

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 9 日現在

機関番号：32701

研究種目：基盤研究（C）一般

研究期間：2009～2011

課題番号：21580397

研究課題名（和文） 犬の体腔におけるリンパ流路に関する臨床解剖学的研究

研究課題名（英文）Clinical anatomy on the lymphatic drainage routes in canine body cavity.

研究代表者

浅利 将男（ ASARI MASAO ）

麻布大学 獣医学部 教授

研究者番号：90120948

研究成果の概要（和文）：本研究は体腔内臓器あるいは体表下臓器のリンパ流路の解明に焦点を絞り、それらを明らかにすることを目的にしている。平成 21 年度ではリンパ排導路の追跡とその可視化のための技術的な検討をした。調査した部位は口腔、眼窩、唾液腺、四肢末端、肛門・会陰部そして腹腔臓器で、造影剤を皮下あるいは臓器に直接投与し CT 像を撮影する事で、明瞭なリンパ流路が得られるよう、より簡単なリンパ管造影法を検討した。平成 22 年度ではその結果を生かして、腫瘍のリンパ行性転移の多い、体表下の乳腺を対象にまた平成 23 年度では肝臓および胃へ臨床実験的に Indian Ink あるいは血管造影剤を投与しそれが最初に到達するリンパ節群（sentinel lymph node）を解剖標本上で検討した。実験はビーグル犬を用いた。その結果、CT 撮影ではイオパミドール 370、0.2ml/kg の投与において体表下各部位からの投与で明瞭にリンパ管や所属リンパ節が描出された。とくに直腸粘膜からの投与では胸管が明瞭に、また乳腺からの投与では乳腺の位置によってさまざまなリンパ流路が確認された。これらの個体では CT 撮影のあとそのデータを 3D 再構築する事により、隣接構造との相互位置関係を保ちながら立体的にリンパ管が観察された。これらの観察で、犬では乳腺からのリンパ流路には個体差が大きいことも明らかになった。腹腔各臓器からのリンパ排導路の検討では各臓器特有のリンパ流路が観察され、各個体においてそれらはほぼ共通の経路を示した。肝臓および胃各部位からのリンパ流路は一旦左右の肝リンパ節に集まり、腸間膜リンパ節を経て乳び槽に向かっていた。今回の研究目的である sentinel lymph node などの分布については、認められるもの、そうでないものと不定であり、詳細については現在も観察を続けている。乳腺腫瘍はリンパ行性であることが知られているが、個体差の大きい乳腺からのリンパ流路をこのような簡便な方法で造影し、CT 像で描出することで、転移経路上にある所属リンパ節を正確に確認でき、適切なリンパ節郭清と予後判断が可能となることが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：The lymphatic drainage pattern of normal canine organs (oral cavity organs, salivary glands, legs, anus and perineal area) in or/ on the body cavity including mammary glands was investigated in an anatomical study using Indian ink, and the usefulness of three-dimensional computed tomographic analysis (3D-CT) with contrast media for visualization of sentinel lymph nodes was examined in clinical

setting. The CT analysis showed that the lymphatic pathways draining directly from the injection sites of small dose of contrast medium were quickly and sufficiently enhanced in the animals without any significant late adverse effects. In particular, topographic 3D-CT lymphography provided detailed anatomical information on individual lymphatic channels and nodes without overlaps with the surrounding structures. Thus, visualization of lymph drainage using simple, noninvasive 3D-CT is useful for easy identification of the lymph drainage route and is necessary not only to determine the most appropriate surgical treatment of mammary tumors, but also to determine an accurate postsurgical prognosis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,600,000	483,000	2,083,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,083,000	4,683,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：臨床獣医学

キーワード：リンパ流、腹腔、骨盤腔、所属リンパ節、乳腺

1. 研究開始当初の背景

近年、獣医診療技術の向上とともに動物の高齢化が進み、小動物臨床の現場においても腫瘍診断、腫瘍治療の機会が増加している。さまざまな腫瘍臨床の中でも、臓器あるいは体腔内に発生した腫瘍はその位置から、しばしば発見が遅れ、治療時には腫瘍細胞は血行性、リンパ行性ないし腹膜播種性に転移が進んでいる場合がある。本研究者は今まで、腹膜腔からのリンパ流（排導路）を調べる目的で、ラットおよび犬を用いて、腹膜腔内にIndia Inkあるいは微粒子ラテックス（以下マーカー）を投与して、それらが腹膜腔からどのような経路を経て排導されるかについて精査してきた（ラット：Anatomia Histologia Embryologia 2007、犬：Jpn. J. Vet. Sci. 2006）。この研究では犬のような四足動物の場合、腹膜腔からのリンパの流れは、まず初めに横隔膜腹膜を介して横隔膜筋層間毛細リンパ管に吸収され、その後、胸腔底部から流れ始める。その後、時間の経過とともにさまざまな高さの流れが加わり、最終的には、恐らく、

大網腹膜を介した吸収機構が働き、そこから吸収されたリンパは乳粥槽を経て胸腔の最背側部を走る胸管に伝わるようになった。このような興味ある結果を背景として、本研究はより臨床解剖学的な観点から体腔内に発生する腫瘍のリンパ行性転移の解明に焦点を絞り、体腔（胸腔および腹腔）あるいは胸腔内および腹腔内臓器内のリンパ流路について詳細に調べ、その全貌解明をめざすことを企画した。

2. 研究の目的

臨床医学では腫瘍のリンパ行性転移に関する知見には多くの蓄積があり、それは「日本癌治療学会リンパ節規約」の中で癌と関連リンパ節の郭清など実際のがん治療で対象とする領域リンパ節とその範囲について詳細に検討され整理されており、日常の臨床に応用されている。小動物臨床での、この胸腔および腹腔・骨盤腔にある体腔内臓器からの主要リンパ節への還流路の解明は大変遅れており、これが進展すれば、胸腔および腹腔臓

器に発生した腫瘍とその関連リンパ節との関係が解明され、つまり癌のリンパ行性の転移経路が予測でき、摘出手術の成功率の向上につながることは明らかである。この研究計画は、実はこうした意味で小動物臨床分野で広く応用できる「犬版リンパ節規約」の制作を目指したものであり、小動物臨床医からの要望の多いテーマでもある。獣医学におけるリンパ管あるいはリンパ系研究者の数は基礎および臨床を含めても非常に少ない。一方、以上述べてきたようにこの分野での臨床的にまだ解明されなければならない問題は非常に多い。本研究の本研究代表者も獣医領域でのリンパ系研究に着手した日はまだ浅いが、研究を進めれば進めるほど、その情報の少なさに直面し、この分野が医学研究との大きな開きのある分野であると実感している。こうした意味で本研究は体腔内臓器あるいは体表下臓器のリンパ流路の解明に焦点を絞り、それらを明らかにすることを目的にしている。

3. 研究の方法

実験用動物はビーグル犬を使用した。いずれも麻布大学動物実験指針に従い、麻酔下で開腹し、胃、肝臓、精巣、肛門、唾液腺および四肢等の組織中にIndia ink、微粒子活性炭を穿刺注入し、その後、回復させた後、一定時間を経た時点でリンパ管、所属リンパ節への転移経路を観察し記録した。生体でリンパ管造影をしたあとでまた非侵襲的にCTにより画像診断装置を用いて0.5-1mmのThin Section撮影を行い、3Dイメージ再構築ソフトを用いて、得られたCT画像の3D構築を行い、体腔内でのリンパ節およびリンパ管の立体的な描写を試みた。またこの結果については今後マップを作成し、それぞれのリンパ節について整理していくことになる。研究代表者は腹腔内および胸腔内のリンパ節の名称や位置に関しての知見を蓄積してきており、リンパ管の検索、トレースおよびリンパ節の同定に熟達している

4. 研究成果

平成 21 年度研究では、直腸粘膜下への墨汁投与による解剖の結果、直腸粘膜下には横隔膜内に見られるようなリンパ網が発達している事が明らかになり、このリンパ網からリンパ液は内腸骨リンパ節へと集束し乳ビ槽を経て胸管へと注ぐことがわかった。

これらの結果をふまえ直腸粘膜下、膈粘膜下および肛門周囲組織内に水溶性血管造影剤を投与することで、明瞭な胸管のCT、X線造影像が得られた。

今回行った実験では、手技的に経験を要する従来の方法とは異なり、肛門に続く直腸粘膜下、外陰部に続く膈粘膜下、あるいは肛門周囲組織内というアプローチの容易な部位から臨床上、日常的に用いられる血管造影剤を注入し、十分なマッサージを行った後に、CT撮影、X線撮影を行うことで、造影剤がリンパ網により取り込まれ、腰下リンパ節群から前方の乳ビ槽、そして胸管まで明瞭に描出されることが分かった。またCTを用いることで、胸管自身の立体的な形や分岐する胸管像、胸椎や肋骨など胸管周囲構造との相互位置関係を示し、その立体的な走行を明らかにすることも可能にした。

また、ビーグル犬における19頭の胸管を詳細に観察したところ、半数の個体で複雑に分岐する胸管や大動脈腹側を走行する胸管、横隔膜付近で分岐する胸管がみられ、胸管結紮術の失敗原因としてこれら複雑な胸管をすべて縛ることができていないことが、その要因として推察された。また、乳ビ槽の位置は一定ではなく、乳ビ槽が頭側へ変位し胸腔内に見られることも分かった。このことは、胸管結紮術と併用して行われる乳ビ槽剥離術に対しての有益な情報になり得ると考える。

また、末梢からのリンパ管造影においては、鼻粘膜や前肢・後肢パッドなどの粘膜下や皮下組織内へ水溶性血管造影剤を投与し十分なマッサージを行うことで、表層からの末梢リンパ管造影が簡便かつ非侵襲的に行えることが示唆された。

現在、人の医療では、リンパ管造影により悪性腫瘍からリンパ流に乗って最初に到達するリンパ節（センチネルリンパ節）を同定し、センチネルリンパ節生検を行うことで腫瘍の転移の有無を知り、転移がない場合においては、リンパ節郭清を省略することで、リンパ節郭清における後遺症を軽減する方法が行われている。

本研究により獣医療において日常の診療では行うことが難しいとされていた末梢リンパ管造影が簡単に行えることを明らかにした。このことは、人の医療で行われている様な、悪性腫瘍における所属リンパ節の同定、センチネルリンパ節生検による転移有無の確認への応用が獣医臨床でも可能であることを示唆している。

また今回、末梢のリンパ管造影に成功したが、今後さらに腹腔臓器からのリンパ管造影を行うことで、近年の獣医学において最も注目されている腫瘍学において、悪性腫瘍の転移の早期発見、治療においても有用な情報を得られるものと思われた。

平成 22 年度研究では、墨汁投与による基礎実験にて、各乳腺からの所属リンパ節に関する基本的な知見が得られ、個体によるリン

パ流路の違いについての認識が得られた。またCT及びX線撮影によるリンパ管造影には、造影剤として非イオン性水溶性ヨード造影剤のイオパミドールが使用可能で、CTでの造影には濃度の高い造影剤が、X線での造影には濃度の低い造影剤が有効であった。

今回もリンパ管造影を行う際には、造影剤を十分にリンパ管内へ進入させるため、投与後にマッサージを行う必要があることが明らかとなった。CTでのリンパ流路造影では、造影剤投与直後よりマッサージを行い、5分後に撮影した場合に最も明瞭に造影されており、その後時間経過によって造影効果の減弱がみられた。投与量は、CTでは0.2ml/kgでリンパ流路造影が可能で、X線では0.2ml/kgで体表の投与部位から所属リンパ節までの造影が可能、0.4ml/kgで体内深部までの造影が可能であった。これらの観察で、犬では乳腺各部でリンパ流路が異なり、第1および第2乳腺からの排導は同側の腋窩リンパ節に、しかし一部は胸腔内に入って胸骨リンパ管を前進する例も見られた。また第3乳腺からは前方の同側の腋窩リンパ節および後方の同側浅鼠径リンパ節の2方向に行くもの、あるいは後方の同側浅鼠径リンパ節のみに行くものがあつた。第4乳腺および第5乳腺からは同側浅鼠径リンパ節に行くものが多かったが、一部では反対側の同リンパ節に向かうものも見られ、乳腺からのリンパ流路には個体差も大きいことがわかつた。

乳腺からのリンパ流路は個体によって大きな差が認められ、また一個体中にも左右で違いがみられたため、個々のリンパ流路を簡便に描出することは臨床的意義が高いものとする。本研究では乳腺からのリンパ流路を対象に実験を行ったが、本手法を用いることにより、体表各部位からのリンパ流路について簡便で安全な方法での造影が可能になるものと考えた。

平成23年度研究では、胃各部からのリンパ流路を詳細に観察した結果、胃の噴門部、胃体部、幽門部のいずれの部位に墨汁を投与した場合も墨汁は必ず左右の肝リンパ節に集束し、そこから背側に腹腔動脈と並走する輸入リンパ管が走り、最終的には乳ビ槽へと合流することが明らかとなった。しかし、各投与部位から肝リンパ節に至るまでの経路は投与部位によって大きな違いを示した。またいずれの個体においても、墨汁注射部位から大きく離れた部位にあるリンパ節およびリンパ管への墨汁流入は観察されなかつたため(例：噴門部に墨汁を注射した場合、幽門部付近のリンパ節および周辺のリンパ管には墨汁の流入がみられない)、それぞれのリンパ節はある程度限定された領域を支配しており、そのリンパ節に到達するまでの経路も決まっているものと思われる。

次に肝臓からのリンパ流路の観察の結果、胃の場合と同様に全ての個体において左右肝リンパ節、およびそこからの輸出リンパ管に墨汁が流入しているのが観察された。また、肝臓実質内を通り、肝門から胆管と並走し肝実質外に出て、肝リンパ節へ流入するリンパ管も2個体で観察された。墨汁の投与量によるものと考えられる差異は認められなかつた。

また、肝臓をはじめ腹腔内、胸腔内の諸臓器表面には漿膜下リンパ管が網目状に存在する。これらは肝臓の場合、臓器表面に起こり、実質内に入り込んでいくものや、直接肝リンパ節や大動脈腰リンパ節へ流入するものがあるが、今回の実験では実質深部に墨汁を投与したため、これらは観察されなかつたと考えられる。

これらの実験により、胃および肝臓からのリンパ液は左右の肝リンパ節を経て乳ビ槽へと流入することが明らかになった。肝リンパ節への輸入リンパ管は胃、肝臓、十二指腸、膵臓から起こるとされており、今回の実験の結果はこのことを証明していた。また、各腹腔臓器から肝リンパ節までの詳細な経路や、通過するリンパ節は、ヒトの医学領域のように、詳細には明らかになっていない。本実験では肝リンパ節に到達する前に、脾左葉と胃の間にあるリンパ節、角切痕部のリンパ節、脾臓付近のリンパ節、幽門部付近のリンパ節、小湾部胃壁のリンパ節など、周囲の血管などの構造からはその名称を特定することが困難なリンパ節が多く観察され、これらのリンパ節がセンチネルリンパ節の役割を持っていると考えられる。しかし、リンパ節の存在は個体差が大きいこと、さらに微小なリンパ節が存在する可能性がある、などの理由から今後、個体数を増やし、墨汁投与部位をさらに細かく定めたいうえで実験をおこなうことが必要であるとする。そうすることで、それぞれのリンパ節の支配領域や、センチネルリンパ節の分布の特定ができれば、悪性腫瘍におけるリンパ節郭清の省略や転移の早期発見などに有益な情報が得られるものと期待できる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計2件)

- ① Variation and visualization of the lymphatic drainage routes in normal canine mammary glands. Takuo Shida, Takeshi Ishikawa, Ken Hachinota, Yuhtaro Yamane, Kenji Ando, Keiji

Kamijyou, Shin-ji Shibata, Masao Asari (In English) 日本獣医ガン学会誌 印刷中

- ② Computed tomography and radiographic lymphography of the thoracic duct by subcutaneous or submucosal injection. Kenji Ando, Keiji Kamijyou, Ken Hachinota, Shin-ji Shibata, Masao Asari J. Vet. Med. Sci. 74(1) 135-140, 2012

[学会発表] (計4件)

- ① 血管造影剤の組織内投与による3D-CTリンパグラフィの検討
第79回獣医麻酔外科学会/第91回日本獣医循環器学会 (札幌市) 2009. 12. 19-20
安藤健二、上條圭司、八野田健、柴田真治、早川敏之、浅利昌男
- ② 血管造影剤の組織内投与における3D-CTリンパグラフィの検討とIndian Ink投与によるリンパ流路解剖の比較
第149回日本獣医学会学術集会 (府中市) 2010. 3. 26-29
安藤健二、上條圭司、八野田健、柴田真治、早川敏之、高村宗俊、浅利昌男
- ③ CT及びX線造影像による犬の乳腺からのリンパ流路
第85回麻布獣医学会 (相模原市) 2010. 8. 28
八野田健、安藤健二、上條圭司、高村宗俊、浅利昌男、菅沼常德
- ④ 血管造影剤の粘膜下・皮下投与によるリ

ンパグラフィの検討

日本獣医師会小動物獣医学会年次大会 (岐阜市) 2012. 2. 12-13
柴田真治、安藤健二、八野田健、上條圭司、浅利昌男

[図書] (計0件)

[産業財産権]
○出願状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織
(1) 研究代表者
浅利 将男 (ASARI MASAO)
麻布大学・獣医学部獣医学科・教授
研究者番号：90120948

(2) 研究分担者 ()

研究者番号：

(3) 連携研究者 ()

研究者番号：