

## ウマの第 II 度房室ブロックの重症度と被毛中微量元素濃度

鈴木一由, 浅野妃美, 千葉百子<sup>\*1</sup>, 世良耕一郎<sup>\*2</sup>, 浅野隆司, 酒井健夫

日本大学生物資源科学部獣医学科  
252-8510 神奈川県藤沢市亀井野 1866

<sup>\*1</sup> 国際医療福祉大学薬学部  
324-8501 栃木県大田原市北金丸 2600-1

<sup>\*2</sup> 岩手医科大学サイクロトンセンター  
020-0173 岩手県岩手郡滝沢村滝沢字留が森 348-58

### 1 はじめに

ウマで頻発する第 II 度房室ブロックは生理的不整脈と考えられているが<sup>1,2)</sup>, 運動不耐性を示すウマでよく見られることから臨床的解明が求められている。さらに, 高齢ウマでは心室波の脱落頻度に伴って収縮期血圧が上昇して高血圧症を呈するため<sup>3)</sup>, 臨床徴候が見られる以前に早期診断ができれば適切な飼養管理を行うことによって予防対策が講じやすい。

一方, 毛髪および被毛は微量元素の排泄器官であるため, 他の生体試料と比べてそれらの蓄積量が著しく多く, 採取やその後の試料保存が容易であるため, 微量元素の動態のモニタリングに適している。そこで, これらの試料を用いてヒト<sup>4,5)</sup>およびラット<sup>6)</sup>では Zn 濃度と徐脈, 不整脈および高血圧症との関連についての検討が数多く報告されている。また, Zn は Cu と相互調節を行っているため, Zn 動態を評価する上で Zn/Cu 比が重要となる<sup>7)</sup>。我々は第 I 度または II 度房室ブロックを呈するウマの鬣中 Zn/Cu 比が心電図所見で異常の認められない健常ウマのそれと比べて高値を示すことを報告したが<sup>8)</sup>, 房室ブロックの重症度と鬣中 Zn/Cu 比の関係についてはこれまでに検討されていない。

本研究では, ウマの鬣中微量元素濃度を測定し, ヒトの毛髪と同様に鬣中微量元素の動態と不整脈との関連について, また, 関連が認められるのであれば心臓疾患を早期診断することが可能であるか否かを検討した。

### 2 測定方法

#### 2.1 Regression analysis

被毛色が栗毛または鹿毛のウマ 16 頭を用いて, 3 分間の短時間および 6 時間の長時間心電図を観察した。短時間および長時間心電図所見に異常が認められなかったウマ 3 頭を健常群, 長時間心電図のみで第 II 度房室ブロックが認められたウマ 7 頭を軽症群, 両者で第 II 度房室ブロックが認められたウマ 6 頭を重症群に分類した。これらのウマの鬣中 Ca, Cu, Mg および Zn 濃度を PIXE 法により測定し, Zn/Cu 比を算出した<sup>8-10)</sup>。また, 得られた長時間心電図記録より 1 時間あたりの心室波脱落数 (DVBs : Dropped Ventricular Beats) を算出し, スピアマンの順位相関検定を用いて鬣中微量元素濃度が DVBs に対して相関を示すか否かを検討した。

## 2.2 Receiver operating characteristic (ROC) analysis

被毛色が栗毛または鹿毛のウマ62頭を用いて、心電図所見で異常が認められなかったウマ37頭を健常群、第II度房室ブロックと診断されたウマ25頭をAV群に分類した。これらのウマの鬣中Ca, Cu, MgおよびZn濃度をPIXE法により測定し、Zn/Cu比を算出した。得られた値をReceiver Operator Characteristic (ROC)解析し、これらの指標がウマの第II度房室ブロックの診断に有用であるか否かを検討した。

## 3 結果

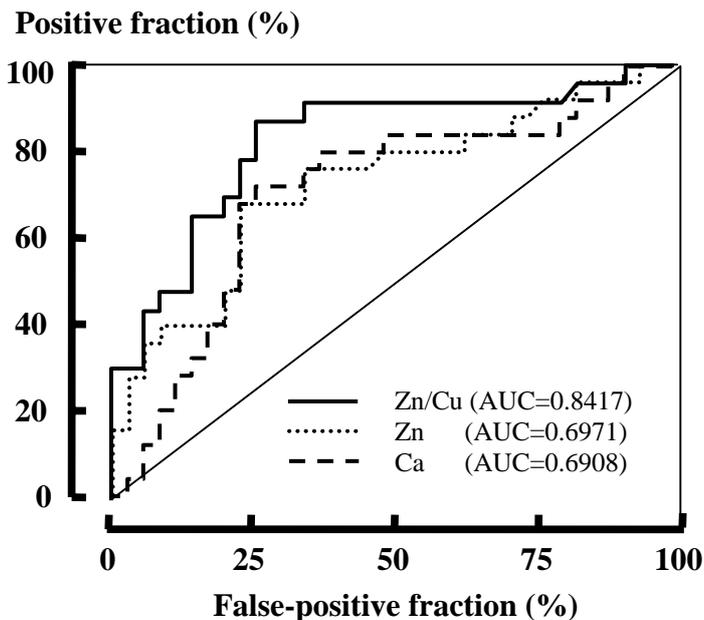
### 3.1 Regression analysis

重症群の鬣中Zn/Cu比は $27.3 \pm 2.5$ であり、健常群の $21.6 \pm 2.4$ および軽症群の $23.9 \pm 2.8$ よりも高かった( $p < 0.05$ )。また、鬣中Zn/Cu比はDVBsに対して正の相関を示した( $Zn/Cu = 22.79 + 0.01 \cdot DVBs$ ,  $p < 0.01$ ,  $r^2 = 0.485$ )。鬣中Ca濃度は、群間で差は認められなかったが、DVBsに対して正の相関を示した( $Ca = 1200.0 + 0.9 \cdot DVBs$ ,  $p < 0.05$ ,  $r^2 = 0.351$ )。

### 3.2 Receiver operating characteristic (ROC) analysis

鬣中Zn/Cu比は、AV群で $28.3 \pm 4.2$ であり、健常群の $23.6 \pm 2.5$ に比べて高かった( $p < 0.001$ )。鬣中Zn濃度は、AV群で $367 \pm 35 \mu\text{g/g}$ であり、健常群の $216 \pm 8 \mu\text{g/g}$ に比べて高かった( $p < 0.01$ )。また、鬣中Ca濃度は、AV群で $1614 \pm 297 \mu\text{g/g}$ であり、健常群の $1402 \pm 187 \mu\text{g/g}$ に比べて高かった( $p < 0.05$ )。鬣中Zn/Cu比、鬣中ZnおよびCa濃度のROC曲線下面積は、それぞれ0.8417( $p < 0.001$ )、0.6971( $p < 0.01$ )および0.6908( $p < 0.05$ )であった(図1)。

感度および特異度がそれぞれ70%以上で尤度比が最高値を示す鬣中Zn/Cu比値を第II度房室ブロック診断能に対するカットオフ値として算出した。その結果、鬣中Zn/Cu比のカットオフ値は26.0で、この値に対する尤度比は3.70、感度および特異度はそれぞれ72.0%および80.6%であった。



**Figure 1** Receiver operating characteristic (ROC) curves for mane hair Zn and Ca concentrations, and Zn/Cu ratio in detecting second-degree atrioventricular block in horse (n=62). The mean area under the ROC curve (AUC) is shown for each ROC curve. True-positive fraction = sensitivity (%); false-positive fraction = 100 - specificity (%).

## 4 考 察

本研究では、第 II 度房室ブロックウマの重症度と鬣中微量元素濃度との関係について評価した。ホルター心電図を用いて 6 時間の連続心電図記録を行い、第 II 度房室ブロックの重症度の指標である 1 時間あたりの DVBS を算出した。PIXE 法により鬣中 Ca, Cu, Mg および Zn 濃度を測定し、Zn/Cu 比を算出した。スピアマンの順位相関検定において、鬣中 Zn/Cu 比および Ca 濃度は、DVBS に対してそれぞれ有意な正の相関性を示した (Zn/Cu:  $p < 0.01$ ,  $r^2 = 0.485$ , Ca:  $p < 0.05$ ,  $r^2 = 0.351$ )。これらの結果は、房室ブロックウマ<sup>8)</sup>や不整脈患者<sup>4)</sup>で鬣または毛髪中 Zn および Ca 濃度が高値を示すという報告を裏付けるものであった。従って、鬣中 Zn/Cu 比、および Ca 濃度は第 II 度房室ブロックの診断に有用であり、特に鬣中 Zn/Cu 比の診断能が最も優れていることを明らかにした。

ROC 解析により、鬣中 Zn/Cu 比および Ca 濃度の ROC 下面積はそれぞれ 0.842 ( $p < 0.001$ ) および 0.697 ( $p < 0.05$ ) であった。感度および特異度がそれぞれ 70% 以上で尤度比が最高値を示す鬣中 Zn/Cu 比値を第 II 度房室ブロック診断能に対するカットオフ値として算出した。その結果、鬣中 Zn/Cu 比のカットオフ値は 26.0 で、この値に対する尤度比は 3.70、感度および特異度はそれぞれ 72.0% および 80.6% であった。以上、Zn/Cu 比は第 II 度房室ブロックの診断指標として有用であること、この値が 26.0 を超えるウマについては第 II 度房室ブロックと診断することができることを明らかにした。

人医療では Zn と循環器疾患の関連性について報告されている<sup>4,11)</sup>。心筋梗塞患者および家族では健常ボランティアと比べて毛髪中 Zn 濃度がそれぞれ 2 および 1.5 倍高値を示すことが報告されている<sup>12)</sup>。また、人では Zn の生物学的利用度が過度になると心筋梗塞に対して高リスクファクターを示す体脂肪沈着が高まることが知られている<sup>11,12)</sup>。循環器疾患患者において Zn の吸収が過度になるひとつの要因として、ストレスに依存または非依存的に Zn メタロチオネインを生成する遺伝子の過剰発現が生じることが考えられる<sup>12)</sup>。Cu を制限することで心筋細胞容量や筋原繊維および細胞小器官構造が変化し<sup>13,14)</sup>、心電図所見上では QT 間隔の延長および QRS 棘の増高が観察される<sup>14)</sup>。さらに、超音波画像診断所見において左室心室腔の著しい拡大、自由壁の肥厚および心筋断面積の増加が認められる<sup>14)</sup>。Medeiros ら<sup>13)</sup>は光学顕微鏡を用いて、Cu 欠乏食を食べさせたラットでは結合組織の減少による心臓弁の断裂を確認している。

従って、ウマの鬣中 Ca および Zn 濃度、Zn/Cu 比の測定は心臓疾患を早期に診断する上で有用であり、特に Zn/Cu 比は健常ウマに比べて臨床型不整脈である心房細動、非臨床型不整脈である第 II 度房室ブロックを呈したウマで高いこと、しかも第 II 度房室ブロックの重症度に伴って高いことが明らかになった。また、ROC 解析に基づいて、鬣中 Zn/Cu 比は第 II 度房室ブロックの診断指標として有用であり、この値が 26.0 を超えたウマでは真性陽性率が 72.0% であることが明らかになった。このように、鬣中 Zn/Cu 比の評価がウマの心臓疾患の早期診断または予見に有用であることが示唆され、この知見はウマの健康管理上有用であるものと期待された。

## References

- 1) G. F. Fregin, The equine electrocardiogram with standardized body and limb positions. *Cornell Vet.* 72, 304-324 (1982).
- 2) Y. Yamaya, K. Kubo and A. Amada, Relationship between atrio-ventricular conduction and hemodynamics during atrial pacing in horses. *J. Equine Sci.* 8, 35-38 (1997)
- 3) Yamaya, K. Kubo and A. Amada, Diurnal rhythms of R-R interval and R-R interval variability in the young thoroughbred horse. *J. Equine Sci.* 5, 83-86 (1994)
- 4) L. Lind, A. Hanni, A. Hvardner, T. Pollare, S. Ljunghall and H. Lithell, Influences of different antihypertensive treatments on indices of systemic mineral metabolism. *Am. J. Hypertens.* 7, 302-307 (1994).
- 5) H. F. Loyke, Effect of elements on blood pressure. *Biol. Trace. Elem. Res.* 58, 1-12 (1997)
- 6) S. Powell, P. Saltman, G. Uretzky and M. Chevion, The effect of zinc on reperfusion arrhythmias in the isolated

- perfused rat heart. *Free Radic. Biol. Med.* 8, 33-46 (1990)
- 7) Y. R. Tang, S. Q. Zhabg, Y. Xiong, Y. Zhao, H. Fu, H. P. Zhang and K. M. Xiong, Studies of five microelement contents in human serum, hair, and fingernails correlated with aged hypertension and coronary heart disease. *Bio. Trace Elem. Res.* 92, 97-103 (2003)
  - 8) K. Asano, K. Suzuki, M. Chiba, K. Sera, T. Matsumoto, R. Asano and T. Sakai, The correlation between twenty-five element contents in mane hair in riding horses and atrioventricular block. *Biol. Trace Elem. Res.* 108,127-136 (2005)
  - 9) K. Asano, K. Suzuki, M. Chiba, K. Sera, T. Matsumoto, R. Asano and T. Sakai, Influence of the coat color on the trace elemental status measured by particle-induced X-ray emission in horse hair. *Biol. Trace Elem. Res.* 103,169-176 (2005).
  - 10) K. Asano, K. Suzuki, M. Chiba, K. Sera, R. Asano and T. Sakai, Twenty-eight element concentrations in mane hair samples of adult riding horses determined by particle induced X-ray emission (PIXE). *Biol. Trace Elem. Res.* 107, 135-140 (2005).
  - 11) S. K. Taneja, M. Mahajan and P. Arya, Excess bioavailability of zinc may cause obesity in humans. *Experientia*, 52,31-33 (1996).
  - 12) A. Prentice, Does mild zinc deficiency contribute to poor growth performance? *Nutr. Rev.* 51, 268-270 (1993).
  - 13) D. M. Medeiros, Z. Liao and R. L. Hamlin, Copper deficiency in a genetically hypertensive cardiomyopathic rat:electrocardiogram, functional and ultrastructural aspects. *J. Nutr.* 121, 1026-34 (1991).
  - 14) L. J. Shiry, D. M. Medeiros, J. D. Bonagura and S. A. McCune, Heart murmurs, valvular regurgitation and electrical disturbances in copper-deficient genetically hypertensive, hypertrophic cardiomyopathic rats. *J. Am. Coll. Nutr.* 18, 51-60 (1999).

## **Relationship between hair elements and severity of atrioventricular block in horses**

K.Suzuki, K.Asano, <sup>\*1</sup>M.Chiba, <sup>\*2</sup>K.Sera, R.Asano and T.Sakai

Dep. Vet. Med., College of Bioresource Sciences, Nihon University  
1866 Kameino, Fujisawa, Kanagawa 252-8510, Japan

<sup>\*1</sup>International University of Health and Welfare  
2600-1 Kitakanemaru, Otawara, Tochigi 324-8501, Japan

<sup>\*2</sup>Cyclotron Research Center, Iwate Medical University  
348-58 Tomegamori, Takizawa, Iwate 020-0173, Japan

### **Abstract**

The aim of this study was to investigate the relationships between the mean concentrations of trace elements and the severity of second-degree atrioventricular (AV) block in mane hair of horses. Electrocardiographs (ECG) of horses were continually recorded for 6 hrs using a holter cardiac monitor to determine dropped ventricular beats (DVBs) which can be used as an indicator of the severity of AV block. Mane hair Ca, Cu, Mg and Zn concentrations were measured by the particle induced X-ray emission method. The Zn/Cu ratio and Ca concentration in mane hair were significantly and positively correlated with the hourly DVBs in horse with second-degree AV block ( $p < 0.01$ ,  $r^2 = 0.485$ , and  $p < 0.05$ ,  $r^2 = 0.351$ , respectively). Proposed diagnostic cutoff points for hair Ca concentration and Zn/Cu ratio based on ROC curves analysis in detecting second-degree AV block were set at 1536  $\mu\text{g/g}$  and 26.0, respectively. Those results with horse hair suggest that the evaluation of the Ca, Cu, Mg and Zn status in mane hair by this method is strongly related to the severity of second-degree AV block and might predict the susceptibility of an individual much before the development of the symptom.