

令和 2 年 5 月 22 日現在

機関番号：12605

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K08100

研究課題名(和文) 犬における心不全による膵炎発現のメカニズムの解明と新規の治療法の確立

研究課題名(英文) Mechanism of the development of pancreatitis due to heart failure in dogs and establishment of new treatment methods

研究代表者

福島 隆治 (Fukushima, Ryuji)

東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・教授

研究者番号：10466922

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：心不全(HF)を呈した犬において、膵炎の罹患率が高いことが報告されている。また、以前より人医療においても、心機能低下に伴う膵炎の発生が報告されている。そこで、HFがもたらす膵細胞傷害発生のメカニズムを解明するとともに、それに基づいた新しい治療法の確立を目指した。その結果、犬においてHF時の心拍出量と血圧低下に起因し、膵血流量の減少が引き起こされることが明らかとなった。また、それにより膵腺房細胞のチモーゲン顆粒の減少を伴う細胞萎縮が発現することが判明した。この結果を受けて、新しい膵臓障害の治療法の確立を期待しピモベンダンを投与したところ、膵臓の血流量の維持と病理学的変化の軽減が確認できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、犬のみならずヒト心不全患者の予後を左右することになる膵臓障害が、どのようなメカニズムで引き起こされるかを明らかにした。そして、虚血に弱い臓器であり、心不全との関連性が「心腎連関」として広く認知されている腎臓よりも、早期に膵臓の血流が低下することが判明した。これは、心不全治療においても今後は膵臓のケアを十分に行う必要があることを強調している。また、膵臓血流の低下は膵臓の病理学的変化を引き起こすことが判明し、積極的な心不全治療薬(心拍出量ならびに血圧の維持)のを行うことで、膵臓血流の維持と膵臓の病理学的変化の軽減を

研究成果の概要(英文)：A high rate of pancreatitis has been reported in dogs exhibiting heart failure (HF). In the past, the occurrence of pancreatitis has also been reported to accompany reductions in cardiac function in the treatment of humans. Therefore, along with clarifying the mechanism by which HF causes pancreatic cell damage, we aimed to establish a new treatment based on this mechanism. Our results clarified that the reduction in cardiac output and blood pressure in dogs during HF periods causes a reduction in pancreatic blood flow. We have also confirmed that the resulting decrease in zymogen granules in the pancreatic acinar cells is accompanied by the occurrence of cell atrophy. Based on these results, we were able to confirm the maintenance of pancreatic blood flow and a reduction in pathological changes due to the administration of pimobendane. We expect to establish a new method of treatment for pancreatic malfunction on this basis.

研究分野：獣医循環器病学

キーワード：犬 心不全 膵臓血流 膵臓傷害 造影超音波検査 ソナゾイド ピモベンダン

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

犬において急性膵炎は、致死率の高い疾患である。死を免れても炎症が慢性化することで、持続的な消化器症状や食欲不振を招くことになる。また、慢性化後の急性増悪も起こり得る。さらには近接臓器への炎症の波及や炎症性メディエーターの放出により、肺をはじめとした遠隔臓器に対して悪影響を及ぼすことになる。膵臓の膵房細胞内には、チモーゲンとして消化酵素が保存されており、分泌されたチモーゲンは小腸内で活性化する。しかしながら、膵炎時には、このチモーゲンが不適切に膵臓内で活性化することで自己消化が発生し、膵臓の炎症および壊死が起こることが知られている。このチモーゲンの不適切な異所性活性化を引き起こす大きな原因の一つに、膵臓への血液還流障害が挙げられる。獣医療において、心不全に罹患している70%の犬が、臨床症状の有無にかかわらず程度の差はあるものの膵炎を併発しているという報告がある。また、人医療においては人工心肺を用いた手術後に高確率で膵炎の発生が知られている。いずれも、これらは膵臓への低還流が原因ではないかと疑われている。よって、膵臓血流の維持という新しい観点からの膵炎治療法を模索する必要があると考える。

### 2. 研究の目的

本研究では、一般的ならびに造影超音波検査、血圧測定、顕微鏡学的病理検査などのいくつかの手法を用いて、犬の心不全と膵炎の関連性ならびにその発生機序を明らかにすることを目的としている。また、犬における心不全治療と関連付けた、新たな膵炎の予防法および治療法の確立を目指す。

### 3. 研究の方法

(1) 高頻度心室刺激 (RVP) により心不全モデル犬を作出し、心不全時の膵臓血流の定量化を試みる。また、心不全時の膵臓血流の経時的变化を調査する。

(2) 同一モデル犬を使用し、心不全時において膵臓に虚血性変化に関連する病変が形成されるか否かを、病理学的手法を用いることで明らかにする。

(3) これらの結果を受けて、病態形成に対してそれを予防あるいは改善する可能性のある薬剤を選択する。そして、同一モデル犬に投与し、心臓ならびに膵臓の血流の変化の経時的变化ならびに病理学的所見を観察する。そして、その結果を基に、犬の膵炎に対する最良の投薬プロトコルの作成を試みる。

### 4. 研究成果

(1) モデル犬の心機能に関しては、ペーシング前 (Pre) と比較しペーシング開始から2週間目 (2W) において、心エコー検査上で左心内径短縮率 (FS) の低下 ( $p < 0.01$ ) ならびに心拍出量 (CO) の減少 ( $p < 0.05$ ) が認められた (図1)。また、動脈血圧値の有意な低下が認められた (それぞれ、 $p < 0.01$ 、 $p < 0.01$  および  $p < 0.05$ ) (図1)。また、膵血流量の測定のため、ペルフルブタンマイクロバブル (ソナゾイド®、第一三共株式会社、東京) を使用した造影超音波検査 (CEUS) を行ったところ、Pre では時間輝度曲線の形状が急激な輝度の上昇を伴うピークの明瞭な山型であったのに対して、2W では輝度の急激な上昇は見られないピークが不明瞭な

傾斜の低い山型であった。また、2W の CEUS 開始後 30 秒から 240 秒までの各時相における輝度は有意に低下していた。さらに、2W の AUC ならびに PI は有意に低下していた (ともに  $p < 0.01$ ) (図 2)。CEUS における AUC ならびに PI は、対象臓器の血流量を反映するとされている。本研究により、心機能および血圧が低下すると実際に脾血流量が低下することが明らかとなった。

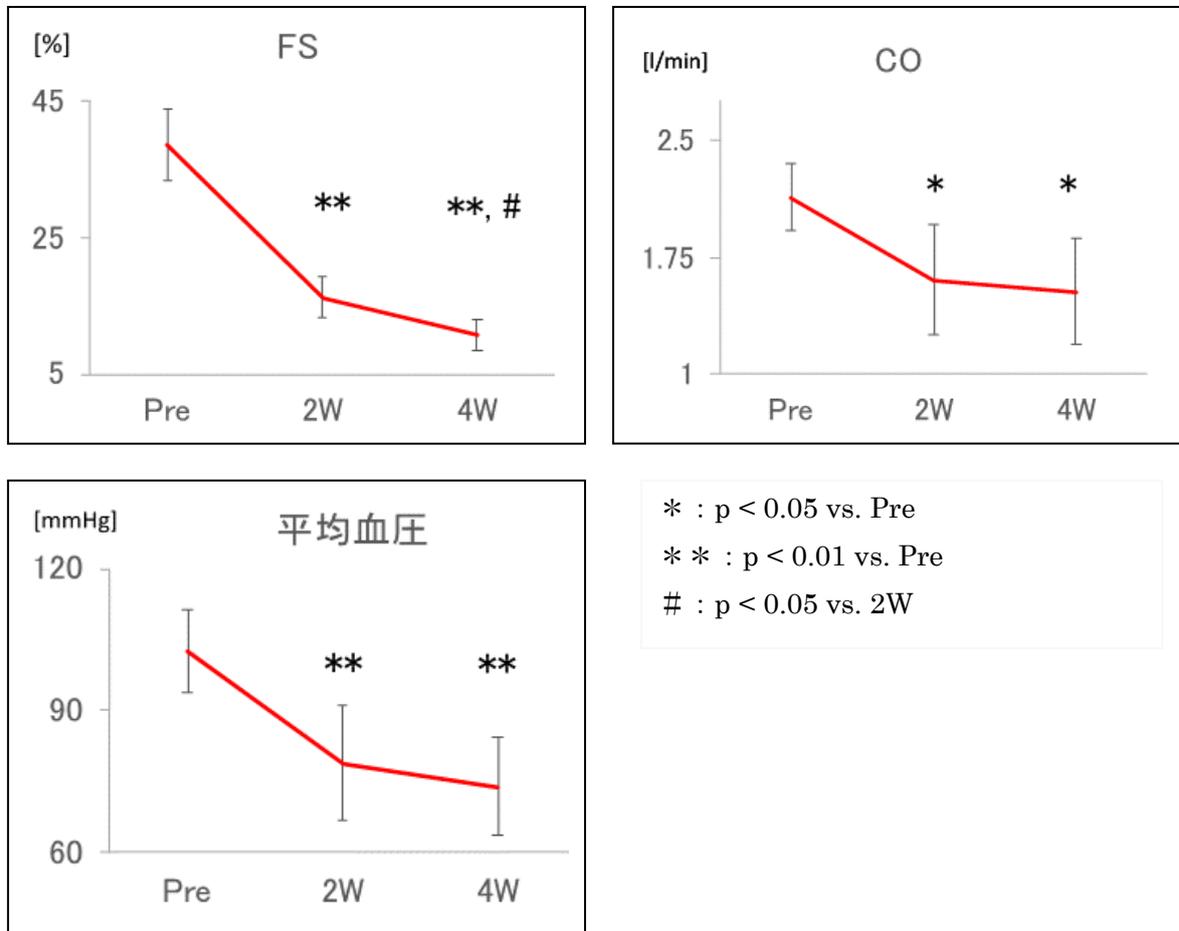


図 1 心不全モデル動物の FS, CO ならびに平均血圧の経時的変化

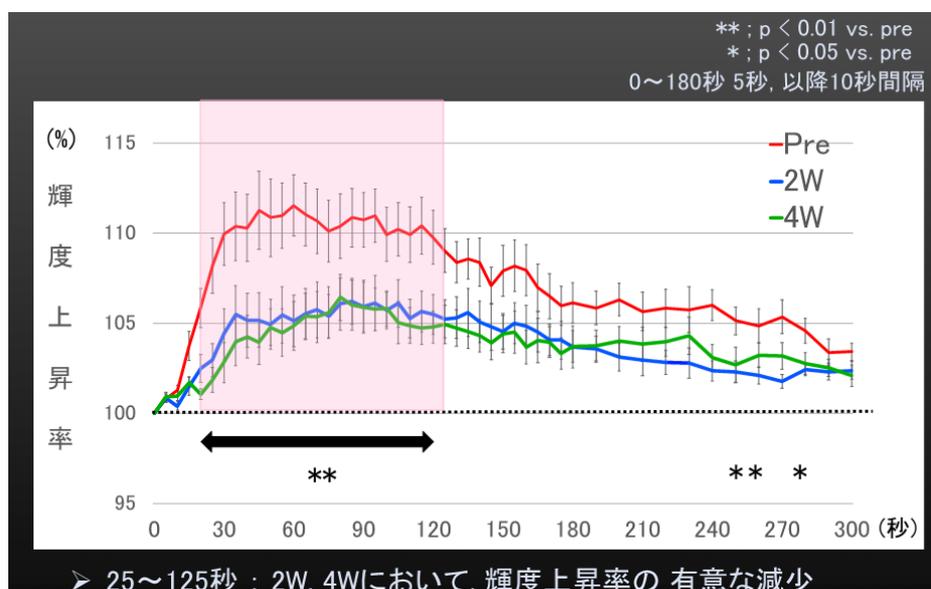


図 2 心不全モデル動物の脾臓血流 (TIC) の経時的変化

(2) Pre とペーシング開始から4週間目(4W)における膵臓組織に関して、光学顕微鏡検査(HE)により病理学的変化の有無を評価した。その結果、膵臓内におけるうっ血所見は認められなかったものの、4Wにおいてチモーゲン顆粒の減少を特徴とする膵腺房細胞の萎縮が膵臓全域に認められた(図3)。これらから、心機能低下に膵臓の低還流が生じ、さらに膵臓組織に病理学的変化が発現することが明らかとなった。

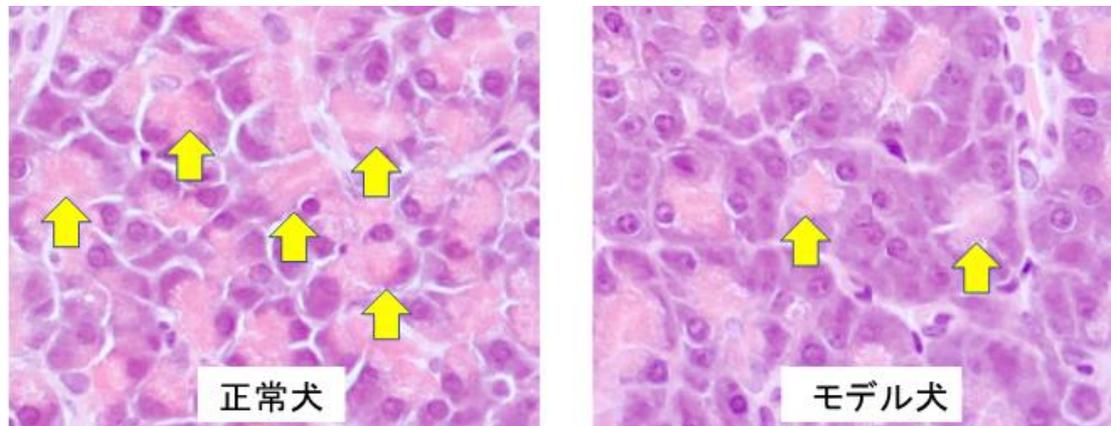


図3 正常犬と心不全モデル犬の膵臓組織の比較

(3)心不全時に低下する膵臓血流を維持させることで、膵臓傷害を軽減できるのではないかとの仮説を立てた。そこで、CO増加による膵臓血流増加を期待し、陽性変力作用と後負荷軽減作用により心拍出量を増加させる作用を有するピモベンダンを治療薬として採用した。モデル犬10頭を無投薬群(Cont group:5頭)とピモベンダン投与群(Pimo group:5頭)にランダムに振り分け、Preと4Wにおいて心エコー検査、CEUS、血圧測定、および膵臓の病理学的検査を実施した。その結果、Cont groupと比較し、Pimo groupでは4WにおけるFS、COならびに血圧値が有意に高値であった。また、Cont groupと比較し、Pimo groupにおける膵臓血流が有意に多かった。さらに、Cont groupと比較し、Pimo groupにおけるチモーゲン顆粒の減少を特徴とする膵腺房細胞の萎縮は明らかに軽度であった(図4)。これらから、心不全に起因する膵臓障害にはピモベンダンの投与が有効であると結論づけるとともに、膵臓血流の維持が膵臓傷害の予防・治療の新しいコンセプトになり得ると希望が持てた。

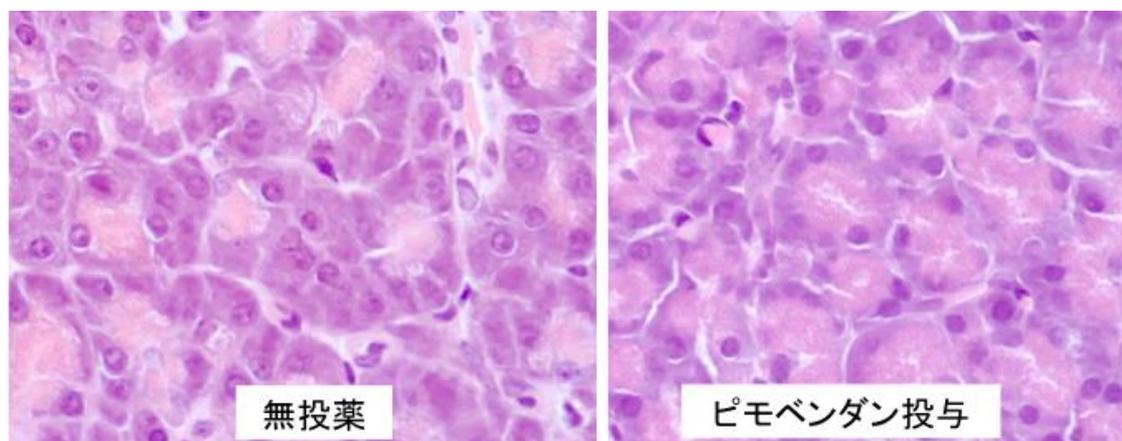


図4 無投薬群の犬とピモベンダン投与群の犬の膵臓組織の比較

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Yoshimura A, Omori T, Yamada S, Kawaguchi T, Kishimoto M, Iwanaga T, Miura N, Fukushima R	4. 巻 -
2. 論文標題 Comparison of pancreatic and renal blood flow in a canine tachycardia-induced cardiomyopathy model.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Veterinary Medical Science	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） <a href="https://doi.org/10.1292/jvms.19-0694">https://doi.org/10.1292/jvms.19-0694</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Iwanaga T, Miura N, Brainard BM, Brooks MB, Goggs R	4. 巻 -
2. 論文標題 A Novel Microchip Flow Chamber (Total Thrombus Analysis System) to Assess Canine Hemostasis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Veterinary Science, section Veterinary Experimental and Diagnostic Pathology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fvets.2020	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 宮原舜介, 岸本海織, 吉村有正, 杉 翔磨, 山崎健太郎, 糸野真穂, 伊藤 友, 清水美希, 福島隆治
2. 発表標題 放射線を使った, 動物に侵襲のない臓器血流測定法—Perfusion CT—
3. 学会等名 第55回アイソトープ・放射線研究発表会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 三浦直樹, 岩永朋子, 齋藤靖夫, 高橋 雅, 福島隆治
2. 発表標題 全血血栓形成観測システム(Total Thrombus Formation System: T-TAS)の血栓性疾患の評価
3. 学会等名 平成30年日本小動物獣医学会（九州地区）第67回九州地区獣医師学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉村有正, 大森貴裕, 河口貴恵, 山田修作, 菅野瑛太, 桃井義士, 石井 凌, 伊藤こころ, 福島隆治
2. 発表標題 頻拍誘発性心筋症モデル犬における心機能低下に伴う臍血流量の減少
3. 学会等名 第110回日本獣医循環器学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Iwanaga T, Miura N, Brainard BM, Brooks MB, Goggs R
2. 発表標題 EVALUATION OF THE TOTAL-THROMBUS ANALYSIS SYSTEM (T-TAS) IN DOGS AT RISK OF BLEEDING
3. 学会等名 International Veterinary Emergency & Critical Care Symposium
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉村有正, 大森貴裕, 菅野瑛太, 桃井義士, 石井 凌, 伊藤こころ, 福島隆治
2. 発表標題 心機能低下に起因した臍臓と腎臓における血流量減少の差異
3. 学会等名 第111回日本獣医循環器学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 山田修作, 福島隆治	4. 発行年 2017年
2. 出版社 インターズー	5. 総ページ数 21
3. 書名 コントロールがとれない僧帽弁閉鎖不全症の管理(CLINIC NOTE No.145)	

1. 著者名 山田修作, 福島隆治	4. 発行年 2019年
2. 出版社 ファームプレス	5. 総ページ数 4
3. 書名 ピモベンダン先発品から後発薬品へ切り替え後の臨床評価(mVm No.178)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	岸本 海織  (Kishimoto Miori)  (50588960)	東京農工大学・(連合)農学研究科(研究院)・講師   (12605)	
研究分担者	岩永 朋子  (Iwanaga Tomoko)  (60713287)	鹿児島大学・共同獣医学部・助教   (17701)	
研究分担者	三浦 直樹  (Miura Naoki)  (80508036)	鹿児島大学・農水産獣医学域獣医学系・教授   (17701)	
研究協力者	吉村 有正  (Yoshimura Aritada)		
研究協力者	大森 貴裕  (Omori Takahiro)		