

## 論文審査の結果の要旨

氏名：白 仲玉

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

論文題名：カニクイザルにおける心臓ホルモンに関する研究

審査委員：(主査) 教授 鯉江 洋

(副査) 教授 浅野 和之

教授 佐藤 雪太

ヒト医学における実験動物は創薬分野の前臨床試験などで重要な役割を果たしている。実験動物は動物種により解剖学的構造や生理学的機能の違いによって各種検査の基準値が変動することも少なくない。サル類はヒトと同じ霊長目に属し、ヒトと遺伝学的にも近縁な重要な動物である。サル類には、ヒトにみられる循環器疾患も発生することが報告されている。しかしながら、サル類の循環器疾患の詳細は、まだ解明されていないことが多い。

カニクイザルは東南アジアに生息する狭鼻猿類、マカカ属に属する小型のサルである。比較的、飼育が容易で実験動物として注目されている。サル類はヒトと最も近縁な実験動物であり、感染症、再生医療等の研究に多く用いられ、さらに近年は循環器疾患モデルとして注目されているが、その循環器疾患の病態や血液検査値などの報告は少ない。

カニクイザルの一般血液検査値（全血球計算、血液化学検査）の正常値はヒトとほぼ同じである。一方、循環器系に関してヒトでは既に心臓損傷のマーカーとして心房性ナトリウム利尿ペプチド（ANP）および脳性ナトリウム利尿ペプチド（BNP）が適用されている。ANP と BNP は利尿作用と血管拡張作用により体液循環量の調節を行うナトリウム利尿ペプチドの代表である。ANP は主に心房筋から分泌され、BNP は心室に負荷が加わることにより、心室筋内で合成および分泌がされる。

現在までのところ、カニクイザルにおいて、それら心臓ホルモンが循環器疾患へのマーカーとして利用されることは少なく、さらに基準値は確立されていない。本研究では、実験動物として飼育されたカニクイザルにおける心臓ホルモン基準値と臨床応用の検討を行った。またカニクイザル心疾患に応用することによりヒトの心疾患モデルとしての有用性についても検討を行った。

### 1. カニクイザルの心臓ホルモンの基準値

ナトリウム利尿ペプチドは、心臓壁に異常な高圧もしくは容積負荷が加わったときに分泌される心臓ホルモンである。ナトリウム利尿ペプチド受容体には3種類のサブタイプ(NPR-A, NPR-B, NPR-C)がある。ANP と BNP はグアニル酸シクラーゼ活性を持つ機能的受容体に結合し、cGMP の産生を介して種々の作用を発揮する。主な機能としては利尿作用と血管拡張作用で、体液循環量を調節することが知られている。本研究では健康なカニクイザルにおける ANP および BNP 基準値の検討を行った。研究に供したカニクイザル、オス 35 頭、メス 79 頭の合計 114 頭で、医薬基盤・健康・栄養研究所・霊長類医科学研究センターにて繁殖、育成された個体である。測定結果は、ANP 値が  $20.71 \pm 13.52$  pg/ml、BNP 値が  $2.36 \pm 2.23$  pg/ml で、ヒ

トの心臓ホルモン値より低値を示した。また性別や体重、年齢の相関においては、ヒトと異なり、加齢及び体重の増減に対して心臓ホルモン値に有意差がみられなかった。

これらの結果から、本研究では健康なカニクイザルにおける ANP と BNP の基準値を得ることができた。

## 2. 房室弁逆流が観察されたカニクイザルの心臓ホルモン値の有用性

弁膜症はヒト医療、獣医療にもみられる慢性心疾患である。イヌやネコなどでの臨床医療現場では多発する加齢性心疾患として知られている。実験動物として飼育されたカニクイザルにおいても老齢個体を中心に弁膜症である僧帽弁閉鎖不全症 (MR) と三尖弁閉鎖不全症 (TR) の房室弁逆流は比較的多く観察される。本研究ではカニクイザル大規模繁殖コロニー内で実施された健康診断で、心雑音が聴取され、心エコー図検査で僧帽弁あるいは三尖弁逆流が観察された個体を抽出し、心臓ホルモンを測定した。抽出されたカニクイザルはオス 22 頭、メス 35 頭の合計 57 頭であった。症状が進行し予後不良と判定された個体は安楽殺を行い、解剖および病理組織学的検査を行った。

測定の結果、疾患群を僧帽弁閉鎖不全症 (MR) 群、三尖弁閉鎖不全症 (TR) 群、僧帽弁閉鎖不全症と三尖弁閉鎖不全症併発 (MR・TR) 群と 3 群に分けて、健康なカニクイザルと心臓ホルモン値を比較した。MR 群 (32 頭) における心臓ホルモン値の中央値は ANP : 24.90 pg/ml, BNP : 4.00 pg/ml であった。TR 群 (16 頭) における中央値は ANP : 32.50 pg/ml, BNP : 4.0 pg/ml であった。MR・TR 群 (9 頭) における中央値は、ANP : 31.00 pg/ml, BNP : 5.4 pg/ml であった。Kruskal-Wallis 検定法を用いて相関を検討した結果、MR および MR・TR 群の心臓ホルモン ANP と BNP 値は健康群より有意に高値を示した (ANP:  $p=0.001$ ; BNP:  $p=0.0004$ ;  $p<0.05$ )。各グループにおいて多重比較法 Steel-Dwass 検定を行った結果、ANP と BNP 値は健康群と MR 群ならびに健康群と MR・TR 併発群において有意差が認められた ( $p<0.05$ )。

ANP と BNP の診断能においては ANP が 24.9 pg/ml 時に、最大感度 59%、特異度 76% であった。また ROC 曲線の下面積 (AUC) は 0.691 であった。BNP に関しては、4.3 pg/ml 時、最大感度 45%、特異度 89% であり、ROC 曲線の下面積 (AUC) が 0.667 であった。これらのことから、スクリーニングに関する感度では、BNP はやや低い感度であったが、診断特異度は ANP と BNP 両方が優れていると思われた。

以上の結果より、房室弁逆流が観察されたカニクイザルの心臓ホルモン値は健康なカニクイザルより有意に高値を示し、ヒトと同様に容量負荷あるいは心筋の伸展および障害に反応する可能性が示唆された。

## 3. 先天性心疾患における心臓ホルモン値の有用性の検討

実験動物モデルは希少疾患の病態機序解明に重要な役割を果たす。本研究ではカニクイザル大規模コロニー内から希少疾患である右室二腔症 (DCRV) 1 例、心室中隔欠損症によるアイゼンメンジャー症候群 1 例を抽出し、その病態生理学動態および心臓ホルモン値について検討を行った。

両症例ともに心臓ホルモン値測定の結果は基準値と比較して明らかな高値を示した。DCRV は右室流出路における異常な筋束等の形成により、右心室が高圧腔と低圧腔に二分されることで生じる先天性心疾患である。ヒトでもまれな心疾患であり、イヌ、ネコなどの動物についての報告は少なく、これまでにサルでの報告例は無い。一方、アイゼンメンジャー症候群は、心室中隔欠損症 (VSD)、動脈管開存症 (PDA) などの先天性心疾患を起因して発症する心疾患であり、右室内の圧力上昇によってバイパス路を介して左室系へ静脈血が流れ込む病態を示す。今回観察された症例のアイゼンメンジャー症候群は心室中隔欠損由来であった。心エコー図検査では DCRV 症例の右室流出路に異常な高エコー像が観察され、肺動脈弁方向に高速乱流が認められた。一方、心室中隔欠損症によるアイゼンメンジャー症候群の心エコー図所見では、右

心系の重度な拡大およびVSD孔による右-左の短絡が観察された。単純X線検査では、心陰影の拡大、さらに病理組織学的検査では心臓の線維化などの所見が観察された。従って、カニクイザルにおいて心臓ホルモン値の測定は慢性心疾患のみならず、先天性心疾患による心房、心室筋の伸展を伴う容量負荷の増加および流路障害の検出にも有用であることが示唆された。

これらのことから、カニクイザルにおける心臓ホルモン値はヒト医療と同じく心臓疾患を把握するマーカーとして有用である可能性が示唆された。よって本研究結果により、カニクイザルの循環器疾患の早期発見と病態把握が可能となり、実験動物としてのカニクイザルは循環器研究の発展に大きく貢献することが期待されると思われた。

よって本論文は、博士（獣医）の学位を授与されるに値するものと認められる。

以 上

令和 4年 2月 22日