽微なMRの心臓バイオマーカーとの関連性について検討した。心雑音の聴取されない28例の健常なチワワから採取した56検体のANPとNT-proBNPを前方視的に測定したところ、僧帽弁逆流の程度とバイオマーカー値に関連はなく、既報の多犬種における正常犬の基準値と同程度であった。以上のことから、臨床的に治療の対象とならないこのチワワにおける軽微なMRは、心臓バイオマーカーの異常値として検出されることはなく、若齢の

チワワであっても他犬種と同様に治療介入を決定するためのスクリーニング検査としてバイオマーカーを用いて評価することが可能である。

本研究によりチワワは若齢期より軽微な MR を呈していることが明らかとなり、本品種が MMVD を好発する要因のひとつである可能性を示した。さらに、本犬種の MMVD 進行に伴う臨床的評価法として重要な心エコー検査指標と心臓バイオマーカーについて基準となる情報を提供した。

## Abstract

Chihuahuas are one of the small breed dogs which are predisposed to myxomatous degenerative mitral valve disease (MMVD), which is an important disease observed in this breed in clinical practice. The etiology of MMVD is not completely understood, making prevention and treatment of the disease difficult. There are more than 50,000 Chihuahuas bred in Japan. Herein, we analyze the early stages of MMVD to clarify the cause of Chihuahuas' predilection for MMVD.

An allometric equation for exponential echocardiographic values influenced by body weight was obtained from 47 clinically healthy Chihuahuas to establish an echocardiography reference range for the breed (Study 1). Our results showed a high frequency of trivial mitral regurgitation (MR). Since MMVD is essentially a disease of old age, the fact that MR is observed at a young age suggests the characteristics of MMVD in Chihuahuas.

Thereafter, we examined the prevalence and characteristics of MR in young Chihuahuas without a heart murmur. The results showed that a high percentage (86.7%, 26/30) of the Chihuahuas had MR. Additionally, findings suggestive of MMVD, such as mitral valve thickening and deviation to the left atrial side, were observed in 17 and 14 cases, respectively. These results suggest that Chihuahuas have MR from a young age and that even young individuals may develop MMVD. Furthermore, late systolic MR, which occurs only during the late systolic phase, and previously unreported in veterinary medicine, was also observed. This may be a predisposing factor for the high incidence of MMVD observed in this breed. Late systolic MR is different from the usual MR that occurs from early to late systole (full systolic MR).

Finally, we examined the association between trivial MR and cardiac biomarkers. ANP and NT-proBNP were measured in 56 samples collected from 28 Chihuahuas with no heart murmur. There was no correlation between the degree of mitral regurgitation and biomarker values. We can thus conclude the following: it is good that cardiac biomarkers are not abnormal values because trivial MR in

Chihuahuas is not a target for treatment. Biomarkers can be used as a screening test to consider the need for treatment even in young Chihuahuas.

This study provided baseline information for the echocardiographic indices and cardiac biomarkers, which are important clinical evaluation methods for this breed. Notably, our results show that Chihuahuas have trivial MR from a young age, which may be one of the predisposing factors for MMVD.

## 目次

第1章 諸言	・・・1
第2章 健常なチワワの心形態の測定と基準値の確立	・・・3
1. 背景	
2. 材料および方法	
3. 結果	
4. 考察	
5. 小括	
第3章 心雑音が聴取されない若齢のチワワにおける僧帽弁逆流の特徴と保有率	・・・7
1. 背景	
2. 材料および方法	
3. 結果	
4. 考察	
5. 小括	
第4章 チワワにおけるバイオマーカーと早期病変との関連性	・・・10
1. 背景	
2. 材料および方法	
3. 結果	
4. 考察	
5. 小括	
第5章 考察	・・・14
第6章 結語	・・・15
謝辞	・・・16
参考文献	・・・17
図表	・・・23

## 第1章 諸言

粘液腫様僧帽弁疾患（MMVD）は犬で高率に発生する疾患であり、心疾患の70%以上を占める<sup>1,2)</sup>。罹患率が加齢と共に上昇することや小型犬に好発するといった疾患の特徴から、病理学的な探索を含めたものでは8才以上の小型犬の90%がMMVDに罹患しているという報告まで存在する<sup>3)</sup>。

本疾患の病因は、弁尖や腱索における線維層の破壊、および海綿層における酸性ムコ多糖類の過剰な蓄積（粘液腫様変性）であり、その結果として弁尖同士の間隔不良や腱索の伸長が起こり、僧帽弁逆流（MR）を生じる。病態はこのMRの量によって変化し、逆流量が少ない、つまりMMVDの初期であれば、レニン-アンジオテンシン-アルドステロン系、交感神経系、神経体液性因子の亢進により、MRによって減少した心拍出量を代償することが可能である。しかし、逆流量が増加したMMVDでは、心拍出量を維持するために、前述の機序が生体にとって過度な代償機転として働き、左房、左室への容量負荷となる。最終的には左房圧、肺静脈圧が上昇することで、うっ血性心不全、すなわち肺水腫へと進行する。MMVDは進行性の疾患であることから、うっ血性心不全を発症した犬の予後は不良であり、内科治療のみでの生存期間中央値は9ヶ月程度とされている<sup>4)</sup>。

MMVDの病態を評価するために、臨床現場ではアメリカ獣医内科学会から提唱されている分類法が用いられる<sup>5)</sup>。この分類法では、MMVDはStage A、B、C、Dに分類され、僧帽弁における器質的変化の有無、心拡大の有無および心不全の有無によって病期が判断される（表1）。2016年には、Stage B2におけるピモベンダン投与の有用性が無作為化比較試験（EPIC Study）で証明され、MMVDの病期分類が実臨床に広く浸透することとなった<sup>6)</sup>。

MMVDの罹患率には、犬種差や動物種差が存在することから、遺伝性疾患と考えられているが、正確な発生機序は未だ不明である。したがって、罹患犬の交配を避ける繁殖プログラムを除けば、粘液腫様変性の発生を未然に防ぐ方法や粘液腫様変性そのものを治療する方法はない<sup>7)</sup>。

すべての犬種がMMVDに罹患する可能性はあるものの、本疾患は小型犬に好発する。小型犬であることから、臨床的に健康であってもチワワは上記分類法のStage Aに分類される。さらに、チワワはMMVDの罹患率が高いことが知られている。国外の多施設で行われた疫学調査（LOOK-Mitral registry）では、6,016頭のMMVDのうち、チワワは雑種犬、キ

ャバリア・キングチャールズ・スパニエル（CKCS）に次いで3番目に多く、483例が罹患犬として組み入れられている<sup>8)</sup>。本邦では、チワワはトイプードルに次いで2番目に多く、5万頭以上が飼育されているといった背景から、国内ではMMVDに罹患したチワワに遭遇する頻度はさらに高いと考えられる<sup>9)</sup>。

また、罹患率だけではなく、チワワではMMVDが重症化する可能性が高い。僧帽弁形成術は病態が進行したMMVDに適応となる治療法であるが、手術を受けた犬種の内訳に注目すると常にチワワが上位を占めている<sup>10)</sup>。犬種ごとに死因を調べた研究において、チワワの死因は循環器疾患が最も多いことから、本犬種のMMVDは重症化する傾向にあると推察される<sup>11)</sup>。

このように、本邦の小動物獣医臨床ではチワワのMMVDは極めて重要な疾患である。しかしながら、チワワのみならず本疾患が発症する根本的な機序についてはこれまでに解明されていない。そこでMMVDがチワワで好発する要因を解明するには早期段階における病態について詳細に観察する必要があると考え、本研究を行った。本研究の目的は、チワワのMMVDの早期病態の把握と臨床的検査法の確立である。



## 第2章 健康なチワワの心形態の測定と基準値の確立（研究1）

### 1. 背景

心エコー図検査は MMVD の病態評価に必須の検査であり、特に左心室径と左心房径は MMVD の重症度を分類する基準となる<sup>5)</sup>。しかしながら、体重に合わせた心エコーの正常値を算出する基準式は、2 kg 以上の多種多様な犬種、主に大型犬のデータを中心に作られたものであり、この基準式が体格の小さなチワワに適応できるかは不明である<sup>12)</sup>。さらに、犬は種特有の体型や胸郭形を有するため、犬種ごとに作成された基準範囲を参考にする方が好ましいとする報告も存在する<sup>13)</sup>。実際にイングリッシュ・ブルドッグ、ダックスフント、CKCS などの特定の犬種では、心疾患の病態評価を行う際に犬種に合わせた心エコーの基準範囲が提案されている<sup>14, 15, 16)</sup>。

本邦で多数飼育され MMVD の好発犬種とされるチワワでは、これまでに心エコー図検査の基準値は明らかとなっていない。したがって研究1では、チワワにおける心エコー基準値（心臓内腔径）の確立を目的とした。

### 2. 材料および方法

#### 2.1 供試犬

臨床的に健康であると判断された 10 ヶ月齢から 7 歳齢のチワワを研究に用いた。供試犬は動物病院に来院したチワワあるいはブリーダーで飼育されているチワワを対象とし、問診、身体検査および血圧測定から、臨床的に健康であると判断した。各個体において、体重、体温、呼吸数、心拍数、収縮期血圧の測定のほか、静かな環境で注意深い聴診を行った。心雑音は、Grade 1/6 あるいは収縮中期クリックが聴取された犬は研究対象として組み入れた。Grade 2/6 以上の明らかな心雑音を有する個体、CS スコアが 1 あるいは 5 の過度な消瘦や肥満が認められる個体、および脱水や浮腫が疑われる個体は研究の対象から除外した。また、心エコー図検査で明らかな僧帽弁の肥厚や逸脱、僧帽弁逆流が確認された個体も研究の対象から除外した。

なお、本研究は麻布大学実験動物委員会にて承認を得て実施した（承認番号：第 201124-2 号）。

## 2.2 心エコー図検査

心エコー図検査は、GE Healthcare 社製 (Chicago, the United States) Vivid E9, 6 あるいは 12 MHz のセクタプローブを使用し、鎮静剤を投与せずに実施した。心エコーの走査は筆者あるいは 1 人の心臓病専門医のいずれかが行い、計測はすべて筆者が行った。計測は連続した 3 心拍で行い、その平均値を求めた。

心エコー図検査における記録および測定は、アメリカ心エコー図学会のガイドラインに従い実施した<sup>43)</sup>。右傍胸骨心尖部断面腱索レベルにて、M モード法を用いて、左室拡張末期径 (LVIDd) と収縮末期径 (LVIDs)、ならびに左室自由壁厚 (LVPWd) と中隔壁厚 (IVSd) を leading edge-to-leading edge 法で計測した。LVIDd については、以下の式を用いて標準化した値 (LVIDDN) を求めた： $LVIDDN = LVIDd \text{ (cm)} / (BW \text{ (kg)}^{0.294})^{12)}$ 。左室内径短縮率 (FS) については、 $FS \text{ (\%)} = (LVIDd - LVIDs) / LVIDd \times 100$  として求めた。左心房径 (LA) と大動脈径 (Ao) は右傍胸骨短軸断面心基底部レベルにて、従来の報告されている測定法に従い inner edge-to-inner edge 法にて収縮末期に測定し、それぞれの値から左心房大動脈径比 (LA/Ao) を求めた<sup>17)</sup>。加えて、左傍胸骨心尖四腔断面にて、パルスドプラ法を用いて左室拡張早期流入波 (E 波) を記録した。

検査者内誤差を求めるため、10 検体の記録を無作為に抽出し計測を行い、その 1 ヶ月後に同一の検査者が再計測した。さらに検査者間誤差を求めるため、異なる検査者が同 10 検体の記録を計測した。

## 2.3 統計解析

統計解析には、IBM 社製 (New York, the United States) SPSS 27.0 を使用した。統計学的有意水準は P 値 0.05 未満とした。

正規性検定として、すべての値に Shapiro-Wilk 検定を行った。正規性が認められた値については平均値と標準偏差を表記し、正規性が認められなかった値については中央値と範囲を表記した。

中央値、上限値、下限値のそれぞれの範囲、上限値、下限値の 90% 信頼区間については、Biostatistiques (Toulouse, France) アプリケーションソフト (Reference Value Advisor version 2.1) を使用して求めた<sup>18)</sup>。

共分散分析を行い、年齢、性別、体重、心拍数のそれぞれが心エコーの測定値に及ぼす影響について調べ、回帰係数を求めた。

体重によって影響を受ける心エコーの測定値（LA、Ao、LVIDd、LVPWd、IVSd）については、それぞれのアロメトリー式を求めた。アロメトリー式の係数  $Y=aM^b$  については、Cornell らと同様の方法によって求め、ここでは、Y はエコー測定値、M は体重、a は比例定数、b はスケーリング指数を示す<sup>12)</sup>。これらの係数から、a の比例定数について 95% 予測区間を算出し、体重に従って変動する心エコーの基準範囲をエース統計サポート社（大阪府 <http://www.ace-stat.co.jp>）の協力を得て求めた。LA と LVIDd については、MMVD を評価する上で重要となる値であることから、実際の測定値のプロットと 95% 予測区間を図示し、さらにここに Cornell らが報告した従来の基準範囲を同図内に加えた<sup>12)</sup>。

検査者内誤差と偏差者間誤差については、変動係数（CV）：CV=測定値間の平均差/測定値平均×100 を求めた。

### 3. 結果

#### 3.1 供試犬

56 例を評価したところ、7 例に Grade 2/6 以上の心雑音が聴取され、9 例に心エコー図検査で明らかな僧帽弁逆流が確認されたことから、そのどちらかあるいは両方を満たした 9 例を研究の対象から除外した。肥満や消瘦、脱水や浮腫が認められた個体はいなかった。ごくわずかな心雑音（Grade 1/6）が 3 例で聴取されたが、心エコー図検査では循環動態に影響を及ぼさないと考えられる程度の軽微な僧帽弁逆流であったため、研究の対象とした。このほかに心音の異常が聴取された犬はいなかった。心エコー図検査では、38 例に軽微な僧帽弁逆流（カラー Doppler モードでは数ピクセル程度）が認められたが、これらの逆流についても循環動態に影響を及ぼすものではないと判断し、研究の対象とした。

最終的に、動物病院に来院した 13 例とブリーダーで飼育されている 34 例の計 47 例（雌 31 例、雄 16 例；未避妊未去勢 37 例、避妊去勢 10 例）を本研究の対象とした。年齢の中央値は 29 ヶ月（最大-最小範囲 10-80 ヶ月）、体重の中央値は 2.08 kg（1.60-4.75 kg）、心拍数の中央値は 115 回/分（76-184 回/分）であった。

#### 3.2 心エコー図検査

対象となった 47 例ですべての測定項目が計測可能であった。IVSd を除いたすべての測定値に正規性が認められた。実際の心エコー図検査の結果は、表 2 に示す。LA/Ao、LVIDDn が異常値（LA/Ao>1.6、LVIDDn>1.7）を示した個体は認められなかった。

共分散分析では、体重と LA ( $b=1.528$ ;  $P<0.001$ )、Ao ( $b=0.895$ ;  $P<0.001$ )、LVIDd ( $b=1.618$ ;  $P<0.001$ )、LVPWd ( $b=0.615$ ;  $P<0.001$ )、IVSd ( $b=0.89$ ;  $P=0.002$ ) のそれぞれに正の相関が認められた。アロメトリ式を求め、その式から体重によって変動する LA、Ao、LVIDd、LVPWd、IVSd のそれぞれの基準範囲を算出した (図 1、2、表 3)。そのほか、年齢と LVPWd ( $b=0.012$ ;  $P=0.019$ ) に正の相関が認められ、心拍数と LVIDd ( $b=-0.027$ ;  $P=0.021$ ) と LVIDDN ( $b=-0.002$ ;  $P=0.03$ ) に負の相関が認められた。性別との相関はいずれの測定値においても認められなかった。

検査者内誤差ならびに検査者間誤差の結果は表 4 に示した。CV は多くの項目で 6%未満であり、いずれも 10%未満であった。

#### 4. 考察

本研究により、チワワの心エコー値 (心臓内腔径) は体重の増加に従い増加することが明らかとなった。特定の品種では、心エコーの参考範囲は雌雄で異なることが示されているが、チワワでは性別による影響は認めなかった<sup>19)</sup>。過去の研究では、年齢が心筋壁の厚さと内腔径に影響を及ぼすとされているが、本研究においては、年齢は LVPWd にわずかに影響するものの、臨床的な意義は低いと考えられた<sup>20, 21)</sup>。ただし、今回の研究では、若い個体で母集団が構成されているため、その影響が反映された可能性がある。

健康なチワワの椎骨心臓スコアは、他犬種と比較して高いことが報告されている<sup>22)</sup>。また、大型犬に比べ小型犬では、胸腔容積に対する心臓容積の比率が高いことも明らかとなっている<sup>13)</sup>。しかしながら、チワワの心エコーの基準範囲は、実臨床で多犬種に用いられている Cornell らの基準範囲と同程度であった<sup>12)</sup>。

体重の影響を除外した LA/Ao と LVIDDN は、犬の左心房ならびに左心室の拡大について判断する測定項目である。ただし、ボクサーやビーグルなどの一部の犬種では大動脈径が小さく、その影響から LA/Ao の基準値として設定される 1.6 よりも大きく、1.73 が基準範囲の上限であることが報告されている<sup>23)</sup>。犬種ごとの LA/Ao を調査した Rishniw らの報告では、チワワの LA/Ao は 1.6 未満としており、これは今回の筆者の研究結果と同様の結果であった<sup>23)</sup>。また LVIDDN は、本研究の対象犬では Cornell らによって決定された基準範囲の上限 1.85 を超える個体は確認されなかった<sup>12)</sup>。この従来の LVIDDN の基準範囲の上限を超えないといった結果は、5 kg 未満の小型犬種についても調べられた Isayama らの報告

においても同様である<sup>44)</sup>。さらに、チワワでは、性別、年齢、体重などが、LA/Ao や LVIDDN の値に影響を及ぼさないことが明らかとなった。

健常個体を収集するため、本研究では若年齢のチワワを用いてデータを収集したが、心エコー図検査では多くの個体に軽微な僧帽弁逆流が認められた。この逆流は循環動態に影響を及ぼさない程度のわずかなものであると推察され、今回の研究結果に与える影響はないと判断した。ただし、若年齢で僧帽弁逆流が認められるといった特徴は、過去に報告されているキャバリア・キング・チャールズ・スパニエルの特徴と類似しており、チワワにおいて MMVD を好発する要因のひとつである可能性が示唆された<sup>7, 24)</sup>。これらの軽微な僧帽弁逆流はチワワにおける正常な所見のひとつであるのか、あるいは MMVD を示唆する所見であるのかといった点については、僧帽弁の変性や逸脱の有無について評価を行う必要があると考えられ、これについては今後の検討課題と考えられた。

## 5. 小括

チワワにおける左心室径、左心房径は体重に従い変動した。ただし、これは犬種特異的といったものではなく、従来から実臨床で汎用されている予測式を用いて評価することが可能であった。

### 第3章 心雑音が聴取されない若齢のチワワにおける僧帽弁逆流の特徴と保有率（研究2）

#### 1. 背景

MMVD は高齢犬に多く認められる疾患であるが、犬種によっては若齢期に発症するといった特徴がある<sup>24)</sup>。また、MMVD は心雑音をきっかけに診断されることが一般的であるが、心雑音を伴うことなく MMVD に罹患している犬種も報告されている<sup>25, 26)</sup>。

第2章（研究1）において、僧帽弁逆流を有する若齢のチワワを多く経験した（47 例中 38 例）ことから、早期の僧帽弁逆流について調べることが MMVD 発症のメカニズム解明につながると考え、研究2では僧帽弁逆流の特徴と保有率を調べることにした。

#### 2. 材料および方法

##### 2.1 供試犬

臨床的に健康なチワワを本研究の対象とした。年齢は7歳未満とし、心雑音が聴取されない個体を研究の対象とした。その他の組み入れ基準は研究1と同様とした。

なお、本研究は麻布大学実験動物委員会にて承認を得て実施した（承認番号：第201124-2号）。

##### 2.2 心エコー図検査

心エコー図検査は、GE Healthcare 社製（Chicago, the United States）Vivid E9, 6あるいは12 MHz のセクタプローブを使用し、鎮静剤を投与せずに実施した。心エコーの記録は筆者あるいは1人の心臓病専門医のいずれかが行い、計測はすべて筆者が行った。計測は連続した3心拍で行い、その平均値を求めた。

僧帽弁前尖と後尖のそれぞれの形態評価を行うため、右傍胸骨四腔断面像から、肥厚、逸脱の有無を評価し、さらに僧帽弁前尖については厚さ、長さ、および面積を計測した（図3）<sup>27, 28, 29)</sup>。僧帽弁前尖の厚さ、長さ、面積の測定は、左室拡張早期あるいは後期に行い、僧帽前尖の基部を参考に肥厚の有無を判断した<sup>26)</sup>。僧帽弁逸脱については、収縮期に僧帽弁が弁輪面に接する、あるいはわずかに超える場合に軽度の逸脱と判断し、僧帽弁が弁輪面を超えて左房面まで到達する場合に中程度の逸脱と判断した<sup>45)</sup>。僧帽弁逆流の有無については、右傍胸骨長軸断面あるいは左傍胸骨心尖断面を用いて、僧帽弁の形態に合わせて超音波プローブ

を移動、走査させながら評価を行った。僧帽弁逆流が認められた個体については、カラードプラ法における MR 血流の面積と左心房面積の比から逆流ジェット面積を求め、重症度として 20%未満を軽度、20%以上を中程度に分類した<sup>30)</sup>。

### 2.3 僧帽弁逆流が発生する時相の評価

僧帽弁逆流が認められた個体については、僧帽弁逆流を生じる時相について評価を行った<sup>31)</sup>。僧帽弁逆流が収縮期のどの時相から発生するかを調べるため、心エコー図のフレームレートを用いた。僧帽弁閉鎖から僧帽弁逆流までの心エコーのフレーム数を求め、これを僧帽弁閉鎖から僧帽弁解放までのフレーム数（およそその全収縮期）で除し、0.5 を超えた場合を収縮期の後半に限定して生じる MR (Late systolic MR) と定義した。心エコー図検査は、フレームレートが最大となるよう画像表示領域およびカラードプラの関心領域を必要最小限とし、高周波プローブ（12 MHz）を使用して記録を行った（図 4）。

### 2.4 統計解析

統計解析には、IBM 社製（New York, the United States）SPSS 27.0 を使用した。統計学的有意水準は P 値 0.05 未満とした。

対象となったチワワを年齢別（0～1 歳齢、2～3 歳齢、4～6 歳齢）に分類し、3 群間の比較として The Kruskal-Wallis 検定を行った。

Late systolic MR については、2 群間での比較として Mann-Whitney U 検定を行った。

## 3. 結果

### 3.1 供試犬

30 例が本研究の対象となった。性別は雌 18 例、雄 12 例であり、年齢の中央値は 24.5 ヶ月齢（四分位範囲 14.3-42.3 ヶ月齢）、体重の中央値は 2.0（1.9-2.2 kg）であった。年齢を層別化した結果は、0-1 歳齢が 13 例、2-3 歳齢が 10 例、4-6 歳齢が 7 例であった。それぞれの結果については、表 5 に示した。

### 3.2 心エコー図検査

僧帽弁逆流は 30 例中 26 例（86.7%）、僧帽弁の肥厚は 17 例（56.7%）、僧帽弁の逸脱は 14 例（46.7%）で認められた。2 歳齢以上では、すべての個体に僧帽弁逆流が認められた。年齢別に比較した結果で

は、僧帽弁逆流を有する割合は年齢とともに増加する傾向が認められた一方で、逆流ジェット面積には有意な差は認められなかった

( $P=0.333$ )。僧帽弁の肥厚、逸脱も年齢とともに増加する傾向にあり、逸脱の重症度、僧帽弁前尖の厚さ、長さ、面積には有意な差が認められた (いずれも  $P<0.001$ ) (表 5)。

### 3.3 僧帽弁逆流が発生する時相の評価

僧帽弁逆流が認められた 26 例を対象に解析を行った。Late Systolic MR は 6 例に認められた。両群の比較では、年齢、僧帽弁逆流の重症度、逆流ジェット面積に有意な差は認められなかった。僧帽弁の肥厚と逸脱は Late Systolic MR 群では 1 例のみに認められ、非 Late Systolic MR 群に比べ少ない傾向にあった。僧帽弁前尖の厚さについては、Late Systolic MR 群で有意に低値を示した。結果については表 6 に示す。

## 4. 考察

心雑音が聴取されないチワワであっても、極めて高い割合で MR を保有することが明らかとなった。実臨床においては、MR は心雑音をきっかけに診断されることが一般的であるものの、本研究の結果からチワワにおいては心雑音を生じるより極めて早期に MR を保有していると考えられた。この心雑音が聴取される以前に MR を生じる病態は、ダックスフンドやノーフォークテリアといった犬種においても報告されているが、これらの犬種においては本研究のチワワの結果に比べて、MR を保有する割合は少なく、また MR を有する個体の年齢は高い傾向にある<sup>46,47)</sup>。このダックスフンドの報告においては、5 歳未満の 21 例中 7 例に、5～10 歳齢の 37 例中 22 例に、10 歳以上の 49 例中 39 例に MR が認められており、ノーフォークテリアにおいては、半数以上に MR が認められる年齢は 5.2 歳齢であったことが報告されている。これらの結果と比較し、チワワにおいては、若齢期から MR を保有する割合が極めて高いと考えられた。

MMVD の病因となる僧帽弁における粘液腫様変性は、僧帽弁に起こる化学的刺激のほか、機械的な刺激によっても生じる<sup>32)</sup>。実際に、実験的に逆流を作成した羊の僧帽弁では粘液腫様変性を生じることが確認されている。これらの背景から、若齢期から存在する MR が、チワワにおいて MMVD を発症するひとつの要因である可能性が考えられた。本研究では 0～1 歳齢における僧帽弁の肥厚や逸脱といった MMVD に関連する所見は 13 例中それぞれ 4 例と 2 例であったが、この所見は 2～3 歳齢では、10 例中 6 例と 5 例に増加し、4～6 歳齢では、7 例中すべての個体で肥厚と逸



脱が認められた。この傾向から、チワワにおける MR は生理的なものである可能性が考えられ、一方で僧帽弁における肥厚や逸脱といった弁に起こる器質的変化、変性については MMVD と捉えるべきと考えられた。

また、MR が認められた 26 例中 6 例では、収縮後期に限定して生じる MR である Late Systolic MR が確認された。この現象はこれまでに獣医療では報告されていないものの、人医療においては、僧帽弁逸脱症患者の一部に認められることが報告されており、僧帽弁輪や乳頭筋を含めた僧帽弁複合体の収縮期における不安定性によって生じる現象とされている<sup>31)</sup>。これらの背景から Late Systolic MR は、チワワにおける犬種特異的な現象である可能性があり、実際に本研究においても Late Systolic MR のチワワは若年齢で認められる傾向にあり、1 例を除いて僧帽弁における明らかな器質的変化（肥厚や逸脱）は認められなかった。さらなる検討が必要ではあるが、Late Systolic MR がチワワの MMVD 発症の要因となっている可能性が考えられた。

## 5. 小括

チワワでは、若齢かつ心雑音が聴取されない個体であっても、高率に僧帽弁逆流が認められた。さらに、それらのうち僧帽弁形態に異常がなく収縮後期に限定した僧帽弁逆流を呈する個体が存在した。

## 第4章 心雑音が聴取されない若齢のチワワにおけるバイオマーカーと僧帽弁逆流との関連性（研究3）

### 1. 背景

MMVD は高齢小型犬で最も多く認められる心疾患であり、臨床現場では僧帽弁逆流による心雑音をきっかけに診断されることが一般的である。ただし、チワワでは臨床的に健康であっても若齢時にすでに僧帽弁逆流が生じており、これは心雑音が聴取されないといった特徴があることが、第2章（研究1）ならびに第3章（研究2）の研究によって明らかとなった。

ANP、NT-proBNP などのバイオマーカーは近年、獣医療で心疾患の病態を評価するために用いられており、心房、心室への伸展刺激によって血中濃度が上昇することから、心臓への容量負荷の程度を推定するひとつの指標となっている<sup>33)</sup>。そこで、本章（研究3）ではこのチワワに認められる軽度の僧帽弁逆流がバイオマーカーの値に及ぼす影響について調べることを目的とした。

### 2. 材料および方法

#### 2.1 供試犬

供試犬はブリーダーで飼育されているチワワを対象とし、問診、身体検査および血圧測定から、臨床的に健康であると判断されたチワワを研究に組み入れた。ただし、年齢は8歳齢未満を対象とし、心雑音が聴取される個体は研究の対象から除外した。

なお、本研究は麻布大学実験動物委員会にて承認を得て実施した（承認番号：第201124-2号）。

#### 2.2 心エコー図検査

心エコー図検査は、GE Healthcare 社製（Chicago, the United States）Vivid E9, 6あるいは12 MHz のセクタプローブを使用し、鎮静剤を投与せずに実施した。心エコーの記録は筆者あるいは1人の心臓病専門医のいずれかが行い、計測はすべて新実が行った。計測は連続した3心拍で行い、その平均値を求めた。

僧帽弁逆流の有無については、右傍胸骨長軸断面あるいは左傍胸骨心尖断面を用いて、僧帽弁の形態に合わせて超音波プローブを移動させながら走査し評価を行った。僧帽弁逆流が認められた個体については、逆流ジェット面積と左心房面積の比から、逆流ジェット面積を求めた。

## 2.3 バイオマーカー

頸静脈もしくは外側伏在静脈から採血を行い、血液サンプルをアプロチニン採血管に 1ml、血清管に 2ml 分注した。その後、血液サンプルは卓上小型遠心分離機 KUBOTA 2010 を用いて 3000～3500 回転で 10 分間遠心し、分離した血漿と血清は-18℃程度で凍結保存した。富士フイルム VET システムズ（東京）にて NT-proBNP、ANP 測定を行い、スクリーニング検査として BUN、Cre を測定した。なお、NT-proBNP は、測定可能な下限値が 500 pmol/L であったため、測定結果が 500 pmol/l 未満となったものは 500 pmol/l とした。これらのバイオマーカーの参考基準値範囲は同社の公表している基準（NT-proBNP 900pmol/l 以下、ANP 8.6～105.8 pg/ml、BUN 9.2～29.2 mg/dl、Cre 0.40～1.40 mg/dl ）を参考にした。

## 2.4 統計解析

統計解析には、IBM 社製（New York, the United States）SPSS 27.0 を使用した。統計学的有意水準は P 値 0.05 未満とした。

正規性検定として、すべての値に Shapiro-Wilk 検定を行った。正規性が認められた値については平均値と標準偏差を表記し、正規性が認められなかった値については中央値と範囲を表記した。

逆流ジェット面積の結果から、10%以上あるいは 10%未満、また 20%以上あるいは 20%未満にそれぞれ群わけをした。両群の比較として、Mann-Whitney U 検定を行った。

## 3. 結果

### 3.1 供試犬

健康な 29 例のチワワに対して身体検査を行ったが、1 例に心雑音が聴取されたため除外した。最終的に 28 例が研究の対象となった。

28 例の雌雄の内訳は雌 19 例、雄 12 例であり、年齢の中央値は 24.5 ヶ月齢（四分位範囲 5-92 ヶ月齢）、体重の中央値は 2.0（1.3-2.7 kg）であった。

### 3.2 心エコー図検査

僧帽弁逆流は 28 例中 26 例（92.9%）に認められた。逆流の程度は全例で軽度であり、明らかな心拡大はなく形態的異常（心内腔計測項目の異常値）は認められなかった。心エコー図検査の結果については、表 7 に示す。

### 3.3 バイオマーカー

28 例から 56 サンプルを収集した。スクリーニングのために実施した BUN と Cre はすべての測定で基準範囲内であった。NT-proBNP の中央値は 584.90 pmol/L、平均値は 708.95 pmol/L であった。10 サンプルでは、基準上限値である 900 pmol/L を超えた。ANP の中央値は 80.40 pg/mL、平均値は 77.71 pg/mL であった。4 サンプルでは、基準上限値である 105.8 pg/mL を超えた。血液検査の結果については、図 5 に示した。

### 3.4 逆流ジェット面積とバイオマーカーの関連性

逆流ジェット面積をもとに全 56 サンプルを群わけし、逆流の程度とバイオマーカーの関係について評価した。逆流面積 10%以上と 10%未満に二群した結果、10%未満は 36 サンプル、10%以上は 20 サンプルであり、20%以上と 20%未満に二群した結果では、20%未満は 49 サンプル、20%以上は 7 サンプルであった。10%未満と 10%以上および 20%未満と 20%以上のそれぞれの群間比較において、NT-proBNP と ANP のいずれのバイオマーカーにおいても有意な差は認められなかった（図 6、図 7）。

逆流ジェット面積と NT-proBNP、逆流ジェット面積と ANP、NT-proBNP と ANP の 3 項目において、相関は認められなかった。散布図は図 8、図 9 に記載した。

## 4. 考察

心雑音のないチワワにおいて、僧帽弁逆流の程度と心臓バイオマーカーの結果に関連は認められなかった。NT-proBNP は心室の伸展刺激によって心室筋から排出されるホルモンであり、MMVD の発症や重症化に伴い上昇する。過去の報告では、健常な犬の NT-proBNP の中央値は 638 pmol/L、696.5 pmol/L とされており、本研究のチワワでの結果はこれと同程度であった<sup>34, 35)</sup>。したがって、心雑音が聴取されないチワワで認められる僧帽弁逆流は、NT-proBNP の値には反映されない程度、つまり心室への伸展刺激は非常にわずかである、もしくはないものと推察される。ANP は心房へ伸展刺激によって上昇するホルモンであるが、今回の研究では NT-proBNP と同様に、僧帽弁逆流による明らかな影響は確認されなかった。実際の臨床現場では、犬の MMVD は拡大心となってから治療を開始することが一般的であるため、チワワにおける軽微な MR によってバイオマーカーが高値を示さなかったことは、臨床像と合致した結果であり、本研究の臨床的な意義は高いと考えられた。

NT-proBNP は、ラブラドルレトリバーやドーベルマンなどの犬種では健常犬であっても高値を示すことが報告されており、犬種特異性があることが明らかとなっている<sup>36, 37)</sup>。しかしながら、チワワにおいては、前述のように、従来の基準となる範囲に良好に収まっていることが確認された。ただし、本研究ではNT-proBNP の基準範囲の上限値である 900 pmol/L を超えた検体が 10 サンプル存在した。NT-proBNP は腎疾患との関連性が報告されているが、本研究に組み入れた犬の腎数値はすべて正常値であった<sup>38)</sup>。Harr らの研究では、年齢を幼若期(0～18 ヶ月齢)、成犬期(19 ヶ月～老年期)に分類して比較したところ、各群で NT-proBNP の値に有意差があったことを報告している<sup>39)</sup>。また、同研究では、幼若期は中央値 500 pmol/L (IQR 500pmol/L 以下～982 pmol/L)、成犬期は中央値 617 pmol/L (IQR 500 pmol/L 以下～1450 pmol/L) としており、若齢かつ臨床的に問題の無い個体であっても NT-proBNP の値が 900 pmol/L を超えることがあると示している。したがって、NT-proBNP は心機能に異常がなくとも基準範囲上限値を逸脱することを考慮すべきである。

ANP においても健常犬の血中濃度は 61.9 pg/ml、50.5 pg/ml であったとされており、チワワの ANP 値はこれよりやや高値を示したものの、基準範囲内には良好に収まっていることが確認された<sup>35, 40)</sup>。この結果は、NT-proBNP と同様に臨床上問題とならない程度の僧帽弁逆流を正しく評価していると捉えることができる。

## 5. 小括

心雑音のない若齢のチワワで認められる僧帽弁逆流によってバイオマーカーが上昇することはなく、心筋への伸展刺激を伴わない病態であることが確認された。したがって本犬種の臨床例におけるバイオマーカー測定の目的を十分果たせると判断された。

## 第5章 考察

犬の MMVD は加齢性に罹患率が上昇する疾患である<sup>41)</sup>。しかし、MMVD の好発犬種とされるチワワについて調べたところ、若齢であるにもかかわらず MR を保有する個体が極めて多く、さらにそれらの一部では弁の肥厚や逸脱といった MMVD に関連する所見を伴うことが明らかとなった。キャバリア・キング・チャールズ・スパニエルは MMVD を好発する犬種のひとつとされているが、筆者がチワワで確認した結果と同様に、若齢期から MR を保有することや僧帽弁の器質的変化を伴うことが報告されている<sup>24)</sup>。チワワにおいても MMVD を好発する要因は、若齢期にあると考えられた。

さらに、より詳細に観察を行ったところ、1 歳齢のチワワでは、僧帽弁の肥厚や逸脱といった MMVD の特徴を伴わず MR を保有していることが明らかとなった。獣医学では、MR は僧帽弁に生じた粘液腫様変性の結果として生じるとされており、本研究で観察されたチワワの MR は、従来の犬の MR の特徴とは明らかに異なるものである。したがって、チワワにおいては、MMVD を発症する以前より MR を保有しており、この MR によって MMVD、つまり僧帽弁に粘液腫様変性を生じている可能性が考えられた。僧帽弁に発生する粘液腫様変性の機序のひとつには、機械的な弁への刺激が関連しているとされており、実際に、実験的に逆流を作成した羊の僧帽弁では粘液腫様変性を生じることが確認されている。若齢期からの MR を原因に MMVD を発症する可能性は十分に考えられる<sup>32)</sup>。

また、本来 MR は、僧帽弁が閉鎖する時相の全て（全収縮期）で、僧帽弁の逸脱と左房左室の圧較差によって生じる。しかし、若齢のチワワの一部では、収縮期の後半部分（収縮後期）に限定した MR が確認されており、これは一般的な MR とは異なる現象である。収縮後期に限定した MR についてはこれまで獣医療では報告されていないものの、人医療では収縮後期に起こる左室乳頭筋の特徴的な運動や僧帽弁輪の拡張、解剖学的位置の偏位などの結果として、僧帽弁が逸脱し、逆流が起こる現象とされている<sup>42)</sup>。このことから、チワワにおいても僧帽弁複合体の運動性や形態的特徴が若齢期から MR を生じているのではないかと考えられた。ただし、これらの点については、更なる研究が必要であると考えられた。

## 第6章 結語

MMVD の好発犬種であるチワワは、超小型犬ではあるものの心臓の内腔径の評価については、他の犬種と同様体重から換算される基準が当てはめられることがわかった。さらに、幼若齢期から MR を高い確率で保有し、僧帽弁の変性を伴わず収縮期の後半に限定する Late systolic MR を有する個体も存在した。MMVD 好発のチワワにおいて認められたこれらの早期 MR の特徴から、僧帽弁複合体における形態的特徴あるいは運動性の違いが MMVD を好発する要因となっている可能性が考えられ今後研究する必要があると思われた。

本論文の一部は以下に公表した。

Niimi S, Kobayashi H, Take Y, Ikoma S, Namikawa S, Fujii Y.  
Reference intervals for echocardiographic measurements in healthy Chihuahua dogs. The Journal of Veterinary Medical Science. 2022 Jun 10;84(6):754-759.

## 謝辞

本稿を終えるに当たり、終始懇切なる御指導、御校閲を賜りました麻布大学獣医学部獣医学科小動物外科学研究室 藤井洋子教授に深甚なる感謝の意を表します。

多大なる御協力、御援助いただきました小林春奈先生、研究室生諸氏に心より感謝いたします

本研究に多くの貴重な情報を提供してくれた動物たちに感謝の意を表します。



## 参考文献

- 1) Parker HG, Kilroy-Glynn P. Myxomatous mitral valve disease in dogs: Does size matter? *J Vet Cardiol.* 2012 Mar;14(1):19-29.
- 2) Detweiler DK, Patterson DF. The prevalence and types of cardiovascular disease in dogs. *Ann N Y Acad Sci.* 1965 Sep 8;127(1):481-516.
- 3) Fox PR. Pathology of myxomatous mitral valve disease in the dog. *J Vet Cardiol.* 2012 Mar;14(1):103-26.
- 4) Häggström J, Boswood A, O'Grady M, Jöns O, Smith S, Swift S, Borgarelli M, Gavaghan B, Kresken JG, Patteson M, Ablad B, Bussadori CM, Glaus T, Kovacević A, Rapp M, Santilli RA, Tidholm A, Eriksson A, Belanger MC, Deinert M, Little CJ, Kvart C, French A, Rønn-Landbo M, Wess G, Eggertsdottir AV, O'Sullivan ML, Schneider M, Lombard CW, Dukes-McEwan J, Willis R, Louvet A, DiFruscia R. Effect of pimobendan or benazepril hydrochloride on survival times in dogs with congestive heart failure caused by naturally occurring myxomatous mitral valve disease: the QUEST study. *J Vet Intern Med.* 2008 Sep-Oct;22(5):1124-35.
- 5) Keene BW, Atkins CE, Bonagura JD, Fox PR, Häggström J, Fuentes VL, Oyama MA, Rush JE, Stepien R, Uechi M. ACVIM consensus guidelines for the diagnosis and treatment of myxomatous mitral valve disease in dogs. *J Vet Intern Med.* 2019 May;33(3):1127-1140.
- 6) Boswood A, Häggström J, Gordon SG, Wess G, Stepien RL, Oyama MA, Keene BW, Bonagura J, MacDonald KA, Patteson M, Smith S, Fox PR, Sanderson K, Woolley R, Szatmári V, Menaut P, Church WM, O'Sullivan ML, Jaudon JP, Kresken JG, Rush J, Barrett KA, Rosenthal SL, Saunders AB, Ljungvall I, Deinert M, Bomassi E, Estrada AH, Fernandez Del Palacio MJ, Moise NS, Abbott JA, Fujii Y, Spier A, Luethy MW, Santilli RA, Uechi M, Tidholm A, Watson P. Effect of Pimobendan in Dogs with Preclinical Myxomatous Mitral Valve Disease and Cardiomegaly: The EPIC Study-A Randomized Clinical Trial. *J Vet Intern Med.* 2016 Nov;30(6):1765-1779.

- 7) Birkegård AC, Reimann MJ, Martinussen T, Häggström J, Pedersen HD, Olsen LH. Breeding Restrictions Decrease the Prevalence of Myxomatous Mitral Valve Disease in Cavalier King Charles Spaniels over an 8- to 10-Year Period. *J Vet Intern Med.* 2016 Jan-Feb;30(1):63-8.
- 8) Franchini A, Borgarelli M, Abbott JA, Mencioti G, Crosara S, Häggström J, Lahmers S, Rosenthal S, Tyrrell W. The longitudinal outcome of canine (K9) myxomatous mitral valve disease (LOOK-Mitral) registry: Baseline treatment characteristics. *J Vet Cardiol.* 2022 Jun;41:99-120.
- 9) The Kennel Club (Japan) 2020. Number of Dog Registration in Japan. <https://www.jkc.or.jp/archives/enrollment/14222> [accessed on October 26, 2021].
- 10) Uechi M, Mizukoshi T, Mizuno T, Mizuno M, Harada K, Ebisawa T, Takeuchi J, Sawada T, Uchida S, Shinoda A, Kasuya A, Endo M, Nishida M, Kono S, Fujiwara M, Nakamura T. Mitral valve repair under cardiopulmonary bypass in small-breed dogs: 48 cases (2006-2009). *J Am Vet Med Assoc.* 2012 May 15;240(10):1194-201.
- 11) J M Fleming, K E Creevy, D E L Promislow. Mortality in north american dogs from 1984 to 2004: an investigation into age-, size-, and breed-related causes of death. *J Vet Intern Med.* 2011 Mar-Apr;25(2):187-98.
- 12) Cornell CC, Kittleson MD, Della Torre P, Häggström J, Lombard CW, Pedersen HD, Vollmar A, Wey A. Allometric scaling of M-mode cardiac measurements in normal adult dogs. *J Vet Intern Med.* 2004 May-Jun;18(3):311-21.
- 13) Uehara T, Orito K, Fujii Y. CT-based anatomical features of large airway and heart volume in dogs of different body size. *Vet J.* 2019 Apr;246:21-26.
- 14) Patata V, Vezzosi T, Marchesotti F, Domenech O. Echocardiographic parameters in 50 healthy English bulldogs: preliminary reference intervals. *J Vet Cardiol.* 2021 Aug;36:55-63.
- 15) Garncarz M, Parzeniecka-Jaworska M, Czopowicz M, Hulanicka M, Jank M, Szaluś-Jordanow O. Reference intervals for transthoracic echocardiographic measurements in adult Dachshunds. *Pol J Vet Sci.* 2018 Dec;21(4):779-788.

- 16) Misbach C, Lefebvre HP, Concordet D, Gouni V, Trehieu-Sechi E, Petit AM, Damoiseaux C, Leverrier A, Pouchelon JL, Chetboul V. Echocardiography and conventional Doppler examination in clinically healthy adult Cavalier King Charles Spaniels: effect of body weight, age, and gender, and establishment of reference intervals. *J Vet Cardiol.* 2014 Jun;16(2):91-100.
  
- 17) Hansson K, Häggström J, Kvart C, Lord P. Left atrial to aortic root indices using two-dimensional and M-mode echocardiography in cavalier King Charles spaniels with and without left atrial enlargement. *Vet Radiol Ultrasound.* 2002 Nov-Dec;43(6):568-75.
  
- 18) Geffré A, Concordet D, Braun JP, Trumel C. Reference value advisor: a new freeware set of macroinstructions to calculate reference intervals with Microsoft Excel. *Vet Clin Pathol.* 2011 Mar;40(1):107-12.
  
- 19) Locatelli C, Santini A, Bonometti GA, Palermo V, Scarpa P, Sala E, Brambilla PG. Echocardiographic values in clinically healthy adult dogue de Bordeaux dogs. *J Small Anim Pract.* 2011 May;52(5):246-53.
  
- 20) Spasojević Kosić L, Trailović DR, Krstić N. Age-dependent electrocardiographic and echocardiographic changes in German Shepherd dogs. *Iran J Vet Res.* 2017 Winter;18(1):43-48.
  
- 21) Akasheva DU, Plokhova EV, Tkacheva ON, Strazhesko ID, Dudinskaya EN, Kruglikova AS, Pykhtina VS, Brailova NV, Pokshubina IA, Sharashkina NV, Agaltsov MV, Skvortsov D, Boytsov SA. Age-related left ventricular changes and their association with leukocyte telomere length in healthy people. *PLoS One.* 2015 Aug 14;10(8):e0135883.
  
- 22) Puccinelli C, Citi S, Vezzosi T, Garibaldi S, Tognetti R. A radiographic study of breed-specific vertebral heart score and vertebral left atrial size in Chihuahuas. *Vet Radiol Ultrasound.* 2021 Jan;62(1):20-26.
  
- 23) Rishniw M, Caivano D, Dickson D, Vatne L, Harris J, Matos JN. Two-dimensional echocardiographic left-atrial-to-aortic ratio in healthy adult dogs: a reexamination of reference intervals. *J Vet Cardiol.* 2019 Dec;26:29-38.

- 24) Pedersen HD, Kristensen BO, Lorentzen KA, Koch J, Jensen AL, Flagstad A. Mitral valve prolapse in 3-year-old healthy Cavalier King Charles Spaniels. An echocardiographic study. *Can J Vet Res.* 1995 Oct;59(4):294-8.
- 25) Garncarz M, Parzeniecka-Jaworska M, Hulanicka M, Jank M, Szaluś-Jordanow O, Kurek A. Mitral regurgitation in Dachshund dogs without heart murmurs. *J Vet Res.* 2017 Sep 19;61(3):363-366.
- 26) Trafny DJ, Freeman LM, Bulmer BJ, MacGregor JM, Rush JE, Meurs KM, Oyama MA. Auscultatory, echocardiographic, biochemical, nutritional, and environmental characteristics of mitral valve disease in Norfolk terriers. *J Vet Cardiol.* 2012 Mar;14(1):261-7.
- 27) Wesselowski S, Saunders AB, Werre S, Gordon SG. Echocardiographic measurement of the mitral valve in normal Cavalier King Charles spaniels: repeatability, optimal future study methods, and preliminary reference intervals. *J Vet Cardiol.* 2022 Oct;43:81-92.
- 28) Bagardi M, Bionda A, Locatelli C, Cortellari M, Frattini S, Negro A, Crepaldi P, Brambilla PG. Echocardiographic Evaluation of the Mitral Valve in Cavalier King Charles Spaniels. *Animals (Basel).* 2020 Aug 19;10(9):1454.
- 29) Terzo E, Di Marcello M, McAllister H, Glazier B, Lo Coco D, Locatelli C, Palermo V, Brambilla PG. Echocardiographic assessment of 537 dogs with mitral valve prolapse and leaflet involvement. *Vet Radiol Ultrasound.* 2009 Jul-Aug;50(4):416-22.
- 30) Olsen LH, Martinussen T, Pedersen HD. Early echocardiographic predictors of myxomatous mitral valve disease in dachshunds. *Vet Rec.* 2003 Mar 8;152(10):293-7.
- 31) Hei S, Iwataki M, Jang JY, Kuwaki H, Mahara K, Fukuda S, Kim YJ, Nabeshima Y, Onoue T, Nagata Y, Nishino S, Watanabe N, Takeuchi M, Nishimura Y, Song JK, Levine RA, Otsuji Y. Possible mechanism of late systolic mitral valve prolapse: systolic superior shift of leaflets secondary to annular dilatation that causes papillary muscle traction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2019 Mar 1;316(3):H629-H638.

- 32) Orton EC, Lacerda CM, MacLea HB. Signaling pathways in mitral valve degeneration. *J Vet Cardiol.* 2012 Mar;14(1):7-17.
- 33) Oyama MA. Using Cardiac Biomarkers in Veterinary Practice. *Clin Lab Med.* 2015 Sep;35(3):555-66.
- 34) Sjöstrand K, Wess G, Ljungvall I, Häggström J, Merveille AC, Wiberg M, Gouni V, Lundgren Willesen J, Hanås S, Lequarré AS, Mejer Sørensen L, Wolf J, Tired L, Kierczak M, Forsberg S, McEntee K, Battaille G, Seppälä E, Lindblad-Toh K, Georges M, Lohi H, Chetboul V, Fredholm M, Höglund K. Breed differences in natriuretic peptides in healthy dogs. *J Vet Intern Med.* 2014 Mar-Apr;28(2):451-7.
- 35) Ogawa M, Hori Y, Kanno N, Iwasa N, Toyofuku T, Isayama N, Yoshikawa A, Akabane R, Sakatani A, Miyakawa H, Hsu HH, Miyagawa Y, Takemura N. Comparison of N-terminal pro-atrial natriuretic peptide and three cardiac biomarkers for discriminatory ability of clinical stage in dogs with myxomatous mitral valve disease. *J Vet Med Sci.* 2021 Apr 24;83(4):705-715.
- 36) Gomart S, Allaway D, Harrison M, Dickson D, Seo J, Ferasin L, Payne JR, Hezzell MJ, Borgeat K. Long-term biological variability and the generation of a new reference interval for plasma N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in Labrador retrievers. *J Small Anim Pract.* 2020 Jun;61(6):368-373.
- 37) Singletary GE, Morris NA, Lynne O'Sullivan M, Gordon SG, Oyama MA. Prospective evaluation of NT-proBNP assay to detect occult dilated cardiomyopathy and predict survival in Doberman Pinschers. *J Vet Intern Med.* 2012 Nov-Dec;26(6):1330-6.
- 38) Boswood A, Dukes-McEwan J, Loureiro J, James RA, Martin M, Stafford-Johnson M, Smith P, Little C, Attree S. The diagnostic accuracy of different natriuretic peptides in the investigation of canine cardiac disease. *J Small Anim Pract.* 2008 Jan;49(1):26-32.
- 39) Harr KE, Gordon SG, Baumwart RD, Feldgreber R, Spiro MR. Analytical validation of a novel point-of-care immunoassay for canine N-terminal pro-brain natriuretic peptide analysis. *Vet Clin Pathol.* 2022 Sep;51(3):398-407.

- 40) Hori Y, Iguchi M, Hirakawa A, Kamiya Z, Yamano S, Ibaragi T, Isayama N, Yamashita Y, Iwasa N, Inaba H, Heishima Y, Yuki M. Evaluation of atrial natriuretic peptide and cardiac troponin I concentrations for assessment of disease severity in dogs with naturally occurring mitral valve disease. *J Am Vet Med Assoc.* 2020 Feb 1;256(3):340-348.
  
- 41) Borgarelli M, Buchanan JW. Historical review, epidemiology and natural history of degenerative mitral valve disease. *J Vet Cardiol.* 2012 Mar;14(1):93-101.
  
- 42) Hei S, Iwataki M, Jang JY, Kuwaki H, Fukuda S, Kim YJ, Toki M, Onoue T, Hayashi A, Nishino S, Watanabe N, Hayashida A, Tsuda Y, Araki M, Nishimura Y, Song JK, Yoshida K, Levine RA, Otsuji Y. Relations of Augmented Systolic Annular Expansion and Leaflet/Papillary Muscle Dynamics in Late-Systolic Mitral Valve Prolapse Evaluated by Echocardiography with a Speckle Tracking Analysis. *Int Heart J.* 2020;61(5):970-978.
  
- 43) Mitchell C, Rahko PS, Blauwet LA, Canaday B, Finstuen JA, Foster MC, Horton K, Ogunyankin KO, Palma RA, Velazquez EJ. Guidelines for Performing a Comprehensive Transthoracic Echocardiographic Examination in Adults: Recommendations from the American Society of Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr.* 2019 Jan;32(1):1-64.
  
- 44) Isayama N, Uchimura Y, Sasaki K, Maeda E, Takahashi T, Watanabe M. Reference Values of M-mode Echocardiographic Parameter in Adult Toy Breed Dogs. *Front Vet Sci.* 2022 Jun 23;9:918457.
  
- 45) Olsen LH, Fredholm M, Pedersen HD. Epidemiology and inheritance of mitral valve prolapse in Dachshunds. *J Vet Intern Med.* 1999 Sep-Oct;13(5):448-56.
  
- 46) Garncarz M, Parzeniecka-Jaworska M, Hulanicka M, Jank M, Szaluś-Jordanow O, Kurek A. Mitral Regurgitation in Dachshund Dogs without Heart Murmurs. *J Vet Res.* 2017 Sep 19;61(3):363-366.
  
- 47) Bodegård-Westling A, Tidholm A, Häggström J. Prevalence of mitral valve regurgitation in 79 asymptomatic Norfolk terriers. *J Vet Cardiol.* 2017 Apr;19(2):107-112.

表 1 粘液腫様変性性僧帽弁疾患の Stage 分類

Stage	基準
A	器質的異常はないが、MMVD を好発する小型犬種やキャバリア・キング・チャールズ・スパニエル
B1	器質的異常（僧帽弁の肥厚や逸脱）に伴う僧帽弁逆流や心雑音があるが、心拡大はない （心拡大の基準：心雑音＞GradeⅢ/Ⅵ、LA/Ao＞1.6、LVIDDN＞1.7、VHS＞10.5v を満たす）
B2	器質的異常と心拡大はあるが、心不全に関連する臨床徴候はない
C	うっ血性心不全を発症している、あるいは過去に発症したことがある
D	標準的な治療に対して抵抗性を示す難治性の MMVD

参考文献 5) より引用

表 2 健常なチワワ 47 例における心エコー図検査の結果

Variable	Median	Mean	SD	Min-Max	Lower RI	90% CI	Upper RI	90% CI
LA (mm)	10.8	11.0	1.5	7.9–14.6	8.0	7.4–8.7	14.0	13.4–14.6
Ao (mm)	8.9	9.2	1.0	6.9–11.2	7.2	6.8–7.6	11.2	10.7–11.6
LA/Ao	1.20	1.20	0.10	0.90–1.49	0.99	0.95–1.03	1.41	1.37–1.46
IVSd (mm)	4.5	4.8	1.2	2.9–10.0	3.0	2.9–3.3	9.4	6.4–10.0
LVIDd (mm)	18.6	18.4	1.8	13.6–23.9	14.7	14.0–15.6	22.1	21.3–22.9
LVPWd (mm)	4.6	4.5	0.8	3.0–6.6	3.0	2.7–3.3	6.1	5.7–6.4
LVIDs (mm)	10.6	10.5	1.7	6.5–13.4	7.1	6.4–7.8	13.9	13.1–14.6
FS (%)	42.6	43.3	6.8	32.2–57.6	29.4	26.6–32.2	57.3	54.5–60.4
E-wave (m/sec)	0.65	0.67	0.10	0.40–0.93	0.47	0.43–0.51	0.86	0.82–0.90
LVIDDN	1.46	1.46	0.13	1.15–1.72	1.18	1.13–1.25	1.73	1.67–1.78

LA, left atrial short-axis diameter; Ao, aortic valve short axis diameter; LA/Ao, left atrial-to-aortic ratio; IVSd, interventricular septum thickness at end-diastole; LVIDd, left ventricular internal dimension at end-diastole; LVPWd, left ventricular posterior wall thickness at end-diastole; LVIDs, left ventricular internal dimension at end-systole; FS, fractional shortening; E-wave, peak velocity of early diastolic transmitral flow; LVIDDN, normalized left ventricular internal diameter in diastole; SD, standard deviation; Min-Max, minimum maximum reference intervals; RI, reference interval; CI, confidence interval.



表 3 体重別の心エコー指標測定値（平均値と 95%予測区間）

BW (kg)	LA <sup>a</sup> (mm)	Ao <sup>b</sup> (mm)	IVSd <sup>c</sup> (mm)	LVIDd <sup>d</sup> (mm)	LVPWd <sup>e</sup> (mm)
1.5	9.7 (8.8–10.7)	8.2 (7.6–8.9)	4.0 (3.2–4.8)	17.2 (15.7–18.7)	3.9 (3.4–4.3)
2.0	10.6 (9.6–11.7)	8.9 (8.2–9.6)	4.5 (3.6–5.5)	18.1 (16.6–19.7)	4.3 (3.8–4.8)
2.5	11.4 (10.3–12.5)	9.4 (8.7–10.1)	5.1 (4.1–6.1)	18.9 (17.3–20.5)	4.7 (4.2–5.3)
3.0	12.0 (10.9–13.2)	9.8 (9.1–10.6)	5.5 (4.4–6.6)	19.5 (17.8–21.2)	5.1 (4.5–5.7)
3.5	12.6 (11.4–13.9)	10.2 (9.4–11.0)	5.9 (4.8–7.1)	20.0 (18.3–21.8)	5.4 (4.7–6.0)
4.0	13.2 (11.9–14.5)	10.5 (9.7–11.4)	6.3 (5.1–7.6)	20.5 (18.8–22.3)	5.7 (5.0–6.4)
4.5	13.7 (12.3–15.0)	10.9 (10.0–11.8)	6.7 (5.4–8.0)	21.0 (19.2–22.8)	6.0 (5.2–6.7)
5.0	14.1 (12.7–15.5)	11.1 (10.3–12.1)	7.1 (5.7–8.5)	21.4 (19.6–23.2)	6.2 (5.5–6.9)

BW, body weight; LA, left atrial short-axis diameter; Ao, aortic valve short-axis diameter; IVSd, interventricular septum thickness at end-diastole; LVIDd, left ventricular internal dimension at end-diastole; LVPWd, left ventricular posterior wall thickness at end-diastole. Allometric equation with 95% prediction intervals:  $Y=aM^b$  [9]; Y=echocardiographic variable; M=BW; 'a'=proportionality constant; 'b'=scaling exponent. <sup>a</sup> Allometric equation with 95% prediction intervals:  $Y=7.72$  to  $9.43 \times M^{0.31}$ . <sup>b</sup> Allometric equation with 95% prediction intervals:  $Y=6.89$  to  $8.07 \times M^{0.25}$ . <sup>c</sup> Allometric equation with 95% prediction intervals:  $Y=6.89$  to  $8.07 \times M^{0.25}$ . <sup>d</sup> Allometric equation with 95% prediction intervals:  $Y=14.64$  to  $17.36 \times M^{0.18}$ . <sup>e</sup> Allometric equation with 95% prediction intervals:  $Y=2.91$  to  $3.70 \times M^{0.39}$ .

表 4 健常なチワワ 10 例における心エコー測定値の検査者内誤差ならびに検査者間誤差

	Intraobserver CV		Interobserver CV	
	Mean	(%)	Mean	(%)
LA (mm)	10.84	5.6	11.10	0.9
Ao (mm)	9.15	1.4	9.31	1.9
LA/Ao	1.18	4.1	1.19	3.3
IVSd (mm)	4.93	2.3	4.95	1.7
LVIDd (mm)	18.08	1.2	18.27	0.8
LVPWd (mm)	4.64	10.0	4.72	7.0
LVIDs (mm)	11.08	0.5	11.01	0.8
FS (%)	38.51	3.1	39.75	3.2
E-wave (m/sec)	0.64	9.3	0.66	6.0

LA, left atrial short-axis diameter; Ao, aortic valve short-axis diameter; LA/Ao, left atrial-to-aortic ratio; IVSd, interventricular septum thickness at end-diastole; LVIDd, left ventricular internal dimension at end-diastole; LVPWd, left ventricular posterior wall thickness at end-diastole; LVIDs, left ventricular internal dimension at end-systole; FS, fractional shortening; E-wave, peak velocity of early diastolic transmitral flow; CV, coefficient of variation.

表 5 心雑音が聴取されないチワワ 30 例における心エコー図検査の結果

	All dogs	0-1 years old	2-3years old	4-6 years old	<i>p</i> -value
Number	30	13	10	7	
Sex (F/M)	18/12	6/7	9/1	3/4	
Age (month)	24.5 (14.3-42.3)	13.0 (12.0-18.0)	32.5 (25.0-36.8)	74.0 (62.0-76.0)	
BW (kg)	2.0 (1.9-2.2)	2.0 (1.8-2.1)	2.1 (2.0-2.2)	2.1 (2.0-2.4)	0.213
HR (beat/min)	120 (109-131)	120 (112-132)	116 (109-124.5)	124 (108-144)	
MR (n)	26/30 (86.7%)	9/13 (69.2%)	10/10 (100%)	7/7 (100%)	
MR Grade (mild/moderate)	24/2	9/0	9/1	6/1	0.035
MR jet Area (%)	10.6 (6.8-13.0)	10.9 (9.4-13.4)	7.4 (5.5-12.1)	12.6 (9.3-15.5)	0.333
AML thickness (n)	17/30 (56.7%)	4/13 (30.8%)	6/10 (60.0%)	7/7 (100%)	
PML thickness (n)	6/30 (20.0%)	0/13 (0%)	1/10 (10.0%)	5/7 (71.4%)	
AML + PML thickness (n)	6/30 (20.0%)	0/13 (0%)	1/10 (10.0%)	5/7 (71.4%)	
AMV prolapse (n)	14/30 (46.7%)	2/13 (15.4%)	5/10 (50.0%)	7/7 (100%)	
PMV prolapse (n)	7/30 (23.3%)	0/13 (0%)	2/10 (20.0%)	5/7 (71.4%)	
AMV + PMV prolapse (n)	7/30 (23.3%)	0/13 (0%)	2/10 (20.0%)	5/7 (71.4%)	
Prolapse grade (mild/moderate)	10/4	2/0	5/0	3/4	<0.001
AML thickness (mm)	1.43 (1.07-1.63)	1.07 (1.00-1.33)	1.50 (1.18-1.61)	2.10 (1.77-2.22)	<0.001
AML length (mm)	8.03 (7.23-8.48)	7.00 (6.70-7.83)	8.30 (8.03-8.41)	8.90 (8.65-9.12)	<0.001
AML area (mm <sup>2</sup> )	9.33 (7.67-12.00)	7.00 (6.33-8.00)	9.67 (9.17-10.25)	13.67 (12.83-17.17)	<0.001
MR + thickness + prolapse (n)	13/30 (43.3%)	2/13 (15.4%)	4/10 (40.0%)	7/7 (100%)	
Late-systolic MR (n)	6/30 (20.0%)	3/13 (23.1%)	3/10 (30.0%)	0/7 (0%)	

Values are expressed as the median (interquartile range).

AML, anterior mitral leaflet; AMV, anterior mitral valve; BW, body weight; MR, mitral regurgitation; PML, posterior mitral leaflet; PMV, posterior mitral valve.

The Kruskal-Wallis test was used for statistical analysis.

表 6 Late Systolic MR 群と非 Late Systolic MR 群 (Holo Systolic MR) における心エコー図検査の結果

	Late-systolic MR	Holo-systolic MR	<i>p</i> -value
Number	6	20	
Age (month)	22.0 (14.8–27.8)	36.0 (22.5–61.0)	0.242
MR Grade (mild/moderate)	6/0	18/2	0.744
MR jet Area (%)	9.02 (6.64–10.53)	10.85 (7.87–13.17)	0.387
AML thickness (n)	1	14	
PML thickness (n)	1	5	
AML + PML thickness (n)	1	5	
AMV prolapse (n)	1	13	
PMV prolapse (n)	1	6	
AMV + PMV prolapse (n)	1	6	
Prolapse grade (mild/moderate)	1/0	9/4	
AML thickness (mm)	1.00 (1.00–1.25)	1.55 (1.23–1.83)	0.011
AML length (mm)	7.52 (6.83–8.21)	8.18 (7.42–8.65)	0.355
AML area (mm <sup>2</sup> )	8.00 (7.25–9.25)	9.83 (7.92–12.75)	0.196
MR + thickness + prolapse (n)	1	12	

Values are expressed as the median (interquartile range).

AML, anterior mitral leaflet; AMV, anterior mitral valve; BW, body weight; LA/Ao, left atrial-to-aortic ratio; LVIDd, left ventricular internal diameter diastole; MR, mitral regurgitation; PML, posterior mitral leaflet; PMV, posterior mitral valve.

The Mann-Whitney U test was used for statistical analysis.

表 7 28 例のチワワにおける雌雄比、年齢、体重、心エコー図検査の結果

28症例56サンプル

		中央値	IQR
体重	(kg)	2.04	1.34~2.7
年齢	(月齢)	24.5	5~92
性別	(雄：雌)	9：19	

心エコー図検査

		中央値	IQR
LA/Ao		1.09	0.79~1.36
LVIDDN		1.52	1.00~1.74
E波	(m/s)	0.54	0.35~0.84
RJA/LAA	(>10%：>20%)	20：7	

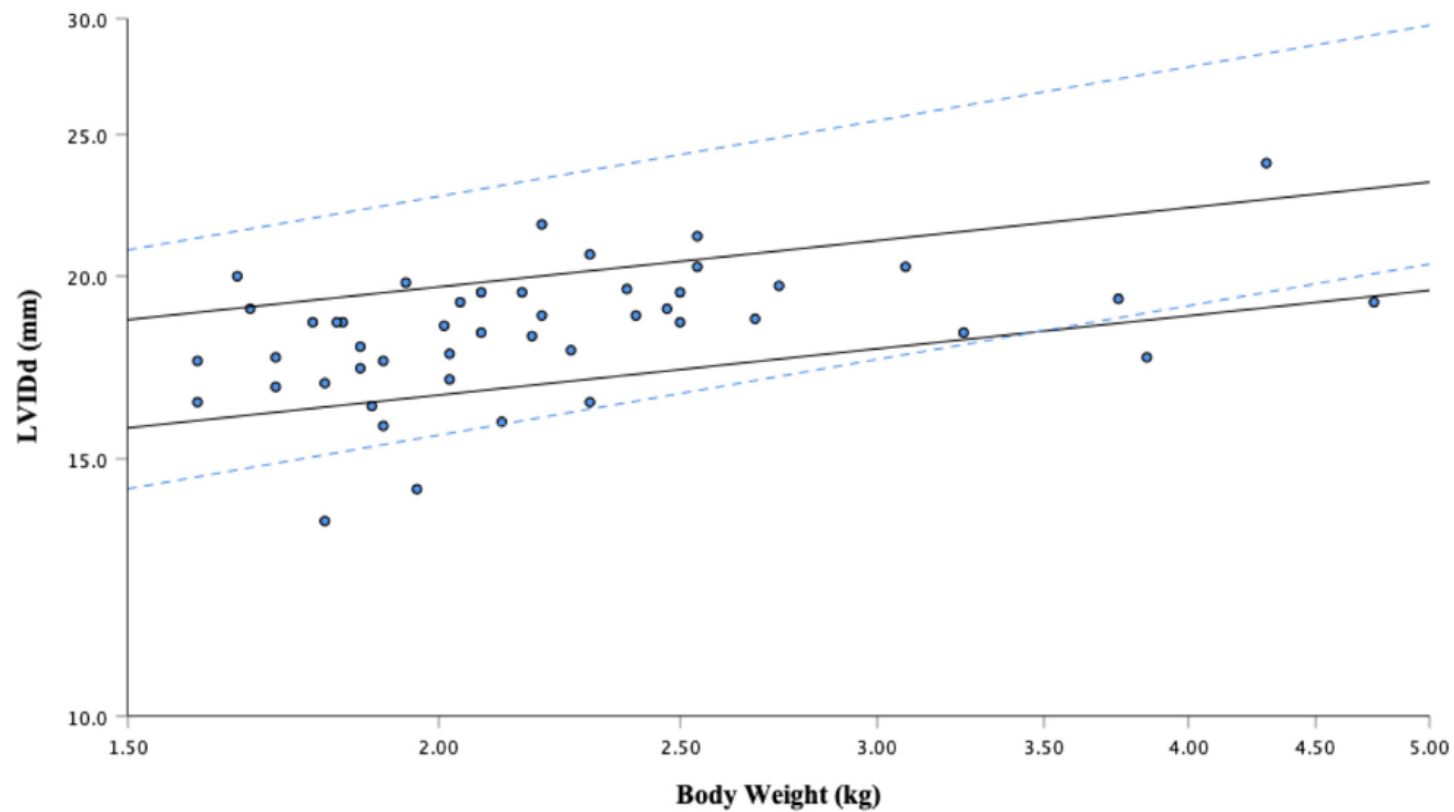


図1 左室拡張末期径（LVIDd）と体重の関係（対数変換）

実線は本研究によって求めた 95%予測区間 ( $Y=14.64 \sim 17.36 \times M^{0.18}$ ) である。点線は Cornell らによって報告されている 95%予測区間 ( $Y=12.7 \sim 18.5 \times M^{0.294}$ ) である。

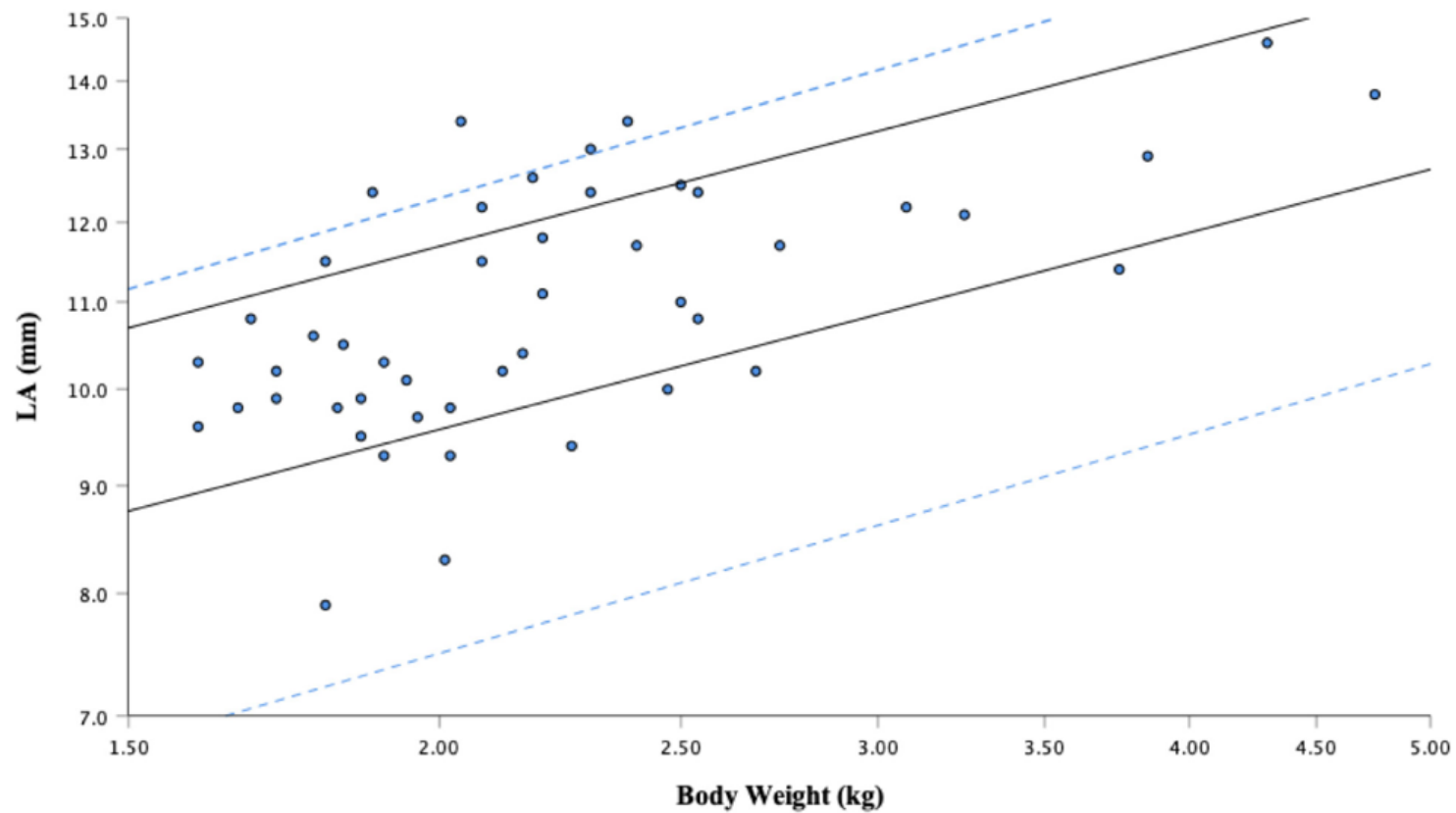


図 2 左心房径（LA）と体重の関係（対数変換）

実線は本研究によって求めた 95%予測区間 ( $Y=7.72 \sim 9.43 \times M^{0.31}$ ) である。点線は Cornell らによって報告されている 95%予測区間 ( $Y=5.9 \sim 9.7 \times M^{0.345}$ ) である。

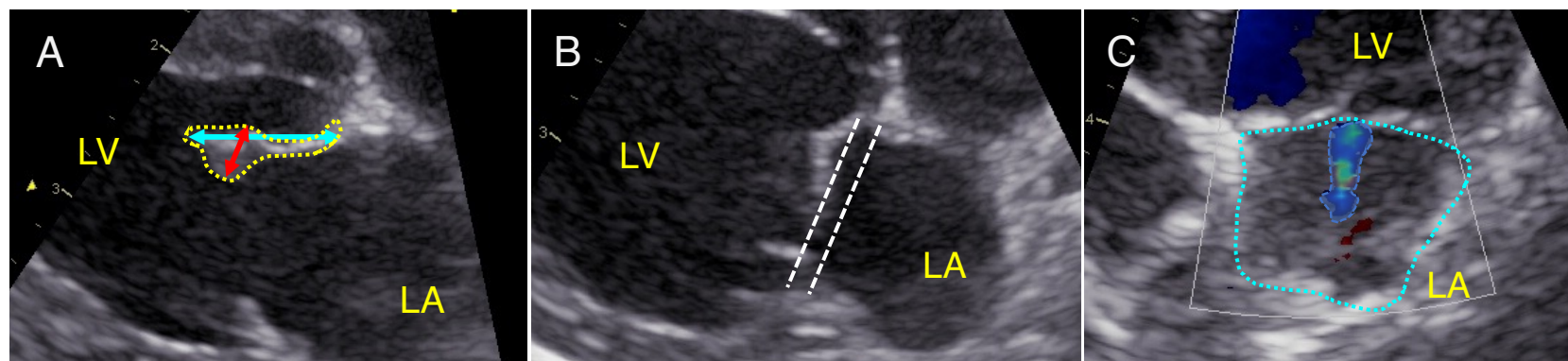


図3 僧帽弁尖の形態評価（肥厚、逸脱）ならびに僧帽弁逆流の評価

LA：左心房、LV：左心室

A 僧帽弁前尖の計測：厚さ（赤）、長さ（青）、面積（黄色点線）

B 僧帽弁逸脱の評価

僧帽弁が弁輪面（LV側の点線）に接するあるいはわずかに超える場合には、軽度の逸脱と判断し、弁輪面を超えて左房面（LA側の点線）まで到達する場合には、中程度の逸脱と判断した。

C 逆流ジェット面積の計測

カラードプラでのMR血流の面積と左心房面積の比から、逆流ジェット面積を求めた。20%未満を軽度、20%以上を中程度に分類した



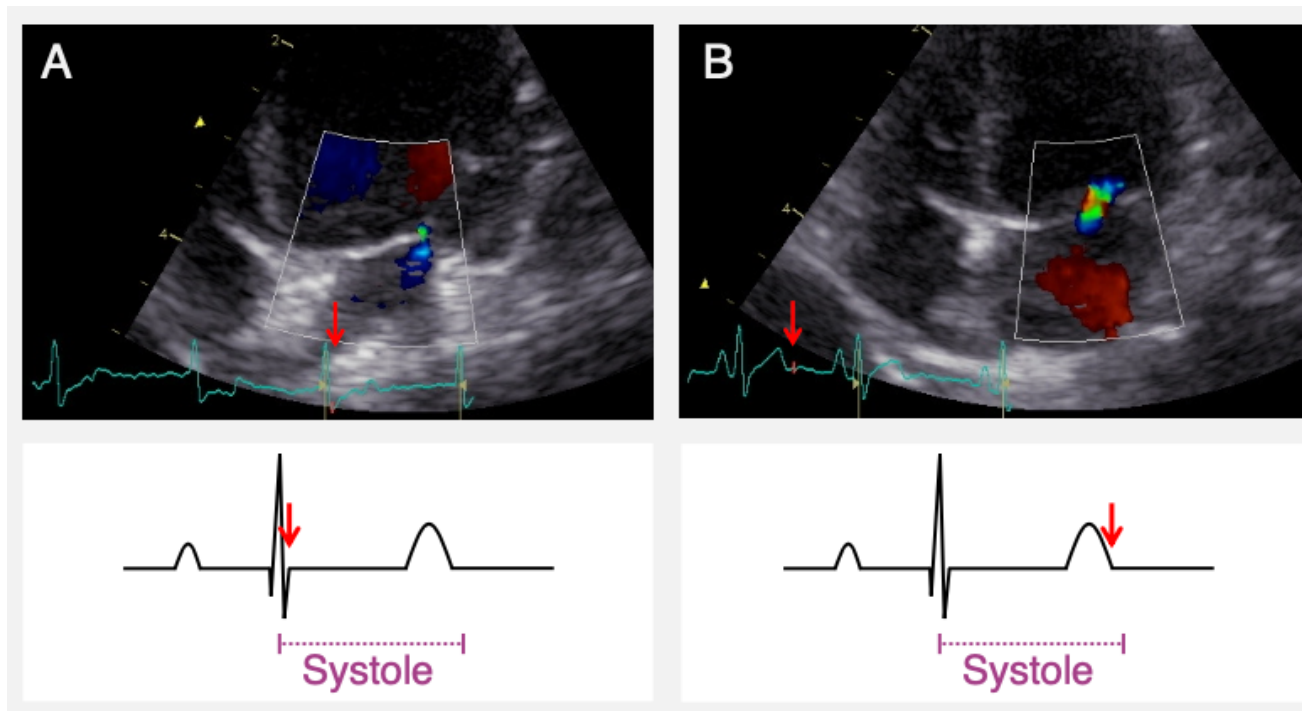


図4 非Late Systolic MR (A) と Late Systolic MR (B) におけるそれぞれの僧帽弁逆流が発生する時相

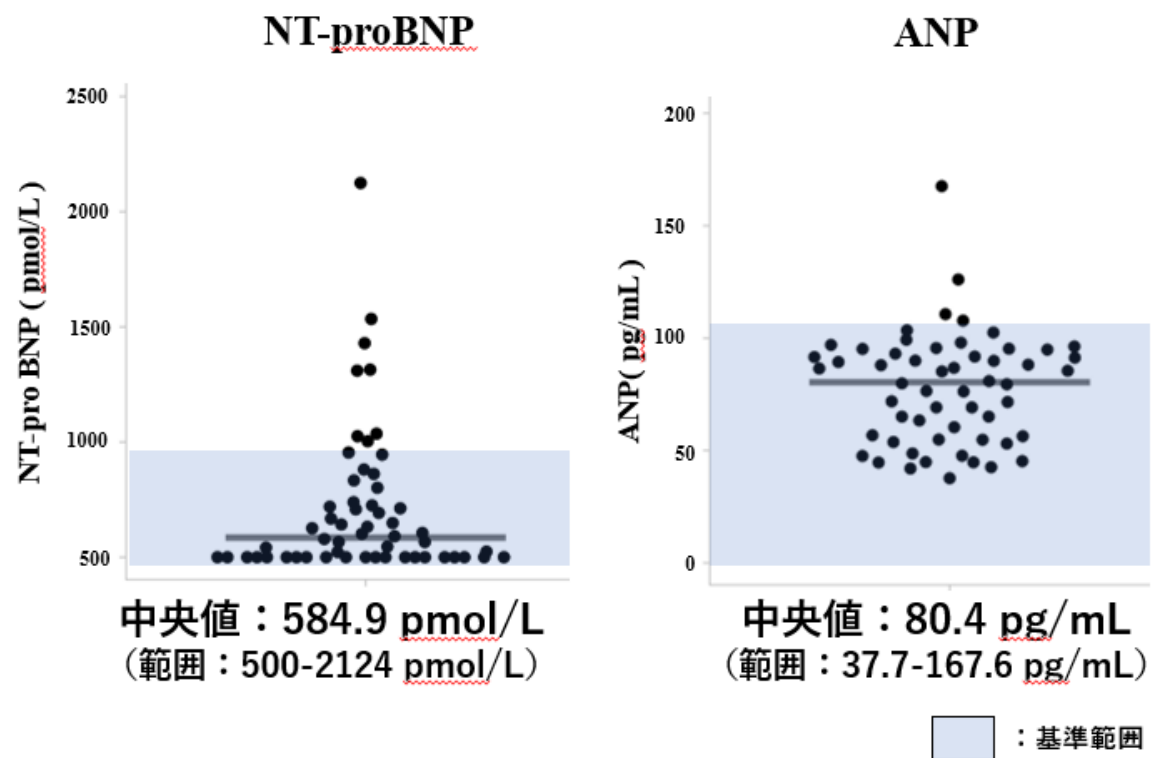


図 5 全 56 サンプルにおける NT-proBNP と ANP の結果

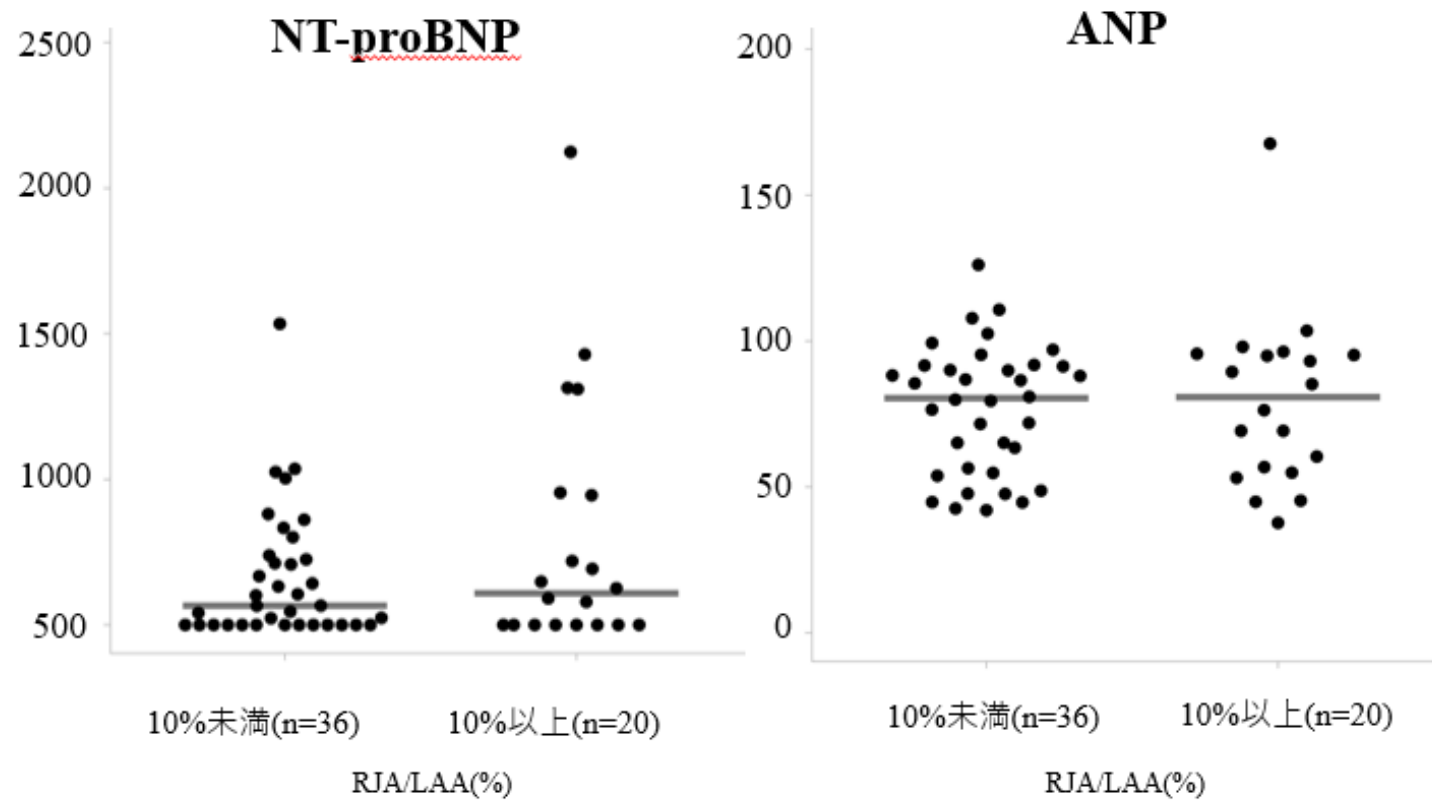


図6 逆流ジェット面積 10%未満群と 10%以上群におけるそれぞれの NT-proBNP と ANP の結果

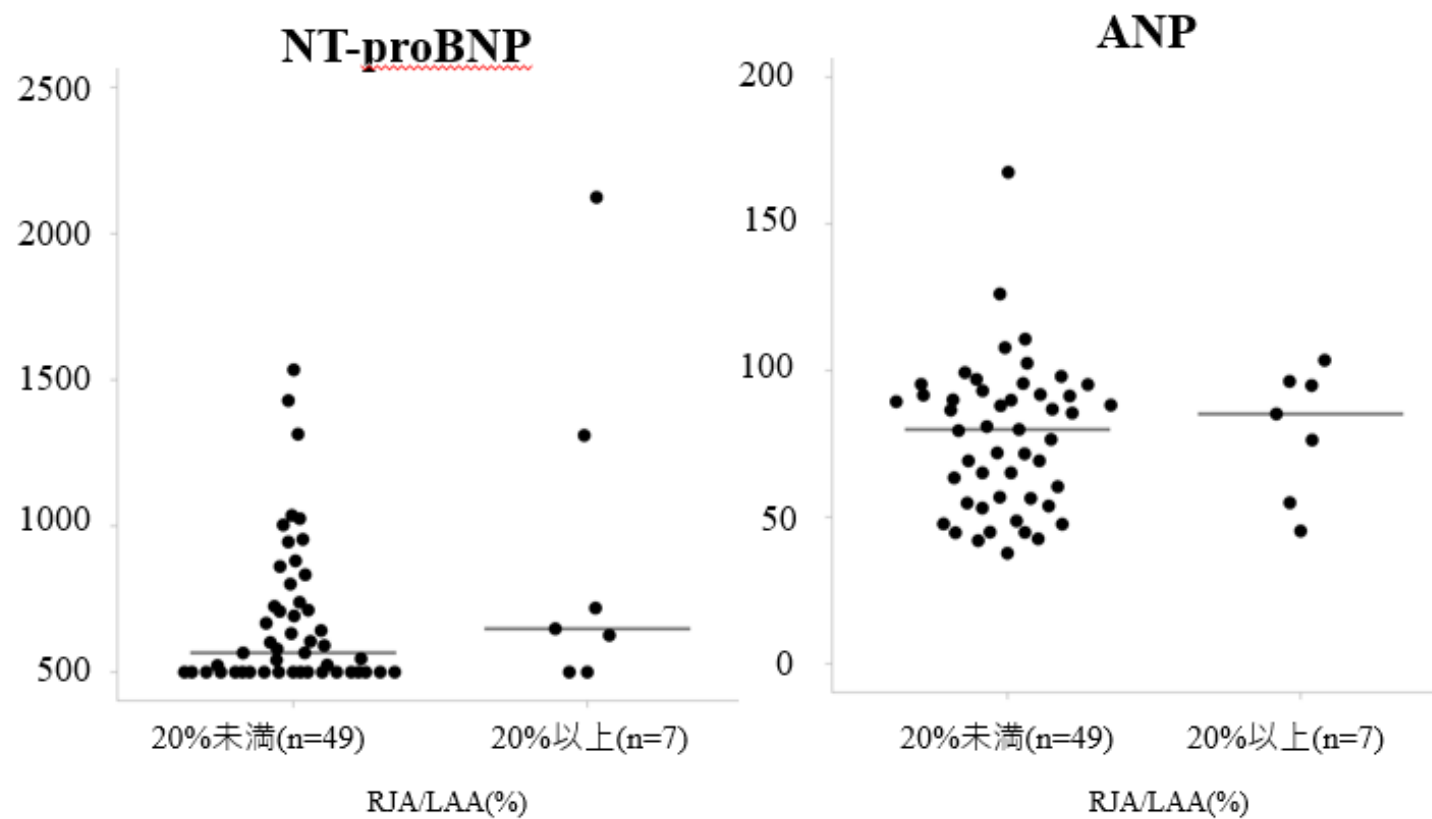


図7 逆流ジェット面積 20%未満群と 20%以上群におけるそれぞれの NT-proBNP と ANP の結果

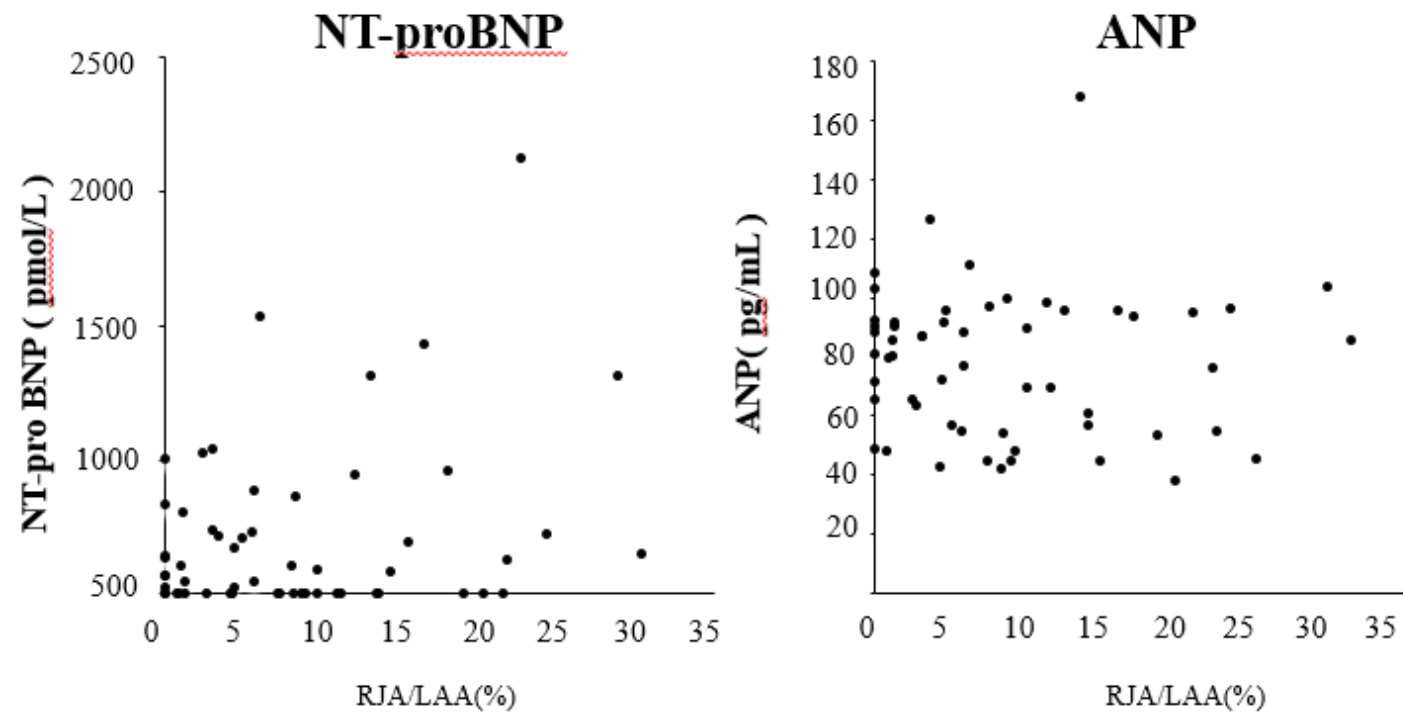


図8 逆流ジェット面積（RJA/LAA）と NT-proBNP ならびに ANP の相関関係

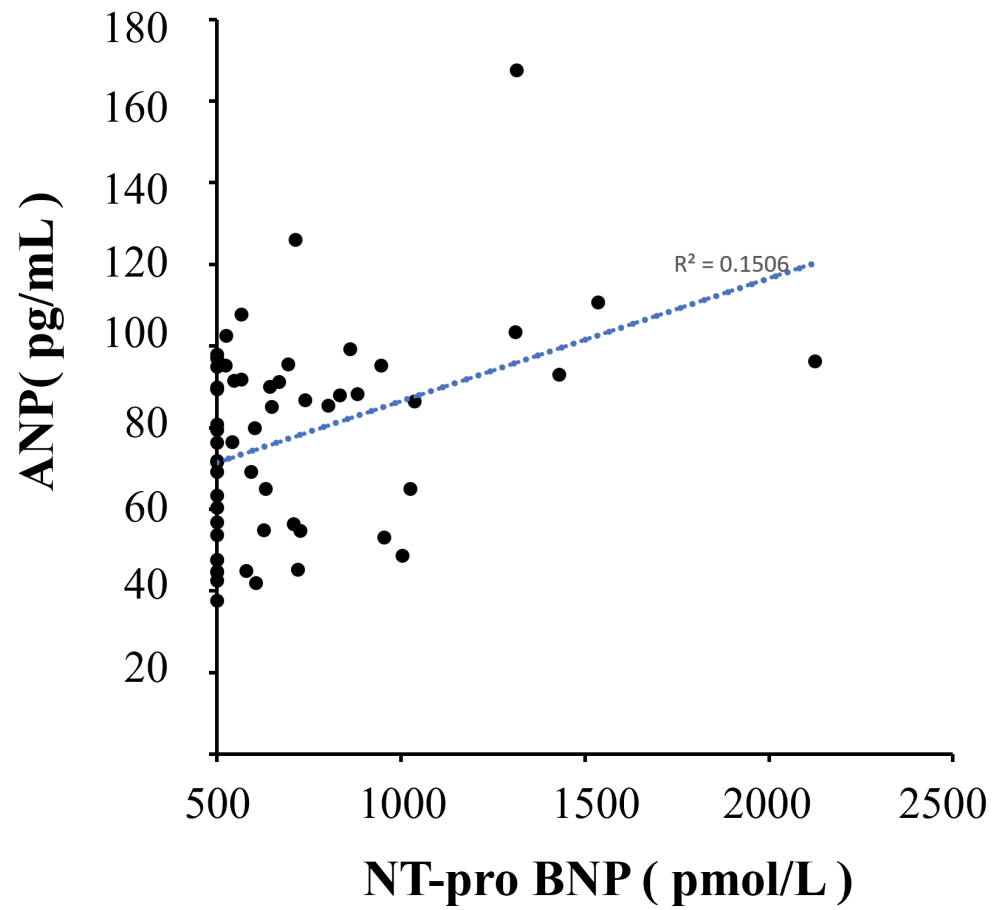


図 9 NT-proBNP と ANP の相関関係