

小動物のリンパ管造影および胸腔鏡による
胸管可視化法の研究

Study for visualization of the thoracic duct by computed
tomographic lymphography and thoracoscopy in small animals

2020年6月

上條圭司

目次

緒論	3
第1章 犬および猫のリンパ管走行の開腹下での観察	5
1. 実験に至る背景	5
2. 材料および方法	5
3. 結果	6
4. 考察	7
5. 小括	8
図表	9
第2章 犬のリンパ管造影 CT および胸腔鏡による胸管可視化法の検討	18
1. 実験に至る背景	18
2. 材料および方法	18
3. 結果	20
4. 考察	21
5. 小括	23
図表	25
第3章 猫のリンパ管造影 CT および蛍光光源を用いた胸腔鏡による胸管可視化法の検討	34
1. 実験に至る背景	34
2. 材料および方法	34
3. 結果	36
4. 考察	36
5. 小括	38
図表	39

総括ならびに結論	49
謝辞	52
引用文献	53
英文要旨	60

緒論

犬および猫に発症するリンパ系の疾患に、乳び胸がある。乳び胸とは、消化管からリンパ管に吸収された脂肪を多量に含有したリンパ液が、胸腔内に滲出し、貯留した状態である。乳び胸は、原因により一次性乳び胸と二次性乳び胸に分類される。一次性乳び胸は原因不明の特発性であり、二次性乳び胸は右心不全、リンパ腫、胸腺腫、前大静脈血栓症や横隔膜ヘルニアに続発するリンパ管の拡張や破綻が起こることにより発生する[13, 18, 48]。特発性乳び胸の好発犬種として、アフガンハウンド、ボルゾイ、柴犬が挙げられ、猫ではシャムやヒマラヤンに多いとされる[10]。犬と猫での発生に差はなく、年齢や性による発生に差もない。

犬および猫における乳び胸の一般的な臨床症状は、嗜眠、食欲不振、体重減少、運動不耐性および発咳であり、これらの症状は乳び胸に特異的なものではない。また、乳びの貯留が進行してから症状が発現するため、診断が確定するのは症状が悪化してからのことも多い。診断は、X線像または超音波像による胸腔内液体貯留の確認および胸腔穿刺にて採取された胸水の細胞診によって仮診断し、生化学的検査で胸水中のトリグリセライド濃度が血清中よりも高いことで確定する。

犬および猫の乳び胸に対する内科治療として、低脂肪の処方食 w/d (Hill's Products) やルチンやオクトレオチドが有効との報告がある[25,48]。また、乳び胸に続発する胸膜炎に対し、胸膜の炎症や線維化を抑える目的で副腎皮質ホルモンを使用することがある。しかし、細菌感染の併発が疑われた症例は、感染を悪化させるリスクがあるので、副腎皮質ホルモンの適応の判断は難しい。乳び胸に対する内科治療は功を奏さないことが多く、根本治療として外科治療が選択される[5, 6, 11, 16, 18, 43]。

外科治療の代表的な方法として、胸管結紮術がある[5]。その他、心膜と胸膜の肥厚による静脈圧上昇によるリンパ液の鬱滞を緩和させる心膜切除術[6, 11, 14]、乳び槽を切開して腹腔内にリンパ液を漏出させリンパ管静脈交通路を形成

させる乳び槽切開術[18], 胸腔腹腔シャント術 [43], アブレーション[16,18], 腹腔内の大網を胸腔内に固定し大網から乳びを吸収させる胸腔内大網固定術[6, 27, 38,45,50]がある. 胸管結紮術単独での治療成績は犬で 50%, 猫で 40%程度であるため[11], 臨床現場では, いくつかの方法を組み合わせる行うことが多い[5,16, 18].

胸管結紮術で, 胸管を結紮したにもかかわらず, 乳びの漏出が再発することがある. その理由は, 結紮した胸管に分岐があり, 結紮されていないリンパ流路から乳びが漏出するためと考えられている[4]. また, 結紮後にリンパ流の側副路が形成され新たな部位から漏出してしまう可能性もある[42]. このことから, 胸管結紮術前に, リンパ流路を把握しておくことが重要である.

胸管の走行を目視で確認するために, 術前に動物に食用油やクリームを経口投与し, 乳びにより白濁したリンパ管や胸管を可視化する方法が行われている. しかし, 食用油などの経口投与は膵炎を発症させるリスクがあり, 食欲不振, 嘔吐等の消化器症状を呈する症例には好ましい方法とはいえない. 死体を用いた研究では墨汁を用いることがあるが, 生体には使用できない. また, リンパ流路の把握のために麻酔下で開腹し腸間膜リンパ節に造影剤を投与し, X線やCTで確認する方法もある. このような従来法は, 衰弱した動物に対する外科的侵襲や麻酔による負担が増えるため, 好ましいとはいえない.

本研究では, 乳び胸の胸管結紮術を想定し, 簡便にリンパ流路の可視化することを目的とした. まず第1章では, 犬および猫の肛門周囲の皮下組織に色素を投与し, リンパ管走行の開腹下での観察を行った. 次に, 第2章で犬のリンパ管造影および胸腔鏡による胸管可視化法を検討した. また, 第3章で猫のリンパ管造影および蛍光光源を用いた胸腔鏡による胸管可視化法を検討した.

第1章 犬および猫のリンパ管走行の開腹下での観察

1. 実験に至る背景

リンパ流路は、結腸リンパ節、空腸リンパ節と、骨盤および後肢のリンパ節から集まる腰リンパ本幹が腹腔背側で合流し、横隔膜の尾側で腹大動脈と椎骨の間に紡錘状または嚢状の乳び槽を形成する[20]。乳び槽は、横隔膜を越えて、さらに胸腔内頭側へ連続した管腔構造として胸管を作る。胸管は、大動脈の背側で分岐し、さらに網を形成し、最終的にリンパ液は静脈角から全身循環に注ぐ。興味深いことに、犬の胸管は、胸部大動脈の右背側を、猫では、胸部大動脈の左背側を走行する[1, 20, 48]。

犬のリンパ流路は個体によって異なることが報告 [41]されており、Kaganらは、腸間膜にあるリンパ管にヨード造影剤を投与し、胸管造影の結果から犬の胸管の走行を7つのタイプに分類した[20]。そのため、乳び胸の外科治療には、症例毎のリンパ流路の把握が必要である。また、これまで猫の胸管の走行について文献での報告はない。

第1章では、犬および猫のリンパ流路を簡便に確認する目的で、肛門周囲の皮下組織に色素を投与し、開腹下で染色性の個体差と、犬と猫の違いを調べた。

2. 材料および方法

1) 動物

臨床上健康なビーグル犬2頭（雌，7-8ヶ月，7.0-8.0kg）および雑種猫4頭（雌雄，4ヶ月，2.4-4.2kg）を使用した。動物は、飼育室のケージで、個別に飼育した。本実験の動物実験計画は、麻布大学実験動物委員会で承認された（第120413-2号，第120528-3号）。

2) 色素

リンパ流路を染色する色素として、インドシアニングリーン（ジアグノグリーン®，第一三共株式会社，以下，ICG）を，2.5 mg/ml の濃度で使用した。

3) 方法

犬は，麻酔前投薬としてアトロピン硫酸塩（0.025 mg/kg, sc, アトロピン硫酸塩注射液®，田辺三菱製薬株式会社），酒石酸ブトルファノール（0.2 mg/kg, iv, ベトルファール®，明治製菓ファルマ株式会社）を投与した。続いて，プロポフォール（8 mg/kg, iv, ラピノベット®，シェリングプラウ・アニマルヘルス）で導入した。気管挿管後にイソフルラン（フォーレン®，アボット）吸入で全身麻酔を維持した。猫は，プロポフォール（6 mg/kg, iv）で導入，気管挿管後にイソフルラン吸入で全身麻酔を維持した。全身麻酔下で動物を仰臥位に保定し，通常の外科学術に準ずる消毒処置を行った。続いて，正中線に沿って腹壁を剣状軟骨から恥骨結合部位まで開腹し，腹腔内臓器と消化管を牽引した。38°Cに加温したICG 1.2 ml/kg（液量 2.9-9.6 ml）を 23 ゲージの注射針を用いて肛門周囲の皮下組織に投与し，投与部位を 5 分間マッサージした（図 1,2）。腹腔内のリンパ流路の ICG による染色を肉眼で観察し，視覚的に評価した。評価項目は，染色部位，染色の程度，染色持続時間とした。

観察終了後，麻酔からの覚醒前に，非ステロイド系消炎鎮痛剤メロキシカム（メタカム，ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン）を犬は 0.2 mg/kg，猫は 0.1 mg/kg を，皮下注射にて投与した。実験終了翌日から，術創の感染を防ぐために 10%のクロルヘキシジンを用いて術創を消毒し，抗生剤アモキシシリン（アモキクリア，共立製薬）20 mg/kg を 1 日 2 回と非ステロイド系消炎鎮痛剤ロベナコキシブ（オンシオール，ノバルティス）1 mg/kg 1 日 1 回を 7 日間経口投与した。術創は 7 日後に抜糸を行った。

3. 結果

犬と猫のリンパ流路における ICG の染色効果を表 1 に示した。

A（犬）は，ICG 投与直後から，直腸の表面に存在する結腸リンパ節（図 3,A）

および空腸リンパ節 (図 3, B) が染色された。続いて、腰リンパ本幹と乳び槽が染色され、染色が投与後 30 分間持続したことを確認してから閉腹した。B (犬) も、A と同様に投与直後から、結腸リンパ節と空腸リンパ節が染色された。続いて、腰リンパ本幹と乳び槽が染色されたが、乳び槽の染色は A と比較して乏しかった。B も、染色が投与後 30 分間持続したことを確認してから閉腹した。

C (猫) は、投与直後に空腸リンパ節の染色は確認されたが、腰リンパ本幹に至るリンパ流路は肉眼では染色の確認が困難であった。D (猫) は、投与直後に結腸リンパ節の染色が確認できたが、空腸リンパ節と腰リンパ本幹に至るリンパ流路の染色は確認できなかった。E (猫) は、結腸リンパ節 (図 4)、空腸リンパ節 (図 5) とおよび腰リンパ本幹 (図 6) の染色が確認された。F (猫) は、結腸リンパ節と腰リンパ本幹 (図 7) が染色されたが、空腸リンパ節と乳び槽の染色は弱かった。猫は犬に比べて染色の程度は弱く、染色効果、染色持続時間の個体差も大きかった (表 1)。

4. 考察

ICG は、濃緑色の色素であり、体内に入ると粒子がリンパ液中の蛋白と結合する。結合した ICG はリンパ管に選択的に取り込まれるため、リンパ節とリンパ管は緑染して観察される [32, 39]。ICG はヒトの肝機能検査や眼底の観察に用いられている薬剤で、医療での使用歴は長く、その安全性は高い。また、乳癌や消化器系腫瘍の摘出手術時のリンパ節郭清の目的でリンパ節の同定にも利用されている [8, 33, 35]。

今回の実験で、肛門周囲の皮下組織に投与した ICG が腰リンパ本幹を通過し、胸腔へ向かうリンパ流路を目視で観察した。本実験で明らかとなったリンパ流路を模式図 (図 8) に示す。肛門周囲の皮下組織に投与された ICG は、直腸周囲のリンパ組織から吸収され、腰リンパ本幹、乳び槽を経て、胸腔にリンパ流路を移動する。しかし、今回の実験では、ICG は腰リンパ本幹のみならず、空腸リンパ節や結腸リンパ節も染色していた。空腸リンパ節は小腸からのリンパ節を集め、腰リンパ本幹に向かう。一方、結腸リンパ節は、大腸からのリンパを集め、

腰リンパ本幹に向かう[20, 30, 48]. 小腸や大腸に ICG を投与したのではないにもかかわらず、空腸リンパ節と結腸リンパ節が染色されたことは、網のように発達した直腸粘膜下リンパ網から吸収された結果と考えられた[3].

リンパ流路の染色に差がみられた原因として、肛門周囲の皮下組織からの吸収速度の個体差や ICG がリンパ節に取り込まれる量の個体差が影響している可能性がある。しかし、本実験のリミテーションとして、犬では2頭でそれぞれ1回のみの実験であり、使用した動物の頭数と実験の回数が少なかったことがある。つまり、染色の程度の違いと持続時間について、実験のばらつきで差があったのか実際に個体差があったのかは疑問の余地が残る。また、犬と猫の違いについても、本来であれば多くの動物数で再現性の確認が必要であったと考える。さらに、染色効果が、ICG のロットによるばらつき、調製のテクニカルエラー、注入部位の誤差、麻酔深度の影響した可能性について、今後更なる検討が必要である。

5. 小括

犬および猫の肛門周囲の皮下組織に色素を投与し、開腹下でリンパ流路の染色性の個体差と、犬と猫の違いを調べた。その結果、肛門周囲の皮下組織投与によってリンパ流路は染色された。また、染色性には、個体差と犬と猫の間の差があることが示唆された。

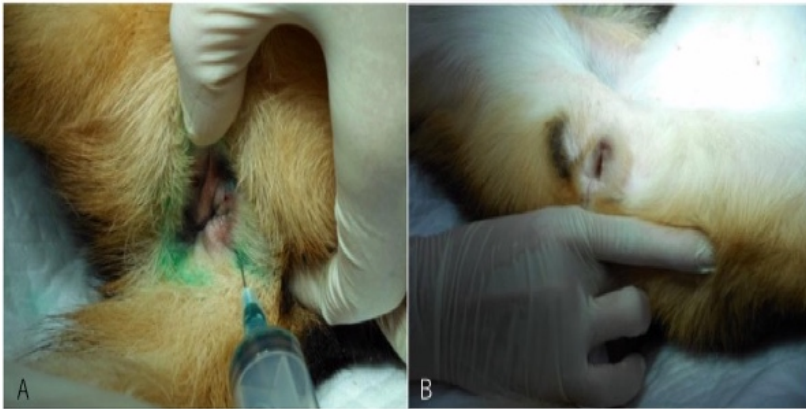


図1 犬の肛門周囲の皮下組織へのインドシアニングリーン投与の様子 (A) と投与部位のマッサージの様子 (B).



図2 猫の肛門周囲の皮下組織へのインドシアニングリーン投与の様子 (A) と投与部位のマッサージの様子 (B).

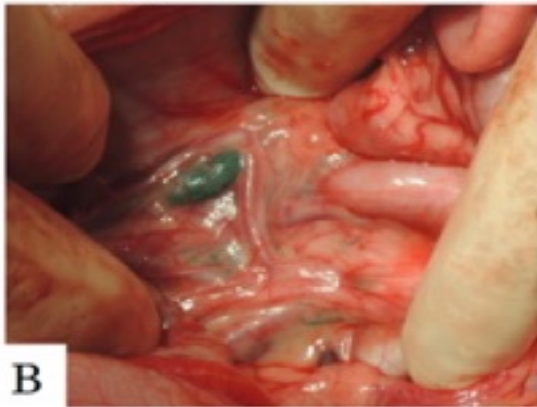
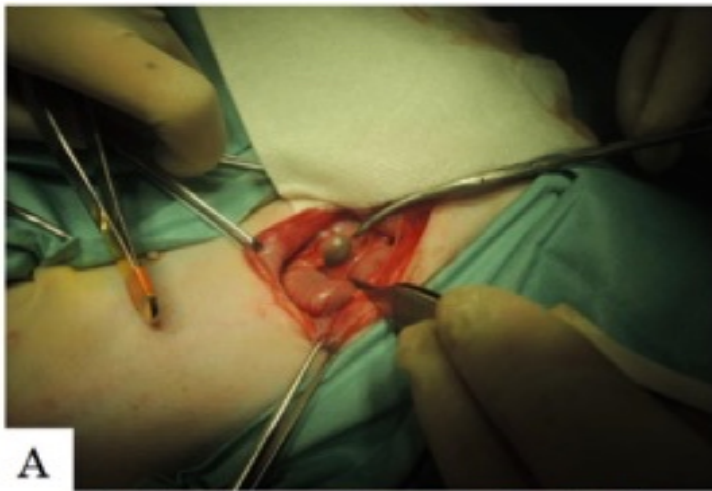


図 3 インドシアニングリーン投与後に緑染された A (犬) の結腸リンパ節 (A) および空腸リンパ節 (B).

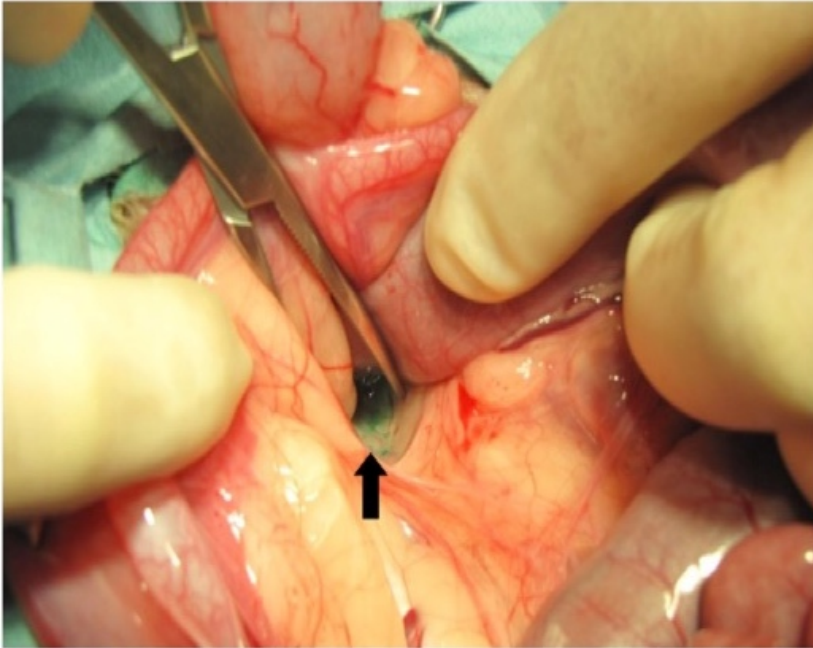


図4 インドシアニングリーン投与後（10分）に緑染されたE（猫）の結腸リンパ節（矢印）.

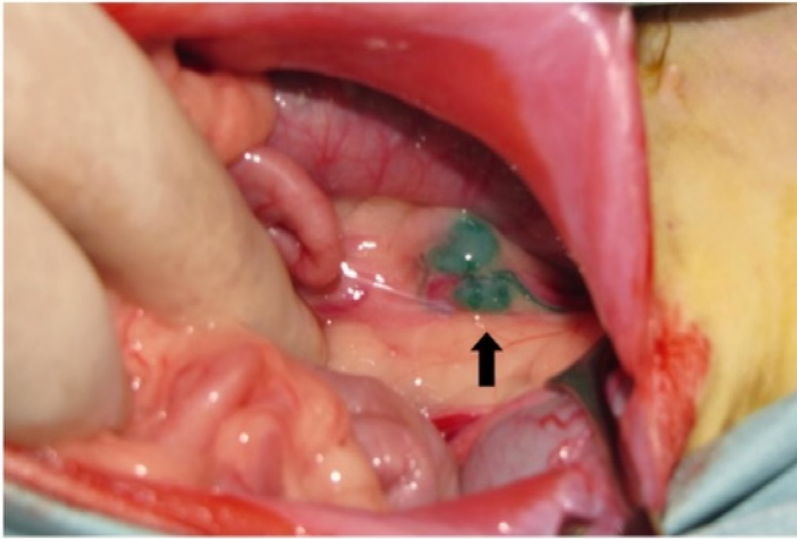


図 5 インドシアニングリーン投与後（10分）に緑染されたEの空腸リンパ節（矢印）

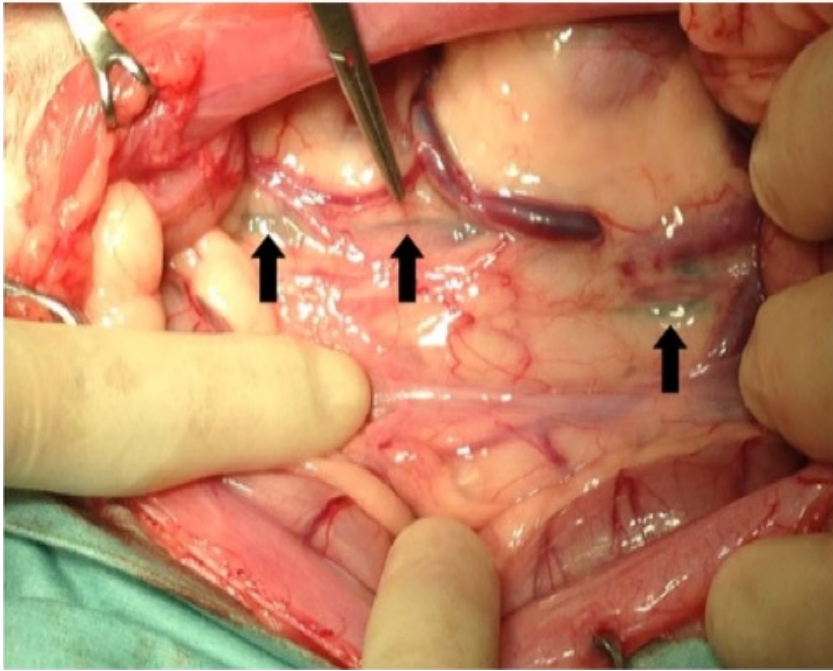


図6 インドシアニングリーン投与後（10分）に緑染されたE（猫）の腰リンパ本幹および乳び槽（矢印）.

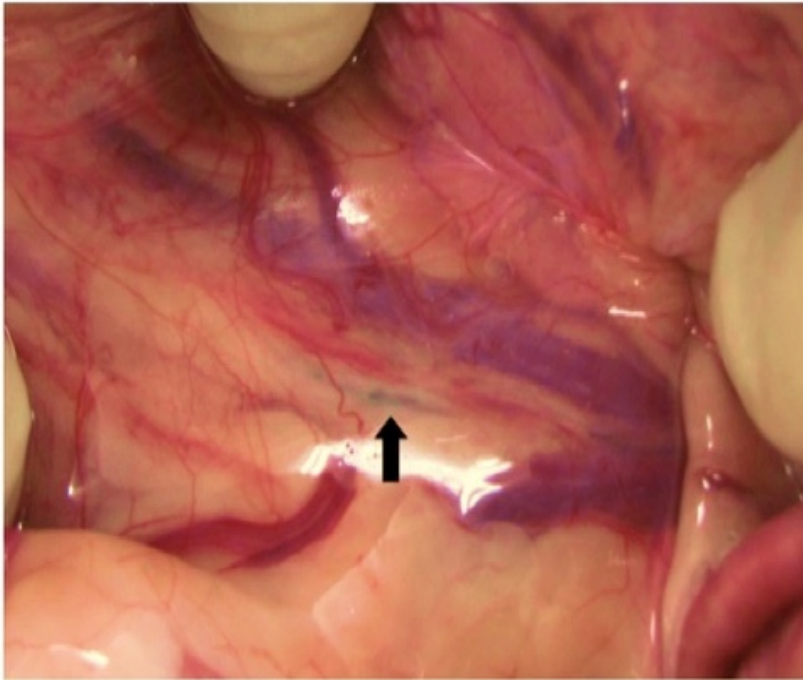


図7 インドシアニングリーン投与直後に緑染されたF (猫) の腰リンパ本幹 (矢印).

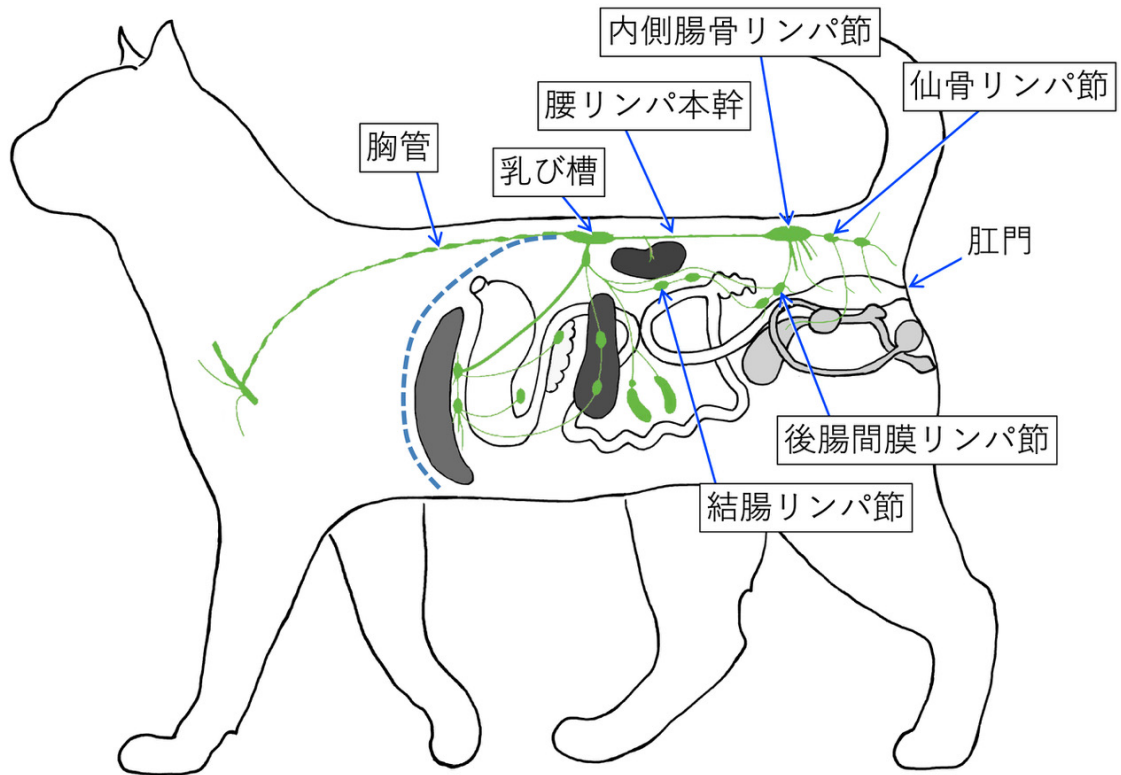


図 8 リンパ流路の模式図 肛門周囲組織から吸収されたインドシアニングリーンは、腰リンパ本幹，乳び槽を経て，胸管に至る。

表1 犬および猫の各個体のリンパ流路におけるインドシアニングリーンの染色効果

	結腸リンパ節	空腸リンパ節	腰リンパ本幹	乳び槽	染色持続時(分)
A(犬)	○	○	○	○	30
B(犬)	△	○	○	△	30
C(猫)	○	○	×	×	5
D(猫)	○	×	×	×	5
E(猫)	○	○	○	○	15
F(猫)	○	△	○	△	15

○：染色，△：わずかに染色，×：染色されない

第2章 犬のリンパ管造影 CT および胸腔鏡による胸管可視化法の検討

1. 実験に至る背景

第1章の実験で、リンパ流路の染色には個体差と犬と猫の違いがみられた。犬のリンパ流路は成書に記載されているものの、臨床応用に際しては、外科治療の前に症例毎のリンパ流路を確認することが重要である[20]。しかし、第1章で用いた開腹下でのリンパ流路の観察は、手術を伴うため侵襲が大きいことが問題点である。そこで、犬のリンパ流路を術前に確認できることが理想である。

ヒトのリンパ管造影は、指間のリンパ管に25ゲージの針を挿入する方法が行われてきた。しかし、このリンパ管造影手技は、細いリンパ管に留置針を挿入するため、熟練した技術を要する[23]。特に、日本に多い小型犬種では、指間のリンパ管は肉眼で確認できないので、リンパ管の直接造影は現実的ではない。そこで、小動物に対する簡便な投与方法として、精巣に造影剤を注入する方法が報告されている[49]。しかし、精巣注入は雄のみに限られる上、多くの雄は去勢手術を実施されているので臨床応用の対象にならないことが多い。また、膝窩リンパ節に注入する方法も報告があるものの、膝窩リンパ節が小さいため胸管の観察に十分な量を投与することができない[34,36,44]。これらに加えて、リンパ節の大きさには個体差があることから、再現性のある造影効果を得ることは困難である。

第2章では、簡便なリンパ流路の可視化を目的に、犬におけるリンパ管造影 CT と胸腔鏡を用いて ICG で胸管を描出する方法を検討した。また、リンパ管造影 CT は、造影剤の投与部位についても検討を加えた。

2. 材料および方法

1) 動物

リンパ管造影 X線撮影には、临床上健康なビーグル犬1頭 (A, 雌, 8ヶ月, 8.2kg) を、リンパ管造影 CT 撮影には临床上健康なビーグル犬3頭 (B-D, 雌,

7-9 ヶ月, 7.6-9.0 kg) を, 内視鏡には臨床上健康なビーグル犬 2 頭 (E-F, 雌, 1 才 3 ヶ月-1 才 4 ヶ月, 9.3-10.6 kg) を使用した. 動物は, 飼育室のケージで, 個別に飼育した. 本実験の動物実験計画は, 麻布大学実験動物委員会で承認された (第 090525-3 号).

2) リンパ管造影 X 線撮影

A は, 実験開始前 6 時間絶食させた. 麻酔前投薬としてアトロピン硫酸塩 (0.025 mg/kg, sc), 酒石酸ブトルファノール (0.2 mg/kg, iv) を投与した. 麻酔導入として, プロポフォール (8 mg/kg, iv) で導入, 気管挿管後にイソフルラン吸入および人工呼吸下で全身麻酔を維持した. 全ての麻酔手技で, 造影剤または ICG の吸収に影響しないよう, 麻酔中の心拍数, 血圧, 体温をモニターし, 一定の範囲内に維持した. あらかじめ, 肛門傍洞を圧迫して内容物を排出し, 肛門傍洞を避けて 38°C に加温したヨード造影剤 (イオパミドール, 370 mgI/ml, イオパミロン®, 日本シェーリング) を, 肛門周囲の皮下組織に 1.2 ml/kg (液量 9.8 ml) を 23 ゲージの注射針を用いて投与した. 投与部位を 5 分間マッサージした後に, 管電圧 56 kV, 線量 4.0 mAs の条件で X 線撮影を実施した. X 線像における胸管の造影効果は, 視覚的に評価した.

3) リンパ管造影 CT 撮影

X 線撮影と同様の方法で全身麻酔を施し, イソフルラン吸入および人工呼吸下で全身麻酔を維持した. 38°C に加温したヨード造影剤 1.2 ml/kg (液量 9.1-10.8 ml) を 23 ゲージの注射針を用いて, B は直腸粘膜に, C は膣粘膜に, D は肛門周囲の皮下組織に投与し, 投与部位を 5 分間マッサージした.

使用した CT 装置は, シングルスライス CT (アステイオン, キヤノン医療用品) で, 管電圧 120 kV, 管電流 60 mA, スライス厚 2.0 mm の条件で, 投与後 5, 15, 25 分に CT 撮影を実施した. 撮影後, DICOM データを画像処理ワークステーション (OsiriX, Apple) に転送し, 三次元像を作成した. 2D および三次元像におけるリンパ流路の造影効果は, 視覚的に評価した.

4) 胸腔鏡

X線撮影と同様の方法で全身麻酔を施行し、イソフルラン吸入および人工呼吸下で全身麻酔を維持した。胸腔鏡は、ビデオ内視鏡システム（ビデオ光源装置：D-LIGHT P, IMAGE 1 H3-2 ICG FULLHD カメラヘッド：IMAGE1 HUBTH HD, カメラコントロールユニット：HOPKINS ICG, カールストルツエンドスコープージャパン株式会社, 東京）を使用した。スコープを挿入した際に、胸管の観察を容易にするために、肺を腹側に寄せることを目的として動物は腹臥位とし、通常の外科手術に準ずる消毒処置を行った。スコープは、ICG投与前に右側第8-9肋間背側1/3の位置から胸腔内に挿入した（図1）。胸部大動脈右側に視野を確保した後に、38°Cに加温したICG 1.2 ml/kg（液量 11.2-12.7 ml）を23ゲージの注射針を用いて、肛門周囲の皮下組織に投与し、15分間連続で観察を続けた。評価は、内視鏡像における胸管の染色を視覚的に行った。

観察終了後に胸腔鏡スコープを抜去し、3-0 ナイロン糸を用いて縫合した。麻酔からの覚醒前に、非ステロイド系消炎鎮痛剤メロキシカム（メタカム、ベリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン）を0.2 mg/kg皮下注射にて投与した。実験終了翌日から、術創の感染を防ぐためにクロルヘキシジンを用いて術創を消毒し、抗生剤アモキシシリン（アモキクリア、共立製薬）20 mg/kgを1日2回と非ステロイド系消炎鎮痛剤ロベナコキシブ（オンシオール、ノバルティス）1.0 mg/kgを1日1回、7日間経口投与した。術創は7日後に抜糸を行った。

3. 結果

1) リンパ管造影X線撮影

胸部側方向像で、造影された胸管が描出された（図2）。しかし、正面方向像では胸管は確認できなかった。実験終了後に、一般状態に著変はなく、皮膚炎や潰瘍といった副反応は観察されなかった。

2) リンパ管造影CT

リンパ管造影 CT における造影効果を表 1 に示した。

3 頭全てで、投与後 5 分から乳び槽および胸管が造影され、25 分後でも明瞭に確認することができた。視覚的な造影効果は、肛門周囲の皮下組織または直腸粘膜に投与した個体が優れ、膣粘膜に投与した個体は造影効果が乏しかった。肛門周囲の皮下組織に造影剤を投与した D では、胸管は第 8 胸椎レベルで分岐、第 5 胸椎レベルで合流し、そのまま左胸腔から前大静脈に流入した (図 3)。画像処理ワークステーションで作成した三次元像では、乳び槽および胸管の分岐と合流が立体的に描出された (図 4)。実験終了後に、供試動物の一般状態に著変はなく、局所の皮膚炎や潰瘍といった副反応は観察されなかった。

3) 胸腔鏡

E では、投与後 5 分まで胸管は段階的に染色され、胸部大動脈と併走した胸管が観察された (図 5-8)。観察終了までの 15 分間、胸管は可視化された状態を維持した。F も E と同様に、胸管は段階的に染色された。実験終了後に、供試動物の一般状態に著変はなく、創面の感染や離開は認められなかった。

4. 考察

X 線側方向像で、肛門周囲の皮下組織に造影剤を投与した場合でも、胸管の描出が可能であった。しかし、正面方向像では描出されなかった。犬の胸管は、胸腔内の正中右側を走行するため、正面方向からの撮影では、胸管が胸椎や胸骨と重複したことが理由である。一方、CT では胸管の三次元的な観察が可能であった。ヒトの乳腺腫瘍症例においても、皮下投与したヨード造影剤が取り込まれたリンパ節観察に、三次元像が有用であったとの臨床報告されている[35]。

リンパ管造影 CT は、肛門周囲の皮下組織または直腸粘膜に造影剤を投与した個体の造影効果が優れ、膣粘膜に投与した個体の造影効果が乏しかった。その理由として、膣粘膜は直腸周囲のリンパ節から離れており、CT 撮影時間内には造影剤が取り込まれなかったためと考えられた[35]。犬の食道粘膜に造影剤を投与することで近傍リンパ節が造影されると報告があり、肛門周囲の皮下組織また

は直腸粘膜に投与することでも同様にリンパ流路に取り込まれたと考えられた [15, 33]. 肛門周囲の皮下組織に投与する手技は、直腸粘膜に投与する手技よりも簡便であるため、臨床での実施しやすさは、肛門周囲の皮下組織に投与する方法が優位と考えられた.

理論上、薬液は分子量 5,000 以上でリンパ管に吸収される [28]. 今回の実験で使用したイオパミドールの分子量は 777 であったが、今回の実験では犬の既報に比べて造影剤の投与量が約 10 倍、ICG の投与量が約 30 倍と多かった [44]. また、ヒトのリンパ節周囲への投与の症例報告でも、造影剤の投与量が多かった [2]. リンパ節内直接投与は、リンパ節の大きさから大量の造影剤を投与することができない [34, 36, 44]. 一方、今回の実験は投与部位として肛門周囲から注入したため、大量に投与することができたことが、リンパ管が造影された理由である. 大量の造影剤を皮下に投与することについては、異論があるかもしれない. これらの個体では、腎臓もわずかに造影されていたため、造影剤のほとんどは細胞外スペースから血中に吸収され、過剰な造影剤が異物としてリンパ系に取り込まれた可能性がある. また、浸透圧の高い造影剤を皮下に大量に投与したにもかかわらず、一般状態の変化をはじめ皮膚炎や潰瘍といった副作用は観察されなかった. 臨床応用に際しては、副作用の観察はもちろん、外科的処置を行う上での臨床的意義とリスクのバランスを考慮する必要がある [1].

リンパ液はリンパ管内を受動的に輸送されることが知られている. マッサージを行うことで、直腸周囲のリンパ節に圧が加わり、投与された造影剤の一部が、直腸周囲のリンパ節に取り込まれたと考えられた. 予備検討で、マッサージを実施しない場合には、リンパ管が造影されることはなかった. このことから、投与部位のマッサージがリンパ管造影成功の鍵であると考えられた [1, 8].

リンパ管造影 CT は、術前にリンパ流路の走行を把握することは優れるが、ヨード造影剤は無色透明であるため手術中にリンパ管を目視で確認することはできない. そこで、手術中にリンパ管を肉眼で確認するためには、色素でリンパ管を染色する必要がある. ICG でリンパ流路を染色することで、肉眼で胸管の観察が可能であった. B は右胸壁からの観察に加えて、左胸壁からも観察したとこ

る、左胸腔内に ICG で染色された管状構造物は確認できなかった。この結果は右側で観察された管状構造物が胸管であったことの裏付けとなり、胸管は犬で胸腔内の右側を走行する知見と一致した[4]。また、胸管の可視化は 15 分間持続したことから、胸管結紮には十分な持続時間であると考えられた。胸管の可視化が可能となることで、胸管結紮術時における開腹手術が必要なくなり、開腹による出血など侵襲が軽減されること、手術に要する時間が短縮できることが期待できる。また、胸腔鏡の画像はモニターで拡大されるので、胸管の詳細な観察と確実な結紮が可能であると考えられた。

今回の実験で使用した ICG は本来機能検査に使用される色素であり、メチレンブルー[49]に比べて副作用が低く、犬には 5.0 mg/kg を投与しても副作用を出現しないことがわかっている[24]。今回は、3.0 mg/kg を投与しており、投与量に関しても問題がないと考えられた。

非侵襲的な画像診断の一手段として、ヒトでは手背や足背に ^{99m}Tc で標識された高分子量の放射性コロイドを投与しリンパ管走行を観察するリンパ管シンチグラフィが利用されている[31, 51]。しかし、シンチグラフィは、非密封の放射性同位元素を使用するため、獣医療法施行規則に則った放射線管理区域の施設と第一種放射線取扱主任者免状を有する獣医師が必要である。このため、日常診療において手軽に実施できる検査とはいえない。

なお、本実験のリミテーションとして、造影剤の投与部位が 3 頭でそれぞれ異なっており、造影効果の違いが個体差であるのか、投与部位の違いであるのかは、不明であった。そのため、投与部位については、今後スケールアップした検討が必要である。

以上、リンパ管造影 CT は簡便にリンパ流路の全体像を把握することができ、胸腔鏡を用いることで、簡便に胸管の観察が可能であった。胸腔鏡は胸管を直接観察できるアドバンテージがあるものの、異常走行の胸管は、事前のリンパ管造影 CT の情報がなければ探すことはできない可能性が高い[44]。そのため、あらかじめリンパ管造影 CT で全体像を把握して、胸腔鏡を組み合わせることで、胸管結紮手術が確実に実施できると考えられた。

5. 小括

犬において、リンパ管造影 X 線撮影により、肛門周囲の皮下組織に造影剤を投与した場合でも、胸管の描出が可能であった。また、リンパ管造影 CT は、造影剤を肛門周囲の皮下組織に投与することで、簡便にリンパ流路の全体像の把握が可能であった。さらに、胸腔鏡は、肛門周囲の皮下組織に ICG を投与することで、簡便に胸管の観察が可能であった。リンパ管造影 CT と胸腔鏡を組み合わせることで、犬の胸管結紮手術の確実な実施が期待できると考えられた。

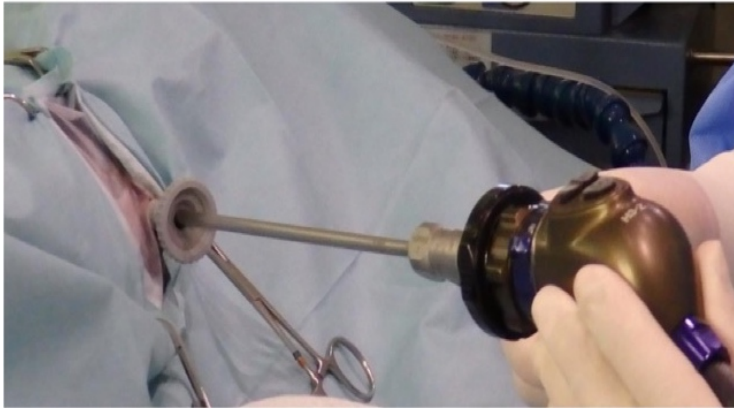


図 1 犬の右側第 8-9 肋間から内視鏡の挿入の様子

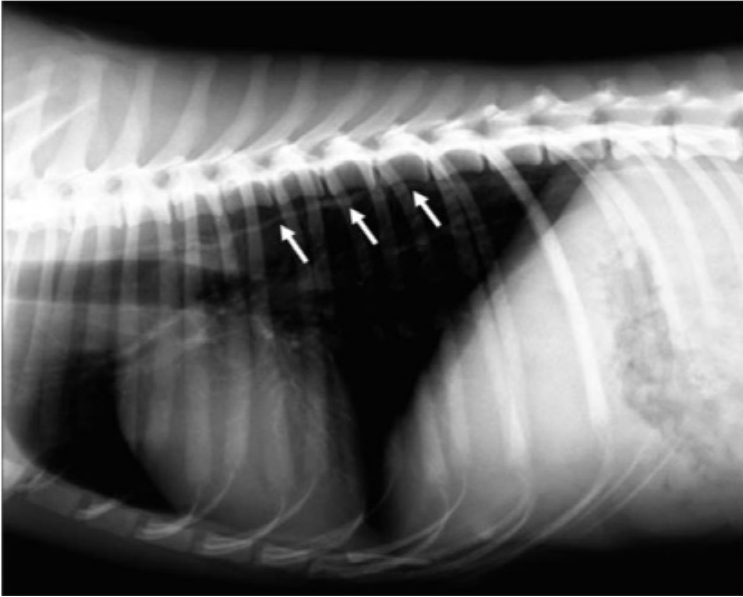


図 2 リンパ管造影 X 線側方向像. 肛門周囲の皮下組織に造影剤を投与 (370 mgI/ml, 1.2 ml/kg) することで描出された胸管を矢印で示す.

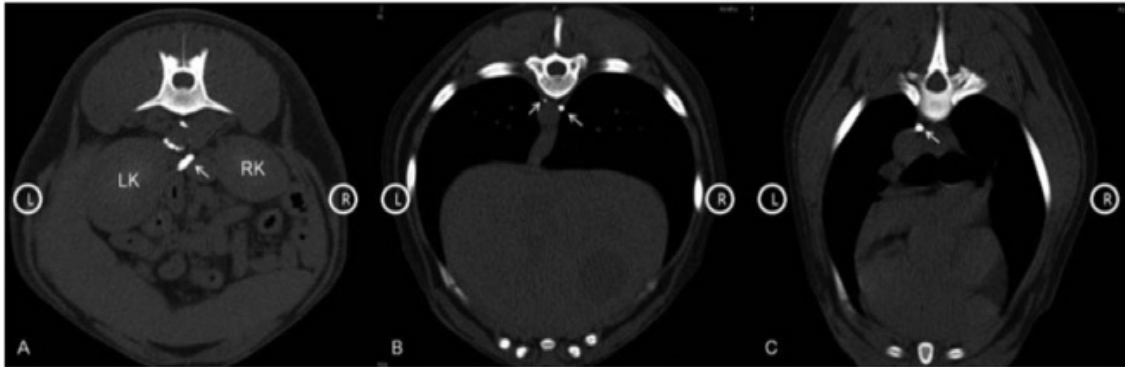


図3 ヨード造影剤 (370 mgI/ml, 1.2 ml/kg) 投与後5分のリンパ管造影CT横断像. A:乳び槽 (矢印), B:第8胸椎レベルで分岐した胸管 (矢印), C:第5胸椎レベルで合流した胸管 (矢印).

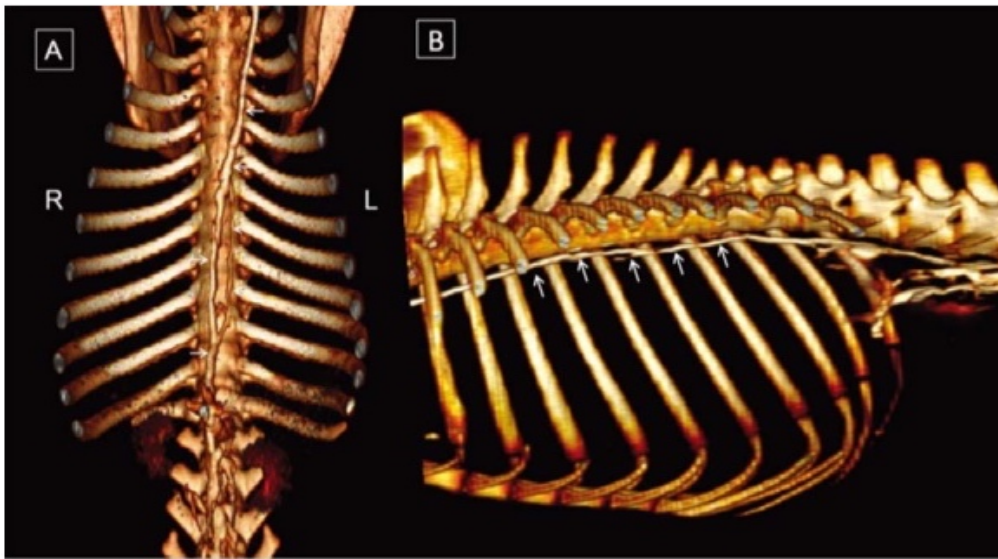


図4 ヨード造影剤 (370 mgI/ml, 1.2 ml/kg) 投与後 (5分) のリンパ管造影CT三次元像. A:腹側観, B:左側観. 造影された胸管 (矢印).

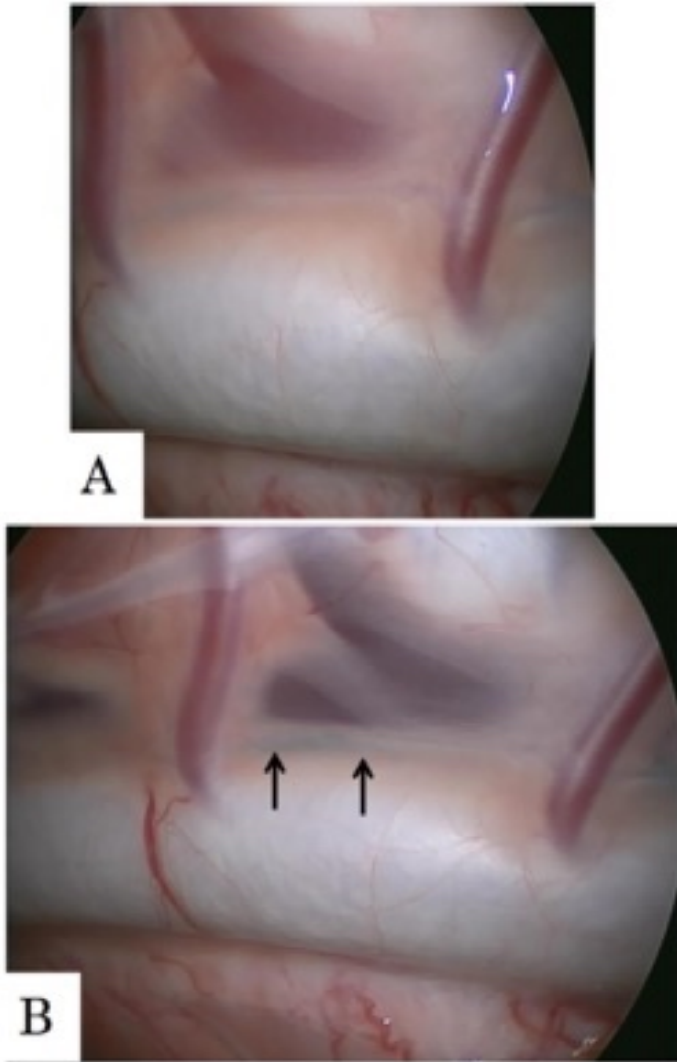


図5 第10肋間部の胸腔鏡画像。

A:インドシアニングリーン投与前. B:インドシアニンググリーン投与後(5分)に緑染された胸管(矢印).

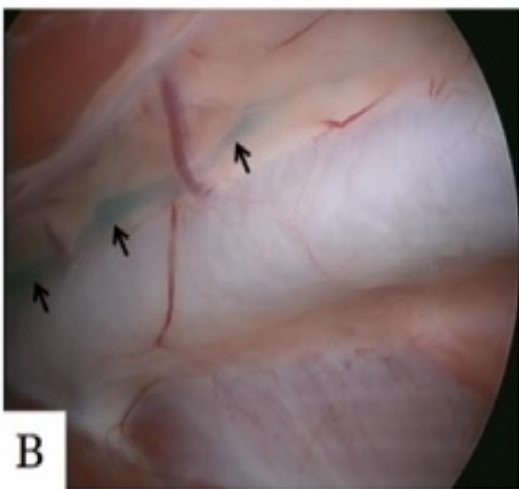
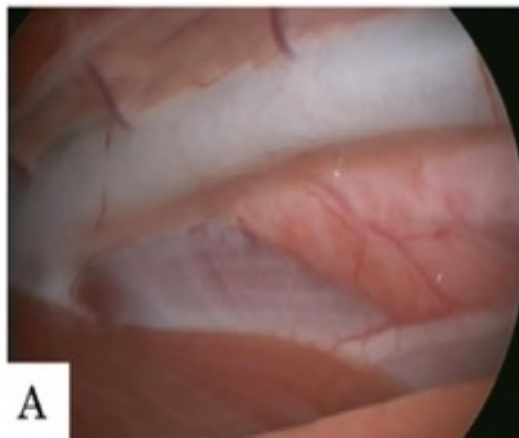


図6 第8肋間部の胸腔鏡画像.

A:インドシアニングリーン投与前. B:インドシアニンググリーン投与後(10分)に緑染された胸管(矢印).

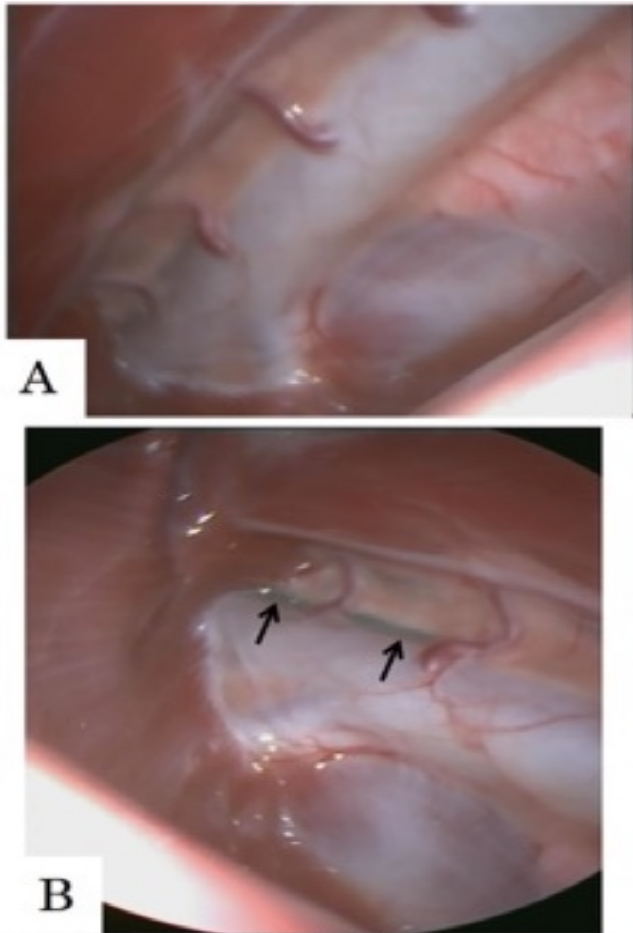


図7 第6肋間部の胸腔鏡画像.

A:インドシアニングリーン投与前. B:インドシアニンググリーン投与後(10分)に緑染された胸管(矢印).

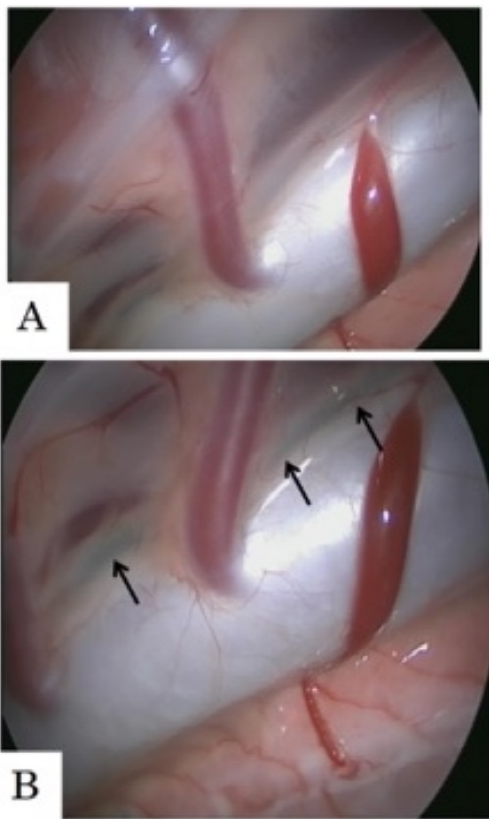


図8 第4肋間部の胸腔鏡画像.

A:インドシアニングリーン投与前. B:インドシアニンググリーン投与後(10分)に緑染された胸管(矢印).

表1 犬のリンパ管造影CTにおける造影剤投与部位の造影効果の比較

個体	投与部位	投与量 (ml/kg)	5分	15分	25分
B	直腸粘膜	1.2	○	○	○
C	膣粘膜	1.2	△	△	△
D	肛門周囲	1.2	○	○	○

- ：投与部位から胸管までの全部位が確認可能
 △：投与部位から胸管までのほとんどが確認可能
 ×：確認できず

第3章 猫のリンパ管造影 CT および蛍光胸腔鏡によるリンパ管可視化の検討

1. 実験に至る背景

第2章では、犬のリンパ管造影 CT と胸腔鏡による胸管の可視化の手法を明らかとした。臨床の現場では、犬と同様に猫の特発性乳び胸に遭遇することがある。犬と同様に猫においても、内科治療には反応が乏しく、根治的治療として、胸管結紮等の外科治療が実施される。しかし、猫の胸管は犬よりも細いため、外科手術時に目視では胸管の走行を確認できない。これまで猫で乳び胸の外科治療は、成功率が 20–40% と犬に比べて低かったが[29]、胸管の走行を目視で確認することができれば、手術成績の向上が期待できる。しかし、ICG の腸間膜注入は侵襲が大きく[19, 22]、また膝窩リンパ節注入は再現性のある結果が得られない[34, 36, 44]。そこで本章では、犬におけるリンパ管造影 CT および胸腔鏡の結果を踏まえ、猫におけるリンパ管造影と蛍光胸腔鏡で胸管を可視化する方法を検討した。また、リンパ管造影 CT では、造影剤の種類および投与量についても検討を加えた。

2. 材料および方法

1) 動物

リンパ管造影 CT 撮影には臨床上健康な猫 3 頭（雌，6-7 才，3.4-4.1 kg）を、内視鏡には臨床上健康な猫 2 頭（雌，3 才，3.5-3.8 kg）を使用した。動物は、飼育室のケージで、個別に飼育した。本実験の動物実験計画は、麻布大学実験動物委員会で承認された（第 120528-3 号）。

2) リンパ管造影 CT

動物は、実験開始前 6 時間絶食させた。麻酔前投与として酒石酸ブトルファンール（0.2 mg/kg, iv）を投与した。麻酔導入として、プロポフォール（6 mg/kg, iv）で導入、気管挿管後にイソフルラン吸入および人工呼吸下で全身麻酔を維持

した。全ての麻酔手技で、造影剤または ICG の吸収に影響しないよう、麻酔中の心拍数、血圧、体温をモニターし、一定の範囲内に維持した。あらかじめ、肛門傍洞を圧迫して内容物を排出し、肛門傍洞を避けて 38°C に加温したヨード造影剤イオヘキソール (300 mgI/ml, オムニパーク®, 第一三共) またはイオパミドール (300 mgI/ml, オイパロミン®, 富士製薬) を、肛門周囲の皮下組織に 1.2 ml/kg (液量 4.1-4.9 ml) または 1.8 ml/kg (液量 6.1-7.4 ml) を 23 ゲージの注射針を用いて投与し、5 分間マッサージした (図 1)。投与後 5, 15, 25 分に CT 撮影を実施し、イオヘキソールとイオパミドールの造影効果を比較した。なお、造影剤投与の順番はランダムとし、それぞれの実験は 1 ヶ月以上の間隔を空けて実施した。使用した CT 装置、画像処理方法は、第 2 章と同じ方法で実施した。2D および三次元像におけるリンパ流路の造影効果は、視覚的に評価した。

3) 胸腔鏡

リンパ管造影 CT と同様の方法で全身麻酔を施行した。本章では、第 2 章で使用したビデオ内視鏡システムに加えて、近赤外線照射ユニットを構成に加えた。これは、ICG が波長 805 nm の近赤外線を照射することで励起されて 840 nm の蛍光を発するという特性を利用している [24, 38]。ICG はアルブミンと結合してリンパ管内を運搬されるため近赤外線の照射によりリンパ管走行を確認できる [30]。全身麻酔下で、胸部を外科手術に準じた消毒を実施し、ビデオ内視鏡システムのスコープを左側の第 8-9 肋間から挿入した (図 2)。胸部大動脈左側に視野を確保した後に、38°C に加温した ICG 1.8 ml/kg (液量 6.3-6.8 ml) を 23 ゲージの注射針を用いて肛門周囲の皮下組織に投与し、25 分間連続で観察を続けた。また、可視光線で観察した場合と波長 805 nm の近赤外線を照射した場合の胸管の染色性を比較した。評価は、内視鏡像における胸管の染色を視覚的に行った。

観察終了後に胸腔鏡スコープを抜去し、術創を 3-0 ナイロン糸で縫合した。麻酔からの覚醒前に、非ステロイド系消炎鎮痛剤メロキシカムを 0.1 mg/kg 皮下注射にて投与した。実験終了翌日からは術創の感染を防ぐためにクロルヘキシジンを用いて術創を消毒し、抗生剤アモキシシリン 20 mg/kg, 1 日 2 回と非ステ

ロイド系消炎鎮痛剤ロベナコキシブ 1.0 mg/kg を 1 日 1 回, 7 日間経口投与した。術創は 7 日後に抜糸を行った。

3. 結果

1) リンパ管造影 CT 撮影

リンパ管造影 CT におけるリンパ流路の造影効果を表 1 に示した。

イオヘキソールの投与で, 3 頭いずれも投与後 5 分から造影効果が確認され, 観察時間中の 25 分でも明瞭に確認することができた。一方, イオパミドールは造影効果にばらつきがあり, 再現性のある結果は得られなかった。

リンパ流路は, 腹腔内で分岐や合流を繰り返し頭側へ走行し, 胸腔で胸管として大動脈左背側を走行することが確認された (図 3)。また, 三次元像でも同様に, 腰リンパ本幹, 乳び槽および胸管の走行が観察できた (図 4)。

実験終了後に, 供試動物の一般状態に著変はなく, 局所の皮膚炎や潰瘍といった副反応は観察されなかった。

2) 胸腔鏡

胸腔鏡下にて ICG を投与し観察を行ったが, 可視光では胸管の視認は困難であった。一方, 805 nm の近赤外線を照射し ICG を発光させると, 胸管の視認が可能であった (図 5-8)。観察時間の 25 分間, 近赤外線で発光させることで胸管は描出され続けた。実験終了後に, 供試動物の一般状態に著変はなく, 創面の感染や離開は認められなかった。

4. 考察

猫のリンパ管造影 CT の既報はあるものの, 空腸リンパ節に造影剤を直接投与する方法であり, 侵襲が大きかった[19, 22]。今回, イオヘキソールを肛門周囲の皮下組織に投与することで, 猫においてもリンパ流路の造影を簡便に実施することが可能であった。イオパミドールは造影効果にばらつきがあり再現性のある結果は得られず, 猫の胸管造影にはイオパミドールよりもイオヘキソール

ルの方が優れていることがわかった。イオヘキソール、イオパミドールは、いずれもベンゼン環を有する水溶性のヨード造影剤であり、化学的に近い組成を持つ物質である。わずかではあるがイオヘキソールの分子量がイオパミドールよりも大きく、生体に対する浸透圧比は、イオヘキソールがイオパミドールよりも低い（表2）。どちらも高分子量の薬剤ではないので積極的にリンパ系に取り込まれるとは考えられにくい。猫のリンパ流路への造影剤の取り込みの差には、イオパミドールとイオヘキソールの分子量のわずかな差が影響していると考えられた[1]。

胸腔鏡を用いた観察では、第2章の犬の結果とは異なり、可視光のみで染色された胸管を観察することはできなかった。これは、猫の胸管が犬に比して細く、色素も肉眼で識別できるほどの十分な量が吸収されなかったためと考えられた。また、胸壁内の脂肪に埋まっている胸管は、可視光線では透過しないため目視することができなかった可能性がある。一方、波長の長い近赤外線は、数ミリの深さを透過するため、ICGを波長805 nmの近赤外線で発光させることで、猫の胸管の走行が観察可能であった。ICGを近赤外線で発光させ可視化する方法は、ヒト医学領域では、眼科脈絡膜血管造影[9]、冠動脈造影[37,40]、皮膚癌のリンパ節同定[12]、乳癌のリンパ節同定 [35,46]、胃癌のセンチネルリンパ節同定[26,47]、前立腺癌の転移診断[17]、胸管の観察[2,21]に臨床応用されている。これまで、ICGを近赤外線で発光させ胸管を観察する手法は、犬では発表があるものの[44]、猫では、本報告が初めてである。

近赤外線は可視光よりも透過率が高く[7]、脂肪に埋まった胸管の分岐を近赤外線ですべて観察することができるので、外科的処置が確実になるはずである[44]。また、リンパ管造影CTとは異なり、リンパの流れをリアルタイムで観察することができ、リンパ流路の術中誤認による損傷の可能性もなくなる。さらに、胸管の可視化は25分間持続したため、胸管結紮には十分な持続時間であり、臨床応用が期待できる。

以上、猫の肛門周囲の皮下組織に造影剤を投与したリンパ管造影CTは簡便にリンパ流路の全体像を把握することができ、蛍光胸腔鏡は、簡便に胸管の観察が

可能であった。リンパ管造影 CT と蛍光胸腔鏡を組み合わせることで、猫の胸管結紮手術が確実に実施できるようになると考えられた。本研究では、正常個体を用いての検討であった。今後、実際の症例に対してリンパ管造影 CT と蛍光胸腔鏡を組み合わせ、臨床における有用性を検証する予定である。

5. 小括

猫において、リンパ管造影 CT は、造影剤を肛門周囲の皮下組織に投与することで、簡便にリンパ流路の全体像を把握することができた。また、蛍光胸腔鏡で ICG を発光させることにより、簡便に胸管の観察が可能であった。リンパ管造影 CT と蛍光胸腔鏡を組み合わせることで、猫の胸管結紮手術の確実な実施が期待できると考えられた。

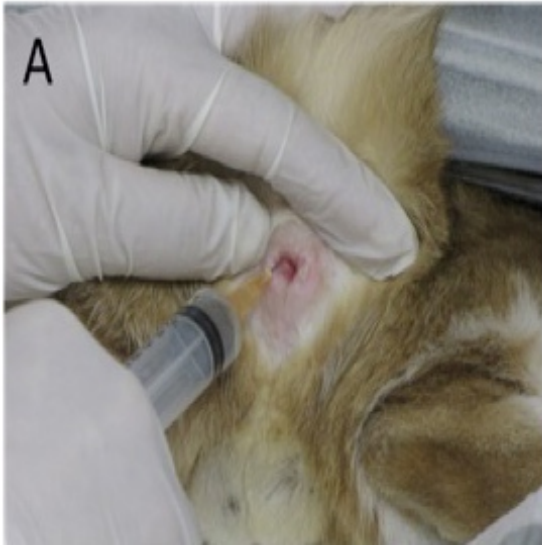


図1 猫の肛門周囲の皮下組織へヨード造影剤投与の様子 (A) と造影剤投与部位のマッサージの様子 (B).

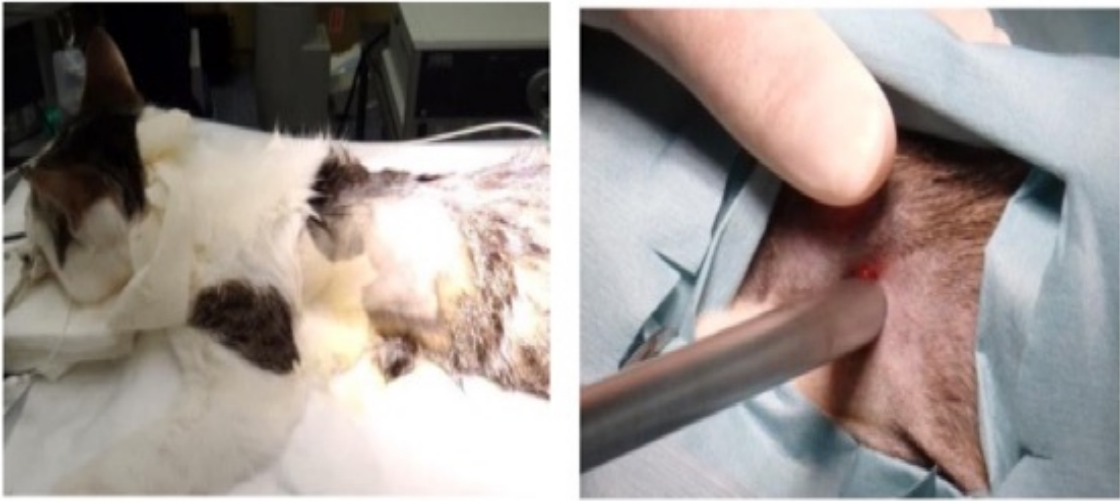


図 2 猫の左側第 8-9 肋間から胸腔鏡挿入の様子.

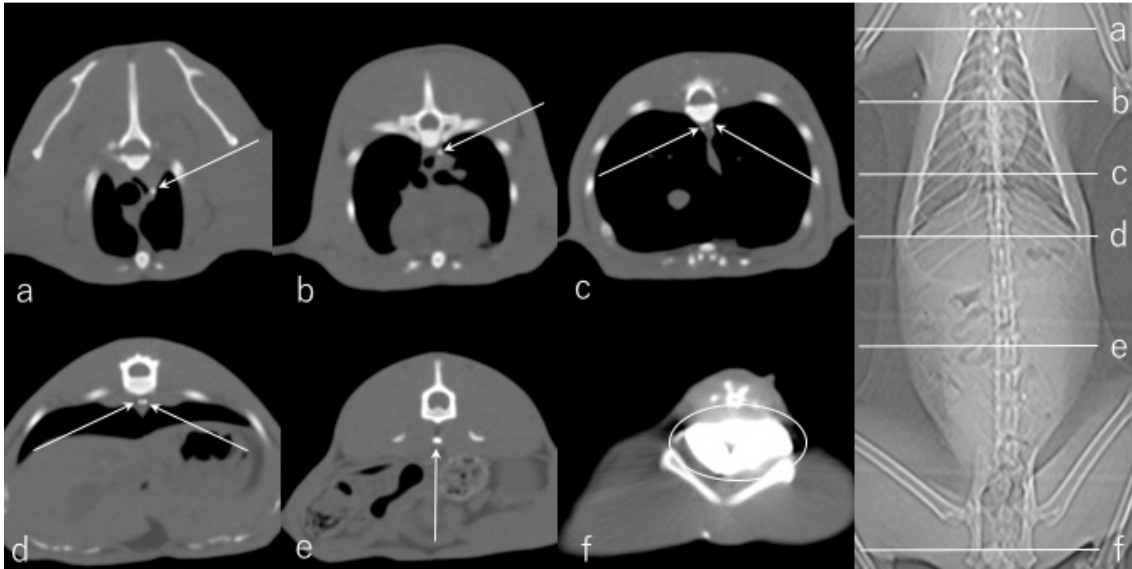


図3 ヨード造影剤（300 mgI/ml, 1.8 ml/kg）投与後5分のリンパ管造影CT横断像. 投与部位の肛門周囲の皮下組織から，食道左側を走行する胸管までリンパ流路が造影された.

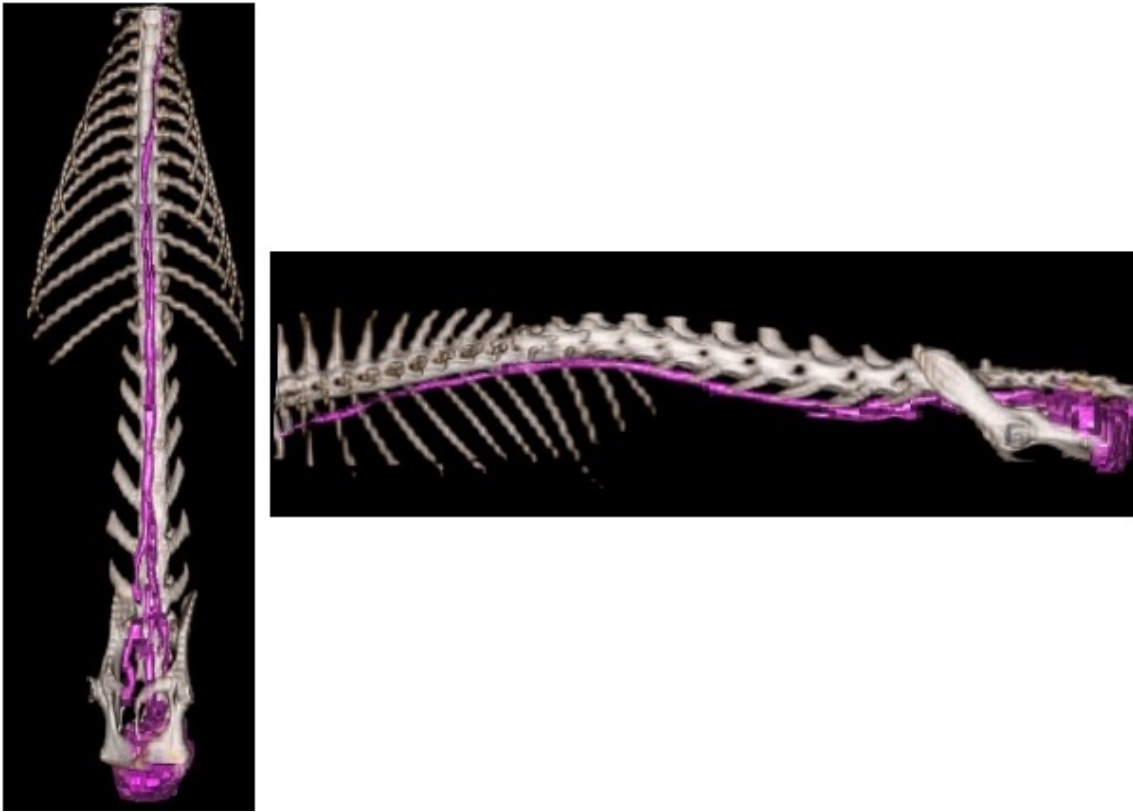


図4 ヨード造影剤（300 mgI/ml, 1.8 ml/kg）投与後5分のリンパ管造影CT三次元像. 腹腔内の乳び槽から第5胸椎の胸管までリンパ流路が造影された.

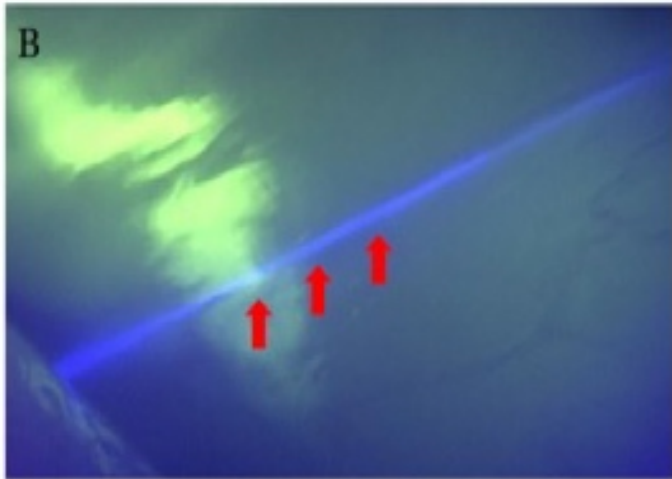
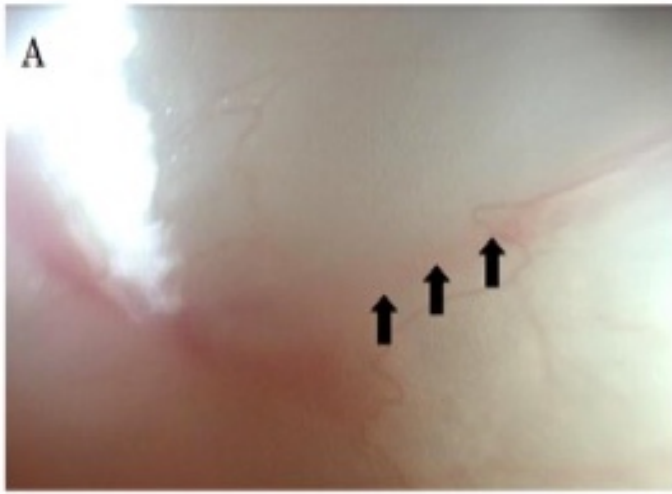


図5 インドシアニンググリーン投与後（12分）の左前葉付近の背側胸壁。
A:可視光線で観察した胸管（黒矢印）。 B:波長 805 nm の近赤外線が発光させた胸管（赤矢印，青色に描出）。

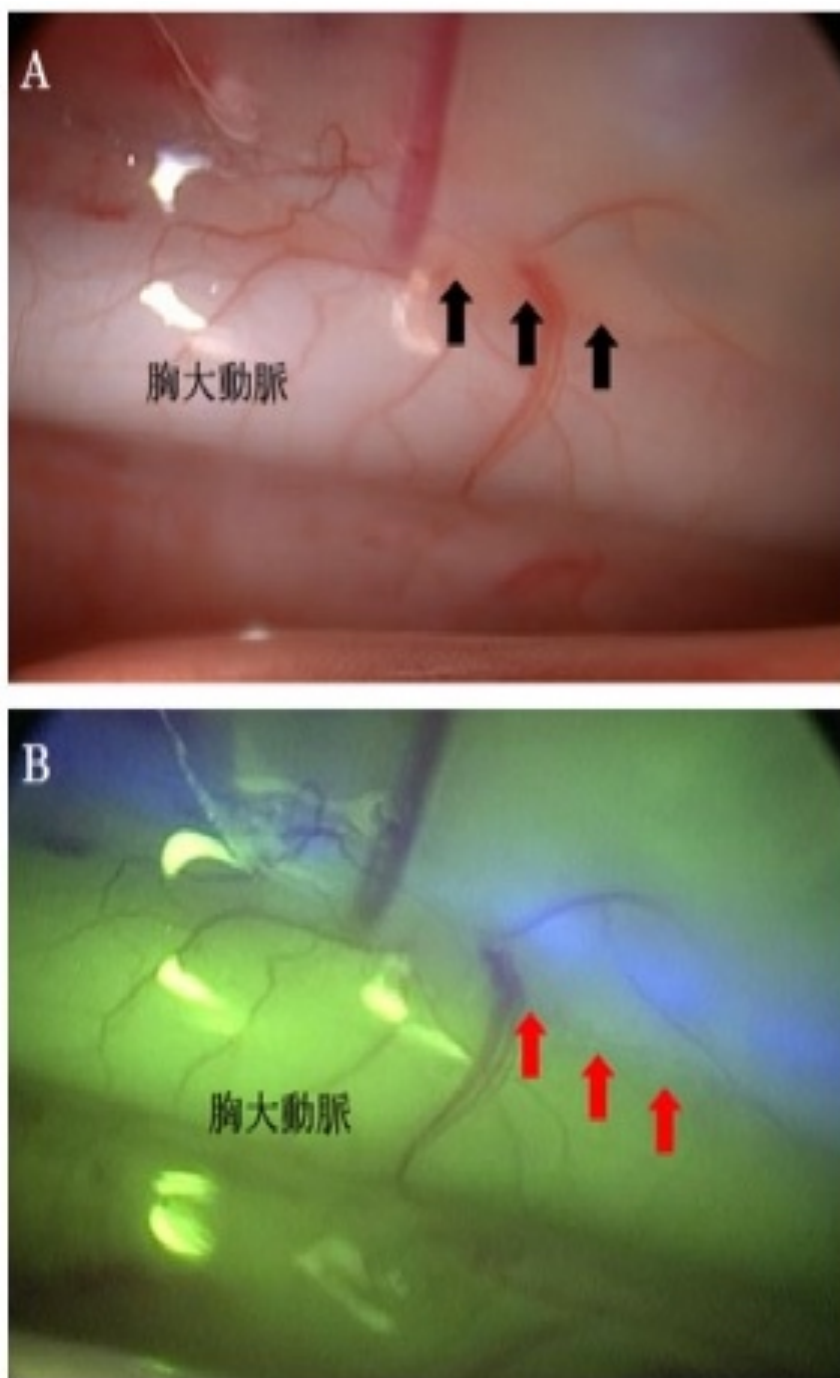


図6 インドシアニングリーン投与後（4分）の胸大動脈付近の背側胸壁。
A:可視光線で観察した胸管（黒矢印）。 B:波長 805 nm の近赤外線が発光させた胸管（赤矢印，青色に描出）。

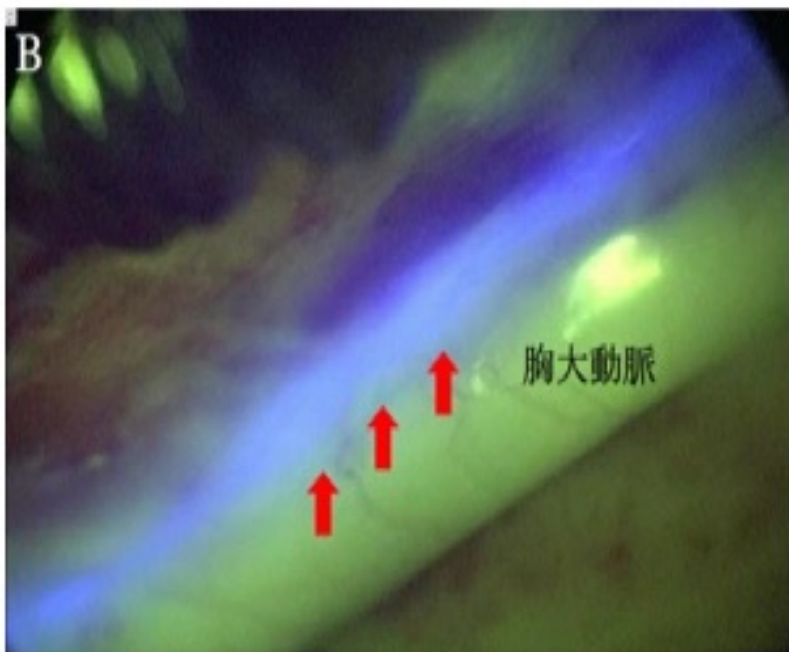
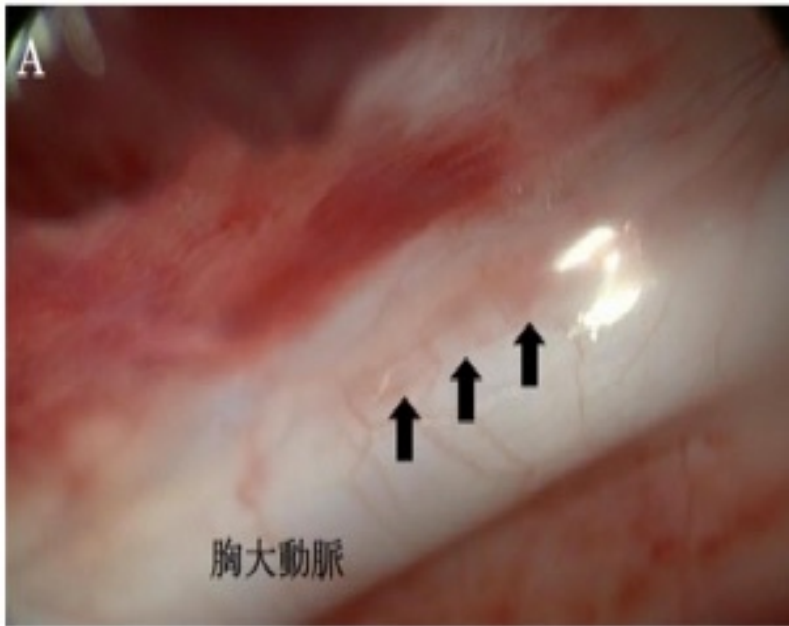


図7 インドシアニングリーン投与後（11分）の胸大動脈付近の背側胸壁。
A:可視光線で観察した胸管（黒矢印）。 B:波長 805 nm の近赤外線が発光させた胸管（赤矢印，青色に描出）。

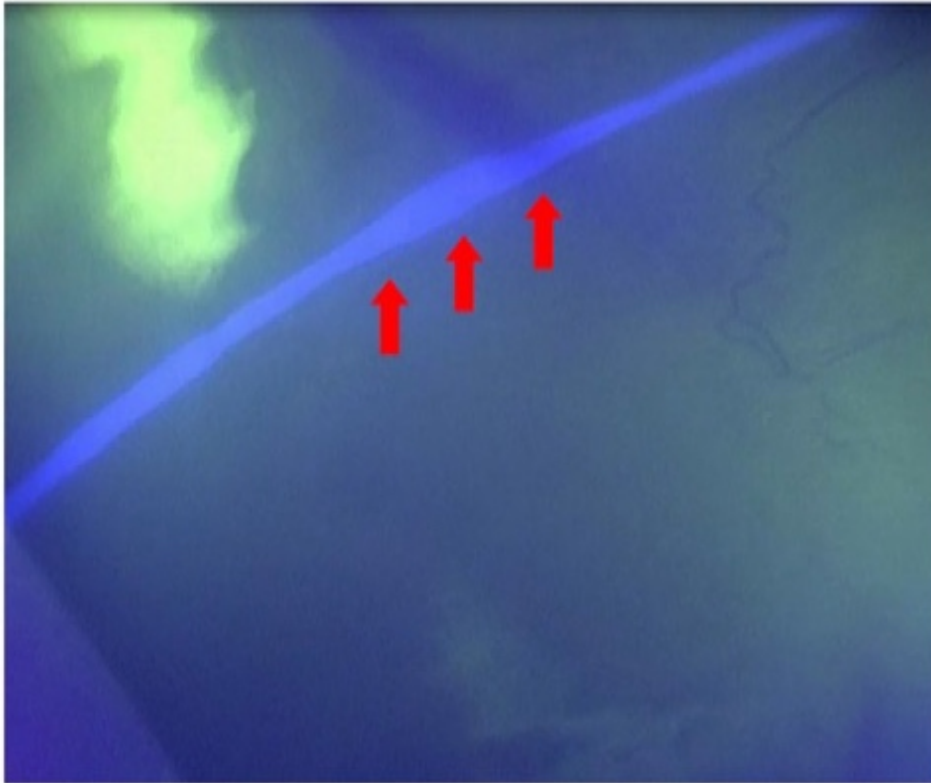


図8 インドシアニングリーン投与後（15分）の左前葉付近の背側胸壁。
波長 805 nm の近赤外線が発光させた胸管（赤矢印，青色に描出）は，胸管結紮
術に必要とされる 15 分間描出が可能であった。

表1 猫のリンパ管造影CTにおけるイオヘキソールとイオパミドールの造影効果の比較

個体	造影剤	投与量 (ml/kg)	5分	15分	25分
A	イオヘキソール	1.2	○	○	○
	イオパミドール	1.2	×	×	△
B	イオヘキソール	1.8	○	○	○
	イオパミドール	1.8	×	△	×
C	イオヘキソール	1.8	○	○	○
	イオパミドール	1.8	△	○	×

○：投与部位から胸管までの全部位が確認可能
 △：投与部位から胸管までのほとんどが確認可能
 ×：確認できず

表2 猫のリンパ管造影CTで使⽤した造影剤の物性の比較

	イオヘキソール	イオパミドール
浸透圧比	2	3
分子量	821	777

総括ならびに結論

乳び胸は、犬や猫に発症するリンパ流路の疾患である。乳び胸に対する内科治療は功を奏さないことが多く、根治的治療として胸管結紮術が実施される。しかし、胸管を完全に結紮したにもかかわらず、乳びの漏出が再発することがある。その理由は、結紮した胸管に分岐があり、結紮されていないリンパ流路から乳びが漏出、あるいは結紮後に側副路が形成されるためと考えられている。このことから、乳び胸の外科治療には、症例毎のリンパ流路の把握が重要である。本研究では、乳び胸の胸管結紮術を想定し、犬および猫のリンパ流路を簡便に可視化する方法を検討した。まず、肛門周囲の皮下組織に色素を投与し、開腹下で染色性の個体差と、犬と猫の違いを調べた（第1章）。次に、犬のリンパ管造影および胸腔鏡による胸管可視化法を検討した（第2章）。さらに、猫のリンパ管造影および蛍光光源を用いた胸腔鏡による胸管可視化法を検討した（第3章）。

第1章では、臨床上健康なビーグル犬2頭と猫4頭の肛門周囲の皮下組織に、インドシアニングリーン（ICG）1.2 ml/kg を投与し、開腹下でリンパ流路の染色性の個体差と、犬と猫の違いを調べた。その結果、肛門周囲の皮下組織への ICG 投与により、犬の結腸リンパ節、空腸リンパ節、腰リンパ本幹、乳び槽が染色された。猫も犬と同様に、結腸リンパ節、空腸リンパ節、腰リンパ本幹、乳び槽が造影された。猫は犬に比べて染色の程度は弱く、個体による染色のばらつきも大きかった。このことから、リンパ流路の ICG の染色性には個体差と犬と猫の間の差があることが示唆された。

第2章では、犬におけるリンパ管造影 CT と胸腔鏡を用いて ICG で胸管を描出する方法を検討した。また、リンパ管造影 CT は、造影剤の投与部位についても検討を加えた。リンパ管造影 CT には臨床上健康なビーグル犬3頭を、胸腔鏡には臨床上健康なビーグル犬2頭を使用した。リンパ管造影 CT は、全身麻酔下でヨード造影剤 1.2 ml/kg を、個体別に直腸粘膜、膣粘膜または肛門周囲の皮下組織にそれぞれ投与し、5分間マッサージを行った。投与後3頭全てで、乳び槽および胸管が造影された。視覚的な造影効果は、直腸粘膜、肛門周囲の皮下組織

に投与した個体が優れ、膣粘膜に投与した個体は造影効果が乏しかった。膣粘膜は直腸から離れていたため、消化管のリンパ節に取り込まれる程度が低かったと考えられた。肛門周囲の皮下組織に投与する手技は、直腸粘膜に投与する手技よりも簡便であるため、臨床での実施しやすさは、肛門周囲の皮下組織に投与する方法が優位と考えられた。三次元像では、乳び槽および胸管の分岐が立体的に描出された。実験終了後に、供試動物の一般状態に著変はなく、副反応は観察されなかった。胸腔鏡は、全身麻酔下で、ICG (1.2 ml/kg) を肛門周囲の皮下組織に投与し、5分間マッサージを行った。その結果、2頭ともに、胸管は段階的に染色され、胸大動脈右側を併走する胸管が観察された。リンパ管造影 CT は簡便にリンパ流路の全体像を把握することができ、胸腔鏡では胸管の観察が可能であることが明らかとなった。リンパ管造影 CT と胸腔鏡を組み合わせることで、犬の胸管結紮手術の確実な実施が期待できると考えられた。

第3章では、猫におけるリンパ管造影 CT と蛍光胸腔鏡で胸管を可視化する方法を検討した。また、リンパ管造影 CT では、造影剤の種類および投与量についても検討を加えた。リンパ管造影 CT には、臨床上健康な猫3頭を、胸腔鏡には臨床上健康な猫2頭を使用した。リンパ管造影 CT は、全身麻酔下でヨード造影剤イオヘキソール (300 mgI/ml) またはイオパミドール (300 mgI/ml) 1.2 ml/kg または 1.8 ml/kg を、肛門周囲の皮下組織に投与し、5分間マッサージを行った。その結果、イオヘキソールの投与では全ての個体でリンパ流路の造影効果が確認された。一方、イオパミドールの投与では造影効果にばらつきがあり、猫のリンパ流路の造影にはイオパミドールよりもイオヘキソールの方が優れることが判明した。わずかではあるがイオヘキソールの分子量がイオパミドールよりも大きいことから、猫のリンパ流路への造影剤の取り込みの差には、イオパミドールとイオヘキソールの分子量の差が影響していると考えられた。また、三次元像では、乳び槽および胸管の分岐が立体的に描出された。実験終了後に、供試動物の一般状態に著変はなく、副反応は観察されなかった。胸腔鏡は、全身麻酔下で、ICG 1.8 ml/kg を肛門周囲の皮下組織に投与し、5分間マッサージを行った。胸腔鏡下の可視光では、胸管内への ICG の流入は視認

が困難であったが、蛍光胸腔鏡で ICG を発光させることにより、胸管の観察が可能であった。リンパ管造影 CT は、簡便にリンパ流路の全体像の把握が可能であり、リンパ管造影 CT と蛍光胸腔鏡を組み合わせることで、猫の胸管結紮手術の確実な実施が期待できると考えられた。

以上の研究から、今回開発したリンパ管造影 CT と胸腔鏡の組み合わせによるリンパ流路を可視化する方法は、小動物の乳び胸の外科治療に貢献すると考えられた。

本論文の一部は、以下に公表した。

Kamijo K, Kanai E, Oishi M, Ichihara N, Asari M, Yamada K (2019): Perirectal injection of imaging materials for computed tomographic lymphography and near infrared fluorescent thoracoscopy in cats. *Veterinari Medicina* 64, 342-347.

謝辞

本論文を作成するに当たり、貴重な研究の機会と助言を与えて下さった麻布大学解剖学第一研究室教授 浅利昌男先生（現・麻布大学学長）に深い感謝の意を表します。

また、博士論文執筆にあたり貴重なご意見をいただきました麻布大学臨床診断学研究室山田一孝教授、小動物外科学研究室藤井洋子教授、小動物内科学研究室久末正晴准教授に深く感謝の意を表します。実験を行うに当たり様々な助言とご指導をいただいた麻布大学解剖学第一研究室市原伸恒講師、大石元治講師に感謝の意を表します。

CT 撮像、胸腔鏡の観察を行う上で麻布大学小動物外科学研究室金井詠一助教、あいほら動物病院菅原優子獣医師に様々なアドバイスを頂きました。深く感謝いたします。

一緒に実験を行い共に知見を深めた麻布大学解剖学第一研究室内の学生諸子に感謝いたします。

引用文献

1. Ando K, Kamijyou K, Hatinoda K, Shibata S, Shida T, Asari M (2012): Computed tomography and radiographic lymphography of the thoracic duct by subcutaneous or submucosal injection. *Journal of Veterinary Medical Science* 74, 135-140.
2. Ashitate Y, Tanaka E, Stockdale A, Choi HS, Frangioni V (2011): Near-infrared fluorescence imaging of thoracic duct anatomy and function in open surgery and video-assisted thoracic surgery. *Journal of Thoracic Cardiovascular Surgery* 142, 31-38.
3. Beer P, Pozzi A, Rohrer-Bley C, Bacon N, Pfammatter NS, Venzin C (2018): The role of sentinel lymph node mapping in small animal veterinary medicine: A comparison with current approaches in human medicine. *Veterinary Comparative Oncology* 16, 178-187.
4. Bilbrey SA, Birchard SJ (1994): Pulmonary lymphatics in dogs with experimentally induced chylothorax. *Journal of American Animal Hospital Association* 30, 86-91.
5. Birchard SJ, Smeak, DD, McLoughlin, MA (1998): Treatment of idiopathic chylothorax in dogs and cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 212, 653-657.
6. Bussadori R, Provera A, Martano M, Morello E, Gonzalo-Orden J, Rosa GL, Stefano N, Maria RS, Sara Z, Buracco P (2011): Pleural omentalisation with en bloc ligation of the thoracic duct and pericardiectomy for idiopathic chylothorax in nine dogs and four cats. *Veterinary Journal* 188, 234-236.
7. Favril S, Abma E, Blasi F, Stock E, Devriendt N, Vanderperren K, de Rooster H (2018): Clinical use of organic near-infrared fluorescent contrast agents in image-guided oncologic procedures and its potential in veterinary oncology. *Veterinary Record* (doi: 10.1136/vr.104851).
8. Favril S, Stock E, Hernot S, Hesta M, Polis I, Vanderperren K, de Rooster H (2019): Sentinel lymph node mapping by near-infrared fluorescence imaging and contrast-

enhanced ultrasound in healthy dogs. *Veterinary and Comparative Oncology* 17, 89-98.

9. Flower RW (1993): Extraction of choriocapillaris hemodynamic data from ICG fluorescence angiogram. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 34, 2720-2729.

10. Fossum TW (2001): Chylothorax in cats: is there a role for surgery? *Journal of Feline Medicine and Surgery* 3,73-79.

11. Fossum TW, Mertens MM, Miller MW, Peacock JT, Saunders A, Gordon S, Pahl G, Makarski LA, Bahr A, Hobson PH. (2004): Thoracic duct ligation and pericardectomy for treatment of idiopathic chylothorax. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 18, 307-310.

12. Fujisawa Y, Nakamura Y, Kawaichi Y, Otsuka F (2011): A custom-made, low-cost intraoperative fluorescence navigation system with indocyanine green for sentinel lymph node biopsy in skin cancer. *Dermatology* 222, 261-268.

13. Gould L (2004): The medical management of idiopathic chylothorax in a domestic long-haired cat. *Canadian Veterinary Journal* 45, 51-54.

14. Haimel G, Liehmann L, Dupré G (2012): Thoracoscopic en bloc thoracic duct sealing and partial pericardectomy for the treatment of chylothorax in two cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery* 14, 928-931.

15. Hayashi H, Tangoku A, Suga K, Shimizu K, Ueda K, Yoshino S, Abe T, Sato T, Matsunaga N, Oka M (2006): CT lymphography-navigated sentinel lymph node biopsy in patients with superficial esophageal cancer. *Surgery* 139, 224-235.

16. Hayashi K, Sicard G, Gellasch K, Frank JD, Hardie RJ, McAnulty JF (2005): Cisterna chyli ablation with thoracic duct ligation for chylothorax: results in eight dogs. *Veterinary Surgery* 34, 519-523.

17. Inoue S, Shiina H, Arichi N, Matsui Y, Hiraoka T, Wake K, Sumura M, Honda S, Yasumoto H, Urakami S, Matsubara A, Igawa M (2011): Identification of lymphatic pathway involved in the spreading of prostate cancer by fluorescence navigation approach with intraoperatively injected indocyanine green. *Canadian Urological Association Journal* 5, 254-259.
18. Itamoto K, Nakaichi M., Tani K, Taura Y (2009): Three cases of idiopathic chylothorax treated by combined surgery with thoracic duct ligation, pericardectomy and cisterna chylifera ablation. *Japanese Journal of Veterinary Anesthesia & Surgery* 40, 73-78.
19. Johnson EG, Wisner ER, Kyles A, Koehler C, Marks SL (2009): Computed tomographic lymphography of the thoracic duct by mesenteric lymph node injection. *Veterinary Surgery* 38, 361-367.
20. Kagan KG, Breznock EM (1979): Variation in the canine thoracic duct system and the effects of surgical occlusion demonstrated by rapid aqueous lymphography, using an intestinal lymphatic trunk. *American Journal of Veterinary Research* 40, 948-958.
21. Kamiya K, Unno N, Konno H (2009): Intraoperative indocyanine green fluorescence lymphography, a novel imaging technique to detect a chyle fistula after an esophagectomy: report of a case. *Surgery Today* 39, 421-424.
22. Kim M, Lee H, Lee N, Choi M, Kim J, Chang D, Choi M, Yoon J (2011): Ultrasound-guided mesenteric lymph node iodine injection for thoracic duct computed tomographic lymphography in cats. *Veterinary Radiology & Ultrasound* 52, 302-305.
23. Kinmonth JB, Taylor GW, Harper RK (1955): Lymphangiography: A technique for the clinical use in the lower limb. *British Medical Journal* 1, 940-942.
24. Kitai T, Inomoto T, Miwa M, Shikayama T (2005): Fluorescence navigation with indocyanine green for detecting sentinel lymph nodes in breast cancer. *Breast Cancer* 12, 211-215.

25. Kopko SH (2005): The use for rutin in a cat with idiopathic chylothorax. *Canadian Veterinary Journal* 46, 729-731.
26. Kusano M, Tajima Y, Yamazaki K, Kato M, Miwa M (2008): Sentinel node mapping guided by indocyanine green fluorescence imaging: a new method for sentinel node navigation surgery in gastrointestinal cancer. *Digestive Surgery* 25, 103-108.
27. LaFond E, Weirich WE, Salisbury SK (2002): Omentalization of the thorax for treatment of idiopathic chylothorax with constrictive pleuritis in a cat. *Journal of American Animal Hospital Association* 38, 74-78.
28. Leak LV (1970): Electron microscopic observations on lymphatic capillaries and the structural components of the connective tissue-lymph interface. *Microvascular Research* 2, 361-391.
29. Lee N, Won S, Choi M, Kim J, Yi K, Chang D, Choi M, Yoon J (2012): CT thoracic duct lymphography in cats by popliteal lymph node iohexol injection. *Veterinary Radiology & Ultrasound* 53, 174-180.
30. Lindsay FE (1974): The cisterna chyli and thoracic duct of the cat 1. An anatomical study. *Anatomy* 117, 403-412.
31. Luciani A, Itti E, Rahmouni A, Meignan M, Clement O (2006): Lymph node imaging: basic principles. *European Journal of Radiology* 58, 338-344.
32. Mariassy AT, Wheeldon EB (1983): The pleura a combined light microscopic scanning and transmission electron microscopic study in the sheep. *Experimental Lung Research* 4, 293-313.
33. Matsutani T, Hirakata A, Nomura T, Hagiwara N (2014): Transabdominal approach for chylorrhea after esophagectomy by using fluorescence navigation with indocyanine green. *Case Reports in Surgery* 2014, 464017.

34. Mayer MN, Sweet KA, Patsikas MN, Sukut SL, Waldner CL (2018): Frequency of an accessory popliteal efferent lymphatic pathway in dogs. *Veterinary Radiology & Ultrasound* 59, 365-373.
35. Minato M, Hirose C, Sasa M, Nishitani H, Hirose Y, Morimoto T (2004): 3-dimensional computed tomography lymphography-guided identification of sentinel lymph nodes in breast cancer patients using subcutaneous injection of nonionic contrast medium: a clinical trial. *Journal of Computer Assisted Tomography* 28, 46-51.
36. Naganobu K, Ohigashi Y, Akiyoshi T, Hagio M, Miyamoto T, Yamaguchi R (2006): Lymphography of the thoracic duct by percutaneous injection of iohexol into the popliteal lymph node of dogs: experimental study and clinical application. *Veterinary Surgery* 35, 377-381.
37. Ogawa Y (2011): The diagnosis of peripheral lymphedema. *Journal of Japanese College of Angiology* 50, 705-710.
38. Ohnishi S, Lomnes SJ, Laurence RG, Gogbashian A, Mariani G, Frangioni JV (2005): Organic alternatives to quantum dots for intraoperative near-infrared fluorescent sentinel lymph node mapping. *Molecular Imaging* 4, 172-181.
39. Rakich PM, Prasse KW, Bjorling DE (1987): Clearance of indocyanine green in dogs with partial hepatectomy, hepatic duct ligation, and passive hepatic congestion. *American Journal of Veterinary Research* 48, 1353-1357.
40. Reuthebuch O, Haussler A, Genoni M, Tavakoli R, Odavic D, Kadner A, Turina M (2004): Novadaq SPY: Intraoperative quality assessment of off-pump coronary artery bypass grafting. *Chest* 125, 418-424.
41. Shida T, Ishikawa T, Hatinota K, Yamane Y, Ando K, Kamijyou K, Shibagta S, Asari M (2012): Variation and visualization of the lymphatic drainage routes in normal canine mammary glands. *Journal of Japan Veterinary Cancer Society* 3, 1-8.

42. Sicard G, Waller KR, McAnuity JF (2005): The effect of cisterna chyli ablation combined with thoracic duct ligation on abdominal lymphatic drainage. *Veterinary Surgery* 34, 64-70.
43. Smeak DD, Birchard SJ, McLoughlin MA, Lindsey MM, Holt DE, Caywood DD, Downs MO (2001): Treatment of chronic pleural effusion with pleuroperitoneal shunts in dogs: 14 cases (1985-1999). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 219, 1590-1597.
44. Steffey MA, Mayhew PD (2018): Use of direct near-infrared fluorescent lymphography for thoracoscopic thoracic duct identification in 15 dogs with chylothorax. *Veterinary Surgery* 47, 267–276.
45. Stewart K, Padgett S (2010): Chylothorax treated via thoracic duct ligation and omentalization. *Journal of American Animal Hospital Association* 46, 312-317.
46. Sugie T, Sawada T, Tagaya N, Kinoshita T, Yamagami K, Suwa H, Ikeda T, Yoshimura K, Niimi M, Shimizu A, Toi M (2013): Comparison of the indocyanine green fluorescence and blue dye methods in detection of sentinel lymph nodes in early stage breast cancer. *Annals of Surgical Oncology* 20, 2213-2218.
47. Tajima Y, Yamazaki K, Matsuda Y, Kato M, Yasuda D, Aoki T, Kato T, Murakami M, Miwa M, Kusano M (2009): Sentinel node mapping guided by indocyanine green fluorescence imaging in gastric cancer. *Annals of Surgery* 249, 58-62.
48. Thompson MS, Cohn LA, Jordan RC (1999): Use of rutin for medical management of idiopathic chylothorax in four cats. *Journal of American Veterinary Medical Association* 215, 345-458.
49. Tsuruno A, Shibasaki A, Kanda N, Shibata H (2009): Visualization of the thoracic duct with injection of dyes of contrast media into the testicular parenchyma in the rabbit. *Journal of Veterinary Medical Science* 71, 759-762.

50. Williams JM, Niles JD (1999): Use of omentum as a physiologic drain for treatment of chylothorax in a dog. *Veterinary Surgery* 28, 61-65.

51. Williams WH, Witte CL, Witte MH, McNell GC (2000): Radionuclide lymphangioscintigraphy in the evaluation of peripheral lymphedema. *Clinical Nuclear Medicine* 25, 451-464.

Study for visualization of the thoracic duct by computed tomographic lymphography and thoracoscopy in small animals

Keiji KAMIJO

Chylothorax is a disease of the lymphatic system in dogs and cats. Surgical procedures are often considered as treatment because medical treatments are unable to achieve complete resolution. Even though surgical procedure involves ligation of the thoracic duct, but recurrence frequently occurs. This is due to a failure to tie all tributaries of the thoracic duct, which then leads to persistent effusion, or occurring co-lateral duct after ligation. Therefore, a precise recognition of the lymphatics is required to determine the optimal ligation site during surgery and planning for chylothorax each case. The degree of visualization of lymph vessels using indocyanine green (ICG) by laparotomy are investigated, and the difference between dogs and cats were evaluated in chapter 1. The visualizations of lymph vessels by CT lymphography and thoracoscopy in dogs were investigated in chapter 2. The visualization of lymph vessels by CT lymphography and near infrared fluorescent thoracoscopy in cats were investigated in chapter 3.

In chapter 1, to investigate differences in the degree of visualization among individual animals and between dogs and cats, two clinically healthy beagle dogs and four clinically healthy cats were subcutaneously injected with ICG (1.2 ml/kg) in the perianal tissue, and the lymph vessels stained by ICG in the abdominal cavity were observed by laparotomy. In dogs, the colic lymph nodes, mesenteric lymph, the lumbar lymphatic trunk and the cisterna chili were observed but with individual variation in visualization of these structures. In cats, the colic lymph nodes, mesenteric lymph, the lumbar lymphatic trunk, and the cisterna chili were observed as well. However, the degree of visualization in cats was lower than that seen in dogs with wide variation among individual cats. These results of the visualization of lymphatics using ICG suggest the presence of the difference both individual- and species in dogs and cats in.

In chapter 2, the visualization of lymph vessels on CT lymphography and

visualization of the thoracic duct by thoracoscopy were investigated in dogs. Three clinically healthy beagle dogs were used for CT lymphography, and two clinically healthy dogs were used for thoracoscopy. Iodine contrast agent (iopamidol, 370 mgI/ml), at a dose of 1.2 ml/kg, was injected into rectal tissue, perianal tissue, or vaginal tissue, respectively, and the injection site was massaged for 5 minutes. In all 3 dogs, the cisterna chili, and the thoracic duct were on CT lymphography. Visualization was superior after injection in to rectal or perianal tissue, compared to vaginal tissue. This is because vaginal tissue is distanced from the rectal lymph nodes than rectal or perianal tissue, thereby limiting contrast agent uptake. The cisterna chili and the tributaries of the thoracic duct divisions were clearly seen in three-dimensional CT images. No significant adverse effect was noted in any animals. In thoracoscopy, ICG (1.2 ml/kg) was injected into perianal tissue under anesthesia, and the injection site was massaged for 5 minutes. The thoracic cavity was monitored continuously, and in all dogs, the thoracic duct running along right of the aorta could be gradually visualized. Our observations show that, for CT lymphography in dogs, contrast material administered in the perianal tissue provides superior visualization of the lymphatic vessels easily, and thoracoscopy enables easy and direct observation of the thoracic duct. Thus, combined CT lymphography and thoracoscopy can be a reliable tool for successful ligation of thoracic duct in dogs.

In chapter 3, the visualization of lymph vessels on CT lymphography and visualization of the thoracic duct by near infrared fluorescent thoracoscopy were investigated in cats. Three clinically healthy cats were used for CT lymphography, and two clinically healthy cats were used for near infrared fluorescent thoracoscopy. For CT lymphography, iohexol (300 mgI/ml) or iopamidol (300 mgI/ml), at a dose of 1.2 or 1.8 ml/kg, was subcutaneously injected into the peri-anal region, the injection site massaged for five minutes. In all three cats administered iohexol, abdominal lymphatics, cisterna chili, and the thoracic duct were visible after injection. Conversely, visualization after iopamidol varied widely among cats and was not reproducible. It is considered that contrast effect of iohexol was superior to that of iopamidol in CT lymphography. The

observed differences in visualization between iohexol and iopamidol may be due the fact that the molecular weight of iohexol is slightly greater than that of iopamidol. The cisterna chili and the tributaries of the thoracic duct divisions were clearly seen in three-dimensional images. No significant adverse effect was noted in any animals. For near infrared fluorescent thoracoscopy, ICG, at a dose of 1.8 ml/kg, was peri-anally injected into the rectal submucosa under anesthesia, the injection site massaged for 5 minutes. The thoracic duct stained by ICG could be clearly observed under near infrared fluorescence thoracoscopy; conversely, it was difficult to visualize under visible light. Thus, near infrared fluorescent thoracoscopy enables direct and easy observation of the thoracic duct. Taken together, these observations suggest that combined CT lymphography and near infrared fluorescent thoracoscopy can be a reliable tool for successful ligation of the thoracic duct in cats.

In summary, both CT lymphography and thoracoscopy are useful for evaluating lymphatics in dogs and cats. The easy visualize techniques described in this study would contribute towards better for the surgical procedure of chylothorax in a small animal practice.

The contents of the chapter 3 is published in scientific journal.

Kamijo K, Kanai E, Oishi M, Ichihara N, Asari M, Yamada K (2019): Perirectal injection of imaging materials for computed tomographic lymphography and near infrared fluorescent thoracoscopy in cats. *Veterinarni Medicina* 64, 342-347.