

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 26 日現在

機関番号：10101

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2012～2013

課題番号：24880004

研究課題名(和文) 犬における造影超音波検査を用いた糸球体濾過率低下の早期診断

研究課題名(英文) Evaluation of clinical usefulness of contrast-enhanced ultrasonography as an early diagnostic method to detect renal dysfunction in dogs

研究代表者

森下 啓太郎 (Morishita, Keitaro)

北海道大学・(連合)獣医学研究科・助教

研究者番号：30637046

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円、(間接経費) 660,000円

研究成果の概要(和文)：慢性腎疾患(CKD)はイヌやネコで多く認められる。しかし現在の腎機能検査は、病気が進行して初めて異常値を示すため、より早期に腎臓へのダメージを知る検査が必要である。本研究では、造影超音波検査(CEUS)による腎血流量の評価がイヌのCKD診断に応用できるか検討した。

最初に健康犬6頭を用いてCEUSの方法を確立し、正常値を求めた。次にCKDの犬15頭に対しCEUSを実施した。CKDでは、腎機能障害が重度になるとCEUSによる造影増強効果の減弱が認められた。しかし腎障害が軽度の場合、健康犬のCEUS所見と比べ明かな変化は観察されなかった。今後は本検査が腎疾患の進行予測に利用できないか検討したい。

研究成果の概要(英文)：Chronic kidney disease (CKD) is one of common disease in dogs and cats. However, current available renal functional tests have poor diagnostic sensitivity, so there is a need to establish a non-invasive method to predict renal damage earlier. The purpose of this study was to determine the feasibility using quantitative contrast-enhanced ultrasonography (CEUS) to detect changes in renal blood flow related to renal dysfunction.

We firstly characterized the image enhancement of the normal canine kidney using 6 healthy dogs, and secondly we investigated the feasibility of CEUS in dogs with CKD. Differences in perfusion parameters were present between the dogs with advanced CKD and healthy dogs, whereas no perfusion changes were seen in dogs with early stage of CKD.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：畜産学・獣医学 臨床獣医学

キーワード：造影超音波検査 ソナゾイド 慢性腎疾患

1. 研究開始当初の背景

慢性腎疾患 (CKD) は、イヌやネコで多く認められる病気である。ほとんどの症例は長期に及ぶ潜在的な要因によって徐々に糸球体濾過率 (GFR) が低下していくが、現在小動物臨床の現場でスクリーニング検査として利用されている血中の血液尿素窒素 (BUN)、クレアチニン (Cre) はネフロンの 75% が機能しなくなるまで上昇しないことから、初期の腎疾患の診断には適さない。一方で投与した診断薬のクリアランスから GFR を算出する方法は、より鋭敏ではあるが手技の煩雑さから日常診療への利用は限定的である。

2. 研究の目的

我々は、造影超音波検査 (CEUS) による腎臓の微小循環評価に着目した。ヒトでは慢性的な腎虚血は CKD の主要な増悪因子であることがわかっており、CKD の進行とともに腎実質の造影増強効果の減弱が報告されている。本研究では、腎臓の血流障害を検出する手法として、また GFR の低下を検出するスクリーニング検査として腎臓 CEUS が応用可能か検討することを目的とした。この検査法はイヌに対し無麻酔で実施可能であり、なおかつ結果が迅速に得られる点でこれまでの手法に比べ優れている。

3. 研究の方法

(1) 健常犬における腎臓 CEUS の評価方法の確立および再現性の評価

臨床検査で健康と判断されたビーグル犬 6 頭 (9 ヶ月-3 歳齢、9.2-12.4 kg、雄 2 頭、雌 4 頭) を用いた。CEUS は供試犬を 12 時間の絶食後、プロポフォール[®]の持続点滴麻酔下で実施した。超音波診断装置は TOSHIBA Aplio[™] XG を使用し、5-11MHz リニア型プローブを用いて実施した。供試犬を仰臥位で保定し左腎臓の長軸断面像を描出後、超音波

造影剤ソナゾイド[®] 0.01 ml/kg を静脈内投与し、動画を 2 分間ハードディスクに保存した。画像解析ソフト image J を用いて皮質、髓質それぞれに関心領域 (ROI) を設定し、エコー輝度の経時変化を計測し time-intensity curve (TIC) を作成した。得られた TIC から造影開始時間 (SP)、最大エコー輝度 (PI)、最高点到達時間 (TTP)、減衰率 (WR)、曲線下面積 (AUC) を求めた (図 1)。上記の検査を同一個体で計 3 回実施し、各測定項目の平均値、標準偏差 (SD)、日差変動の変動係数 (CV) を算出した。統計処理にはコンピュータ・ソフトウェア (JMP[®] pro 10) を用いた。

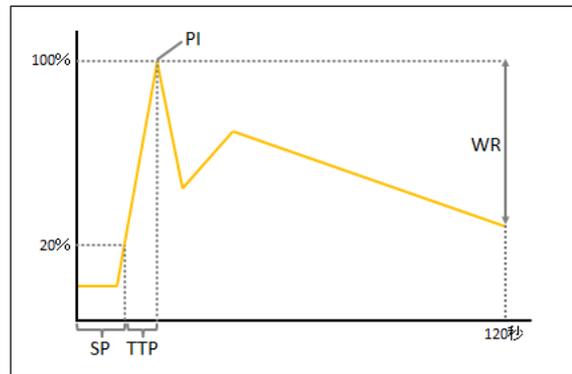


図 1. TIC 上に設定した測定項目

(2) 腎疾患犬における腎臓 CEUS

本学附属動物病院に来院し、臨床検査で CKD と判断された症例犬を対象とした。対象犬は IRIS (International Renal Interest Society) の慢性腎疾患ステージ分類に従い、血中 Cre 値に応じて Stage1: Cre <1.4 mg/dl、Stage2: Cre 1.4-2.0 mg/dl、Stage3: Cre 2.1-5.0 mg/dl、Stage4: Cre >5.0 mg/dl に分類した。腎臓 CEUS は無麻酔下で用手による保定を行い、健常犬と同様の方法で実施した。

4. 研究成果

(1) 健常犬における腎臓 CEUS の評価方法の確立および再現性の評価

皮質

皮質の各測定項目の結果を表 1 に示した。各測定項目の CV は 7.2-26.6%であり、ある程度の検査間誤差を認めた。これらの中で AUC、PI、WR の CV は比較的良かった。

皮質			
	平均	SD	CV
AUC	5525.7	952.0	8.1
PI	117.8	11.0	11.9
SP	3.3	1.1	17.3
TTP	2.2	0.7	26.6
WR (%)	75.0	7.5	7.2

表 1. 健常犬腎皮質の各測定項目

髓質

髓質の各測定項目の結果を表 2 に示した。皮質に比べ血流量の指標である PI、AUC は低値を示した。これは皮質に到達した血流のうち 10%が髓質へ灌流し、残り 90%は腎静脈から大循環へと還ることによると考えられた。

各測定項目の CV は 11.8-28.4%であり、皮質の CV に比べ全体的に高値となった。これは皮質が体表直下にあり安定した描出が容易であるのに対し、髓質はやや深部にあり同一断面の保持が難しいことが要因の 1 つと考えられた。また髓質は解剖学的に髓質外層外帯、髓質外層内帯および髓質内層に分けられ、それぞれ糸球体から供給される血流量が異なる。本研究では ROI の位置を髓質内層に合わせたが、検査毎の描出断面によって ROI に髓質外層が含まれ、検査間誤差が大きくなっていた可能性は否定できない。

髓質			
	平均	SD	CV
AUC	2462.2	640.0	21.5
PI	76.7	16.4	18.1
SP	7.3	2.2	28.4
TTP	4.2	1.5	27.7
WR (%)	84.7	6.4	11.8

表 2. 健常犬腎髓質の各測定項目

以上の結果から、ソナゾイドを用いた腎臓 CEUS はイヌにおいても実施可能であり、TIC 上に設定した測定項目の中で、皮質の AUC、PI、WR および髓質の WR は臨床的に許容できる再現性であった。

(2) 腎疾患犬における腎臓 CEUS

これまでに腎疾患犬 15 頭に対し腎臓 CEUS を実施した。症例群は、7-15 歳齢、体重 5.2-29.6 kg、雄 4 頭、去勢雄 6 頭、雌 3 頭、避妊雌 2 頭であった。IRIS 分類は Stage1: 1 頭、Stage3: 10 頭、Stage4: 4 頭であった。

皮質

症例群の皮質の各測定項目の平均値±標準偏差を表 3 に示した。健常犬と比較し、IRIS Stage4 の症例では血流量の指標である AUC、PI が低下していた。同様の変化は IRIS Stage1, 3 群では見られなかった。

IRIS	1	3	4
AUC	4147.7	4651.2 ± 1702.8	2193.6 ± 230.9
PI	111.2	109.3 ± 19.5	77.3 ± 18.6
SP	2.5	5.6 ± 1.6	6 ± 0.8
TTP	1.5	3.6 ± 1.2	2.5 ± 1.0
WR	82.8	79.6 ± 14.2	87.8 ± 7.6

表 3. 腎疾患犬皮質の各測定項目

髓質

症例群の髓質の各測定項目の平均値±標準偏差を表 4 に示した。健常犬と比較し、IRIS Stage4 の症例では AUC の低下傾向を認めた。

IRIS	1	3	4
AUC	2311.7	3127.6 ± 2034.0	1619.0 ± 44.4
PI	106.8	77.6 ± 39.7	64.8 ± 4.3
SP	4	10.4 ± 3.4	7.5 ± 1.5
TTP	2	5.8 ± 2.6	7 ± 1.4
WR	99.8	86.7 ± 12.6	98.0 ± 1.8

表 4. 腎疾患犬髓質の各測定項目

以上の結果から、犬の CKD 症例においてより病期の進行した IRIS Stage4 では皮質、

髄質共に血流量を表す測定項目の低下傾向を認め、腎臓 CEUS は CKD における腎灌流量の低下を検出できることが示された。しかし、同様の变化はより早期の CKD 症例では観察されず、研究開始当初に考えていた GFR の低下を検出するスクリーニング検査として腎臓 CEUS を応用することは難しいかもしれない。これまでの検討における制限事項として、各 Stage の症例数の蓄積が不十分であること、健常犬と症例犬の体重の違いが大きく、測定項目に対する体格の影響が考えられることが挙げられる。今後の予定として、症例数のさらなる蓄積を図る一方で、これら制限事項が及ぼす影響を検討していきたい。また IRIS Stage3 では、症例によって AUC、PI のばらつきが大きかった。同じ病期分類に属する症例の測定項目の違いが、その後の病態の進行および予後指標になるかについても、合わせて検討していきたいと考えている。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

森下啓太郎、造影超音波検査による腎機能評価の基礎的検討、第 55 回日本獣医画像診断学会、2014 年 6 月 14・15 日、大宮ソニックシティ

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

○取得状況(計 0 件)

〔その他〕

なし

6 . 研究組織

(1)研究代表者

森下 啓太郎 (MORISHITA, Keitaro)

北海道大学・大学院獣医学研究科・助教

研究者番号：30637046