

犬に対する脊髓造影手技が脊髓におよぼす影響についてウサギを用いた基礎的検討

山田一孝 河合ちひろ 井芹俊恵
岸本海織 上野博史 古林与志安

帯広畜産大学畜産学部獣医学科（北海道帯広市稲田町西2線 〒080-8555）

Experimental Study with Rabbits on the Aftereffects of Myelographic Procedure on Canine Spinal Cords

Kazutaka YAMADA, Chihiro KAWAI, Toshie ISERI
Miori KISHIMOTO, Hiroshi UENO, Yoshiyasu KOBAYASHI

Department of Veterinary Medicine, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Nishi 2, Inada-cho, Obihiro-shi, Hokkaido 080-8555, Japan

(Received 23 April 2003 / Accepted 26 February 2004)

SUMMARY : The purpose of this experiment is to characterize the aftereffects of myelography of canine spinal cords using rabbits, since the distal end of the spinal cord of rabbits is more caudal than that of dogs. Twelve healthy New Zealand White rabbits were divided into 4 groups of 3 animals each : a spinal puncture group, a saline injection group, an iodixanol injection group, and an iohexol injection group. The spinal puncture group consisted of rabbits which received a spinal puncture only. The saline injection group consisted of rabbits which received a spinal injection of saline. The iodixanol group consisted of rabbits which received an isotonic, non-ionic iodine contrast agent, iodixanol[®], in the same volume as the saline. The iohexol injection group consisted of rabbits which received a low osmolality, non-ionic iodine contrast agent, iohexol[®], in the same volume as the saline and at the same concentration of the iodixanol. Under general anesthesia, myelography was performed via the lumbar 5-6 intervertebral space according to the standard method for dogs. Before and 48 hours after the puncture/injection, the animals' behavior was observed, and neurological reflexes were tested. The damaged areas in the spinal cords were inspected histologically 72 hours after the puncture/injection. The rabbits in the three injection groups were neurologically abnormal. There was a marked difference in the ratio of damaged areas between the puncture group and the saline injection group. These findings indicate that neurological disorders might be caused by physical compression of the spinal tissues due to liquid injection. We suggest that it is necessary to confirm the reverse flow of cerebrospinal fluid through a spinal needle during myelography and that if there is any possibility of the contrast agent being injected into the spinal cord accidentally, the procedure should be stopped at once, and an alternative method of examination should be chosen.

KEY WORDS : contrast agent, myelography, rabbit, spinal cord

(J Anim Clin Med, 12 (4) 181-186, 2004)

要約 : 脊髓造影後の後遺障害発生のメカニズムについて、脊髓終末が犬より尾側に位置するウサギを用いて、行動観察、神経学および病理組織学的に検討した。実験にはウサギ (n=12) を使用し、実験群は、①脊髓穿刺群、②生理的食塩

水注入群、③等浸透圧ヨード造影剤イオジキサノール注入群、④低浸透圧ヨード造影剤イオヘキソール注入群とした。全身麻酔下で第5-6腰椎間より脊髄穿刺あるいは薬液を脊髄実質内に直接注入し、処置48時間後に行動観察および神経学的検査を、72時間後に病理組織学的検査を行うとともに、切片上での損傷面積率について評価した。神経学的検査では生理的食塩水注入群、イオジキサノール注入群およびイオヘキソール注入群で異常が認められた。また、穿刺部位の脊髄損傷面積率についても脊髄穿刺群と生理的食塩水注入群との間に明らかな差異が認められた。本研究の結果から、脊髄への薬液注入による組織の圧迫は、脊髄造影後の後遺障害を発生させる要因と考えられた。今後、脊髄造影を行う際には、脊髄針からの脳脊髄液の逆流を必ず確認し、造影剤の実質内注入を疑った場合には直ちに検査を中止することを提案する。なお、将来は獣医臨床における、より安全な脊髄造影手技の開発が望まれる。

キーワード：造影剤、脊髄造影、ウサギ、脊髄

(動物臨床医学 12 (4) 181-186, 2004)

はじめに

脊髄造影検査は、クモ膜下腔に造影剤を注入し椎間板ヘルニアや脊髄腫瘍の診断を目的とする検査である。椎間板ヘルニアを疑う症例について、単純X線で検出される椎間の狭小化、椎間の石灰化、椎間腔の混濁および硬膜の石灰化は必ずしも責任病変と一致しないことが知られている [1]。そこで、外科手術に際しては病変部位を決定するために脊髄造影は必要な検査と考えられている。

脊髄造影法は大槽穿刺と腰椎間穿刺の二つの方法があり、現在、腰椎間穿刺がより安全と考えられている [2]。しかし、腰椎間 (L5-6) 穿刺においても、検査後の痙攣発作は約5%もの割合で発生する [3]。また、まれに後肢の感覚異常 [4]、脊髄軟化症 [5]、水脊髄症 [6] などの後遺障害を発生させるとの報告がある。これらの後遺障害発生の原因は、長らく造影剤の神経毒性によると考えられてきた [7]。しかし、Tilmant は、後遺障害発生の原因について腰椎間穿刺時の脊髄損傷による可能性を報告している [8]。また、我々の臨床経験では、脊髄針の脊髄穿刺により造影剤が脊髄内に直接注入され、中心管が造影されることはまれに観察される現象であり、造影剤が中心管に流入することにより神経症状は増悪することが知られている [5]。しかし、脊髄造影時の脊髄針刺入による神経症状悪化のメカニズムは明らかにされていない。そこで、犬に対する脊髄造影手技が脊髄におよぼす影響を観察するため、脊髄終末が犬よりも尾側の仙椎まで存在するウサギを用い、基礎的検討として、L5-6間より①脊髄穿刺あるいは、②生理的食塩水、③等浸透圧ヨード造影剤、④低浸透圧ヨード造影剤を脊髄実質内に注入し、行動観察、神経学的および病理組織学的に検索し、後遺障害を回避するための指標について検討した。

材料および方法

1) 動物

本実験には、ニュージーランドホワイト雌12頭 (2.5-3.0 kg) を使用した。動物は、1頭ずつ金属製ケージに収容し、市販の飼料を自由摂取および自由飲水により飼育

した。本動物実験プロトコルは、帯広畜産大学実験動物倫理委員会により承認された。

2) 群設定

実験の群設定を以下に示す。

- ①脊髄穿刺群 3頭。
 - ②生理的食塩水注入群 3頭。
 - ③血液と等張な非イオン性ヨード造影剤注入群 (イオジキサノール注入群) 3頭。
 - ④血液に対する浸透圧比2の非イオン性ヨード造影剤注入群 (イオヘキソール注入群) 3頭。
- の各群3頭計12頭とした。

脊髄穿刺群は脊髄穿刺のみを行い、被検溶液注入群にはいずれも被検溶液 0.5 ml/kg を注入した。非イオン性造影剤は、等浸透圧ヨード造影剤イオジキサノール (ピジパーク®270、第一製薬、東京) および低浸透圧ヨード造影剤イオヘキソール (オムニパーク®240、第一製薬) を使用した。

なお、実験に使用する造影剤の濃度は240mgI/mlとし、イオジキサノールは生理的食塩水によりイオヘキソールと同濃度の240mgI/mlに希釈し、実験に使用した。

3) 脊髄穿刺方法

塩酸メデトミジン (ドミトール®、明治製菓、東京) 0.1 mg/kg の皮下注射および塩酸ケタミン (ケタラル®50、三共、東京) 10.0mg/kg の筋肉内注射により導入し、イソフルラン (イソフル®、大日本製薬、大阪) 3.0% の吸入維持による全身麻酔下で、L5-6より犬における定法に従って脊髄穿刺を実施した [2]。脊髄針は、実験用に作成した25ゲージ、1.5インチの注射針 (テルモ注射針、テルモ、東京) を使用した。生理的食塩水注入群、イオジキサノール注入群およびイオヘキソール注入群は、脊髄穿刺後、脊髄針に延長チューブを接続し、被検溶液を0.1 ml/秒の速度で注入した。脊髄穿刺あるいは被検溶液注入直後にX線像を撮影し、脊髄内に脊髄針が位置することを確認した。

4) 行動観察

処置前および48時間後に、動物を自由運動させ、その行動を観察した。行動観察スコアは、2：正常、1：軽度の異常、0：異常の3段階に評価した。なお、スコア2の正常は処置前と同様な行動が観察されるもの、スコア1の軽度の異常は抑鬱性の行動異常が観察されるもの、スコア0の異常とは、1カ所に留まり行動が観察されないものとした。

5) 神経学的検査

処置前および48時間後に、神経学的検査(膝蓋腱反射、後肢踏み直り反応)を行った。神経学的検査スコアは、2：正常、1：軽度の反応低下、0：重度の反応低下の3段階に評価した。

6) 病理組織学的検査

処置72時間後に、動物を深麻酔下で安楽死させ、脊椎を採材した。材料は10%中性緩衝ホルマリン溶液で固定し、定法に従い脊椎穿刺部位のL5-6および穿刺部位よりも頭側であるL2-3断面の病理組織標本を作製した。各個体の病理組織標本について、病理組織像および損傷面積率について評価した。損傷面積については軟化巣の出現をもって損傷領域とし、L5-6およびL2-3断面の脊椎横断面積に対する軟化巣の面積の比率を計算した。損傷面積率を計算するために組織像をデジタル化し、画像処理ソフト(Scion Image、Scion Corporation、CA、USA)により損傷面積率を計算した。さらに、一元配置分散分析およびScheffe法の多重比較により群間の有意差検定を行い、危険率5%未満をもって有意差ありとした。

成 績

1) X線像

イオジキサノール注入群およびイオヘキソール注入群の全頭において、脊椎中心管が造影された。脊椎中心管が造影された典型的な画像をFig.1に示す。

2) 行動観察

処置前の行動観察では、全ての動物において異常は認められなかった。処置48時間後の行動観察スコアをTable 1に示す。脊椎穿刺群および生理的食塩水注入群では異常は認められなかったが、イオジキサノール注入群3頭中2頭、イオヘキソール注入群3頭中3頭で抑鬱性の行動異常が観察された。

Table 1 脊椎穿刺あるいは被検溶液注入48時間後の行動観察

	動物番号	行動学的検査成績	平均値
脊椎穿刺群	1	2	2.0
	2	2	
	3	2	
生理的食塩水注入群	4	2	2.0
	5	2	
	6	2	
イオジキサノール注入群	7	2	1.3
	8	1	
	9	1	
イオヘキソール注入群	10	1	1.0
	11	1	
	12	1	

行動観察スコアは3段階に分類した。2：正常、1：軽度の異常、0：異常

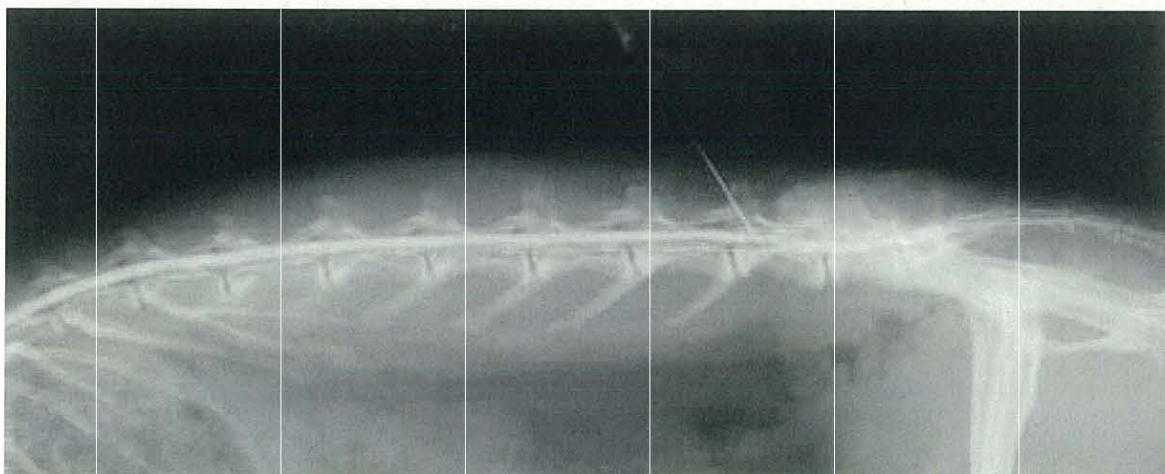


Fig. 1 本実験で脊椎中心管が造影された典型的な画像(動物番号10番、イオヘキソール注入群)

Table 2 脊髄穿刺あるいは被検溶液注入48時間後の神経学的検査成績

	動物番号	神経学的検査成績	平均値	異常所見
脊髄穿刺群	1	2	2.0	
	2	2		
	3	2		
生理食塩水注入群	4	2	1.7	
	5	2		
	6	1		
イオジキサノール注入群	7	2	0.7	膝蓋腱反射低下、後肢踏み直り反応低下
	8	0		
	9	0		
イオヘキソール注入群	10	0	0	膝蓋腱反射低下、後肢踏み直り反応低下
	11	0		
	12	0		

神経学的検査スコアは3段階に分類した。2：正常、1：軽度反応低下、0：重度反応低下

なお、神経学的検査は膝蓋腱反射および後肢踏み直り反応について評価した。

3) 神経学的検査

処置前の神経学的検査では、全ての動物において異常は認められなかった。処置48時間後の神経学的検査スコアをTable 2に示す。脊髄穿刺群では異常は認められなかったが、生理的食塩水注入群3頭中1頭で膝蓋腱反射の低下、イオジキサノール注入群3頭中2頭およびイオヘキソール注入群3頭中3頭で膝蓋腱反射の低下および後肢踏み直り反応の低下が観察された。

4) 病理組織学的検査

病理組織学的には、各群に共通して損傷部位において出血性変化と脂肪顆粒細胞の出現によって特徴づけられる軟化巣が観察された(Fig.2)。軟化巣周囲組織では、膠細胞の増殖および軸索変性が観察された。

L5-6断面における損傷面積率は、脊髄穿刺、生理的食塩水注入群、イオジキサノール注入群、イオヘキソール注入群でそれぞれ0.6、5.1、8.9および12.0%であり、L2-3断面における損傷面積率は、それぞれ0.0、0.0、4.7および6.1%であった(Table 3)。なお、L5-6断面における脊髄穿刺群とイオジキサノール注入群間、脊髄穿刺群とイオヘキソール注入群間、生理的食塩水注入群とイオヘキソール注入群間にそれぞれ危険率5%未満で有意差が認められた。さらに、L2-3断面では、生理的食塩水注入群とイオジキサノール注入群間に明らかな差異を認めた。

考 察

イオジキサノール注入群およびイオヘキソール注入群の全頭において、被検溶液の注入後に造影された脊髄中心管が観察された。ウサギは犬に比較して脊髄が腰椎尾側まで存在するため、L5-6は腰膨大部となる。そのため、L5-6穿刺による脊髄造影で中心管が造影される結果と

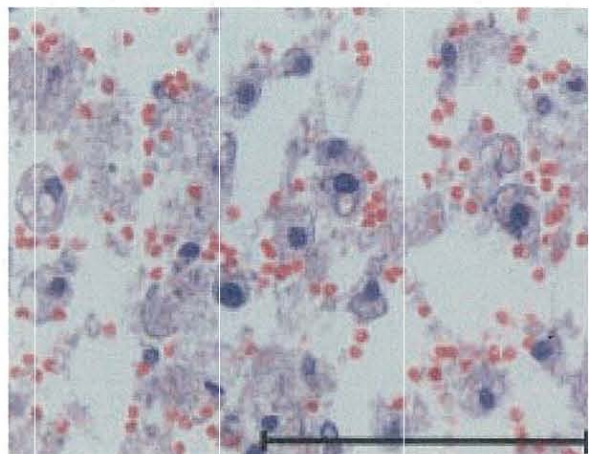


Fig. 2 L5-6断面における病理組織像。出血性変化と軟化巣が観察された。(動物番号11番、イオヘキソール注入群、ハマトキシリンエオジン染色、バーは100 μmを示す。)

Table 3 L2-3およびL5-6脊髄断面における損傷面積率(脊髄穿刺あるいは被検溶液注入72時間後)

	L5-6断面	L2-3断面
脊髄穿刺群	0.6**	0.0
生理的食塩水注入群	5.1*	0.0
イオジキサノール注入群	8.9*	4.7
イオヘキソール注入群	12.0**	6.1

Scheffe法により脊髄穿刺群とイオジキサノール注入群間(*), 脊髄穿刺群とイオヘキソール注入群間(†)および生理的食塩水注入群間とイオヘキソール注入群間(‡)に危険率5%未満で有意差が認められた。

なった。また、犬と比較してウサギの中心管が幅広く造影された理由は、ウサギでは中心管が背側に伸展しており、解剖学的にクモ膜下腔と交通しているためと考えられた[9]。脊髄造影時に再現性よく中心管が造影された

ことから、脊髓針による脊髓穿刺を前提とした今回の基礎的検討にウサギを使用したことは妥当であったと考える。なお、今回の結果に示していないが、本実験においても、犬における脊髓造影と同様に脊髓針による脊髓穿刺時に後肢の popping (ビクッと動く現象) が観察された [2]。この現象は、ウサギにおいても L5-6 からの穿刺時に、脊髓針が脊髓を穿刺した証拠となりうる。ヒトにおける脊髓造影では、L3-4 あるいは L4-5 より実施するが、ヒトの脊髓円錐は解剖学的に L2 で終了するため脊髓造影時に脊髓を穿刺することはあり得ない。獣医学における犬に対する脊髓造影方法は、ヒト医学領域で行われる方法から導入されたが、ヒトと犬の解剖学的な差異から、ヒトの脊髓造影に比べ必ずしも安全な検査とはいえない。

今回の実験では、L5-6 からの脊髓穿刺のみでは、処置 48 時間後の行動観察および神経学的検査になんら異常所見を認めなかった。また、脊髓穿刺群においても病理組織学的な変化を認めたものの、損傷面積率は穿刺部位である L5-6 においても 0.6% と低値を示したことから、脊髓穿刺のみでは組織損傷の程度は低いと考えられた。また、神経学的異常は生理的食塩水注入群 (1 例) から観察された。したがって、脊髓内への薬液注入による組織への物理的な圧迫は、脊髓穿刺による損傷を悪化させ、後遺障害を発生させる要因と考えられた。さらに、穿刺部位よりも頭側の L2-3 断面における損傷面積率は、生理的食塩水注入群とイオジキサノール注入群との間に明らかな差異が認められ、この差異は行動観察および神経学的検査においても明らかであった。臨床症状の出現は、穿刺部位の損傷のみならず脊髓の広範な組織変化と一致し、それらは薬液注入による組織への物理的な圧迫に加えてヨード造影剤の神経毒性も脊髓に対して悪影響を与えているためと考えられた [7]。

今回の検討ではイオジキサノール注入群とイオヘキサノール注入群との損傷面積率間に有意差を認めなかった。Palmer et al. [10]、Widmer et al. [11] および Skalpe et al. [12] は、造影剤の浸透圧による脊髓造影後の後遺傷害について検討し、造影剤の浸透圧による差よりも手技が後遺傷害の発生率および程度に関係していると報告している。さらに Maly et al. はウサギに対して低浸透圧ヨード造影剤 (イオパミドール) あるいは等浸透圧ヨード造影剤 (イオジキサノール) を大槽より注入した後に、行動学および神経学的な評価を行い、検査成績は同等であったと報告している [13]。これらの報告と今回の実験成績を考慮すると、非イオン性造影剤であれば、脊髓造影時に使用する造影剤の選択について考慮する必要性は低いと考えられた。

今後、犬に対して脊髓造影を行う際には、脊髓針先端がクモ膜下腔にあることを確認するため、脊髓針からの脳脊髄液の逆流を必ず確認すること、また、造影剤の脊

髄内注入を疑った場合には直ちに検査を中止することを提案する。なお、将来は獣医臨床における、より安全な脊髓造影手技の開発が望まれる。

引用文献

- 1) Lamb C. R., Nicholls A., Targeit M., Mannion P.: Accuracy of survey radiographic diagnosis of intervertebral disc protrusion in dogs. *Vet Radiol Ultrasound*, 43, 222-228 (2002)
- 2) 柴崎文男: 脊髓造影法の実際, 動物臨床医学, 8, 259-267 (2000)
- 3) Barone G., Zlemer L. S., Shofer F. S., Steinberg S. A.: Risk factors associated with development of seizures after use of iohexol for myelography in dogs: 182 cases (1998). *J Am Vet Med Assoc*, 220, 1,499-1,502 (2002)
- 4) Yadav R. K., Sharma A., Mishra D. S., Airon R. K., Kalra M., Dua S.: An evaluation of myelography with non-ionic water soluble contrast medium-iodhexol. *J Indian Med Assoc*, 97, 16-19 (1999)
- 5) Kirberger R. M., Wrigley R. H.: Myelography in the dog: review of patients with contrast medium in the central canal. *Vet Radiol Ultrasound*, 34, 253-258 (1993)
- 6) Funkquist, B.: Thoraco-lumbar myelography with water-soluble contrast medium in dogs I. Technique of myelography; side-effects and complications. *J Small Anim Pract*, 3, 53-66 (1962)
- 7) Carlisle C. H., Pass M. A., Lowndes H. E., Reuhl K. R.: Toxicity of the radiographic contrast media iopamidol, iohexol and metrizamide to cell cultures. *Vet Radiol Ultrasound*, 36, 207-211 (1995)
- 8) Tilmant L., Ackerman N., Spencer C. P.: Mechanical aspects of subarachnoid space puncture in the dog. *Vet Radiol*, 50, 227-232 (1984)
- 9) Bradbury M. W. B., Latham W.: A flow of cerebrospinal fluid along the central canal of the spinal cord of the rabbit and communications between this canal and the sacral subarachnoid space. *J Physiol*, 181, 785-800 (1965)
- 10) Palmer Y., Kuhn F. P., Petersen D., De Greef D.: Comparison in myelography between iodixanol 270 and 320 mgI/ml and iotrolan 300 mgI/ml: a multicentre, randomized, parallel-group, double-blind, phase III trial. *Eur Radiol*, 12, 686-691 (2002)
- 11) Widmer W. R., Blevins W., Jakovljevic S., Teclaw R. F., Han C. M., Hurd C. D.: Iohexol and iopamidol myelography in the dog: a clinical trial comparing adverse effects and myelographic quality. *Vet Radiol Ultrasound* 33, 327-333 (1992)
- 12) Skalpe I. O., Bonneville J. F., Grane P., Gyldenstedt C., Otto B., Kristoffersen D. T., et al.: Myelography with

- a dimeric (iodixanol) and a monomeric (iohexol) contrast medium: a clinical multicentre comparative study. *Eur Radiol*, 8, 1,054-1,057 (1998)
- 13) Maly P., Sundgren P., Baath L., Walday P.: Neural tolerance of the non-ionic dimers iodixanol and iotrolan and the non-ionic monomer iopamidol during myelography in non-anaesthetised rabbits. *Acta Radiol*, 36, 644-648 (1995)