

猫の肥大型心筋症の診断と治療に関する研究  
Study of diagnosis and management in cats with  
hypertrophic cardiomyopathy

2016年3月

麻布大学大学院 獣医学研究科

獣医学専攻 博士課程

獣医診断治療学 獣医外科学

DV1205 杉本 佳介

## 論文要旨

### 【第1章】緒言

猫で最も多く認められる心疾患は心筋症である。心筋症の中でも、肥大型心筋症（以下 HCM）の発症が多いとされている。しかしながら、猫の HCM に対する診断および治療はいまだ十分に確立されていないのが現状である。このことから、本研究は猫の HCM の診断および治療の確立を目的に、特に早期診断、内科治療に注目し検討することとした。

### 【第2章】猫の心筋症の診断および病態に関する検討

#### 第1項 心拍数が左心室壁厚・内腔径に与える影響

〔目的〕猫では、心エコーで拡張末期左心室壁厚が 6mm を越え、かつ代償性肥大が除外された場合に HCM と診断される。一方、猫では緊張・興奮などにより心拍数が大きく変動することが知られており、心拍数の変化に伴い拡張期時間が変動した場合、壁厚もその影響を受けることが予想されるが、これについて今まで検討されていない。そこで、本研究では心拍数の心エコー図検査値に及ぼす影響を検討することを目的とし、心拍数変動に伴う左心室壁厚・内腔径の変化を評価した。

〔方法〕実験には临床上正常な実験猫 6 頭を用いた。全身麻酔下で左頸静脈より右心房にペーシングリードを挿入し、特定の心拍数を維持できるようにした。心拍数の設定は 10bpm きざみで 120~180bpm まで、計 8 群を設定し、個々の猫ごとに群の順序をランダムに変化させ、左心室拡張末期壁厚および左心室拡張末期径を測定した。

〔結果および小括〕心拍数の増加に伴い壁厚は有意に増大し、左心室内腔径は有

意に縮小した。このことから、心拍数は壁厚の測定値に影響を与える因子であることが明らかとなった。以上より、壁厚の測定は HCM の診断に必要不可欠であるものの、心拍数を考慮する必要がある、したがって壁厚だけに頼る診断方法には限界があることが示唆された。そこで、形態（壁厚）のみならず心機能などその他の評価法との総合判断が必要であると考えられた。

## 第 2 項 HCM 症例における心機能評価

〔目的〕猫の HCM の診断には形態の把握、すなわち心エコー図検査による壁厚の測定が重要であるが、初期の病態では、壁厚がボーダーラインであることや、第一項での実験で示されたような検査値に影響を及ぼす因子の関与があることが現在の問題点である。HCM では拡張機能が低下するとされているが、これまでの報告ではどの心エコー指標が適切でかつ猫で評価可能なのか不明であった。そこで本項では本疾患に罹患した猫の早期診断法の確立を目的とし、壁厚のみならず心機能評価を行い比較検討した。

〔方法〕麻布大学附属動物病院に来院した HCM 猫のうち、左房拡大の認められない症例に対し、組織ドプラ法（以下 TDI）とスペックルトラッキングエコー法（以下 STE）を用い心機能検査を行った。症例は全周性肥大群（以下 D-HCM 群、5 例）と中隔壁のみ肥大している部分壁肥大群（以下 S-HCM 群、17 例）に分類し、正常群（临床上正常である猫 13 頭）と比較検討した。

〔結果および小括〕S-HCM 群、D-HCM 群の長軸方向の拡張期 strain rate において、Global と全ての分画で有意な低下が認められ、TDI で拡張機能の低下が明らかでない場合でも STE では拡張機能の低下が評価可能であることが明らかとなった。さらに、S-HCM 群と D-HCM 群間では有意差は認められなかったことから、HCM では病態初期より肥大している心筋だけではなく、肥大していない心

筋でも拡張機能が低下していることが示唆された。

### 第3項 HCM 症例における左心房拡大と左心室機能の関連について

〔目的〕HCM では拡張機能の低下によって左心房の拡大が進行することが知られている。第二項では猫のHCM では病態初期より左心室全体で拡張機能が低下していることが明らかとなったが、拡張機能が著しく低下している症例でも左心房の拡大は認められなかった。そのことから、本項ではHCM における左心房拡大と左心室の拡張機能との関連について明らかにすることを目的とし、経時的に心機能評価を行い、左心室の拡張機能低下と左心房拡大の関連を調べた。

〔方法〕麻布大学附属動物病院に来院し、HCM と診断された症例で、半年以上の追跡調査が可能であった症例を用い、TDI、STE を用い心機能評価を行った。症例は初診時に左心房の拡大が認められず、追跡期間に左心房の拡大が認められた左心房拡大群(6例)と期間中に拡大が認められなかった左心房非拡大群(14例)に分類し、比較検討を行った。

〔結果および小括〕両群共に初診時の心機能に差は認められなかった。左心房非拡大群では再診時に心機能の変化は認められなかった。左心房拡大群では、再診時に心房収縮期 strain rate の有意な低下が認められたが、拡張期 strain rate に変化は認められなかった。このことから、猫のHCM における左心房の拡大は左心室の拡張機能の低下だけではなく、左心房の機能低下も関連している可能性が示唆された。

## 【第3章】猫の心筋症の治療に関する研究

### 第1項 各種ACE阻害剤による血清ACE活性阻害率、降圧作用の比較

〔目的〕猫の心筋症では、心不全時にアンジオテンシン変換酵素阻害剤（以下 ACE 阻害剤）の投与が有用であるとされている。現在、日本では数種類の ACE 阻害剤が販売されているが、猫に投与する場合どの薬剤がより効果的で有用であるか定かではない。そこで本実験では、代表的な ACE 阻害剤間において血清 ACE 活性阻害率および降圧作用に差があるかどうか検討することとした。

〔方法〕正常実験猫 6 頭を用い、クロスオーバー試験とした。ACE 阻害剤はベナゼプリル、エナラプリル、アラセプリルを用いた。投与は単回とし、血清 ACE 活性阻害率、および血圧測定を投与前、投与後 2、4、6、8、12、24、36、48、72 時間後に行った。

〔結果および小括〕全ての薬剤において 24 時間後の血清 ACE 活性阻害率は 50% 以上を示し、効果的な血清 ACE 活性の阻害が認められた。特にベナゼプリル群で他群と比較して有意な血清 ACE 活性の阻害が認められた。血圧に群間、投与時間において有意差は認められなかった。

本実験からどの薬剤も良好な血清 ACE 活性阻害率を呈していることが示された。しかし血清中と組織中の ACE 活性は同一ではない可能性がある。すなわち実際の血圧上昇機構の抑制を伴うかどうかは不明である。そこで実際の薬効を評価するため、以下の第二項の実験を実施した。

## 第 2 項 血清 ACE 活性阻害下におけるアンジオテンシン I 投与に対する血圧の変化（昇圧機構阻害作用）について

〔目的〕血清中の ACE 活性阻害率と実際の薬効との関連性を解明することを目的とし、ACE 阻害剤投与後、アンジオテンシン I 投与による昇圧作用がどの程度抑制されるか検討した。

〔方法〕正常実験猫 10 頭を用い、クロスオーバー試験とした。ACE 阻害剤はベ

ナゼプリルとアラセプリルを用い、1週間連続で経口投与を行った。最終投与より24時間後に全身麻酔下で観血的に血圧の測定を行ったうえでアンジオテンシンIを投与し、昇圧反応を比較した。

〔結果および小括〕両群共に昇圧の抑制程度に一定の傾向は認められず、血清中のACE活性阻害率と昇圧反応に相関は認められなかった。このことから、血清ACE阻害率と実際の薬効は必ずしも相関しないことが示された。

### 第3項 個体ごとのアンジオテンシン受容体、ACE、キマーゼの差異について

〔目的〕第二項において血清ACE阻害率と実際の薬効が相関しない理由として、個体ごとのアンジオテンシン受容体(AT-1受容体)の差異や、ACE阻害剤の組織移行性の差異などがあると仮説を立てた。そこで、本項では個体ごとのAT-1受容体、ACE、キマーゼの遺伝的差異についての検討を行うことを目的とし、遺伝子配列の比較を行った。

〔方法〕正常実験猫10頭を用い、全血からゲノムDNAの抽出を行った。AT-1受容体、ACE、キマーゼの各エクソン領域をダイレクトシーケンス法により解析を行い、個体ごとに比較を行った。

〔結果および小括〕AT-1受容体、ACE、キマーゼの各エクソン領域に個体ごとで多型性は認められなかった。このことから、血清ACE阻害率と薬効が相関しない理由として、これらの遺伝的差異ではなく、受容体のタンパク質発現量の違いやACE阻害剤の組織移行性の差異などその他の要因が関連している可能性があると思われた。

## 【第4章】総括

猫のHCMでは、心エコー検査による心臓の形態評価が診断の上で重要とされ

ているが、形態は様々な因子に左右される。本研究では、心拍数もその因子のひとつであり、形態のみに依存する診断法には限界があることを指摘した。そこで診断に心機能検査を加えることで診断が向上するのではないかと考え、初期の病態と思われる HCM 症例の拡張機能を評価した。その結果病態初期より、肥大している心筋だけではなく肥大していない心筋でも拡張機能が低下していることが明らかとなった。さらに、病態の進行とともに認められる左心房の拡大は、左心室の拡張機能の低下に加え、左心房機能の低下が関与していることが明らかとなった。心機能評価、特に拡張機能に関しては、TDI よりも STE のほうが検査法として有用であることも見出された。

猫の心筋症の治療で汎用されている ACE 阻害薬を数種類比較したところ、血清 ACE 活性阻害率に有意な差はあるものの、全ての薬剤投与後に良好な血清 ACE 活性の阻害が確認された。しかしながら、血清 ACE 活性阻害率と昇圧機構阻害作用の間に明らかな関連性は見出されなかった。この理由として、猫の AT-1 受容体、ACE、キマーゼに多型性があるかどうか評価したが、差異は認められなかった。

## **Abstract**

### **Chapter 1 Introduction**

Cardiomyopathy is one of the common heart diseases in cats, and hypertrophic cardiomyopathy (HCM) is the most common type of cardiomyopathy. However, diagnosis and management of HCM in cats are still controversial. The aims of this study were to establish diagnostics and treatment methods, especially early diagnosis and medical management in cats with HCM.

### **Chapter 2 Diagnosis and pathophysiology in cats with HCM**

#### **Paragraph 1 Influence of alternations in heart rate on left ventricular echocardiographic measurements in healthy cats**

**Background** : Diagnosis of left ventricular (LV) hypertrophy is made when the interventricular septum (IVS) thickness and/or left ventricular free wall (LVFW) thickness at the end-diastole was 6 mm or more on echocardiography under the absence of pressure overload or systemic diseases known to cause LV hypertrophy. Therefore, morphologic assessment by echocardiography is very important to make a tentative diagnose in cats with HCM.

Heart rate (HR) was known to be greatly changed due to excitement in cats. It had been reported that HR influenced ventricular size, and inverse correlation between HR and LV size was found in healthy cats. However, degree of changes in LV wall thickness due to sudden changes of HR has not been assessed in cats yet. We hypothesized that when HR increased, resulting in shortening of diastolic period, LV thickness at the end-diastole increased. The purpose of this study was to evaluate the effect of sudden alternations in HR on left ventricular wall thickness and dimension determined by echocardiography in



healthy cats.

**Methods:** Six experimental cats were used. All cats were anesthetized and HR was controlled with right atrial pacing. The interventricular septum, left ventricular free wall thickness at the end-diastole (IVSd and LVFWd, respectively), left ventricular end-diastolic and end-systolic diameter (LVIDd and LVIDs, respectively) and shortening fraction (FS) of each cat was assessed using echocardiography at pacing rates of 120, 130, 140, 150, 160, 170 and 180 ppm.

**Results:** There was a significant positive correlation between wall thickness or FS and HR, and there were significant negative correlations between LVIDd or LVIDs and HR.

**Conclusion:** Wall thickness and LV dimensions were significantly influenced by sudden changes in HR. The wall thickness could have been overestimated or underestimated by alternations in HR. The echocardiographic changes may be sufficient to confound the diagnosis or severity assessment of HCM in some cats.

## **Paragraph 2 Assessment of left ventricular diastolic function using TDI and STE in cats with HCM**

**Background:** Echocardiography is one of important examinations to diagnose HCM in cats. As indicated above, morphological assessment would not be sufficient to make a diagnosis since wall thickness was known to be influenced by many factors including sudden changes in HR.

HCM in cats is characterized by both diastolic and systolic dysfunction. Although impaired cardiac function detected by tissue Doppler imaging (TDI) in cats with HCM was previously reported, reference ranges of TDI in normal cats and cats with HCM have been reported as widely variable. Two-dimensional speckle tracking echocardiography

(STE) was useful for assessment of cardiac function in human patients with HCM, but clinical utility was not known in cats. The aim of this study was to assess global and segmental LV myocardial function using STE in cats with HCM whose TDI variables were within the reference range.

**Methods:** A total of 35 cats of different breeds were enrolled in this study. The HCM group (n=22) included cats diagnosed as HCM without left atrial enlargement and with normal TDI measurements. HCM cats were further divided into a segmental hypertrophy (S-HCM) group and a diffuse hypertrophy (D-HCM) group. The control group consisted of 13 clinically healthy cats. No cats in any group showed any clinical symptoms. Conventional echocardiography, TDI, and global and segmental STE indices were evaluated and compared between groups.

**Results:** Only the longitudinal strain rate during early diastole was significantly decreased in both HCM groups, even in all segments including those without hypertrophy in S-HCM group.

**Conclusion:** This study suggests that STE parameters are the more sensitive variables compared with conventional TDI parameters to detect early myocardial diastolic dysfunction in cats with HCM.

### **Paragraph 3 Relationship between left ventricular dysfunction and left atrial enlargement**

**Background:** Although it was hypothesized that LV diastolic dysfunction resulted in LA enlargement, Left atrial (LA) enlargement is not always seen in cats with impaired diastolic function. The purpose of this study was to assess the correlation between LV dysfunction and LA enlargement.

**Methods:** Total 20 cats enabling to follow-up more than six months were enrolled in this study. All cats were diagnosed as HCM without left atrial enlargement at the first visit. Physical examination and echocardiography was performed at recheck examination to assess cardiac function including LA size. The cats were divided into 2 groups on the basis of LA size at the recheck examination; the cats with LA enlargement (LAD group, n = 6) and the cats without LA enlargement group (no LAD group, n = 14). Conventional echocardiography, TDI, and STE indices were evaluated and compared between groups.

**Results:** There were not significant differences in cardiac function at the first medical examination between both groups. There was no significant difference in cardiac function between first and recheck examination in no LAD group. On the other hand, the strain rate at atrial systole was significantly decreased in recheck examination in LAD group compared with that of first examination, despite the strain rate at early diastole was not significantly decreased at recheck examination compared with that of first examination.

**Conclusion:** This study suggested that LA enlargement was possibly relating to LA dysfunction in addition to LV diastolic dysfunction. Accurate assessment of LA function in cats would be helpful to assess the progression of disease process in cats with HCM.

### **Chapter 3 Studies of medical treatments in cats**

#### **Paragraph 1 Pharmacodynamics of angiotensin converting enzyme inhibitor in healthy cats**

**Background :** Angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors are one of the most commonly used medications in veterinary medicine for chronic cardiovascular disease. Several ACE inhibitor are available in Japan, however, it is not clear which ACE inhibitor

is more effective and useful for cats. The aims of this study were to investigate the differences of pharmacodynamics among the ACE inhibitors in cats.

**Methods:** Six experimental cats were used. Each cat received a single dose of benazepril, enalapril or alacepril orally at a dosage of 0.5 mg/kg, 1 mg/kg and 3 mg/kg, respectively. Blood samples were collected before administration, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 36, 48 and 72 h after administration to measure serum ACE activity. Systolic blood pressure (SBP) was also measured at the same time point.

**Results:** Inhibition of ACE activity was seen, and more than 50% of inhibition rate was sustained for 24 h in all ACE inhibitors. The inhibitory rate of serum ACE activity in Benazepril group was significantly higher, compared with enalapril and alacepril groups. There were no significant differences in SBP among groups at any time-point.

**Conclusion:** ACE activity was favorably inhibited in all ACE inhibitors.

Although ACE activity at the blood level was suppressed, tissue level inhibition may not be equally suppressed since differences of renin-angiotensin-aldosterone system between plasma and tissues in cats were reported. Therefore following experiment was conducted to assess the pharmacokinetics of ACE inhibitor.

## **Paragraph 2 Attenuation of the pressor response to exogenous angiotensin by ACE inhibitors in healthy cats**

**Background :** The aims of this study was to compare the attenuation of the angiotensin I-induced blood pressure response by ACE inhibitor administration.

**Methods:** Ten experimental cats were administered either placebo, benazepril or alacepril once daily for 7 days orally. Twenty-four hours after last administration, each cat was generally anesthetized, and direct arterial blood pressure measurements were

recorded before and after IV administration of each 3 boluses of angiotensin I (20, 100 and 500ng/kg). Differences in the angiotensin I-induced change in blood pressure among different ACE inhibitors and correlation between the inhibitory rate of serum ACE activity and pressor response were determined.

**Results:** There was no certain tendency in blood pressure response in any ACE inhibitors. There was not significant correlation between the inhibitory rate of serum ACE activity and pressor response.

**Conclusion:** There was no correlation between inhibitory rate of serum ACE activity and pressor response.

### **Paragraph 3 Assessment of polymorphism of angiotensin II type 1 receptor, ACE and chymase in cats**

**Background :** The reason why the difference between serum ACE activity and pharmacodynamics of ACE inhibitor was unclear. We hypothesized that the reasons could be the polymorphisms of angiotensin receptor (AT-1 receptor), or differences of ACE inhibitor transferability to tissues, etc. The aim of this study was to assess the gene polymorphisms of AT-1 receptor, ACE and chymase for each individual cats.

**Materials:** Ten experimental cats were used. They are the same cats used in the previous study (Chapter 3, paragraph 2). Genomic DNA samples were prepared from whole blood samples. We perform genetic polymorphism analysis using direct sequencing for these exons of the AT-1 receptor, ACE and chymase.

**Results:** No polymorphisms were identified within these genes.

**Conclusion:** The reason for the difference between serum ACE activity and drug efficacy (blood pressure suppression) was not due to the genetic polymorphism. Further

study was warranted to investigate other factors, including for example, differences of expression amount of gene, ACE inhibitor transferability to tissues, and so on.

#### **Chapter 4 Summary**

Although morphologic assessment by echocardiography is very important to make a tentative diagnose in cats with HCM, it is influenced by various factors. This study revealed that HR was one of the factors to influence LV wall thickness, therefore diagnosis only on the basis of morphological feature is not appropriate to make an accurate diagnosis. Accordingly, this study demonstrated that diagnostic accuracy was improved by adding the assessment of diastolic function in cats with preclinical HCM. Diastolic function was significantly decreased in all segments including those without hypertrophy. Moreover, LA enlargement observed as disease progresses was caused by LA dysfunction in addition to LV diastolic dysfunction. STE is the more useful modality compared with conventional TDI to detect early myocardial dysfunction.

ACE inhibitors were often used in cats with HCM. Several ACE inhibitors were available in Japan. Although there were significant differences among ACE inhibitors, this study confirmed that they were effectively inhibited serum ACE activity in healthy cats. On the other hand, the inhibitory rate of serum ACE activity was not correlated with efficacy (suppression of blood pressure raise after administration of Angiotensin I) of ACE inhibitor. The reason for the difference was not due to the genetic polymorphism of AT-1 receptor, ACE and chymase.

## 目次

<b>第1章 諸言</b>	・・・ 17
<b>第2章 猫の心筋症の診断および病態に関する検討</b>	
第1節 心拍数が左心室壁厚・内腔径に与える影響	・・・ 19
第1項 背景および目的	
第2項 実験方法	
第3項 結果	
第4項 考察	
第5項 小括	
第2節 HCM 症例における心機能評価	・・・ 29
第1項 背景および目的	
第2項 実験方法	
第3項 結果	
第4項 考察	
第5項 小括	
第3節 HCM 症例における左心房拡大と左心室機能の関連について	・・・ 40
第1項 背景および目的	
第2項 実験方法	
第3項 結果	
第4項 考察	
第5項 小括	
<b>第3章 猫の心筋症の治療に関する研究</b>	
第1節 各種 ACE 阻害剤による血清 ACE 活性阻害率、降圧作用の比較	・・・ 46
第1項 背景および目的	
第2項 実験方法	
第3項 結果	
第4項 考察	
第5項 小括	

第2節 血清ACE活性阻害下におけるアンジオテンシンI投与に対する血圧の変化（昇圧阻害作用）について	・・・52
第1項 背景および目的	
第2項 実験方法	
第3項 結果	
第4項 考察	
第5項 小括	
第3節 個体ごとのアンジオテンシン受容体、ACE、キマーゼの差異について	・・・59
第1項 背景および目的	
第2項 実験方法	
第3項 結果	
第4項 考察	
第5項 小括	
第4章 結語	・・・62
謝辞	・・・65
参考文献	・・・49
Tables	・・・81
Figures	・・・100



## 第1章 諸言

猫で最もよく認められる心疾患は心筋症である。心筋症の中でも肥大型心筋症（Hypertrophic cardiomyopathy：以下 HCM）が最も多く認められるとされている<sup>1</sup>。

HCMは心筋肥大をおこす原因となる高血圧などの疾患がないにもかかわらず、心筋肥大が起こる心筋症であり、左室心筋の肥大に伴って生じる拡張機能障害を特徴とする<sup>2</sup>。HCMは左心室の流出路障害を伴う閉塞性肥大型心筋症（Hypertrophic Obstructive Cardiomyopathy：以下 HOCM）と流出路障害を伴わない非閉塞性肥大型心筋症（Hypertrophic Non-obstructive Cardiomyopathy：以下 HNCM）に分類される。

医療では HCM の診断は心エコー図検査に加え、遺伝子診断<sup>3</sup>や心内膜心筋生検<sup>4</sup>、核医学検査が合わせて行われ、確定診断が可能である。遺伝子診断では、HCMの原因遺伝子として、心筋トロポニン、心筋βミオシン重鎖に加え、その他にも1000種類以上のHCMに関連する遺伝子が発見されている<sup>5</sup>。心内膜心筋生検はHCMの特徴的な病理学的変化である心筋細胞の肥大や、心筋の錯綜配列の有無の診断が可能であり、核医学検査は心筋血流や心筋代謝、心筋交感神経機能の評価が可能であるため<sup>6</sup>、予後の推定に有用とされている<sup>7</sup>。

猫のHCMの診断は、心エコー図検査を主とする画像診断で行われる。心エコー図検査において左心室の中隔壁または自由壁の拡張末期壁厚が50%以上の範囲で5.5mm<sup>8</sup>または6.0mm<sup>9</sup>を超える場合心筋肥大と診断され、さらに代償性に心筋肥大を起こす甲状腺機能亢進症、大動脈弁狭窄症、高血圧、末端肥大症などの疾患や、脱水による偽肥大が除外された場合、HCMと仮診断される<sup>10,11</sup>。確定診断には医療で行われている遺伝子検査や心内膜心筋生検、核医学検査が必

要となる。しかし、猫では心筋肥大に関連する遺伝子の報告は少なく<sup>12,13</sup>、遺伝子検査は感度特異度の低い検査である。さらに、心内膜心筋生検や核医学検査は猫の場合麻酔が必要となるため、一般的には行われていない。近年では NT-pro-BNP や心筋トロポニン I などのバイオマーカーが注目されているが<sup>14,15</sup>、メインクーン種の無徴候 HCM ではこれらのマーカーと HCM の重症度との相関が認められなかったとされており<sup>16</sup>、全ての猫で診断に有用かは定かではない。以上のように、猫の HCM の診断は画像診断による形態評価が主であり、組織学的、遺伝学的に確定診断されたものではない。

HCM の治療は、医療では薬物療法と非薬物療法の両方が行われている。薬物療法ではアテノロールなどの  $\beta$  遮断薬、ジルチアゼムやベラパミルなどのカルシウムチャンネルブロッカー、抗不整脈薬が主に使用されており、症状や病態によって治療方法が確立されている。アテノロールは陰性変力作用と心拍数の減少作用を有し、これによる拡張時間の延長によって左室拡張末期圧の上昇を抑制することが知られており、無症状から中程度の有症状の患者や HOCM 患者に使用されている<sup>17</sup>。カルシウムチャンネルブロッカーは投与によって拡張機能の改善や<sup>18</sup>、運動不耐性の改善<sup>19</sup>、心筋虚血の改善<sup>20</sup>が認められるとされており、無症状から心不全まで様々な病態の HOCM 患者に用いられている。非薬物療法ではアブレーションなどのカテーテル治療や心筋の外科的切除が行われている。失神などの徴候を伴う重度の心房細動や発作性上室頻拍などの不整脈に対してはアブレーション治療が行われる。HOCM に対しては流出路を切除し拡張する外科治療や、高濃度のエタノールを注入し標的心筋領域を壊死させる経皮的な中隔心筋焼灼術が行われており、それらにより生存期間の延長や運動能力の向上など症状の緩和や拡張機能が改善したとされている<sup>21-23</sup>。

猫の HCM には確立した治療方法はなく、病態ごとで様々な検討が行われてい

る。無徴候の場合、HOCM には一般的にヒトと同様にアテノロールなどの  $\beta$  遮断薬の投与が行われる場合がある。しかしながら、近年の研究では無徴候の HCM にアテノロールを投与しても 5 年間生存率に影響せず<sup>24</sup>、NT-pro-BNP も減少しなかったなど<sup>25</sup>、猫におけるアテノロールの有用性は明らかではない。さらに、無徴候の HCM で、スピロラクトン<sup>26</sup> やラミプリル<sup>27</sup> の投与による拡張機能への影響が検討されてきたが、どちらの薬剤の投与によっても拡張機能の回復は認められておらず、有効性は明らかではない。心不全の症例に対する治療に関しても、 $\beta$  遮断薬やカルシウムチャネルブロッカー、アンジオテンシン変換酵素阻害剤 (Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor : 以下 ACE 阻害剤) など様々な薬剤の検討が行われている。ベラパミル、ジルチアゼム、プロプラノロールによる治療を比較した研究では、ジルチアゼムの有効性が述べられており<sup>28</sup>、他の研究では ACE 阻害剤による生存期間の延長や<sup>29</sup>、近年ではピモベンダンの生存期間に対する有効性が報告されている<sup>30</sup>。心不全では拡張機能だけではなく収縮機能も低下するため<sup>31</sup>、 $\beta$  遮断薬やカルシウムチャネルブロッカーなど陰性変力作用を有する薬剤では、さらに収縮機能を低下させる恐れがある。さらに、HOCM では強心剤の使用は流出路狭窄を悪化させるため、使用は禁忌とされており、これらの薬剤の適応となる病態、時期は慎重に判断しなければならない。また、猫では医療で行われているような非薬物療法の報告はない。このように、猫の HCM の治療は薬物療法が主であり、幾つかの薬剤で有用な報告が行われているが、治療方法の確立には至っていない。

以上のように、猫の HCM は好発の心疾患であるものの、診断、治療方法は現在のところ確立されていない。そのため、本研究は猫の HCM の診断および治療法の確立を目的に、特に早期診断、内科治療に注目し検討することとした。第 2 章では心エコー図検査における心筋症の診断および病態に関する検討を行い、

第3章では猫の心筋症の治療に関する研究を行った。

## 第2章 猫の心筋症の診断および病態に関する検討

### 第1節 心拍数が左心室壁厚・内腔径に与える影響

#### 第1項 背景および目的

ヒトにおける HCM の診断は心電図検査、胸部 X 線検査及び心エコー図検査に加え、核医学検査、CT/MRI 検査、心内膜心筋生検、遺伝子検査など多方面からの検査が可能である。それに対し、猫では心電図検査、胸部 X 線検査は診断の補助として実施するものの、臨床診断は心エコー図検査における形態学的検査に大きく依存している。そのため、心筋肥大と診断されても代償性肥大や脱水などの見かけ上左室壁厚を増大させる因子の除外診断を十分行うことが正確な診断には重要である。

猫は動物病院に来院した時（興奮時）と自宅（安静時）の血圧、心拍数は大きく異なっている<sup>32,33</sup>。心拍数の増加により単位時間当たりの心室拡張期時間は短縮するため、心拍数の増加が拡張末期壁厚に影響を与えることが予想される。ヒトや犬ではペースメーカーを用いて心拍数を変化させ、心エコー図検査値に及ぼす心拍数の影響が検討されており<sup>34,35</sup>、心拍数の変化によって左心室内腔径が変動することが明らかとなっているが、猫では同様の報告は現在のところ行われていない。

そこで、本研究では猫の心筋症診断に最も重要視されている心エコー図検査の正確性を向上させるには心拍数の影響を評価する必要があると考え、心拍数が心エコー図検査値、特に壁厚と内腔計測に及ぼす影響を検討することを目的とした。

## 第 2 項 実験方法

### (1) 供試猫

身体検査、血液検査（完全血球計算および血液化学検査）、胸部・腹部 X 線検査、心エコー図検査、血圧測定により異常の認められなかった臨床上健康な実験用猫 6 頭（未去勢雄 3 頭、未避妊雌 3 頭、株式会社ナルクより購入）を用いた。猫の年齢は 3 歳 0 カ月–3 歳 3 カ月、体重は 2.82–4.45 kg であった。

供試猫はそれぞれ個体ごとで飼育は行い、朝と夕方に給餌は行い、飲水は自由飲水とした。麻酔前は 8 時間以上の絶食と 6 時間以上の絶水を行った。

### (2) ペースメーカーリードの設置

ペースメーカーリードの設置は全身麻酔下で行った。麻酔前投与薬は使用せず、十分な酸素化の後、プロポフォール（プロポフォール 1% 静注、マイラン製薬株式会社）6~8mg/kg の静脈内投与により麻酔を導入し、気管チューブ挿管後、供試猫の体位を右側横臥位に保定した。麻酔維持はイソフルラン（エスカイン®、マイラン製薬株式会社）により行った。イソフルランの吸入濃度は検査開始から実験終了まで変更は行わなかった。麻酔中輸液は乳酸リンゲル液（ソルラクト、テルモ株式会社）を 2.5ml/kg/hr で点滴投与した。

麻酔導入後、左頸部を 2~3cm 程度切開し、左頸静脈をブレードシルク（絹製縫合糸、松田医科工業株式会社）で確保した。その後、頸静脈を切開し、双極型ペースメーカーリード（Medtronic）を X 線透視装置にてモニターしながら右心房まで挿入した。

### (3) 心拍数の設定

ペーシングリードの設置後、体外式心臓ペースメーカー（体外式 SSI ペースメー

カ、日本メドトロニック株式会社)よりペーシング刺激 0.5~1mA、センシング感度 5mV でペーシングを行い、生体情報モニター (バイオスコープ AM120、フクダエム・イー工業株式会社) で心房キャプチャが認められたところに電極を仮固定した。

ペーシングによる心拍数はこれまで報告が行われている自宅 (安静時) における心拍数 120bpm から来院時 (興奮時) の心拍数 180bpm の範囲<sup>32</sup>の 10ppm 毎と設定した。心拍数設定の順番によって検査値に差が生じる可能性があるため、ペーシング心拍数の順序は猫ごとに同一とにならないようランダムに設定した。

#### (4) 心エコー図検査

ペーシング開始から 2 分後に心エコー図指標の測定を行った。心エコー図検査は、Cardio&Vascular Ultrasound System Vivid7 Dimension (GE ヘルスケア・ジャパン株式会社) により行った。

計測には心電図を用いず、画像で僧帽弁の閉鎖直後、または左心室面積が最大となるフレームを拡張末期とし、左心室面積が最小となるフレームを収縮末期として計測を行った。壁厚の測定部位は過去の報告を参考に、右傍胸骨四腔断面像および右傍胸骨五腔断面像それぞれで左心室自由壁拡張末期壁厚 (Left Ventricular Free Wall at diastole : 以下 LVFWd)、心室中隔拡張末期壁厚 (Inter Ventricular Septum at diastole : 以下 IVSd) の測定を行い、右傍胸骨短軸像腱索レベルで IVSd を 3 カ所、LVFWd を 1 カ所の合計 8 カ所で測定を行った (Figure 1)<sup>36</sup>。右傍胸骨短軸像腱索レベルでは左心室拡張末期内腔径 (Left Ventricular Internal Diameter at diastole : 以下 LVIDd)、左心室収縮末期内腔径 (Left Ventricular Internal Diameter at systole : 以下 LVIDs) の測定も行い、それぞれの計測値から左心室内径短縮率 (Fraction Shortening 以下 FS) を計算した。記録した心エコー画

像は専用解析ソフトウェア、Echo PAC PC Version 6.0.1 ~ 7.0.0 (GE ヘルスケア・ジャパン株式会社) にてオフラインで解析し、5 心拍の平均を結果とした。

#### (5) 最大収縮期血圧測定

麻酔による血圧の低下や心拍数の変動による血圧の変化が予想され、また、後負荷低下の影響により壁厚、心機能が変化する可能性も考えられたため、それらが実験成績に与える影響の評価を目的に血圧測定を実施した。

測定はドプラ血流計 (双方向血流計 ES-100V3、Hadeco) を尾根部に装着し、心エコー図検査中に行った<sup>29</sup>。血圧が安定するまで測定を繰り返し、測定値が安定した後、5 回測定を実施し、その平均値を収縮期血圧とした。

#### (6) 検討方法

左心室壁厚、心室内腔径および FS は心拍数との相関を求め、心拍数の変動が与える影響について検討を行った。血圧は心拍数ごとに測定値に差がないか比較を行った。

#### (7) 統計

結果は平均値±標準偏差で示した。統計は統計ソフト (SPSS Statistics version 21.0) を用いて行った。心エコー図検査の計測値、血圧は Kolmogorov-Smirnov 検定で正規性の確認を行った。心拍数との相関は Pearson の相関係数を用い、血圧は一元配置分散分析を行った。 $p$  値は 5% 未満をもって統計的に有意とした。 $r$  は  $|r| \geq 0.7$  : 高い相関が認められる、 $0.7 > |r| \geq 0.5$  : 中程度の相関が認められる、 $0.5 > |r| \geq 0.3$  : 弱い相関が認められる、 $0.3 > |r|$  : ほとんど相関が認められないと定義した。



### 第3項 結果

1頭で心拍数が120bpm以下に低下しなかったため、その個体では120ppmにてペーシングが行えなかった。ほかの5頭では全ての設定心拍数におけるペーシングが可能であった。

#### (1) 心エコー図検査

LFWd、IVSd、LVIDd、LVIDs およびFSの測定結果と心拍数との相関についてTable 1、Figure 2～5に示す。LFWd、IVSdは全ての測定部位で心拍数と強い相関が認められ( $p < 0.001$ ,  $r > 0.7$ )、心拍数の上昇により壁厚の増大が認められた(Figure 6)。120ppmと180ppmで壁厚を比較すると、segment 1では最大で1.9mm、segment 2では最大1.7mm、segment 3では最大1.3mm、segment 4では最大1.6mm、segment 5では最大1.4mm、segment 6では最大1.4mm、segment 7では最大1.4mm、segment 8では最大1.3mmの差が認められた。

LVIDdは心拍数と弱い相関が認められ( $p = 0.03$ ,  $r = -0.33$ )、心拍数の上昇により内腔径の縮小が認められた。120ppmと180ppmで内腔径を比較すると、最大で1.9mmの差が認められた。

LVIDsは心拍数と中程度の相関が認められ( $p < 0.001$ ,  $r = -0.60$ )、心拍数の上昇により内腔径の縮小が認められた。120ppmと180ppmで内腔径を比較すると、最大で2.7mmの差が認められた。

FSは心拍数と弱い相関が認められ( $p = 0.005$ ,  $r = 0.43$ )、心拍数の上昇によりFSの増加が認められた。120ppmと180ppmでFSを比較すると、最大で10%の差が認められた。

#### (2) 最大収縮期血圧

最大収縮期血圧の結果をTable 2に示した。収縮期血圧には心拍数増加に伴う

変化は認められなかった ( $p = 0.96$ )。

#### 第4項 考察

心エコー図検査は猫の HCM の診断、予後指標の評価に重要な検査の1つである。左心室の拡張末期壁厚は心筋肥大の診断に用いられ<sup>89</sup>、HCM の重症度の分類や<sup>37</sup> 予後指標にも用いられている<sup>38</sup>。今回の実験は正常猫で実施したため、壁厚が 6mm を越える個体は認められなかったが、壁厚は 120ppm と 180ppm で比較すると、最大で 1.9mm もの差が認められた。そのため、心拍数の変動によって壁厚を過大評価または過小評価してしまい、正常な心臓でも心拍数が速い場合は HCM と誤診する可能性や、反対に心拍数が遅い場合、HCM でも正常と誤診する可能性が示唆された。

本研究では、LVIDd においても心拍数との間に相関が認められ、心拍数の増加に伴い内腔径の短縮が認められた。心拍数の増加による心室壁厚の増大と LVIDd の縮小はヒトおよび犬でも同様の所見が示されている<sup>34,35</sup>。さらに、LVIDs と FS も心拍数との相関が認められた。これは心拍数上昇に伴い左室内腔径が短縮することから、見かけ上 FS が上昇したと考えられた。さらに、Bowditch 階段効果が作用したことも考えられる。正常な心臓の場合、心拍数の増加に伴い心筋収縮力が増強し、心拍数が減少した場合には収縮力は低下する<sup>39</sup>。この階段効果によって、FS が増加したと考えられる。しかしながら、不全心ではこの効果が認められないことが明らかとなっている。ヒトの僧帽弁逆流による不全心患者の心筋では、刺激によって収縮力が増加しないとされている<sup>40</sup>。猫の HCM でも、正常と比較して心機能が低下するとされているため<sup>41</sup>、HCM 症例では階段効果は認められない可能性がある。

本実験では心拍数を変化させるために心房でペーシングを行った。この方法では、正常な洞調律の刺激ではないものの、心房と心室の同期は維持されているため、ペーシングによる刺激でも、正常洞調律と同様の正常な心室への伝導であったと考えられる。

本実験は麻酔下で行ったため、覚醒時とは異なり麻酔薬が心血管系へ影響を与えていた可能性がある。プロポフォールとイソフルランは血管拡張作用を有しているため<sup>42</sup>、収縮期血圧の低下が懸念されたが、血圧測定の結果、血圧の変動は認められなかった。したがって麻酔薬による影響は最小限であると思われ、壁厚の変化は心拍数の影響を強く受けた結果と考えられる。

本実験にはいくつかの研究限界が存在する。1つ目に供試猫が少数であったことである。体格がほぼ同等の猫を用いたが、メインクーンなどの大型の猫種では体格が大きくなるにつれ左心室壁厚も増大したとされているため<sup>43</sup>、様々な体格での検討も必要であると考えられる。2つ目に実験では臨床上正常な猫を用いているため、HCMの猫に対しても同様の結果が得られるかどうかは明らかではない。HCM、RCMでは拡張機能低下が起こっているとされていることから、心拍数が拡張末期壁厚に与える影響についてはさらなる検討が必要である。3つ目に全身麻酔下における実験であったことである。

## 第5項 小括

心拍数の増加に伴い壁厚は有意に増大し、左心室内腔径は有意に縮小した。このことから、心拍数は壁厚の測定値に影響を与える因子であることが明らかとなった。以上より、壁厚の測定はHCMの診断に必要不可欠であるものの、心拍数を考慮する必要がある。したがって、壁厚だけに頼る診断方法には限界がある

ことが予想された。そこで、第2節ではHCMにおける心機能の変化に注目することとした。

## 第2節 HCM 症例における心機能評価

### 第1項 背景および目的

猫の HCM の診断には形態の把握、すなわち心エコー図検査による壁厚の測定が重要である。しかし、初期の病態では、壁厚がボーダーラインである場合や、第1節の実験で示された検査値に影響を及ぼす因子の関与がある場合があり、形態把握のみに頼る評価だけでは確定診断する上では不十分であることが現在の問題点である。

HCM では心機能の低下、特に拡張機能低下が生じることが知られている。これまで猫では、拡張機能の評価はパルスドプラ法や組織ドプラ法 (tissue Doppler imaging : 以下 TDI) を用いて行われてきた。

パルスドプラ法では僧帽弁弁口部の流入波形、すなわち拡張早期波の E 波、心房収縮期波の A 波を測定し、拡張機能の評価する。猫の HCM では E 波の低下と A 波の上昇が認められ、E 波、A 波の比が正常より低下する弛緩異常パターンを示す<sup>44</sup>。しかしながら、E 波は前負荷や後負荷の影響を受けやすく<sup>45</sup>、さらに拡張機能の低下が進行した場合には正常パターンと同様の波形パターンとなる偽正常パターンとなる。猫は興奮によって血圧が上昇し易いため、E 波がその影響を受ける可能性も考えられることから、パルスドプラ法による心機能評価が猫に適しているとは言い難い。

TDI は収縮、拡張時の心筋移動速度を検出する方法であり、収縮期波の S'波が収縮機能の指標、拡張早期波の E'波が拡張機能の指標に用いられている。猫の HCM では、S'波、E'波がコントロール群と比較して低下し<sup>31,46,47</sup>、メインクーンでは心筋の肥大が起こる前より E'波が低下したとされている<sup>48</sup>。さらに、E'波は E 波とは違い、前負荷の影響は受けないとされており<sup>49,50</sup>、TDI はパルスドプラ法よりも優れた方法と言える。以上のように猫においていくつかの TDI

の有用性が指摘されているが、TDI は局所心筋のみの評価しか行うことができず、さらに心臓全体の運動の影響、牽引の影響、目標のサンプルボリュームからの逸脱、角度依存性のなどの限界が存在する<sup>51</sup>。さらに、これまでの猫におけるTDIの報告を比較すると、正常範囲が幅広く（S'波 ;1.9–8.7 m/sec、E'波 ;2.2–10.2 m/sec）、HCMの計測範囲（S'波 ;0.5–6.0 m/sec、E'波 ;0.6–5.4 m/sec）と正常範囲が大きく重複しているため、TDIは拡張機能を判断する指標としては問題がある<sup>31,47,52-54</sup>。

スペックルトラッキングエコー法(Speckle Tracking Echocardiography:以下STE)は心エコーに表示されるスペックルパターンを認識し、フレームからフレームでスペックルを追跡し、心筋の歪み(Strain)、歪み率(Strain Rate)、捻れなどの測定を行う方法である。STEはTDIで問題点となっていた角度依存性がなく、心臓全体(Global)の心機能評価や分画ごとにおける評価が可能となった<sup>55</sup>。さらに医療ではSTEでは長軸方向のStrain Rateと線維化などの病学的評価に相関が認められている<sup>56,57</sup>。STEによる心機能評価はヒトのHCM患者<sup>58-60</sup>や犬の心筋症<sup>61-63</sup>で有用であったとされており、正常猫でも心機能評価にSTEが有用であったとされている<sup>64</sup>。

以上のことから、STEは猫のHCMにおいてもTDIと比較して感度の高い方法であると仮説を立てた。本研究では、TDIが正常範囲内であるHCM症例で、STEを用いて心機能評価を行い、TDIよりも早期に心機能低下を評価可能かの検討を行った。

## 第2項 方法

### (1) 供試猫

供試猫は、正常群と HCM 群に分類し心機能の比較を行った。HCM 群は 2012 年 4 月から 2015 年 1 月の間に麻布大学附属動物病院に来院し、HCM と診断された症例を用いた。HCM の診断基準は、(2) 心エコー図検査の項目に記載した。さらに、HCM 群は左心房の拡大（左心房・大動脈比：以下 LA/Ao < 1.5）が認められず<sup>65</sup>、TDI で S'波、E'波が正常範囲内（S'波 > 6cm/sec、E'波 > 5.4cm/sec）である症例を用いた。正常群は、実験猫 10 頭（株式会社ナルクより購入）と一般に飼育されている猫 3 頭を用い、臨床徴候が認められず、身体検査、血圧、心エコー図検査、X 線検査、血液検査で異常が認められない症例とした。実験猫はそれぞれ個体ごとで飼育は行い、朝と夕方に給餌は行い、飲水は自由飲水とした。さらに、内服薬による心機能への影響を排除するため、両群共に内科治療が行われていない症例を用いた。

## (2) 心エコー図検査

心エコー図検査は全て Cardio&Vascular Ultrasound System Vivid7 Dimension (GEヘルスケア・ジャパン株式会社) により行った。計測は連続した 3 心拍で行い、それらの平均値を計測値とした。

心エコー図検査の計測は過去の論文を参考に、一般的に測定が行われている断面で計測を行った。LA/Ao の計測は右傍胸骨左心室基底短軸像で行った<sup>66</sup>。LVFWd、IVSd、LVIDd および FS の計測は右傍胸骨左心室短軸像腱索レベルで行い、壁厚の測定は 4 ヶ所以上で行った。左心室流出路心室中隔拡張末期壁厚の計測も行い、計測は右傍胸骨五腔断面像で行った。心エコー図検査中の心拍数は M-mode より算出した。

LVFWd、IVSd または左心室流出路心室中隔拡張末期壁厚において最も肥厚した部位の壁厚 (Thickest Segment in diastole among measured Left Ventricular sites :

以下 LVTSd) が 6mm を越えている場合、心筋肥大とし、その他の心筋肥大を起こす疾患、要因が除外された場合 HCM と診断した<sup>9</sup>。

HCM 群はさらに心室中隔壁のみに肥大が認められる群 (HCM with segmental hypertrophy 群:以下 S-HCM 群)と全周性に肥大が認められる群 (HCM with diffuse hypertrophy 群:以下 D-HCM 群) の 2 群に分類した。S-HCM 群は心室中隔壁の肥大が認められ、左心室の 50%以上で肥大が認められるものの、全周性に肥大が認められない群とした。D-HCM 群は左心室全周性に肥大が認められる群とした<sup>67</sup>。

さらに HCM 群では僧帽弁の収縮期前方運動 (Systolic Anterior Motion : 以下 SAM) の有無を確認し、左心室の流出路血流速度が 2m/sec を超える場合、左心室流出路障害とし、共に記録した。

### (3) TDI

TDI の測定は左側心尖部 4 腔断面像で行い、左心室自由壁側および心室中隔壁側の僧帽弁輪部の S'波、E'波の測定を行った。サンプルボリュームは 2×2mm を用い、測定時に角度補正は行わなかった<sup>68</sup>。連続した 3 心拍の平均を計測値とした。

### (4) STE

左側心尖部 4 腔断面像より長軸 (Longitudinal) 方向の、右側傍胸骨左心室短軸像腱索レベルより円周 (Circumferential) 方向と放射 (Radial) 方向の Strain と Strain rate の測定を行った。測定時のフレームレートは 100~155fps であった。解析は専用のソフトウェア (EchoPAC PC、GE メディカルシステム) を使用し、オフラインで解析を行った。



STE の測定は、心電図を用いずに実施した。まず始めに、収縮末期で心内膜の境界線をマニュアルでトレースし、関心領域 (Region of Interest : ROI) を心筋壁厚に合わせた。S-HCM 群では心室中隔と自由壁側で壁厚に差が認められたため、ROI の設定について検討を行った。その結果、心筋肥大の認められない左心室自由壁側に ROI を合わせた場合、心筋のトレースが良好であったことから、S-HCM 群では全ての症例で左心室自由壁側に ROI を合わせ、測定方法を統一した。ROI の設定後、ソフトウェアによる長軸方向 6 分画 (baseseptum、middleseptum、apicalseptum、apicallateral、middlelateral、baselateral)、短軸方向 6 分画 (anteroseptum、anterior、lateral、posterior、inferior、septum) の Strain、Strain Rate の自動解析を実施し、「有効」または「棄却」が表示された。棄却判定であった場合は、再度 ROI の設定から解析をやり直し、有効と判定されるまで設定を行った。

Strain はそれぞれの測定方向で最大収縮期 Strain (Longitudinal Strain : 以下 SL、Circumferential Strain : 以下 SC、Radial Strain : 以下 SR) の測定を行い、Strain Rate は収縮期 Strain Rate (Longitudinal Strain Rate during systole : 以下 SrLs、Circumferential Strain Rate during systole : 以下 SrCs、Radial Strain Rate during systole : 以下 SrRs)、拡張早期 Strain Rate (Longitudinal Strain Rate during early diastole : 以下 SrLe、Circumferential Strain Rate during early diastole : 以下 SrCe、Radial Strain Rate during early diastole : 以下 SrRe) の測定を行った。連続した 3 心拍の平均を測定値とし、6 分画ごとの測定値と、6 分画の測定値の平均である左心室全体の値 (Global value) の結果を 3 群間で比較した。

#### (5) 検討方法

正常群、S-HCM 群、D-HCM 群の 3 群間で年齢、体重、性別、心エコー図検査、TDI、STE の Global と分画の結果を比較した。S-HCM 群、D-HCM 群では

STE の計測値と壁厚の相関を求めるため、STE の Global の計測値と IVSd および LVFWd の相関、STE の中隔壁側 3 分画の平均と IVSd の相関および STE の左心室自由壁側 3 分画の平均と LVFWd の相関を求めた。また、STE では測定者内誤差を求め、再現性の評価を行った。評価項目は 3 方向の Strain、収縮期 Strain Rate、拡張期 Strain Rate の 9 項目である。測定者内誤差の算出に用いた解析は、最初の解析を実施してから最低 2 週間以上期間を空けて再度実施した。

#### (6) 統計

結果は平均値±標準偏差で示した。統計は統計ソフト (SPSS Statistics version 21.0) を用いて行った。全ての計測値は Kolmogorov-Smirnov test を用いて、正規性の確認を行った。年齢、体重、心エコーの計測値は正規性が認められた場合、3 群間で一元配置分散分析を行った。正規性が認められなかった場合には Kruskal-Wallis test を用いて統計を行った。性別はカイ二乗検定を行った。有意差が認められた場合には Bonferroni 法を用いて多重比較検定を行った。p 値は 5% 未満をもって統計的に有意とした。STE と壁厚の相関はスピアマンの順位相関係数を用いて検討を行った。

測定者内誤差の変動係数 (coefficients of variations : 以下 CV) は、

$$CV (\%) = \frac{\text{標準偏差}}{\text{測定値の平均}} \times 100$$

より求めた。

### 第3項 結果

#### (1) 供試猫

正常群は 13 頭で HCM 群は 22 頭であった。それぞれの群の猫種、体重、性別、年齢の結果を Table 3 に示す。体重、性別、年齢に有意差は認められなかった ( $p > 0.05$ )。

HCM 群のうち、S-HCM 群は 17 頭で、D-HCM 群は 5 頭であった。S-HCM 群では全頭で SAM による流出路狭窄が認められ、D-HCM 群では 4 頭で SAM による流出路狭窄が認められた。

## (2) 心エコー図検査結果

心エコー図検査結果を Table 4 に示す。IVSd、LVFWd、LVTSd、FS は HCM 群で有意に増加しており、LVIDd は有意に低下していた ( $p < 0.05$ )。全ての群で LA/Ao、心拍数に有意差は認められなかった ( $p > 0.05$ )。

## (3) TDI

TDI の結果を Table 5、Figure 7 に示す。3 群間で S'波および E'波に有意差は認められなかった ( $p > 0.05$ )。

## (4) STE

STE では全ての猫で拡張早期波と心房収縮期波の融合は認められなかった。

STE の Global の結果を Table 6、Figure 8~10 に示す。SrLe でのみ、正常群と比較して S-HCM 群と D-HCM 群で有意な低下が認められた ( $p < 0.001$ )。Circumferential、Radial の Strain および Strain Rate と Longitudinal の Strain および収縮期 Strain Rate に 3 群間で有意差は認められなかった ( $p > 0.05$ )。

STE の分画ごとの結果を Table 7~9、Figure 11 に示す。全ての分画で SrLe でのみ正常群と比較して S-HCM 群と D-HCM 群で有意な低下が認められた ( $p <$

0.01)。S-HCM 群では、心筋の肥大が認められない左心室自由壁側でも SrLe の低下が認められた。

STE の Global の測定値と壁厚に相関は認められなかった ( $p > 0.05$ )。分画ごとの測定値でも STE と壁厚に相関は認められなかった ( $p > 0.05$ )。

#### (5) 測定者内誤差

CV の結果を Table10 に示す。CV は最大で SR の 8.89%であった。

### 第4項 考察

今回の研究では、TDI の測定値が正常範囲内であるにも関わらず、HCM 群で正常群と比較して長軸方向の Global と分画の SrLe の低下が認められた。CV もすべての測定値で 10%以下と、誤差は臨床検査として許容範囲であると考えられた<sup>68</sup>。以上のことから、STE は TDI と比較して早期の拡張機能障害が診断可能なより感度の高い方法である可能性が示唆された。加えて、猫の HCM では左心房の拡大が認められない病態初期より長軸方向の拡張機能が低下しており、さらに、肥大が認められない心筋でも拡張機能の低下が起こっていることが明らかとなった。

今回の結果では長軸方向でのみ有意差が認められた。ヒトの HCM では短軸方向、長軸方向の両方向で心機能が低下するとされているが<sup>58,69,70</sup>、心筋線維の走行は短軸方向よりも長軸方向に多く認められるため、長軸方向の心機能がより機能低下を反映しやすいとされている<sup>71</sup>。猫でも同様に、心筋線維は長軸方向に多く認められるため<sup>31</sup>、短軸方向よりも早期に長軸方向の機能低下が現れたと考えられる。

今回の研究では肥大の認められない左心室自由壁側でも拡張機能の低下が認められた。過去の報告では、ヒト、ウサギ、猫の HCM で肥大が認められない心筋で弛緩機能が低下していたとされている<sup>48,72-75</sup>。Nagueh らはヒトやウサギでは左心室の肥大に先立って心筋機能低下が認められるとしており、Chetboul らや MacDonald らもメインクーンでは心筋肥大に先立って拡張機能が低下しているとしている。しかしながら、これらはメインクーンのみでの単一の猫種における報告であり、ヒトやウサギでは左心室で全く肥大が起こっていない症例を用いていることから、本研究とは背景が異なる。

Wess らの報告では、HCM 猫の SL が病態の進行に伴い低下したとされているが<sup>37</sup>、今回の研究では SL に群間で有意差は認められなかった。これは病期や年齢が異なっているためと考えられる。Wess らは病態の進行した症例を検討しているが、一方本研究では、左心房の拡大が認められていない病態初期の症例を用いている。さらに加齢によっても収縮機能が低下するとされているが<sup>31,47</sup>、本研究では、3 群ともに過去の報告より若齢の症例を用いていたため、異なる結果が得られたと考えられた。

猫の HCM では、TDI における E' 波は心室中隔壁、左心室自由壁ともに低下する<sup>31,47,68</sup>。しかしながら、これまでの報告では、HCM 群に心不全の症例や内科治療中の症例が含まれており、さらに無徴候の症例から心不全の症例まで様々な病期の症例が含まれていた。今回の研究では、内科治療が行われている症例は含まれておらず、さらに左心房の拡大が認められない病態初期と考えられる症例を用いたことから、TDI では有意差が認められなかったのではないかと考えた。

Saito らや Popovic らは、心室壁厚と心筋の線維化の程度は関連がなく、Strain は心筋の線維化の重症度と関連が認められたとしている<sup>57,76</sup>。さらに、Correia ら

や Kobayashi らは、Strain は線維化だけでなく、心筋の錯綜配列とも関連が認められたとしている<sup>56,77</sup>。今回の結果でも STE と左心室壁厚に相関は認められなかった。以上のことから、本研究で認められた STE の低下は、心筋の線維化や錯綜配列と関連する可能性があると思われた。

今回の研究にはいくつかの研究限界が存在する。1つ目に供試猫が少数であったことである。2つ目にそれぞれの群で様々な猫種が含まれていたことである。猫種ごとに心エコー図検査の測定値は異なっているとされているため<sup>78,79</sup>、猫種の違いによる心機能の差も考えられる。3つ目に病理学的な評価を行っていないことである。猫における STE と心筋の線維化、錯綜配列との関連については今後もさらなる検討が必要であると考えられた。

## 第5項 小括

今回の結果より、STE は TDI よりも感度が高い心機能評価方法であることが明らかとなった。さらに、猫の HCM では病態初期より拡張機能の低下が生じており、心筋の肥大が認められない部分においてもすでに拡張機能が低下していることが明らかとなった。

今後の展望として、STE を用いて、心筋肥大が起こる前の早期診断が可能であるかの検討を行いと考えている。

本論文の一部は、以下に公表した。

Sugimoto K, Fujii Y, Sunahara H, Aoki T : Assessment of left ventricular longitudinal function in cats with subclinical hypertrophic cardiomyopathy using tissue Doppler imaging and speckle tracking echocardiography.

J Vet Med Sci. 2015 Oct 1;77(9):1101-8.

### 第3節 HCM 症例における左心房拡大と左心室機能の関連について

#### 第1項 背景および目的

HCM では拡張機能の低下によって左心房の拡大が進行することが知られている。第2節において、HCM では病態初期より左心室全体の拡張機能が低下していることが明らかとなったが、拡張機能が著しく低下している場合でも左心房の拡大を伴っていない個体が存在した。そこで、本節では HCM での病態の進行について明らかにすることを目的とし、経時的に TDI および STE を用いて心機能評価を行い、左心室の拡張機能低下と左心房拡大の関連を調べた。

#### 第2項 方法

##### (1) 供試猫

供試猫は、2012年4月から2015年9月の間に麻布大学附属動物病院に来院し、HCM と診断された症例で、6ヵ月以上の追跡調査が可能であった症例を用いた。HCM の診断基準は、第2章第2節と同様とした。

症例は初診時に左心房の拡大が認められず、追跡期間中に左心房の拡大が認められた左心房拡大群と、期間中に拡大が認められなかった左心房非拡大群に分類し、比較した。なお、左心房の拡大は LA/Ao が 1.5 以上である場合とした<sup>65</sup>。

##### (2) 心エコー図検査

心エコー図検査は、Cardio&Vascular Ultrasound System Vivid7 Dimension および Vivid E9 with XDclear 2.0 (GE ヘルスケア・ジャパン株式会社) を使用した。計測には連続した3心拍を用い、それらの平均値を計測値とした。



心エコー図検査は過去の論文を参考に、以下の項目について計測を行った<sup>66</sup>。  
LA/Ao の計測は右傍胸骨左心室基底短軸像で行った<sup>66</sup>。LVFWd、IVSd、LVIDd  
および FS の計測は右傍胸骨左心室短軸像腱索レベルで行い、壁厚の測定は 4 ヶ  
所以上で行った。左心室流出路心室中隔拡張末期壁厚の計測も行い、計測は右傍  
胸骨五腔断面像で行った。計測した波形の心拍数は、M-mode より算出した。  
さらに、SAMの有無を確認し、左心室の流出路血流速度が 2m/sec を超える場合、  
左心室流出路障害とし、記録した。

### (3) TDI

TDI の測定は左側心尖部 4 腔断面像で行い、左心室自由壁側および心室中隔  
側の僧帽弁輪部の S'波、E'波、A'波の測定を行った。サンプルボリュームは  
2×2mm を用い、測定時に角度補正は行わなかった<sup>68</sup>。連続した 3 心拍の平均を  
計測値とした。E'波と A'波が融合して別々に測定できない場合には E'A'波とし  
て測定を行った。

### (4) STE

第 2 節より、有意差の認められた長軸 (Longitudinal) 方向の Strain と Strain rate  
の Global value の測定を行った。解析は専用のソフトウェアを使用し、オフライ  
ンで解析を行った。連続した 3 心拍を用いて SL、SrLs、SrLe、SrLa の測定を行  
い、平均を測定値とした。SrLe、SrLa が融合して測定できない場合には SrLea と  
して測定を行った。

### (5) 検討項目

左心房拡大群と左心房非拡大群で初診時の年齢、体重、性別、心エコー図検査

計測値、TDI、STE の Global の計測値の結果を比較した。さらに、再診時の TDI および STE の結果を比較した。

#### (6) 統計

結果は、平均値±標準偏差で示した。統計は、統計ソフト (SPSS Statistics version 21.0) を用いて行った。全ての計測値は、Kolmogorov-Smirnov test を用いて正規性の確認を行った。性別の統計にはカイ二乗検定を用い、その他の項目では Student の t 検定を行った。p 値は 5%未満をもって統計的に有意とした。

### 第 3 項 結果

#### (1) 供試猫

調査期間中に 76 症例が HCM と診断され、その内 20 症例が追跡可能であった。追跡期間は平均 412 日 (183 日～957 日) であった。6 頭で追跡期間中に左心房の拡大が認められた。それぞれの群の猫種、体重、性別および年齢の結果を Table 11 に示す。体重、性別および年齢において、群間に有意差は認められなかった ( $p > 0.05$ )。左心房拡大群では、全頭で SAM が認められ、2 頭で全周性肥大、4 頭で中隔壁のみの肥大であった。左心房非拡大群では 3 頭で全周性肥大、11 頭で中隔壁のみの肥大であった。

#### (2) 初診時の比較

それぞれの群の初診時の測定結果を Table 12、13、Figure 12～17 に示す。初診時、左心房非拡大群の 1 頭でベナゼプリルの内服が行われていたが、その他の症例では内科治療は行われていなかった。左心房拡大群、左心房非拡大群共に 1

頭で EA 波の融合が認められた。左心室流出路血流速度、LVIDd、IVSd、FS、心拍数、左心房径、TDI および STE は群間で有意差は認められなかった ( $P > 0.05$ )。

### (3) 再診時における比較

それぞれの群の再診時の測定結果を Table 14、15、Figure 12~17 に示す。左心房拡大群では左心房拡大が認められた病日は平均 366 日 (120~801 日) であり、1 頭で EA 波の融合が認められ、6 頭中 4 頭でアテノロールの内服が行われていた。左心房非拡大群では 14 頭中 4 頭でアテノロールの内服が行われていた。左心房拡大群では左心房非拡大群と比較して SrLa の有意な低下と SrLe/SrLa の有意な上昇が認められた (それぞれ  $P = 0.003, 0.02$ )。左心室流出路血流速度、LVIDd、IVSd、FS、心拍数、左心房径および TDI では有意差は認められなかった ( $P > 0.05$ )。

### (4) 左心房拡大群の心房機能の変化

左心房拡大群の個体ごとの左心房径と SrLa の結果を Figure 18 に示す。症例 2 では左心房拡大が認められる以前より SrLa の低下が認められた。

## 第 4 項 考察

左心房拡大群では左心房非拡大群と比較した場合、SrLa の低下と SrLe/SrLa の上昇が認められたが、SrLe に有意差は認められなかった。さらに、症例 2 では左心房拡大以前より SrLa が低下していたことから、左心房拡大は左心室の拡張機能の低下だけではなく、左心房の収縮機能の低下によって引き起こされている可能性が示唆された。

これまで猫の HCM では、病態の進行によって左心房機能が低下することが明らかとなっており、左心房拡大の認められる心不全症例では左心房拡大の認められない無徴候 HCM 症例と比較して A'波が低下するとされている<sup>80</sup>。本研究では無徴候で、且つ左心房拡大を起こしている症例を用いており、これまでの報告よりも早期の段階で左心房拡大を評価している。左心房拡大群の再診時の A'波は初診時と比較して有意差は認められなかったが、SrLa については有意な低下が認められた。このことから、STE では TDI よりも早期に左心房機能低下を診断できる可能性が示唆された。

本研究にはいくつかの研究限界が存在する。1つ目に症例数が少なかったことである。2つ目にアテノロールの投与が行われていた症例を含んでいることである。アテノロールは陰性変時作用と陰性変力作用を有する。両群ともに、初診時、再診時で心拍数に有意差は認められず、収縮機能にも有意差は認められなかった。そのため、アテノロールの投与は今回の結果には影響がないと考えられるが、心拍数やアテノロールが心機能に与える影響についての検討も必要であると考えられた。

## 第5項 小括

猫の HCM では、左心房拡大は左心室の拡張機能低下だけではなく、左心房の機能低下も関連している可能性が示唆された。今回は STE にて左房機能を推測したが、医療では左心房機能の評価は MRI や STE を用いて行われている。HCM 患者では MRI、CT を用いて心房容積の測定と心房機能評価が行われ<sup>81,82</sup>、それらは予後指標として有用であるとされている<sup>83,84</sup>。これまで、猫では左心房機能の評価は M-mode を用いる用法や 2D で左心房面積を測定する方法が報告されて

いるが、確立された方法ではない。そのため、今後は猫における左心房機能評価方法の確立が必要であると考えられた。さらに、左心房機能を改善させる薬剤についての検討も行いたいと考えている。

### 第3章 猫の心筋症の治療に関する研究

#### 第1節 各種 ACE 阻害剤による血清 ACE 活性阻害率、降圧作用の比較

##### 第1項 背景および目的

組織 ACE 活性は心筋リモデリングや心筋肥大に関連する因子であり<sup>85,86</sup>、さらに、猫の HCM ではレニン活性が上昇するとされており<sup>87</sup>、レニン-アンジオテンシン系は HCM において重要な反応系の1つである。

猫の心筋症では、心不全時にエナラプリルの投与で臨床徴候の改善が認められ、心筋のリモデリングが改善するとされている<sup>29</sup>。無徴候 HCM でもベナゼプリルの投与でも臨床徴候と心筋リモデリングが改善したとされており<sup>88</sup>、猫の HCM には ACE 阻害剤が有用であるとされている。しかしながら、一方では、ベナゼプリルの投与で心筋リモデリングは改善しなかったとの報告や<sup>27</sup>、無徴候 HCM のメインクーンにラミプリルの投与を行っても心機能、心筋リモデリングは改善しなかったとされており<sup>89</sup>、ACE 阻害剤の投与に否定的な報告も行われているため、猫の HCM における ACE 阻害剤の有効性は明らかではない。さらに、現在、日本ではベナゼプリル、エナラプリル、アラセプリルなど数種類の ACE 阻害剤が販売されているが、猫に投与する場合どの薬剤がより効果的で有用であるかは定かではない。

そこで本実験は、代表的な ACE 阻害剤間において血清 ACE 活性阻害率および降圧作用に差があるか検討することを目的とした。

##### 第2項 実験方法

###### (1) 供試猫

実験には身体検査、血液検査（完全血球計算および血液生化学検査）、胸部・腹部 X 線検査、心エコー図検査、血圧測定により異常の認められなかった臨床健康な実験用猫 6 頭（未去勢雄 3 頭、未避妊雌 3 頭）を用いた。猫の年齢は 1 歳 0 カ月–1 歳 3 カ月、体重は 2.66–3.77 kg であった。供試猫はそれぞれ個体ごとで飼育は行い、朝と夕方に給餌は行い、飲水は自由飲水とした。

本研究はクロスオーバー試験とし、各薬剤の投与順序はランダムに設定し、各薬剤の投薬後に 1 週間の休薬期間を設けた。

## (2) ACE 阻害剤

ACE 阻害剤はベナゼプリル、エナラプリル、アラセプリルを用いた。投与は単回とし、用量はそれぞれ、ベナゼプリル（フォルテコール錠 2.5mg フレーバー、NOVARTIS ANIMAL HEALTH）1.0mg/kg、エナラプリル（エナカルド錠 1mg、メリアル・ジャパン）0.5mg/kg、アラセプリル（アピナック錠 12.5mg、DS ファーマアニマルヘルス）3.0mg/kg とし、投与量は報告されている最大用量とした<sup>29,90,91</sup>。

## (3) 血清 ACE 活性阻害率の測定

それぞれの薬剤の投与前と投与後 2、4、6、8、12、24、36、48、72 時間後に採血を行い、血清 ACE 活性阻害率の測定を行った。採血は頸静脈より毎回 1ml ずつ行い、採血後は 3000 回転、10 分で遠心分離を行った。その後血清を採取し、速やかに血清 ACE 活性の測定を行った。

血清 ACE 活性の測定には過去の猫の血清 ACE 活性を測定した報告と同様の方法で行い、市販の ACE 活性測定キット（ACE カラー、富士レビオ）を用いた<sup>92</sup>。まず始めに血清 ACE に p-ヒドロキシベンゾイル-グリシル-L-ヒスチジル-L

-ロイシンを添加し、p-ヒドロキシベンゾイルグリシンが遊離した。p-ヒドロキシベンゾイルグリシンにヒプリカーゼを添加し、p-ヒドロキシ安息香酸とグリシンに分解し、さらに、p-ヒドロキシ安息香酸とメタ過ヨウ素酸ナトリウムを添加、4-アミノアンチピリンと酸化縮合させ、キノンイミン色素へと変換させた。これを 505nm で比色定量することによって血清 ACE 活性の測定を行った。

測定した結果より、血清 ACE 活性の阻害率を

$$\text{血清 ACE 活性阻害率} = \frac{\text{投与前の ACE 活性} - \text{投与後の ACE 活性}}{\text{投与前の ACE 活性}} \times 100 (\%)$$

より求め、それぞれの薬剤における血清 ACE 活性阻害率を比較した。

#### (4) 収縮期血圧の測定

それぞれの薬剤の投与前と投与後 2、4、6、8、12、24、36、48、72 時間後に測定を実施した。測定はドプラ血流計（双方向血流計 ES-100V3、Hadeco）を用いて、尾根部で行った<sup>29</sup>。血圧が安定するまで測定を繰り返し、安定した後、測定を 5 回実施し、その平均値を収縮期血圧とした。

#### (5) 検討項目

血清 ACE 活性阻害率、血圧は群間、投与時間で差があるかの検討を行い、ACE 阻害剤間において血清 ACE 活性阻害率および降圧作用に差があるか検討した。

#### (6) 統計

結果は平均値±標準誤差で示した。統計は市販の統計ソフト（SPSS Statistics version 21.0）を用いた。測定結果は二元配置分散分析法を用い、有意差が認められた場合には多重比較検定を行った。p 値が 5% 未満をもって統計的に有意とした。



### 第3項 結果

#### (1) 血清 ACE 阻害率

それぞれの薬剤における血清 ACE 活性を Table 16 に、血清 ACE 活性阻害率を Table 17、Figure19 に示した。アラセプリル群とベナゼプリル群 ( $p < 0.01$ )、エナラプリル群とベナゼプリル群 ( $p < 0.01$ ) の間で、血清 ACE 阻害率に有意差が認められた。

アラセプリル群、ベナゼプリル群では血清 ACE 活性阻害率は投与後 2 時間で最大となった。エナラプリル群では投与後 2 時間と 4 時間で血清 ACE 阻害率が最大となった。

ベナゼプリル群では血清 ACE 活性阻害率は 24 時間後で 70.1%、36 時間後で 61.8%と依然高い阻害率を維持していた。エナラプリル群では血清 ACE 活性阻害率は 24 時間後で 64.5%、36 時間後で 55.2%と緩やかに低下した。アラセプリル群では血清 ACE 活性阻害率は 24 時間後で 52.4%、36 時間後で 44.7%と急激に低下した。全ての薬剤において、血清 ACE 活性阻害率は投与 72 時間後でも投与前の測定値まで回復しなかった。

#### (2) 収縮期血圧

それぞれの薬剤における血圧の変化を Table18、Figure 20 に示した。薬剤間で有意差は認められなかった ( $p > 0.05$ )。

### 第4項 考察

全ての薬剤において投与後 24 時間の血清 ACE 活性阻害率は 50%以上を示し、効果的な血清 ACE 活性の阻害が認められた。特にベナゼプリル群において他群

と比較して有意な血清 ACE 活性の阻害が認められた。

血清 ACE 阻害率はアラセプリル群、ベナゼプリル群では投与後 2 時間で最大となり、その後阻害率は時間とともに減少したが、エナラプリル群では投与後 2 時間と 4 時間で有意差は認められなかった。これは、エナラプリル群の最大阻害率到達時間が 2 から 4 時間の間であった可能性も考えられる。

収縮期血圧は 3 群間で有意差は認められなかった。猫は特発性高血圧<sup>93,94</sup>や腎不全による 2 次性高血圧<sup>95-97</sup>に罹患している場合、レニン-アンジオテンシン-アルドステロン系 (Renin-Angiotensin-Aldosterone 系 : RAA 系) が活性化するため、ACE 阻害剤の投与によって血圧が低下するとされている。しかしながら、今回の実験に用いた猫は疾患がなく、RAA 系が活性化していなかったため、ACE 阻害剤の投与を行っても血圧に変動を与えなかったと考えられる。

## 第 5 項 小括

本研究では、使用した全ての ACE 阻害薬で良好な ACE 阻害率が得られることが確認された。特に、他の薬剤と比較しベナゼプリル群の ACE 活性阻害率が有意に高値を示し、ベナゼプリルの有効性が示された。

本研究では血清中 ACE 活性しか測定しなかったが、その指標のみで薬効を比較、評価することは困難である。すなわち、猫では血清中と組織中の ACE 活性は同一でないとされており<sup>98</sup>、血清 ACE 活性がどの程度組織 ACE 活性を反映しているかは定かではない。また、血清 ACE 阻害率が低下する理由として、ACE 阻害剤が血清中から組織中へ移行した、薬剤が代謝され活性が失われた、または、尿中や糞便中に排泄された等が考えられる。アラセプリルは SH 基を有しているため、肝臓で酸化されやすく、活性が失われやすいとされているが、ベナゼプリ

ルやエナラプリルは COOH 基を有しているため、作用持続時間が長いとされている。さらに、エナラプリルは非脂溶性の ACE 阻害剤であり、脂溶性と非脂溶性の ACE 阻害剤で比較した場合、脂溶性の高い ACE 阻害剤は組織移行性が高いとされているため、組織 ACE 阻害に優れている可能性がある<sup>99</sup>。以上のことから、血清 ACE 活性の測定のみでは、実際の血圧上昇の抑制を伴うかどうかは不明であり、どの薬剤が最も有用であるかは明らかではない。そこで実際の薬効を比較するため、第 2 節の実験を行うこととした。

本論文の一部は、以下に公表した。

Sugimoto K, Fujii Y, Takubo I, Shiga T, Sunahara H, Aoki T and Orito K :

Pharmacodynamics of Alacepril in healthy cats

J Feline Med Surg. 2016 in press

## 第2節 血清 ACE 活性阻害下におけるアンジオテンシン I 投与に対する血圧の変化（昇圧阻害作用）について

### 第1項 背景および目的

猫においてアンジオテンシン I (Angiotensin I : 以下 Ang I) を静脈内投与すると、血圧が一過性に上昇する<sup>100</sup>。Ang I 自体は血管収縮を引き起こさないため、Ang I が血液中および組織中で ACE によりアンジオテンシン II (Angiotensin II : 以下 Ang II) に変換され、それによって血管を収縮させ血圧上昇を引き起こす。そのため、ACE 阻害剤をあらかじめ投与したうえで Ang I の投与を行うと、Ang II への変換が阻害されるため、血圧の上昇が抑制される。この血圧上昇の程度を評価することで、ACE 阻害剤の薬物力学を明らかにできるのではないかと考えた。

本研究では、血清中の ACE 活性阻害率と実際の薬効との関連性を解明することを目的とし、ACE 阻害剤投与後、Ang I 投与により血圧および心拍数がどのように変化するかを比較検討することで、薬物力学的な観点から、ACE 阻害剤の評価を行った。

### 第2項 実験方法

#### (1) 供試猫

身体検査、血液検査（完全血球計算および血液化学検査）、胸部・腹部 X 線検査、心エコー図検査、血圧測定により異常の認められなかった臨床上健康な実験用猫 10 頭（未去勢雄 5 頭、未避妊雌 5 頭、株式会社ナルクより購入）を用いた。猫の年齢は 2 歳 2 カ月–2 歳 5 カ月、体重は 2.66–3.77 kg であった。

供試猫はそれぞれ個体ごとで飼育は行い、朝と夕方に給餌は行い、飲水は自由

飲水とした。麻酔前は 8 時間以上の絶食と 6 時間以上の絶水を行った。麻酔前は 8 時間以上の絶食と 6 時間以上の絶水を行った。

## (2) ACE 阻害剤の投与

ACE 阻害剤投薬群は、第 1 節の実験より、血清 ACE 活性阻害率が最も高値であったベナゼプリルと低値であったアラセプリルを用いた。ベナゼプリルは 1.0mg/kg、1 日 1 回、アラセプリルは 3mg/kg、1 日 1 回で、どちらの薬剤も 7 日間の反復投与を行った。さらにプラセボ群を設定し、ビオフェルミン 1/2tab、1 日 1 回、7 日間の反復投与を行い、3 群間で血圧および心拍数を比較した。

本研究はクロスオーバー試験とし、各群の投与順序はランダムに設定し、各薬剤の投薬後に 1 週間の休薬期間を設けた。

## (3) 血清 ACE 活性阻害率の測定

血清 ACE 活性阻害率の測定は、ACE 阻害剤の最終投与から 24 時間間隔をあけて実施した。昇圧反応実験の直前に採血を行い、血清 ACE 活性阻害率を測定した。方法は第 2 章、第 1 節、第 2 項で記載した方法と同様とした。

## (4) 観血的動脈圧の測定

覚醒下では興奮や白衣効果などによって血圧に変動が生じることが考えられたため、動脈圧の測定は麻酔下で行った。測定は最終投与より 24 時間以上間隔を空けて行い、大腿動脈または外頸動脈に留置針を挿入し、圧トランスデューサーを介してポリグラフに接続することで、観血的かつ連続的に行った。

血圧の測定は、Power Lab4/26 (ADINSTRUMENTS) と Bridge Amp (ADINSTRUMENTS) を用い、データの解析は Lab Chart 7.3.5

(ADINSTRUMENTS) を用いた。実際の血圧のチャート図を Figure 21 に示した。図のように、血圧は Ang I 投与直後から急激に上昇し、その後緩やかな下降を示す単相性あるいは二相性のカーブを示した。測定項目は、投与前と昇圧反応ピーク時の収縮期血圧、拡張期血圧、心拍数とし、昇圧時の最高値と投与前との差 ( $\Delta$  値) も求めた。

昇圧反応が単相性の場合、最高血圧を Peak1 とし、二相性の場合は 1 つ目の最高値を Peak1、2 つ目の最高値を Peak2 として計測を行った。

#### (5) Ang I の投与

動脈留置針設置後、血圧が安定していることを確認し、Ang I (和光純薬工業) を静脈内投与した。

Ang I の用量は過去の論文を参考に 20、100、500ng/kg とし<sup>100</sup>、低用量から順番に投与を行った。投与容量は全て 1ml 以下になるように希釈調節を行った。それぞれの用量において、約 2 秒間で全量静脈内投与を行い、投与後は生理食塩水 1ml で後押しを行った。各用量の投与は最低 10 分以上の間隔をおいて行い、血圧が投与前の値まで回復したことを確認し、次の用量の投与を行った。収縮期血圧が 200mmHg を超える場合、または超えることが予測された場合、その時点で実験は終了とした。

#### (6) 検討項目

血圧および心拍数の  $\Delta$  値をそれぞれの群間で比較し、ACE 阻害剤による昇圧抑制の差を比較した。ベナゼプリル群とアラセプリル群では、収縮期血圧の  $\Delta$  値と血清 ACE 阻害率との相関を求め、血清中の ACE 活性阻害率と実際の薬効との関連性を検討した。

## (7) 統計

測定値は平均値±標準誤差で記した。血圧および心拍数の  $\Delta$  値はそれぞれの群間で一元配置分散分析法を行い、有意差が認められた場合、多重比較検定を行った。 $p$  値は 5% 未満をもって統計的に有意とした。収縮期血圧の  $\Delta$  値と血清 ACE 阻害率との相関は Pearson 相関係数から求めた。

## 第 3 項 結果

### (1) 血圧

それぞれの Ang I 投与量における収縮期および拡張期血圧の結果と、それらの  $\Delta$  値を Table 19~22 に示す。3 群間で有意差は認められなかった ( $p > 0.05$ )。昇圧反応は用量依存性であり、どの用量においても一過性の反応であった。低用量では単相性、高用量では二相性の反応が認められる傾向があった。

個体ごとの Peak1 の収縮期血圧の変化を Figure 22~24 に示す。3 群ともに、個体ごとで測定値に大きなばらつきが認められた。

### (2) 心拍数

心拍数の結果を Table 23、24 に示す。3 群間で心拍数に有意差は認められなかった。Ang I 投与直後には、血圧上昇に伴う圧受容体反射によって一過性に心拍数の低下が認められたが、数秒間の間に投与前の心拍数に回復した。

### (3) 血清 ACE 活性阻害率

それぞれの群の血清 ACE 活性を Table 25 に、血清 ACE 活性阻害率を Table 26 に示す。ベナゼプリル群でアラセプリル群と比較して有意な血清 ACE 活性の阻

害が認められた ( $p < 0.05$ )。

#### (4) 収縮期血圧と血清 ACE 阻害率の相関

それぞれの ACE 阻害剤投与群の収縮期血圧と血清 ACE 阻害率の相関を Figure 25~27 に示す。両群共に有意な相関は認められなかった ( $p > 0.05$ )。

### 第 4 項 考察

今回の実験では、昇圧反応の抑制についてベナゼプリル群とアラセプリル群の間に有意差は認められなかった。さらに、プラセボ群でも昇圧反応が弱い個体や、ACE 阻害剤を投与しているにもかかわらず昇圧反応が全く抑制されない個体が存在し、血清 ACE 阻害率と実際の薬効は必ずしも相関しないことが示された。

今回の実験は過去の報告を元に Ang I の投与用量の設定を行ったが<sup>100</sup>、過去の結果と比較しても、血圧の上昇反応に大きな差が認められた。この理由として①麻酔方法の違い②血圧、RAA 系の日内変動 ③アンジオテンシン受容体、RAA 系の個体差の影響、等が考えられた。

麻酔方法の違い：過去の文献では前投与をアセプロマジン(0.01mg/kg、IM)、ブプレノルフィン(0.04mg/kg、IM)、ケタミン(7mg/kg、IM)で行い、導入をイソフルラン、維持をプロポフォール(0.3mg/kg/min、CRI)で行っている。本実験では前投与は行わず、導入をプロポフォール、維持をイソフルランで行った。麻酔維持に用いたイソフルランは血管拡張作用があるため<sup>42</sup>、Ang I の昇圧作用に影響を及ぼした可能性が考えられる。さらに、実験は麻酔下で行ったため、実験中に体温の低下が起こった。本実験ではイソフルランの吸入濃度を一定に保ち、Ang I の投



与を行ったが、体温の低下は最小肺胞内濃度や薬剤の代謝に影響を及ぼすことが知られている<sup>42</sup>。そのため、麻酔中の体温の変化が麻酔薬の再分布の遅延や、代謝に影響を及ぼした可能性も考えられる。

血圧、RAA系の日内変動：猫は8時と19時をピークとする2峰性の血圧の日内変動を持つ<sup>101</sup>。ヒトも同様に血圧の日内変動があるとされており<sup>102,103</sup>、交感神経活動の増大に伴う血圧の上昇やRAA系の活性にも日内変動があるとされている。今回の実験では、実験開始時間が個体によって異なっていたため、日内変動による交感神経活性の差やRAA系活性の差が存在した可能性が考えられる。

アンジオテンシン受容体、RAA系の個体差：ヒトではRAA系には性差があるとされており<sup>104</sup>、テストステロンはRAA系を活性化することで血圧を上昇させるが、エストロゲンはテストステロンとは反対にRAA系を抑制し、血圧を低下させる。さらに、エストロゲンは一酸化窒素<sup>105</sup>、プロスタサイクリンの産生亢進<sup>106</sup>、AT-1受容体の発現抑制<sup>107</sup>といったRAA系抑制を介した血管内皮由来の機序、あるいは血管平滑筋細胞における細胞内カルシウム流入抑制を介する末梢血管抵抗の低下による血管拡張作用により血圧の上昇を抑える作用がある<sup>108</sup>。今回の結果からは性差による血圧上昇抑制に差は認められなかったが、血中のホルモン濃度の計測は行っていないことから、このようなホルモンが昇圧作用抑制に関与していた可能性は否定できない。

さらに、ヒトではAT-1受容体、ACE、キマーゼには多型性がある<sup>109,110</sup>。AT-1受容体の多型性は高血圧、酸化ストレスや心筋梗塞の罹患率に関連があるとされており<sup>111-113</sup>、ACEの多型性は血清または筋中のACE活性に強く関係することがされている<sup>114-116</sup>。キマーゼ遺伝子多型は高血圧などの疾患との関連は明らかとはなっていないが、キマーゼはアンジオテンシン変換酵素を介さないアンジオテンシンII産生に関与する酵素であることから、研究が進められている。

猫でも ACE には猫種によって多型性があるとされているが、血圧との関連は明らかにされていない<sup>117</sup>。以上のことから、AT-1 受容体、ACE、キマーゼの差異によって、昇圧作用が異なっていたことも考えられる。

本実験にはいくつかの研究限界が存在する。1 つ目に昇圧反応の測定を麻酔下で行ったことである。麻酔薬による血行動態への影響は避けられないため、生体内の実際の反応を今回の結果がどれだけ反映しているかは明らかではない。2 つ目に供試猫が少数であったことである。

#### 第6項 小括

本実験ではベナゼプリル群、アラセプリル群の両群共に昇圧の抑制の程度に一定の傾向は認められず、血清中の ACE 活性阻害率と昇圧反応に相関は認められなかった。このことから、血清 ACE 阻害率と実際の薬効は必ずしも相関しないことが示された。この理由として、個体ごとの AT-1 受容体の発現の差異や、ACE 阻害剤の組織移行性の差異などが考えられたため、第 3 節での実験を行うこととした。

### 第3節 個体ごとのアンジオテンシン受容体、ACE、キマーゼの差異について

#### 第1項 背景および目的

第2節において血清 ACE 阻害率と実際の薬効が相関しない理由として、個体ごとのアンジオテンシン受容体 (AT-1 受容体) の差異や、ACE 阻害剤の組織移行性の差異などが考えられた。

そのため、本項では個体ごとの AT-1 受容体、ACE、キマーゼの遺伝的差異について検討を行うことを目的とし、各遺伝子のエクソン領域の遺伝子配列の比較を行った。

#### 第2項 実験方法

##### (1) 供試猫

第3章第2節と同様の実験用猫 10 頭 (未去勢雄 5 頭、未避妊雌 5 頭、株式会社ナルクより購入) を用いた。猫の年齢は 3 歳 3 カ月-3 歳 6 カ月、体重は 2.70-4.55 kg であった。供試猫はそれぞれ個体ごとで飼育を行い、給餌は朝と夕方の 1 日 2 回とし、飲水は自由飲水とした。

##### (2) 遺伝子解析

全血より illustra™ blood genomicPrep Mini Spin Kit (GE ヘルスケア) を用いてゲノム DNA の抽出を行った。AT-1 受容体、ACE、キマーゼの各エクソン領域の増幅を目的としたプライマーを設計し (Table 27~29)、Polymerase Chain Reaction (PCR) に用いた。PCR では DNA ポリメラーゼに TaKaRa Ex Taq (タカラバイオ株式会社) を使用し、サーマルサイクラーは My Cyclor™ Thermal Cyclor (Bio-Rad) を使用した。アガロースゲル電気泳動により増幅を確

認後、MinElute Gel Extraction Kit (QIAGEN) を使用し、目的のバンドから DNA の抽出を行った。抽出した DNA は BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems)を用いてシーケンス反応を行い、ABI PRISM 3130xl Genetic Analyzer 用いてダイレクトシーケンス解析を行った。NCBI データベースのネコのショットガンシーケンスデータから AT-1 受容体 (NC\_018731.2)、ACE(NC\_018736.2)、キマーゼ(NC\_018728.2)の遺伝子配列をリファレンスとし、得られたシーケンス情報から BioEdit を用いて比較検討を行った。

### 第 3 項 結果

AT-1 受容体、ACE、キマーゼの各エクソン領域に個体ごとでアミノ酸変異が生じるような塩基配列の差異は認められなかった。

### 第 4 項 考察

猫では AT-1 受容体、ACE の多型性があるとされているが<sup>117</sup>、本研究では AT-1 受容体、ACE、キマーゼには多型性は認められなかった。このことから、血清 ACE 活性阻害率と実際の薬効が関連しない理由として、受容体の発現量の差異や ACE 阻害剤の組織移行性の差異、イントロン領域での一塩基多型など、その他の要因が関連している可能性が考えられた。

## 第 5 項 小括

今回実験で使用した猫では AT-1 受容体、ACE、キマーゼに多型性は認められなかった。今後は ACE 阻害剤の組織移行性の差異など、その他の因子についてさらなる検討を行いたいと考えている。

## 第4章 結語

本研究は猫の HCM および RCM の診断および治療の確立を目的とし、特に早期診断、内科治療に注目し検討を行った。

第2章では心拍数は左心室壁厚の測定値に影響を与える因子であることが明らかとなった。このことから、猫では心拍数によって心筋壁厚を過大評価または過小評価してしまう可能性が示唆された。さらに猫の HCM では、肥大している心筋だけではなく肥大していない心筋においても、病態初期より拡張機能が低下していることが明らかとなった。左心房の拡大の背景の病態についても検討したところ、左心室の拡張機能の低下に加え、左心房機能の低下によって発現することが明らかとなった。また、TDI では検出できなかった機能低下を STE では検出可能であり、さらに病態の進行の評価においても有用である可能性が示唆された。以上のことから、壁厚の測定は HCM の診断に必要不可欠であるものの、心拍数を考慮する必要がある、壁厚だけに頼る診断方法には限界があることが示唆された。そのため、形態（壁厚）のみならず STE による拡張機能評価、心房機能評価などと併せた総合判断をすることが必要であると考えられた。

第3章では、猫の心不全治療薬の中でもよく使用されている ACE 阻害薬について検討を行った。猫ではベナゼプリル、エナラプリルおよびアラセプリルにおいて、血清 ACE 活性阻害率に有意な差はあるものの、全ての薬剤投与後に良好な血清 ACE 活性抑制率が確認された。しかしながら、血清 ACE 活性阻害率と昇圧機構阻害作用に代表される薬効との間には関連は認められなかった。その原因として AT-1 受容体、ACE、キマーゼの猫の個体間における多型性であると仮説を立て検証したものの、仮説は棄却された。ACE 活性阻害率と薬効との間の食い違いは本研究では解明されなかったことから、今後さらなる検討が必要

である。これまで ACE 阻害剤の用量は、血清中の薬剤の濃度や血清 ACE 阻害率を根拠に推奨されているが、本研究の結果から、ACE 阻害剤の用量は今後見直す必要がある可能性が示唆された。

## 謝辞

本稿を終えるに当たり、終始懇切なる御指導、御校閲を賜りました麻布大学獣医学部獣医学科外科学第一研究室 藤井洋子教授、内科学第二研究室 土屋亮教授、生理学第二研究室 折戸謙介教授に深甚なる感謝の意を表します。

ご指導いただきました、麻布大学獣医学部獣医学科外科学第一研究室 青木卓磨講師に感謝するとともに、多大なる御協力、御援助頂きました麻布大学獣医学部獣医学科生理学第二研究室 志賀俊紀氏、麻布大学獣医学部獣医学科外科学第一研究室 田久保いずみ氏、小倉侑人氏、その他研究室生諸氏に心より感謝致します。

本研究に多くの貴重な情報を提供してくれた動物たちに感謝の意を表します。



## 参考文献

1. Ferasin L, Sturges CP, Cannon MJ, et al. Feline idiopathic cardiomyopathy: a retrospective study of 106 cats (1994-2001). *Journal of feline medicine and surgery* 2003;5:151-159.
2. Maron BJ, Towbin JA, Thiene G, et al. Contemporary definitions and classification of the cardiomyopathies: an American Heart Association Scientific Statement from the Council on Clinical Cardiology, Heart Failure and Transplantation Committee; Quality of Care and Outcomes Research and Functional Genomics and Translational Biology Interdisciplinary Working Groups; and Council on Epidemiology and Prevention. *Circulation* 2006;113:1807-1816.
3. Landstrom AP, Ackerman MJ. Mutation type is not clinically useful in predicting prognosis in hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 2010;122:2441-2449; discussion 2450.
4. Fowles RE, Mason JW. Role of cardiac biopsy in the diagnosis and management of cardiac disease. *Prog Cardiovasc Dis* 1984;27:153-172.
5. Seidman JG, Seidman C. The genetic basis for cardiomyopathy: from mutation identification to mechanistic paradigms. *Cell* 2001;104:557-567.
6. Terai H, Shimizu M, Ino H, et al. Changes in cardiac sympathetic nerve innervation and activity in pathophysiologic transition from typical to end-stage hypertrophic cardiomyopathy. *J Nucl Med* 2003;44:1612-1617.
7. Shimizu M, Ino H, Okeie K, et al. Cardiac dysfunction and long-term prognosis in patients with nonobstructive hypertrophic cardiomyopathy and abnormal (123)I-15- (p-Iodophenyl)-3(R,S)-methylpentadecanoic acid myocardial scintigraphy. *Cardiology* 2000;93:43-49.

8. Sisson DD, Knight DH, Helinski C, et al. Plasma taurine concentrations and M-mode echocardiographic measures in healthy cats and in cats with dilated cardiomyopathy. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine* 1991;5:232-238.
9. Fox PR, Liu SK, Maron BJ. Echocardiographic assessment of spontaneously occurring feline hypertrophic cardiomyopathy. An animal model of human disease. *Circulation* 1995;92:2645-2651.
10. Hori Y, Uechi M, Indou A. Effects of changes in loading conditions and heart rate on the myocardial performance index in cats. *Am J Vet Res* 2007;68:1183-1187.
11. Campbell FE, Kittleson MD. The effect of hydration status on the echocardiographic measurements of normal cats. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine* 2007;21:1008-1015.
12. Longeri M, Ferrari P, Knafelz P, et al. Myosin-binding protein C DNA variants in domestic cats (A31P, A74T, R820W) and their association with hypertrophic cardiomyopathy. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine* 2013;27:275-285.
13. Meurs KM, Norgard MM, Kuan M, et al. Analysis of 8 sarcomeric candidate genes for feline hypertrophic cardiomyopathy mutations in cats with hypertrophic cardiomyopathy. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine* 2009;23:840-843.
14. Singletary GE, Rush JE, Fox PR, et al. Effect of NT-pro-BNP assay on accuracy and confidence of general practitioners in diagnosing heart failure or respiratory disease in cats with respiratory signs. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine* 2012;26:542-546.

15. Fox PR, Rush JE, Reynolds CA, et al. Multicenter evaluation of plasma N-terminal probrain natriuretic peptide (NT-pro BNP) as a biochemical screening test for asymptomatic (occult) cardiomyopathy in cats. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine* 2011;25:1010-1016.
16. Singh MK, Cocchiario MF, Kittleson MD. NT-proBNP measurement fails to reliably identify subclinical hypertrophic cardiomyopathy in Maine Coon cats. *Journal of feline medicine and surgery* 2010;12:942-947.
17. Braunwald E, Seidman CE, Sigwart U. Contemporary evaluation and management of hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 2002;106:1312-1316.
18. Maron BJ. Hypertrophic cardiomyopathy. *Current problems in cardiology* 1993;18:639-704.
19. Toshima H, Koga Y, Nagata H, et al. Comparable effects of oral diltiazem and verapamil in the treatment of hypertrophic cardiomyopathy. Double-blind crossover study. *Jpn Heart J* 1986;27:701-715.
20. Sugihara H, Taniguchi Y, Ito K, et al. Effects of diltiazem on myocardial perfusion abnormalities during exercise in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Ann Nucl Med* 1998;12:349-354.
21. Robbins RC, Stinson EB. Long-term results of left ventricular myotomy and myectomy for obstructive hypertrophic cardiomyopathy. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1996;111:586-594.
22. Schonbeck MH, Brunner-La Rocca HP, Vogt PR, et al. Long-term follow-up in hypertrophic obstructive cardiomyopathy after septal myectomy. *Ann Thorac Surg* 1998;65:1207-1214.
23. Chen S, Duan F, Yuan J, et al. Effect of septal ablation on regional diastolic

dysfunction and diastolic asynchrony in patients with hypertrophic obstructive cardiomyopathy: a follow-up study using speckle tracking echocardiography. *Echocardiography* 2013;30:564-571.

24. Schober KE, Zientek J, Li X, et al. Effect of treatment with atenolol on 5-year survival in cats with preclinical (asymptomatic) hypertrophic cardiomyopathy. *Journal of veterinary cardiology : the official journal of the European Society of Veterinary Cardiology* 2013;15:93-104.

25. Jung SW, Kittleson MD. The effect of atenolol on NT-proBNP and troponin in asymptomatic cats with severe left ventricular hypertrophy because of hypertrophic cardiomyopathy: a pilot study. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine* 2011;25:1044-1049.

26. MacDonald KA, Kittleson MD, Kass PH, et al. Effect of spironolactone on diastolic function and left ventricular mass in Maine Coon cats with familial hypertrophic cardiomyopathy. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine* 2008;22:335-341.

27. MacDonald KA, Kittleson MD, Larson RF, et al. The effect of ramipril on left ventricular mass, myocardial fibrosis, diastolic function, and plasma neurohormones in Maine Coon cats with familial hypertrophic cardiomyopathy without heart failure. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine* 2006;20:1093-1105.

28. Bright JM, Golden AL, Gompf RE, et al. Evaluation of the calcium channel-blocking agents diltiazem and verapamil for treatment of feline hypertrophic cardiomyopathy. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine* 1991;5:272-282.

29. Rush JE, Freeman LM, Brown DJ, et al. The use of enalapril in the treatment of feline hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Anim Hosp Assoc* 1998;34:38-41.
30. Wainberg S. Use of pimobendan in feline congenital heart failure. *Can Vet J* 2013;54:1164-1166.
31. Koffas H, Dukes-McEwan J, Corcoran BM, et al. Pulsed tissue Doppler imaging in normal cats and cats with hypertrophic cardiomyopathy. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine* 2006;20:65-77.
32. Quimby JM, Smith ML, Lunn KF. Evaluation of the effects of hospital visit stress on physiologic parameters in the cat. *Journal of feline medicine and surgery* 2011;13:733-737.
33. Abbott JA. Heart rate and heart rate variability of healthy cats in home and hospital environments. *Journal of feline medicine and surgery* 2005;7:195-202.
34. Jacobs G, Mahjoob K. Influence of alterations in heart rate on echocardiographic measurements in the dog. *Am J Vet Res* 1988;49:548-552.
35. DeMaria AN, Neumann A, Schubart PJ, et al. Systematic correlation of cardiac chamber size and ventricular performance determined with echocardiography and alterations in heart rate in normal persons. *The American journal of cardiology* 1979;43:1-9.
36. Marz I, Wilkie LJ, Harrington N, et al. Familial cardiomyopathy in Norwegian Forest cats. *Journal of feline medicine and surgery* 2015;17:681-691.
37. Wess G, Sarkar R, Hartmann K. Assessment of left ventricular systolic function by strain imaging echocardiography in various stages of feline hypertrophic cardiomyopathy. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine* 2010;24:1375-1382.

38. Payne JR, Borgeat K, Connolly DJ, et al. Prognostic indicators in cats with hypertrophic cardiomyopathy. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine* 2013;27:1427-1436.
39. Holubarsch C, Ruf T, Goldstein DJ, et al. Existence of the Frank-Starling mechanism in the failing human heart. Investigations on the organ, tissue, and sarcomere levels. *Circulation* 1996;94:683-689.
40. Mulieri LA, Leavitt BJ, Martin BJ, et al. Myocardial force-frequency defect in mitral regurgitation heart failure is reversed by forskolin. *Circulation* 1993;88:2700-2704.
41. MacDonald KA, Kittleson MD, Garcia-Nolen T, et al. Tissue Doppler imaging and gradient echo cardiac magnetic resonance imaging in normal cats and cats with hypertrophic cardiomyopathy. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine* 2006;20:627-634.
42. Hodgson DS, Dunlop CI, Chapman PL, et al. Cardiopulmonary effects of anesthesia induced and maintained with isoflurane in cats. *Am J Vet Res* 1998;59:182-185.
43. Freeman LM, Rush JE, Feugier A, et al. Relationship of body size to metabolic markers and left ventricular hypertrophy in cats. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine* 2015;29:150-156.
44. Bright JM, Herrtage ME, Schneider JF. Pulsed Doppler assessment of left ventricular diastolic function in normal and cardiomyopathic cats. *J Am Anim Hosp Assoc* 1999;35:285-291.
45. Nishimura RA, Abel MD, Hatle LK, et al. Relation of pulmonary vein to mitral flow velocities by transesophageal Doppler echocardiography. Effect of different loading conditions. *Circulation* 1990;81:1488-1497.
46. Simpson KE, Gunn-Moore DA, Shaw DJ, et al. Pulsed-wave Doppler tissue

imaging velocities in normal geriatric cats and geriatric cats with primary or systemic diseases linked to specific cardiomyopathies in humans, and the influence of age and heart rate upon these velocities. *Journal of feline medicine and surgery* 2009;11:293-304.

47. Carlos Sampedrano C, Chetboul V, Gouni V, et al. Systolic and diastolic myocardial dysfunction in cats with hypertrophic cardiomyopathy or systemic hypertension. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine* 2006;20:1106-1115.

48. Chetboul V, Sampedrano CC, Gouni V, et al. Two-dimensional color tissue Doppler imaging detects myocardial dysfunction before occurrence of hypertrophy in a young Maine Coon cat. *Vet Radiol Ultrasound* 2006;47:295-300.

49. Oyama MA, Sisson DD, Bulmer BJ, et al. Echocardiographic estimation of mean left atrial pressure in a canine model of acute mitral valve insufficiency. *J Vet Intern Med* 2004;18:667-672.

50. Sohn DW, Chai IH, Lee DJ, et al. Assessment of mitral annulus velocity by Doppler tissue imaging in the evaluation of left ventricular diastolic function. *J Am Coll Cardiol* 1997;30:474-480.

51. Mor-Avi V, Lang RM, Badano LP, et al. Current and evolving echocardiographic techniques for the quantitative evaluation of cardiac mechanics: ASE/EAE consensus statement on methodology and indications endorsed by the Japanese Society of Echocardiography. *Journal of the American Society of Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography* 2011;24:277-313.

52. Chetboul V, Athanassiadis N, Carlos C, et al. Quantification, repeatability, and reproducibility of feline radial and longitudinal left ventricular velocities by tissue Doppler imaging. *Am J Vet Res* 2004;65:566-572.

53. Chetboul V, Sampedrano CC, Tissier R, et al. Reference range values of regional left ventricular myocardial velocities and time intervals assessed by tissue Doppler imaging in young nonsedated Maine Coon cats. *Am J Vet Res* 2005;66:1936-1942.
54. Chetboul V, Petit A, Gouni V, et al. Prospective echocardiographic and tissue Doppler screening of a large Sphynx cat population: reference ranges, heart disease prevalence and genetic aspects. *J Vet Cardiol* 2012;14:497-509.
55. Biswas M, Sudhakar S, Nanda NC, et al. Two- and three-dimensional speckle tracking echocardiography: clinical applications and future directions. *Echocardiography* 2013;30:88-105.
56. Kobayashi T, Popovic Z, Bhonsale A, et al. Association between septal strain rate and histopathology in symptomatic hypertrophic cardiomyopathy patients undergoing septal myectomy. *American heart journal* 2013;166:503-511.
57. Popovic ZB, Kwon DH, Mishra M, et al. Association between regional ventricular function and myocardial fibrosis in hypertrophic cardiomyopathy assessed by speckle tracking echocardiography and delayed hyperenhancement magnetic resonance imaging. *Journal of the American Society of Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography* 2008;21:1299-1305.
58. Butz T, van Buuren F, Mellwig KP, et al. Two-dimensional strain analysis of the global and regional myocardial function for the differentiation of pathologic and physiologic left ventricular hypertrophy: a study in athletes and in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Int J Cardiovasc Imaging* 2011;27:91-100.
59. Carasso S, Yang H, Woo A, et al. Diastolic myocardial mechanics in hypertrophic cardiomyopathy. *Journal of the American Society of Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography* 2010;23:164-171.



60. Garceau P, Carasso S, Woo A, et al. Evaluation of left ventricular relaxation and filling pressures in obstructive hypertrophic cardiomyopathy: comparison between invasive hemodynamics and two-dimensional speckle tracking. *Echocardiography* 2012;29:934-942.
61. Chetboul V, Serres F, Gouni V, et al. Radial strain and strain rate by two-dimensional speckle tracking echocardiography and the tissue velocity based technique in the dog. *Journal of veterinary cardiology : the official journal of the European Society of Veterinary Cardiology* 2007;9:69-81.
62. Chetboul V, Serres F, Gouni V, et al. Noninvasive assessment of systolic left ventricular torsion by 2-dimensional speckle tracking imaging in the awake dog: repeatability, reproducibility, and comparison with tissue Doppler imaging variables. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine* 2008;22:342-350.
63. Wess G, Keller LJ, Klausnitzer M, et al. Comparison of longitudinal myocardial tissue velocity, strain, and strain rate measured by two-dimensional speckle tracking and by color tissue Doppler imaging in healthy dogs. *Journal of veterinary cardiology : the official journal of the European Society of Veterinary Cardiology* 2011;13:31-43.
64. Silva AC, Muzzi RA, Oberlender G, et al. Longitudinal strain and strain rate by two-dimensional speckle tracking in non-sedated healthy cats. *Res Vet Sci* 2013;95:1175-1180.
65. Granstrom S, Godiksen MT, Christiansen M, et al. Prevalence of hypertrophic cardiomyopathy in a cohort of British Shorthair cats in Denmark. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine* 2011;25:866-871.
66. Chetboul V, Concordet D, Pouchelon JL, et al. Effects of inter- and intra-observer

variability on echocardiographic measurements in awake cats. *Journal of veterinary medicine A, Physiology, pathology, clinical medicine* 2003;50:326-331.

67. Paige CF, Abbott JA, Elvinger F, et al. Prevalence of cardiomyopathy in apparently healthy cats. *J Am Vet Med Assoc* 2009;234:1398-1403.

68. Granstrom S, Pippet CB, Mogelvang R, et al. Effect of sample volume size and sampling method on feline longitudinal myocardial velocity profiles from color tissue Doppler imaging. *Journal of veterinary cardiology : the official journal of the European Society of Veterinary Cardiology* 2012;14:479-488.

69. Kato TS, Noda A, Izawa H, et al. Discrimination of nonobstructive hypertrophic cardiomyopathy from hypertensive left ventricular hypertrophy on the basis of strain rate imaging by tissue Doppler ultrasonography. *Circulation* 2004;110:3808-3814.

70. Tabata T, Oki T, Yamada H, et al. Subendocardial motion in hypertrophic cardiomyopathy: assessment from long- and short-axis views by pulsed tissue Doppler imaging. *J Am Soc Echocardiogr* 2000;13:108-115.

71. Sengupta PP, Krishnamoorthy VK, Korinek J, et al. Left ventricular form and function revisited: applied translational science to cardiovascular ultrasound imaging. *Journal of the American Society of Echocardiography : official publication of the American Society of Echocardiography* 2007;20:539-551.

72. Carlos Sampedrano C, Chetboul V, Mary J, et al. Prospective echocardiographic and tissue Doppler imaging screening of a population of Maine Coon cats tested for the A31P mutation in the myosin-binding protein C gene: a specific analysis of the heterozygous status. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine* 2009;23:91-99.

73. MacDonald KA, Kittleson MD, Kass PH, et al. Tissue Doppler imaging in Maine

Coon cats with a mutation of myosin binding protein C with or without hypertrophy. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine* 2007;21:232-237.

74. Nagueh SF, Kopelen HA, Lim DS, et al. Tissue Doppler imaging consistently detects myocardial contraction and relaxation abnormalities, irrespective of cardiac hypertrophy, in a transgenic rabbit model of human hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 2000;102:1346-1350.

75. Nagueh SF, Bachinski LL, Meyer D, et al. Tissue Doppler imaging consistently detects myocardial abnormalities in patients with hypertrophic cardiomyopathy and provides a novel means for an early diagnosis before and independently of hypertrophy. *Circulation* 2001;104:128-130.

76. Saito M, Okayama H, Yoshii T, et al. Clinical significance of global two-dimensional strain as a surrogate parameter of myocardial fibrosis and cardiac events in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2012;13:617-623.

77. Correia E, Rodrigues B, Santos LF, et al. Longitudinal left ventricular strain in hypertrophic cardiomyopathy: correlation with nonsustained ventricular tachycardia. *Echocardiography* 2011;28:709-714.

78. Drouin L, Lefbom BK, Rosenthal SL, et al. Measurement of M-mode echocardiographic parameters in healthy adult Maine Coon cats. *J Am Vet Med Assoc* 2005;226:734-737.

79. Mottet E, Amberger C, Doherr MG, et al. Echocardiographic parameters in healthy young adult Sphynx cats. *Schweiz Arch Tierheilkd* 2012;154:75-80.

80. Linney CJ, Dukes-McEwan J, Stephenson HM, et al. Left atrial size, atrial function

and left ventricular diastolic function in cats with hypertrophic cardiomyopathy. *J Small Anim Pract* 2014;55:198-206.

81. Axelsson A, Iversen K, Vejstrup N, et al. Functional effects of losartan in hypertrophic cardiomyopathy-a randomised clinical trial. *Heart* 2015.

82. Grassedonio E, Todiere G, La Grutta L, et al. Assessment of atrial diastolic function in patients with hypertrophic cardiomyopathy by cine magnetic resonance imaging. *Radiol Med* 2015;120:714-722.

83. Negishi K, Negishi T, Zardkoohi O, et al. Left atrial booster pump function is an independent predictor of subsequent life-threatening ventricular arrhythmias in non- ischaemic cardiomyopathy. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2015.

84. Bombelli M, Facchetti R, Cuspidi C, et al. Prognostic significance of left atrial enlargement in a general population: results of the PAMELA study. *Hypertension* 2014;64:1205-1211.

85. Greenberg B, Quinones MA, Koilpillai C, et al. Effects of long-term enalapril therapy on cardiac structure and function in patients with left ventricular dysfunction. Results of the SOLVD echocardiography substudy. *Circulation* 1995;91:2573-2581.

86. Spinale FG, Holzgreffe HH, Mukherjee R, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition and the progression of congestive cardiomyopathy. Effects on left ventricular and myocyte structure and function. *Circulation* 1995;92:562-578.

87. Taugner FM. Stimulation of the renin-angiotensin system in cats with hypertrophic cardiomyopathy. *J Comp Pathol* 2001;125:122-129.

88. Amberger CN, Glardon O, Glaus T, et al. Effects of benazepril in the treatment of feline hypertrophic cardiomyopathy Results of a prospective, open-label, multicenter clinical trial. *Journal of veterinary cardiology : the official journal of the European*

Society of Veterinary Cardiology 1999;1:19-26.

89. Taillefer M, Di Fruscia R. Benazepril and subclinical feline hypertrophic cardiomyopathy: a prospective, blinded, controlled study. *Can Vet J* 2006;47:437-445.

90. King JN, Humbert-Droz E, Maurer M. Plasma angiotensin converting enzyme activity and pharmacokinetics of benazepril and benazeprilat in cats after single and repeated oral administration of benazepril.HCl. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics* 1999;22:360-367.

91. Lefebvre HP, Brown SA, Chetboul V, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibitors in veterinary medicine. *Curr Pharm Des* 2007;13:1347-1361.

92. Ishikawa Y, Uechi M, Hori Y, et al. Effects of enalapril in cats with pressure overload-induced left ventricular hypertrophy. *Journal of feline medicine and surgery* 2007;9:29-35.

93. Littman MP. Spontaneous systemic hypertension in 24 cats. *Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine* 1994;8:79-86.

94. Jensen J, Henik RA, Brownfield M, et al. Plasma renin activity and angiotensin I and aldosterone concentrations in cats with hypertension associated with chronic renal disease. *Am J Vet Res* 1997;58:535-540.

95. Miller RH, Lehmkuhl LB, Smeak DD, et al. Effect of enalapril on blood pressure, renal function, and the renin-angiotensin-aldosterone system in cats with autosomal dominant polycystic kidney disease. *Am J Vet Res* 1999;60:1516-1525.

96. King JN, Strehlau G, Wernsing J, et al. Effect of renal insufficiency on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of benazepril in cats. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics* 2002;25:371-378.

97. Brown SA, Brown CA, Jacobs G, et al. Effects of the angiotensin converting

- enzyme inhibitor benazepril in cats with induced renal insufficiency. *Am J Vet Res* 2001;62:375-383.
98. Aramaki Y, Uechi M, Takase K. Angiotensin converting enzyme and chymase activity in the feline heart and serum. *J Vet Med Sci* 2003;65:1115-1118.
99. Ruzicka M, Coletta E, White R, et al. Effects of ACE inhibitors on cardiac angiotensin II and aldosterone in humans: "Relevance of lipophilicity and affinity for ACE". *Am J Hypertens* 23:1179-1182.
100. Coleman AE, Schmiedt CW, Jenkins TL, et al. Evaluation of a rapid pressor response test in healthy cats. *Am J Vet Res* 2013;74:1392-1399.
101. Mishina M, Watanabe N, Watanabe T. Diurnal variations of blood pressure in cats. *J Vet Med Sci* 2006;68:243-248.
102. Minamisawa K, Tochikubo O, Ishii M. Systemic hemodynamics during sleep in young or middle-aged and elderly patients with essential hypertension. *Hypertension* 1994;23:167-173.
103. Imai Y, Abe K, Munakata M, et al. Circadian blood pressure variations under different pathophysiological conditions. *J Hypertens Suppl* 1990;8:S125-132.
104. dos Santos RL, da Silva FB, Ribeiro RF, Jr., et al. Sex hormones in the cardiovascular system. *Horm Mol Biol Clin Investig* 2014;18:89-103.
105. Hayashi T, Yamada K, Esaki T, et al. Estrogen increases endothelial nitric oxide by a receptor-mediated system. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;214:847-855.
106. Jun SS, Chen Z, Pace MC, et al. Estrogen upregulates cyclooxygenase-1 gene expression in ovine fetal pulmonary artery endothelium. *J Clin Invest* 1998;102:176-183.
107. Nickenig G, Baumer AT, Grohe C, et al. Estrogen modulates AT1 receptor gene expression in vitro and in vivo. *Circulation* 1998;97:2197-2201.

108. Farhat MY, Lavigne MC, Ramwell PW. The vascular protective effects of estrogen. *FASEB J* 1996;10:615-624.
109. Li L, Wang F, Lv PW, et al. Angiotensin II type 1 receptor gene A1166C polymorphism and breast cancer susceptibility. *Genet Mol Res* 2015;14:15016-15023.
110. Rohman MS, Dewi Satiti IA, Widodo N, et al. Genetic Variants of C-5312T REN Increased Renin Levels and Diastolic Blood Pressure Response to Angiotensin Receptor Blockers. *Int J Hypertens* 2015;2015:930631.
111. Tiret L, Bonnardeaux A, Poirier O, et al. Synergistic effects of angiotensin-converting enzyme and angiotensin-II type 1 receptor gene polymorphisms on risk of myocardial infarction. *Lancet* 1994;344:910-913.
112. Rahimi Z, Rahimi Z, Aghaei A, et al. AT2R -1332 G:A polymorphism and its interaction with AT1R 1166 A:C, ACE I/D and MMP-9 -1562 C:T polymorphisms: risk factors for susceptibility to preeclampsia. *Gene* 2014;538:176-181.
113. Asefi M, Vaisi-Raygani A, Bahrehmand F, et al. Paraoxonase 1 (PON1) 55 polymorphism, lipid profiles and psoriasis. *Br J Dermatol* 2012;167:1279-1286.
114. Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, et al. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest* 1990;86:1343-1346.
115. Higashimori K, Zhao Y, Higaki J, et al. Association analysis of a polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene with essential hypertension in the Japanese population. *Biochem Biophys Res Commun* 1993;191:399-404.
116. Danser AH, Schalekamp MA, Bax WA, et al. Angiotensin-converting enzyme in the human heart. Effect of the deletion/insertion polymorphism. *Circulation* 1995;92:1387-1388.

117. Meurs KM, Chdid L, Reina-Doreste Y, et al. Polymorphisms in the canine and feline renin-angiotensin-aldosterone system genes. *Anim Genet* 2015;46:226.



**Table 1** 心拍数の変動による心エコー図検査値の変化と相関

Segment (mm)	120ppm	130ppm	140ppm	150ppm	160ppm	170ppm	180ppm	相関係数(r)
<b>1</b>	3.12±0.32	3.39±0.31	3.58±0.26	3.79±0.33	3.96±0.21	4.09±0.20	4.24±0.22	0.80
<b>2</b>	3.13±0.33	3.41±0.32	3.56±0.24	3.79±0.31	3.96±0.25	4.14±0.28	4.28±0.34	0.79
<b>3</b>	3.17±0.33	3.42±0.29	3.60±0.26	3.81±0.32	3.96±0.24	4.11±0.27	4.24±0.33	0.79
<b>4</b>	3.19±0.31	3.44±0.30	3.62±0.29	3.84±0.32	4.03±0.23	4.12±0.29	4.28±0.39	0.79
<b>5</b>	3.08±0.40	3.30±0.35	3.51±0.35	3.66±0.31	3.90±0.24	4.03±0.21	4.34±0.12	0.80
<b>6</b>	3.13±0.39	3.34±0.37	3.72±0.04	3.90±0.10	4.09±0.18	4.23±0.25	4.42±0.27	0.78
<b>7</b>	3.23±0.33	3.39±0.36	3.58±0.31	3.78±0.27	3.94±0.21	4.09±0.16	4.30±0.22	0.76
<b>8</b>	3.23±0.34	3.36±0.36	3.57±0.30	3.77±0.24	3.91±0.17	4.07±0.17	4.23±0.16	0.75
<b>LVIDd (mm)</b>	15.54±1.38	15.58±1.38	15.34±1.14	15.04±1.14	14.89±1.10	14.73±1.16	14.34±1.02	-0.33
<b>LVIDs (mm)</b>	11.16±1.13	10.68±1.00	10.47±1.00	10.23±0.78	10.08±0.69	9.50±0.58	9.03±0.67	-0.60
<b>FS (%)</b>	28.23±4.23	31.18±6.02	31.65±5.79	31.82±4.24	32.18±4.29	35.14±6.02	36.92±3.73	0.43

LVIDd: 左心室拡張末期内腔径、LVIDs: 左心室収縮末期内腔径、FS: 左心室内径短縮率

**Table 2** 心拍数の変動による血圧の変化

HR	120ppm	130ppm	140ppm	150ppm	160ppm	170ppm	180ppm
SBP (mmHg)	87.7 ± 19.8	91.3 ± 20.2	92.9 ± 17.9	82.3 ± 16.1	87.8 ± 20.7	87.4 ± 13.8	82.9 ± 13.6

HR:心拍数、SBP:最大収縮期血圧

Table 3 正常群、S-HCM群、D-HCM群の性別、年齢、体重、猫種

項目	正常群	S-HCM群	D-HCM群	P 値
数	13	17	5	
性別 (雌/雄)	5/8	6/11	2/3	> 0.05
年齢 (カ月)	39.2±36.4	38.9±31.4	45.6±17.2	> 0.05
年齢 範囲	7 - 110	6 - 108	24 - 73	
体重 (kg)	3.92±0.83	3.97±1.91	4.08±1.10	> 0.05
猫種 (頭)	Norwegian Forest Cat(2) Domestic Shorthair(11)	Scottish Fold(4) American Shorthair(3) Maine Coon(1) Exotic Shorthair(1) Ragamuffin(1) Norwegian Forest Cat(1) American Curl(1) Domestic Shorthair(5)	Scottish Fold 1 American Shorthair 1 Maine Coon 1 Domestic Shorthair 2	

S-HCM群: 中隔壁肥大群、D-HCM群: 全周性肥大群

**Table 4** 正常群、S-HCM群、D-HCM群の心エコー結果

項目		正常群	S-HCM群	D-HCM群	P 値
<b>LVIDd</b>	(cm)	1.60±0.10	1.43±0.20*	1.40±0.20*	0.007
<b>IVSd</b>	(cm)	0.40±0.03	0.62±0.05**	0.73±0.06**†	< 0.001
<b>LVFWd</b>	(cm)	0.40±0.04	0.44±0.05*	0.65±0.08**†	< 0.001
<b>FS</b>	(%)	40.7±7.5	60.3±10.2**	60.1±10.9**	0.002
<b>LA/Ao</b>		1.21±0.14	1.22±0.10	1.23±0.11	< 0.05
<b>aortic flow of high velocity</b>	(m/sec)	0.98±0.20	3.22±1.05**	2.90±1.26**	< 0.001
<b>HR</b>	(bpm)	165±39	178±29	168±10	< 0.05

: 正常群と比較して有意差あり(P<0.05)、\*\* : 正常群と比較して有意差あり(P<0.01)、† : S-HCM群と比較して有意差あり (P<0.01)

S-HCM群: 中隔壁肥大群、D-HCM群: 全周性肥大群、LVIDd: 左心室拡張末期内腔径、IVSd: 心室中隔拡張末期壁厚、LVFWd: 左心室自由壁拡張末期壁厚、FS: 左心室内径短縮率、LA/Ao: 左心房・大動脈比、HR: 心拍数

Table 5 正常群、S-HCM群、D-HCM群のTDI結果

項目	正常群	S-HCM群	D-HCM群	P 値
S' (自由壁側) cm/sec	7.30±0.70	7.38±0.89	7.42±0.98	> 0.05
S' (中隔壁側) cm/sec	7.12±0.66	7.33±0.54	7.00±1.18	> 0.05
E' (自由壁側) cm/sec	8.70±1.88	8.78±2.02	8.73±1.17	> 0.05
E' (中隔壁側) cm/sec	6.95±1.05	6.90±0.99	7.00±0.71	> 0.05

TDI: 組織ドプラ法、S-HCM群: 中隔壁肥大群、D-HCM群: 全周性肥大群

**Table 6 正常群、S-HCM群、D-HCM群のSTE (Global) 結果**

項目		正常群	S-HCM群	D-HCM群	P 値
SC	%	-23.2 ± 3.8	-22.5 ± 3.0	-23.0 ± 3.3	> 0.05
SrCs	/sec	-3.39 ± 0.69	-3.32 ± 0.47	-3.23 ± 0.77	> 0.05
SrCe	/sec	3.83 ± 0.61	3.51 ± 0.66	3.66 ± 0.78	> 0.05
SR	%	47.4 ± 8.6	49.2 ± 10.0	45.5 ± 8.1	> 0.05
SrRs	/sec	3.46 ± 0.40	3.23 ± 0.48	3.33 ± 0.50	> 0.05
SrRe	/sec	-3.17 ± 0.59	-3.26 ± 0.75	-3.36 ± 0.45	> 0.05
SL	%	-25.9 ± 3.3	-23.2 ± 2.9	-23.5 ± 3.1	> 0.05
SrLs	/sec	-3.74 ± 0.79	-3.36 ± 0.56	-3.49 ± 0.57	> 0.05
SrLe	/sec	5.07 ± 0.96	3.34 ± 0.49**	3.30 ± 0.39**	< 0.001

\*\* : 正常群と比較して有意差あり (P<0.01)

S-HCM群: 中隔壁肥大群、D-HCM群: 全周性肥大群、SC: Circumferential最大収縮期Strain、  
 SrCs: Circumferential収縮期Strain rate、SrCe: Circumferential拡張早期Strain rate、SR: Radial最大収縮期Strain、  
 SrRs: Radial収縮期Strain rate、SrRe: Radial拡張早期Strain rate、SL: Longitudinal最大収縮期Strain、  
 SrLs: Longitudinal収縮期Strain rate、SrLe: Longitudinal拡張早期Strain rate

**Table 7 正常群、S-HCM群、D-HCM群のCircumferential方向のSTE (分画) 結果**

項目	分画	正常群	S-HCM群	D-HCM群	P 値
SC (%)	AntSept	-24.7 ± 3.5	-21.9 ± 5.1	-24.4 ± 5.5	> 0.05
	Ant	-25.9 ± 4.0	-24.9 ± 3.3	-27.1 ± 6.3	> 0.05
	Lat	-21.6 ± 3.1	-20.4 ± 3.5	-19.5 ± 4.5	> 0.05
	Post	-21.4 ± 3.0	-21.3 ± 4.1	-23.6 ± 4.9	> 0.05
	Inf	-20.7 ± 4.1	-22.1 ± 4.6	-19.0 ± 5.6	> 0.05
	Sept	-25.9 ± 4.1	-23.9 ± 5.0	-24.0 ± 3.9	> 0.05
SrCs (1/sec)	AntSept	-3.90 ± 0.33	-4.04 ± 0.35	-3.60 ± 0.45	> 0.05
	Ant	-3.42 ± 0.45	-3.72 ± 0.44	-3.77 ± 0.52	> 0.05
	Lat	-3.32 ± 0.40	-2.80 ± 0.30	-2.95 ± 0.40	> 0.05
	Post	-3.38 ± 0.38	-2.90 ± 0.29	-2.75 ± 0.32	> 0.05
	Inf	-2.73 ± 0.36	-2.96 ± 0.37	-3.03 ± 0.49	> 0.05
	Sept	-3.56 ± 0.41	-3.56 ± 0.40	-3.27 ± 0.41	> 0.05
SrCe (1/sec)	AntSept	3.92 ± 0.45	3.21 ± 0.31	3.41 ± 0.44	> 0.05
	Ant	3.9 ± 0.44	3.69 ± 0.40	3.95 ± 0.44	> 0.05
	Lat	3.64 ± 0.36	3.43 ± 0.26	3.68 ± 0.34	> 0.05
	Post	3.89 ± 0.45	3.81 ± 0.39	3.72 ± 0.40	> 0.05
	Inf	3.73 ± 0.29	3.50 ± 0.41	3.56 ± 0.39	> 0.05
	Sept	3.86 ± 0.35	3.43 ± 0.29	3.59 ± 0.29	> 0.05

S-HCM群: 中隔壁肥大群、D-HCM群: 全周性肥大群、SC: Circumferential最大収縮期Strain、SrCs: Circumferential収縮期Strain rate、SrCe: Circumferential拡張早期Strain rate

**Table 8** 正常群、S-HCM群、D-HCM群のRadial方向のSTE (分画) 結果

項目	分画	正常群	S-HCM群	D-HCM群	P 値
SR (%)	AntSept	40.1 ± 8.8	47.7 ± 10.0	42.3 ± 7.5	> 0.05
	Ant	44.1 ± 6.9	43.1 ± 9.9	41.4 ± 7.1	> 0.05
	Lat	43.5 ± 9.0	49.3 ± 10.9	45.1 ± 6.5	> 0.05
	Post	50.1 ± 6.9	50.1 ± 8.8	46.2 ± 9.9	> 0.05
	Inf	53.9 ± 7.8	51.5 ± 10.1	47.5 ± 8.6	> 0.05
	Sept	52.3 ± 7.9	52.8 ± 8.9	50.0 ± 10.5	> 0.05
SrRs (1/sec)	AntSept	3.53 ± 0.44	3.26 ± 0.39	3.29 ± 0.40	> 0.05
	Ant	3.50 ± 0.35	3.18 ± 0.45	3.58 ± 0.45	> 0.05
	Lat	3.43 ± 0.40	3.15 ± 0.33	3.28 ± 0.50	> 0.05
	Post	3.30 ± 0.29	3.22 ± 0.40	3.26 ± 0.55	> 0.05
	Inf	3.56 ± 0.38	3.30 ± 0.32	3.28 ± 0.60	> 0.05
	Sept	3.45 ± 0.34	3.31 ± 0.29	3.19 ± 0.59	> 0.05
SrRe (1/sec)	AntSept	-3.11 ± 0.39	-3.13 ± 0.50	-3.34 ± 0.45	> 0.05
	Ant	-3.04 ± 0.50	-3.09 ± 0.65	-3.34 ± 0.57	> 0.05
	Lat	-3.32 ± 0.43	-3.39 ± 0.41	-3.47 ± 0.45	> 0.05
	Post	-3.18 ± 0.33	-3.27 ± 0.66	-3.30 ± 0.42	> 0.05
	Inf	-3.14 ± 0.40	-3.31 ± 0.48	-3.35 ± 0.51	> 0.05
	Sept	-3.26 ± 0.38	-3.31 ± 0.57	-3.36 ± 0.41	> 0.05

S-HCM群: 中隔壁肥大群、D-HCM群: 全周性肥大群、SR: Radial最大収縮期Strain、SrRs: Radial収縮期Strain rate、SrRe: Radial拡張早期Strain rate



**Table 9** 正常群、S-HCM群、D-HCM群のLonditudinal方向のSTE (分画) 結果

項目	分画	正常群	S-HCM群	D-HCM群	P 値
SL (%)	basSept	-24.3 ± 4.1	-23.3 ± 5.1	-23.5 ± 6.9	> 0.05
	midSept	-26.6 ± 3.5	-24.9 ± 4.1	-25.4 ± 4.3	> 0.05
	apSept	-26.3 ± 3.5	-26.2 ± 3.7	-27.2 ± 2.0	> 0.05
	apLat	-28.0 ± 3.9	-25.6 ± 4.5	-25.1 ± 2.9	> 0.05
	midLat	-22.6 ± 3.2	-21.5 ± 3.4	-21.1 ± 3.6	> 0.05
	basLat	-19.8 ± 4.0	-17.9 ± 3.4	-18.6 ± 3.9	> 0.05
SrLs (1/sec)	basSept	-3.20 ± 0.92	-3.10 ± 0.68	-3.00 ± 1.64	> 0.05
	midSept	-3.65 ± 0.70	-3.42 ± 0.55	-3.32 ± 0.72	> 0.05
	apSept	-4.10 ± 0.36	-3.78 ± 0.67	-4.12 ± 0.54	> 0.05
	apLat	-4.00 ± 0.36	-3.80 ± 0.78	-4.15 ± 0.56	> 0.05
	midLat	-3.27 ± 0.59	-3.18 ± 0.72	-3.24 ± 0.58	> 0.05
	basLat	-2.78 ± 0.71	-2.89 ± 0.69	-3.12 ± 0.39	> 0.05
SrLe (1/sec)	basSept	4.02 ± 1.15	2.63 ± 0.76**	2.65 ± 0.67*	0.001
	midSept	4.66 ± 0.96	3.05 ± 0.70**	3.39 ± 0.56*	< 0.001
	apSept	6.22 ± 1.07	4.04 ± 0.83**	3.77 ± 0.38**	< 0.001
	apLat	6.28 ± 1.13	4.16 ± 1.04**	3.90 ± 0.27**	< 0.001
	midLat	4.94 ± 1.46	3.37 ± 0.76**	3.53 ± 0.52*	0.002
	basLat	4.49 ± 1.47	2.78 ± 0.64**	3.05 ± 0.63*	< 0.001

\* : 正常群と比較して有意差あり( $P < 0.05$ )、\*\* : 正常群と比較して有意差あり( $P < 0.01$ )

S-HCM群 : 中隔壁肥大群、D-HCM群 : 全周性肥大群、SL : Longitudinal最大収縮期Strain、  
SrLs : Longitudinal収縮期Strain rate、SrLe : Longitudinal拡張早期Strain rate

**Table 10 STE (Global) の測定者内誤差**

項目	CV (%)
SC	7.99
SrCs	5.23
SrCe	5.58
SR	8.89
SrRs	3.52
SrRe	3.89
SL	4.98
SrLs	3.55
SrLe	4.40

CV:測定者内誤差、SC:Circumferential最大収縮期Strain、SrCs:Circumferential収縮期Strain rate、SrCe:Circumferential拡張早期Strain rate、SR:Radial最大収縮期Strain、SrRs:Radial収縮期Strain rate、SrRe:Radial拡張早期Strain rate、SL:Longitudinal最大収縮期Strain、SrLs:Longitudinal収縮期Strain rate、SrLe:Longitudinal拡張早期Strain rate

Table 11 各種ACE阻害剤投与後の血清ACE活性阻害率

血清ACE活性阻害	Benazepril	Enalapril	Alacepril
最高阻害率 (%)	98.1 (95.6 - 99.5)	70.9 (76.8 - 59.3)	97.1 (93.6-99.2)
12時間後阻害率 (%)	83.8 (76.1 - 89.8)	64.5 (58.4 - 71.9)	52.4 (43.1-61.4)
24時間後阻害率 (%)	70.2 (66.0 - 73.6)	55.2 (50.9 - 62.2)	44.7 (38.2-52.5)
72時間後阻害率 (%)	39.1 (27.8 - 50.8)	28.5 (22.3 - 38.7)	20.4 (9.7-27.2)
最高阻害率到達時間 (h)	2.0 (2.0)	3.0 (2.0-4.0)	2.0 (2.0)

Table 12 各種ACE阻害剤投与後の収縮期血圧の変動(mmHg)

投与後時間 (h)	0	2	4	6	8	12	24	36	48	72
Benazepril	153.5±3.8	136.2±7.6	130.5±5.8	142.0±5.5	125.3±4.7	136.2±7.7	131.3±4.4	137.7±6.6	133.2±5.4	131.3±6.4
Enalapril	143.3±9.4	147.2±4.0	144.7±9.8	131.7±8.3	134.2±7.6	138.5±11.4	135.5±9.7	138.2±10.7	137.5±7.8	140.3±7.8
Alacepril	151.2±11.7	148.0±8.8	138.0±8.4	140.2±10.0	143.7±7.8	138.3±10.0	124.2±8.1	135.3±4.5	132.3±6.7	137.7±7.7

Table 13 Ang I 投与後の収縮期血圧の変動

	Placebo			Benazepril			Alacepril		
Ang I 投与量(ng/kg)	20	100	500	20	100	500	20	100	500
投与前血圧(mmHg) (測定頭数)	81.6±3.3 (10/10)	85.3±3.9 (10/10)	81.4±2.2 (7/10)	81.9±4.7 (10/10)	82.2±4.6 (10/10)	81.0±3.8 (9/10)	81.8±5.4 (10/10)	82.8±4.8 (10/10)	78.3±4.7 (8/10)
Peak 1(mmHg) (測定頭数)	101.7±6.5 (10/10)	124.5±9.7 (10/10)	136.1±7.2 (7/10)	91.9±5.7 (10/10)	109.4±6.8 (10/10)	130.6±6.6 (9/10)	91.0±7.4 (10/10)	114.8±11.3 (10/10)	123.5±7.7 (8/10)
Peak 2(mmHg) (測定頭数)	140±1.5 (3/10)	225±6.5 (3/10)	143±6.0 (7/10)		203 (1/10)	142±6.3 (7/10)		147.2±14.1 (5/10)	143.4±6.5 (5/10)

Table 14 Ang I 投与後の拡張期血圧の変動

	Placebo			Benazepril			Alacepril		
Ang I 投与量(ng/kg)	20	100	500	20	100	500	20	100	500
投与前血圧(mmHg) (測定頭数)	49.3±2.4 (10/10)	51.7±2.3 (10/10)	47.4±1.3 (7/10)	48.7±4.6 (10/10)	48.5±3.4 (10/10)	46.8±3.5 (9/10)	51.2±5.5 (10/10)	49.6±5.0 (10/10)	46.5±4.5 (8/10)
Peak 1(mmHg) (測定頭数)	68.9±6.4 (10/10)	89.9±8.0 (10/10)	106.1±5.7 (7/10)	60.1±6.2 (10/10)	76.3±6.6 (10/10)	99.4±6.2 (9/10)	59.7±7.8 (10/10)	79.0±9.6 (10/10)	91.9±5.6 (8/10)
Peak 2(mmHg) (測定頭数)	103.3±1.3 (3/10)	150.0±4.1 (3/10)	105.3±5.2 (7/10)		142 (1/10)	106.8±5.3 (7/10)		104.3±8.4 (5/10)	102±4.4 (5/10)

Table 15 Ang I 投与後の収縮期血圧のΔ値

	Placebo			Benazepril			Alacepril		
Ang I 投与量(ng/kg)	20	100	500	20	100	500	20	100	500
Peak 1 Δ値 (mmHg)	20.1±6.1	39.2±10.3	54.7±5.9	10.0±4.1	27.2±6.7	49.6±5.5	9.2±2.7	32.0±9.3	45.3±6.4
Peak 2 Δ値 (mmHg)	60.0±2.5	145.7±4.5	61.9±4.4		133	60.0±5.2		63.8±12.4	63.4±7.6

Table 16 Ang I 投与後の拡張期血圧のΔ値

	Placebo			Benazepril			Alacepril		
Ang I 投与量(ng/kg)	20	100	500	20	100	500	20	100	500
Peak 1 Δ値 (mmHg)	19.6±5.6	38.2±7.5	41.1±9.7	11.4±4.2	27.8±5.6	47.4±6.6	8.5±3.2	29.4±6.8	36.3±6.8
Peak 2 Δ値 (mmHg)	52.0±2.0	97.3±2.3	57.9±5.0		98	57.9±4.6		52.5±6.2	50.5±3.5



Table 17 Ang I 投与後の心拍数の変動

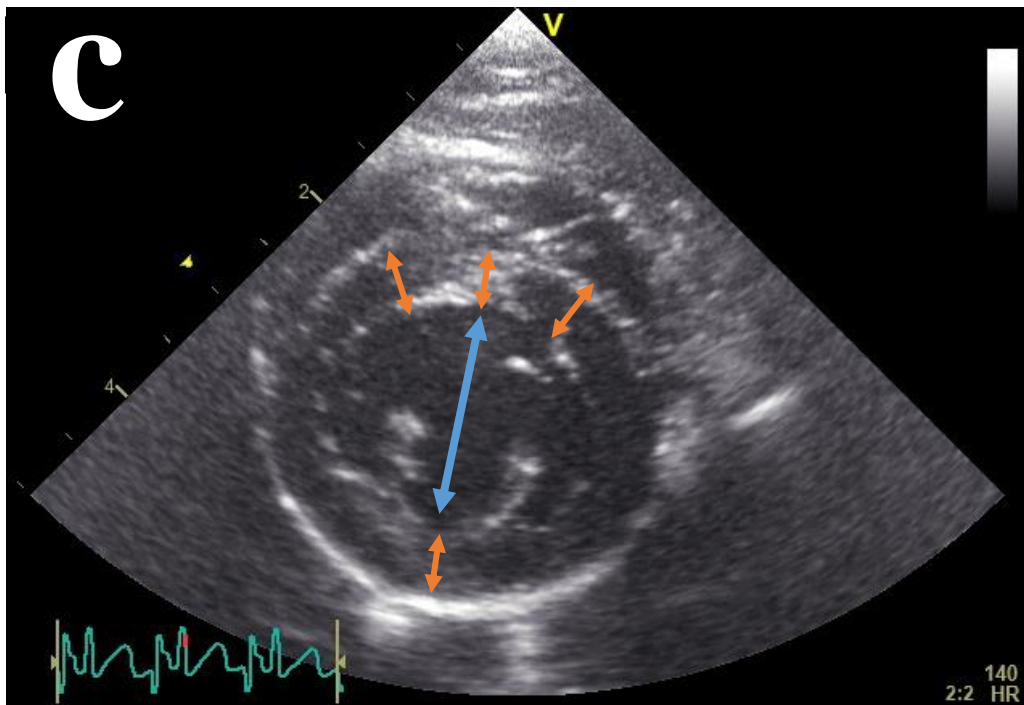
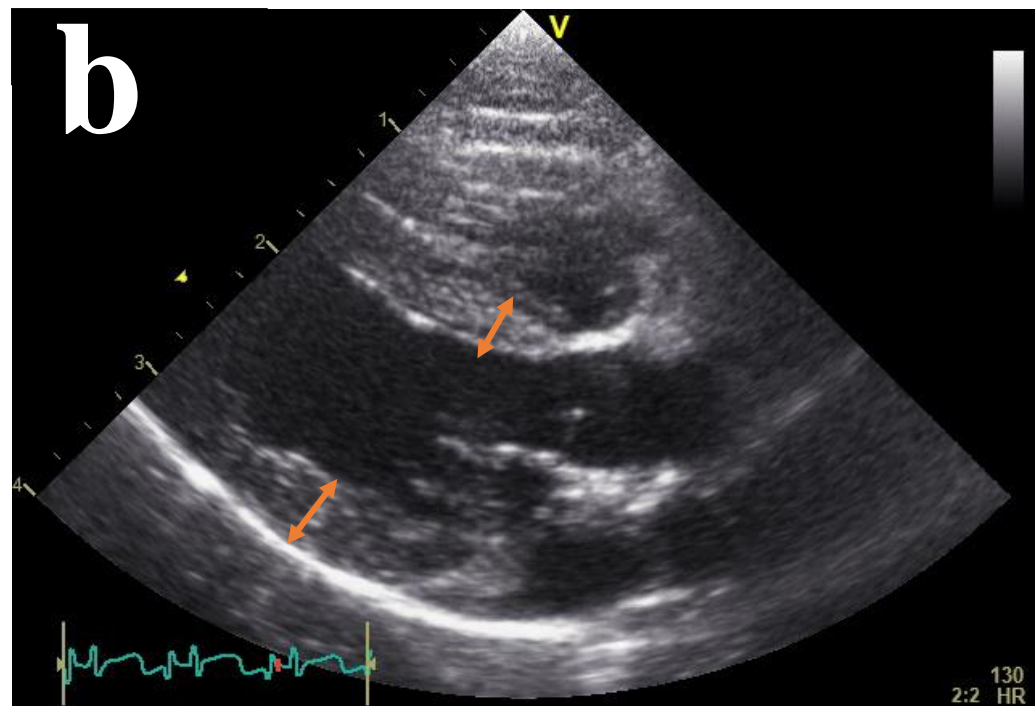
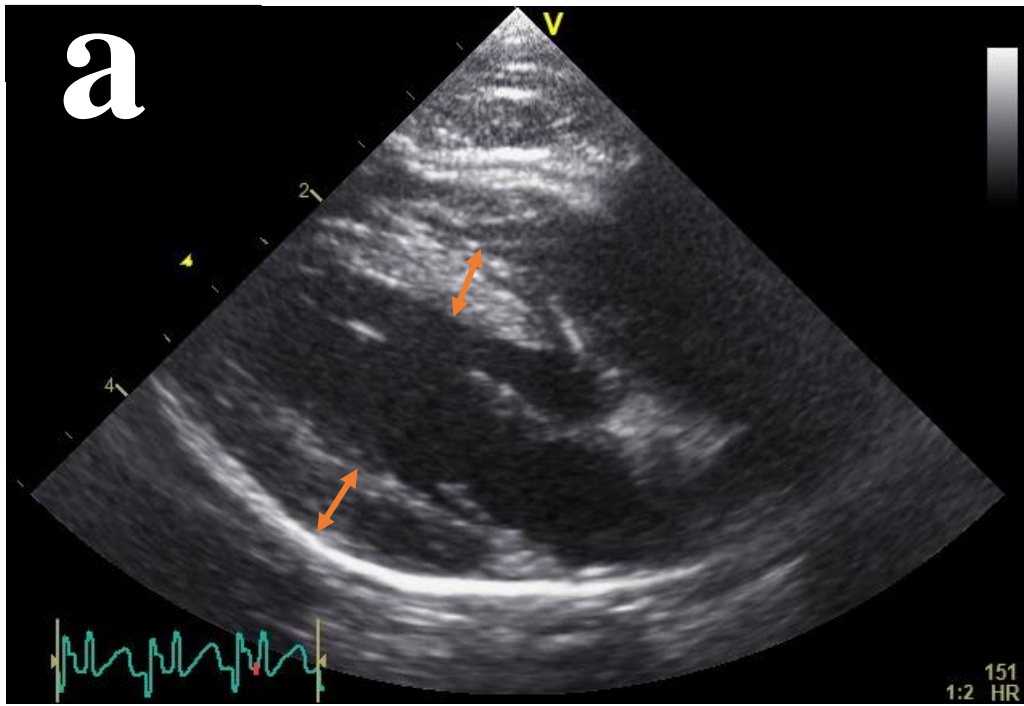
	Placebo			Benazepril			Alacepril		
Ang I 投与量(ng/kg)	20	100	500	20	100	500	20	100	500
投与前心拍数(bpm)	112.5±6.7	112.5±3.4	112.5±3.3	121.7±2.2	120.5±4.2	117.5±6.1	119.1±10.2	120.5±8.3	115.4±8.5
Peak 1 (bpm)	109.9±4.7	108.2±3.5	102.2±7.1	119.0±3.0	117.3±3.1	113.5±4.5	118.9±11.1	117.7±7.1	107.0±7.0
Peak 2 (bpm)	103.0±6.5	103.8±6.8	101.0±2.5		107.8±5.5	103.8±5.0		112.4±6.5	101.2±8.2

Table 18 Ang I 投与後の心拍数のΔ値

	Placebo			Benazepril			Alacepril		
Ang I 投与量(ng/kg)	20	100	500	20	100	500	20	100	500
Peak 1 Δ値(bpm)	1.3±0.5	4.2±2.9	9.3±0.6	2.8±0.6	3.3±0.5	4.0±2.0	0.3±0.3	2.7±0.9	8.5±2.8
Peak 2 Δ値(bpm)	9.0±1.4	9.5±1.5	10.5±0.7		13.8±1.8	14.0±2.5		8.0±1.5	14.4±1.4

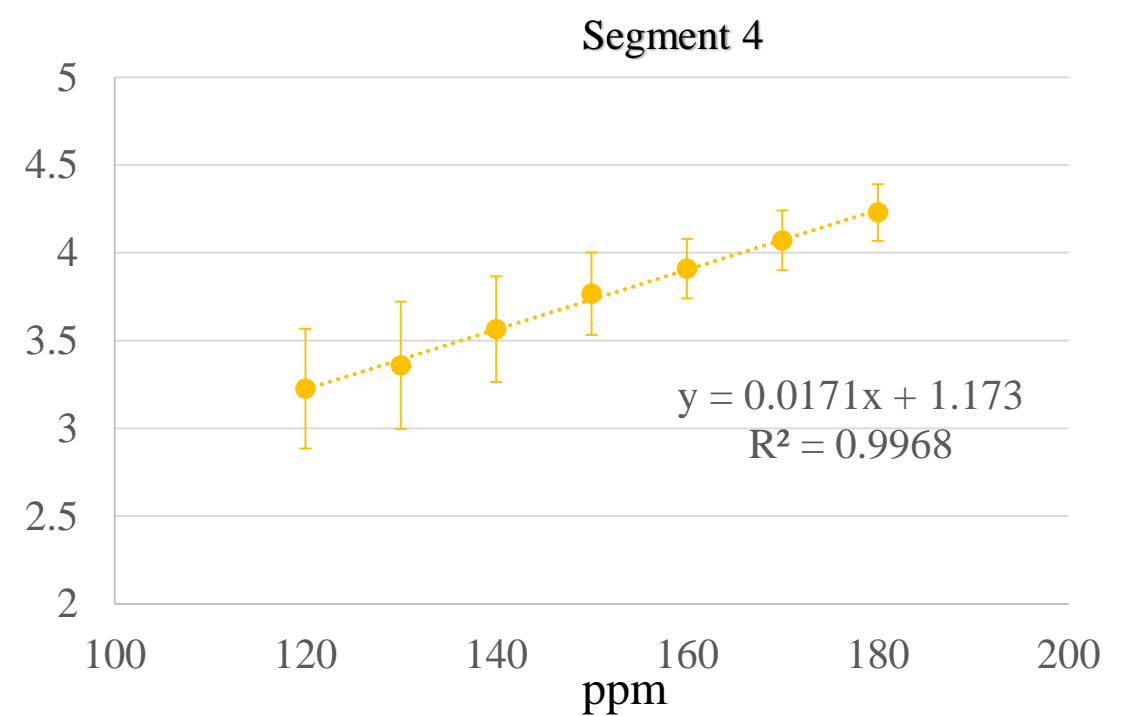
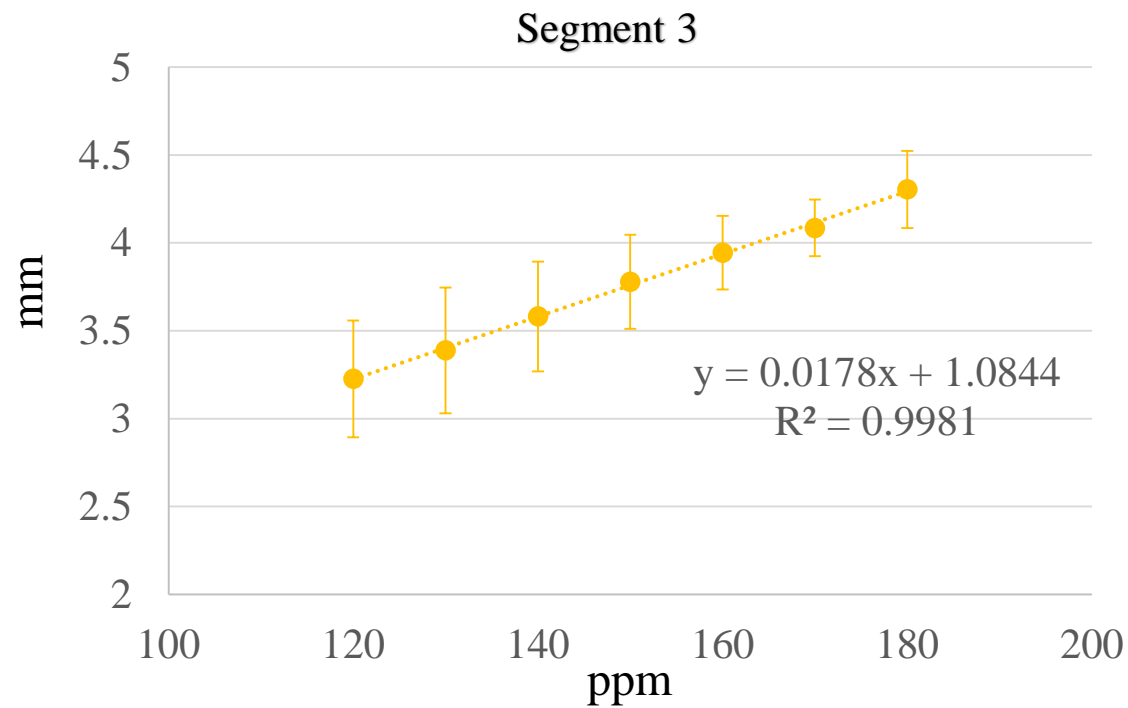
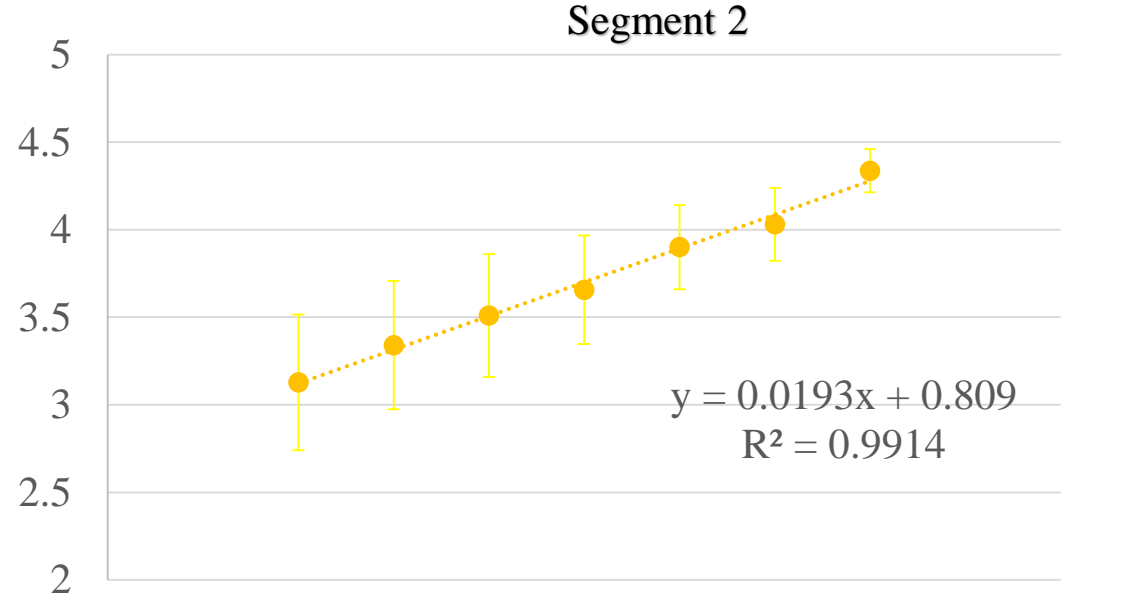
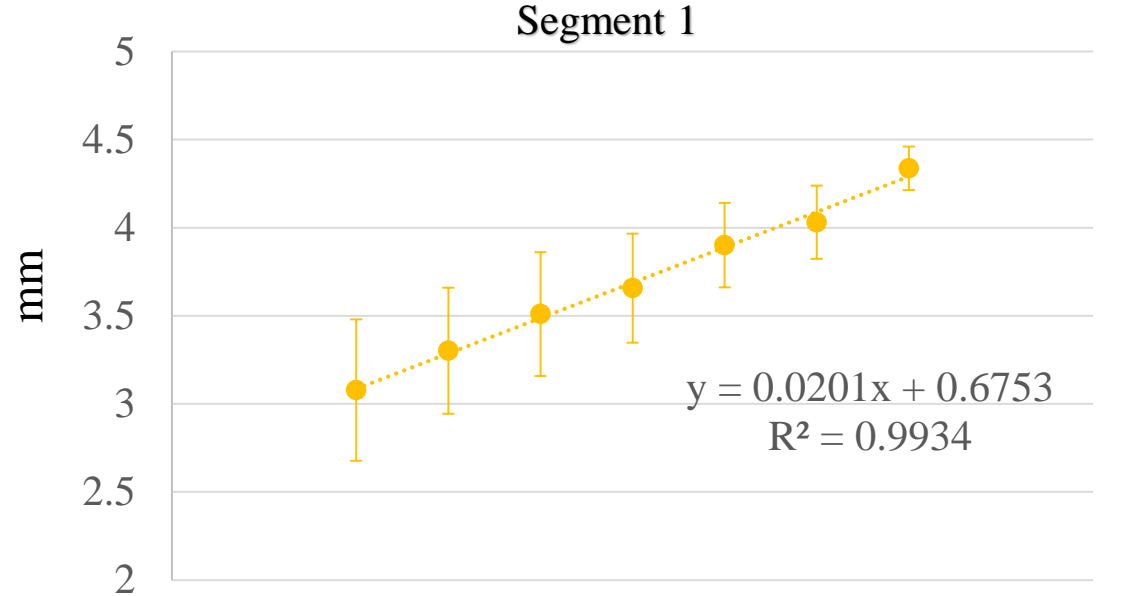
Table 19 個体ごとの各種ACE阻害剤投与後の血清ACE活性阻害率(%)

個体番号	Benazepril	Alacepril
Cat 1	89.5	46.8
Cat 2	73.2	50.9
Cat 3	45.9	36.3
Cat 4	26.3	54.8
Cat 5	30.7	54.8
Cat 6	43.9	43.9
Cat 7	78.6	24.9
Cat 8	81.1	32.5
Cat 9	63.7	13.8
Cat 10	59.3	5.1

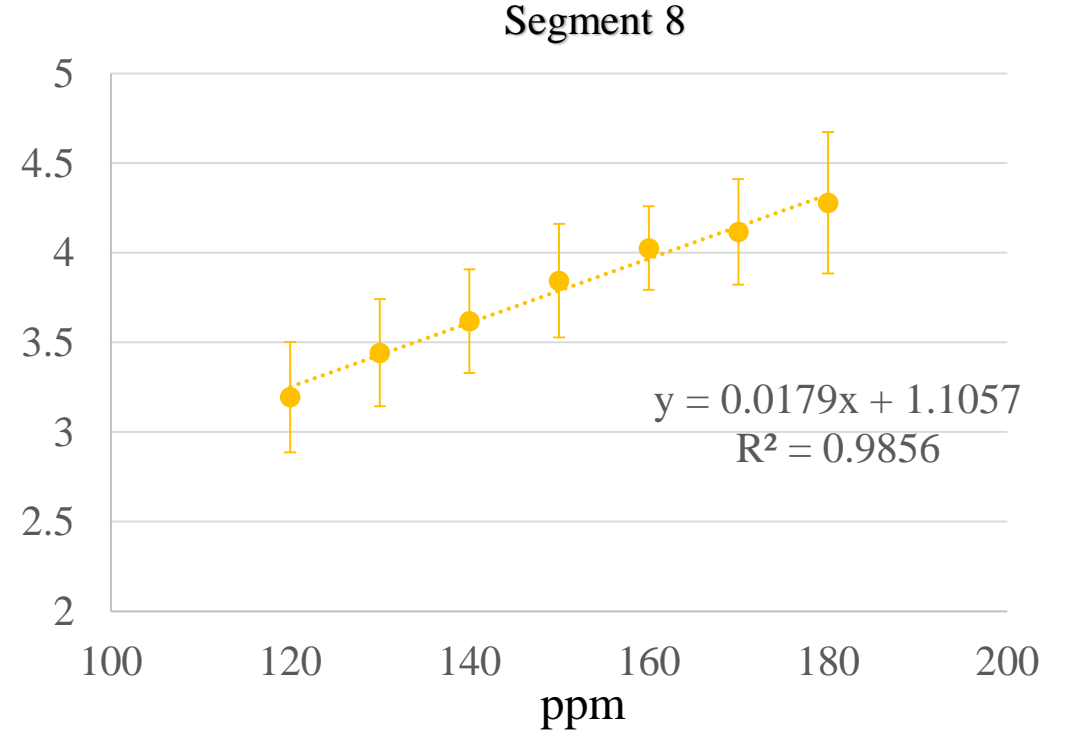
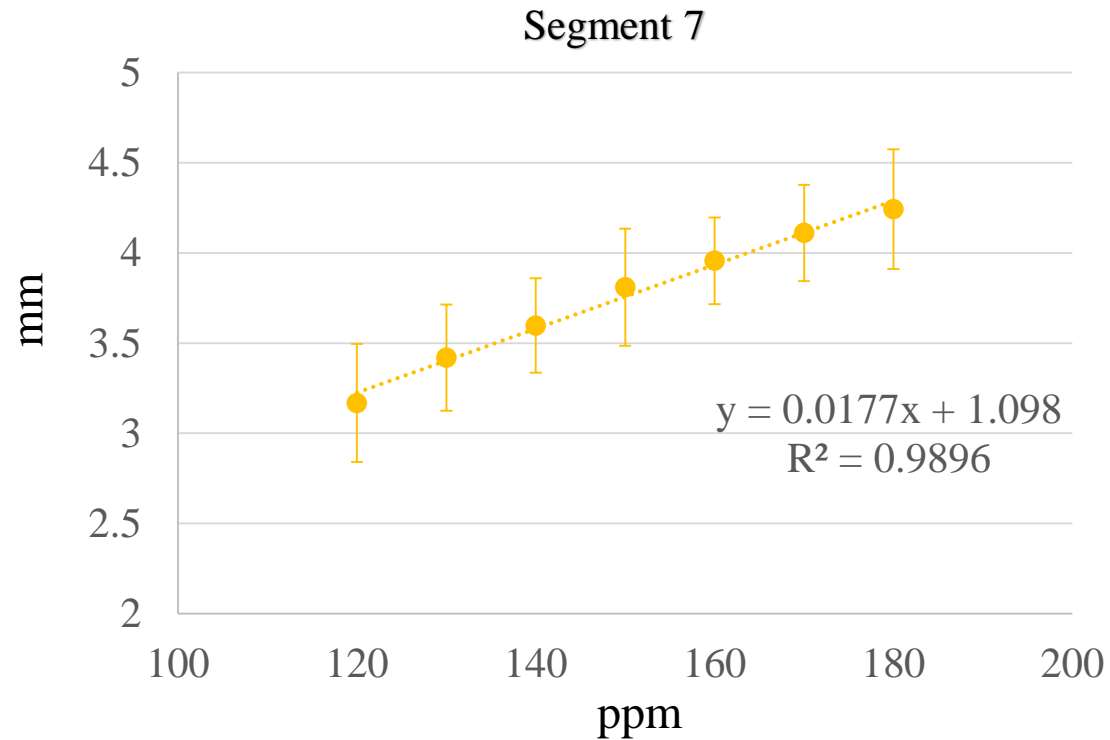
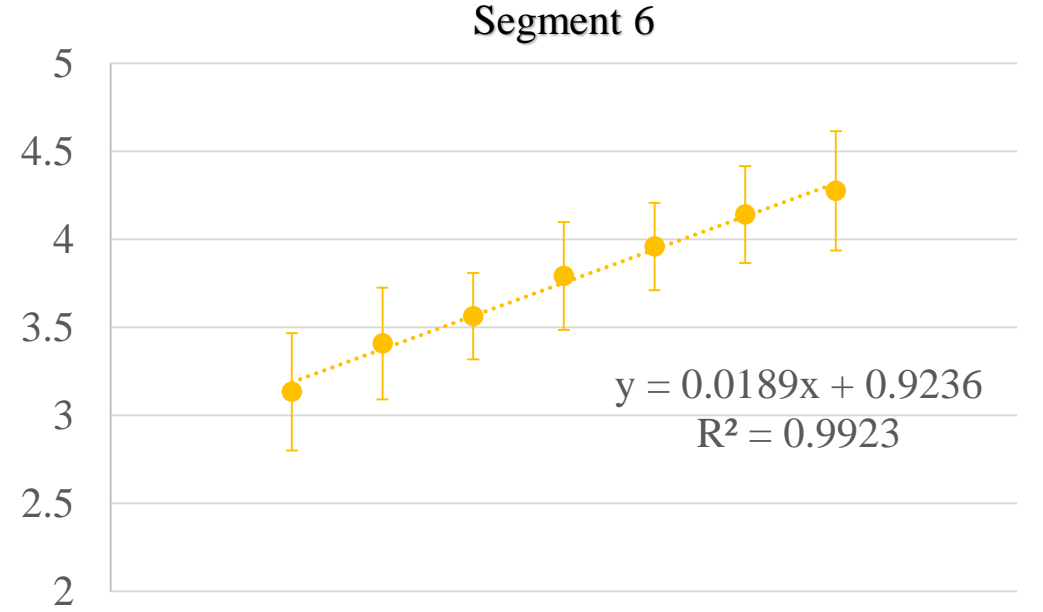
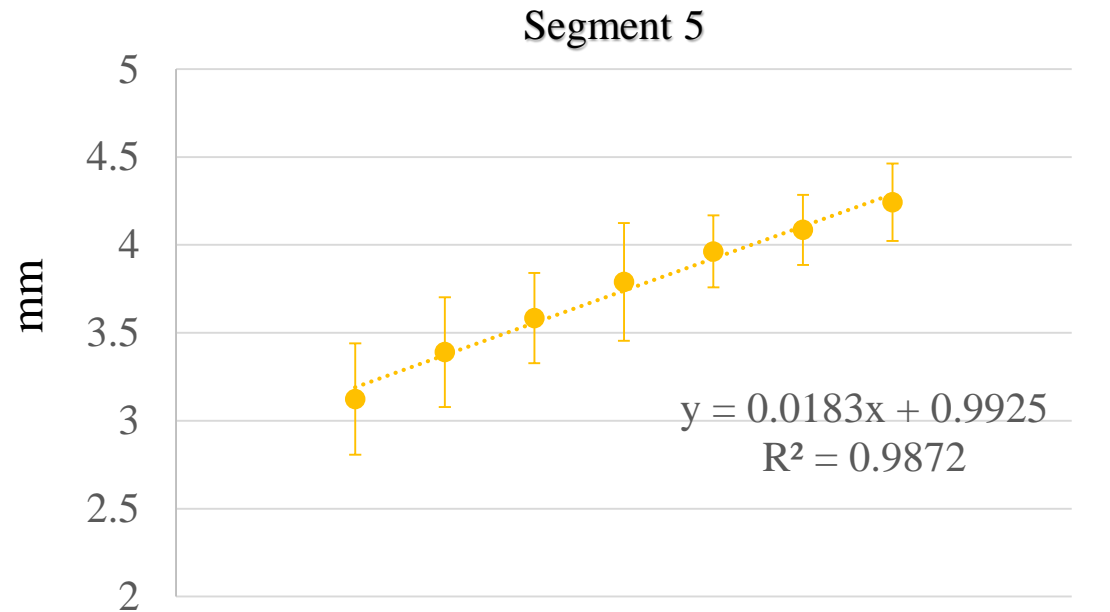


**Figure 1** 心エコー図検査での測定部位

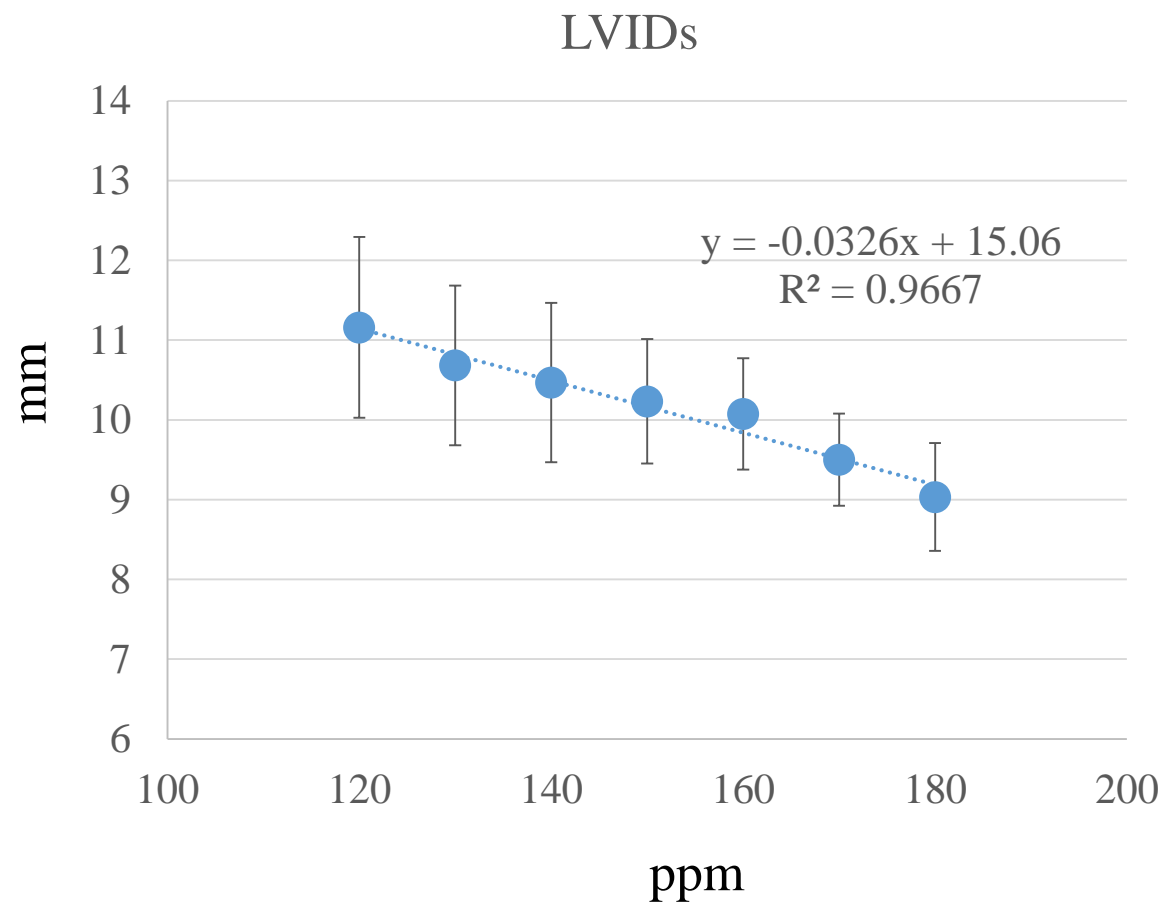
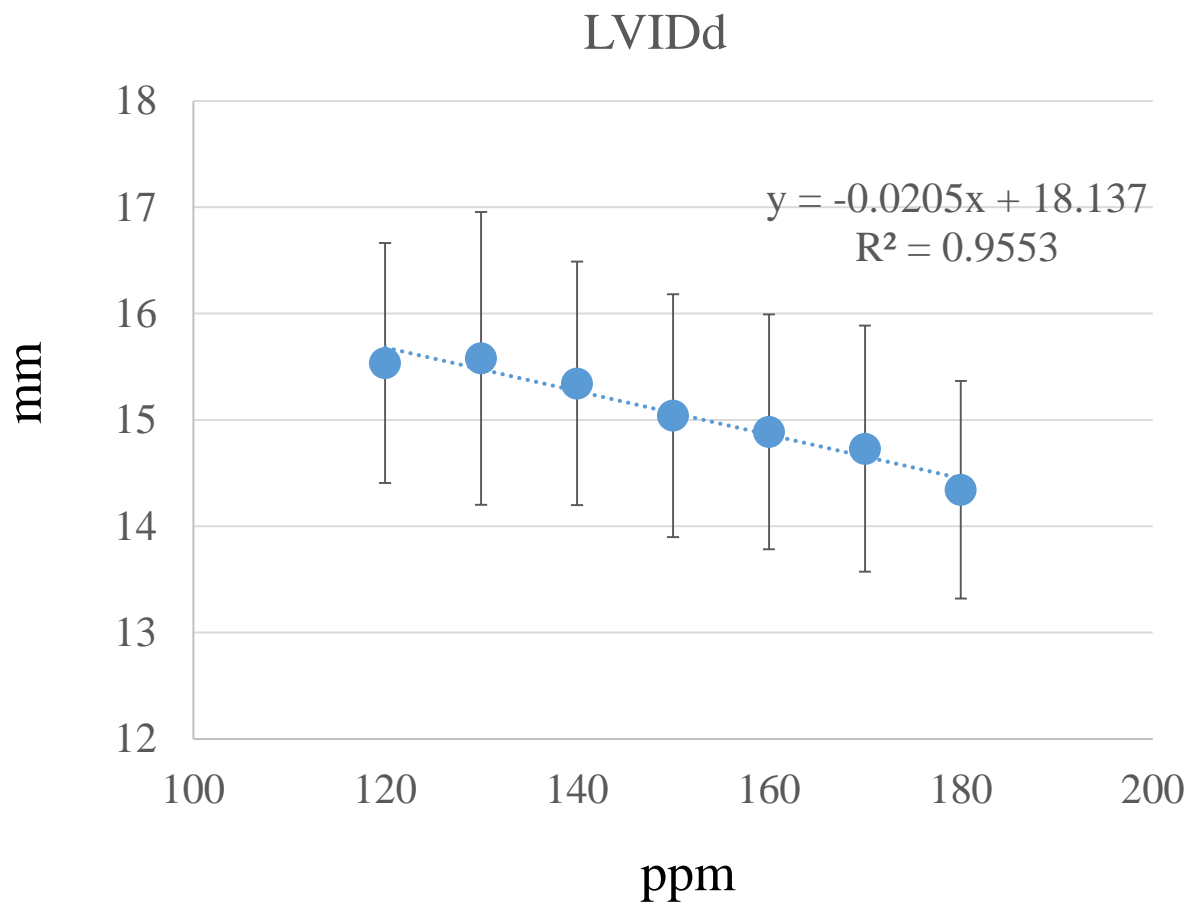
- a: 右傍胸骨四腔断面像でのLVFWd、IVSdの測定部位
- b: 右傍胸骨四腔断面像でのLVFWd、IVSdの測定部位
- c: 右傍胸骨短軸像腱索レベルでのLVFWd1カ所、IVSd3カ所の測定部位 (橙矢印) とLVIDdの測定部位 (青矢印)



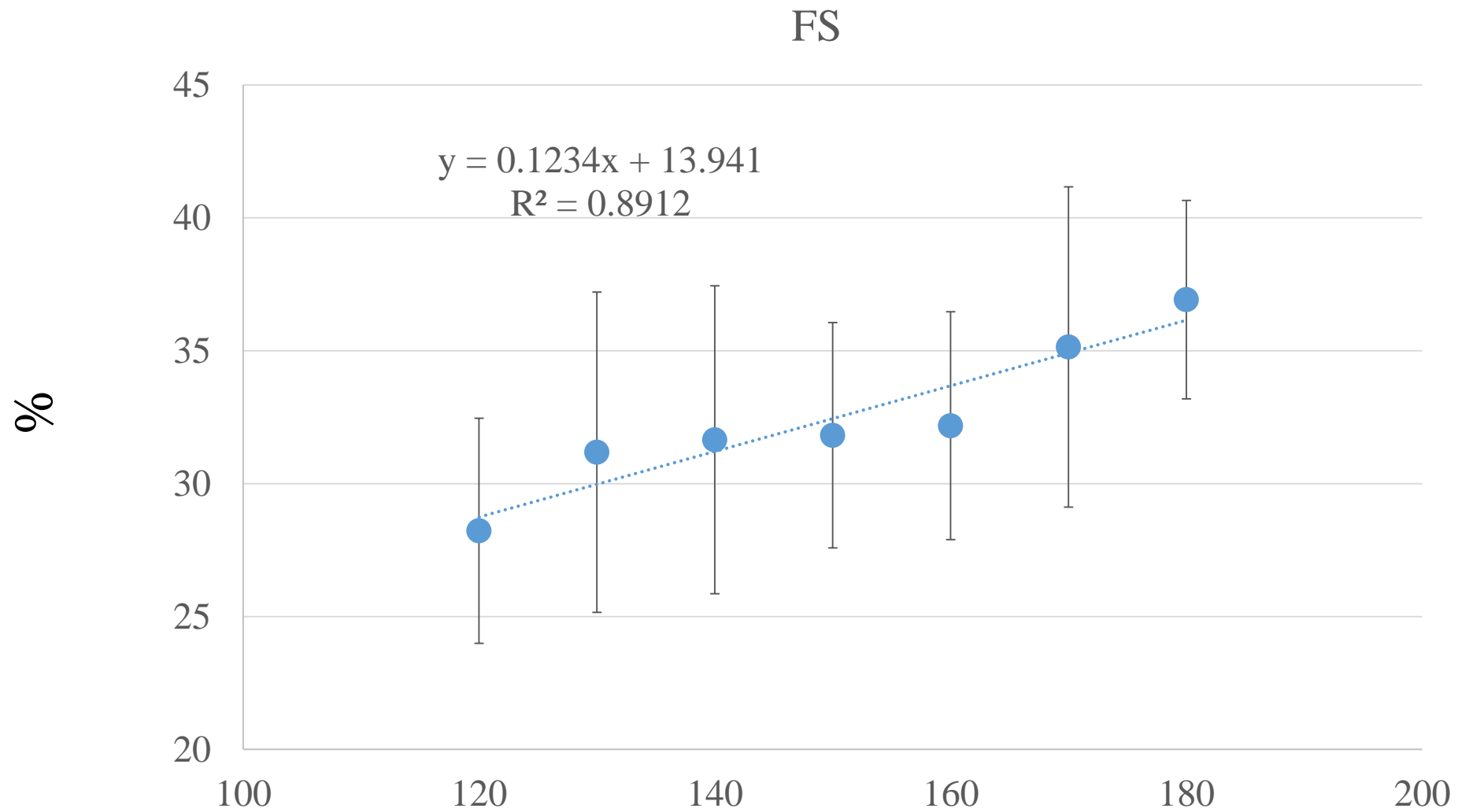
**Figure 2 Segment 1~4での拡張末期壁厚**



**Figure 3 Segment 5~8での拡張末期壁厚**

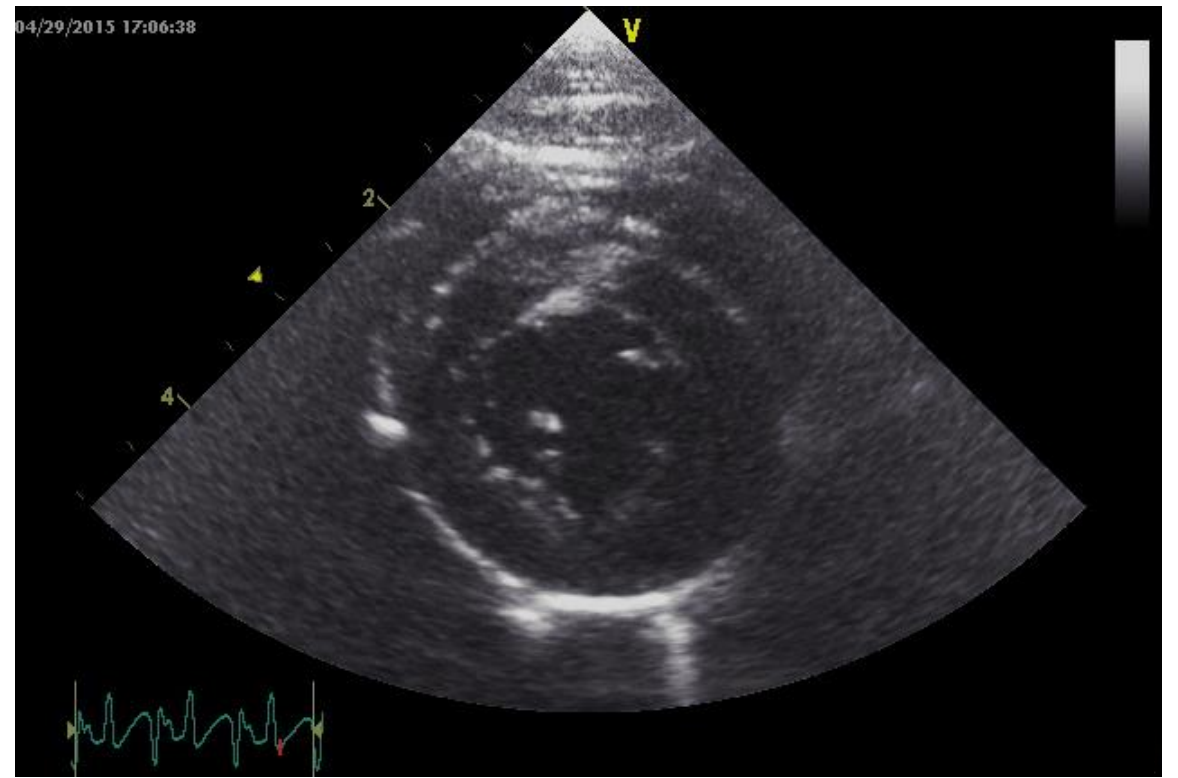
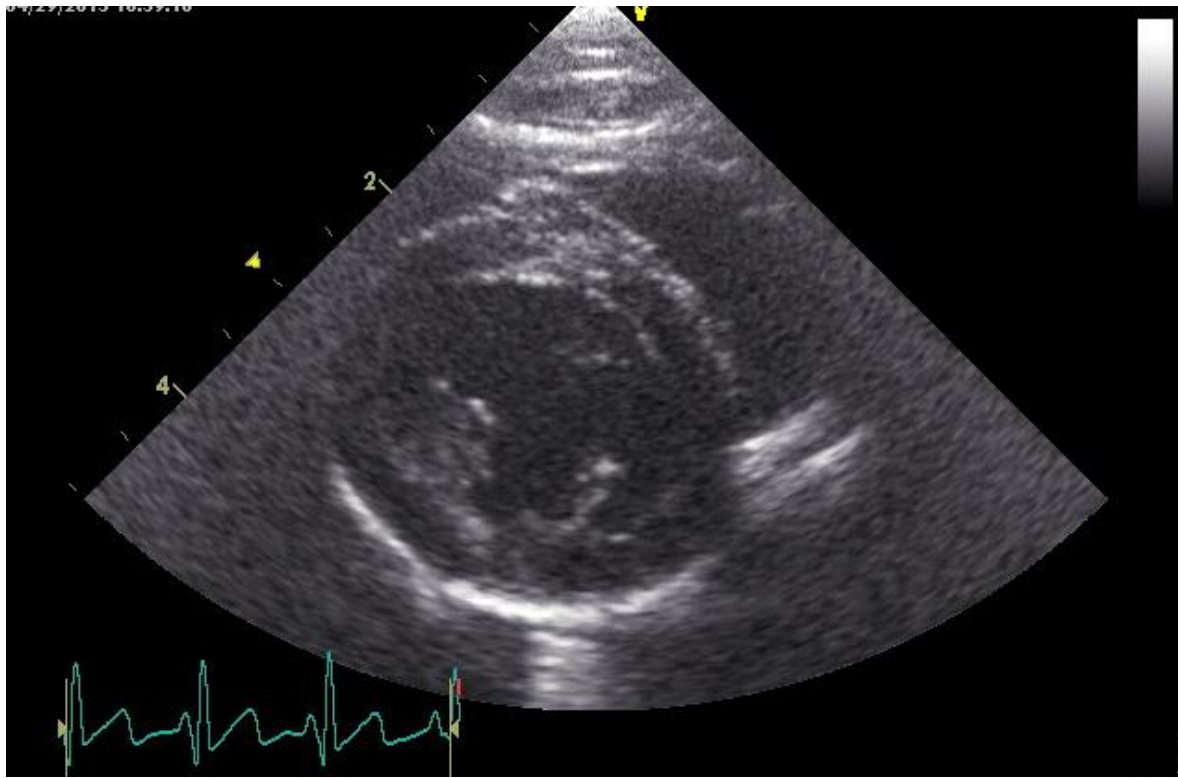


**Figure 4 LVIDd、LVIDsの測定結果**



**Figure 5 FSの測定結果**





**Figure 6** 心拍数120ppm(左図)と180ppm(右図)の時の右傍胸骨短軸像腱索レベル像  
120ppmと比較して180ppmでは明らかな心筋壁厚の肥大と内腔径の短縮が認められた

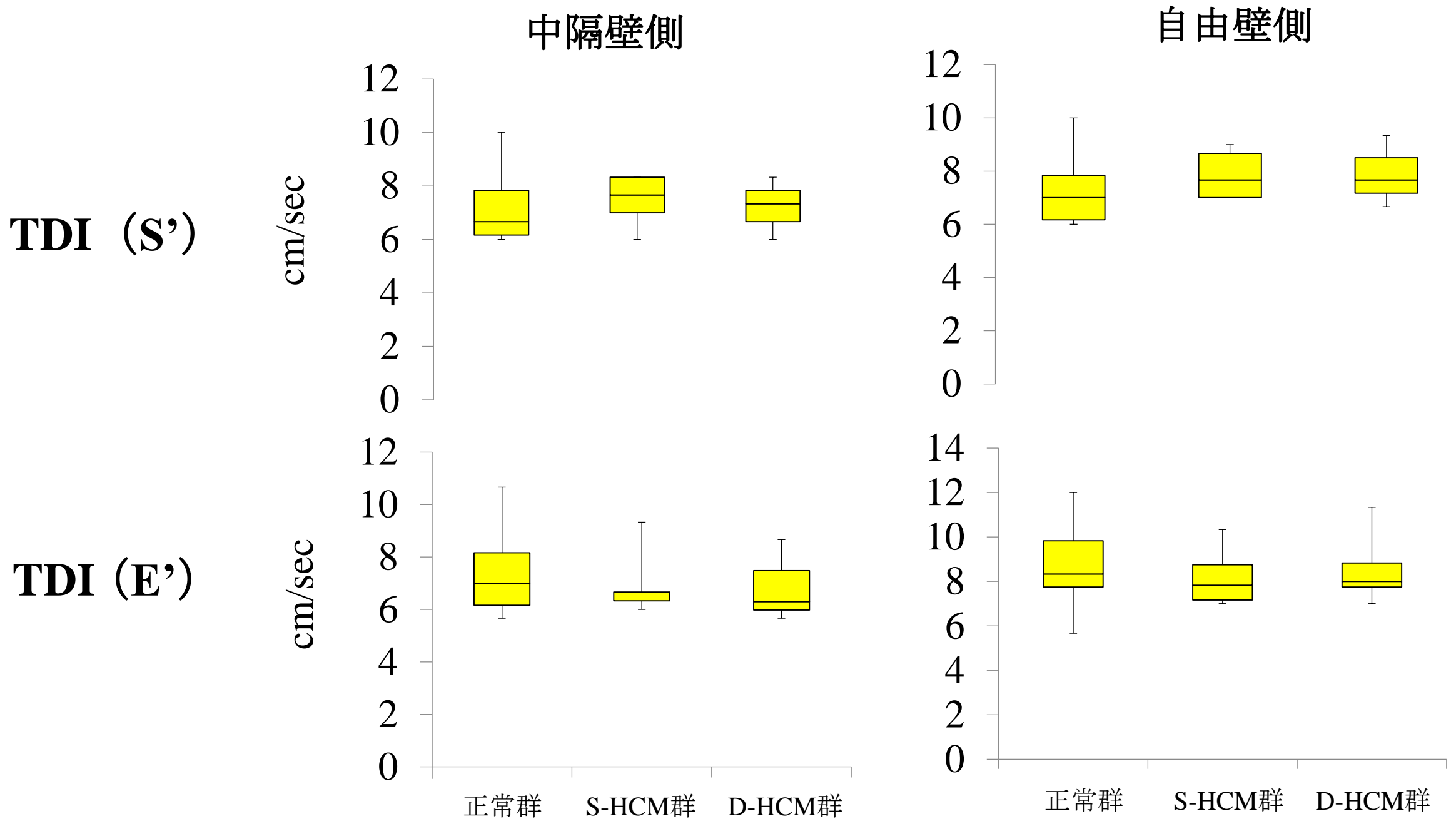
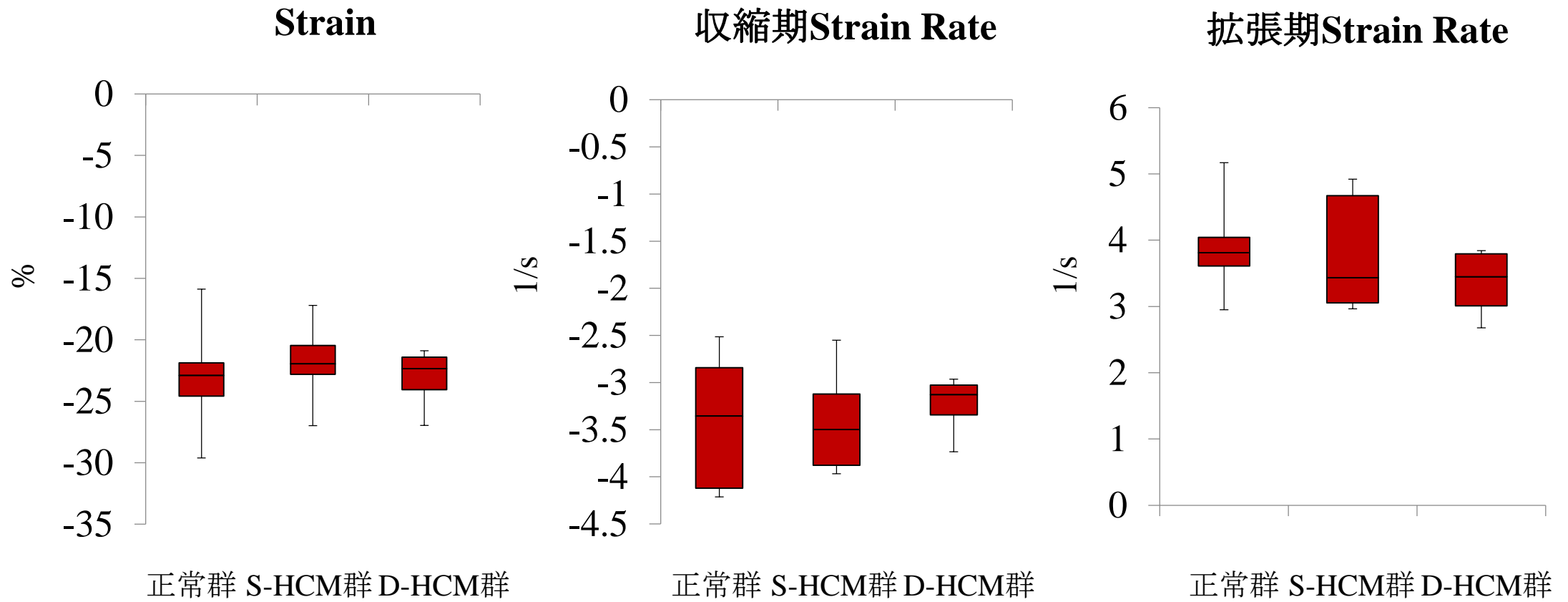
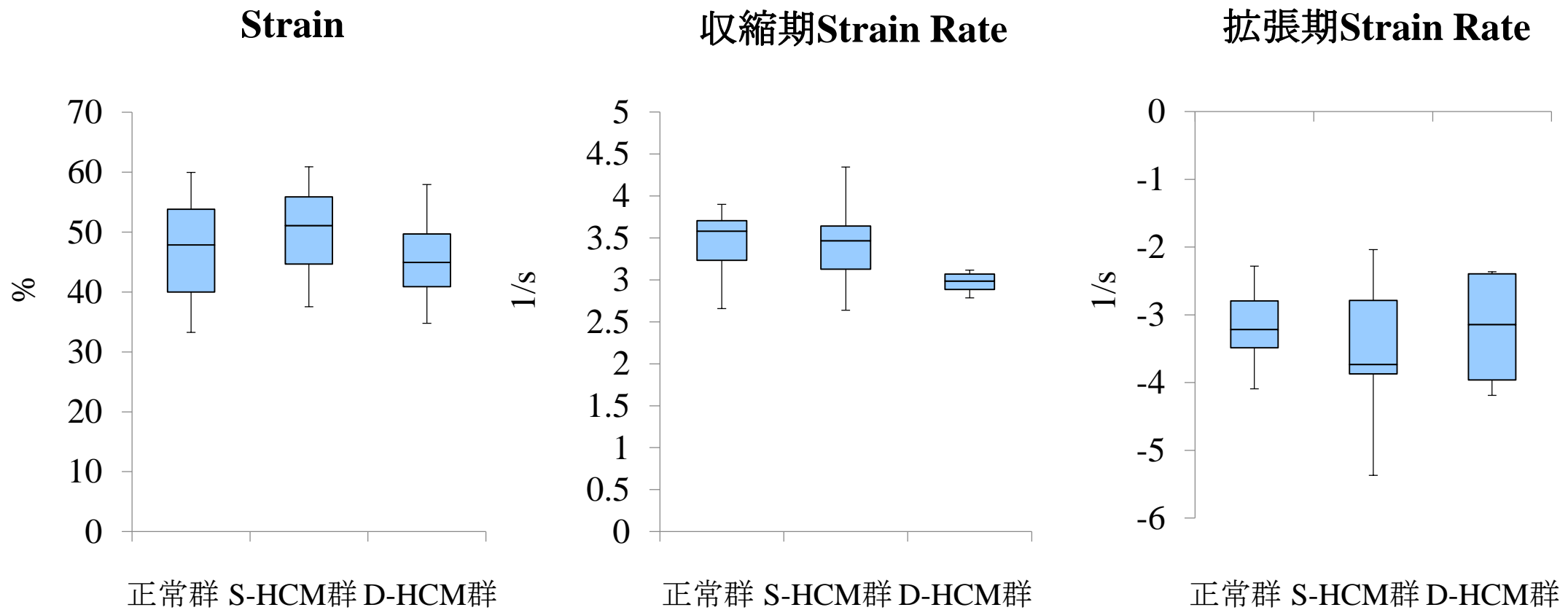


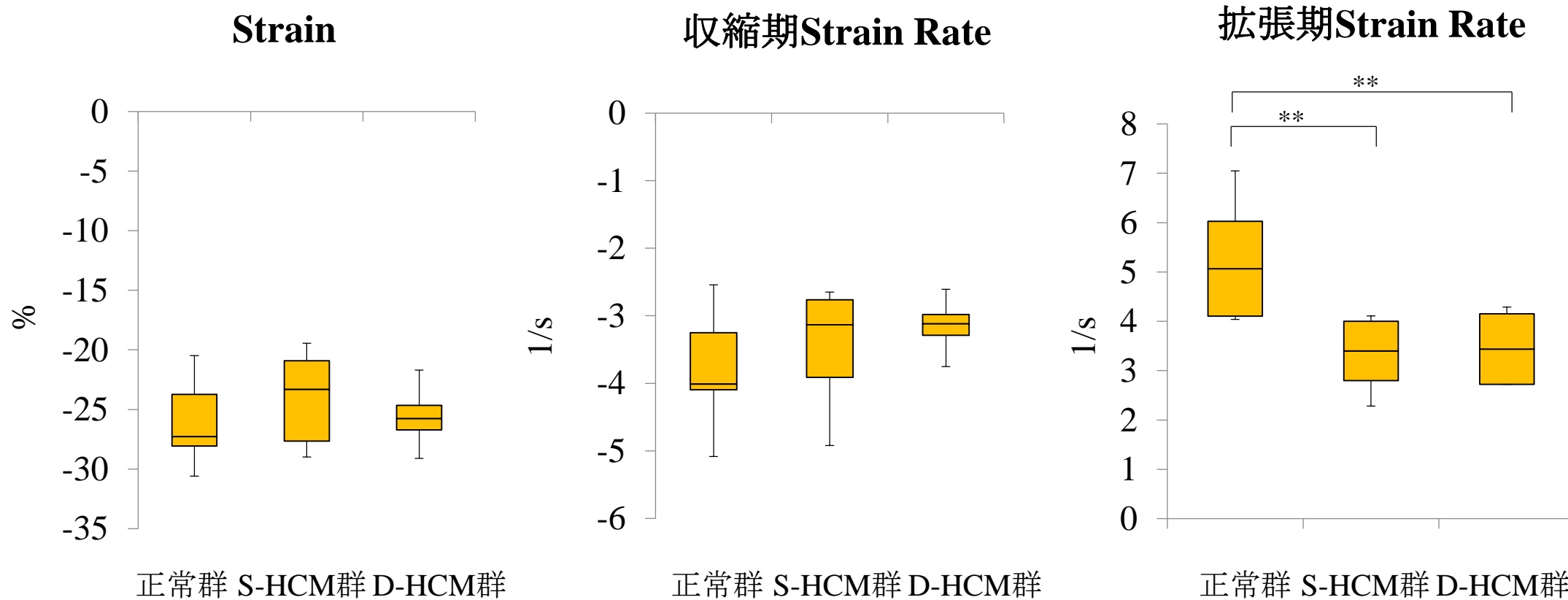
Figure 7 正常群、S-HCM群、D-HCM群のTDI結果



**Figure 8** 正常群、S-HCM群、D-HCM群のCircumferential Strain・Strain Rate (Global) 結果



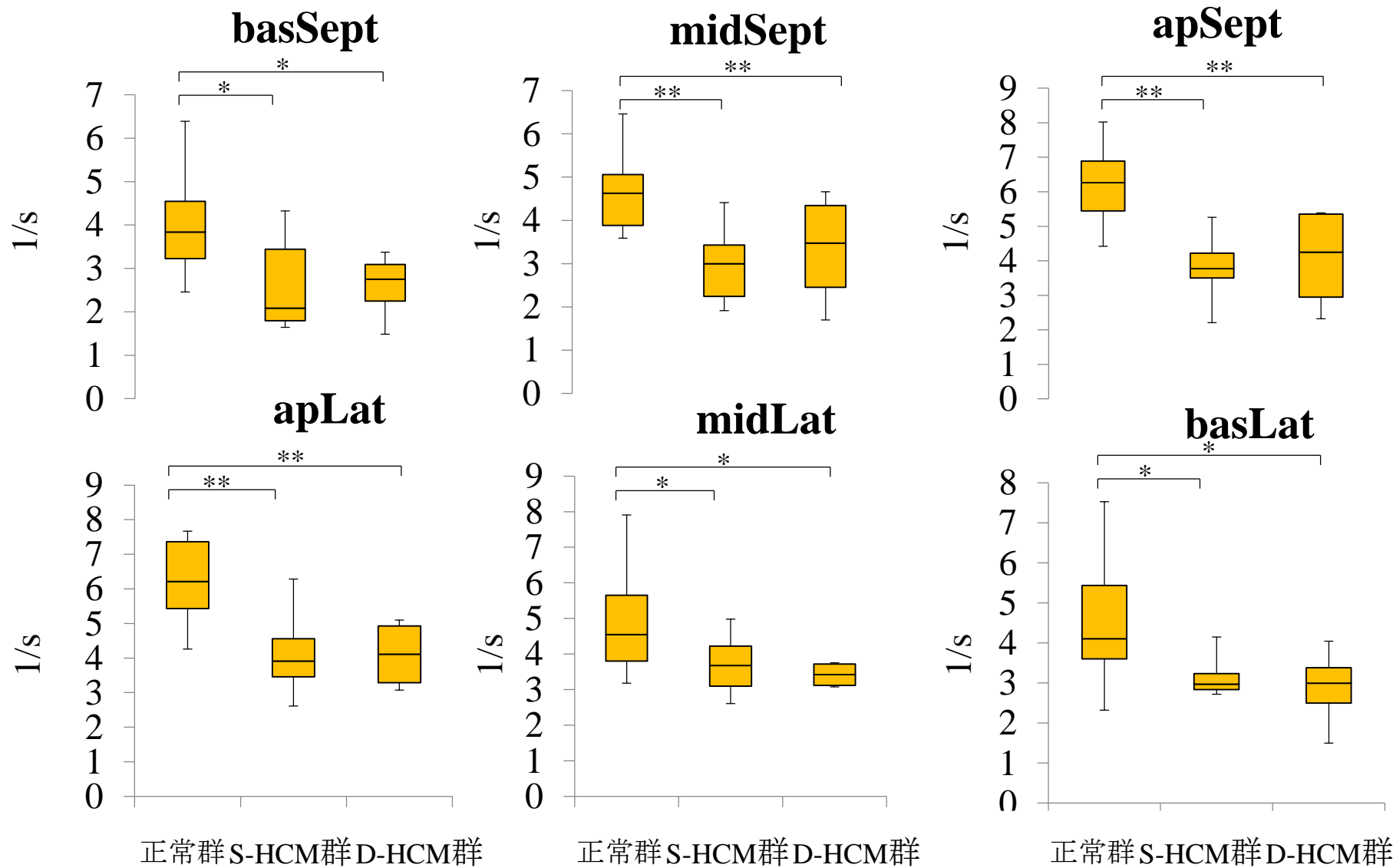
**Figure 9** 正常群、S-HCM群、D-HCM群のRadial Strain・Strain Rate (Global)結果



\*\* :  $p < 0.01$

**Figure 10** 正常群、S-HCM群、D-HCM群のLongitudinal Strain・Strain Rate (Global)結果

中隔壁側



\*:  $p < 0.05$   
\*\*:  $p < 0.01$

Figure 11 正常群、S-HCM群、D-HCM群の分画ごとのLongitudinal Strain・Strain Rate結果

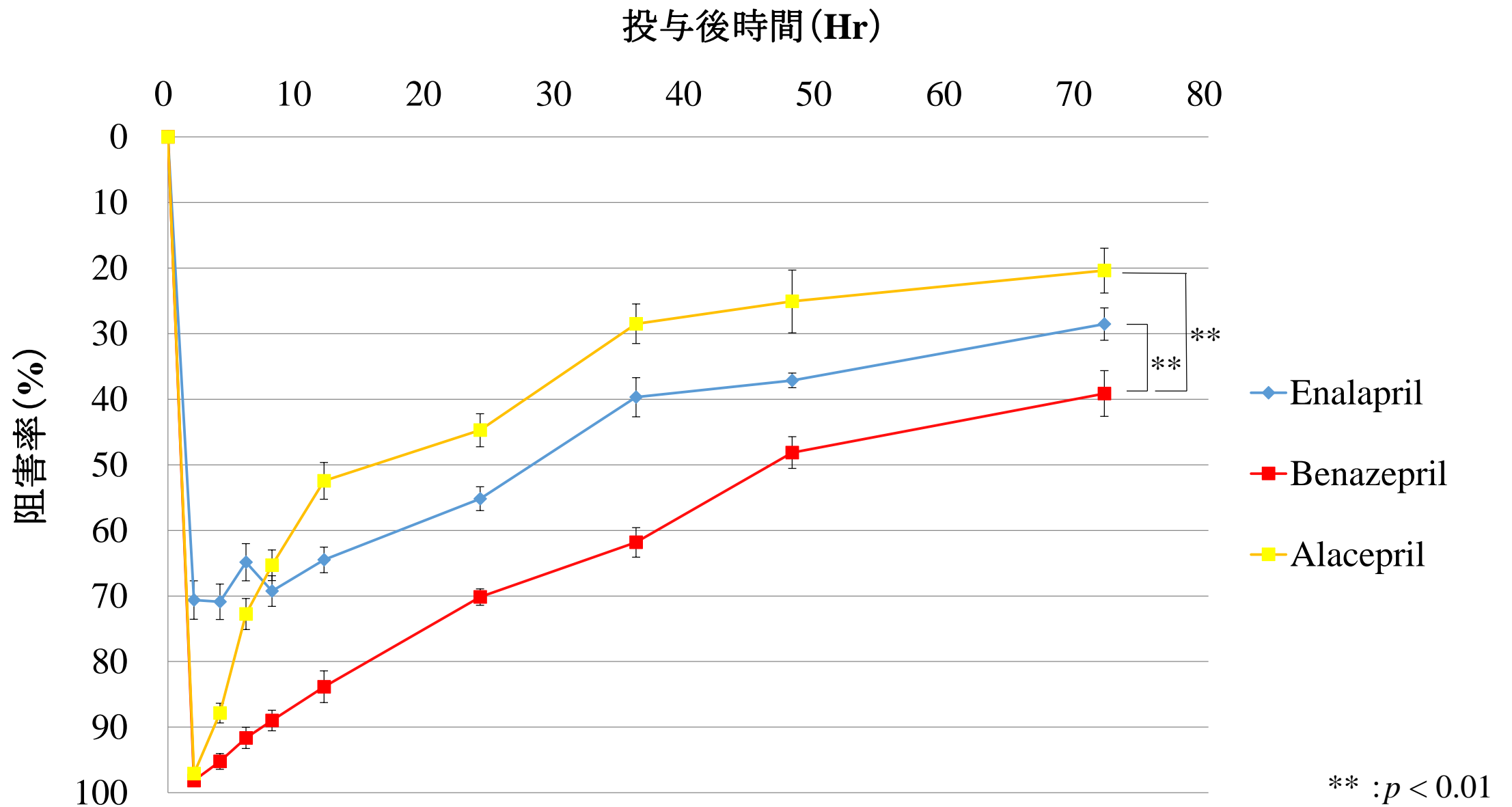


Figure 12 各種ACE阻害剤投与後の血清ACE活性阻害率の変動

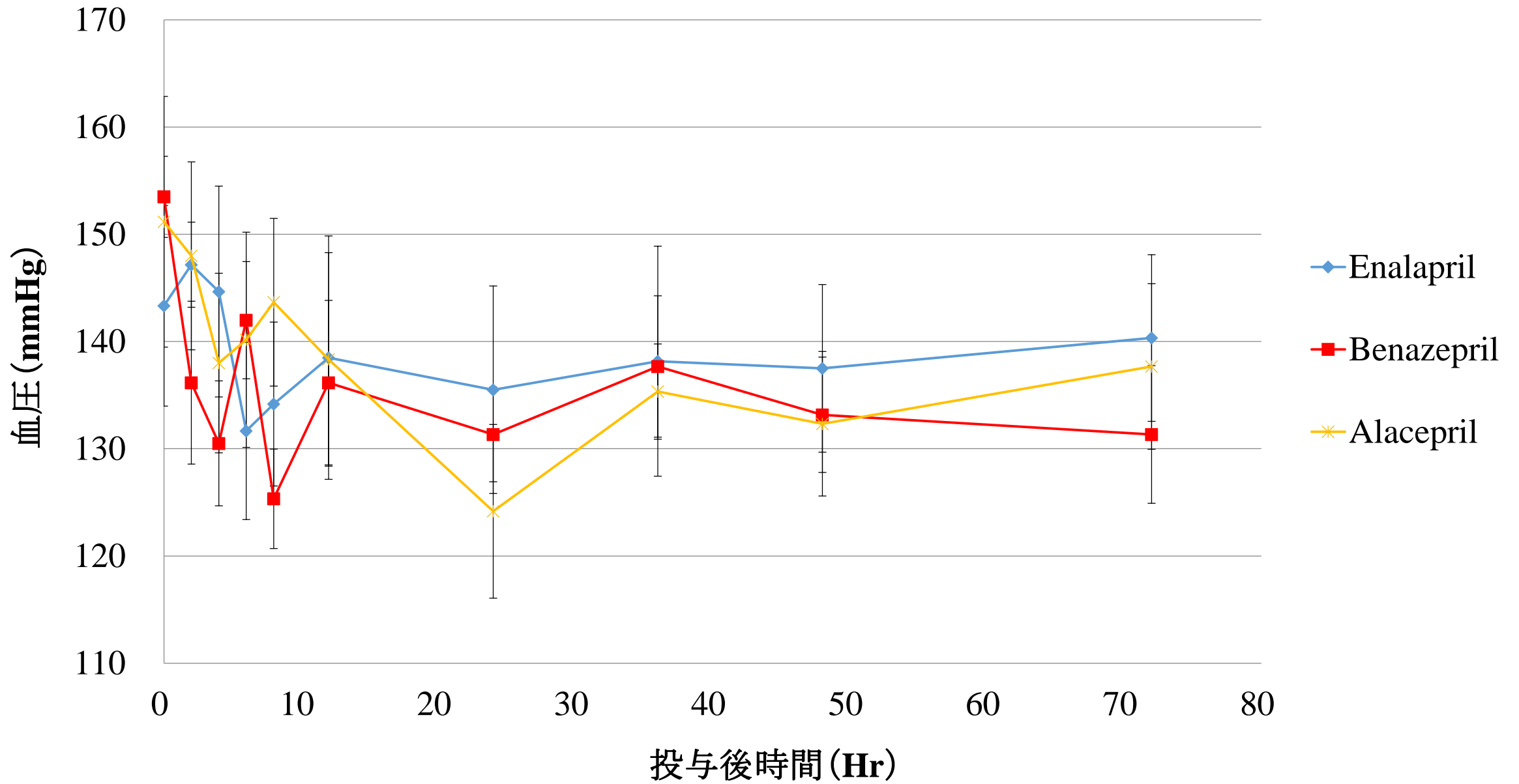


Figure 13 各種ACE阻害剤投与後の血圧の変動



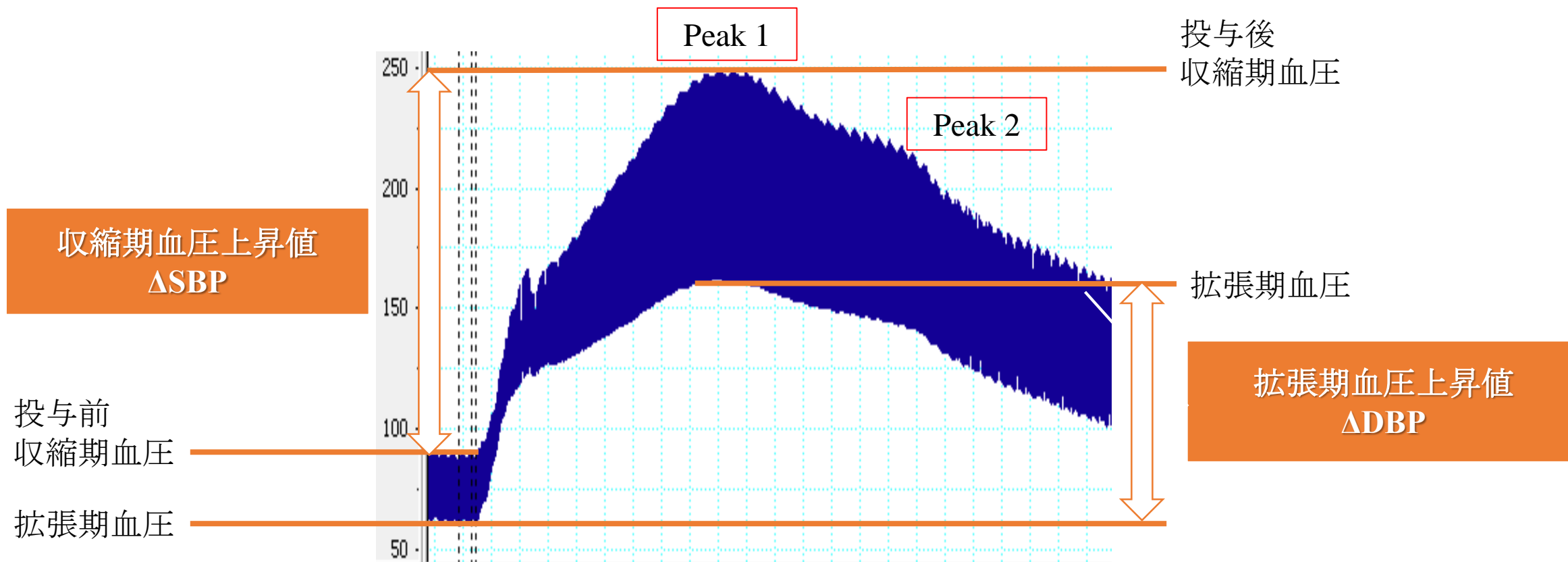


Figure 14 血圧の測定画像

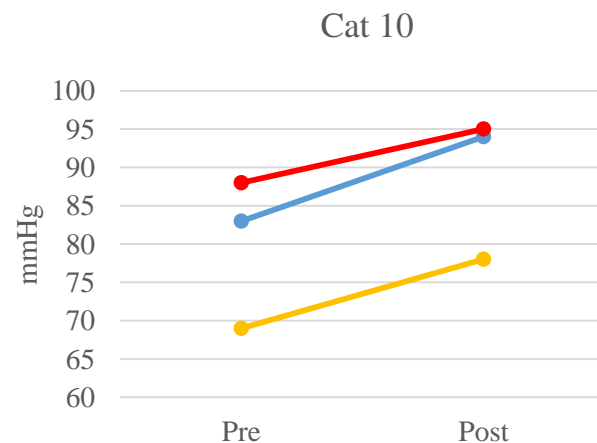
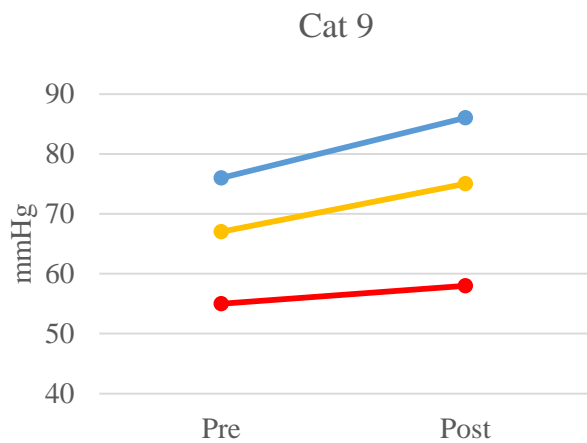
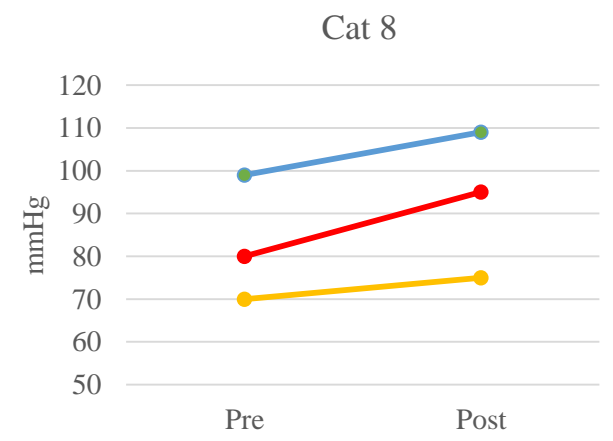
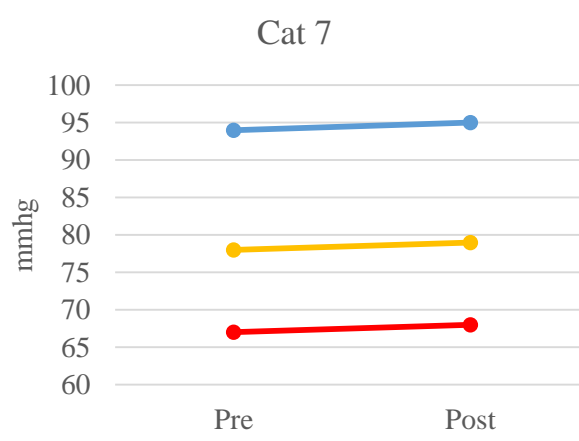
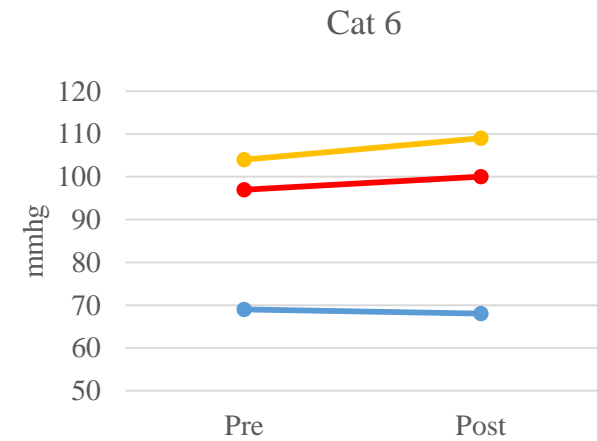
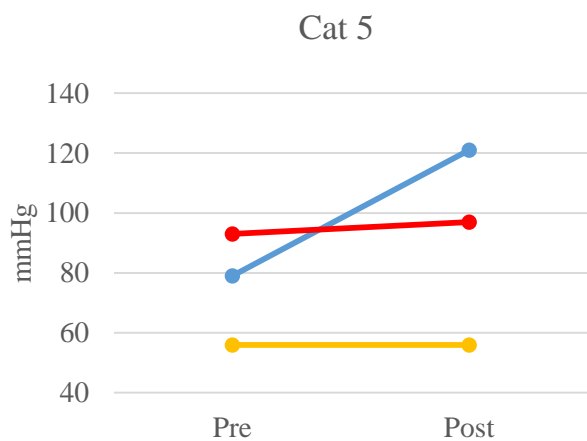
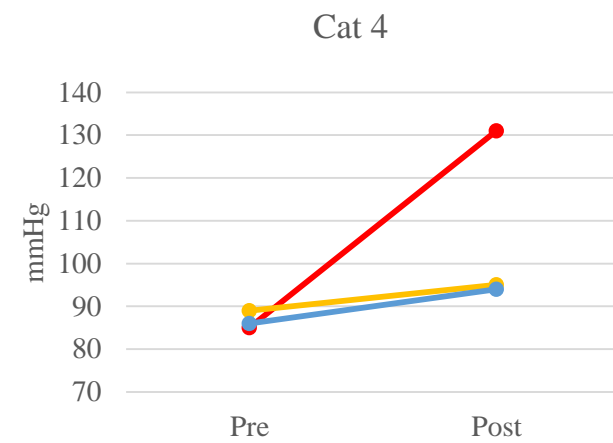
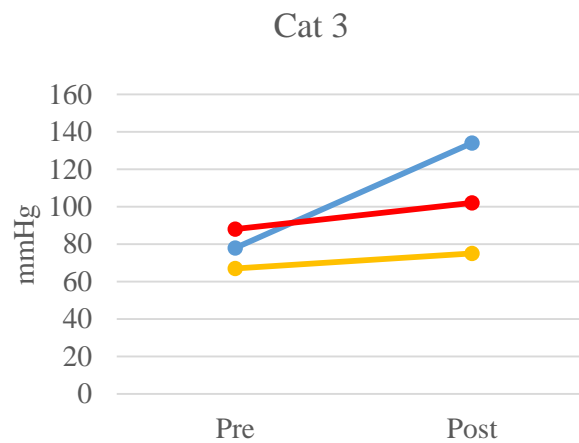
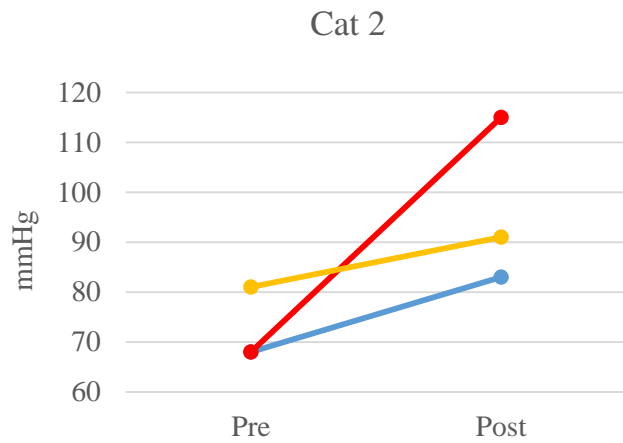
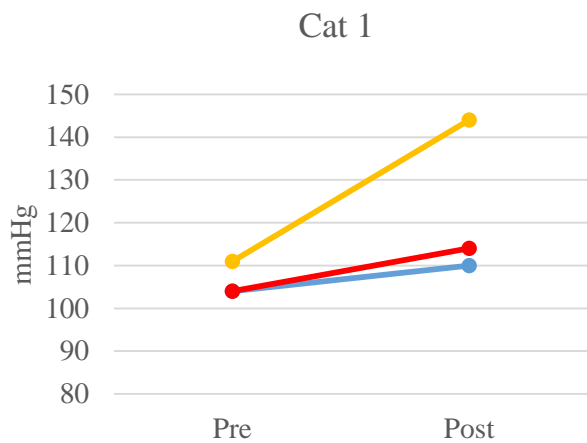


Figure 14 個体ごとにAng I 20ng/kg投与後の血圧の変動  
 個体ごとに測定値に大きなばらつきが認められた。

● Placebo      ● Benazepril      ● Alacepril

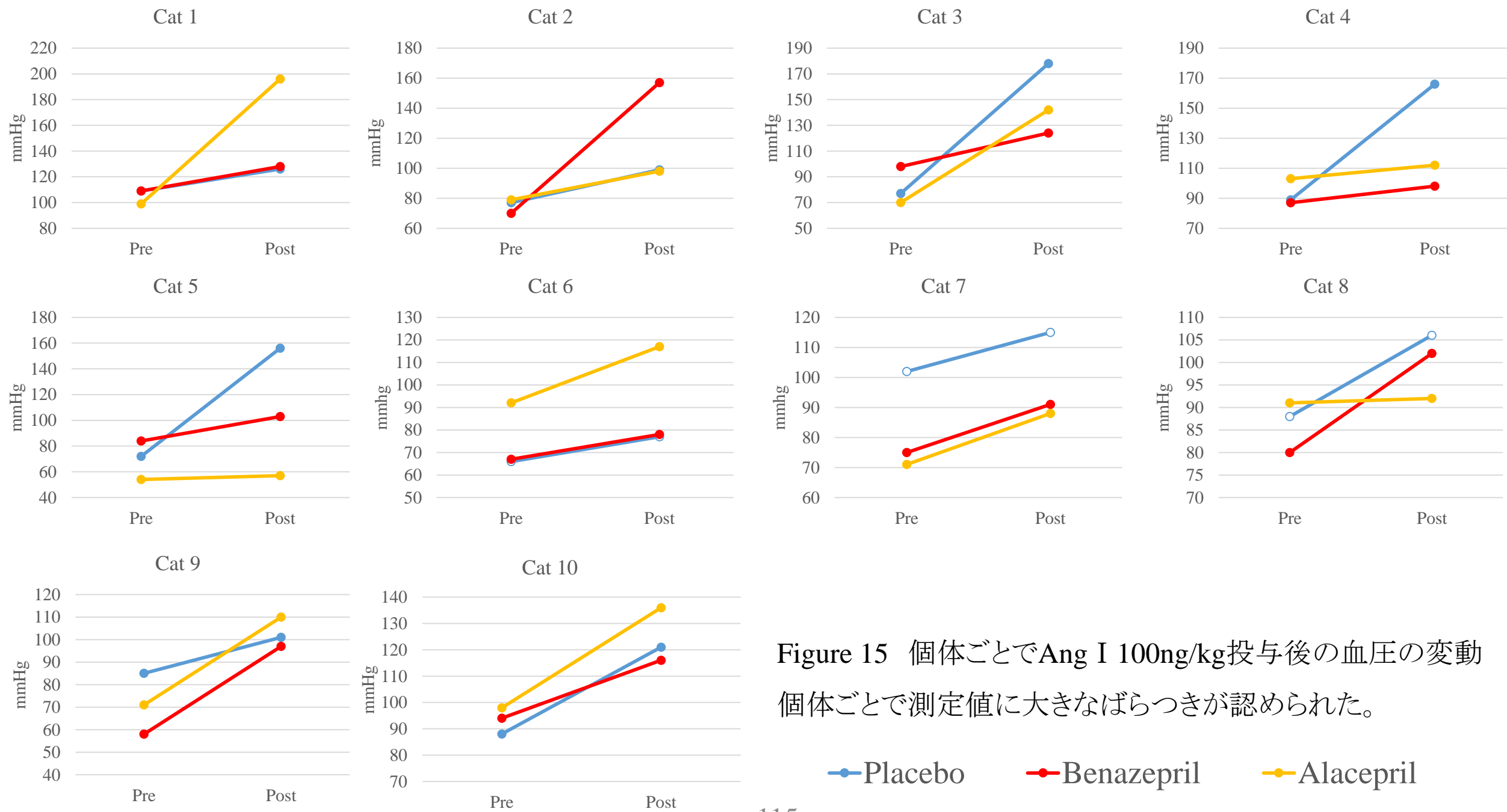
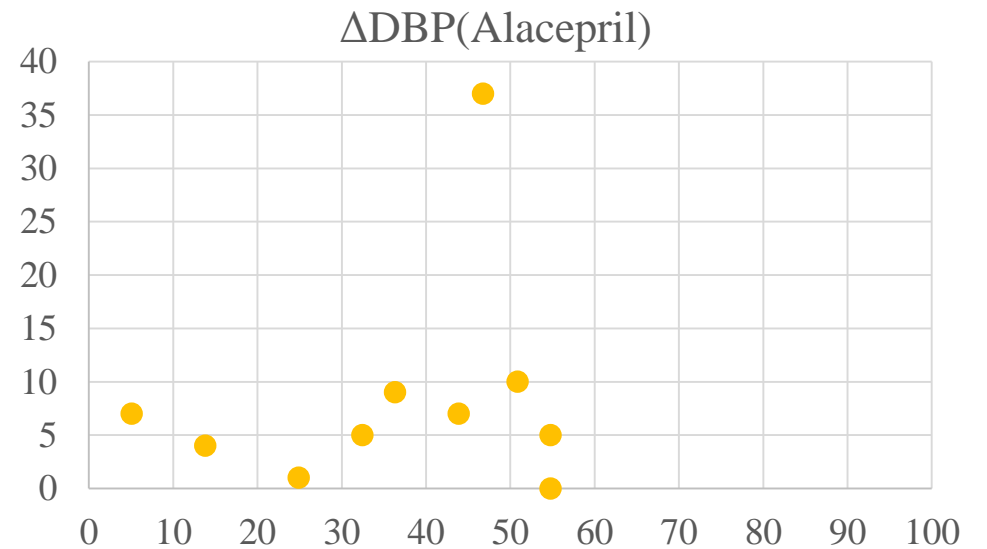
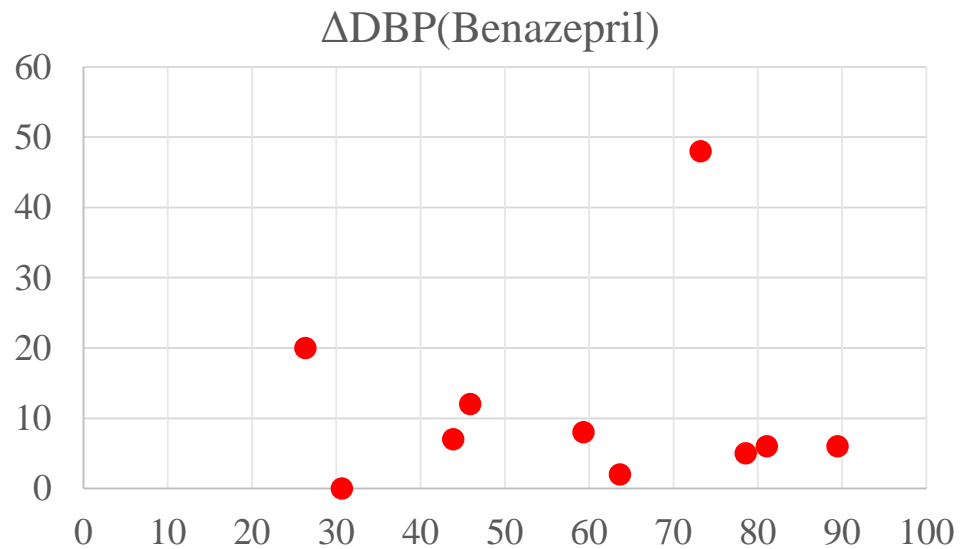
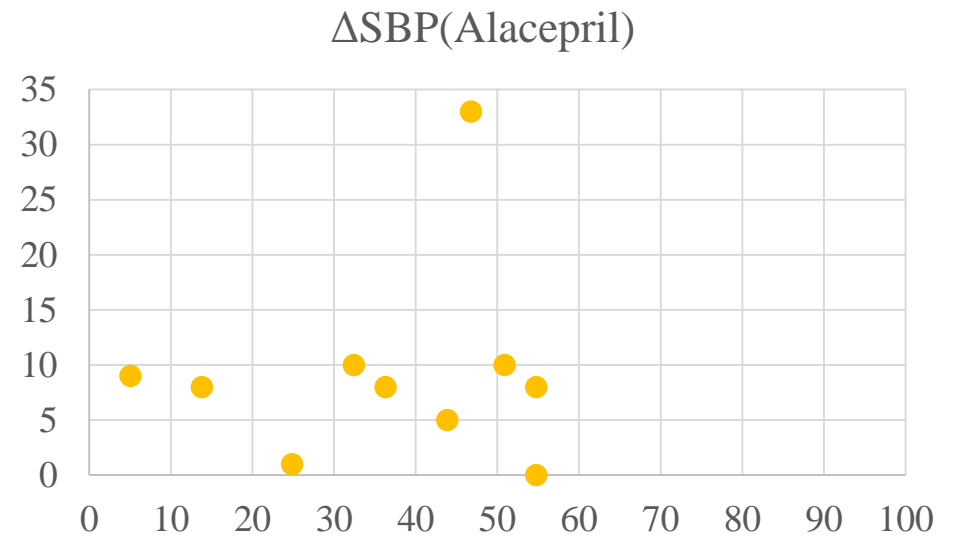
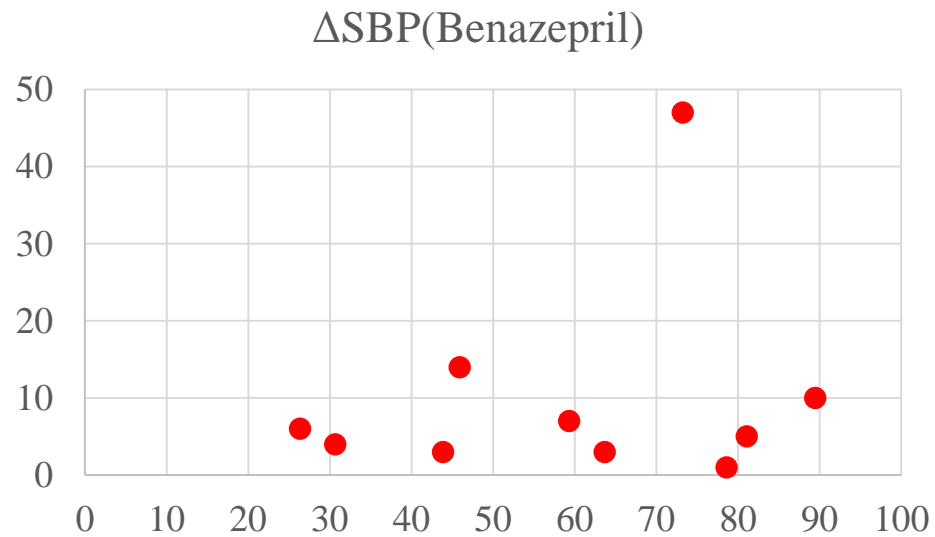


Figure 15 個体ごとにAng I 100ng/kg投与後の血圧の変動  
 個体ごとに測定値に大きなばらつきが認められた。

● Placebo      ● Benazepril      ● Alacepril

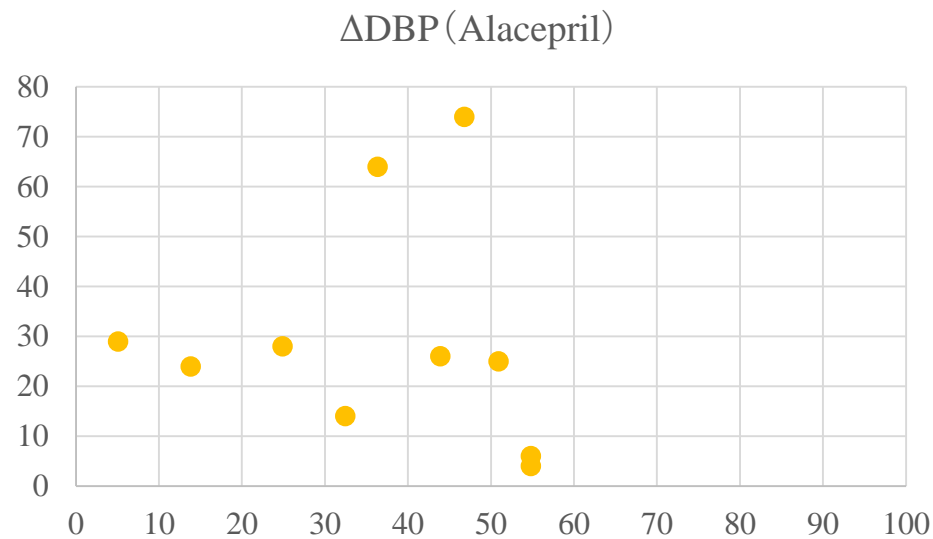
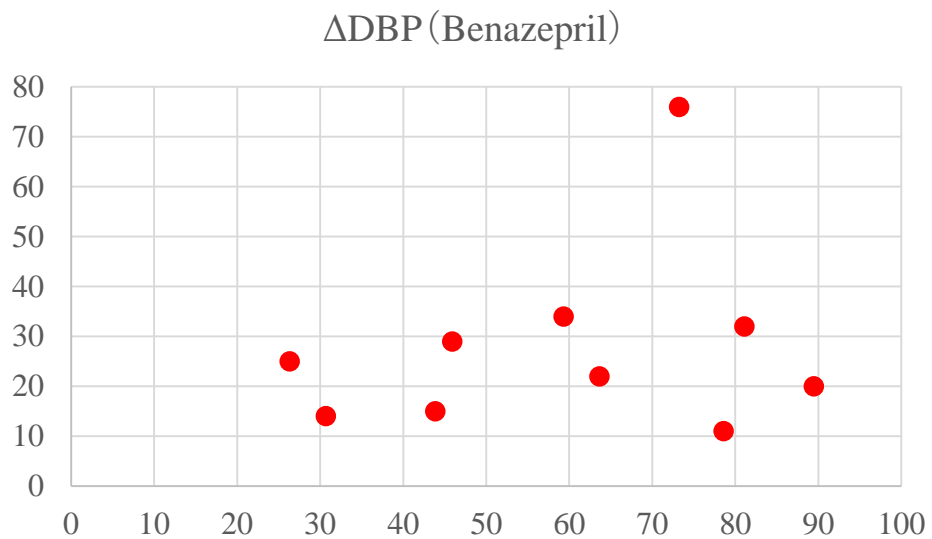
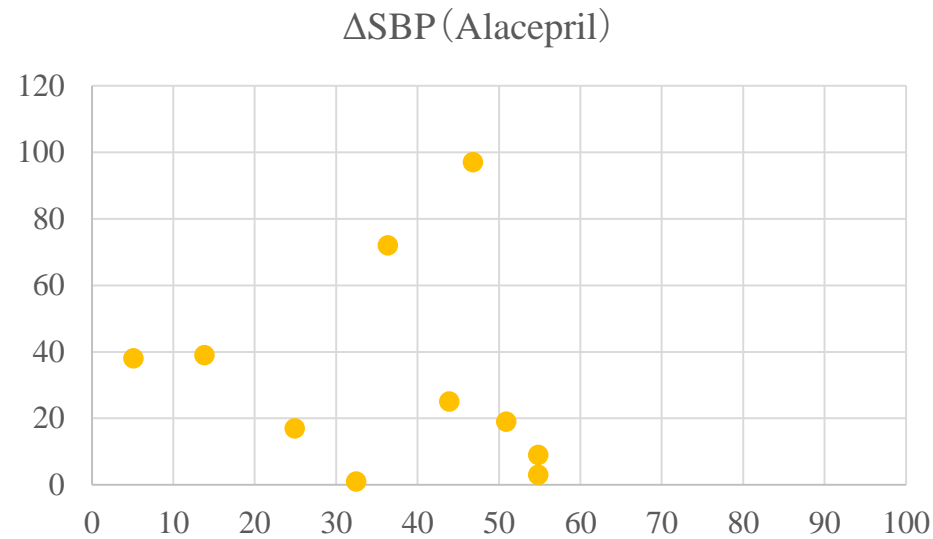
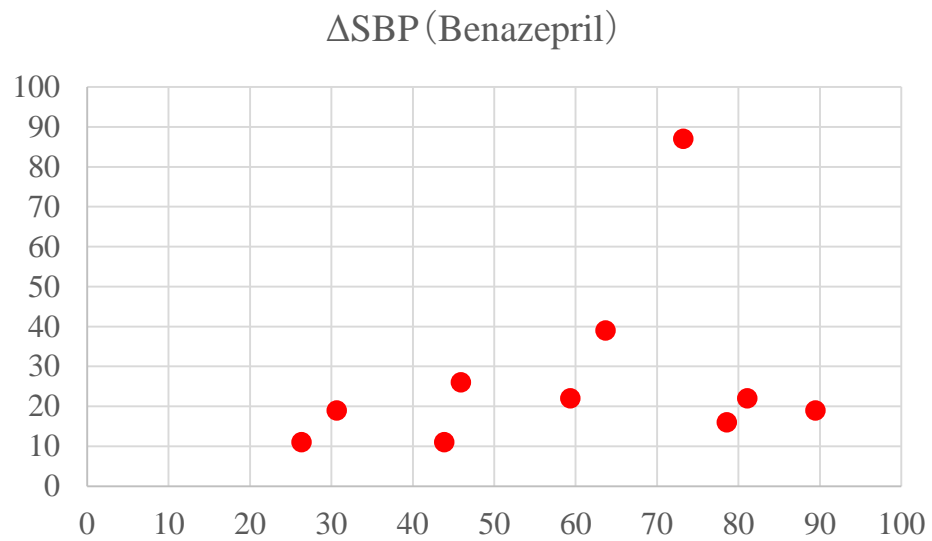
Ang I における血圧上昇値 (mmHg)



血清ACE活性阻害率 (%)

Figure 16 Ang I 20ng/kg投与時の血清ACE阻害率と血圧上昇値の相関

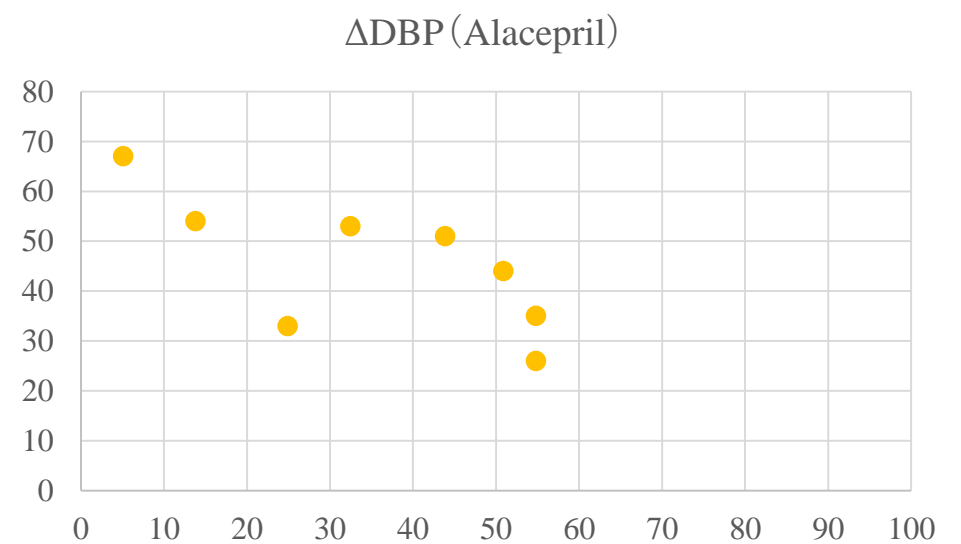
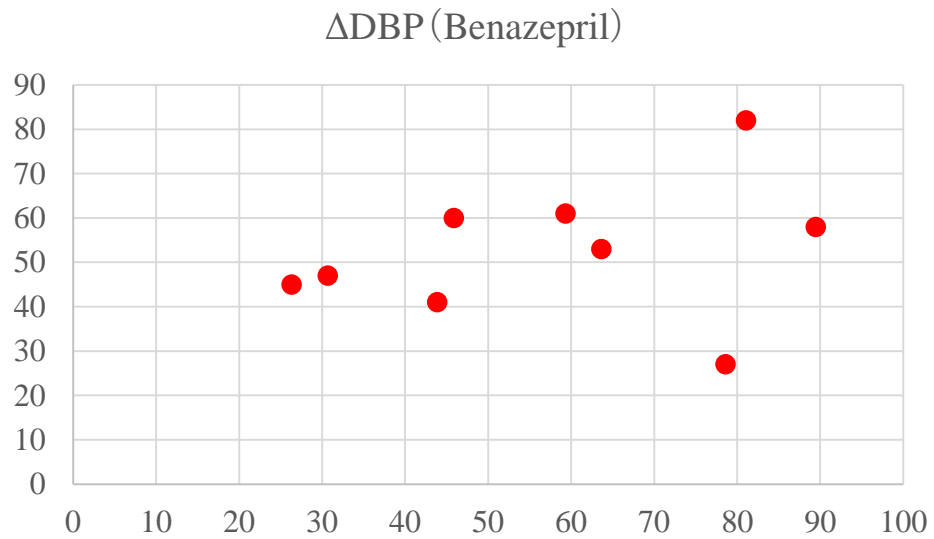
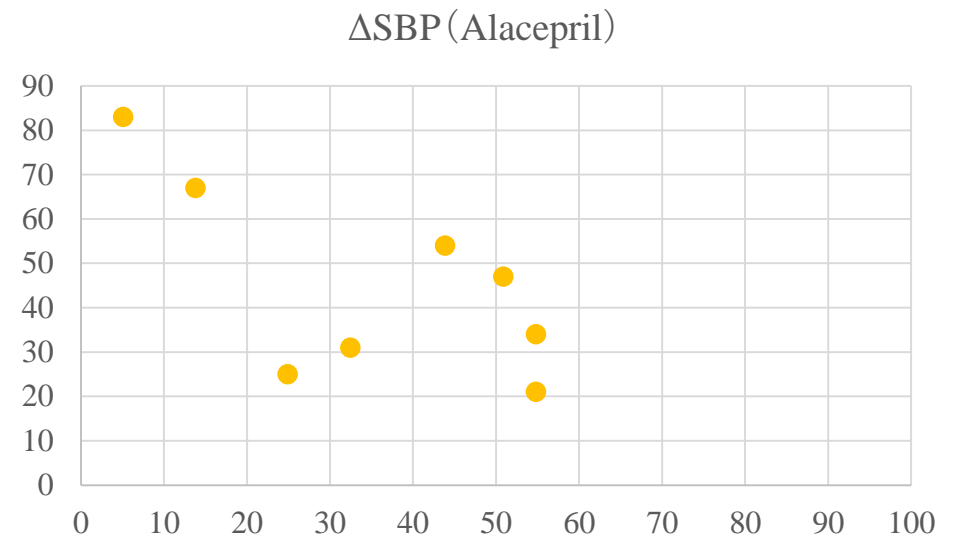
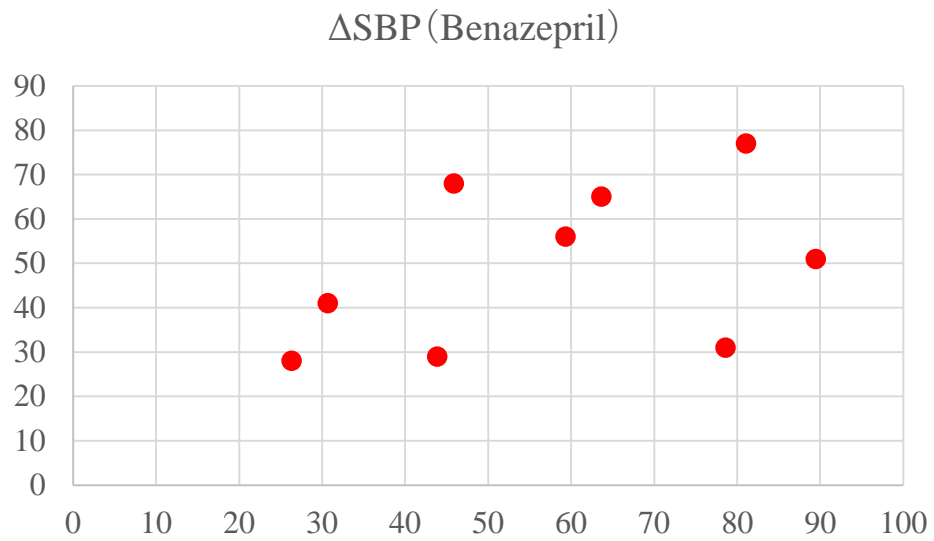
Ang I における血圧上昇値 (mmHg)



血清ACE活性阻害率 (%)

Figure 17 Ang I 100ng/kg投与時の血清ACE阻害率と血圧上昇値の相関

Ang I における血圧上昇値 (mmHg)



血清ACE活性阻害率 (%)

Figure 18 Ang I 500ng/kg投与時の血清ACE阻害率と血圧上昇値の相関