

Canine X-Linked Muscular Dystrophy in Japan(CXMD_J)

における心機能障害の病態に関する研究

2006年3月

麻布大学大学院獣医学研究科

獣医学専攻実験外科学

DV0207 弓削田 直子

Canine X-Linked Muscular Dystrophy in Japan(CXMD_J)

における心機能障害の病態に関する研究

2006 年 3 月

麻布大学大学院獣医学研究科

獣医学専攻実験外科学

DV0207 弓削田 直子

目次

第1章 緒言	1
第2章 Canine X-Linked Muscular Dystrophy in Japan(CXMD _J)における 臨床徴候および心機能の評価	5
第1節 供試犬ならびに方法	6
第1項 供試犬	6
第2項 供試犬の評価法	6
1、臨床徴候および身体検査	6
2、心電図検査	6
3、心エコー検査	7
第3項 統計学的解析	7
第2節 成績	7
第1項 CXMD _J の臨床徴候および身体検査	7
第2項 心電図検査	8
1、P波	8
2、Q波	8
3、R波	9
4、S波	9

5、 Q/R 比	9
6、 P 時間	9
7、 PR 間隔	10
8、 QRS 時間	10
第 3 項 心エコー検査	10
第 3 節 小 括	11

第 3 章 Canine X-Linked Muscular Dystrophy in Japan(CXMD_J)における臨床徴候および

心機能障害出現時期と経時的変化について	13
第 1 節 供試犬ならびに方法	14
第 1 項 供試犬	14
第 2 項 方法	14
第 3 項 検査項目	15
第 4 項 24 時間心電図(ホルター心電図)使用機器および記録方法	15
第 5 項 心拍変動解析法	16
第 2 節 成績	17
第 1 項 CXMD _J の臨床症状および身体検査	17

第2項 心電図検査	18
1、 Q 波	18
2、 R 波	19
3、 Q/R 比	20
4、 PR 間隔	20
5、 QRS 時間	20
第3項 心エコー検査	21
第4項 心拍変動解析の比較	22
1、心拍数	22
2、 HF power	24
3、 LF/HF	25
4、 不整脈数	27
第3節 小 括	29
第4章 Canine X-Linked Muscular Dystrophy in Japan(CXMD _J)における CARTO システム による心室興奮伝播様式の検討	31
第1節 供試犬ならびに方法	32
第1項 供試犬	32

第2項 CXMD _J の臨床所見の観察	32
1、臨床徴候および身体検査	32
2、心電図検査	32
3、心エコー検査	33
第3項 CARTO システムおよび記録方法	34
第4項 CARTO システム測定方法	34
第5項 病理組織学的検査方法	36
第2節 成績	37
第1項 対照犬およびCXMD _J におけるCARTOシステム作成マップの比較	37
1、ボルテージマップ	37
2、アクチベーションマップ	37
3、プロパゲーションマップ	37
第2項 CXMD _J における病理組織学的検査所見	38
第3節 小括	38
	40
第5章 総括および考察	
1、臨床徴候に関する考察	41
2、心電図異常(Q波振幅の増大)および心エコー所見に関する考察	42

3、心拍変動解析に関する考察	45
4、 CARTO システムによる寢室興奮伝播様式の解析に関する考察	48
5、 CXMD _J の病理組織学的所見についての考察	49
第6章 結 語	52

文献

Table Figure

第1章 緒言

ヒトの主な遺伝性筋疾患としては、進行性筋ジストロフィー、筋強直性ジストロフィー、遺伝性ミオパシーならびに代謝性筋疾患などが報告されている[25]。その中で進行性筋ジストロフィーは骨格筋の変性・壊死を主病変とし、臨床的には進行性の筋萎縮および筋力低下を招来する遺伝性の疾患と定義されており、遺伝的および臨床的な相違から様々な病型に分類されている。その中の一つであるデュシェンヌ型筋ジストロフィー (Duchenne Muscular Dystrophy=DMD) は、ジストロフィン遺伝子の異常により細胞骨格蛋白質であるジストロフィンが欠損するために生じる疾患である[26]。ジストロフィンは DGC (dystrophin-glicoprotein-complex) の主要な構成成分であり、ジストロフィンが欠損することは、筋線維鞘 (sarcolemma) の DGC の消失につながる。このことが筋収縮に際して、細胞膜の損傷を引き起こす結果、細胞破壊を招来する。結果として骨格筋および心筋において脂肪組織浸潤および結合組織置換などの進行性の変性が生じる[4,10]。このジストロフィン蛋白質の遺伝情報は X 染色体短腕 (Xp21) にあり、79 個のエクソンが 2300~2500kbp もの範囲にわたって存在する巨大遺伝子で、そのため突然変異を生じやすいといわれている。これらのことから DMD は X 連鎖性劣性遺伝形式による遺伝病とされ、通常男児にのみ発症し、筋ジストロフィーの中で最も患者数が多く、出生男児 3000~4000 人に一人の頻度で発生すると報告されている。DMD の 2/3 が遺伝により発症し、1/3 は突然変異により発症する[3,23]。

上記のごとく、長年原因不明とされてきた本症の原因が遺伝子レベルで明らかにされた今日でも、根本的治療には到達していない。

DMD は 2 歳でその臨床徴候が認められ、5 歳までに診断される。骨格筋病変として腰帯筋、大腿四頭筋の筋力低下および筋萎縮に始まり、次いで肩甲部および四肢近位部におよび、腓腹筋の仮性肥大を伴う。進行は比較的速く、登攀性起立、動揺歩行あるいは前弯歩行を呈し、10 歳前後で歩行不能となり、しばしば巨舌、知的障害などを合併することがある。さらに、胸郭の変形および呼吸筋、心筋の障害に伴い呼吸機能、ならびに心機能低下が次第に増強され、多くの患者が 20 歳前後で呼吸不全(75%)や心不全(20%)、その他肺炎、肺梗塞あるいは突然死により死亡するとされてきた[5,15,35,39,45]。近年、医療技術特に人工呼吸器の進歩により呼吸不全による死亡リスクが減少し、ライフスパンが長くなっている一方で、保存的治療を余儀なくされている心不全は、DMD における死因の重要な原因となっている[9,36]。DMD における心不全の原因は固有心筋の異常に起因するとされ、拡張型心筋症に類似した病態を呈する。DMD の心臓病変に伴う臨床症状として、特徴的な心電図変化、不整脈あるいは心エコー上の異常所見が認められている。心電図上の異常として、V1 における R 波の増大、I、aVL、V5 ならびに V6 誘導あるいは、II、III、aVF 誘導における Q 波の出現、リズム・伝導異常では、洞性頻脈あるいは PR 間隔の短縮とともに心房性早期拍動が報告されている[11,35,40,44]。心エコー上左心室後壁に高信号領域を認める例もみられる。心エコー上高信号領域として描出さ

れる部位においては、病理組織検査によって進行性の心筋線維化を生じていると報告されている[5,35,39]。特徴的な心電図の異常所見は、左心室後壁の心筋線維化が、心筋の起電力を低下させることに起因すると報告されている[39,44]ものの、明確な根拠は述べられていない。

DMD における心臓病変に対する病態の発生機序および経時的变化を詳細に解明し把握することは、DMD の心不全治療法の確立に不可欠である。特にマウス、ラット以外の動物で人に近い DMD モデル動物を確立し、その心機能障害を電気生理学、病理組織学あるいは、分子生物学など様々な見地から解明することは、今後の DMD における心不全の病態解明ならびに治療に大きく貢献すると考えられる。現在 DMD モデル動物としては、X連鎖性遺伝をとる mdx マウスあるいは自然発症したゴールデン・レトリバー犬により確立したゴールデン・レトリバーX連鎖性筋ジストロフィーモデル犬 (GRMD) などが用いられている。mdx マウスは DMD と同様、ジストロフィン蛋白質が欠損するため様々な治療実験に役立っている。しかしながら mdx マウスは臨床徴候として、筋力低下はわずかであり心筋障害も呈さず自然死する例が多い。また、骨格筋病理組織所見としては、生後 1~2 ヶ月まで筋線維の壊死が認められるものの壊死した骨格筋線維は再生筋線維に置換され、横隔膜を除いては結合組織の増生は目立たない。さらに、心筋においては、かなりの高齢に至ると心室壁に線維化が認められるようになるものの、若齢では変性を生じない[43,58]。GRMD においては、表現型、心電図所見(特に深くて幅の狭い Q 波)、

心エコー所見、ならびに心筋病理組織所見が DMD と類似しており、心不全の病態解明目的にふさわしいモデル動物であるとされている[2,33,41,52,53,54]。しかしながら、GRMD は大型犬であることから飼育管理が難しく、形質の維持に大きな労力を費やすなどの問題もあり、さらに管理しやすい中型犬に形質を導入する方法が考えられた。

日本では 1995 年より、ゴールデン・レトリバーにおける筋ジストロフィー犬の凍結精子をビーグル犬に導入したコロニーの作出が開始され、現在そのコロニーの確立維持がなされている[47]。このコロニーは、骨格筋障害においては DMD にきわめて類似していることが証明されているものの、心筋障害に関する詳細な検討は行われていない。

本研究は、DMD モデル動物として確立維持されている本コロニー、Canine X-Linked Muscular Dystrophy in Japan (CXMD_J)における心機能障害の病態を解明、把握することにより、DMD における心不全の病態解明に貢献すると同時に、心不全治療法の開発へ向けての一助となるか否かについて明らかにすることが第一の目的である。さらに本研究の成果により、獣医学領域でこれまで詳細が明らかにされていなかった、日本スピッツおよび猫などの伴侶動物に発症する筋ジストロフィー動物[7,8]の心筋障害における病態を解明し、将来的に治療開発に貢献することが期待される。

第2章 Canine X-Linked Muscular Dystrophy in Japan(CXMD_J)における臨床 徴候および心機能評価

DMD 患者の心筋症における臨床症状として、心電図、心エコー所見に特徴的な異常所見が認められている。すなわち心電図においては、V1 における R 波の増高、I、aVL、V5 ならびに V6 誘導あるいは II、III ならびに、aVF 誘導における深く幅の狭い Q 波の出現あるいは、PR 間隔の短縮などが認められ、また心エコーでは左心室後壁に高信号領域が認められる[39,40,44]。犬の筋ジストロフィーにおける心電図所見、あるいは心エコー所見もこれらの所見と非常に類似している。Moise らは、ゴールデン・レトリバー X 連鎖性筋ジストロフィー(GRMD)において、心電図 II、III、aVF、CV6LL および CV6LU における Q 波振幅の増大および Q/R 比の増大が認められ、心エコーにおいても左心室自由壁心基部および乳頭筋における高信号領域が確認されたと報告している[33,52,53,54]。臨床症状のみならず心機能においても両者の類似性は非常に高いことから、GRMD は DMD モデル動物として非常に有用であることが明白である。しかしながら、遺伝子的背景を同じにする CXMD_Jにおいては、モデル動物としての有用性が高いとされてはいるものの、心機能ならびに心筋障害に関する詳細な検討は実施されていない。CXMD_Jにおける臨床徴候および心機能、すなわち表現型について把握することは DMD 心不全の病態解明ならびに治療開発におけるモデル動物としての有用性を評価するうえで重要である。そこ

で第2章では、CXMD_Jにおける臨床徴候の把握および心機能について、経時的に心電図検査、ならびに心エコー検査を実施し正常犬(対照犬)と比較検討を行った。

第1節 供試犬ならびに方法

第1項 供試犬

本実験には、Kornegay によって作出された GRMD の凍結精子を雌のビーグル犬に人工授精することにより作出した保因犬の雌に、さらに正常な雄のビーグル犬を自然交配することにより作成され、維持されている CXMD_Jコロニーの犬 8 頭(正常犬 3 頭、保因犬 2 頭、CXMD_J3 頭)を使用した[Table 1]。

第2項 供試犬の評価法

1、臨床徴候および身体検査

検査は供試犬の飼育管理時において、元気、食欲、嚥下状態ならびに排泄物の状態などについて観察を行うと同時に、視診、触診および聴診による身体検査を実施した。

2、心電図検査

検査は、生後 5 ヶ月齢、7 ヶ月齢、10 ヶ月齢、ならびに 13 ヶ月齢時の合計 4 回実施した。動物用心電計 ECG-9922(日本光電工業株式会社製)を用い、右側横臥位に保定し

た後、標準四肢誘導法および胸部単極誘導法を用いて記録した。記録した誘導すべてについて P 波、Q 波、R 波、S 波ならびに Q/R 比を計測した。さらにⅡ誘導において P、PR、および QRS 時間を計測した。計測値は連続 5 波形の計測による平均を用いた。

3、心エコー検査

検査は、心電図検査と同日に実施した。超音波検査装置 (EUB8000、日立社製) を用い、右側傍胸骨より描出された左室長軸像において、左右の心房心室および中隔さらに乳頭筋の形態を観察、評価した。左心室短軸乳頭筋レベル像にて、M モードにより左室拡張末期径 (LVE_dD)、左室収縮末期径 (LVE_sD)、心室中隔拡張末期径 (IV_sD)、左室拡張後壁厚 (IVP_wD)、ならびに左室内径短縮率 (FS) を計測した。

第3項 統計学的解析

統計は、ステューデントの t 検定を用い各測定値における対照犬と CXMD_J 間で有意差検定を行った。危険率は、 $p < 0.01$ をもって有意とした。

第2節 成績

第1項 CXMD_Jの臨床徴候および身体検査

生後7ヶ月齢までの体重測定においては、対照犬および保因犬と比較して CXMD_J がやや消瘦傾向にあったが、その後は CXMD_J 1 例を除いては各供試犬に差異は認めなか

った[Fig 1]。CXMD_J 1例は発育不良が認められ削瘦傾向にあった。生後5ヶ月齢において、CXMD_Jは既に巨舌、流涎ならびに側頭筋の萎縮が認められた。聴診にてCXMD_Jの1例(NO.8)において心尖部での Levine1/6 の収縮期駆出性雑音が聴取された。

生後7ヶ月齢では、CXMD_Jは全例において前述の症状に加え、可視粘膜蒼白、異常発声ならびに体幹近位部における四肢筋肉の硬縮が認められた。その後生後10ヶ月齢および、13ヶ月齢での観察では、CXMD_J 3例共に臨床徴候の悪化は認められなかった。

第2項 心電図検査

1、P波

対照犬、保因犬、ならびにCXMD_JにおけるP波の電位は、すべての測定値において正常範囲(0.4 mV)を逸脱する値は認めなかった。また、P時間においても正常範囲(0.04 sec)[28,50,51]を逸脱する値は認められず、対照犬とCXMD_Jの間に有意差は認められなかった[Table 2]。

2、Q波

生後5ヶ月齢時、II誘導におけるCXMD_JのQ波電位の平均は-1.07 mVであり、対照犬が-0.45 mV、保因犬が-0.30 mVであるのに対し明らかな高値を示した。また、生後5ヶ月齢から13ヶ月齢までの合計4回の計測における、誘導毎のQ波電位は、CXMD_Jでは、対照犬と比較して、II、IIIおよびaVF誘導で有意な増大が認められ、正常範囲

(<0.04 mV)を逸脱していた[Table 3]。

3、 R 波

生後 5 ヶ月齢から 13 ヶ月齢までの合計 4 回の計測において、誘導毎の R 波電位は、対照犬および保因犬と比較し CXMD_JではaVL誘導で高値を示す傾向が認められ、対照犬との間に有意差が認められた[Table 4]。

4、 S 波

すべての供試犬において、II および aVF 誘導において正常範囲 (<-0.35 mV) を逸脱した例は見られなかった。またすべての誘導において、対照犬と CXMD_Jの間に有意な差は認められなかった[Table 5]。

5、 Q/R 比

生後 5 ヶ月齢から 13 ヶ月齢までの合計 4 回の計測における Q/R 比は、対照犬と比較して CXMD_Jは、II、III ならびに aVF 誘導で有意に高値を示した。II 誘導における生後 5 ヶ月齢の Q/R 比は、対照犬 0.29、および保因犬 0.23 であるのに対し CXMD_Jは 0.79 であった。また、生後 13 ヶ月齢における Q/R 比はそれぞれ 0.23、0.35 ならびに 0.53 であり、CXMD_Jにおいて若干の減少傾向が認められた[Table 6]。

6、 P 時間

P 波の持続時間はいずれも正常範囲内(0.04 秒)であった[Table 7]。

7、PR 間隔

PR 間隔は、II 誘導においてすべての供試犬で 0.08-0.09 秒と正常範囲内(0.06-0.13 秒)にあった[Table 8]。

8、QRS 時間

QRS 時間は、II 誘導において、すべての供試犬で 0.03-0.05 秒の正常範囲内(<0.05 秒)にあった[Table 9]。

第3項 心エコー検査

心エコー検査における断層心エコーでは、CXMD_J1例(NO.7)において、生後5ヶ月齢時に左心室前乳頭筋に高信号像が認められ、以後生後13ヶ月齢までの検査時において同様の所見が認められた[Fig 2]。その他の対照犬、保因犬ならびに CXMD_Jにおいては、特に異常は認められなかった。LVEdD は成長に伴い増加が認められたものの、対照犬 31.15±4.49 mm、保因犬 31.85 mm、および CXMD_J31.13±5.48 mmであり、全供試犬において正常範囲[1]を逸脱する個体はみられなかった[Table 10]。

LVEsD もまた成長に伴う増加が認められたものの、正常範囲を逸脱する値は生後10ヶ月齢時の CXMD_J1例のみであった。LVEsD は対照犬、保因犬ならびに CXMD_Jでそれぞれ 17.03±2.49 mm、18.46 mmおよび 18.55±4.78 mmであり、対照犬と CXMD_J間で有意な差は認められなかった[Table 10]。IVSD およびLVPwD においても成長に伴

う増加が認められたが、正常範囲で推移した[Table 10]。対照犬、保因犬ならびに CXMD_Jにおける IVsD は、それぞれ 6.65 ± 1.63 mm、7.01 mm、および 6.90 ± 2.06 mmであり、LVPwD は、 6.83 ± 1.09 mm、7.28 mmならびに、 6.96 ± 1.37 mmであった[Table 10]。FS は、対照犬 45.09 ± 5.09 %、保因犬 40.97 %、および CXMD_J 40.88 ± 7.66 %であり、いずれも正常範囲内で推移し、対照犬と CXMD_J間で有意な差は認められなかった[Table 10]。

第3節 小括

現在、デュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)に対する根本的な治療法として、遺伝子治療、再生移植治療ならびに薬物治療などの開発が期待されている。しかしながら治療方法を開発し応用するためには、適切なモデル動物を確立して多方面からのデータを集積することが重要であるとされてきた[8]。一方DMDは、特徴的な心筋症を生じることが知られており、この疾患の病態機序の解明および治療法の開発は、同時にジストロフィン遺伝子の異常による筋ジストロフィー犬に対する治療にも大きく貢献するものと考えられる。

そこで本章では、わが国で DMD のモデル動物として確立されたビーグル犬をベースとした筋ジストロフィー犬(CXMD_J)における、臨床徴候ならびに心機能について心電図および心エコーを用いて解析を行った。

臨床徴候に関して、CXMD_Jは生後5ヶ月齢の検査時、既に巨舌、流涎、側頭筋の萎縮、体幹近位部の四肢筋肉の硬縮および後肢関節の硬直が認められ、採食および嚥下障害を来とし消瘦傾向にあった。これらの症状はDMD患者の臨床症状と類似しており[5,15,35,39]、CXMD_JにおいてもDMDの臨床徴候を呈することが明らかとなった。しかしながら心不全を示す徴候は全く認められなかった。同時に今回使用した保因犬について、生後13ヶ月齢までの観察においては全く臨床徴候がみられなかった。

心電図検査においては、CXMD_JではR波の増高は認められなかったものの、生後5ヶ月齢時には既に深いQ波の出現、ならびにQ/R比の増大がⅡ、ⅢおよびaVF誘導において認められた。

心エコー検査では、生後13ヶ月齢までの観察において、CXMD_Jならびに、保因犬ともに心機能低下は認められなかった。また、DMDおよびGRMDにおいて報告されている左心室自由壁または、乳頭筋領域に発現する高信号所見[33,45,53,58]は、CXMD_Jの1例(NO.7)のみに認められた。

以上の成績から、今回使用したCXMD_Jは、遺伝的背景のみならず表現型においても、DMDならびにGRMDの所見と類似していることが確認された。

第3章 Canine X-Linked Muscular Dystrophy in Japan(CXMD_J)における臨

床徴候および心機能障害の出現時期と経時的変化について

第2章の結果、作成確立されたCXMD_Jコロニーにおいて、特徴的な臨床徴候および心電図検査における異常所見が、DMDならびにGRMDに類似していることが確認された。しかしながらCXMD_Jにおいては徴候の出現する以前の病態については、これまで全く解明されていない。これまでの報告ではDMDの場合、前述のごとく生後2歳より症状が出現すると言われているが、遺伝的要因を持つ本症では、徴候として出現する以前に、すでに何らかの異常所見が出現している可能性が高い。第1実験の成績からCXMD_Jの臨床徴候がDMDの所見に極めて類似していることが判明したことから、生後直後から経時的に各検査を実施することにより、これまで不明とされていたDMDの病態をさらに詳細に知ることができるものと考え、第3章を計画した。そこで第3章では、CXMD_Jの臨床徴候および心機能障害における病態を詳細に把握する目的で、第2章よりもさらに若齢時のCXMD_Jを用いて経時的に観察を行った。

第1節 供試犬ならびに方法

第1項 供試犬

供試犬は、国立精神・神経センター研究所の総合実験動物棟（中型実験動物研究施設）において繁殖、飼育されている CXMD_Jコロニーの CXMD_J2頭、保因犬1頭ならびに、正常ビーグル犬（対照犬）1頭の計4頭を用いた[Table 11]。上記の4頭においてはすべての検査を実施した。さらに、臨床症状を観察する上で CXMD_J1頭を加えたと同時に、24時間心電図検査（ホルター心電図検査）においては対照犬を2頭、さらに CXMD_J2頭を加えた[Table 12]。これらの実験に用いたすべての CXMD_Jに対しても、経時的に一般身体検査、心電図検査ならびに心エコー検査を実施した。

第2項 方法

供試犬は、生後1週齢より右側横臥位保定の馴化を行い、生後3週齢より毎週1回心電図検査、毎月1回心エコー検査を実施した。方法はそれぞれ第2章第1節第2項 1、2、3と同様の方法を用いて行った。また、本章では経時的観察ということを考慮し、非観血的かつ繰り返し実施可能な心機能検査のひとつである、24時間心電図検査（ホルター心電図）を加えた[22,29,31,57,58]。

第3項 検査項目

検査項目は、第2章第1節第2項 1、2、3と同様の項目に加えて経時的にホルター心電図検査を行った。なお、第2章第2節第2項1-5については、対照犬とCXMD_J間において有意差を認めたⅡ、ⅢおよびaVF誘導におけるQ波、R波の電位ならびにQ/R比について、またⅡ誘導におけるPR間隔およびQRS時間についてデータ解析を行った。

第4項 24時間心電図(ホルター心電図)使用機器および記録方法

ホルター心電図の記録では、心拍数が自律神経系の影響を強く受けることを考慮して、一定の条件下で測定する必要がある。今回の測定では供試犬の飼育はCXMD_J専用ゲージ(奥行き:170cm×横:70cm×高さ:156.5cm)にて飼育され、空調設備により年間平均温度が22.5℃、また平均湿度は52.6%に設定された。また飼育室内の照明は午前7:00に自動点灯され、午後19:00に自動的に消灯された。本飼育施設入退室時間は、午前9:00-10:00、午後15:00-16:00に限定されており、この時間に給餌および清掃を行った。

ホルター心電図を記録する1週間前より、ホルター専用ジャケットおよびエリザベスカラーを供試犬に装着し、検査前馴致を行った。さらに記録日前日からホルター心電図本体をジャケットに収納させて24時間馴致した後、3日間連続で記録した。測定年齢は生後5ヶ月齢、8ヶ月齢、12ヶ月齢、および17ヶ月齢とした。

ホルター心電計は、2チャンネル記録式のホルターレコーダーQuick-corderQR-2100 および QR-1300(フクダエム・イー工業製)を使用した。記録媒体は磁気テープ(カセットテープ)で24時間毎、朝10時に電池とともに交換した。ディスプレイ電極(ECHORODE II TE-170、フクダ電子製)を装着し、電極コードを補強用シール(グッドタクト、フクダエム・イー工業製)および伸縮テープ(アベンドボア、日廣薬品株式会社製)さらに粘着包帯(ベトラップ、3M製)で体幹に密着させた後、ホルター専用ジャケットのポケットにホルター本体を収納した。誘導は、一極を胸骨柄部、+極を剣状突起部へ装着するM-X誘導(NA SA誘導)、および一極を5-6肋間下右胸部、+極を5-6肋間下左胸部に装着するLR誘導の2チャンネルとした。

第5項 心拍変動解析法

本研究では、周波数領域解析法であるパワースペクトル解析を実施した。心電図を記録したテープは、HOLTER TAPE DECK QD 200(フクダエム・イー工業製)にてデジタル変換し、コンピューターEndeavor MT7500/7300(エプソンダイレクト株式会社製)に格納した。心拍変動解析には、HS1000(フクダエム・イー工業製)を使用した。房室ブロックあるいは、心室性期外収縮(VPC)などの不整脈を除去した後、RR間隔データからショートタイム高速フーリエ変換法(ST-FFT法)を用いて、10分毎に各スペクトルの算出を行った。また、低周波成分(Low Frequency:LF)は0.04-0.15 Hz、高周波成分(High Frequency:HF)は

0.15-0.40 Hz とし、各周波数を解析した。

測定項目は、心拍数、HFpower、およびLFpower とした。また、HFとLFから LF/HF を算出した。さらに、不整脈の発生頻度を把握するため、心室性期外収縮 (VPC) および洞性頻脈個数を計測した。1 日 24 時間を 0 時から 6 時、6 時から 12 時、12 時から 18 時、ならびに 18 時から 0 時の 4 つに分割し、それぞれの時間帯における各測定値を算出した。測定検体が複数の場合には各測定値についてそれぞれの時間帯における平均値 (mean) および標準偏差 (SD) を算出した。

第 2 節 成績

第 1 項 CXMD_Jの臨床徴候および身体検査

すべての供試犬において聴診上異常は認められなかった。身体検査はすべての項目を、経時的観察を実施している CXMD_J 2 頭のほか、さらに 1 頭の CXMD_J を加えた 3 頭に対して行った。今回用いた CXMD_J は、各個体による重症度に相違はあるものの、すべての CXMD_J において生後 3 ヶ月齢より側頭筋の萎縮および舌下筋の腫大が認められた。さらに 1 例 (NO.16) を除いて、体幹近位部骨格筋の肥大、萎縮にともなう歩様異常、流涎および巨舌が認められた。生後 4 ヶ月齢においては、これらの症状は全例に認められ、側頭筋の萎縮、舌下筋の腫大ならびに、巨舌の進行に伴い、流涎、および食餌の摂食障

害が顕著に認められた。生後 5 ヶ月齢から 6 ヶ月齢にかけて、これらの臨床徴候はさらに進行し、嚥下障害あるいは、異常な発声なども認められるようになった。

以上のように、生後 3 ヶ月齢頃より生後 6 ヶ月齢頃まで、成長とともに臨床症状の進行が認められたが、成長期を終了する生後 7 ヶ月齢頃よりその進行は緩慢となり、小康状態で維持された[Table 13]。

第2項 心電図検査

1、Q波

生後 3 週齢から 5 ヶ月齢までの Q 波電位の計測値は、II 誘導において、対照犬(NO.9)では、生後 7 週齢および 8 週齢に 0.70 mV ならびに 0.77 mV を示した他は 0.40-0.59 mV の間で推移した。保因犬(NO.10)では、0.19-0.50 mV の間で推移し、大きな変動は認められなかった。これらと比較して、CXMD_J(NO.11)では生後 6 週齢で 0.82 mV 生後 7 週齢では 1.4 mV と増大した。その後も 0.60-1.39 mV での推移となり、増大する傾向が認められた。CXMD_J(NO.12)においては NO.11 と比べると緩徐であるものの、生後 7 週齢より増大する傾向が認められた[Table 14、Fig 3]。III および aVF 誘導においても CXMD_Jは対照犬および保因犬と比較して、II 誘導同様増大傾向が認められた[Table 15,16、 Fig 3]。生後 6 ヶ月齢から 21 ヶ月齢までは、各月齢で表示したが、II 誘導において対照犬および保因犬と比較し、CXMD_Jの Q 波電位は著しく増大する傾向が認められ

た[Table 17、 Fig 4]。また、Ⅲおよび aVF 誘導においても対照犬ならびに、保因犬と比較し、CXMD_Jの Q 波電位は著しく増大した[Table18,19、 Fig 4]。保因犬においては、Q 波の増大所見は認められなかった。

2、 R波

生後 5 ヶ月齢までのⅡ誘導における R 波の電位は、各供試犬ともに生後 3 週齢および 4 週齢では低い傾向にあったが、その後は対照犬で 2.15-2.67 mV、保因犬では 0.80-1.44 mV、および CXMD_J(NO.11)では 1.07-1.78 mV、CXMD_J(NO.12)では 1.22-1.67 mV で推移し、対照犬と比較し保因犬ならびに CXMD_Jは低い傾向にあった。Ⅲおよび aVF 誘導においてもⅡ誘導と同様の傾向が認められた[Table 20,21,22、 Fig 5]。しかしながら、いずれも正常範囲内(1.0~3.0 mV)での値であった。さらに、生後 6 ヶ月齢以降 21 ヶ月齢における R 波の電位は、Ⅱ誘導において対照犬が 1.74~2.56 mV で推移したのに比較し、CXMD_J(NO.11)では生後 1 ヶ月齢、9 ヶ月齢、12 ヶ月齢、13 ヶ月齢、14 ヶ月齢、16 ヶ月齢、ならびに 17 ヶ月齢に正常範囲以下となり、その他の月齢では 1.07~1.44 mV と正常範囲内であるものの低い傾向が認められた。また CXMD_J(NO.12)では、1.05~2.13 mV であり正常範囲内で推移した。保因犬においては、生後 10 ヶ月齢より加齢とともに正常範囲を下回る値 0.30~0.91 mV で推移した[Table 23 Fig 6]。Ⅲおよび aVF 誘導においてもⅡ誘導と同様の傾向が認められた[Table 24,25 Fig 6]。

3、 Q/R 比

生後 3 週齢から 5 ヶ月齢における週齢毎の Q/R 比は、Ⅱ誘導において対照犬 0.15-0.43、保因犬 0.11-0.57 であったが、CXMD_J(NO.11)では、0.49-0.98、CXMD_J(NO.12)では 0.27-0.71 で推移し、対照犬と比較し CXMD_Jは高値で推移する傾向が認められた[Table 26 Fig 7]。Ⅲおよび aVF 誘導においても、Ⅱ誘導と同様の傾向が認められた[Table 27,28、 Fig 7]。Ⅱ誘導における CXMD_Jの Q/R 比は、生後 6 ヶ月齢以降生後 21 ヶ月齢においても対照犬は 0.15-0.29 と一貫して低値で推移したのに比較し、CXMD_J(NO.11)は 0.46-0.88、CXMD_J(NO.12)では 0.27-0.61 となり、CXMD_Jは著しく高い傾向が認められた。保因犬では、生後 11 ヶ月齢および 19 ヶ月齢で高値を示した他は、0.10-0.64 で推移した[Table 29、 Fig 8]。またⅢ、および aVF 誘導においてもⅡ誘導と同様の傾向が認められた[Table 30,31、Fig 8]。

4、 PR間隔

PR間隔は、対照犬、保因犬ならびに CXMD_Jにおいて、それぞれ 0.07~0.09 秒、0.06~0.09 秒ならびに 0.06~0.10 秒であり、生後 21 ヶ月齢までの計測期間を通して正常範囲内(0.06~0.13 秒)で推移した[Table 32 Fig 9]。

5、 QRS時間

対照犬、保因犬ならびに CXMD_Jのすべての供試犬において正常範囲内(<0.05 秒)で推移した。各供試犬の計測値は、対照犬 0.032-0.045 秒、保因犬 0.037-0.046 秒ならび

に 0.034-0.047 秒であった[Table 33、 Fig 9]。

第 3 項 心エコー検査

心エコー検査は生後 1 ヶ月齢より実施した。すべての供試犬において、断層心エコーによる左室長軸断面像上異常所見は認められなかった。LVEdD は、成長に伴い全例において増加傾向を示し、成長が終了する生後 8 ヶ月齢以降は、対照犬 33.3-37.7 mm、保因犬 32.2-40.1 mm ならびに CXMD_J28.9-37.2 mm であり、CXMD_J(NO.12)において生後 8 ヶ月齢時に 28.9 mm を、示した以外は正常範囲(30.0-40.0 mm)の逸脱は認められなかった[Table 34、 Fig 10]。LVEsD においても LVEdD と同様の傾向が認められ、対照犬、保因犬ならびに CXMD_Jにおいて生後 8 ヶ月齢以降の計測値は、それぞれ 21.0-24.7 mm、21.0-27.2 mm、および 18.6-26.9 mm であり、CXMD_J(NO.11)の生後 16 ヶ月齢における 26.9 mm、および保因犬の生後 13 ヶ月齢における 27.2 mm 以外は正常範囲(18.0-26.0 mm)を逸脱する値は認められなかった[Table 34、 Fig 10]。

IVsD は、生後 8 ヶ月齢以降では対照犬 5.9-8.5 mm、保因犬 5.0-9.07.28mm、および CXMD_J5.0-10.7 mm であった[Table 35、 Fig 11]。LVPwD は、対照犬 5.3-6.8 mm、保因犬 4.2-7.9 mm ならびに CXMD_J4.2-6.4 mm であった[Table 35、 Fig 11]。

FS は、対照犬、保因犬ならびに CXMD_Jでそれぞれ 32.1-44.6 %、保因犬 28.6-40.0 %、CXMD_J26.8-43.0 % であり、正常範囲内(25.0-45.0 %)であった[Table

36 Fig 12]。

以上の所見より本章に供試された CXMD_Jおよび保因犬において、生後 21 ヶ月齢の時点では心エコー検査上心機能低下を示す所見は認められなかった。

第 4 項 心拍変動解析の比較

1、心拍数

生後 5 ヶ月齢においては、対照犬 2 頭 (NO.13、NO.14) および CXMD_J 1 頭 (NO.16) を使用し、解析を行った。心拍数は、対照犬と CXMD_J を比較したところ、0 時から 6 時で、それぞれ 98.99 ± 6.79 回/分、および 135.4 回/分、6 時から 12 時でそれぞれ 129.46 ± 0.38 回/分、および 140.42 回/分、12 時から 18 時でそれぞれ 129.18 ± 3.47 回/分、および 124.52 回/分、さらに 18 時から 0 時で、それぞれ 101.98 ± 9.73 回/分、および 140 回/分であった [Table 37、 Fig 13]。

生後 8 ヶ月齢においては対照犬 1 頭 (NO.9)、保因犬 1 頭 (NO.10) および CXMD_J 3 頭 (NO.11、NO.12、NO.16) について解析を実施した。その結果 3 種間における心拍数は、それぞれ 0 時から 6 時で 75.51 回/分、78.25 回/分 および 82.67 ± 7.16 回/分であり、6 時から 12 時でそれぞれ 106.14 回/分、109.49 回/分ならびに 101.51 ± 6.56 回/分、さらに 12 時から 18 時においては、それぞれ 98.37 回/分、90.68 回/分、および 106.27 ± 10.63 回/分、さらに 18 時から 0 時では、それぞれ 86.31 回/分、83.16 回/分 および

92.89±8.23 回/分であった[Table 37 Fig 13]。

生後 12 ヶ月齢においても、生後 8 ヶ月齢と同様の供試犬を用いてホルター心電図の解析を実施した。3種間における心拍数は、対照犬、保因犬ならびに CXMD_Jにおいて、0時から6時でそれぞれ 63.9 回/分、68.34 回/分および 79.66±10.06 回/分、6時から12時でそれぞれ 89.32 回/分、92.84 回/分ならびに、97.77±15.42 回/分であり、12時から18時では、それぞれ 79.72 回/分、85.41 回/分および 102.02±11.82 回/分、さらに18時から0時では、それぞれ 72.09 回/分、75.46 回/分および 83.77±10.08 回/分であった[Table37、Fig 13]。

生後 17 ヶ月齢においては、対照犬 1 頭 (NO.9)、保因犬 2 頭 (NO.10、NO.15)、CXMD_J 3 頭 (NO.11、NO.12、NO.17) の計例 6 頭を用いて解析を実施した。その結果、心拍数は、0時から6時でそれぞれ 59.6 回/分、70.87±1.16 回/分および 63.49±7.17 回/分であり、6時から12時ではそれぞれ 77.2 回/分、92.59±2.09 回/分ならびに、90.25±8.89 回/分、また12時から18時ではそれぞれ 69.74 回/分、92.13 回/分および 79.99±7.38 回/分、さらに18時から0時ではそれぞれ 63.85 回/分、79.07 回/分および 69.27±5.34 回/分であった。各月齢および時間帯における心拍数は、対照犬、保因犬と比較し CXMD_Jにおいて、増加する傾向が認められた[Table 37、Fig 13]。

2、 HF power

生後 5 ヶ月齢における HF power は、対照犬と CXMD_Jを比較すれば、0 時から 6 時ではそれぞれ $471.52 \pm 34.22 \text{ msec}^2$ および 381.15 msec^2 、6 時から 12 時ではそれぞれ $213.21 \pm 34.25 \text{ msec}^2$ および 361.1 msec^2 、また 12 時から 18 時ではそれぞれ $179.9 \pm 21.60 \text{ msec}^2$ ならびに 492.63 msec^2 、さらに 18 時から 0 時ではそれぞれ $437.4 \pm 89.17 \text{ msec}^2$ および 362.35 msec^2 であり、対照犬が夜間と早朝に高く、日中低い値を示すのに比較し、CXMD_Jは 1 日を通して高値で推移する傾向が認められた[Table 38、 Fig 14]。

生後 8 ヶ月齢における対照犬、保因犬ならびに CXMD_Jの HF power は、0 時から 6 時で、それぞれ 527.83 msec^2 および 435.28 msec^2 、 $485.55 \pm 68.14 \text{ msec}^2$ であり、6 時から 12 時ではそれぞれ 265.7 msec^2 、 209.94 msec^2 ならびに $414.12 \pm 63.86 \text{ msec}^2$ であり、また 12 時から 18 時ではそれぞれ 214.66 msec^2 、 232.93 msec^2 および $412.54 \pm 76.82 \text{ msec}^2$ を示した。さらに 18 時から 0 時ではそれぞれ 369.8 msec^2 、 352.57 msec^2 および $444.97 \pm 67.13 \text{ msec}^2$ であった。対照犬および保因犬が 18 時から 0 時ならびに 0 時から 6 時の照明消灯時に高値を、また 6 時から 12 時、12 時から 18 時の照明点灯時に低値を示したのに比較し、CXMD_J犬では、6 時から 12 時および 12 時から 18 時の時間帯で有意な上昇が認められた[Table 38、 Fig 14]。

生後 12 ヶ月齢における対照犬、保因犬ならびに CXMD_Jにおける HF power は、0 時から 6 時ではそれぞれ 640.05 msec^2 、 565.98 msec^2 、および $448.46 \pm 10.01 \text{ msec}^2$ を示し、

6時から12時ではそれぞれ 363.16 msec^2 、 382.36 msec^2 ならびに $386.28 \pm 35.79 \text{ msec}^2$ 、また12時から18時ではそれぞれ 370.71 msec^2 、 365.98 msec^2 および $382.29 \pm 59.32 \text{ msec}^2$ 、さらに18時から0時ではそれぞれ 550.91 msec^2 、 505.38 msec^2 および $447.38 \pm 19.88 \text{ msec}^2$ の値を示した[Table 38 Fig 14]。

生後17ヶ月齢におけるHFpowerは、対照犬、保因犬ならびにCXMD_Jで0時から6時でそれぞれ 646.44 msec^2 、 $604.93 \pm 98.52 \text{ msec}^2$ 、 $460.22 \pm 63.83 \text{ msec}^2$ および6時から12時ではそれぞれ 444.59 msec^2 、 $400.93 \pm 27.30 \text{ msec}^2$ 、 $403.16 \pm 30.30 \text{ msec}^2$ 、また12時から18時ではそれぞれ 529.95 msec^2 、 $501.46 \pm 71.34 \text{ msec}^2$ および $413.22 \pm 63.74 \text{ msec}^2$ であり、18時から0時ではそれぞれ 654.92 msec^2 、 $599.93 \pm 109.51 \text{ msec}^2$ および $439.81 \pm 60.17 \text{ msec}^2$ であった[Table 38、Fig 14]。生後12ヶ月齢および17ヶ月齢においては、対照犬および保因犬におけるHF powerは照明点灯時間帯である6時から12時、12時から18時で有意な低下が認められるのに比較し、CXMD_Jでは有意な低下は認められず一日を通してHF powerの変動幅の減少が認められた。

3、LF/HF

生後5ヶ月齢におけるLF/HFは、対照犬およびCXMD_Jにおいて、0時から6時でそれぞれ $45.2 \pm 2.89 \%$ 、 47.8% 、6時から12時ではそれぞれ $67.6 \pm 4.03 \%$ 、 42.7% 、12時から18時ではそれぞれ $69.4 \pm 5.72 \%$ 、 32.8% 、18時から0時ではそれぞれ $44.5 \pm 4.03 \%$ 、 40.9% であった。対照犬が6時から12時および12時から18時の時間

帯で上昇するのに比較し、CXMD_Jでは一日を通して変動が小さかった[Table 39、Fig 15]。

生後 8 ヶ月齢において、対照犬、保因犬ならびに CXMD_Jにおける LF/HF は、0 時から 6 時でそれぞれ 41.2 %、46.2 %、および 90.5 ± 20.43 %、6 時から 12 時ではそれぞれ 62.6 %、74.8 %ならびに、 $64.3 \pm 30/50$ %であり、12 時から 18 時ではそれぞれ 58.2 %、59.9 %、および 57.8 ± 34.66 %、さらに 18 時から 0 時ではそれぞれ 45.0 %、48.6 %、および 80.4 ± 25.6 %であった[Table 39、Fig 15]。

生後 12 ヶ月齢においては、対照犬、保因犬ならびに CXMD_Jで、0 時から 6 時がそれぞれ 53.4 %、54.7 %および 110.10 ± 29.90 %、6 時から 12 時ではそれぞれ 50.0 %、49.2 %および 79.2 ± 25.90 %であり、12 時から 18 時ではそれぞれ 43.9 %、35.7 %および 71.4 ± 29.45 %、さらに 18 時から 0 時ではそれぞれ 40.3 %、36.2 %ならびに、 107.1 ± 27.36 %であった[Table 39 Fig 15]。

生後 17 ヶ月齢における対照犬、保因犬ならびに CXMD_Jの LF/HF は、0 時から 6 時でそれぞれ 80.5 %、 71.7 ± 19.65 %ならびに、 113.7 ± 16.39 %、6 時から 12 時ではそれぞれ 56.9 %、 55.5 ± 2.54 %および 74.6 ± 19.74 %、12 時から 18 時ではそれぞれ 39.3 %、 39.6 ± 0.77 %および 61.0 ± 18.14 %であり、さらに 18 時から 0 時では]それぞれ 47.3 %、 46.6 ± 0.42 %および 98.7 ± 27.35 %であった[Table 39 Fig 15]。生後 12 ヶ月齢および 17 ヶ月齢における対照犬ならびに保因犬において、LF/HF の変動幅は一日を通して小さ

い傾向にあった。CXMD_Jにおいては、生後 5 ヶ月齢より一貫して LF/HF は 6 時から 12 時および 12 時から 18 時の時間帯で低下する傾向が認められ、生後 8 ヶ月齢、12 ヶ月齢、17 ヶ月齢においてその傾向は顕著であった。

4、不整脈数

生後 5 ヶ月齢での洞性頻脈ならびに心室性期外収縮 (VPC) の出現数は、対照犬 NO.13、NO.14 および CXMD_Jにおいて、照明点灯時間帯でそれぞれ 847 回/3 日、1251 回/3 日および 1291 回/3 日、また消灯時間帯ではそれぞれ 287 回/3 日、449 回/3 日および 1589 回/3 日であった。VPC においては単発が、対照犬 NO.14 で消灯時間帯に 1 回/3 日、CXMD_Jにおいては点灯時間帯に 1 回/3 日のみであった [Table 40]。

生後 8 ヶ月齢では、対照犬、保因犬、CXMD_J (NO.11、NO.12、NO.16) について実施した。洞性頻脈の出現数は点灯時間帯でそれぞれ 412 回/3 日、418 回/3 日、125 回/3 日、170 回/3 日ならびに 145 回/3 日であり、消灯時間帯ではそれぞれ 79 回/3 日、112 回/3 日、10 回/3 日、24 回/3 日および 13 回/3 日であった。VPC 出現数では単発が、点灯時間帯でそれぞれ 1 回/3 日、230 回/3 日、784 回/3 日、1 回/3 日および 3101 回/3 日、消灯時間帯ではそれぞれ 0 回/3 日、73 回/3 日、499 回/3 日、0 回/3 日および 2832 回/3 日、二連が、点灯時間帯でそれぞれ 0 回/3 日、36 回/3 日、135 回/3 日、0 回/3 日および 1041 回/3 日、消灯時間帯ではそれぞれ

0 回/3 日、14 回/3 日、161 回/3 日、0 回/3 日および 536 回/3 日であった。さらに三連以上は、点灯時間帯でそれぞれ 0 回/3 日、47 回/3 日、199 回/3 日、0 回/3 日および 1413 回/3 日、消灯時間帯ではそれぞれ 0 回/3 日、26 回/3 日、211 回/3 日、1 回/3 日および 548 回/3 日であった[Table 40]。

生後 12 ヶ月齢においては 8 ヶ月齢と同様の供試犬を用いて実施した。対照犬、保因犬ならびに CXMD_J(NO.11、NO.12、NO.16)において、洞性頻脈の出現回数は、点灯時間帯でそれぞれ 115 回/3 日、239 回/3 日、24 回/3 日、157 回/3 日および 145 回/3 日、消灯時間帯ではそれぞれ 18 回/3 日、23 回/3 日、0 回/3 日、19 回/3 日および 13 回/3 日であった。VPCにおいては単発が、点灯時間帯ではそれぞれ 0 回/3 日、3 回/3 日、713 回/3 日および 3101 回/3 日、消灯時間帯ではそれぞれ 2 回/3 日、5 回/3 日、3 回/3 日、39 回/3 日および 2832 回/3 日、二連が点灯時間帯ではそれぞれ 0 回/3 日、1 回/3 日、0 回/3 日、21 回/3 日ならびに 1041 回/3 日、消灯時間帯ではそれぞれ 0 回/3 日、0 回/3 日、0 回/3 日、3 回/3 日および 536 回/3 日、さらに三連以上は、点灯時間帯でそれぞれ 0 回/3 日、0 回/3 日、0 回/3 日、23 回/3 日および 1413 回/3 日、消灯時間帯ではそれぞれ 0 回/3 日、2 回/3 日、0 回/3 日、9 回/3 日および 548 回/3 日であった[Table 41]。

生後 17 ヶ月齢は対照犬、保因犬(NO.10、NO.15)、CXMD_J(NO.11、NO.12、NO.17)を用いて実施した。洞性頻脈の出現回数は、点灯時間帯で対照犬が 50 回/3 日、保因犬

のうち NO.10 は 366 回/3 日、NO.15 は 473 回/3 日、CXMD_Jのうち NO.11 は 40 回/3 日、NO.12 は 101 回/3 日、NO.17 は 90 回/3 日、消灯時間帯ではそれぞれ 0 回/3 日、57 回/3 日、97 回/3 日、0 回/3 日、1 回/3 日および 2 回/3 日であった。VPCにおいては点灯時間帯での単発は、それぞれ 2 回/3 日、119 回/3 日、2 回/3 日、6 回/3 日、3 回/3 日および 36 回/3 日、消灯時間帯ではそれぞれ 0 回/3 日、14 回/3 日、3 回/3 日、1 回/3 日、4 回/3 日および 76 回/3 日、二連は、点灯時間帯ではそれぞれ 0 回/3 日、28 回/3 日、0 回/3 日、0 回/3 日、0 回/3 日および 9 回/3 日、消灯時間帯ではそれぞれ 0 回/3 日、0 回/3 日、1 回/3 日、0 回/3 日、0 回/3 日および 29 回/3 日であった。さらに点灯時間帯における三連以上の出現は、それぞれ 0 回/3 日、19 回/3 日、0 回/3 日、0 回/3 日、1 回/3 日および 7 回/3 日、消灯時間帯ではそれぞれ 0 回/3 日、3 回/3 日、1 回/3 日、0 回/3 日および 35 回/3 日であった。計測を実施した三日間についてのみの結果であるものの、CXMD_Jは対照犬と比較してVPCの出現数が多い傾向が認められた[Table 41]。

第 3 節 小括

第2章では CXMD_Jにおいて、生後 5 ヶ月齢ですでに臨床症状および心電図上の異常（特にQ波振幅の増大）を呈することが認められた。そこで第3章では、これらの症状の出現時期および経過について解明することを目的として第2章よりもさらに若齢期の心機能

の変化を中心に検討を行った。また、24 時間心電図検査（ホルター心電図検査）を加えて検討を行った[29,31,57,58]。

その結果 CXMD_Jにおける臨床症状は重症度および発現する症状に多少の強弱はあるものの、生後 3 ヶ月齢より認められ、生後6ヶ月齢まで徐々に進行することが確認された。心電図検査においても生後7週齢より、II、III、およびaVF誘導において、Q波振幅の増大が認められた。しかしながら、心エコー検査では、生後 21 ヶ月齢に至っても心機能低下および形態学的異常所見は認められず、比較的長期に良好に推移することが確認された。ホルター心電図による心拍変動解析の結果では、CXMD_Jは対照犬と比較して心拍数は一貫して高く保持されると同時に、不整脈の発現数が多い傾向にあることが確認された。また、CXMD_Jでは副交感神経の指標であるHF power の日内変動が小さく、さらに交感神経系の簡易的な指標であるLF/HFは、日中に低下し夜間に上昇する結果となり、この時期すでに自律神経機能に心不全時と同様な変化が発現していることが示唆された。保因犬においては、対照犬とほぼ同様の傾向を呈し、この時期の自律神経機能について明確な変化は確認されなかった。

第 4 章 Canine X-Linked Muscular Dystrophy in Japan

(CXMD_J)における CARTO システムによる心室興奮伝播様式の検討

第2章の結果から、DMD のモデル動物として作成した CXMD_Jにおいても、GRMDと同様の臨床徴候ならびに心電図異常を呈することが明らかとなった。しかしながら CXMD_Jにおいて、これらの出現時期ならびにその経時的変化についての詳細は解明されていない。特に DMD に伴う心機能障害と心電図異常との関係を知ることは、将来における DMD の診断および治療に極めて重要であると考えられたことから、第3章を実施した結果 CXMD_Jにおけるこれら臨床徴候および Q 波の異常を特徴とした心電図異常の発現時期が解明された。さらに、24 時間心電図検査によっても若齢期における CXMD_Jの心機能異常の一部が解明された。

これまで DMD および GRMD において認められる心電図異常は、心エコー上の高信号所見に一致する心筋線維化に起因する起電力の低下が原因であるとの仮説が報告されている[39,40,41]。しかしながら今回の成績では、CXMD_J全例に心電図異常が認められるのに対し、心エコー上異常を認める CXMD_Jは第2章を含めても 1 例のみであった。これらの成績から考え、CXMD_Jに認められる心電図異常は心筋線維化に起因するものではなく他の原因により発現している可能性も考えられた。そこで第4章では、この心電図異常の成因を解明する目的で CARTO システムを用いた電気生理学的検討を行うと同

時に同一犬の病理解剖を実施し、病理組織学的検討を行った。

第1節 供試犬ならびに方法

第1項 供試犬

供試犬は、国立精神・神経センター総合実験動物棟（中型実験動物研究施設）で繁殖、飼育されている正常犬（対照犬とする）3頭、CXMD_J4頭合計7頭を使用した。このうち対照犬1例（NO.9）、およびCXMD_J2例（NO.11、NO.12）は生後21ヶ月齢であり、残りの対照犬2例（NO.18、NO.19）はそれぞれ生後5ヶ月齢および生後9ヶ月齢、さらにCXMD_J2例（NO.20、NO.21）は生後5ヶ月齢および生後9ヶ月齢であり、それぞれ同腹犬であった[Table 42]。

なお、病理組織学的検査においては、CXMD_JNO.6、NO.8 および NO.17 についても実施した。

第2項 CXMD_Jの臨床所見の観察

1、臨床徴候および身体検査

すべての供試犬は第3章、第1節、第2項1、2、3と同様の方法を用いて実施した。

CXMD_Jおよび対照犬においては、聴診上心雑音は聴取されなかった。CXMD_J（NO.20、21）はそれぞれ生後3ヶ月齢より舌下筋の腫大および巨舌が認められた。特にNO.21で

は、生後5ヶ月齢より側頭筋の萎縮ならびに歩様の異常が認められ、生後 6 ヶ月齢より流涎を呈した。

2、心電図検査

生後 5 ヶ月齢の CXMD_J(NO.20)では、II 誘導におけるQ波は、0.68 mV を示し、CXMD_Jの Q 波電位の振幅は顕著な増大が認められた。またⅢならびに aVF 誘導においても同様の所見が認められた。生後 9 ヶ月齢の CXMD_J(NO.21)におけるQ波電位は、-0.46 mV を示し、Ⅲおよび aVF 誘導においても増大する傾向が認められた[Table 43]。

R波電位は、II 誘導において CXMD_J(NO.20)では、-1.19 mV であり、CXMD_J(NO.21)では-1.88 mV であり、正常範囲内であった。さらにⅢならびに aVF 誘導においても同様に正常範囲内の測定値であった[Table 43]。

Q/R 比は、CXMD_J(NO.20)では 0.59 と高く、Ⅲ、aVF 誘導においても CXMD_Jは高い傾向が認められた。また CXMD_J(NO.21)における Q/R 比は 0.25 であり、顕著な Q/R 比の増大は認められなかった[Table 43]。

さらに CXMD_J(NO.21)においては、S波が認められたため、NO.20 および NO.21 についてはS波電位の測定を実施し、S/R 比を算出した。その結果S/R 比は、II 誘導において CXMD_J(NO.20)では 0.14 であり、NO.21 では 0.31 であった。Ⅲならびに aVF 誘導における S/R 比は、NO.20 では 0.23 および 0.12、NO.21 では 0.39 および 0.38 であり NO.21 で

はⅡ誘導と同様増大が認められた[Table 43]。

PR間隔は、CXMD_J(NO.20)では 0.072 秒、CXMD_J(NO.21)では 0.079 秒であり、いずれも正常範囲内であった[Table 43]。

QRS時間は、CXMD_J(NO.20)では0.035 秒、CXMD_J(NO.21)では0.033 秒であり、正常範囲内であった[Table 43]。

3、心エコー検査

生後5ヶ月齢であるCXMD_J(NO.20)におけるLVEdDは27.4 mm、NO.21では30.2 mmであった。LVEsDはNO.20では18.4 mm、NO.21では20.5 mmであった。FSはNO.20では33.4 %、NO.21では31.6 %でありいずれも正常範囲内であった[Table 43]。

第3項 CARTO システムおよび記録方法

今回用いたCARTOシステムとは、Electro-anatomical マッピング法を言い、心腔内の電位情報と磁気を利用して得られるカテーテル電極の位置情報(解剖学的情報)を同時にコンピューター処理することによって、心臓の立体画像をリアルタイムに描出することができるシステムである。すなわち、横臥状態の被験者の下側に3個の磁場発生装置を設置し、それぞれの装置から微弱な磁場を発生させることにより、心腔内に挿入されたカテーテル先端の磁気センサーがそれぞれの磁場の強度を感知する。感知した磁場の4点目から三面体が描かれる。この原理を用いて心臓の内面を移動させ、多くの点を記録す

ることにより多面体が構築され、心臓の立体画像が描出される。コンピューターのディスプレイ上の像はいかなる角度からも自由に見ることができることから、正確でかつ詳細な心臓の形態を把握することが可能な検査システムである。

CARTO システムでは3つのマップを作成することができる。電氣的興奮の伝播状況を興奮の早い場所から赤→橙→黄→黄緑→青→紺→紫の順で描出された心臓の立体画像上に表示するアクチベーションマップ、さらに心筋興奮伝播の様子を赤色の動画にて表示するプロパゲーションマップ、そして器質的な心筋障害を電圧の変化で表示するボルテージマップである[27]。

記録方法には、心腔内電位を感知するマッピング専用カテーテル(ナビスター®)を用いた。マッピング専用カテーテルには位置センサーが埋め込まれており、心腔内からのマッピングポイントの情報は CARTO システム(リコングラフィックス社製:ワークステーション、CARTO ユニット、ロケーションパッド)によって取り込み、解析を行うと同時に即座に立体画像を構築し、その情報に基づいて各種マップ(アクチベーションマップ、ボルテージマップおよびプロパゲーションマップ)を作成した。

第4項 CARTO システム測定法

供試犬は、フルニトラゼパム(0.1 mg/kg)および塩酸ケタミン(5.0 mg/kg)の静脈内投与により麻酔導入後、気管挿管しイソフルラン麻酔で維持した。左側横臥位にて外科的に、右頸動・静脈を露出した。ついで各々に7Fr および8Fr シースをイントロデューサーを留置し動静脈を確保した。最初めにマッピング用カテーテルを右頸静脈に挿入し右心室まで到達させた後、心腔内の各部位の電位を測定した。続いて右頸動脈にマッピング用カテーテルを挿入し、同様の方法で左心室内電位を測定した。測定は 64-108 箇所範囲で実施した。

第5項 病理組織学的検査方法

使用されたすべての供試犬は、実験終了後イソフルラン吸入維持麻酔下で、安楽死を行った。その後速やかに心臓を摘出して、肉眼的検査を行った後、心筋内を十分にホルマリンにて還流し固定した。病理組織学的検査はヘマトキシリン・エオジン染色(HE染色)ならびにマッソン・トリクローム染色(MT染色)を実施し、心筋組織を光学顕微鏡レベルで観察した。

第2節 成績

第1項 対照犬およびCXMD_JにおけるCARTOシステム作成マップの

比較

1、ボルテージマップ

すべての供試犬において、ボルテージマップは 1.5 mV 以上であり、犬での基準値は報告されていないもののヒトにおける正常範囲と(>1.5 mV)一致することが認められた[Fig 16]。

2、アクチベーションマップ

生後 5 ヶ月齢および生後 9 ヶ月齢の対照犬では、心室中隔において赤色ならびに橙色のマップが最初に描かれ、心室興奮伝播様式として、興奮の開始地点は心室中隔であることが確認された。一方 CXMD_Jでは、最初に左心室自由壁心基部付近において赤色ならびに橙色のマップが描かれたことから CXMD_Jにおいては、対照犬で認められた心室中隔部位ではなく、左心室自由壁心基部の興奮が最も早く生じることが確認された[Fig 17]。また、生後 21 ヶ月齢において対照犬では生後5ヶ月齢および9ヶ月齢と同様の興奮伝播様式が認められたのに対し、CXMD_Jでは左心室側壁の一部エリアに黄緑色のマップが描かれ、左心室の興奮伝播過程において興奮の遅延部位が存在することが認められ、生後1年以内の若齢時とは異なったマップが描出された[Fig 18]。

3、プロパゲーションマップ

生後 5 ヶ月齢および生後 9 ヶ月齢では、対照犬において、心室中隔に最初の興奮が生じ徐々に心室中隔下方から左心室そして右心室へと伝播していく様子が確認されたのに対し、CXMD_Jにおいては左心室自由壁心基部付近の興奮が最初に生じ、この部位から徐々に心室中隔および心尖部方向、そして左心室全域に伝播していく様子が確認された[Fig 19 20 21 22]。また生後 21 ヶ月齢では、対照犬と比較し CXMD_Jにおいては左心室側壁の一部で、島状の興奮伝播遅延領域を認めた。しかしながら、興奮開始地点からの興奮伝播様式について詳細を把握するには至らなかった[Fig 23]。

第2項 CXMD_Jにおける病理組織学的検査所見

生後 15 ヶ月齢までの CXMD_Jにおいて、1 例を除いて固有心筋の心筋細胞に変性所見は認められなかった。変性を認めた NO.16 では、病変部位は両心室に瀰漫性認められ、脂肪浸潤および核濃縮などが生じており、特に心筋の中層から外層(心外膜)に至っては置換性線維化が生じている領域も認められた。

生後 15 ヶ月齢以降の CXMD_Jにおいては、病変の重症度に個体差は認めるものの全例において固有心筋の変性病変が認められた。変性病変の分布は、両心室に瀰漫性に認められ、さらに心筋の内層(心内膜側)よりも、中層および外層に著しく生じている傾向が認められた[Table 44]。変性においても同様に内層では軽度であるのに対し、中層およ

び外層では硝子様変性、脂肪組織浸潤、核濃縮さらに膠原線維による置換に及ぶものまで様々であった。特に、生後 21 ヶ月齢の CXMD_J(NO.11)では MT 染色で青色に染まる線維化領域が広範囲に認められ、固有心筋の線維化は顕著であった

[Fig 24]。また、生後 21 ヶ月齢の保因犬において病理組織検査を実施したところ、CXMD_Jと同様に固有心筋の変性が認められた。しかしながらその変性の状況は硝子様変性による好酸化および血管周囲の膠原線維置換であり、CXMD_Jにおけるそれよりもマイルドであった。病変分布状況および所見において CXMD_Jと同様の傾向が認められた [Table 45]。

特殊心筋細胞(プルキンエ線維)においては、病理組織学的検査を実施した生後 5 ヶ月齢-生後 39 ヶ月齢までの CXMD_Jでは全例に変性病変を認めた。プルキンエ線維の変性は、各供試犬により軽度な間質の線維化から脂肪組織置換、さらにプルキンエ細胞の線維化に至るものまで様々であった [Fig 25]。保因犬においては、特殊心筋の変性は認められなかった。また病理組織学的検査を実施した対照犬において異常所見は認められなかった。

第3節 小括

第4章では、1例を除くすべてのCXMD_Jにおいて認められた心電図異常(特にQ波振幅の増大)の成因について注目し、電気生理学的見地から検討を行った。CARTOシステムによる解析の結果、対照犬とCXMD_Jでは心室興奮伝播様式において異なる傾向が認められた。すなわち、生後5ヶ月齢および9ヶ月齢においては、対照犬では心電図(標準四肢誘導)波形に準じた心室興奮伝播様式が捉えられた。これに対し、CXMD_Jでは心室興奮は心室中隔から開始せず、左心室自由壁心基底部分近に始まり、心室中隔方向に伝導していく逆の興奮伝播様式が確認された。また、CXMD_Jにおいて病理組織学的検査上、固有心筋の異常は認められず、特殊心筋の変性のみが認められた。これらのことから、CXMD_Jは固有心筋の変性が認めらなくとも対照犬と異なる心室興奮伝播様式を呈する傾向にあることが明らかとなり、CXMD_Jにおける心室興奮伝播様式が心電図異常と何らかの関係があることが示唆された。一方、生後21ヶ月齢におけるCXMD_Jでは、心室の興奮伝播に遅延部位を認めたものの、その興奮伝播様式に関しては不明であった。その原因については、さら検討する必要があるが、これまでの病理組織学的検査成績を考え合わせれば固有心筋および特殊心筋の変性がベクトル電位に変化を来たしたものと推察された。

第5章 総括および考察

ヒトのデュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)患者における最も深刻な問題は、これまででは呼吸機能低下による呼吸不全が発現し死亡する経過であったが、近年は呼吸器医療技術の進歩により呼吸不全よりむしろDMDに続発する筋症に起因する心不全であるとされている。その主体が拡張型筋症であることから心不全に対する薬物治療が主であるが、前述のごとく呼吸障害における呼吸器治療が生活の質(Quality of life)の改善ならびに延命率において進歩しているのに対し、筋症を持つ患者に対しては、長期の延命が得られていないのが現状である[20,32]。最近では多くの医療分野において再生移植治療法などが開発され、これまで根治が不可能とされていた疾病に対して、大きな成果をあげている。DMDにおいても、根治的治療を目標に、遺伝子導入治療および再生移植治療、さらに薬物治療の開発が期待されている。これらの治療法開発においては、DMDの病態を解明することならびにふさわしいDMD治療に直結するモデル動物の導入が極めて重要であるとされている[8,52,53]。これまでmdxマウスおよびゴールデン・レトリバーX連鎖性筋ジストロフィー(GRMD)などがモデル動物として開発、利用されてきたが、今回対象としたCanine X-Linked Muscular Dystrophy in Japan(CXMD_J)は同様の遺伝子異常を持ち、多岐に渡る治療研究ならびに飼育管理の観点からモデル動物として非常に有用であると考えられている。以上のことからCXMD_Jにおける心機能障害の

病態が解明されることは、DMDのみならず将来的に獣医臨床分野における筋ジストロフィーを呈する動物の診断、治療においても大きな役割を果たすと考えられる。本研究の目的は CXMD_Jの病態を解明することにあるが、特にこれまで知られていない出生直後の若齢期から成長に伴って変化する心機能の異常を病態生理学的に追求することを考えた。若齢期より経時的に臨床徴候および心機能の変化を捉えるためには、供試犬に対し回復可能な方法を用いて心機能障害について検討する必要があることから、まず臨床徴候の把握と同時に心電図検査および心エコー検査を実施して全体像の把握を試みた。

1、臨床徴候に関する考察

臨床徴候は、第2章開始時である生後5ヶ月齢においてすでに側頭筋の萎縮、巨舌、さらに流涎などの GRMD に特徴的な徴候が認められた。生後5ヶ月齢でのこの徴候は、GRMD に関する Valentine[33,35,52,53,54]らの報告と一致していたことから、CXMD_Jが DMD の病態解明に適したモデルであることが確認された。そこで、さらに若齢期からのデータ収集および解析が必要であると思われるので、第3章では出生時より一般身体検査を実施した。その結果、生後3ヶ月齢頃より個体差はあるものの側頭筋の萎縮、舌下筋の腫大、巨舌、あるいは流涎などの GRMD に特徴的な徴候が認められた。その後、成長の著しい生後6ヶ月齢まで、これらの徴候の重症化傾向が認められたが、生後7ヵ月齢から8ヶ月齢前後にはほぼ一定の状態安定し、それ以上の進行は認められずに小康状態で推移した。CXMD_J犬の臨床徴候が生じる時期は、Valentine らの GRMD の報告

[52]に非常に類似しており、さらにDMD患者における発症年齢とも類似していた。

Valentineらは雌のGRMDおよびビーグル交雑による小型のGRMD交雑種においては、GRMDと比較して臨床徴候が軽度であると報告しているが、本研究においては、臨床徴候の発現時期および重症度に関しては、むしろ個体差に起因する場合が大きいと考えられた。この場合個体差はあるものの、成長期にのみ加速度的な進行を呈し、成長終了後は一定の状態で維持される傾向が認められた。さらに、成長に伴い各々のCXMD_Jは臨床徴候に対して順応・馴化できることが確認された。

2、心電図異常(Q波振幅の増大)および心エコー所見に関する考察

心電図の計測に関しては、生後3週齢より開始し、詳細な解析を行う目的で生後5ヶ月齢に至るまでは、すべての週齢においてデータの解析を行った。その結果CXMD_JのⅡ、ⅢならびにaVF誘導において、Q波振幅の顕著な増大が生後7週齢より認められた。生後2週齢までは、胎児期における循環血行動態の影響が残り、心電図上S波の増大など、正常な犬の心電図とは異なる所見が得られるとされている[38]。今回のCXMD_Jにおける心電図の異常所見がQ波振幅の増大であること、またその出現が生後7週齢であることをことから、Q波振幅の増大は胎児期における血行動態の影響に起因する変化ではないと考えられ、CXMD_Jにおいては、臨床徴候が顕著となる以前から、心電図に異常を来していることが判明した。また、心エコー検査に関しては、GRMDでは左心室自由壁および心尖部、さらに乳頭筋における高信号領域が若齢より認められ、FSの

低下が観察されると報告されている[33,45,52,53]。しかしながら本実験では、心臓には生後 21 ヶ月齢の時点で形態学的な異常は認められず、心筋内の高信号所見は、1例 (NO.7) のみに観察された。この1例においては、左心室前乳頭筋の一部に高信号所見が認められたものの、FSの低下は認められなかった。さらに両心室および心室中隔の心エコー検査においても、心筋の動きが不均一な領域は認められなかった。以上の所見から考えて、生後21ヶ月齢までの CXMD_Jにおいては、これまでの報告と異なり心エコーにおける異常所見はほとんど認められず、心機能も良好に保持されることが判明した。

Bosser らは、DMDにおいて心電図上の異常は、幼少の時期より認められるものの、心エコー検査における心機能は、部分的な心筋壁の収縮異常を認める程度にとどまり、FSの低下はかなり患者の年齢に依存していると述べた上で、より早期に心機能障害を捉えるパラメーターの検討を行っている[14]。また Chetboul らは、GRMDにおける早期の心筋障害について検討し、Tissue Doppler Index (TDI) では通常心エコー検査上異常所見を認めない若齢期 (生後 25±11 週齢) においても、心機能障害が描出されると述べている[55,56]。一方、犬の拡張型心筋症 (DCM) における心エコー所見において、心機能障害を来す以前では心筋変性所見を描出することは非常に困難であり、同時にDMDおよびGRMDにおける心筋障害は、DCMに類似するとされている[3,11,28,33,40,45,54]。この観点から考えれば、今回用いた CXMD_Jにおいて心エコー所見に異常が認められないことは容易に想定できる。したがって、CXMD_Jにおける心筋障害の存在の有無を単純に、

心エコー所見上から議論することには注意を要することが示唆された。さらに、CXMD_Jでは心電図 Q 波振幅の増大は認められるものの心エコー上異常は軽微であることから、DMD および GRMD において心電図 Q 波振幅の増大の成因は心筋の線維化病変に伴う起電力の低下に起因したものである、という仮説に対し矛盾を生じる結果となり、心電図異常の成因は他の何らかのファクターによる可能性があることが示唆された。

3、心拍変動解析に関する考察

心血管系の自律神経による制御異常は、心不全患者あるいは心不全動物の病態生理および治療を考慮する上で非常に重要な検討事項である。通常DMD患者においては、心拍数の増加、洞性頻脈およびその他の不整脈の出現が報告されており[16,21,40,41]、その病因として、1)左心室機能の低下に対する代償的メカニズムに起因、2)自律神経系の障害が心機能低下を招来する、3)洞房結節の脂肪変性および線維化により、自動性の変化およびリエントリーなどの不安定性を引き起こす、などの仮説もある[13,18]。このように、DMDにおける不整脈の病因は明確にされていないが、DMD患者においてさらに深刻な事態は、かなりの割合(36%)で突然死が認められるとの報告である[16]。その突然死の原因として最も注目されている事項は、やはり不整脈の出現である[37]。すなわち

DMD患者に対して実施した24時間心電図(ホルター心電図)解析の報告では、40%以上に何らかの心室性期外収縮(VPC)が認められ、さらに心拍変動解析において、サー

カディアンリズムにも変調が認められた[58]。

DMD患者におけるこれらの知見から考えれば、今回実施した CXMD_Jにおけるホルター心電図による心拍変動解析の重要性が示唆される。DMD患者における自律神経機能の異常所見としては、初期の段階では HF power すなわち副交感神経系の顕著な低下および LF/HF すなわち交感神経系の活性化が認められる。症状の進行に伴って、これらの所見はさらに進行し、重症患者においては、HF power の変動が認められず(副交感神経活性の低下)、また LF/HF においても、その変動は極めて小さい。さらに進行すれば LF/HF が、日中減少し夜間に増加する、健常者と逆のサーカディアンリズムを呈し、一日を通して交感神経系の活性化が増強される状態が認められる。正常犬における心拍変動による不整脈の発生状況ならびにサーカディアンリズムの解析に関しては、いくつかの報告があり、サーカディアンリズムは正常犬と健常なヒトでは類似性があると言われている[19,24,30]。今回実施したホルター心電図装着による心拍変動解析の結果、CXMD_Jの心拍数は対照犬と比較して常に高い傾向を示した。その理由に関しては明確ではないが、CXMD_Jは巨舌、舌下筋の腫大さらに食道の肥厚による内腔狭窄など、咽喉頭領域の物理的変化に伴う喚起不全が生じていることにより、PaO₂の低下を招来していたものと考えられ、このような状況に対する代償機構として心拍数増加が生じている可能性が考えられた。一方、VPCの発現数においては、対照犬と比較し CXMD_Jは有意に高かったものの、今回の解析では、VPCの発現する月齢は個体により増減がみられ、一定の傾向は認め

られなかった。しかしながら、生後5ヶ月齢を除き、被験期間のいずれかの時点において、すべての CXMD_Jで正常範囲を逸脱した回数のVPCが観察された。また単発のみならず二連以上のVPCが認められたことは、通常、犬では安静時に二連以上のVPC出現は極めて少なく、これを認める場合は何らかの心疾患を疑う必要があるとの報告を[6,17,24,30]を考慮すれば、CXMD_Jにおいては、生後8ヶ月齢時すでに心臓へ何らかの影響が及んでいることが推察された。同時に、心拍変動解析による自律神経系の評価において、副交感神経の指標であるHF powerが、対照犬および保因犬では消灯時ならびに夜間から早朝に高値にあるのに対し、CXMD_Jでは生後5ヶ月齢で全く逆のサーカディアンリズムを呈し、その後生後8ヶ月齢、12ヶ月齢および17ヶ月齢において、HF powerの変動が極端に小さくなることが確認された。逆に交感神経の指標であるLF/HFでは、生後8ヶ月齢、12ヶ月齢および17ヶ月齢においては、日中減少し、夜間上昇するリズムを呈する結果が得られた。上記のサーカディアンリズムは、これまで報告されてきた重症DMD患者のリズムと一致しており、CXMD_Jでは生後8ヶ月齢において、すでに自律神経機能に変化を来していることが示唆された。このことから骨格筋のジストロフィー以外にかなり早期に心機能にも異常が発現している可能性が高いことが示唆された。このことは自律神経機能障害に伴う何らかの異常現象が生じる可能性があることを示唆し、その1つとして突然死に移行する悪性の不整脈出現の可能性をも示唆した。このことはCXMD_Jの心拍変動解析における自律神経系の機能異常へのアプローチの重要性を示

唆したものと捉えることができる。

4、 CARTO システムによる心室興奮伝播様式の解析に関する考察

CARTOシステムは、心臓の電気解剖地図を三次元画像にて作成するシステムで、正確な解剖学的位置情報および心臓内における心筋電位の伝播状況を同時に描出すことができる電気生理学的検査システムである。医療分野における刺激伝導障害、あるいは不整脈治療において近年導入され始めた。CXMD_Jの心電図異常の特徴がQ波にあることから、本研究においては、心臓の両心室内の心筋電位の伝播を解析した。その結果、生後5ヶ月齢および生後9ヶ月齢の対照犬においては、電氣的興奮刺激は心室中隔から開始され、ついで左心室自由壁側、心尖部、さらに右心室方向へと伝播し、最終的に心基部に向かい終息し、心電図の興奮伝播における概念と一致した所見が得られた。しかしながら、同時期のCXMD_Jにおいては、心室の興奮開始部位は心室中隔ではなく、左心室自由壁心基部であることが確認された。さらにその部位から生じた興奮刺激は、左心室自由壁を心尖部方向に向かうと同時に、心室中隔に向かって伝播する現象が捉えられ、対照犬と異なる電氣的興奮伝播様式をとることが確認された。生後21ヶ月齢においても対照犬は、上記の対照犬と同様の心室興奮伝播様式をとることが確認された。生後21ヶ月齢のCXMD_Jにおいては、左心室自由壁の側壁に島状に興奮伝播の遅延する領域が認められ、生後5ヶ月齢および生後9ヶ月齢のCXMD_Jにおける伝播様式とは

異なる様相を呈した。CARTOシステムによる解析において、若齢の CXMD_Jでは、心室の興奮開始部位が心室中隔ではなく、左心室自由壁に起始していることの原因については現在のところ不明である。しかしながら、遺伝性心室頻拍を呈する犬におけるM cell に類似した特殊細胞が CXMD_Jにおいても存在し、このような現象を招来している可能性も考えられた[48]。今回得られた、最初に起始した興奮が左心室自由壁から心室中隔方向に伝播する現象と、心電図上Ⅱ、Ⅲ、および aVF 誘導においてQ波振幅が増大する所見を考察すれば、通常、心室中隔を伝播する興奮は、ついで左心室自由壁方向に伝播することにより、R波が成立する。しかしながら CXMD_Jでは、左心室自由壁から心室中隔に興奮が伝播することから、対照犬とは逆にQ波として表現される可能性があるものと推察された。一方、CARTOシステムによる電位の測定が全て心内膜側からの情報であることから考えれば、心外膜側からの電位測定を同時に実施することにより[34]、さらに新たな知見が得られるものと期待された。

5、CXMD_Jの病理組織学的所見についての考察

CXMD_Jにおける病理組織学的検査では、生後 15 ヶ月齢までの CXMD_Jにおいては、1例(NO.16)を除いて、固有心筋に顕著な病変は認められなかった。生後 21 ヶ月齢以上の CXMD_Jにおいては個体による進行性に相違はあるものの、固有心筋の変性および線維化が認められ、その所見はこれまでのDMDおよびGRMDの報告と酷似していた[3,15,33,35,40,52,53,54]。さらに病変の分布についてもDMDと同様、両心室の外層(心

外膜側)および中層に多く分布し[40]、心内膜側の病変はいずれも軽度であった。また、変性や線維化の病変は、両心室および心室中隔に瀰漫性に認められたが、特に限局する傾向は認められなかったことはDMDの病理所見と若干の相違があった。一方、特殊心筋(プルキンエ線維)については、すべてのCXMD_Jにおいて変性病変が認められた。すなわち、固有心筋に変性を来す以前の生後5ヶ月齢ですでにプルキンエ線維には変性を生じていることが確認された。これまでのDMDならびにGRMDにおける報告では、変性の中心は常に固有心筋病変にみられプルキンエ線維の変性についての詳細な記載はない。プルキンエ線維を構成する特殊心筋細胞は、固有心筋細胞とその形態を異にし、グリコーゲンを多く含み、飢餓による栄養失調あるいは他の心疾患で固有心筋に変性が波及する場合においてもほとんど変化を来さないと報告されている[12]。心筋中最も残存する可能性の高いプルキンエ線維が、CXMD_Jにおいては、最も早く変性を生じることが確認され、CXMD_Jの心機能障害の病態を解明するうえで極めて重要な所見であると考えられた。

以上本研究において、若齢時におけるCXMD_Jの心電図の異常、自律神経機能の変化、ならびに心室内電位の興奮伝播様式の変化が確認され、さらに心臓病理組織学的検査においてもプルキンエ線維の変性などの所見が認められた。これらの所見はこれまでの報告では確認されていない所見であり、この意味から今回用いたCXMD_JはDMDの病態解明、とくに重要な心機能障害の解明に非常に有用なモデルであることが確認されたと

同時に獣医臨床上 CXMD_Jの病態解明の糸口を示すものと思われた。

第6章 結語

ヒトのデュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)の心機能障害の病態解明を目的とし、デュシェンヌ型筋ジストロフィーモデル犬である CXMD_Jを用いて検討を行った結果、以下の知見が得られた。

- 1、 CXMD_Jの臨床徴候は、生後 3 ヶ月齢から認められ、生後6ヶ月齢頃まで進行するが、その後は小康状態で推移することが判明した。
- 2、 Q波振幅の増大を特徴とする心電図異常は、生後7週齢前後の若齢時よりすでに認められることが判明した。
- 3、 これまで報告されている DMD および GRMD の心エコー所見では、左心室心筋の高信号像が認められるとされていたが、今回実施した生後 21 ヶ月齢までの成績では、形態および心機能のいずれにもほとんど異常は認められなかった。
- 4、 CXMD_Jに対して24時間心電図記録を行い、心拍変動解析を実施した結果、若齢時より夜間における心拍数の増加、および心室性期外収縮(VPC)の出現数の増加が認められた。また、CXMD_Jでは生後 5 ヶ月齢より自律神経機能に変化を来していることが明らかとなった。
- 5、 心電図 Q 波振幅の増大に関して、CARTOシステムにより心室内興奮伝播様式を検討したところ、対照犬の興奮が心室中隔から左心室自由壁に伝播するのに

対し、CXMD_Jにおいては逆に左心室自由壁から興奮が起始し、心室中隔に向かう伝播様式が確認された。

- 6、 CXMD_Jの病理組織検査において、固有心筋の病変は生後 21 ヶ月齢では強く認められたものの、若齢犬では認められなかった。しかしながら、特殊心筋線維(ブルキンエ線維)においては、生後 5 ヶ月齢ですでに変性が認められていることが判明した。
- 7、 以上1-6の所見より、CXMD_Jは生後 21 ヶ月齢の時点では心機能障害を呈する所見は得られなかった。しかしながら、これらの所見は今後 CXMD_JにおいてもDMDにおける心筋症に準ずる心筋症が招来されることを十分に予測させた。

謝 辞

本論文を推敲するにあたり、始終懇切丁寧にご指導を賜りました麻布大学
獣医学部 外科学第一研究室 若尾義人教授、藤井洋子助手、国立精神・神経
センター研究所 武田伸一先生、中村昭則先生、浦澤延幸先生、湯浅勝敏先
生、

和田倫子先生、東京農工大学 町田 登先生に深甚なる感謝の意を表します。

また、ご校閲にあたり、麻布大学獣医学部 獣医放射線学研究室 菅沼常德
教授、病態生化学・免疫学研究室 代田欣二教授に多大なるご指導・ご助言を
いただきましたことを心から感謝いたします。

さらに、本論文を作成するにあたり、多大なるご協力・ご援助いただきました
近江智代野氏、青木卓磨氏、鈴木和弘氏、河村佳代氏、福田恵利子氏、
北 秀樹氏、市川慎一氏ならびに国立精神・神経センター研究所の諸氏に
感謝いたします。

- 1 Bonagua JD, O`Grady MR, Herring DS. Echocardiography of interpretation. *Vet Clin North Am.* 1985; 15: 1177
- 2 Cooper BJ, Winand NJ, Syedman H, Valentine BA, Hoffman EP, Kunkel LM, Scott MO, Fischbeck KH, Kornegay JN, Avery RJ, Williams JR, Schmickel RD, Sylvester JE: The homologue of the Duchenne locus is defective in X-linked muscular dystrophy of dogs. *Nature* 1988;154-156.
- 3 Cox Gf, Kunkel LM. 1997. Dystropies and heart disease. *Curr Opin Cardiol.* 12: 329-343.
- 4 Cullen MJ, Mastaglia L.. Morphological change in dystrophic muscle *Br Med Bul.* 1980; 36: 145-22.
- 5 de los Angeles Avularia M, Kleinsteuber K, Herrera L, Carvallop.. Delayed diagnosis of Duchenne muscular dystrophy in Chile. *Rev Med Chil.* 1999.127(1): 65-70
- 6 de Lahuuta A Veterinary Neuroanatomy and clinical Neurology. 1983. 2nd ed. Philadelphia: W.E. Saunders, pp84-88.
- 7 G. Diane Shelton , Eva Engvell: Muscular dystrophies: expanding or knowledge in companion animals. *The Veterinary Journal* 2004,168:6-8.
- 8 G. Diane Shelton , Eva Engvell: Canine and feline models of human inherited muscle disease: *Neuromuscular Disorders* 2005,15:127-138.
- 9 Eagle M, Baudouin SV, Chandler C, Giddings DR, Bullock R, Bushby K. Survival in Duchenne muscular dystrophy: improvements in life expectancy since 1967 and the impact of home nocturnal ventilation. *Neuromuscul Disord.* 2002;12 926-929
- 10 Ervasti JM, Ohlendieck K, Kehl SD, Gaver MG, Campbell KP. Deficiency of a glycoprotein component of the dystrophin complex in dystrophic muscle. *Nature.* 1990; 345: 315-319
- 11 Frankel KA, Rosser RJ. The pathology of the heart in progressive muscular dystrophy: epimyocardial fibrosis. *Hum Pathol.* 1976; 7: 375-386
- 12 藤田 尚男, 藤田 恒夫 共著 標準組織学; 医学書院. 1981-1984:206-239
- 13 Giovanni Corrado, MD, Alberto Lissoni, MD, Sandro Beretta, MD. Prognostic Value of Electrocardiograms, Ventricular late potentials, ventricular arrhythmias and left ventricular systolic dysfunction in patients with Duchenne muscular dystrophy. *Am.J.Cardiol.* 2002; 89:838-841
- 14 Gilles Bosser, MD, Hugues Lucron, MD, Jean-Paul Lethor, MD, Guillaume Burger, MD: Evidence of early impairments in both right and left ventricular inotropic reserves in children with Duchenne's muscular dystrophy. *Am.J.Cardiol.* 2004; 93(6): March 15
- 15 Gilroy J, Cahalan JL, Berman R, Newman M. Cardiac and pulmonary complication in Duchenne's progressive muscular dystrophy: *Circulation.* 1963; 1: 484-93.
- 16 Heart Disease A Textbook of Cardiovascular Medicine Progressive X-linked(Duchenne) Dystrophy.
- 17 Herman M, Ulloa, DVM; Barry J, Houston, DVM; Arrhythmia prevalence during ambulatory electrocardiographic monitoring of Beagle. *Am J Vet Res, Vol 56, No. 3, March 1995.* 275-281.

- 18 Hideki Mori, M.D. Toshinori Utunomiya, M.D.
The Relationship between 24 Hour Total Heart Beats or Ventricular Arrhythmias and Cardiopulmonary function in patients with Duchenne's Muscular Dystrophy:
Jpn. Heart J. September 1990.
- 19 Honeyman K, Carville KS, Howell JM, Fletcher S, Wilton SD:
Development of a snapback method of single-strand conformation polymorphism analysis for genotyping Golden Retrievers for the X-linked muscular dystrophy allele.
Am J Vet Res, 1999, 60:734-737.
- 20 石原 博仁: 筋ジストロフィーにおける心肺不全—病態と治療—
臨床神経. 2003; 43: 761-764.
- 21 Isikawa K.. Cardiac involvement in progressive muscular dystrophy of Duchenne type.
Jpn Heart J 38(2): 163-180.
- 22 John E. Burnes, PhD, Bruno Taccardi, MD, Yoram Rudy, PhD
A Noninvasive imaging modality for cardiac Arrhythmias..
Circulation. 2000; 102: 2152
- 23 川村 潤.
Duchenne型筋ジストロフィーの保因者診断. 神経内科, 1994 40: 137-145
- 24 Kathryn M. Meurs, DVM, PhD, DACVIM, Alan W. Spier, DVM, Wright BS, Robert L. Hamlin, DVM, PhD, DACVIM
Use of ambulatory electrocardiography for detection of ventricular premature complexes in healthy dogs.
JAVMA. 2001 Vol 218, NO. 8, April 15, 1291-1293.
- 25 筋ジストロフィー研究連絡協議会: 筋ジストロフィーはここまでわかったPART2
- 26 Koenig M, Hoffman EP, Bertelson CJ, Monaco AP, Feener C, Kunkel LM.
Complete cloning of the Duchenne muscular dystrophy (DMD) cDNA and primary genomic organization of the DMD gene in normal and affected individuals.
Cell. 1987; 50: 509-517.
- 27 Lior Gepsyein, MD, Gal Hayam, BSc, Shlomo A, Ben-Haim, MD, DSc.
A Novel method for nonfluoroscopic catheter-based electroanatomical mapping of the heart
In vitro and in vivo accuracy results. Circulation 1997; 95(6): 1611-1622.
- 28 Mark D. Kittleson, Richard D. Kienle
小動物の心臓病学—基礎と臨床—2003
- 29 Marino DJ, Matthiesen DT, Fox PR, et al.
Ventricular arrhythmias in dogs undergoing splenectomy: a prospective study.
Vet Surg 1994; 23:101-106.
- 30 Toshiyuki Mastunaga, MS, Takuma Harada, DVM, PhD, Takeshi Mitsui, MS, Yasunori Shibutani, PhD, et al
Spectral analysis of circadian rhythms in heart rate variability of dogs AJVR. 2001; 62(1): 37-42
- 31 Meurs KM, Spier AW, Wright NA, Nicola A, Wright BS, Hamlin RL..
Use of ambulatory electrocardiography for detection of ventricular premature complexes in healthy dogs. JAVMA..2001; 218(8): 1291-1292.
- 32 宮川 雅仁, 津谷 恒夫, 五味 慎太郎.
Duchenne型筋ジストロフィーに合併した難治性心不全。
医療 1989; 43: 352-356
- 33 Moise NS, Valentine BA, Brown CA, Erb HN, Beck KA, Cooper BJ, Gilmour RF.
Duchenne's Cardiomyopathy in a canine model: electrocardiographic and echocardiographic studies.
J Am Coll Cardiol. 1991; 17: 812-820
- 34 Moore KL:
The developing human, Philadelphia, 1982, WB Saunders.

- 35 Moser H.
Duchenne muscular dystrophy: pathogenetic aspects and genetic prevention.
Hum Genet. 1984; 66: 17-40.
- 36 Mukoyama M, Kondo K, Hizawa K, Nishitani H.
Life span of Duchenne muscular dystrophy patients in the hospital care program in Japan.
J Neurol Sci. 1987; 87: 155-158
- 37 Nagai T: Prognosis evaluation of congestive heart failure in patients with Duchenne muscular dystrophy.
Am Heart J. 1978; 95: 283.
- 38 小野隆久・紺谷学・竹内徳彦・寺内幸夫・吉田仁夫
ビーグル種子犬の心電図 特に生後90日までの波形の変化について
Adv. Anim. Cardiol. 1985; No. 18: 43-49.
- 39 Perloff, J.K Roberts, W.C. de Leon AC Jr, O'Doherty D.
The distinctive electrocardiogram of Duchenne's progressive muscular dystrophy:
An electrocardiographic-pathologic correlative study. *Am. J. Med.* 1967; 42: 179-188.
- 40 Perloff JK, de Leon AC Jr, and O'Doherty D. The cardiomyopathy of progressive muscular dystrophy
Circulation. 1966; 33: 625-648.
- 41 Perloff JK, Moise NS, Stevenson WG, Gilmour RF.
Cardiac electrophysiology in Duchenne muscular dystrophy: From basic science to clinical expression
J Cardiovasc Electrophysiol. 1992; 3: 394-409.
- 42 Perloff JK: Cardiac rhythm and conduction in Duchenne's muscular dystrophy:
a prospective study of 20 patients. *J Am Coll Cardiol* 1984; 3: 1263-1268.
- 43 Quinlan JG, Hahn HS, Wong BL, et al.
Evolution of the mdx mouse cardiomyopathy. Physiological and morphological findings.
Neuromuscul Disord. 2004; 14: 491-496
- 44 Sanyal SK, Johnson WW, Thapar MK, Pitner SE.
An ultrastructural basis for electrocardiographic alterations associated with Duchenne's
progressive muscular dystrophy. *Circulation.* 1978; 57: 1122-1129.
- 45 Sasaki K, Sakata K, Kachi E, Hirata S.
Sequential changes in cardiac structure and function in patients with Duchenne type
muscular dystrophy. *Am Heart J* 1982; 66: 853-863.
- 46 Sanyal SK, Johnson WW.
Cardiac conduction abnormalities in children with Duchenne's progressive muscular dystrophy:
electrocardiographic features and morphologic correlates.
Circulation. 1982; 66: 853-863.
- 47 Shimatsu Y, Katagiri K, Furuta T, Nakura M, Tanioka Y, Yuasa K, Tomohiro M, Kornegay JN,
Nonaka I, Takeda S. Canine X-linked muscular dystrophy in Japan (CXMD_J). *Exp Anim.* 2003; 52: 93-97
- 48 Serge Sicouri, M.D., Jeffrey Fish, B.S., Charles Antzelevitch, Ph.D.
Distribution of M Cell in the Canine Ventricle.
J Cardiovasc Electrophysiol. 1994; 5: 824-837
- 49 Schober K, Kirbach B, Oechtering G.
Noninvasive assessment of myocardial cell injury in dogs with suspected cardiac contusion.
Eur J Vet Cardiol 2000; 1: 17-25.
- 50 Tilley L. Basic canine and feline electrocardiography. *Can Vet J* 1981; 22: 23-25.
- 51 Tilley LP. Essentials of canine and feline electrocardiography
Essentials of canine and feline electrocardiography, ed 3 Philadelphia, 1992.
- 52 Valentine BA, Cooper BJ, de Lahunta A, O'Quinn R, Blue JT.
Canine X-linked muscular dystrophy. An animal model of Duchenne muscular dystrophy:
Clinical studies. *J Neurol Sci.* 1988; 88: 69-81

- 53 Valentine BA, Winand NJ, Pradhan D, Moise NS, deLahunta A, Kornegay JN, Cooper BJ
Canine X-linked muscular dystrophy as an animal model of Duchenne muscular dystrophy:
a review. *Am J Med Genet.* 1992; 42: 352-356
- 54 Valentine BA, Cummings JF, Cooper BJ.
Development of Duchenne-type cardiomyopathy. Morphologic studies in a canine model.
Am J Pathol. 1989; 671-678.
- 55 Valerie Chetboul, Catherine Escriou, Dominique Tessier, Vincent Richard,
Jean-Louis Pouchelon, Helene Thibault, Françoise Lallemand, Christian Thuillez, Stephane Blot
Tissue Doppler imaging defects early asymptomatic myocardial abnormality in a dog model of
Duchenne's cardiomyopathy. *Europ Heart J.* 2004; 25: 1934-1939
- 56 Valerie Chetboul, DVM, PhD, Carolina Carlos, DVM, Stephane Blot, DVM, PhD,
Jean Laurent Thibaud, DVM, Catherine Escriou, DVM, PhD, Renaud Tissier, DVM, PhD et al
issue Doppler assessment of diastolic and systolic alterations of radial and longitudinal left ventricular motion
in Golden Retrievers during the preclinical phase of cardiomyopathy associated with muscular dystrophy.
AJVR 2004; 65: 1335-1341
- 57 Victor Chu, MS, Jose M, Otero MS, Orlando Lopez, MS, Matthew F, Sullivan BS, James P, Morgan, M
Ivo Amende, MD, Thomas G, Hampton, PhD.
Electrocardiographic findings in mdx MICE: A cardiac phenotype of Duchenne muscular dystrophy
Muscle & Nerve, 2002; 26: 513-519.
- 58 Yotsukura, M, Sasaki, K, Kachi, E., Sasaki, A, Ishihara, T, and Ishikawa, K.
Circadian Rhythm and Variability of Heart rate in Duchenne-type Progressive muscular dystrophy
Am J Cardiol 1995; 76(1): 947-951.

Table 1 供試犬

	対照犬		保因犬		CXMD _J			
	NO.1	NO.2	NO.3	NO.4	NO.5	NO.6	NO.7	NO.8
5m	10.8	10.4	8.7	9.0	11.2	7.1	8.1	8.8
7m	12.7	12.0	9.6	10.1	12.0	8.2	8.6	10.6
10m	14.1	13.1	10.3	10.1	10.7	8.6	10.9	10.8
13m	13.2	13.0	10.4	10.2	12.5	9.3	12.2	10.5

(kg)

Table 2 各月齢における心電図所見
P波の推移

I			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.05	0.07	0.06
7m	0.08	0.07	0.06
10m	0.11	0.08	0.10
13m	0.08	0.09	0.08

(mV)

aVR			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.11	0.09	0.11
7m	0.13	0.13	0.15
10m	0.16	0.12	0.12
13m	0.14	0.14	0.15

(mV)

V10			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.04	0.13	0.05
7m	0.10	0.08	0.08
10m	0.08	0.00	0.00
13m	0.15	0.06	0.10

(mV)

CV5RL			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.09	0.05	0.11
7m	0.10	0.00	0.10
10m	0.12	0.11	0.00
13m	0.09	0.16	0.09

(mV)

II			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.15	0.14	0.18
7m	0.19	0.20	0.26
10m	0.19	0.16	0.25
13m	0.23	0.24	0.26

(mV)

aVL			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.05	0.15	0.09
7m	0.06	0.08	0.11
10m	0.09	0.06	0.07
13m	0.08	0.07	0.08

(mV)

CV6LU			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.21	0.22	0.20
7m	0.20	0.20	0.19
10m	0.14	0.18	0.13
13m	0.17	0.19	0.22

(mV)

III			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.11	0.16	0.17
7m	0.14	0.15	0.23
10m	0.16	0.13	0.22
13m	0.17	0.18	0.24

(mV)

aVF			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.14	0.17	0.14
7m	0.17	0.18	0.23
10m	0.22	0.17	0.19
13m	0.20	0.21	0.25

(mV)

CV6LL			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.14	0.17	0.13
7m	0.23	0.29	0.20
10m	0.21	0.21	0.16
13m	0.16	0.22	0.14

(mV)

Table 3 各月齢における心電図所見
Q波の推移

I			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.25	0.22	0.54
7m	0.15	0.49	0.47
10m	0.17	0.56	0.22
13m	0.21	0.44	0.57

(-mV)

aVR			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.00	0.00	0.45
7m	0.00	0.00	0.00
10m	0.00	0.92	0.00
13m	0.00	0.00	0.00

(-mV)

V10			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.74	0.79	1.22
7m	0.00	0.00	0.00
10m	0.00	0.00	0.00
13m	0.75	0.99	1.15

(-mV)

CV5RL			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.09	0.05	0.11
7m	0.10	0.00	0.10
10m	0.12	0.11	0.00
13m	0.09	0.16	0.09

(-mV)

II			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.45	0.30	1.07 *
7m	0.45	0.73	1.01 *
10m	0.35	0.57	0.82 *
13m	0.43	0.74	1.19 *

(-mV)

aVL			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.40	0.28	0.46
7m	0.00	0.31	0.00
10m	0.00	0.44	0.00
13m	0.00	0.47	0.00

(-mV)

CV6LU			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.17	0.18	0.23
7m	0.13	0.11	0.20
10m	0.00	0.14	0.00
13m	0.16	0.30	0.30

(-mV)

III			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.29	0.09	0.61 *
7m	0.34	0.30	0.72 *
10m	0.24	0.32	0.63 *
13m	0.36	0.36	0.72 *

(-mV)

aVF			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.32	0.28	0.83 *
7m	0.40	0.47	0.83 *
10m	0.27	0.44	0.79 *
13m	0.38	0.54	0.92 *

(-mV)

CV6LL			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.13	0.15	0.25
7m	0.23	0.27	0.43
10m	0.23	0.27	0.16
13m	0.14	0.38	0.38

(-mV)

*: $P < 0.01$ 対照犬と CXMD_J の有意差検定

Table 4 各月齢における心電図所見
R波の推移

I			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.35	0.36	0.46
7m	0.42	0.81	0.59
10m	0.68	0.62	0.70
13m	0.49	0.79	0.86

(mV)

aVR			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.30	0.15	0.89
7m	1.36	1.09	1.09
10m	1.37	0.98	1.18
13m	0.26	0.57	0.86

(mV)

V10			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.36	0.40	0.51
7m	1.38	1.66	1.82
10m	1.25	1.92	1.60
13m	0.60	0.90	0.84

(mV)

CV5RL			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	1.69	2.11	1.76
7m	0.53	0.64	0.71
10m	0.67	0.57	0.67
13m	1.44	2.10	1.70

(mV)

II			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	1.61	1.37	1.32
7m	1.78	1.84	1.51
10m	1.91	1.63	1.59
13m	1.86	2.14	2.27

(mV)

aVL			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.06	0.23	0.18*
7m	0.08	0.14	0.22*
10m	0.08	0.10	0.24*
13m	0.17	0.21	0.20

(mV)

CV6LU			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	2.38	2.02	2.76
7m	2.75	2.78	2.87
10m	1.99	2.60	2.21
13m	2.02	2.47	4.25

(mV)

III			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	1.30	1.24	0.89
7m	1.36	1.09	1.09
10m	1.37	0.98	1.18
13m	1.51	1.37	1.58

(mV)

aVF			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	1.38	1.23	1.15
7m	1.51	1.48	1.22
10m	1.62	1.27	1.41
13m	1.67	1.75	1.93

(mV)

CV6LL			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	2.66	2.99	2.62
7m	1.89	2.55	1.73
10m	2.22	2.72	2.09
13m	1.67	2.35	2.59

(mV)

* : $P < 0.01$ 対照犬と CXMD_J の有意差検定

Table 5 各月齢における心電図所見
S波の推移

I			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.04	0.40	0.00
7m	0.00	0.00	0.00
10m	0.04	0.00	0.11
13m	0.16	0.00	0.00

(-mV)

aVR			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.99	0.75	0.91
7m	1.09	1.32	0.97
10m	1.18	1.31	1.13
13m	1.12	1.44	1.51

(-mV)

V10			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.04	0.00	0.00
7m	1.65	0.00	1.75
10m	1.25	1.91	1.60
13m	0.00	1.92	0.00

(-mV)

CV5RL			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	1.15	1.96	1.19
7m	0.00	0.00	0.00
10m	0.00	0.00	0.00
13m	1.51	1.52	1.78

(-mV)

II			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.07	0.00	0.00
7m	0.07	0.06	0.06
10m	0.00	0.04	0.20
13m	0.13	0.18	0.09

(-mV)

aVL			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.52	0.93	0.31
7m	0.45	0.50	0.45
10m	0.50	0.20	0.43
13m	0.59	0.37	0.56

(-mV)

CV6LU			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.51	0.28	0.29
7m	1.17	1.90	0.77
10m	1.23	1.79	1.29
13m	0.57	0.54	0.73

(-mV)

III			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.03	0.15	0.81
7m	0.06	0.05	0.12
10m	0.03	0.19	0.18
13m	0.00	0.14	0.19

(-mV)

aVF			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.55	0.12	0.00
7m	0.04	0.05	0.12
10m	0.03	0.22	0.13
13m	0.00	0.11	0.00

(-mV)

CV6LL			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	1.21	1.67	1.12
7m	0.45	0.49	0.10
10m	0.77	0.89	0.30
13m	0.87	0.92	1.53

(-mV)

* : $P < 0.01$ 対照犬と CXMD_J
の有意差検定

Table 6 各月齢における心電図所見
Q/R比の推移

I			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.71	0.36	1.24
7m	0.35	0.65	0.86
10m	0.38	0.61	0.39
13m	0.46	0.56	0.63

II			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.29	0.23	0.79*
7m	0.25	0.40	0.74*
10m	0.23	0.33	0.51*
13m	0.23	0.35	0.53*

III			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.23	0.19	0.69*
7m	0.25	0.28	0.69*
10m	0.23	0.39	0.54*
13m	0.23	0.28	0.47*

aVR			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.00	0.00	0.00
7m	0.00	0.00	0.00
10m	0.00	0.00	0.00
13m	0.00	0.00	0.00

aVL			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.00	0.00	0.00
7m	0.00	1.53	0.00
10m	0.00	0.00	0.00
13m	0.00	1.82	0.00

aVF			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.24	0.23	0.72*
7m	0.27	0.32	0.67*
10m	0.15	0.37	0.56*
13m	0.23	0.32	0.48*

V10			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	2.32	1.98	2.84
7m	0.00	0.00	0.00
10m	0.00	0.00	0.00
13m	2.22	1.12	1.69

CV6LU			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.07	0.09	0.00
7m	0.04	0.00	0.00
10m	0.00	0.00	0.00
13m	0.07	0.12	0.00

CV6LL			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.05	0.04	0.11
7m	0.12	0.11	0.26
10m	0.10	0.11	0.06
13m	0.08	0.16	0.12

CV5RL			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.00	0.00	1.61
7m	0.14	1.42	1.73
10m	0.97	1.45	2.12
13m	0.00	0.00	0.00

* : $P < 0.01$ 対照犬と CXMD_J
の有意差検定

Table 7 各月齡における心電図所見
P時間

月齡	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.03	0.04	0.03
7m	0.03	0.03	0.03
10m	0.03	0.04	0.04
13m	0.04	0.04	0.04

(秒)

Table 8 各月齡における心電図所見
PR間隔

月齡	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.09	0.10	0.08
7m	0.09	0.08	0.08
10m	0.09	0.09	0.09
13m	0.09	0.09	0.09

(秒)

Table 9 各月齡における心電図所見
QRS時間

月齡	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	0.03	0.04	0.03
7m	0.04	0.04	0.03
10m	0.04	0.05	0.04
13m	0.04	0.04	0.04

(秒)

Table 10 各月齢における心エコー検査所見
(LVEdD、LVEsD、IVsD、LVPwD、FSの推移)

LVEdD (mm)			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	31.10	32.55	30.33
7m	35.40	33.20	31.40
10m	33.97	37.40	32.70
13m	31.10	33.00	37.30
mean	31.15	31.85	31.13
SD	4.49	5.83	5.48

LVEsD (mm)			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	15.63	18.15	16.27
7m	18.67	19.45	19.37
10m	19.10	20.60	20.60
13m	17.43	17.45	22.07
mean	17.03	18.46	18.55
SD	2.49	2.04	4.78

IVsD (mm)			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	6.47	8.20	5.50
7m	6.90	6.95	8.23
10m	6.77	7.15	6.33
13m	8.27	7.65	8.10
mean	6.65	7.01	6.90
SD	1.63	1.45	2.06

LVPwD (mm)			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	6.57	8.45	6.30
7m	6.33	8.70	6.40
10m	5.97	5.85	7.54
13m	8.43	6.10	7.60
mean	6.83	7.28	6.96
SD	1.09	1.54	1.37

FS (%)			
月齢	対照犬	保因犬	CXMD _J
5m	50.00	44.00	46.67
7m	47.33	41.50	38.67
10m	43.90	44.50	37.67
13m	43.67	47.00	41.50
mean	45.09	40.97	40.88
SD	5.09	8.03	7.66

Table 11 供試犬
(経時的観察実施)

	対照犬		保因犬		CXMD _J	
	NO.9	NO.10	NO.11	NO.12	NO.11	NO.12
月齡	21	21	21	21	21	21
体重(kg)	14.5	14.0	12.5	13.5	12.5	13.5

月齡および体重は最終検査実施時を記載

Table 12 供試犬
(心拍変動解析実施)

	対照犬		保因犬		CXMD _J	
	NO.13	NO.14	NO.15	NO.16	NO.17	NO.17
月齢	5	5	17	11	26	
体重(kg)	7.7	8.7	14.7	12	12.8	

月齢および体重は最終検査実施時を記載

Table 13 各月齢におけるCXMD_Jの臨床症状の推移

月齢	供試犬	舌下筋腫大	流涎	巨舌	嚙下障害	側頭筋萎縮	歩様異常	異常発声	指の開扇
3	NO.11	+	++++	++	+	++++	+++	++	-
	NO.12	+++	++	++	-	++++	+++	-	-
	NO.16	+++	-	-	-	+++	-	-	+++
4	NO.11	+++	++++	+++	+++	++++	+++	+++	+++
	NO.12	+++	++	+++	-	++++	+++	-	-
	NO.16	+++	++	++	-	++++	+++	++	+++
5	NO.11	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+++	+++
	NO.12	+++	+++	+++	++	++++	+++	-	+++
	NO.16	+++	++	++	++	++++	+++	++	+++
6	NO.11	+++	++++	+++	+++	++++	+++	+++	+++
	NO.12	+++	+++	+++	+	++++	+++	+	+++
	NO.16	+++	++	++	++	++++	+++	+++	+++

表の+印は重症度を示す

Table 14 各週齢における心電図所見
II 誘導におけるQ波の推移

週齢(w)	No.9		No.10		No.11		No.12	
	対照犬	保因犬	CXMD _J		CXMD _J		CXMD _J	
3w	0.58	0.19	0.36	0.59	0.36	0.59	0.36	0.59
4w	0.52	0.22	0.39	0.28	0.39	0.28	0.39	0.28
5w	0.48	0.44	0.46	0.51	0.46	0.51	0.46	0.51
6w	0.57	0.37	0.82	0.45	0.82	0.45	0.82	0.45
7w	0.70	0.49	1.40	0.58	1.40	0.58	1.40	0.58
8w	0.77	0.50	1.49	0.54	1.49	0.54	1.49	0.54
9w	0.51	0.34	1.0	0.62	1.0	0.62	1.0	0.62
10w	0.55	0.39	0.90	0.63	0.90	0.63	0.90	0.63
11w	0.59	0.30	1.39	0.53	1.39	0.53	1.39	0.53
12w	0.52	0.23	1.24	0.63	1.24	0.63	1.24	0.63
13w	0.40	0.28	0.97	0.78	0.97	0.78	0.97	0.78
14w	0.36	0.23	0.85	0.34	0.85	0.34	0.85	0.34
15w	0.46	0.34	1.05	0.51	1.05	0.51	1.05	0.51
16w	0.57	0.22	0.74	0.56	0.74	0.56	0.74	0.56
17w	0.62	0.28	0.60	0.62	0.60	0.62	0.60	0.62
18w	0.49	0.33	0.74	0.60	0.74	0.60	0.74	0.60
19w	0.48	0.26	1.13	0.80	1.13	0.80	1.13	0.80
20w	0.56	0.25	0.69	0.78	0.69	0.78	0.69	0.78
21w	0.52	0.33	0.85	0.88	0.85	0.88	0.85	0.88

(-mV)

Table 15 各週齢における心電図所見
Ⅲ誘導におけるQ波の推移

週齢(w)	No.9	No.10	No.11	No.12
	対照犬	保因犬	CXMD _J	
3w	0.54	0.14	0.36	0.28
4w	0.36	0.21	0.31	0.37
5w	0.43	0.27	0.43	0.39
6w	0.47	0.31	0.71	0.39
7w	0.65	0.34	0.91	0.50
8w	0.52	0.26	0.66	0.41
9w	0.46	0.25	0.79	0.35
10w	0.45	0.25	0.48	0.37
11w	0.56	0.19	1.01	0.34
12w	0.31	0.16	0.57	0.24
13w	0.46	0.18	0.81	0.49
14w	0.34	0.17	0.40	0.26
15w	0.41	0.20	0.48	0.27
16w	0.41	0.19	0.51	0.34
17w	0.49	0.15	0.50	0.33
18w	0.48	0.2	0.38	0.24
19w	0.42	0.18	0.60	0.29
20w	0.40	0.22	0.56	0.60
21w	0.43	0.28	0.59	0.43

(-mV)

Table 16 各週齢における心電図所見
aVFにおけるQ波の推移

週齢(w)	対照犬		保因犬		CXMD _J	
	No.9	No.10	No.11	No.12	No.11	No.12
3w	0.53	0.17	0.39	0.38		
4w	0.46	0.22	0.35	0.31		
5w	0.45	0.32	0.46	0.45		
6w	0.51	0.34	0.74			
7w	0.82	0.42	1.19	0.56		
8w	0.72	0.35	1.10	0.48		
9w	0.48	0.30	0.86	0.42		
10w	0.48	0.32	0.62	0.48		
11w	0.57	0.22	1.16	0.43		
12w	0.64	0.19	0.93	0.37		
13w	0.45	0.24	0.90	0.67		
14w	0.37	0.11	0.62	0.24		
15w	0.45	0.29	0.78	0.37		
16w	0.48	0.20	0.62	0.41		
17w	0.56	0.16	0.54	0.39		
18w	0.55	0.27	0.57	0.34		
19w	0.43	0.22	0.86	0.52		
20w	0.45	0.22	0.63	0.70		
21w	0.47	0.31	0.74	0.63		

(-mV)

Table 17 各月齡における心電図所見
II 誘導におけるQ波の推移

月齡(m)	対照犬		保因犬		CXMD _J	
	No.9	No.10	No.11	No.12	No.11	No.12
1m	0.52	0.22	0.39	0.28		
2m	0.51	0.34	1.01	0.62		
3m	0.40	0.28	0.97	0.78		
4m	0.62	0.17	0.59	0.62		
5m	0.56	0.15	0.81	0.95		
6m	0.49	0.2	0.98	0.58		
7m	0.45	0.29	1.11	0.75		
8m	0.42	0.34	0.55	0.61		
9m	0.36	0.31	0.47	0.58		
10m	0.32	0.31	0.60	0.64		
11m	0.45	0.32	0.72	0.80		
12m	0.50	0.26	0.61	0.56		
13m	0.39	0.26	0.69	0.69		
14m	0.52	0.15	0.62	0.64		
15m	0.46	0.29	0.74	0.62		
16m	0.31	0.33	0.65	0.69		
17m	0.50	0.24	0.65	0.69		
18m	0.44	0.29	0.63	0.78		
19m	0.39	0.31	0.65	0.65		
20m	0.54	0.32	0.69	0.68		
21m	0.36	0.33	0.77	0.84		

(-mV)

Table 18 各月齢における心電図所見
Ⅲ誘導におけるQ波の推移

月齢(m)	対照犬		保因犬		CXMD _J	
	No.9	No.10	No.11	No.12		
1m	0.36	0.21	0.31	0.37		
2m	0.46	0.25	0.79	0.35		
3m	0.46	0.18	0.81	0.49		
4m	0.49	0.15	0.50	0.33		
5m	0.47	0.11	0.31	0.34		
6m	0.43	0.17	0.56	0.37		
7m	0.39	0.25	0.81	0.55		
8m	0.39	0.24	0.50	0.48		
9m	0.35	0.26	0.69	0.58		
10m	0.30	0.21	0.62	0.74		
11m	0.33	0.23	0.60	0.52		
12m	0.43	0.21	0.52	0.54		
13m	0.45	0.21	0.49	0.57		
14m	0.32	0.19	0.64	0.56		
15m	0.34	0.22	0.56	0.65		
16m	0.39	0.26	0.57	0.69		
17m	0.40	0.20	0.58	0.58		
18m	0.42	0.20	0.53	0.68		
19m	0.35	0.26	0.52	0.57		
20m	0.43	0.25	0.62	0.61		
21m	0.31	0.25	0.69	0.61		

(-mV)

Table 19 各月齡における心電図所見
aVFにおけるQ波の推移

月齡(m)	対照犬		保因犬		CXMD _J	
	No.9	No.10	No.11	No.12	No.11	No.12
1m	0.46	0.22	0.35	0.31		
2m	0.48	0.30	0.86	0.42		
3m	0.45	0.24	0.89	0.67		
4m	0.56	0.16	0.54	0.39		
5m	0.56	0.12	0.77	0.34		
6m	0.47	0.19	0.76	0.42		
7m	0.42	0.29	0.95	0.70		
8m	0.39	0.29	0.52	0.53		
9m	0.33	0.20	0.68	0.50		
10m	0.33	0.25	0.68	0.83		
11m	0.23	0.20	0.59	0.53		
12m	0.42	0.24	0.54	0.49		
13m	0.46	0.23	0.49	0.58		
14m	0.33	0.21	0.74	0.59		
15m	0.34	0.22	0.58	0.65		
16m	0.34	0.30	0.58	0.68		
17m	0.41	0.22	0.65	0.64		
18m	0.43	0.25	0.58	0.73		
19m	0.37	0.29	0.59	0.61		
20m	0.48	0.29	0.65	0.62		
21m	0.32	0.29	0.73	0.71		

(-mV)

Table 20 各週齢における心電図所見
II誘導におけるR波の推移

週齢(w)	対照犬		保因犬		CXMD _J	
	No.9	No.10	No.11	No.12		
3w	1.36	0.55	0.74	1.11		
4w	1.74	0.71	0.69	1.05		
5w	2.15	0.86	1.22	1.32		
6w	2.35	0.66	1.23	1.31		
7w	2.52	0.89	1.43	1.64		
8w	2.25	1.06	1.67	1.67		
9w	2.50	0.71	1.38	1.67		
10w	2.29	0.89	1.29	1.31		
11w	2.35	1.08	1.63	1.46		
12w	2.67	1.27	1.78	1.25		
13w	2.30	1.21	1.42	1.46		
14w	2.35	1.19	1.35	1.47		
15w	2.05	0.76	1.34	1.40		
16w	2.17	0.97	1.33	1.23		
17w	2.33	1.15	1.44	1.43		
18w	2.25	1.08	1.40	1.30		
19w	2.43	1.39	1.60	1.26		
20w	2.31	1.44	1.20	1.22		
21w	2.58	1.35	1.07	1.24		

(mV)

Table 21 各週齢における心電図所見
III誘導におけるR波の推移

週齢(w)	対照犬		保因犬		CXMD _J	
	No.9	No.10	No.10	No.11	No.11	No.12
3w	1.10	0.56	0.56	0.72	0.72	0.85
4w	0.77	0.57	0.57	0.78	0.78	1.18
5w	1.76	0.29	0.29	0.96	0.96	1.14
6w	1.72	0.29	0.29	0.99	0.99	0.98
7w	1.56	0.44	0.44	0.84	0.84	1.26
8w	1.39	0.62	0.62	0.88	0.88	1.65
9w	1.90	0.74	0.74	1.01	1.01	1.39
10w	1.69	0.70	0.70	0.98	0.98	0.96
11w	1.75	0.71	0.71	1.06	1.06	1.01
12w	2.20	1.23	1.23	1.07	1.07	0.99
13w	1.96	0.99	0.99	1.12	1.12	0.70
14w	2.04	0.95	0.95	1.03	1.03	1.06
15w	1.65	0.41	0.41	0.97	0.97	0.98
16w	1.91	0.99	0.99	0.99	0.99	0.77
17w	1.78	1.38	1.38	1.06	1.06	1.12
18w	1.60	0.59	0.59	0.88	0.88	0.81
19w	2.12	1.00	1.00	1.00	1.00	0.57
20w	2.07	1.30	1.30	0.87	0.87	0.61
21w	1.93	1.29	1.29	0.91	0.91	1.24

(mV)

Table 22 各週齢における心電図所見
aVFにおけるR波の推移

週齢(w)	対照犬		保因犬		CXMD _J	
	No.9	No.10	No.11	No.12		
3w	1.29	0.55	0.69	0.95		
4w	1.17	0.65	0.81	1.07		
5w	1.97	0.54	1.07	1.22		
6w	2.01	0.48	1.09			
7w	2.08	0.65	1.19	1.46		
8w	1.91	0.71	1.32	1.77		
9w	2.15	0.97	1.20	1.52		
10w	1.99	0.87	1.20	1.13		
11w	2.05	0.87	1.29	1.23		
12w	2.21	1.21	1.23	1.10		
13w	2.12	1.05	1.28	1.09		
14w	2.18	1.05	1.18	1.21		
15w	1.84	0.57	1.09	1.24		
16w	2.06	1.02	1.14	1.04		
17w	2.07	1.42	1.25	1.27		
18w	1.98	0.47	0.94	1.14		
19w	2.29	1.20	1.29	0.91		
20w	2.20	1.36	0.64	0.90		
21w	1.93	1.29	0.98	0.95		

(mV)

Table 23 各月齡における心電図所見
II 誘導におけるR波の推移

月齡(m)	対照犬		保因犬		CXMD _J	
	No.9	No.10	No.11	No.12		
1m	1.74	0.71	0.69	1.05		
2m	2.50	1.21	1.38	1.67		
3m	2.30	1.15	1.42	1.46		
4m	2.33	1.48	1.44	1.43		
5m	2.33	1.47	1.44	1.44		
6m	2.33	1.49	1.27	1.16		
7m	2.30	1.72	1.40	1.65		
8m	2.50	1.72	1.20	1.29		
9m	2.02		0.61	1.06		
10m	2.10	0.64	1.19	1.06		
11m	2.40	0.37	1.23	1.30		
12m	2.56	1.08	0.69	1.58		
13m	2.46	0.70	0.81	1.46		
14m	2.41	0.83	0.85	1.23		
15m	2.33	0.64	1.07	1.55		
16m	2.32	0.91	0.80	1.59		
17m	2.40	0.80	0.98	1.82		
18m	2.54	0.45	1.08	1.72		
19m	2.29	0.30	1.07	2.02		
20m	2.40	0.77	1.07	2.13		
21m	2.13	0.47	1.12	1.66		

(mV)

Table 24 各月齡における心電図所見
Ⅲ誘導におけるR波の推移

月齡(m)	対照犬		保因犬		CXMD _J	
	No.9	No.10	No.10	No.11	No.11	No.12
1m	0.77	0.57	0.78	0.78	1.18	1.18
2m	1.89	0.74	1.01	1.01	1.39	1.39
3m	1.97	0.99	1.12	1.12	0.70	0.70
4m	1.79	1.38	1.06	1.06	1.21	1.21
5m	2.0	1.42	1.12	1.12	1.43	1.43
6m	1.99	1.35	1.01	1.01	0.88	0.88
7m	2.05	1.51	0.95	0.95	1.35	1.35
8m	2.22	1.66	1.02	1.02	1.05	1.05
9m	2.04	1.77	1.07	1.07	0.95	0.95
10m	1.95	0.49	1.24	1.24	0.86	0.86
11m	2.16	0.98	0.78	0.78	1.02	1.02
12m	2.13	0.72	0.57	0.57	1.42	1.42
13m	2.25	0.8	0.82	0.82	1.34	1.34
14m	2.21	0.79	0.73	0.73	1.04	1.04
15m	2.27	1.09	0.64	0.64	1.59	1.59
16m	2.18	1.04	0.54	0.54	1.32	1.32
17m	2.20	0.89	0.75	0.75	1.75	1.75
18m	2.29	0.58	0.40	0.40	1.69	1.69
19m	2.04	0.48	0.68	0.68	1.97	1.97
20m	2.15	0.93	0.75	0.75	1.56	1.56
21m	1.92	0.67	0.75	0.75	1.47	1.47

(mV)

Table 25 各月齢における心電図所見
aVF誘導におけるR波の推移

月齢(m)	対照犬		保因犬		CXMD _J	
	No.9	No.10	No.11	No.12		
1m	1.17	0.65	0.81	1.07		
2m	2.15	0.97	1.20	1.52		
3m	2.12	1.50	1.28	1.09		
4m	2.07	1.42	1.25	1.27		
5m	2.00	1.42	1.28	1.43		
6m	2.15	1.41	1.15	1.00		
7m	2.21	1.55	1.15	1.45		
8m	2.37	1.66	1.11	1.18		
9m	2.11	1.66	1.10	1.08		
10m	2.16	0.37	1.00	1.04		
11m	2.04	0.97	0.88	1.23		
12m	2.11	0.62	0.70	1.40		
13m	2.34	0.44	0.74	1.37		
14m	2.25	0.77	0.99	1.13		
15m	2.34	0.99	0.69	1.38		
16m	2.24	0.95	0.68	1.44		
17m	2.29	0.84	0.96	1.75		
18m	2.42	0.51	0.73	1.69		
19m	2.17	0.39	0.88	1.99		
20m	2.28	0.85	0.91	1.64		
21m	2.03	0.57	0.93	1.47		

(mV)

Table 26 各週齢における心電図所見
II 誘導におけるQ/R比の推移

週齢(w)	対照犬			保因犬			CXMD _J	
	No.9	No.10	No.11	No.11	No.12	No.11	No.12	
3w	0.43	0.35	0.49	0.49	0.53			
4w	0.30	0.31	0.56	0.56	0.27			
5w	0.30	0.51	0.38	0.38	0.39			
6w	0.24	0.57	0.66	0.66	0.34			
7w	0.28	0.55	0.98	0.98	0.35			
8w	0.34	0.47	0.89	0.89	0.32			
9w	0.21	0.28	0.73	0.73	0.37			
10w	0.24	0.44	0.70	0.70	0.48			
11w	0.25	0.28	0.85	0.85	0.36			
12w	0.20	0.18	0.70	0.70	0.50			
13w	0.17	0.24	0.68	0.68	0.54			
14w	0.15	0.19	0.64	0.64	0.23			
15w	0.22	0.44	0.79	0.79	0.36			
16w	0.26	0.23	0.56	0.56	0.45			
17w	0.27	0.11	0.41	0.41	0.44			
18w	0.22	0.31	0.53	0.53	0.46			
19w	0.20	0.19	0.71	0.71	0.64			
20w	0.24	0.17	0.63	0.63	0.64			
21w	0.23	0.25	0.79	0.79	0.71			

Table 27 各週齢における心電図所見
Ⅲ誘導におけるQ/R比の推移

週齢(w)	対照犬		保因犬		GXMD _J	
	No.9	No.10	No.11	No.12		
3w	0.49	0.25	0.51	0.33		
4w	0.46	0.37	0.39	0.31		
5w	0.24	0.93	0.44	0.34		
6w	0.27	1.08	0.72	0.40		
7w	0.41	0.76	1.09	0.39		
8w	0.37	0.42	0.75	0.25		
9w	0.24	0.33	0.76	0.25		
10w	0.27	0.36	0.49	0.38		
11w	0.32	0.27	1.01	0.34		
12w	0.14	0.13	0.53	0.24		
13w	0.23	0.19	0.73	0.70		
14w	0.17	0.18	0.39	0.21		
15w	0.25	0.50	0.50	0.27		
16w	0.21	0.19	0.51	0.44		
17w	0.28	0.11	0.47	0.29		
18w	0.30	0.33	0.43	0.30		
19w	0.20	0.18	0.60	0.50		
20w	0.19	0.17	0.65	0.98		
21w	0.23	0.24	0.66	0.61		

Table 28 各週齢における心電図所見
aVF誘導におけるQ/R比の推移

週齢(w)	対照犬		保因犬		CXMD _J	
	No.9	No.10	No.11	No.12		
3w	0.41	0.31	0.57	0.40		
4w	0.40	0.33	0.43	0.29		
5w	0.23	0.59	0.43	0.37		
6w	0.26	0.71	0.21			
7w	0.39	0.65	1.0	0.38		
8w	0.38	0.49	0.83	0.27		
9w	0.22	0.30	0.73	0.28		
10w	0.24	0.36	0.52	0.42		
11w	0.28	0.25	0.90	0.35		
12w	0.29	0.16	0.76	0.34		
13w	0.21	0.23	0.70	0.62		
14w	0.17	0.20	0.52	0.20		
15w	0.24	0.51	0.72	0.30		
16w	0.23	0.20	0.55	0.39		
17w	0.27	0.11	0.43	0.31		
18w	0.28	0.57	0.60	0.30		
19w	0.19	0.18	0.67	0.57		
20w	0.21	0.16	0.99	0.78		
21w	0.23	0.24	0.75	0.66		

Table 29 各月齡における心電図所見
II誘導におけるQ/R比の推移

月齡(m)	対照犬		保因犬		CXMD _J	
	No.9	No.10	No.11	No.12		
1m	0.29	0.31	0.56	0.27		
2m	0.21	0.28	0.73	0.37		
3m	0.17	0.24	0.68	0.54		
4m	0.27	0.11	0.41	0.44		
5m	0.24	0.10	0.56	0.66		
6m	0.21	0.13	0.77	0.50		
7m	0.20	0.17	0.79	0.45		
8m	0.17	0.20	0.46	0.47		
9m	0.18		0.77	0.55		
10m	0.15	0.49	0.50	0.60		
11m	0.19	0.88	0.59	0.61		
12m	0.20	0.24	0.88	0.35		
13m	0.16	0.37	0.85	0.47		
14m	0.22	0.21	0.73	0.52		
15m	0.20	0.45	0.69	0.40		
16m	0.13	0.36	0.75	0.43		
17m	0.21	0.30	0.66	0.38		
18m	0.17	0.64	0.58	0.45		
19m	0.17	1.03	0.61	0.32		
20m	0.23	0.42	0.65	0.32		
21m	0.17	0.70	0.69	0.51		

Table 30 各月齡における心電図所見
Ⅲ誘導におけるQ/R比の推移

月齡(m)	対照犬		保因犬		CXMD _J	
	No.9	No.10	No.11	No.12		
1m	0.46	0.37	0.39	0.31		
2m	0.24	0.33	0.78	0.25		
3m	0.23	0.19	0.73	0.70		
4m	0.28	0.11	0.47	0.29		
5m	0.24	0.09	0.27	0.24		
6m	0.22	0.12	0.55	0.42		
7m	0.19	0.17	0.85	0.41		
8m	0.18	0.14	0.49	0.46		
9m	0.17	0.15	0.64	0.61		
10m	0.15	0.43	0.50	0.86		
11m	0.15	0.23	0.77	0.51		
12m	0.20	0.29	0.91	0.38		
13m	0.20	0.25	0.60	0.43		
14m	0.14	0.24	0.88	0.54		
15m	0.15	0.20	0.88	0.41		
16m	0.18	0.25	1.06	0.52		
17m	0.18	0.22	0.77	0.33		
18m	0.18	0.34	1.33	0.40		
19m	0.17	0.54	0.76	0.29		
20m	0.20	0.27	0.83	0.39		
21m	0.16	0.37	0.92	0.41		

Table 31 各月齢における心電図所見
aVF誘導におけるQ/R比の推移

月齢(m)	対照犬		保因犬		CXMD _J	
	No.9	No.10	No.11	No.12		
1m	0.39	0.33	0.43	0.29		
2m	0.22	0.30	0.73	0.28		
3m	0.21	0.23	0.70	0.62		
4m	0.27	0.11	0.43	0.66		
5m	0.39	0.09	0.44	0.24		
6m	0.22	0.13	0.66	0.42		
7m	0.19	0.19	0.83	0.48		
8m	0.17	0.17	0.47	0.45		
9m	0.16	0.12	0.62	0.46		
10m	0.15	0.68	0.68	0.80		
11m	0.11	0.21	0.67	0.43		
12m	0.20	0.39	0.77	0.35		
13m	0.20	0.52	0.66	0.42		
14m	0.15	0.27	0.75	0.52		
15m	0.12	0.22	0.84	0.47		
16m	0.15	0.32	0.85	0.47		
17m	0.18	0.26	0.68	0.37		
18m	0.18	0.49	0.79	0.43		
19m	0.17	0.74	0.67	0.31		
20m	0.21	0.34	0.71	0.38		
21m	0.16	0.51	0.78	0.48		

Table 32 各月齡における心電図所見
PR間隔

月齡(m)	対照犬		保因犬		CXMD _J	
	No.9	No.10	No.10	No.11	No.11	No.12
1m	0.07	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06
2m	0.07	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06
3m	0.07	0.06	0.06	0.07	0.06	0.06
4m	0.08	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07
5m	0.08	0.07	0.07	0.08	0.07	0.07
6m	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
7m	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
8m	0.08	0.08	0.08	0.09	0.08	0.08
9m	0.08	0.08	0.08	0.09	0.08	0.08
10m	0.08	0.08	0.08	0.09	0.08	0.08
11m	0.09	0.09	0.09	0.09	0.08	0.08
12m	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
13m	0.09	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
14m	0.09	0.09	0.09	0.08	0.07	0.07
15m	0.09	0.09	0.09	0.08	0.08	0.08
16m						
17m	0.09			0.10	0.08	
18m	0.09	0.09	0.09	0.09	0.08	0.08
19m	0.09	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
20m	0.09	0.09	0.09	0.08	0.08	0.08
21m	0.09	0.09	0.09	0.09	0.07	0.07

(秒)

Table 33 各月齡における心電図所見
QRS時間

月齡(m)	対照犬		保因犬		CXMD _J	
	No.9	No.10	No.11	No.12		
1m	0.036	0.044	0.037	0.035		
2m	0.033	0.044	0.034	0.034		
3m	0.032	0.038	0.035	0.036		
4m	0.034	0.037	0.038	0.037		
5m	0.036	0.039	0.038	0.041		
6m	0.036	0.04	0.038	0.038		
7m	0.038	0.04	0.039	0.038		
8m	0.038	0.039	0.038	0.04		
9m	0.043	0.042	0.041	0.042		
10m	0.04	0.043	0.042	0.044		
11m	0.039	0.044	0.042	0.042		
12m	0.038	0.044	0.038	0.041		
13m	0.043	0.046	0.042	0.046		
14m	0.045	0.042	0.043	0.044		
15m	0.044	0.045	0.044	0.047		
16m	0.044	0.046	0.044	0.045		
17m	0.038	0.044	0.038	0.044		
18m	0.038	0.041	0.038	0.045		
19m	0.039	0.043	0.039	0.046		
20m	0.038	0.042	0.038	0.047		
21m	0.036	0.043	0.036	0.044		

(秒)

Table 34 各月齢における心エコー所見
LVEdDおよびLVEsDの変化

LVEdD							
月齢	症例NO	対照犬		保因犬		CXMD _J	
		NO.9	NO.10	NO.10	NO.11	NO.11	NO.12
1m		21.4	22.1		18.6	19.1	
2m					26.5	24.5	
3m		27.8	25.8		24.1	25.6	
4m					26.7	27.4	
5m					26.3	26.5	
6m		31.2	33.5		30.4	28.9	
7m							
8m		37.7	37.2		30.4	28.9	
9m		34.4	34.6		30.9	36.4	
10m		35.5	32.2		34.8	33.0	
11m		36.4	35.5		32.9	32.0	
12m		33.1			32.2	31.5	
13m		39.2	39.4		33.9	32.4	
14m		39.6	40.1		33.1	36.6	
15m		36.1			34.2	33.3	
16m		37.7	33.9		38.1	35.3	
17m		33.5	38.5		34.4	34.2	
18m		36.1	35.3		33.1	35.2	
19m		35.3	38.3		34.8	32.0	
20m		33.3	38.1		32.9	37.2	

(mm)

LVEsD							
月齢	症例NO	対照犬		保因犬		CXMD _J	
		NO.9	NO.10	NO.10	NO.11	NO.11	NO.12
1m		13.2	14.6		9.20	12.9	
2m					17.5	16.2	
3m		14.0	18.0		15.1	18.2	
4m					16.6	17.5	
5m					18.8	18.2	
6m		21.8	19.0		22.1	21.0	
7m							
8m		23.4	22.3		18.6	19.5	
9m		20.4	21.9		22.6	21.2	
10m		21.0	21.0		23.0	24.0	
11m		21.2	23.8		21.9	18.6	
12m		21.2			20.6	20.4	
13m		21.7	27.2		24.7	20.4	
14m		24.7	26.9		21.7	23.9	
15m		20.4			22.6	21.0	
16m		21.9	23.7		26.9	22.6	
17m		22.6	26.3		24.7	21.7	
18m		23.7	25.2		23.0	20.1	
19m		23.0	24.5		23.0	19.9	
20m		22.6	27.2		23.2	23.9	

(mm)

Table 35 各月齢における心エコー所見
IVSDおよびLVPwDの変化

月齢	IVSD				CXMD _J			
	症例NO	対照犬 NO.9	保因犬 NO.10	保因犬 NO.11	NO.12	NO.11	NO.12	
1m		2.7	4.7	1.8	2.5			
2m				5.7	5.7			
3m		8.1	7.4	6.1	5.5			
4m				5.0	7.4			
5m				6.8	6.1			
6m		7.9	6.0	5.1	4.3			
7m								
8m		7.2	7.7	8.3	10.7			
9m		7.2	7.4	7.2	7.2			
10m		8.3	8.1	6.6	7.5			
11m		8.5	7.2	5.7	7.7			
12m		7.7		6.8	7.0			
13m		6.1	5.0	5.5	7.2			
14m		8.5	6.8	5.7	7.7			
15m		7.2		5.9	7.0			
16m		5.9	9.0	5.3	4.8			
17m		8.1	6.4	6.1	5.7			
18m		8.1	7.7	7.2	5.0			
19m		6.6	8.3	6.1	6.1			
20m		8.3	6.4	7.2	6.1			

(mm)

月齢	症例NO	LVPwD				CXMD _J	
		対照犬 NO.9	保因犬 NO.10	保因犬 NO.11	NO.12		
1m		3.7	3.0	5.0	3.7		
2m				4.6	4.6		
3m		3.9	5.5	4.8	4.8		
4m				4.6	5.0		
5m				6.6	5.3		
6m		5.7	6.0	5.4	7.1		
7m							
8m		5.3	5.3	6.1	5.9		
9m		6.4	6.6	8.3	7.2		
10m		6.4	7.9	5.7	6.7		
11m		7.4	4.7	7.0	6.8		
12m		7.7		5.7	5.0		
13m		6.1	4.8	5.3	5.3		
14m		6.8	5.7	6.8	5.5		
15m		6.4		6.1	8.3		
16m		5.7	6.8	5.5	5.5		
17m		5.5	5.3	5.0	6.6		
18m		6.1	4.8	5.5	6.1		
19m		6.4	4.8	4.2	5.9		
20m		6.8	4.2	6.4	6.1		

(mm)

Table 36 各月齢における心エコー所見
FSの変化

月齢	症例NO	FS					
		対照犬 NO.9	保因犬 NO.10	CXMD _J			
1m		38.3	33.9	50.5	32.4		
2m				33.9	33.8		
3m		49.6	30.2	37.3	28.9		
4m				37.8	36.1		
5m				28.5	31.3		
6m		30.1	43.2	32.2	34.9		
7m							
8m		37.9	40.0	38.8	32.5		
9m		40.6	36.7	26.8	41.7		
10m		40.8	34.7	33.9	27.2		
11m		41.7	32.9	33.4	41.8		
12m		35.9		36.0	35.2		
13m		44.6	30.9	27.1	37.0		
14m		37.6	32.9	34.4	34.6		
15m		43.4		33.9	36.9		
16m		41.9	30.0	29.3	35.9		
17m		32.5	31.6	28.1	36.5		
18m		34.3	28.6	30.5	43.0		
19m		34.8	36.0	33.9	37.8		
20m		32.1	28.6	29.4	35.7		

(%)

Table 37 各時間毎の心拍変動解析
心拍数(HR)の変化

5ヶ月齢			CXMD _J
対照犬			
	mean	SD	
0~6	98.99	6.79	135.34
6~12	129.46	0.38	140.42
12~18	129.18	3.47	124.52
18~0	101.98	9.73	140

HR(bpm)

8ヶ月齢				
時刻	対照犬	保因犬	CXMD _J	
			mean	SD
0~6	75.51	78.25	82.67	7.16
6~12	106.14	109.49	101.51	6.56
12~18	98.37	90.68	106.27	10.63
18~0	86.31	83.16	92.89	8.23

HR(bpm)

12ヶ月齢				
時刻	対照犬	保因犬	CXMD _J	
			mean	SD
0~6	63.9	68.34	79.66	10.06
6~12	89.32	92.84	97.77	15.42
12~18	79.72	85.41	102.03	11.82
18~0	72.09	75.46	83.77	10.08

HR(bpm)

17ヶ月齢				
時刻	対照犬	保因犬	CXMD _J	
			mean	SD
0~6	59.6	63.49	7.17	70.87
6~12	77.2	90.25	8.89	92.59
12~18	69.74	79.99	7.38	92.13
18~0	63.85	69.27	5.34	79.07

HR(bpm)

Table 38 各時間毎の心拍変動解析
HF power の変化

5ヶ月齢		
時刻	対照犬	CXMD _J
	mean	SD
0~6	471.52	34.22
6~12	213.21	34.25
12~18	179.9	21.60
18~0	437.4	89.17

(msec²)

8ヶ月齢			
時刻	対照犬	保因犬	CXMD _J
			mean SD
0~6	527.83	435.28	485.55 68.14
6~12	265.7	209.94	414.12 63.86
12~18	214.66	232.93	412.54 76.82
18~0	369.8	352.57	444.97 67.13

(msec²)

12ヶ月齢			
時刻	対照犬	保因犬	CXMD _J
			mean SD
0~6	640.05	565.98	448.46 10.01
6~12	363.16	382.36	386.28 35.79
12~18	370.71	365.98	382.29 59.32
18~0	550.91	505.38	447.38 19.88

(msec²)

17ヶ月齢			
時刻	対照犬	保因犬	CXMD _J
			mean SD
0~6	646.44	604.93	98.52 460.22 63.83
6~12	444.59	400.93	27.3 403.16 30.3
12~18	529.95	501.46	71.34 413.22 63.04
18~0	654.92	599.93	109.51 439.81 60.17

(msec²)

Table 39 各時間毎の心拍変動解析
LF/HF の変化

時刻	5ヶ月齢		CXMD _J
	対照犬	保因犬	
	mean	SD	
0~6	0.452	0.029	0.478
6~12	0.676	0.040	0.427
12~18	0.684	0.057	0.328
18~0	0.445	0.040	0.409

時刻	8ヶ月齢		CXMD _J
	対照犬	保因犬	
	mean	SD	
0~6	0.412	0.462	0.905
6~12	0.626	0.748	0.643
12~18	0.582	0.599	0.578
18~0	0.450	0.486	0.804

時刻	12ヶ月齢		CXMD _J
	対照犬	保因犬	
	mean	SD	
0~6	0.534	0.547	1.1
6~12	0.5	0.492	0.792
12~18	0.439	0.357	0.714
18~0	0.403	0.362	1.071

時刻	17ヶ月齢		CXMD _J
	対照犬	保因犬	
	mean	SD	
0~6	0.805	0.717	1.137
6~12	0.569	0.555	0.746
12~18	0.393	0.396	0.61
18~0	0.473	0.466	0.987

Table 40 各月齢における心拍変動解析
不整脈発現数

5ヶ月齢				
	照明	対照犬		CXMD _J
		NO.13	NO.14	NO.16
洞性頻脈	ON	847	1251	1291
	OFF	287	449	1589
VPC単発	ON	0	0	1
	OFF	0	1	0
VPC二連	ON	0	0	0
	OFF	0	0	0
VPC三連	ON	0	0	0
	OFF	0	0	0

(回/3日)

8ヶ月齢						
	照明	対照犬 NO.9	保因犬		CXMD _J	
			NO.10	NO.11	NO.12	NO.16
洞性頻脈	ON	412	418	125	170	120
	OFF	79	112	10	24	75
VPC単発	ON	1	230	784	1	230
	OFF	0	73	499	0	73
VPC二連	ON	0	36	135	0	36
	OFF	0	14	161	0	14
VPC三連	ON	0	47	199	0	47
	OFF	0	26	211	1	26

(回/3日)

Table 41 各月齢における心拍変動解析
不整脈発現数

		12ヶ月齢					
	対照犬	保因犬					
	照明	NO.9	NO.10	NO.11	NO.12	NO.16	
洞性頻脈	ON	115	239	24	157	145	
	OFF	18	23	0	19	13	
VPC単発	ON	0	12	3	713	3101	
	OFF	2	5	3	39	2832	
VPC二連	ON	0	1	0	21	1041	
	OFF	0	0	0	3	536	
VPC三連	ON	0	0	0	23	1413	
	OFF	0	2	0	9	548	

(回/3日)

		17ヶ月齢					
	対照犬	保因犬					
	照明	NO.9	NO.10	NO.15	NO.11	NO.12	NO.17
洞性頻脈	ON	50	366	473	40	101	90
	OFF	0	57	97	0	1	2
VPC単発	ON	2	119	2	6	3	36
	OFF	0	14	3	1	4	76
VPC二連	ON	0	28	0	0	0	9
	OFF	0	0	1	0	0	29
VPC三連	ON	0	19	0	0	1	7
	OFF	0	3	1	0	0	35

(回/3日)

Table 42 CARTOシステム実施供試犬

症例NO	対照犬				CXMD _J			
	NO.9	NO.18	NO.19	NO.11	NO.12	NO.20	NO.21	
月齢	21	5	9	21	21	5	9	
体重(kg)	14.5	12.6	14.85	12.5	13.5	11.3	13.55	

Table 43 CARTOシステム実施時の心電図および心エコー所見
(CXMD_J犬について)

心電図所見

症例NO	NO.20	NO.21
月齢	5	9
Q波 (-mV)	II 0.68 III 0.51 aVF 0.56	0.46 0.45 0.42
R波 (mV)	II 1.19 III 0.96 aVF 0.97	1.88 1.78 1.82
Q/R比	II 0.59 III 0.60 aVF 0.65	0.25 0.25 0.23
S波 (-mV)	II 0.17 III 0.22 aVF 0.12	0.58 0.69 0.70
S/R比	II 0.14 III 0.23 aVF 0.12	0.31 0.39 0.38
PR間隔 (秒)	II 0.07	0.08
QRS (秒)	II 0.035	0.033

心エコー所見

症例NO	NO.20	NO.21
月齢	5	9
LVEdD (mm)	27.4	30.2
LVEsD (mm)	18.4	20.5
IVSD (mm)	5.7	6.0
LVPwD (mm)	5.6	5.4
FS (%)	33.4	31.6

供試犬 NO.	月齢	LV			IVS			RV			
		AW	PW	LW	AW	PW	LW	AW	PW	LW	
NO.6	15	EPI	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		MID	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		END	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NO.8	39	EPI	++	++	+++	+++	+++	++	++	+++	+
		MID	++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++
		END	++	+	+	+	+	+	+	+	+
NO.11	21	EPI	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
		MID	+++	+++	++	+++	+++	++	+++	++	++
		END	+	++	+	+	+	++	+	++	++
NO.12	21	EPI	++	+++	+++	++	+++	++	+++	++	++
		MID	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
		END	++	+	+	+	+	+	+	+	+
NO.16	11	EPI	++	++	++	++	++	++	++	++	++
		MID	++	++	++	++	++	++	++	++	++
		END	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NO.17	26	EPI	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		MID	-	+	-	-	+	+	+	+	+
		END	-	+	+	++	-	-	-	-	-
NO.20	5	EPI	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		MID	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		END	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NO.21	9	EPI	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		MID	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		END	-	-	-	-	-	-	-	-	-

LV 左心室
 IVS 心室中隔
 RV 右心室

AW 前壁
 LW 側壁
 PW 後壁

EPI 外層
 MID 中層
 END 内層

病変なし
 血管周囲性の線維化およびわずかな置換性心筋線維化
 置換性心筋線維化が目立つ
 より顕著な置換性心筋線維化(巣状線維化)

-
 +
 ++
 +++

Table 45

保因犬における固有心筋の病変分布

供試犬 NO.10	月齢 21	LV			IVS			RV				
		AW	PW	LW	AW	PW	LW	AW	PW	LW		
		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++
	EPI	+++	+++	+++	++	++	++	+++	+++	++	+++	+++
	MID	+	++	++	+	+	++	++	++	++	++	++
	END											

- 病変なし
 + 血管周囲性の線維化およびわずかな置換性心筋線維
 ++ 置換性心筋線維が目立つ
 +++ より顕著な置換性心筋線維化(巣状線維化)

LV 左心室
 IVS 心室中隔
 RV 右心室
 AW 前壁
 LW 側壁
 PW 後壁
 EPI 外層
 MID 中層
 END 内層

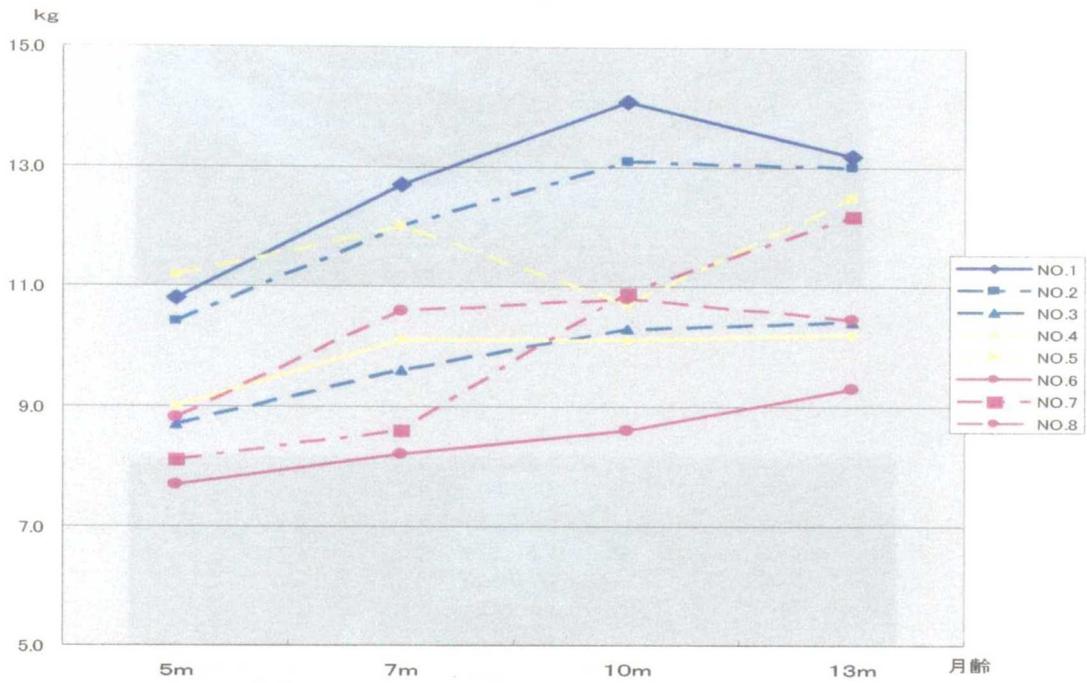


Fig 1 供試犬における体重の推移

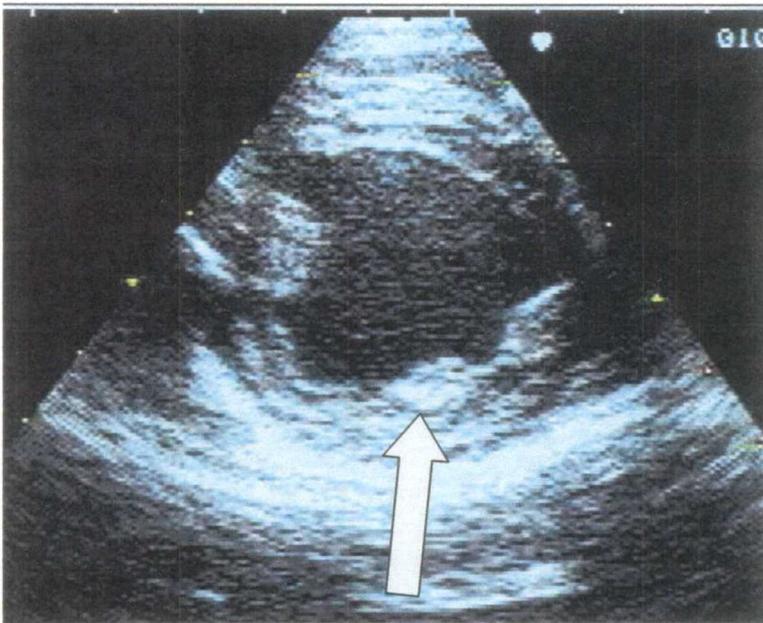
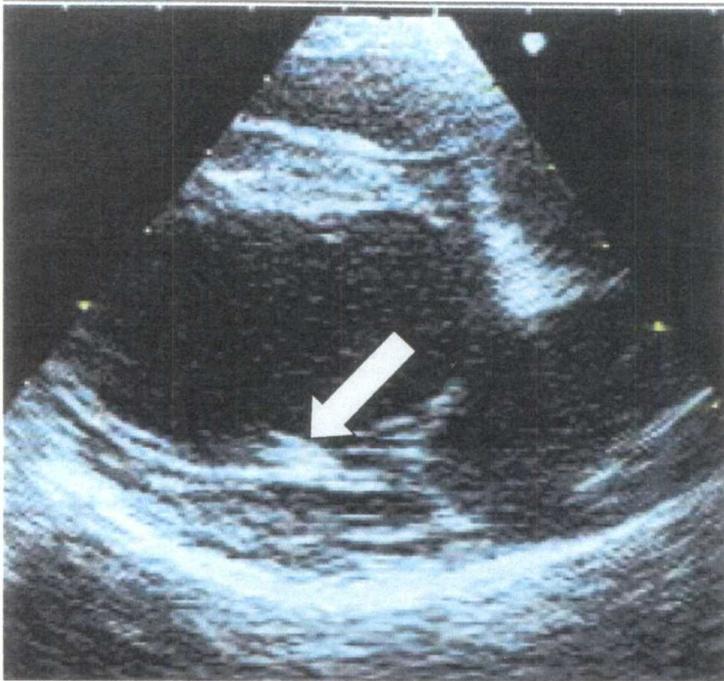


Fig 2 断層心エコー法右傍胸骨長軸四腔断面像：上段
短軸乳頭筋レベル像：下段
CXMD_Jにおける高信号所見(矢印)

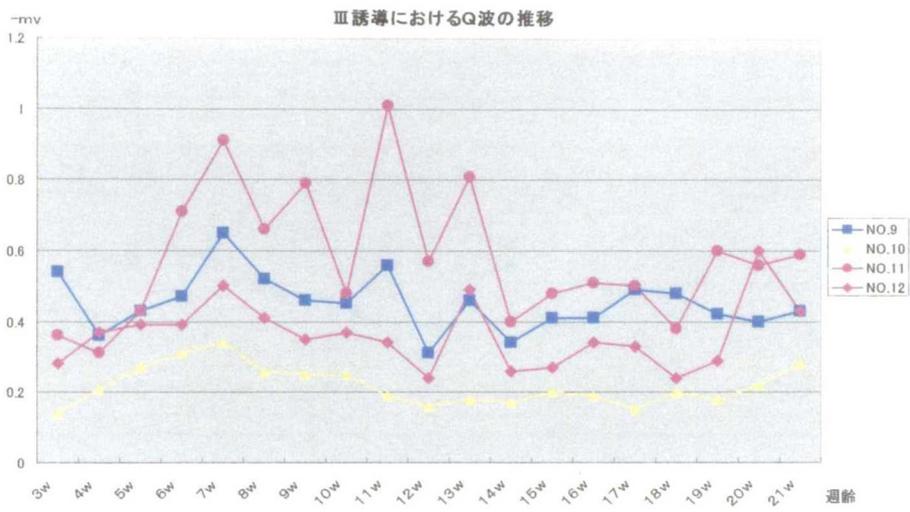
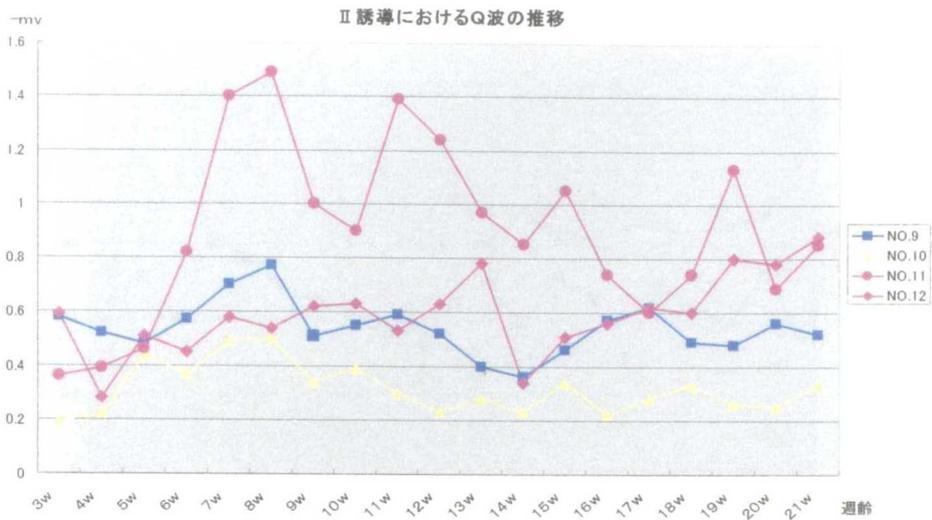


Fig 3 各週齢における心電図所見
Q波の推移

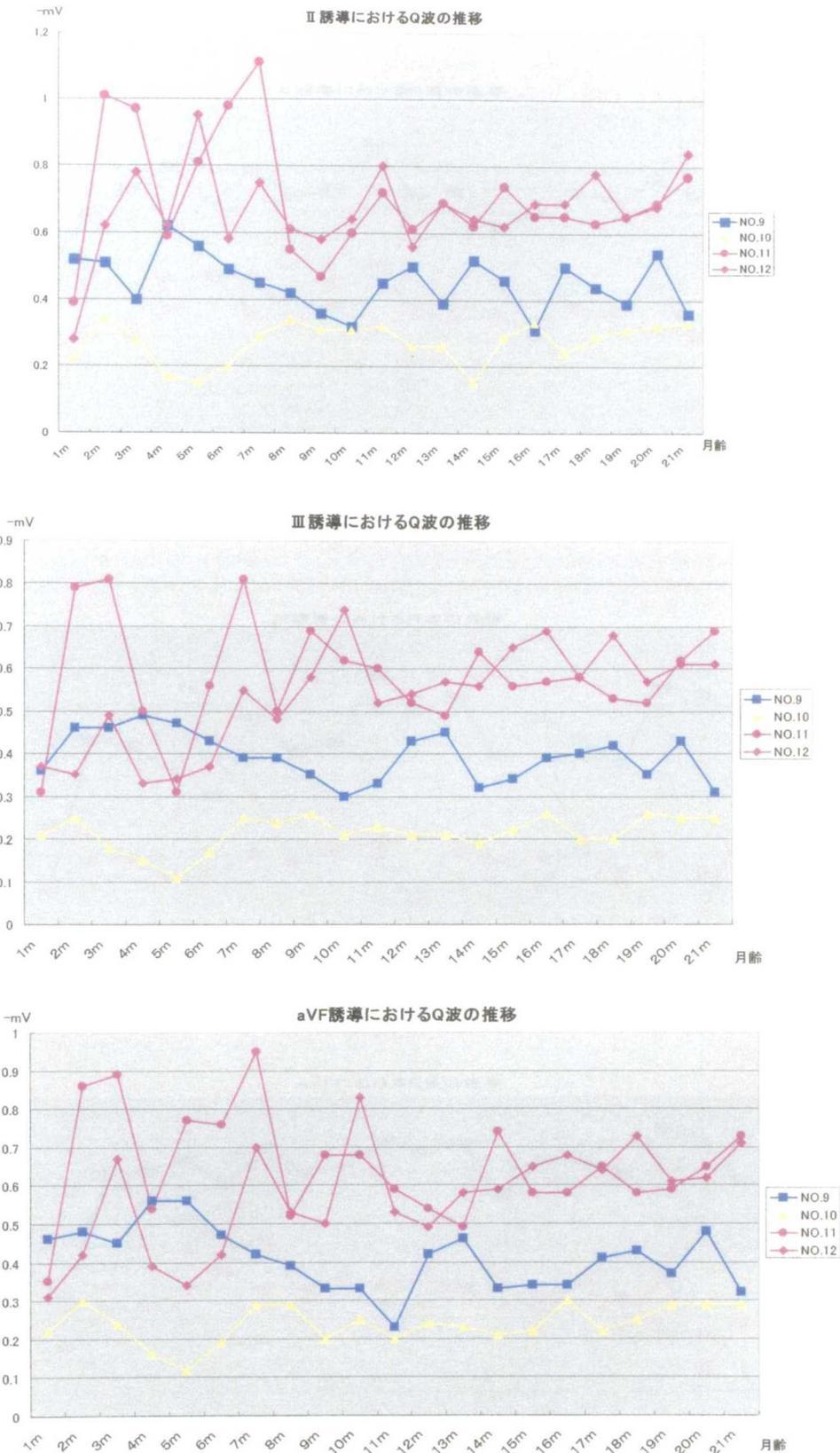


Fig 4 各月齢における心電図所見
Q波の推移

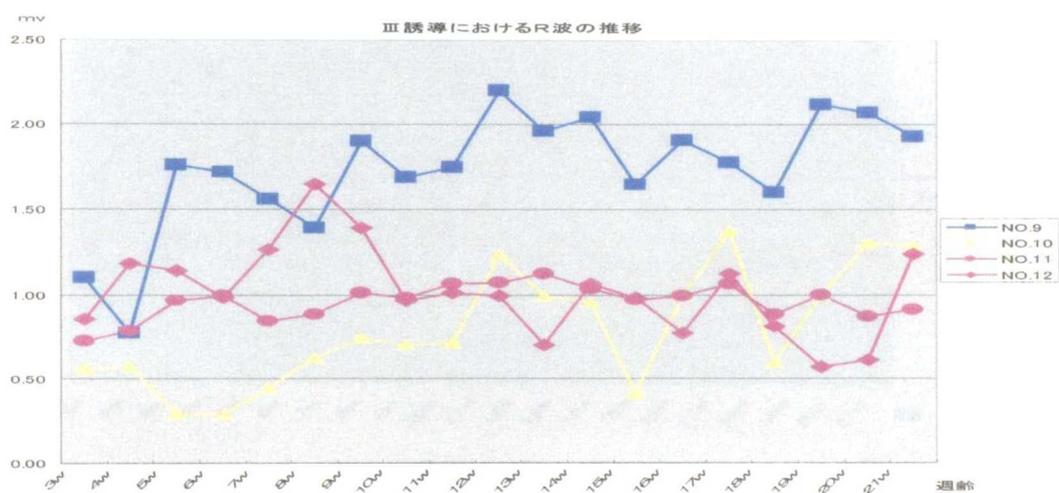
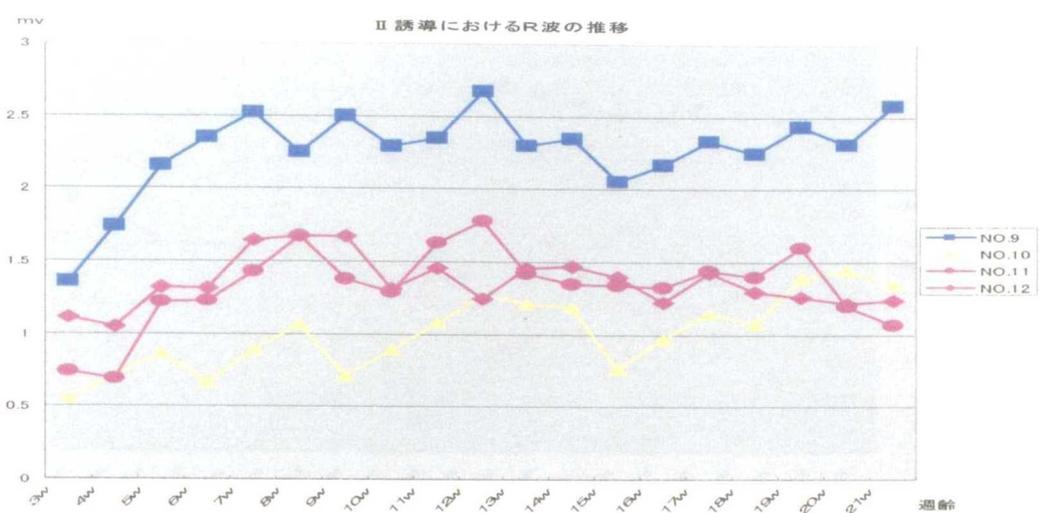


Fig 5 各週齢における心電図所見 R波の推移

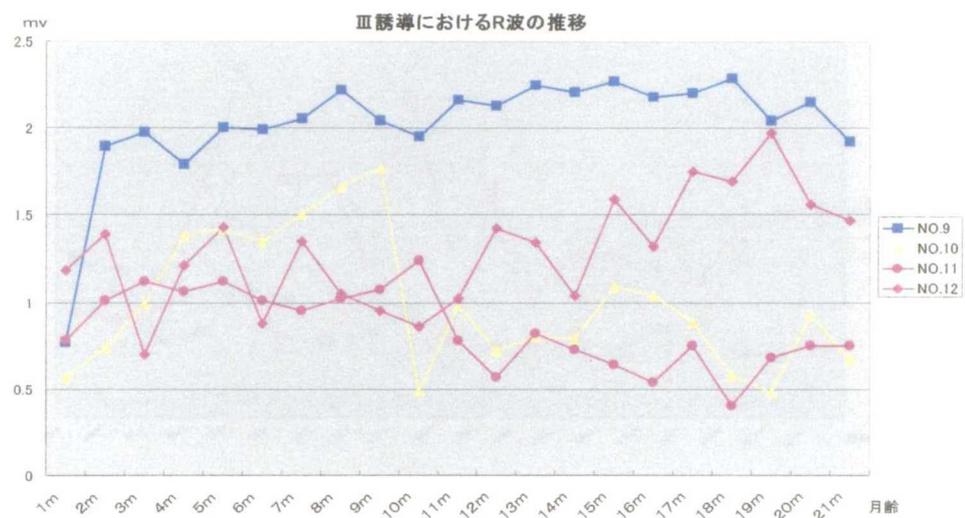
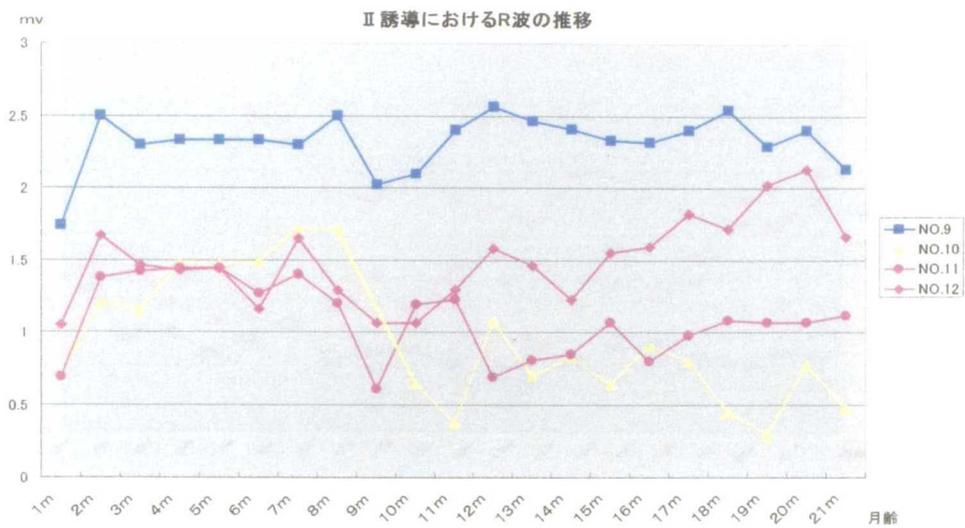


Fig 6 各月齢における心電図所見 R波の推移

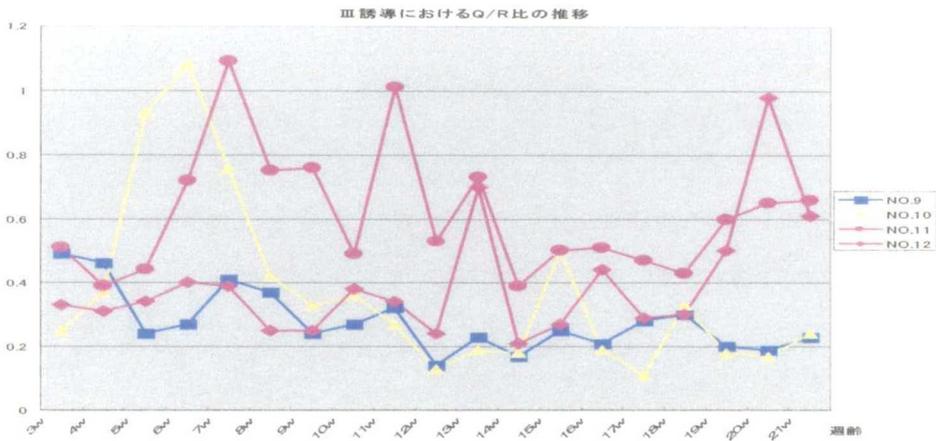


Fig 7 各週齢における心電図所見 Q/R比の推移

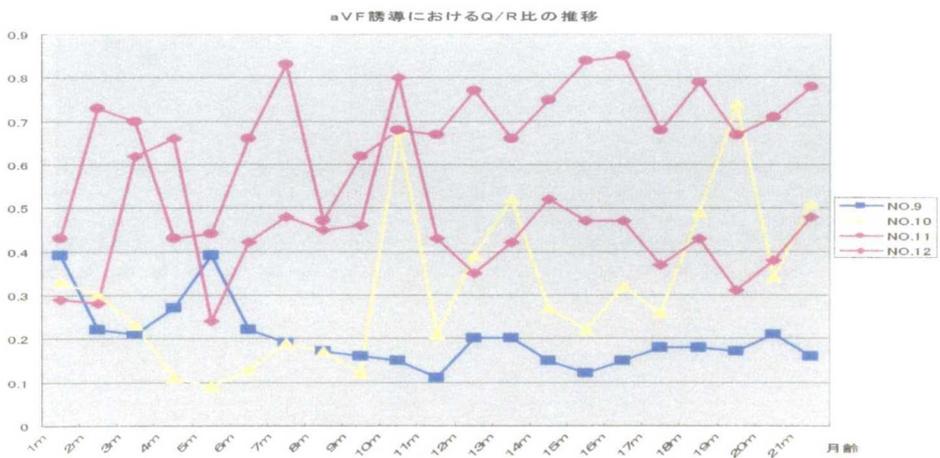
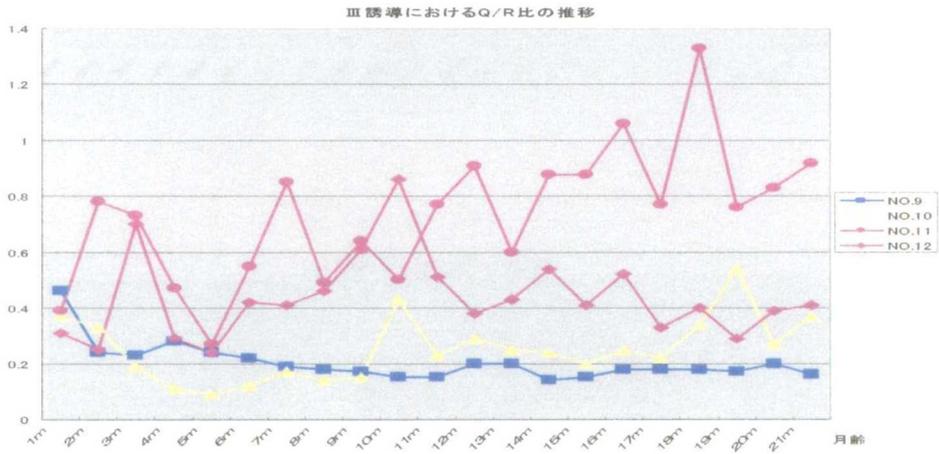


Fig 8 各月齢における心電図所見 Q/R比の推移

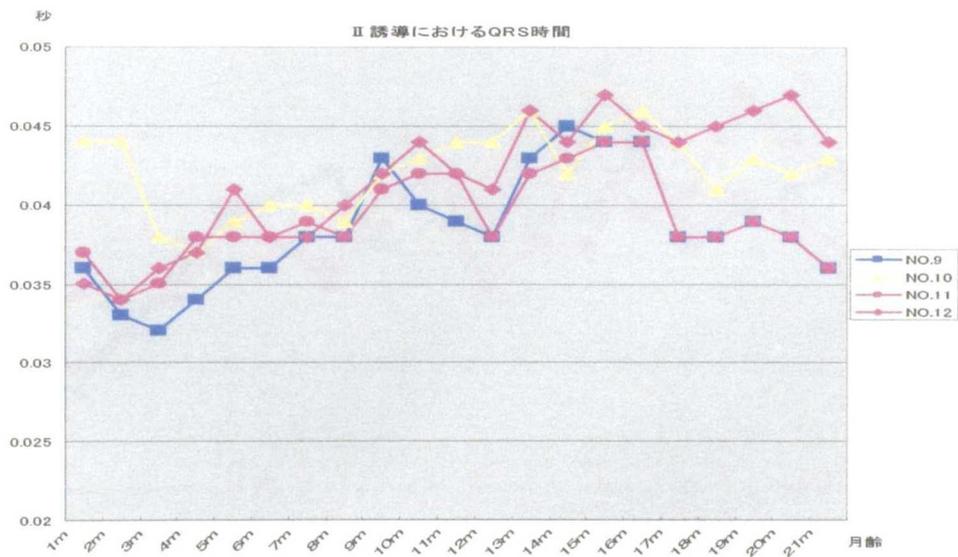
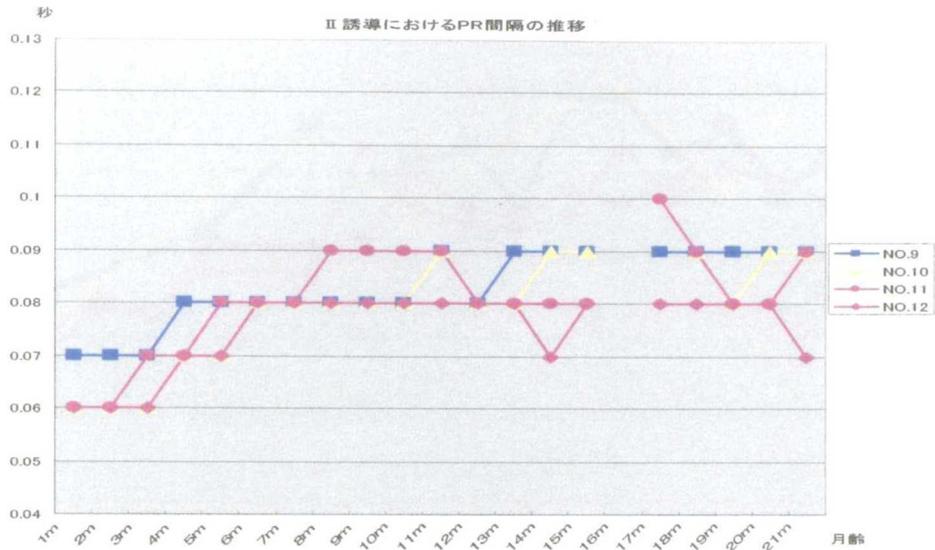
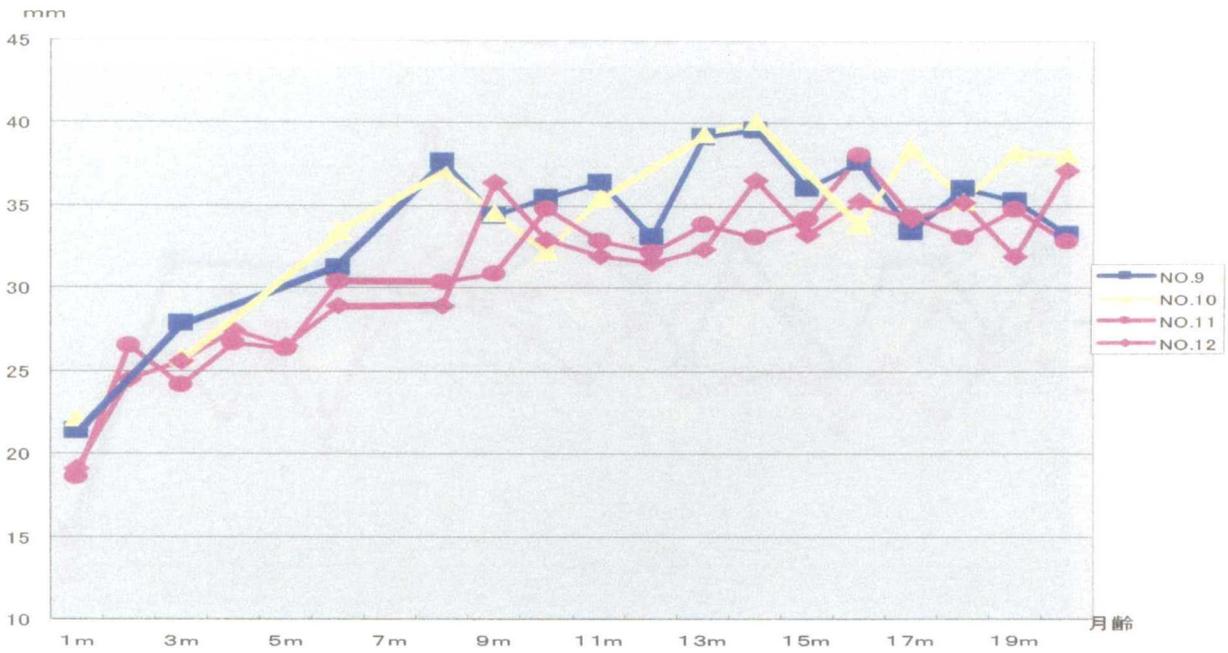


Fig 9 各月齢における心電図所見
 上段: PR間隔
 下段: QRS時間

左室拡張末期径 (LVEdD)



左室収縮末期径 (LVEsD)

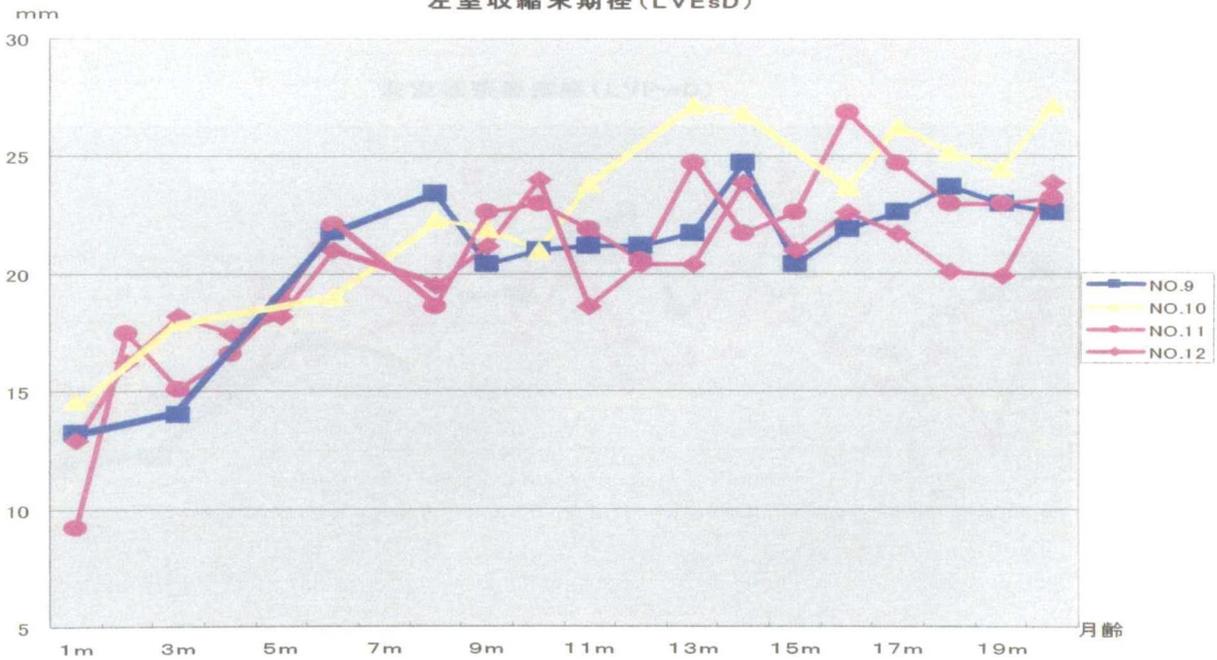


Fig 10 各月齢における心エコー所見
上段: 左室拡張末期径 (LVEdD) の推移
下段: 左室収縮末期径 (LVEsD) の推移

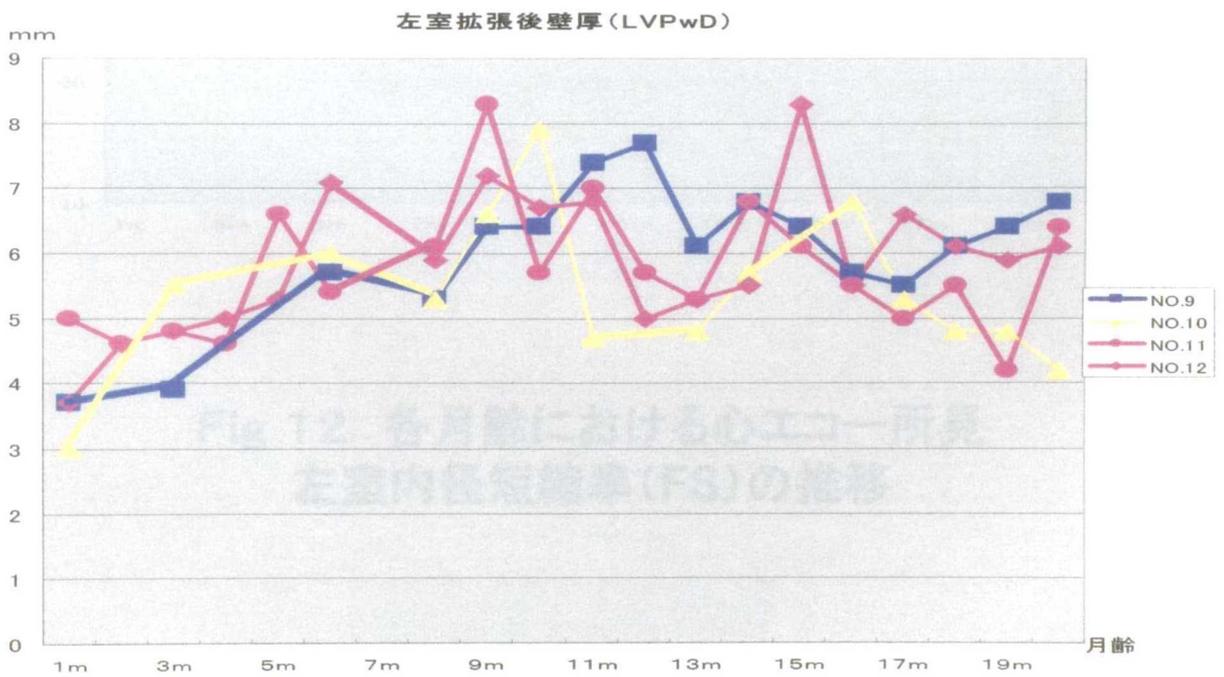
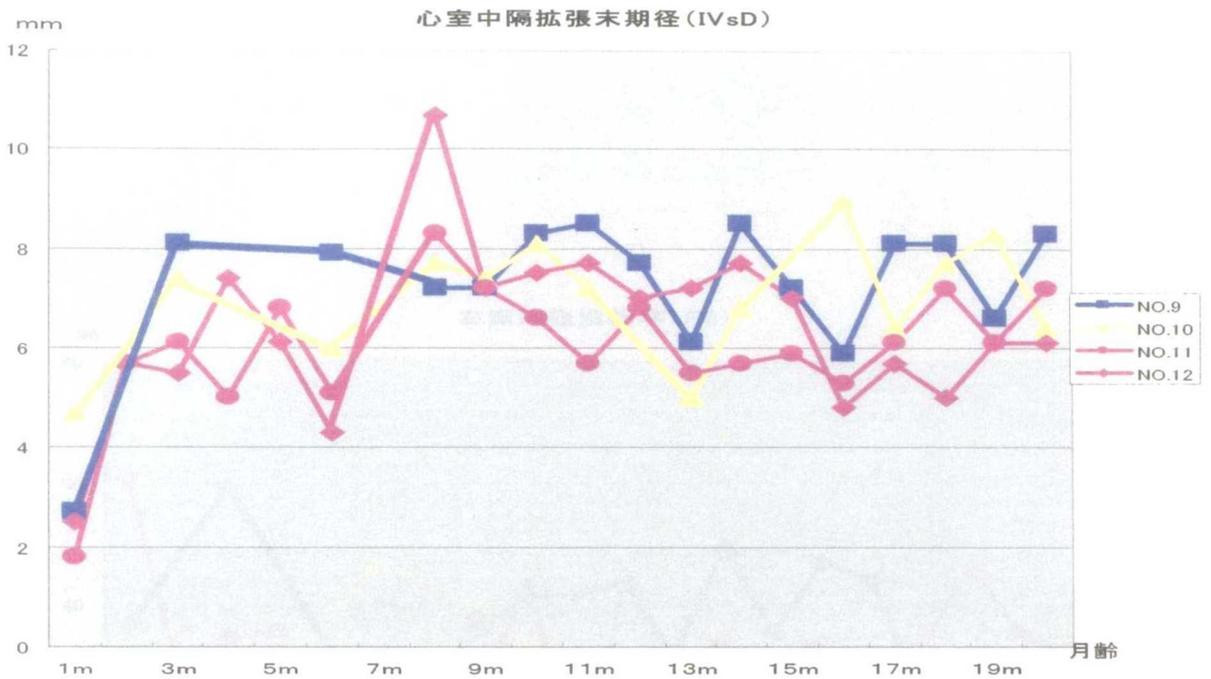


Fig 11 各月齢における心エコー所見
 上段： 心室中隔拡張末期径 (IVsD) の推移
 下段： 左室拡張後壁厚 (LVPwD) の推移

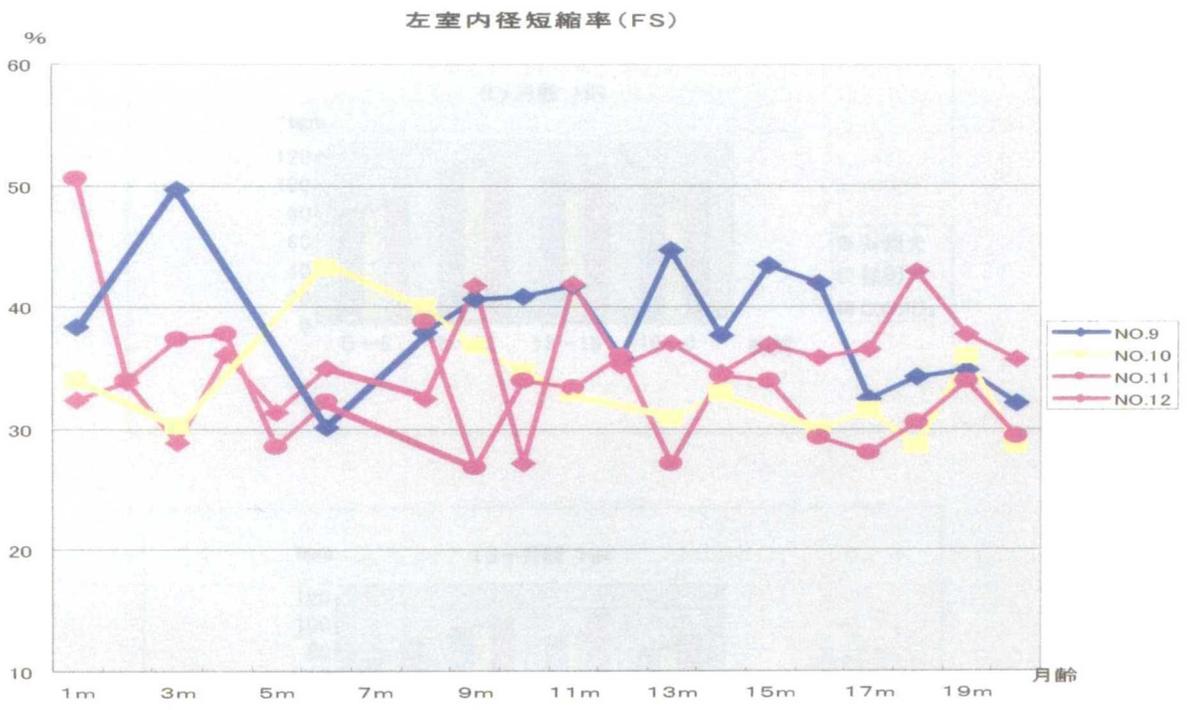


Fig 12 各月齢における心エコー所見
左室内径短縮率 (FS) の推移

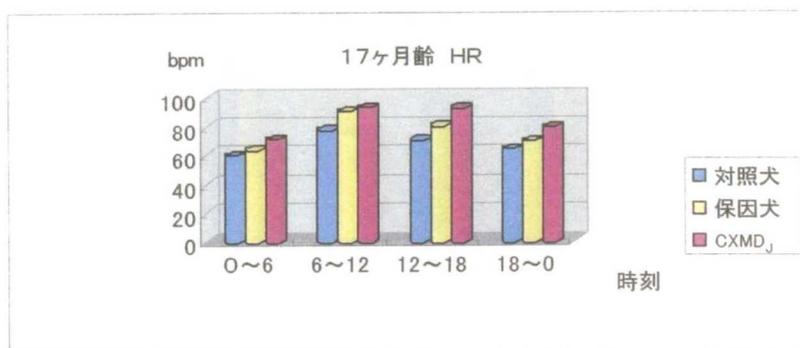
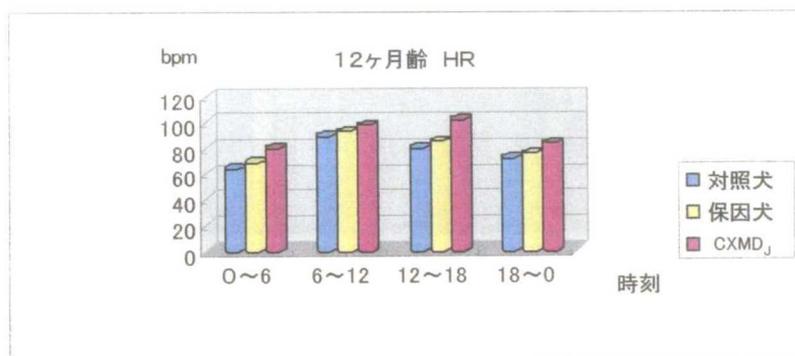
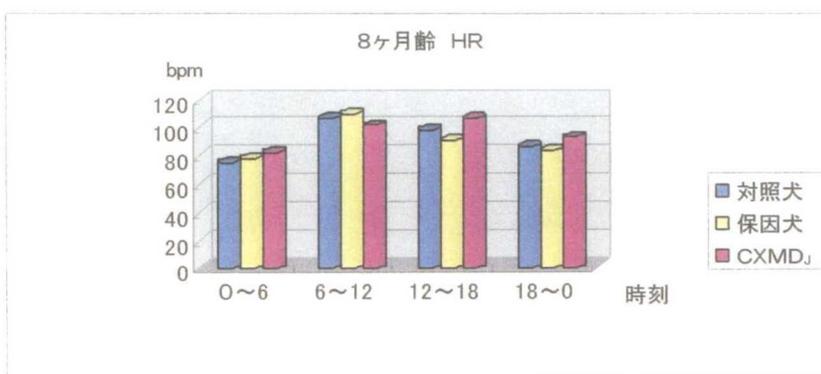
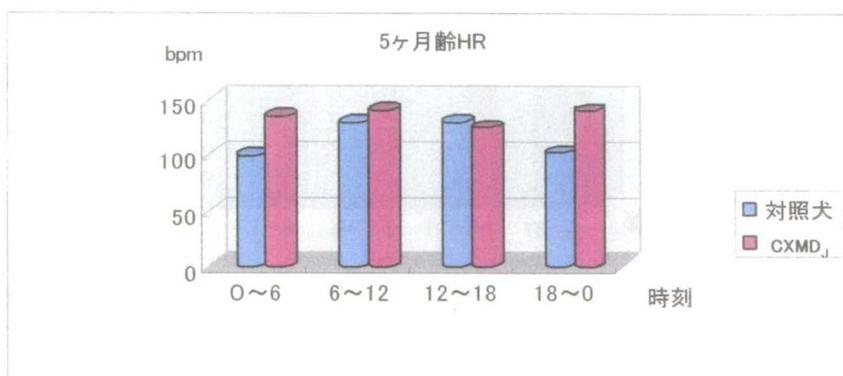


Fig 13 心拍変動解析 心拍数(HR)

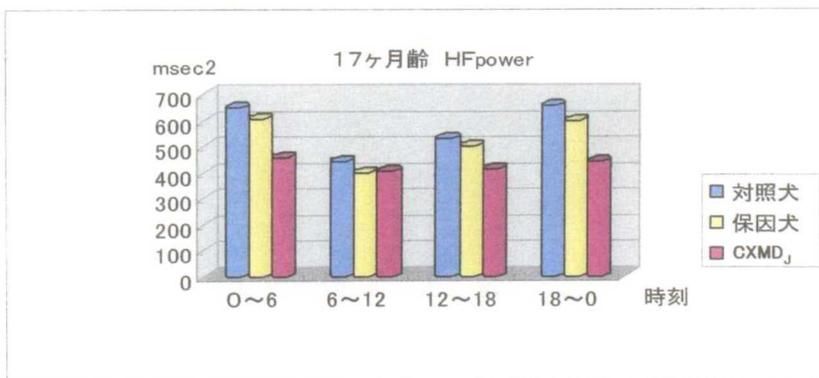
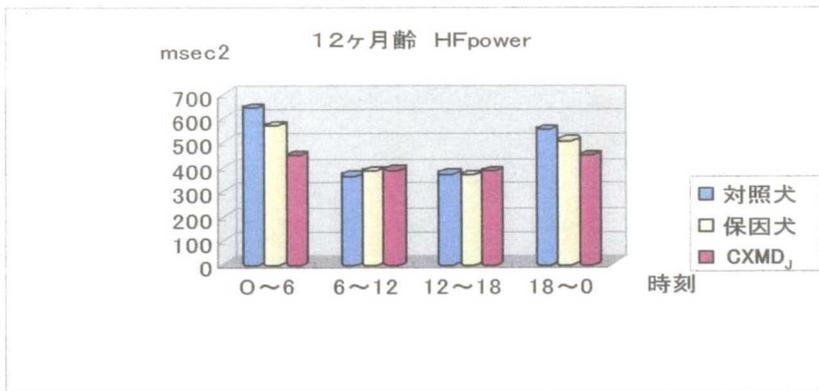
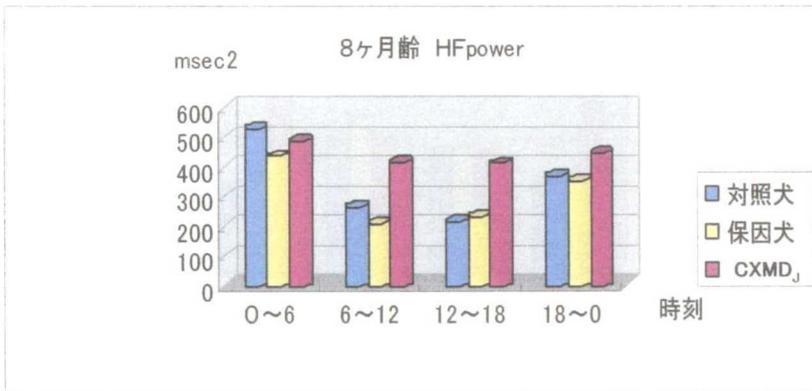


Fig 14 心拍変動解析 HFpower

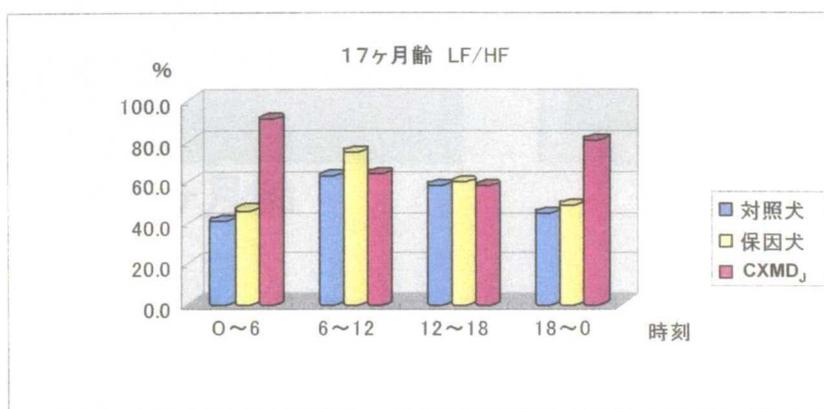
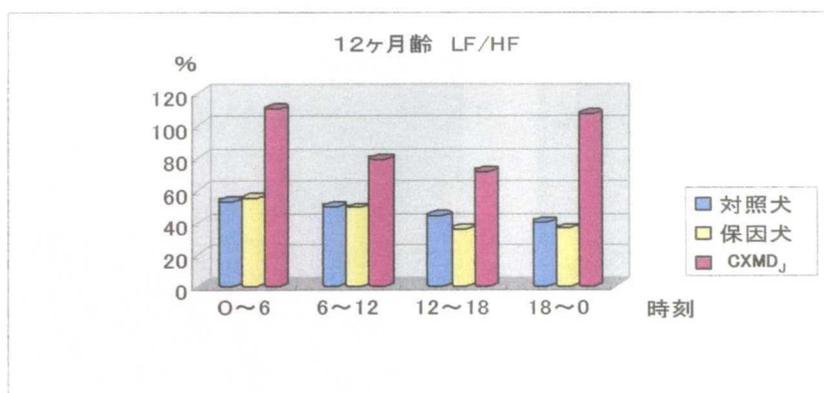
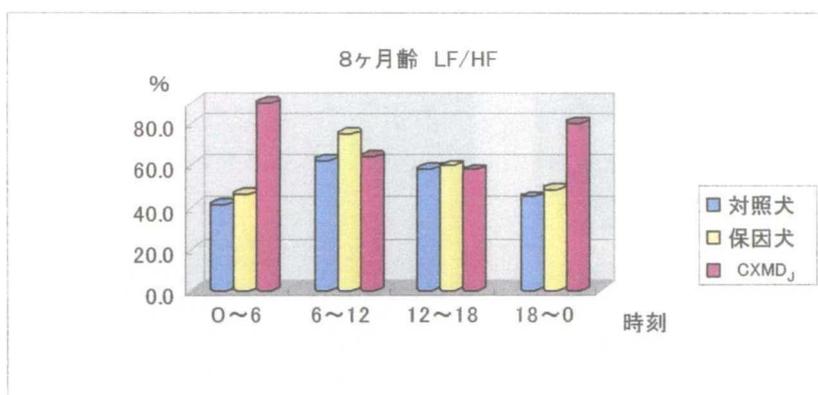
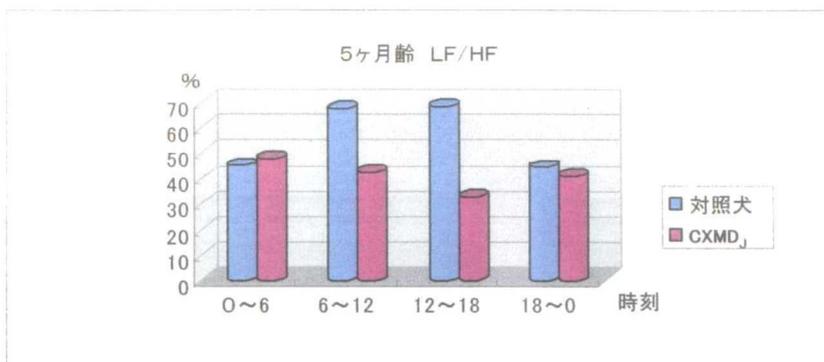
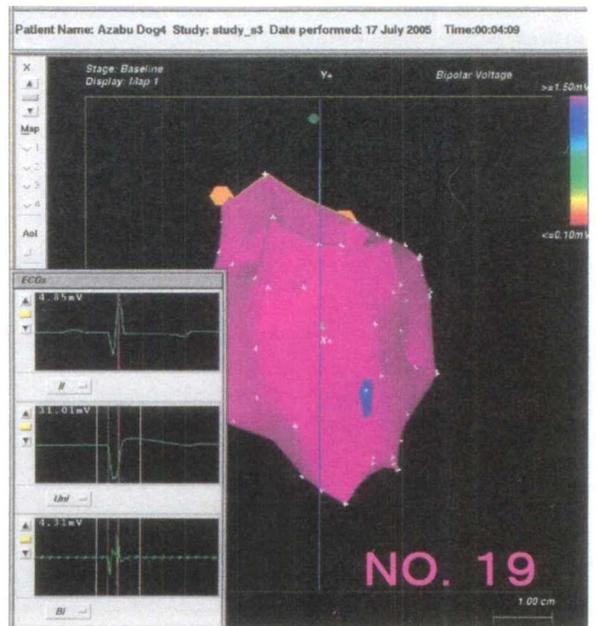
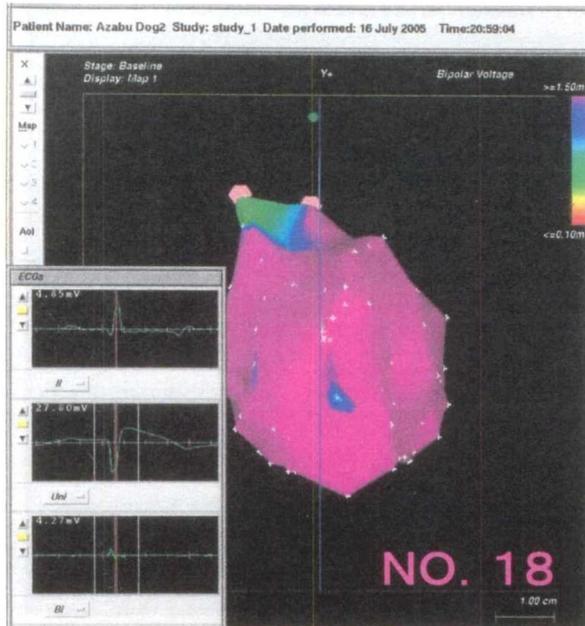


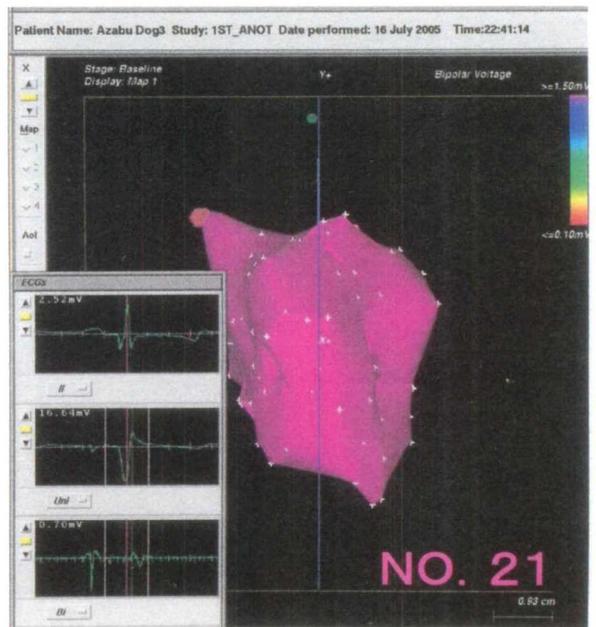
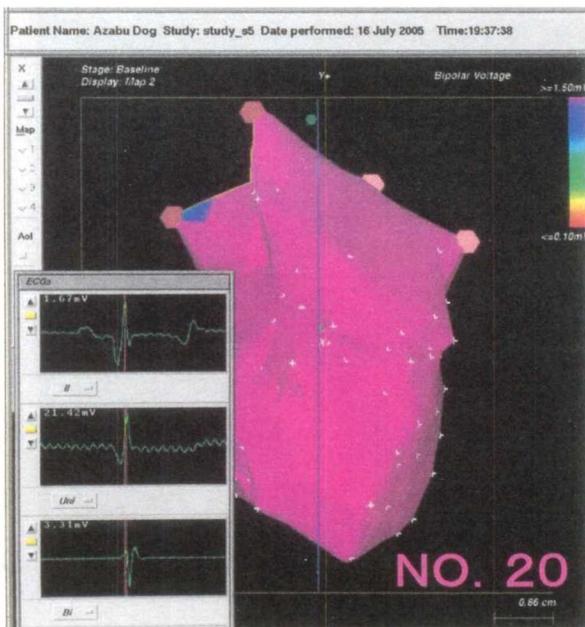
Fig 15 心拍変動解析 LF/HF



対照犬

NO. 18

NO. 19



CXMD_J

生後5ヶ月齢

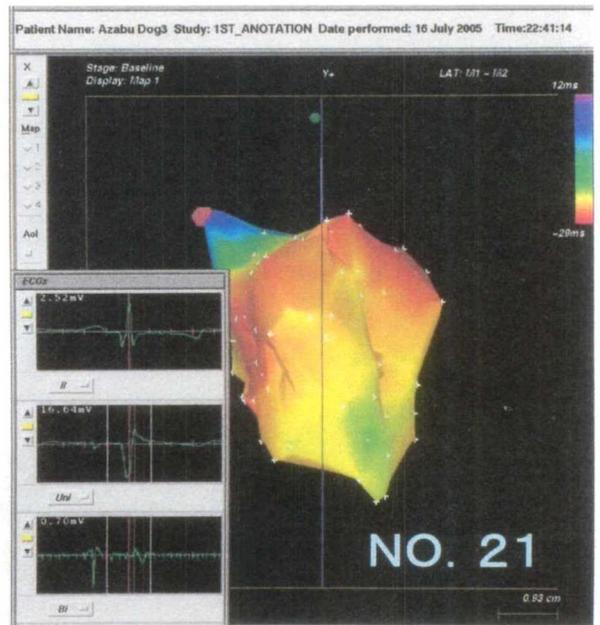
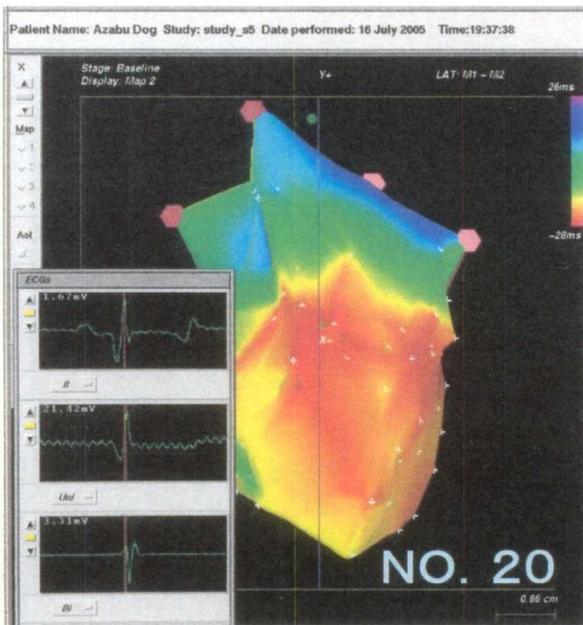
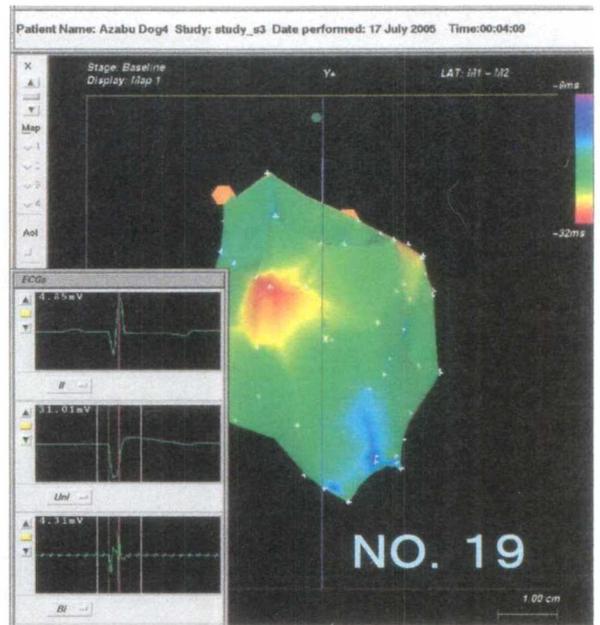
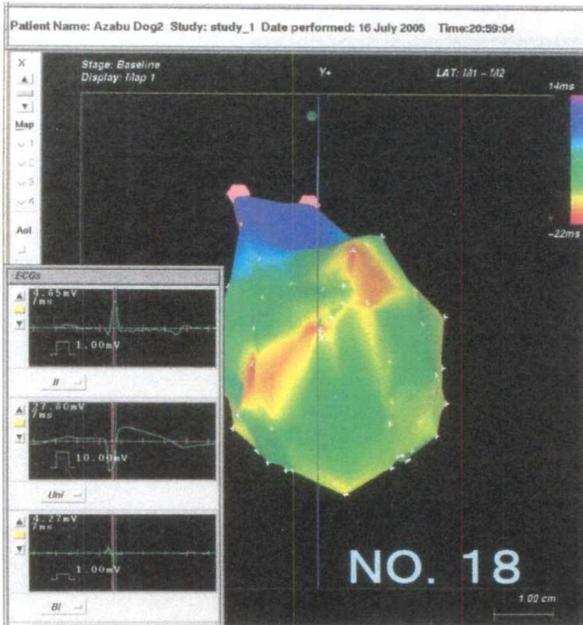
生後9ヶ月齢

Fig 16 ボルテージマップ

対照犬 (NO.18、19) CXMD_J (NO.20、21)

生後5ヶ月齢: NO.18、20 生後9ヶ月齢: NO.19、21

全供試犬において1.5mV以上呈す(紺および紫の色調)



対照犬

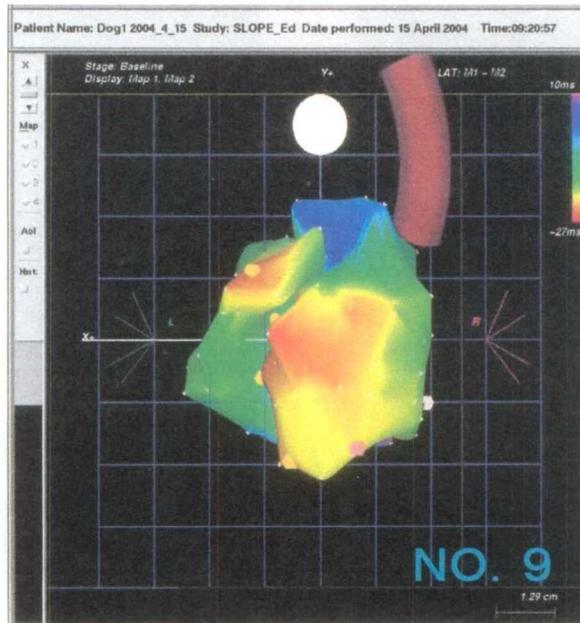
CXMD_J

生後5ヶ月齢

生後9ヶ月齢

Fig 17 生後5ヶ月齢および9ヶ月齢におけるアクチベーションマップ
 対照犬 (NO.18、19) CXMD_J (NO.20、21)
 生後5ヶ月齢: NO.18、20 生後9ヶ月齢: NO.19、21

対照犬



CXMD_J

Fig 18 生後21ヶ月齢におけるアクチベーションマップ
対照犬(NO.9)、CXMD_J(NO.11,12)
NO.11およびNO.12において左心室側壁に黄緑色の
領域を認める

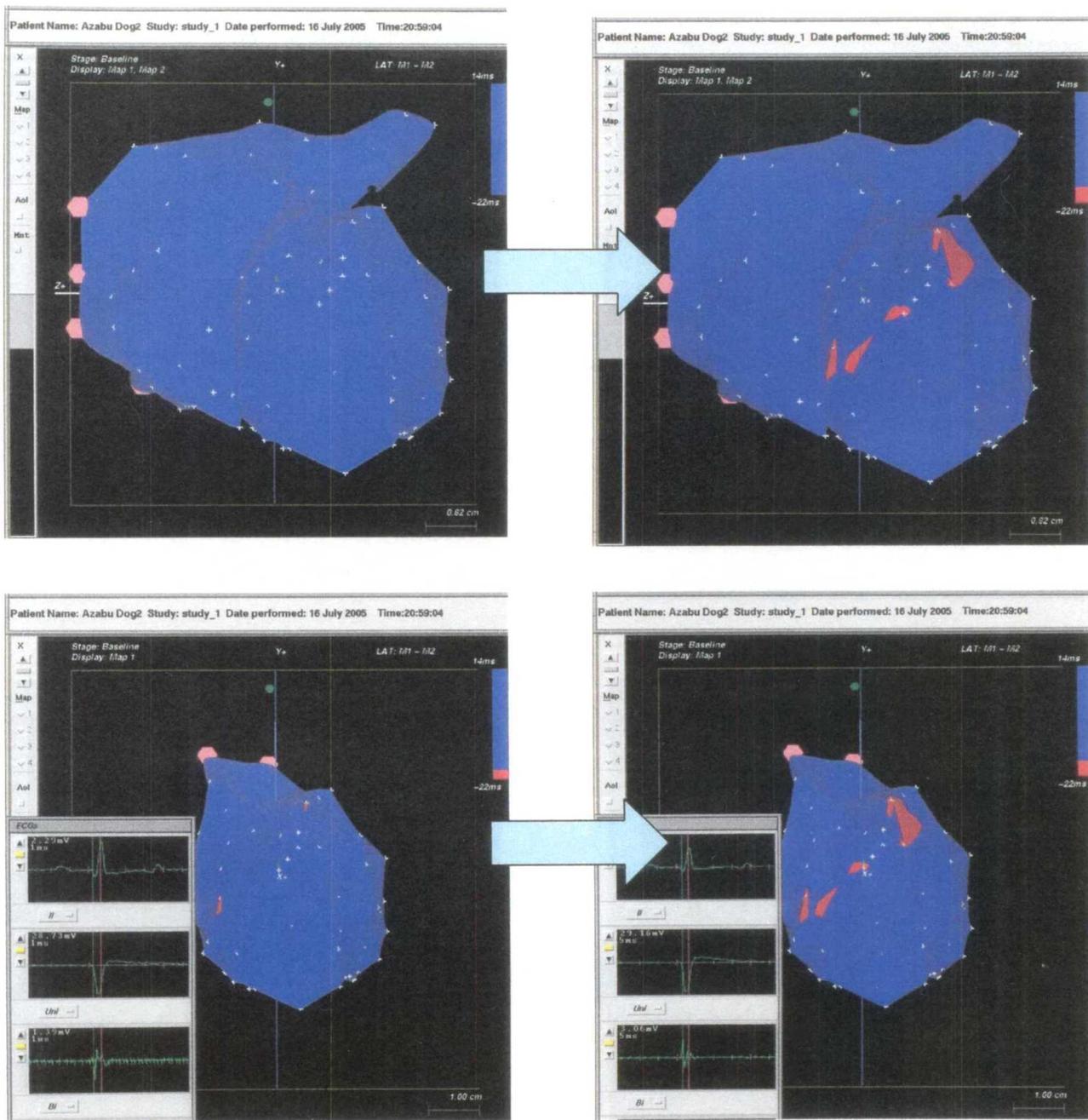


Fig 19 対照犬(NO. 18)におけるプロパゲーションマップ
 上段: 両心室描写 下段: 左心室描写
 興奮伝播状況を示す(心電図Q開始地点 → Q波下降脚地点)

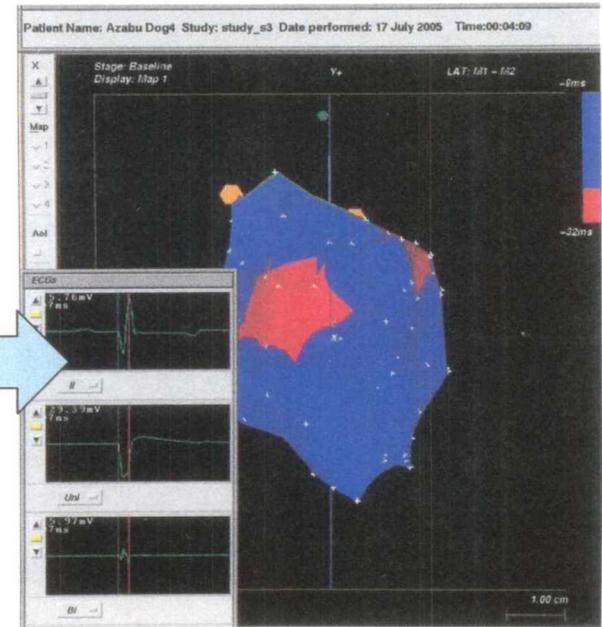
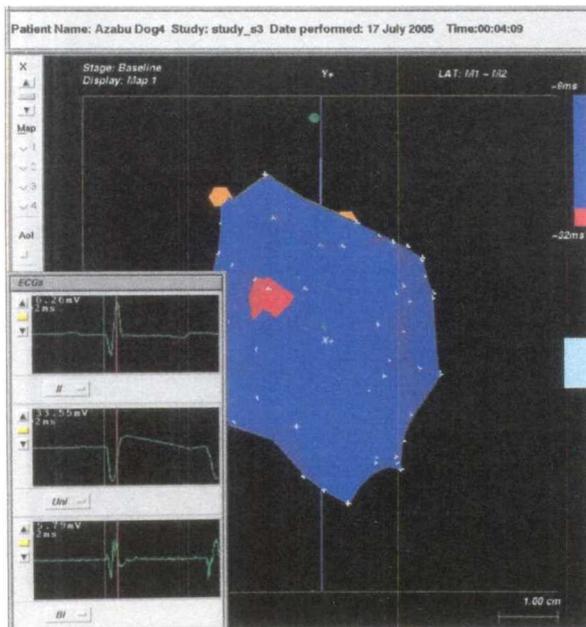
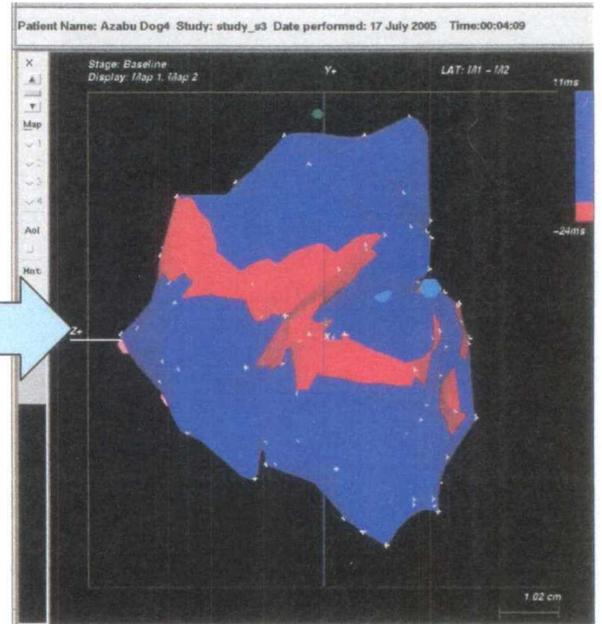
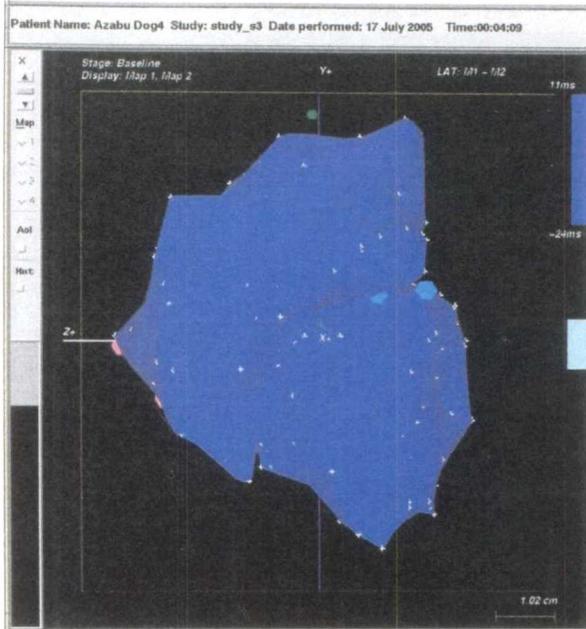


Fig 20 对照犬(NO. 19) プロパゲーションマップ
 上段:両心室描写 下段:左心室描写
 興奮伝播状況を示す(心電図Q波開始地点 → Q波下降脚地点)

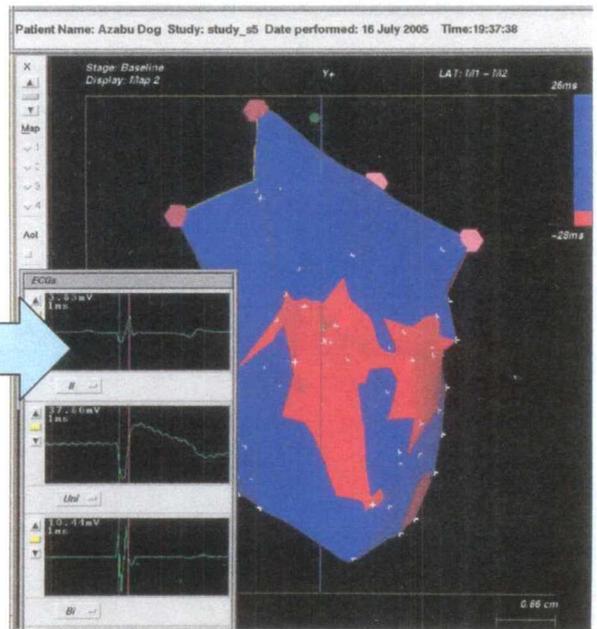
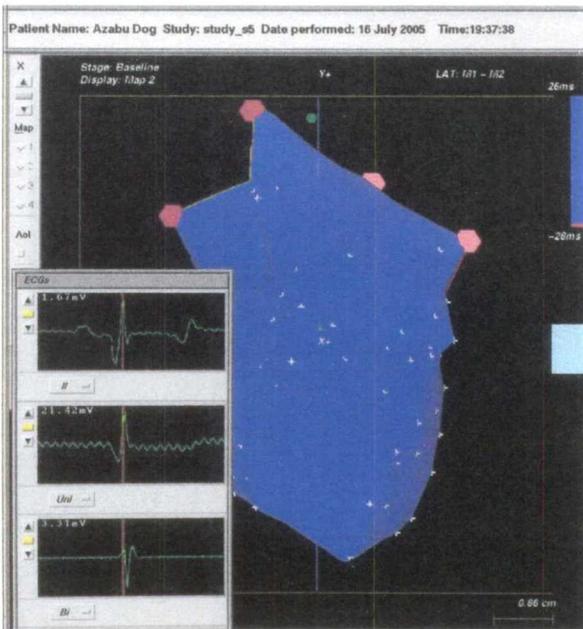
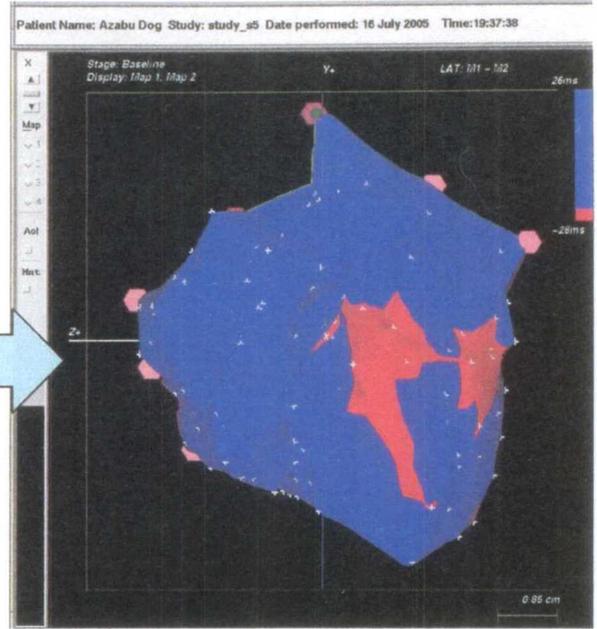
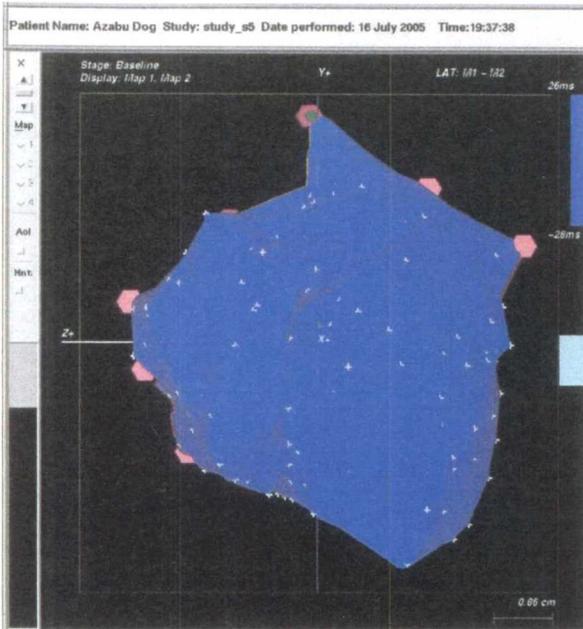


Fig 21 CXMD_J(NO. 20)プロパゲーションマップ
 上段:両心室描写 下段:左心室描写
 興奮伝播状況を示す(心電図Q波開始地点 → Q波下降脚地点)

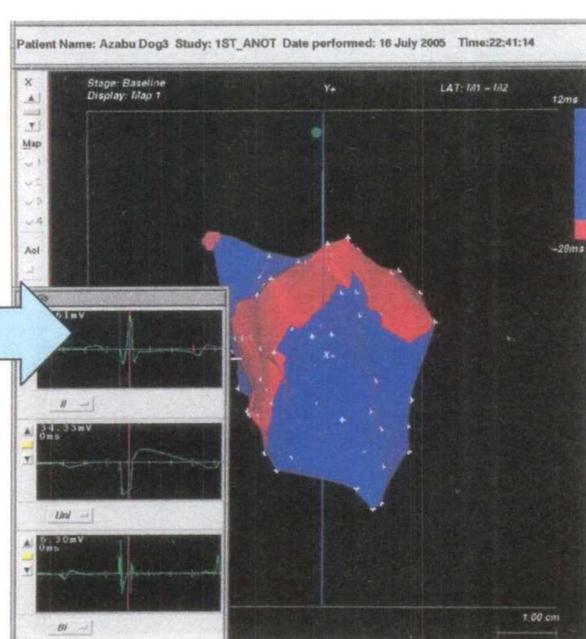
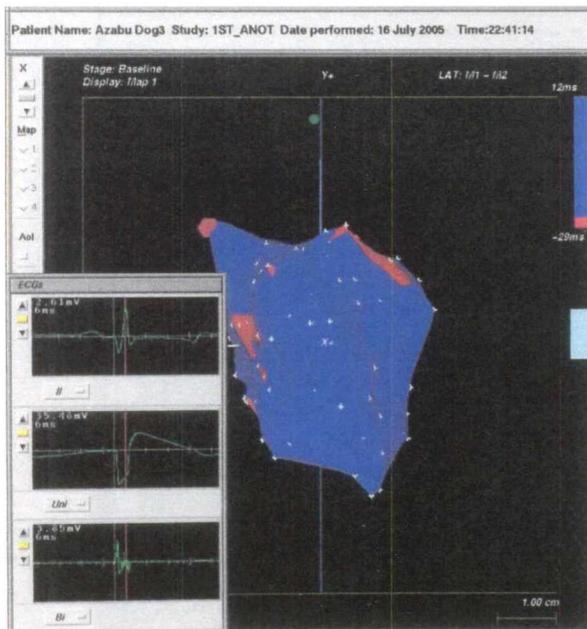
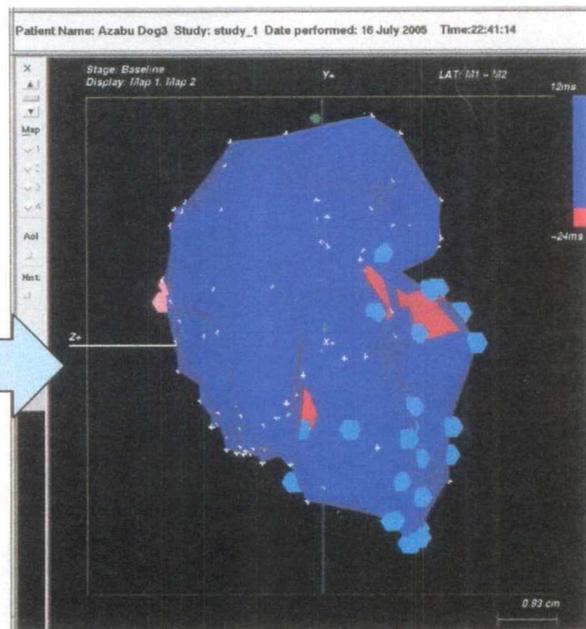
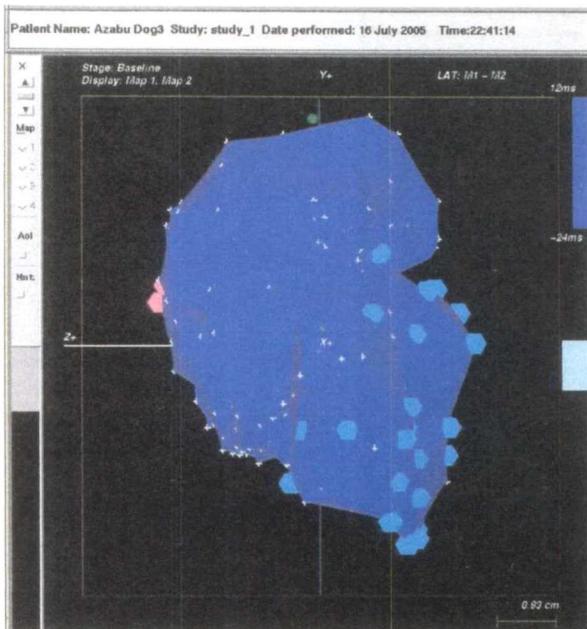
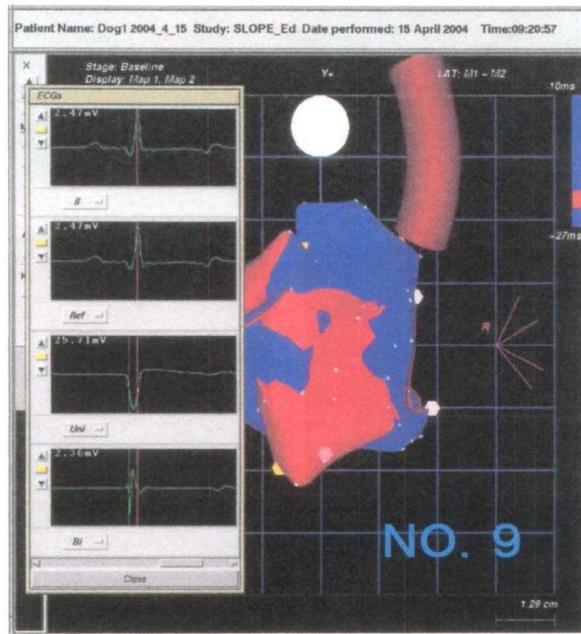
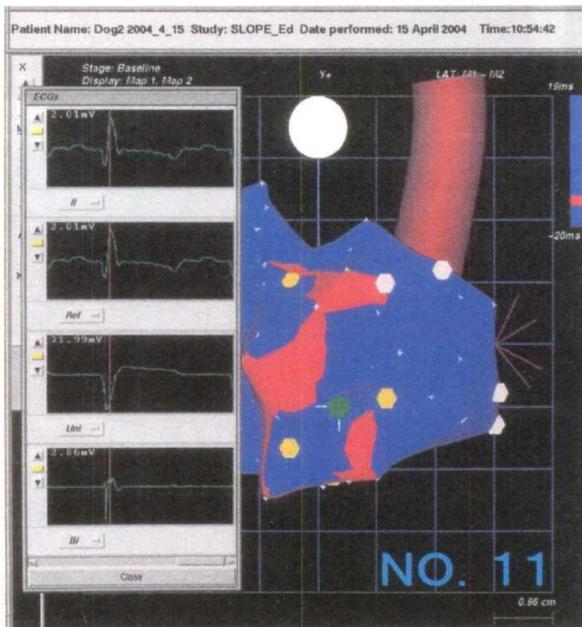


Fig 22 CXMD_J(NO. 21)プロパゲーションマップ
 上段:両心室描写下段:左心室描写
 興奮伝播状況を示す(心電図Q波開始地点→Q波下降脚地点)

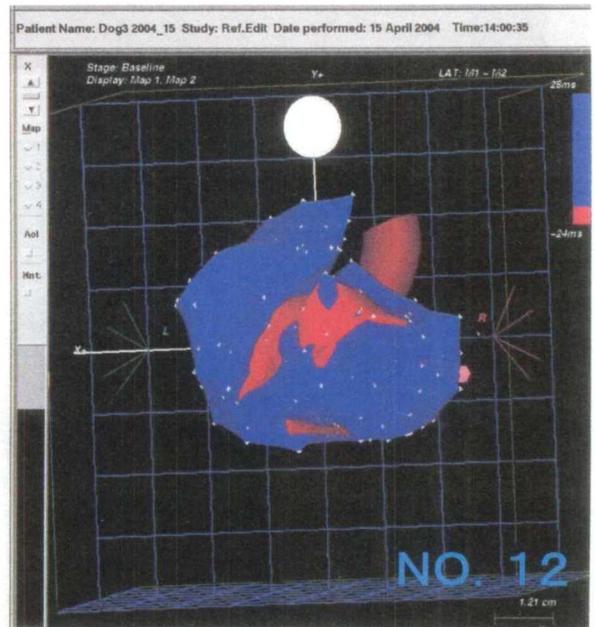
对照犬



NO. 9



NO. 11



NO. 12

Fig 23 生後21ヶ月齢におけるプロパゲーションマップ
对照犬(NO.9) CXMD_J(NO.11、12)

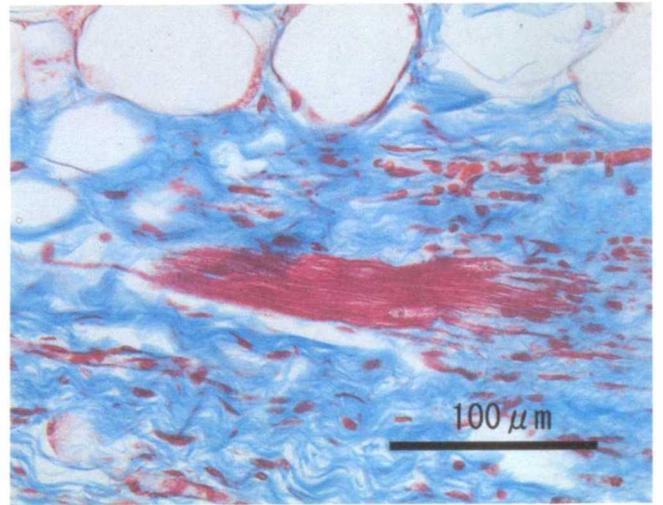
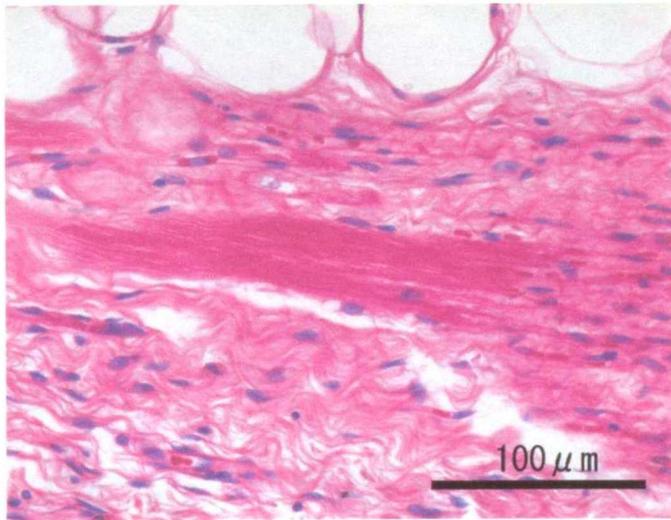
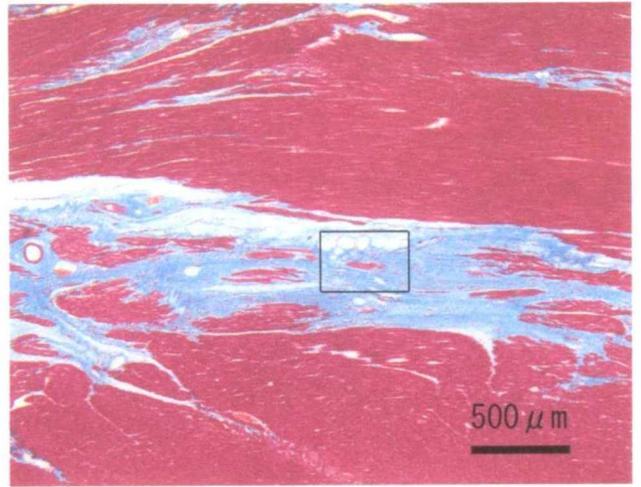
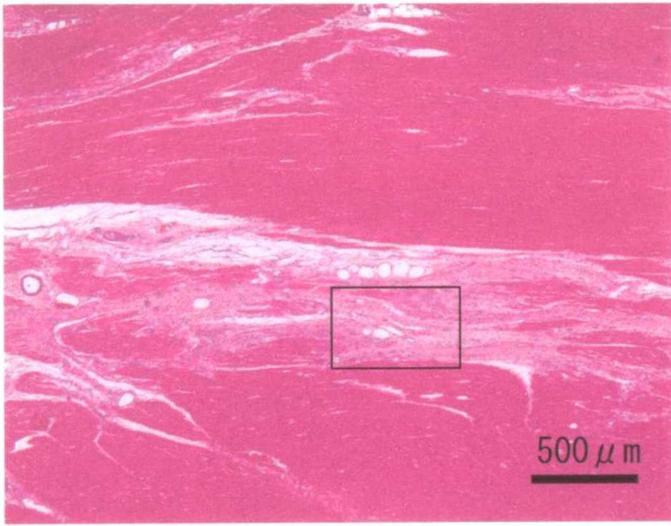


Fig 24 CXMD_Jの肉眼所見および病理組織学的検査所見
固有心筋における線維化が明瞭
下段は上段口部の拡大像

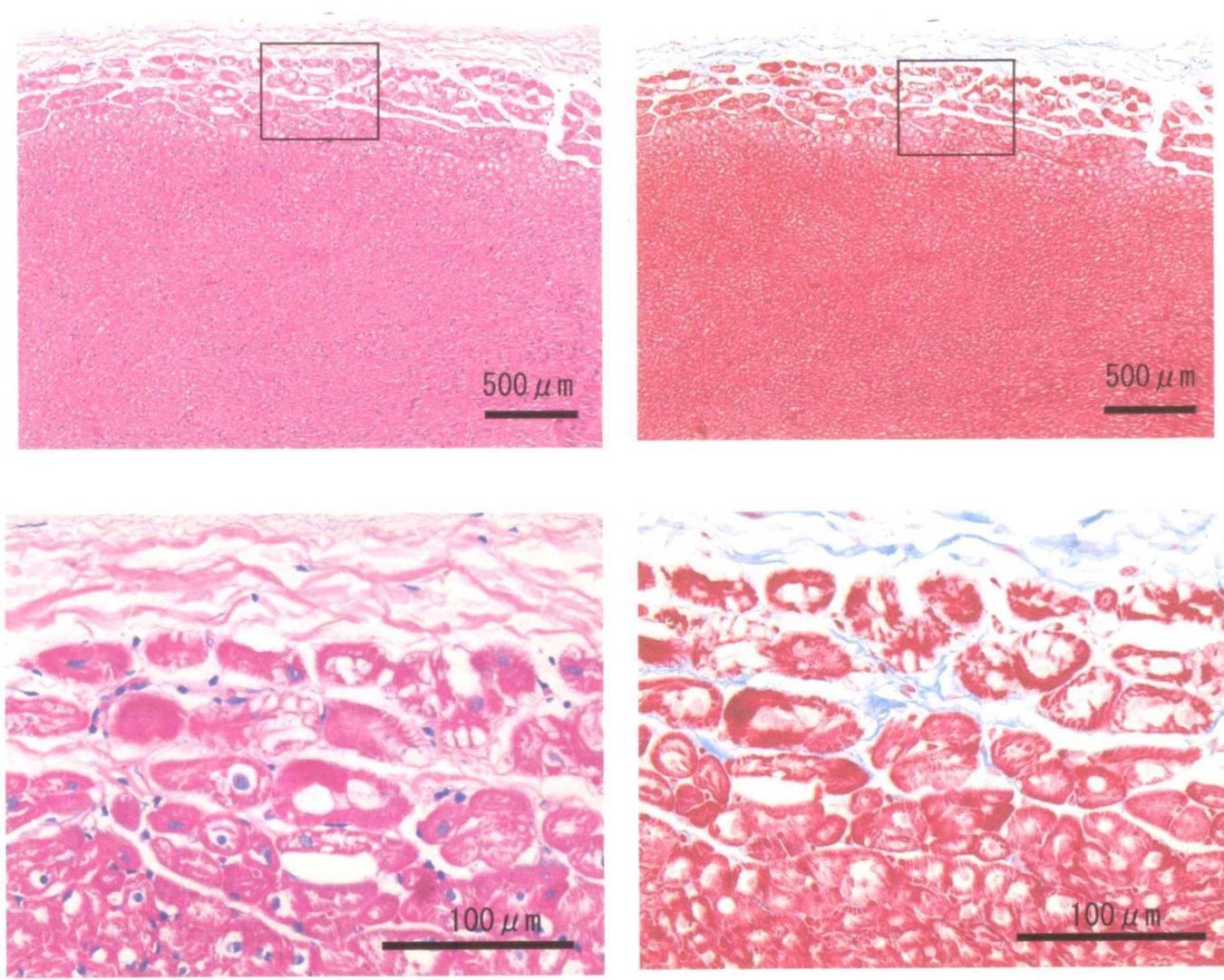


Fig 25 CXMD_Jにおける病理組織学的検査所見
(プルキンエ線維)

空胞変性、核濃縮および間質線維化が明瞭
下段は上段口部拡大像

Characterization of Cardiomyopathy in Canine X-linked Muscular Dystrophy in Japan

Duchenne muscular dystrophy (DMD) is a hereditary disorder in human characterized by progressive muscular degeneration and necrosis. Clinically, it is marked by progressive muscular atrophy and weakness. DMD is caused by a mutation in a gene for a cytoskeletal protein called dystrophin, resulting in dysfunctional or deficient protein. Dystrophin is a key structure in the dystrophin-glycoprotein complex (DGC). The loss of dystrophin thus leads to destruction of the DGC in the sarcolemma, which in turn initiates a cascade of events in skeletal and cardiac myocytes, including membrane damages during muscle contraction, cellular destruction and replacement by fibrosis and fatty infiltration.

The clinical manifestation includes abnormal gait due to muscle weakness and atrophy, difficulty walking, respiratory insufficiency and reduced cardiac function. These symptoms advance gradually and progressively, and in most patients death occurs unexpectedly at a young age or dead typically from respiratory failure, pneumonia or chronic cardiac failure. Recent advancements in medicine have reduced the risk of death from respiratory failure and prolonged the life span of DMD patients. On the other hand, cardiac failure is still the primary cause of death in DMD, as it is treated only conservatively. As such, development of a better animal model of DMD and characterization of cardiomyopathy in the model are promising approaches for pathophysiological understanding and development of therapeutic options for cardiac dysfunction in DMD. Further, these studies have a future potential in companion animal medicine to contribute to the therapy of canine X-linked muscular dystrophy (CXMD), which shares the same genetic background with DMD. To this end, the clinical and pathological presentations of cardiac dysfunction were characterized in dogs with Japanese CXMD (CXMD_J) in this study.

Although CXMD_J shares the same genetic background with DMD, its phenotype is ill defined. In Chapter 2, the phenotype of CXMD_J, *i.e.*, clinical symptoms and cardiac function, was examined in dogs with CXMD_J. In Chapter 3, to understand

the course of cardiac alteration in CXMD_J, postnatal development of cardiomyopathy was followed in dogs with CXMD_J until 21 months of age. In Chapter 4, electrophysiological and histopathological studies were performed to analyze the results in Chapters 2 and 3 and to understand the pathology of cardiomyopathy in more detail. The results of this study provided a clue to the pathogenesis of cardiomyopathy in CXMD_J and demonstrated the usefulness of CXMD_J as an animal model of DMD.

Chapter 2: Evaluation of clinical symptoms and cardiac function in CXMD_J

On average, DMD patients develop clinical symptoms at 1.5 years of age and are diagnosed by age 5. Skeletal muscle degeneration generally starts as weakness or atrophy in the pelvic muscle and quadriceps and spreads to the shoulder blade and upper limbs. These symptoms are typically accompanied by pseudohypertrophy of calf muscles. By the age of 10, most patients lose ability to walk and often develop macroglossia and thoracic deformity, which are followed by respiratory muscle disorder and cardiomyopathy. Electrocardiogram (ECG) demonstrates abnormalities such as sinus tachycardia and deep, narrow Q waves in lead I, aVL, V5 and V6. Echocardiography may reveal a high-echo density in the left ventricular posterior wall. In this part of the study, physical examination, ECG and echocardiography were performed in dogs with CXMD_J at 5, 7 and 10 months of age. At 5 months, the dogs had already developed macroglossia, sialorrhea and atrophy in the temporal muscles. At 7 months, abnormal vocalization and muscle contractures in the proximal limbs were observed. There was no further progression in clinical symptoms at 10 months of age. ECG revealed deep Q waves at 5 months and an increased Q/R ratio in lead II, III and aVF. In one dog, a high-echo region was found near the left ventricular papillary muscle by echocardiography. These results indicated that clinical manifestations of CXMD_J were very similar to those of GRMD.

Chapter 3: Time course analysis of clinical development and the onset of cardiomyopathy in CXMD_J

In Chapter 2, clinical, ECG and echocardiographic analyses outlined the course and manifestations of CXMD_J and indicated that these findings were similar to those of GRMD. In this chapter, the earlier development of CXMD_J was followed in further detail. As a result, clinical symptoms appeared as early as 3 months of age and

progressively developed until about 6 months. Thereafter, the symptoms remained stable. ECG showed deep Q waves and increased Q/R in lead II, III and AVF from 7 weeks of age. No morphological abnormality or cardiac dysfunction was found by echocardiography. A heart rate variability analysis of 24-hr ECG at the age of 5, 8, 12 and 17 months showed continuously elevated heart rates as well as frequent incidences of ventricular arrhythmia in dogs with CXMD_J compared to the control dogs. In addition, dogs with CXMD_J showed smaller diurnal variability in the average high frequency power (HF), and the low frequency/high frequency (LF/HF) ratio was decreased during the day and increased at night. These findings were also similar to those in DMD and were indicative of disturbance in the autonomic nervous function. From these results, it was found that clinical symptoms and abnormal ECG readings appeared as early as 3 months old in CXMD_J. Furthermore, early asymptomatic myocardial abnormalities were detected by heart rate variability analysis, which implicated autonomic nervous dysfunction, as well as by ECG and blood test as forms of arrhythmia.

Chapter 4: Analysis of ventricular impulse propagation in CXMD_J using the CARTO system

The analyses in Chapter 2 and 3 elucidated the timing of the onset of clinical symptoms and ECG abnormalities in dogs with CXMD_J. These studies also revealed autonomic disturbance, which had not been reported previously. However, the link between the ECG abnormalities and cardiomyopathy remains to be studied. To determine the cause of observed ECG abnormalities, the cardiac electrophysiology of CXMD_J was analyzed using the CARTO system in this chapter. Autopsy was also performed for histopathological analysis. The CARTO analysis performed in the control dogs and CXMD_J dogs at 5, 9 and 21 months of age revealed a difference in ventricular impulse conduction between these dogs. In the control dogs at 5 and 9 months, the action potentials started from the interventricular septum and spread to the left ventricular free wall, the apex and to the right ventricle. The impulse terminated in the cardiac base. This sequence of ventricular electric activation was similar to that of healthy adult dogs. However, in 5- and 9-month-old dogs with CXMD_J, the ventricular impulse was initiated at the cranial region of the left ventricular free wall, not at the interventricular septum. The impulse then bifurcated to the apex and to the interventricular septum, indicating that the mode of ventricular electric conduction is different from that of the control dogs. At 21 months of age, the control dogs showed

similarly normal impulse propagation in the ventricles. In 21-month-old CXMD_J dogs impulse conduction was different from those observed at 5 and 9 months and delayed in island-shaped regions along the lateral side of the left ventricular free wall. These observations suggested that, in CXMD_J, the impulse traveling from the left ventricular free wall to the interventricular septum was responsible for deep Q waves observed by ECG.

By histopathological analysis, no degeneration was found in ordinary cardiac muscle fibers in young CXMD_J dogs. However, fiber degeneration was evident in CXMD_J dogs older than 15 months. In contrast, degeneration of specialized cardiac fibers (*i.e.*, Purkinje fibers) was observed at 5 months of age. Together, the delayed impulse conduction in the left ventricle in 21-month-old CXMD_J dogs was thought to be a consequence of altered vector potentials due to degeneration in ordinary cardiac muscle fibers and Purkinje fibers

Conclusion and Prospectus

The present study confirmed that clinical presentations and ECG abnormalities in CXMD_J closely resemble to those of GRMD. A novel form of abnormality in ECG, autonomic disturbance were also found during early development of CXMD_J. Further, cardiac impulse conduction is altered in CXMD_J, and histopathological examination revealed degeneration of Purkinje fibers. These characteristics are novel and have not been reported in previous studies of DMD, Golden Retriever muscular dystrophy (GRMD) and CXMD. The study demonstrated that CXMD_J is an excellent animal model for characterization of DMD pathology, especially for pathogenesis of clinically important cardiomyopathy. The model is also promising in understanding the pathology of CXMD in veterinary medicine.