

氏名（本（国）籍）	清水 純一郎（奈良県）
主指導教員名	帯広大学 教授 山田 一 孝
学位の種類	博士（獣医）
学位記番号	獣医博甲第314号
学位授与年月日	平成22年3月15日
学位授与の要件	学位規則第3条第1項該当
研究科及び専攻	連合獣医学研究科 獣医学専攻
研究指導を受けた大学	帯広畜産大学
学位論文題目	Computed Tomography(CT)および組織学的観察によるイヌの椎間板ヘルニアの診断・治療に関する研究
審査委員	主査 帯広畜産大学 教授 三宅 陽 一 副査 帯広畜産大学 教授 山田 一 孝 副査 岩手大学 教授 古濱 和 久 副査 東京農工大学 教授 岩崎 利 郎 副査 岐阜大学 教授 北川 均

論文の内容の要旨

イヌの椎間板ヘルニアは、中枢神経系である脊髄が直接傷害を受けるため症状の重篤度によっては緊急治療が必要な疾患である。そのため、迅速な診断が求められ、治療方針の決定に画像診断検査の果たす役割は大きい。画像診断としてはX線検査、CT検査、MRI検査が挙げられるが、今回は特にCT検査による椎間板ヘルニア診断に関して検討した。現在CT装置は一般的な検査手段の一つであるものの、CT検査による椎間板ヘルニア診断方法はいまだ確立されていないのが現状である。また、診断に続く治療においても、外科手術後に脊柱管内にどのような生体反応が生じ、保存治療中の逸脱椎間板物質縮小メカニズムについても、いまだ明らかになっていない。本研究は、椎間板ヘルニア診断のためのCT検査プロトコルを作成し、外科的および保存的治療下での脊柱管内の観察を実施した。また、画像による評価に加え、脊髄や椎間板物質に対する組織学的な観察も行い、椎間板ヘルニア治療下での脊柱管内の状況の変化について多角的に検討した。

研究の第一段階として、CT検査によるクモ膜下腔造影に最適な造影剤製剤について検討を行った。ヨード濃度および粘稠度の異なる3種類の造影剤製剤、イオヘキソール180 mgI/ml製剤、イオヘキソール240 mgI/ml製剤およびイオトロラン240 mgI/ml製剤を使用し、各造影剤製剤についてそれぞれビーグル3頭のクロスオーバー（のべ9頭）でクモ膜下腔造影を実施した。造影剤注入5、15、30、45および60分後にCT撮像を実施し、造影効果をCT値で比較したところ、造影効果は造影剤製剤のヨード濃度ではなく、造影剤製剤の拡散に影響をおよぼす粘稠度に依存していることが

確認された。そのため、CT 検査におけるクモ膜下腔造影にはヨード濃度が低くとも粘稠度が低いイオヘキソール 180 mgI/ml 製剤の使用が適切であることが明らかになった。

この結果を踏まえ、第二段階として、CT 検査におけるイオヘキソール 180 mgI/ml 製剤の使用による椎間板ヘルニア症例での診断精度について、椎間板ヘルニアを発症したミニチュアダックスフンド 11 頭を用いて検討した。クモ膜下腔造影の前後それぞれで CT 撮像を実施し、椎間板ヘルニア病変の検出の違いについて、また、検査後に手術を実施し CT 検査による診断と病変との整合性について検証した。その結果、11 頭中 6 頭 (55%) でクモ膜下腔造影前後の病変検出に違いが認められた。さらに、CT 検査でクモ膜下腔造影を併用しないと責任病変を検出できないばかりではなく、病変を過度に検出する危険性も示された。また、クモ膜下腔造影後の CT 検査で病変と診断されたすべての部位から逸脱椎間板物質が摘出され、CT 検査による診断と病変との整合性が確認された。このことから、CT 検査での椎間板ヘルニア診断にはクモ膜下腔造影が必要不可欠であることが明らかになった。さらに、臨床症例においてもイオヘキソール 180 mgI/ml 製剤の使用で診断可能であることが明らかになった。

今回標準化されたクモ膜下腔造影 CT 検査プロトコルを用い、外科手術後の脊髄の変化について検討した。ビーグル 3 頭を用い、片側椎弓切除術後の硬膜と周辺筋肉組織の癒着の影響について CT 検査および組織学的観察を実施したところ、硬膜の筋組織への癒着は自家遊離脂肪片を設置することで抑制が可能であり、自家遊離脂肪片の設置による脊髄への圧迫といった悪影響は生じないことも明らかとなった。さらに、大きさの異なる自家遊離脂肪片の比較により、癒着抑制には露出した硬膜面積の少なくとも 2 倍以上の自家遊離脂肪片の設置で十分であることが CT 検査および組織学的観察によって確認された。

最後に、保存的治療下での椎間板ヘルニアの変化について、椎間板ヘルニアを発症したビーグル 2 頭を用い、クモ膜下腔造影 CT 検査プロトコルによって 14 週にわたり経時的に観察した。その結果、2 頭ともに椎間板ヘルニアの自然縮小が確認された。そこで、この縮小メカニズムを解明するため、椎間板ヘルニアを発症したミニチュアダックスフンド 39 頭から採取した椎間板物質の病理組織学的検査および免疫組織化学的検査を実施した。その結果、39 検体中 23 検体でマクロファージをはじめとする炎症性細胞の浸潤および血管新生をはじめとする結合組織の増生が確認された。また、マクロファージの浸潤を強く認めた 1 検体に対し、透過型電子顕微鏡による観察を実施したところ、逸脱椎間板物質内に浸潤したマクロファージのファゴソームおよびファゴリソーム内部に椎間板物質が取り込まれていることが確認された。以上、椎間板ヘルニアの自然縮小はマクロファージの食食作用によって生じることが示唆された。

CT 検査による診断方法の標準化から治癒メカニズムの解明に至る一連の研究により、臨床現場で利用可能な検査プロトコルや治癒メカニズムが CT 画像および組織学的観察によって明らかとなった。さらには、本研究で明らかになった逸脱椎間板物質の自然縮小メカニズムは椎間板ヘルニアの新たな治療法開発において、有用な基礎データとなると考えられる。

審 査 結 果 の 要 旨

学位申請者である清水純一郎君は、犬の椎間板ヘルニアに関して、CT 検査による診断方法の標準化を行うとともに、外科および内科的治療における生体内の反応について、組織学的解析を加え、研究を進めてきた。その結果、以下の成績を得たことを踏まえ、審査した。

I. CT 検査による椎間板ヘルニアの診断方法の標準化を目的に、クモ膜下腔造影での至適造影剤製剤について検討した。その結果、クモ膜下腔の造影効果はヨード濃度よりもむしろ粘稠度に依存することについて示した。すなわち、クモ膜下腔造影には粘稠度の低い 180mgI/ml 製剤の使用が適切であることを明らかにした。

II. 180 mgI/ml 製剤の使用による椎間板ヘルニアの臨床例での診断精度について検討した。造影前後の CT 検査所見を比較したところ、約半数でクモ膜下腔造影前後の病変検出に違いが認められた。クモ膜下腔造影後の CT 検査で病変と診断されたすべての部位から逸脱椎間板物質が摘出され、CT 検査による診断と病変との整合性が確認された。このことから、CT 検査での椎間板ヘルニア診断にはクモ膜下腔造影が必要不可欠であることを示した。臨床症例においてもイオヘキソール 180 mgI/ml 製剤の使用が適切であることを明らかにした。

III. 標準化されたクモ膜下造影 CT 検査プロトコルを用い、外科手術後の脊髄の変化について検討した。片側椎弓切除術後の硬膜と筋肉組織の癒着は自家遊離脂肪片を設置することで抑制が可能であることが CT 検査および組織学的観察によって確認された。

IV. 保存的治療下での椎間板ヘルニアの変化について、椎間板ヘルニアを発症したビーグル 2 頭を用い、クモ膜下腔造影 CT 検査プロトコルによって 14 週にわたり経時的に観察したところ、椎間板ヘルニアの自然縮小が確認された。

V. 椎間板ヘルニアの縮小メカニズムを解明するため、椎間板物質の光学および電子顕微鏡での組織学的観察を実施したところ、逸脱椎間板物質内に浸潤したマクロファージのファゴソームおよびファゴリソーム内部に椎間板物質が取り込まれていることを確認した。以上、椎間板ヘルニアの自然縮小はマクロファージの貪食作用によって生じることが示唆された。

CT 検査による診断方法の標準化から治癒メカニズムの解明に至る一連の研究により、臨床現場で利用可能な検査プロトコルや治癒メカニズムを CT 画像および組織学的観察によって明らかにした。さらには、本研究で明らかになった逸脱椎間板物質の自然縮小メカニズムは椎間板ヘルニアの新たな治療法開発において、有用な基礎データとなることから、学術的意義は高い。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として充分価値があると認めた。

基礎となる学術論文

1) 題 目 : The difference of contrast effects of myelography in normal dogs: comparison of iohexol (180 mgI/ml), iohexol (240 mgI/ml) and iotrolan (240 mgI/ml)

著 者 名 : Shimizu, J., Yamada, K., Kishimoto, M., Iwasaki, T. and Miyake, Y.

学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science

巻・号・頁・発行年 : 70 (7) : 659-663, 2008

2) 題 目 : Comparison of the diagnosis of intervertebral disc herniation in dogs by CT before and after contrast enhancement of the subarachnoid space

著 者 名 : Shimizu, J., Yamada, K., Mochida, K., Kato, T., Muroya, N., Teratani, Y., Kishimoto, M., Lee, K., Iwasaki, T. and Miyake, Y.

学術雑誌名 : The Veterinary Record

巻・号・頁・発行年 : 165 (7) : 200-202, 2009

- 3) 題 目 : Effect of an autogenous free fat graft on hemilaminectomy defects in dogs
 著 者 名 : Shimizu, J., Koga, M., Kishimoto, M., Lee, K., Iwasaki, T., Miyake, Y. and Yamada, K.
 学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science
 卷・号・頁・発行年 : 71 (10) : 1291-1294, 2009
- 4) 題 目 : Inflammatory reaction in the herniated degenerative disc materials in miniature dachshunds
 著 者 名 : Shimizu, J., Mochida, K., Kobayashi, Y., Kitamura, M., Tanaka, H., Kishimoto, M., Lee, K., Iwasaki, T., Miyake, Y., Nakayama, M. and Yamada, K.
 学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science
 卷・号・頁・発行年 : 72 (1) : 81-84, 2010

既発表学術論文

- 1) 題 目 : 腫瘍の犬 3 症例に対するハタケシメジ抽出物の使用経験-リンパ球数の変化について-
 著 者 名 : 山田一孝, 喜澤香織, 丹羽理恵, 櫻井達也, 岸本海織, 清水純一郎, 室谷直義, 池水智博, 小嶋靖
 学術雑誌名 : 動物臨床医学
 卷・号・頁・発行年 : 16 (4) : 129-132, 2007
- 2) 題 目 : Effect of contrast media formulation on computed tomography angiographic contrast enhancement
 著 者 名 : Kishimoto, M., Yamada, K., Tsuneda, R., Shimizu, J., Iwasaki, T. and Miyake, Y.
 学術雑誌名 : Veterinary Radiology & Ultrasound
 卷・号・頁・発行年 : 49 (3) : 233-237, 2008
- 3) 題 目 : Brain abscess in a Japanese black calf: utility of computed tomography (CT)
 著 者 名 : El-Khodery, S., Yamada, K., Aoki, D., Kamio, K., Kishimoto, M., Shimizu, J., Kobayashi, Y., Ishii, M., Inokuma, H., Yamauchi, S. and Matsui, T.
 学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science
 卷・号・頁・発行年 : 70 (7) : 727-730, 2008
- 4) 題 目 : Computed tomography (CT) observation of pulmonary emboli caused by long-term administration of ivermectin in dogs experimentally infected with heartworms
 著 者 名 : Takahashi, A., Yamada, K., Kishimoto, M., Shimizu, J. and Maeda, R.
 学術雑誌名 : Veterinary Parasitology
 卷・号・頁・発行年 : 155 (3-4) : 242-248, 2008
- 5) 題 目 : Analysis of blood flow in a third ventricular ependymoma and an olfactory bulb meningioma by using perfusion computed tomography
 著 者 名 : Kishimoto, M., Yamada, K., Seok, J.S., Shimizu, J., Kobayashi, Y., Akiba, Y., Morishita, Y., Iwasa, A., Iwasaki, T. and Miyake, Y.

学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science
巻・号・頁・発行年 : 70 (9) : 981-983, 2008

- 6) 題 目 : A comparison between injection speed and iodine delivery rate in contrast-enhanced computed tomography (CT) for normal beagles
著 者 名 : Tateishi, K., Kishimoto, M., Shimizu, J. and Yamada, K.
学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science
巻・号・頁・発行年 : 70 (10) : 1027-1030, 2008
- 7) 題 目 : ハタケシメジ抽出物によるカルボプラチン投与後の白血球数減少抑制作用についての基礎的研究
著 者 名 : 清水純一郎, 持田恭平, 岸本海織, 李奇子, 池水智博, 室谷直義, 小嶋靖, 山田一孝
学術雑誌名 : 動物臨床医学
巻・号・頁・発行年 : 17 (3) : 87-89, 2008
- 8) 題 目 : Quantitative evaluation of hip joint laxity in 22 Border Collies using computed tomography
著 者 名 : Kishimoto, M., Yamada, K., Pae, S.H., Muroya, N., Watarai, H., Anzai, H., Shimizu, J., Iwasaki, T., Miyake, Y. and Wisner, E.R.
学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science
巻・号・頁・発行年 : 71 (2) : 247-250, 2009
- 9) 題 目 : Liver lobe torsion in a Shih-tzu dog
著 者 名 : Lee, K.J., Yamada, K., Hirokawa, H., Shimizu, J., Kishimoto, M., Iwasaki, T. and Miyake, Y.
学術雑誌名 : The Journal of Small Animal Practice
巻・号・頁・発行年 : 50 (3) : 157, 2009
- 10) 題 目 : Providing an intelligible explanation to pet owners by using three-dimensional CT images: use of clinical imaging for better informed consent
著 者 名 : Kishimoto, M., Yamada, K., Shimizu, J., Lee, K.J., Watarai, H., Hassan, H.Y., Iwasaki, T. and Miyake, Y.
学術雑誌名 : Veterinary Research Communications
巻・号・頁・発行年 : 33 (4) : 387-393, 2009
- 11) 題 目 : Imaging diagnosis-porencephaly in a calf
著 者 名 : Lee, K.J., Yamada, K., Tsuneda, R., Kishimoto, M., Shimizu, J., Murakami, T., Kobayashi, Y., Furuoka, H., Matsui, T., Sasaki, N., Ishii, M., Inokuma, H., Miyahara, K., Iwasaki, T. and Miyake, Y.
学術雑誌名 : Veterinary Radiology & Ultrasound
巻・号・頁・発行年 : 50 (3) : 301-303, 2009
- 12) 題 目 : Significance of imaging features of alveolar echinococcosis in studies on nonhuman primates
著 者 名 : Kishimoto, M., Yamada, K., Yamano, K., Kobayashi, N., Fujimoto, S., Shimizu, J., Lee, K.J., Iwasaki, T. and Miyake, Y.
学術雑誌名 : The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene
巻・号・頁・発行年 : 81 (3) : 540-544, 2009

- 13) 題 目 : Clinical experience of using multidetector-row CT for the diagnosis of disorders in cattle
著 者 名 : Lee, K., Yamada, K., Tsuneda, R., Kishimoto, M., Shimizu, J., Kobayashi, Y., Furuoka, H., Matsui, T., Sasaki, N., Ishii, M., Inokuma, H., Iwasaki, T. and Miyake, Y.
学術雑誌名 : The Veterinary Record
卷・号・頁・発行年 : 165 (19) : 559-562, 2009
- 14) 題 目 : Measurement of canine pancreatic perfusion using dynamic computed tomography: Influence of input-output vessels on deconvolution and maximum slope methods
著 者 名 : Kishimoto, M., Tsuji, Y., Katabami, N., Shimizu, J., Lee, K.J., Iwasaki, T., Miyake, Y.I., Yazumi, S., Chiba, T. and Yamada, K.
学術雑誌名 : European Journal of Radiology
卷・号・頁・発行年 : in press
- 15) 題 目 : Influence of osmolarity of contrast medium and saline flush on computed tomography angiography: Comparison of monomeric and dimeric iodinated contrast media with different iodine concentrations at an identical iodine delivery rate
著 者 名 : Kishimoto, M., Doi, S., Shimizu, J., Lee, K.J., Iwasaki, T., Miyake, Y.I. and Yamada, K.
学術雑誌名 : European Journal of Radiology
卷・号・頁・発行年 : in press
- 16) 題 目 : Computed tomographic evaluation of cerebral ventricular size in clinically normal calves
著 者 名 : Lee, K., Lee, Y., Choi, H., Kishimoto, M., Shimizu, J., Iwasaki, T., Miyake, Y. and Yamada, K.
学術雑誌名 : American Journal of Veterinary Research
卷・号・頁・発行年 : in press
- 17) 題 目 : The effect of a saline chaser for contrast enhancement of computed tomographic angiography in cattle
著 者 名 : Lee, K.J., Kishimoto, M., Shimizu, J., Iwasaki, T., Miyake, Y. and Yamada, K.
学術雑誌名 : The Veterinary Record
卷・号・頁・発行年 : in press
- 18) 題 目 : Usefulness of a saline chaser in reducing the dose of contrast material for dynamic computed tomography in cattle
著 者 名 : Lee, K., Ikeo, S., Kishimoto, M., Shimizu, J., Iwasaki, T., Miyake, Y. and Yamada, K.
学術雑誌名 : The Veterinary Record
卷・号・頁・発行年 : in press

